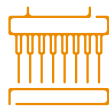


Illumina 5-Base DNA Prep

Nachweis von Methylierungs-
ereignissen und Genomvarianten
in einem einzigen Assay für das
gesamte Genom



Neuartige Chemie und
entsprechende Analysemethoden
für hohe Datenqualität



Kombi-Assay mit einfachem
Workflow und einfacher
Analyse



Kostengünstige Forschung
dank Multiomikerkenntnissen

Umfassende Multiomikforschung

DNA ist inhärent multiomisch, d. h., sie enthält sowohl genetische als auch epigenetische molekulare Informationen. Neben der Sequenz aus Adenin (A), Thymin (T), Guanin (G) und Cytosin (C) sind modifizierte Basen wie 5-Methylcytosin (5mC) vorhanden, die der Steuerung der Genexpression dienen ([Abbildung 1](#)). Der Nachweis von Genomvarianten und DNA-Methylierung unterstützt die Erforschung verborgener Mechanismen von Gesundheit und Erkrankung. Zur Untersuchung des Genoms und des Methyloms sind in der Regel separate NGS-Assays (Next-Generation Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation) und Datenanalyseschritte erforderlich. Darüber hinaus ist der Workflow bei den meisten NGS-Methoden zur Erstellung von Methylierungsprofilen aufwendig und komplex.

Illumina 5-Base DNA Prep ermöglicht dank einzigartiger Chemie und optimierter Analysealgorithmen eine bahnbrechende Herangehensweise an die Untersuchung und Analyse von Genom und Methylom. Eine neuartige enzymatische Methode ermöglicht den Nachweis von fünf Basen (A, T, G, C und 5mC) anhand einer Probe und eines Workflows, der die Bibliotheksvorbereitung, den Sequenzierungsprozess und die Analyse umfasst. Illumina 5-Base DNA Prep zeichnet sich durch einen hochwertigen, anwenderfreundlichen und kostengünstigen Assay für die gleichzeitige Erforschung von Genomvarianten und Methylierungsereignissen im gesamten Genom aus.

Einfacher und schneller Workflow

Illumina 5-Base DNA Prep vereint Genomsequenzierung (WGS, Whole-Genome Sequencing) und Methylierungssequenzierung in einem anwenderfreundlichen Workflow ([Abbildung 2](#)). Diese Lösung aus einer Hand zeichnet sich durch einen optimierten Workflow aus, der sämtliche Schritte von der Bibliothek bis zur Interpretation umfasst, sowie durch eine Durchlaufzeit von weniger als drei Tagen. Damit ist er bis zu dreimal schneller als alternative NGS-Methoden.¹⁻⁵ Illumina 5-Base DNA Prep eignet sich für zellfreie DNA (cfDNA, cell-free DNA) und genomische DNA (gDNA) aus Blut, Zelllinien oder frisch gefrorenem Gewebe ([Tabelle 1](#)). Die optimierte Bibliotheksvorbereitung, einschließlich der schnellen Umwandlung der Base 5mC in T, erfordert minimale Eingriffe und lässt sich in einem einzigen Tag durchführen ([Tabelle 1](#), [Abbildung 3](#), [Abbildung 4](#)).^{*} Die flexible und skalierbare 5-Basen-Lösung eignet sich für eine Vielzahl von Forschungsstudien mit der NovaSeq™ X Series, dem NovaSeq 6000 System oder dem NovaSeq 6000Dx Instrument (RUO-Modus) ([Tabelle 2](#), [Tabelle 3](#)). Die optimierte Sekundäranalyse mit DRAGEN™-Pipelines für 5 Basen benötigt zur Erstellung der dualen Ausgabe † für ein 30x-Genom nur eine Stunde ([Abbildung 5](#), [Abbildung 6](#)). Illumina Connected Multiomics vertieft die Analyse mit in der Branche bewährten Statistikverfahren und informativen, übersichtlichen Visualisierungen ([Abbildung 7](#)).

^{*} Weniger als 6 Stunden für den Workflow zur Vorbereitung der cfDNA-Bibliothek, weniger als 8 Stunden für den Workflow zur Vorbereitung der gDNA-Bibliothek (einschließlich Dauer der Fragmentierung). Die Einrichtung von QC (Quality Control, Qualitätssicherung) oder Sequenzierung ist in der angegebenen Dauer nicht enthalten.

† DRAGEN Germline-Pipeline mit einer Probe auf einem DRAGEN-Server.

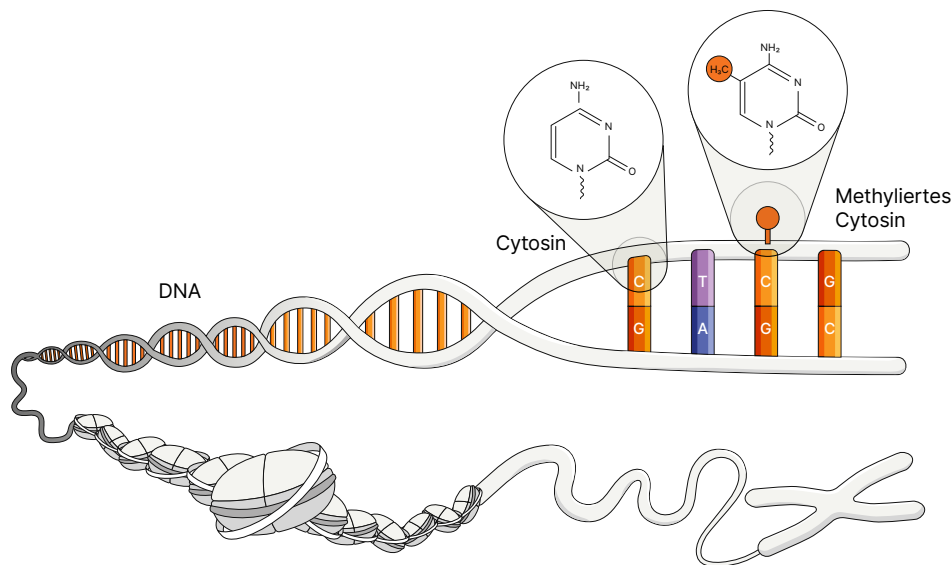


Abbildung 1: Bei der DNA-Methylierung von C zu 5mC handelt es sich um einen bestens untersuchten epigenetischen Marker für die Genregulation

Illumina 5-Base DNA Prep weist 5mC zusammen mit unveränderten A-, T-, G- und C-Basen nach und liefert mit einem einzelnen NGS-Assay sowohl genomische als auch epigenomische Erkenntnisse.

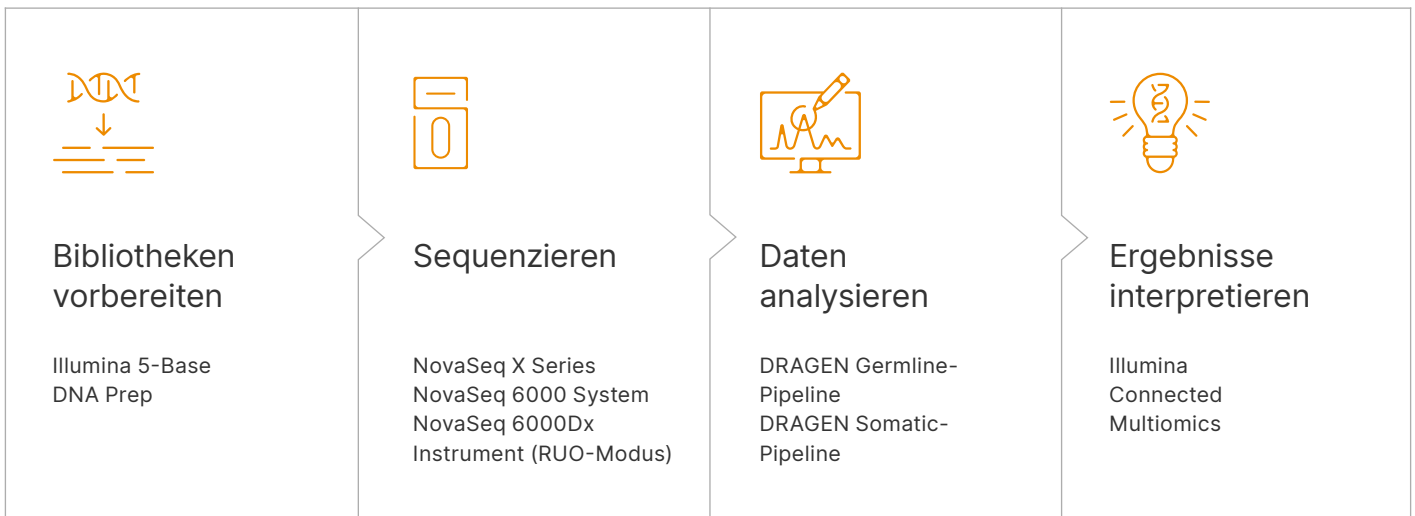


Abbildung 2: Illumina 5-Base DNA Prep-Workflow

Illumina 5-Base DNA Prep zeichnet sich durch einen optimierten Workflow von den Bibliotheken bis hin zur Interpretation aus, der den gleichzeitigen Nachweis von Genomvarianten und Methylierungsereignissen ermöglicht. Bibliotheken lassen sich in weniger als einem Tag mit einem einfachen Protokoll vorbereiten, das eine neuartige Chemie zur Basenumwandlung in einem Schritt enthält. Anschließend erfolgt die Sequenzierung auf einem Hochdurchsatzsystem von Illumina. Die DRAGEN-Sekundäranalyse liefert für ein 30x-Genom in weniger als einer Stunde in einer einzigen Ausgabe sowohl Genom- als auch Epigenomannotationen. Illumina Connected Multiomics vereinfacht die Dateninterpretation mit klaren Visualisierungen und Analysetools.

Tabelle 1: Illumina 5-Base DNA-Bibliotheksvorbereitungsparameter

Probentyp	Zugabemenge	Dauer der Bibliotheksvorbereitung
Genomische DNA	50–100 ng	< 8 h ^a
Zellfreie DNA	1–20 ng	< 6 h

a. Einschließlich Fragmentierungsdauer.

Tabelle 2: Probendurchsatz für das Calling von Keimbahnvarianten sowie für Methylierungsanwendungen

NovaSeq X-Fließzelle	25B	10B	1.5B
Anzahl der Proben pro Fließzelle ^a	48	18	3

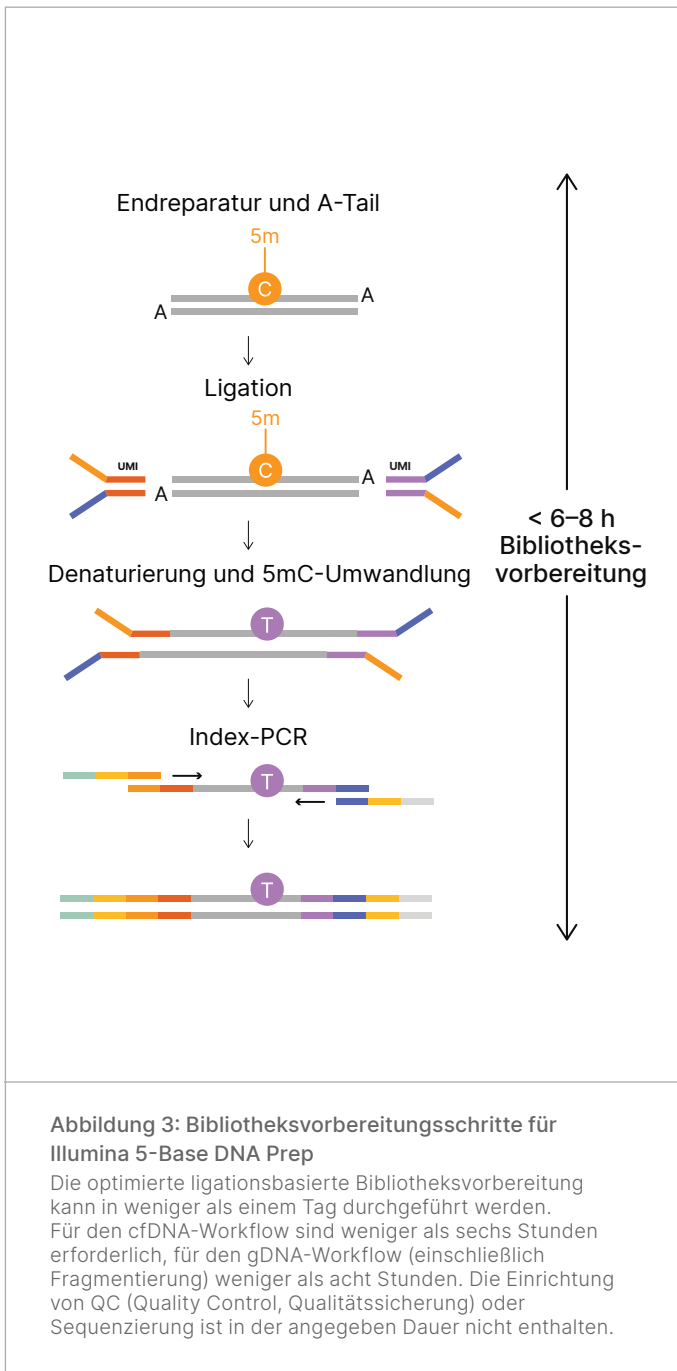
a. Läufe mit 2×151 bp und ≥ 500 Mio. Clustern für hochpräzises Calling von SNV- und Indel-Keimbahnvarianten.

Tabelle 3: Empfehlungen zur Sequenzierungscoverage für unterschiedliche Anwendungen mit Illumina 5-Base DNA Prep

Anwendungsfall	Coverage der Sequenzierung	DRAGEN-Sekundäranalysepipeline
5-Basen-Genomanalyse (Keimbahn)	35–40-fach	Germline
Methylomsequenzierung	10–35-fach	Germline
Methylom + Nur-Tumor-Calling somatischer Varianten	≥ 100 -fach	Somatic
Methylom + Tumor-Normal-Calling somatischer Varianten ^a	≥ 100 -fach/ ≥ 50 -fach	Somatic
Methylom + Calling von Keimbahn-CNV ^b	30-fach	Germline
Methylom + Calling somatischer CNV ^b	≥ 80 -fach	Somatic
Erstellung eines cfDNA-Methylom-/Fragmentierungsprofils	≥ 30 -fach	Somatic

a. Normal-Coverage sollte der halben Tumor-Coverage entsprechen. Ziel ist ≥ 100 -fache Tumor-Coverage.

b. CNV: Copy Number Variant (Kopienzahlvariante)



Neuartige Chemie zur direkten Umwandlung von 5-Methylcytosin in Thymin

Bei herkömmlichen Methoden zum Nachweis der DNA-Methylierung kommen eine Bisulfitbehandlung oder Enzyme zur Umwandlung von nicht methyliertem Cytosin in Thymin zum Einsatz (Abbildung 4). Da die Mehrzahl der Cytosine im Genom nicht modifiziert ist, beeinträchtigt diese Herangehensweise die Nukleotidvielfalt erheblich, was die Sequenzierung und das Alignment von Reads erschwert. Die Bisulfitbehandlung kann zudem die DNA schädigen, wodurch Datenlücken entstehen. Illumina 5-Base DNA Prep wandelt mithilfe eines neuartigen Enzyms ausschließlich 5mC in einem einzigen Inkubationsschritt direkt in T um (Abbildung 4). Die 5-Basen-Methode von Illumina schädigt die DNA nicht. Zudem bleibt die 4-Basen-Nukleotiddiversität erhalten, was die Effizienz des Alignments erhöht und damit wiederum die Menge der aus den einzelnen Reads gewonnenen Daten maximiert (Tabelle 4).

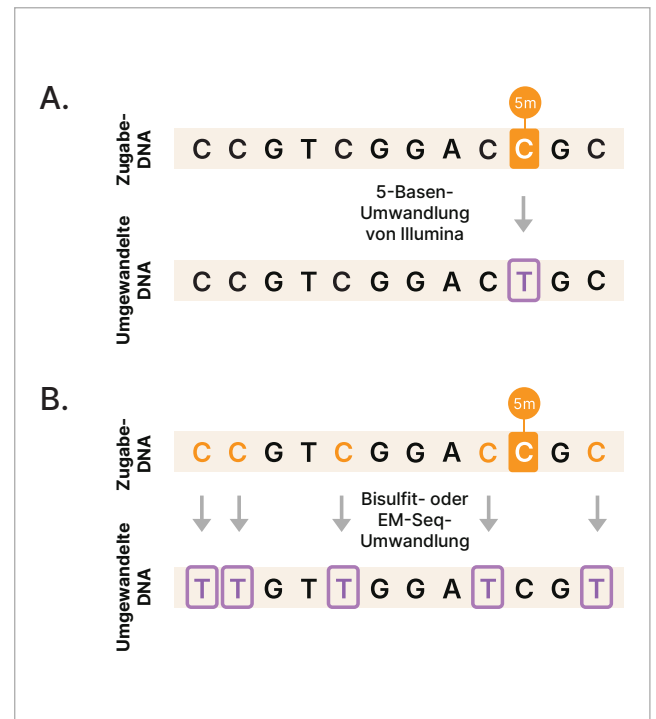


Abbildung 4: Neuartige Chemie zur direkten Umwandlung von 5mC in T in einem einzigen enzymatischen Schritt

(A) Illumina 5-Base DNA Prep wandelt 5mC in einem einstufigen enzymatischen Prozess in T um, was gegenüber der (B) herkömmlichen Bisulfitbehandlung oder der enzymatischen Methylierungssequenzierung (EM-Seq), bei der nicht methyliertes C in T umgewandelt wird, eine höhere Nukleotidvielfalt ergibt.

Tabelle 4: Vorteile von Illumina 5-Base DNA Prep

Herkömmliche Methoden der Methylierungssequenzierung	5-Basen-Lösung von Illumina
Herausforderungen	Vorteile
<ul style="list-style-type: none"> • Begrenzte Mapping-Effizienz • Geringe Genauigkeit des Variantennachweises • Chemische Umwandlung mit DNA-Schädigung^a • Mehrere Umwandlungsschritte 	<ul style="list-style-type: none"> • Hohe Mapping-Effizienz • Hochpräziser Variantennachweis • Enzymatische Umwandlung ohne DNA-Schädigung • Ein einziger Umwandlungsschritt
a. Für NGS-Methoden zur Bisulfit-Umwandlung.	

Eine Ausgabe mit Genom- und Methylomdaten

Die integrierte DRAGEN-Sekundäranalyse ermöglicht die genaue Annotation sowohl der Methylierung als auch von Genomvarianten in einem einzigen Datensatz ([Abbildung 5](#)). Neue methylierungssensitive DRAGEN-Algorithmen für 5 Basen berücksichtigen, dass die Methylierung strangabhängig erfolgt, was die Unterscheidung zwischen Thymin, das auf ein Methylierungsereignis hinweist, und Thymin, das eine Einzelnukleotidvariante (SNV, Single Nucleotide Variant) darstellt, ermöglicht ([Abbildung 6](#)). Methylierungs- und Genomvarianten werden in Einzelmolekülaufösung erfasst, was die eingehendere Untersuchung biologischer Mechanismen ermöglicht.

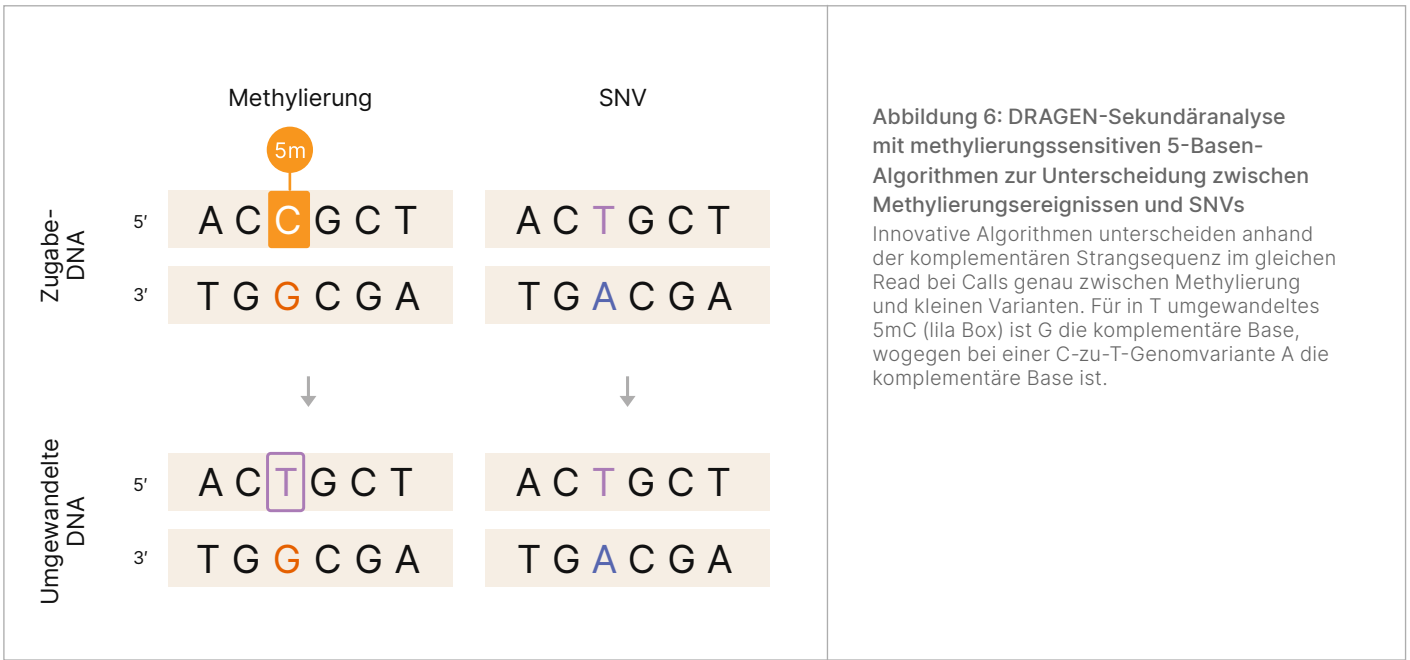
5-Basen-Methylierungsbefunde lassen sich in DRAGEN Germline- und Somatic-Pipelines einfach über ein Kontrollkästchen aktivieren. Die Sekundäranalyse kann bei BaseSpace™ Sequence Hub, auf Illumina Connected Analytics-Cloudplattformen oder auf einem DRAGEN-Server durchgeführt werden.

5-Basen-Analyse mit DRAGEN Germline- oder DRAGEN Somatic-Pipeline



Abbildung 5: Neue Methylierungsalgorithmen in DRAGEN Germline- oder Somatic-Pipelines

Die 5-Basen-Sekundäranalyse von Illumina ist in der DRAGEN Germline- und der DRAGEN Somatic-Pipeline verfügbar. Die Generierung des Methylierungsbefunds lässt sich ganz einfach über ein Kontrollkästchen aktivieren. Die optimierte 5-Basen-Sekundäranalyse mit DRAGEN-Pipelines generiert für ein 30x-Genom (DRAGEN Germline-Pipeline mit einer Einzelprobe auf einem DRAGEN-Server) in nur einer Stunde eine duale Ausgabe. UMI: Unique Molecular Identifier (eindeutiger molekularer Identifikator).



Eingehendere Analyse mit Illumina Connected Multiomics

Generierte DRAGEN-Ausgabedateien lassen sich direkt in Illumina Connected Multiomics importieren, was die intuitive Exploration und Visualisierung der Daten, einschließlich unterschiedlicher Differenzialanalysen, ermöglicht (Abbildung 7). Anwender können Methylierungsmuster ermitteln, Proben gruppieren, Datendimensionalität verringern, Biomarker nachweisen und annotieren sowie Ergebnisse biologischen Funktionen zuordnen.

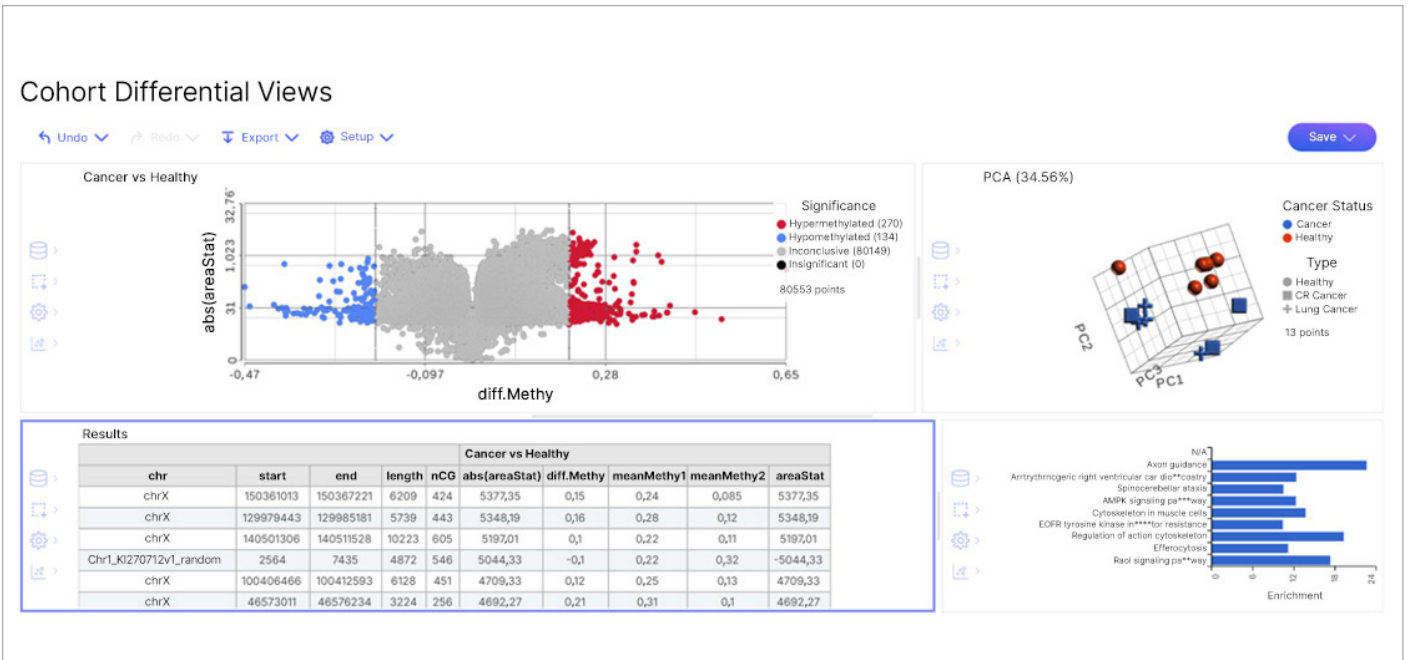


Abbildung 7: Interpretation der Ergebnisse mit Illumina Connected Multiomics

Anwender können Standardpipelines ausführen und mithilfe von Illumina Connected Multiomics anwendungsspezifische Workflows für die Forschung erstellen. Vielseitige Dashboard-Visualisierungen liefern tiefgreifende Erkenntnisse und bieten Optionen zur Annotation von Genomregionen, zur Kennzeichnung unterschiedlich methylierter Regionen, zur Untersuchung biologischer Gruppierungen mit überwachtem Clustering sowie zur Erfassung von mit Methylierungsänderungen assoziierten Signalwegen.

Hochwertige duale Erkenntnisse

Die Sequenzierungsperformance von Illumina 5-Base DNA Prep zeichnet sich durch eine hohe CpG-Coverage sowie eine einheitliche Coverage bei zahlreichen GC-Inhalten im Humangenom aus (Abbildung 8). Illumina 5-Base DNA Prep-Bibliotheken zeichnen sich zudem durch einen hohen Bibliotheksertrag bei einer minimalen Anzahl von PCR-Zyklen (Polymerase Chain Reaction, Polymerase-Kettenreaktion) und herausragender Mapping-Effizienz aus (Abbildung 9). Die gemessenen Methylierungswerte für die einzelnen Proben sind mit unterschiedlichen Zugabemengen (Abbildung 10) und technischen Replikaten (Abbildung 11) reproduzierbar. Die Umwandlung von 5mC ist bei unterschiedlichen Probenzugabemengen hochgradig selektiv, was sich an den niedrigen Genomkontroll-Spikes zeigt (Abbildung 12). Das hochpräzise Calling von Keimbahnvarianten für Einzelnukleotidvarianten (SNVs, Single Nucleotide Variants), Insertionen/Deletionen (Indels) und Kopienzahlvarianten (CNVs, Copy Number Variations) ermöglicht in einem einzigen Workflow denselben umfassenden Erkenntnisgewinn wie bei parallel durchgeführten WGS- und Methylierungsassays (Abbildung 13). Der Nachweis von 5mC und Genbasen anhand derselben Moleküle ermöglicht die allelspezifische Auflösung von Methylierungsereignissen und genetischen Varianten zur Generierung phasierter Daten (Abbildung 14).

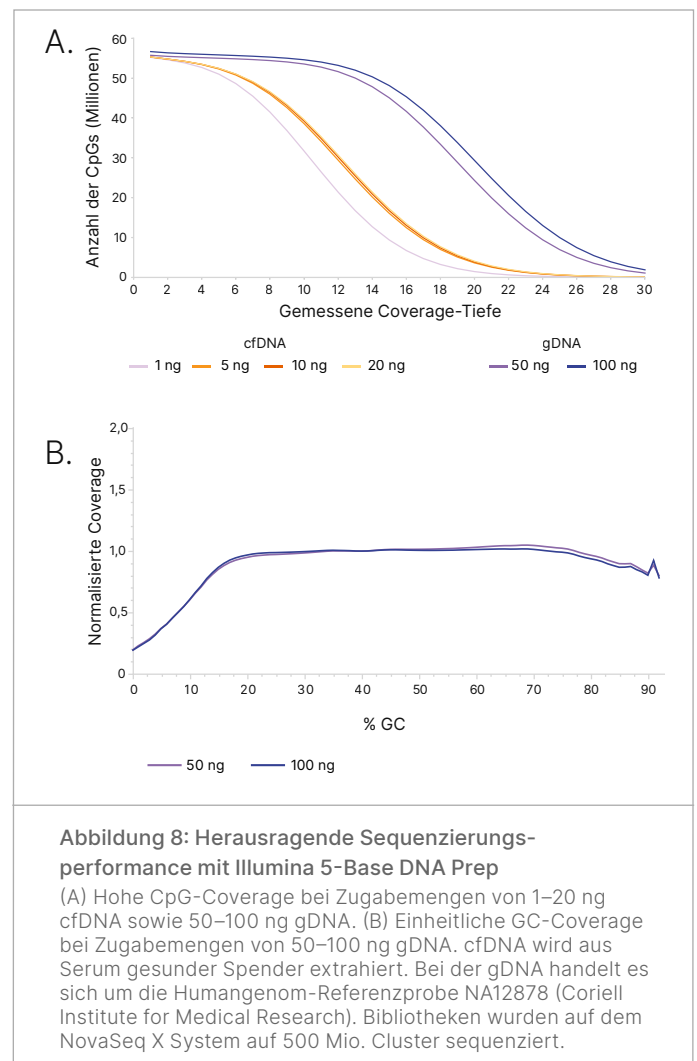


Abbildung 8: Herausragende Sequenzierungsperformance mit Illumina 5-Base DNA Prep

(A) Hohe CpG-Coverage bei Zugabemengen von 1–20 ng cfDNA sowie 50–100 ng gDNA. (B) Einheitliche GC-Coverage bei Zugabemengen von 50–100 ng gDNA. cfDNA wird aus Serum gesunder Spender extrahiert. Bei der gDNA handelt es sich um die Humangenom-Referenzprobe NA12878 (Coriell Institute for Medical Research). Bibliotheken wurden auf dem NovaSeq X System auf 500 Mio. Cluster sequenziert.

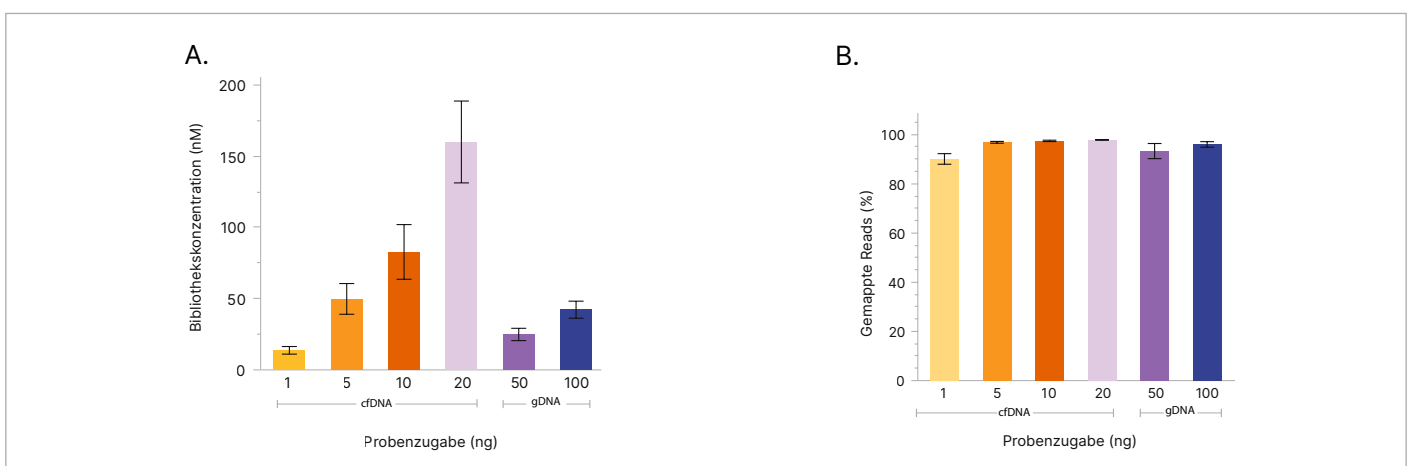


Abbildung 9: Hohe Ertrags- und Alignmentraten mit Illumina 5-Base DNA Prep

(A) Bibliotheksertrag und (B) Alignmentraten (prozentualer Anteil gemappter Reads) mit Illumina 5-Base DNA Prep für Zugabemengen von 1–20 ng cfDNA und 50–100 ng gDNA. cfDNA wird aus Serum gesunder Spender extrahiert. Bei der gDNA handelt es sich um die Humangenom-Referenzprobe NA12878. Die Bibliotheken wurden auf dem NovaSeq X System sequenziert.

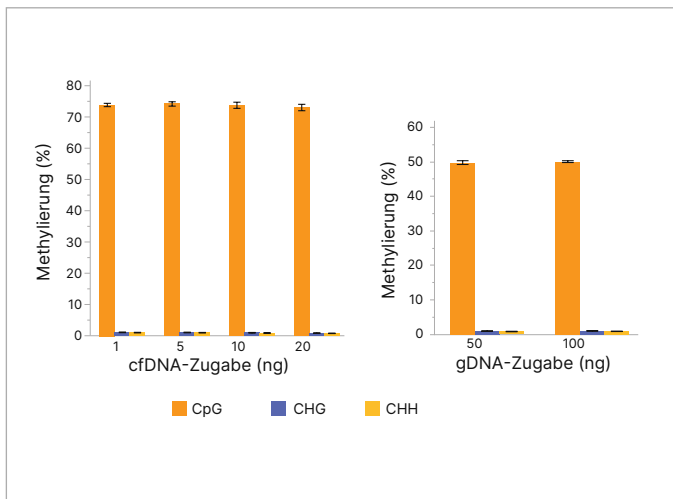


Abbildung 10: Methylierungsnachweis mit Illumina 5-Base DNA Prep bei unterschiedlichen Probentypen und DNA-Zugaben

Methylierung von Cytosinen im CpG-, CHG- und CHH-Kontext in Prozent. Die cfDNA wurde aus Serum gesunder Spender extrahiert, wobei eine globale CpG-Methylierung von 70–80 % erwartet wird. Wie erwartet wurden extrem niedrige Werte für die CHG- und CHH-Methylierung gemessen. Zelllinien-gDNA aus der Humangenom-Referenzprobe NA12878, wobei eine globale CpG-Methylierung von ca. 50 % erwartet wird. Die Bibliotheken wurden auf dem NovaSeq X System sequenziert. Die Sekundäranalyse der Daten erfolgte mit DRAGEN Germline v4.4.4.

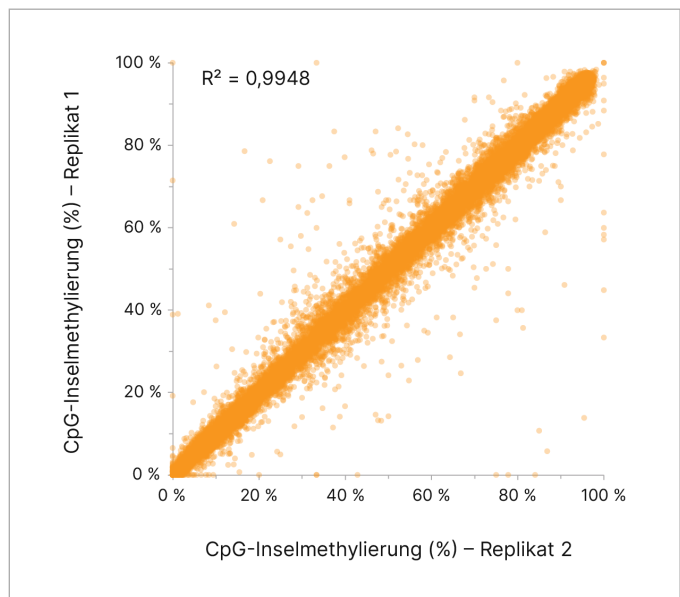


Abbildung 11: Reproduzierbare Methylierungswerte für CpG-Inseln bei allen Methylierungsniveaus mit Illumina 5-Base DNA Prep

Übereinstimmung des mittleren Methylierungsniveaus bei zwei Replikaten der Humangenom-Referenzprobe NA12878 für alle CpG-Inselregionen. Die Bibliotheken wurden auf dem NovaSeq X System sequenziert. Die Sekundäranalyse der Daten erfolgte mit DRAGEN Germline v4.4.4.

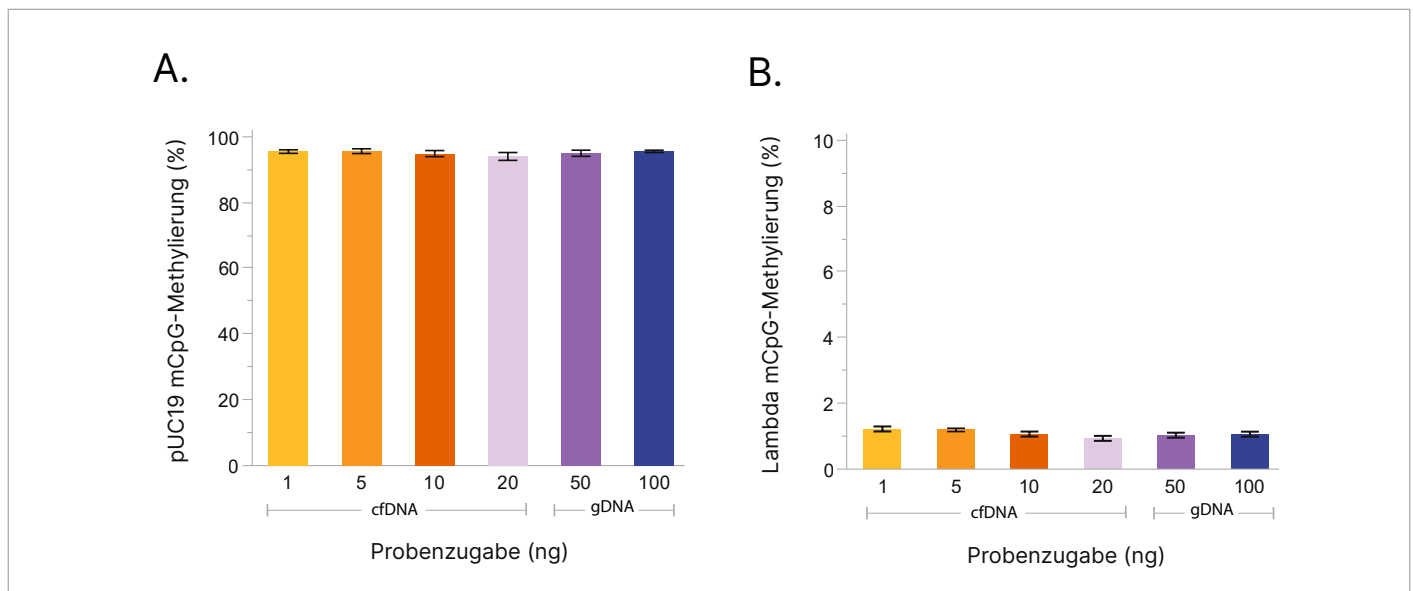


Abbildung 12: Selektive Methylierungsumwandlung mit Illumina 5-Base DNA Prep

Mit der hohen Selektivität und der konsistenten Methylierungsumwandlung bei unterschiedlichen Probenzugabemengen und -typen eignet sich das Verfahren für unterschiedliche Anwendungen. Kontrollproben kleiner Genome (A) mit methyliertem pUC und (B) mit nicht methyliertem Lambda sind im Kit enthalten und können zusammen mit relevanten Proben als Spike-in für die QC der Methylierungsumwandlung verwendet werden. Die Zugabemengen sind 1–20 ng cfDNA von gesunden Spendern und 50–100 ng gDNA aus der Humanreferenzprobe NA12878.

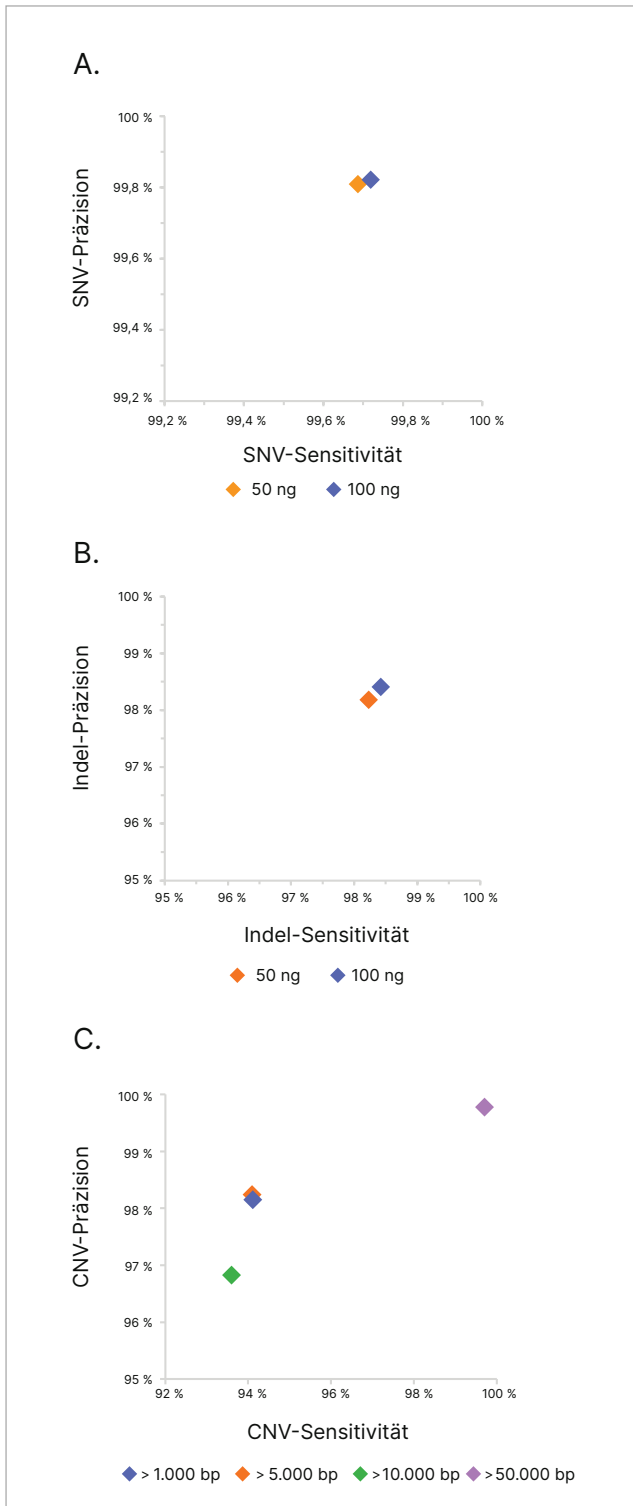


Abbildung 13: Hochgenaues Calling von Keimbahnvarianten mit Illumina 5-Base DNA Prep
 Calling von (A) SNVs und (B) Indels mit einer gDNA-Zugabe von 50 und 100 ng, die aus der Humangenom-Referenzprobe NA12878 vorbereitet wurde. (C) Genauigkeit des Nachweises von Keimbahn-CNVs getrennt nach Variantengröße anhand der Humangenom-Referenzprobe HG002 (Genome in a Bottle). Die Bibliotheken wurden auf dem NovaSeq X System sequenziert und in Teilproben mit 500 Mio. Reads aufgeteilt.

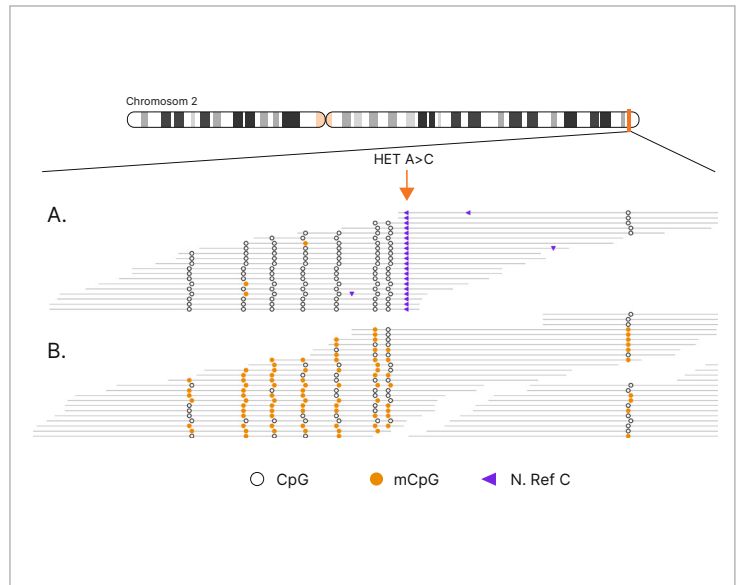


Abbildung 14: Auflösung beider Genvarianten und Methylierung auf demselben Allel

Illumina 5-Base DNA Prep liefert allelspezifische Methylierungsmuster. Die DRAGEN Germline-Pipeline mit 5-Basen-Methylierungsanalyse eignet sich für das Alignment sowohl von Genvarianten als auch von Methylierungsdaten aus denselben Reads. Detailansicht mit einem Intron des Gens *RAMP1* auf Chromosom 2. (A) nicht methyliertes Allel und (B) methyliertes Allel. Die Bibliotheken wurden aus der Humangenom-Referenzprobe NA12878 vorbereitet.

Kostengünstige Untersuchung des gesamten Genoms

Im Vergleich zu alternativen NGS-Methoden zeichnet sich Illumina 5-Base DNA Prep durch die niedrigsten Gesamtkosten für den Workflow aus.⁶ Bei methylierungsorientierten Anwendungen erfordert die 5-Basen-Lösung von Illumina aufgrund der höheren Effizienz des Mappings und der CpG-Coverage pro Lauf einen geringeren Sequenzieraufwand als herkömmliche Methylierungsassays. Illumina 5-Base DNA Prep liefert mit der Erstellung von Methylierungsprofilen und dem Calling von Genomvarianten duale Erkenntnisse bei im Vergleich zum alleinigen Einsatz von Standard-WGS minimalen Zusatzkosten für die Sequenzierung.* Die hocheffiziente DRAGEN-Sekundäranalyse senkt zudem die Kosten für die NGS-Datenanalyse, da zwei „Omik“-Verfahren gleichzeitig abgedeckt werden.

* Basierend auf 500 Mio Read-Paaren (1 Mrd. Paired-End-Reads) für Illumina 5-Base DNA Prep im Gegensatz zu 400 Mio Read-Paaren bei Standard-WGS.

Zusammenfassung

Die Kombination der Analyse von Genvarianten und DNA-Methylierung maximiert den Erkenntnisgewinn bei jeder Probe. Illumina 5-Base DNA Prep bietet eine Lösung mit einem optimierten und integrierten Workflow von den Bibliotheken bis hin zur Interpretation, der die gleichzeitige Erstellung von Genom- und Methylomprofilen ermöglicht. Neuartige Chemie und Algorithmen bieten eine Auflösung auf Ebene einzelner Basen sowie eine hohe Genauigkeit und minimieren gleichzeitig den erforderlichen Sequenzierungsaufwand. Umfassende „Dual-Omik“-Befunde mithilfe der integrierten DRAGEN-Analyse und Illumina Connected Multiomics beschleunigen den Erkenntnisgewinn in der biologischen Forschung.

Weitere Informationen →

[Illumina 5-Base DNA Prep](#)

Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.
Bibliotheksvorbereitung	
Illumina 5-Base DNA Prep (24 samples)	20140364
Illumina 5-Base DNA Prep (96 samples)	In Kürze verfügbar
Indizes	
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
Analyse	
Illumina DRAGEN server v4	20051343
Illumina Analytics - 1 iCredit	20042038
Illumina Analytics Starter Package - 1000 iCredits	20042039
Illumina Analytics - 5000 iCredits	20042040
Illumina Analytics - 50,000 iCredits	20042041
Illumina Analytics - 100,000 iCredits	20042042
Illumina Connected Multiomics	Demo anfordern

Quellen

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. Veröffentlicht am 16. Januar 2016. Aufgerufen am 12. August 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. Veröffentlicht im Juni 2023. Aufgerufen am 12. August 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. Veröffentlicht 2023. Aufgerufen am 12. August 2025.
6. Biomodal. Duet multiomics solution +modC. biomodal.com/products/duet-modc/. Aufgerufen am 12. August 2025.



1 800 8094566 (USA, gebührenfrei) | +1 858 2024566 (Tel. außerhalb der USA)
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2025 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Inhaber. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-03689 DEU v1.0