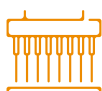


Illumina 5-Base DNA Prep

在单次全基因组分析中检测
甲基化信息和基因组变异



借助创新化学技术与分析方法，
获得高质量数据



双效合一的检测方案——流程简捷、
分析轻松



通过多组学见解实现经济高效的
探索发现

全面的多组学发现

DNA本质上是多组学的载体，同时蕴含遗传学与表观遗传学分子信息。除了腺嘌呤（A）、胸腺嘧啶（T）、鸟嘌呤（G）和胞嘧啶（C）的序列外，还存在5-甲基胞嘧啶（5mC）等修饰碱基，这些碱基有助于调控基因表达（图1）。同时检测基因组变异和DNA甲基化，能够揭示健康与疾病背后的隐藏机制。研究基因组和甲基化组通常需要分开进行新一代测序（NGS）检测及数据分析步骤。此外，大多数NGS甲基化分析方法的工作流程繁琐且复杂。

Illumina 5-Base DNA Prep凭借特有的化学技术和优化的分析算法，开创了一种全新的基因组和甲基化组研究与分析方法。其创新的酶法可通过单次样本处理、文库制备、测序运行及分析工作流程，实现对五种碱基（A、T、G、C和5mC）的检测。Illumina 5-Base DNA Prep提供了一种高质量、易用且经济高效的检测方案，可同时发现整个基因组的变异和甲基化事件。

简便快捷的工作流程

Illumina 5-Base DNA Prep将全基因组测序（WGS）与甲基化测序整合到一个易于使用的工作流程中（图2）。这款单一供应商解决方案提供了精简的从文库制备到结果解读的工作流程，周转时间不到3天——速度最高可达其他NGS方法的3倍¹⁻⁵。Illumina 5-Base DNA Prep兼容来自血液、细胞系或新鲜冷冻组织的游离DNA（cfDNA）和基因组DNA（gDNA）（表1）。经过优化的文库制备流程采用快速一步法完成5mC至T碱基转化，仅需非常少的手动操作，一天内即可完成（表1，图3，图4）。* 5-碱基解决方案具有灵活可扩展性，可支持NovaSeq™ X系列、NovaSeq™ 6000测序仪及NovaSeq™ 6000Dx测序仪（RUO模式）的各类研究（表2，表3）。借助5-base DRAGEN™分析流程实现的精简二级分析，对于30×基因组覆盖度的样本，最快仅需一小时[†]即可生成双重结果（图5，图6）。凭借行业公认的统计方法和信息丰富、清晰的可视化结果，Illumina Connected Multiomics将助力您的多组学研究迈向更深层次（图7）。

* cfDNA文库制备工作流程在6小时以内，gDNA文库制备工作流程在8小时以内（包括片段化时间），此时间不包括质量控制（QC）或测序准备环节。
† DRAGEN服务器上的单样本DRAGEN Germline流程。

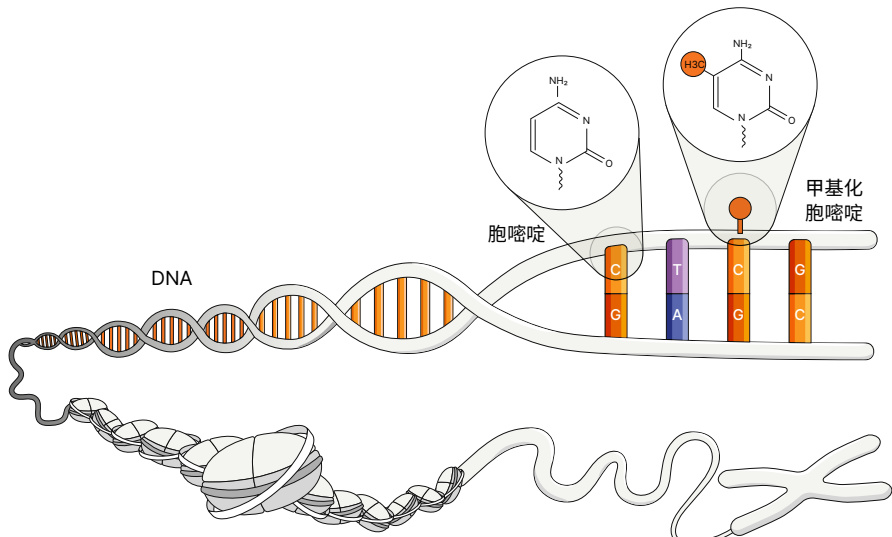


图1：DNA中C甲基化生成的5mC是基因调控中深入研究的表观遗传修饰标记
Illumina 5-Base DNA Prep可检测5mC以及未修饰的A、T、G和C碱基，通过单次NGS检测即可提供基因组和表观基因组层面的见解。

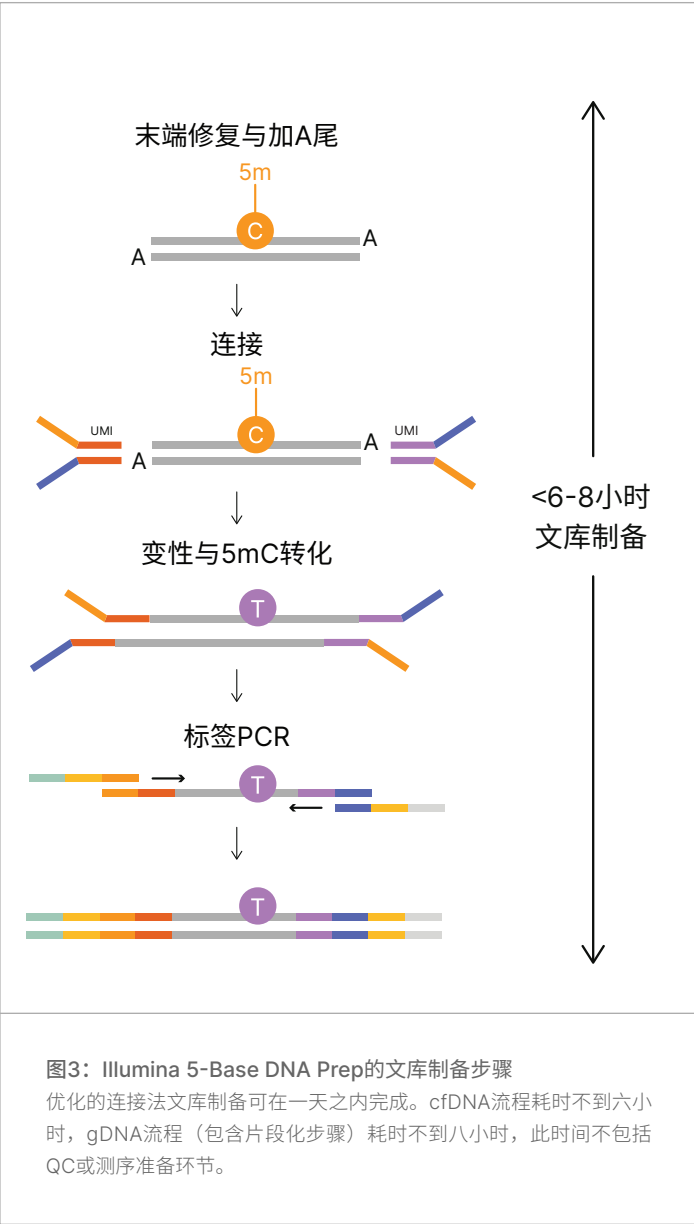


图2：Illumina 5-Base DNA Prep工作流程
Illumina 5-Base DNA Prep提供从文库制备到数据解读的一体化工作流程，可同时检测基因组变异和甲基化事件。采用包含新型单步碱基转化化学技术的简易方案，一天内即可完成文库制备，随后可使用因美纳高通量测序仪进行测序。DRAGEN二级分析针对30×基因组样本，可在1小时内生成包含基因组和表观基因组双重注释的单一结果输出。Illumina Connected Multiomics提供清晰的可视化结果和分析工具，可简化数据解读过程。

表1：Illumina 5-Base DNA文库制备参数		
样本类型	起始量	文库制备时间
基因组DNA	50-100 ng	<8小时 ^a
游离DNA	1-20 ng	<6小时
a. 包含片段化时间。		

表2：生殖系变异检出和甲基化应用的样本通量			
NovaSeq™ X流动槽	25B	10B	1.5B
每个流动槽的样本数量 ^a	48	18	3
a. 为实现高准确度的SNV及插入缺失生殖系变异检出，需进行2×151 bp测序运行并保证≥500M个簇。			

表3：Illumina 5-Base DNA Prep在不同应用场景下的测序覆盖度建议		
使用案例	测序覆盖度	DRAGEN二级分析流程
生殖系5-碱基基因组	35-40×	生殖系
全甲基化组测序	10-35×	生殖系
甲基化组+仅肿瘤体细胞变异检出	≥100×	体细胞
甲基化组+肿瘤-正常体细胞变异检出 ^a	≥100×/≥50×	体细胞
甲基化组+生殖系CNV检出 ^b	30×	生殖系
甲基化组+体细胞CNV检出 ^b	≥80×	体细胞
cfDNA甲基化组/片段化分析	≥30×	体细胞
a. 正常样本覆盖度应为肿瘤样本覆盖度的一半，且肿瘤样本目标覆盖度≥100×。		
b. CNV，拷贝数变异。		



创新测序化学技术实现5-甲基胞嘧啶至胸腺嘧啶的直接转化

传统的DNA甲基化检测方法利用亚硫酸氢盐或酶，将未甲基化的胞嘧啶转化为胸腺嘧啶（图4）。由于基因组中大多数胞嘧啶未被修饰，这种方法会显著降低碱基多样性，导致测序和序列比对更加困难。亚硫酸氢盐处理也可能会破坏DNA，造成数据缺失。Illumina 5-Base DNA Prep采用新型工程酶，可在单次孵育步骤中仅将5mC直接转化为T（图4）。因美纳5-碱基方法对DNA无损伤，能够保留四种碱基多样性，从而实现更高效序列比对，更大程度提升每条测序序列的数据产出（表4）。

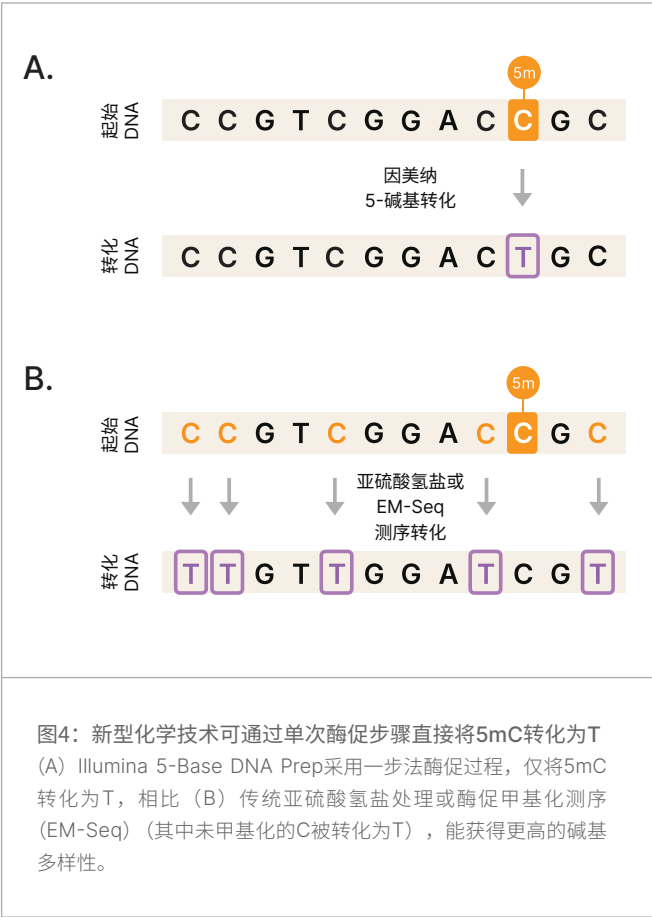


表4：Illumina 5-Base DNA Prep的优势

传统的甲基化测序方法	因美纳5-碱基解决方案
局限性	优势
<ul style="list-style-type: none">• 比对效率低• 变异检出准确度低• 化学转化会损伤DNA^a• 多步骤转化	<ul style="list-style-type: none">• 比对效率高• 变异检出准确度高• 酶促转化对DNA无损伤• 单步骤转化
^a . 对于亚硫酸氢盐转化的NGS方法。	

单次结果即可同步获得基因组与甲基化组数据

集成式DRAGEN二级分析可在单一数据集中实现甲基化与基因组变异的准确注释（图5）。创新的5-碱基DRAGEN甲基化分析流程可解析甲基化的链特异性，准确区分表征甲基化事件的胸腺嘧啶与代表单核苷酸位点突变（SNV）的胸腺嘧啶（图6）。甲基化与基因组变异检测可达单分子分辨率，从而支持对生物学机制的深度探索。

5-碱基甲基化报告功能可在DRAGEN Germline和Somatic分析流程中使用，只需简单勾选即可开启。二级分析可通过BaseSpace™ Sequence Hub、Illumina Connected Analytics云平台或DRAGEN服务器进行。

使用DRAGEN Germline或Somatic流程进行5-碱基分析

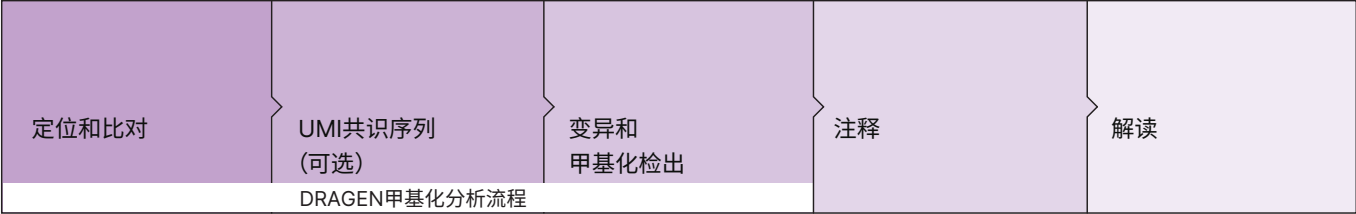
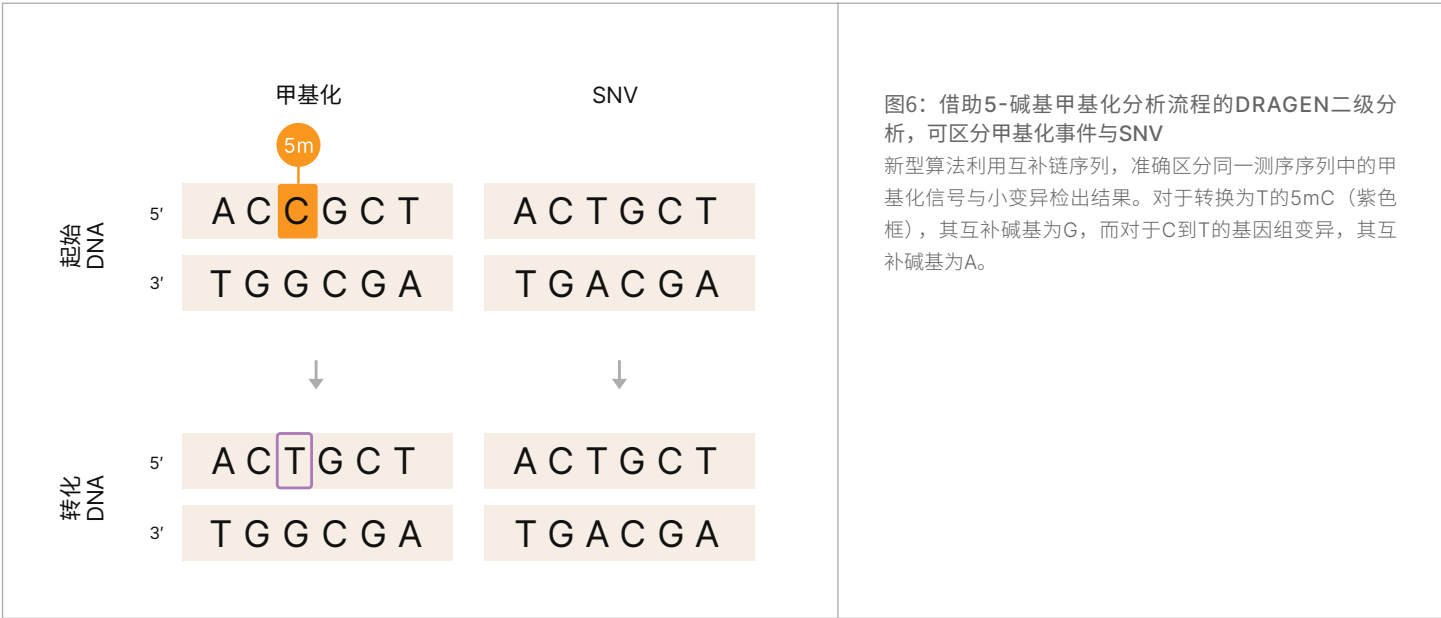


图5：DRAGEN Germline或Somatic流程中的新型DRAGEN甲基化分析流程
因美纳5-碱基二级分析可在DRAGEN Germline和DRAGEN Somatic流程中进行，只需简单勾选即可激活甲基化报告功能。借助DRAGEN流程实现的精简5-碱基二级分析，30×基因组样本（在DRAGEN服务器上运行单样本DRAGEN Germline流程）仅需约1小时即可生成双重结果输出。UMI，唯一分子标记 (unique molecular identifier)。



携手Illumina Connected Multiomics，探索生命新纵深

生成的DRAGEN输出文件可直接导入Illumina Connected Multiomics平台，进行直观的数据探索与可视化分析，包括多种差异分析（图7）。进而，可在此平台上揭示甲基化模式，对样本进行分组，减少数据维度，检测并注释生物标志物，并将研究发现与生物学功能相关联。

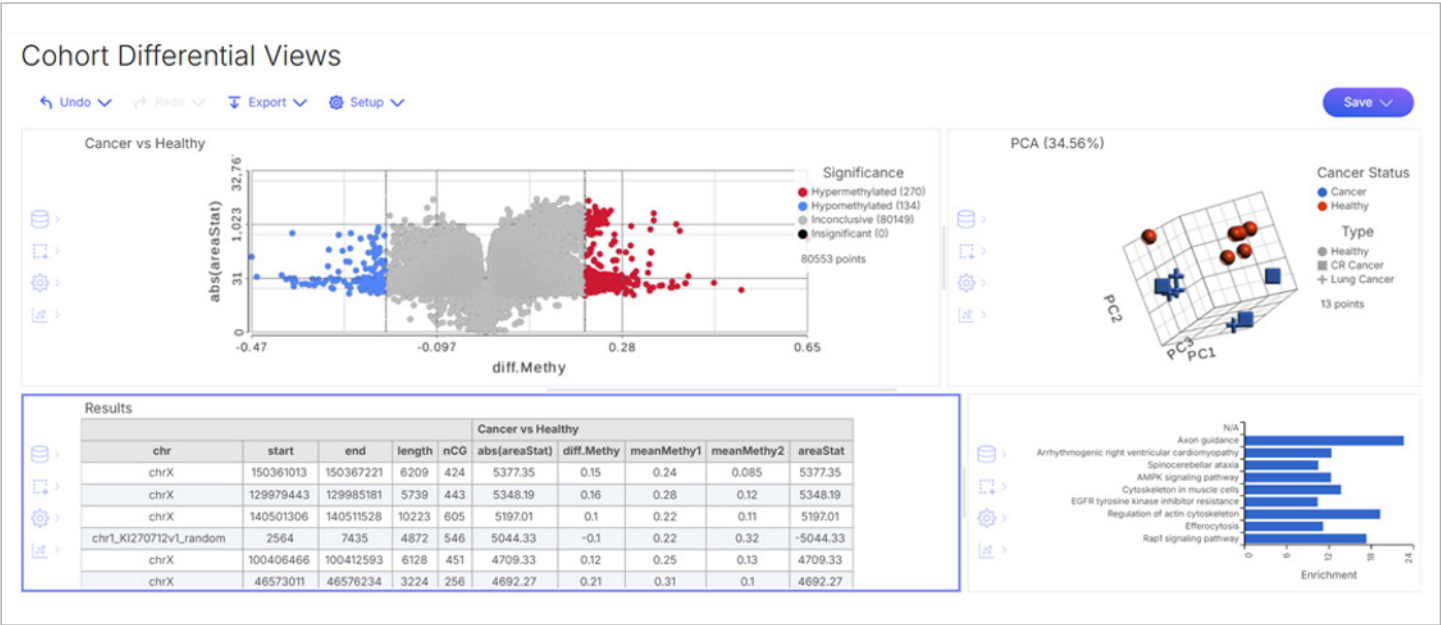


图7: 通过Illumina Connected Multiomics解读结果

运行默认分析流程并构建定制化工作流，即可通过Illumina Connected Multiomics完成从探索到发现的全流程。多功能面板可视化可提供深刻的见解，可实现基因组区域注释、差异甲基化区域识别、通过无监督聚类分析(Unsupervised Clustering)探索甲基化数据的生物学分组，并识别与甲基化变化相关的信号通路。

高质量的双重解析

Illumina 5-Base DNA Prep的测序性能展现了对CpG位点的高覆盖度，并在人类基因组中不同GC含量区域均实现均匀覆盖（图8）。Illumina 5-Base DNA Prep文库产量高、所需PCR循环数非常少，并且比对效率优异（图9）。在不同起始量（图10）与技术重复实验（图11）中，各样本的甲基化水平检测结果均展现出良好的可重复性。通过小基因组质控品对照（Spike-in）实验验证，5mC转化反应在不同样本起始量下均具有高度特异性（图12）。对SNV、插入缺失（indel）和拷贝数变异（CNV）的生殖系变异检出准确性非常高，这使得在单一工作流程中，通过并行WGS和甲基化检测获得全面见解成为可能（图13）。从同一分子中同时检测5mC与遗传碱基，能够以等位基因特异性分辨率解析甲基化事件与遗传变异，从而获得定相数据（图14）。

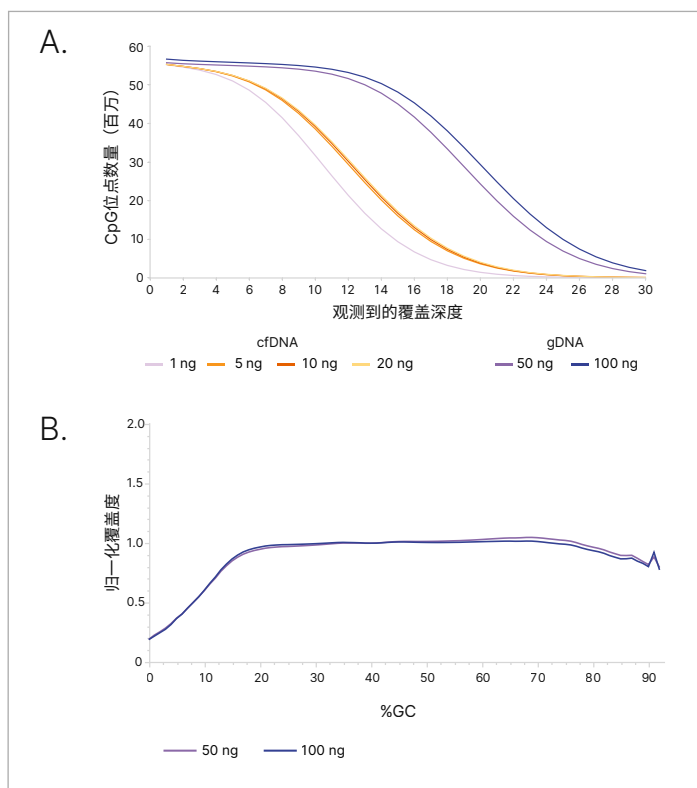


图8：Illumina 5-Base DNA Prep的出色测序性能

(A) 在1-20 ng cfDNA与50-100 ng gDNA起始量下均实现高CpG位点覆盖度。(B) 在50-100 ng gDNA起始量下，GC覆盖度均一。cfDNA提取自健康供体的血清；gDNA为参考人类基因组样本NA12878（来自Coriell医学研究所）。文库在NovaSeq™ X测序仪上进行测序，数据量达500M个簇。

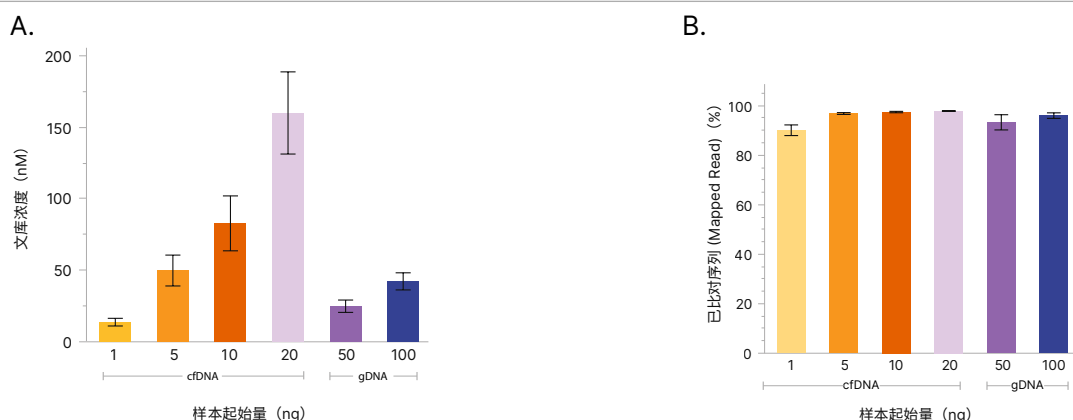


图9：Illumina 5-Base DNA Prep的高产量与比对率

(A) 文库产量和 (B) 比对率（比对测序序列百分比）：使用Illumina 5-Base DNA Prep检测1-20 ng cfDNA和50-100 ng gDNA起始量的结果。cfDNA提取自健康供体的血清；gDNA为参考人类基因组样本NA12878。文库在NovaSeq™ X测序仪上进行测序。

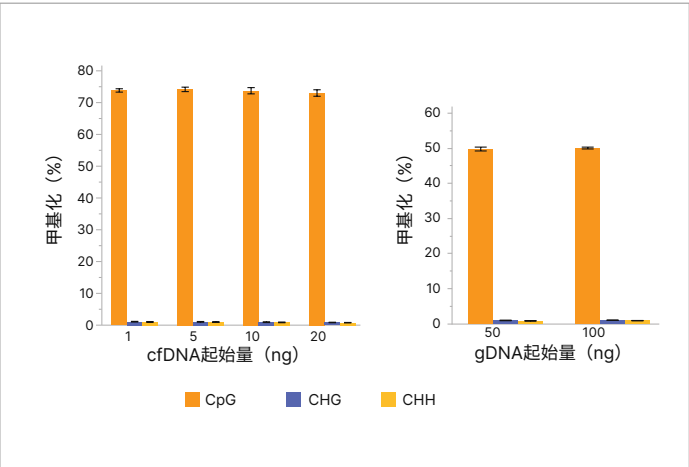


图10: Illumina 5-Base DNA Prep在不同样本类型与DNA起始量下的甲基化检测

CpG、CHG和CHH背景下胞嘧啶的甲基化百分比。健康供体血清提取的cfDNA中，全基因组CpG甲基化水平符合70%-80%的预期范围。如预期所示，CHG和CHH的甲基化水平非常低。实验使用源自参考人类基因组细胞系NA12878的gDNA，该样本全基因组CpG甲基化水平预期约为50%。文库在NovaSeq™ X测序仪上进行测序。使用DRAGEN Germline v4.4.4进行二级数据分析。

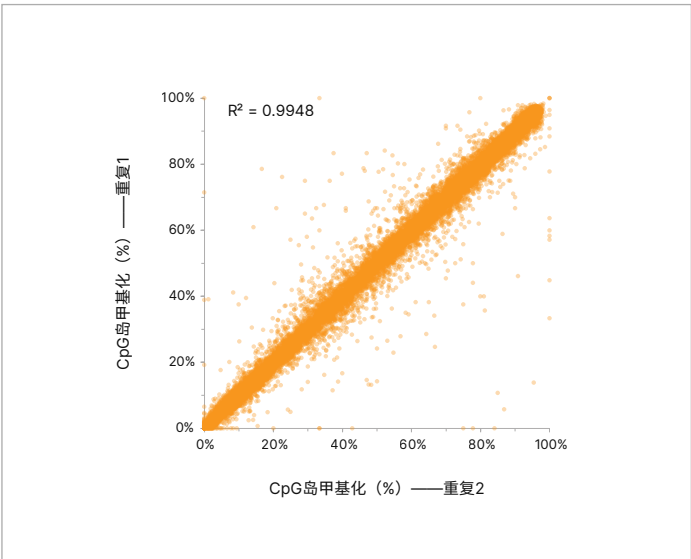


图11: Illumina 5-Base DNA Prep可在全甲基化水平范围内实现CpG岛的可重复性检测

参考人类基因组样本NA12878的两个重复样本在所有CpG岛区域的平均甲基化水平相关性。文库在NovaSeq™ X测序仪上进行测序。使用DRAGEN Germline v4.4.4进行二级数据分析。

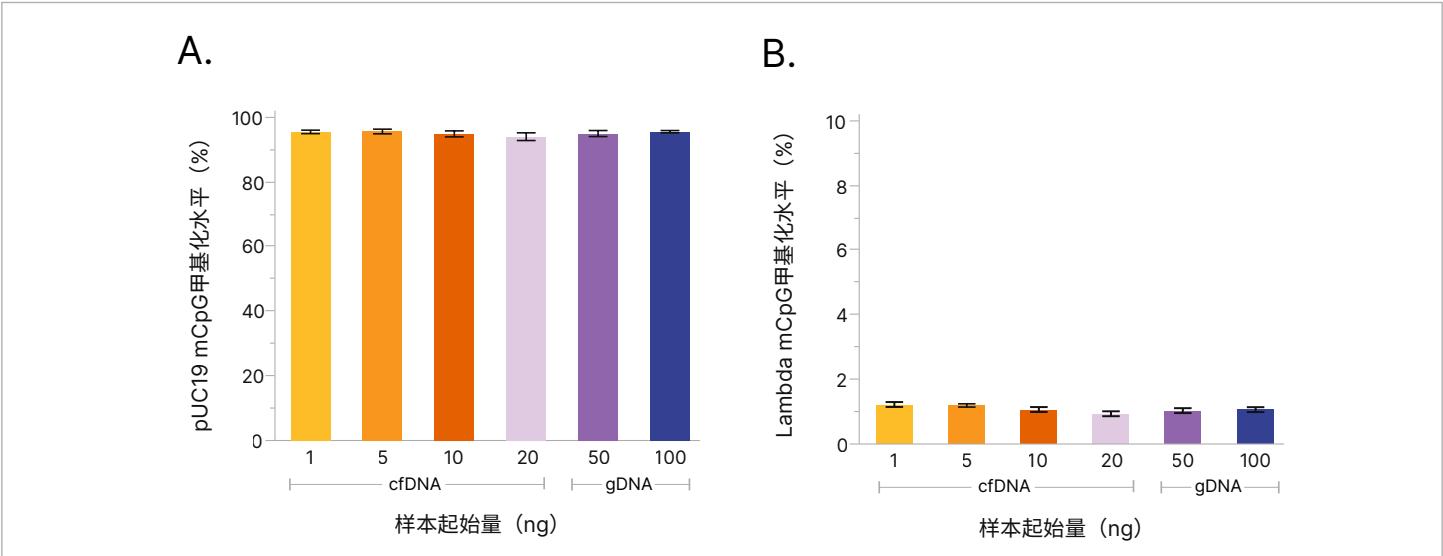


图12: Illumina 5-Base DNA Prep可实现高选择性甲基化转化

在不同样本起始量与样本类型中均可保持高选择性和稳定的甲基化转化效率，支持多样化应用场景。试剂盒中包含小基因组对照（A）甲基化pUC和（B）未甲基化lambda，可与目标样本一起加入，用于甲基化转化的QC。起始材料为1-20 ng健康供体的cfDNA和50-100 ng人类参考样本NA12878的gDNA。

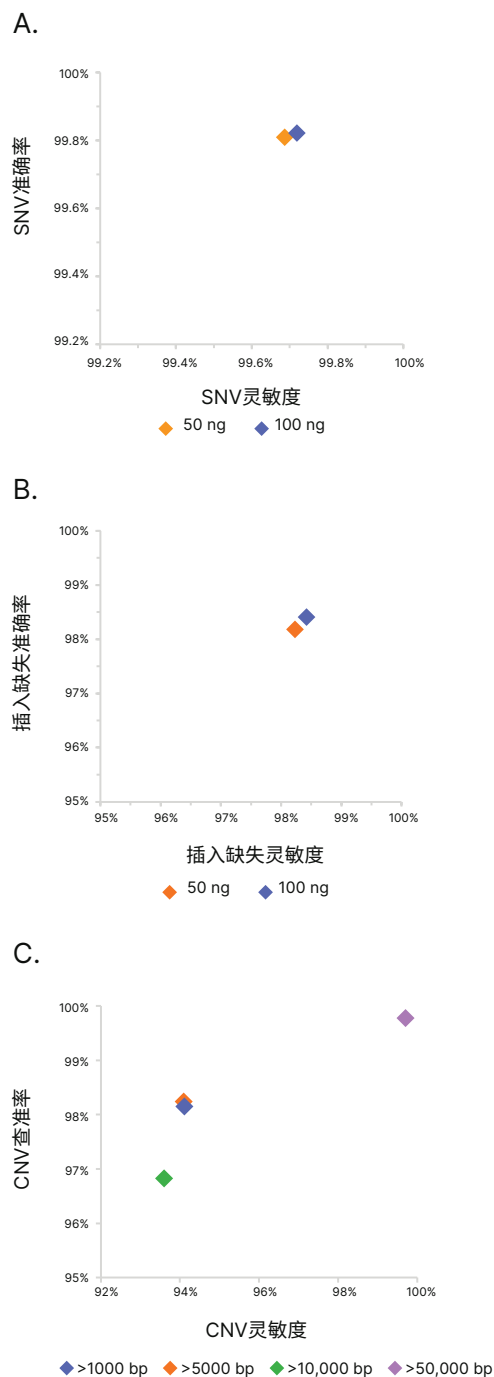


图13: Illumina 5-Base DNA Prep可实现高准确度胚系变异检测

(A) SNV和 (B) 插入缺失变异检出: 对参考人类基因组样本 NA12878制备的50 ng与100 ng起始量gDNA的检测结果。(C) 按变异大小划分的生殖系CNV缺失准确性: 基于参考人类基因组样本HG002 (Genome in a Bottle)。在NovaSeq™ X测序仪上对文库进行测序, 将样本数据量调整到500M reads。

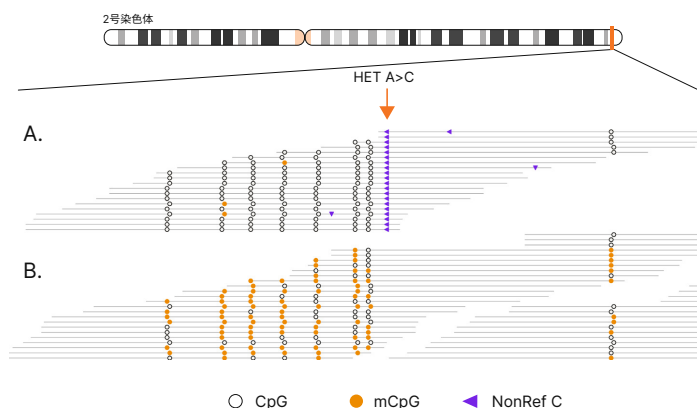


图14: 同时解析同一等位基因的遗传变异与甲基化状态

Illumina 5-Base DNA Prep可揭示等位基因特异性甲基化模式。带5-碱基甲基化分析功能的DRAGEN Germline流程可对比同一测序序列中的遗传变异和甲基化数据。图示展示2号染色体RAMP1基因内含子区域详情。(A) 未甲基化等位基因和 (B) 甲基化等位基因。文库制备自参考人类基因组样本NA12878。

经济高效的全基因组探索发现

相较于其他NGS方法, Illumina 5-Base DNA Prep的工作流程总成本更低⁶。对于侧重甲基化的应用, 由于单次运行具有更高的比对效率和CpG覆盖度, 因美纳5-碱基解决方案所需的测序量低于标准甲基化检测方法。对于双重解析研究, 与仅进行标准WGS相比, Illumina 5-Base DNA Prep可同时实现甲基化图谱分析和基因组变异检出, 仅需非常少的额外测序成本[‡]。高效的双组学DRAGEN二级分析进一步降低了NGS数据分析成本。

[‡] 基于Illumina 5-Base DNA Prep的500M read对 (1B双端read) 与标准WGS的400M read 对的对比。

总结

遗传变异与DNA甲基化分析相结合，有助于充分挖掘每个样本的信息。Illumina 5-Base DNA Prep提供了一套从文库制备到结果解读的解决方案，可在一个优化整合的工作流程中同时进行基因组和甲基化组分析。新型化学技术与算法不仅提供单碱基分辨率和高精度检测，同时大幅降低了所需的测序量。使用集成的DRAGEN分析和Illumina Connected Multiomics可获得全面的双组学报告，有助于加速生物学发现。

了解更多 →

[Illumina 5-Base DNA Prep](#)

订购信息

产品	货号
文库制备	
Illumina 5-Base DNA Prep（24样本）	20140364
Illumina 5-Base DNA Prep（96样本）	即将推出
标签	
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation（96标签，96样本）	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation（96标签，96样本）	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation（96标签，96样本）	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation（96标签，96样本）	20091660
Illumina Unique Dual Indexes, LT（48标签，48样本）	20098166
分析	
Illumina DRAGEN Server v4	20051343
Illumina Analytics - 1 iCredit	20042038
Illumina Analytics Starter Package - 1000 iCredit	20042039
Illumina Analytics - 5000 iCredit	20042040
Illumina Analytics - 50,000 iCredit	20042041
Illumina Analytics - 100,000 iCredit	20042042
Illumina Connected Multiomics	申请演示

参考文献

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. Published January 16, 2016. Accessed August 12, 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. Published June 2023. Accessed August 12, 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. Published 2023. Accessed August 12, 2025.
6. Biomodal. Duet multiomics solution +modC. biomodal.com/products/duet-modc/. Accessed August 12, 2025.

illumina中国

上海办公室 • 电话 (021) 6032-1066 • 传真 (021) 6090-6279
北京办公室 • 电话 (010) 8441-6900 • 传真 (010) 8455-4855
技术支持热线 400-066-5835 • chinasupport@illumina.com
市场销售热线 400-066-5875 • china_info@illumina.com • www.illumina.com.cn

© 2026 Illumina, Inc. 保留所有权利。所有商标均为因美纳公司或其各自所有者的财产。
关于具体的商标信息, 请访问www.illumina.com.cn/company/legal.html。
M-GL-03689 v1.0



因美纳企业动态



因美纳讲堂



因美纳中国官方商城

illumina[®]