

## Human Methylome 受託サービスガイドライン

**Human Methylome** は、ヒトの組織（急速凍結、FFPE）または血漿中を循環しているセルフリーDNA（cfDNA）のようなリキッドバイオプシーから得られたサンプル中のDNAメチル化を標的とした次世代シーケンス (NGS) 受託サービスです。がん、神経変性疾患、心血管疾患、代謝性疾患などのバイオマーカー探索やモニタリングに適しています。このアッセイでは、ヒトCpGアイランドサイトの 84% を含む 3,980,000 以上のCpGサイトを、高いカバレッジ（150倍）で解析します。

サンプルは、高品質の DNA が得られる方法で精製し、日本ジェネティクス株式会社に送付してください。  
詳細な手順については「Human Methylome 受託サービスサンプル提出ガイドライン」をご参照ください。

## Human Methylome 受託サービスのワークフロー

### 1. DNA の QC

- PicoGreen、Qubit などの蛍光色素を用いた DNA 濃度の測定
- Fragment Analyzer Systems などを用いた DNA クオリティの評価

### 2. Human Methylome ライブラリー調製

- 必要な場合は Bioruptor® Pico での DNA 剪断 およびサイズプロファイルの確認
- 酵素による変換 (NEB 社) を含むライブラリー調製
- EM-seq ライブラリーの QC (DNA 濃度およびサイズプロファイルの確認)
- Human Methylome Panel (Twist Bioscience 社) を使用したハイブリダイゼーションによるターゲットキャプチャー
- キャプチャーしたライブラリーの QC (DNA 濃度およびサイズプロファイルの確認)

### 3. ディープシーケンス

- イルミナーシーケンサー (PE150)
- 1 サンプルあたり平均 60,000,000 リードを取得

### 4. バイオインフォマティクス解析

**Methylation calling:** シーケンスデータのリファレンスゲノムへのアラインメントと CpG ヌクレオチドのメチル化状態の決定

## 5. ご要望に応じた追加のバイオインフォマティクス:

- **Differential methylation analysis:** サンプルグループ間における CpG ヌクレオチドのメチル化状態の比較
- **Annotation with genomic regions:** イントロン、エクソン、（利用可能な場合）エンハンサー、プロモーター、遺伝子間領域などのゲノム領域とメチル化 CpG の変動または DMR（メチル化変動領域）のアノテーション
- **Gene ontology terms analysis:** 遺伝子セットのエンリッチメント解析。変動結合領域で過剰発現している遺伝子オントロジー（GO）terms は、関連する根本的な生物学的プロセスを示している可能性があります。
- **Pathway analysis:** メチル化変動領域（または個々のメチル化 CpG 変動）に関連する過剰発現する可能性のある遺伝子の生化学的経路を同定します。

## 6. その他の注意事項

サンプル調製・送付については必ず Diagenode 社のガイドラインに従ってください。ご提供いただいたサンプルの QC が基準に満たない場合、再度新しいサンプルをご提供いただき追加の QC を行います。ただし、再提供および品質確認にかかる追加料金はお客様負担となります。サンプル提供が遅れますと、納期に影響する可能性があります。

解析結果データは、Diagenode WEB サイトよりダウンロード可能です。解析終了後、Diagenode SA（ベルギー）よりログイン及びダウンロード方法についてご連絡いたしますので、1 ヶ月以内にダウンロードをお願いいたします。また、予備期間として 3 ヶ月間はサーバー上に保存されていますが、それ以降は削除されますので、長期間の保存を希望される場合は早めにご連絡ください。

お客様からお預かりしたサンプルは、Diagenode 施設にて解析終了から 4 ヶ月間保管した後、順次廃棄いたします。お客様のご要望に応じて、サンプルのご返却も可能です。ただし、ご返却には追加費用が必要となります。

ご依頼いただいた内容の範囲外となる追加サービスの料金はお客様負担となります。