

Infinium™ Mouse Methylation BeadChip

Dispone di più di 285.000 marker sul metiloma per analisi epigenetiche a elevata risoluzione di diversi ceppi murini.

Punti principali

- **Copertura completa**
Interroga più di 285.000 siti di metilazione per campione con risoluzione di singolo nucleotide
- **Semplice flusso di lavoro**
Fornisce un protocollo senza PCR utilizzando l'efficace saggio Infinium HD per gli studi di epigenetica
- **Riproducibilità elevata del saggio**
Raggiunge più del 98% di riproducibilità per replicati tecnici
- **Ampia gamma di applicazioni**
Consente studi di associazione dell'intero epigenoma, esperimenti xenografici, ricerca preclinica e altro

Introduzione

La metilazione del DNA gioca un ruolo dinamico nella regolazione dell'espressione genica. Consente alle cellule di acquisire e mantenere uno stato specializzato, sopprimere l'espressione di elementi di DNA virale e non ospitante e facilita la risposta agli stimoli ambientali. La metilazione aberrante del DNA (ipermetilazione o ipometilazione) e il suo impatto sull'espressione genica sono stati implicati in diversi processi biologici, compresi cancro, disordini neurologici, invecchiamento e sviluppo.^{1,2}

Per permettere l'esecuzione dell'analisi di metilazione del DNA efficace in termini di costi per diverse applicazioni, Illumina offre una piattaforma robusta per il profilo di metilazione costituita da chimiche e dal sistema iScan™ comprovati. Negli ultimi dieci anni l'utilizzo di Infinium Human Methylation450K BeadChip e Infinium MethylationEPIC BeadChip ha consentito alla ricerca sul metiloma di raccogliere informazioni fondamentali per la comprensione della biologia umana e dei meccanismi della malattia. Nello stesso tempo però i ricercatori non avevano a disposizione strumenti di array di metilazione per l'analisi di organismi modello utilizzati per simulare gli stati della malattia negli esseri umani.

Per far fronte a questa esigenza, Illumina offre Infinium Mouse Methylation BeadChip (Figura 1). Una collaborazione tra FOXO BioScience, Inc. e i dottori Peter Laird, Hui Shen e Wanding Zhou del Van Andel Institute ha consentito di sviluppare il contenuto utilizzato in Infinium Mouse Methylation BeadChip che permette l'analisi epigenetica di virtualmente tutti i ceppi murini utilizzati nei laboratori di ricerca, inclusi wild type, knockout, transgenici e altri tipi di topi geneticamente modificati. Fornendo la misurazione quantitativa della metilazione a livello di singolo sito CpG, questo array offre una risoluzione efficace per comprendere i cambiamenti epigenetici.

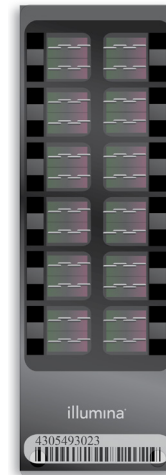


Figura 1: Infinium Mouse Methylation BeadChip: Infinium Mouse Methylation BeadChip dispone di più di 285.000 CpG in diverse regioni del metiloma.

Copertura completa dell'intero genoma

Infinium Mouse Methylation BeadChip fornisce la copertura bilanciata di isole CpG, siti di avvio della trascrizione (Transcription Start Site, TSS), intensificatori, loci di imprinting, regioni del corpo del gene, regioni di elementi ripetitivi, campi associati alla lamina, siti di legame CTCF e regioni ipermetilate nel cancro (Tabella 1 e Figura 2). La chimica Infinium HD permette la selezione di contenuto indipendente dalle limitazioni associate alle distorsioni spesso associate con i metodi di cattura del DNA metilato.

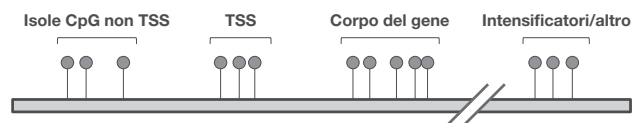


Figura 2: Copertura densa sulle regioni del gene: Infinium Mouse Methylation BeadChip offre ampia copertura sulle regioni del gene, isole CpG/regioni isole CpG, siti di avvio della trascrizione (TSS) e altre regioni per ottenere una panoramica completa dello stato della metilazione nel genoma murino.

Flusso di lavoro ottimizzato

Infinium Mouse Methylation BeadChip si attiene a un flusso di lavoro ottimizzato e di facile utilizzo che non richiede PCR. Il basso requisito di input di campione (appena 250 ng), permette l'analisi di campioni preziosi ottenuti da fonti di DNA limitate. Infinium Mouse Methylation BeadChip contiene tutti i reagenti richiesti per eseguire le analisi di metilazione (fatta eccezione per il kit di conversione con bisolfito, che è disponibile separatamente).

Tabella 1: Riepilogo della copertura di più di 285.000 CpG su Infinium Mouse Methylation BeadChip

Caratteristica	Descrizione della copertura
TSS entro 500 bp dei trascritti che codificano la proteina	Copre più di 28.000 trascritti che codificano la proteina
TSS regioni promotrici miRNA	Copre tutti i miRNA da Ensembl v75; più di 1.900 miRNA in totale
TSS RNA non codificante	Copre siti lncRNA come annotati da Ensembl v75
Intensificatori	Siti definiti da VISTA e Mouse ENCODE; più di 60.000 intensificatori totali
Loci di imprinting	Siti selezionati dal sequenziamento dell'intero genoma bisolfito (Whole-Genome Bisulfite Sequencing, WGBS) dove la metilazione intermedia è osservata su diversi tipi di cellule
Isole CpG	Selezionate dalla raccolta di isole CpG del topo della University of California, Santa Cruz (UCSC) dove TSS non si sovrappone con l'isola CpG; circa 16.000 isole CpG totali
Regioni ipermetilate nel cancro	Selezionate dai dati WGBS dei tumori del topo e tessuto normale; più di 5.700 siti CpG totali
Sonde con citosina non CpG (siti CpH)	I siti CpH si distribuiscono uniformemente in base al contesto della sequenza nei siti CAG, CTG, CCG, CAH, CTH e CCH; circa 4.000 siti totali
Sonde CpG orfane in campi associati alla lamina	Selezionate dalle predizioni della mappatura dei campi parzialmente metilati su scala di megabasi umani nel genoma murino
CpG da elementi ripetitivi consenso	Selezionati per sequenze conservate per gli elementi Line1, B1 e IAPEYI
Siti del corpo del gene	Siti casuali con più di 2 kb da TSS della proteina
Siti di legame CTCF	Selezionati dalle sequenze che si sovrappongono ai picchi ChIP-Seq CTCF da Mouse ENCODE
Approccio liftover per MethylationEPIC	Selezionato dalle sonde MethylationEPIC umane maggiormente conservate e mappate sul genoma del topo
Sonde CpG casuali	Siti selezionati casualmente per ridurre le distorsioni nella valutazione della metilazione genomica globale del DNA
Sonde SNP specifiche per il tratto	Una da ognuno dei 20 cromosomi per i 18 tratti murini coperti dal progetto sul genoma del topo

Efficace chimica del saggio

Infinium Mouse Methylation BeadChip applica la chimica del saggio Infinium I e del saggio Infinium II (Figura 3) per migliorare la profondità di copertura per l'analisi di metilazione. L'aggiunta di Infinium II permette di utilizzare sonde di oligonucleotidi degenerate per un tipo di microsfera singola. Questo permette a ciascun sito CpG, e per un massimo di tre siti CpG, sottostanti di essere metilati o non metilati senza incidere sul risultato del sito interrogato. Gli scienziati Illumina collaudano rigorosamente ogni prodotto per assicurare prestazioni efficaci e riproducibili.

Riproducibilità

La riproducibilità è stata determinata sulla base della correlazione dei risultati generati dai replicati tecnici. Infinium Mouse Methylation BeadChip mostra una forte correlazione tra i replicati ($r^2 > 0,98$) (Figura 4).

Sensibilità analitica

Confrontando i risultati degli esperimenti replicati (duplicati di sei campioni biologici), gli scienziati Illumina hanno mostrato che Infinium Mouse Methylation BeadChip rileva in modo affidabile un valore delta-beta di 0,2 con una percentuale di falsi positivi inferiore all'1%.

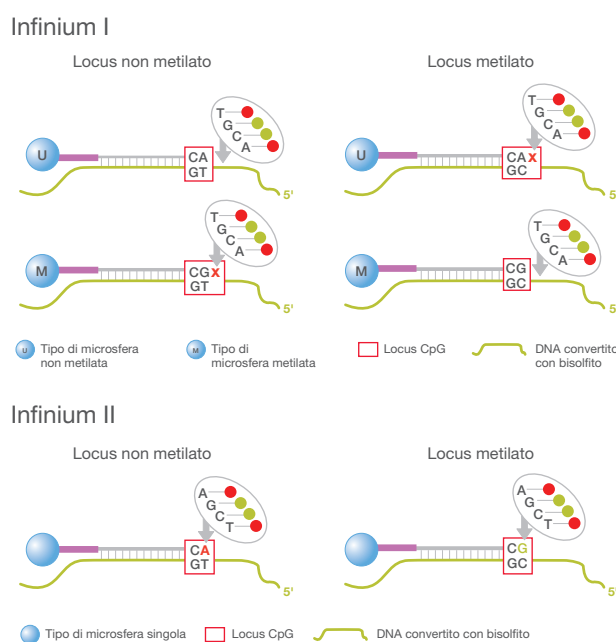


Figura 3: Ampia copertura utilizzando il saggio Infinium I e il saggio Infinium II: Infinium Mouse Methylation BeadChip utilizza i saggi Infinium I e Infinium II. Il saggio Infinium I impiega due tipi di microsfera per il locus CpG, uno ciascuno per gli stati metilato e non metilato. Infinium II utilizza un tipo di microsfera, con lo stato metilato determinato su una fase di estensione di una singola base dopo l'ibridazione.

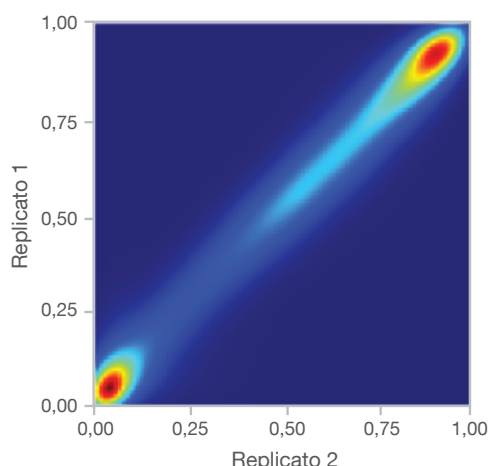


Figura 4: La tecnologia di metilazione Infinium mostra elevata riproducibilità: i replicati tecnici dei valori beta per i campioni di DNA knockout (KO) SMAD3 nel tumore murino su Infinium Mouse Methylation BeadChip mostrano un valore r^2 superiore al 98%.

Controlli qualità interni

I saggi Infinium HD forniscono dati di elevata qualità con controlli dipendenti e indipendenti dal campione. Infinium Mouse Methylation BeadChip include controlli negativi per tenere conto della complessità diminuita della sequenza dopo la conversione con bisolfito. Il software GenomeStudio™ Methylation Module dispone di un pannello di controllo integrato per facilitare il monitoraggio dei controlli.

Software di analisi integrato

L'analisi dei dati ottenuti da Infinium Mouse Methylation BeadChip è supportata da GenomeStudio Methylation Module, che permette ai ricercatori di eseguire analisi di metilazione differenziale per studi su piccola scala. Il software GenomeStudio fornisce strumenti avanzati di visualizzazione che permettono ai ricercatori di visualizzare una vasta quantità di dati in un singolo grafico, come le mappe termiche o altri grafici (Figura 5).

Elevata compatibilità con altri software

Le soluzioni di terze parti possono utilizzare gli stessi file delle intensità ottenuti dalla corsa con Infinium Mouse Methylation BeadChip su un sistema iScan. Per studi su larga scala, sono disponibili molti pacchetti di analisi gratuiti che possono essere utilizzati nel framework R del software per la normalizzazione e l'analisi differenziale dei dati di metilazione.³

Ampia gamma di applicazioni

Infinium Mouse Methylation BeadChip consente un'ampia gamma di applicazioni a partire dalla ricerca scientifica di base fino agli studi preclinici. Sono disponibili più di 200.000 tratti murini modificati, molti dei quali sono stati creati sulla malattia umana presa a modello. Infinium Mouse Methylation BeadChip può essere utilizzato per studi di associazione all'intero epigenoma, che nei topi sono semplificati grazie alla capacità di eseguire test per le modifiche di metilazione del DNA dovute all'esposizione ambientale in soggetti con un background genetico uniforme.

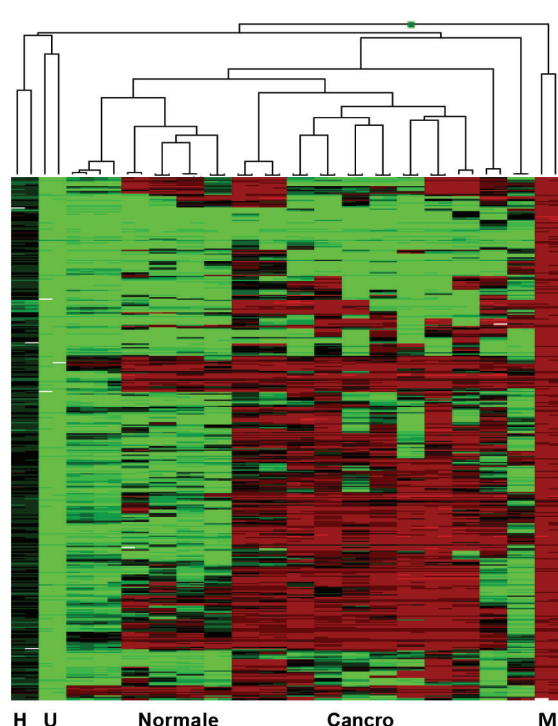


Figura 5: Analisi dei dati integrata con il software GenomeStudio Illumina: il software GenomeStudio supporta l'analisi di metilazione del DNA su qualsiasi piattaforma. I dati sono visualizzati in grafici intuitivi (mappa termica).

Inoltre, Infinium Mouse Methylation BeadChip può essere utilizzato con modelli xenografici del cancro derivati dai pazienti per l'analisi di caratteristiche dello stroma. L'array può inoltre essere utilizzato nella ricerca preclinica per testare se le terapie sperimentali hanno gli effetti previsti nei tessuti target. I tossicologi genetici possono utilizzare Infinium Mouse Methylation BeadChip per comprendere i meccanismi della tossicità nei farmaci o nella ricerca sull'inquinamento ambientale. I biologi dello sviluppo possono inoltre utilizzare l'array per investigare il ruolo della metilazione del DNA in diversi tessuti durante lo sviluppo embrionico. Oltre a questi esempi, Infinium Mouse Methylation BeadChip può essere utilizzato in qualsiasi applicazione in cui un ricercatore desidera utilizzare la metilazione del DNA come readout per la regolazione genetica nel genoma murino.

Riepilogo

La combinazione unica di copertura completa e selezionata da esperti ed elevata processività dei campioni rende Infinium Mouse Methylation BeadChip una soluzione ideale per studi di metilazione del DNA dell'intero genoma con un ampio numero di campioni.

Maggiori informazioni

Per maggiori informazioni su Infinium Mouse Methylation BeadChip e altri prodotti e servizi di genotipizzazione Illumina, visitate la pagina Web www.illumina.com/techniques/microarrays.html.

Informazioni sugli ordini

Infinium Mouse Methylation BeadChip Kit ^a	Descrizione	N. di catalogo
24 campioni	2 BeadChip e reagenti per analizzare la metilazione del DNA in 24 campioni di DNA murino.	20041558
48 campioni	4 BeadChip e reagenti per analizzare la metilazione del DNA in 48 campioni di DNA murino.	20041559
96 campioni	8 BeadChip e reagenti per analizzare la metilazione del DNA in 96 campioni di DNA murino.	20041560

a. Ogni Infinium Mouse Methylation BeadChip può elaborare 12 campioni in parallelo e sottoporre al saggio più di 285.000 siti di metilazione per campione. FOXO BioScience™ è un marchio di fabbrica di FOXO BioScience, Inc. Infinium Mouse Methylation BeadChip è venduto in base a un accordo con FOXO Bioscience, Inc.

Bibliografia

1. Portela A, Esteller M. [Epigenetic modifications and human disease](#). *Nat Biotech*. 2010;28:1057–1068.
2. Rakyan VK, Down TA, Balding DJ, Beck S. [Epigenome-wide association studies for common human diseases](#). *Nat Rev Genetics*. 2011;12(8):529–541.
3. Zhou W, Triche Jr. TJ, Laird PW, Shen H. [SeSAMe: reducing artifactual detection of DNA methylation by Infinium BeadChips in genomic deletions](#). *Nucleic Acids Res*. 2018;46(20):e123.