

Illumina 5-Base DNA Prep

Détecter les événements de
méthylation et les variants
génomiques dans un seul test
du génome entier



Qualité de données élevée grâce
à des approches chimiques et
analytiques innovantes



Test deux-en-un avec flux
de travail et analyse faciles



Découverte rentable
grâce aux renseignements
multiomiques

Découverte multiomique complète

L'ADN est intrinsèquement multiomique et contient des renseignements moléculaires génétiques et épigénétiques. Au-delà de la séquence d'adénine (A), de thymine (T), de guanine (G) et de cytosine (C), il existe des bases modifiées telles que la 5-méthylcytosine (5mC) qui aident à diriger l'expression génique (figure 1). La détection simultanée des variations génomiques et de la méthylation de l'ADN peut révéler des mécanismes cachés liés à la santé et aux maladies. L'étude du génome et du méthylome nécessite généralement des tests de séquençage de nouvelle génération (SNG) et des étapes d'analyse des données distincts. De plus, la plupart des méthodes SNG de profilage de la méthylation présentent des flux de travail fastidieux et complexes.

L'Illumina 5-Base DNA Prep exploite une chimie unique et des algorithmes d'analyse optimisés pour proposer une approche fondamentalement différente de l'interrogation et de l'analyse du génome et du méthylome. Une nouvelle méthode enzymatique permet de détecter les cinq bases (A, T, G, C et 5mC) à partir d'un unique échantillon, avec une seule préparation de bibliothèque, une seule analyse de séquençage et un flux de travail d'analyse unique. L'Illumina 5-Base DNA Prep fournit un test de haute qualité, facile à utiliser et économique, permettant la détection simultanée des variants génomiques et des événements de méthylation sur le génome entier.

Flux de travail simple et rapide

L'Illumina 5-Base DNA Prep combine le séquençage du génome entier (SGE) et le séquençage de la méthylation en un flux de travail facile à utiliser (figure 2). Cette solution unique offre un flux de travail rationalisé, de la préparation de la bibliothèque à l'interprétation, avec un délai d'exécution inférieur à trois jours, jusqu'à trois fois plus rapide que les autres méthodes de SNG¹⁻⁵. L'Illumina 5-Base DNA Prep est compatible avec l'ADN acellulaire (ADNa) et l'ADN génomique (ADNg) provenant du sang, de lignées cellulaires ou de tissus frais congelés (tableau 1). La préparation optimisée des bibliothèques, qui comprend une conversion rapide en une seule étape de la base 5mC à T, nécessite un minimum de points de contact et se termine en une seule journée (tableau 1, figure 3, figure 4).^{*} La solution à 5 bases est flexible et évolutive pour prendre en charge un large éventail d'études de recherche sur la série NovaSeq^{MC} X, le NovaSeq 6000 System ou l'instrument NovaSeq 6000Dx (mode RUO) (tableau 2, tableau 3). L'analyse secondaire rationalisée avec des pipelines DRAGEN^{MC} génère une double lecture en seulement une heure[†] pour un génome de 30x (figure 5, figure 6). Illumina Connected Multiomics approfondit l'analyse grâce à des méthodes statistiques éprouvées dans l'industrie et à des visualisations claires et riches en renseignements (figure 7).

^{*} Moins de 6 heures pour le flux de travail de préparation de bibliothèques d'ADNa, moins de 8 heures pour le flux de travail de préparation de bibliothèques d'ADNg (temps de fragmentation inclus). Le temps indiqué n'inclut pas le contrôle de la qualité (CQ) ni la configuration du séquençage.

[†] Pipeline DRAGEN Germline pour un seul échantillon sur serveur DRAGEN.

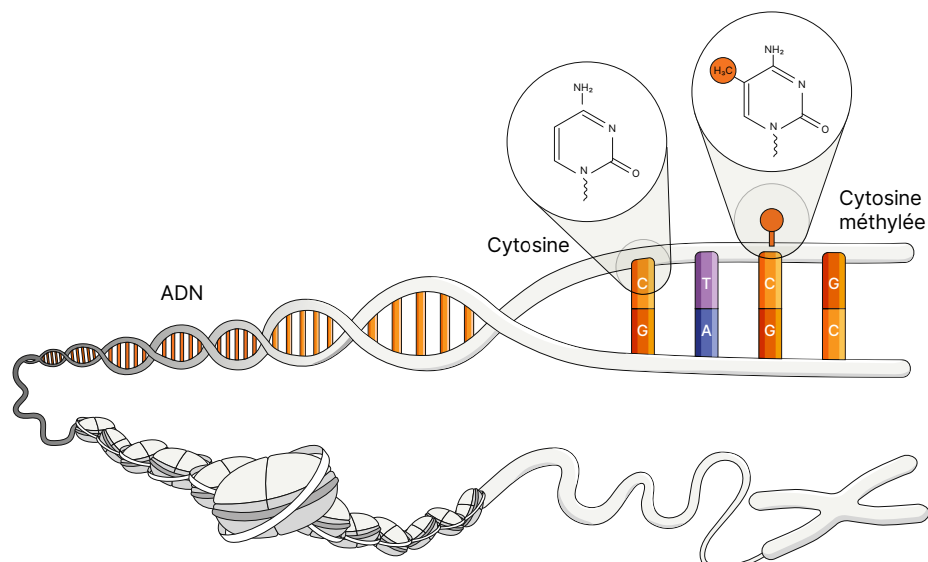


Figure 1 : La méthylation de l'ADN de la cytosine (C) en 5-méthylcytosine (5mC) est une marque épigénétique bien étudiée de la régulation génique.

Illumina 5-Base DNA Prep détecte la 5mC ainsi que les bases A, T, G et C non modifiées, fournissant des renseignements génomiques et épigénomiques à partir d'un seul test de SNG.

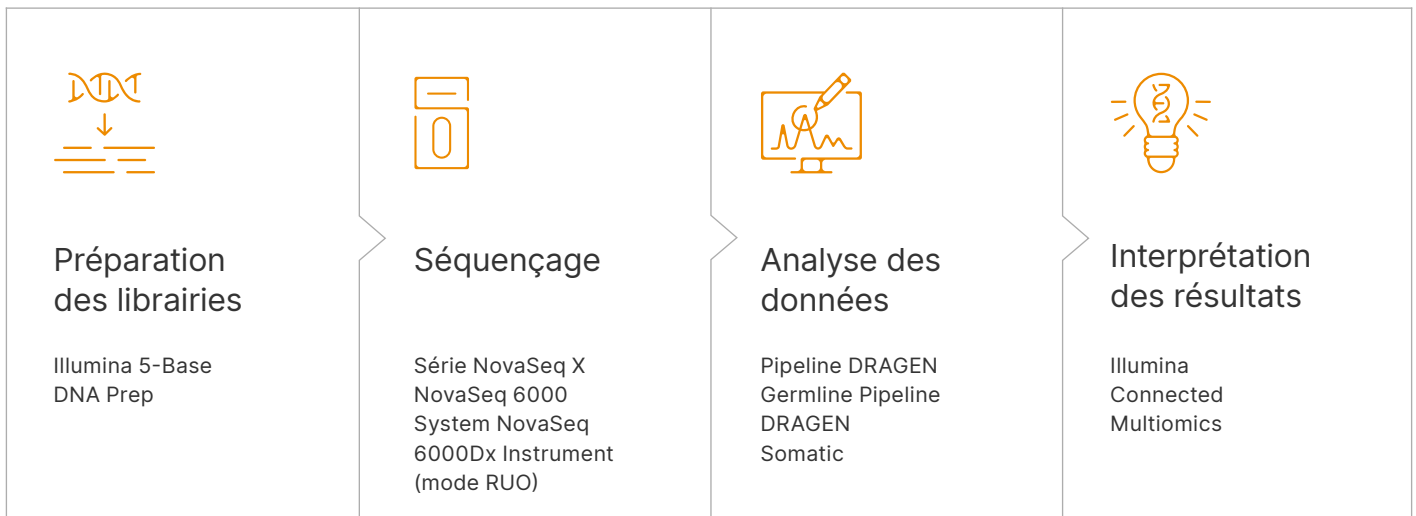


Figure 2 : Flux de travail Illumina 5-Base DNA Prep

Illumina 5-Base DNA Prep propose un flux de travail rationalisé de la bibliothèque à l'interprétation pour la détection simultanée des variants génomiques et des événements de méthylation. Préparez les bibliothèques en moins d'une journée avec un protocole facile qui comprend une nouvelle chimie de conversion de base en une seule étape, puis séquencez-les à l'aide d'un système à débit élevé d'Illumina. L'analyse secondaire DRAGEN génère deux annotations génomiques et épigénomiques en une seule lecture en moins d'une heure pour un génome de 30x. Illumina Connected Multiomics fournit des visualisations et des outils d'analyse clairs pour simplifier l'interprétation des données.

Tableau 1 : Paramètres de préparation de la bibliothèque d'ADN 5-Base d'Illumina

Type d'échantillon	Quantité d'entrée	Temps de préparation des bibliothèques
ADN génomique	50 à 100 ng	< 8 h ^a
ADN acellulaire	1 à 20 ng	< 6 h

a. Comprend le temps de fragmentation.

Tableau 2 : Débit d'échantillons pour les applications d'appel des variants germinaux et de définition de la méthylation

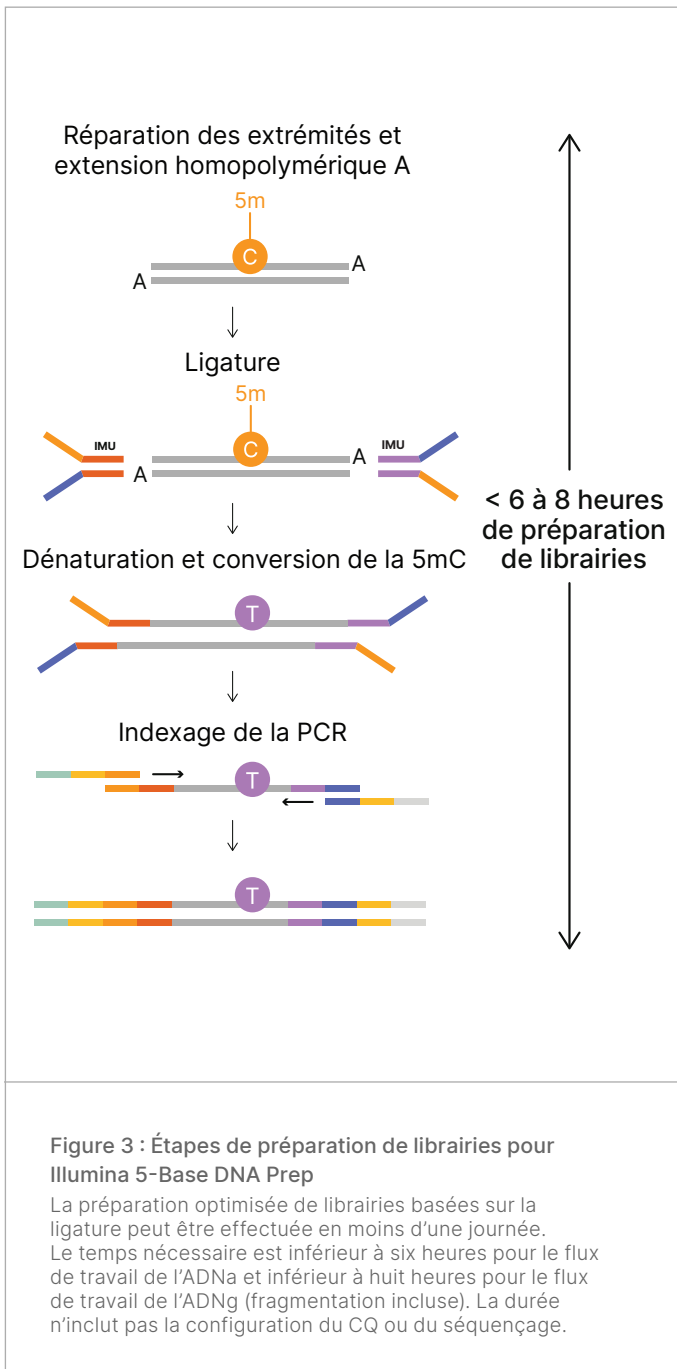
Flow Cell NovaSeq X	25B	10B	1.5B
Nbre d'échantillons par Flow Cell ^a	48	18	3

a. 2 analyses de 151 pb et ≥ 500 millions d'amplifiats pour un appel des variants germinaux SNV et indels à haute précision.

Tableau 3 : Recommandations de couverture de séquençage pour différentes applications avec Illumina 5-Base DNA Prep

Cas d'utilisation	Couverture de séquençage	Pipeline d'analyse secondaire DRAGEN
Génome germlinal à 5 bases	35 À 40x	Germlinal
Séquençage du méthylome entier	10 À 35x	Germlinal
Méthylome + appel des variants somatiques (tumeur seule)	≥ 100x	Somatique
Méthylome + appel des variants somatiques (tumeur/normal) ^a	≥ 100x/≥ 50x	Somatique
Méthylome + appel des VNC germinaux ^b	30x	Germlinal
Méthylome + appel des VNC somatiques ^b	≥ 80x	Somatique
Profilage du méthylome/de la fragmentation de l'ADNa	≥ 30x	Somatique

a. La couverture normale doit être la moitié de la couverture tumorale et cibler une couverture tumorale ≥ 100x.
b. VNC, variant du nombre de copies.



Nouvelle chimie pour la conversion directe de la 5-méthylcytosine en thymine

Les méthodes traditionnelles de détection de la méthylation de l'ADN utilisent un traitement au bisulfite ou des enzymes pour convertir la cytosine non méthylée en thymine (figure 4). Comme la plupart des cytosines du génome ne sont pas modifiées, cette approche réduit considérablement la diversité des nucléotides, ce qui rend le séquençage et l'alignement des lectures plus difficiles. Le traitement au bisulfite peut également endommager l'ADN, entraînant des lacunes dans les données. Illumina 5-Base DNA Prep utilise une nouvelle enzyme conçue pour convertir directement seulement le 5mC en thymine en une seule étape d'incubation (figure 4). La méthode Illumina 5-base n'endommage pas l'ADN et conserve la diversité des nucléotides à quatre bases pour un alignement plus efficace, maximisant les données obtenues de chaque lecture (tableau 4).

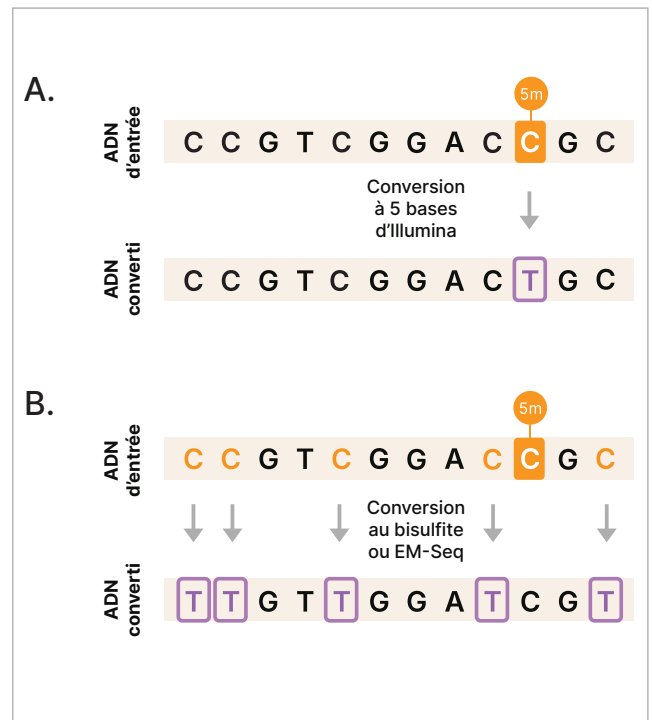


Figure 4 : La nouvelle chimie convertit directement la 5mC en T en une seule étape enzymatique

(A) Illumina 5-Base DNA Prep utilise un processus enzymatique en une étape pour convertir uniquement la 5mC en T, offrant une plus grande diversité de nucléotides que (B) le traitement traditionnel au bisulfite ou le séquençage de méthylation enzymatique (EM-Seq), où les C non méthylées sont converties en T.

Tableau 4 : Avantages de l'Illumina 5-Base DNA Prep

Méthodes traditionnelles de séquençage de la méthylation	Solution Illumina 5-Base DNA Prep
Défis	Avantages
<ul style="list-style-type: none"> • Efficacité de cartographie limitée • Précision de détection des variants faible • Conversion chimique qui endommage l'ADN^a • Conversion en plusieurs étapes 	<ul style="list-style-type: none"> • Efficacité de cartographie élevée • Détection des variants de haute précision • Conversion enzymatique qui n'endommage pas l'ADN • Conversion en une seule étape
a. Pour les méthodes de SNG de conversion au bisulfite.	

Lecture unique avec données combinées du génome et du méthylome

L'analyse secondaire intégrée DRAGEN fournit une annotation précise des variants génomiques et de méthylation dans un seul ensemble de données (figure 5). Les nouveaux algorithmes DRAGEN compatibles avec la méthylation à 5 bases tiennent compte de la nature en brins de la méthylation pour distinguer une thymine indiquant un événement de méthylation d'une thymine correspondant à un variant mononucléotidique (SNV) (figure 6). La méthylation et les variations génomiques sont détectées à l'échelle de la molécule unique, permettant des investigations approfondies des mécanismes biologiques.

Les fonctionnalités de rapport de méthylation à 5 bases sont disponibles dans les pipelines DRAGEN Germline et Somatic via une simple case à cocher. L'analyse secondaire peut être effectuée via les plateformes infonuagiques BaseSpace^{MC} Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics, ou sur un serveur DRAGEN.

Analyse à 5 bases à l'aide de pipelines DRAGEN Germline ou Somatic



Figure 5 : Nouveaux algorithmes compatibles avec la méthylation dans les pipelines DRAGEN Germline ou Somatic

L'analyse secondaire à 5 bases d'Illumina est disponible dans les pipelines DRAGEN Germline et DRAGEN Somatic avec une option de case à cocher facile pour activer la production de rapports de méthylation. L'analyse secondaire rationalisée à 5 bases avec les pipelines DRAGEN génère une double lecture en seulement une heure pour un génome de 30x (pipeline DRAGEN Germline à échantillon unique sur un serveur DRAGEN). IMU, identifiants moléculaires uniques.

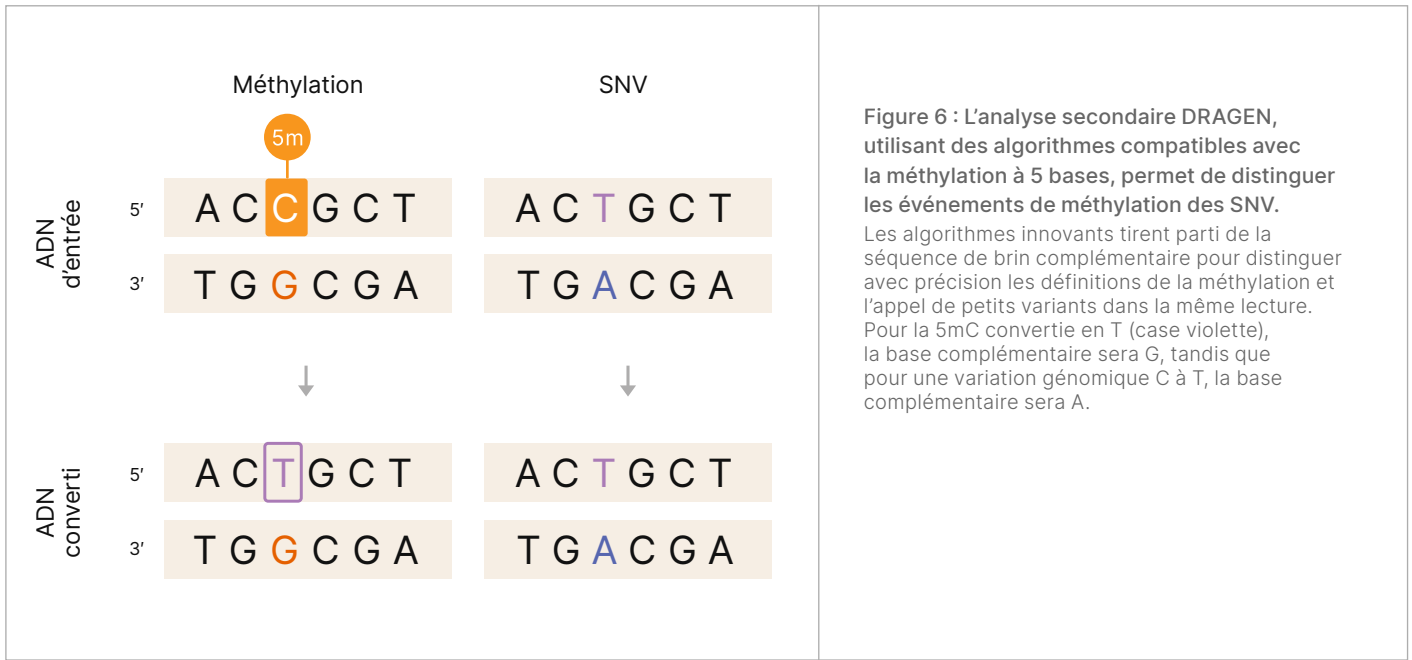


Figure 6 : L'analyse secondaire DRAGEN, utilisant des algorithmes compatibles avec la méthylation à 5 bases, permet de distinguer les événements de méthylation des SNV. Les algorithmes innovants tirent parti de la séquence de brin complémentaire pour distinguer avec précision les définitions de la méthylation et l'appel de petits variants dans la même lecture. Pour la 5mC convertie en T (case violette), la base complémentaire sera G, tandis que pour une variation génomique C à T, la base complémentaire sera A.

Approfondissez vos analyses avec Illumina Connected Multiomics

Les fichiers de sortie DRAGEN qui en résultent peuvent être directement importés dans Illumina Connected Multiomics pour une exploration et une visualisation intuitives des données, y compris diverses analyses différentielles (figure 7). Découvrez les modèles de méthylation, regroupez les échantillons, réduisez la dimensionnalité des données, détectez et annotez les biomarqueurs, et reliez les résultats aux fonctions biologiques.



Figure 7 : Interprétez les résultats avec Illumina Connected Multiomics

Exécutez les pipelines par défaut et créez des flux de travail personnalisés pour explorer et découvrir avec Illumina Connected Multiomics. Les visualisations de tableau de bord polyvalentes fournissent des renseignements approfondis avec des options pour annoter les régions génomiques, identifier les régions différemment méthylées, explorer les regroupements biologiques avec une génération d'amplifiats non supervisée et capturer les voies associées aux changements de méthylation.

Doubles renseignements de haute qualité

La performance de séquençage d'Illumina 5-Base DNA Prep montre une couverture élevée des CpG et une couverture uniforme sur une gamme de teneurs en GC dans le génome humain (figure 8). Les bibliothèques Illumina 5-Base DNA Prep montrent également un rendement élevé avec un nombre minimal de cycles PCR et une efficacité de cartographie exceptionnelle (figure 9). Les niveaux de méthylation mesurés pour chaque échantillon sont reproductibles sur différentes entrées (figure 10) et réplicats techniques (figure 11). La conversion de la 5mC est très sélective sur diverses quantités d'échantillons, comme mesuré par de petits ajouts de contrôle du génome (figure 12). Un appel des variants germinaux très précis pour les SNV, les insertions/suppressions (indels) et les variants du nombre de copies (VNC) permet d'obtenir une vision complète en combinant les tests de séquençage du génome entier (SGE) et de méthylation dans un flux de travail unique (figure 13). La détection de la 5mC et des bases génétiques à partir des mêmes molécules permet une résolution spécifique aux allèles des événements de méthylation et des variants génétiques pour les données mises en phase (figure 14).

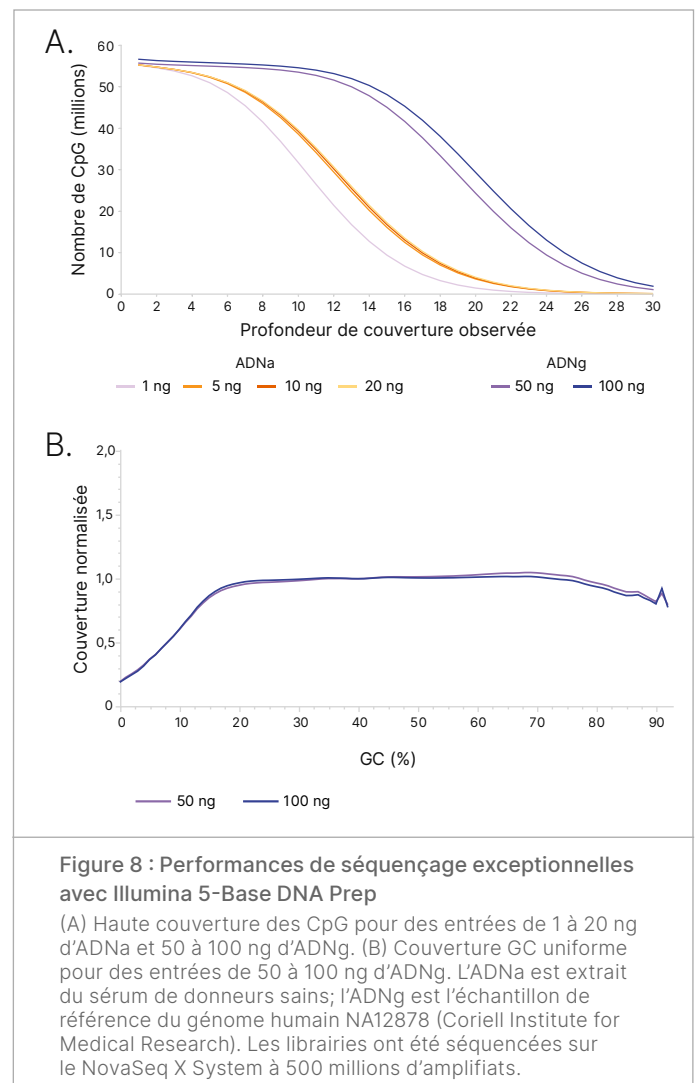


Figure 8 : Performances de séquençage exceptionnelles avec Illumina 5-Base DNA Prep

(A) Haute couverture des CpG pour des entrées de 1 à 20 ng d'ADNa et 50 à 100 ng d'ADNg. (B) Couverture GC uniforme pour des entrées de 50 à 100 ng d'ADNg. L'ADNa est extrait du sérum de donneurs sains; l'ADNg est l'échantillon de référence du génome humain NA12878 (Coriell Institute for Medical Research). Les bibliothèques ont été séquencées sur le NovaSeq X System à 500 millions d'amplifiats.

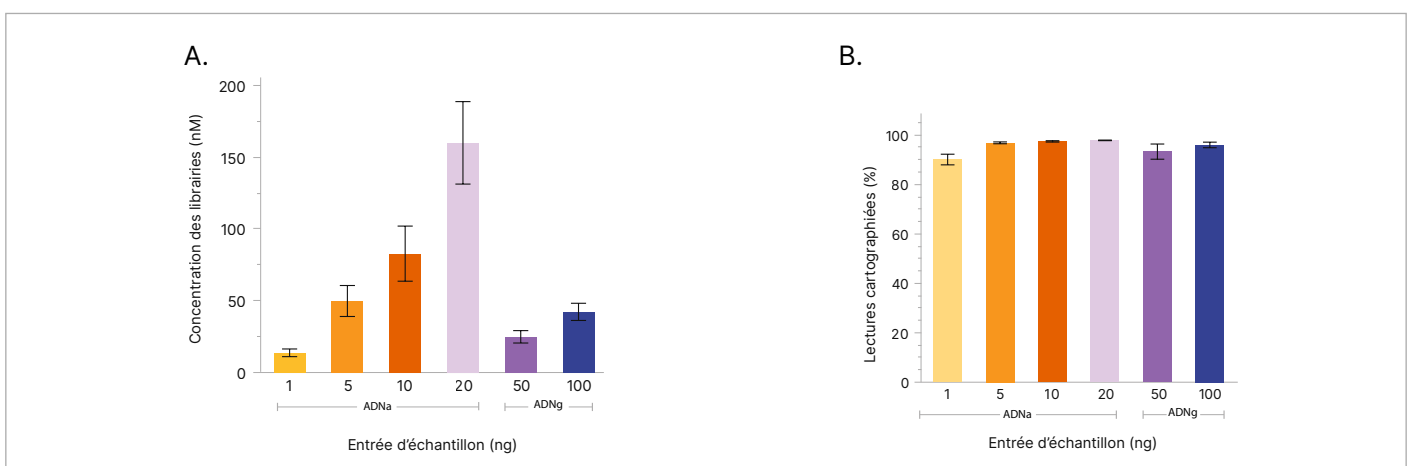


Figure 9 : Taux de rendement et d'alignement élevés grâce à Illumina 5-Base DNA Prep

(A) Rendements des bibliothèques et (B) taux d'alignement (pourcentage de lectures cartographiées) obtenus avec l'Illumina 5-Base DNA Prep pour des entrées de 1 à 20 ng d'ADNa et de 50 à 100 ng d'ADNg. L'ADNa est extrait du sérum de donneurs sains; l'ADNg provient de l'échantillon de référence du génome humain NA12878. Les bibliothèques ont été séquencées sur NovaSeq X System.

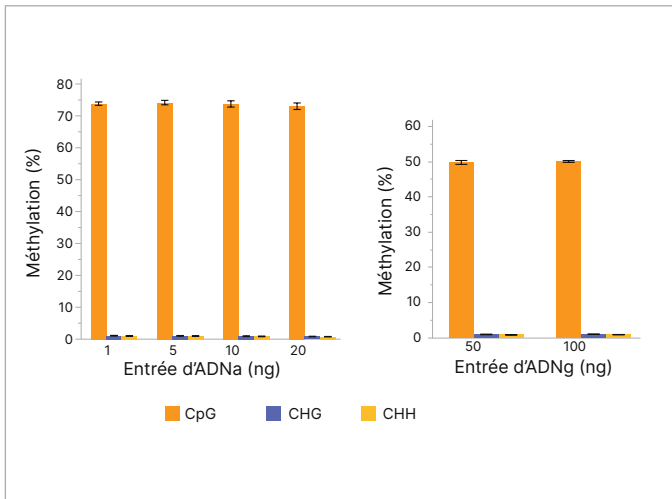


Figure 10 : Détection de méthylation avec Illumina 5-Base DNA Prep sur une gamme de types d'échantillons et d'entrées d'ADN

Pourcentage de méthylation des cytosines dans les contextes CpG, CHG et CHH. L'ADN acellulaire (ADNa) extrait du sérum de donneurs sains, pour lequel une méthylation globale des CpG de 70 à 80 % est attendue. De très faibles taux de méthylation du CHG et du CHH sont observés comme prévu. ADNg dérivé de lignées cellulaires provenant de l'échantillon de référence du génome humain NA12878, où une méthylation globale des CpG d'environ 50 % est attendue. Les librairies ont été séquencées sur NovaSeq X System. L'analyse secondaire des données a été effectuée avec DRAGEN Germline v4.4.4.

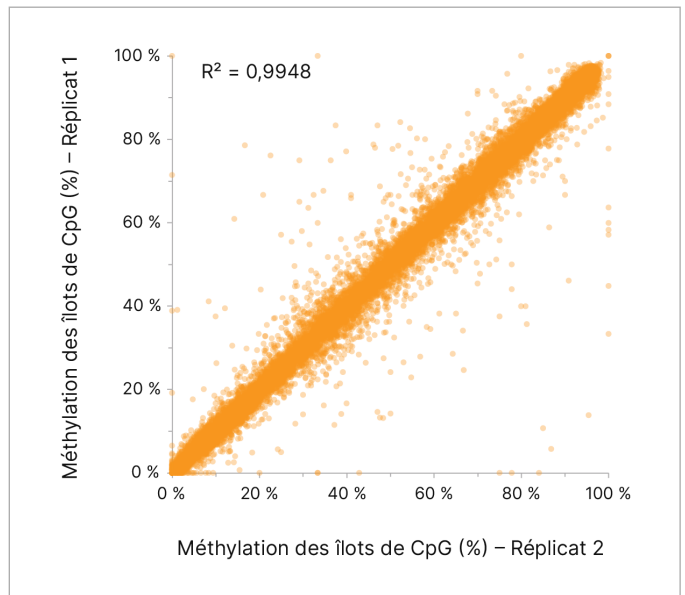


Figure 11 : Mesure de la méthylation reproductible sur les îlots CpG à tous les niveaux de méthylation grâce à l'Illumina 5-Base DNA Prep

Corrélation du niveau moyen de méthylation entre deux répliquats de l'échantillon de référence du génome humain NA12878 pour toutes les régions d'îlots CpG. Les librairies ont été séquencées sur NovaSeq X System. L'analyse secondaire des données a été effectuée avec DRAGEN Germline v4.4.4.

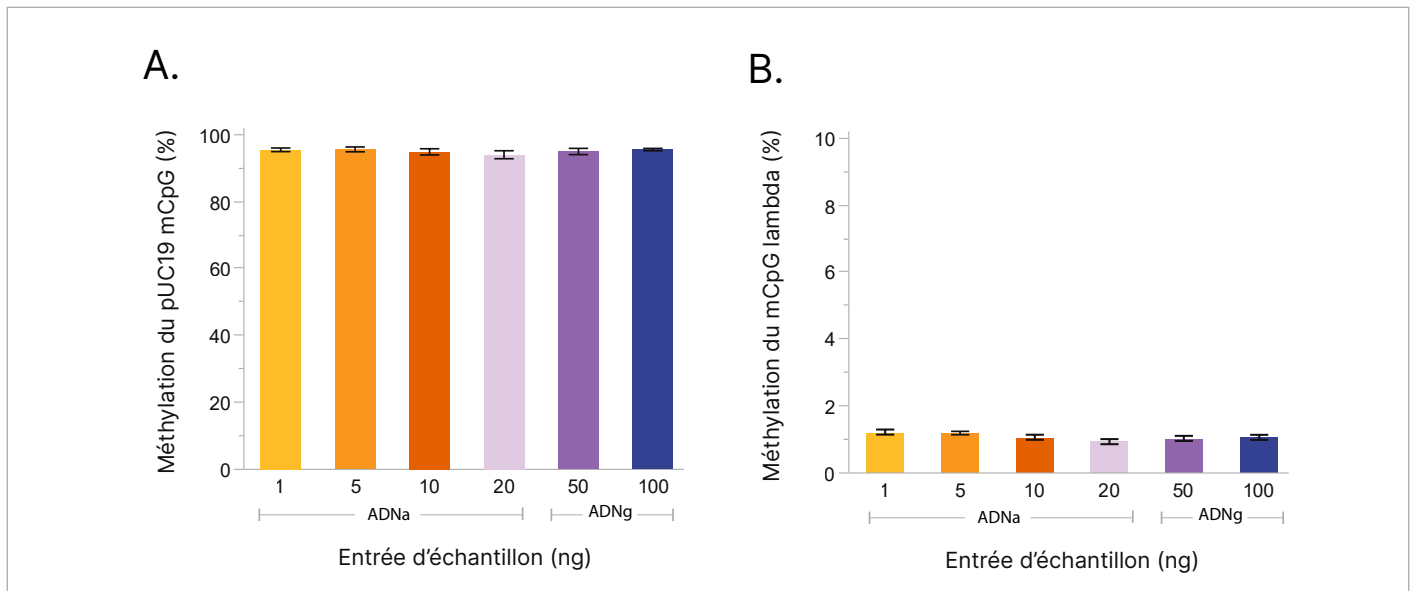


Figure 12 : Conversion sélective de la méthylation avec Illumina 5-Base DNA Prep

Une sélectivité élevée et une conversion de méthylation cohérente sur une large gamme de quantités d'échantillons et de types d'échantillons permettent de prendre en charge de nombreuses applications. Les contrôles de petits génomes (A) pUC méthylé et (B) lambda non méthylé sont inclus dans la trousse et peuvent être ajoutés à l'échantillon d'intérêt pour le contrôle de la qualité (CQ) de la conversion de la méthylation. Les quantités d'entrée sont de 1 à 20 ng d'ADNa provenant de donneurs sains et de 50 à 100 ng d'ADNg provenant de l'échantillon de référence humain NA12878.

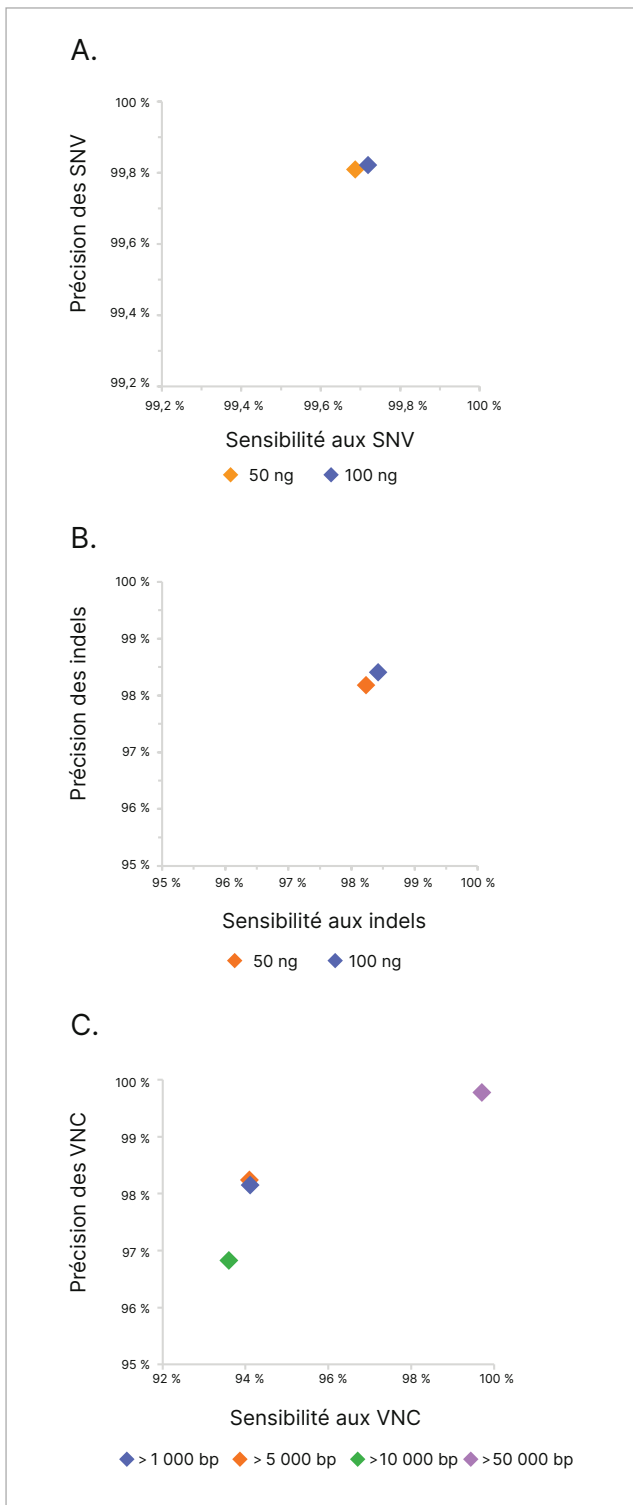


Figure 13 : Appel des variants germinaux à haute précision avec Illumina 5-Base DNA Prep

(A) Appel des variants SNV et (B) appel des variants indels pour des entrées de 50 ng et 100 ng d'ADN génomique préparé à partir de l'échantillon de référence du génome humain NA12878. (C) Précision des suppressions VNC germinales, classées par taille de variant, avec l'échantillon de référence du génome humain HG002 (Genome in a Bottle). Les bibliothèques ont été séquencées sur NovaSeq X System et sous-échantillonnées à 500 millions de lectures.

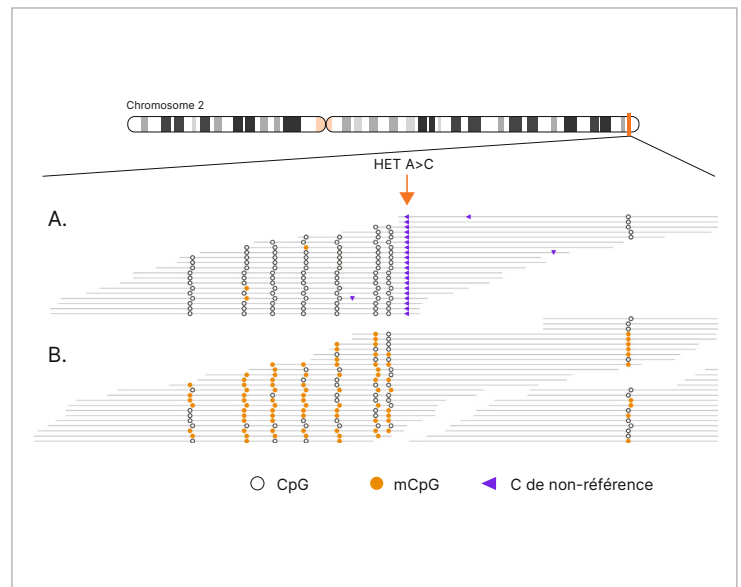


Figure 14 : Résolution des variants génétiques et de la méthylation sur le même allèle

Illumina 5-Base DNA Prep révèle des modèles de méthylation spécifiques aux allèles. Le pipeline DRAGEN Germline, combiné à l'analyse de méthylation à 5 bases, permet d'aligner à la fois les variants génétiques et les renseignements de méthylation à partir des mêmes lectures. Vue détaillée montrant un intron du gène *RAMP1* sur le chromosome 2. (A) allèle non méthylé et (B) allèle méthylé. Les bibliothèques ont été préparées à partir de l'échantillon de génome humain de référence NA12878.

Découverte du génome entier à moindre coût

L'Illumina 5-base DNA Prep offre le coût total de flux de travail le plus bas par rapport aux méthodes de SNG alternatives⁶. Pour les applications axées sur la méthylation, la solution Illumina 5-base nécessite moins de séquençage que les tests de méthylation standard en raison d'une meilleure efficacité de cartographie et d'une couverture accrue des CpG par analyse. Pour une double perspective, l'Illumina 5-Base DNA Prep permet à la fois le profilage de la méthylation et l'appel des variants génomiques, avec un coût de séquençage supplémentaire minimal par rapport au SGE standard seul.[‡] L'efficacité élevée de l'analyse secondaire DRAGEN double-omique réduit en outre les coûts liés à l'analyse des données SNG.

[‡] Basé sur 500 millions de paires de lectures (1 milliard de lectures appariées) pour Illumina 5-Base DNA Prep contre 400 millions de paires de lectures pour le SGE standard.

Résumé

La combinaison de l'analyse des variations génétiques et de la méthylation de l'ADN permet de maximiser les renseignements obtenus à partir de chaque échantillon. Illumina 5-Base DNA Prep offre une solution complète de la préparation des bibliothèques à l'interprétation, permettant le profilage simultané du génome et du méthylome dans un flux de travail optimisé et intégré. Une chimie et des algorithmes innovants offrent une résolution au niveau d'une seule base et une grande précision, tout en minimisant la quantité de séquençage nécessaire. Des rapports double-omiques complets, utilisant l'analyse intégrée DRAGEN et Illumina Connected Multiomics, contribuent à accélérer la découverte biologique.

En savoir plus →

[Illumina 5-Base DNA Prep](#)

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
Préparation des bibliothèques	
Illumina 5-Base DNA Prep (24 échantillons)	20140364
Illumina 5-Base DNA Prep (96 échantillons)	Prochainement
Index	
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091660
Illumina Unique Dual Indexes, LT (48 index, 48 échantillons)	20098166
Analyse	
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	Demander une démonstration

Références

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. Publié le 16 janvier 2016. Consulté le 12 août 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. Publié en juin 2023. Consulté le 12 août 2025.
5. Illumina. Fiche technique d'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. Publié en 2023. Consulté le 12 août 2025.
6. Biomodal. Duet multiomics solution +modC. biomodal.com/products/duet-modc/. Consulté le 12 août 2025.



Numéro sans frais aux États-Unis : + (1) 800 809-4566 | Téléphone : + (1) 858 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2025 Illumina, Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-03689 FRA v1.0