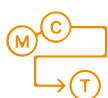


Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment

Un unico saggio per il
rilevamento mirato simultaneo
di varianti genomiche ed eventi
di metilazione



Rilevamento ad alta sensibilità
degli eventi di metilazione
basato su una nuova chimica



Saggio due in uno con flusso
di lavoro semplificato e facile
analisi



Possibilità di personalizzazione
per ottenere informazioni
mirate sul genoma e sul
metiloma

Rilevamento multiomico ad alta sensibilità

Il DNA è intrinsecamente multiomico e contiene informazioni molecolari sia genetiche che epigenetiche. Oltre alla sequenza di adenina (A), timina (T), guanina (G) e citosina (C), esistono basi modificate, come la 5-metilcitosina (5mC), che contribuiscono all'espressione genica diretta (Figura 1). Il rilevamento sia della variazione genomica che della metilazione del DNA può rivelare meccanismi nascosti associati a salute e malattie. Lo studio del genoma e del metiloma richiede in genere saggi e fasi di analisi dei dati da effettuare separatamente. Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment sfrutta un nuovo metodo enzimatico e un'analisi ottimizzata per il rilevamento di cinque basi (A, T, G, C e 5mC) dallo stesso campione, nello stesso saggio e utilizzando le stesse letture di sequenziamento. Grazie all'arricchimento mediante cattura ibrida e a pannelli progettati su misura, gli utenti possono analizzare specifici target di interesse. Questo approccio permette una copertura profonda e conveniente e il rilevamento multiomico ad alta sensibilità.

Flusso di lavoro semplificato e flessibile

Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment consente il sequenziamento mirato del DNA e il sequenziamento della metilazione con un unico saggio facile da usare (Figura 2). Questa soluzione, offerta da un unico fornitore, vanta un flusso di lavoro semplificato dalle librerie all'analisi, che può essere completato in meno di tre giorni. Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment è compatibile con il DNA libero circolante (cfDNA, cell-free DNA) e il DNA genomico (gDNA, genomic DNA) da sangue, linee cellulari o tessuto fresco congelato. La preparazione ottimizzata delle librerie, che comprende la semplice conversione monofase della base 5mC in T, richiede interventi manuali minimi e può essere completata in meno di 11 ore (Tabella 1, Figura 3, Figura 4).^{*} Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment impiega pannelli sonda a cattura ibrida personalizzati per studi mirati. Il saggio supporta l'arricchimento a quattro plex e fino a 384 doppi indici univoci. Il sequenziamento delle librerie su NextSeq™ 2000 System, NovaSeq™ 6000 System, NovaSeq 6000Dx Instrument (modalità RUO) o NovaSeq X Series è seguito da un'analisi semplificata dei dati. Una pipeline DRAGEN™ integrata genera una lettura doppia (Figura 5, Figura 6).

^{*} In base all'elaborazione manuale di 24 campioni; include la separazione del DNA (se applicabile) e la quantificazione delle librerie. Non sono inclusi i tempi di normalizzazione e raggruppamento in pool.

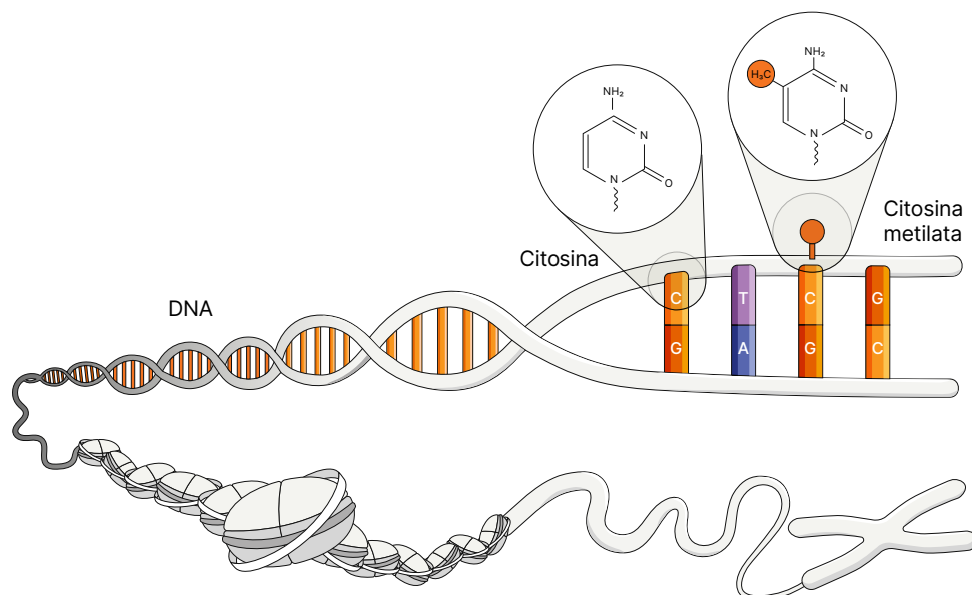


Figura 1: la metilazione del DNA da C a 5mC è un marcatore epigenetico ampiamente studiato nella regolazione genica
Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment rileva la 5mC insieme alle basi A, T, G e C non modificate, ricavando informazioni genomiche ed epigenomiche da un unico saggio di NGS.



Figura 2: flusso di lavoro di Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment

Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment offre un flusso di lavoro semplificato dalle librerie all'analisi per il rilevamento simultaneo di varianti genomiche ed eventi di metilazione. La preparazione delle librerie si basa su un protocollo semplice, che include una nuova chimica di conversione monofase delle basi. Il sequenziamento può essere eseguito su un sistema Illumina a media o alta processività. L'analisi secondaria DRAGEN genera doppie annotazioni, genomiche e di metilazione, in una sola lettura.

Tabella 1: parametri di Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment

	Input	Durata della preparazione delle librerie ^a
DNA genomico	50-100 ng	< 11 ore
DNA libero circolante	1-20 ng	< 11 ore

^a. In base all'elaborazione manuale di 24 campioni; include la separazione del DNA (se applicabile) e la quantificazione delle librerie. Non sono inclusi i tempi di normalizzazione e raggruppamento in pool.

Nuova chimica per la conversione diretta della 5-metilcitosina in timina

Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment offre un approccio radicalmente diverso all'analisi mirata del genoma e del metiloma. I metodi tradizionali per il rilevamento della metilazione del DNA utilizzano il trattamento con bisolfito o enzimi per convertire la citosina non metilata in timina (Figura 3B). Poiché la maggior parte delle citosine presenti nel genoma non è modificata, questo approccio riduce notevolmente la diversità dei nucleotidi, rendendo le letture del sequenziamento più difficili da allineare. Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment utilizza un nuovo enzima ingegnerizzato per convertire direttamente solo la 5mC in timina in un'unica fase di incubazione durante la preparazione delle librerie (Figura 3A). La chimica a cinque basi Illumina preserva la complessità delle librerie e assicura un'elevata velocità di allineamento dei dati, così da rendere più sensibile il rilevamento.

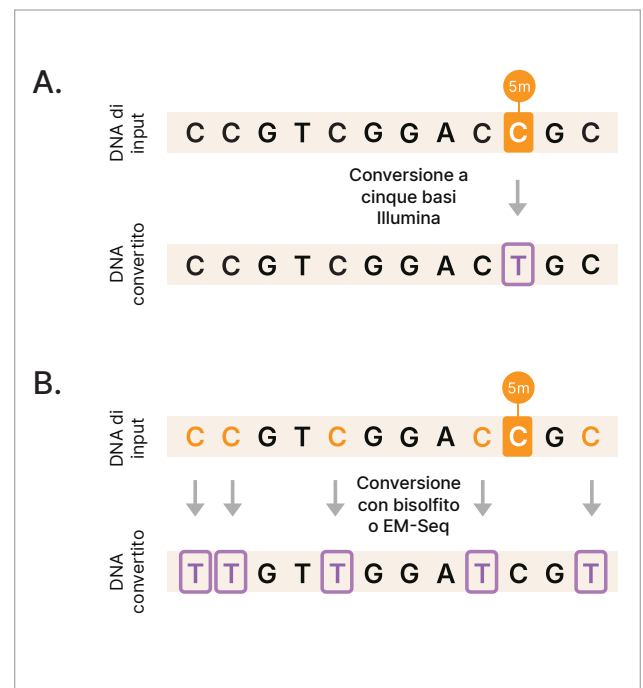
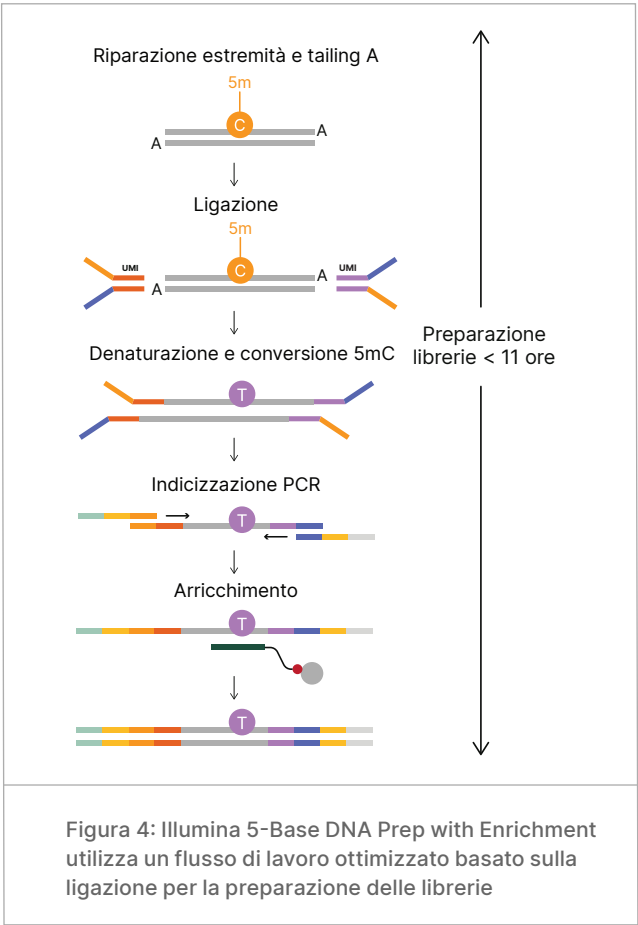


Figura 3: la nuova chimica converte direttamente la 5mC in T in una sola fase

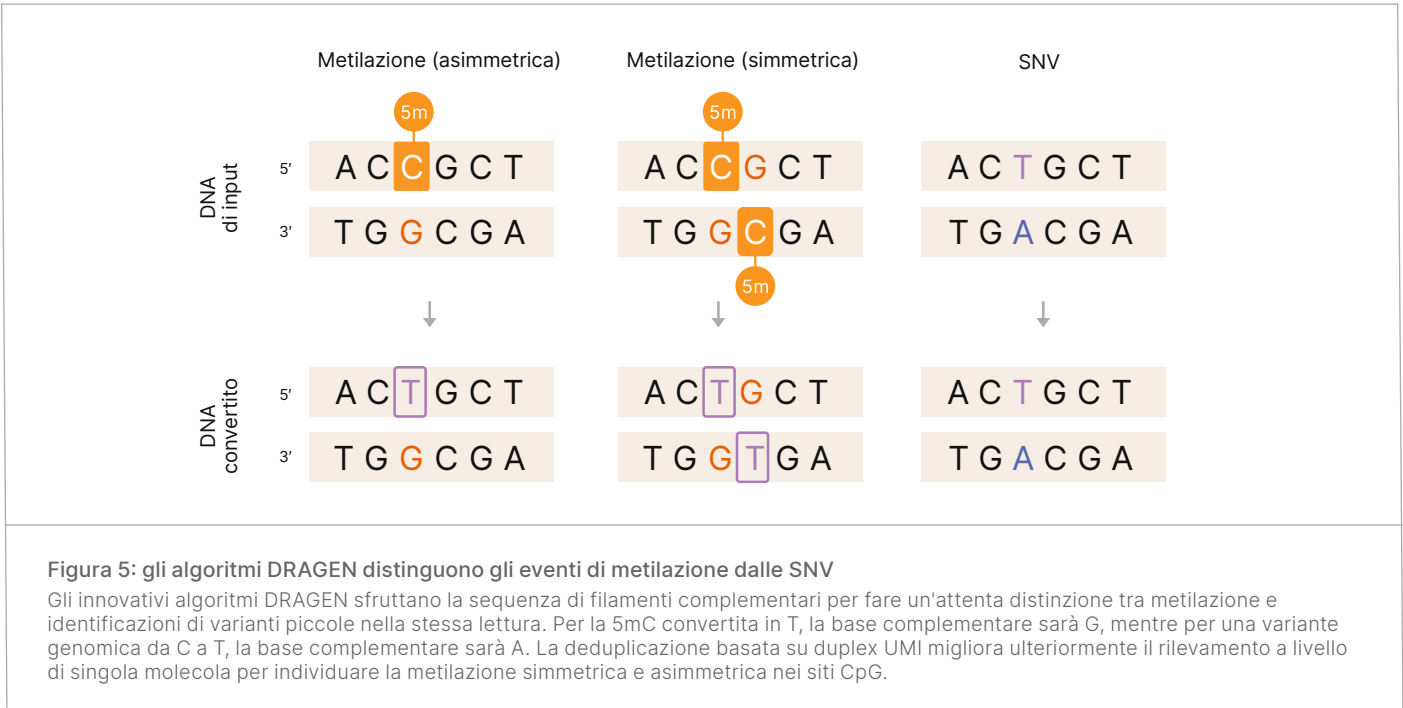
(A) Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment utilizza un processo enzimatico monofase per convertire solo la 5mC in T; in questo modo, si ottiene maggiore diversità nucleotidica rispetto al (B) tradizionale trattamento con bisolfito o al sequenziamento enzimatico della metilazione (EM-Seq, Enzymatic Methylation Sequencing), in cui la C non metilata viene convertita in T.



Un'unica lettura con dati combinati relativi al genoma e al metiloma

L'analisi secondaria DRAGEN™ integrata consente di annotare accuratamente sia la metilazione sia le varianti genomiche in un'unica lettura (Figura 5, Figura 6). I nuovi algoritmi sensibili alla metilazione sfruttano la sequenza dei filamenti complementari per distinguere una timina indicante un evento di metilazione da una timina che rappresenta una variante a singolo nucleotide (SNV, Single Nucleotide Variant) (Figura 5). Gli identificatori molecolari univoci (UMI, Unique Molecular Identifier) integrati consentono di determinare con precisione lo stato di metilazione a livello di singola molecola. La deduplicazione basata su duplex UMI migliora la riproducibilità tecnica nel rilevamento di piccole differenze nel metiloma e consente l'analisi sensibile della metilazione asimmetrica nei siti CpG (dinucleotide citosina-guanina) (Figura 5).

Le funzioni di refertazione della metilazione a cinque basi Illumina disponibili nella pipeline DRAGEN Enrichment si attivano con una semplice casella di controllo. L'analisi secondaria può essere eseguita tramite BaseSpace™ Sequence Hub, sulle piattaforme cloud Illumina Connected Analytics o su un server DRAGEN.



Analisi a cinque basi con la pipeline DRAGEN Enrichment

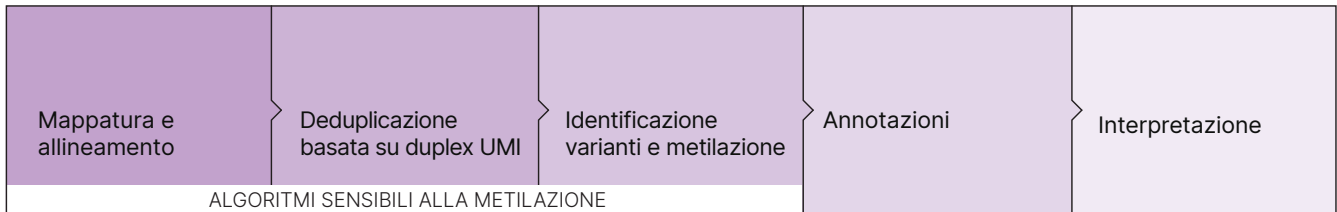


Figura 6: la pipeline DRAGEN Enrichment con algoritmi integrati sensibili alla metilazione consente l'annotazione accurata della metilazione e delle varianti genomiche in un'unica lettura

L'analisi secondaria a cinque basi Illumina disponibile nella pipeline DRAGEN Enrichment include una semplice opzione per l'attivazione della refertazione della metilazione tramite casella di controllo. UMI (Unique Molecular Identifier), identificatore molecolare univoco.

Attenzione alle regioni di interesse grazie alla personalizzazione

Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment richiede pannelli specificamente progettati per il saggio a cinque basi. Il design dei pannelli è fondamentale per poter contare su prestazioni ottimali e sulla cattura efficiente di target metilati e non metilati.[†] Per concentrare il sequenziamento sulle regioni di interesse, Illumina Custom Enrichment Panel v2, disponibile in un'ampia gamma di dimensioni, può essere progettato e ordinato utilizzando il software DesignStudio™. L'algoritmo di progettazione specializzato tiene conto della conversione della base 5mC in T propria della soluzione Illumina a cinque basi.[†] Il software DesignStudio supporta la progettazione di pannelli personalizzati a partire da elenchi di geni target o coordinate genomiche. Il contenuto dei pannelli esistenti può essere utilizzato come punto di partenza. DesignStudio consente inoltre agli utenti di selezionare le regioni regolatorie, come i promotori, all'interno di target definiti.

Rilevamento ad alta sensibilità

Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment è ottimizzato per soddisfare i requisiti di sensibilità del rilevamento e offre prestazioni eccezionali in svariate applicazioni. Gli UMI integrati permettono di rilevare varianti a bassa frequenza allelica con ridotte quantità di campione. Grazie a flussi di lavoro complementari, gli utenti possono scansionare interamente il genoma e il metiloma con Illumina 5-Base DNA Prep per un'analisi ampia, quindi utilizzare i risultati ottenuti per indirizzare la progettazione di pannelli mirati ai fini di un sequenziamento più approfondito con Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment.

[†] I pannelli di arricchimento standard non tengono conto delle basi metilate e non metilate. I pannelli realizzati per metodi che convertono C non metilata, come il sequenziamento con bisolfito, sono concepiti per una diversità nucleotidica a tre basi (Figura 3) e non sono compatibili con Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment.

Riepilogo

La combinazione dell'analisi della variazione genetica e della metilazione del DNA aiuta a massimizzare le informazioni ottenute da ogni lettura di sequenziamento. Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment rappresenta una soluzione completa, dalle librerie all'interpretazione, per la profilazione simultanea del genoma e del metiloma in un unico flusso di lavoro ottimizzato. La progettazione di pannelli di arricchimento personalizzati permette di focalizzare il sequenziamento sulle regioni di interesse. La nuova chimica e le tecniche analitiche all'avanguardia consentono il rilevamento altamente sensibile delle varianti genomiche e della metilazione in un unico saggio.

Maggiori informazioni →

[Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment](#)



Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2025 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, visitare la pagina web www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-03691 ITA v1.0

Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo
Preparazione delle librerie	
Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment (24 samples)	20140366
Illumina 5-Base DNA Prep with Enrichment (96 samples)	Presto disponibile
Pannelli	
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (32 µl, 120 bp)	20073953
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (384 µl, 120 bp)	20073952
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (1536 µl, 120 bp)	20111339
Indici	
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
Analisi	
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