

Infinium™ MethylationEPIC v2.0 BeadChip

Detección de la metilación
en el genoma completo con
contenido de vanguardia

- Más de 935 000 CpG con nuevo contenido definido por expertos
- Datos de metilación del ADN de alta exactitud y precisión
- Análisis de alta productividad con un coste mínimo por muestra
- Compatible con ADN extraído de muestras de tejido FFPE

illumina®

Introducción

La metilación del ADN desempeña un papel importante en la regulación de la expresión genética. Hace tiempo que se sabe que los cambios en el estado de metilación del ADN celular están implicados en el envejecimiento, el desarrollo y diversas enfermedades.^{1,2} Durante más de una década, Illumina ha proporcionado a los investigadores herramientas robustas basadas en microarrays con el uso de la tecnología BeadArray™, para la medición cuantitativa de la metilación del ADN genómico. Hasta la fecha, la comunidad ha utilizado los BeadChip Infinium HumanMethylation450 y MethylationEPIC v1.0 con el fin de obtener datos para estudios de asociación del epigenoma completo (EWAS, epigenome-wide association studies). Estos BeadChip Infinium han permitido el descubrimiento y la aplicación de biomarcadores basados en la metilación en el ámbito de la investigación oncológica,^{3,4} de enfermedades genéticas,⁵ del envejecimiento⁶ y de epidemiología molecular.⁷ El BeadChip Infinium MethylationEPIC v2.0 (figura 1, tabla 1), basado en los mismos fundamentos químicos que Infinium, ofrece un contenido mejorado y seleccionado por expertos, para posibilitar más descubrimientos biológicos en una nueva era de investigación epigenética.

Contenido de vanguardia del genoma completo

El BeadChip Infinium MethylationEPIC v2.0 se ha desarrollado sobre la base del BeadChip Infinium MethylationEPIC v1.0, manteniendo una alta compatibilidad con versiones anteriores (figura 2), a la vez que incorpora contenido nuevo procedente de datos aportados por expertos y de evaluaciones epigenéticas a partir de cáncer humano y muestras celulares (tabla 2, tabla 3). En la nueva versión del BeadChip se han eliminado las sondas no funcionales que se suelen ignorar en los estudios de metilación del ADN debido a polimorfismos de nucleótido único (SNP, single nucleotide polymorphisms) subyacentes, hibridación cruzada y comportamiento de multimapeo⁸, dejando espacio para contenido más funcional identificado por la comunidad epigenética.

Se han diseñado más de 186 000 nuevas sondas dirigidas a potenciadores conocidos, superpotenciadores, dominios de unión a CTCF

y regiones abiertas de cromatina asociadas a tumores primarios identificados mediante los experimentos de ensayo de cromatina accesible con transposasa con secuenciación (ATAC-Seq) y secuenciación mediante inmunoprecipitación de cromatina (ChIP-Seq). Este nuevo contenido fue recomendado por destacados investigadores epigenéticos y publicaciones científicas recientes.⁹⁻¹⁴



Figura 1: Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip. Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip ofrece más de 935 000 CpG en regiones potenciadoras, cuerpos genéticos, promotores e islas de CpG.

Tabla 1: Información del producto

Característica	Descripción
Especie	Humana
N.º total de marcadores ^a	>935 000
N.º de muestras por BeadChip	8
Cantidad necesaria de aporte de muestra ADN	250 ng
Tipos de muestra especializados	Tejido FFPE
Proceso químico del ensayo	Infinium HD
Compatibilidad con instrumentos	Sistemas iScan y NextSeq 550

a. Sitios de metilación explorados.

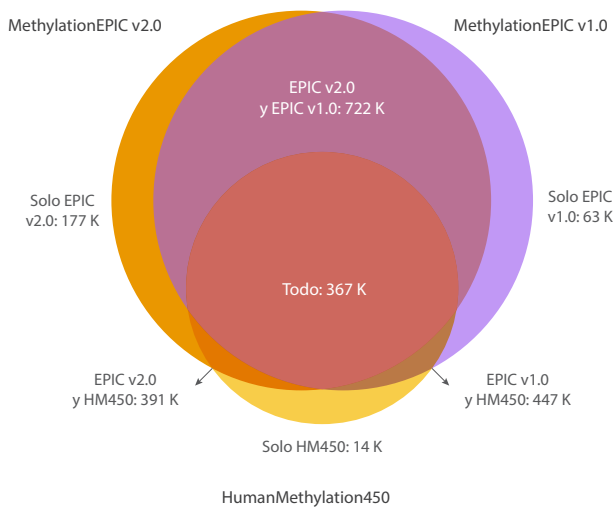


Figura 2: Alta compatibilidad con versiones de BeadChip anteriores. Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip se ha desarrollado sobre la base de las islas de CpG existentes de los BeadChip Infinium MethylationEPIC v1.0 y HumanMethylation450.

Otra mejora es la completa cobertura con sondas adicionales de las islas de CpG y los exones cuya cobertura era insuficiente con Infinium MethylationEPIC v1.0 BeadChip. Además, en la nueva versión se exploran más de 450 mutaciones causantes de cáncer, lo que convierte a Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip en una herramienta multiómica para estudios oncológicos.¹⁵ No obstante, los investigadores de cualquier área de estudio pueden beneficiarse del nuevo contenido de vanguardia para futuros descubrimientos epigenéticos.

Tabla 2: Cobertura densa de islas de CpG

Característica	N.º de regiones cubiertas	% de regiones cubiertas	Promedio de locus/región
Isla	25 381	91 %	5,4
Orilla norte	25 115	90 %	3,5
Orilla sur	24 870	89 %	3,6
Plataforma norte	21 719	78 %	2,1
Plataforma sur	21 677	78 %	2,1

Contenido heredado de los BeadChips Infinium MethylationEPIC v1.0 y v2.0:

- Islas de CpG
- Sitios metilados distintos de CpG (CHH) identificados en células madre humanas
- Potenciadores y cromatina abierta de ENCODE.
- Potenciadores de FANTOM5
- Sitios hipersensibles a ADNasa
- Regiones de promotores de ARNm
- Más del 85 % del contenido del BeadChip HumanMethylation450

El nuevo contenido del Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip incluye:

- Sitios con metilación diferencial identificados en muestras de tejido tumoral frente a tejido sano, para diversos cánceres
- Potenciadores y superpotenciadores identificados mediante ChIP-Seq en muestras de cáncer y de estirpe celular
- Regiones de cromatina de acceso diferencial identificadas en cánceres humanos primarios mediante ATAC-Seq
- Cobertura ampliada de islas de CpG
- Cobertura de exones potenciada para una detección más exacta de variantes en el número de copias (CNV, copy-number variants)
- Mutaciones habituales causantes de cáncer

Tabla 3: Cobertura de regiones genómicas de Infinium MethylationEPIC v2.0

Tipo de región	N.º de regiones exploradas	% de regiones cubiertas	Promedio de locus/región
RefSeq			
NM_TSS200 ^a	51 688	82 %	2,8
NM_TSS1500	59 981	96 %	5,6
NM_5' UTR	42 051	67 %	1,7
NM_1stExon	44 471	71 %	1,8
NM_3' UTR	39 407	63 %	1,3
NM_Exonic	207 398	28 %	0,5
NR_TSS200	12 706	68 %	2,0
NR_TSS1500	15 961	86 %	3,9
NR_1stExon	9 810	53 %	1,4
NR_Exonic	30 211	25 %	0,5
GenCode Basic v41			
TSS200	160 572	79 %	1,7
TSS1500	197 603	80 %	3,9
5' UTR	61 823	59 %	1,4
Primer exón	118 516	47 %	1,1
3' UTR	41 659	53 %	1,2
Exónicas	417 055	26 %	0,5
Potenciadores			
Sitios hipersensibles a ADNasa ^b	432 393	16 %	0,2
Potenciadores de FANTOM5 ^c	23 852	84 %	1,0
CisReg Site Evid 40-50 ^d	19 159	70 %	1,3
CisReg Site Evid 50-60	21 609	67 %	1,2
CisReg Site Evid 60-70	30 152	61 %	1,1
CisReg Site Evid 70-80	66 446	47 %	0,8
CisReg Site Evid > 80	153 712	19 %	0,3
Mutaciones causantes de cáncer			
Mutaciones causantes de cáncer ^e	473	81 %	0,8

a. Distancia en pares de bases del sitio de inicio de la transcripción (TSS).
 b. De ENCODE v5: 2 745 580 sitios hipersensibles a ADNasa en el genoma completo.
 c. Las regiones genómicas se identificaron como regiones potenciadoras por parte del proyecto FANTOM5.
 d. De ENCODE v5: 87 estudios con anotación de datos completos.
 e. De: Bailey MH, Tokheim C, Porta-Pardo E, et al. Comprehensive Characterization of Cancer Driver Genes and Mutations. Cell. 2018;173(2):371-385.e18.

Flujo de trabajo optimizado

Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip Kit permite un flujo de trabajo agilizado y fácil de usar que no precisa la agrupación ni la indexación de muestras. El BeadChip de 8 muestras se procesa siguiendo el ensayo Infinium HD Methylation Assay y se escanea en los sistemas iScan™ o NextSeq™ 550.

El ensayo de metilación Infinium se ha optimizado con nuevos métodos de conversión rápida con bisulfito, reduciendo así la duración global del ensayo (desde la extracción de ADN hasta los archivos de intensidad) de cuatro días a tres. La conversión con bisulfito, que se completa antes de la metilación de Infinium, ahora se puede completar en tres horas gracias a los kits de conversión rápida con bisulfito recomendados de terceros. Estos kits también son compatibles con la automatización, y reducen la variabilidad a la vez que aumentan la productividad del procesamiento de muestras.

Los Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip kits contienen todos los reactivos necesarios para la detección de metilación, excepto los kits de conversión con bisulfito, que están disponibles por separado.



Consulte la nota técnica sobre la [conversión automatizada con bisulfito para los Infinium Methylation BeadChip](#) para obtener más información.

Datos de metilación de alta exactitud y precisión

La química de array de Infinium emplea muchos duplicados de bolas para cada sitio de CpG explorado, cada una de las cuales cuenta con miles de sondas unidas. Como resultado, el ensayo de metilación Infinium aporta mediciones altamente precisas de la metilación. Esto se ha demostrado mediante experimentos internos con estirpes celulares de cáncer que muestran más de un 99 % de reproducibilidad entre duplicados técnicos ([figura 3A](#)). Asimismo, con el ensayo de metilación Infinium se consigue una alta sensibilidad analítica gracias a la detección de diferencias en valores beta de 0,2, con una tasa de falsos positivos inferior al 1 %.

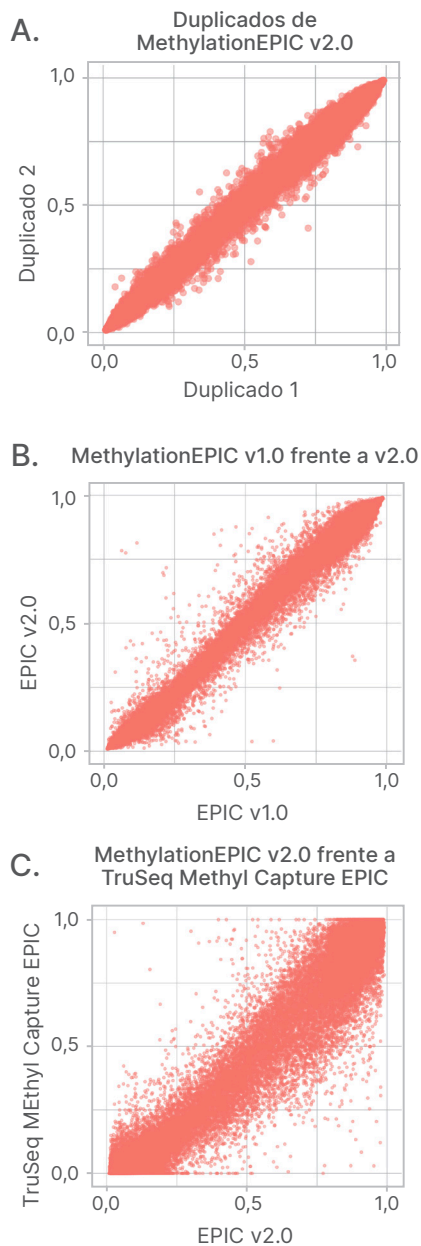


Figura 3: Los BeadChip Infinium MethylationEPIC v2.0 muestran una alta reproducibilidad, compatibilidad con versiones anteriores y correlación con los datos de secuenciación. (A) La comparación de valores beta de duplicados técnicos de muestras de HeLa en MethylationEPIC v2.0 muestra un valor R^2 superior al 99 %. (B) La comparación de valores beta para muestras de HeLa en contenido superpuesto entre MethylationEPIC v1.0 y v2.0 muestra un valor R^2 superior al 99 %. (C) Los datos de MethylationEPIC v2.0 muestran una alta correlación de llamadas de metilación ($R^2 > 96$ %) en comparación con los datos de secuenciación con bisulfito selectiva con una profundidad de secuenciación de 100x. Se elaboraron gráficos de concordancia utilizando los valores beta generados a partir del paquete de análisis de datos SeSAME.

Los experimentos también muestran una alta correlación entre los ensayos de superposición de los BeadChip Infinium MethylationEPIC v2.0 y v1.0 (figura 3B) y los datos de secuenciación de la metilación (figura 3C). Los estudios han demostrado que el grado de exactitud y precisión obtenido con los BeadChip Infinium tan solo se puede obtener con una alta profundidad de secuenciación de 100x o superior.¹⁶

CC integrado y agilizado

Los ensayos de metilación Infinium contienen controles dependientes e independientes de las muestras para un control de calidad (CC) simple e intuitivo. Estos controles indican la calidad de los datos como una función de los pasos del flujo de trabajo de Infinium, además de controles específicos de la muestra, como la eficiencia de la conversión con bisulfito y los controles negativos. Los controles se pueden evaluar en formato tabulado con el uso de BeadArray Controls Reporter, o visualmente mediante múltiples muestras con el software del módulo de metilación GenomeStudio™. Asimismo, la base de usuarios ha ideado métodos adicionales para evaluar la calidad de los datos utilizando soluciones de software de terceros, como SeSAME¹⁷ y minfi.¹⁸

Sencillo análisis de datos secundario

El uso generalizado del BeadChip de metilación Infinium desde hace más de una década ha permitido el desarrollo de paquetes en R fáciles de usar para el análisis de datos por parte de la comunidad de usuarios. Estos paquetes, como SeSAME y minfi, aportan los métodos informáticos más actualizados, para la normalización, el filtrado de sondas y la detección de la metilación diferencial. En los vídeos de instrucciones y las exhaustivas guías de usuario se explica el uso de estos paquetes de análisis de datos. Gracias a la naturaleza selectiva de la tecnología BeadArray, los datos de salida se pueden procesar fácilmente con una potencia de procesamiento informático mínima y almacenarse a un coste bajo o nulo.

Compatibilidad con muestras FFPE

Las muestras de tejido fijado en formol y embebido en parafina (FFPE, formalin-fixed, paraffin-embedded) muestran un rendimiento robusto con una versión modificada del ensayo Infinium Methylation HD Assay (tabla 4). Para muestras valiosas y para una integridad óptima de la muestra se recomienda utilizar los kits [Infinium FFPE QC](#) y [DNA Restoration](#).

Tabla 4: Datos robustos con muestras FFPE

BeadChip Infinium MethylationEPIC	Estándar	FFPE
Reproducibilidad (duplicados técnicos)	$r^2 \geq 98\%$	$r^2 \geq 98\%$
N.º de sitios detectados ^a	$\geq 96\%$	$\geq 90\%$

a. Basado en muestras no oncológicas, cantidades de entrada de muestras de ADN de alta calidad recomendadas según confirmación de PicoGreen y conforme a todas las demás recomendaciones de Illumina según las guías de usuario.

Resumen

Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip ofrece una herramienta accesible de análisis de la metilación del genoma completo, con contenido de vanguardia y una funcionalidad de alta productividad, lo que lo convierte en una solución ideal para estudios de epigenética de cualquier tamaño.

Información adicional

Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip, illumina.com/products/by-type/microarray-kits/infinium-methylation-epic.html

Soporte del Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip support.illumina.com/array/array_kits/infinium-methylationepic-beadchip-kit.html

Methylation Array Analysis, illumina.com/techniques/microarrays/methylation-arrays.html

Consejos para el análisis de datos del array de metilación, illumina.com/techniques/microarrays/methylation-arrays/methylation-array-data-analysis-tips.html

Conversión con bisulfito rápida y automatizada, illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/automated-bisulfite-infinium-methylation-tech-note-m-gl-00144/automated-bisulfite-Infinium-methylation-tech-note-m-gl-00144.pdf

Epigenética oncológica, illumina.com/areas-of-interest/cancer/research/cancer-epigenetics.html

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip Kit (8 samples)	20087706
Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip Kit (16 samples)	20087707
Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip Kit (32 samples)	20087708
Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip Kit (96 samples)	20087709

Cada Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip puede procesar ocho muestras en paralelo y analizar más de 935 000 sitios de metilación por muestra.

Bibliografía

1. Bibikova M, Lin Z, Zhou L, et al. [High-throughput DNA methylation profiling using universal bead arrays.](#) *Genome Res.* 2006;16(3):383-393.
2. Fan JB, Oliphant A, Shen R, et al. [Highly parallel SNP genotyping.](#) *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology.* 2003;68:69-78.
3. Capper D, Jones DTW, Sill M, et al. [DNA methylation-based classification of central nervous system tumours.](#) *Nature.* 2018;555(7697):469-474. doi: 10.1038/nature26000.
4. Sengos AP, Aldape K. [DNA Methylation Profiling: An Emerging Paradigm for Cancer Diagnosis.](#) *Annu Rev Pathol.* 2022;17:295-321. doi: 10.1146/annurev-pathol-042220-022304.
5. Sadikovic B, Levy MA, Kerkhof J, et al. [Clinical epigenomics: genome-wide DNA methylation analysis for the diagnosis of Mendelian disorders.](#) *Genet Med.* 2021;23(6):1065-1074. doi: 10.1038/s41436-020-01096-4.
6. Horvath S, Raj K. [DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing.](#) *Nat Rev Genet.* 2018;19(6):371-384. doi: 10.1038/s41576-018-0004-3.
7. Nwanaji-Enwerem JC, Colicino E. [DNA Methylation-Based Biomarkers of Environmental Exposures for Human Population Studies.](#) *Curr Environ Health Rep.* 2020;7(2):121-128. doi: 10.1007/s40572-020-00269-2.
8. Zhou W, Laird PW, Shen H. [Comprehensive characterization, annotation and innovative use of Infinium DNA methylation BeadChip probes.](#) *Nucleic Acids Res.* 2017; 45(4):e22. doi: 10.1093/nar/gkw967.
9. Corces MR, Granja JM, Shams S, et al. [The chromatin accessibility landscape of primary human cancers.](#) *Science.* 2018;362(6413):eaav1898. doi:10.1126/science.aav1898.
10. Chen H, Li C, Peng X, et al. [A Pan-Cancer Analysis of Enhancer Expression in Nearly 9000 Patient Samples.](#) *Cell.* 2018;173(2):386-399. doi: 10.1016/j.cell.2018.03.027.
11. Lovén J, Hoke HA, Lin CY, et al. [Selective inhibition of tumor oncogenes by disruption of super-enhancers.](#) *Cell.* 2013;153(2):320-334. doi:10.1016/j.cell.2013.03.036.
12. Hnisz D, Abraham BJ, Lee TI, et al. [Super-enhancers in the control of cell identity and disease.](#) *Cell.* 2013;155(4):934-47. doi: 10.1016/j.cell.2013.09.053.
13. Jiang Y, Qian F, Bai X, et al. [SEdb: a comprehensive human super-enhancer database.](#) *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D235-D243. doi: 10.1093/nar/gky1025.
14. Chapuy B, McKeown MR, Lin CY, et al. [Discovery and characterization of super-enhancer-associated dependencies in diffuse large B cell lymphoma.](#) *Cancer Cell.* 2013;24(6):777-790. doi:10.1016/j.ccr.2013.11.003.
15. Bailey MH, Tokheim C, Porta-pardo E, et al. [Comprehensive Characterization of Cancer Driver Genes and Mutations.](#) *Cell.* 2018;173(2):371-385. doi: 10.1016/j.cell.2018.02.060.
16. Zhou L, Ng HK, Drautz-Moses DI, et al. [Systematic evaluation of library preparation methods and sequencing platforms for high-throughput whole genome bisulfite sequencing.](#) *Sci Rep.* 2019;9(1):10383. doi: 10.1038/s41598-019-46875-5.
17. 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. doi: 10.1093/nar/gky691.
18. Aryee MJ, Jaffe AE, Corrado-Bravo H, et al. [Minfi: a flexible and comprehensive Bioconductor package for the analysis of Infinium DNA methylation microarrays.](#) *Bioinformatics.* 2014;30(10): 1363-1369. doi: 10.1093/bioinformatics/btu049.



1 800 809 4566 (llamada gratuita, EE. UU.) | tel.: +1 858 202 4566
 techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2022 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
 M-GL-01156 ESP v1.0