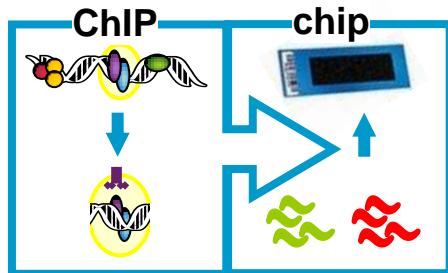




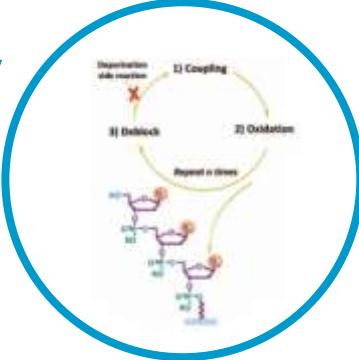
Agilent Genomics Location Analysis Tools

Genomic DNA enrichment coupled with
microarray and other new emerging technologies



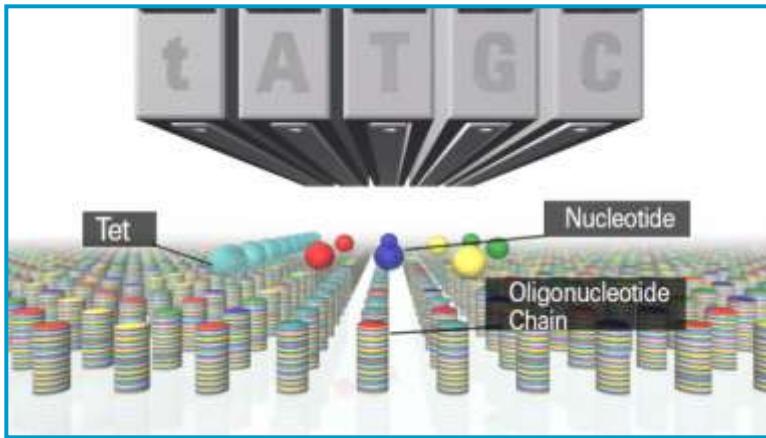
Agilent SurePrint™ Microarray Technology

オリゴ DNA 鎖を直接ガラス基板に *in-situ* 合成



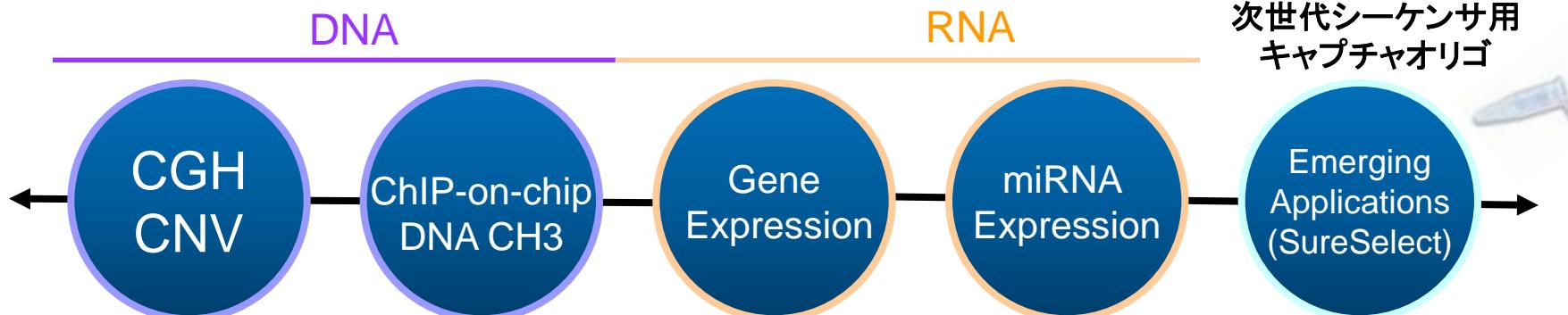
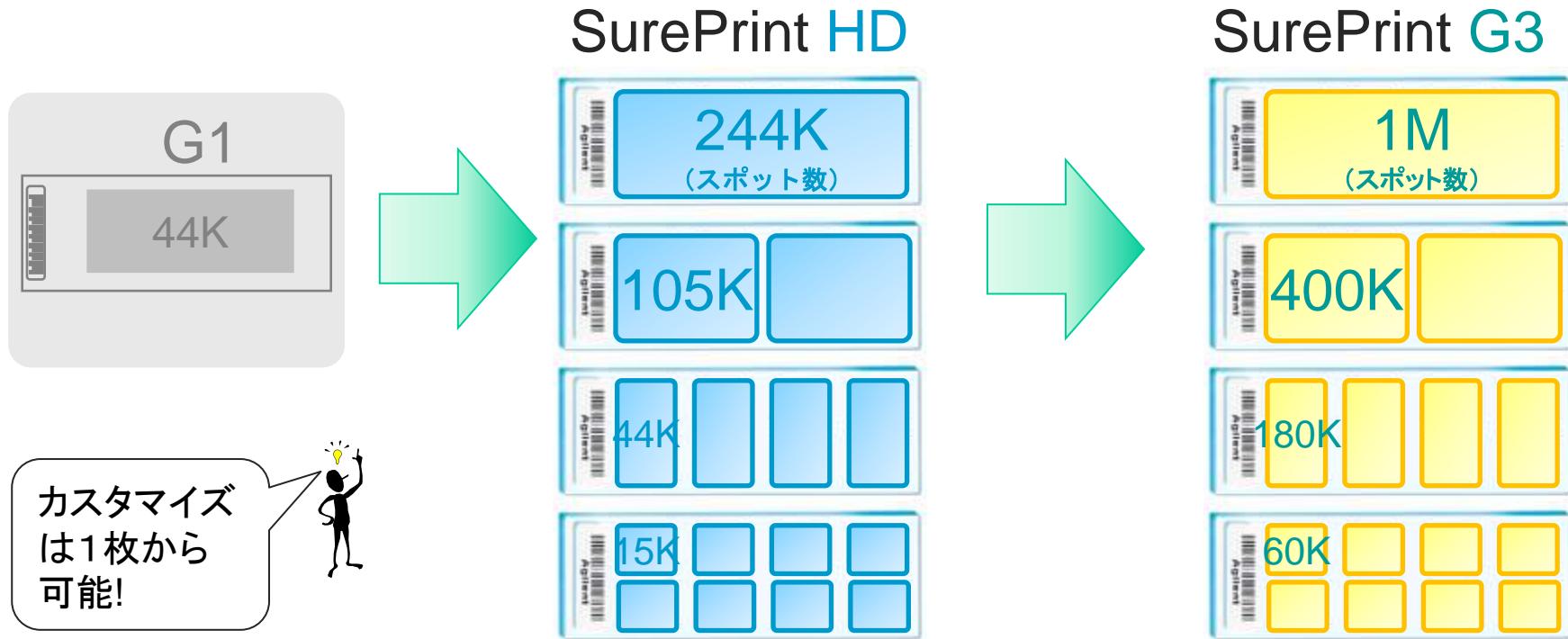
高精度インクジェットプリント
(Droplet の容量・位置の精度)

鮮明かつ正確なスポット



- 高感度、高品質、高精度
- 高密度（第一世代 → 第二 → 第三）
- 高いフレキシビリティ（カスタマイズ）

アジレントのマイクロアレイフォーマット 高密度化とマルチパック化



内容

1. なぜ ChIP-on-chip? なぜ DNA Methylation?

- ・転写調節の理解に必要な因子、幹細胞での実例

2. マイクロアレイと次世代シーケンサ

- ・次世代シーケンサ時代にDNAマイクロアレイの使い分け

3. ChIP-on-chip / DNA Methylation マイクロアレイ

- ・設計済みのデザイン：プロモータアレイ、CpG+UMRアレイ
- ・eArrayを用いたカスタムデザイン：高密度アレイ、マルチパックアレイ

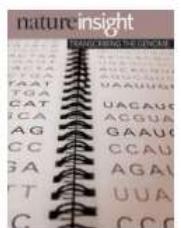
4. 実験・解析フローと統合データ解析ツール

- ・免疫沈降からイベント解析まで
- ・Agilent Genomic Workbench, GeneSpring GX11

5. Agilent エピジェネティクスの新しい取り組み



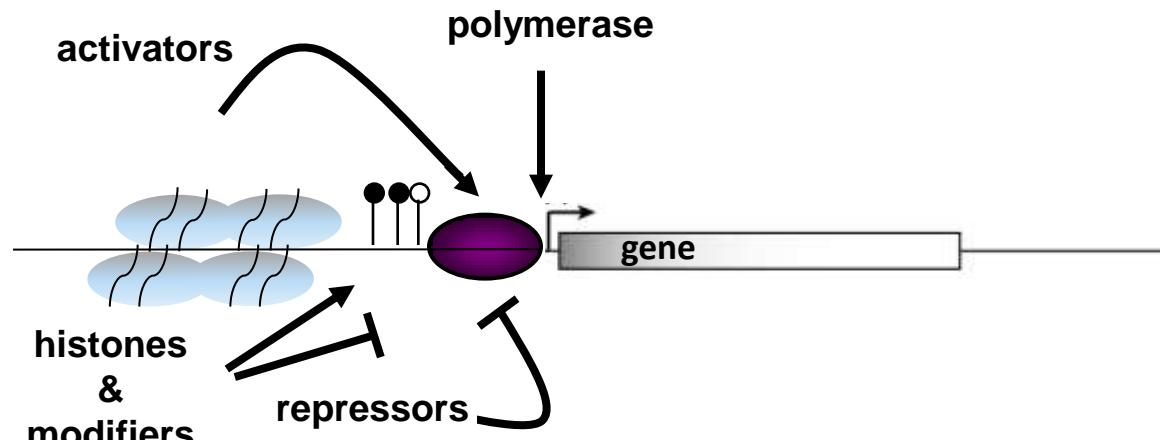
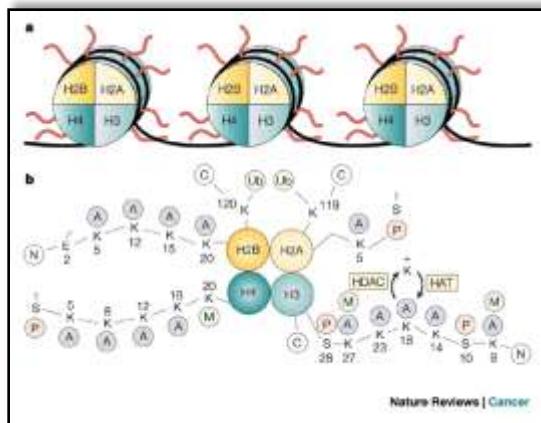
遺伝子発現を制御する調節因子の gDNA への結合 Regulome / エピジェネティクス



TRANSCRIBING THE GENOME

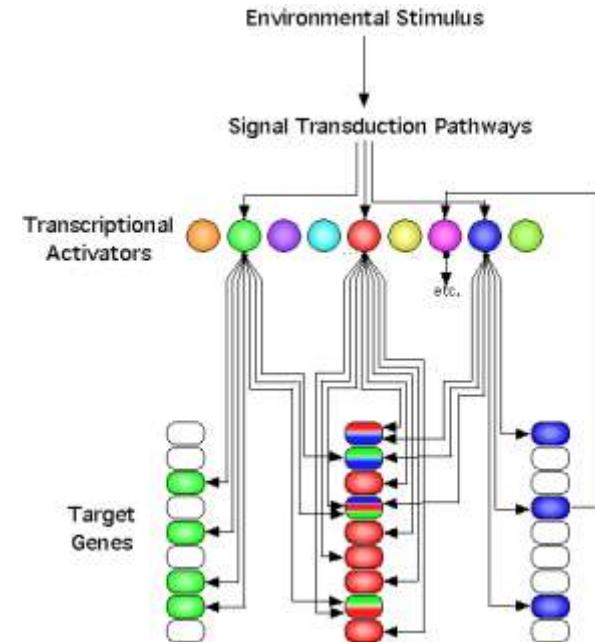
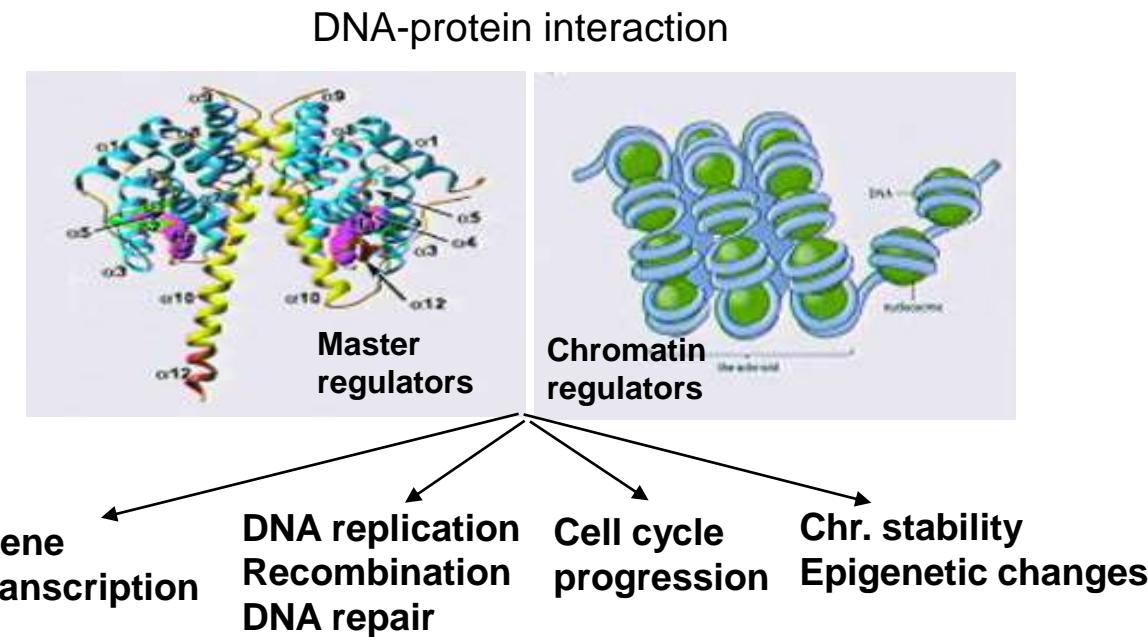
Nature. 2009 Sep 10;461(7261):185

- ヒストン修飾(活性型、非活性型)
 - クロマチンリモデリング因子
 - 転写因子



ゲノムの転写の理解に遺伝子発現を制御する Regulome 解析が重要

ChIP-on-chip to study DNA-Protein interaction



R. Young

DNA-protein interactions are studied within the context of the natural cell environment (in vivo).

Combining expression and binding of the transcription machinery data will help:

- Identify genomic targets and regulatory pathways
- Understand gene expression profiles of disease relevance
- Identify biomarker and toxicant signatures

ChIP-on-chip：幹細胞の転写調節を探る

新しい種類の幹細胞が次々に登場

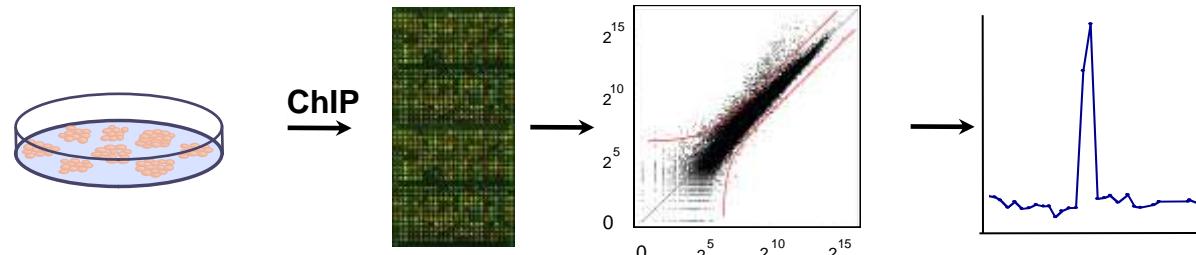
万能性細胞(iPS)、ヒトES細胞により近いマウスES細胞(EpiSC)など

次世代DNAマイクロアレイによるゲノミクス・エピゲノミクス解析が加速

多能性保持や分化の調節機構の違いの理解

ChIP-on-chip による転写調節の理解が進展

哺乳類の細胞系にて、結合データの信頼性と共に報告 1~9)



Human embryonic
stem cells

Whole genome arrays
Promoter arrays

Scatter plot
(ChIP / reference)

Promoters bound by
Transcriptional regulators

- 1) Boyer LA, et al: Cell (2005) 122: 947-956
- 2) Lee TI, et al: Cell (2006) 125: 301-313
- 3) Boyer LA, et al: Nature (2006) 441: 349-353
- 4) Ji H, et al: Nucleic Acids Res (2006) 34: e146.
- 5) Tesar, PJ, et al: Nature (2007) 448: 196-199

- 6) Guenther MG et al : Cell (2007) 130, 77-88
- 7) Cole MF et al : Genes and Dev. (2008) 22: 746-755
- 8) Endo M et al : Development (2008) 135, 1513-1524
- 9) Jaenisch R et al : Cell (2008) 132: 567-582

CpGアイランドとDNAメチル化

哺乳類の遺伝子の5'末端プロモータ領域に高頻度に出現

メチル化されていないCpGの出現頻度が高い配列

➤ Impact of DNA methylation:

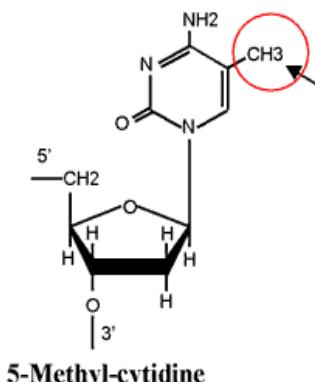
- Protein recruitment leading to compact, silent chromatin
- Gene regulation, gene silencing, X-inactivation

Table 1. Overview of CpG distribution in the human genome

Subset	Length, Mb	GC content	Observed CpG fraction	Normalized CpG fraction
Whole genome	3.1*	0.38	0.009	0.25
1 kb upstream regions	15	0.53	0.042	0.60
1 kb downstream regions	15	0.45	0.013	0.26
Transcription units	930	0.42	0.011	0.26
Exons	45	0.50	0.028	0.45
Introns	880	0.41	0.010	0.24

Length refers to the total length of DNA examined.

*Length given in gigabases.



PNAS, January 31, 2006, vol.103, No.5

1. なぜ ChIP-on-chip? なぜ DNA Methylation?

- ・転写調節の理解に必要な因子、幹細胞での実例

2. マイクロアレイと次世代シーケンサ

- ・次世代シーケンサ時代にDNAマイクロアレイの使い分け

3. ChIP-on-chip / DNA Methylation マイクロアレイ

- ・設計済みのデザイン：プロモータアレイ、CpG+UMRアレイ
- ・eArrayを用いたカスタムデザイン：高密度アレイ、マルチパックアレイ

4. 実験・解析フローと統合データ解析ツール

- ・免疫沈降からイベント解析まで
- ・Agilent Genomic Workbench, GeneSpring GX11



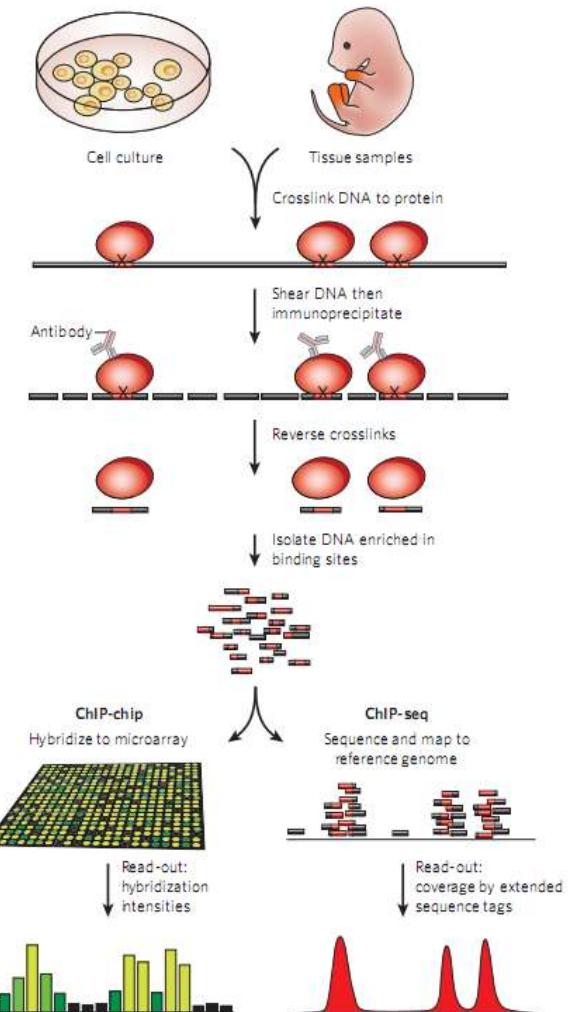
Mapping of regulatory elements using ChIP-on-chip and/or ChIP-seq

染色体におけるゲノムDNA-タンパク質相互作用を多数の相互作用の集まりとして丸ごと捉える

転写調節のネットワークやメカニズムをダイレクトに解明する

エピジェネティクスを制御する抗癌剤、癌のメカニズム、診断・治療への応用

クロマチン免疫沈降(ChIP)の利点とコストパフォーマンス／スループットの高いDNAマイクロアレイ(on-chip)の利点の組み合わせ



Genomic views of distant-acting enhancer:
“Transcribing the genome” Nature 435: 199-205 (10 September 2009)

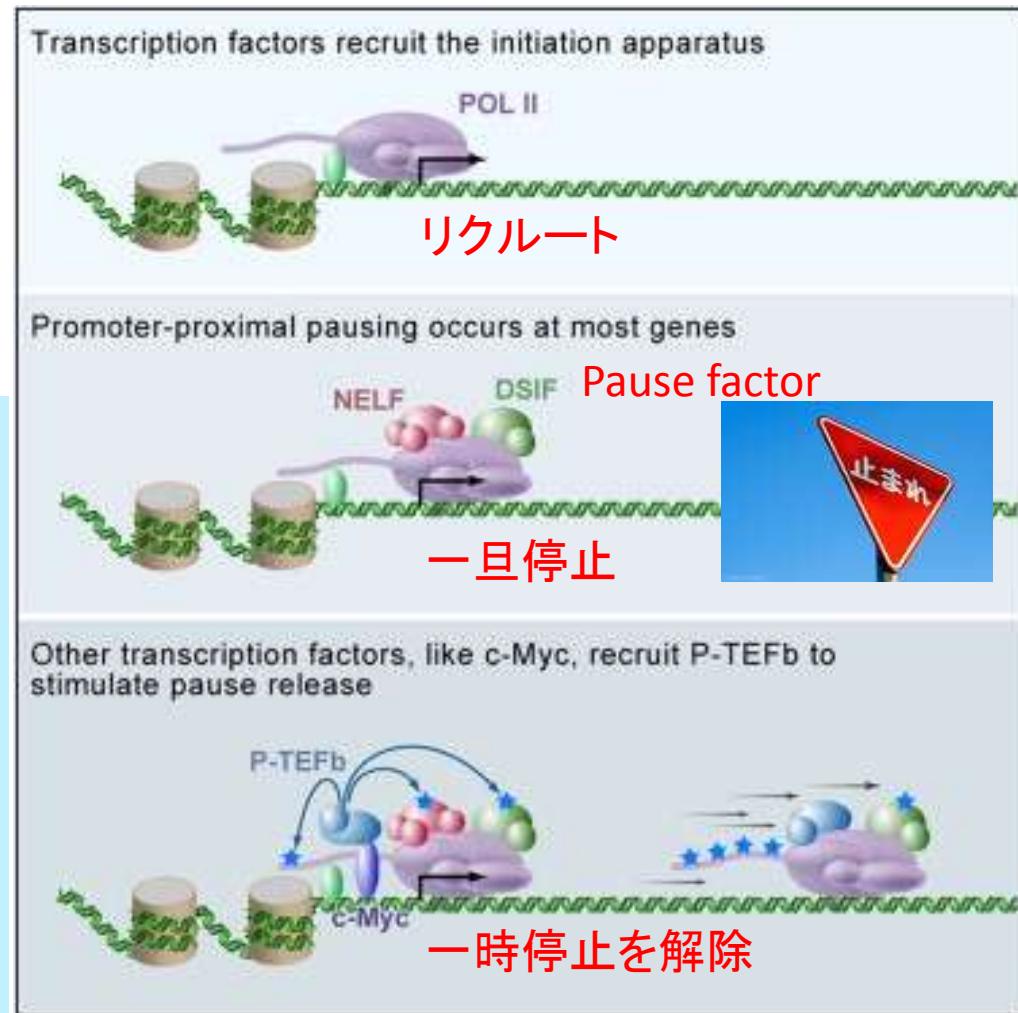
ChIP-seq + ChIP-on-chip (Master of arrays and NGS)

Cell. 2010 Apr 30;141(3):432-45.

“c-Myc regulates transcriptional pause release.”

Rahl PB, Lin CY, Seila AC, Flynn RA, McCuine S, Burge CB, Sharp PA, Young RA.

- c-Myc (細胞増殖のkey regulator)による転写の一時停止解除について、ChIP-seq とChIP-on-chip(カスタムプロモータアレイ)を駆使して報告。
- アレイ解析; RNA Polymerase II 転写を一時停止する2因子の ChIP-on-chip。材料細胞は様々な条件で処理した mES 細胞(ノックダウンや阻害剤)。



Microarray or NGS? → 時間・コスト・解像度・カバレッジ・細胞数などのトレードオフ

(参考) ゲノム解析と転写解析

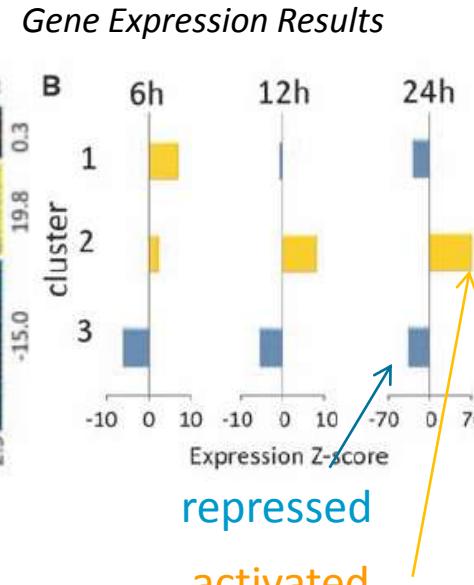
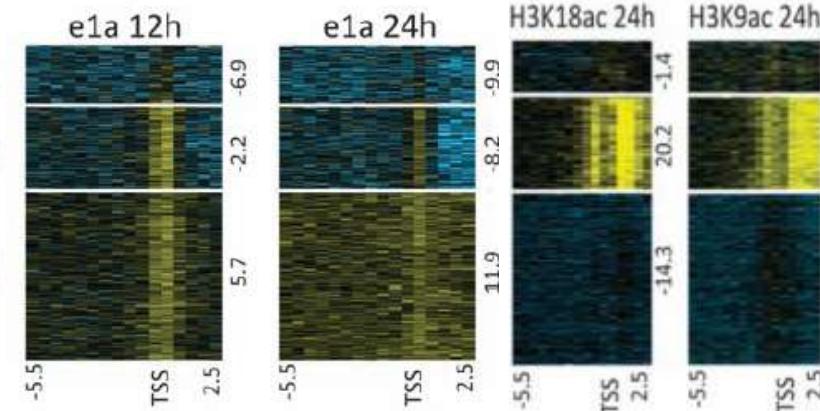
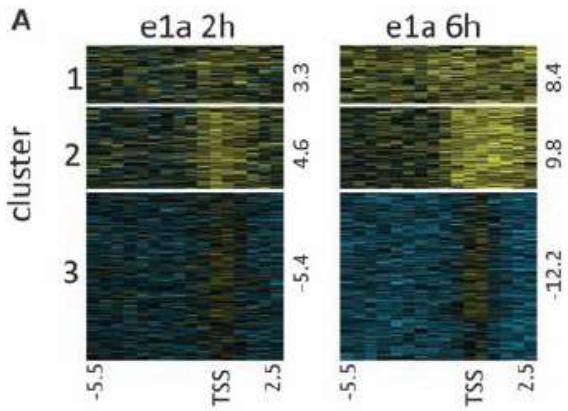
次世代マイクロアレイとシークエンサの用途、使い分け

	マイクロアレイ (on-chip)	次世代シークエンサ (seq)
ゲノム	<ol style="list-style-type: none"> コピー数比 (CGH/CNV/Cyto) 切断点解析 (Amp/del, splice) 特定領域のキャプチャ e.g. Exon capture → SNP検出 cDNA / Regulatory variant 	<ol style="list-style-type: none"> 新モデル生物配列決定 リシークエンシング ヒトゲノム (正常・癌 ／幹細胞クローンなど) 哺乳類ゲノム、エピゲノム
転写	<p><u>転写産物 (種類と量)</u></p> <p>既知の mRNA プロファイリング 既知の miRNA プロファイリング 遺伝子 / miRNA スクリーニング 新規転写物の探索 (Tiling array)</p>	<p>デジタル遺伝子発現 (RNA-seq) 新規転写物の探索 (e.g. Non-coding, 融合遺伝子)</p>
	<p><u>転写調節因子 (どこにどれだけ)</u></p> <p>特定領域 (カスタマイズ可) の 結合部位を効率良くデータ取得 MultipackアレイでのIP条件検討</p>	<p>結合部位をゲノム網羅的に探索 (ChIP-seq)</p>

Research for “Genome and Transcribing the genome”..

Gene Expression + ChIP-on-chip (Time Course Exp.)

ChIP-on-chip results



時系列のChIP データから遺伝子を3種に分類

- **Cluster 1:** 病原体や炎症に対する反応に関する遺伝子
 - **Cluster 2 :** 細胞増殖、細胞分裂、DNA合成に関する遺伝子
 - **Cluster 3:** 発生・分化に関する遺伝子
-
- アデノウイルス e1a が引き起こすエピジェネティックな変化について、ChIP-on-chip (カタログプロモータアレイ)と発現アレイを活用。
 - アレイ解析: さまざまな蛋白(e1a, p300 など)、ヒストン修飾(H3K18ac, H3K9ac, H4K16ac)のタイムコース ChIP-on-chip とタイムコース発現プロファイリングし、低アセチル化の発癌性形質転換における関与を示す。

Using Agilent Human Expression Arrays and Agilent Human Promoter Arrays... Ferrari et al., Science 2008

内容

1. なぜ ChIP-on-chip? なぜ DNA Methylation?

- ・転写調節の理解に必要な因子、幹細胞での実例

2. マイクロアレイと次世代シーケンサ

- ・次世代シーケンサ時代にDNAマイクロアレイの使い分け

3. ChIP-on-chip / DNA Methylation マイクロアレイ

- ・設計済みのデザイン：プロモータアレイ、CpG+UMRアレイ
- ・eArrayを用いたカスタムデザイン：高密度アレイ、マルチパックアレイ

4. 実験・解析フローと統合データ解析ツール

- ・免疫沈降からイベント解析まで
- ・Agilent Genomic Workbench, GeneSpring GX11

5. Agilent エピジェネティクスの新しい取り組み



Agilent デザイン Promoter マイクロアレイ 244K、SurePrint G3 フォーマット



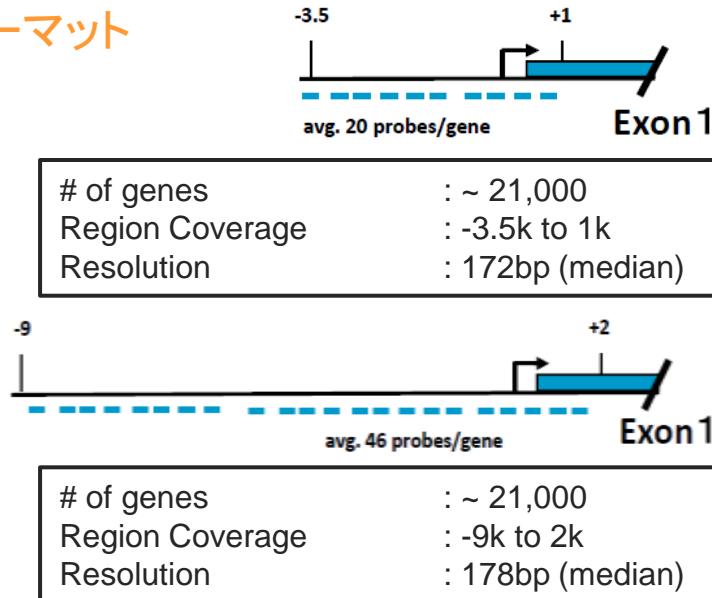
Promoter マイクロアレイ:

- Human hg19、Mouse mm9
に基くアノテーション
 - Human ENCODE 領域をカバー
したENCODE ChIP-on-chip
マイクロアレイもあります

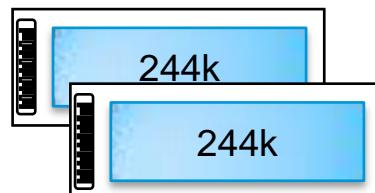
SurePrint G3 フォーマット



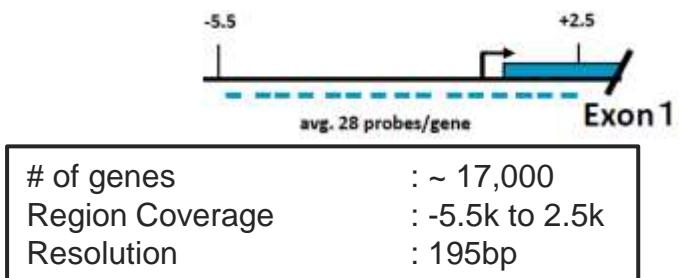
1スライドで 2サンプル実験



244K フォーマット



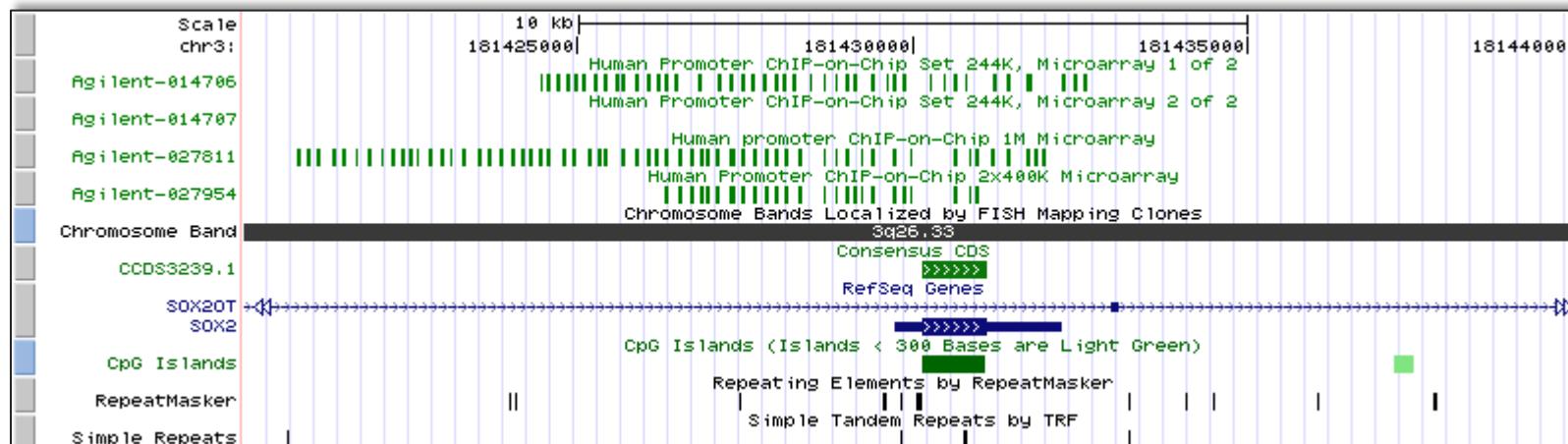
2スライドセットで 1サンプル実験



Promoter ChIP-on-chip Microarray Feature and Benefits

Feature	Benefit
• Higher Density	• Expanded coverage to detect more sites of significance
• Flexibility in Content and Format	• Option to balance coverage with cost-effectiveness and throughput
• Validated content	• Ability to detect DNA-protein binding sites with few probes and high confidence
• Updated content	• Comprehensive coverage based on current human Hg19 and mouse Mm9 databases

Probe coverage comparison



UCSC Genome Browser on Human Feb. 2009 (GRCh37/hg19) Assembly

Agilent Promoter ChIP-on-chip Microarrays Comparison

	Format	Design ID	# of Genes	Region Coverage	Resolution
Human	G3 1x1M	027811	~21,000	-9k to +2k	178bp (median)
	G3 2x400K	027954	~21,000	-3.5k to +1k	172bp (median)
	HD 1x244K	014706 014707	~17,000	-5.5k to +2.5K	~195bp
Mouse	G3 1x1M	028383	~19,000	-9k to +2k	180bp (median)
	G3 2x400K	028384	~19,000	-3.5k to +1k	193bp (median)
	HD 1x244K	014716 014717	~17,000	-5.5k to +2.5K	~195bp

SurePrint G3 Human Promoter ChIP-on-chip 1x1M Microarray Kit

- The same high sensitivity and accuracy provided by the earlier generation arrays but adds the benefits of extended coverage, updated content and increased cost savings. C+ version scanner is required.
- **Coverage includes extra miRNA and other small non-coding RNA regions.**

Agilent Part Number	G4873A
Design ID	27811
Sequences	~21,000 of the best-defined human genes represented as defined by RefSeq Probes 966,092 probes are represented, median spacing of 178bp.
Coverage	-9kb upstream to +2kb downstream of the transcriptional start sites, ~46 probes/gene
Composition	Enriched content annotated to UCSC hg19 (NCBI Build 37, February 2009)

SurePrint G3 Human Promoter ChIP-on-chip 2x400K Microarray Kit

- The same high sensitivity and accuracy provided by the earlier generation arrays but adds the benefits of extended coverage, updated content and increased cost savings. C+ version scanner is required.
- Each slide contains **two 400K** Microarrays

Agilent Part Number	G4874A
Design ID	27954
Sequences	~21,000 of the best-defined human genes represented as defined by RefSeq Probes 414,043 probes are represented, median spacing of 172bp.
Coverage:	-3.5kb upstream to +1kb downstream of the transcriptional start sites, ~20 probes/gene, <i>without</i> extra miRNA and other small non-coding RNA regions
Composition	Enriched content annotated to UCSC hg19 (NCBI Build 37, February 2009)

SurePrint HD Human Promoter ChIP-on-chip

1x244K Microarray, 2-design Set

- Specifically designed to identify human DNA binding proteins through traditional chromatin immunoprecipitation (ChIP) pull-down coupled with powerful DNA microarray location analysis.
- Earlier format (HD) optimized for B-version scanner

Agilent Part Number	G4495A
Design ID	014706, 014707
Sequences	~17,000 of the best-defined human genes represented as defined by RefSeq
Probes	-5.5kb upstream to +2.5kb downstream of the transcriptional start sites, ~25 probes/gene. Spacing ~195bp.
Composition	Enriched content sourced from UCSC hg18, NCBI build 36.1 (March 2006)

Human ENCODE Microarray

1x244K Microarray

- Designed to specifically identify human DNA binding proteins within the ENCODE regions.
- The Human ENCODE microarray is optimized using probes specifically validated for HD ChIP-on-chip technology.

Agilent Part Number	G4495A
Design ID	14792
Sequences	Specific ENCODE regions of chromosomes 1-22
Probes	~153 probes
Composition	ENCODE March 2006 human assemblies

SurePrint G3 Mouse Promoter ChIP-on-chip

Product Name	SurePrint G3 Mouse Promoter Microarray, 1x1M
Agilent Part Number	G4875A
Design ID	028383
Sequences	~19,000 of the best-defined mouse genes represented as defined by RefSeq
Probes	968,007 probes are represented, median spacing of 180bp.
Coverage:	-8kb upstream to +2kb downstream of the transcriptional start sites, ~49 probes/gene.

Product Name	SurePrint G3 Mouse Promoter Microarray, 2x400K
Agilent Part Number	G4876A
Design ID	28384
Sequences	~21,000 of the best-defined human genes represented as defined by RefSeq
Probes	415,814 probes are represented, median spacing of 193bp.
Coverage:	-3.5kb upstream to +1kb downstream of the transcriptional start sites, ~21.5 probes/gene.

モデル生物 ChIP-on-chipカタログアレイ



アレイタイプ	アレイ数 /セット	プローブ設計ターゲット	プローブ数 /セット
酵母(<i>S. cerevisiae</i>)	1	繰り返し領域を除く約12MB (平均解像度 約50bp)	244,000
酵母(<i>S. cerevisiae</i>) ※ 4 pack	1	繰り返し領域を除く約12MB (平均解像度 約290bp) ※1スライドあたり4アッセイが可能	1アレイあたり 約42,000
酵母(<i>S. Pombe</i>) ※ 4 pack	1	繰り返し領域を除く約12MB (平均解像度 約290bp) ※1スライドあたり4アッセイが可能	1アレイあたり 約42,000
ショウジョウバエ	2	繰り返し領域を除く133MB (平均解像度 約230bp)	475,000
線虫	2	繰り返し領域を除く100MB (平均解像度 約180bp)	475,000
シロイヌナズナ	2	繰り返し領域を除く120MB (平均解像度 約210bp)	475,000



デザイン済みDNA メチル化解析用マイクロアレイ*

CpG rich 領域をカバー (human • mouse • rat)

CH3



	Human CpG Island	Human DNA Methylation	Mouse CpG Island	Rat CpG Island
Design ID	14791	23795	15279	21332
プローブ数	> 200,000	> 230,000	~ 97,000	~ 93,000
フォーマット	1 x 244K		2 x 105K	
CpG Islands	~ 27,000		~ 16,000	~ 16,000
UMR	N/A	~ 2M	N/A	N/A
カバー領域	~ 21Mb	~ 23Mb	~ 10Mb	~ 10Mb
Ave. Probe Spacing**		~ 100 bp		

* Some other designs available through eArray Design Program

** Roughly calculated by coverage / probe numbers

ヒトDNAメチレーションマイクロアレイ

New

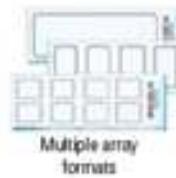
CH3

Updated pre-designed human CpG island-related microarray

Product Name	Human DNA Methylation Microarray
Agilent Part Number	G4495A
Design ID	023795
Format	244K: 1 x 244K
Arrays/Slide	244K: 1
Slide/Kit	1
Sequences	27,627 expanded CpG islands and 5081 UMR
Probes	237,227 biological probes median probe spacing of 97 bp. Probes annotated against UCSC HG19
Source	

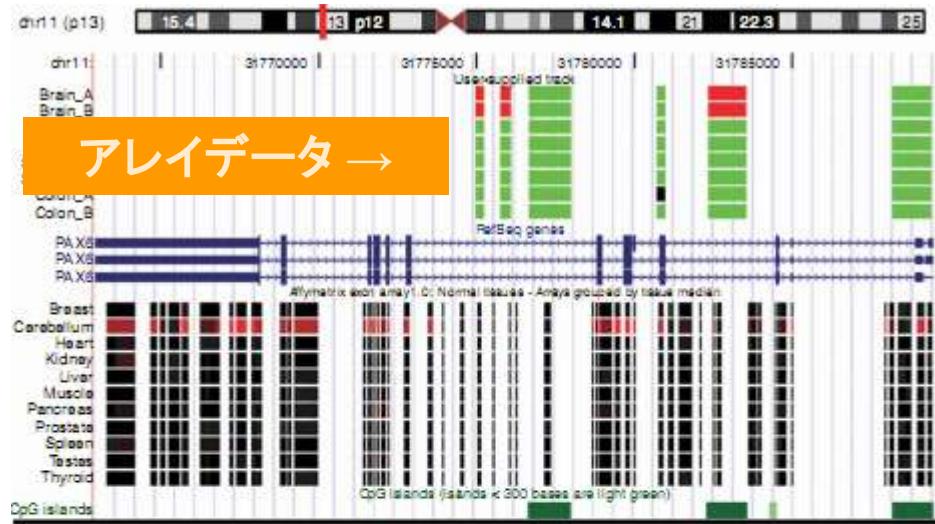


Straussman et al., Nat Struct and Mol Biol. 2009 May; 564-71
Irizarry et al., Nat Genet. 2009 Feb; 178-86.



組織特異的な *de-novo* methylation New type of developmental regulatory unit in UMR

- カスタムアレイ解析により、ほとんど全ての細胞タイプでメチル化されていないが、ある特異的な組織ではメチル化されている領域、UMRを同定。
- これらの*de-novo* メチル化UMRsは既知TSSから離れた場所に位置し、50%以上がwell-characterized geneの転写領域に位置する。



Possibilities: These repressor elements may operate at a distance to silence adjacent promoters. They may also serve as promoters for antisense RNA transcripts.

Reference: Straussman et al., Nature SMB (2009)

Agilent Master Tiling Probe Database

To Utilize Only High Quality Probes



Genome
(3 billion base)

Tiling Methodology (Agilent Probe Selection)

- Tile **45~60-mers** across non-RM region, followed by selection
 - Uniqueness (homology)
 - Tm
 - Avoid secondary structure



eArray
design tool
for “custom”
array needs

High quality probes with high S/N



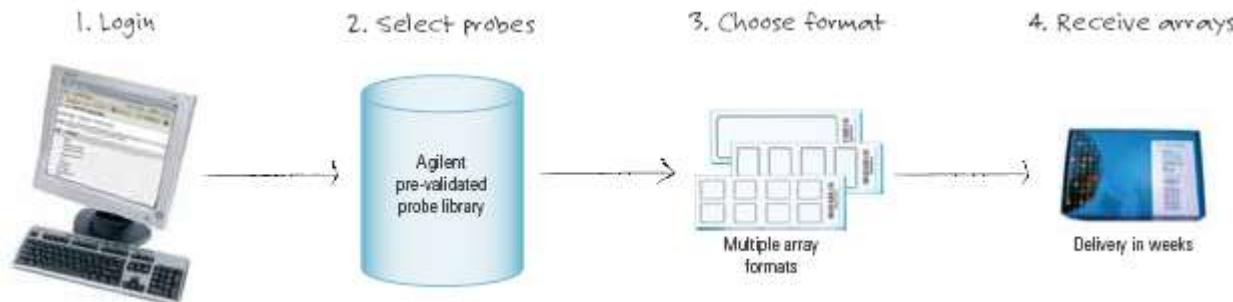
<100bp resolution)

Probe Sequence
Database

Any Genome. High Agilent Quality

Expanding portfolio of ChIP-on-chip and CpG Island Arrays

Organism	Description	Build	Database
Human	Feature-annotated, 23.8 million probes tiled at <100 bp	hg18	Agilent
Mouse	Feature-annotated, 27.4 million probes tiled at <100 bp	mm8	Agilent
Rat	Coordinate-annotated, 22.1 million probes tiled at <100 bp	rn4	Agilent
<i>C. elegans</i>	Coordinate-annotated, 718 thousand probes tiled at ~100 bp	Ce2	Agilent
Arabidopsis	Coordinate-annotated, 735 thousand probes tiled at ~100 bp	Ath1	Agilent
Drosophila	Coordinate-annotated, 447 thousand probes for whole genome with ~100bp spacing	Dm2	Agilent
Zebrafish	Coordinate-annotated, promoter probes only. Both expanded and proximal promoter areas represented	Zv4	Whitehead
<i>S. cerevisiae</i>	Feature-annotated. Whole genome with ~9 bp spacing	SacCer1	Agilent
<i>S. pombe</i>	Coordinate-annotated, whole genome	-	Agilent



Customized
Microarray Set

Access to Customization : It's eArray now!



Log-in

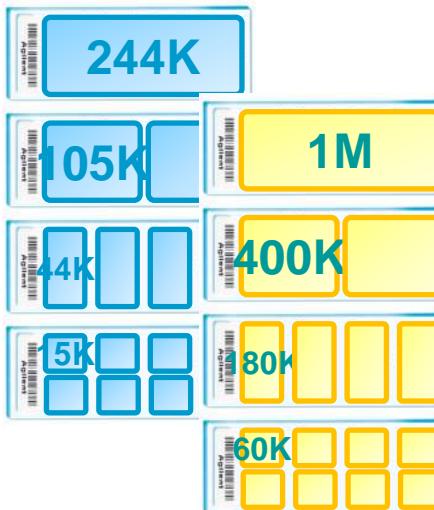


Select probe

- Probe database
 - Gene Expression
 - microRNA / CGH
 - ChIP / CH3
- Probe Design (GE)

設計料無料です !

Select Format



Order array

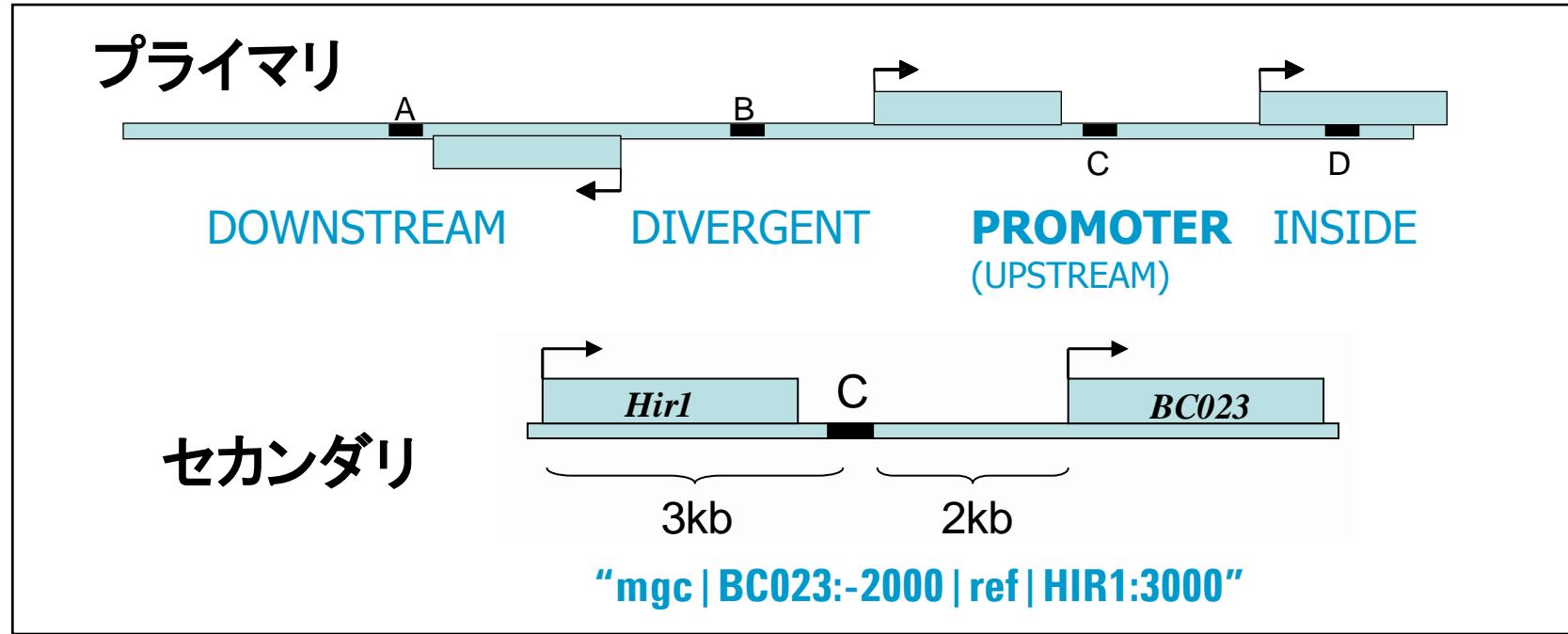


1スライドから
ご注文できます

Current Available application :
Gene Expression, CGH, ChIP-CH3, microRNA and Target Enrichment

Microarray Probe Annotation

次世代シーケンサ解析との根本的な相違



アノテーションソース RefSeq (GeneNames/Transcript IDs), CCDS, MGC

(例)

遺伝子	ローカス	プライマリ	セカンダリ
E2F3	chr6:20510459-20510519	INSIDE	ref NM_001949 ref E2F3:113
E2F3	chr6:20510292-20510232	PROMOTER	ref NM_001949 ref E2F3:-114
E2F3	chr6:20509684-20509624	PROMOTER	ref NM_001949 ref E2F3:-722
E2F3	chr6:20509905-20509965	PROMOTER	ref NM_001949 ref E2F3:-441
E2F3	chr6:20510804-20510744	INSIDE	ref NM_001949 ref E2F3:398

内容

1. なぜ ChIP-on-chip? なぜ DNA Methylation?

- ・転写調節の理解に必要な因子、幹細胞での実例

2. マイクロアレイと次世代シーケンサ

- ・次世代シーケンサ時代にDNAマイクロアレイの使い分け

3. ChIP-on-chip / DNA Methylation マイクロアレイ

- ・設計済みのデザイン：プロモータアレイ、CpG+UMRアレイ
- ・eArrayを用いたカスタムデザイン：高密度アレイ、マルチパックアレイ

4. 実験・解析フローと統合データ解析ツール

- ・免疫沈降からイベント解析まで
- ・Agilent Genomic Workbench, GeneSpring GX11

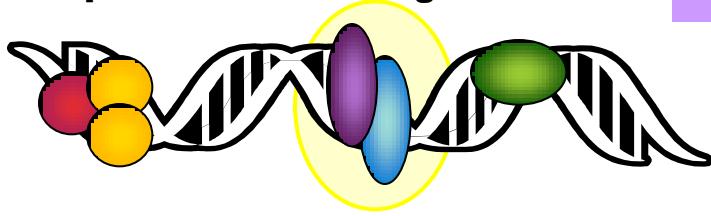
5. Agilent エピジェネティクスの新しい取り組み



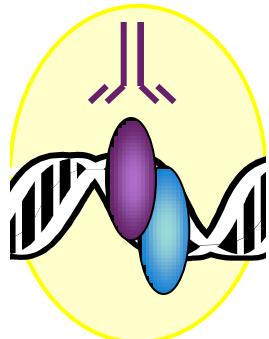
ChIP-on-chip プロトコル概要

What Agilent Provides

Regulatory proteins bind to promoter DNA regions *in vivo*

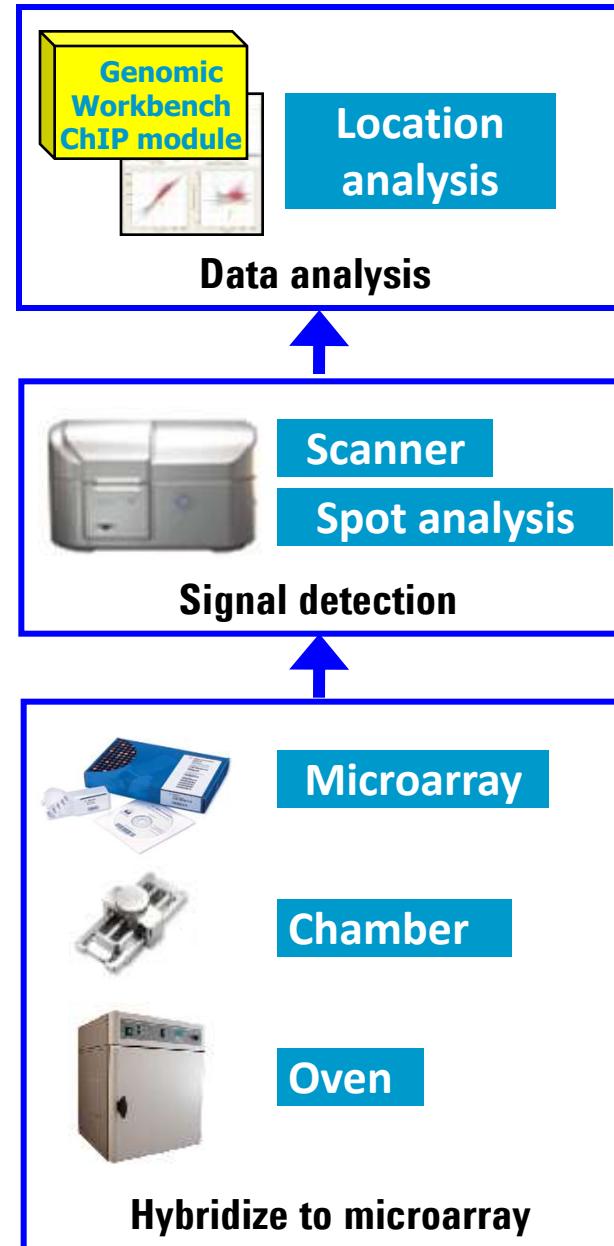


c-Myc, H3K18ac,
H3K9ac etc. ...



Label enriched pool

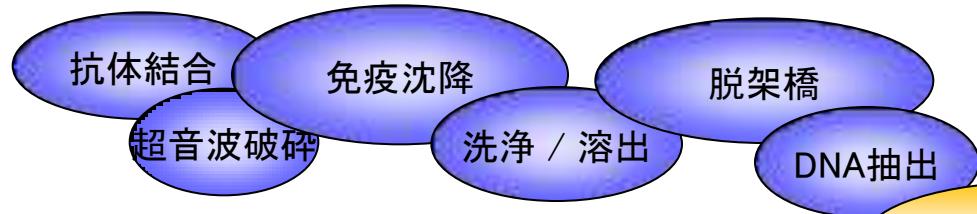
- # Cross-link protein-DNA complexes
- # Lyse cells and sonicate DNA
- # IP chromatin to capture and purify bound DNA
- # Release and amplify DNA fragments



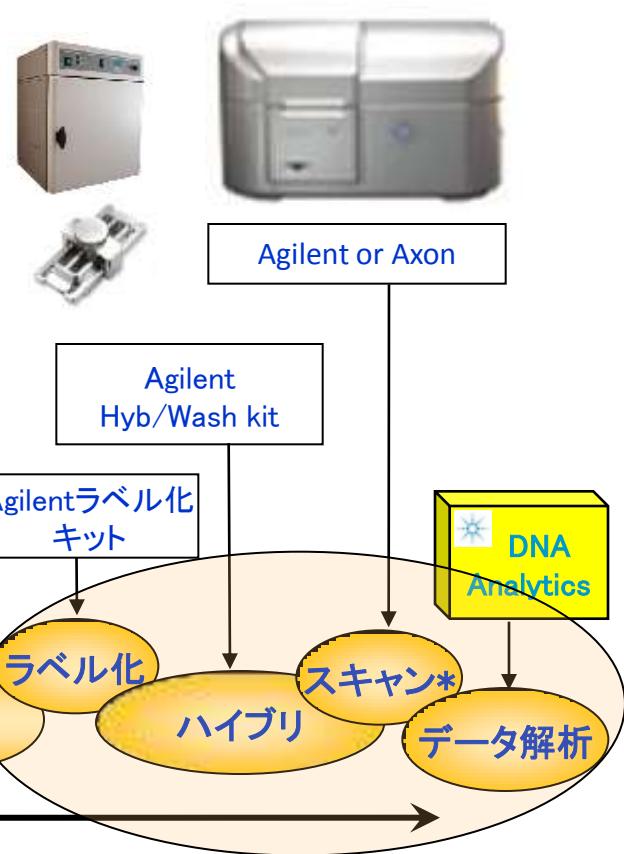
ChIP-on-chip実験フロー

実験プロトコルと解析ツール

免疫沈降から結合ピーク検出まで



提供する実験プロトコル



購入前に実験プロトコルを確認いただくことが出来ます。

ただし、プロトコルの使用にあたっては、最新バージョンをアプリケーション担当よりお受け取りください。

サポート範囲
← →
ラベル化からデータ解析まで

* Axonスキャナによるスキャン条件につきましてはサポートできません。

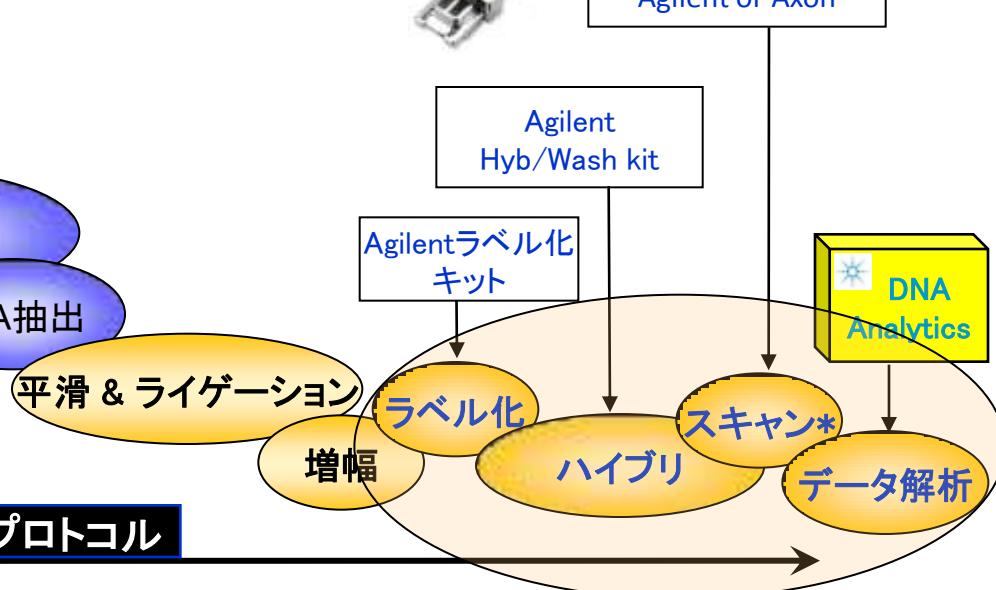
ChIP-on-chip実験フロー Workflow “Improvement” !

実験プロトコルと解析ツール

免疫沈降から結合ピーク検出まで



提供する実験プロトコル



サポート範囲

免疫沈降からDNA增幅まで*

- 従来通り、アジレントのプロトコルをお使いいただくことも出来ます。アジレントのプロトコルでは試薬を個別に揃えていただく必要があります。ミリポアのプロトコルではミリポア社のキットを使います(後述)。



サポート範囲

ラベル化からデータ解析まで

* Axonスキャナによるスキャン条件につきましてはサポートできません。

Magna ChIP²™ kit (MILLIPORE) Chromatin IP DNA Microarray Universal kit

NEW

- The **first** ChIP kit specifically developed to couple with on-chip to **simplify** and **standardize** the genome-wide mapping studies.
- Designed to help address the challenges and make ChIP-on-chip technology easily accessible to a wider range of laboratories



The enhanced solution collaborated with MILLIPORE

Millipore Magna
ChIP² kit



Chromatin IP

LMPCR

Labeling

Hybridization
& Read



Agilent gDNA labeling kit
Agilent Hybridization kit
Agilent Microarray kit



Streamline Epigenetic Analysis

From ChIP kit to data analysis

- By providing optimized reagents, validated protocols, and expert support for the entire ChIP-on-chip workflow, Magna ChIP² kits help ensure **success, sensitivity** and **reproducibility** of ChIP-on-chip experiments using both Agilent and user-provided microarrays.



<http://www.millipore.com/jpchip>

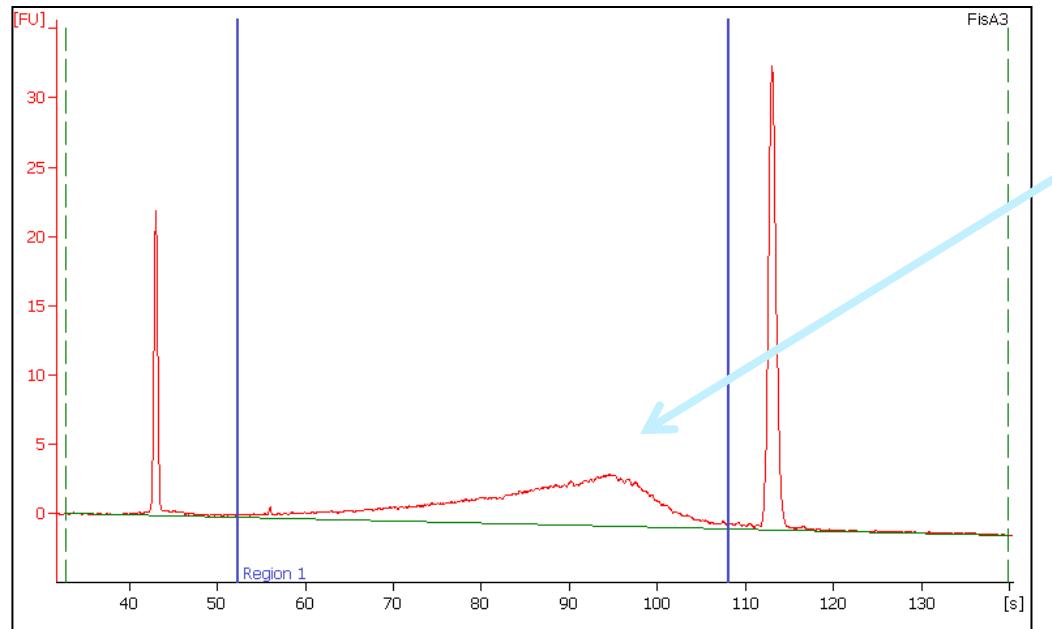


<http://agilentgenomics.jp/jpchip>

ChIP の確認に : Bioanalyzer によるQC DNA High Sensitivity Kit

低濃度の DNA の分析が可能
(定量・平均分子量)

ChIP-on-chip のIP 後のサンプルなど、
スメアなパタンのDNAサンプルに最適



ChIP Post-IP samples

Average Size: 827 bp

Conc: 335 pg/ μ l

on-chip performanceの確認に、
遺伝子特異的なPCRによる
バリデーションも必要
(positive と negative locusの両方)

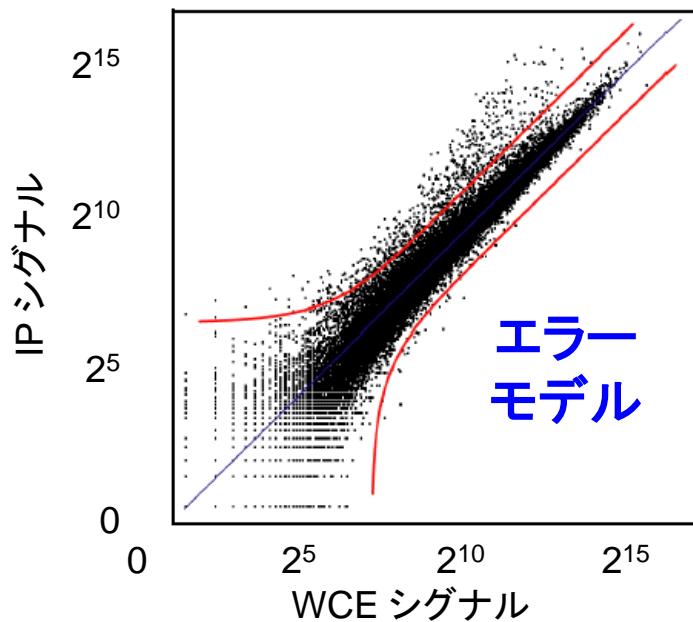
ChIP-on-chipデータ解析 結合イベントの同定

Accuracy

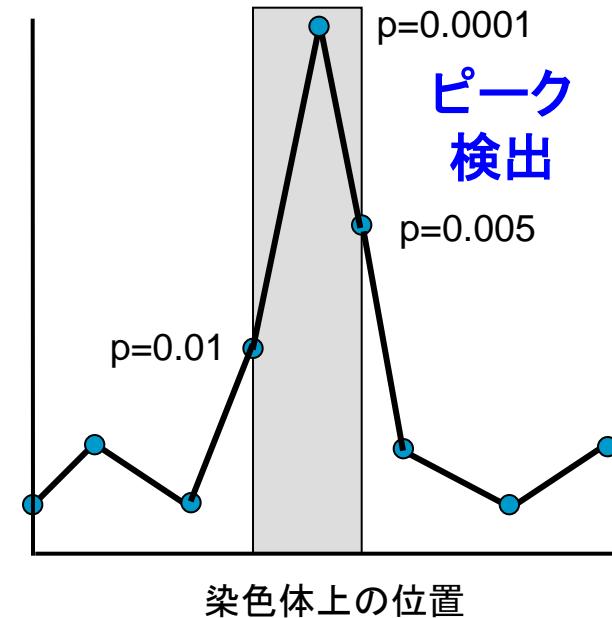
False positive rate: 2%

False negative rate: 20%

プローブセット(3点)のp値
 $p=0.00005$



左図:全細胞から抽出されたDNA(WCE)をCy3、免疫沈降で濃縮されたDNA(IP)をCy5でラベル化し、ChIP-on-chipマイクロアレイに後、得られた各スポットのシグナルからバックグラウンド補正と色素補正を施した後の各スポットシグナル値のスキャッタープロット。



右図:結合事象の判定を行うNeighborhoodモデルの概要。

※エラー モデルは1プローブあたりのp値を計算します。
ピーク検出のアルゴリズムは、隣り合うプローブとのp値も考慮します。

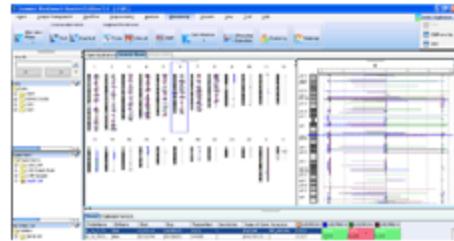
Agilent Genomic Workbench

HOME > 分析機器と分析システム > DNA マイクロアレイ > Agilent Genomic Workbench ソフトウェア

Agilent Genomic Workbench ソフトウェア

インフォメーション

DNA Analytics は、Agilent Genomic Workbench に名称変更しました。



Agilent Genomic Workbench は、アジレントの次世代ゲノム解析パッケージです。DNA Analytics からさらに拡張した新機能を搭載し、Copy Number Variation や ChIP-on-Chip、DNA メチレーション解析など、拡大する研究者のニーズに応えます。

※ [CGH+SNP マイクロアレイ](#) の解析には Agilent Genomic Workbench 6.5 以降、または [CytoGenomics 1.5](#) 以降が必要です

※ Cancer CGH+SNP マイクロアレイの解析には [CytoGenomics 2.0](#) 以降が必要です。

関連情報

オリゴ aCGH ソリューション
ChIP-on-chip ソリューション

特長

- **ワークフローマネージャー機能** - あらかじめ決めた条件で、スキャンイメージの数値化からデータ解析をワンクリックで行うことができます。
- **サンプルマネージャー機能** - サンプル情報と実験条件等の情報を容易に関連づけ、情報追跡を容易にします。
- **DNA メチレーション解析アルゴリズム** - メチレーションイベントの検出が可能。(別途ライセンスが必要です)
- **大規模なアレイデータセットも解析可能** - 最大で1アレイあたり約1,000,000スポットの高密度になるアジレントの SurePrint G3 アレイフォーマットによるデータにも対応。
- **データインポート、閲覧、ゲノムトラックの使用が可能**
- **UCSC ゲノムブラウザとリンクし、ユーザーの解析と関連性の高い情報を提供します**

ライブラリ

システム環境

その他資料

技術サポート

ソフトウェアインストーラお上げの 30 日間無料トライアルライセンスのダウンロード

Software Extras

トレーニング

ゲノミクスセミナー

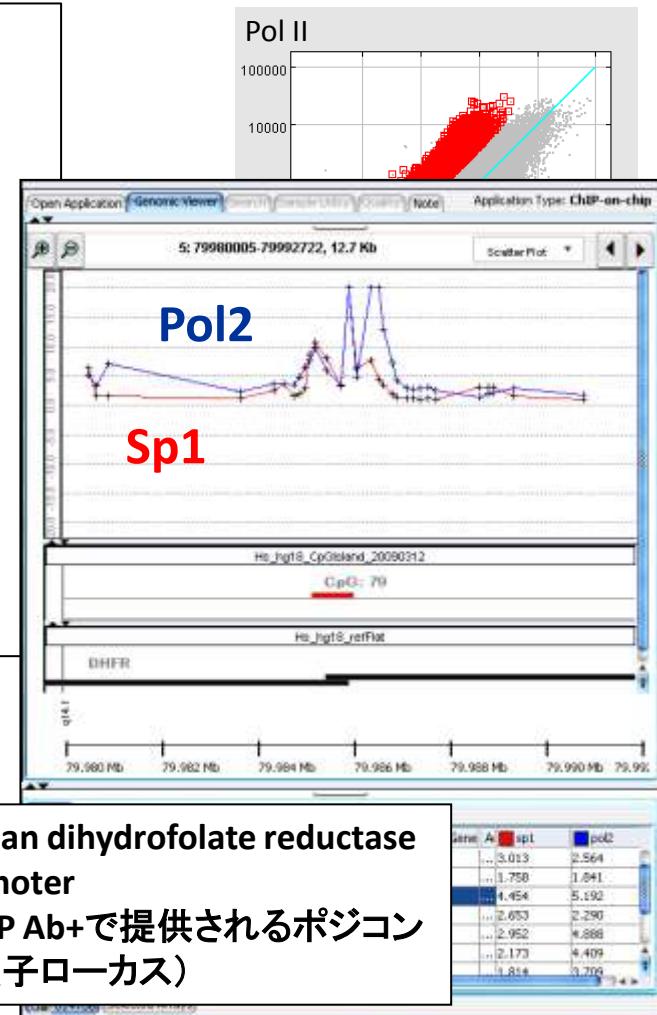
トレーニング/イベント

Lite version でも
解析できます。

ChIP-on-chip example data analysis

Millipore Magna ChIP² kit plus Agilent promoter microarray

- ❖ HeLa 細胞クロマチンを RNA polymerase II 抗体（ミリポア Cat.17-620 or 05-623）および ヒト転写因子 Sp1 抗体（ミリポア Cat.17-601 or 07-645）で免疫沈降後、LM-PCR増幅
 - ❖ 増幅 DNA をラベル化しアジレントプロモータアレイにハイブリ、洗浄（プロトコル参照 <http://Agilentgenomics.jp>）
 - ❖ アジレント社製 DNA マイクロアレイスキャナーを用いてスキャン後、Feature Extraction softwareを用いてスポット解析
 - ❖ Agilent Genomic Workbench を用いて結合イベントを解析（Neighborhood model の判定条件；Mol.Cell, 2009, Feb.）
 - ❖ Agilent GeneSpring GX11を用いてオントロジー解析を実施



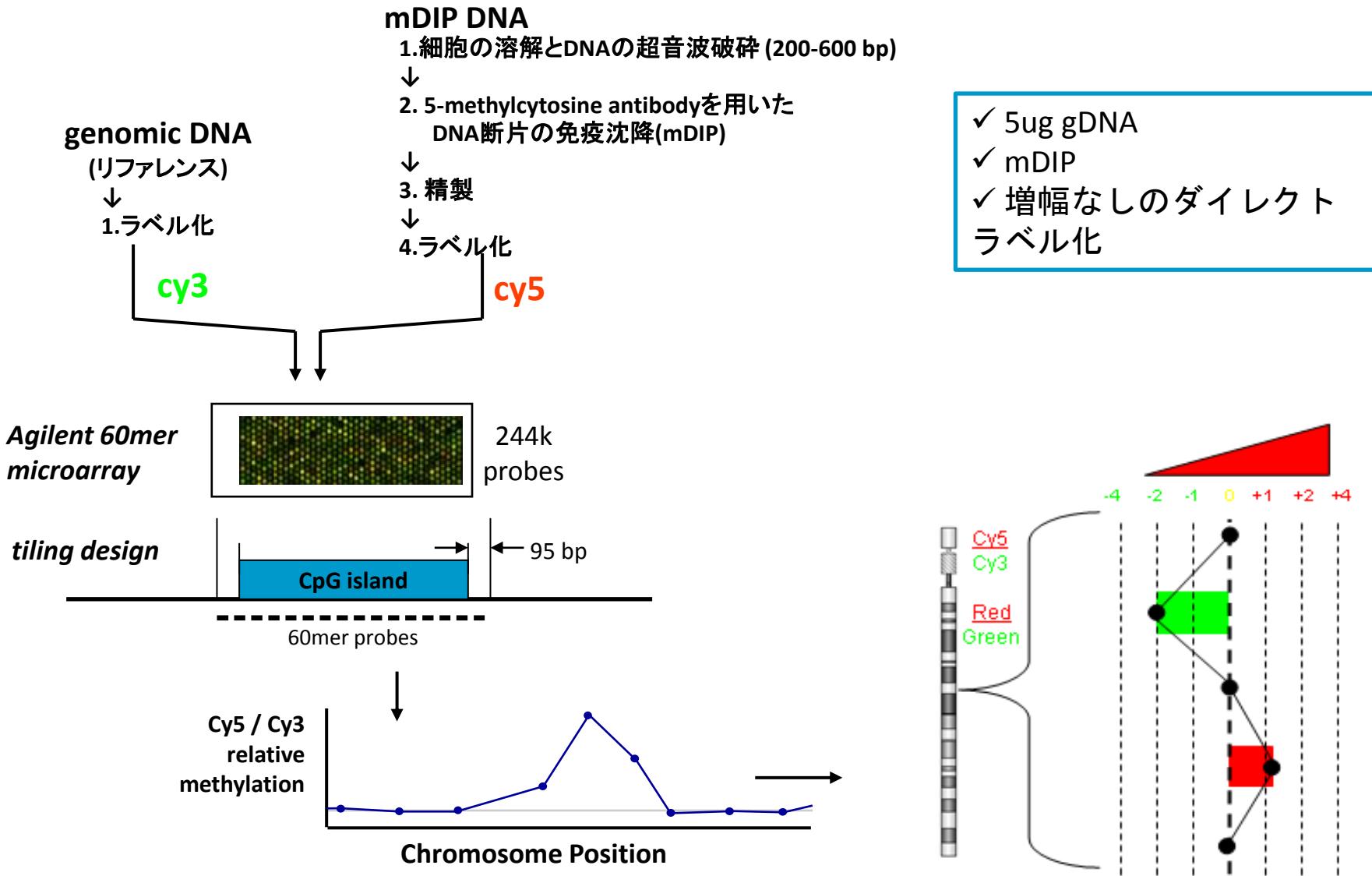
Agilent GeneSpring GX11 (GX11)

GX11: 発現解析 & ゲノミクス解析

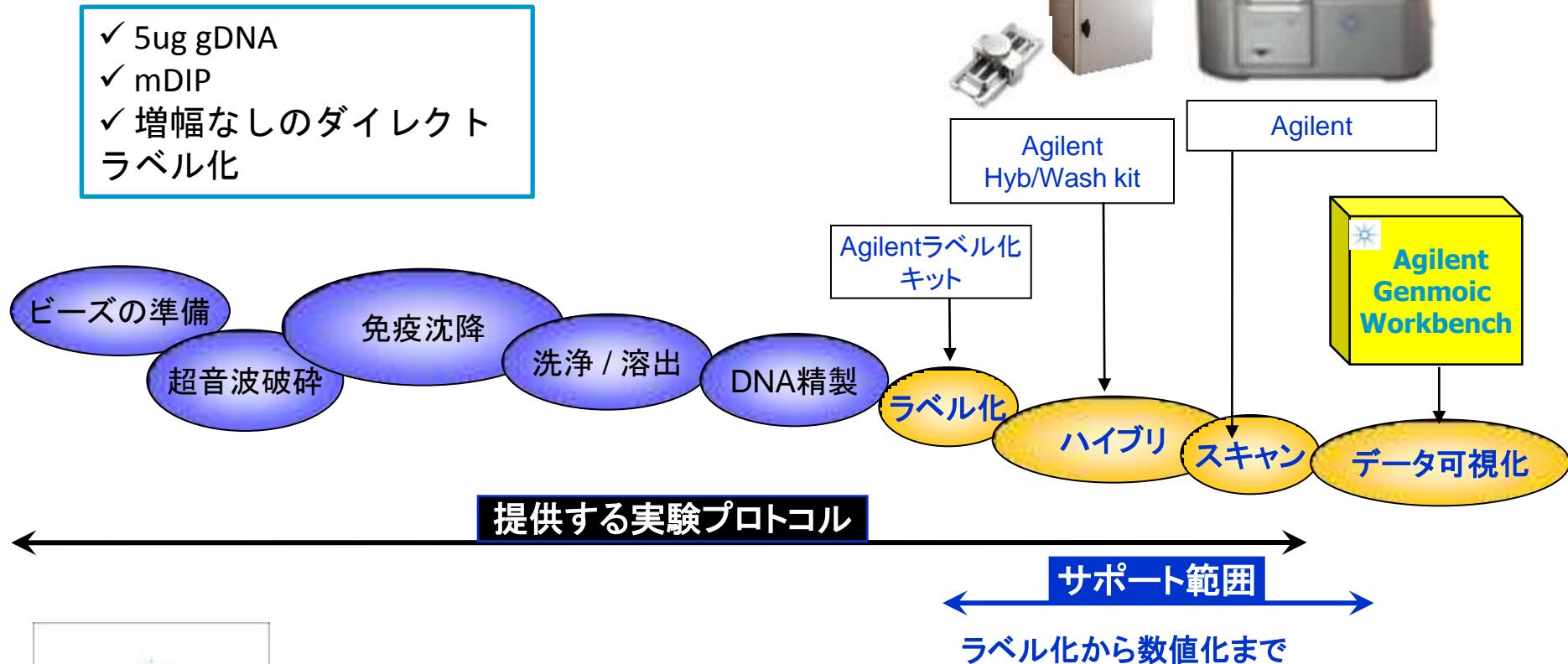
インターラクティブなゲノムブラウザを搭載

Human dihydrofolate reductase promoter (ChIP Ab+で提供されるポジコン 遺伝子ローカス)

mDIP法を用いたCpG island arrayの実験フロー



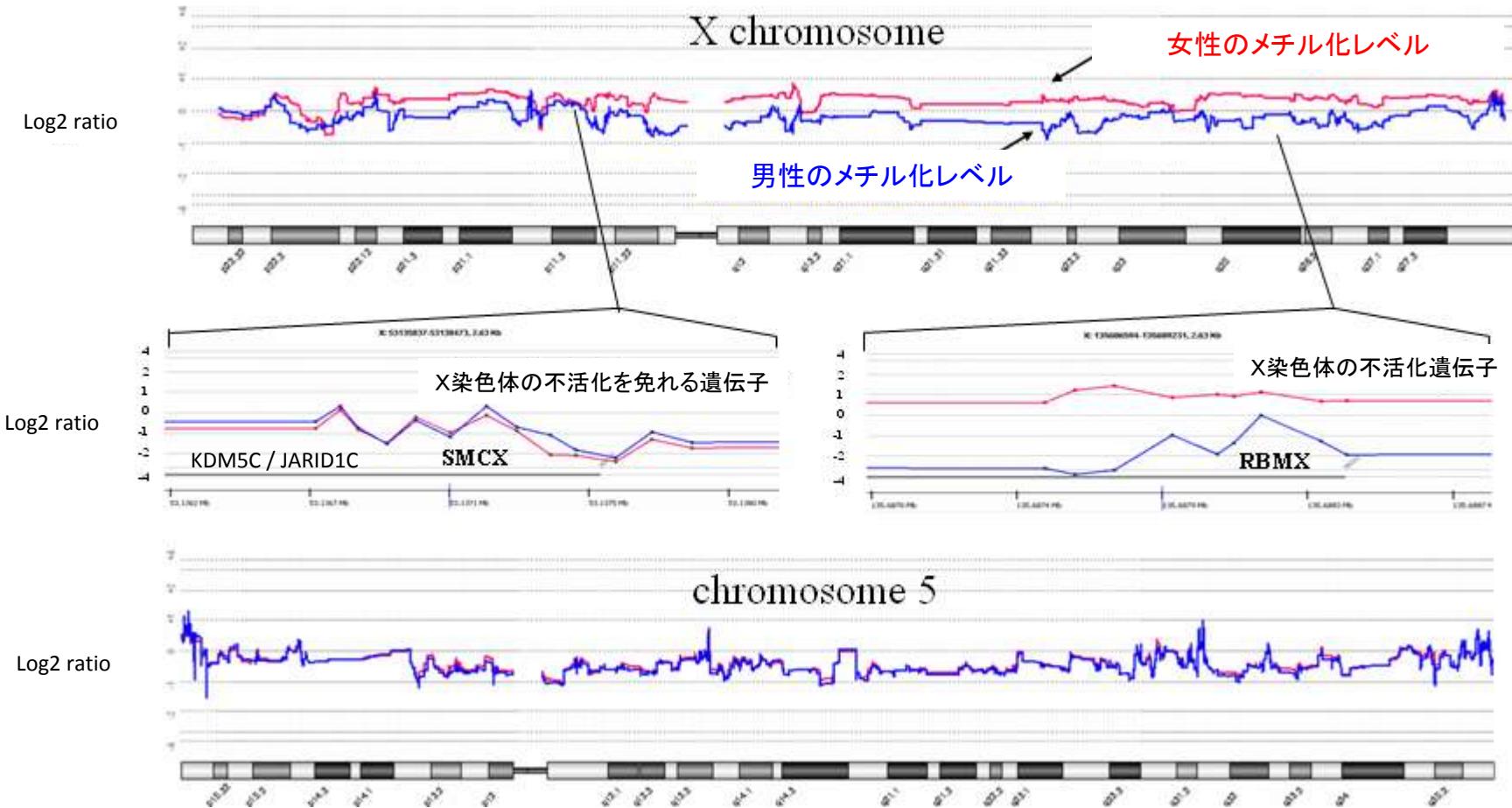
CpG Islandアレイ実験フロー



購入前に実験プロトコルを確認いただくことが出来ます。

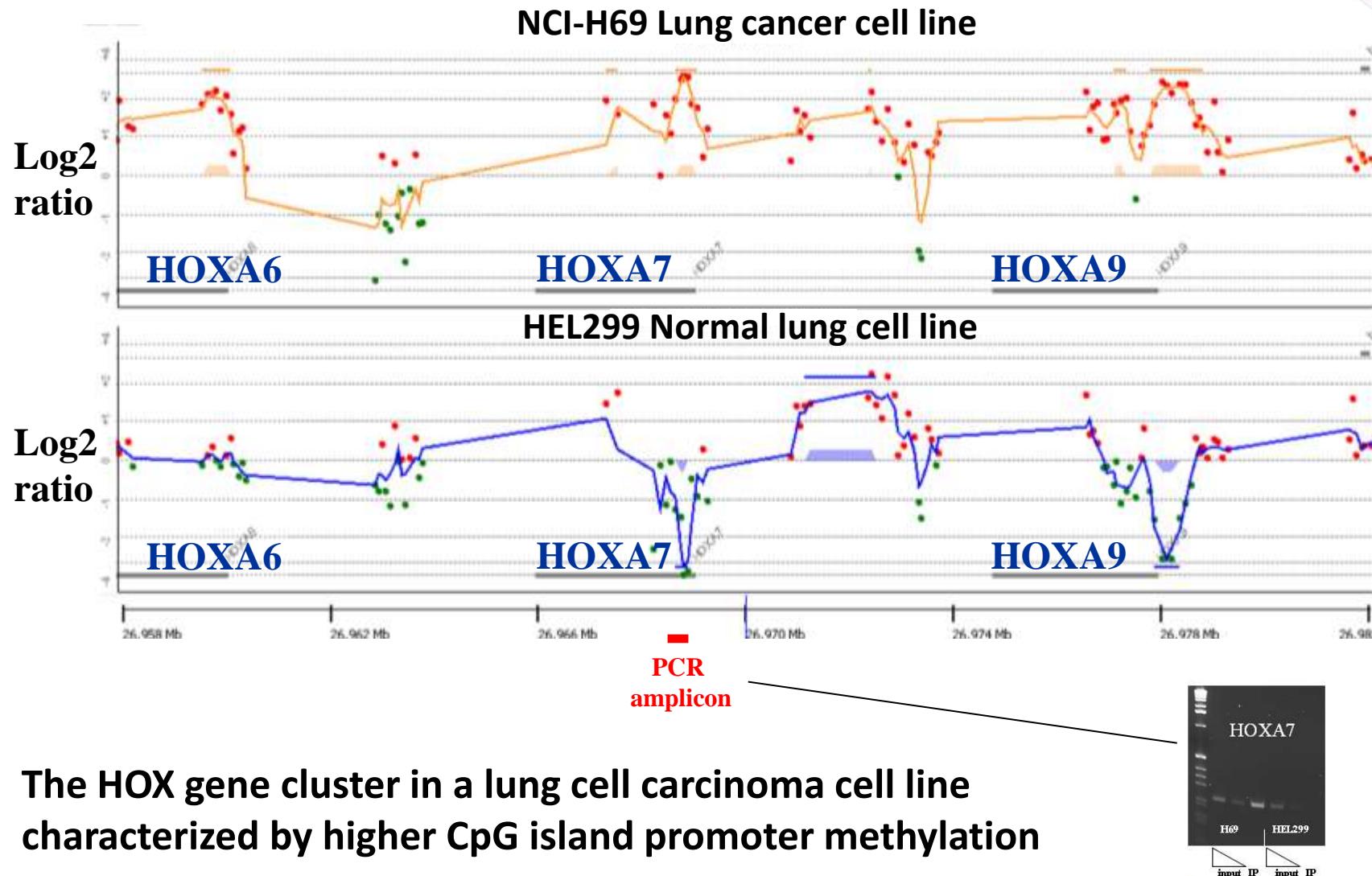
ただし、プロトコルの使用にあたっては、最新バージョン
をアプリケーション担当よりお受け取りください。

Agilent R&D data – CpG proof of concept



CpGアイランドの高メチル化により特徴付けられる女性のX染色体
移動平均80pt、ノーマライゼーションlog2 ratio=0

Agilent R&D data – CpG proof of concept



The HOX gene cluster in a lung cell carcinoma cell line characterized by higher CpG island promoter methylation

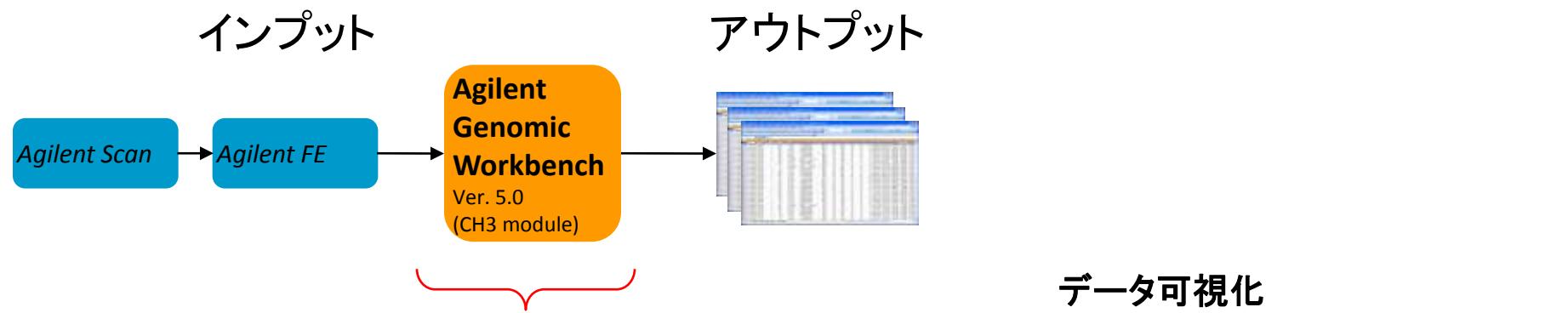


DNA methylation event detection

Not standardized yet..

Title, journal, date, last author	Detection algorithm	Normalization for input
“Developmental programming of CpG island methylation profiles in the human genome.”, Nat Struct Mol Biol. 2009 May, Cedar H	Tm adjusted Z-score	Global normalization in FE
“The presence of RNA polymerase II, active or stalled, predicts epigenetic fate of promoter CpG islands.”, Genome Res. 2009 Nov, Ushijima T	Me-value based on WI pXbar	No normalization performed
“Epigenetic profiling at mouse imprinted gene clusters reveals novel epigenetic and genetic features at differentially methylated regions.”, Genome Res. 2009 Aug, Beaudet AL	Predefined Peak shape detection (v2.0)	Unknown
“Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences”, Nature, 2009 Oct14, Ecker JR	MethylC-Seq	No consideration

Genomic Workbench v6.5 - CH3 module



特長:

- データ可視化(Genomic Viewer)
 - Genome / Chromosome / Gene View
 - Gene / CpG island Track 表示
 - Show in UCSC
- データ解析*
 - Tm-adjusted Z-score
[Straussman et al., Nature SMB (2009)]
 - Batman

* メチル化判定のアルゴリズムやその判定方法は現在も議論されているため、あらかじめ経験者やインフォマティシャンと相談されることをお勧めします。

- Windows および Macintosh プラットフォーム

Address	Callibration Average	Probabilistic	Chromosome	Read	100%	Probabilistic	Description	Name of donor	Accession	Probable level	Probable level
A_37_Pt18..._chr11	1357995.25	3.957000000	1357995	1940978	3.981	1357995.25	ImmunCell11	3.421	12.600		
A_37_Pt18..._chr11	1357996.13	3.957000000	215047	1940978	3.980	1357996.13	ImmunCell11	3.217	14.000		
A_37_Pt14..._chr11	1358196.61	3.965990000	1720176	1940978	3.980	1358196.61	ImmunCell11	3.229	14.298		

アジレントが提供するマルチオミクス解析(これから)

Agilent Genomic Workbench (AGW)

v6.5 : ゲノミクス解析のアップデート

アベレーション検出のデータベース化、イベント検出アルゴリズムの追加

CGH module : Save aberration results in centralized data base

ChIP module : Algorithm “Pre-defined Peak Detection”

CH3 module : Algorithm “Batman”

Agilent GeneSpring GX11 (GX11.5)

GX11 : ゲノミクス解析 & 発現解析

インタラクティブなゲノムブラウザを搭載

他社SNPアレイの解析

*How do you begin to solve the challenges
of integrative multi-omics data analysis?*

- GX11; miRNAのmRNAターゲットをTargetScanで予測、
GXゲノムブラウザを活用した統合解析
- GX11.5; アジレントExonアレイの解析



GX11のゲノムブラウザ

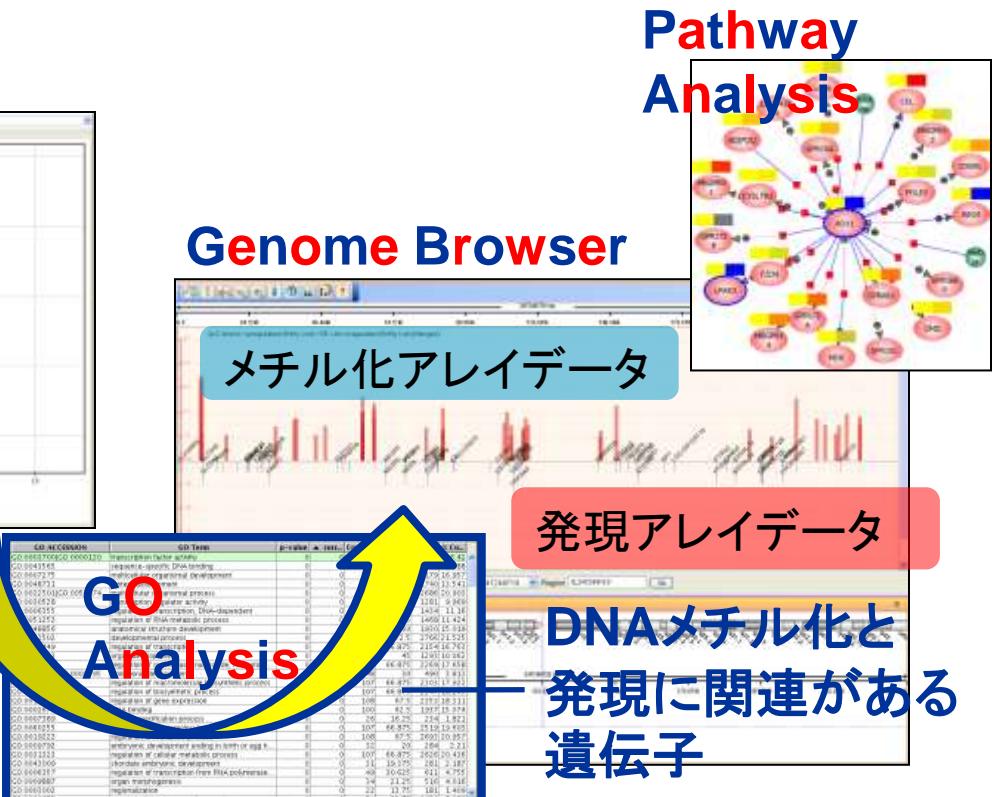
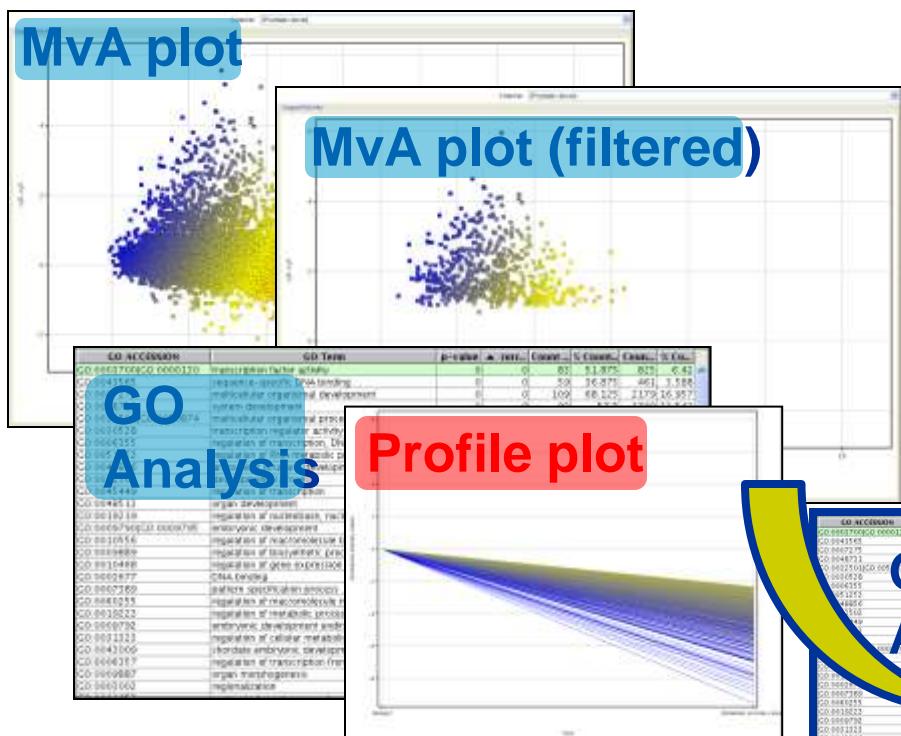
GX Genome Browser を用いた統合解析例*

統合解析例：前立腺がん患者 数十検体

・メチル化判定は特別なアルゴリズムを使わずに、
Cy5/Cy3比からフィルタリングしています。

GSE 15298 (Agilent Human 244K CpG Island Array)

GSE 3325 (Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array)



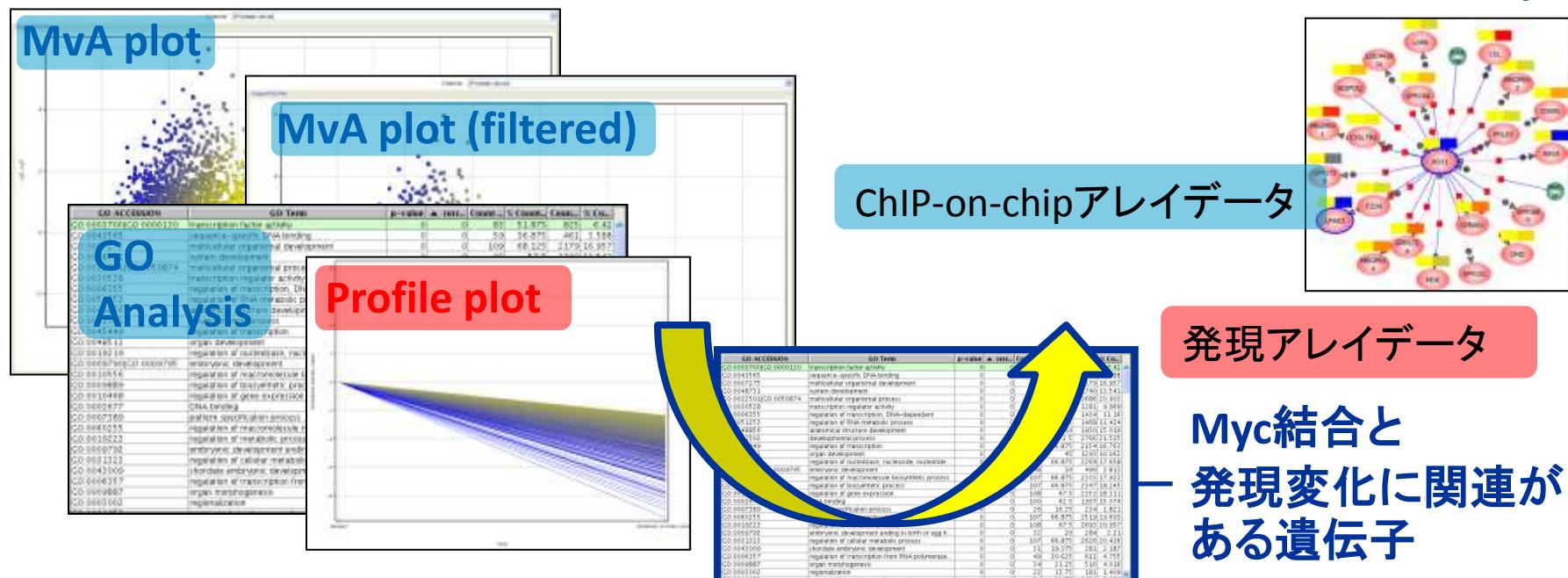
GX Genome Browser を用いた統合解析例

資料を準備しています
お問い合わせください
(2010年アジレントゲノミクスフォーラム)

統合解析例：前骨髓球性白血病におけるMycの役割

GSE 11245 (Agilent Human Promoter ChIP-on-Chip Set 244K)

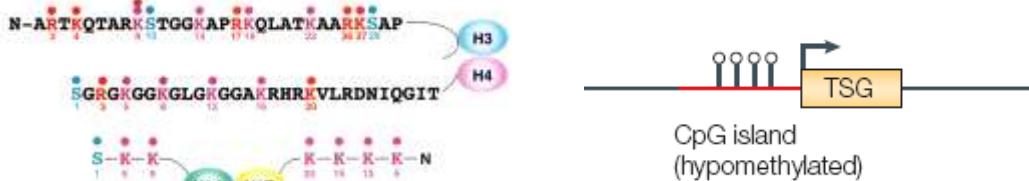
GSE 19789 (Affymetrix Human Human Gene 1.0 ST Array)



Diagnostic Application

Pharma and clinical:

- Focus on methylation patterns to characterize disease profiles/risk and create biomarkers (e.g. cancer)
- Understand role of methylation in X-inactivation diseases (e.g. Rett's) or imprinting disease (e.g. Prader-Willi, Lupus, Fragile X)
- The reversibility of epigenetic changes important for pharma manipulation



PNAS

Homeobox gene methylation in lung cancer studied by genome-wide analysis with a microarray-based methylated CpG island recovery assay

Tibor Rauch*, Zunde Wang*, Xinmin Zhang†, Xueyan Zhong*, Xiwei Wu‡, Sean K. Lau§, Kemp H. Kernstine¶, Arthur D. Riggs*, and Gerd P. Pfeifer*||

*Division of Biology, †Division of Information Sciences, §Division of Pathology, and ¶Division of Surgery, Beckman Research Institute of the City of Hope, Duarte, CA 91010; and *NimbleGen Systems, Inc., Madison, WI 53711

Contributed by Arthur D. Riggs, February 5, 2007 (sent for review December 11, 2006)

Homeobox genes are potentially useful as DNA methylation markers for early diagnosis of the disease.

アジレントアレイを用いたChIP-on-chip に関する論文 から抜粋 (2009年)

- Title: Chd1 regulates open chromatin and pluripotency of embryonic stem cells.
Journal: Nature. 2009 Aug 13;460(7257):863-8. Epub 2009 Jul 8.
Authors: Gaspar-Maia A, Alajem A, Polessko F, Sridharan R, Mason MJ, Heidersbach A, Ramalho-Santos J, McManus MT, Plath K, Meshorer E, Ramalho-Santos M.
Highly accessible chromatin is essential for the unique properties of stem cells
- Title: Lineage-specific DNA methylation in T cells correlates with histone methylation and enhancer activity.
Journal: Genome Res. 2009 Jul;19(7):1165-74. Epub 2009 Jun 3.
Authors: Schmidl C, Klug M, Boeld TJ, Andreesen R, Hoffmann P, Edinger M, Rehli M.
Histone and DNA methylation in cell type-specific genes in Tconv and Treg cells
- Title: DNA-binding specificity and in vivo targets of *Caenorhabditis elegans* nuclear factor I.
Journal: Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Jul 21;106(29):12049-54
Authors: Whittle CM, Lazakowitch E, Gronostajski RM, Lieb JD.
Unexpected small target set of NFI-1 for core cellular processes
- Title: The Level of the Transcription Factor Pax6 Is Essential for Controlling the Balance between Neural Stem Cell Self-Renewal and Neurogenesis.
Journal: PLoS Genet. 2009 Jun;5(6):e1000511
Authors: Sansom SN, Griffiths DS, Faedo A, Kleinjan DJ, Ruan Y, Smith J, van Heyningen V, Rubenstein JL, Livesey FJ
Core network regulating neural, neocortical stem cell
- Title: Biofilm Matrix Regulation by *Candida albicans* Zap1.
Journal: PLoS Biol. 2009 Jun;7(6):e1000133
Authors: Nobile CJ, Nett JE, Hernday AD, Homann OR, Deneault JS, Nantel A, Andes DR, Johnson AD, Mitchell AP.
Zinc-responsive regulatory protein controls matrix formation
- Title: Genomic distribution of CHD7 on chromatin tracks H3K4 methylation patterns.
Journal: Genome Res. 2009 Apr;19(4):590-601. Epub 2009 Feb 27
Authors: Schnetz MP, Bartels CF, Shastri K, Balasubramanian D, Zentner GE, Balaji R, Zhang X, Song L, Wang Z, Laframboise T, Crawford GE, Scacheri PC
Cell-specific binding of CHD7 correlates with H3K4me in tumor and ES cells

発生・分化、免疫の分野で使われている

アジレントアレイを用いたDNA Methylationに関する論文 から抜粋 (2008~2009年)

Title: Epigenetic profiling at mouse imprinted gene clusters reveals novel epigenetic and genetic features at differentially methylated regions.

Journal: Genome Res. 2009 Aug;19(8):1374-83

Authors: Dindot SV, Person R, Strivens M, Garcia R, Beaudet AL

DNA and histone methylation at mouse imprinted geneclusters

Title: Methylation of polycomb target genes in intestinal cancer is mediated by inflammation.

Journal: Cancer Res. 2008 Dec 15;68(24):10280-9

Authors: Hahn MA, Hahn T, Lee DH, Esworthy RS, Kim BW, Riggs AD, Chu FF, Pfeifer GP

Methylation of polycombe target genes in intestical cancer

Title: Probe signal correction for differential methylation hybridization experiments.

Journal: BMC Bioinformatics. 2008 Oct 23;9:453

Authors: Potter DP, Yan P, Huang TH, Lin S

Data analysis of DNA methylation array

Title: Astrocyte-specific genes are generally demethylated in neural precursor cells prior to astrocytic differentiation.

Journal: PLoS ONE. 2008 Sep 11;3(9):e3189

Authors: Hatada I, Namihira M, Morita S, Kimura M, Horii T, Nakashima K

Demethylation in neural precursor cells before differentiation

Title: Epithelial Progeny of Estrogen-Exposed Breast Progenitor Cells Display a Cancer-like Methylome

Journal: Human Cancer Genetics Program, Department of Molecular Virology, Immunology and Medical Genetics, Comprehensive Cancer Center, The Ohio State University, Columbus, OH 43210, USA.

Authors: Cheng AS, Culhane AC, Chan MW, Venkataramu CR, Ehrich M, Nasir A, Rodriguez BA, Liu J, Yan PS, Quackenbush J, Nephew KP, Yeatman TJ, Huang TH

Estrogen-exposed breast progenitor cells show cancer-like methylome

Title: X-inactivation in female human embryonic stem cells is in a nonrandom pattern and prone to epigenetic alterations.

Journal: Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Mar 25;105(12):4709-14. Epub 2008 Mar 13

Authors: Shen Y, Matsuno Y, Fouse SD, Rao N, Root S, Xu R, Pellegrini M, Riggs AD, Fan G

X-inactivation in female embryonic stem cells

がん、発生・分化の分野で使われている

ChIP-on-chip-related scientific publications (2010-2011)

Cell
PRESS

One more is coming in NAR. Stay tune!

Molecular Cell
Article

Letter
Re
G
of
Sh
How
of M

Genome-wide analysis of chromatin-associated protein kinase C-θ in human T lymphocytes
determines the role of microRNAs in gene expression

p300-
Function

Received for pub

Rahul K. Ve
and Devyan
From the [†]De

[‡]National Ce
Pashan, Pune 411021, India

Chromatin-Associated Protein Kinase C-θ Regulates an Inducible Gene Expression Program and MicroRNAs in Human T Lymphocytes

Elissa L. Sutcliffe,¹ Karen L. Bunting,^{3,8} Yi Qing He,^{1,8} Jasmine Li,¹ Chansavath Phetsouphanh,⁸ Nabila Seddiki,⁸ Anjum Zafar,¹ Elizabeth J. Hindmarsh,¹ Christopher R. Parish,¹ Anthony D. Kelleher,⁶ Russell L. McInnes,⁴ Toshiki Taya,⁵ Peter J. Milburn,² and Sudha Rao^{1,7,*}

¹Department of Immunology

²Biomolecular Resource Facility

John Curtin School of Medical Research, Australian National University, Canberra, ACT 2601, Australia

³Division of Hematology and Medical Oncology, Department of Medicine, Weill Cornell Medical College, Cornell University, New York, NY 10065, USA

⁴Agilent Technologies, 347 Burwood Highway, Forest Hill VIC 3131, Australia

⁵Agilent Technologies Japan, Hachioji Site, 9-1 Takakura-Cho, Hachioji-Shi, Tokyo 192-8510, Japan

⁶National Centre in HIV Epidemiology and Clinical Research, St. Vincent's Centre for Applied Medical Research, University of New South Wales, Sydney NSW 2010, Australia

⁷Discipline of Biomedical Sciences, Faculty of Applied Science, The University of Canberra, Canberra ACT 2601, Australia

IMMUNO

Integrated biochemical and computational approach identifies BCL6 direct target genes controlling multiple pathways in normal germinal center B cells

*Katia Basso,^{1,2} *Masumichi Saito,¹ *Pavel Sumazin,³ Adam A. Margolin,³ Kai Wang,³ Wei-Keat Lim,³ Yukiko Kitagawa,¹ Christof Schneider,¹ Mariano J. Alvarez,³ †Andrea Califano,³ and †Riccardo Dalla-Favera^{1,4,5}

¹Institute for Cancer Genetics and H. Irving Comprehensive Cancer Center, Columbia University, New York, NY; ²Department of Pediatrics, University of Padua, Padova, Italy; and ³Joint Centers for Systems Biology and Departments of ⁴Pathology and ⁵Genetics & Development, Columbia University, New York, NY

Transcriptional role of cyclin D1 in development revealed by a genetic-proteomic screen

Microarrays

- Human ChIP-on-chip promoter
- Mouse ChIP-on-chip promoter
- Drosophila ChIP-on-chip
- Yeast ChIP-on-chip



Agilent Technologies

論文紹介 Why It's Interesting

Agilentgenomics.jp/journalclub

... and many more to come

"Genes for embryo development are packaged in blocks of multivalent chromatin in zebrafish sperm." Genome Res. 2011

ChIP-on-chip: 成熟したヒト精子では、胚発生に重要な転写因子の DNA がメチル化されておらず、独特のヒストン修飾を受け、生殖細胞系列において発生関連の遺伝子が特殊なパッケージングされていることが示唆されています。本研究では、扱いやすいゼブラフィッシュモデルから、いくつかの新たな特徴が報告されました。彼らは、まず質量分析により、成熟したゼブラフィッシュ精子のゲノムをパッケージするタンパク質の性質決定を行い、体細胞のゲノムをパッケージする標準的なヒストン H2A、H2B、H3、およびH4に加えて、ヒストンバリント（H2AFX と H2AFV）およびリンカーH1ヒストンとそのバリント（ヒト HIST10C、-D、-E、H1FX、およびH1F0と関係）の存在を明らかにしました。次に、*Agilent Custom プロモーターマイクロアレイ*を作成（ホワイトヘッド研究所のゼブラフィッシュプロモーターチップセットを元に、さらに数百の遺伝子と遺伝因子を追加したもの：miRNAやCpG アイランド等を含む）、活性型ヒストン（H3K4me2/3、H3K14ac、H2AFV）および不活性型ヒストン修飾（H3K27me3、H3K36me3、H3K9me3、脱アセチル化）を ChIP-on-chip で検討しました。その結果、発生に関する遺伝子が幾つかのヒストン修飾および DNA 脱メチル化によりクロマチンの大きなブロック内にパッケージされる複雑な多価クロマチン構造を取ることを明らかにしました。彼らは、さらに ncRNA が遺伝子発現に影響を与えるために維持され使われている可能性を考察しています。

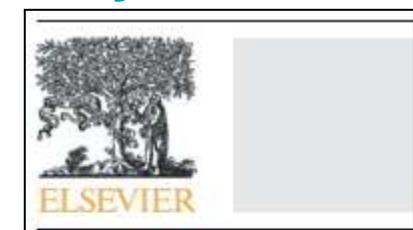
"Chromatin signatures of the Drosophila replication program Drosophila" Genome Res. 2010

Enrichment-on-chip: クロマチン修飾が転写プログラムを調節している方法については相当理解が進んでいます。一方、DNA 複製の開始部位を選択し、調節している方法を決めるクロマチン修飾の役割については未だあまり分かっていません。本研究では *Drosophila* の 3種の細胞株（2種の胚由来、および神経組織由来）を比較しています。S期に DNA 複製の相対時間を特定するために、*Drosophila* ゲノムのユニークな配列に対して作成された *Agilent Custom Genome タイリングアレイ*が使われました。彼らは、同期した細胞を S期の前期および後期に核酸誘導体 5'-ブロモ-2'-デオキシリジンでパルス標識し、これら前期および後期に複製される配列を含む画分をゲノムタイリングアレイとハイブリダイズし、複製の相対時間を決めました。一方、複製開始点認識複合体 (ORC) の全ゲノムでの分布を調べるために ChIP-Seq を実施しました。その結果、複製のタイミング、初期の複製開始点の使い方、および複製開始点認識複合体 (ORC) 結合に関わるクロマチンの性質が特定され、クロマチン構造の違いにともなう細胞株特異的な違いが多数明らかになりました。一次配列、活性化クロマチンマーク、およびDNA結合タンパク質（クロマチニルモデリングタンパク質）が additive に関与して ORC 結合部位が決まり、クロマチン環境は単純なスイッチのオン・オフのように複製開始点を調節しているのではなく、可変抵抗器のように複製の開始を調節していると考察されています。

- ✓ ChIP-on-chip
- ✓ Enrichment-on-chip

カスタムマイクロアレイ
を活用

Methylation-related scientific publications (2010-2011)



Effects of genome arch
CpG islands to aberrant

Hideyuki Takeshima^a, Satoshi Y

Letter

Widespread and tissue-specific methylation changes

Shinji Maegawa,¹ George Hinkley,² Jixin Zha,³ and Jean-Philippe Giguere¹

RESEARCH

¹Department of Molecular and Cell Biology, The University of Texas at Austin, TX, USA

Genome-wide methylation analysis of sense-antisense pairs in

Yutaka Watanabe^a

Naoyuki Yamamoto^c, Kazufumi Watanabe^b, Hidemasa Kato^b, Kuniya Abe^{a,b}, Hidenori Kiyosawa^{a,b,c}

Cancer
Science

The official journal of the Japanese Cancer Association

JCA

Methylation silencing of angiopoietin-like 4 in rat and human mammary carcinomas

Naoko Hattori, Eriko Okochi-Takada, Mizuho Kikuyama, Mika Wakabayashi, Satoshi Yamashita and Toshikazu Ushijima¹

Division of Epigenomics, National Cancer Center Research Institute, Tokyo, Japan

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS ONE

Broad Epigenetic Signature of Maternal Care in the Brain of Adult Rats

Patrick O. McGowan^{1,2,3*}, Matthew Suderman^{2,4,5*}, Aya Sasaki^{1,2,3*}, Tony C. T. Huang⁴, Michael Hallett⁵, Michael J. Meaney^{1,2,6,7}, Moshe Szyf^{2,4,7*}

¹Douglas Mental Health University Institute, Montreal, Quebec, Canada, ²Sackler Program for Epigenetics and Developmental Psychobiology at McGill University, McGill University, Montreal, Quebec, Canada, ³Centre for the Neurobiology of Stress, University of Toronto, Scarborough, Toronto, Ontario, Canada, ⁴Department of Pharmacology and Therapeutics, McGill University, Montreal, Québec, Canada, ⁵McGill Centre for Bioinformatics, McGill University, Montreal, Quebec, Canada,

⁶Singapore Institute for Clinical Sciences, Singapore, Republic of Singapore, ⁷Experience-Based Brain and Biological Development Program of the Canadian Institute for Advanced Research, Toronto, Ontario, Canada

A Genome-wide screen identifies frequently methylated genes in haematological and epithelial cancers

Thomas Dunwell¹, Luke Hesson¹, Tibor A Rauch², Lihui Wang³, Richard E Clark³, Ashraf Dalol¹, Dean Gentle¹, Daniel Catchpoole⁴, Eamonn R Maher¹, Gerd P Pfeifer², Farida Latif^{1*}, Naoyuki Yamamoto^c, Kazufumi Watanabe^b, Hidemasa Kato^b, Kuniya Abe^{a,b}, Hidenori Kiyosawa^{a,b,c}

Microarrays

- Human CpG Island
- Mouse CpG island
- Rat CpG island
- Custom Tiling



Agilent Technologies

論文紹介 Why It's Interesting

Agilentgenomics.jp/journalclub

... and many more to come

"Methylation silencing of angiopoietin-like 4 in rat and human mammary carcinomas" Can. Sci. 2011

メチル化 : 異常なDNAメチル化は乳がんの発病と進行に深く関与していますが、その誘導因子と分子機構の解明のためには動物モデルが必要です。本研究では、ラット乳がんサンプルのメチル化DNA免疫沈降法で調製したDNAを用いて、*Agilent Rat CpG Islandマイクロアレイ*を用いた解析が行われました。その結果、CGIプロモーターをもつ遺伝子のなかで、癌細胞株でメチル化された多くの遺伝子が見つかりました。本研究は、ラット乳がんで異常なDNAメチル化サイレッシングを受ける遺伝子が初めて同定されるとともに、ラットのみでなくヒト乳癌でもメチル化により発現抑制される遺伝子も新たに同定されました。ラットは、がん、毒物学および循環器系疾患のような生物医学研究分野で幅広く用いられており、Rat CGIマイクロアレイは、様々なエビジェネティックスの研究に応用できることが期待されます。

"Genome-wide analysis of expression modes and DNA methylation status at sense-antisense transcript loci in mouse." Genomics. 2010

メチル化: センス-アンチセンス転写産物(SAT)は哺乳類のゲノム全体に広がっていますが、その機能の大部分は不明です。著者らはSATの発現とDNAメチル化に関する洞察を得るために、SATの発現とその関連するプロモーターDNAのメチル化状態をマウスの12の組織で解析しました。本研究では*Agilent*のカスタムアレイを使用したMeDIPチップ法(免疫沈降させたメチル化DNA断片を直接マイクロアレイプラットフォームで調べる)が使用されました。彼らは発現解析に用いた12の組織についてSAT遺伝子座のDNAメチル化状態をMeDIPチップを用いて解析しました。マイクロアレイは5' -FCS(First exon of cDNA Sequence; 各cDNA配列の最初のエクソンの5'末端、基本的には転写開始部位と推定される部分)の-6から+2 kbの中の標的となるCpGアイランド(CGI)に対して設計されました。CGIは、(G + C)の割合が0.55以上で、CpGジヌクレオチドの観察値／期待値(O/E)が0.65以上である5' -FCSの-6から+2 kbの中の500 bpを越える領域として定義されています。計6248のCGIが2/3のSATの周りで予測され、双方向転写産物(BDT)の半数は転写産物の5' -FCS上または近くにCGIを持つと予測されました。そのため、これらの予測されたCGIの多くはプロモーターCGIである可能性があります。著者らはセンスおよびアンチセンスの発現がほとんどの組織で正の相関を示すことを見出しました。しかし、組織特異的発現をするSATの一部では、プロモーターDNAがメチル化されている場合にはCGIをもつプロモーターからの転写産物の発現レベルは低く、この環境では逆鎖の転写産物の発現レベルが特にポリ(A)が無い時に高くなりました。これらの結果は一般的なセンス-アンチセンス同時発現の傾向はあるものの、いくつかのアンチセンス転写産物は対となるセンス遺伝子のプロモーターのメチル化状態に協調して発現することを示唆しています。この鎖間関係はインプリンティング遺伝子の特権ではなく、SATに広く見られるもののように見えます。

This is posting . Stay tune!

✓ MeDIP-on-chip

デザイン済みのメチル化解析用アレイ or カスタム設計したマイクロアレイを活用

内容

1. なぜ ChIP-on-chip? なぜ DNA Methylation?

- ・転写調節の理解に必要な因子、幹細胞での実例

2. マイクロアレイと次世代シーケンサ

- ・次世代シーケンサ時代にDNAマイクロアレイの使い分け

3. ChIP-on-chip / DNA Methylation マイクロアレイ

- ・設計済みのデザイン：プロモータアレイ、CpG+UMRアレイ
- ・eArrayを用いたカスタムデザイン：高密度アレイ、マルチパックアレイ

4. 実験・解析フローと統合データ解析ツール

- ・免疫沈降からイベント解析まで
- ・Agilent Genomic Workbench, GeneSpring GX11

5. Agilent エピジェネティクスの新しい取り組み



The Transcription Puzzle

Genomes don't just encode protein-coding RNAs

Different classes of ncRNAs identified to date

- Revealed novel sets of new small and large ncRNAs
- Key players for gene regulation, genome stability, and chromatin modification, etc.

The Biological Roles

- ncRNAs in translation
- ncRNAs in RNA splicing
- ncRNAs in gene regulation (*trans-* and *cis-*)
- ncRNAs and genome defense
- ncRNAs and chromosome structure
- Bifunctional RNA

ncRNA	Example
Short	t/r/sn/mi/piRNAs
Long	Xist/H19/Air/HOTAIR/...



Long noncoding RNAs in gene regulation

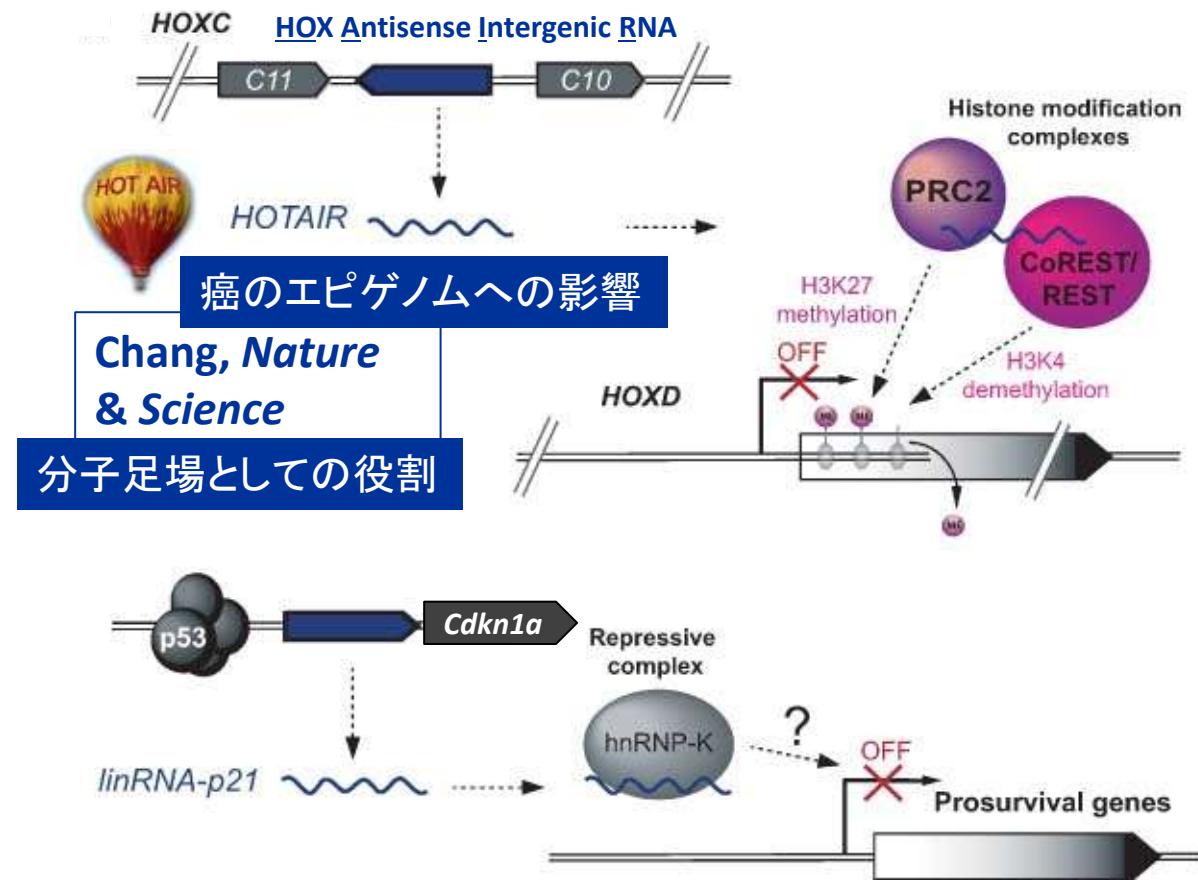
The silencing effect

Cell (2007)

“Functional Demarcation
of Active and Silent
Chromatin Domains in
Human HOX Loci by
Noncoding RNAs”

Cell (2010)

“A Large Intergenic
Noncoding RNA Induced
by p53 Mediates Global
Gene Repression in the
p53 Response”



Interdisciplinary Reviews, Focus Article, Published Online: Mar, 2011



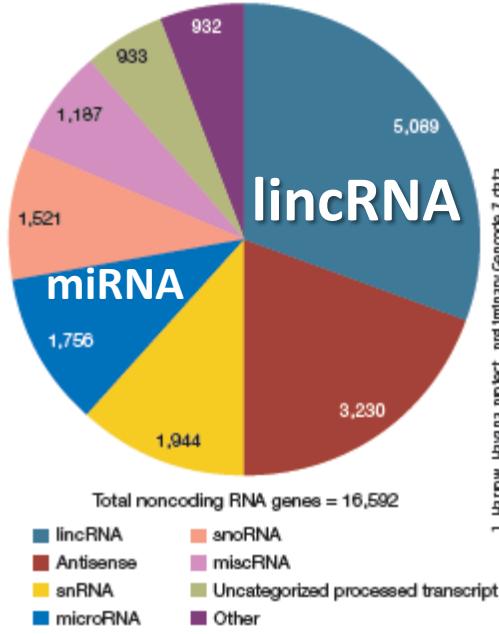
“New” Long noncoding RNAs in gene regulation

The boosting effect

LincRNA: Large intervening (or Long intergenic) non-coding RNA

Cell (2010)

Ørom UA et.al., “Long Noncoding RNAs with Enhancer-like Function in Human Cells”



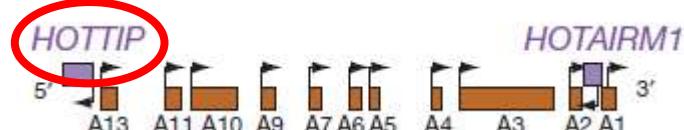
Nature (April, 2011)

Wang KC et.al., “A long noncoding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression”

Monitored the expression of 3000+ long ncRNA using Agilent custom microarrays

2010年夏、lincRNAとmRNAを同時にプロファイルするカタログアレイの提供を始めました(ヒト&マウス)。

HOTTIP, ‘HOXA transcript at the distal tip’



Bisulfite DNA 増幅に *Pfu* Turbo Cx と SureCycler

[Nature](#). 2011 May 19;473(7347):394-7. Epub 2011 May 8.
Genome-wide mapping of 5-hydroxymethylcytosine in
embryonic stem cells.
本酵素が第六塩基のゲノムワイド解析で使われました。

Enables **robust amplification for genome-wide analysis of DNA methylation** with PfuTurbo Cx Hotstart DNA Polymerase, a proofreading polymerase that not only knows what to do with deoxyuracil, but also has high proofreading activity !



SureCycler is “All-in-one” Thermal Cycler
It’s Turbo-Charged !

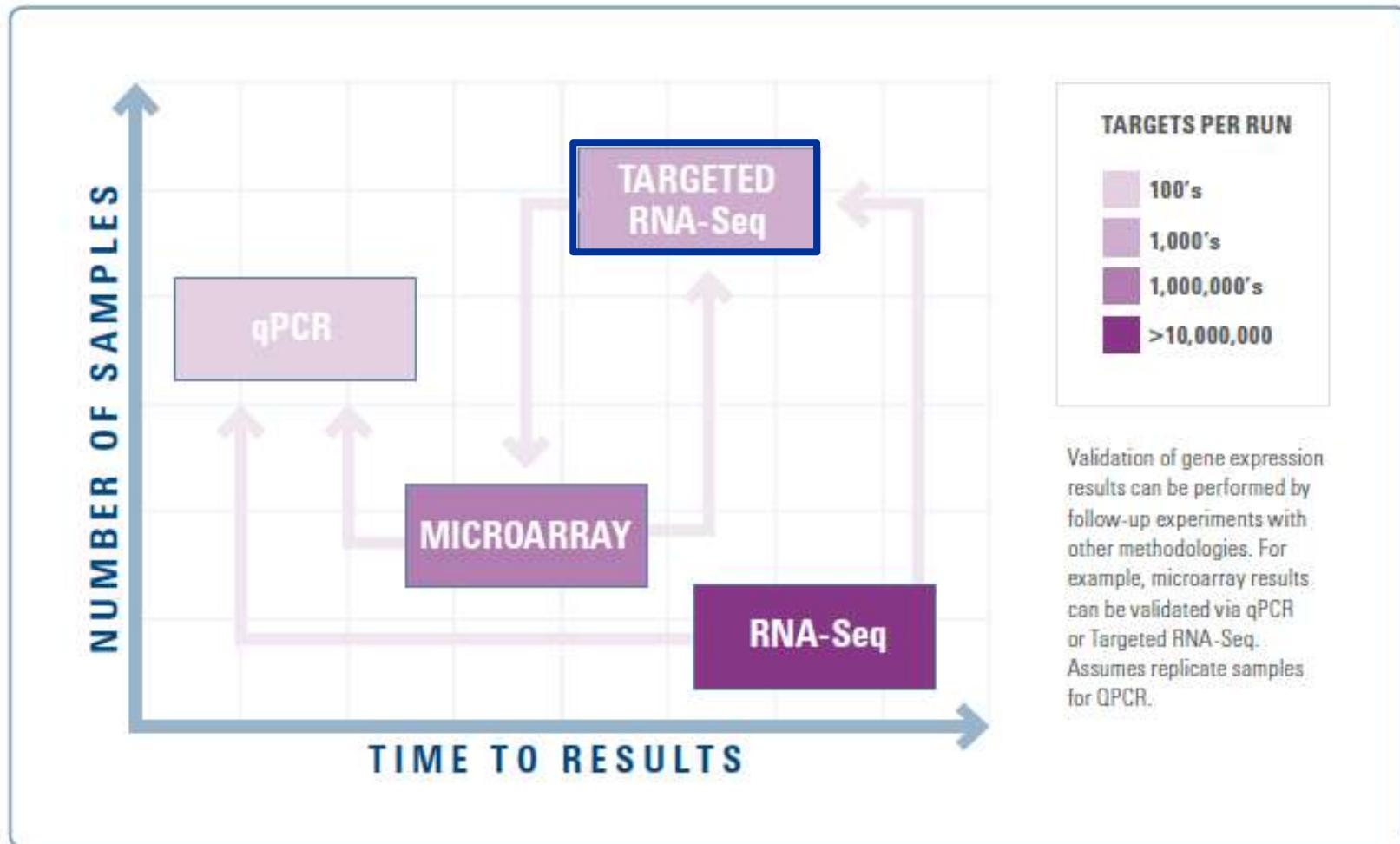


NAR 2009, 37, 18, e122

Ensure Your New Non-coding RNA Discovery

Targeted Resequencing

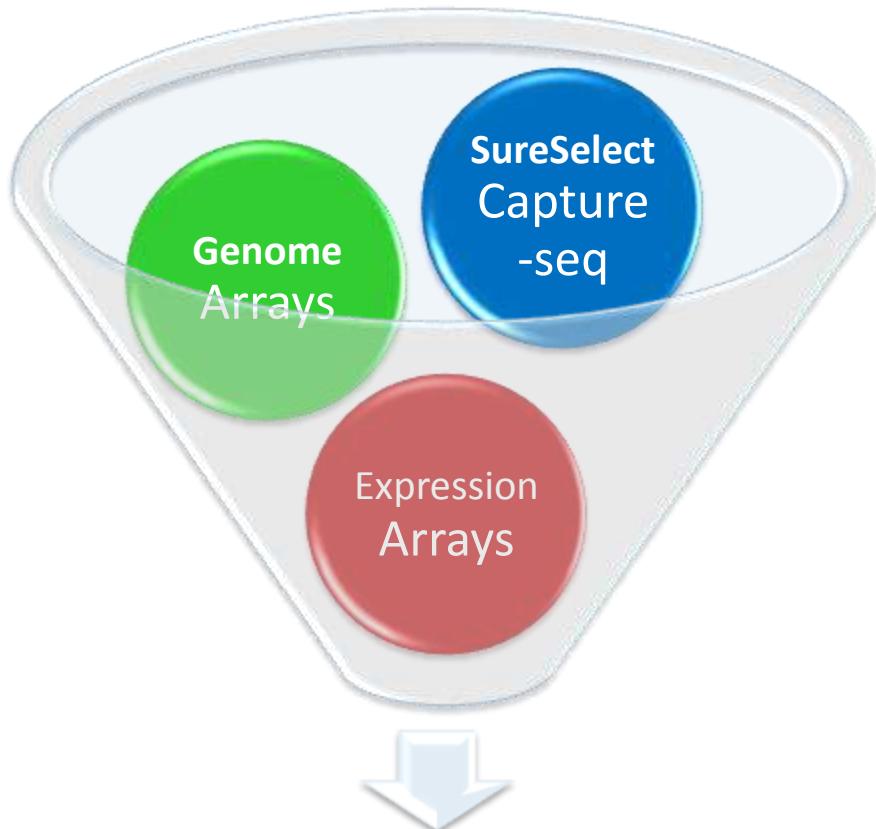
未知の転写産物を効率的に見つける新しい方法



MULTIPLE TECHNIQUES FOR GENE EXPRESSION STUDIES

Best in Class just got better.....

Agilent Genomics Workflow Solution



エピジェネテクス
への貢献



Bioanalyzer
QC Steps