

illumina 5-Base DNA Prep

Detecte eventos de metilação e variantes genômicas em um único ensaio de genoma completo



Dados de alta qualidade viabilizados por uma química nova e métodos analíticos inovadores



Ensaio dois em um com fluxo de trabalho e análise fáceis



Descoberta econômica por meio de insights multiômicos

Descoberta multiômica abrangente

O DNA é inerentemente multiômico, contendo informações moleculares genéticas e epigenéticas. Além da sequência de adenina (A), timina (T), guanina (G) e citosina (C), existem bases modificadas, como 5-metilcitosina (5mC), que ajudam a regular a expressão gênica (Figura 1). A detecção da variação genômica e da metilação do DNA pode revelar mecanismos ocultos de saúde e doença. O estudo do genoma e do metiloma normalmente requer ensaios separados de sequenciamento de última geração (NGS) e etapas de análise de dados. Além disso, a maioria dos métodos de análise do perfil de metilação de NGS tem fluxos de trabalho tediosos e complexos.

O Illumina 5-Base DNA Prep aproveita algoritmos exclusivos de química e análise otimizada para uma abordagem fundamentalmente diferente para interrogação e análise de genoma e metiloma. Um novo método enzimático permite a detecção de cinco bases (A, T, G, C e 5mC) a partir de uma única amostra, preparação de biblioteca, corrida de sequenciamento e fluxo de trabalho de análise. O Illumina 5-Base DNA Prep fornece um ensaio de alta qualidade, fácil de usar e econômico para descoberta simultânea de variantes genômicas e eventos de metilação no genoma completo.

Fluxo de trabalho simples e rápido

O Illumina 5-Base DNA Prep combina sequenciamento de genoma completo (WGS) e sequenciamento de metilação em um fluxo de trabalho fácil de usar (Figura 2). Essa solução de fornecedor único fornece um fluxo de trabalho simplificado da biblioteca à interpretação com um tempo de resposta inferior a três dias, até 3 vezes mais rápido do que métodos alternativos de NGS.¹⁻⁵ O Illumina 5-Base DNA Prep é compatível com DNA livre de células (cfDNA) e DNA genômico (gDNA) provenientes de sangue, linhagens celulares ou tecido fresco congelado (Tabela 1). A preparação otimizada da biblioteca, que inclui uma conversão rápida de base 5mC-para-T em etapa única, requer o mínimo de intervenções manuais e é concluída em um único dia (Tabela 1, Figura 3, Figura 4).^{*} A solução 5-base é flexível e escalável para dar suporte a uma variedade de estudos de pesquisa no NovaSeq™ X Series, NovaSeq 6000 System ou NovaSeq 6000Dx Instrument (modo RUO) (Tabela 2, Tabela 3). A análise secundária simplificada com pipelines 5-base DRAGEN™ gera uma leitura dupla em apenas uma hora[†] para um genoma de 30× (Figura 5, Figura 6). A Illumina Connected Multiomics aprofunda a análise com métodos estatísticos comprovados pelo setor e visualizações claras e ricas em informações (Figura 7).

* Menos de 6 horas para o fluxo de trabalho de preparação da biblioteca de cfDNA, menos de 8 horas para o fluxo de trabalho de preparação da biblioteca de gDNA (inclui tempo de fragmentação). O tempo não inclui controle de qualidade (CQ) ou configuração de sequenciamento.

† Pipeline DRAGEN Germline de amostra única em um servidor DRAGEN.

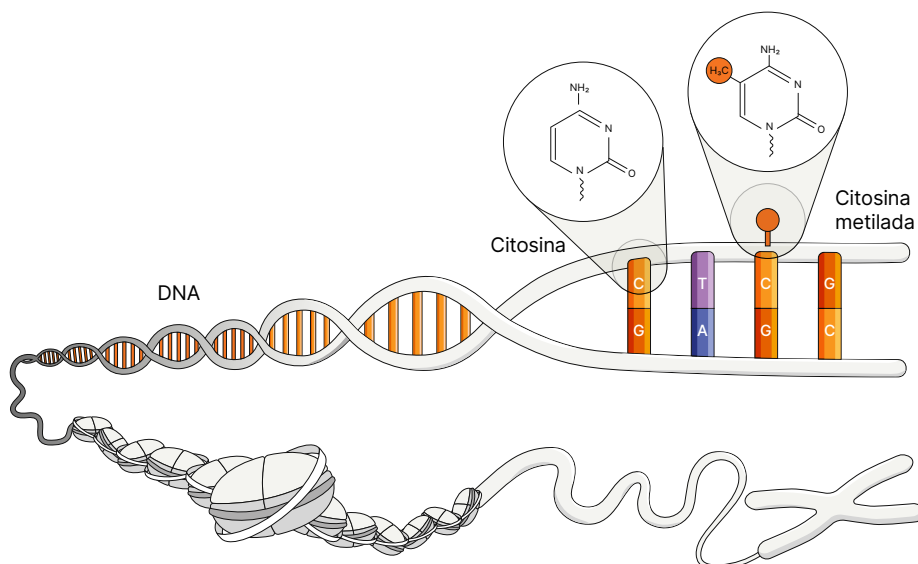


Figura 1: A metilação de DNA de C a 5mC é uma marca epigenética bem estudada para regulação gênica
O Illumina 5-Base DNA Prep detecta 5mC juntamente com bases A, T, G e C não modificadas, fornecendo insights genômicos e epigenômicos de um único ensaio de NGS.

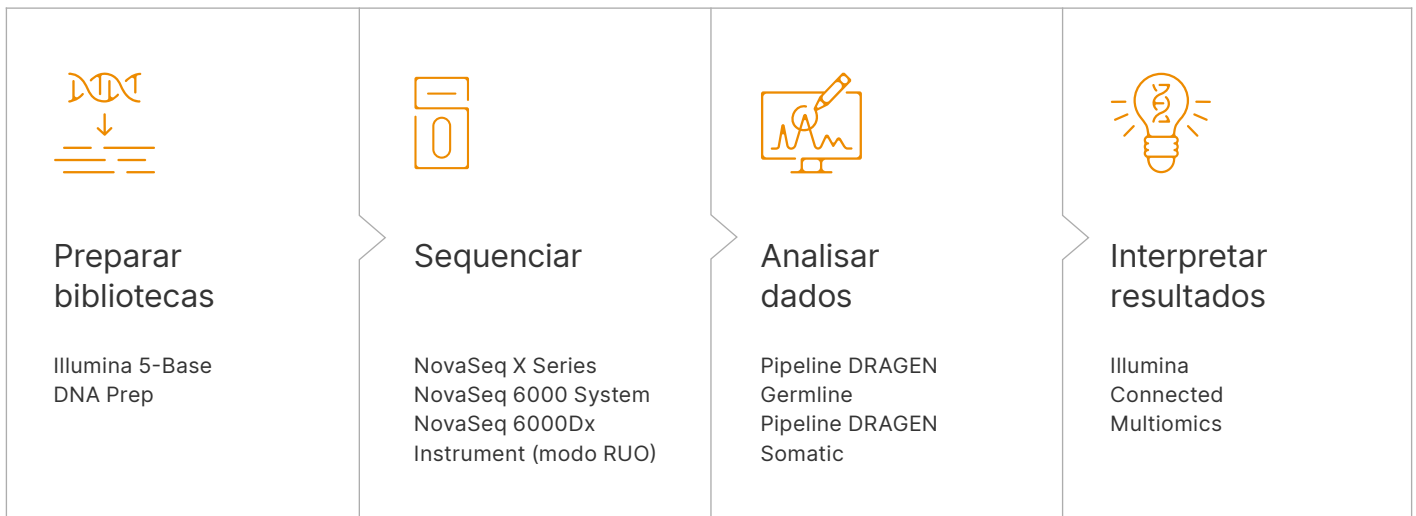


Figura 2: Fluxo de trabalho do Illumina 5-Base DNA Prep

O Illumina 5-Base DNA Prep oferece um fluxo de trabalho simplificado da biblioteca à interpretação para detecção simultânea de variantes genômicas e eventos de metilação. Prepare bibliotecas em menos de um dia com um protocolo simples que inclui uma química inovadora de conversão de base em etapa única e, em seguida, realize o sequenciamento usando um sistema de alto rendimento da Illumina. O DRAGEN secondary analysis gera anotações genômicas e epigenômicas duplas em uma única leitura em menos de uma hora para um genoma de 30x. O Illumina Connected Multiomics fornece visualizações claras e ferramentas de análise para simplificar a interpretação de dados.

Tabela 1: Parâmetros de preparação da biblioteca de DNA Illumina 5-Base

Tipo de amostra	Quantidade de entrada	Tempo total de preparação de biblioteca
DNA genômico	50 a 100 ng	< 8 h ^a
DNA livre de células	1 a 20 ng	< 6 h

a. Inclui tempo de fragmentação.

Tabela 2: Rendimento de amostras para identificação de variantes de linha genética e aplicações de metilação

NovaSeq X flow cell	25B	10B	1.5B
N.º de amostras por lâmina de fluxo ^a	48	18	3

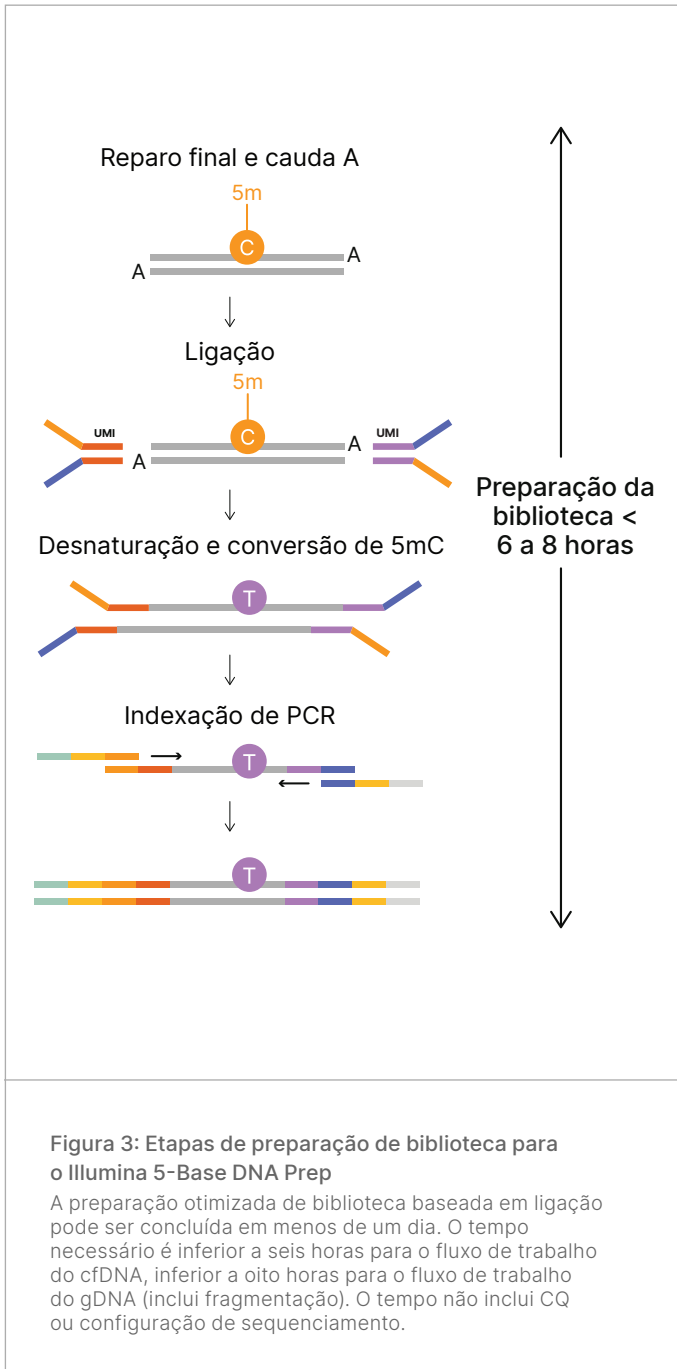
a. Corridas de 2 × 151 bp e ≥ 500M de clusters para identificação de variantes de linha genética SNV e indel com alta exatidão.

Tabela 3: Recomendações de cobertura de sequenciamento para diferentes aplicações com o Illumina 5-Base DNA Prep

Caso de uso	Cobertura de sequenciamento	Pipeline do DRAGEN secondary analysis
Genoma 5-base de linha genética	35 A 40x	Linha genética
Sequenciamento de metiloma completo	10 A 35x	Linha genética
Identificação de variantes somáticas apenas de metiloma + tumor	≥ 100x	Somática
Metiloma + identificação de variantes somáticas tumor-normal ^a	≥ 100x/≥ 50x	Somática
Metiloma + identificação de CNV de linha genética ^b	30x	Linha genética
Metiloma + identificação de CNV somáticas ^b	≥ 80x	Somática
Determinação do perfil de metiloma/fragmentação de cfDNA	≥ 30x	Somática

a. A cobertura do normal deve ser metade da cobertura do tumor e ter como alvo ≥ 100x de cobertura do tumor.

b. CNV, variante do número de cópias.



Química nova para conversão direta de 5-metilcitosina em timina

Métodos tradicionais para detectar a metilação do DNA usam tratamento com bissulfitos ou enzimas para converter citosina não metilada em timina (Figura 4). Como a maioria das citosinas no genoma não é modificada, essa abordagem reduz consideravelmente a diversidade de nucleotídeos, tornando as leituras mais difíceis de sequenciar e alinhar. O tratamento com bissulfito também pode danificar o DNA, deixando lacunas de dados. O Illumina 5-Base DNA Prep usa uma nova enzima projetada para converter diretamente apenas 5mC em T em uma única etapa de incubação (Figura 4). O método Illumina 5-base não causa danos ao DNA e retém a diversidade de nucleotídeos de quatro bases para um alinhamento mais eficiente, maximizando os dados de cada leitura (Tabela 4).

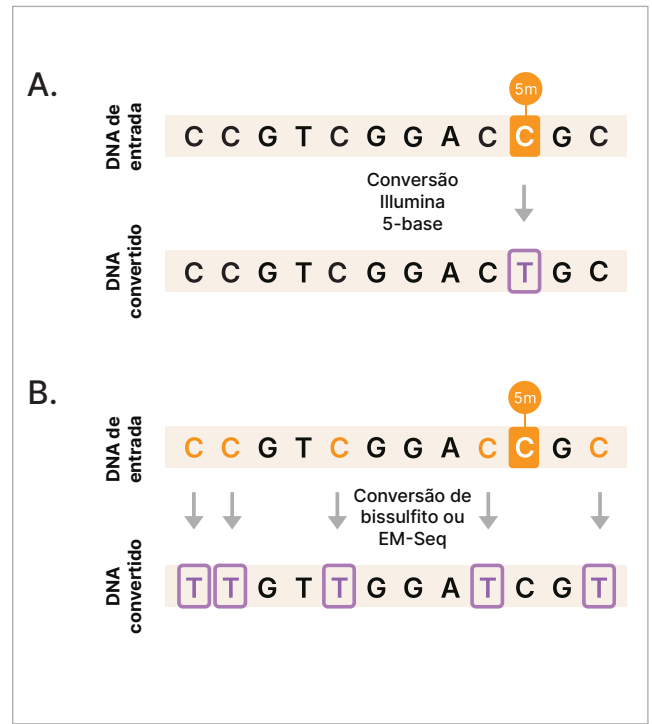


Tabela 4: Vantagens do Illumina 5-Base DNA Prep

Métodos tradicionais de sequenciamento de metilação	Solução Illumina 5-base
Desafios	Benefícios
<ul style="list-style-type: none"> • Eficiência de mapeamento limitada • Baixa precisão na detecção de variantes • Conversão química que danifica o DNA^a • Conversão em várias etapas 	<ul style="list-style-type: none"> • Alta eficiência de mapeamento • Detecção de variantes de alta precisão • Conversão enzimática que não é prejudicial ao DNA • Conversão de etapa única
a. Para métodos NGS de conversão de bissulfito.	

Leitura única com dados combinados de genoma e metiloma

O DRAGEN secondary analysis integrado fornece anotação precisa de metilação e variantes genômicas em um único conjunto de dados (Figura 5). Os novos algoritmos DRAGEN 5-base sensíveis à metilação consideram a natureza fita-específica da metilação para distinguir entre uma timina que indica um evento de metilação e uma timina que representa uma variante de nucleotídeo único (SNV) (Figura 6). A metilação e a variação do genoma são capturadas até a resolução de molécula única, permitindo investigações profundas dos mecanismos biológicos.

Os recursos de geração de relatórios de metilação 5-base estão disponíveis nos pipelines DRAGEN Germline e Somatic com uma opção simples de caixa de seleção. A análise secundária pode ser realizada por meio do BaseSpace™ Sequence Hub, das plataformas em nuvem da Illumina Connected Analytics ou em um servidor DRAGEN.

Análise 5-base usando pipelines DRAGEN Germline ou Somatic

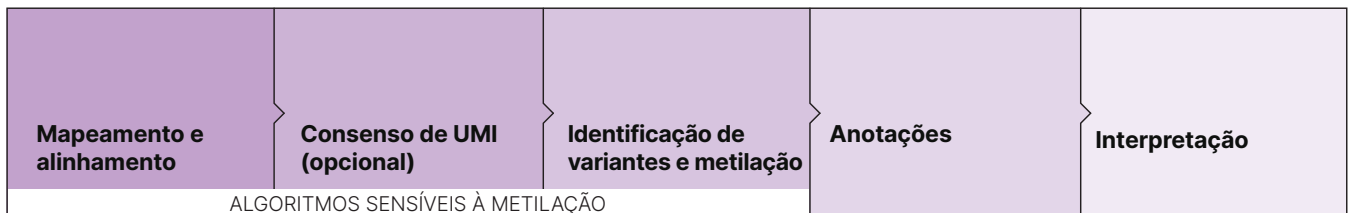


Figura 5: Novos algoritmos sensíveis à metilação em pipelines DRAGEN Germline ou Somatic

O Illumina 5-base secondary analysis está disponível nos pipelines DRAGEN Germline e DRAGEN Somatic com uma opção simples de caixa de seleção para ativar o relatório de metilação. A análise secundária 5-base simplificada com pipelines DRAGEN gera uma leitura dupla em apenas uma hora para um genoma 30× (pipeline DRAGEN Germline de amostra única em um servidor DRAGEN). UMI, identificadores moleculares exclusivos.

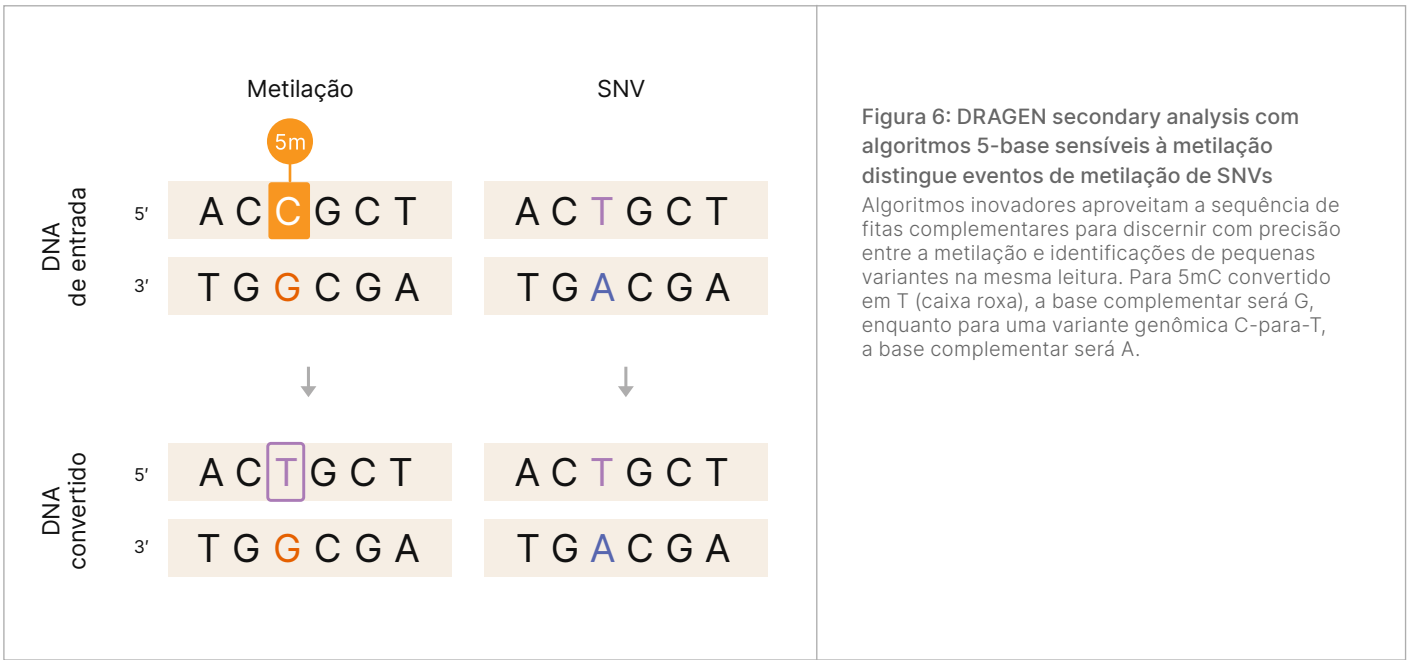


Figura 6: DRAGEN secondary analysis com algoritmos 5-base sensíveis à metilação distingue eventos de metilação de SNVs

Algoritmos inovadores aproveitam a sequência de fitas complementares para discernir com precisão entre a metilação e identificações de pequenas variantes na mesma leitura. Para 5mC convertido em T (caixa roxa), a base complementar será G, enquanto para uma variante genômica C-para-T, a base complementar será A.

Aprofunde-se com o Illumina Connected Multiomics

Os arquivos de dados gerados resultantes do DRAGEN podem ser importados diretamente para o Illumina Connected Multiomics para exploração e visualização intuitiva de dados, incluindo análises diferenciais diversas (Figura 7). Descubra padrões de metilação, agrupe amostras, reduza a dimensionalidade dos dados, detecte e anote biomarcadores e vincule achados a funções biológicas.



Figura 7: Interprete os resultados com o Illumina Connected Multiomics

Execute pipelines padrão e crie fluxos de trabalho personalizados para exploração por meio da descoberta usando o Illumina Connected Multiomics. Visualizações versáteis no painel fornecem insights aprofundados com opções para anotar regiões genômicas, identificar regiões diferencialmente metiladas, explorar agrupamentos biológicos com clusterização não supervisionada e capturar vias associadas a alterações de metilação.

Insights duplos de alta qualidade

O desempenho do sequenciamento do Illumina 5-Base DNA Prep mostra alta cobertura de CpGs e cobertura uniforme em uma variedade de conteúdo de GC no genoma humano (Figura 8). As bibliotecas Illumina 5-Base DNA Prep também apresentam alto rendimento de biblioteca com número mínimo de ciclos de PCR e eficiência de mapeamento excepcional (Figura 9). Os níveis de metilação medidos para cada amostra são reproduzíveis em diferentes entradas (Figura 10) e réplicas técnicas (Figura 11). A conversão de 5mC é altamente seletiva em uma variedade de entradas de amostra, conforme medido por spike-ins de controle de genoma pequeno (Figura 12). A identificação altamente precisa de variantes da linha genética para SNVs, inserções-deleções (indels) e variantes de número de cópias (CNVs) permite insights abrangentes de ensaios paralelos de WGS e metilação em um único fluxo de trabalho (Figura 13). A detecção de 5mC e de bases genéticas nas mesmas moléculas permite a resolução alélica específica de eventos de metilação e variantes genéticas para dados faseados (Figura 14).

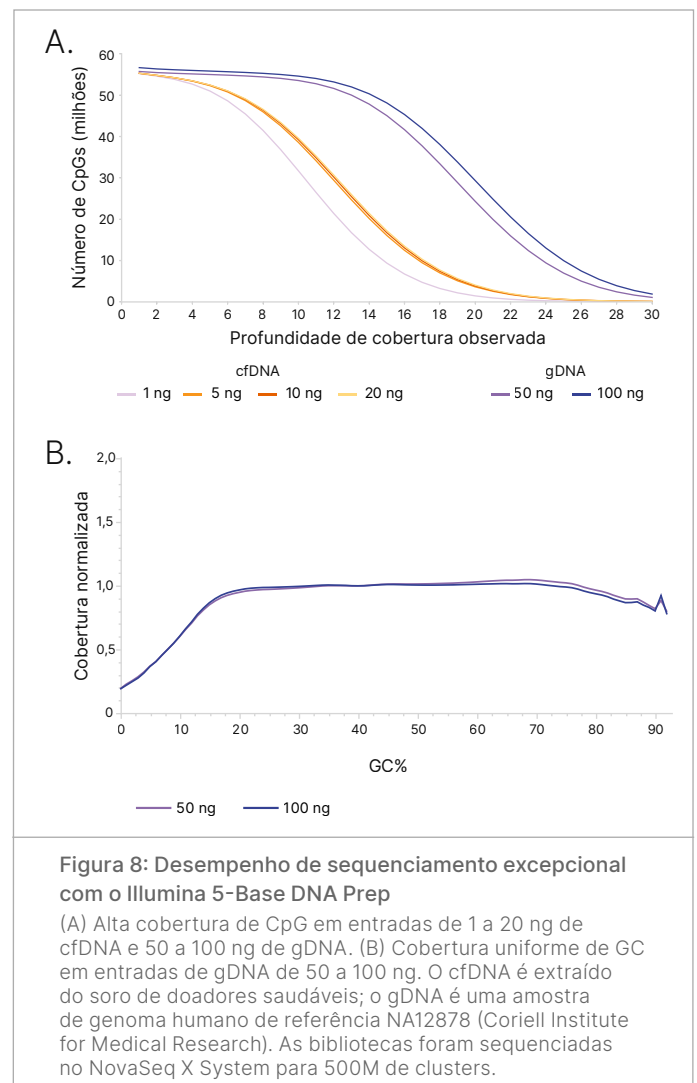


Figura 8: Desempenho de sequenciamento excepcional com o Illumina 5-Base DNA Prep

(A) Alta cobertura de CpG em entradas de 1 a 20 ng de cfDNA e 50 a 100 ng de gDNA. (B) Cobertura uniforme de GC em entradas de gDNA de 50 a 100 ng. O cfDNA é extraído do soro de doadores saudáveis; o gDNA é uma amostra de genoma humano de referência NA12878 (Coriell Institute for Medical Research). As bibliotecas foram sequenciadas no NovaSeq X System para 500M de clusters.

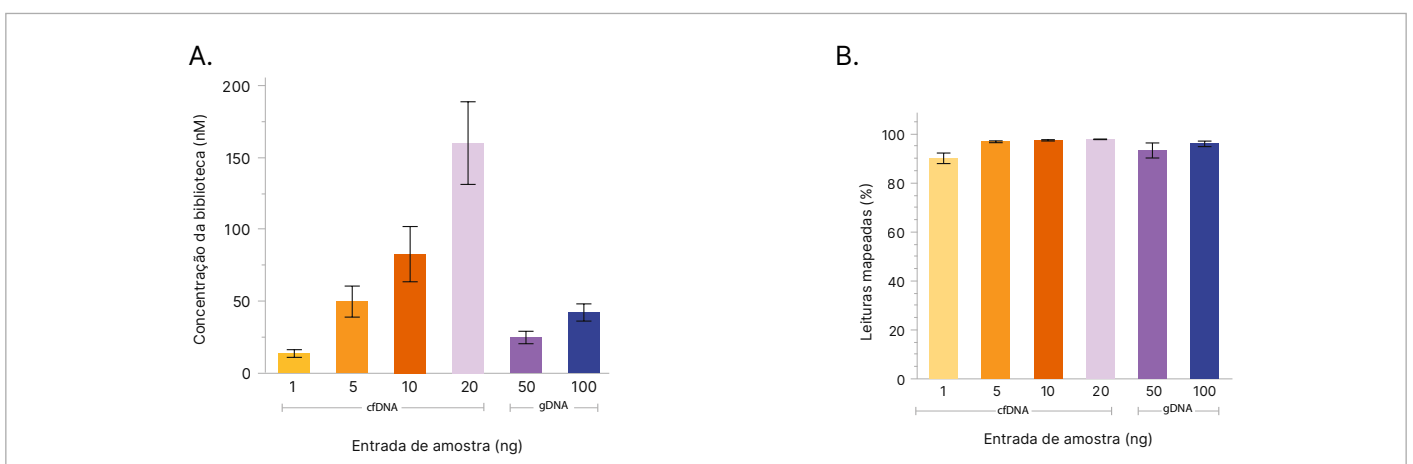


Figura 9: Altas taxas de rendimento e alinhamento usando o Illumina 5-Base DNA Prep

(A) Rendimentos da biblioteca e (B) taxas de alinhamento (leituras de porcentagem mapeadas) usando o Illumina 5-Base DNA Prep para entradas de 1 A 20 ng de cfDNA e entradas de 50 A 100 ng de gDNA. O cfDNA é extraído do soro de doadores saudáveis; o gDNA é uma amostra de genoma humano de referência NA12878. As bibliotecas foram sequenciadas no NovaSeq X System.

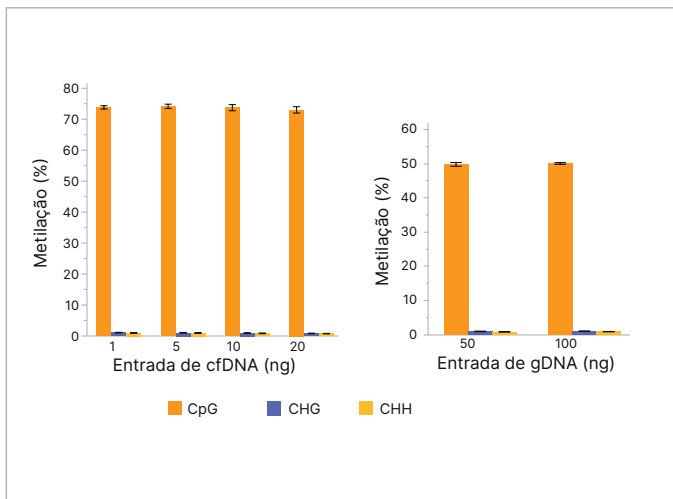


Figura 10: Detecção de metilação com o Illumina 5-Base DNA Prep em uma variedade de tipos de amostras e entradas de DNA

Percentual de metilação de citosinas no contexto de CpG, CHG e CHH. O cfDNA é extraído do soro de doadores saudáveis, onde a metilação global de CpG de 70 a 80% é esperada. Níveis muito baixos de CHG e metilação de CHH são observados conforme esperado. gDNA derivado de linhagem celular da amostra de genoma humano de referência NA12878, em que a metilação global de CpG de aprox. 50% é esperada. As bibliotecas foram sequenciadas no NovaSeq X System. A análise secundária de dados foi realizada com o DRAGEN Germline v4.4.4.

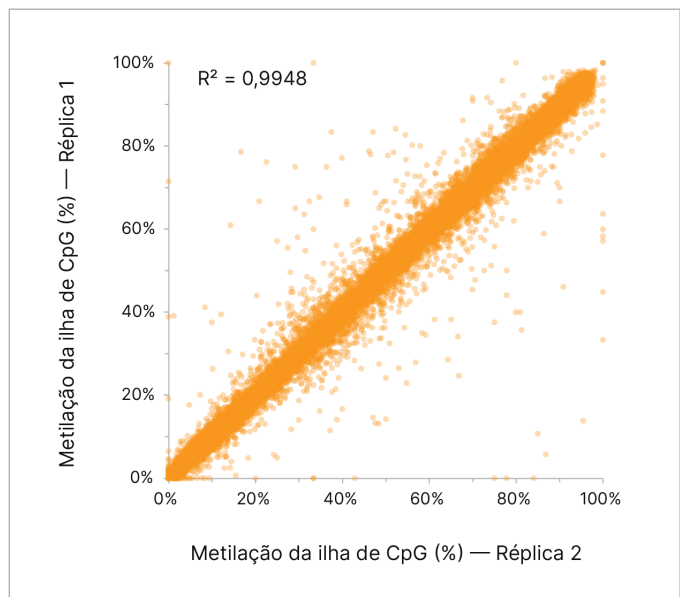


Figura 11: Medição de metilação reproduzível em ilhas CpG em todos os níveis de metilação com Illumina 5-Base DNA Prep

Correlação do nível médio de metilação entre duas réplicas da amostra de genoma humano de referência NA12878 para todas as regiões da ilha de CpG. As bibliotecas foram sequenciadas no NovaSeq X System. A análise secundária de dados foi realizada com o DRAGEN Germline v4.4.4.

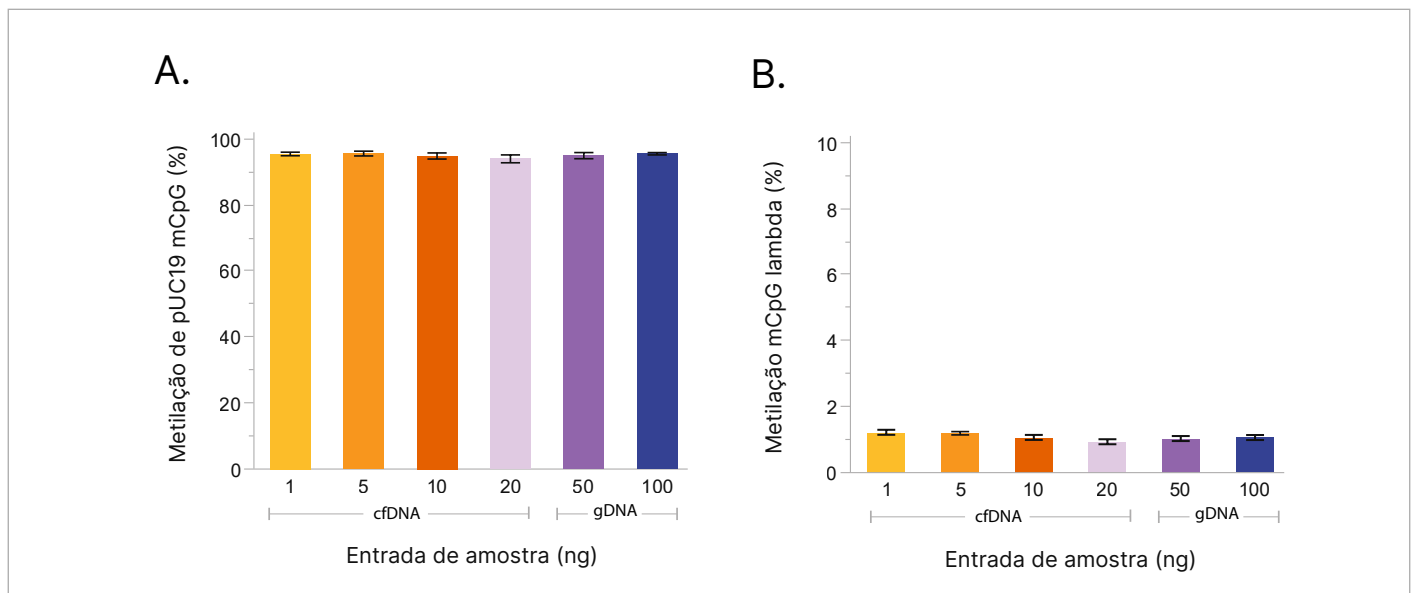


Figura 12: Conversão de metilação seletiva com Illumina 5-Base DNA Prep

Alta seletividade e conversão de metilação consistente em uma variedade de quantidades de entrada de amostra e tipos de amostra são compatíveis com uma variedade de aplicações. Controles de genomas pequenos (A) pUC metilado e (B) lambda não metilado estão incluídos no kit e podem ser adicionados como spike-in junto com a amostra de interesse para CQ da conversão de metilação. As quantidades de entrada são de 1 a 20 ng de cfDNA de doadores saudáveis e 50 a 100 ng de gDNA da amostra de referência humana NA12878.

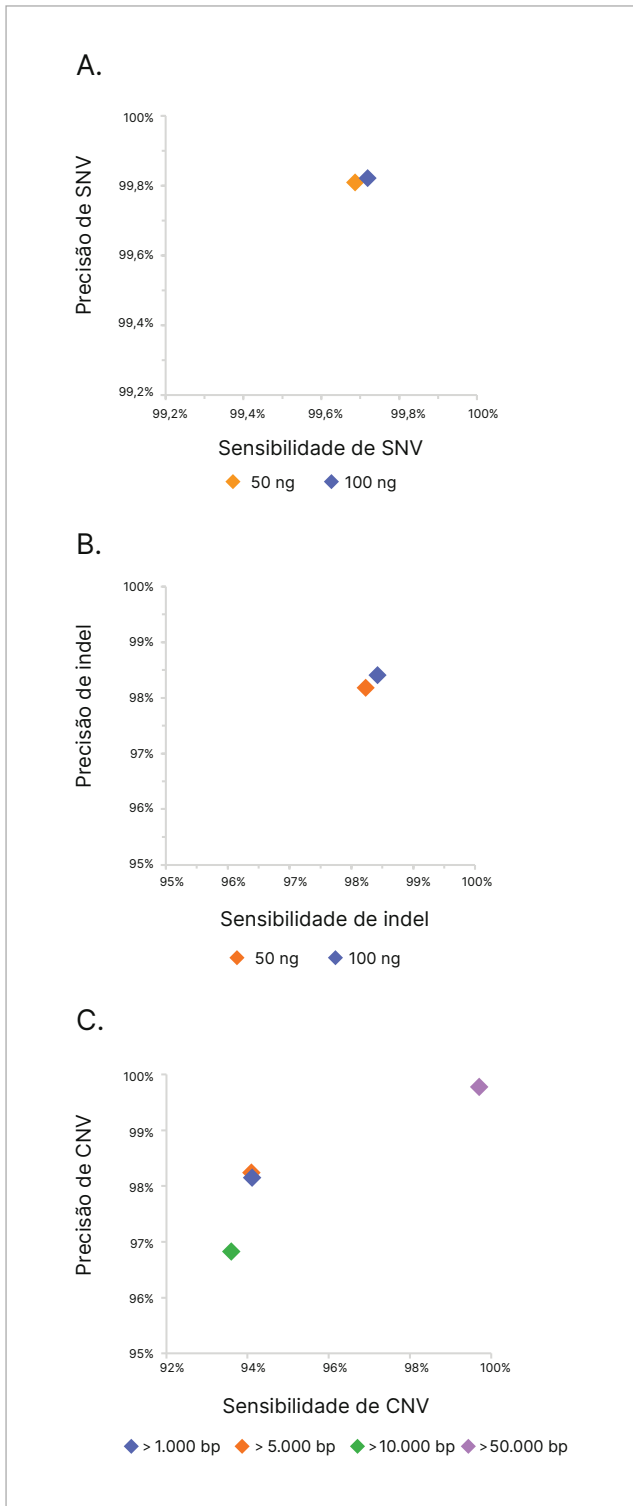


Figura 13: Identificação de variantes de linha genética de alta exatidão com Illumina 5-Base DNA Prep
 (A) Identificação de variantes SNV e (B) indel para entradas de 50 ng e 100 ng de gDNA preparadas a partir da amostra de genoma humano de referência NA12878. (C) Precisão da deleção de CNV de linha genética separada por tamanho de variante com a amostra de genoma humano de referência HG002 (Genome in a Bottle). As bibliotecas foram sequenciadas no NovaSeq X System e subamostradas para 500M de leituras.

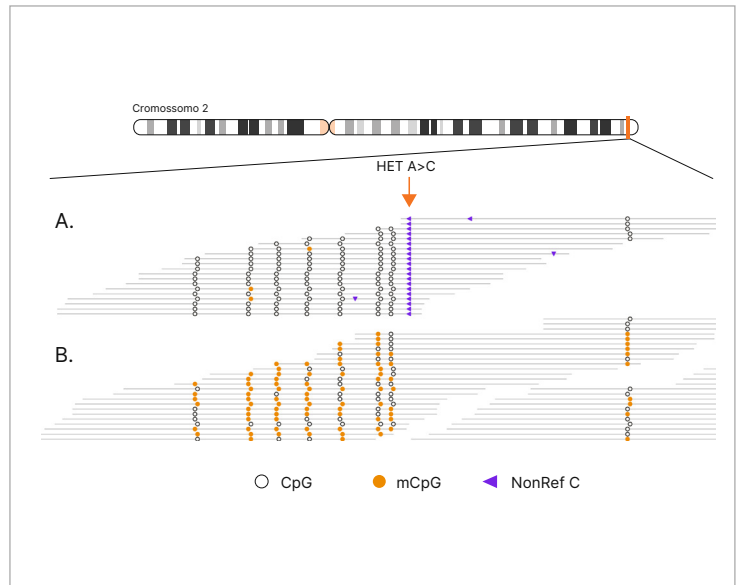


Figura 14: Resolução de variantes genéticas e metilação no mesmo alelo

O Illumina 5-Base DNA Prep revela padrões de metilação específicos de alelos. O pipeline DRAGEN Germline com análise de metilação 5-base pode alinhar dados de variantes genéticas e de metilação a partir das mesmas leituras. Visualização detalhada mostrando um íntron do gene *RAMP1* no cromossomo 2. (A) alelo não metilado e (B) alelo metilado. As bibliotecas foram preparadas a partir da amostra de genoma humano de referência NA12878.

Descoberta econômica de genoma completo

O Illumina 5-base DNA Prep oferece o menor custo total de fluxo de trabalho em relação a métodos alternativos de NGS.⁶ Para aplicações focadas em metilação, a solução Illumina 5-base requer menos sequenciamento do que ensaios de metilação padrão devido à maior eficiência de mapeamento e cobertura de CpG por corrida. Para obter insights duplos, o Illumina 5-Base DNA Prep fornece análise do perfil de metilação e identificação de variantes genômicas com custo incremental mínimo de sequenciamento em relação ao WGS padrão isolado.[‡] O DRAGEN secondary analysis dual-omic altamente eficiente também reduz os custos de análise de dados de NGS.

[‡] Com base em 500M pares de leitura (1B leituras tipo paired-end) para Illumina 5-Base DNA Prep versus 400M pares de leituras para WGS padrão.

Resumo

A combinação da análise da variação genética e da metilação do DNA ajuda a maximizar os insights de cada amostra. O Illumina 5-Base DNA Prep oferece uma solução da biblioteca à interpretação para perfil simultâneo de genoma e metiloma em um fluxo de trabalho otimizado e integrado. Novas químicas e algoritmos oferecem resolução de base única e alta precisão, minimizando a quantidade de sequenciamento necessária. Relatórios dual-ômicos abrangentes usando análise integrada DRAGEN e Illumina Connected Multiomics ajudam a acelerar a descoberta biológica.

Saiba mais

[Illumina 5-Base DNA Prep](#) →

Informações para pedidos

Produto	N.º do catálogo
Preparação de bibliotecas	
Illumina 5-Base DNA Prep (24 samples)	20140364
Illumina 5-Base DNA Prep (96 samples)	Em breve
Indexes	
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 indexes, 96 samples)	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation(96 indexes, 96 samples)	20091660
Illumina Unique Dual Indexes, LT (48 indexes, 48 samples)	20098166
Análise	
Illumina DRAGEN server v4	20051343
Illumina Analytics - 1 iCredit	20042038
Illumina Analytics Starter Package - 1.000 iCredits	20042039
Illumina Analytics - 5.000 iCredits	20042040
Illumina Analytics - 50.000 iCredits	20042041
Illumina Analytics - 100.000 iCredits	20042042
Illumina Connected Multiomics	Solicite uma demonstração

Referências

1. Füllgrabe J, Gosal WS, Creed P, et al. [Simultaneous sequencing of genetic and epigenetic bases in DNA](#). *Nat Biotechnol*. 2023;41(10):1457-1464. doi:10.1038/s41587-022-01652-0
2. Vaisvila R, Ponnaluri VKC, Sun Z, et al. [Enzymatic methyl sequencing detects DNA methylation at single-base resolution from picograms of DNA](#). *Genome Res*. 2021;31(7):1280-1289. doi:10.1101/gr.266551.120
3. Babraham Bioinformatics. Bismark Bisulfite Mapper User Guide v0.15.0. bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/bismark/Bismark_User_Guide.pdf. Publicado em 16 de janeiro de 2016. Acessado em 12 de agosto de 2025.
4. Integrated DNA Technologies. xGen Methyl-Seq DNA Library Prep Kit protocol. sfvideo.blob.core.windows.net/sitefinity/docs/default-source/protocol/xgen-methyl-seq-dna-library-prep-kit-protocol.pdf?sfvrsn=9fa7e007_11. Publicado em junho de 2023. Acessado em 12 de agosto de 2025.
5. Illumina. Illumina DNA Prep data sheet. illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-dna-prep-data-sheet-m-gl-01373/illumina-dna-prep-data-sheet-m-gl-01373.pdf. Publicado em 2023. Acessado em 12 de agosto de 2025.
6. Biomodal. Duet multiomics solution +modC. biomodal.com/products/duet-modc/. Acessado em 12 de agosto de 2025.

The logo for Illumina, featuring the word "illumina" in a lowercase, sans-serif font. The letter "i" is orange, and the rest of the letters are black. A registered trademark symbol (®) is located at the top right of the word.

+1 (800) 809-4566, ligação gratuita (EUA) | tel. +1 (858) 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2025 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados. Todas as marcas comerciais pertencem à Illumina, Inc. ou aos respectivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-03689 PTB v1.0