

Infinium™ Mouse Methylation BeadChip

Detaillierte epigenetische Analysen unterschiedlicher muriner Stränge mit über 285.000 Markern im Methylom.

Vorteile

- Umfassende Coverage**
 Untersucht über 285.000 Methylierungsstellen je Probe bei Einzelnukleotidauflösung
- Einfacher Workflow**
 PCR-freies Protokoll mit dem leistungsstarken Infinium HD-Assay für epigenetische Studien
- Hohe Assay-Reproduzierbarkeit**
 Erreicht über 98 % Reproduzierbarkeit bei technischen Replikaten
- Breites Anwendungsspektrum**
 Ermöglicht epigenomweite Assoziationsstudien, Xenograft-Experimente, präklinische Studien und vieles mehr

Einleitung

Die DNA-Methylierung spielt eine dynamische Rolle bei der Regulierung der Genexpression. Sie ermöglicht Zellen, einen speziellen Zustand anzunehmen und aufrechtzuerhalten, unterdrückt die Expression viraler und Nichtwirt-DNA-Elemente und erleichtert die Reaktion auf Umweltreize. Eine aberrante DNA-Methylierung (Hyper- oder Hypomethylierung) und ihre Auswirkung auf die Genexpression sind an vielen biologischen Prozessen beteiligt, darunter Krebs, neurologische Erkrankungen, Alterung und Entwicklung.^{1,2}

Um eine kostengünstige DNA-Methylierungsanalyse für verschiedene Anwendungen zu ermöglichen, bietet Illumina eine zuverlässige Profiling-Plattform für die Methylierung, bestehend aus bewährter Chemie und dem iScan™-System. Während des vergangenen Jahrzehnts wurden in der Methylom-Forschung mit dem Infinium Human Methylation450K BeadChip und dem Infinium MethylationEPIC BeadChip grundlegende Erkenntnisse zum Verständnis von Humanbiologie und Erkrankungsmechanismen gewonnen. Jedoch fehlten Forschern Methylierungs-Array-Tools für die Analyse von Modellorganismen, an denen Stadien von Erkrankungen bei Menschen simuliert werden.

Aus diesem Grund bietet Illumina den Infinium Mouse Methylation BeadChip (Abbildung 1) an. Mit gemeinsam von **FOXO BioScience, Inc.** sowie Dr. Peter Laird, Dr. Hui Shen und Dr. Wanding Zhou vom Van Andel Institute entwickeltem Inhalt ermöglicht der Infinium Mouse Methylation BeadChip die epigenetische Analyse praktisch aller muriner Stränge, die in Forschungslaboren zum Einsatz kommen, darunter Wildtyp-, Knockout-, transgene und andere Arten genveränderter Mäuse. Durch die quantitative Methylierungsmessung auf Ebene einzelner CpG-Stellen liefert dieser Array eine herausragende Auflösung für die Erforschung epigenetischer Veränderungen.

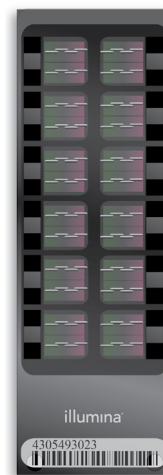


Abbildung 1: Infinium Mouse Methylation BeadChip: Der Infinium Mouse Methylation BeadChip umfasst über 285.000 CpGs in unterschiedlichen Regionen des Methyloms.

Umfassende genomweite Coverage

Der Infinium Mouse Methylation BeadChip bietet eine ausgeglichene Coverage von CpG-Inseln, Transkriptionsstartpunkten (TSP), Enhancern, geprägten Loci, Genkörperregionen, repetitiven Elementregionen, Lamin-Anlagerungsdomänen, CTCF-Bindungsstellen und hypermethylierten Regionen bei Krebs (Tabelle 1 und Abbildung 2). Die Infinium HD-Chemie ermöglicht die Auswahl von Inhalten unabhängig von durch Verzerrung verursachten Einschränkungen, die häufig mit Abfangmethoden für methylierte DNA verbunden sind.

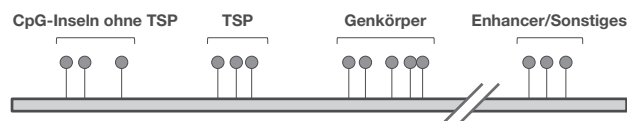


Abbildung 2: Dichte Coverage der Genregionen: Der Infinium Mouse Methylation BeadChip bietet eine breite Coverage, die Genregionen, CpG-Inseln/CpG-Inselregionen, Transkriptionsstartpunkte (TSP) sowie weitere Regionen umfasst und damit ein umfassendes Bild der Methylierungslandschaft im murinen Genom liefert.

Optimierter Workflow

Der Infinium Mouse Methylation BeadChip bietet einen benutzerfreundlichen, optimierten Workflow, der keine PCR erfordert. Da er nur eine geringe Probenzugabemenge benötigt (nur 250 ng), ermöglicht er die Analyse wertvoller Proben aus begrenzten DNA-Quellen. Infinium Mouse Methylation BeadChip-Kits enthalten alle zur Durchführung von Methylierungsanalysen erforderlichen Reagenzien (ausgenommen das separat erhältliche Bisulfit-Konversions-Kit).

Tabelle 1: Zusammenfassung der Coverage von über 285.000 CpGs auf dem Infinium Mouse Methylation Beadchip

Merkmale	Beschreibung der Coverage
TSP mit 500 bp proteincodierender Transkripte	Coverage von über 28.000 proteincodierenden Transkripten
miRNA-Promotor-TSP	Coverage der gesamten annotierten miRNA aus Ensembl v75; über 1.900 miRNAs insgesamt
Nichtcodierende RNA-TSP	Coverage von Ensembl v75 annotierter lncRNA-Stellen
Enhancer	Stellen gemäß VISTA und Mouse ENCODE; über 60.000 Enhancer insgesamt
Geprägte Loci	Per WGBS (Whole-Genome Bisulfite Sequencing, Gesamtgenom-Bisulfitsequenzierung) ausgewählte Stellen mit mittlerer Methylierung bei unterschiedlichen Zelltypen.
CpG-Inseln	Aus der Sammlung der University of California, Santa Cruz (UCSC) ausgewählte Maus-CpG-Inseln, bei denen der TSP nicht mit der CpG-Insel überlappt; ca. 16.000 CpG-Inseln insgesamt
Hypermethylierte Regionen bei Krebs	Ausgewählt aus WGBS-Daten von murinen Tumoren und Normalgewebe; über 5.700 CpG-Stellen insgesamt
Nicht-CpG-Cytosinsonden (CpH-Stellen)	Im Sequenzkontext gleichmäßig auf CAG-, CTG-, CCG-, CAH-, CTH- und CCH-Stellen verteilte CpH-Stellen; ca. 4.000 Stellen insgesamt
Orphan-CpG-Sonden in Lamin-Anlagerungsdomänen	Ausgewählt aus Prognosen zum Mapping partiell methylierter Domänen vom humanen auf das murine Genom (auf Ebene von Megabasen)
CpGs aus repetitiven Konsenselementen	Ausgewählt aus konservierten Sequenzen für Line1-, B1- und IAPEYI-Elemente
Genkörperstellen	Zufällig ausgewählte Stellen, über 2 kb vom Protein-TSP
CTCF-Bindungsstellen	Ausgewählt aus Sequenzen, die CTCF ChIP-Seq-Spitzen aus Mouse ENCODE überlappen
Human-MethylationEPIC-Liftover	Ausgewählt aus den höchstkonservierten, auf das murine Genom gemappten Human-MethylationEPIC-Sonden
Zufällige CpG-Sonden	Zufällig ausgewählte Stellen zur Reduzierung der Verzerrung bei der Bestimmung der globalen Methylierung der genomischen DNA
Strangspezifische SNP-Sonden	Eine für jedes der 20 Chromosomen für die 18 murinen Stränge des Mausgenomprojekts

Zuverlässige Assay-Chemie

Der Infinium Mouse Methylation BeadChip verwendet sowohl die Infinium I- als auch die Infinium II-Assay-Chemie (Abbildung 3) zur Verbesserung der Coverage-Tiefe für die Analyse der Methylierung. Die Ergänzung durch das Infinium II-Design erlaubt die Nutzung degenerierter Oligonukleotidsonden für einen einzelnen Bead-Typ. Dadurch können jeweils bis zu drei CpG-Stellen methyliert oder nicht methyliert sein, ohne dass dies Auswirkungen auf das Ergebnis der abgefragten Stelle hat. Wissenschaftler von Illumina unterziehen jedes Produkt strengen Tests, um eine starke und reproduzierbare Leistung sicherzustellen.

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit wurde auf Basis der Korrelation der Ergebnisse ermittelt, die aus technischen Replikaten generiert wurden. Der Infinium Mouse Methylation BeadChip zeigt eine starke Korrelation zwischen Replikaten ($r^2 > 0,98$) (Abbildung 4).

Analytische Sensitivität

Durch den Vergleich der Ergebnisse von Replikatexperimenten (Duplikate von acht biologischen Proben) konnten Wissenschaftler von Illumina zeigen, dass der Infinium Mouse Methylation BeadChip zuverlässig einen Delta-Beta-Wert von 0,2 mit falsch positiver Rate von unter 1 % nachweist.

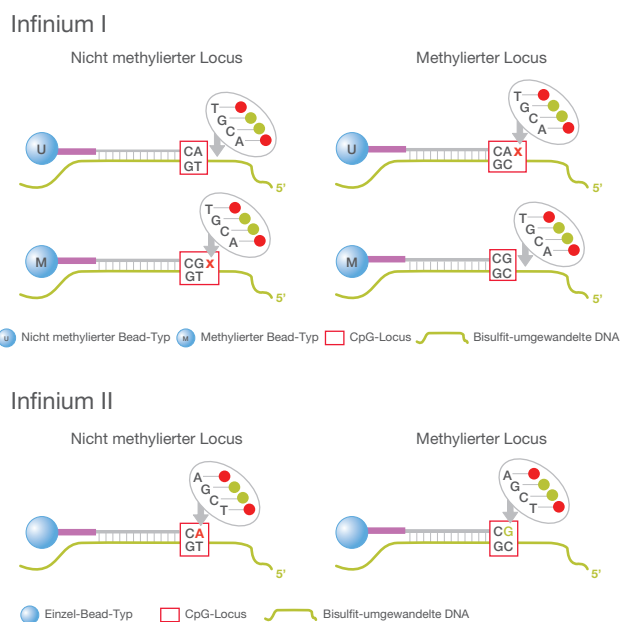


Abbildung 3: Breite Coverage mit Infinium I- und Infinium II-Assay-Designs: Der Infinium Mouse Methylation BeadChip nutzt Infinium I- und Infinium II-Assays. Das Infinium I-Assay-Design umfasst zwei Bead-Typen je CpG-Locus, jeweils einen für den methylierten und einen für den nicht methylierten Zustand. Das Infinium II-Design verwendet einen Bead-Typ, wobei der methylierte Zustand beim Einzelbasenextensionsschritt nach der Hybridisierung bestimmt wird.

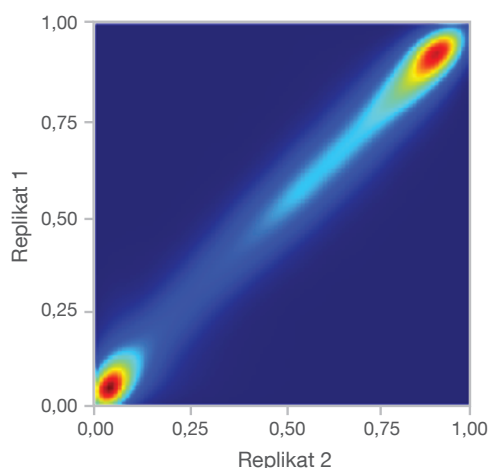


Abbildung 4: Hohe Reproduzierbarkeit der Infinium-Methylierungstechnologie: Technische Replikate von Beta-Werten für murine SMAD3-Knockout(KO)-DNA-Proben auf dem Infinium Mouse Methylation BeadChip zeigen einen r^2 -Wert von über 98 %.

Interne Qualitätskontrollen

Infinium HD-Assays erzeugen hochwertige Daten mit probenabhängigen und -unabhängigen Kontrollen. Der Infinium Mouse Methylation BeadChip enthält negative Kontrollen, um die verminderte Sequenzkomplexität nach der Bisulfittkonvertierung zu berücksichtigen. Die GenomeStudio™ Methylation Module Software verfügt über ein integriertes Kontroll-Dashboard zur einfachen Verfolgung von Kontrollen.

Integrierte Analysesoftware

Die Infinium Mouse Methylation BeadChip-Datenanalyse wird vom GenomeStudio Methylation Module unterstützt und ermöglicht Forschern, bei kleinen Studien eine differenzielle Methylierungsanalyse durchzuführen. Die GenomeStudio-Software enthält moderne Darstellungswerkzeuge, mit denen Forscher große Datenmengen in einem einzigen Diagramm (z. B. Heatmaps und andere Darstellungsarten) anzeigen können (Abbildung 5).

Hohe Kompatibilität mit anderer Software

Drittanbieterlösungen können die Intensitätsdateien aus der Verwendung des Infinium Mouse Methylation BeadChip auf dem iScan-System verwenden. Für große Studien sind viele Analysepakete frei verfügbar, die im Rahmen der Software-Architektur R für die Normalisierung und differenzielle Analyse von Methylierungsdaten geeignet sind.³

Breites Anwendungsspektrum

Der Infinium Mouse Methylation BeadChip ermöglicht ein umfassendes Anwendungsspektrum von der Grundlagenforschung bis hin zu präklinischen Studien. Er enthält über 200.000 modifizierte Mäusestränge, von denen zahlreiche zur Simulation von Erkrankungen beim Menschen generiert wurden. Der Infinium Mouse Methylation BeadChip eignet sich für epigenomweite Assoziationsstudien, die an Mäusen vorgenommen werden, da Änderungen der DNA-Methylierung aufgrund von Umweltexposition an Subjekten mit einheitlichem genetischen Hintergrund getestet werden können.

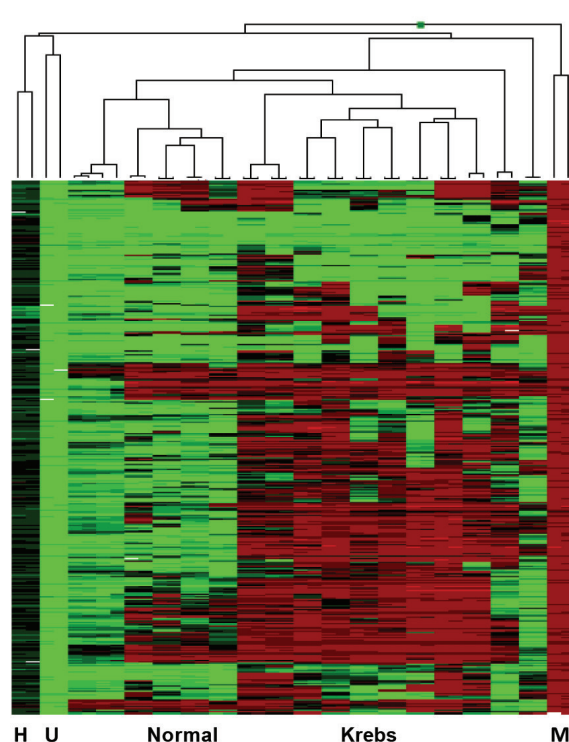


Abbildung 5: Integrierte Datenanalyse mit Illumina GenomeStudio-Software: Die GenomeStudio-Software unterstützt die Analyse der DNA-Methylierung plattformunabhängig. Die Daten werden in intuitiver Form dargestellt (Heatmap).

Zusätzlich kann der Infinium Mouse Methylation BeadChip in Zusammenhang mit patientenspezifischen Xenograft-Krebsmodellen zur Analyse von stromalen Merkmalen verwendet werden, die beim Menschen eine wichtige Rolle beim Wachstum und Fortschreiten von Tumoren spielen. Der Array kann auch in der präklinischen Forschung eingesetzt werden und ermöglicht dort, zu bestimmen, ob experimentelle Therapeutika die gewünschte Wirkung auf das Zielgewebe haben. In der genetischen Toxikologie lässt sich der Infinium Mouse Methylation BeadChip zur Erforschung von Wirkmechanismen von Drogen und Umweltgiften einsetzen. In der Entwicklungsbiologie unterstützt der Array die Erforschung der Bedeutung der DNA-Methylierung in unterschiedlichen Geweben während der Embryoentwicklung. Neben diesen Beispielen eignet sich der Infinium Mouse Methylation BeadChip für alle Anwendungen, in denen Forscher die DNA-Methylierung als Marker für die genetische Regulierung im murinen Genom verwenden möchten.

Zusammenfassung

Mit seiner einzigartigen Kombination aus umfassender, von Experten ausgewählter Coverage und hohem Probendurchsatz ist der Infinium Mouse Methylation BeadChip die ideale Lösung für genomweite DNA-Methylierungsstudien bei großen Probenmengen.

Weitere Informationen

Weitere Informationen über den Infinium Mouse Methylation BeadChip und andere Genotypisierungsprodukte und -dienste von Illumina finden Sie unter www.illumina.com/techniques/microarrays.html.

Bestellinformationen

Infinium Mouse Methylation BeadChip Kit ^a	Beschreibung	Katalog-Nr.
24 Proben	2 BeadChips und Reagenzien zur Analyse der DNA-Methylierung in 24 murinen DNA-Proben.	20041558
48 Proben	4 BeadChips und Reagenzien zur Analyse der DNA-Methylierung in 48 murinen DNA-Proben.	20041559
96 Proben	8 BeadChips und Reagenzien zur Analyse der DNA-Methylierung in 96 murinen DNA-Proben.	20041560

a. Jeder Infinium Mouse Methylation BeadChip kann 12 Proben gleichzeitig verarbeiten und über 285.000 Methylierungsstellen je Probe analysieren. FOXO BioScience™ ist eine Marke von FOXO BioScience, Inc. Der Infinium Mouse Methylation BeadChip wird im Rahmen einer Vereinbarung mit FOXO Bioscience, Inc. angeboten.

Quellen

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.