

MGISEQ – альтернативное геномное секвенирование

Дмитрий Квон, к.б.н.
Компания Хеликон

Секвенирование нового поколения

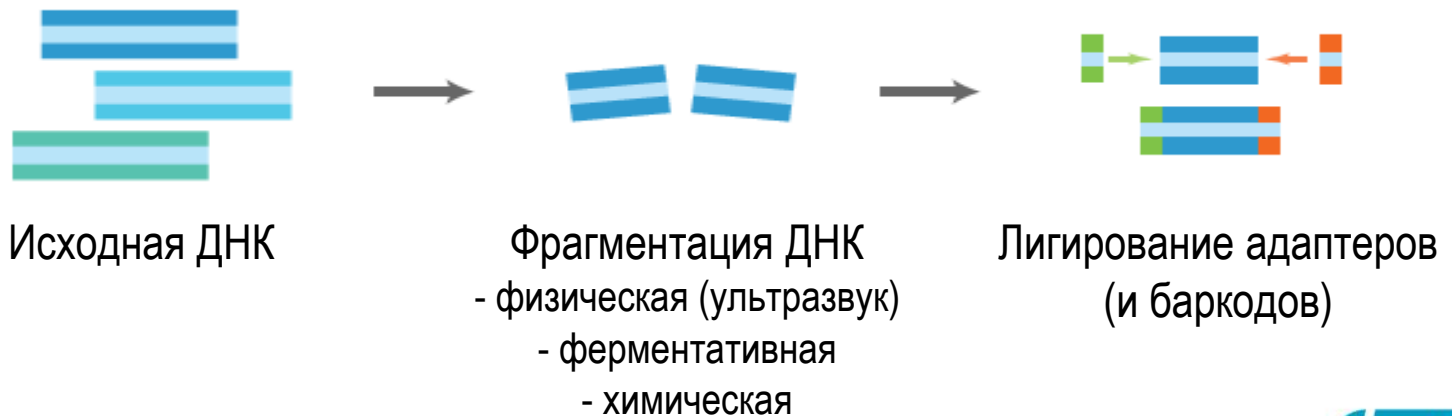
Секвенирование – определение первичной последовательности ДНК

Секвенирование по Сэнгеру – капиллярный электрофорез, 1 фрагмент ДНК за запуск

Секвенирование нового поколения (next-generation sequencing, **NGS**) – массово-параллельное секвенирование фрагментов ДНК, миллионы фрагментов ДНК за запуск

Этапы NGS:

1. Подготовка библиотек



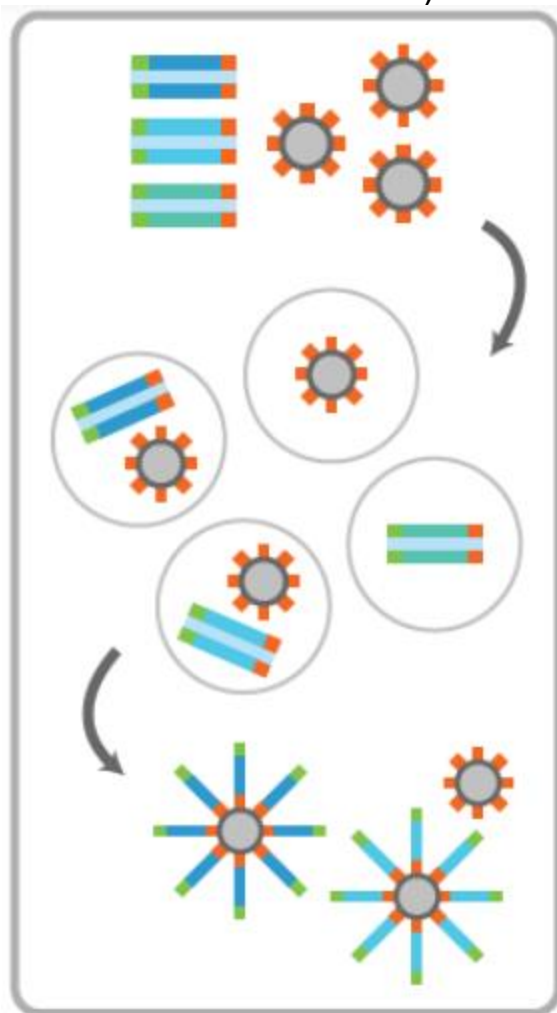
Секвенирование нового поколения

2. Клональная амплификация

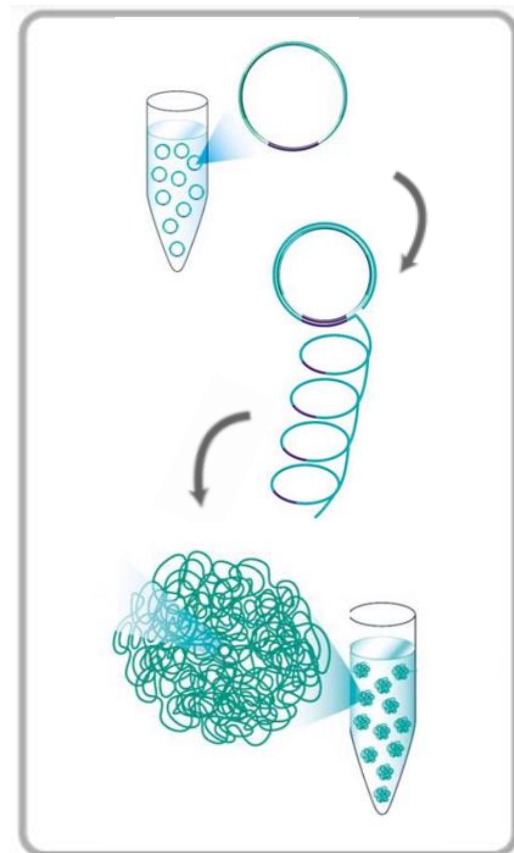
Мостиковая ПЦР
(Illumina)



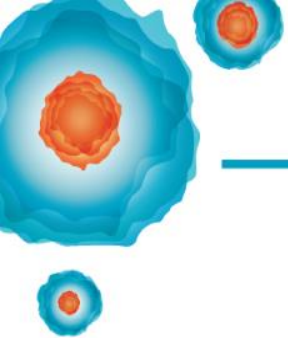
Эмульсионная ПЦР
(Ion Torrent - Thermo
Fisher Scientific)



Линейная амплификация
(BGI)



https://www.abmgood.com/marketing/knowledge_base/next_generation_sequencing_introduction.php



1

Подготовка
библиотек

2

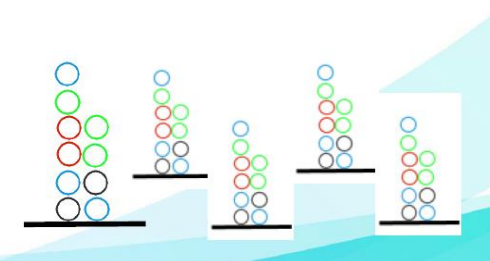
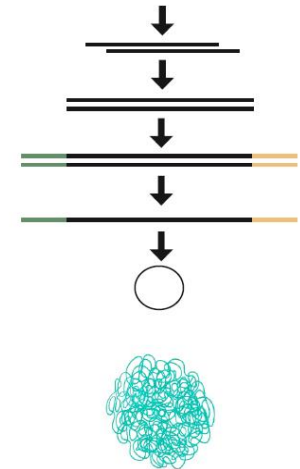
Формирование
«наношариков» ДНК

3

Секвенирование
по принципу
сPAS

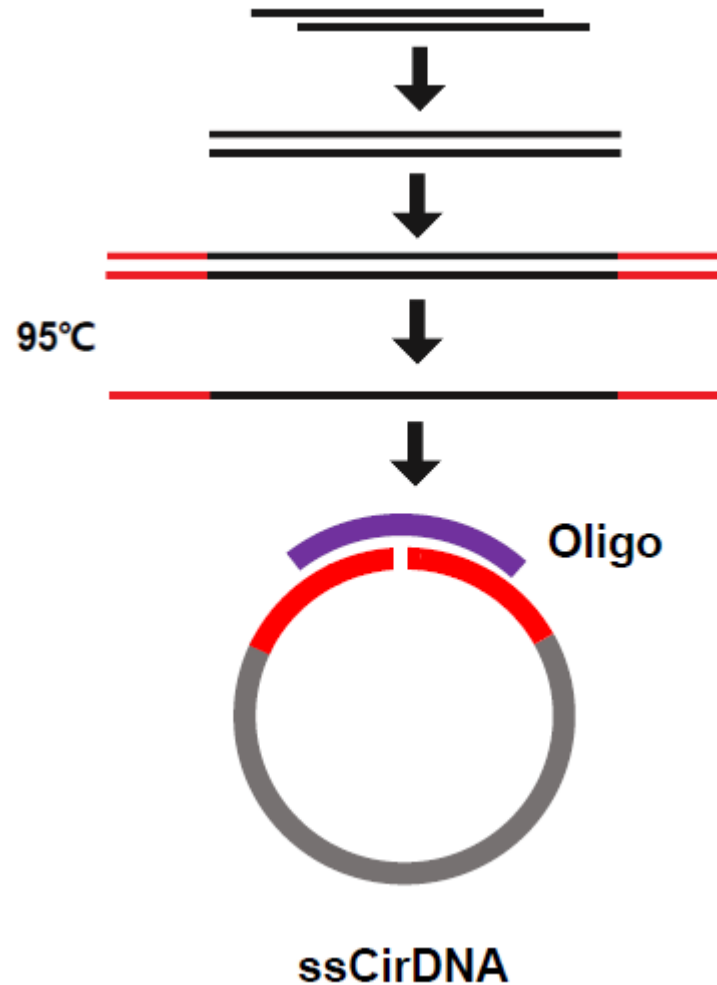
- Создание «наношариков» ДНК
- Загрузка «наношариков» на проточную ячейку

- Встраивание нуклеотидов
- Визуализация
- Анализ

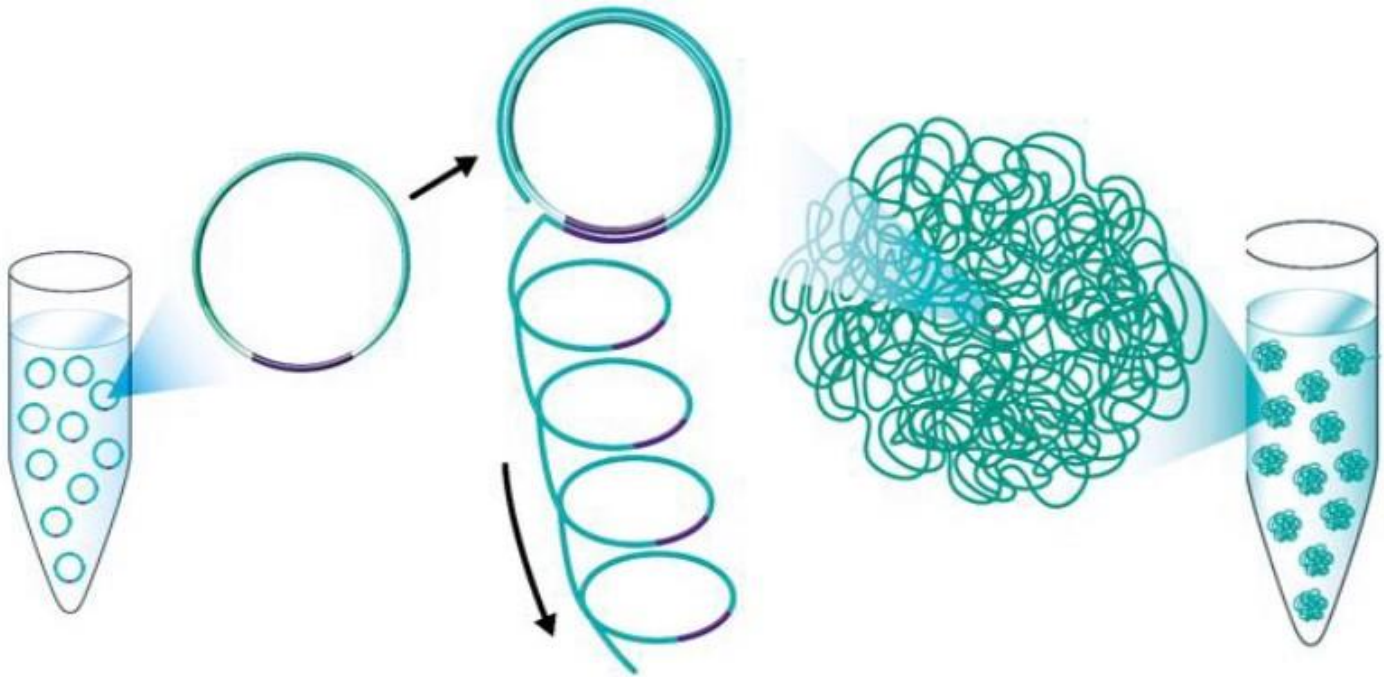


Подготовка библиотек

- Фрагментация ДНК
- Репарация концов
- Лигирование адаптеров
- Амплификация
- Циркуляризация
- Лигирование



Линейная амплификация

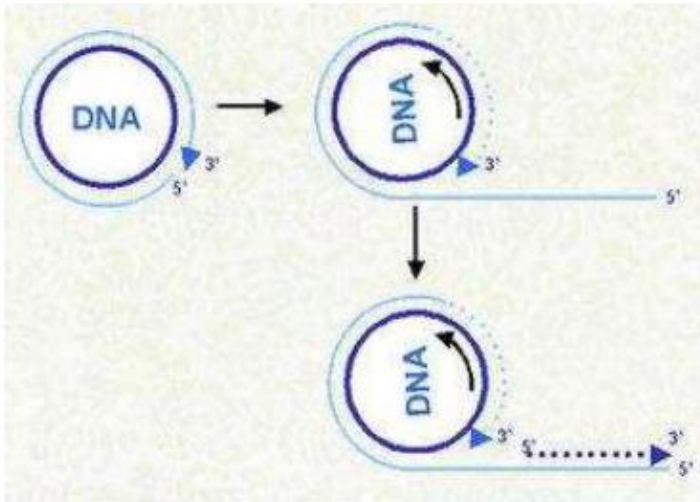


- Линейная амплификация по принципу «катящегося кольца» (полимераза phi29)
- Формирование длинных конкатемеров (длинных линейных молекул ДНК из повторяющихся копий исходной матрицы)
- Компактизация конкатемеров в «наношарик» - **DNB** (DNA nanoball)

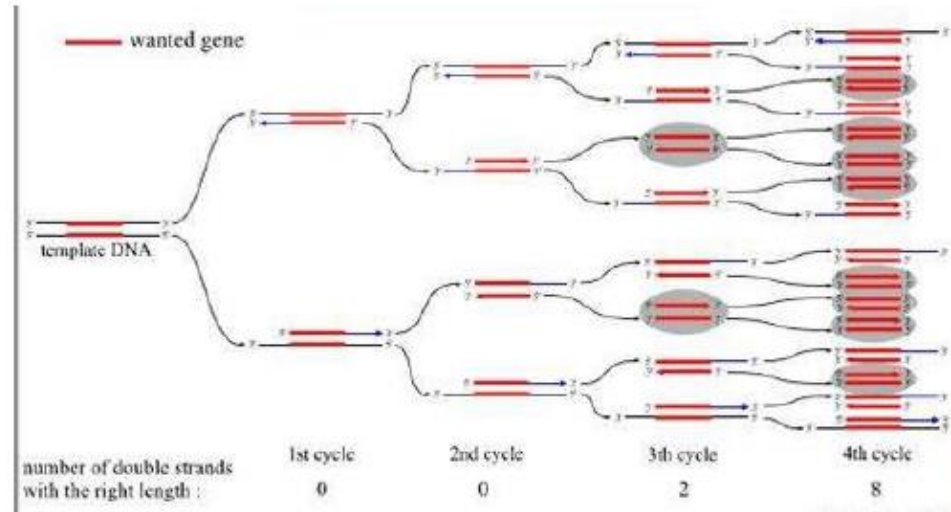
Один «наношарик» - один фрагмент библиотеки ДНК

Сравнение линейной амплификации и ПЦР

Амплификация по типу «катящегося кольца»

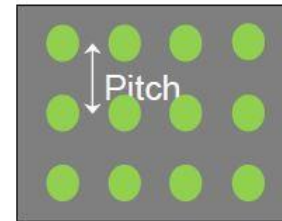
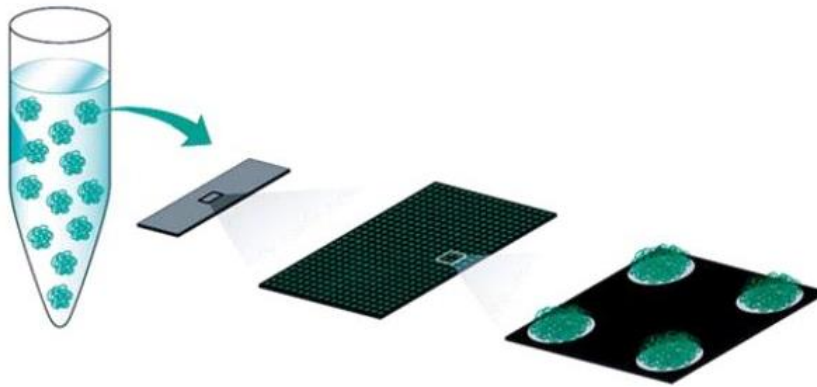


Полимеразная цепная реакция (ПЦР)



- Нет клонального накопления ошибок – ДНК всегда реплицируется с исходной матрицы
- Нет количественного искажения библиотеки – линейная амплификация, нет необходимости в двойном баркодировании

Нанесение DNB на проточную ячейку

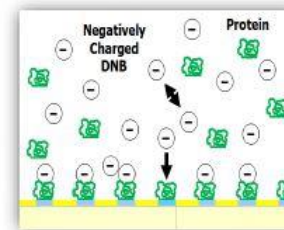


Pattern array

flowcell

Pitch: ~800 nm

Diameter of DNBs: ~220 nm



DNBs loading

electrostatic interaction

+

Protein embedding

MGISEQ-200

FC (flow cell)



1 дорожка

MGISEQ-2000

FCS (small)



2 дорожки

Скоро в продаже!

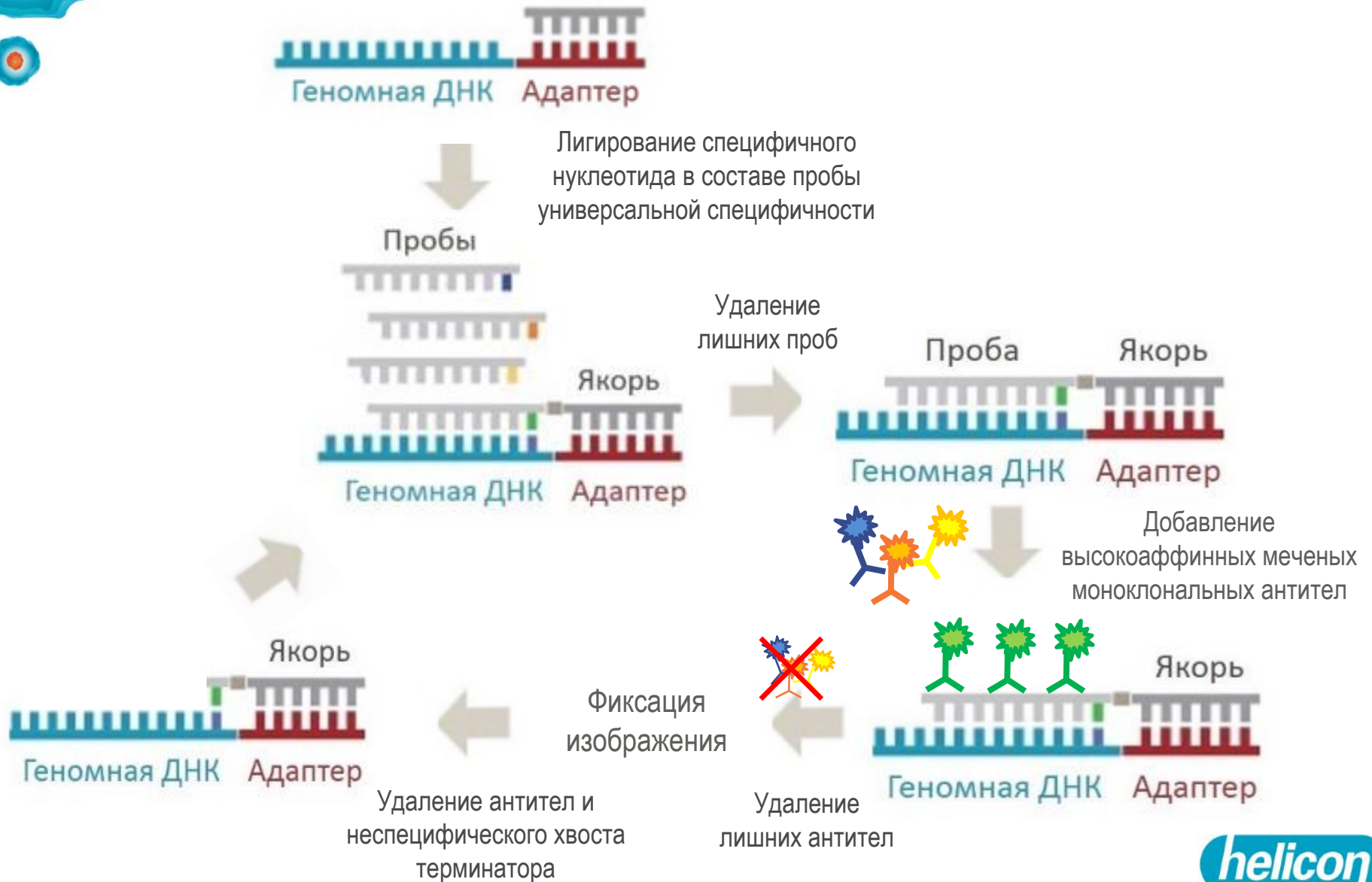
FCL (large)



4 дорожки

helicon

Секвенирование



Таргетное секвенирование

Информация с сайта Illumina.com

Сравнение целевого обогащения и секвенирования ампликонов

Целевое обогащение	Ампликоны
Максимально широкий охват вариантов событий (любые нуклеотидные вариации, транслокации, gene fusions)	Не все события амплифицируются
Возможность одновременного профилирования всех типов полиморфизмов	Оптимально для анализа малого кол-ва однонуклеотидных замен и коротких инсерций/делеций
Больше данных, более длительный анализ	Более доступный, более простой протокол

Целевое обогащение позволяет обнаруживать как известные, так и новые варианты.
Подходит для поиска новых вариантов!

<https://emea.illumina.com/techniques/sequencing/dna-sequencing/targeted-resequencing/target-enrichment.html?langsel=/ru/>



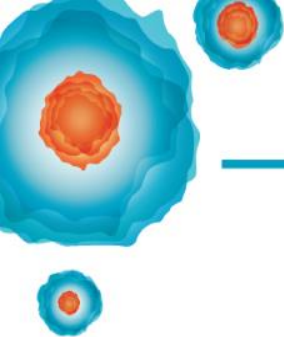
- **MGISEQ-200**

Аналог: NextSeq (Illumina)



- **MGISEQ-2000**

Аналог: HiSeq 2500 (Illumina)



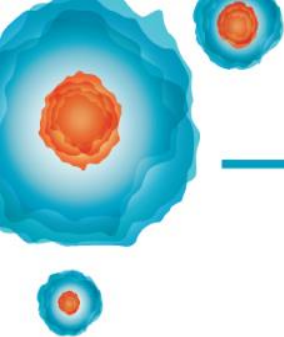
Проточная ячейка FC:



Технические характеристики MGISEQ-200

Длина прочтения		SE50	SE100	PE50	PE100
Среднее количество прочтений за запуск	Проточная ячейка FCS	300 млн			
Средняя производительность		15 Гб	30 Гб		60 Гб
Время секвенирования		15 ч	26 ч	28 ч	48 ч
Качество данных		Q30 ≥ 85%			

MGISEQ-2000



1 прибор на складе!

Проточная ячейка FCS:



Проточная ячейка FCL:



Технические характеристики MGISEQ-2000 (проточная ячейка FCS)

Длина прочтения		SE50	SE100	PE50	PE100	PE150
Среднее количество прочтений за запуск	1 FC	375 млн				
	2 FC	750 млн				
Средняя производительность	1 FC	18,75 Гб	37,5 Гб	75 Гб	112,5 Гб	
	2 FC	37,5 Гб	75 Гб	150 Гб	225 Гб	
Время секвенирования		16 ч	26 ч	28 ч	48 ч	72 ч
Качество данных		Q30 ≥ 85%				

Технические характеристики MGISEQ-2000 (проточная ячейка FCL)

Длина прочтения		SE50	SE100	PE50	PE100	PE150
Среднее количество прочтений за запуск	1 FC	1,5 млрд				
	2 FC	3 млрд				
Средняя производительность	1 FC	75 Гб	150 Гб	300 Гб	450 Гб	
	2 FC	150 Гб	300 Гб	600 Гб	1080 Гб	
Время секвенирования		16 ч	26 ч	28 ч	48 ч	72 ч
Качество данных		Q30 ≥ 85%				

Станции пробоподготовки

MGISP-100



- 16 образцов
- 8-канальные дозаторы
- 6 позиций для планшетов

MGISP-960



- 8-96 образцов
- 96-канальные дозаторы
- 24 позиции для планшетов



*только для MGISP-100

Сравнение с конкурентами



	MGISEQ-200	NextSeq 550	Genestudio S5 Prime	MGISEQ-2000	HiSeq 2500
Производитель	MGI tech.	Illumina	Thermo Fisher	MGI tech.	Illumina
Характер прочтений	Одно/парноконцевые	Парноконцевые	Одноконцевые	Одно/парноконцевые	Парноконцевые
Максимальная длина прочтения	2x100	2x150	1x200 (чип 550)	2x150	2x125
Количество прочтений за запуск (PE)	300 млн	400 млн	125 млн	3 млрд	4 млрд
Производительность за запуск	60 Гб	120 Гб	25 Гб	1080 Гб (мин.)	1000 Гб (макс.)
Макс. Количество полных геномов человека на 1 запуск (покрытие >30x)	-	1*	-	12	11
Макс. количество полных экзонов человека на 1 запуск (покрытие >100x)	10	12*	4	190	180
Мин исходное кол-во ДНК	0,5 нг	100 нг	1 нг	0,5 нг	100 нг
Баркоды	128	384	384	128	384
Качество данных	Q30 ≥ 85%	Q30 ≥ 75%	Q30 ≥ 75%	Q30 ≥ 85%	Q30 ≥ 80%
Время секвенирования	48 ч (PE100)	29 ч (PE150)	8,5 ч (SE200)	72 ч (PE150)	144 ч (PE125)
Цена на комплекта оборудования	21 млн руб.	43 млн руб.	30 млн руб.	65 млн руб.	96 млн руб.
Стоимость данных (за Гб)	3 000 руб.	4 000 руб.	7000 руб.	1 500 руб.	2 000 руб.
Необходимость станции пробоподготовки	Нет	Да (cBot)	Да (Ion Chef)	Нет	Да (cBot)
Возможность работы с микрочипами	Нет	Да	Нет	Нет	Нет

КОМПАНИЯ ХЕЛИКОН

Делаем возможной работу
лабораторий в России на
мировом уровне

8 800 770 71 21
www.helicon.ru

helicon