

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](#)

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。

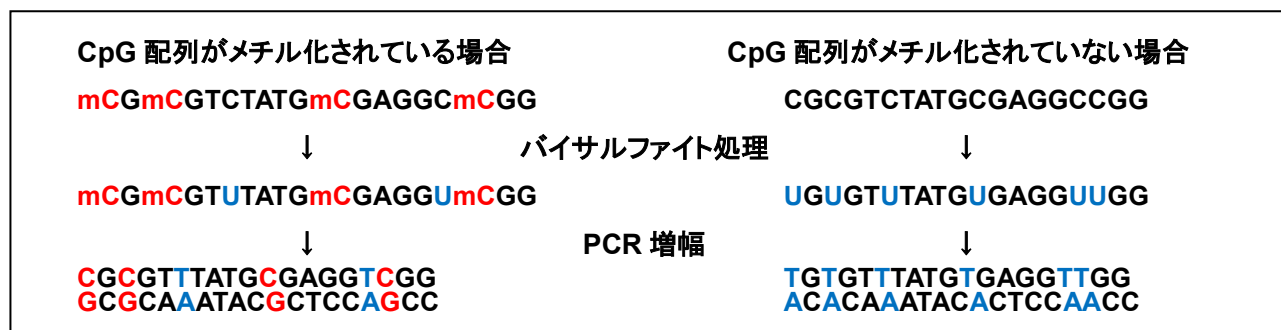


図 1. バイサルファイト処理とPCR増幅

【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 \(製品コード ME002\)](#)

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。

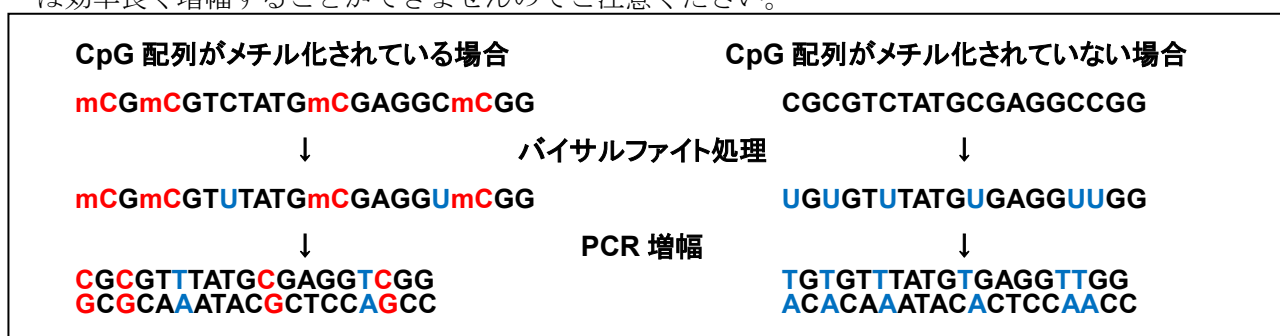


図2. バイサルファイト処理とPCR増幅

【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](#)

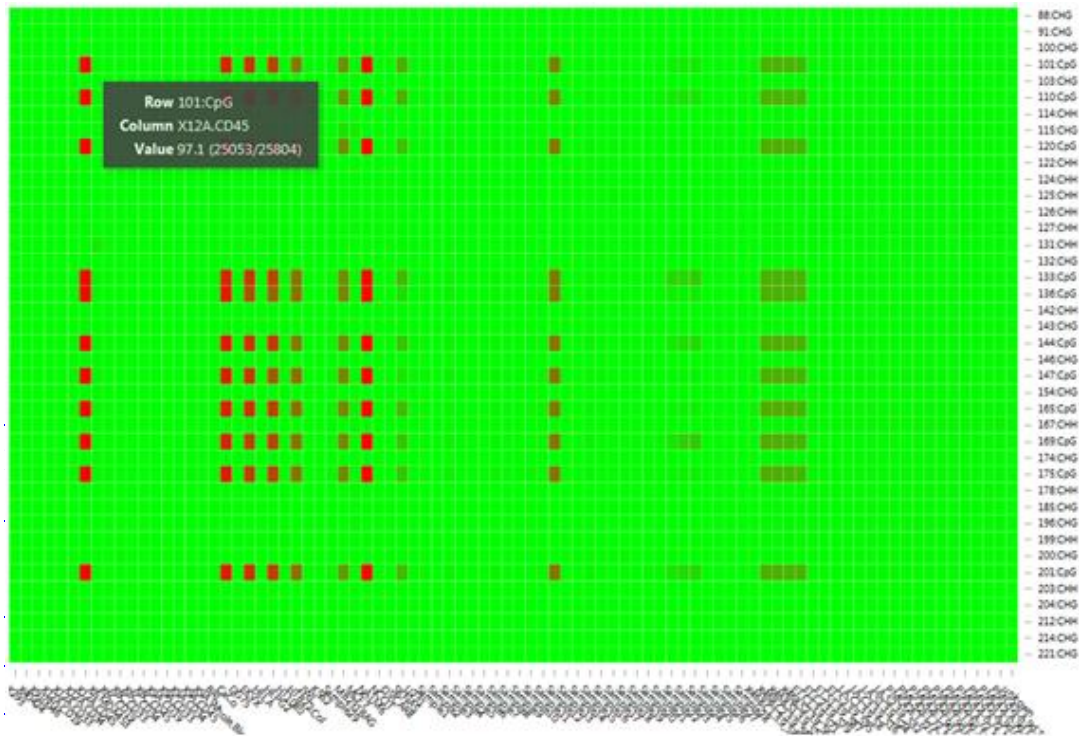
<全ゲノムバイサルファイトシーケンス 納品データ例>

シトシタイプ別にメチル化率をまとめたリスト

	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 \(製品コード ME002\)](#)

[TaKaRa EpiTaq™ 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 \(製品コード 3521\)](#)

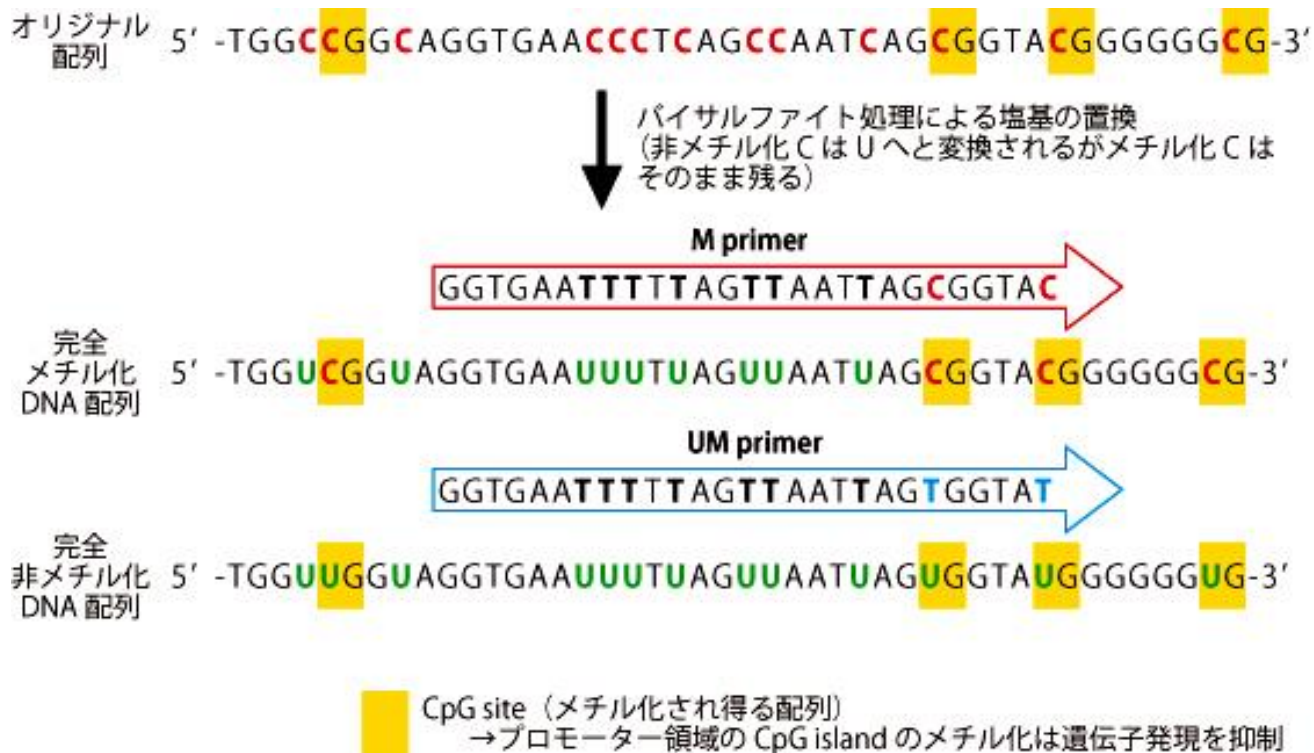
e. Methylation Specific PCR (MSP)

◆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。

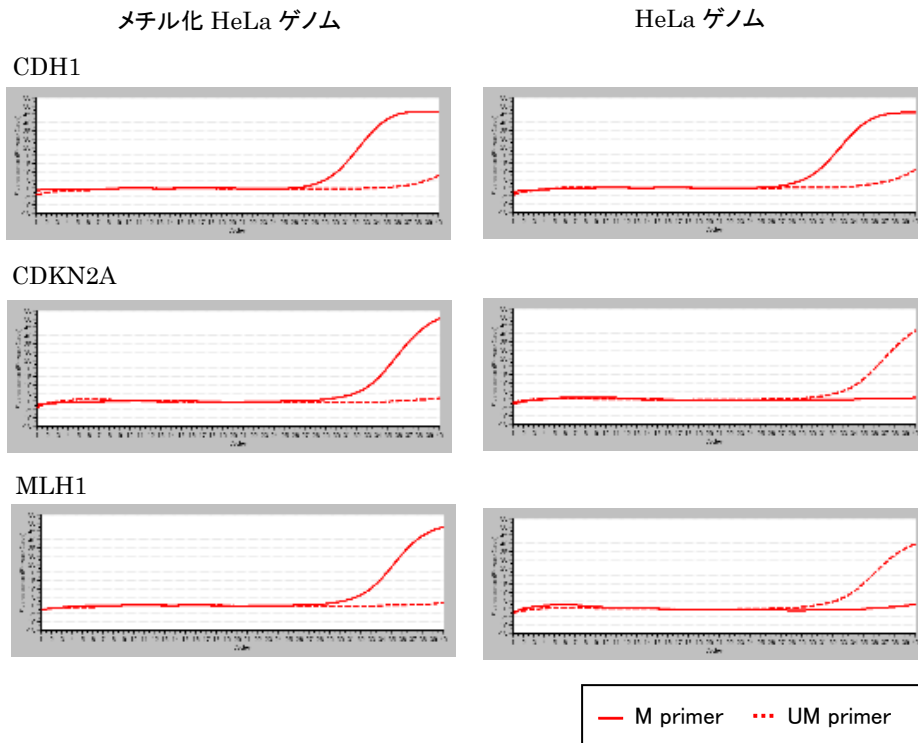
*2 DNA 濃度によって適宜調整可能。通常、バイサルファイト処理済み DNA 10~50 ng 程度を使用する。

- 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。



	メチル化 HeLa ゲノム						HeLa ゲノム					
プライマー	1		2		3		1		2		3	
	M	UM	M	UM	M	UM	M	UM	M	UM	M	UM

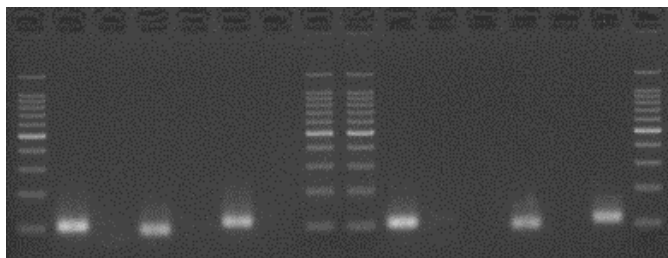


図 4. Methylation Specific PCR 結果

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 \(製品コード ME002\)](#)

[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。

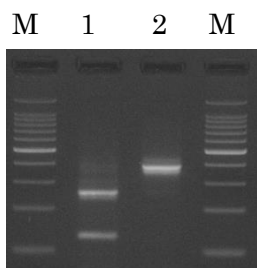


図 6. COBRA の結果

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 \(製品コード ME002\)](#)

[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	SYNGENE	GENOME
1	cg00002032	NM_017031.2	isoform 1 is encoded by transcript variant 4; serpinin	0.09170	3358	1318	2038	0.00000	ATSD1	ATSD1	hg38
2	cg00002426	NM_007219.2	Serpinin-associated protein; go_component: rtr	0.09445	2151	1943	191	0.00000	SLMAP	SLAP; KIAA1681	hg38
3	cg00003994	NM_009243.3	growth arrest-specific homeo box; go_component: nu	0.09639	1674	1593	171	0.00000	MEIQ2	GAX; MOX2	hg38
4	cg00005847	NM_004918.4	homeobox protein Hox D3; Hox A 1; mouse; homolog	0.10558	2732	2433	299	0.00000	HOXD3	HOM; HOXD3; HO	hg38
5	cg00006414	NM_020781.2	isoform 3 is encoded by transcript variant 2; zinc fing	0.10940	2463	2070	393	0.00000	ZNF398	FSL; FZ1; ZNF4; KL	hg38
6	cg00007961	NM_015368.3	membr; go_component: membrane; go_component:	0.12004	3793	3483	310	0.00000	FANK1	MRS1; UNQ2529; M	hg38
7	cg00008493	NM_182971.1	cytochrome c oxidase subunit VIII; isoform 2; go_com	0.13361	4452	335	4117	0.00000	COX8C	COX-3; MGCL1877	hg38
8	cg00008713	NM_014214.1	inosine monophosphatase 2; go_function: hydrolyse a	0.13720	10195	8812	383	0.00000	IMP2		hg38
9	cg00009407	NM_180298.2	isoform 5 is encoded by transcript variant 2; Bardet-B	0.13870	5951	5723	228	0.00000	TTCL	BB95	hg38
10	cg00010193	NM_037491.1		0.13948	11462	10279	1183	0.00000	FLJ33928		hg38
11	cg00010499	NM_030303.1	phosphonmethylase activity is deficient in patients	0.19671	1555	253	1302	0.00000	PHM2	CDG1; CDG5; CDG1	hg38
12	cg00012199	NM_194430.1	go_component: cellular component unknown; go_fun	0.25123	4029	4084	225	0.00000	RNA924	RNSA; MGC9206	hg38
13	cg00012398	NM_031032.2	synonym: SAMP; FLJ12517; SMOG2; H3-94; SDF2	0.25943	8275	7751	524	0.00000	C1orf42	SAMP; FLJ12517; S	hg38
14	cg00012792	NM_030815.2	isoform 1 is encoded by transcript variant 2; thione	0.26008	12223	11774	444	0.00000	TAND3	EPH4; UNQ245; E	hg38
15	cg00013118	NM_030815.2		0.25957	11074	8428	2628	0.00000			hg38
16	cg00014085	NM_017730.2	go_component: nuclear outer membrane; go_compon	0.25746	3184	4988	188	0.00000	RetSet	FLJ20294	hg38
17	cg00014837	NM_032499.2	go_component: cellular component unknown; go_fun	0.23404	1310	557	753	0.00000	ACRBP	SPD2; OIP-YES-1	hg38
18	cg00015770	NM_181176.1	GTPF receptor; go_component: integral membrane	0.13237	20066	9315	1071	0.00000	GRD13	AQD; SPI150	hg38
19	cg00016988	NM_175341.3	Aplicia AAS-related homolog B (oncogene Rb) mB	0.14352	13195	7684	5511	0.00000	RbOC	ARH; ARH; RHO	hg38
20	cg00018495	NM_032495.4	lung cancer-associated Y protein; not expressed in ch	0.17771	2152	1877	275	0.00000	YOP	OB1; LAGY; TSH; C	hg38
21	cg00020533	NM_033322.2	Tubby-like protein-2; go_process: sensory perceptio	0.25287	2146	1488	658	0.00000	TULP2	RPL4; TUBL1	hg38
22	cg00022337	NM_033497.2	isoform 2 is encoded by transcript variant 2; T878; bo	0.19411	3089	4961	228	0.00000	TAP15	Nucl; RBP55; TAP2	hg38
23	cg00022606	NM_144628.1	go_component: membrane; go_component: integral t	0.12932	9149	9072	277	0.00000	TBC1D20	FLJ45139; C2orf4	hg38
24	cg00022886	NM_032513.3	brain leucine zipper protein; go_function: protein bind	0.14958	18660	9802	7358	0.00000	FLJ37478	BR12; FLJ30354; D	hg38
25	cg00024096	NM_021814.3	homolog of yeast long-chain polyunsaturated fatty ac	0.13244	3688	3262	386	0.00000	ELAVL5	HEL10; d48316.1	hg38
26	cg00024812	NM_032513.2	casein and/or adenosine specificity factor 3; ZN	0.15885	3378	3246	133	0.00000	CPZF	CPZF; CPZF2; CPZ	hg38
27	cg00025138	NM_032141.2	mixed lineage kinase 1 (Tyr and Ser/Thr specificity); go	0.15795	5925	3708	220	0.00000	MLPK1	MLK1; PRK11	hg38
28	cg00025991	NM_014874.1	go_component: nucleus; go_function: catalytic activit	0.16176	10272	8424	1848	0.00000	CPDC	K3A2934; RPL148	hg38
29	cg00027283	NM_032317.2	differentially expressed in adenocarcinoma of the lung	0.19461	13790	855	13125	0.00000	EPH4L3	A18; DAL1; DAL1L	hg38
30	cg00027674	NM_032317.1	Rb1-related GTP-binding protein; go_component: not	0.12432	3794	1596	228	0.00000	RbB18	4-GTPG; Rb-B18; L	hg38
31	cg00029626	NM_021198.2	isoform 1 is encoded by transcript variant 1; enhancer	0.21119	317	718	219	0.00000	CONB1P1	HELI3; C1orf18	hg38
32	cg00029931	NM_021219.3	ribosomal protein L44; 60S ribosomal protein L44; LA	0.05487	3784	3574	210	0.00000	RPL34A	L44L; RPS4L; RPL44	hg38
33	cg00030647	NM_032317.1		0.13061	1301	1000	301	0.00000	FLJ45139	R	hg38

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	P値	Q値	メチル化変動比	A'	B'	C'	D'	E'	F'	G'	H'	A'	AQ	AR	AT	AU	AV	AW	A'
cg0000271	0.001119	0.025222	-1.79449	0.051602	0.105929	0.077984	0.053809	0.101114	0.194653	HMX2	NM_005511	Body	Island						ENHANCEFHM
cg0000390	0.002563	0.039468	1.118222	0.324757	0.321339	0.262661	0.262279												TRUE
cg0000511	1.79E-05	0.004969	-0.66431	0.452267	0.382338	0.48764	0.308744												TRUE
cg0000608	7.39E-05	0.007114	-0.86123	0.215048	0.181449	0.349761	0.194653												TRUE
cg0000624	0.001588	0.030373	1.293396	0.150599	0.116017	0.271899	0.158503												TRUE
cg0000819	0.000848	0.021791	0.944485	0.482441	0.643485	0.664054	0.711379												TRUE
cg0000829	0.001166	0.025794	-0.93377	0.123233	0.137882	0.178843	0.14427												TRUE
cg0001257	0.000324	0.013343	0.848083	0.696449	0.695662	0.758993	0.708213												TRUE
cg0001426	0.000421	0.015136	0.668465	0.670101	0.651307	0.699452	0.673403												TRUE
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												TRUE
cg0001748	0.000454	0.015705	-1.2425	0.228229	0.287673	0.230166	0.225721												TRUE
cg0001784	0.000144	0.008268	0.868841	0.770088	0.762403	0.777898	0.742742												TRUE
cg0001822	0.000113	0.008359	2.012361	0.268531	0.379146	0.436685	0.412264												TRUE
cg0001949	4.32E-05	0.006001	1.621284	0.352191	0.581681	0.575552	0.569461												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

