

MiSeq™ i100 시리즈를 이용한 호흡기 바이러스 시퀀싱

표적 차세대 시퀀싱(NGS)을 통한
A/B형 호흡기 세포융합 바이러스(RSV)와
SARS-CoV-2의 정확한 검출



호흡기 바이러스의 정확한
검출 및 유전체 특성 파악



다양한 연구 요구 사항을
충족하는 앰플리콘 및 인리치먼트
기반의 유연한 라이브러리 프렙
솔루션



하루 안에 신속하게 결과를
제공하는 호흡기 바이러스 감시에
효율적인 엔드투엔드 워크플로우

소개

호흡기 세포융합 바이러스(Respiratory syncytial virus, RSV)와 SARS-CoV-2는 유사한 증상을 보이며 주기적으로 동시에 유행하기도 합니다.¹⁻³ 적절한 공중 보건 위기 대응과 자원 분배를 위해서는 적시에 효과적인 바이러스 감시를 통해 지속적인 모니터링을 하는 것이 중요합니다.^{4,5}

지금까지 바이러스 감시 활동은 세포 배양을 통해 바이러스를 분리 및 증폭한 후 유전적 특성을 파악하는 방법에 크게 의존해 왔습니다. 이 방법은 효과적이기는 하나 결과 도출까지 상당한 시간이 소요되며 배양 중 적응(adaptation) 과정으로 인해 바이러스 유전체 시퀀스의 편향(bias)을 초래할 수 있습니다.^{6,7} PCR은 빠르고 간편하게 바이러스 핵산 및 항원을 검출할 수 있는 방법이지만 제한적인 정보만을 제공하고 표적 영역에서 돌연변이가 발생할 경우 위양성(false positive) 결과를 도출할 수 있습니다.^{8,9}

앰플리콘(Amplicon) 및 인리치먼트(enrichment) 기반의 시퀀싱과 같은 표적 차세대 시퀀싱(next-generation sequencing, NGS) 방법은 신속하고 편향되지 않은 포괄적인 유전체 프로파일을 지원하여 호흡기 바이러스 검출 및 특성 확인 시 처리 속도와 해상도를 향상시킴으로써 연구자가 샘플에서 바로 매우 정확도 높은 변이 정보를 확보할 수 있게 해 줍니다.¹⁰ 이는 다른 바이러스 병원체보다 빠르게 돌연변이가 축적되는 RNA 바이러스를 연구할 때 특히 중요하며,¹¹ 바이러스 전파 및 진화의 추적과 의학적 대응품(medical countermeasure, MCM)의 유효성에 영향을 줄 수 있습니다.^{4,5,8}

이 Application Note는 Illumina 앰플리콘 및 인리치먼트 기반의 라이브러리 프렙 솔루션, MiSeq i100 시리즈 그리고 온보드 DRAGEN™ Secondary Analysis로 구성된 하루 안에 결과를 제공하는 Illumina NGS 워크플로우를 사용하여 인위적으로 제작한 샘플과 실제 수집된 비강 도말 검체에서 A형 RSV, B형 RSV, SARS-CoV-2 등의 호흡기 바이러스를 검출하고 그 특성을 확인하는 방법을 소개합니다(그림 1).

방법

샘플

인위적인 샘플 12개와 비식별화된 바이러스 양성 비인두 도말 잔여 검체 42개를 합해 총 54개의 샘플을 테스트했습니다(표 1). 비식별화된 잔여 임상 샘플과 해당 샘플의 RT-PCR 결과는 Arizona State University Biodesign Clinical Testing Laboratory와의 공동 연구의 일환으로 제공받았습니다. 인위적인 샘플은 병원체 RNA의 copy 10~10,000개를 분자생물학 실험용수(molecular biology grade water)와 Promega의 Human Genomic DNA(gDNA, 카탈로그 번호: G1521) 10 ng를 혼합한 매질(matrix)에 섞어 총 8.5 µl를 준비했습니다(표 2). 비강 도말 샘플은 이전에 A형 RSV, B형 RSV 및 SARS-CoV-2의 분자 진단 검사를 실시했던 민간 랩 2개소를 통해 확보했습니다. DNA와 RNA는 QIAasympyphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit(QIAGEN, 카탈로그 번호: 937036)를 200 µl 사용하거나 ZymoBIOMICS DNA/RNA

 샘플 준비 RNA 추출	 라이브러리 준비 Illumina Microbial Amplicon Prep Illumina COVIDSeq Assay Illumina RNA Prep with Enrichment & Viral Surveillance Panel v2 Illumina Respiratory Virus Enrichment Kit Assay별 9시간 미만 소요	 시퀀싱 MiSeq i100 Plus 시스템 약 7시간 소요	 데이터 분석 DRAGEN Microbial Amplicon 앱 DRAGEN Microbial Enrichment Plus 앱 약 1~2시간 소요
그림 1: 호흡기 바이러스 시퀀싱을 위한 포괄적인 NGS 워크플로우 앰플리콘 또는 표적 인리치먼트 기반의 Illumina 라이브러리 프렙 솔루션(cDNA 합성 포함), MiSeq i100 시리즈를 사용하는 시퀀싱 그리고 DRAGEN Secondary Analysis로 구성된 워크플로우로 A형 및 B형 RSV와 SARS-CoV-2를 정확하게 검출하고 그 특성을 파악할 수 있음			

표 1: 성능 평가에서 테스트된 샘플

샘플 종류	검출 예상 바이러스	샘플 수
인위적인 샘플 (gDNA 내 유전체 RNA)	A형 RSV	4
	B형 RSV	4
	SARS-CoV-2 (Omicron)	4
인위적인 샘플의 수		12
바이러스 양성 비인두 도말 검체	A형 RSV	16
	B형 RSV	6
	SARS-CoV-2 (Omicron)	20
도말 검체의 수		42
총 샘플의 수		54

표 2: 인위적인 샘플의 제작에 사용된 바이러스 균주

바이러스	균주	공급 업체	카탈로그 번호
A형 RSV	A2	ATCC	VR-1540DQ
B형 RSV	B2-18537	ATCC	VR-1580DQ
SARS-CoV-2 (Omicron)	B.1.1.529/ BA.2	Twist Bioscience	105346
반응당 copy의 수	Copy의 수 ^a	A형 RSV의 Ct 값	B형 RSV의 Ct 값
10	1.2	38.56	36.28
100	12	34.22	32.47
1,000	118	31.26	29.14
10,000	1,175	27.40	26.18
a. 라이브러리 준비에 사용된 copy의 수			

Miniprep Kit(Zymo Research, 카탈로그 번호: R2002)를 400 µl 사용하여 제조 업체의 지침에 따라 각각 추출했으며, 8.5 µl의 RNA를 라이브러리 준비에 사용했습니다. 이어서 A형 RSV 및 B형 RSV 비강 도말 샘플의 qPCR을 Ct 정보 없이 공시된 프로토콜에 따라 진행했습니다.¹² 5 µl의 샘플을 iTaq Universal Probes One-Step Kit, 500 × 20 µl reactions(Bio-Rad Laboratories, Inc., 카탈로그 번호: 1725141) 및 AriaMx Real-Time PCR System(Agilent Technologies, Inc., 카탈로그 번호: G8830A)과 사용했습니다.

라이브러리 준비

앰플리콘 및 표적 인리치먼트 방법을 사용하여 모든 샘플로부터 시퀀싱에 바로 사용할 수 있는 라이브러리를 준비했습니다. 앰플리콘 라이브러리는 공시된 A형 RSV 및 B형 RSV 프라이머(primer)를 사용하여 Illumina Microbial Amplicon Prep(Illumina, 카탈로그 번호: 20097857) 또는 COVIDSeq™ Assay(96 Samples)(Illumina, 카탈로그 번호: 20049393)로 준비했습니다.¹³ 인리치먼트 라이브러리는 Illumina RNA Prep with Enrichment (L) Tagmentation과 Viral Surveillance Panel v2 Kit(Illumina, 카탈로그 번호: 20108081) 또는 Respiratory Virus Enrichment Kit(Illumina, 카탈로그 번호: 20100469)를 사용하여 3-plex 반응 조건에서 준비했습니다. 비교를 위해 인리치먼트를 거치지 않은 Illumina RNA Prep with Enrichment 라이브러리를 사용했습니다.

시퀀싱

앰플리콘 및 인리치먼트 라이브러리를 가지고 MiSeq i100 Plus 시스템(Illumina, 카탈로그 번호: 20115695)에서 25M 플로우 셀을 사용하여 2 × 151 bp 시퀀싱 런(run)을 수행했습니다. 비교를 위해 인리치먼트를 거치지 않은 샷건(shotgun) 라이브러리를 가지고 NextSeq™ 550 시스템(Illumina, 카탈로그 번호: SY-415-1002)으로 2 × 151 bp 시퀀싱 런을 진행했습니다.

데이터 분석

시퀀싱 후 생성된 FASTQ 데이터 세트는 앰플리콘 라이브러리는 0.5M(million) 개의 클러스터(cluster) 또는 1M 개의 페어드 엔드 리드(paired-end(PE) read)로, 인리치먼트를 거친 라이브러리는 1M 개의 클러스터 또는 2M 개의 PE 리드로 다운샘플링(downsampling)했습니다. FASTQ 파일은 MiSeq i100 Plus 시스템 내에서 또는 BaseSpace™ Sequence Hub에서 DRAGEN Microbial Enrichment Plus 앱을 실행하여 Viral Surveillance Panel v2 또는 Illumina Respiratory Virus Enrichment Kit 레퍼런스를 적용하여 분석했습니다. 앰플리콘 라이브러리는 DRAGEN Microbial Amplicon 앱으로 처리했습니다. 샷건 라이브러리는 DRAGEN Microbial Enrichment Plus 앱과 Viral Surveillance Panel v2 레퍼런스를 이용하여 분석했습니다. 통계 분석과 데이터 시각화에는 [GraphPad Prism 10](#)과 [JMP 18](#)을 각각 사용했습니다.

결과

시퀀싱 매트릭스

앰플리콘 및 인리치먼트 라이브러리를 MiSeq i100 Plus 시스템으로 4번의 런에 걸쳐 시퀀싱했습니다. 4번의 런 모두 필터를 통과한 리드(reads passing filter, % PF)가 > 93%이고 평균 Q30 점수가 > 84%인 고품질의 데이터를 생성하여 신뢰도 높은 후속 분석의 토대를 마련했습니다. 또한 4번의 런 모두 기기의 시퀀싱 런과 분석을 완료하는 데에 10시간도 채 걸리지 않았습니다(표 3). 이는 MiSeq i100 Plus 시스템이 적시에 공중 보건 모니터링 및 대응에 필요한 결과를 제공할 수 있는 속도와 효율성을 갖추고 있음을 보여줍니다.

다양한 바이러스 유전체 농도 조건에서의 검출

호흡기 바이러스 검출 민감도를 평가하기 위해 바이러스 copy의 수가 다양한 인위적인 샘플을 사용하여 적정(titration) 실험을 진행했습니다. Illumina Microbial Amplicon Prep과 COVIDSeq Assay로 준비한 라이브러리는 바이러스 copy 100개까지 신뢰할 수 있는 A/B형 RSV 및 SARS-CoV-2 검출 결과를 각각 보여주었습니다(그림 2).* 모든 조건에서 B형 RSV가 A형 RSV보다 커버리지(> 10x)가 높고 정렬된 리드가 많은 것으로 확인되었는데, 이는 B형 RSV가 A형 RSV에 비해 시퀀스 보존도(conservation)가 높고 SNP(single nucleotide polymorphism, 단일 염기 다형성)가 적기 때문일 수 있습니다.¹⁴

* 유전체 커버리지 깊이(coverage depth)는 > 10x를 임계값으로 하여 측정되었으며, 정렬된 리드(aligned read)의 수는 1M 개로 다운샘플링된 PE 리드를 기반으로 도출됨. 검출 한계(Limit of detection, LOD) 데이터는 정성적 비교를 위해 제한적인 반복 실험(replicate)을 통해 생성됨

SARS-CoV-2 검출 민감도가 RSV 검출 민감도보다 낮은 이유는 합성 RNA를 인위적인 샘플에 들어 있는 바이러스 유전 물질로 사용했기 때문인데, 합성 RNA는 비교적 더 빠르게 분해되고 생물학적 보호막이 없으며 부정확하게 정량될 수 있어 유전체 RNA만큼 실제 수집된 샘플의 조건을 반영하지 못하는 것으로 알려져 있습니다.¹⁵

유전자 커버리지와 1M 개의 매핑된 리드당 1 kb별 리드의 수 (reads per kilobase per million mapped reads, RPKM)를 살펴본 결과, 앰플리콘 기반 라이브러리 프레임 솔루션과 인리치먼트 기반 라이브러리 프레임 솔루션 모두 총 유전체 copy의 수가 ≥ 1,000개인 인위적인 샘플(현재 연구에 사용된 qPCR assay의 Ct < 30) 내 A형 RSV 및 B형 RSV 바이러스가 > 85%의 유전자 커버리지를 안정적으로 달성하는 우수한 성능을 보였습니다(그림 3). Copy의 수가 ≥ 100개인 인위적인 샘플(현재 연구에 사용된 qPCR assay의 Ct < 35)의 경우, 본 실험에서는 인리치먼트 패널로 시퀀싱했을 때 앰플리콘 시퀀싱보다 높은 RSV 바이러스 유전체 커버리지를 제공했습니다(그림 3). 이러한 결과는 Ct 값이 일반적으로 낮은 것으로 간주되는 샘플(Ct < 24) 사용 시 이 프라이머 디자인에 이중 증폭 프로토콜(nested amplification protocol)이 필요함을 시사합니다.¹²

비인두 도말 검체 내 호흡기 바이러스 검출

실제 수집된 샘플 사용 시 성능을 확인하기 위해 바이러스 양성 비인두 도말 검체를 가지고 앰플리콘, 인리치먼트 및 샷건 시퀀싱을 수행했습니다. MiSeq i100 Plus 시스템을 이용한 앰플리콘 및 인리치먼트 워크플로우와 비교했을 때 NextSeq 550 시스템으로 시퀀싱한 샷건 라이브러리(즉, 인리치먼트를 거치지 않은 Illumina RNA Prep with Enrichment 라이브러리)는 특히 바이러스 풍부도(abundance)가 상대적으로 낮은 샘플(그림에서 qPCR Ct 값이 높은 부분) 사용 시 SARS-CoV-2, A형 RSV 및 B형 RSV에 대해 낮은 유전체 커버리지를 보였습니다(그림 4~그림 6).

표 3: MiSeq i100 시리즈의 시퀀싱 매트릭스^a

런	라이브러리 종류	샘플 수	시퀀싱 런 타임	DRAGEN Microbial Enrichment Plus 앱 분석 시간 ^b	DRAGEN Microbial Amplicon 앱 분석 시간 ^c	% PF	% Q30
1	Viral Surveillance Panel v2	32	7시간 13분	41분	해당 없음	94.17%	85.99%
2	Illumina Respiratory Virus Enrichment Kit	32	7시간 11분	41분	해당 없음	93.03%	84.25%
3	Illumina Microbial Amplicon Prep	36	7시간 13분	해당 없음	1시간 34분	96.85%	85.96%
4	COVIDSeq Assay	24	6시간 47분	해당 없음	1시간 7분	94.85%	87.12%

a. 샷건 라이브러리의 매트릭스는 이 표에 포함되어 있지 않음
b. MiSeq i100 Plus 시스템에서 실행한 분석
c. BaseSpace Sequence Hub에서 실행한 분석

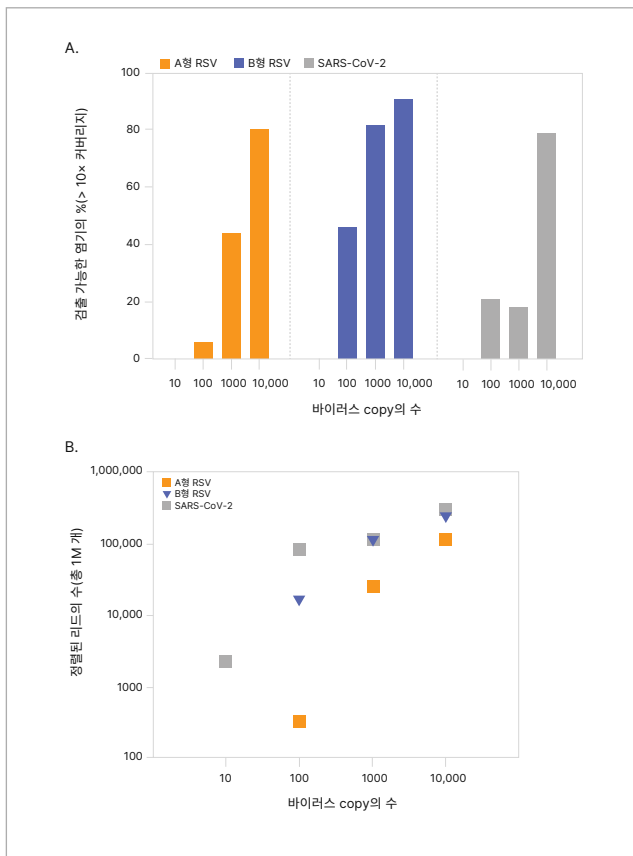


그림 2: Illumina Microbial Amplicon Prep을 사용한 A/B형 RSV 검출 결과 및 COVIDSeq Assay를 사용한 SARS-CoV-2 검출 결과

인위적인 샘플을 사용한 LOD 분석 결과, (A) 유전체 커버리지의 %와 (B) 총 1M 개의 PE 리드에서 검출된 바이러스 유전체에 정렬된 총 리드의 수를 보면, 바이러스 copy 100개까지 높은 민감도로 A형 RSV, B형 RSV 및 SARS-CoV-2가 검출된 것을 확인할 수 있음. 이 데이터는 병원체 특이적 프라이머를 사용하여 DRAGEN Microbial Amplicon 앱으로 분석함

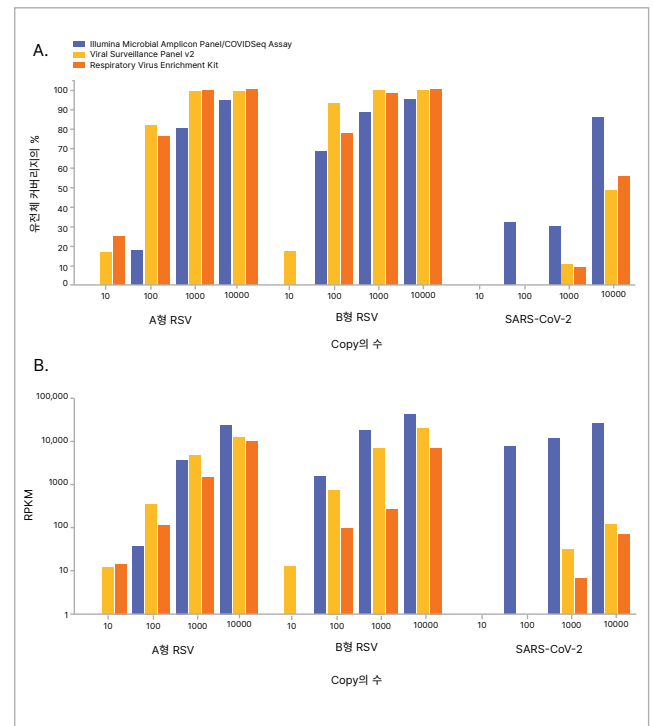


그림 3: 앰플리콘 패널과 인리치먼트 패널의 바이러스 검출 결과 비교

인위적인 샘플 내 바이러스 copy의 수 10개, 100개, 1,000개 및 10,000개에 대한 (A) 유전체 커버리지와 (B) RPKM을 측정한 결과, Illumina Microbial Amplicon Prep 패널과 인리치먼트 패널(Respiratory Virus Enrichment Kit 및 Viral Surveillance Panel v2)은 바이러스 copy 100개까지 비등한 A형 RSV 및 B형 RSV 검출 성능을 보였으며, 특히 Viral Surveillance Panel v2는 바이러스 copy 10개까지 두 가지 RSV 아형을 모두 검출할 수 있는 것이 확인되었음. COVIDSeq Assay는 인리치먼트 패널보다 뛰어난 SARS-CoV-2 검출력을 보였음. 이 데이터는 DRAGEN Microbial Enrichment Plus 앱에서 Viral Surveillance Panel v2 파이프라인 또는 Respiratory Virus Enrichment Kit 파이프라인을 실행하여 분석함

COVIDSeq Assay, Respiratory Virus Enrichment Kit 그리고 Viral Surveillance Panel v2와 Illumina RNA Prep with Enrichment를 사용했을 때 세 가지 패널 모두 바이러스 풍부도가 다양한 비강 도말 샘플에서 성공적으로 SARS-CoV-2를 검출했으며, 바이러스 풍부도가 높은 샘플에서는 검출 가능한 염기(callable base)가 약 100%였고 바이러스 양(viral load)이 비교적 적은 샘플에서도 높은 커버리지를 유지했습니다(그림 4A). 바이러스 풍부도가 높은 대표 비강 도말 샘플(그림에서 qPCR Ct 값이 낮은 부분)의 경우, 앰플리콘 기반의 라이브러리 프렙 키트(그림 4B)와 인리치먼트 기반의 라이브러리 프렙 키트(그림 4C) 모두 포괄적인 유전체 커버리지를 제공했습니다.

Illumina Microbial Amplicon Prep, Respiratory Virus Enrichment Kit 그리고 Viral Surveillance Panel v2와 Illumina RNA Prep with Enrichment를 사용했을 때 세 가지 패널 모두 바이러스 풍부도가 다양한 비강 도말 샘플에서 성공적으로 A형 RSV(그림 5A)와 B형 RSV(그림 6A)를 검출했으며, 바이러스 풍부도가 높은 샘플에서는 검출 가능한 염기가 약 100%였고 바이러스 부하가 비교적 낮은 샘플에서도 높은 커버리지를 유지했습니다. 바이러스 풍부도가 높은 대표 비강 도말 샘플(그림에서 qPCR Ct 값이 낮은 부분)의 경우, 앰플리콘 기반의 라이브러리 프렙 키트(그림 5B 및 그림 6B)와 인리치먼트 기반의 라이브러리 프렙 키트(그림 5C 및 그림 6C) 모두 포괄적인 유전체 커버리지를 제공했습니다.

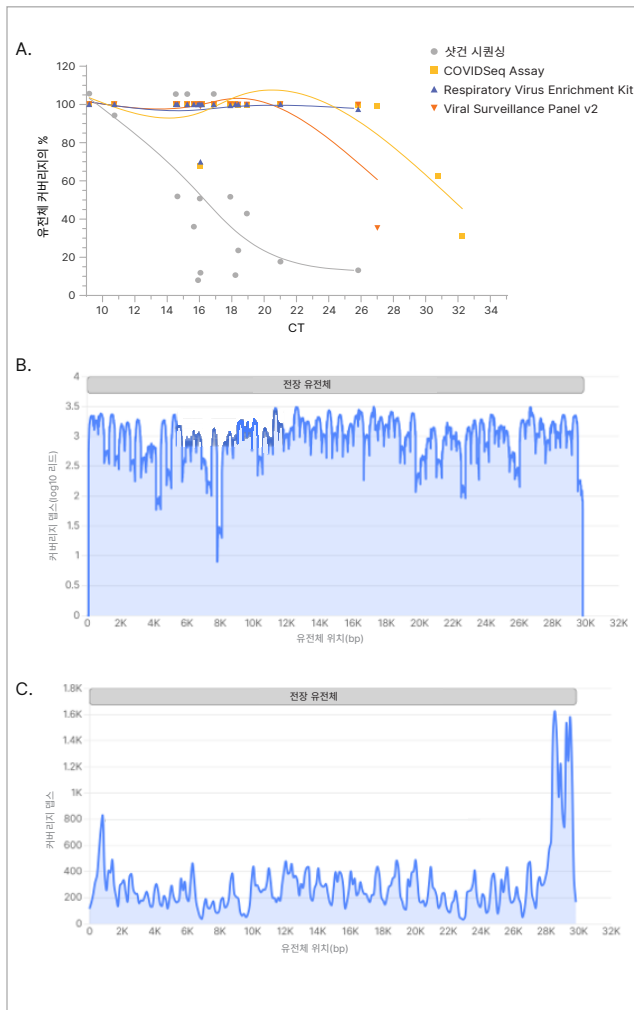


그림 4: 비인두 도말 검체 사용 시 SARS-CoV-2 검출 결과

(A) 유전체 커버리지의 %를 보면, COVIDSeq Assay, Respiratory Virus Enrichment Kit 그리고 Viral Surveillance Panel v2는 모두 바이러스 풍부도가 다양한 임상 검체(그림에서 qPCR Ct 값으로 표시)에서 성공적으로 SARS-CoV-2를 검출한 것을 확인할 수 있음. 유전체 커버리지는 대부분의 바이러스 풍부도 레벨에서 유지되었고 바이러스 레벨이 낮은 검체의 경우 비교적 낮은 커버리지가 관찰됨. (B) DRAGEN Microbial Amplicon 앱(로그 스케일)으로 분석한 SARS-CoV-2의 대표 커버리지 플롯과 (C) DRAGEN Microbial Enrichment Plus 앱(선형 스케일)으로 분석한 SARS-CoV-2의 대표 커버리지 플롯을 보면, 전장 유전체 조립이 완성된 것을 확인할 수 있음

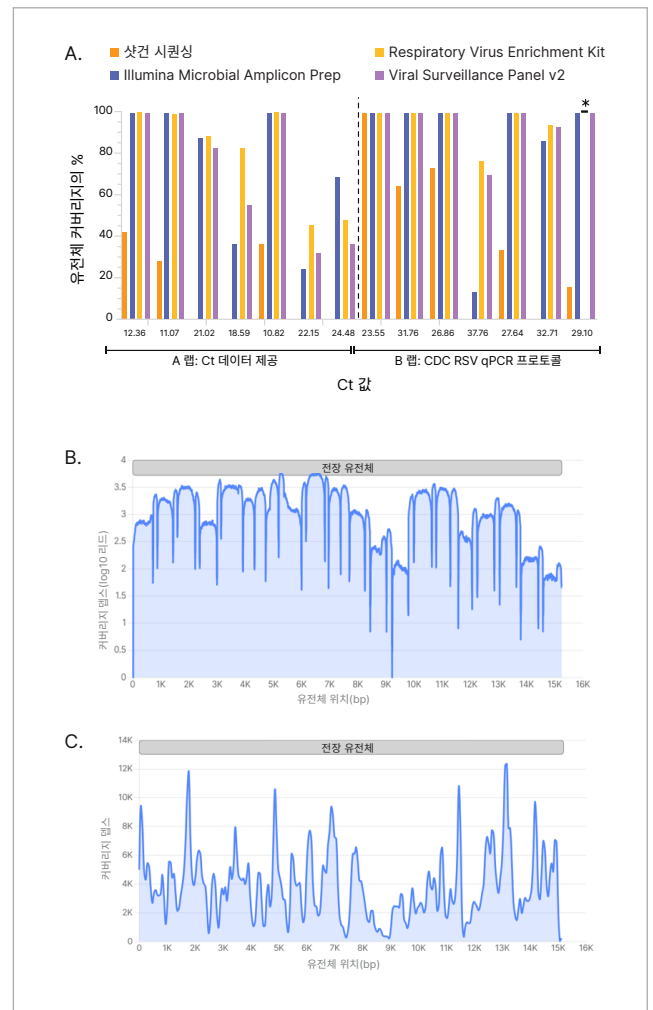


그림 5: 비인두 도말 검체 사용 시 A형 RSV 검출 결과

(A) 유전체 커버리지의 %를 보면, Illumina Microbial Amplicon Prep, Respiratory Virus Enrichment Kit 그리고 Viral Surveillance Panel v2는 모두 바이러스 풍부도가 다양한 임상 검체(그림에서 qPCR Ct 값으로 표시)에서 성공적으로 A형 RSV를 검출한 것을 확인할 수 있음. 유전체 커버리지는 대부분의 바이러스 풍부도 레벨에서 유지되었고 바이러스 레벨이 낮은 검체의 경우 비교적 낮은 커버리지가 관찰됨. (B) DRAGEN Microbial Amplicon 앱(로그 스케일)으로 분석한 A형 RSV의 대표 커버리지 플롯과 (C) DRAGEN Microbial Enrichment Plus 앱(선형 스케일)으로 분석한 A형 RSV의 대표 커버리지 플롯을 보면, 전장 유전체 조립이 완성된 것을 확인할 수 있음

요약

1차 샘플에서 바로 신속하게 고품질의 부분 또는 전체 바이러스 유전체를 확보하는 것은 호흡기 바이러스의 정성 검출을 넘어서는 고유한 정보를 제공하며, 이는 바이러스 감시와 역학 조사에 유용하게 활용할 수 있습니다. 이 Application Note에 소개된 모든 MiSeq i100 워크플로우는 이러한 역량을 기반으로 비용 및 데이터 측면에서 샷건 시퀀싱보다 효율적인 시퀀싱을 지원하며, 각각 다음과 같은 장점도 제공합니다. Illumina Microbial Amplicon Prep 키트와 COVIDSeq Assay 키트는 단일 병원체의 감시에 적합하며 간편하게 표준화된 시퀀싱 워크플로우의 한 구성 요소입니다. 이 두 가지 키트는 본문에 기술된 것처럼 공중 보건 요구 사항에 따라 SARS-CoV-2 프라이머를 RSV 프라이머로 교체하고 DRAGEN Microbial Amplicon 앱에서 RSV 참조 유전체(reference genome)를 선택함으로써 손쉽게 새로운 표적의 검출에 활용할 수 있습니다. 필요시 커스텀 레퍼런스도 DRAGEN Microbial Amplicon 앱에 간단하게 업로드할 수 있습니다.

이 Application Note에서 공유한 RSV 양성 샘플 관련 실험 결과를 통해 확인 가능하듯이, 인리치먼트 기반의 시퀀싱 방법은 백신 항원 결정기(epitope)나 항바이러스 표적과 같은 관심 영역에서 최소한 부분적인 유전체 시퀀스를 생성하는 능력은 그대로 제공하면서 여러 가지 병원체를 동시에 감시할 수 있도록 해 줍니다. Respiratory Virus Enrichment Kit는 호흡기 샘플 내 바이러스의 특성을 중점적으로 파악할 때 더 적합하고 워크플로우 통합 옵션도 제공합니다. 한편 Viral Surveillance Panel v2는 다양한 종류의 샘플에 사용할 수 있고 공중 보건 모니터링이 필요한 다른 많은 바이러스 병원체의 검출 및 특성 파악에도 활용해 볼 수 있습니다.

상세 정보

[MiSeq i100 시리즈](#)

[Illumina Microbial Amplicon Prep](#)

[Illumina Respiratory Virus Enrichment Kit](#)

[Viral Surveillance Panel v2](#)

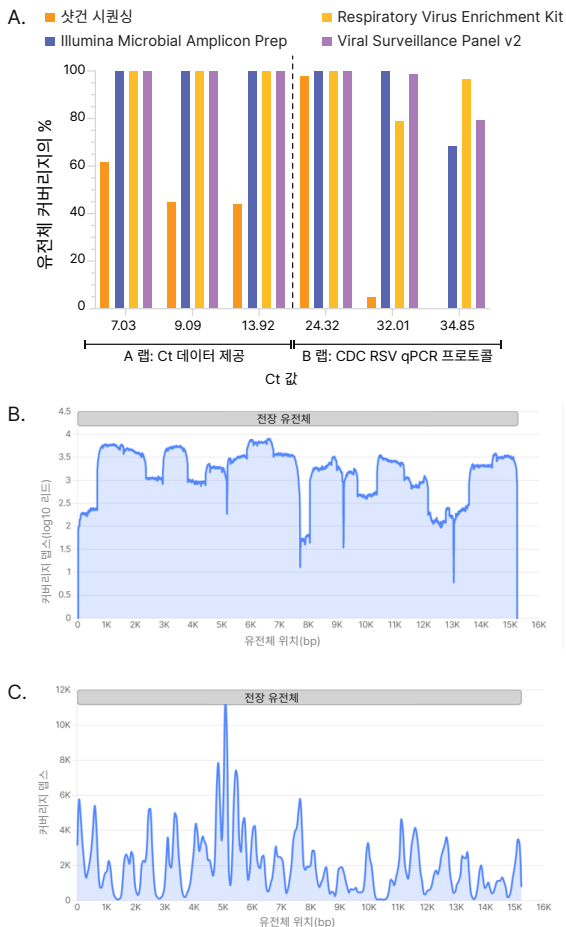


그림 6: 비인두 도말 검체 사용 시 B형 RSV 검출 결과

(A) 유전체 커버리지의 %를 플로팅한 것을 보면, Illumina Microbial Amplicon Prep, Respiratory Virus Enrichment Kit 그리고 Viral Surveillance Panel v2는 모두 바이러스 풍부도가 다양한 임상 검체(그림에서 qPCR Ct 값으로 표시)에서 성공적으로 B형 RSV를 검출한 것을 확인할 수 있음. 유전체 커버리지는 대부분의 바이러스 풍부도 레벨에서 유지되었고 바이러스 레벨이 낮은 검체의 경우 비교적 낮은 커버리지가 관찰됨. (B) DRAGEN Microbial Amplicon 앱(로그 스케일)으로 분석한 B형 RSV의 대표 커버리지 플롯과 (C) DRAGEN Microbial Enrichment Plus 앱(선형 스케일)으로 분석한 B형 RSV의 대표 커버리지 플롯을 보면, 전장 유전체 조립이 완성된 것을 확인할 수 있음

참고 문헌

- Halabi KC, Wang H, Leber AL, Sánchez PJ, Ramilo O, Mejias A. [Respiratory syncytial virus and SARS-CoV-2 coinfections in children](#). *Pediatr Pulmonol*. 2022;57(12):3158-3160. doi:10.1002/ppul.26127
- Morris DR, Qu Y, Thomason KS, et al. [The impact of RSV/ SARS-CoV-2 co-infection on clinical disease and viral replication: insights from a BALB/c mouse model](#). Preprint. *bioRxiv*. 2023;2023.05.24.542043. Published 2023 May 24. doi:10.1101/2023.05.24.542043
- Hartwig SM, Odle A, Wong L-YR, Meyerholz DK, Perlman S, Varga SM. [Respiratory syncytial virus infection provides protection against severe acute respiratory syndrome coronavirus challenge](#). *J Virol*. 2024;98(9):e0066924. doi:10.1128/jvi.00669-24
- Patel TA, Jain B, Raifman J. [Revamping Public Health Systems: Lessons Learned From the Triplememic](#). *Am J Prev Med*. 2024;66(1):185-188. doi:10.1016/j.amepre.2023.08.013
- Eales O, Plank MJ, Cowling BJ, et al. [Key Challenges for Respiratory Virus Surveillance while Transitioning out of Acute Phase of COVID-19 Pandemic](#). *Emerg Infect Dis*. 2024;30(2):e230768. doi:10.3201/eid3002.230768
- Lo SW, Jamrozy D. [Genomics and epidemiological surveillance](#) [published correction appears in *Nat Rev Microbiol*. 2020 Sep;18(9):539. doi: 10.1038/s41579-020-0428-6.]. *Nat Rev Microbiol*. 2020;18(9):478. doi:10.1038/s41579-020-0421-0
- Hodinka RL. [Point: is the era of viral culture over in the clinical microbiology laboratory?](#). *J Clin Microbiol*. 2013;51(1):2-4. doi:10.1128/JCM.02593-12
- Armstrong GL, MacCannell DR, Taylor J, et al. [Pathogen Genomics in Public Health](#). *N Engl J Med*. 2019;381(26):2569-2580. doi:10.1056/NEJMSr1813907
- Schmitz JE, Stratton CW, Persing DH, Tang YW. [Forty Years of Molecular Diagnostics for Infectious Diseases](#). *J Clin Microbiol*. 2022;60(10):e0244621. doi:10.1128/jcm.02446-21
- Yang Y, Walls SD, Gross SM, Schroth GP, Jarman RG, Hang J. [Targeted Sequencing of Respiratory Viruses in Clinical Specimens for Pathogen Identification and Genome-Wide Analysis](#). *Methods and Protocols*. 2018;1838:125-140. doi:10.1007/978-1-4939-8682-8_10
- Vignuzzi M, Andino R. [Closing the gap: the challenges in converging theoretical, computational, experimental and real-life studies in virus evolution](#). *Curr Opin Virol*. 2012;2(5):515-518. doi:10.1016/j.coviro.2012.09.008
- Wang L, Piedra PA, Avadhanula V, et al. [Duplex real-time RT-PCR assay for detection and subgroup-specific identification of human respiratory syncytial virus](#). *J Virol Methods*. 2019;271:113676. doi:10.1016/j.jviromet.2019.113676
- Wang L, Ng TFF, Castro CJ, et al. [Next-generation sequencing of human respiratory syncytial virus subgroups A and B genomes](#). *J Virol Methods*. 2022;299:114335. doi:10.1016/j.jviromet.2021.114335
- Yu JM, Fu YH, Peng XL, Zheng YP, He JS. [Genetic diversity and molecular evolution of human respiratory syncytial virus A and B](#). *Sci Rep*. 2021;11(1):12941. Published 2021 Jun 21. doi:10.1038/s41598-021-92435-1
- Houseley J, Tollervey D. [The many pathways of RNA degradation](#). *Cell*. 2009;136(4):763-776. doi:10.1016/j.cell.2009.01.019



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-02916 v1.0 KOR