

Illumina 5-Base DNA Prep

1回の全ゲノムアッセイでメチル化と
ゲノムバリエーションを検出



新しいケミストリーと解析方法による
高品質データの取得



簡単なワークフローと解析で、ゲノムと
メチロームを一度に解析できるアッセイ



マルチオミクス洞察による、
コスト効率に優れた探索

包括的なマルチオミクス探索

DNAは本質的にマルチオミクスであり、遺伝的およびエピジェネティックな分子情報の両方を保持しています。アデニン (A)、チミン (T)、グアニン (G) およびシトシン (C) の配列以外にも、遺伝子発現に直接関与する5-メチルシトシン (5mC) などの修飾塩基が存在します (図1)。ゲノムバリエーションとDNAメチル化の両方を検出することで、健康な状態と疾患状態の隠れたメカニズムが明らかになります。一般的にゲノムとメチロームの研究には、別々の次世代シーケンサー (NGS) アッセイとデータ解析ステップが必要です。さらに、ほとんどのNGSメチル化プロファイリング法は、長時間にわたる複雑なワークフローを要します。

Illumina 5-Base DNA Prepは、独自のケミストリーと最適化された解析アルゴリズムを活用し、ゲノムとメチロームの統合と解析に対し、根本的に異なるアプローチを取ります。新しい酵素法により、1つのサンプル、ライブラリー調製、シーケンスランおよび解析までの単一のワークフローから、5種類の塩基 (A、T、G、Cおよび5mC) を検出できるようになりました。Illumina 5-Base DNA Prepは、高品質で使いやすく、コスト効率の良いアッセイを提供し、全ゲノムにわたってゲノムバリエーションとメチル化を同時に探索します。

シンプルかつ迅速なワークフロー

Illumina 5-Base DNA Prepは、全ゲノムシーケンス (WGS) とメチル化シーケンスを1つの使いやすいワークフローに統合しています (図2)。単一ベンダーのソリューションであり、ターンアラウンドタイム3日以内のライブラリーから解釈までの効率的なワークフローを提供します。これは他のNGS法と比べて最大3倍の速さです。¹⁻⁵ Illumina 5-Base DNA Prepは、セルフリーDNA (cfDNA) および、血液、細胞株または新鮮凍結組織から採取したゲノムDNA (gDNA) に対応しています (表1)。最適化されたライブラリー調製には、迅速な1ステップの5mCからTへの塩基転換が含まれ、最小限のタッチポイントで、1日で完了します (表1、図3、図4)。* 本5塩基ソリューションは、柔軟で拡張性が高く、NovaSeq™ Xシリーズ、NovaSeq 6000システムまたはNovaSeq 6000Dxシステム (RUOモード) での幅広い研究に対応しています (表2、表3)。DRAGEN™パイプラインによって効率化された5塩基二次解析は、30 ×ゲノムに対しわずか1時間[†] でゲノムとメチル化に関する2つのリードアウトを生成します (図5、図6)。Illumina Connected Multiomicsは、業界で認められた統計手法と情報量が豊富でわかりやすい視覚化により、解析をさらに深めます (図7)。

* cfDNAライブラリー調製ワークフローは6時間未満、gDNAライブラリー調製ワークフローは8時間未満 (断片化の時間を含む)。品質管理 (QC) またはシーケンスのセットアップに要する時間は含まれていません。

† DRAGENサーバー上での単一サンプルのDRAGEN Germline Pipeline。

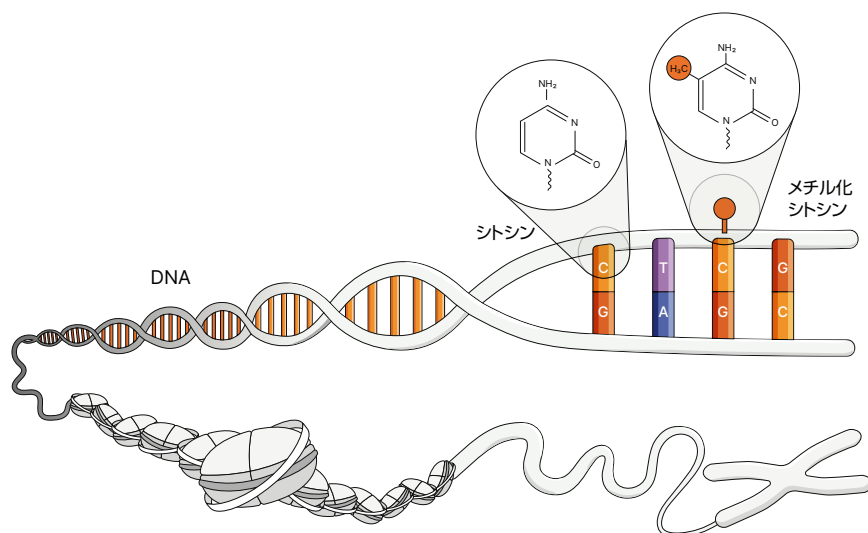


図1: Cから5mCへのDNAメチル化は、遺伝子制御に関わるエピジェネティックなマークとして広く研究されています

Illumina 5-Base DNA Prepは、修飾されていないA、T、G、C塩基とともに5mCを検出し、1回のNGSアッセイでゲノムとエピゲノムの両方の洞察を提供します。

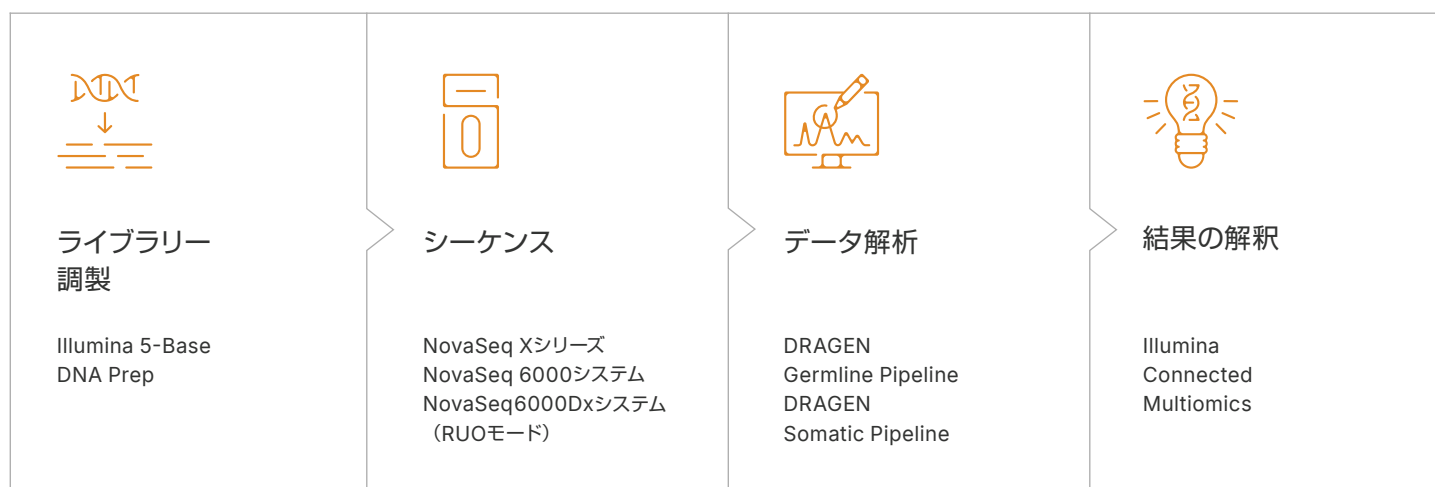


図2: Illumina 5-Base DNA Prepワークフロー

Illumina 5-Base DNA Prepはライブラリーから解釈を得るまでの効率的なワークフローを提供し、ゲノムバリエーションとメチル化を同時に検出します。新しい単一ステップの塩基変換ケミストリーを含む簡単なプロトコルを用いて1日以内にライブラリーを調製し、次にイルミナのハイスループットシステムでシーケンスします。DRAGEN二次解析は、30 ×ゲノムに対して1時間未満で単一のリードアウト中にゲノムとエピゲノムの2つのアノテーションを生成します。Illumina Connected Multiomicsは、わかりやすい視覚化と解析ツールを提供し、データ解釈を簡便化します。

表1: イルミナ5塩基DNAライブラリー調製パラメーター

サンプルの種類	インプット量	合計ライブラリー調製時間
ゲノムDNA	50~100 ng	8時間未満 ^a
セルフリーDNA	1~20 ng	6時間未満

a. 断片化の時間を含む。

表2: 生殖細胞系列バリエーションコールおよびメチル化アプリケーションに対するサンプルスループット

NovaSeq Xシステムフローセル	25B	10B	1.5B
フローセルあたりのサンプル数 ^a	48	18	3

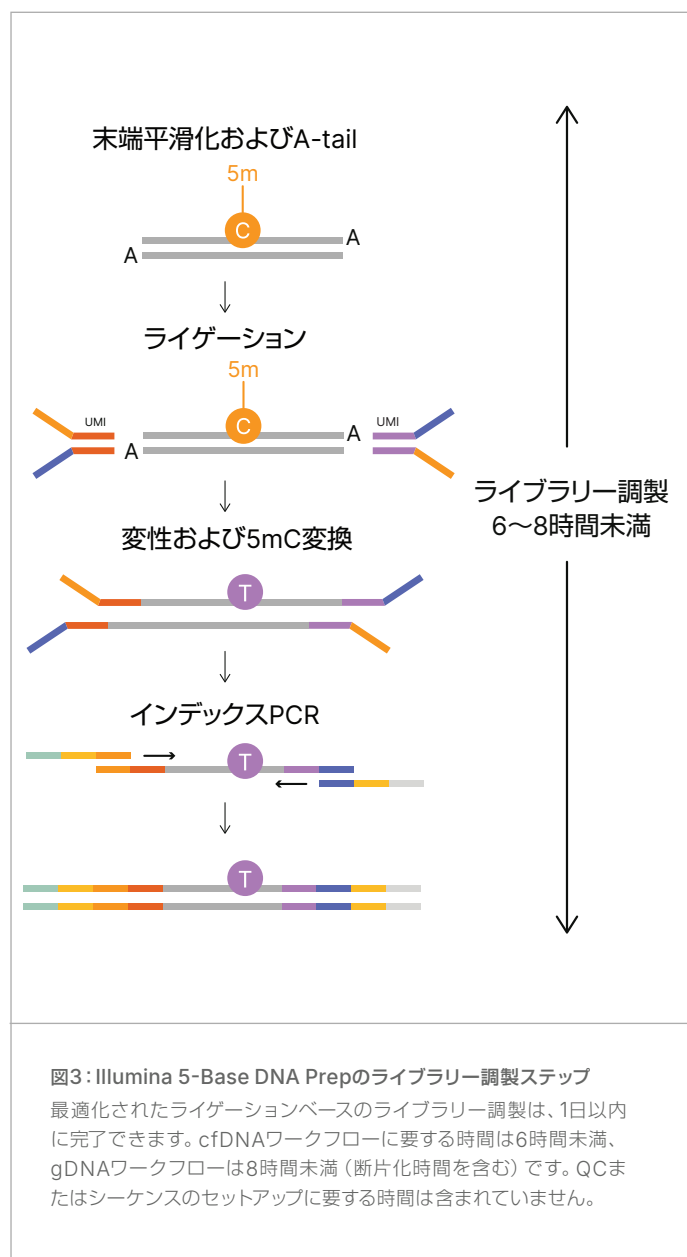
a. 高精度なSNVおよびIndelの生殖細胞系列バリエーションコールでは、151 bp × 2ランおよび5億クラスター以上。

表3: Illumina 5-Base DNA Prepを用いたさまざまなアプリケーションに対するシーケンスカバレッジの推奨事項

使用例	シーケンスカバレッジ	DRAGEN二次解析パイプライン
生殖細胞系列5塩基ゲノム	35~40 ×	Germline
全メチロームシーケンス	10~35 ×	Germline
メチローム + Tumor-only体細胞バリエーションコール	100 ×以上	Somatic
メチローム + tumor-normal体細胞バリエーションコール ^a	100 ×以上/50 ×以上	Somatic
メチローム + 生殖細胞系列CNVコール ^b	30 ×	Germline
メチローム + 体細胞CNVコール ^b	80 ×以上	Somatic
cfDNAメチローム/断片化プロファイリング	30 ×以上	Somatic

a. 正常カバレッジは腫瘍カバレッジの半分とすべきであり、腫瘍カバレッジについては100 ×以上のカバレッジを目標とします。

b. CNV: コピー数バリエーション。



5-メチルシトシンをチミンに直接変換する新しいケミストリー

従来の手法では、DNAメチル化の検出に、バイサルファイト処理または酵素を使って非メチル化シトシンをチミンに変換します（図4）。ゲノム中のシトシンの大半は修飾されていないため、この手法では塩基多様性が大幅に低下し、リードのシーケンスおよびアライメントが困難になります。バイサルファイト処理はDNAを損傷させ、データにギャップが生じる場合もあります。Illumina 5-Base DNA Prepは、新たに設計した酵素を用いて、1回のインキュベーションステップで5mCのみをTに直接変換します（図4）。イルミナ5塩基法は、DNAに損傷を与えることなく、4種類の塩基の塩基多様性を保持してより効率的にアライメントを実施し、すべてのリードのデータを最大限に活用します（表4）。

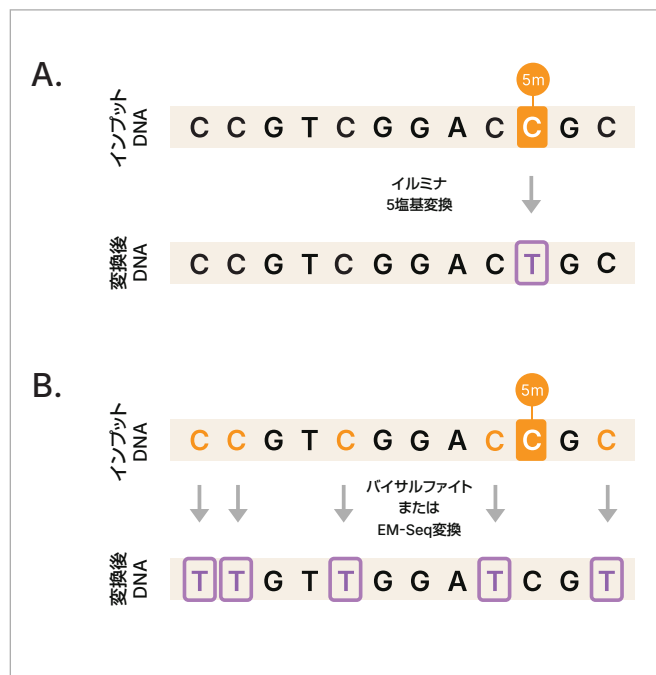


図4: 新しいケミストリーは1回の酵素ステップで5mCをTに変換します

(A) Illumina 5-Base DNA Prepは、1ステップの酵素処理で5mCのみをTに変換するため、(B) 従来のバイサルファイト処理または酵素メチル化シーケンス (EM-Seq) (非メチル化CをTに変換) よりも塩基多様性が向上します。

表4：Illumina 5-Base DNA Prepの利点

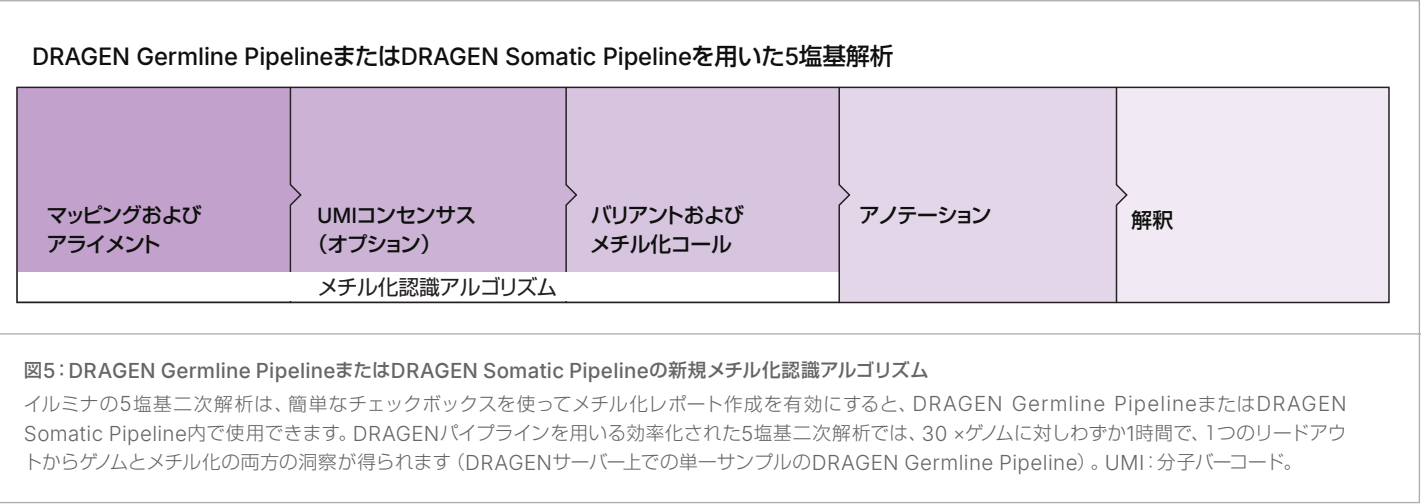
従来のメチル化シーケンス法	イルミナの5塩基ソリューション
課題	利点
- 限られたマッピング効率 - 低いバリエーション検出精度 - DNAを損傷する化学的変換^a - 複数ステップの変換	- 高いマッピング効率 - 高精度なバリエーション検出 - DNAに損傷を与えない酵素変換 - 単一ステップの変換

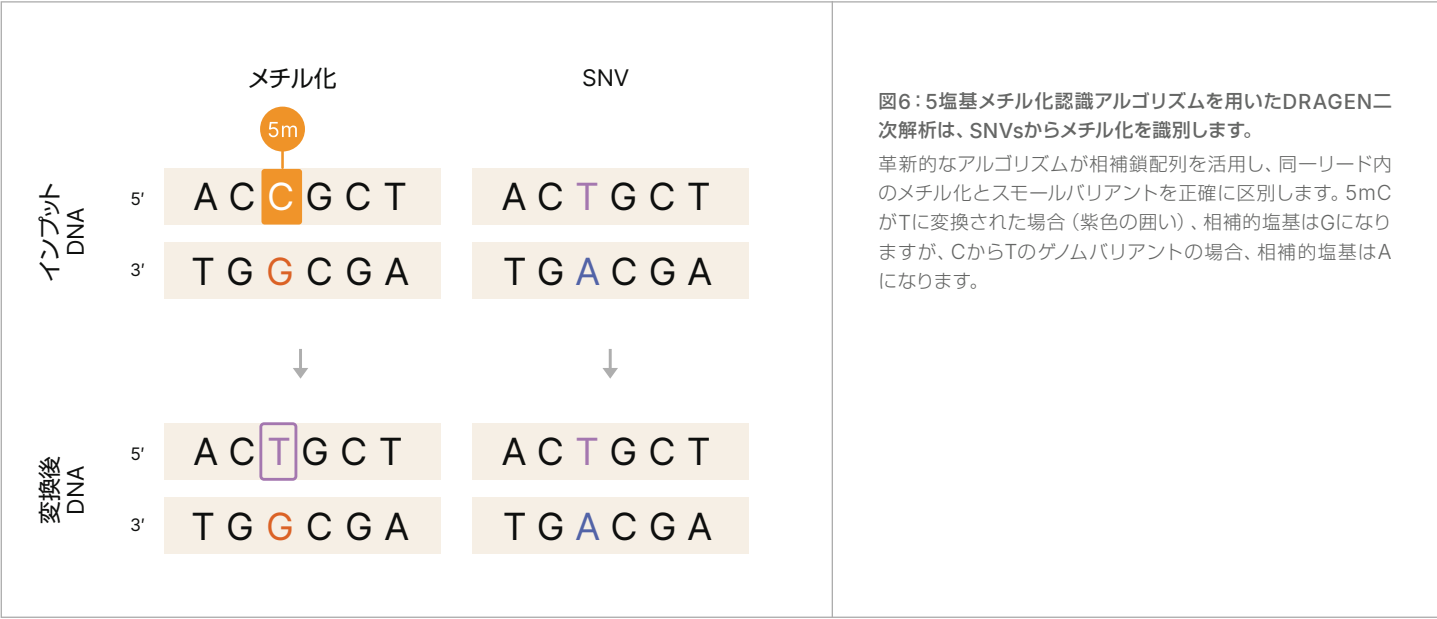
a. バイサルファイト変換NGS法の場合。

ゲノムとメチロームデータを統合した単一リードアウト

統合型DRAGEN二次解析は、単一のデータセットでメチル化とゲノムバリエーションの両方に対する正確なアノテーションを提供します (図5)。新しい5塩基メチル化認識DRAGENアルゴリズムは、メチル化は片方の鎖にのみ起きるという性質に基づき、メチル化を示すチミンと1塩基多型 (SNV) を表すチミンを区別します (図6)。メチル化とゲノムバリエーションを単一分子の解像度で取得することで、生物学的メカニズムをさらに深く研究できるようになります。

5塩基メチル化レポート作成機能は、簡単なチェックボックスオプションを使ってDRAGEN Germline PipelineおよびDRAGEN Somatic Pipelineで使用できます。二次解析はBaseSpace™ Sequence Hub、Illumina Connected Analyticsクラウドプラットフォーム、またはDRAGENサーバーを介して実施できます。





Illumina Connected Multiomicsを用いたさらに深い解析の実現

解析で得られたDRAGEN出力ファイルは、直接Illumina Connected Multiomicsにインポートされ、多様な差次的解析を含む直感的なデータ探索と視覚化が可能です（図7）。メチル化パターンの解明、サンプルのグループ化、データの次元削減、バイオマーカーの検出とアノテーション、そして解析結果と生物学的機能との関連付けが可能です。

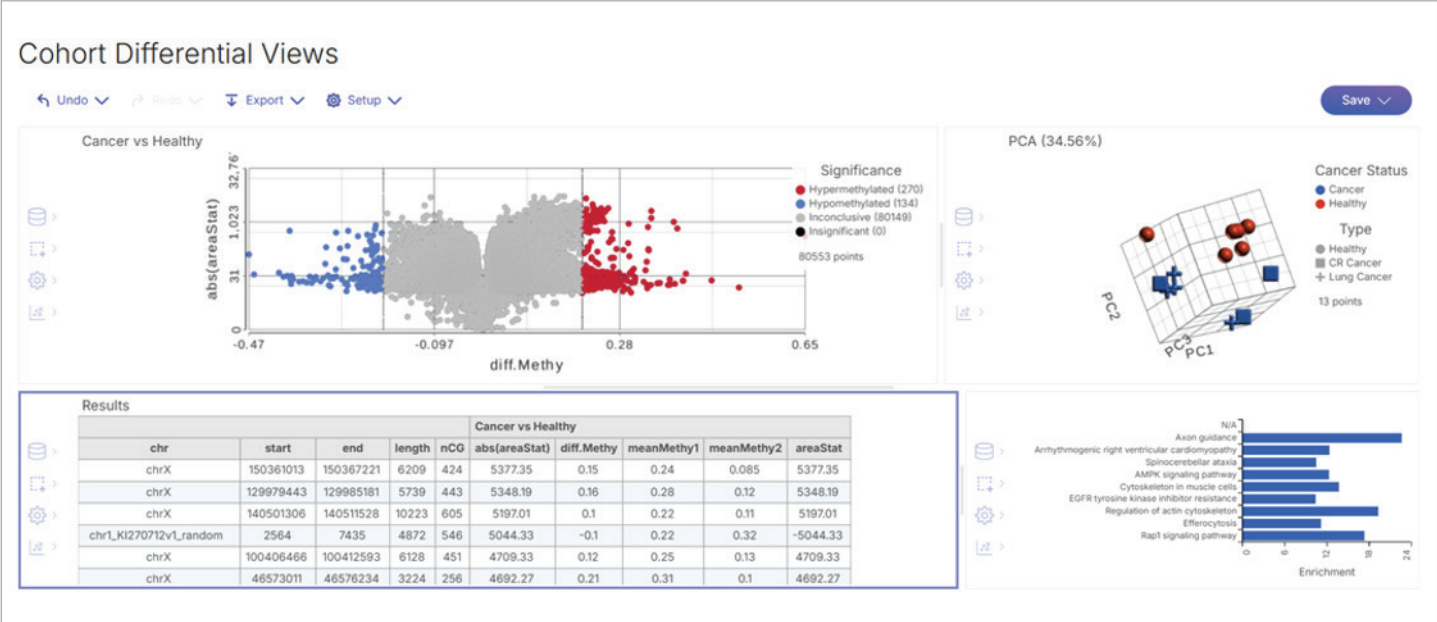


図7：Illumina Connected Multiomicsによる結果の解釈

Illumina Connected Multiomicsを使って初期設定パイプラインを実行し、探索から発見へとつながるカスタムワークフローを構築します。ダッシュボードは多用途な視覚化機能として、ゲノム領域のアノテーション、差次的メチル化領域の同定、教師なしクラスタリングによる生物学的グループ化の探索、およびメチル化変化と関連するパスウェイ取得といったオプションを備えており、深い洞察を提供します。

ゲノムとメチル化の2種類の高品質な洞察

Illumina 5-Base DNA Prepによるシーケンス性能は、CpGカバレッジが高く、ヒトゲノムの広範囲なGCコンテンツに対しても均一なカバレッジを示します (図8)。Illumina 5-Base DNA Prepライブラリーは、最小限のPCRサイクル数と非常に優れたマッピング効率により、高いライブラリー収量を示します (図9)。各サンプルのメチル化測定は、異なるインプット量 (図10) およびテクニカルレプリケート (図11) 全体にわたって再現性があります。小さなゲノムコントロールを添加して測定した場合、5mC変換は、幅広いサンプルインプット量において高い選択性が認められています (図12)。SNVs、挿入/欠失 (Indel) およびコピー数バリエーション (CNV) に対する非常に正確な生殖細胞系系列バリエーションコール/バリエーションコールにより、単一のワークフローでWGSとメチル化アッセイを並行解析し、包括的な洞察を得ることが可能です (図13)。同一分子から5mCと遺伝子塩基が検出できるため、メチル化および遺伝的バリエーションをアリル特異的な解像度で検出し、フェーシングされたデータが得られます (図14)。

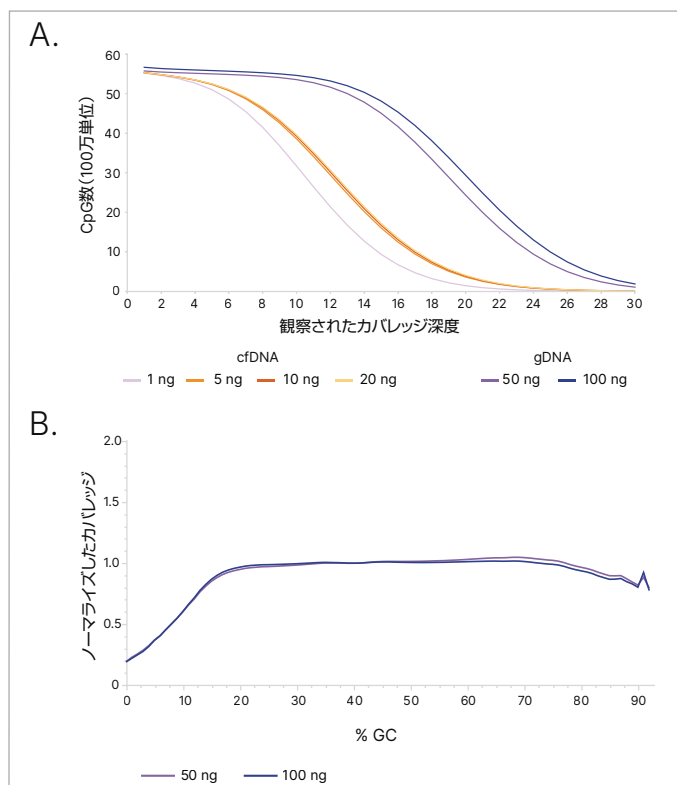


図8：Illumina 5-Base DNA Prepを用いた優れたシーケンス性能

(A) 1~20 ngのcfDNAインプット量および50~100 ngのgDNAインプット量に対する高いCpGカバレッジ。(B) 50~100 ngのgDNAインプット量に対する均一なGCカバレッジ。cfDNAは健康なドナーの血清から抽出し、gDNAはリファレンスヒトゲノムサンプルNA12878 (Coriell Institute for Medical Research) を使用しました。ライブラリーはNovaSeq Xシステムで5億クラスターに対してシーケンスしました。

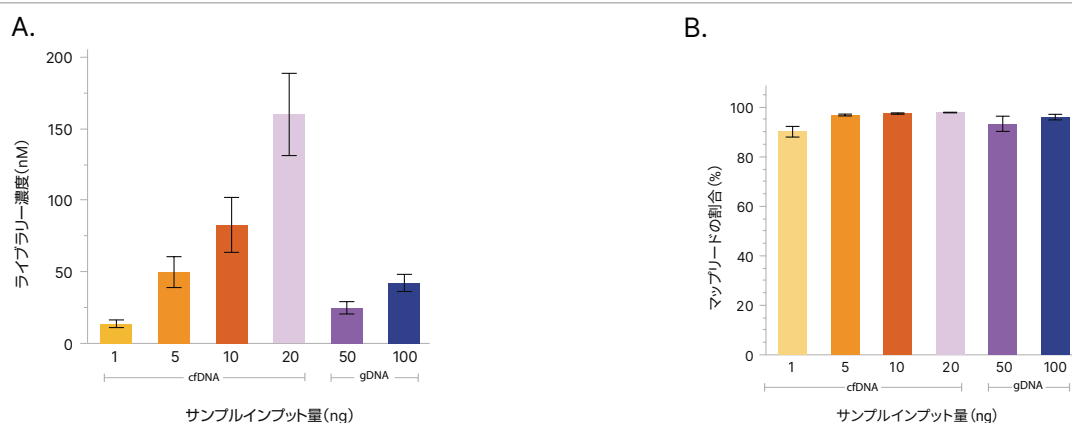


図9：Illumina 5-Base DNA Prepを用いた高い収量とアライメント率

1~20 ngのcfDNAインプット量および50~100 ngのgDNAインプット量に対してIllumina 5-Base DNA Prepを用いた (A) ライブラリー収量と (B) アライメント率 (マップリード率)。cfDNAは健康なドナーの血清から抽出し、gDNAはリファレンスヒトゲノムサンプルNA12878を使用しました。ライブラリーはNovaSeq Xシステムでシーケンスしました。

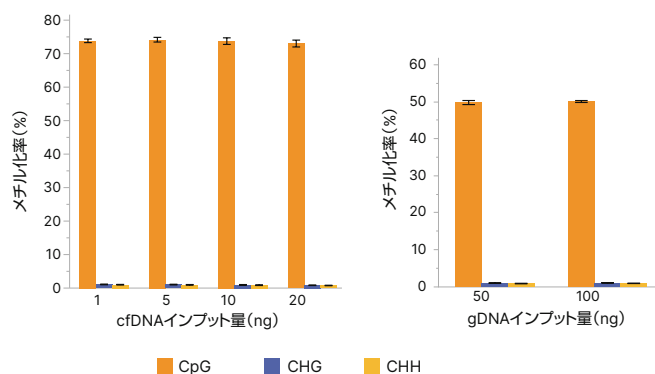


図10: Illumina 5-Base DNA Prepを用いた幅広いサンプルタイプとDNAインプットに対するメチル化検出

CpG、CHG、CHHコンテキスト中のシトシンのメチル化率。cfDNAは健康なドナーの血清から抽出し、全体的なCpGメチル化率は70～80%と想定されます。想定どおり、非常に低いCHGおよびCHHメチル化レベルが観察されました。リファレンスヒトゲノムサンプルNA12878由来の細胞株のgDNAでは、全体的なCpGメチル化は約50%と想定されています。ライブラリーはNovaSeq Xシステムでシーケンスしました。二次データ解析はDRAGEN Germline v 4.4.4を用いて実施しました。

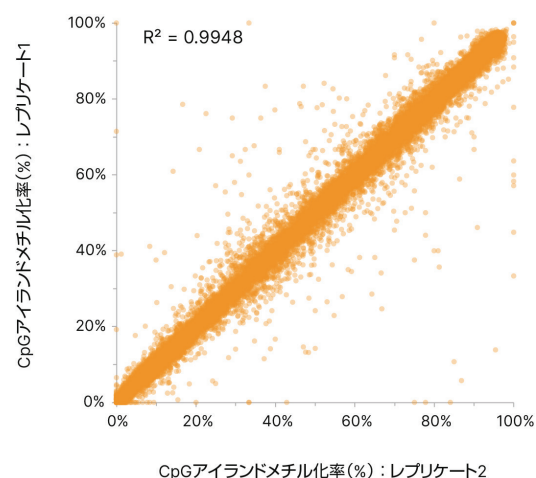
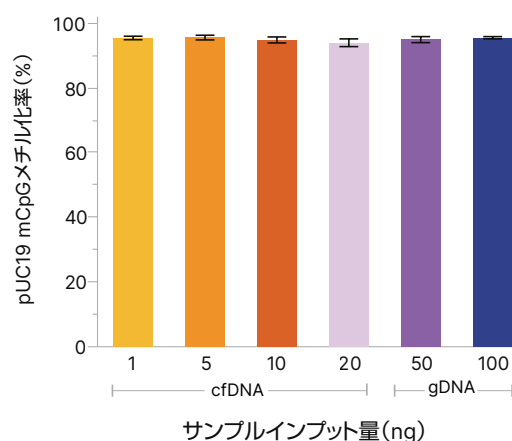


図11: Illumina 5-Base DNA Prepを用いた、あらゆるメチル化レベルにおけるCpGアイランドでの再現性の高いメチル化測定

すべてのCpGアイランド領域についてのリファレンスヒトゲノムサンプルNA12878の2つのレプリケート間の平均メチル化レベルの相関。ライブラリーはNovaSeq Xシステムでシーケンスしました。二次データ解析はDRAGEN Germline v 4.4.4で実施しました。

A.



B.

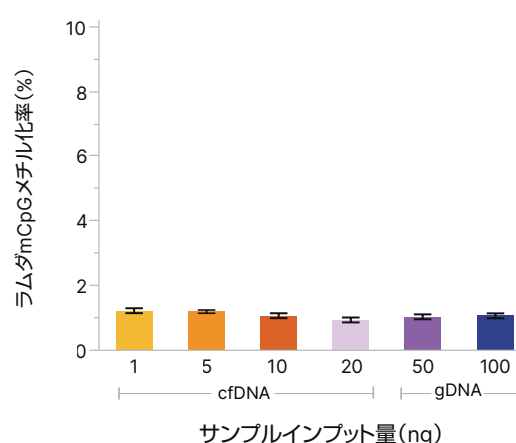


図12: Illumina 5-Base DNA Prepを用いた選択的メチル化変換

幅広いサンプルインプット量とサンプルタイプに対する高い選択性と一貫性のあるメチル化変換は、幅広いアプリケーションに対応します。キットに含まれる小さなゲノムコントロールである (A) メチル化pUCと (B) 非メチル化ラムダは、メチル化変換QCのために目的のサンプルに添加できます。インプット量は、健康なドナーからは1～20 ng cfDNA、ヒトリファレンスサンプルNA12878からは50～100 ng gDNAを使用しました。

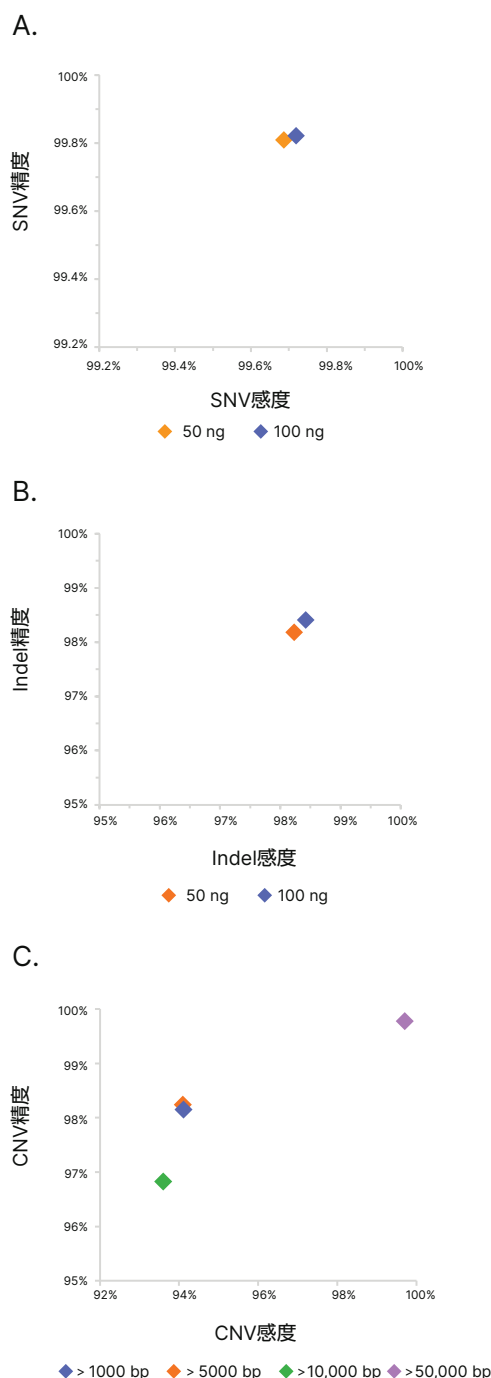


図13: Illumina 5-Base DNA Prepを用いた高精度の生殖細胞系列バリエントコール

リファレンスヒトゲノムサンプルNA12878から調製した50 ngおよび100 ngのインプットgDNAに対する (A) SNVおよび (B) Indelバリエントコール。 (C) リファレンスヒトゲノムサンプルHG002 (Genome in a Bottle) を用いた、バリエントサイズ別に分類した生殖細胞系列CNV検出精度。ライブラリーはNovaSeq Xシステムでシーケンスし、5億リードにサブサンプリングしました。

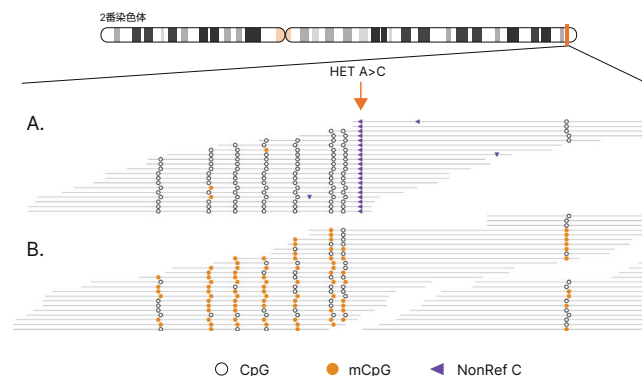


図14: 同一アレル上の遺伝子バリエントとメチル化両方の解像度

Illumina 5-Base DNA Prepは、アレル特異的なメチル化パターンを明らかにします。5塩基メチル化解析を用いたDRAGEN Germline Pipelineは、同一リードから遺伝子バリエントとメチル化データの両方をアライメントできます。2番染色体上のRAMP1遺伝子のイントロンを示した詳細図。(A) 非メチル化アレルおよび (B) メチル化アレル。ライブラリーはリファレンスヒトゲノムサンプルNA12878から調製しました。

コスト効率に優れた全ゲノム探索

Illumina 5-base DNA Prepは、その他のNGS法と比べて総額で最も低いワークフローコストを実現します。⁶ メチル化を中心とする応用分野において、イルミナ5塩基ソリューションは、マッピング効率が高くランあたりのCpGカバレッジが広いため、標準的なメチル化アッセイと比べて必要なシーケンス量が少なく済みす。ゲノムとメチル化の2種類の洞察を得るには、標準的なWGS単独の場合、追加のメチル化シーケンスのコストが必要になりますが、Illumina 5-Base DNA Prepはそれを最小限に抑えてゲノムバリエントコールとメチル化プロファイリングを提供します。[‡] DRAGEN二次解析は、高い効率で2種類のオミクス解析を実現し、NGSデータ解析コストも削減します。

[‡] Illumina 5-Base DNA Prepの5億リードペア (10億ペアエンドリード) と標準的なWGSの4億リードペアの比較に基づく。

まとめ

遺伝的バリエーションとDNAメチル化解析の統合により、すべてのサンプルから洞察を最大限に引き出します。Illumina 5-Base DNA Prepは、ライブラリーから解釈までのソリューションを提供し、最適化され統合された1回のワークフローでゲノムとメチロームの同時プロファイリングを実現します。新しいケミストリーとアルゴリズムが単一塩基の解像度と高い精度を提供する一方で、必要なシーケンス量を最小限に抑えます。統合型のDRAGEN解析とIllumina Connected Multiomicsを用いた包括的なデュアルオミクスレポートにより、生物学的探索を促進します。

詳細はこちら →

[Illumina 5-Base DNA Prep](#)

製品情報

製品	カタログ番号
ライブラリー調製	
Illumina 5-Base DNA Prep (24 samples)	20140364
Illumina 5-Base DNA Prep (96 samples)	近日発売予定
インデックス	
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
解析	
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	デモのお申し込み

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.

イルミナ株式会社

〒108-0014 東京都港区芝 5-36-7 三田ベルジュビル 22階
 Tel (03) 4578-2800 Fax (03) 4578-2810
jp.illumina.com

 www.facebook.com/illuminakk

販売店

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。 販売条件 : jp.illumina.com/tc

© 2025 Illumina, Inc. All rights reserved.

すべての商標および登録商標は、Illumina, Inc. または各所有者に帰属します。
 商標および登録商標の詳細は jp.illumina.com/company/legal.html をご覧ください。
 予告なしに仕様および希望販売価格を変更する場合があります。



Pub. No. M-GL-03689 v1.0-JPN 26NOV2025