

# illumina 5-Base DNA Prep

Detecte eventos de metilación y variantes genómicas en un único ensayo del genoma completo



Datos de alta calidad gracias a nuevos métodos químicos y analíticos.



Ensayo dos por uno con flujo de trabajo y análisis sencillos.



Descubrimiento rentable a través de información multiómica.

## Descubrimiento multiómico completo

El ADN es inherentemente multiómico, y contiene información molecular tanto genética como epigenética. Más allá de la secuencia formada por adenina (A), timina (T), guanina (G) y citosina (C), hay bases modificadas como la 5-metilcitosina (5mC) que ayudan a dirigir la expresión genética (figura 1). La detección tanto de la variación genómica como de la metilación del ADN puede revelar mecanismos ocultos de salud y enfermedad. El estudio del genoma y el metiloma normalmente requiere ensayos de secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) independientes y pasos de análisis de datos. Además, la mayoría de los flujos de trabajo de los métodos de creación de perfiles de metilación mediante NGS son tediosos y complejos.

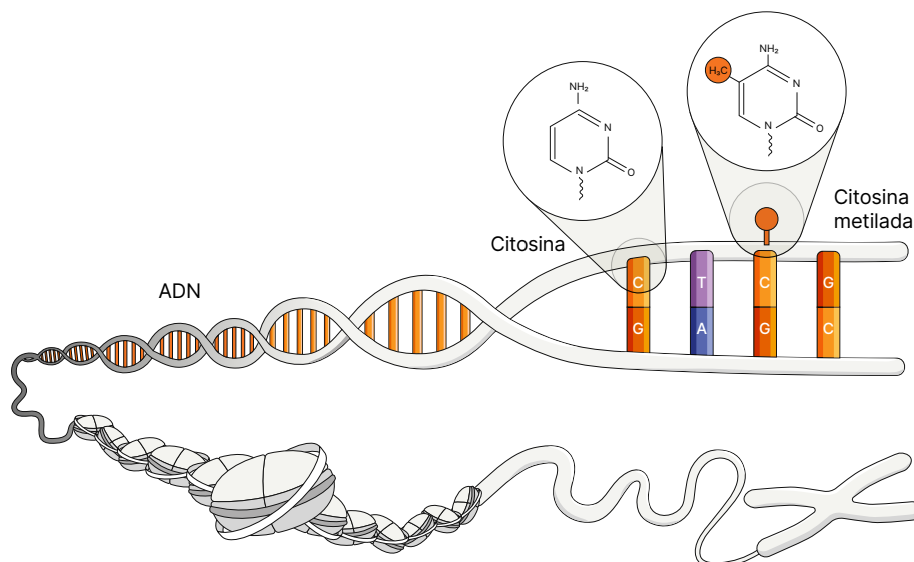
Illumina 5-Base DNA Prep aprovecha la exclusiva química y los algoritmos de análisis optimizados para un enfoque fundamentalmente diferente de la investigación y el análisis del genoma y el metiloma. Un nuevo método enzimático permite la detección de cinco bases (A, T, G, C y 5mC) a partir de una sola muestra, preparación de librería, experimento de secuenciación y flujo de trabajo de análisis. Illumina 5-Base DNA Prep proporciona un ensayo de alta calidad, fácil de usar y rentable para el descubrimiento simultáneo de variantes genómicas y eventos de metilación en el genoma completo.

## Flujo de trabajo sencillo y rápido

Illumina 5-Base DNA Prep combina la secuenciación del genoma completo (WGS, whole-genome sequencing) y la secuenciación de la metilación en un flujo de trabajo fácil de usar (figura 2). Esta solución de un único proveedor proporciona un flujo de trabajo optimizado de la librería a la interpretación con un tiempo de procesamiento de menos de tres días, hasta 3 veces más rápido que los métodos de NGS alternativos.<sup>1-5</sup> Illumina 5-Base DNA Prep es compatible con ADN extracelular circulante (ADNec) y ADN genómico (ADNg) obtenido a partir de sangre, líneas celulares o tejido congelado en fresco (tabla 1). La preparación optimizada de librerías, que incluye una conversión rápida de bases 5mC a T en un solo paso, requiere puntos de contacto mínimos y se completa en un solo día (tabla 1, figura 3, figura 4).<sup>\*</sup> La versátil y flexible solución de 5 bases es compatible con una amplia gama de estudios de investigación en NovaSeq™ X Series, NovaSeq 6000 System o NovaSeq 6000Dx Instrument (modo RUO) (tabla 2, tabla 3). El análisis secundario optimizado con los procesos DRAGEN™ de 5 bases genera una lectura doble en tan solo una hora<sup>†</sup> para un genoma de 30× (figura 5, figura 6). Illumina Connected Multiomics aumenta la profundidad de análisis con métodos estadísticos probados en el sector y visualizaciones claras y ricas en información (figura 7).

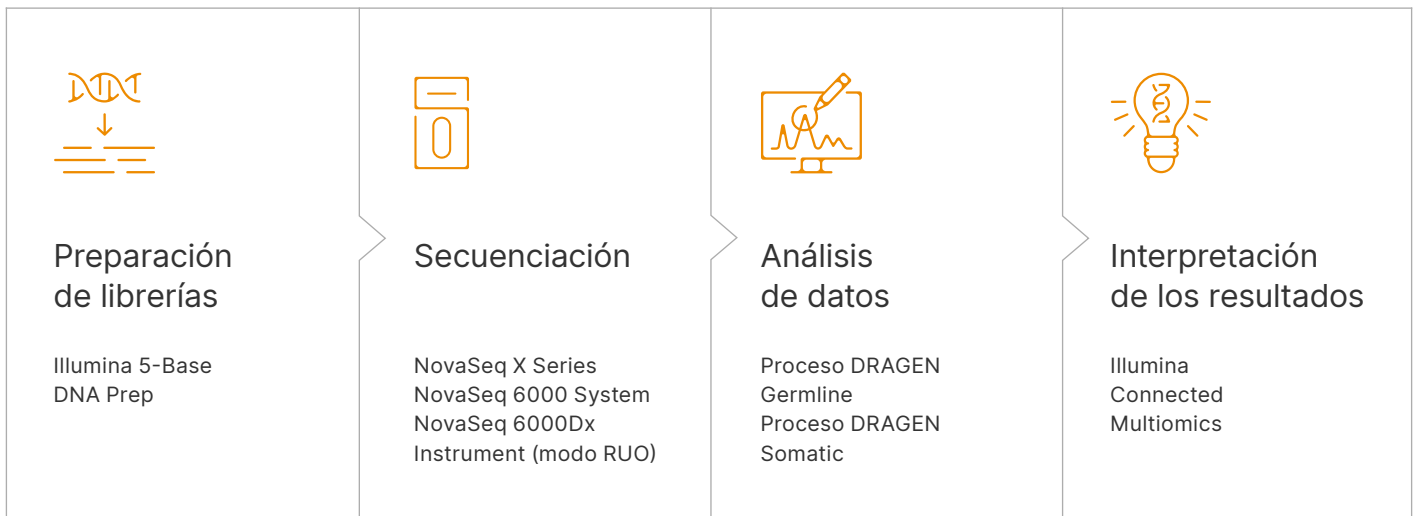
<sup>\*</sup> Menos de 6 horas para el flujo de trabajo de preparación de librerías de ADNec, menos de 8 horas para el flujo de trabajo de preparación de librerías de ADNg (incluido el tiempo de fragmentación). El tiempo no incluye el control de calidad (CC) ni la configuración de la secuenciación.

<sup>†</sup> Proceso de DRAGEN Germline con una sola muestra en un servidor DRAGEN.



**Figura 1: La metilación del ADN de C a 5mC es una marca epigenética bien estudiada para la regulación génica**

Illumina 5-Base DNA Prep detecta 5mC junto con las bases A, T, G y C no modificadas, proporcionando información genómica y epigenómica a partir de un único ensayo de NGS.



**Figura 2: Flujo de trabajo de Illumina 5-Base DNA Prep**

Illumina 5-Base DNA Prep ofrece un flujo de trabajo optimizado de la librería a la interpretación para la detección simultánea de variantes genómicas y eventos de metilación. Prepare librerías en menos de un día con un protocolo sencillo que incluye una nueva química de conversión de bases en un solo paso y, a continuación, secuencie utilizando un sistema de alta productividad de Illumina. El análisis secundario de DRAGEN genera anotaciones genómicas y epigenómicas dobles en una sola lectura en menos de una hora para un genoma de 30x. Illumina Connected Multiomics proporciona visualizaciones y herramientas de análisis claras para simplificar la interpretación de los datos.

**Tabla 1: Parámetros de preparación de librerías para Illumina 5-Base DNA Prep**

Tipo de muestra	Cantidad aportada	Tiempo de preparación de librerías
ADN genómico	50-100 ng	<8 h <sup>a</sup>
ADN extracelular circulante	1-20 ng	<6 h

a. Incluye el tiempo de fragmentación.

**Tabla 2: Productividad de muestras para aplicaciones de llamada de variantes germinales y de metilación**

Celda de flujo NovaSeq X	25B	10B	1.5B
N.º de muestras por celda de flujo <sup>a</sup>	48	18	3

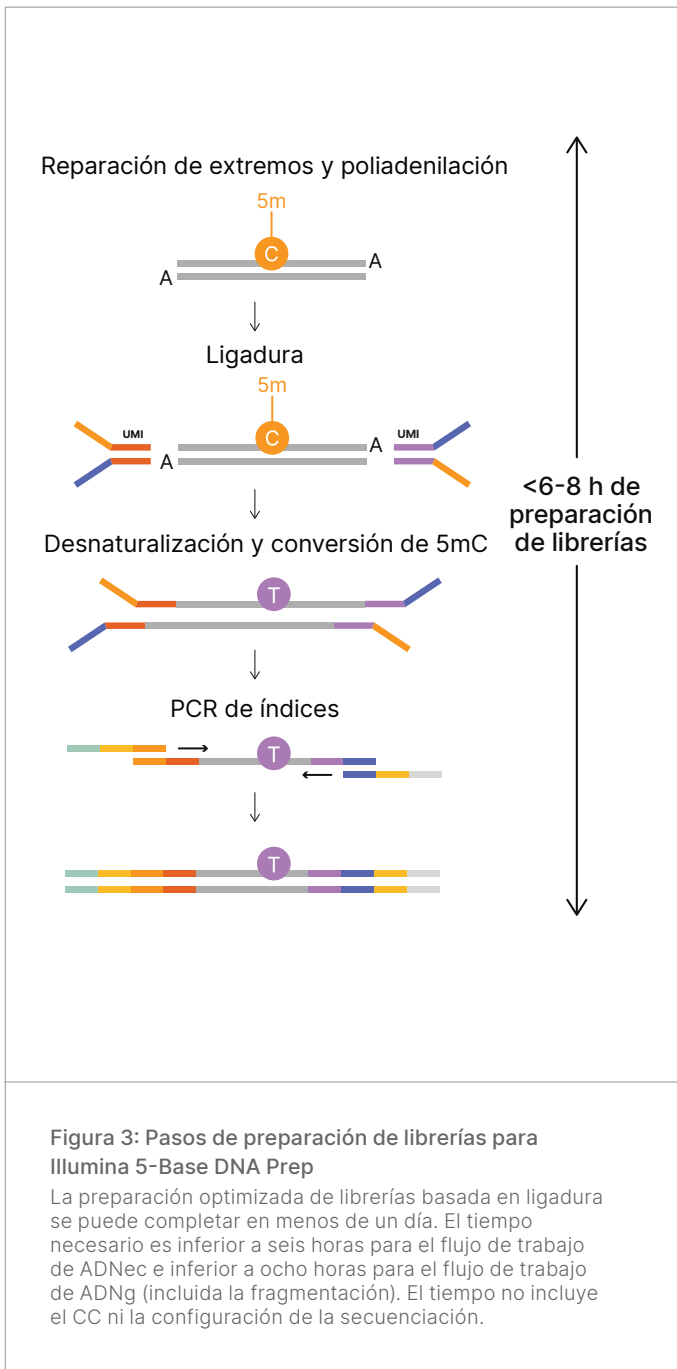
a. Experimentos de 2 × 151 pb y ≥500 millones de grupos para la llamada de variantes germinales de SNV e indel.

**Tabla 3: Recomendaciones de cobertura de secuenciación para diferentes aplicaciones con Illumina 5-Base DNA Prep**

Caso de uso	Cobertura de secuenciación	Proceso de análisis secundario de DRAGEN
Genoma germinal de 5 bases	35-40x	Germinal
Secuenciación del metiloma completo	10-35x	Germinal
Metiloma + llamada de variantes somáticas solo del tumor	≥100x	Somático
Metiloma + llamada de variantes somáticas solo del tumor <sup>a</sup>	≥100x/≥50x	Somático
Metiloma + llamada de CNV de línea germinal <sup>b</sup>	30x	Germinal
Metiloma + llamada de CNV de línea somática <sup>b</sup>	≥80x	Somático
Creación de perfiles de metiloma/fragmentación de ADNec	≥30x	Somático

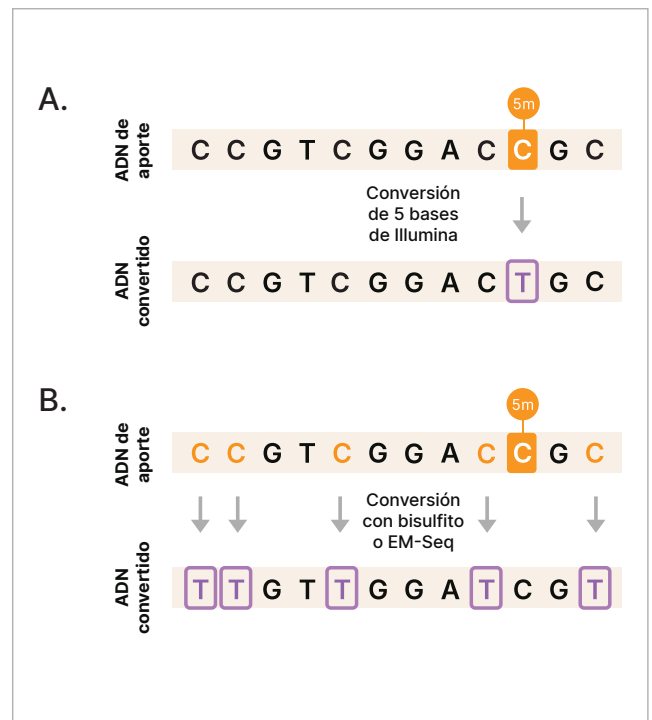
a. La cobertura normal debe ser la mitad de la cobertura tumoral con un objetivo ≥100x de cobertura tumoral.

b. CNV: variante en el número de copias



### Nueva química para la conversión directa de 5-metilcitosina a timina

Los métodos tradicionales para detectar la metilación del ADN utilizan el tratamiento con bisulfito o enzimas para convertir la citosina no metilada en timina (figura 4). Debido a que la mayoría de las citosinas del genoma no están modificadas, este enfoque reduce en gran medida la diversidad de nucleótidos, lo que hace que las lecturas sean más difíciles de secuenciar y alinear. El tratamiento con bisulfito también puede dañar el ADN, dejando brechas en los datos. Illumina 5-Base DNA Prep utiliza una nueva enzima diseñada para convertir directamente solo 5mC en T en un solo paso de incubación (figura 4). El método de 5 bases de Illumina no daña el ADN y conserva la diversidad de nucleótidos de cuatro bases para una alineación más eficiente, para obtener el máximo de datos de cada lectura (tabla 4).



**Figura 4: La nueva química convierte directamente 5mC en T en un solo paso enzimático**

(A) Illumina 5-Base DNA Prep utiliza un proceso enzimático de un solo paso para convertir 5mC en T, lo que produce una mayor diversidad de nucleótidos que (B) el tratamiento tradicional con bisulfito o la secuenciación de metilación enzimática (EM-Seq), en la que la C no metilada se convierte en T.

Tabla 4: Ventajas de Illumina 5-Base DNA Prep

Métodos tradicionales de secuenciación de metilación	Solución de 5 bases de Illumina
Desventajas	Beneficios
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eficiencia de asignación limitada</li> <li>• Precisión de detección de variantes baja</li> <li>• Conversión química que daña el ADN<sup>a</sup></li> <li>• Conversión en varios pasos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alta eficiencia de asignación</li> <li>• Detección de variantes de alta precisión</li> <li>• Conversión enzimática que no daña el ADN</li> <li>• Conversión en un solo paso</li> </ul>
a. Para métodos de NGS con conversión de bisulfito.	

## Lectura única con datos combinados del genoma y el metiloma

El análisis secundario integrado de DRAGEN proporciona una anotación precisa de las variantes genómicas y de metilación en un único conjunto de datos (figura 5). Los nuevos algoritmos DRAGEN sensibles a la metilación de 5 bases tienen en cuenta la naturaleza de cadena de la metilación para distinguir entre una timina que indica un evento de metilación y una timina que representa una variante de nucleótido único (SNV, single nucleotide variant) (figura 6). La metilación y la variación del genoma se capturan hasta la resolución de una sola molécula, lo que permite investigaciones en profundidad de los mecanismos biológicos.

Las funciones de generación de informes de metilación de 5 bases están disponibles en los procesos DRAGEN Germline y Somatic, con una opción de casilla de verificación sencilla. El análisis secundario se puede realizar a través de BaseSpace™ Sequence Hub, las plataformas en la nube de Illumina Connected Analytics o en un servidor DRAGEN.

### Análisis de 5 bases con los procesos DRAGEN Germline o Somatic

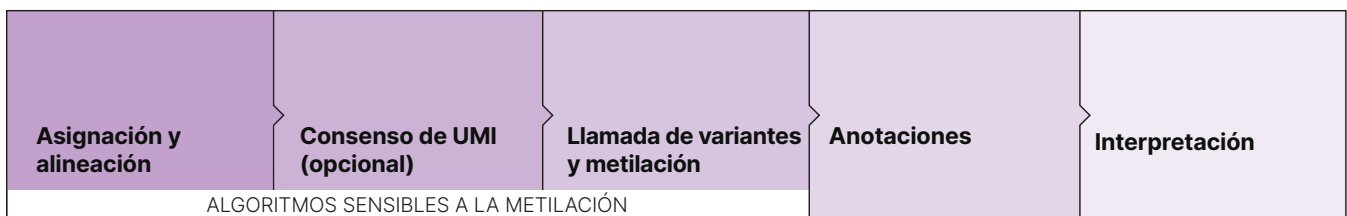
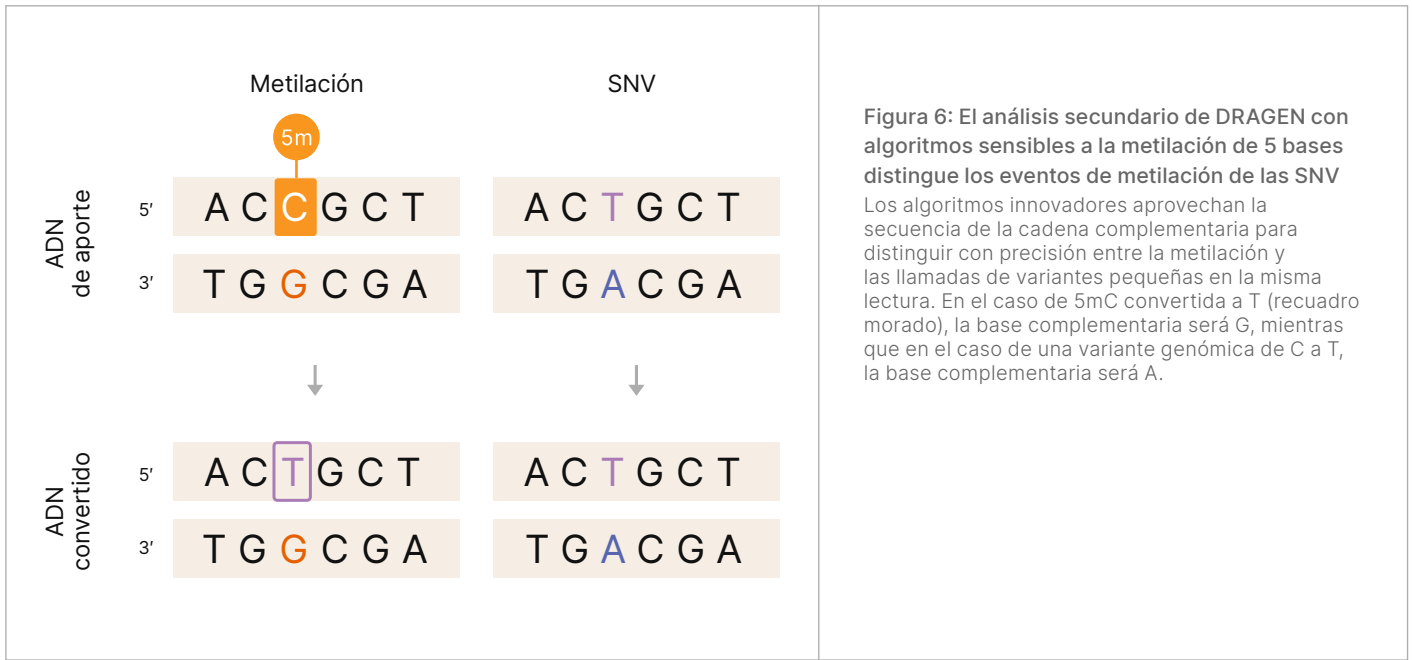


Figura 5: Nuevos algoritmos sensibles a la metilación en los procesos DRAGEN Germline o Somatic

El análisis secundario de 5 bases de Illumina está disponible con los procesos DRAGEN Germline y DRAGEN Somatic con una opción de casilla de verificación sencilla para activar la generación de informes de metilación. El análisis secundario optimizado de 5 bases con los procesos DRAGEN genera una lectura doble en tan solo una hora para un genoma de 30x (proceso de DRAGEN Germline con una sola muestra en un servidor DRAGEN). UMI: identificadores moleculares únicos (unique molecular identifiers).



**Figura 6:** El análisis secundario de DRAGEN con algoritmos sensibles a la metilación de 5 bases distingue los eventos de metilación de las SNV. Los algoritmos innovadores aprovechan la secuencia de la cadena complementaria para distinguir con precisión entre la metilación y las llamadas de variantes pequeñas en la misma lectura. En el caso de 5mC convertida a T (recuadro morado), la base complementaria será G, mientras que en el caso de una variante genómica de C a T, la base complementaria será A.

**Obtenga una comprensión más profunda con Illumina Connected Multiomics**

Los archivos de rendimiento de DRAGEN resultantes se pueden importar directamente a Illumina Connected Multiomics para una exploración y visualización de datos intuitivas, incluidos diversos análisis diferenciales (figura 7). Descubra patrones de metilación, agrupe muestras, reduzca la dimensionalidad de los datos, detecte y anote biomarcadores, y vincule los hallazgos con las funciones biológicas.

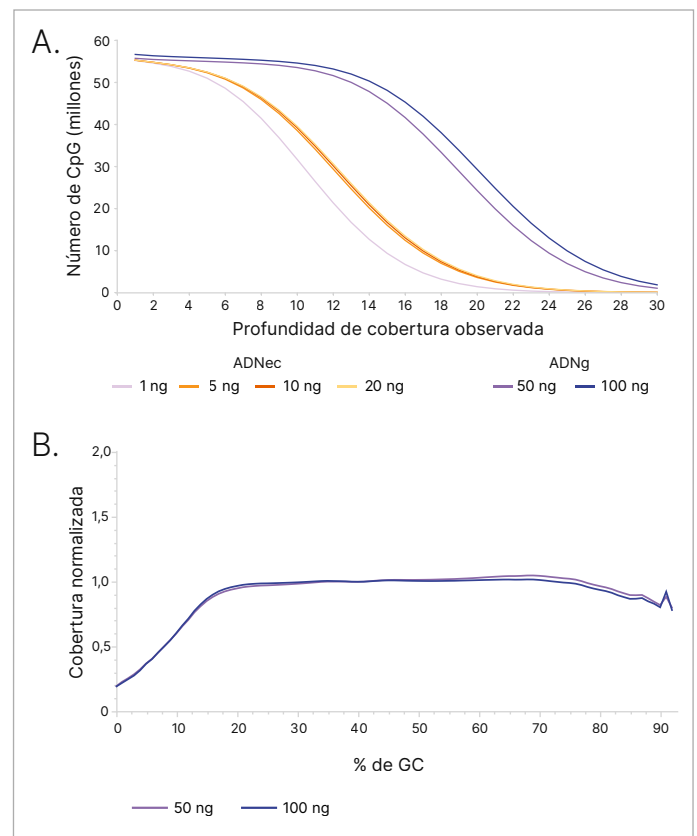


**Figura 7:** Interprete los resultados con Illumina Connected Multiomics

Ejecute procesos predeterminados y cree flujos de trabajo personalizados para la exploración a través del descubrimiento con Illumina Connected Multiomics. Las visualizaciones versátiles del panel proporcionan información detallada con opciones para anotar regiones genómicas, identificar regiones con metilación diferencial, explorar agrupaciones biológicas con agrupación sin supervisión y capturar rutas asociadas a cambios de metilación.

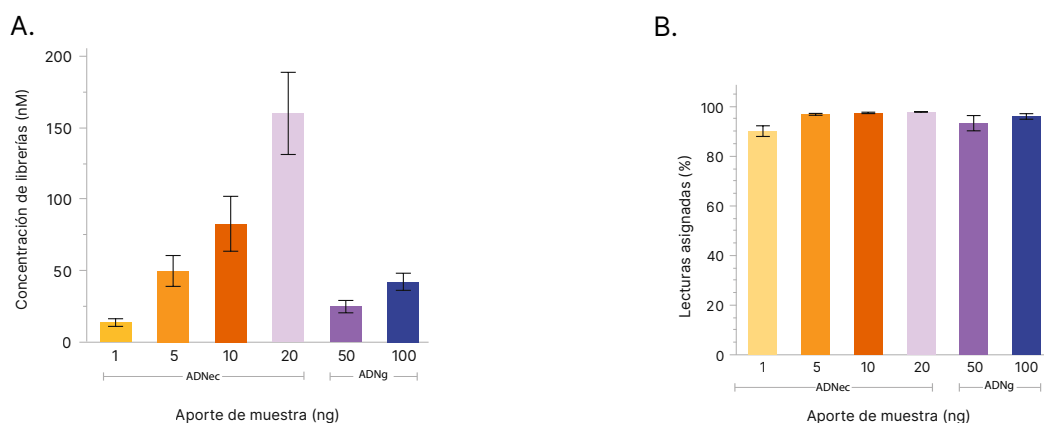
## Información doble de alta calidad

El rendimiento de secuenciación de Illumina 5-Base DNA Prep muestra una alta cobertura de CpG y una cobertura uniforme en una amplia gama de contenido de GC en el genoma humano (figura 8). Las librerías Illumina 5-Base DNA Prep también muestran un alto rendimiento de librerías con un número mínimo de ciclos de PCR y una eficiencia de asignación excepcional (figura 9). Los niveles de metilación medidos para cada muestra son reproducibles con diferentes cantidades de aporte (figura 10) y réplicas técnicas (figura 11). La conversión de 5mC es altamente selectiva en una variedad de aportes de muestra, medida por pequeños controles adicionales del genoma (figura 12). La llamada de variantes germinales de alta precisión para SNV, inserciones-delecciones (indels) y variantes en el número de copias (CNV, copy number variants) permite obtener información completa de ensayos paralelos de WGS y metilación en un único flujo de trabajo (figura 13). La detección de 5mC y bases genéticas de las mismas moléculas permite la resolución específica del alelo de eventos de metilación y variantes genéticas para los datos inferidos (figura 14).



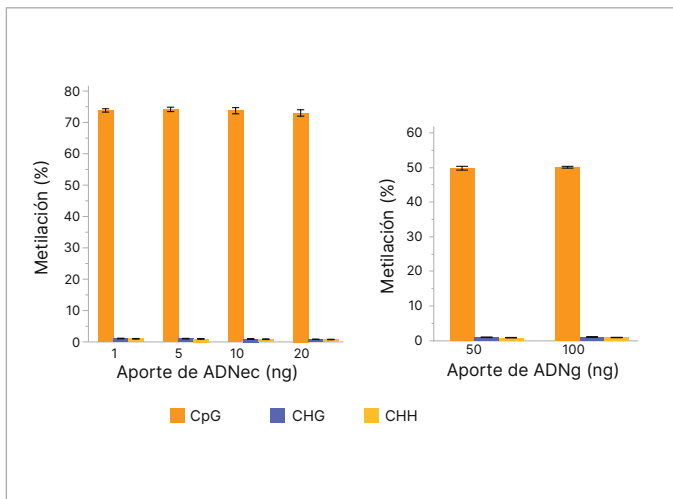
**Figura 8: Rendimiento de secuenciación excepcional con Illumina 5-Base DNA Prep**

(A) Cobertura de CpG alta con aportes de ADNec de 1-20 ng y de ADNg de 50-100 ng. (B) Cobertura de GC uniforme con aportes de ADNg de 50-100 ng. El ADNec se extrae del suero de donantes sanos; el ADNg es la muestra de control del genoma humano NA12878 (Coriell Institute for Medical Research). Las librerías se secuenciaron en NovaSeq X System hasta 500M de grupos.



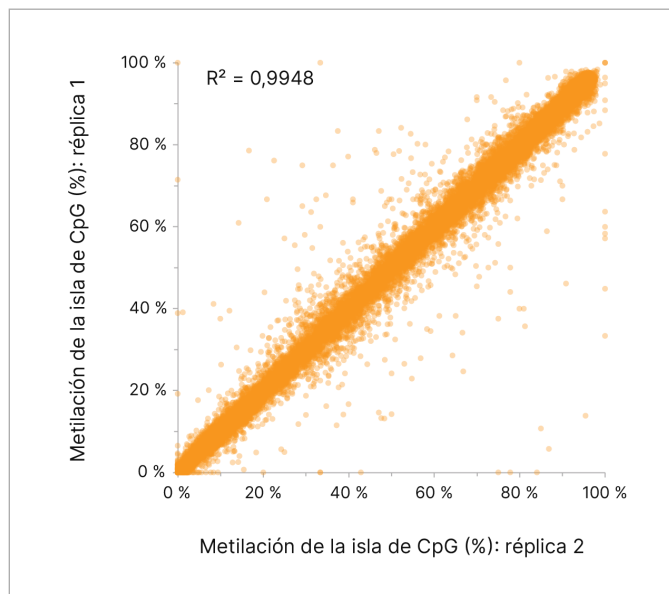
**Figura 9: Alto rendimiento y tasas de alineación con Illumina 5-Base DNA Prep**

(A) Rendimientos de librerías y (B) tasas de alineación (porcentaje de lecturas asignadas) con Illumina 5-Base DNA Prep para aportes de 1-20 ng de ADNec y aportes de 50-100 ng de ADNg. El ADNec se extrae del suero de donantes sanos; el ADNg es la muestra de control del genoma humano NA12878. Las librerías se secuenciaron en NovaSeq X System.



**Figura 10: Detección de metilación con Illumina 5-Base DNA Prep en una amplia gama de tipos de muestras y aportes de ADN**

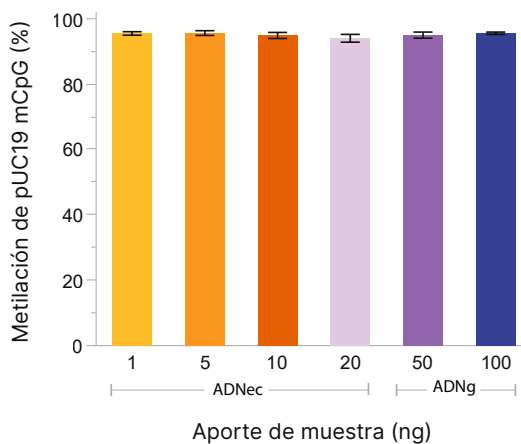
Porcentaje de metilación de citosinas en el contexto de CpG, CHG y CHH. ADNec extraído del suero de donantes sanos, donde se espera una metilación global de CpG del 70-80 %. Como cabría esperar, se observan niveles muy bajos de metilación de CHG y CHH. ADNg derivado de líneas celulares de la muestra de control del genoma humano NA12878, donde se espera una metilación global de CpG de aproximadamente un 50 %. Las librerías se secuenciaron en NovaSeq X System. El análisis secundario de datos se realizó con DRAGEN Germline v4.4.4.



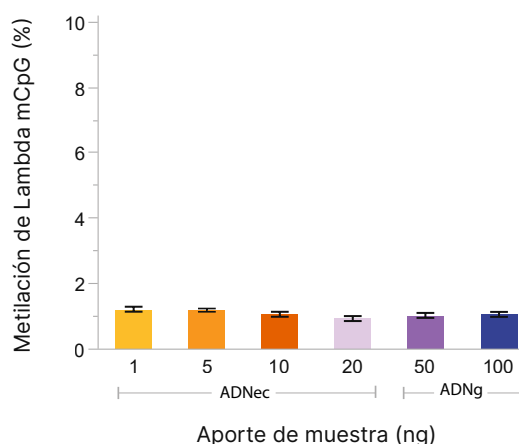
**Figura 11: Medición de metilación reproducible en islas CpG en todos los niveles de metilación con Illumina 5-Base DNA Prep**

Correlación del nivel medio de metilación entre dos réplicas de la muestra de control del genoma humano NA12878 para todas las regiones de islas de CpG. Las librerías se secuenciaron en NovaSeq X System. El análisis secundario de datos se realizó con DRAGEN Germline v4.4.4.

**A.**

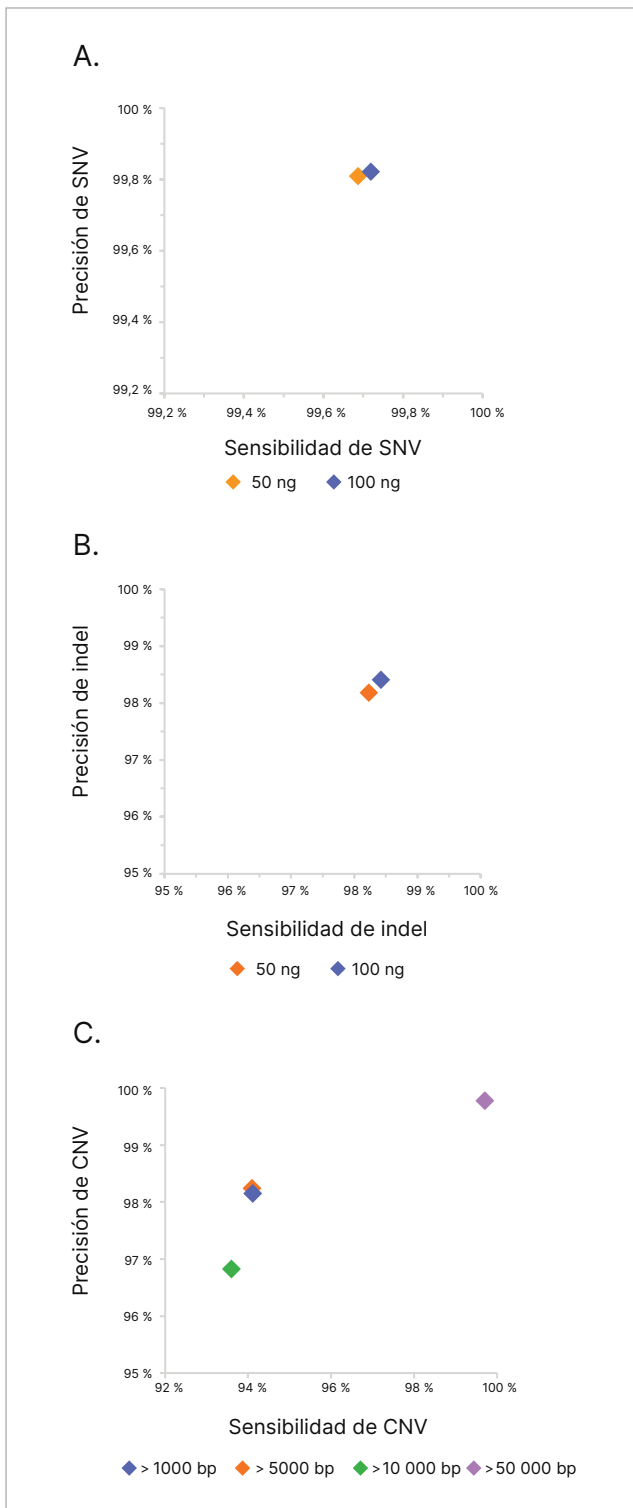


**B.**



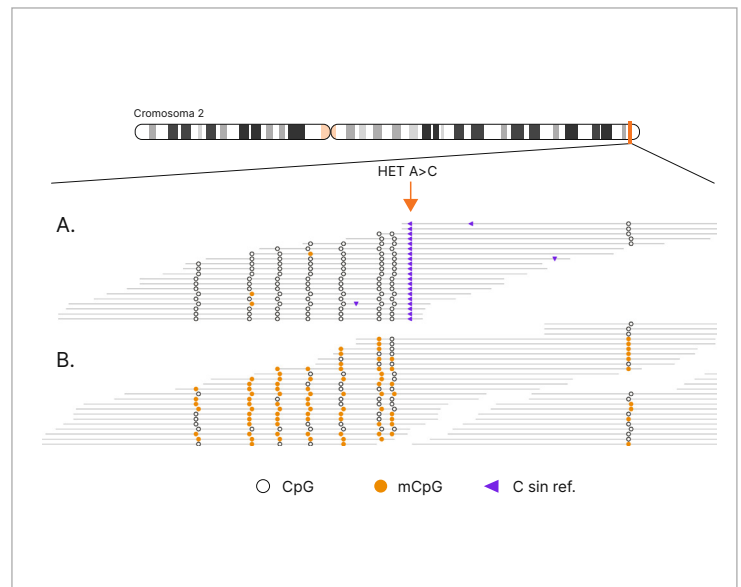
**Figura 12: Conversión selectiva de metilación con Illumina 5-Base DNA Prep**

Alta selectividad y conversión de metilación uniforme en una gama de cantidades de aporte de muestras y tipos de muestras compatibles con diversas aplicaciones. Los controles del genoma pequeño (A) pUC metilado y (B) lambda no metilado se incluyen en el kit y se pueden añadir junto con la muestra de interés para el CC de conversión de la metilación. Las cantidades de aporte son de 1-20 ng de ADNec de donantes sanos y de 50-100 ng de ADNg de la muestra de control humana NA12878.



**Figura 13: Llamada de variantes germinales de alta precisión con Illumina 5-Base DNA Prep**

Llamada de variantes (A) SNV y (B) indel para un aporte de ADNg de 50 ng y 100 ng preparado a partir de la muestra de control del genoma humano NA12878. (C) Precisión de la detección de CNV germinal separada por tamaño de variante con la muestra de control del genoma humano HG002 (Genome in a Bottle). Las librerías se secuenciaron en NovaSeq X System, obteniéndose submuestras de 500 millones de lecturas.



**Figura 14: Resolución tanto de variantes genéticas como de metilación en el mismo alelo**

Illumina 5-Base DNA Prep revela patrones de metilación específicos de alelos. El proceso DRAGEN Germline con análisis de metilación de 5 bases puede alinear los datos tanto de variantes genéticas como de metilación a partir de las mismas lecturas. Vista detallada que muestra un intrón del gen *RAMP1* en el cromosoma 2. (A) Alelo no metilado y (B) alelo metilado. Las librerías se prepararon a partir de la muestra de control del genoma humano NA12878.

## Detección rentable del genoma completo

Illumina 5-base DNA Prep ofrece el flujo de trabajo con el coste más bajo en comparación con métodos de NGS alternativos.<sup>6</sup> Para aplicaciones centradas en la metilación, esta solución de Illumina requiere menos secuenciación que los ensayos de metilación estándar gracias a una mayor eficiencia de asignación y cobertura de CpG por experimento. Para obtener información doble, Illumina 5-Base DNA Prep ofrece la generación de perfiles de metilación y la llamada de variantes genómicas con un coste de secuenciación incremental mínimo en comparación con la WGS estándar sola.<sup>‡</sup> El análisis secundario DRAGEN de doble ómica y alta eficiencia también reduce los costes del análisis de datos de NGS.

<sup>‡</sup> Basado en 500M de pares de lectura (1B de lecturas "paired-end") para Illumina 5-Base DNA Prep frente a 400M de pares de lectura para WGS estándar.

## Resumen

La combinación del análisis de la variación genética y la metilación del ADN ayuda a obtener el máximo de información de cada muestra. Illumina 5-Base DNA Prep ofrece una solución de la librería a la interpretación para la creación simultánea de perfiles de genoma y metiloma en un flujo de trabajo optimizado e integrado. La química y los algoritmos novedosos ofrecen una resolución de bases individuales y una alta precisión, a la vez que reducen la cantidad de secuenciación necesaria. Los informes completos de doble ómica que utilizan el análisis DRAGEN integrado e Illumina Connected Multiomics ayudan a acelerar el descubrimiento biológico.

**Más información** →

[Illumina 5-Base DNA Prep](#)

## Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
<b>Preparación de librerías</b>	
Illumina 5-Base DNA Prep (24 samples)	20140364
Illumina 5-Base DNA Prep (96 samples)	Próximamente
<b>Índices</b>	
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
<b>Análisis</b>	
Illumina DRAGEN server v4	20051343
Illumina Analytics - 1 iCredit	20042038
Paquete básico de Illumina Analytics (1000 iCredits)	20042039
Illumina Analytics – 5000 iCredits	20042040
Illumina Analytics – 50,000 iCredits	20042041
Illumina Analytics – 100,000 iCredits	20042042
Illumina Connected Multiomics	<a href="#">Solicitar una demostración</a>

## Bibliografía

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](http://bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/bismark/Bismark_User_Guide.pdf). Fecha de publicación: 16 de enero de 2016. Fecha de consulta: 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](https://sfvideo.blob.core.windows.net/sitefinity/docs/default-source/protocol/xgen-methyl-seq-dna-library-prep-kit-protocol.pdf?sfvrsn=9fa7e007_11). Fecha de publicación: junio de 2023. Fecha de consulta: 12 de agosto de 2025.
5. Illumina. Hoja de datos de Illumina DNA Prep. [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](https://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). Año de publicación: 2023. Fecha de consulta: 12 de agosto de 2025.
6. Biomodal. Duet multiomics solution +modC. [biomodal.com/products/duet-modc/](https://biomodal.com/products/duet-modc/). Fecha de consulta: 12 de agosto de 2025.



1 800 809 4566 (llamada gratuita, EE. UU.) | tel.: +1 858 202 4566  
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2025 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, consulte [www.illumina.com/company/legal.html](https://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-03689 ESP v1.0