

MiSeq™ i100 시리즈의 Index-First 시퀀싱 기능

시퀀싱 런 타임 및 QC 메트릭스 생성 시간 단축

실시간 런 관리

디멀티플렉싱 정보를 더 빨리
확보하여 효율적으로 시퀀싱 런 계획
가능

고품질 데이터

Read-First 시퀀싱과 동일한 데이터
성능

짧은 소요 시간

다양한 런 구성에서 Read-First
시퀀싱보다 빠른 결과 제공

소개

Illumina 차세대 시퀀싱(next-generation sequencing, NGS) 기술의 중심에는 Illumina의 모든 시퀀싱 시스템에 사용되는 sequencing by synthesis(SBS) chemistry가 있습니다. 일반적으로 Illumina의 시퀀싱 시스템은 리드를 먼저 시퀀싱(즉, Read-First 시퀀싱)하는데, 이 경우 시퀀싱 단계는 Read 1 시퀀싱, Index 1 시퀀싱, 페어드 엔드 재합성(paired-end resynthesis, PER), Index 2 시퀀싱, Read 2 시퀀싱의 순서로 진행됩니다. 한편 MiSeq i100 시리즈는 인덱스를 먼저 시퀀싱(즉, Index-First 시퀀싱)하는 기능을 제공하여 시퀀싱 단계가 Index 1 시퀀싱, Index 2 시퀀싱, Read 1 시퀀싱, PER, Read 2 시퀀싱의 순서로 진행됩니다([그림 1](#)). Index-First 시퀀싱은 디멀티플렉싱(demultiplexing) 결과를 더 빨리 제공하여 연구자가 실시간으로 런(run)을 관리하고 다양한 런 구성에서 런 타임을 단축할 수 있게 해 줍니다. 연구자는 디멀티플렉싱 정보를 초기에 확보하므로 샘플 분포가 이상적이지 않을 경우 런을 취소한 후 재시작하거나, 필요시 후속 런을 계획해 볼 수도 있습니다. Index-First 시퀀싱은 성능이나 데이터 품질의 저해 없이 기존의 주요 애플리케이션 및 워크플로우에 적용됩니다. MiSeq i100 시리즈 플랫폼은 기본적으로 Index-First 시퀀싱을 수행하도록 설정되어 있지만, 연구자가 런 설정 단계에서 Read-First 시퀀싱 옵션을 선택할 수 있습니다.*

이 Technical Note는 두 가지 시퀀싱 런 구성을 비교하였는데, 하나는 Respiratory Pathogen ID/AMR Panel을 사용한 싱글 리드(single-read)와 듀얼 인덱스로 구성된 시퀀싱이고, 다른 하나는 페어드 엔드 리드(paired-end read)와 듀얼 인덱스로 구성된 작은 전장 유전체 시퀀싱(small whole-genome sequencing, sWGS)입니다. 비교 결과, Index-First 시퀀싱은 Read-First 시퀀싱과 비교했을 때 동일하게 고품질의 데이터를 생성하면서 런 타임을 단축하는 것으로 나타났습니다.

방법

Respiratory Pathogen ID/AMR Panel

샘플은 NATtrol Respiratory Panel 2.1(RP2.1) Controls(ZeptoMetrix, 카탈로그 번호: NATRPC2.1-BIO)를 사용하여 Respiratory Pathogen ID/AMR Panel User Guide에 기술되어 있는 DNA/RNA Extraction Procedure에 따라 준비했습니다. 라이브러리는 Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Kit Set A(RUO)(96 indexes, 96 samples) 제품(Illumina, 카탈로그 번호: 20047050)으로 준비했습니다.

* 커스텀 프라이머(primer)를 사용하는 표적 시퀀싱 방법(예: Illumina Custom Enrichment Panel v2)은 Index-First 시퀀싱이 지원되지 않으며, 이 경우 연구자는 런 설정 단계에서 Read-First 시퀀싱을 선택해야 합니다.



준비한 라이브러리를 가지고 MiSeq i100 Plus 시스템에서 MiSeq i100 Series 25M Reagent Kit(300 Cycles; Illumina, 카탈로그 번호: 20126568)를 사용하여 10 bp 듀얼 인덱싱, 샘플당 1M 개의 클러스터(12-plex 풀) 조건에서 1 × 147 bp 시퀀싱 런을 수행했습니다. 디멀티플렉싱 결과는 DRAGEN™ BCL Convert 앱(v4.3.13)으로 분석했습니다. 2차 분석의 경우 DRAGEN Microbial Enrichment Plus 앱(v1.1.0)을 사용하여 미생물을 검출하고 공통 시퀀스(consensus sequence)를 생성할 수 있습니다(이 Technical Note에는 해당 데이터가 포함되어 있지 않음).

sWGS

sWGS 라이브러리는 100 ng의 상용 미생물 유전체 DNA(genomic DNA, gDNA)를 사용하여 Illumina DNA Prep(Illumina, 카탈로그 번호: 20060060)으로 준비했습니다.

준비한 라이브러리를 가지고 MiSeq i100 Plus 시스템에서 MiSeq i100 Series 25M Reagent Kit(300 Cycles; Illumina, 카탈로그 번호: 20126568)를 사용하여 10 bp 듀얼 인덱싱(24-plex 풀) 조건에서 2 × 151 bp 런을 수행했습니다. 디멀티플렉싱 결과는 DRAGEN BCL Convert 앱(v4.3.13)으로 분석했습니다. 2차 분석의 경우 DRAGEN Small Whole Genome Sequencing 앱(v4.3.13)을 사용하여 레퍼런스 기반의 미생물 유전체 매핑을 실행할 수 있습니다(이 Technical Note에는 해당 데이터가 포함되어 있지 않음).

결과

Index-First 시퀀싱으로 단축된 런 타임

Respiratory Pathogen ID/AMR Panel 라이브러리와 sWGS 라이브러리를 MiSeq i100 Plus 시스템에서 Index-First 및 Read-First 시퀀싱 프로토콜에 따라 시퀀싱한 결과, Respiratory Pathogen ID/AMR Panel 라이브러리는 PER가 필요하지 않으므로 Index-First 시퀀싱 런 타임이 더 짧았으며, 디멀티플렉싱 결과 도출까지의 시간은 두 종류의 라이브러리와 두 가지 런 구성에서 모두 감소한 것으로 관찰되었습니다(그림 2).

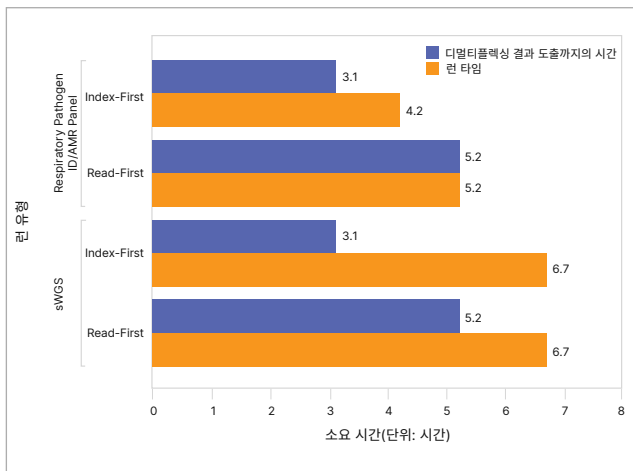


그림 2: 시퀀싱 런 타임의 비교

MiSeq i100 Plus 시스템으로 Index-First 시퀀싱을 수행했을 때 Read-First 시퀀싱에 비해 Respiratory Pathogen ID/AMR Panel 라이브러리(싱글 리드)의 런 타임(주황색 막대)이 단축되었고, 두 종류의 라이브러리(싱글 리드 및 페어드 엔드 리드) 모두 디멀티플렉싱 결과 도출까지의 시간(파란색 막대)이 감소됨

Index-First 시퀀싱으로 생성된 고품질 런 매트릭스

Q30 이상인 염기(base)의 비율, 필터 통과 클러스터(clusters passing filter, CPF)를 포함한 시퀀싱 런 매트릭스를 비교했습니다. MiSeq i100 Plus 시스템으로 Index-First 시퀀싱과 Read-First 시퀀싱을 수행했을 때 두 종류의 라이브러리와 두 가지 런 구성에서 모두 고품질의 데이터를 생성한 것이 확인되었습니다(그림 3).

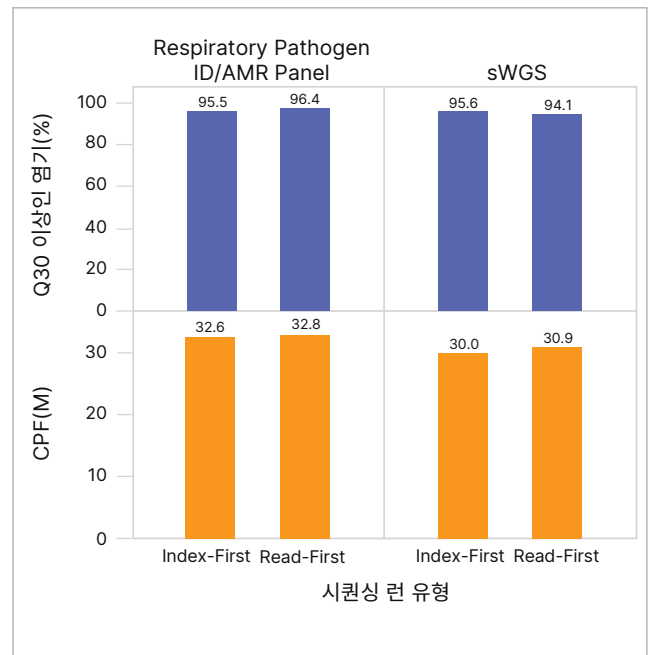


그림 3: 시퀀싱 런 매트릭스의 비교

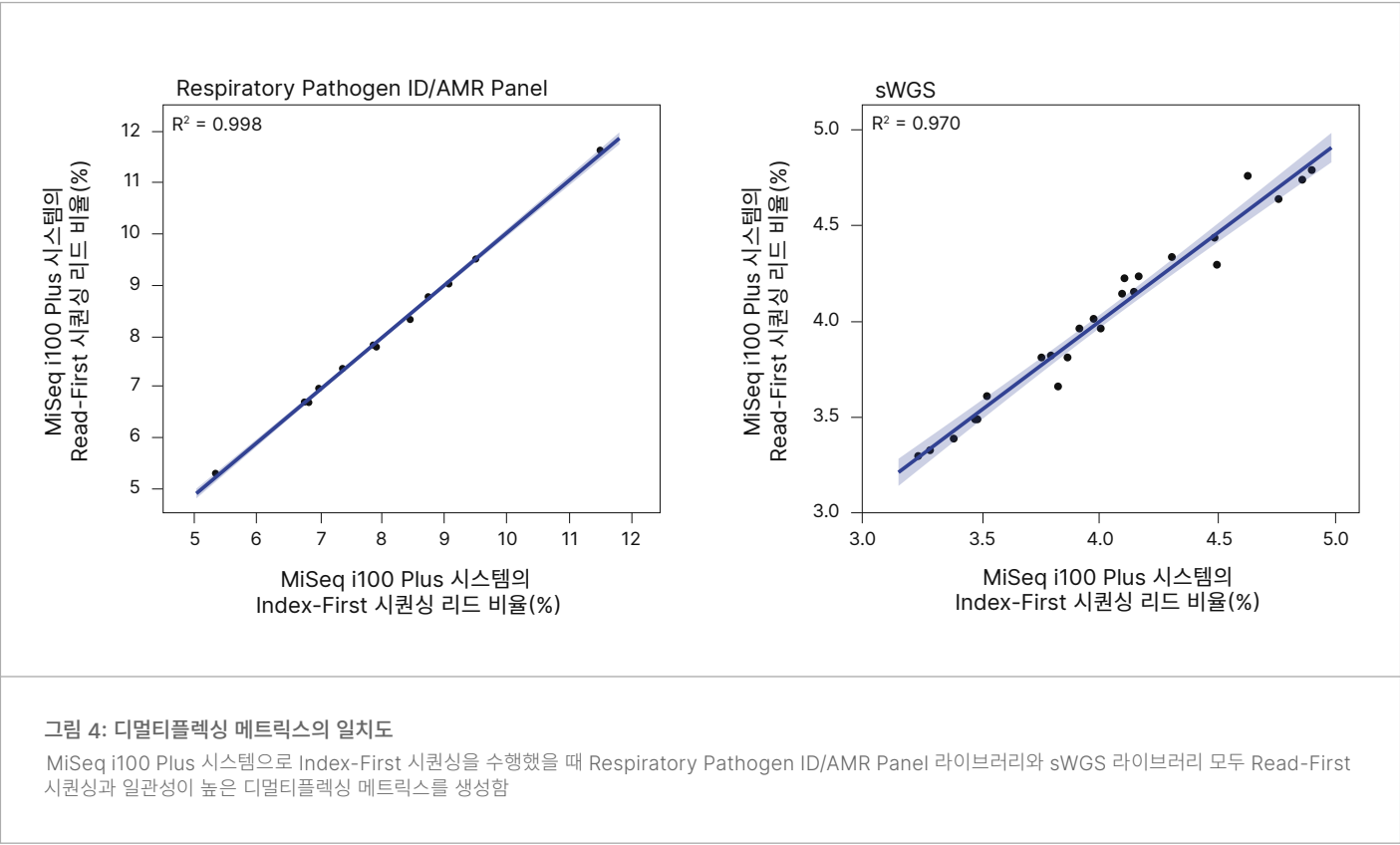
Q30 이상인 염기의 비율(파란색 막대)과 CPF(주황색 막대)를 통해 확인할 수 있듯이, MiSeq i100 Plus 시스템으로 Index-First 시퀀싱을 수행했을 때 Respiratory Pathogen ID/AMR Panel 라이브러리와 sWGS 라이브러리 모두 Read-First 시퀀싱과 동일한 고품질의 데이터를 생성함

일치도 높은 디멀티플렉싱 결과

MiSeq i100 Plus 시스템의 디멀티플렉싱 매트릭스는 모든 런 구성에 걸쳐 일관되게 나타났으며, Respiratory Pathogen ID/AMR Panel과 sWGS 모두 Index-First 시퀀싱과 Read-First 시퀀싱 간 밀접한 샘플 상관관계를 보였습니다(표 1 및 그림 4).

표 1: 디멀티플렉싱 매트릭스의 비교

라이브러리	런 유형	확인된 리드 비율(%)	CV	최소 %	최대 %
Respiratory Pathogen ID/AMR Panel (12-plex 풀)	Index-First 시퀀싱	97.1	0.20	5.3	11.5
	Read-First 시퀀싱	96.3	0.21	5.3	11.6
sWGS(24-plex 풀)	Index-First 시퀀싱	96.8	3.1	3.1	4.8
	Read-First 시퀀싱	96.7	3.3	3.3	4.8



요약

Illumina는 MiSeq i100 시리즈를 통해 Illumina NGS 기술에 Index-First 시퀀싱 기능을 처음 도입했습니다. 연구자는 Index-First 시퀀싱으로 멀티플렉싱 결과를 더 빠르게 확보하고 실시간으로 런을 관리할 수 있습니다. 이 Technical Note는 Index-First 시퀀싱이 Read-First 시퀀싱과 동일한 고품질의 데이터를 생성함을 보여줍니다.

상세 정보

[MiSeq i100 시리즈](#)



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

© 2025 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-02415 v1.0 KOR