



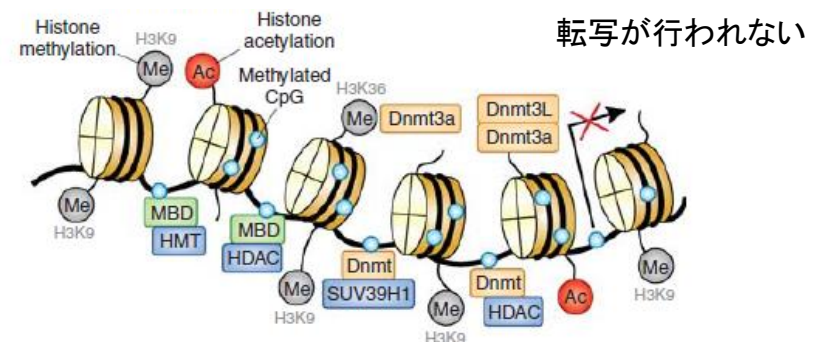
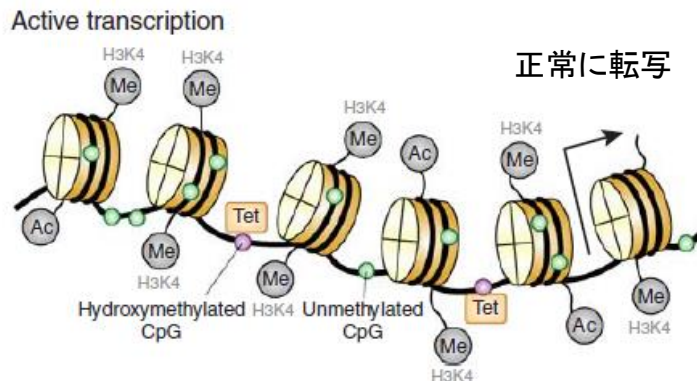
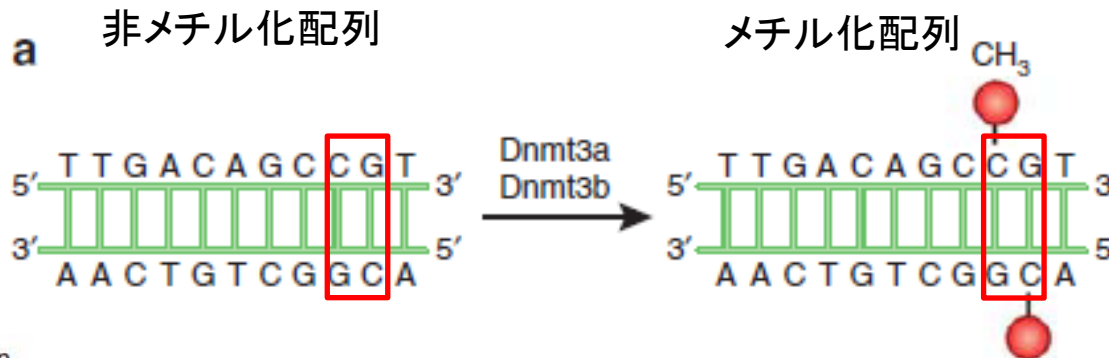
MassARRAY® Systemを用いた メチル化解析

2022/7/4
株式会社ベリタス

研究用試薬

DNAのメチル化とは

- おもにCpGアイランド(CG配列が多い領域)にメチル基が付加する反応
- 塩基配列の変化を伴わず遺伝子発現を調節する、エピジェネティックな機構の一つ



Moore et al., Neuropsychopharmacology Reviews, 2013

DNAのメチル化解析のアプリケーション

アプリケーション

- 疾病の臨床診断におけるバイオマーカー
- 発がん機構やがんの進行との関連性研究
- 発生初期における分化との関連研究
- 前世代が受けた環境要因に影響される遺伝的特性の研究
- 哺乳類の進化の解明

解析方法

- 個別の遺伝子領域に注目した解析
 - qPCR装置、NGSを用いたバイサルファイトシーケンス法
 - メチル化特異的PCR(MSP)法など
- ゲノム網羅的な解析
 - 主にNGS、マイクロアレイを用いたスクリーニング

1度に検出可能な遺伝子
/CpGサイト数が少ない

データ処理が煩雑



MassARRAY Systemによるメチル化解析

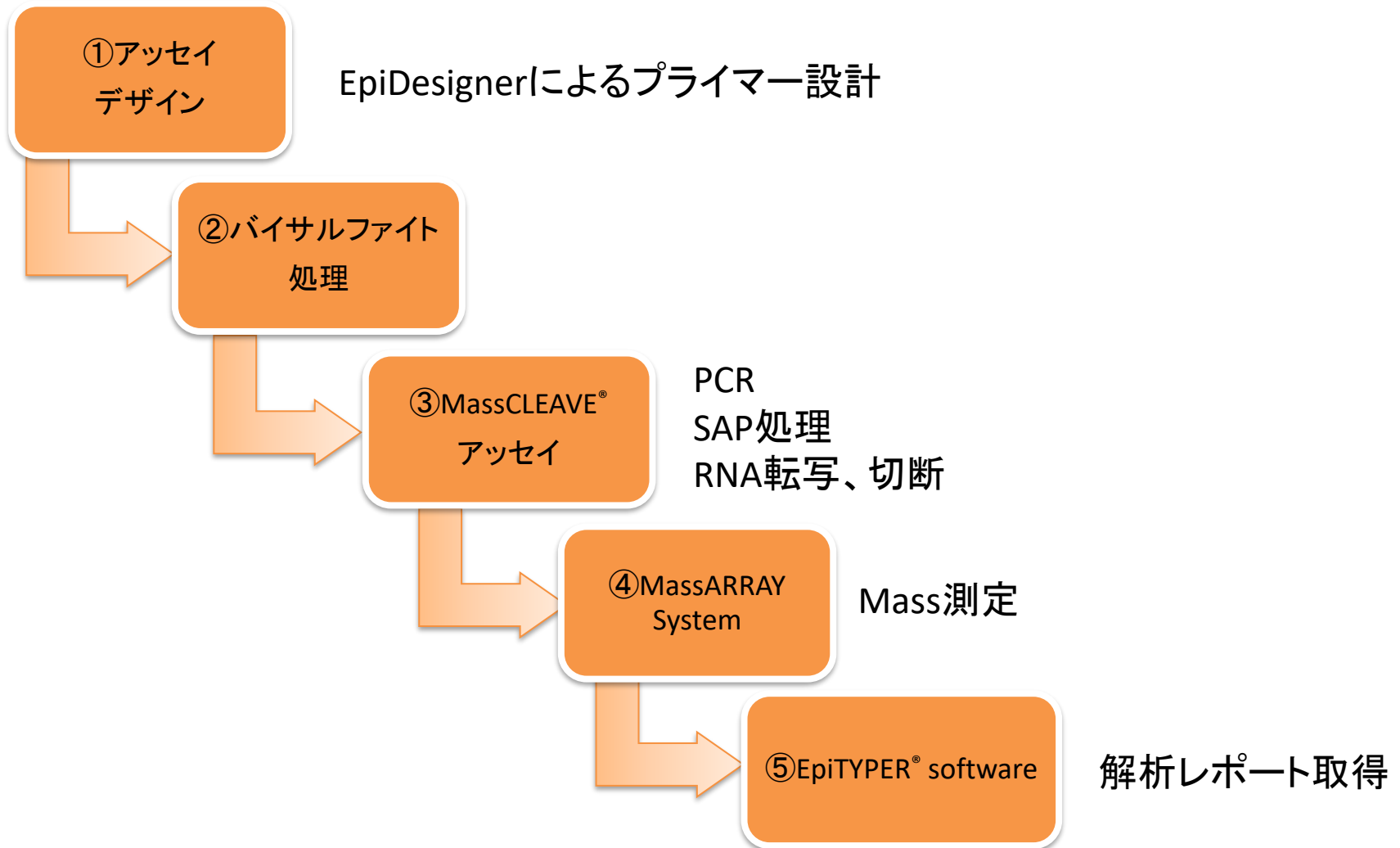
MassARRAY Systemを利用したキメリズム解析

- MALDI-TOFベースの解析
- 医療機器 (class I) 取得済、検査ラボ等に導入済
- 1反応で～500 bpの領域を解析
- 10～100のCpG領域を検出
- 複数領域、複数検体の同時解析も可能
- FFPEサンプルからも解析可能
- ダイナミックレンジ 5～95% の定量性
- 専用ソフトウェアによるレポート取得

Agena[®]
BIOSCIENCE



DNAメチル化解析のワークフロー

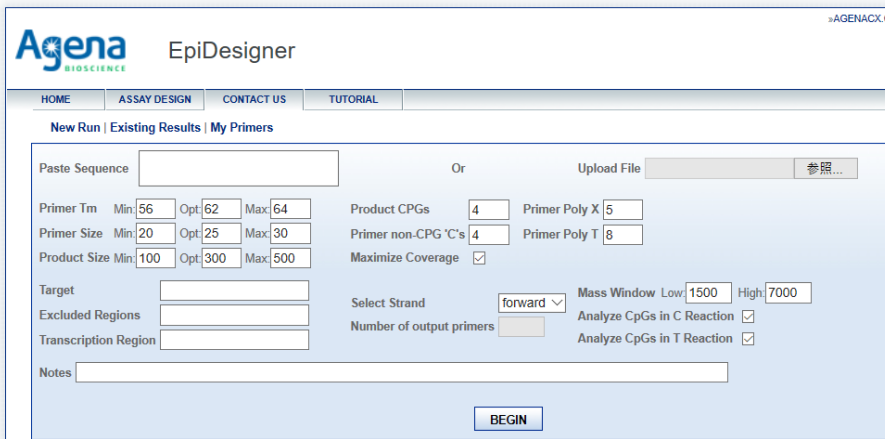


①アッセイデザイン

- メチル化サイト特異的なプライマー設計は不要
- オンラインツールEpiDesignerで候補プライマーを簡単に設計可能

- 解析したい塩基配列を入力
- 検出サイト数や増幅産物長を設定可能

- 候補プライマー情報を一覧表示



Agena BIOSCIENCE EpiDesigner

HOME | ASSAY DESIGN | CONTACT US | TUTORIAL

New Run | Existing Results | My Primers

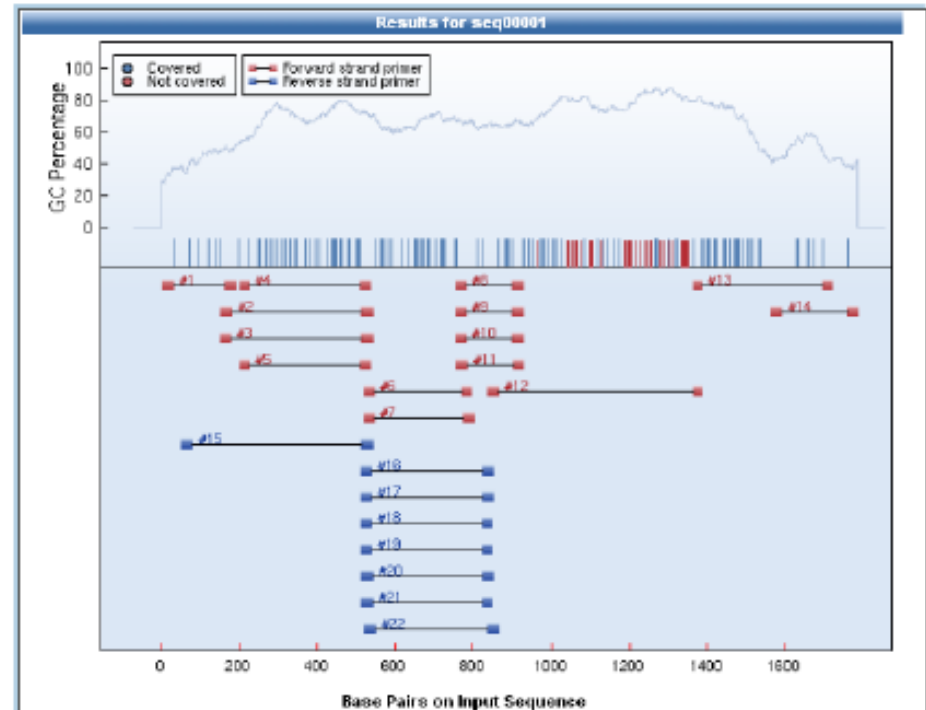
Paste Sequence Or Upload File 参照...

Primer Tm Min: 56 Opt: 62 Max: 64 Product CpGs 4 Primer Poly X 5
 Primer Size Min: 20 Opt: 25 Max: 30 Primer non-CPG 'C's 4 Primer Poly T 8
 Product Size Min: 100 Opt: 300 Max: 500 Maximize Coverage

Target Mass Window Low: 1500 High: 7000
 Excluded Regions Select Strand: forward
 Transcription Region Number of output primers Analyze CpGs in C Reaction
 Analyze CpGs in T Reaction

Notes

BEGIN



②バイサルファイト処理

Zymo Research社キットを使ったバイサルファイト処理

○Agenaオリジナルの条件を使用: 処理時間を約5時間に短縮

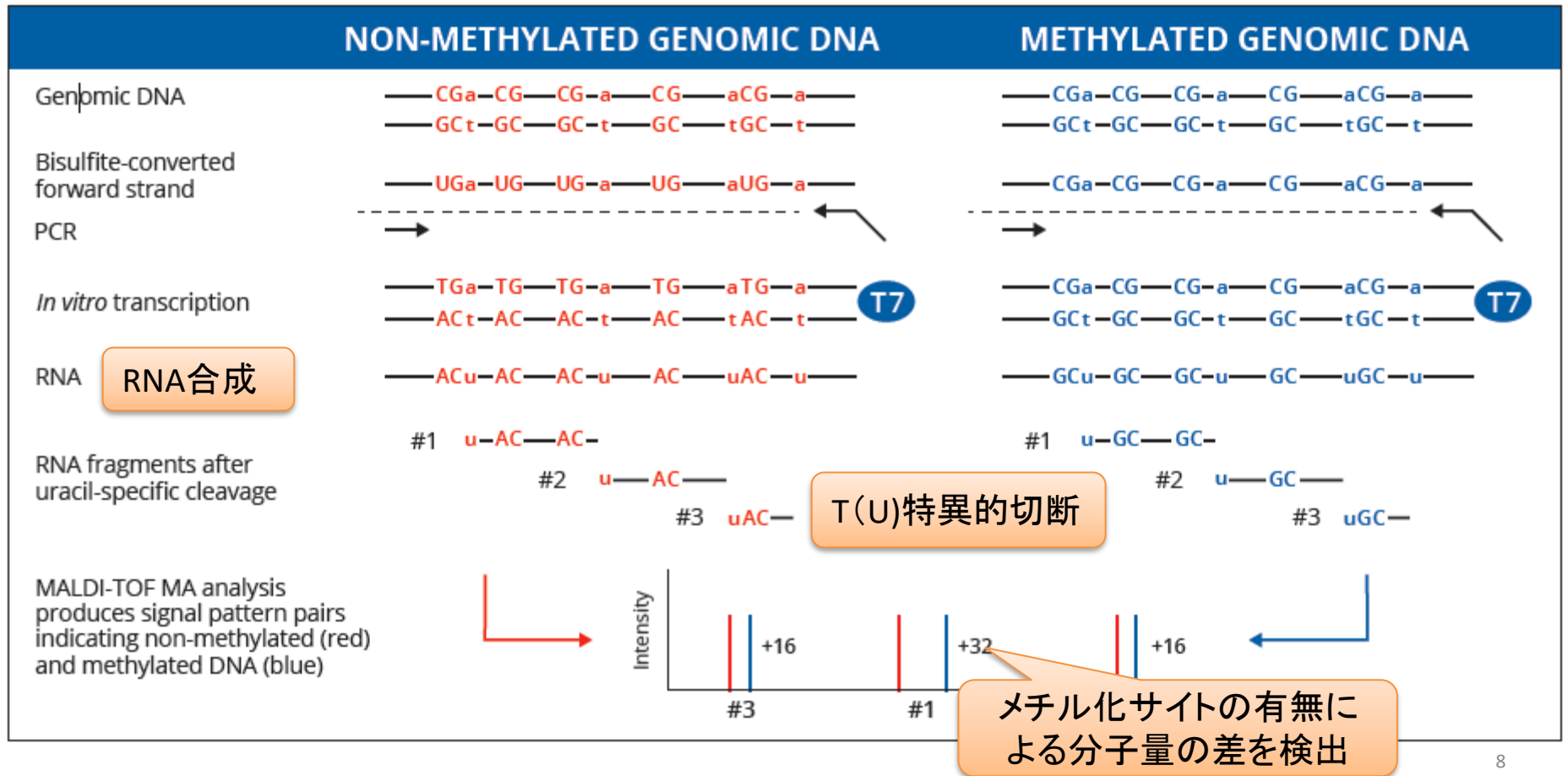
○必要DNA量は500 ng~ (推奨量は1 μ g)



Zymo Research
(<https://www.zymoresearch.com>)

③ MassCLEAVE アッセイ

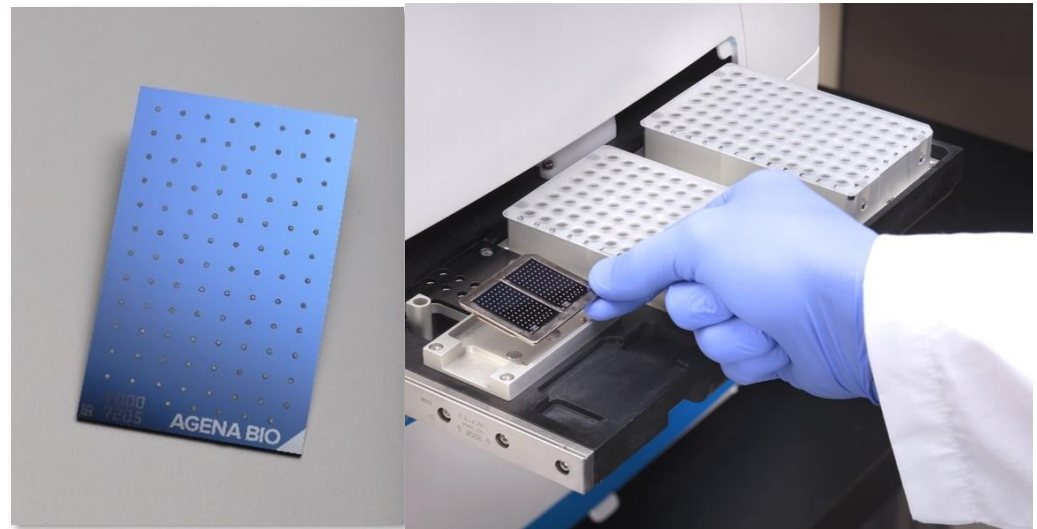
- バイサルファイト処理したDNAからPCR増幅
→ RNAフラグメントを生成、質量分析



④ MassARRAY[®] Systemを用いた解析



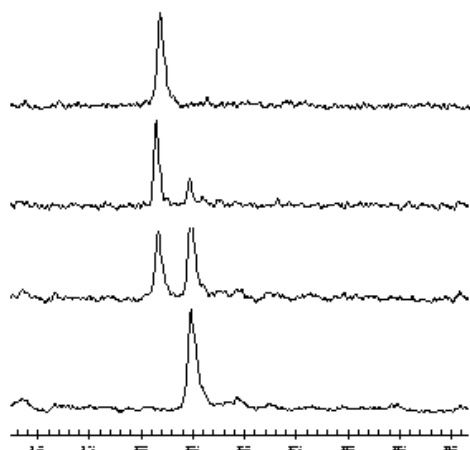
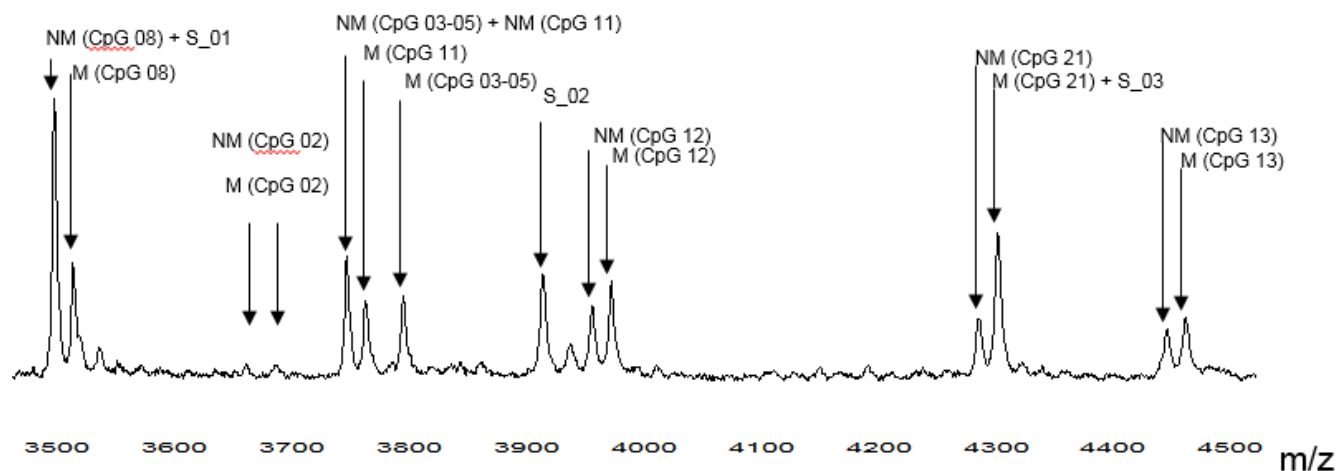
96 or 384 wellのSpectroCHIP[®]を用いた解析
＝複数領域、複数検体の同時解析
(1ランで2チップまで解析可能)



バイサルファイト処理されたDNAからMassARRAY[®] Systemを用いた解析データ取得までは約8時間

分析結果の例

- メチル化の割合によりピークパターンが変化



0% Methylated Template

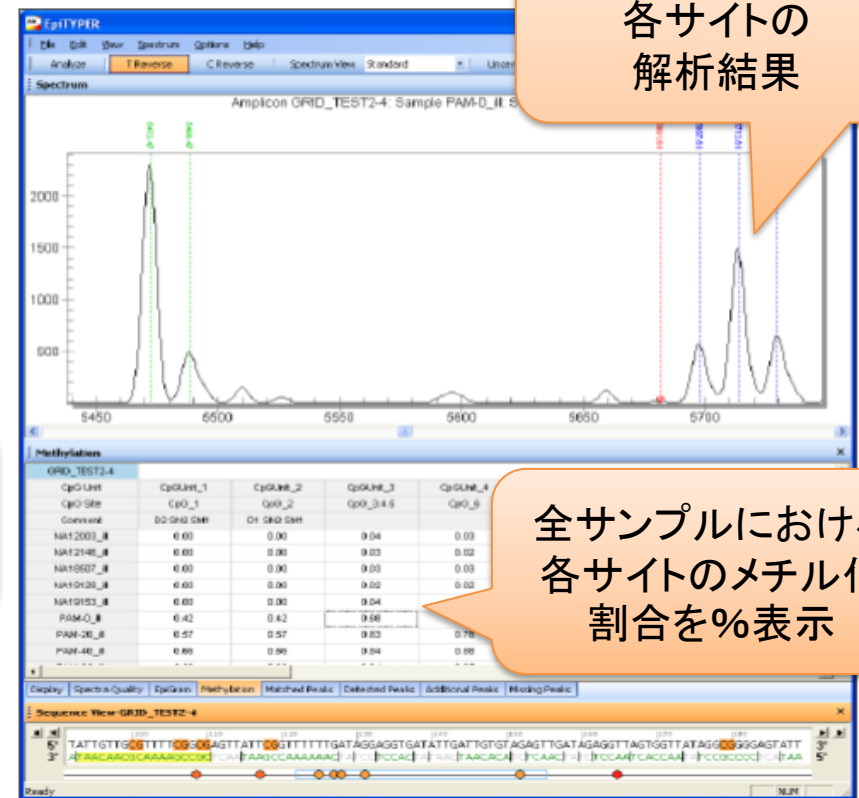
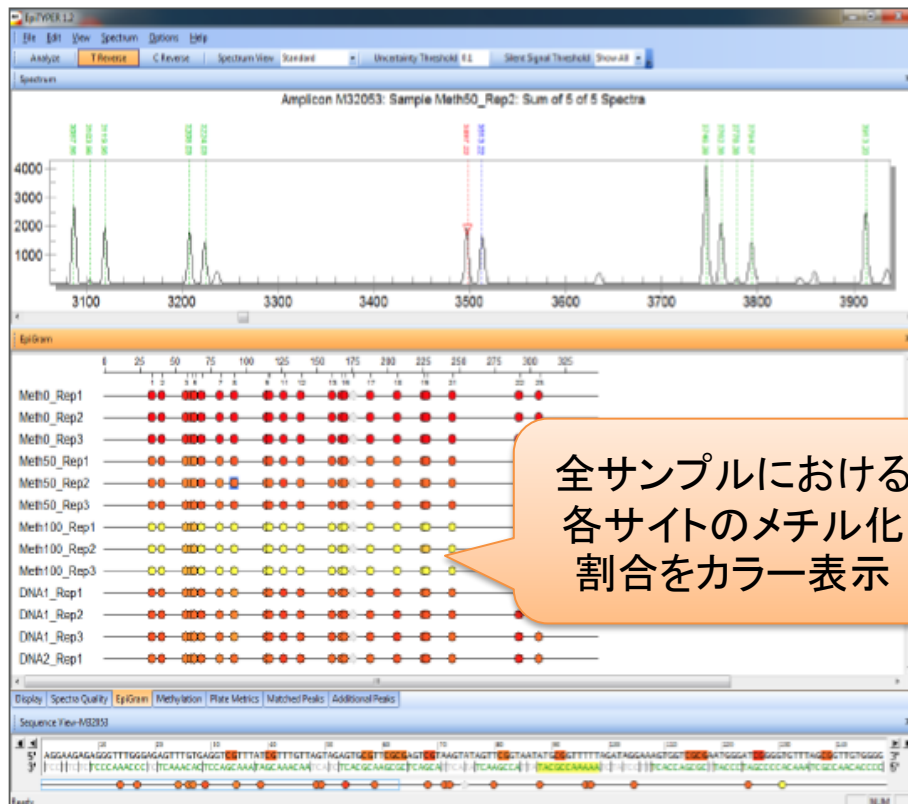
25% Methylated Template

50% Methylated Template

100% Methylated Template

⑤ EpiTYPER Softwareを用いたレポート取得

- 取得データをEpiTYPER Softwareで自動解析
数値および図表による定性的・定量的データ解析結果の提供



1サンプルにおける各サイトの解析結果

全サンプルにおける各サイトのメチル化割合を%表示

製品ラインナップ



○弊社取り扱い (Agena Bioscience製品)

商品コード	チップフォーマット	容量	PCR試薬	MassCLEAVE試薬	SpectroCHIP
AGN-13165F	96 well CPM	10 x 96	○	○	○
AGN-10247F		2 x 96		○	○
AGN-13231F		10 x 96		○	○
AGN-11377D	384 well CPM	10 x 384	○	○	○
AGN-10249D		2 x 384		○	○
AGN-10252D		10 x 384		○	○

- 製品ページ

- <https://www.veritastk.co.jp/products/PGN-AGN023.html>
- <https://www.veritastk.co.jp/products/PGN-AGN024.html>

バイサルファイト試薬

EZ DNA Methylation Kit (D5001/D5003; Zymo Research)

メチル化コントロールDNA(ヒトの場合)

EpiTect PCR Control DNA Set (59695; Qiagen)

*他生物種を解析する場合はお客様ご自身でご準備ください。

Agena[®]

BIOSCIENCE

正確で低コストなメチル化解析は
MassARRAY Systemで



お問い合わせ先

株式会社ベリタス

〒105-0013 東京都港区浜松町 1-18-16 住友浜松町ビル 6 階

TEL: 03-5776-0078 FAX: 03-5776-0076

技術的なお問い合わせは

TEL: 03-5776-0040 E-mail: Tech_support@veritastk.co.jp