

利用数字流体技术实现AVITI™上游工作流的先进自动化

Volta的先进数字流体平台能够为Element的AVITI系统实现自动化和简单的文库准备工作。最近推出的Element AVITI系统更在台式定序器中展现其性能、成本和灵活性三大优势。然而，仅有的台式解决方案能实现自动化文库准备。

在这里，我们展示了Volta数字流体平台（Volta's Digital Fluidics platform）在制备线性库上与Element的AVITI系统在人类全基因组测序上的无缝兼容性。

Come to our Unveiling Digital Fluidics event!

Date: Wed 6/8/2022 Time: 8:15am Location: Indian River Suite

Featuring presentations from collaborators Tom Gingeras (CSHL) and Katie Larkin (Broad Institute)



Learn more

Check out poster #555 about library prep for Nanopore sequencing.

Learn more about our apps and try our interactive demo at the Indian River hospitality suite!

1.自动化的AVITI文库准备

Volta数字流体技术在准备文库上运用了酶切片段化法、基于接合法和磁珠法的尺寸筛选。

准备样本

DNA/RNA输入

创建文库

利用Volta平台进行自动化的文库准备



50mins自动、20mins手动

环化

Adept™文库兼容性工具包 (无额外PCR)

一共75mins、25mins手动

测序



分析

FASTQ文件

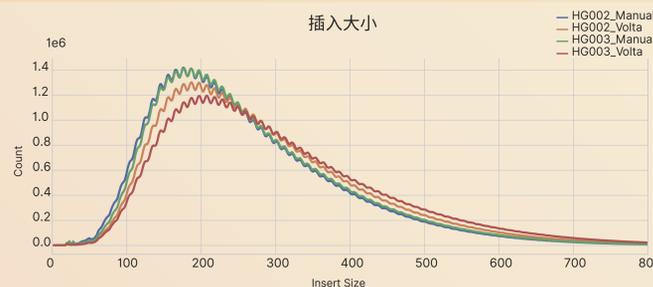
- 输入HG002和HG003的1μg DNA以作文库准备。
- 文库准备的产量足以加载10个AVITI™ 流动槽。
- 对两个流动槽进行测序，每个细胞最终的2x1500读数>1B。

2.高质量的测序结果

自动化和手动文库具有可比性

样本	总读数 (下采样)	已校准读数	碱基 > 10X	碱基 > 20X	插入大小中位数	碱基 Q30	碱基 Q40
HG002 (手动)	360M	99.6%	95.3%	88.8%	235 bp	94.0%	76.0%
HG002 (Volta)	360M	99.6%	95.3%	89.0%	255 bp	93.7%	75.4%
HG003 (手动)	360M	99.7%	95.3%	88.9%	239 bp	94.4%	76.2%
HG003 (Volta)	360M	99.4%	95.3%	89.0%	271 bp	93.0%	73.4%

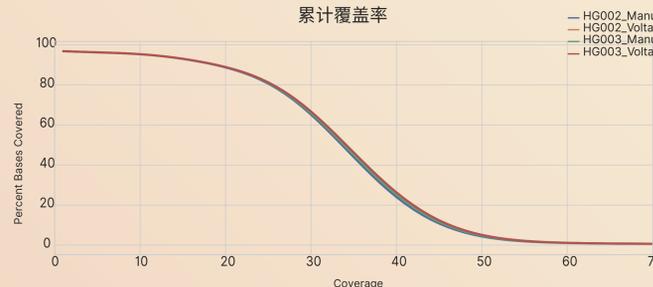
样本级别摘要阐述了各种读取级别的统计信息。每一个最终的FASTQ都被降低到约35倍的覆盖范围。使用Sentieon BWA对hg38参考基因组进行比对。



4个样品（两个手动和两个Volta）各自的插入尺寸分布。插入大小的中位数在235-271范围内。

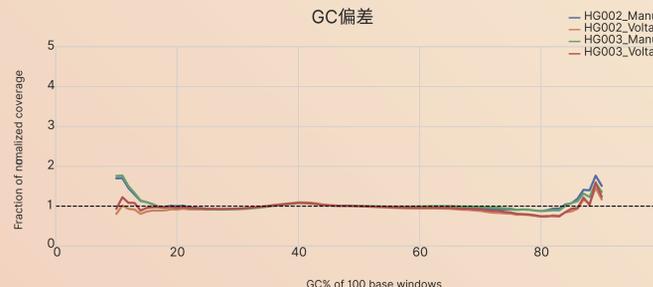
请注意，插入尺寸可在Volta仪器上调节，以得到更长的插入尺寸。也可以进行双倍尺寸选择以实现更窄的碎片尺寸分布。此处未执行上述两项操作。

累积覆盖率



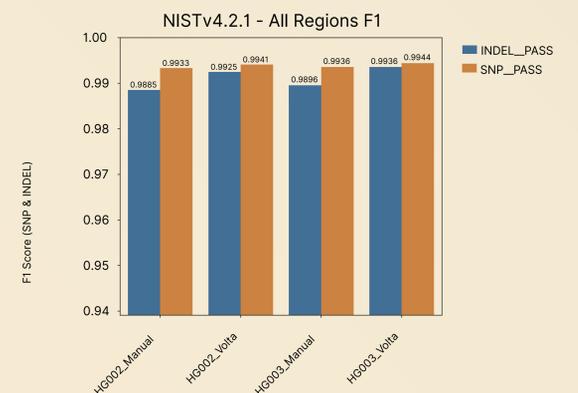
利用samtools统计分别计算4个样本（两个手动和两个Volta）的累积覆盖率。所有样本都显示出相似的覆盖率曲线，约95.3%的覆盖率>10倍，约88.8%的覆盖率>20倍。

GC偏差



上图展示了4个样本的GC函数归一化覆盖率。在有足够参考数据（10-90%）的情况下，结果在GC含量百分比范围内未观察到GC偏差。

3.全基因组标杆分析



使用Sentieon DNAScope和AVITI特定模型调用变异。然后根据NIST v4.2.1真实数据（HG002和HG003）对每个VCF进行标杆分析。每个样本的SNP和INDEL都显示了所有区域的F1分数。

样本	SNP F1	高精度 SNP	查全 SNP	INDEL F1	高精度 INDEL	查全 INDEL
HG002 (手动)	0.993	0.998	0.989	0.990	0.992	0.985
HG002 (Volta)	0.994	0.998	0.990	0.993	0.996	0.989
HG003 (手动)	0.994	0.998	0.990	0.990	0.992	0.987
HG003 (Volta)	0.994	0.998	0.991	0.994	0.996	0.991

上表展示了4个样本的SNP和INDEL的F1、高精度和查全数据。数据代表NIST v4.2.1真实数据中所有区域的标杆分析。

结论

- Volta数字流体（Volta Digital Fluidics）上生成的文库与AVITI™系统能无缝兼容；
- 单个Volta 无PCR工作流的输出足以加载10个流动槽；
- 在Volta上生成并使用Adept环化的文库在基因组中具有良好的覆盖率，且没有GC偏差。

未来的改善方向和流程

- 调整可变覆盖范围以及其他应用的插入尺寸；
- 实现包括Adept™转换化学的端到端自动化工作流；
- 基于转座酶的文库准备和RNA文库准备。