

BeadChip Infinium™ Mouse Methylation

Presenta más de 285 000 marcadores en todo el metiloma para efectuar análisis epigenéticos en alta resolución de diversas cepas murinas.

Puntos destacados

- Cobertura completa**
 Analiza más de 285 000 sitios de metilación por muestra en una resolución con un único nucleótido.
- Flujo de trabajo sencillo**
 Proporciona un protocolo sin PCR que utiliza el potente ensayo Infinium HD para estudios epigenéticos.
- Alta reproducibilidad del ensayo**
 Logra una reproducibilidad superior al 98 % en réplicas técnicas.
- Amplia gama de aplicaciones**
 Permite llevar a cabo estudios de asociación de todo el epigenoma, experimentos con xenoinjertos, estudios preclínicos, etc.

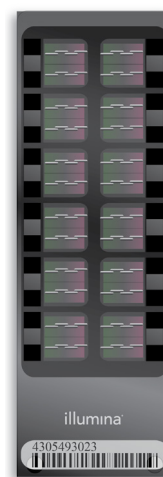


Figura 1: BeadChip Infinium Mouse Methylation. El BeadChip Infinium Mouse Methylation presenta más de 285 000 CpG en diversas regiones del metiloma.

Introducción

La metilación del ADN desempeña un papel dinámico en la regulación de la expresión genética. Permite que las células adquieran y mantengan un estado especializado, suprime la expresión de elementos de ADN de células no huésped y vírico, además de facilitar la respuesta a estímulos del entorno. La metilación del ADN anómalo (hipermetilación o hipometilación) y su repercusión sobre la expresión genética se han asociado a numerosos procesos biológicos, incluidos el cáncer, los trastornos neurológicos, el envejecimiento y el desarrollo.^{1,2}

Con el fin de poder realizar un análisis de metilación de ADN rentable para distintas aplicaciones, Illumina ofrece una sólida plataforma de elaboración de perfiles de metilación que contiene componentes químicos probados y el sistema iScan™. La última década de investigación de metilomas, con los BeadChips Infinium Human Methylation450K e Infinium MethylationEPIC, ha fructificado en información fundamental para conocer la biología humana y los mecanismos patológicos. En contraste, a los investigadores les han faltado herramientas de matrices de metilación para analizar los organismos modelo empleados para simular enfermedades en seres humanos.

Para abordar esta necesidad, Illumina ofrece el BeadChip Infinium Mouse Methylation (Figura 1). Gracias al contenido desarrollado a través de una colaboración entre FOXO BioScience, Inc., y los Drs. Peter Laird, Hui Shen y Wanding Zhou del Van Andel Institute, el BeadChip Infinium Mouse Methylation permite efectuar análisis epigenéticos de prácticamente todas las cepas murinas empleadas en los laboratorios de investigación, entre los que se incluyen ratones sin mutaciones, con genes inactivados, transgénicos y otros tipos de ratones genomodificados. Gracias a su capacidad de medición de metilación cuantitativa en el ámbito de sitios únicos de CpG, esta matriz ofrece una resolución eficaz para la comprensión de los cambios epigenéticos.

Cobertura total de genoma completo

El BeadChip Infinium Mouse Methylation ofrece una cobertura equilibrada de las islas CpG, los sitios de inicio de la transcripción (TSS), los potenciadores, los locus sellados, las regiones del cuerpo de genes, las regiones de elementos repetitivos, los dominios de fijación de laminas, los sitios de unión del CTCF y las regiones hipermetiladas en el cáncer (Tabla 1 y Figura 2). El proceso químico Infinium HD permite la selección del contenido con independencia de las limitaciones asociadas a sesgos, que se suelen relacionar con los métodos de captura de ADN metilado.

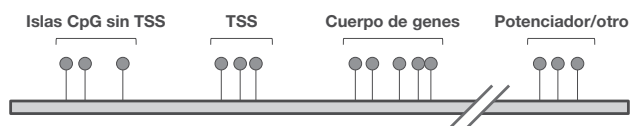


Figura 2: Cobertura densa en todas las regiones genéticas. El BeadChip Infinium Mouse Methylation ofrece una amplia cobertura en todas las regiones genéticas, islas CpG/regiones de islas CpG, el sitio de inicio de la transcripción (TSS) y otras regiones para obtener una visión completa del panorama de la metilación en el genoma murino.

Flujo de trabajo optimizado

El BeadChip Infinium Mouse Methylation sigue un flujo de trabajo optimizado y fácil de usar que no requiere PCR. El reducido requisito de entrada de muestras (solo 250 ng) permite analizar muestras valiosas a partir de fuentes limitadas de ADN. Los kits del BeadChip Infinium Mouse Methylation contienen todos los reactivos necesarios para realizar análisis de metilación (excepto el kit de conversión con bisulfito, disponible por separado).

Tabla 1: Resumen de la cobertura de más de 285 000 CpG en el BeadChip Infinium Mouse Methylation

Característica	Descripción de la cobertura
TSS dentro de 500 pb de transcripciones codificantes de proteínas	Cubre más de 28 000 transcripciones codificantes de proteínas
TSS de promotores de ARNmi	Cubre todos los ARNmi anotados de Ensembl v75; >1900 ARNmi en total
TSS de ARN no codificante	Cubre los sitios de ARNnc anotados por Ensembl v75
Potenciadores	Sitios definidos por VISTA y Mouse ENCODE; >60 000 potenciadores en total
Locus sellados	Sitios seleccionados por la secuenciación con bisulfito del genoma completo (WGBS) en los que se observa una metilación intermedia en varios tipos de células
Islas CpG	Seleccionadas a partir de la recogida de islas CpG murinas en la Universidad de California, Santa Cruz (UCSC), donde el TSS no se solapa con la isla CpG; ~16 000 islas CpG en total
Regiones hipermetiladas en el cáncer	Seleccionadas a partir de datos de WGBS de tumores de ratón y tejidos sanos; >5700 sitios CpG en total
Sondas de citosina sin CpG (sitios CpH)	Sitios CpH distribuidos uniformemente por contexto de la secuencia en sitios CAG, CTG, CCG, CAH, CTH y CCH; ~4000 sitios en total
Sondas CpG huérfanas en dominios de fijación de laminas	Seleccionadas a partir de predicciones de asignación de dominios parcialmente metilados a escala de megabases humanas en el genoma murino
CpG de elementos repetitivos consensuados	Seleccionadas para secuencias conservadas de elementos de Line1, B1 e IAPEYI
Sitios del cuerpo de genes	Sitios aleatorios >2 kb procedentes de TSS de proteínas
Sitios de unión del CTCF	Seleccionados a partir de secuencias que solapan picos de ChIP-Seq de CTCF procedentes de Mouse ENCODE
Liftover de Human MethylationEPIC	Seleccionado a partir de las sondas de Human MethylationEPIC más conservadas asignadas al genoma murino
Sondas aleatorias de CpG	Sitios seleccionados aleatoriamente para reducir el sesgo en la evaluación de la metilación global de ADN genómico
Sondas de SNP de cepas específicas	Uno de cada uno de los 20 cromosomas correspondientes a las 18 cepas murinas cubiertas por el proyecto del genoma murino

Sólido proceso químico del ensayo

El BeadChip Infinium Mouse Methylation aplica los procesos químicos de los ensayos Infinium I y II (Figura 3) para mejorar la profundidad de cobertura del análisis de metilación. La incorporación del diseño del ensayo Infinium II permite utilizar sondas de oligonucleótidos degeneradas para un tipo de una sola bola. Esto permite que uno de hasta tres sitios CpG subyacentes se metile o desmetile sin interferir en el resultado del sitio solicitado. Los científicos de Illumina prueban de manera rigurosa cada producto para garantizar un rendimiento sólido y reproducible.

Reproducibilidad

La reproducibilidad se ha determinado basándose en la correlación de los resultados generados a partir de réplicas técnicas. El BeadChip Infinium Mouse Methylation presenta una marcada correlación entre los duplicados ($r^2 > 0,98$) (Figura 4).

Sensibilidad del análisis

Al comparar los resultados de experimentos duplicados (duplicados de seis muestras biológicas), los científicos de Illumina han demostrado que el BeadChip Infinium Mouse Methylation detecta de manera fiable un valor delta-beta de 0,2 con una tasa de falsos positivos inferior al 1 %.

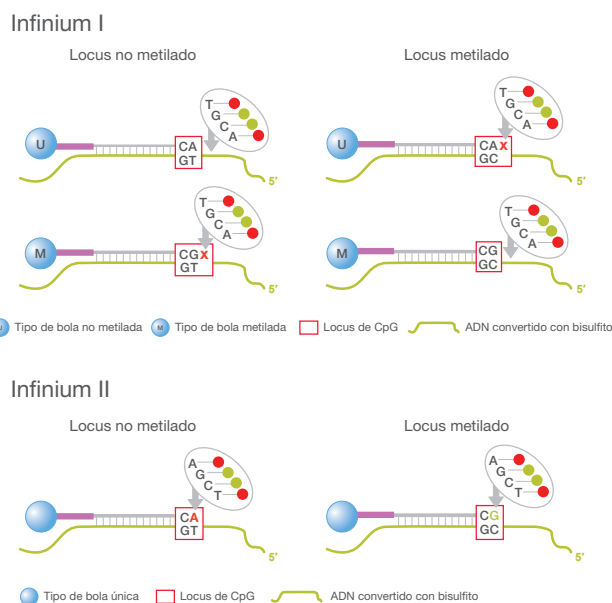


Figura 3: Amplia cobertura con los diseños de ensayo Infinium I y II. El BeadChip Infinium Mouse Methylation emplea tanto el ensayo Infinium I como el ensayo Infinium II. El diseño del ensayo Infinium I emplea dos tipos de bola para cada locus CpG, uno para el estado metilado y otro para el estado no metilado. El diseño del ensayo Infinium II utiliza un tipo de una sola bola, con el estado metilado determinado en el paso de extensión de base única tras la hibridación.

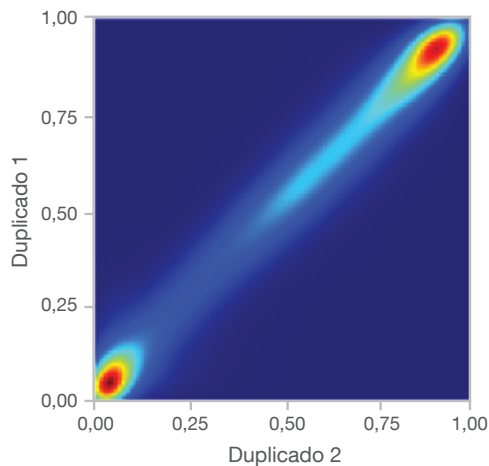


Figura 4: La tecnología de metilación Infinium presenta una elevada reproducibilidad. Los duplicados técnicos de valores beta correspondientes a muestras de ADN de tumores de ratón con SMAD3 inactivado en el BeadChip Infinium Mouse Methylation muestran un valor de r^2 superior al 98 %.

Controles de calidad internos

Los ensayos Infinium HD producen datos de alta calidad con controles independientes y dependientes de la muestra. El BeadChip Infinium Mouse Methylation incluye controles negativos para tener en cuenta una menor complejidad de la secuencia tras la conversión con bisulfito. El software del módulo de metilación GenomeStudio™ dispone de un panel de controles integrados para una cómoda supervisión de los controles.

Software de análisis integrado

El análisis de los datos del BeadChip Infinium Mouse Methylation cuenta con el módulo de metilación GenomeStudio, lo que permite que los investigadores lleven a cabo análisis de metilación diferenciales para estudios a baja escala. El software GenomeStudio incorpora herramientas de visualización avanzadas que permiten que los investigadores consulten grandes volúmenes de datos en un solo gráfico como, por ejemplo, mapas térmicos y otros tipos de gráficos (Figura 5).

Alta compatibilidad con otros softwares

Las soluciones de terceros pueden usar los mismos archivos de intensidad del experimento del BeadChip Infinium Mouse Methylation en el sistema iScan. En el caso de estudios a gran escala, hay muchos paquetes de análisis disponibles de manera gratuita que funcionan en el marco R del software para normalizar y realizar análisis diferenciales de los datos de metilación.³

Amplia gama de aplicaciones

El BeadChip Infinium Mouse Methylation posibilita una amplia gama de aplicaciones: desde estudios científicos básicos hasta estudios preclínicos. Hay más de 200 000 cepas murinas modificadas, muchas de las cuales se crearon para crear modelos de enfermedades humanas. El BeadChip Infinium Mouse Methylation se puede usar en estudios de asociación de todo el epigenoma, ejecutados en ratones por la posibilidad de llevar a cabo pruebas de los cambios de metilación del ADN causados por las exposiciones ambientales en sujetos con unos antecedentes genéticos uniformes.

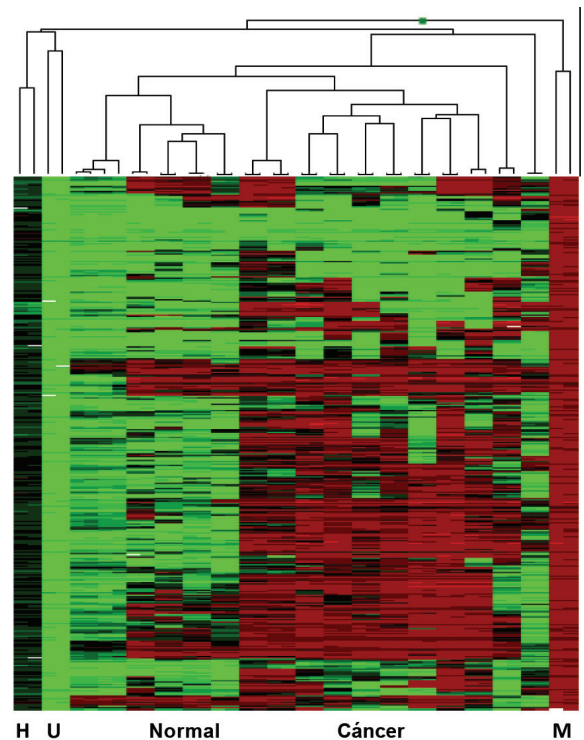


Figura 5: Análisis de datos integrado con el software GenomeStudio de Illumina. El software GenomeStudio admite el análisis de metilación del ADN en cualquier plataforma. Los datos se muestran en gráficos intuitivos (mapa de calor).

Además, el BeadChip Infinium Mouse Methylation se puede usar con modelos de xenoinjertos de cáncer obtenidos de pacientes para analizar rasgos del estroma, que pueden incidir en la neoplasia y progresión de tumores humanos. La matriz también se puede usar en estudios preclínicos para probar si los tratamientos experimentales surten los efectos deseados en los tejidos objetivo. Los toxicólogos genéticos pueden aplicar el BeadChip Infinium Mouse Methylation para comprender los mecanismos de toxicidad en estudios farmacológicos o de contaminantes medioambientales. Los biólogos del desarrollo también podrían utilizar la matriz para investigar el papel de la metilación del ADN en distintos tejidos durante el desarrollo embrionario. Aparte de estos ejemplos, el BeadChip Infinium Mouse Methylation se puede usar en cualquier aplicación en la que un investigador desee utilizar la metilación del ADN como lectura para la regulación genética del genoma murino.

Resumen

La combinación única de una cobertura integral y seleccionada por expertos y una elevada productividad de muestras hace que el BeadChip Infinium Mouse Methylation sea una solución ideal para los estudios de metilación de ADN del genoma completo con un gran número de muestras.

Información adicional

Encontrará más información sobre el BeadChip Infinium Mouse Methylation, así como sobre otros servicios y productos de genotipado de Illumina, en www.illumina.com/techniques/microarrays.html.

Datos para realizar pedidos

Kit de BeadChip Infinium Mouse Methylation ^a	Descripción	N.º de referencia
24 muestras	Dos BeadChips y reactivos para analizar la metilación del ADN en 24 muestras de ADN murino.	20041558
48 muestras	Cuatro BeadChips y reactivos para analizar la metilación del ADN en 48 muestras de ADN murino.	20041559
96 muestras	Ocho BeadChips y reactivos para analizar la metilación del ADN en 96 muestras de ADN murino.	20041560

a. Cada BeadChip Infinium Mouse Methylation puede procesar doce muestras en paralelo y analizar más de 285 000 sitios de metilación por muestra. FOXO BioScience™ es una marca comercial de FOXO BioScience, Inc. El BeadChip Infinium Mouse Methylation se comercializa en virtud de un acuerdo con FOXO Bioscience, Inc.

Referencias

1. Portela A, Esteller M. [Epigenetic modifications and human disease](#). *Nat Biotech*. 2010;28:1057-1068.
2. Rakyán 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.