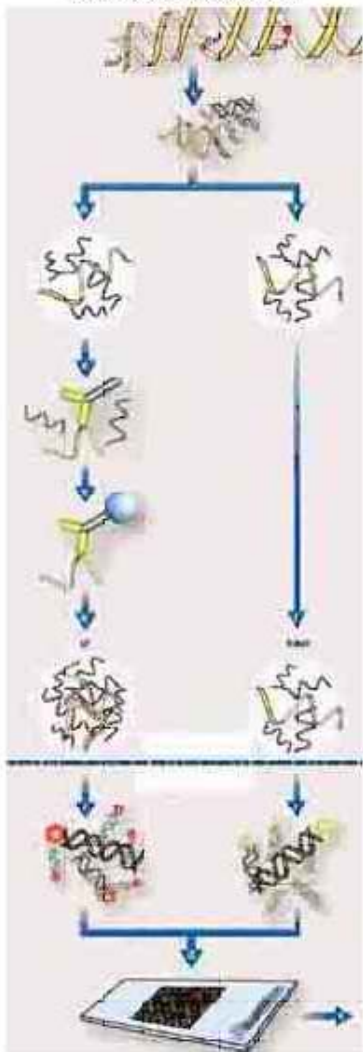


甲基化芯片

甲基化芯片技术示意图



DNA 甲基化是表观遗传学的重要组成部分，在维持正常细胞功能、遗传印记、胚胎发育以及人类肿瘤发生中起着重要作用，是目前新的研究热点之一。随着对甲基化研究的不断深入，各种各样甲基化检测方法应运而生。

其中，MeDIP-chip(MeDIP:Methylated DNA Immunoprecipitation)是目前高通量分析基因组 DNA 甲基化变化的一种准确可靠的实验技术，运用该技术，可以检测全基因组范围内的甲基化位点；研究启动子甲基化对基因的调控；比较不同组织、细胞、肿瘤等的甲基化图谱以及寻找诊断和预后的分子靶点。

仪方生物为您提供甲基化芯片全程技术服务。您只需要提供保存完好的组织或细胞标本，仪方生物的芯片技术服务人员就可为您完成全部实验操作，包括超声

打断基因组、甲基化 DNA 免疫共沉淀、MeDIP 与 Input DNA 片段线性扩增、荧光标记、芯片杂交、图像采集和数据分析，并为您提供完整的实验报告。

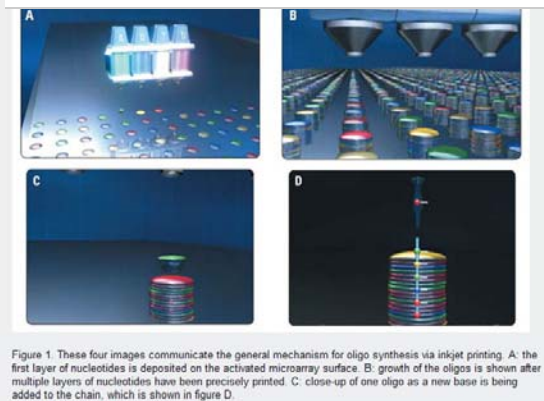
实验流程：

A. 将基因组 DNA 超声打断成 400bp-500bpDNA 片段；

- B. 加热变性并将变性后的单链 DNA 样品分成两份；
- C. 其中一份单链 DNA 样品加入抗 5'-甲基化胞嘧啶核苷抗体。
- D. 使用免疫磁珠法分离 C 步样品中甲基化 DNA 片段的抗体复合物，样品中其余的非甲基化 DNA 片段被洗脱；
- E. 纯化免疫共沉淀的 DNA 片段（MeDIP）；视需要可对 MeDIP 与 Input 样品进行扩增；
- F. 对 MeDIP(Cy5)与 Input(Cy3)样品分别进行标记；
- G. 标记后的 MeDIP 与 Input 样品混合、变性，与 DNA 微阵列芯片杂交；
- H. 用高解析度芯片扫描仪检测杂交信号；对杂交结果进行数据提取、标准化、峰值分析、报告。

甲基化芯片平台

一、Agilent 甲基化



Agilent 的甲基化芯片通过 SurePrint

芯片合成专利技术，优化探针设计及实验方法，可灵活进行甲基化研究，得到高灵敏度、高特异性、高重复性的结果。其产品包括

Agilent 人 CpG 岛芯片、Agilent 小鼠 CpG

岛芯片、Agilent 人启动子芯片、Agilent 小鼠启动子芯片、Agilent 人 Proximal 启动子芯片等。

产品	物种	规格	描述
Human CpG Island 甲基化芯片	人类	244K	27,800 CpG 岛约 21MB, 237,220 个探针存在于 CpG 岛的 95 个碱基中
Mouse CpG Island 甲基化芯片	小鼠	2×105K	涵盖了 16,030 CpG 岛, 97,652 个探针存在于 CpG 岛的 95 个碱基中,
Human Promotor 启动子甲基化芯片(CHIP on Chip)	人类	244K×2slides	~17,000 个人类转录本, 涵盖转录本起始位点-5.5kb 上游至+2.5kb 下游区域
Mouse Promotor 启动子甲基化芯片(CHIP on Chip)	小鼠	244K×2slides	~17,000 个小鼠转录本, 涵盖转录本起始位点-5.5kb 上游至+2.5kb 下游区域

二、Illumina 甲基化芯片

DNA 甲基化对生命过程非常重要，DNA 甲基化是基因精确调控的方法之一。哺乳动物基因组中，DNA 甲基化是指 CpG 二核苷酸中的胞嘧啶第 5 位碳原子被甲基化。DNA 甲基化是一种基因外修饰，不改变 DNA 的一级结构；它在细胞正常发育、基因表达模式以及基因组稳定性中起着至关重要的作用。基因的非正常甲基化往往和疾病关联。

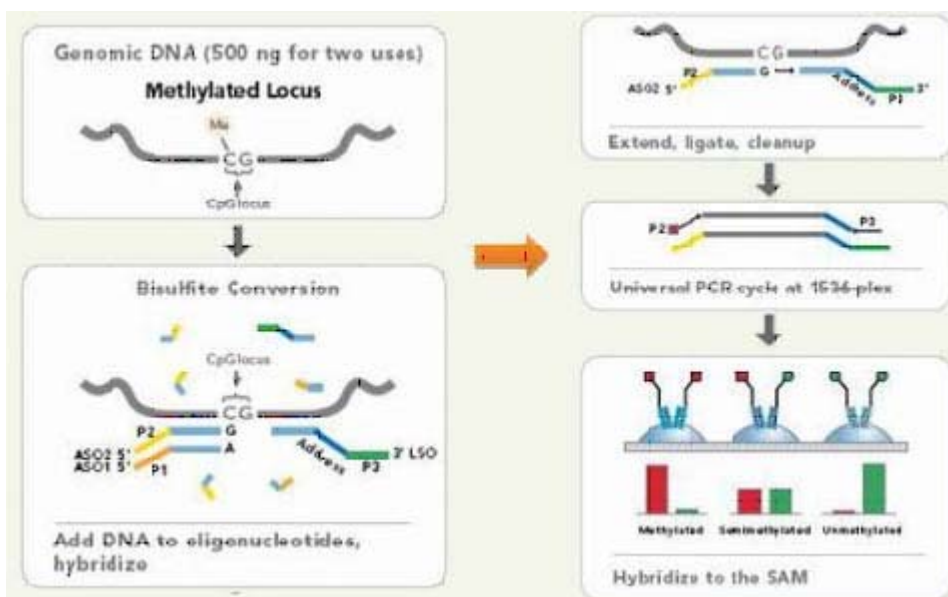
GoldenGate 甲基化研究基因芯片的工作原理：

GoldenGate 甲基化研究是目前唯一结合了样品高通量，位点高通量以及单 CpG 分辨率的一个技术平台。

产品	说明	描述
Human Methylation27 v1.0 DNA Analysis Kit	人类全基因组甲基化芯片	分析 27,578 个 CpG 位点，涵盖 14,000 多个基因
GoldenGate Methylation Cancer Panel I		807 个与肿瘤相关的基因，1505 个甲基化岛（CPG 岛）
GoldenGate 定制甲基化芯片		

GoldenGate 自定义甲基化芯片：

可以任意选择待研究的位点，研究人员向 illumina 提供以下信息中的任何一种，



illumina 可帮助选择 CpG 位点，制成甲基化研究芯片，每个样品可同时检测 384-1536

个甲基化位点。

- NCBI's 基因 ID
- 基因标志 (HUGO & RefSeq)
- RefSeq mRNA accession 号
- RefSeq mRNA GI 号
- 染色体区域 (RefSeq build, chromosome, pair of coordinates)
- 序列

三、Roche-NimbleGen DNA 甲基化芯片

基因组 DNA 甲基化修饰是目前表现遗传学研究的重点内容, Roche-NimbleGen 的专利无膜芯片合成技术可制作高密度的长片断 Oligo 探针 (50-85mer) 芯片, 结合高严谨度的杂交方法可得到具有高灵敏度和特异性的结果, 同时, NimbleGen 公司的 DNA 甲基化检测实验使用双色标记 (Cy3/Cy5), 同一张芯片上的信号变异几乎可以忽略。

罗氏 NimbleGen 提供全基因组甲基化检测芯片、启动子甲基化芯片和定制的甲基化芯片。在检测上采用甲基化 DNA 免疫沉淀方法 (Methylated DNA Immunoprecipitation, MeDIP), 即使用甲基化胞嘧啶特异的抗体对甲基化 DNA 进行富集后, 进行标记和杂交, 该过程操作简便, 可靠性高。罗氏 NimbleGen 丰富而多样化的产品为基础生物学以及肿瘤和其他疾病的表现遗传学机制研究, 直至寻找大规模的甲基化表观遗传学标志物提供了高效的技术平台。

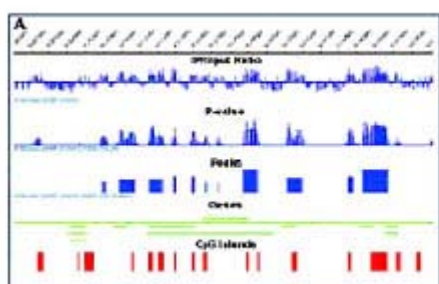


图 A 用 NimbleGen 公司的芯片验证 DNA 甲基化

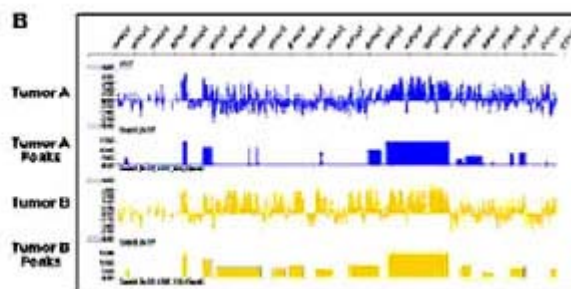


图 B 检测不同样本中 DNA 甲基化差异

技术特点:

高密度探针, 高分辨率检测: 针对人、大鼠和小鼠三个物种设计的 2.1M 全基因组叠瓦式芯片 (Whole Genome Tiling), 使用 10 张 2.1M 芯片, 以 100bp 的间隔 (或者 4 张芯片以 200bp 左右的间隔) 便实现全部非重复区基因组覆盖; 仅以 1 张针对人和小鼠已知基因启动子的 2.1M Deluxe 启动子芯片, 单张芯片便能以 100bp 的探针间隔覆盖人

或小鼠已注释的启动子、已注释的 CpG 岛、miRNA 基因启动子、或人为选择的编码区基因；定制芯片可以在更高分辨率下实现对基因组覆盖。

高灵敏度和高特异性：通过对长度在 50-75mer 探针 Tm 值的优化设计，具有极高灵敏度和特异性；双通道杂交可以有效消减芯片间的差异，提高芯片重复性，能够可靠地检测出每 500bp 片段内 2 个甲基化 CpG。CpG 与增强子芯片包含印记基因（如 H19/IGF2）和深度甲基化的 HoxA 基因群，可以作为阳性对照区监控实验结果。

覆盖多个物种的芯片，多种芯片规格：覆盖人，小鼠，大鼠，鸡，狗，蚯蚓，果蝇和部分植物的全基因组芯片；针对人和小鼠生物学上重要的基因组区域，提供针对启动子和/或 CpG 岛的甲基化芯片；或者根据客户设计的探针来定制芯片。

最新的芯片设计：使用最新的基因组和序列注释信息，确保全面而及时的基因组信息更新。也可以根据原本的基因组数据获取芯片设计，方便与原来的研究结果进行对比。

Roche-NimbleGen CpG promoter 芯片：

品名	物种	芯片格式	描述
HG 18 DNA Meth 2.1M Deluxe	人类	1×2.1M	覆盖 31548 个启动子，上游 7.25kb 至下游 3.25kb，以及 28226 个 CpG islands，475 个 miRNA（上游 15kb 至转录本末）
MM9 DNA Meth 2.1M Deluxe	小鼠	1×2.1M	覆盖 22425 个启动子，上游 8.2kb 至下游 3kb，以及 28226 个 CpG islands，510 个 miRNA（上游 15kb 至转录本末）
HG18 Meth 3×720K CpG plus Promoter	人类	3×720K	覆盖 22532 个启动子，上游 2.44kb 至下游 610bp，以及 27728 个 CpG islands
MM9 Meth 3×720K CpG plus Promoter	小鼠	3×720K	覆盖 20404 个启动子，上游 2.96kb 至下游 740bp，以及 15980 个 CpG islands
RN34 Meth 3×720K CpG plus Promoter	大鼠	3×720K	覆盖 15287 个启动子，上游 3.88kb 至下游 970bp，以及 15790 个 CpG islands
HG18 Meth 385K CpG plus Promoter	人类	1×385K	覆盖转录起始位点上游 800bp 至下游 200bp，以及 28226 个 CpG islands
MM8 Meth 385K CpG plus Promoter	小鼠	1×385K	覆盖转录起始位点上游 1300bp 至下游 500bp，以及 15963 个 CpG islands
RN34 Meth 385K CpG plus Promoter	大鼠	1×385K	覆盖转录起始位点上游 1300bp 至下游 500bp，以及 15809 个 CpG islands

Roche-NimbleGen 启动子芯片:

品名	物种	芯片格式	描述
HG 18 Refseq promoter	人类	1×385K	覆盖 18028 个基因启动子, 转录起始位点上游 2.2kb 至下游 0.5kb
MM8 Refseq promoter	小鼠	1×385K	覆盖 17354 个基因启动子, 转录起始位点上游 2kb 至下游 0.5kb
RN34 Refseq promoter	大鼠	1×385K	覆盖 15398 个基因启动子, 转录起始位点上游 2.2kb 至下游 0.5kb
ATH6 min promoter	拟南芥	1×385K	覆盖转录起始位点上游 1200bp 至下游 300bp

Roche-NimbleGen microRNA DNA 甲基化芯片

品名	物种	芯片格式	描述
HG 18 Meth 385K nc RNA Promoter	人类	1×385K	覆盖 462 个人的 miRNA: -12.5kb~7.5kb; 覆盖 375 个 snoRNA: -12.5kb~7.5kb; 覆盖 89 个 piRNA cluster: -10kb~10kb
HG 18 DNA Meth 2.1M Deluxe	人类	1×2.1M	覆盖转录起始位点上游 7.25kb 至下游 3.25kb, 以及 28226 个 CpG island, 475 个 miRNA(上游 15kb 至转录本末)
MM9 DNA Meth 2.1M Deluxe	小鼠	1×2.1M	覆盖转录起始位点上游 8.2kb 至下游 3kb, 以及 16002 个 CpG island, 510 个 miRNA(上游 20kb 至下游 1kb)

典型应用:

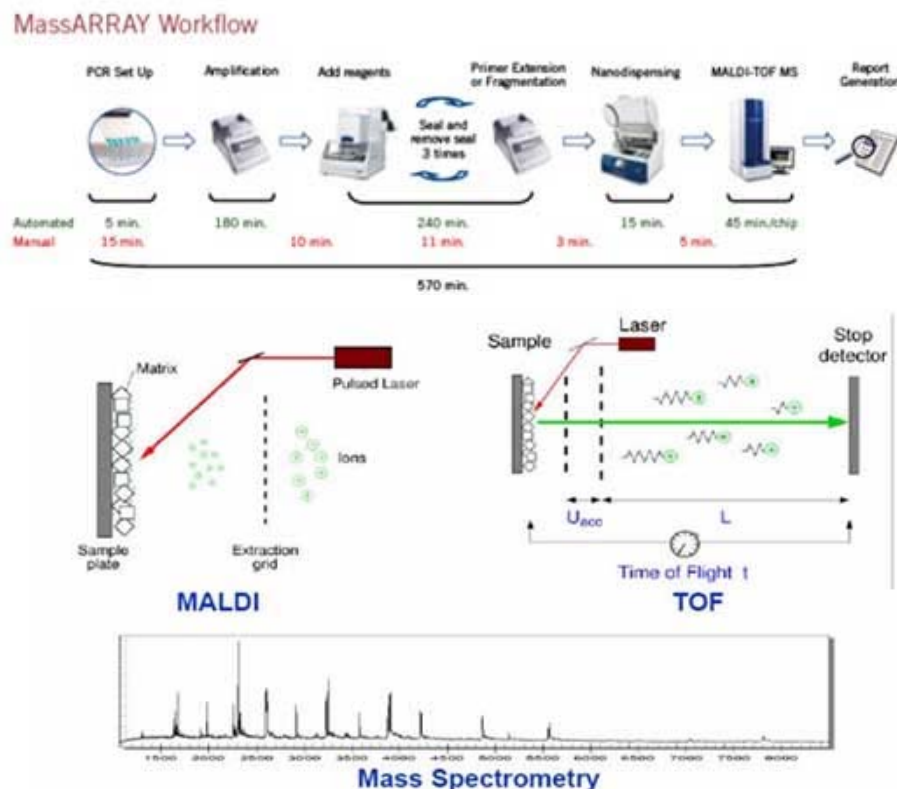
- 对肿瘤、遗传性疾病的研究, 可选择针对全基因组、启动子或 CpG 岛设计的芯片, 也可以定制设计以更贴切地满足各种具体需要。
- 启动子区甲基化对基因的调控研究
- 比较不同组织、细胞的甲基化图谱, 发现甲基化修饰模式
- 寻找诊断和预后相关的甲基化修饰标志

四、Sequenom 甲基化芯片

MassARRAY®EpiTYPER™ DNA 甲基化分析技术结合了碱基特异性酶切反应和 MALDI-TOF 检测原理用于 DNA 甲基化定量分析。可实现多重 CpG 的分析检测，是用于 DNA 甲基化定量分析及在基因组任何区域或者候选基因中鉴定甲基化定量分析的首选方法。

碱基特异性酶切（MassCLEAVE）实验由亚硫酸盐处理待测 DNA 开始。经过亚硫酸盐处理，DNA 中的未甲基化的胞嘧啶（C）转变为尿嘧啶（U），由此在 DNA 模板中产生甲基化特异的序列变化。利用 5' 末端带有 T7-启动子的引物进行 PCR 扩增，产物经 SAP（虾碱性磷酸酶）处理后用于碱基特异性的酶切反应。酶切后 DNA 片段的大小和分子量取决于亚硫酸盐处理后的碱基变化，飞行质谱能测出每个片段的分子量，配套软件 EpiTYPER 则能自动报告每个相应片段的甲基化程度。

技术特点：



★ 高性能

- 能够分析覆盖长达 600bp 的多个 CpG 位点
- 能够分析福尔马林处理的石蜡组织
- 无需任何荧光标记

★ 高灵敏度

- 精度高 (5%CV)
- 检测低至 5% 的甲基化水平
- 分析需要的起始样本量少 (<5pg)

★ 高性价比

- 用 384 孔板进行 PCR 反应
- 一个扩增产物可以进行多重 CpG 位点分析
- 无需后续验证, 可直接发表结果

★ 操作简便

- 无需设计 CpG 位点特异性引物
- 无需进行 PCR 产物纯化
- 研究几个到几百个甲基化位点的理想手段

品名	描述
Sequenom MassArray®DNA 甲基化分析定制服务	定制服务