감염병 식별을 위한 결과 도출 시간 단축

MiSeq™ i100 시리즈를 사용한 호흡기 병원체 시퀀싱을 위한 Turbo 커스텀 레시피

호흡기 바이러스, 세균, 진균 및 항생제 내성(AMR) 유전자를 포괄적으로 검출

높은 품질과 수율을 유지하면서 런 타임을 단축하도록 최적화된 시퀀싱 레시피 제공

통합 온보드 데이터 분석을 포함하는 유연하고 확장 가능한 워크플로우 지원

연구 전용입니다. 진단 절차에는 사용할 수 없습니다.

소개

호흡기 병원체를 정확하고 신속하게 식별하는 것은 어려울 수 있으며, 특히 혼합 감염 또는 동시 감염의 경우 더욱 그렇습니다.[1,2] 차세대 시퀀싱(Next-generation sequencing, NGS)은 여러 감염원이 포함된 샘플을 비롯해 다양한 종류의 샘플에서 알려진 호흡기 병원체와 새롭게 출현하는 호흡기 병원체를 하나의 assay로 검출할 수 있는 효과적인 방법입니다.[3] 이 Technical Note는 호흡기 병원체 식별을 위한 가속화된 워크플로우를 지원하는 MiSeq i100 시리즈의 커스텀 시퀀싱 레시피인 'Turbo 레시피'를 소개합니다. MiSeq i100 Turbo 레시피를 사용하면 싱글 엔드 듀얼 바코드 100 bp 리드(single-end, dual-barcode 100 bp read) 시퀀싱을 2.5~3시간 내에 완료할 수 있으며, 이는 MiSeq i100 시리즈의 표준 시퀀싱 레시피(이하 '표준 레시피')의 소요 시간보다 약 40% 단축된 것입니다.[4]

Turbo 커스텀 레시피는 바이러스, 세균, 진균을 비롯한 280종 이상의 호흡기 병원체와 관련 항생제 내성(antimicrobial resistance, AMR) 마커를 표적으로 하는 Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel을 사용하여 평가했습니다. MiSeq i100 시리즈에서 시퀀싱하고 DRAGEN™ Microbial Enrichment Plus 앱으로 분석하는 유연하고 확장 가능한 가속화된 워크플로우(그림 1)[4]를 통해 임상 연구 환경에서 호흡기 감염과 관련된 병원체를 하루 안에 식별할 수 있습니다. Turbo 레시피는 표준 레시피와 일관된 성능을 제공하며, Turbo 레시피를 통한 시간 단축은 시퀀싱 정확도에 영향을 주지 않습니다.

방법

샘플 준비

사용된 참조 물질은 안정화된 비감염성 상태로 제공되는 정제 바이러스 입자와 세균 세포의 정성 분석용 복합 혼합물(qualitative complex mixture)입니다. NATtrol Respiratory Panel 2.1(RP2.1) Control(ZeptoMetrix, 카탈로그 번호: NATRPC2.1-BIO)은 병원체를 인위적으로 섞은 두 가지 혼합물인 RP2.1 Control 1(구성 병원체 12종)과 RP2.1 Control 2(구성 병원체 11종)로 구성됩니다. RP2.1 Control 1은 추출 전에 1× PBS를 사용하여 1:10으로 희석했으며, ZymoBIOMICS DNA/RNA Miniprep Kit(Zymo Research, 카탈로그 번호: R2002)를 사용하여 DNA와 RNA를 병행 추출했습니다.

라이브러리 준비

Illumina RNA Prep with Enrichment(Illumina, 카탈로그 번호: 20040536)와 Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel (RPIP) Kit(Illumina, 카탈로그 번호: 20047050)를 사용하여 라이브러리를 준비하고 3-plex 하이브리드화(hybridization) 방식으로 표적 인리치먼트(target enrichment)를 수행했습니다.



그림 1: 호흡기 병원체 검출을 위한 가속화된 워크플로우
MiSeq i100 시리즈의 Turbo 커스텀 레시피로 NGS 기반 호흡기 병원체 식별 가속화

시퀀싱

준비된 라이브러리는 MiSeq i100 Series 25M Reagent Kit(100 Cycles)(Illumina, 제품 번호: 20126567), MiSeq i100 Plus 50M Reagent Kit(100 Cycles)(Illumina, 제품 번호: 20141595) 및 MiSeq i100 Plus 100M Reagent Kit(100 Cycles)(Illumina, 제품 번호: 20141598)를 위한 Turbo 커스텀 레시피와 표준 레시피를 사용하여 MiSeq i100 Plus 시스템(Illumina, 제품 번호: 20115695)에서 1 × 101 bp의 리드 길이(read length)로 시퀀싱했습니다. 모든 런(run)은 리드보다 인덱스를 먼저 시퀀싱하는 Index-First를 기본으로 구성했습니다.

데이터 분석

디멀티플렉싱(Demultiplexing)을 거친 FASTQ 시퀀싱 파일은 FASTQ 툴킷을 사용하여 100만 개의 클러스터(cluster)로 다운샘플링(downsampling)한 후, MiSeq i100 시리즈에 탑재된 DRAGEN Microbial Enrichment Plus 앱(v1.1.1)을 사용하여 분석했습니다. 동일한 데이터를 DRAGEN Microbial Enrichment Plus 클라우드 소프트웨어로 분석했을 때 온보드 분석 결과와 일치하는 것을 확인했습니다.

결과

높은 정확도 및 수율, 짧아진 런 타임

MiSeq i100 Turbo 커스텀 레시피는 25M, 50M 및 100M Reagent Kit(100 Cycles) 사용 시 표준 레시피 대비 시퀀싱 시간을 약 40% 단축합니다. 높은 정확도와 수율(yield) 유지를 목표로 chemistry, 유체(fluidics) 시스템 및 이미징 단계를 포함한 모든 sequencing by synthesis(SBS) 레시피 단계에 걸쳐 소요 시간이 단축되었습니다. Turbo 레시피의 경우 25M 및 100M Reagent Kit의 시퀀싱은 각각 약 2.5시간, 약 3시간 만에 완료되었습니다(그림 2). Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel 샘플의 온보드 DRAGEN Microbial Enrichment Plus 분석은 30분 미만으로 완료되었습니다. Turbo 레시피 사용 시 25M Reagent Kit의 싱글 엔드 듀얼 바코드 100 bp 리드 시퀀싱 워크플로우는 사전 런 검사(pre-run check)와 온보드 DRAGEN Microbial Enrichment Plus 분석을 모두 포함해 3시간 이내에 완료됩니다(그림 2).

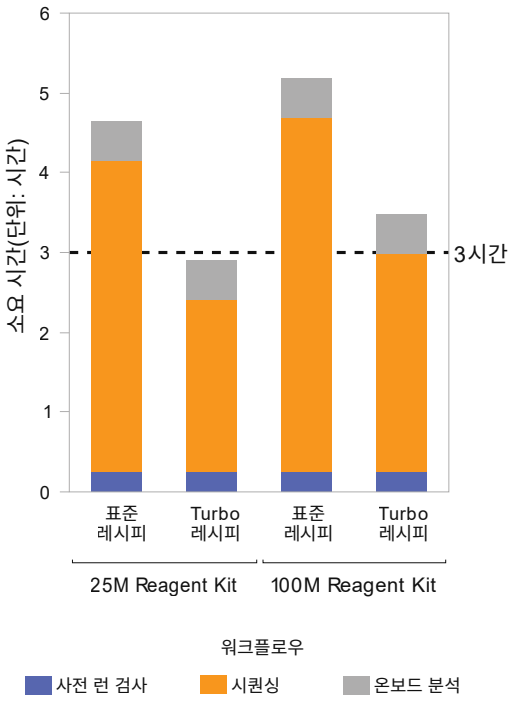


그림 2: MiSeq i100 Turbo 커스텀 레시피로 더욱 빨라진 시퀀싱 워크플로우

기본 Index-First 구성에서 싱글 엔드 듀얼 인덱스 100 bp 리드를 25M 및 100M Reagent Kit(100 Cycles)를 사용해 시퀀싱했을 때 MiSeq i100 Turbo 레시피와 표준 레시피의 워크플로우 시간을 비교한 결과

Turbo 레시피와 표준 레시피로 시퀀싱한 대조군 샘플은 1차 메트릭스(primary metrics)의 일치도가 매우 높았습니다. Turbo 레시피를 사용했을 때 품질과 수율은 모두 유지되었습니다(그림 3). DRAGEN Microbial Enrichment Plus 분석 결과, 품질 필터링 후 리드 비율(percentage of post-quality reads)은 Turbo 레시피와 표준 레시피 간에 높은 일치도를 보였으며, 이는 2차 분석을 위해 정확도가 높은 리드가 유지되었음을 나타냅니다(그림 4).

연구 전용입니다. 진단 절차에는 사용할 수 없습니다.

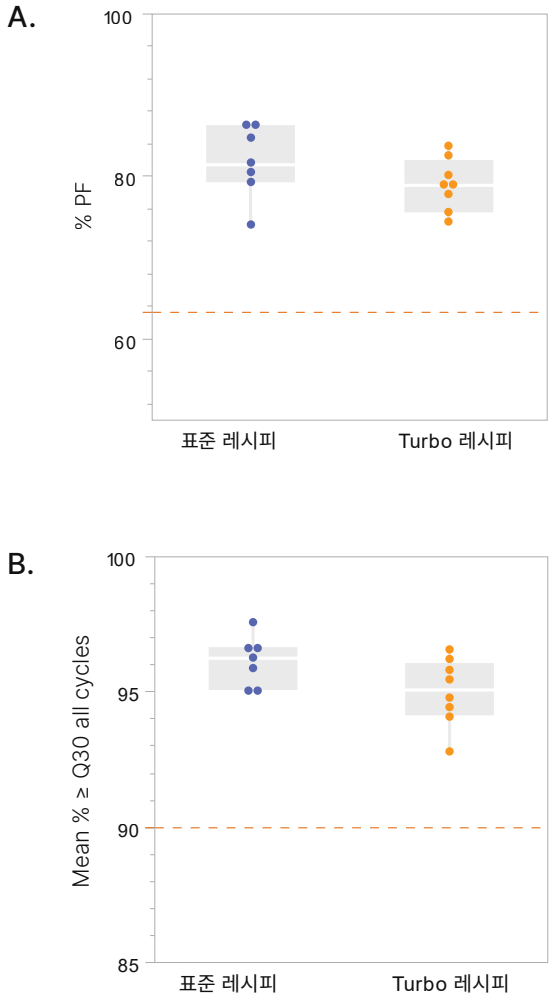


그림 3: MiSeq i100 Turbo 레시피와 표준 레시피 간 높은 1차 메트릭스 일치성

MiSeq i100 25M, 50M 및 100M Reagent Kit(100 Cycles)를 사용한 여러 런에서 취합한 두 레시피의 (A) 필터 통과 리드 비율(percent reads passing filter, % PF) 및 (B) 모든 사이클에서 Q30 이상인 리드의 평균 비율(mean percent of reads ≥ Q30)

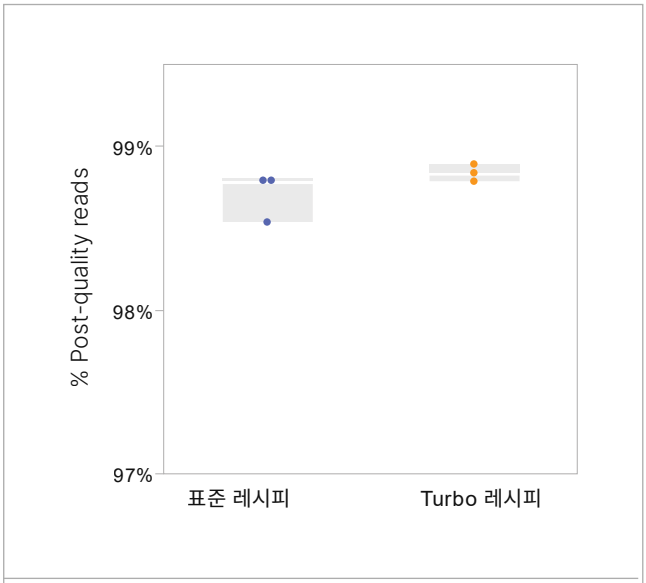


그림 4: MiSeq i100 Turbo 커스텀 레시피 사용 시 확인된 높은 정확도의 리드

25M Reagent Kit(100 Cycles)를 사용한 3회의 런에서 DRAGEN Microbial Enrichment Plus 앱이 보고한 품질 필터링 후 리드의 비율을 Turbo 레시피와 표준 레시피 간에 비교한 결과

호흡기 병원체 검출을 위한 우수한 분석 성능

Turbo 커스텀 레시피는 assay 성능을 저해시키지 않으면서 분석 시간을 크게 단축합니다. Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel Kit는 RP2.1 Control 1의 병원체 12종 중 11종을 표적으로 하며, 표적인 11종의 병원체가 Turbo 레시피와 표준 레시피 런에서 모두 검출되었습니다(표 1). RP2.1 Control 1에는 31형 아데노바이러스(adenovirus type 31)도 포함되어 있지만, 이 병원체는 Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel Kit의 표적이 아니므로 보고되지 않습니다.

1M 개의 품질 필터링된 리드당 1킬로베이스의 표적 시퀀스별 매핑된 표적 리드의 수(reads per kilobase of targeted sequence per million quality-filtered reads, RPKM)의 평균값을 DRAGEN Microbial Enrichment Plus 앱에서 보고한 3회의 반복 실험(replicate)에 걸쳐 산출하여 각 표적 바이러스 및 세균에 대해 평가했습니다. RPKM은 표적 시퀀스 길이와 시퀀싱 뎁스(depth)의 차이를 고려하도록 표적 리드 수를 정규화(normalization)합니다. RP2.1 Control 1을 사용하여 보고된 병원체당 RPKM은 Turbo 레시피와 표준 레시피 시퀀싱 런 간에 높은 상관관계를 보였습니다(그림 5).

표 1: Turbo 커스텀 레시피와 표준 레시피를 사용한 런에서의 병원체 검출 결과 요약

NATtrol RP2.1 Control 1 Panel ID	보고된 병원체 이름	3회의 런에 걸친 검출 결과 요약	
		표준 레시피	Turbo 레시피
Adenovirus type 1	Human adenovirus C	3/3	3/3
Adenovirus type 3	Human adenovirus B	3/3	3/3
Adenovirus type 31[a]	(표적이 아니거나 보고되지 않음)	–	–
Chlamydia pneumoniae CWL-029	*Chlamydia pneumoniae*	3/3	3/3
Influenza A 2009 H1N1 pdm A/NY/02/2009	Influenza A virus (H1N1)	3/3	3/3
Influenza A H3N2 A/Brisbane/10/07	Influenza A virus (H3N2)	3/3	3/3
Metapneumovirus B Peru6-2003	Human metapneumovirus (HMPV)	3/3	3/3
Mycoplasma pneumoniae M129	*Mycoplasma pneumoniae*	3/3	3/3
Parainfluenza type 1	Human parainfluenza virus 1 (HPIV-1)	3/3	3/3
Parainfluenza type 4	Human parainfluenza virus 4 (HPIV-4)	3/3	3/3
Rhinovirus 1A	Human rhinovirus A (HRV-A)	3/3	3/3
SARS-CoV-2 USA-WA 1/2020	SARS-CoV-2	3/3	3/3

a. Adenovirus type 31은 RP2.1 Control 1 혼합물에 포함되어 있지만, Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel Kit는 이를 표적으로 하지 않으므로 검출되지 않을 것으로 예상됨

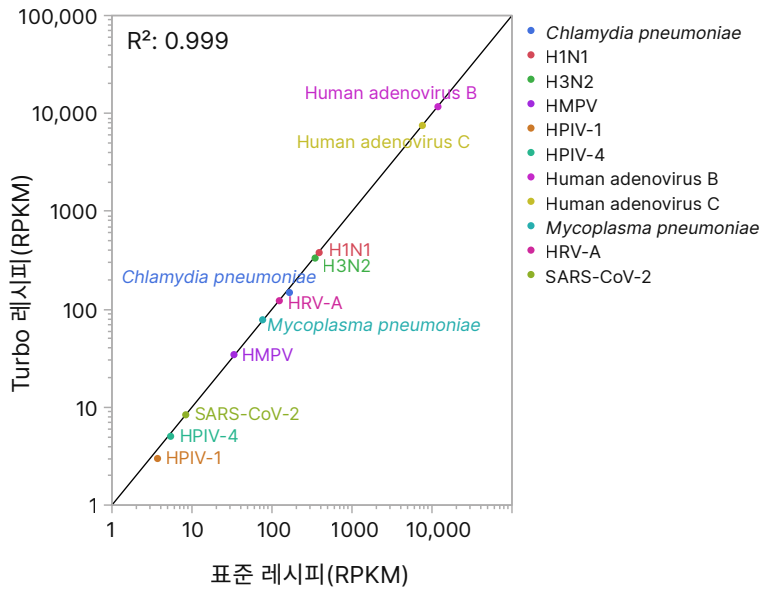


그림 5: MiSeq i100 Turbo 레시피와 표준 레시피의 병원체 검출 결과 간 높은 상관관계
Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel의 표적인 NATtrol RP2.1 Control 1에 포함된 11종의 병원체를 대상으로, 25M Reagent Kit (100 Cycles)를 사용하여 Turbo 커스텀 레시피와 표준 레시피의 런을 각각 3회 수행한 후, 취합한 두 레시피의 RPKM(1M 개의 품질 필터링된 리드당 1 kb의 표적 시퀀스별 매핑된 표적 리드의 수) 간 상관관계를 나타낸 그래프

요약

MiSeq i100 시리즈의 Turbo 커스텀 레시피를 사용하면 호흡기 병원체 식별을 위한 시퀀싱을 가속화하여, 높은 시퀀싱 품질을 유지하면서 시퀀싱 시간을 40% 단축할 수 있습니다. 호흡기 병원체 품질 대조군 분석 결과, Turbo 레시피 기반 워크플로우와 표준 MiSeq i100 시퀀싱 레시피 간에 높은 일치도가 확인되었습니다.

MiSeq i100 Series 25M, 50M 및 100M Reagent Kit(100 Cycles)용 Turbo 커스텀 레시피를 이용하려면 Illumina 기술지원팀(techsupport@illumina.com)에 문의하시기 바랍니다.

상세 정보

MiSeq i100 시리즈

Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel Kit

참고 문헌

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.

illumina®

무료 전화(한국) 080-234-5300
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2026 Illumina, Inc. All rights reserved.
모든 상표는 Illumina, Inc. 또는 각 소유주의 자산입니다.
특정 상표 정보는 www.illumina.com/company/legal.html을 참조하십시오.
M-GL-04204 v1.0 KOR