

I. DNA メチル化解析

DNA メチル化解析手法は、(A) メチル化 DNA を濃縮する方法、(B) バイサルファイト処理による塩基置換を利用する方法、(C) メチル化感受性の制限酵素を利用する方法の 3 種類に分類されます。新規ターゲットのスクリーニングには(A)の手法が、個別ターゲットの詳細な解析には(B)や(C)の手法がよく用いられています。

B. バイサルファイト処理

- ◆非メチル化シトシンをウラシルに変換
- ◆特定領域の DNA メチル化解析に

【1】原理

バイサルファイト処理を行うことで、DNA 中のメチル化されていないシトシン（非メチル化シトシン）はウラシルに変換されます。一方、メチル化シトシン（5mC）はバイサルファイト処理では変換されないため、本処理を行うことでメチル化シトシンと非メチル化シトシンを区別することができます。処理後、非メチル化 DNA とメチル化 DNA は異なる塩基配列を持つことになり、PCR 増幅後にシーケンス解析や制限酵素処理などの方法で DNA メチル化解析を行うことができます。

・MethylEasy™ Xceed Rapid DNA Bisulphite Modification Kit（終売）

本製品ではバイサルファイト処理の改良法を採用しており、所要時間が短く（約 90 分）、わずか 50 pg の DNA からの処理が可能です。変換 DNA の回収には、取扱いが簡単な精製カラムを使用します。

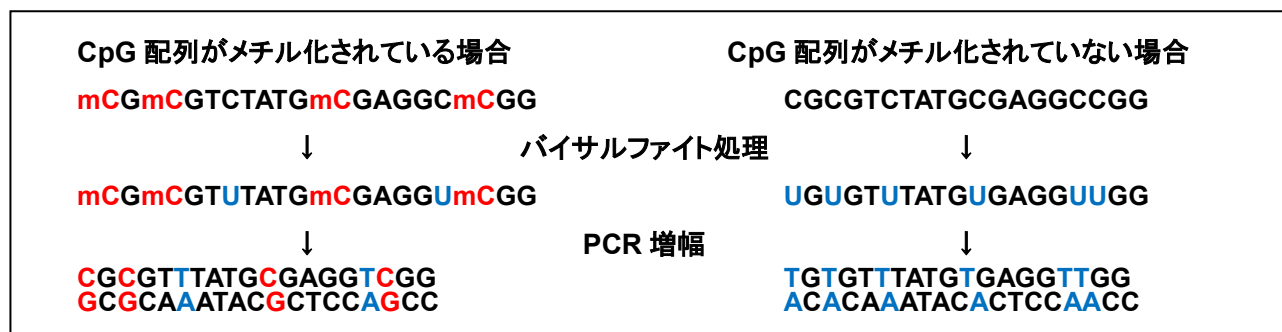


図 1. バイサルファイト処理とPCR増幅

【2】プロトコール

以下は、大まかな実験の流れです。操作方法の詳細は、該当製品の説明書などをご参照ください。

(1) ゲノム DNA の抽出

[NucleoSpin® Tissue](#) によりゲノム DNA を抽出する（「4. 各解析に共通の試薬・キット」参照）。ゲノム DNA の必要量は、その後の解析手法によって異なるが、MethylEasy™ Xceed Rapid DNA Bisulphite Modification Kit による 1 回の処理には、50 pg～5 μg のゲノム DNA を用いる。

(2) バイサルファイト処理

（操作方法の詳細は、MethylEasy™ Xceed の製品説明書をご参照ください。）

- 1) ゲノム DNA (50 pg~5 μg) に NaOH を添加する
 - 2) 37°C で 15 分間、インキュベートし、DNA を変性させる
 - 3) キット添付の Reagent #1 & Reagent #2 混合物を添加し、混和する
 - 4) 80°C で 45 分間、遮光してインキュベートし、バイサルファイト処理を行う
- (3) バイサルファイト処理済み DNA の精製
- 1) キット添付のカラムを用いて精製する
 - 2) 12~100 μl の Elution buffer で溶出する
- (4) 脱スルホン酸処理
- 1) 95°C で 20 分間、インキュベートし、脱スルホン酸処理を行う

【3】実験例

5 つのゲノム DNA 領域につき、96 クローンのバイサルファイトシーケンス解析を行い、その結果から CpH の変換効率を求めた。どの領域も 99%前後の高い効率で変換されており、合計では 99.07%の変換効率であった。

(実験手法の詳細は、「A-b-i. バイサルファイトシーケンス解析」の項をご参照ください。)

解析領域	“C”総数	未変換“C”	変換率 (%)
1	10,481	87	99.17
2	16,723	95	99.43
3	16,566	106	99.36
4	23,490	273	98.84
5	19,136	241	98.74
合計	86,396	802	99.07

本解析は、京都大学 iPS 細胞研究所よりご依頼いただきました。

下記の項目もご参照ください。

バイサルファイトシーケンス解析

MSP (Methylation Specific PCR)

COBRA (Combined Bisulfite Restriction Analysis)

【4】製品リスト

[NucleoSpin® Tissue \(製品コード 740952.10/.50/.250\)](#)

MethylEasy™ Xceed Rapid DNA Bisulphite Modification Kit (終売)

d. バイサルファイトシーケンス解析

- ◆バイサルファイト処理済み DNA のシーケンス解析
- ◆特定領域の DNA メチル化を一塩基の解像度で解析

【1】原理

バイサルファイト処理後に、解析目的のゲノム DNA 領域を PCR 増幅し、クローニングしてシーケンス解析を行います。

・ TaKaRa EpiTaq™ HS (for bisulfite-treated DNA)

バイサルファイト処理後の PCR には、TaKaRa EpiTaq™ HS (for bisulfite-treated DNA) をお勧めします。バイサルファイト処理した DNA にはウラシルが含まれており、α型の DNA ポリメラーゼでは効率良く増幅することができませんのでご注意ください。

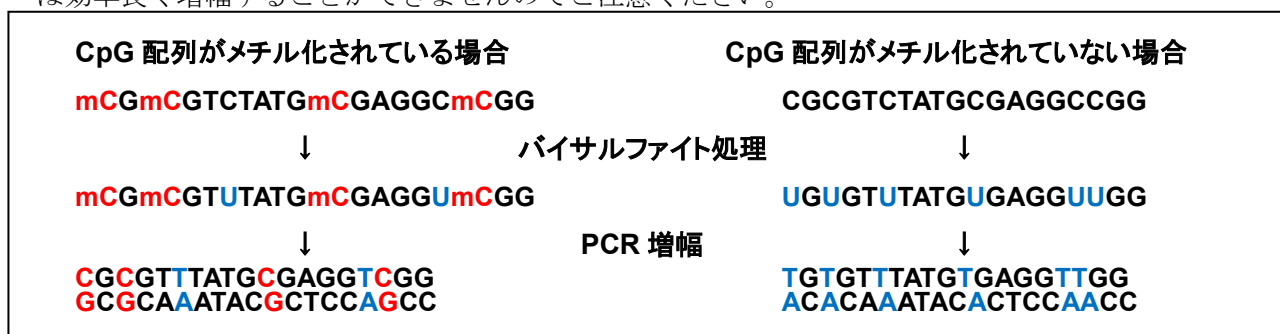


図2. バイサルファイト処理とPCR増幅

【2】プロトコール

(操作方法の詳細は、各製品の説明書をご参照ください)

(1) ゲノム DNA の抽出

[NucleoSpin® Tissue](#) によりゲノム DNA を抽出する (「4. 各解析に共通の試薬・キット」参照)。

(2) バイサルファイト処理

MethylEasy™ Xceed Rapid DNA Bisulphite Modification Kit によりバイサルファイト処理を行う (「A-b. バイサルファイト処理」参照)。

(3) TaKaRa EpiTaq HS (for bisulfite-treated DNA) による PCR 増幅

1) 以下の反応液を氷上で調製する。

試薬	使用量	最終濃度
TaKaRa EpiTaq HS (5 units/μl)	0.25 μl	1.25 units
10× EpiTaq PCR Buffer (Mg ²⁺ free)	5 μl	1×
25 mM MgCl ₂	5 μl	2.5 mM
dNTP Mixture (2.5 mM each)	6 μl	0.3 mM each
Forward Primer (20 μM)	1 μl	0.4 μM
Reverse Primer (20 μM)	1 μl	0.4 μM
DNA	<100 ng	
滅菌精製水	Up to 50 μl	

2) 以下の条件で PCR 増幅を行う。

98°C 10 秒

55°C 30 秒

72°C 30 秒~1 分 *1

(30~40 サイクル) *2

*1 伸長反応時間は、1 kb/1 分を目安に設定する。増幅効率が悪い場合は、時間を延長すると改善することがある。

*2 増幅量が少ない場合は、サイクル数を増やす。

3) アガロース電気泳動により増幅産物の確認を行う

(4) [DNA Ligation Kit <Mighty Mix>](#)によるクローニング

1) プラスミドベクターおよび PCR 産物を含む DNA 溶液 5~10 μ l を用意する

2) 1) の DNA 溶液と等量の Ligation Mix (5~10 μ l) を添加し、よく混合する

3) 16°C で 30 分間、保温する

4) 100 μ l のコンピテントセルに 10 μ l の反応液を加え、形質転換を行う

5) 形質転換後、37°C にて一晩培養する

(5) シーケンス解析

24 個以上*5のクローンについて、定法によりシーケンス解析を行う

*5 正しい解析結果を得るには、多数のクローンについてシーケンス解析を行う必要がある。定性的な解析の場合にも、少なくとも 24 個以上のクローンの解析を行うことが望ましい。

【3】受託サービスのご案内

次世代シーケンサーを用いたバイサルファイトシーケンス解析サービスを行っております。

ゲノム DNA を提供いただき、バイサルファイト処理後、シーケンスライブラリーを作製し、全ゲノムをシーケンスします。取得したシーケンスリードを参照配列にマッピングし、3 種類のシトシン(CpG, CHH, CHG)ごとにメチル化率を算出します。また、サンプル間で統計学的有意差を示すシトシンの検出や、その領域(DMRs)を同定します。

バイサルファイト処理後、PCR にてターゲット領域を増幅し、シーケンスを行う特定領域バイサルファイトシーケンス解析も行っております。各検体のメチル化レベルを統計解析し、全体像をビューワで表示します。

[バイサルファイトシーケンス解析](#)

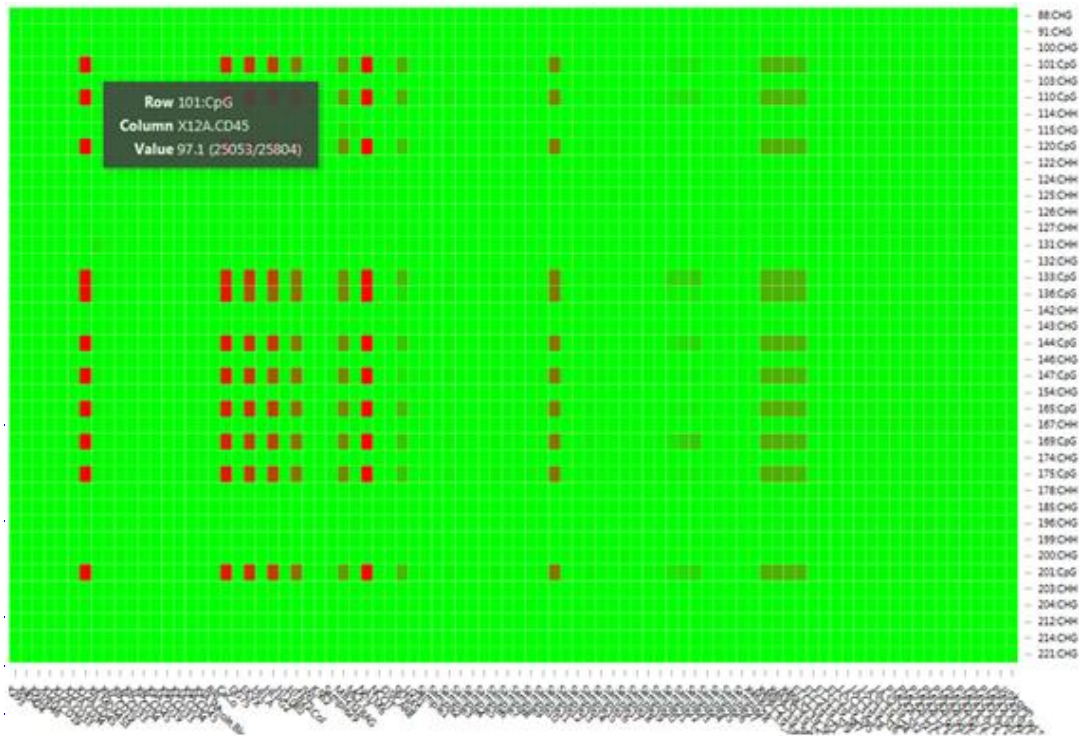
<全ゲノムバイサルファイトシーケンス 納品データ例>

シトシタイプ別にメチル化率をまとめたリスト

シトシンの位置					メチル化 リード数	非メチル化 リード数	二項検定 p-value値	CpGisland, 遺伝子周辺領域の情報など								
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	
TARGET_ID	TYPE	CHROMOSOME	STRAND	MAPINFO	SampleA METHYL_C_COUNT	SampleA NON_METHYL_C_COUNT	SampleA METHYL_RATIO	SampleA BINOMIAL_P_VALUE	SampleA BINOMIAL_Q_VALUE	RELATION_TO_CPG_ISLAND	CPG_ISLANDS_NAME	TRANSCRIPT_ID	GENE_STRAND	REFGENE_GROUP		
440	chr1	858463	- CpG	CpG	chr1	-	858463	5	10	0.33333333	2.98E-12	1.01E-11	N_Shore	chr1 858971-861632	chr1 854766-854973	
441	chr1	858828	- CpG	CpG	chr1	-	858828	4	3	0.57142857	3.49E-11	1.15E-10	N_Shore	chr1 858971-861632	chr1 854766-854973	
442	chr1	858980	- CpG	CpG	chr1	-	858980	3	22	0.12	2.26E-06	5.48E-06	Island	chr1 858971-861632		
443	chr1	859011	- CpG	CpG	chr1	-	859011	4	16	0.2	4.78E-09	1.42E-08	Island	chr1 858971-861632		
444	chr1	859030	- CpG	CpG	chr1	-	859030	4	11	0.26666667	1.35E-09	4.09E-09	Island	chr1 858971-861632		
445	chr1	859735	- CpG	CpG	chr1	-	859735	1	5	0.16666667	0.005985	0.009771	Island	chr1 858971-861632	NM_152486.1	TSS1500/Promote
446	chr1	860120	- CpG	CpG	chr1	-	860120	1	4	0.2	0.00499	0.008165	Island	chr1 858971-861632	NM_152486.1	TSS1500/Promote
447	chr1	860153	- CpG	CpG	chr1	-	860153	2	8	0.2	4.48E-05	0.000104	Island	chr1 858971-861632	NM_152486.1	TSS1500/Promote
448	chr1	860172	- CpG	CpG	chr1	-	860172	2	6	0.25	2.79E-05	6.49E-05	Island	chr1 858971-861632	NM_152486.1	TSS1500/Promote
449	chr1	860175	- CpG	CpG	chr1	-	860175	2	6	0.25	2.79E-05	6.49E-05	Island	chr1 858971-861632	NM_152486.1	TSS1500/Promote
450	chr1	860200	- CpG	CpG	chr1	-	860200	2	7	0.22222222	3.58E-06	8.32E-05	Island	chr1 858971-861632	NM_152486.1	TSS1500/Promote
451	chr1	860294	- CpG	CpG	chr1	-	860294	2	8	0.2	4.48E-05	0.000104	Island	chr1 858971-861632	NM_152486.1	TSS1500/Promote

<特定領域バイサルファイトシーケンス解析 納品データ例>

メチル化率ヒートマップ



【4】製品リスト

[NucleoSpin® Tissue \(製品コード 740952.10/50/250\)](#)

MethylEasy™ Xceed Rapid DNA Bisulphite Modification Kit (終売)

[TaKaRa EpiTag™ HS \(for bisulfite-treated DNA\) \(製品コード R110A/B\)](#)

[DNA Ligation Kit <Mighty Mix> \(製品コード 6023\)](#)

[TaKaRa T-Vector pMD20 \(製品コード 3270\)](#)

[E. coli HST08 Premium Competent Cells \(製品コード 9128\)](#)

[EpiScope® Methylated HeLa gDNA \(製品コード 3520\)](#)

[EpiScope® Methylated HCT116 gDNA \(製品コード 3522\)](#)

[EpiScope® Unmethylated HCT116 DKO gDNA \(製品コード 3521\)](#)

e. Methylation Specific PCR (MSP)

◆メチル化／非メチル化 DNA 特異的 PCR

◆多検体の解析や微量メチル化 DNA の検出に最適

【1】原理

バイサルファイト処理により CpG 配列のメチル化状態に応じて配列が変化する箇所にメチル化 DNA 検出用と非メチル化 DNA 検出用のプライマー (M primer および UM primer) を設計し、PCR 増幅を行います。エンドポイント検出の PCR を行う場合は、電気泳動で増幅の有無を確認します。リアルタイム PCR ではメチル化 DNA の半定量的な解析も可能です。



・ [EpiScope® MSP Kit](#)

本製品は MSP 専用の PCR キットです。バイサルファイト処理されたウラシルを含む DNA を鋳型として効率のよい PCR 増幅が可能な専用酵素と最適化された組成のバッファーにより、高い増幅効率で、従来の PCR 試薬と比較してメチル/非メチルの識別能が大幅に向上した MSP 解析を行うことができます。リアルタイムモニタリングに適した濃度の TB Green を含んだ状態で反応系が最適化されており、半定量的な解析が可能なリアルタイム PCR と電気泳動で増幅の有無を確認するエンドポイント PCR の両方に同じ反応条件で使用することができます。

【2】 プロトコール

(操作方法の詳細は、各製品の説明書をご参照ください)

1 ゲノム DNA の抽出

NucleoSpin® Tissue によりゲノム DNA を抽出する (「4. 各解析に共通の試薬・キット」参照)。

2 バィサルファイト処理

MethylEasy™ Xceed Rapid DNA Bisulphite Modification Kit によりバイサルファイト処理を行う (「1. b. バィサルファイト処理」参照)。

3 EpiScope® MSP Kit による PCR 増幅

3.1 以下の反応液を氷上で調製する。

試薬	使用量	最終濃度
2× MSP Buffer	12.5 μl	1X
TB Green Solution (×100)	0.25 μl	1X *1
PCR Forward Primer (10 μM)	0.75 μl	0.3 μM
PCR Reverse Primer (10 μM)	0.75 μl	0.3 μM
MSP Enzyme	0.6 μl	
DNA	2 μl	*2
滅菌精製水	8.15 μl	*2
Total	25 μl	

*1 エンドポイント PCR (電気泳動による解析) の場合にも必ず TB Green Solution (×100) を添加すること。
TB Green を添加した状態で最も高い識別能が得られる。

*2 DNA 濃度によって適宜調整可能。通常、バイサルファイト処理済み DNA 10~50 ng 程度を使用する。

3.2 以下の条件で PCR 増幅を行う。

リアルタイム PCR 検出、エンドポイント検出とも同じ PCR 条件で反応を行う。

95°C 30 秒

98°C 5 秒

55°C 30 秒

72°C 1 分 (~200 bp)

} 40~45 サイクル

融解曲線分析 (リアルタイム PCR の場合)

3.3 リアルタイム PCR 装置による検出または電気泳動による増幅産物の確認を行う。

【3】実験例

HeLa ゲノムおよびメチル化 HeLa ゲノム (EpiScope® Methylated HeLa gDNA) 各 1 g を MethylEasy™ *Xceed* を用いてバイサルファイト処理した。これらを鋳型として、CDH1、CDKN2A、MLH1 各遺伝子のプロモーター領域で本キットを用いた MSP を行った。リアルタイム PCR には Thermal Cycler Dice® Real Time System を用い、エンドポイント検出では TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® で反応後の反応液をアガロースゲル電気泳動に供して結果を確認した。

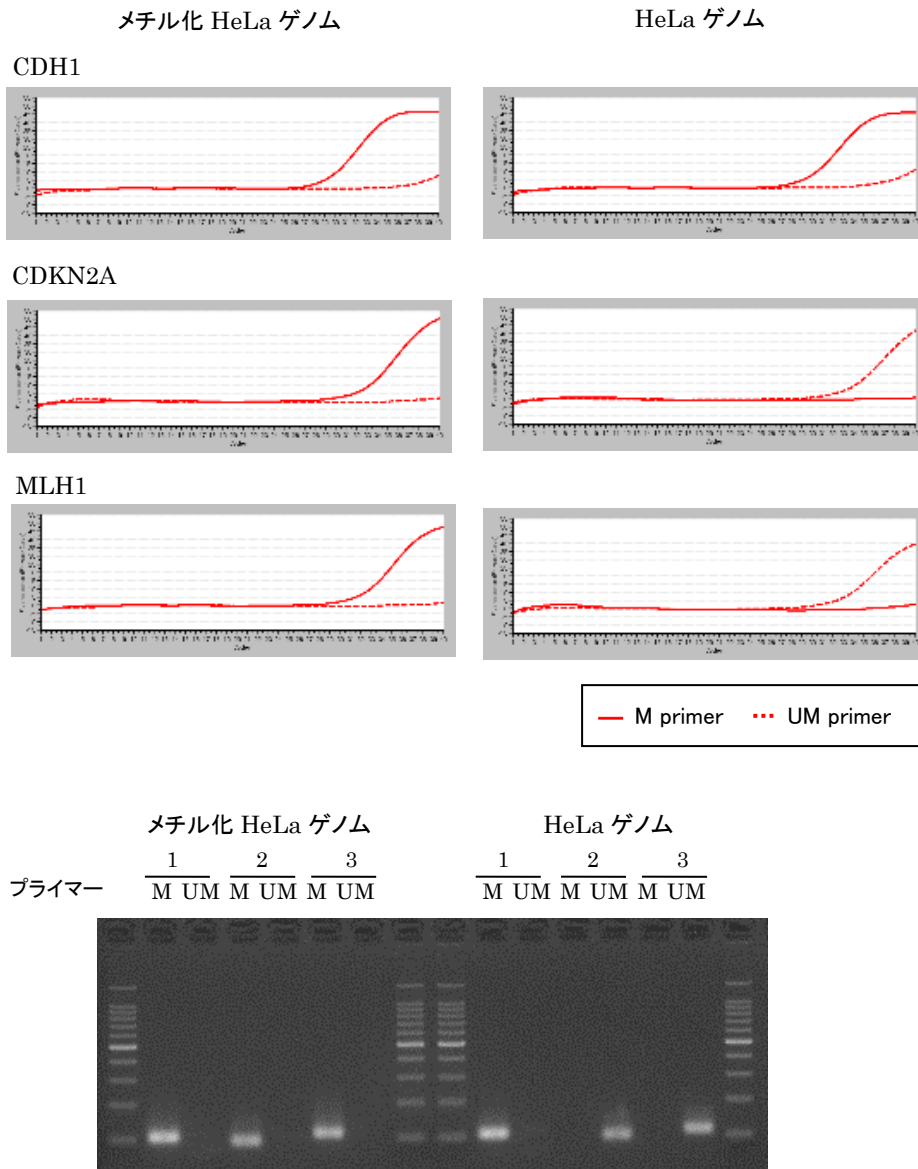


図 4. Methylation Specific PCR 結果

メチル化 HeLa ゲノムを鋳型とした場合、3 種のターゲットすべてで M primer での増幅が見られ、UM primer では増幅が確認されなかった。それに対し、Native な HeLa ゲノムを鋳型とした場合には CDKN2A、MLH1 で UM primer での増幅が見られ、この領域はメチル化されていないことが確認できた。クロス反応はほとんどなく、メチル/非メチルの識

別が明確にできていることが分かる。

【4】製品リスト

[NucleoSpin® Tissue \(製品コード 740952.10/.50/.250\)](#)

MethylEasy™ Xceed Rapid DNA Bisulphite Modification Kit (終売)

[EpiScope® MSP Kit \(製品コード R100A/B\)](#)

[EpiScope® Methylated HeLa gDNA \(製品コード 3520\)](#)

[EpiScope® Methylated HCT116 gDNA \(製品コード 3522\)](#)

[EpiScope® Unmethylated HCT116 DKO gDNA \(製品コード 3521\)](#)

f. COBRA (Combined Bisulfite Restriction Analysis)

- ◆特別な解析装置を必要としないコストパフォーマンスに優れた手法
- ◆特定領域の DNA メチル化解析に

【1】原理

COBRA 法では、バイサルファイト処理後にメチル化 DNA と非メチル化 DNA に共通のプライマーを用いて解析対象領域を PCR 増幅後、メチル化 DNA と非メチル化 DNA で配列が異なる箇所を認識する制限酵素で処理します。

・ [TaKaRa EpiTaq™ HS \(for bisulfite-treated DNA\)](#)

バイサルファイト処理後の PCR には、TaKaRa EpiTaq HS (for bisulfite-treated DNA)がお勧めです。バイサルファイト処理した DNA にはウラシルが含まれており、 α 型の DNA ポリメラーゼでは効率良く増幅することができませんのでご注意ください。

【2】プロトコール

(操作方法の詳細は、各製品の説明書をご参照ください)

(1) ゲノム DNA の抽出

[NucleoSpin® Tissue](#) によりゲノム DNA を抽出する (「4. 各解析に共通の試薬・キット」参照)。

(2) バイサルファイト処理

MethylEasy™ Xceed Rapid DNA Bisulphite Modification Kit によりバイサルファイト処理を行う (「A-b. バイサルファイト処理」参照)。

(3) TaKaRa EpiTaq™ HS による PCR 増幅

1) 以下の反応液を氷上で調製する。

試薬	使用量	最終濃度
TaKaRa EpiTaq HS (5 units/ μ l)	0.25 μ l	1.25 units
10 \times EpiTaq PCR Buffer (Mg ²⁺ free)	5 μ l	1 \times
25 mM MgCl ₂	5 μ l	2.5 mM
dNTP Mixture (2.5 mM each)	6 μ l	0.3 mM each
Forward Primer (20 μ M)	1 μ l	0.4 μ M
Reverse Primer (20 μ M)	1 μ l	0.4 μ M
DNA	<100 ng	
滅菌精製水	Up to 50 μ l	

2) 以下の条件で PCR 増幅を行う。

98°C 10 秒

55°C 30 秒

72°C 30 秒~1 分 *1

(30~40 サイクル) *2

*1 伸長反応時間は、1 kb/1 分を目安に設定する。増幅効率が悪い場合は、時間を延長すると改善することがある。

*2 増幅量が少ない場合は、サイクル数を増やす。

3) PCR 後、5 μ l をアガロース電気泳動し増幅状態の確認を行う。

(4) PCR 産物の精製

PCR 産物精製キットなどを用いて精製し、50 μ l 程度の容量にする。

(5) 制限酵素処理

1) 以下の反応液を氷上で調製する。

試薬	使用量	最終濃度
10 \times Buffer	5 μ l	1 \times
制限酵素	適宜	10~20 U
精製済 PCR 産物	20~40 μ l	
滅菌精製水	適宜	
Total	50 μ l	

2) 至適温度で 4 時間以上、制限酵素処理を行う。

(6) エタノール沈殿による濃縮

1) 制限酵素処理後の反応液に以下の試薬を加える。

4 μ l Gen とるくん™エタ沈キャリア

5 μ l 3 M 酢酸ナトリウム, pH 5.2

125 μ l エタノール (>99%)

2) 12,000 rpm、4°C、15 分間遠心し、上清を除去する。

3) 250 μ l の 70%エタノールを添加しリンスする。

- 4) 12,000 rpm、4°C、5 分間遠心し、上清を完全に除去する
- 5) 沈殿を乾燥させ、10 μ l の滅菌精製水に溶解する。

(7) 電気泳動による確認

3% PrimeGel™ Agarose PCR-Sieve アガロースゲルで電気泳動を行う。

【3】実験例

HeLa S3 ゲノム DNA およびメチル化 HeLa ゲノム DNA ([EpiScope® Methylated HeLa gDNA](#)) 各 2.6 μ g を MethylEasy™ Xceed でバイサルファイト処理し、処理後のゲノム DNA 80 ng を鋳型として MLH1 の CpG アイランド領域の一部を TaKaRa EpiTaq HS (for bisulfite-treated DNA) を用いて増幅した。PCR 産物 (増幅サイズ: 384 bp) をスピнкаラム精製して 50 μ l で溶出した。そのうち 20 μ l を制限酵素処理 (*TaqI*; T↓CGA、65°C 4 時間) し、エタノール沈殿で 10 μ l に濃縮した後、電気泳動に供した。

```
GTAAGGGGAGAGGAGGAGTTTGAGAAGYGTTAAGTATTTTTTTTYGTTTTGYGTTAGATTATTTTAGTAGAGGTAT
ATAAGTTYGGTTTTYGGTATTTTTGTTTTTATTGGTTGGATATTTYGTATTTTTYGA GTTTTTAAAAAYGAATTAATA
GGAAGAGYGGATAGYGATTTTTAAAYGYGTAAGYGTATATTTTTTTTAGGTAGYGGGTAGTAGTYGTTTTAGGGAGG
GAYGAAGAGATTTAGTAATTTATAGAGTTGAGAAATTTGATTGGTATTTAAGTTGTTTAATTAATAGTTGTYGTTG
AAGGTTGGGGTTGGATGGYGTAAAGTTATAGTTGAAGGAAGAA YGTGAGTAYGAGGTATTGAGGTTGATTGGTTGA
AGGTATT
```

図 5. MLH1 の COBRA 検出系の設計

MLH1 の CpG アイランドの PCR 増幅領域 (384 bp) をバイサルファイト処理変換した配列を示す。配列中の Y は、バイサルファイト処理によりメチル化状態に応じて C または T に変化する塩基である。黄色で示したのが *TaqI* の認識配列であり、C がメチル化されている場合には TCGA となり切断されるが (128 bp と 254 bp)、非メチルなら TTGA に変換されるため切断されない。なお、ピンク色は PCR プライマー位置である。

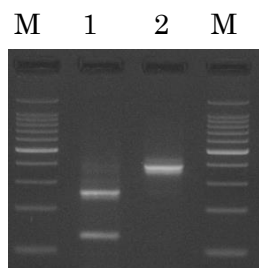


図 6. COBRA の結果

レーン 1 : メチル化 HeLa ゲノム DNA

レーン 2 : HeLa S3 ゲノム DNA

レーン M : 100 bp DNA Ladder 200 ng

メチル化 HeLa ゲノム DNA 由来の PCR 増幅産物は予想通りのサイズに切断されたが、HeLa S3 ゲノム DNA 由来の PCR 増幅産物は切断されておらず、HeLa S3 細胞の MLH1 遺伝子の解析対象領域は非メチル化状態であると考えられる。

【4】製品リスト

[NucleoSpin® Tissue \(製品コード 740952.10/.50/.250\)](#)

MethylEasy™ Xceed Rapid DNA Bisulphite Modification Kit (終売)

[TaKaRa EpiTaq™ HS \(for bisulfite-treated DNA\) \(製品コード R110A/B\)](#)

[EpiScope® Methylated HeLa gDNA \(製品コード 3520\)](#)

[EpiScope® Methylated HCT116 gDNA \(製品コード 3522\)](#)

[EpiScope® Unmethylated HCT116 DKO gDNA \(製品コード 3521\)](#)

制限酵素各種

[Gen とるくん™エタ沈キャリア \(製品コード 9094\)](#)

[PrimeGel™ Agarose PCR-Sieve \(製品コード 5810A\)](#)

g. ビーズアレイ解析

◆イルミナ社ビーズアレイを用いたヒト CpG サイトのメチル化解析

【1】原理

ゲノム DNA をバイサルファイト処理し、Infinium MethylationEPIC BeadChip (イルミナ社) を用いた網羅的解析を行います。Infinium MethylationEPIC BeadChip は、85 万以上のメチル化サイトを搭載し、大規模なゲノムワイドでのメチル化解析が行えます。

【2】受託サービスのご案内

ゲノム DNA をご送付いただき、イルミナ社の推奨方法に従い、ターゲットの作製、ハイブリダイゼーション、スキャニングなどの一連の作業を行い、GenomeStudio Data Analysis ソフトウェアを用いた解析データを納品いたします。検体ごとの標準化とメチル化レベルの算出までを行います。

データマイニングサービスでは、プローブ、遺伝子、CpG Island 毎のメチル化率の算出、メチル化レベル(AVG_Beta 値)に有意差のあるデータの抽出を行います。

[DNA メチル化解析 \(ビーズアレイ\)](#)

<納品データ例>

納品データ: Sample Methylation Profile

Index	NAME	ACCESSION	ANNOTATION	AVG_beta	Intensity	Signal_A	Signal_B	Detection Pval	SYMBOL	SYNONYM	GENOME
1	cg00002032	NM_173213.2	isoform 1 is encoded by transcript variant 4; catalytic	0.58970	3156	1318	2038	0.00000	ATP2A1	ATP2A1; SERCA1	36
2	cg00002026	NM_021259.2	Samplomat-associated protein; go_component: intr	0.58845	2151	1560	181	0.00000	SLMAP	SLMAP; KIAA1681	36
3	cg00003994	NM_059243.3	growth arrest-specific 5 homolog; go_component: nu	0.59559	1674	1503	171	0.00000	HOXD3	GAX; MOXD	36
4	cg00005847	NM_056999.4	homeobox protein Hox D3; Hox 4.1; mouse; homolog	0.59558	2732	2453	299	0.00000	HOXD3	HOM; HOXD3; HO	36
5	cg00006414	NM_020781.2	isoform 3 is encoded by transcript variant 2; zinc fing	0.59540	3483	3270	213	0.00000	ZNF398	PS1; P71; ZNF4; KL	36
6	cg00005781	NM_015368.3	inactiv; go_component: membrane; go_component:	0.57004	3755	3485	270	0.00000	RAV1	MSD1; UNQ5529; M	36
7	cg00009480	NM_182971.1	cytochrome c oxidase subunit VIII; isoform 2; go_com	0.58361	4452	325	4127	0.00000	COX8C	COX8-3; MSC11877	36
8	cg00008715	NM_014214.1	inosine monophosphatase 2; go_function: hydrolase a	0.53720	10195	9812	383	0.00000	IMP2		36
9	cg00009407	NM_182039.2	isoform 8 is encoded by transcript variant 2; band 6	0.53570	5951	5725	226	0.00000	ITCB	8858;	36
10	cg00010193	NM_027469.1		0.53489	11462	10275	1209	0.00000	PLD3B9B		36
11	cg00014899	NM_050383.1	phosphomannomutase activity is deficient in patients	0.58671	1555	263	1302	0.00000	PMO3	CDG1; CDG5; CDG1	36
12	cg00012199	NM_194450.1	go_component: cellular component unknown; go_fun	0.58103	4059	4084	225	0.00000	KNAS6A	KN5A; MSC9306;	36
13	cg00012386	NM_053032.2	synonym: SARP1; FLJ12517; SRA063453-454; C4ZF2	0.53963	8075	7751	324	0.00000	C1orf242	SARP1; FLJ12517; I	36
14	cg00012792	NM_030918.2	isoform 1 is encoded by transcript variant 1; thiodio	0.54058	12225	11731	494	0.00000	TDND3	EPHA; UNQ364; E	36
15	cg00013619	NM_020918.2		0.53957	11956	8428	3628	0.00000			36
16	cg00014085	NM_017793.2	go_component: nuclear outer membrane; go_compon	0.53746	5184	4988	198	0.00000	Raf5f	FLJ20296;	36
17	cg00014837	NM_024489.2	go_component: cellular component unknown; go_fun	0.53404	1335	557	753	0.00000	ACR8F	SP32; OY-YES-L;	36
18	cg00015770	NM_198178.1	GPR receptor; go_component: integral to membrane	0.53257	10046	8515	1531	0.00000	GPR103	AQ27; SP915;	36
19	cg00016888	NM_175743.3	Apoptosis-NSD-related homolog 1 (oncogene RNF182)	0.41482	13195	7684	5511	0.00000	RNF182	ADN1; ARNC; BND	36
20	cg00019499	NM_02495.4	lung cancer-associated G-protein; not expressed in ch	0.57771	2152	1977	175	0.00000	HOP	OB1; LASK; TSN; C	36
21	cg00020533	NM_033322.2	Tubby-like protein-1; go_process: sensory perception	0.52697	2146	1488	658	0.00000	TULP1	SP14; TUBL1;	36
22	cg00021827	NM_023482.2	isoform 2 is encoded by transcript variant 2; TATS bo	0.54411	3069	4941	226	0.00000	TAP15	Ntr1; RBP50; TAP2;	36
23	cg00022666	NM_144628.1	go_component: membrane; go_component: integral	0.52832	9349	8672	277	0.00000	TBC1D20	FLJ42199; C3orf94	36
24	cg00022866	NM_032051.3	brain leucine zipper protein; go_function: protein bind	0.53058	16960	9952	7158	0.00000	TLX17B3	BR12; FLJ3054; D	36
25	cg00024396	NM_021814.3	homolog of repressing chain-polyunsaturated fatty aci	0.53344	3668	3262	386	0.00000	ELDL5	HELD1; d48318.1	36
26	cg00024812	NM_016207.2	cleavage and polyadenylation specificity factor 3; 73k	0.55885	3579	3245	333	0.00000	CFP3	CFP3; CFP37; CFS	36
27	cg00025138	NM_021412.2	mesodermless kinase 1 (Tyr and Ser/Thr specificity); go	0.53795	5925	5798	229	0.00000	MALP28	MLK1; MKK21;	36
28	cg00025991	NM_014874.1	go_component: nucleus; go_function: catalytic activit	0.58176	10272	9424	848	0.00000	D3PC	K3A0204; RFL1-48	36
29	cg00027283	NM_023307.1	differentially expressed in adenocarcinoma of the lung	0.49561	13790	13129	661	0.00000	EPH4L3	418; DAL1; DAL1L	36
30	cg00028274	NM_023337.1	Rab-related GTP-binding protein; go_component: cell	0.52452	1734	1596	228	0.00000	RAB38	gG766; NY-MEL-L;	36
31	cg00029826	NM_021199.2	isoform 1 is encoded by transcript variant 1; enhance	0.51119	837	738	219	0.00000	COSE1P3	HE15; C1orf118;	36
32	cg00029911	NM_021029.3	ribosomal protein L4; 5S ribosomal protein L44; L4	0.59457	3794	3574	220	0.00000	RPL34A	LML; R554; RPL4A	36
33	cg00030648	NM_019398.3	ribosomal protein L44; 5S ribosomal protein L44; L4	0.59457	3794	3574	220	0.00000	RPL34A	LML; R554; RPL4A	36

DNAメチル化のレベル(β値)の算出

Detection Pval データの信頼性

データマイニング解析 納品物例

TargetID	B value	Q value	BH Fold Change	EA000X	QEA000X	OEBA000X	OEBA000X	GC	UCSC_REF	UCSC_REF	UCSC_REF	RELATION	PHANTOM	DMR	ENHANCE	HMM
cg0000271	0.001119	0.025222	-1.79449	0.051602	0.105929	0.077984	0.053809	G1orf114	NM_02117	TSS200	Island				TRUE	1.167
cg0000390	0.002563	0.039468	1.118227	0.324757	0.321339	0.262661	0.262279								TRUE	
cg0000511	1.79E-05	0.009499	-0.66431	0.452267	0.382338	0.48764	0.308744	MWP2_WWF	NM_19942	TSS200;Body			low-CpG:68516280-6	TRUE		
cg0000608	7.39E-05	0.007114	-0.86123	0.215048	0.181449	0.349761	0.194653	HMX2	NM_00551	Body	Island			TRUE		
cg0000624	0.001588	0.030373	1.293396	0.150599	0.116017	0.271899	0.158503	OTOF	NM_19424	Body	Island			TRUE	2.265	
cg0000919	0.000848	0.021791	0.944485	0.482441	0.643485	0.664054	0.711379	RIN2	NM_01899	Body	N_Shore					
cg0000929	0.001166	0.025794	-0.93377	0.123233	0.137882	0.178843	0.14427				Island			TRUE	1.506	
cg0001257	0.000324	0.013343	0.848083	0.696449	0.695662	0.758993	0.708213	GPC6	NM_00570	Body				TRUE		
cg0001426	0.000421	0.015136	0.668465	0.670101	0.651307	0.699452	0.673409	-SP1	NM_19846	TSS200						
cg0001433	0.000964	0.023308	0.75575	0.607405	0.640796	0.598707	0.572256							TRUE		
cg0001743	0.001928	0.03378	-1.78656	0.113763	0.104253	0.108676	0.070356				Island					
cg0001748	0.000454	0.015705	-1.2425	0.228229	0.287673	0.230166	0.225721	DPP6	NM_00103	TSS1500			RDMR		7.153	
cg0001784	0.000144	0.008268	0.866841	0.770088	0.762403	0.777898	0.742742				N_Shore					
cg0001822	0.000113	0.008359	2.012361	0.268531	0.379146	0.436685	0.412264	TTTC13	AR;NM_00112	Body;TSS1	N_Shore					
cg0001949	4.32E-05	0.006001	1.621284	0.352191	0.581681	0.575552	0.569461	HORX	HOF;NM_13921	5'UTR;1stExon;1stExon;5'UTR;5'UTR;1stExon				TRUE		

統計解析の結果

サンプル毎のメチル化レベル

アノテーション情報

※標準解析納品データに準拠した情報

