

Infinium™ Methylation Screening Array

集団エピゲノミクス研究のための
ハイスループットメチル化解析

- よく見られるヒト形質、疾患表現型、暴露、老化などに関連する27万の固有のメチル化部位を重点的にカバー
- 1枚のBeadChipで48サンプル分に対応、iScan™システム1台で年間最大60万サンプルをスケーラブルに処理
- 98%を超えるサンプル間再現性を備えた信頼度の高いメチル化データ

illumina®

メチル化研究のためのハイスループットアレイ

過去10年にわたり、正確でスケーラブルなInfinium Methylation BeadChipによってエピゲノムワイド関連解析 (EWAS) が可能になり、ヒトの健康と疾患におけるエピジェネティックなメカニズムの役割に関する画期的な発見が促進されました。¹ 最近では、Generation Scotland^{2, 3} およびMillion Veterans Program^{4, 5} のような大規模な集団ゲノムスイニシアチブにおいて、集団の健康とその決定要因についての洞察を得るために、広範なメチル化データセットが生成されています。EWAS分野が進化するにつれて、より大規模なメチル化プロジェクトを実施するために、よりスケーラブルなツールが必要とされています。

Infinium Methylation Screening Arrayは、専門家が選択した既知および予測されるエピジェネティック関連性をカバーするコンテンツにより、集団サイズのコホートの大規模なエピジェネティック解

析に対応するように設計されています。本アレイは、48サンプルEX Methylationプラットフォーム上に構築された、これまでで最もスケーラブルで手頃な価格のInfiniumメチル化アレイとなっており、信頼度の高い正確なメチル化データとシンプルな解析を提供します (表1, 図1)。

集団健康EWASのための専門家によるコンテンツの選択

Infinium Methylation Screening Arrayは、細胞のアイデンティティ、非悪性疾患の表現型、環境暴露など、さまざまな一般的な細胞および生物の形質に関連するCpG領域にフォーカスした27万のメチル化部位を特徴としています。BeadChipコンテンツは、Infiniumメチル化研究、機能的ゲノムシークエンス研究、最新のゲノムデータベースの組み合わせから、公開された形質との強力な関連があるも

表1: Infiniumメチル化アレイの仕様

	Infinium Methylation Screening Array 集団健康研究用に的を絞ったメチル化スクリーニング	Infinium MethylationEPIC v2.0 ゲノム全体をカバーする幅広い探索用バックボーン
推奨アプリケーション	<ul style="list-style-type: none"> ありふれた疾患の研究 (がん以外) 環境疫学 集団ゲノミクス 消費者ゲノミクス 	<ul style="list-style-type: none"> がん研究 希少疾患研究
コンテンツの重点内容	<ul style="list-style-type: none"> 既知のありふれた疾患特性の関連性 既知の環境暴露の関連性 細胞特異的なメチル化 中程度メチル化 高MAF SNPを測定するマルチオミクス機能 	<ul style="list-style-type: none"> 全メチロームをカバー (RefSeq遺伝子の99%超) CNV検出 MGMT遺伝子を包括的にカバー 公開されているがん分類子との互換性 公開されている希少疾患分類子との互換性 がんドライバーの変異
固有メチル化部位の合計数	27万	93万
BeadChipあたりのサンプル数	48	8
DNAインプット必要量	50 ng	250 ng
アクセイケミストリー	Infinium EX Methylation	Infinium HD Methylation
システム互換性	iScanシステム	iScanシステム NextSeq™ 550システム
iScanシステムの最大サンプルスループット ^a	16,128サンプル/週	3,024サンプル/週
自動分注機	Infinium Automated Pipetting System with ILASS (必須)	Infinium Automated Pipetting System with IAC (推奨、必須ではない)

a. 概算値、スキャン時間、最大スループットは、ラボやシステム構成によって異なります。ここにリストされているサンプルスループットは、AutoLoader 2.xの自動アレイローディングを統合することで達成されます。
IAC: Illumina Automation Control. ILASS: Illumina Lab Automation Software Solution. MAF: マイナーアリル頻度

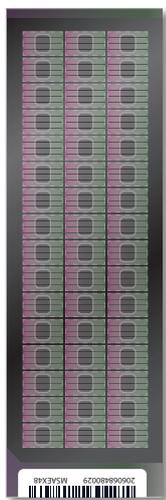


図1: Infinium Methylation Screening Array: BeadChipは、BeadChipあたり48サンプルの専門家が選択した27万のメチル化部位を効率的かつ正確に解析する性能があります。

のが選択されました。Infinium Methylation Screening Arrayの焦点を絞った設計とより高いサンプルスループットにより、DNAメチル化スクリーニングを大規模な集団健康プロジェクトに適用して、疾患ターゲットを発見することができます。

Infiniumメチル化アレイからの既知の関連性

Infinium Methylation Screening Array上の座位の約50%は、CpGメチル化とさまざまな形質または疾患との関連性を見つけるために、公開データ、科学文献、およびInfiniumメチル化アレイの解析から同定されました(図2および表2)。1,000件を超えるEWAS研究が、サンプルサイズ、統計的堅牢性、科学的インパクトに基づいてキュレーションされ、選抜されました。統計的有意性と効果量が最も高いプローブが優先順位付けされ、形質や疾患全体での代表性が最大化されるように選択のバランスがとられました。選択されたコンテンツは、心血管、代謝、神経変性/精神医学、自己免疫、呼吸器、生殖、腎臓、老化、遺伝、環境曝露、感染関連の形質や疾患を含む幅広い生物学的カテゴリーに関連しています。EWAS研究で確立された細胞型推定および表現型予測の予測因子との下位互換性を確保するために、過去および既存のInfinium BeadChipプラットフォームからエピジェネティッククロックおよび細胞デコンボリューションパネルも引き継いでいます(表3および図3)。

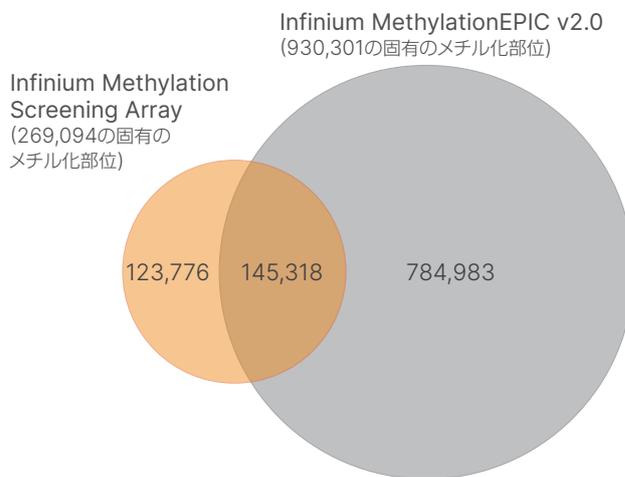


図2: Methylation Screening ArrayとMethylationEPIC v2.0 BeadChipの固有のメチル化部位の重複。

表2: Infinium Methylation Screening ArrayおよびInfinium MethylationEPICv2.0 BeadChipコンテンツの比較

	Infinium Methylation Screening Array	Infinium MethylationEPIC v2.0
固有部位の合計数	269,094	930,301
CpG	262,470	926,849
Infiniumメチル化アレイから	161,598	-
シーケンス研究およびデータベースから	100,872	-
CpH	2,776	2,914
Infiniumメチル化アレイから	308	-
シーケンス研究およびデータベースから	2,468	-
SNP rsID	3,848	538
Infiniumメチル化アレイから	64	-
シーケンス研究およびデータベースから	3,784	-

表3: Infinium Methylation Screening Arrayで過去に検証された形質関連コンテンツ

形質カテゴリー	ターゲットの形質と関連するプローブ数
発生/老化	102,533
環境暴露	44,043
炎症/自己免疫疾患	41,894
祖先	31,843
性別	23,806
感染症	14,844
代謝性疾患	13,739
まれな遺伝性疾患	13,429
神経疾患/神経発達疾患	8,874
体の特徴(体の形態)	8,109
精神障害	7,280
心血管疾患	7,007
生殖学/健康	6,999
神経変性疾患	4,733
肺/呼吸器疾患	1,748
腎疾患	982



図3: Infinium Methylation Screening Array上のマーカーには、さまざまな形質タイプにわたる既知の形質関連CpGが高度に濃縮されています: Methylation Screening Array (MSA) 上のマーカーは形質関連の根拠に基づいて選択されており、Infinium Methylation EPIC v2.0 (EPICv2) と比べて形質関連のコンテンツが豊富であることが示されています。

WGBSからの新たなコンテンツ

Infinium Methylation Screening Arrayのバックボーンには、公開されているバルクおよびシングルセルの全ゲノムバイサルファイトシーケンシング (WGBS) データセット⁶ の包括的な解析から選択されたコンテンツも含まれており、このデータセットには15,000を超える細胞で構成される脳のシングルセルメチロームアトラス^{7,8} およびソートされたヒト細胞タイプの全組織メチロームアトラスなどが含まれます。⁹ これらの専門家が設計したプローブは、細胞型、遺伝子発現、クロマチンアクセシビリティ、単一对立遺伝子のメチル化、および個体間のメチル化バリエーションにDNAメチル化が関連している座位をターゲットとしています。ENCODE¹⁰ 候補のシス位制御エレメントのアンテーションおよび部分的にメチル化されたドメインからのゲノム領域もターゲットとされました。制御性および細胞特異的なクロマチン状態に比較的重点を置き、新しいCpGのメチル化をプロファイルするための新規プローブが合計で約10万作成されました。

CpG以上の情報: マルチオミクス機能

Infinium Methylation Screening Arrayは、CpGメチル化以外のマルチオミクス研究にも対応します。図2は2,776の非CpGメチル化部位 (メチル化CpH部位、HはA、T、またはCを示します) のカバー数を示しています。CpHメチル化プローブは、CpHメチル化が転写制御と発生に関与している遺伝子本体に非常に豊富に含まれています。¹¹

また、Infinium Methylation Screening Arrayでは、ゲノムデータベースから選択されたマイナーアレル頻度の高い3,848の1塩基変異多型 (SNP) も調べることができるため、多様な集団にわたる疾患メカニズムに対する独自のマルチオーム洞察も提供します。さらに、タイプI CpGプローブを活用することで、1万を超えるマイナーアレル頻度の高いSNPが間接的にターゲットとなります。これらのメチル化SNPデュアルプローブを使用すると、メチル化レベルと遺伝的バリエーション

ンの両方を調べることができ、潜在的なメチル化量の形質遺伝子座 (meQTL) などのメチル化レベルの発見と遺伝的決定が容易になります。* SNPを直接的または間接的にターゲットとするプローブの詳細については、[製品サポートページ](#)からアクセスできます。

信頼度の高いメチル化データ

Infiniumアレイケミストリーでは、解析対象の各CpG部位に対して多数のビーズレプリケートが使われ、それぞれのビーズに数千のプローブが結合しています。その結果、Infiniumメチル化アッセイは、均一なカバレッジの100×以上のシーケンス深度に相当する高精度のメチル化測定を提供します。¹³ これは、Coriellサンプルと血液サンプルを用いたInfinium Methylation Screening Arrayの社内検証によって証明されており、テクニカルレプリケート間で98%以上の再現性が実証されています (表4および図4)。

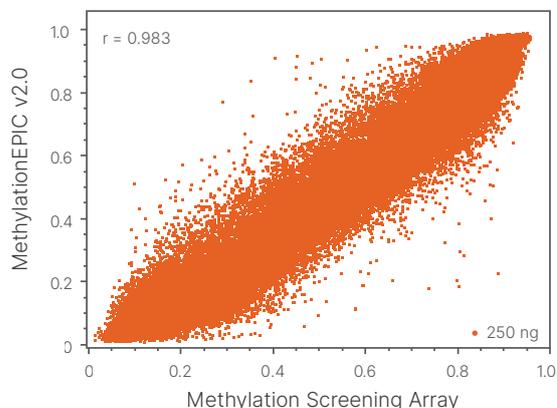
さらに、Infinium Methylation Screening ArrayとInfinium MethylationEPICv2.0 BeadChipの間で重複するプローブは、96%を超えるサンプル間の再現性を示し、EX Methylationアッセイのロバストな性能を実証しています。

表4：性能と再現性の仕様^a

	仕様	
DNAインプット量	50 ng	250 ng
サンプル間再現性	$r \geq 0.98$	$r \geq 0.98$
検出された部位数	> 96%	> 96%

a. GenomeStudio Methylation Moduleを使用。

A. MethylationEPICv2.0 対 Methylation Screening Array



B. Methylation Screening Arrayレプリケート

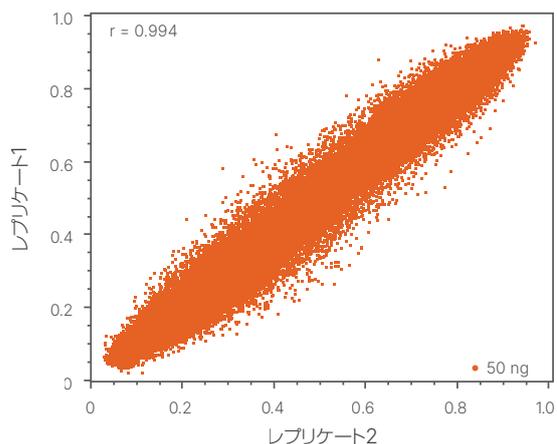


図4：再現性の高いメチル化結果：(A)メチル化の結果は、Infinium Methylation Screening ArrayとInfinium MethylationEPIC v2.0 BeadChipの間で高い相関を認めます。(B)メチル化の結果は、Infinium Methylation Screening Arrayで解析されたレプリケートサンプル間で優れた再現性を示しています。

EX Methylationワークフローによるスケーラビリティの向上

EX Methylationを利用したInfinium Methylation Screening Arrayは、これまでで最高のスループットのメチル化アッセイです。48サンプルのBeadChipフォーマットと自動分注機により、サンプルあたりの処理コストが削減され、他のプラットフォームと比較して集団レベルのメチル化プロジェクトに優れたスケーラビリティをもたらします。3日間のInfinium EX Methylationワークフローは、高速バ

* Bioconductor SeSAMeツールを使用して、メチル化SNPデュアルプローブを含むInfinium Methylation Arrayを解析できます。

イソルファイト変換、自動化BeadChip処理ステップ、およびハイスループットスキャンを特徴としています (図5)。また、最新のワークフローにより、Infinium Methylation Screening Arrayは、他のアレイ形式や技術と比較して、大規模メチル化研究に優れた選択肢となります (図6)。

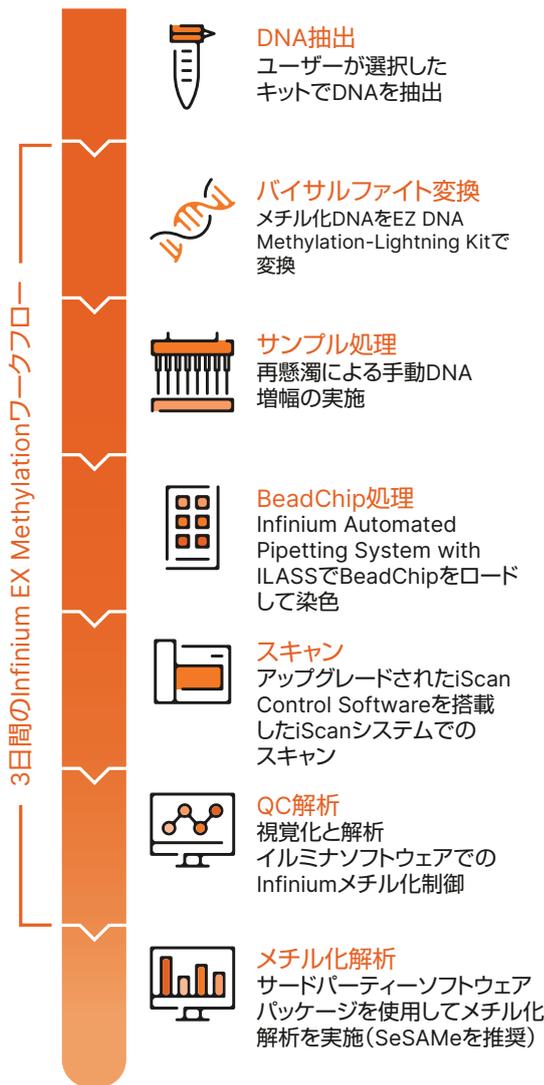


図5: Infinium Methylation Screening Arrayワークフロー: このワークフローでは、サンプル調製からメチル化データ解析まで3日間のターンアラウンドタイムを提供します。

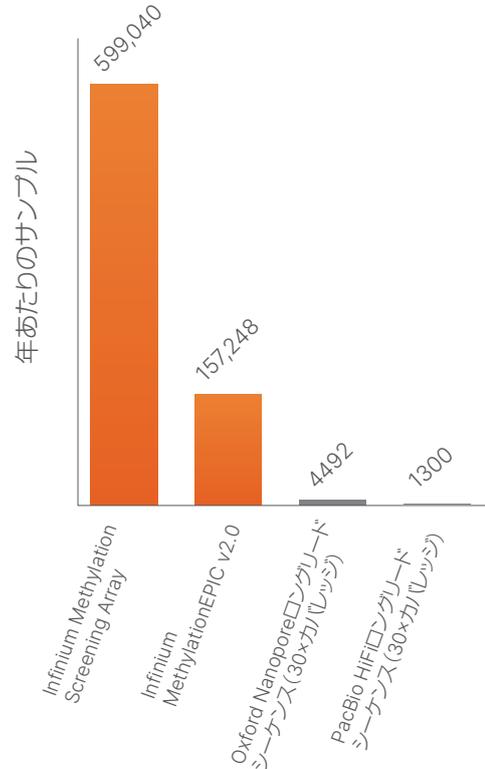


図6: 一般的な手法によるメチル化解析の年間サンプルスループットの比較: Infinium Methylation Screening Arrayは、他のInfinium BeadChip形式やメチル化シーケンス手法と比較して、優れたサンプルスループットを実現する可能性を提供します。¹⁴

シンプルなQCおよびデータ解析

イルミナは、Infinium Methylation BeadChipのクオリティコントロール解析用のソフトウェアツールを提供しています。このソフトウェアは、Infiniumメチル化アッセイの一部として内蔵されたコントロールを使用して、視覚化と合否ステータスのシンプルな判定を提供します。詳細については、[メチル化アレイデータ解析ページ](#)をご覧ください。

イルミナでは、下流のメチル化データ解析には、サードパーティーの使いやすいBioconductorパッケージを推奨しています。例えば、[SeSAMe](#)はシグナルの前処理、コール検出、クオリティコントロール、差別的メチル化モデリング、視覚化、推論、機能エンリッチメント解析、低インプットデータ解析、および集団特異的解析を提供します。SeSAMeは、Infinium Methylation Screening Array上の新規メチル化SNPデュアルプローブの解釈も可能にします。

まとめ

Infinium Methylation Screening Arrayは、ありふれた疾患、暴露、老化、細胞型、SNPなどとのメチル化との大規模関連解析のために、的を絞ったコンテンツを提供します。専門家によるコンテンツ選択とEX Methylationプラットフォームによるサンプル処理の改善により、Infinium Methylation Screening Arrayは集団エピゲノミクス研究の新たな波を推進する費用対効果の高いツールとなっています。

詳細はこちら

[Infinium Methylation Screening Array](#)

[Infinium Methylation Screening Arrayサポート](#)

[メチル化アレイデータ解析](#)

製品情報

製品	カタログ番号
Infinium Methylation Screening Array-48 Kit (48 samples)	20112611
Infinium Methylation Screening Array-48 Kit (96 samples)	20112612
Infinium Methylation Screening Array-48 Kit (1,152 samples)	20112613

参考文献

- Wei S, Tao J, Xu J, et al. [Ten Years of EWAS](#). *Adv Sci* (Weinh). 2021;8(20):e2100727. doi:10.1002/advs.202100727
- Smith BH, Campbell A, Linksted P, et al. [Cohort Profile: Generation Scotland: Scottish Family Health Study \(GS:SFHS\). The study, its participants and their potential for genetic research on health and illness](#). *Int J Epidemiol*. 2013;42(3):689-700. doi:10.1093/ije/dys084
- Seeboth A, McCartney DL, Wang Y, et al. [DNA methylation outlier burden, health, and ageing in Generation Scotland and the Lothian Birth Cohorts of 1921 and 1936](#). *Clin Epigenetics*. 2020;12(1):49. Published 2020 Mar 26. doi:10.1186/s13148-020-00838-0
- US Department of Veterans Affairs. Million Veterans Program. <https://www.mvp.va.gov/pwa/>. Published January 31, 2024. Accessed January 31, 2024.
- Hunter-Zinck H, Shi Y, Li M, et al. [Genotyping Array Design and Data Quality Control in the Million Veteran Program](#). *Am J Hum Genet*. 2020;106(4):535-548. doi:10.1016/j.ajhg.2020.03.004
- Lee DS, Luo C, Zhou J, et al. [Simultaneous profiling of 3D genome structure and DNA methylation in single human cells](#). *Nat Methods*. 2019;16(10):999-1006. doi:10.1038/s41592-019-0547-z
- Luo C, Keown CL, Kurihara L, et al. [Single-cell methylomes identify neuronal subtypes and regulatory elements in mammalian cortex](#). *Science*. 2017;357(6351):600-604. doi:10.1126/science.aan3351
- Luo C, Liu H, Xie F, et al. [Single nucleus multi-omics identifies human cortical cell regulatory genome diversity](#). *Cell Genom*. 2022;2(3):100107. doi:10.1016/j.xgen.2022.100107
- Martens JH, Stunnenberg HG. [BLUEPRINT: mapping human blood cell epigenomes](#). *Haematologica*. 2013;98(10):1487-1489. doi:10.3324/haematol.2013.094243
- ENCODE Project Consortium. [An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome](#). *Nature*. 2012;489(7414):57-74. doi:10.1038/nature11247
- Jeong H, Mendizabal I, Berto S, et al. [Evolution of DNA methylation in the human brain](#). *Nat Commun*. 2021;12(1):2021. Published 2021 Apr 1. doi:10.1038/s41467-021-21917-7
- Nestor CE, Ottaviano R, Reddington J, et al. [Tissue type is a major modifier of the 5-hydroxymethylcytosine content of human genes](#). *Genome Res*. 2012;22(3):467-477. doi:10.1101/gr.126417.111
- 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. Published 2019 Jul 17. doi:10.1038/s41598-019-46875-5w
- Data on file. Illumina, Inc. 2024

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

© 2024 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。

illumina®