illumina®

テクニカルノート

# 感染症の病原体をより迅速に同定

## MiSeq™ i100シリーズで呼吸器病原体をシーケンスするためのターボカスタムレシピ

呼吸器系ウイルス、細菌、真菌、薬剤耐性遺伝子を網羅的にカバー

高い品質と収量を維持しながら、ラン時間を短縮できる最適化されたシーケンスレシピ

統合型のオンボードデータ解析を含む柔軟で拡張性のあるワークフロー

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。

## はじめに

呼吸器系病原体の正確かつ迅速な同定は、特に混合感染や重複感染では難しい場合があります。[1,2] 次世代シーケンサー（NGS）は、複数の感染性病原体を含む検体など、さまざまな種類の検体から既知および新興の呼吸器病原体を単一のアッセイで検出するための有効な方法を提供します。[3] 本テクニカルノートでは、呼吸器病原体を同定するための高速ワークフローに対応するMiSeq i100シリーズでのカスタムシーケンスレシピ（ターボレシピ）について評価しています。MiSeq i100ターボレシピでは、デュアルバーコードの100 bpシングルエンドリードシーケンスを、2.5～3時間で完了します。これと比べて、MiSeq i100シリーズの標準シーケンスレシピ（標準レシピ）では4～5時間以上かかります。[4]

ターボカスタムレシピは、Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panelを使用して、ウイルス、細菌、真菌、および関連する抗菌薬耐性（AMR）マーカーをはじめとする280種類以上の呼吸器病原体を対象に評価します。MiSeq i100シリーズでのシーケンスとDRAGEN™ Microbial Enrichment Plusアプリによる解析を組み合わせた、柔軟かつ拡張性の高い高速ワークフロー[4]では（図1）、臨床研究環境で呼吸器感染症に関連する病原体を1日で同定できます。ターボレシピによって実現する時間短縮は、標準レシピと同等の性能があり、シーケンス精度に影響を及ぼすことはありません。

## 手法

### サンプル調製

評価に使用した標準物質は、精製されたウイルス粒子と細菌細胞を複数混合し、安定化かつ非感染性の状態にした定性的なコントロール試料です。NATtrol Respiratory Panel 2.1 (RP2.1) Control（ZeptoMetrix、カタログ番号：NATRPC2.1-BIO）は、人工的に病原体を混同した2種類の混合物である、RP2.1 Control 1（12種類のターゲット化病原体）およびRP2.1 Control 2（11種類のターゲット化病原体）で構成されています。RP2.1 Control 1を1 × PBSで1:10に希釈した後、DNA/RNAの並行抽出法を使用する、ZymoBIOMICS DNA/RNA Miniprep Kit（Zymo Research、カタログ番号：R2002）を用いてDNA/RNAを抽出しました。

### ライブラリー調製

ライブラリー調製および3プレックスハイブリダイゼーションによるターゲット濃縮は、Illumina RNA Prep with Enrichment（イルミナ、カタログ番号：20040536）とRespiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel (RPIP) Kit（イルミナ、カタログ番号：20047050）を使用して実施しました。

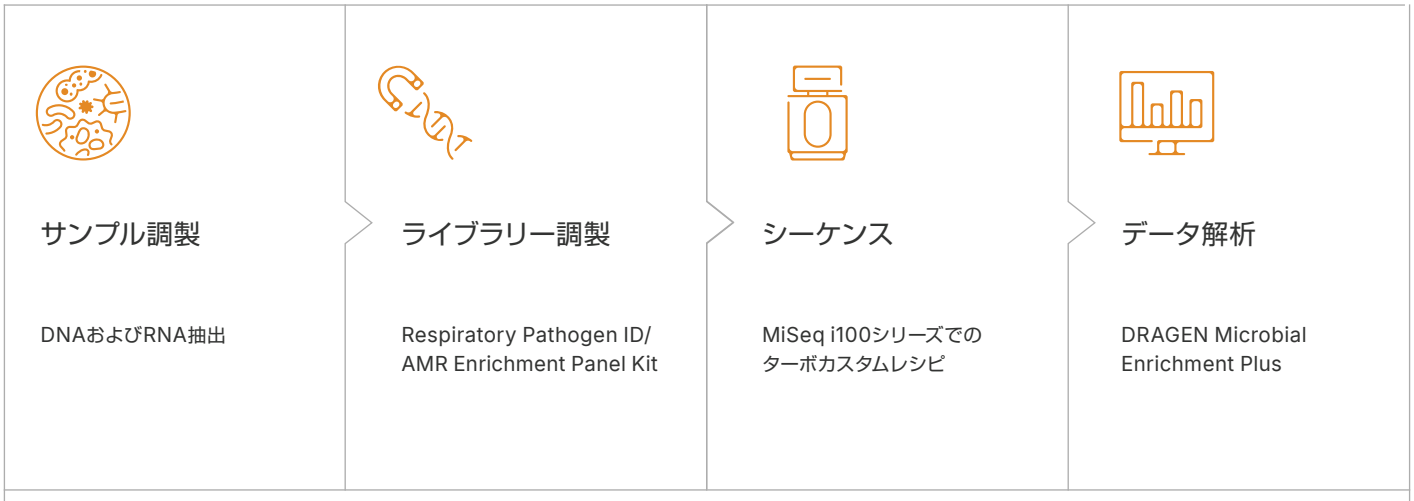



**図1：呼吸器病原体検出用の高速ワークフロー**
MiSeq i100シリーズでターボカスタムレシピを使用することにより、NGSを用いた呼吸器病原体同定を迅速化できます。

### シーケンス

調製したライブラリーは、MiSeq i100 Series 25M Reagent Kit (100 cycles) (イルミナ、カタログ番号：20126567)、MiSeq i100 Plus 50M Reagent Kit (100 cycles) (イルミナ、カタログ番号：20141595) およびMiSeq i100 Plus 100M Reagent Kit (100 cycles) (イルミナ、カタログ番号：20141598) を使用し、ターボカスタムレシピおよび標準レシピを用いて、MiSeq i100 Plusシステム (イルミナ、カタログ番号：20115695) でリード長101 bp × 1のシーケンスを実施しました。すべてのランは初期設定のインデックスファーストのリード構成で設定しました。

### データ解析

デマルチプレックス済みのFASTQシーケンスファイルは、FASTQツールキットを使用して100万クラスターにダウンサンプリングし、MiSeq i100シリーズに内蔵されたDRAGEN Microbial Enrichment Plusアプリ (v1.1.1) を使用して解析しました。得られた結果を、DRAGEN Microbial Enrichment Plusクラウドソフトウェアを用いた結果と照合し、オンボードのワークフロー結果との一致を検証しました。

## 結果

### 高い精度と収量によるラン時間の短縮

MiSeq i100ターボカスタムレシピは、25M、50Mおよび100M試薬キットの100サイクル版を使用したシーケンスでは標準レシピと比べて、約40%の時間短縮を達成しました。高い精度と収量を維持することを目標に、ケミストリー、フルイディクス、画像取得の各ステップを含む、Sequence by Synthesis (SBS) レシピのすべてのステップで時間短縮が認められました。ターボレシピでは、25Mキットおよび100Mキットを使用したシーケンスは、それぞれ約2.5時間および約3時間で完了しました (図2)。Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panelを使用したサンプルのオンボードのDRAGEN Microbial Enrichment Plus解析は、30分未満で完了しました。25Mキットの場合、デュアルバーコードの100 bpシングルエンドリードにおけるターボレシピでは、プレランチェックおよびオンボードのDRAGEN Microbial Enrichment Plus解析を含むワークフロー全体が、3時間未満で完了します (図2)。

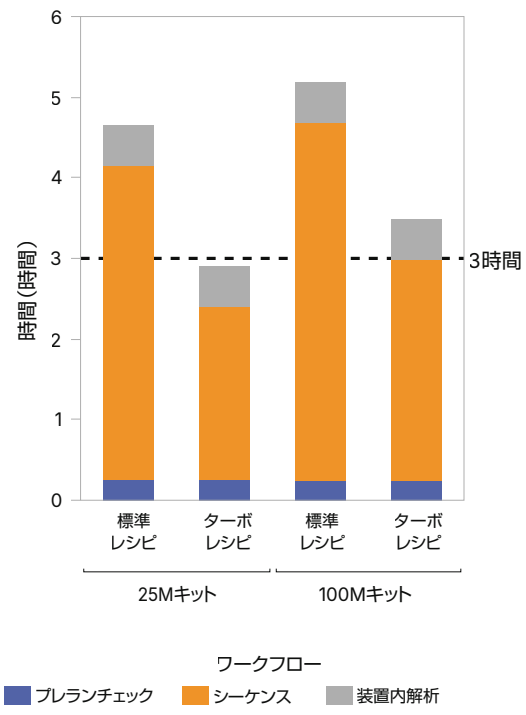
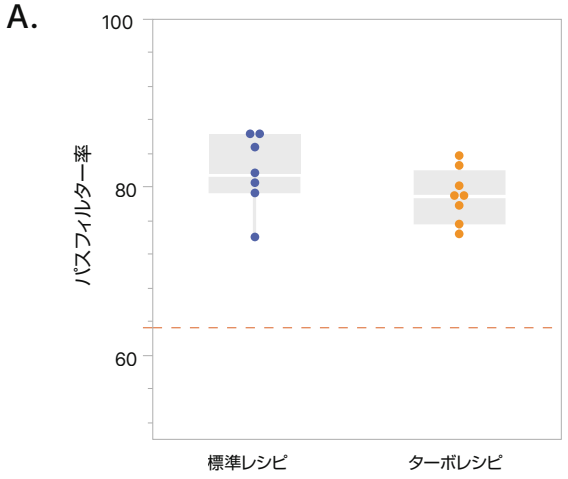



**図2：MiSeq i100ターボカスタムレシピを用いた高速シーケンスワークフロー**

初期設定のインデックスファースト構成で、デュアルインデックスの100 bpシングルエンドリードを用いた25Mフローセルおよび100Mフローセルの100サイクルキットを使用した、MiSeq i100ターボレシピと標準レシピのワークフロー時間の比較。

ターボレシピおよび標準シーケンスレシピを使用したコントロールサンプルのランでは、主要なメトリクスが非常によく一致することが示されました。ターボレシピでもシーケンスの品質と収量が維持されました (図3)。DRAGEN Microbial Enrichment Plus解析から、クオリティフィルター後のリードの割合がターボレシピと標準レシピとの間で高い一致を示していることから、二次解析に使用できる高品質なリードがターボレシピでも維持されていることが示されています (図4)。



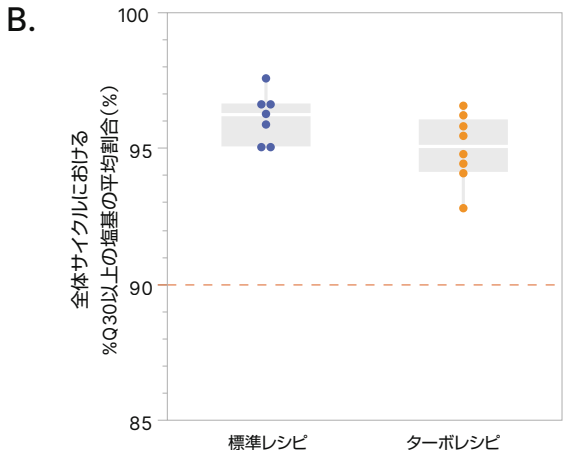




**図3：MiSeq i100ターボレシピと標準レシピの主要メトリクスの一致**
MiSeq i100の25M、50Mおよび100M 100サイクル試薬キットを使用したランを集約し、2種類のシーケンスレシピに対する、(A) リードパスフィルターの割合および (B) %Q30以上のリードの平均割合の比較。

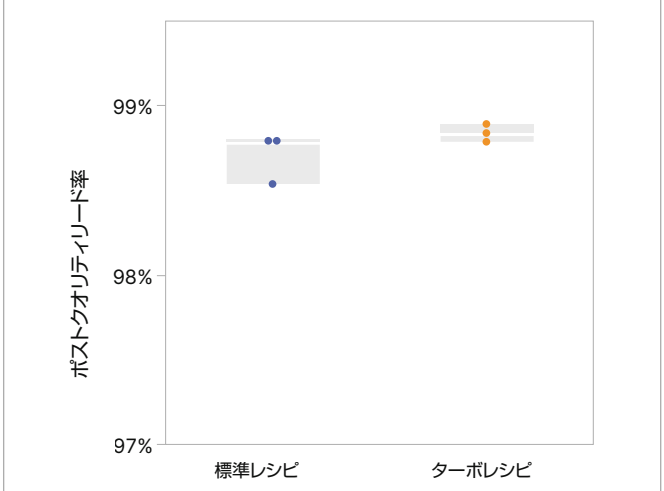



**図4：MiSeq i100ターボカスタムレシピでも高品質なリードを維持**
25M 100サイクル試薬キットのターボレシピと標準レシピでそれぞれ3回のランを実施し、DRAGEN Microbial Enrichment Plusアプリから出力されたクオリティフィルター後のリード割合の比較。

## 呼吸器病原体検出における高い分析性能

ターボカスタムレシピでは、アッセイ性能を損なうことなく、大幅な時間短縮が実現します。Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel Kitは、RP2.1 Control 1に含まれる12種類のうち11種類をターゲットにしており、ターボレシピおよび標準レシピを使用したいずれのランでもこれらすべてを検出しました（表1）。アデノウイルス31型もRP2.1 Control 1混合物に含まれていますが、Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel Kitのターゲットではないため、報告されることは想定されていません。

DRAGEN Microbial Enrichment Plusアプリによって報告された、レプリケート間の平均RPKM（品質フィルタリング後の100万リードあたりのターゲット化配列1キロベースあたりのリード数）をターゲット化したウイルスと細菌それぞれについて評価しました。RPKMは、ターゲット化したシーケンス長とシーケンス深度の差を考慮することで、病原体およびサンプルのターゲット化したリード数を正規化したものです。RP2.1 Control 1に含まれる、病原体ごとに報告されたRPKMは、ターボレシピと標準レシピのシーケンスランの間で高い相関を示しました（図5）。

表1：ターボカスタムレシピと標準レシピのランによる病原体検出の概要

| NATtrol RP2.1 Control 1 Panel ID | 報告された病原体名 | 3回のランの検出の概要 | |
|---|---|---|---|
| | | 標準レシピ | ターボレシピ |
| アデノウイルス1型 | ヒトアデノウイルスC | 3/3 | 3/3 |
| アデノウイルス3型 | ヒトアデノウイルスB | 3/3 | 3/3 |
| アデノウイルス31型[a] | （ターゲットではないまたはレポートされない） | – | – |
| 肺炎クラミジアCWL-029株 | 肺炎クラミジア | 3/3 | 3/3 |
| インフルエンザAウイルス2009 H1N1 pdm A/NY/02/2009 | インフルエンザAウイルス（H1N1） | 3/3 | 3/3 |
| インフルエンザAウイルスH3N2 A/Brisbane/10/07 | インフルエンザAウイルス（H3N2） | 3/3 | 3/3 |
| メタニューモウイルスB Peru6-2003 | ヒトメタニューモウイルス（HMPV） | 3/3 | 3/3 |
| 肺炎マイコプラズマM129株 | 肺炎マイコプラズマ | 3/3 | 3/3 |
| パラインフルエンザ1型 | ヒトパラインフルエンザウイルス1（HPIV-1） | 3/3 | 3/3 |
| パラインフルエンザ4型 | ヒトパラインフルエンザウイルス4（HPIV-4） | 3/3 | 3/3 |
| ライノウイルス1A | ヒトライノウイルスA（HRV-A） | 3/3 | 3/3 |
| SARS-CoV-2 USA-WA 1/2020 | SARS-CoV-2 | 3/3 | 3/3 |

a. アデノウイルス31型はRP2.1 Control 1混合物に含まれていますが、Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel Kitのターゲットではなく、検出されることは想定されていません。

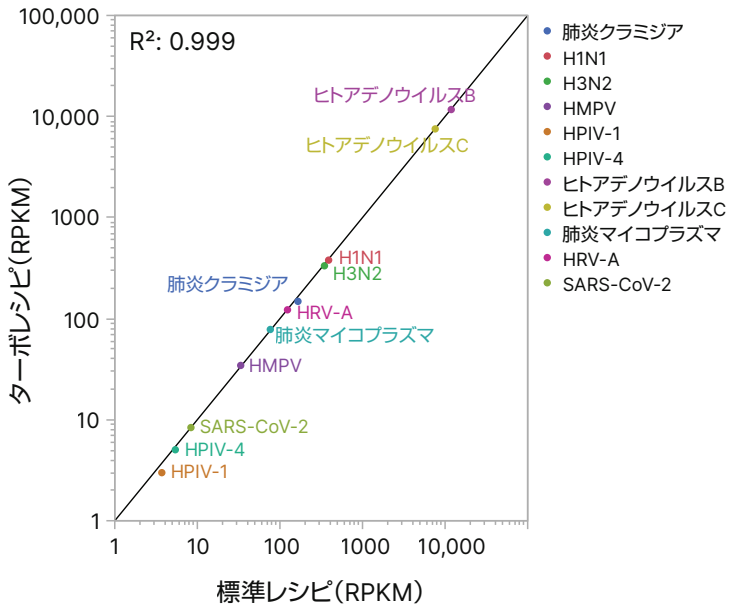



**図5：MiSeq i100ターボレシピと標準レシピによる病原体検出の高い相関**
25M 100サイクル試薬キットを使用し、ターボカスタムレシピと標準レシピでそれぞれ3回のランを実施して得られた平均RPKM（品質フィルタリング後の100万リードあたりのターゲット化配列1キロベースあたりのリード数）について、NATtrol RP2.1 Control 1に含まれる病原体のうち、Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panelのターゲットとなる11種類の病原体に対する相関。

## まとめ

MiSeq i100シリーズのターボカスタムレシピにより、呼吸器病原体の同定のための高速シーケンスが実現し、高品質なシーケンス性能を維持しながら、シーケンス時間を40%短縮できるようになります。呼吸器病原体の品質管理コントロールから得られた結果では、ターボレシピを使用したワークフローとMiSeq i100の標準シーケンスレシピとの間で高い一致を認めました。

MiSeq i100シリーズの25M、50M、100Mの100サイクル試薬キット用のターボカスタムレシピの入手については、イルミナテクニカルサポート（techsupport@illumina.com）にお問い合わせください。

**詳細はこちら→**

MiSeq i100シリーズ

Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel Kit

## 参考文献


1. Georgakopoulou VE. Insights from respiratory virus co-infections. *World J Virol.* 2024;13(4):98600. doi:10.5501/wjv.v13.i4.98600
2. Li X, Pan L, Li Z, et al. Etiology and clinical characteristics of pathogen co-detection in pediatric Mycoplasma pneumoniae pneumonia: A multicenter retrospective study. *Int J Infect Dis.* 2026;162:108230. doi:10.1016/j.ijid.2025.108230
3. Zhao M, Shi Y, Zhang C, et al. Diagnostic value of metagenomic next-generation sequencing using bronchoalveolar lavage fluid samples for pathogen detection in children with severe or refractory pneumonia. *Microbiol Spectr.* 2025;13(3):e0108724. doi:10.1128/spectrum.01087-24
4. Illumina. Simplest, fastest. For every lab. MiSeq i100 Series brochure. illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/miseq-i100-brochure-m-gl-02245/miseq-i100-brochure-m-gl-02245.pdf. Published 2025. Accessed March 4, 2026.



**イルミナ株式会社**

〒108-0014 東京都港区芝5-36-7 三田ベルジュビル22階
Tel (03)4578-2800 Fax (03)4578-2810
jp.illumina.com

www.facebook.com/illuminakk


販売店


**本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。** 販売条件：jp.illumina.com/tc

© 2026 Illumina, Inc. All rights reserved.
すべての商標および登録商標は、Illumina, Inc または各所有者に帰属します。
商標および登録商標の詳細は jp.illumina.com/company/legal.html をご覧ください。
予告なしに仕様および希望販売価格を変更する場合があります。


Pub. No. M-GL-04204 v1.0-JPN 10NOV2026

illumina®