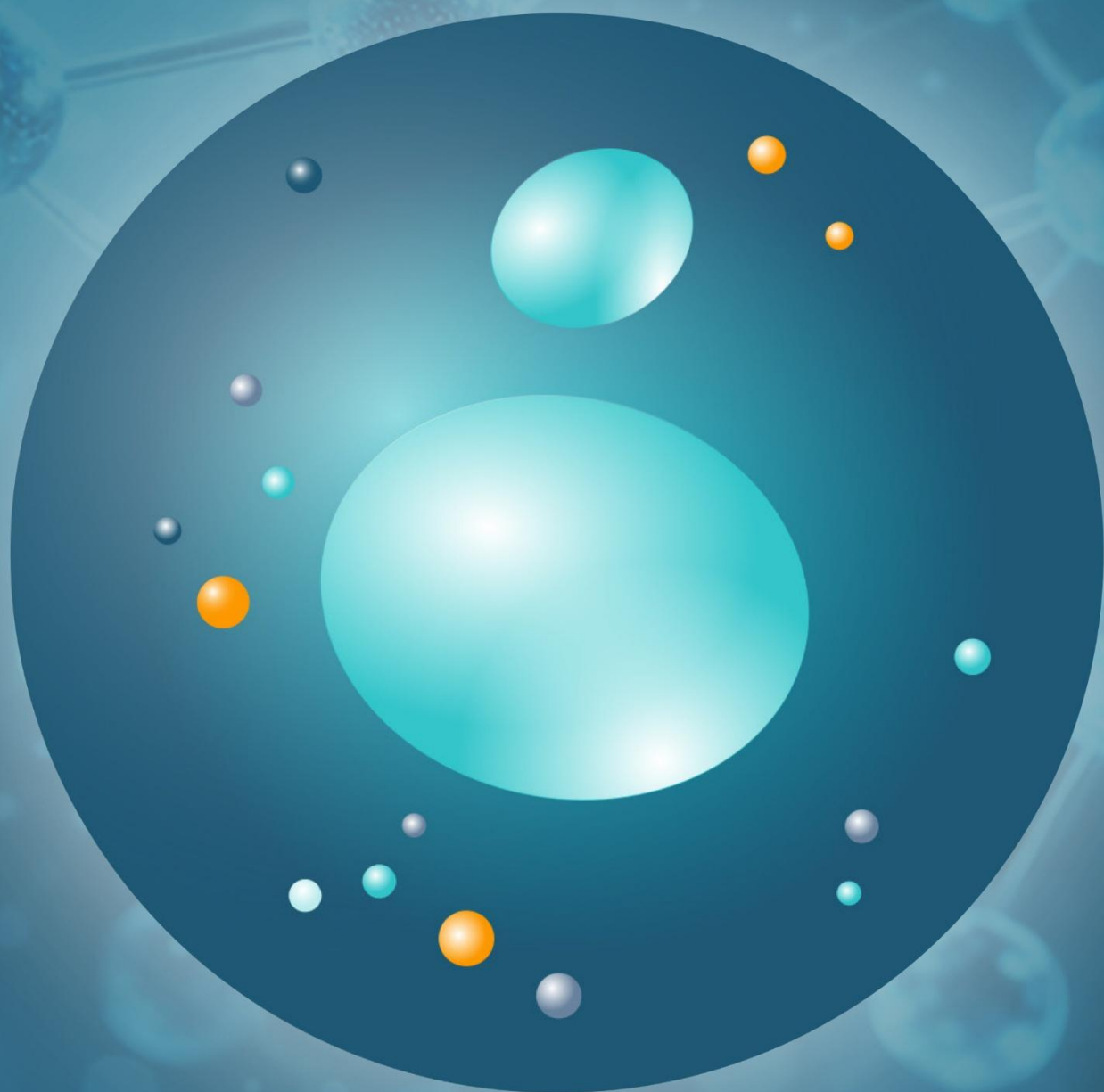


EpiFinder™ cNUC

リキッドバイオプシーにおける
エピジェネティックな側面を解明



Epigenica

リキッドバイオプシーにおける エピジェネティックな側面を解明

血中のセルフフリーDNAの大部分は、循環ヌクレオソーム（cNUCs）として存在しています。これらのcNUCの多くは体内のさまざまな組織に由来し、それぞれの由来細胞における遺伝子発現プログラムを反映するエピジェネティックマークを保持しています。1つのヌクレオソームは、約160塩基対のDNAがヒストンタンパク質コアに巻き付いた構造から成ります。

リキッドバイオプシーは主に遺伝情報の解析に広く用いられてきましたが、cNUCが保持するエピジェネティック情報はこれまで十分に活用されてきませんでした——しかし今、それが可能になりました。

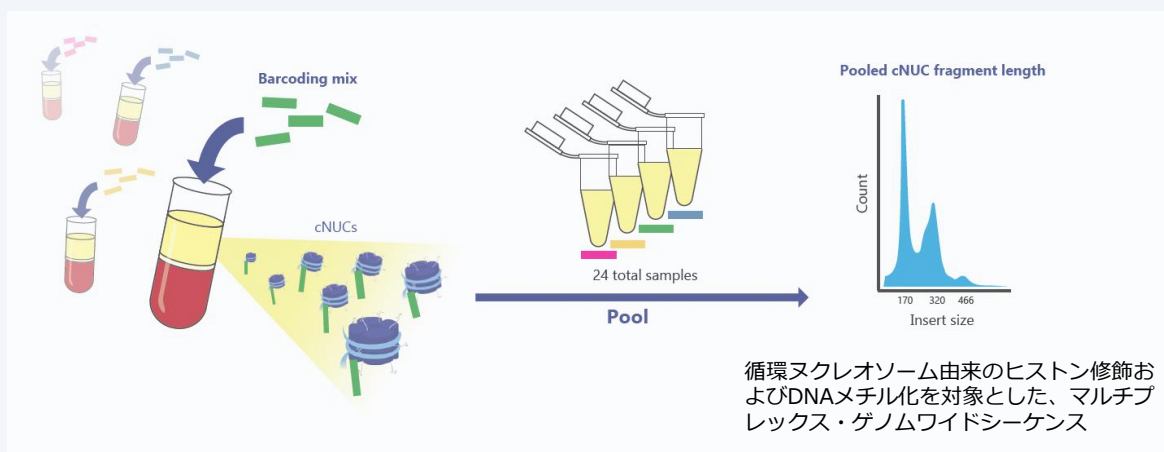
EpiFinder™ cNUC は、血漿または血清から直接、高スループットかつゲノムワイド、さらにマルチプレックスなエピジェネティックプロファイリングを可能にする、業界初のソリューションです。これにより、リキッドバイオプシー研究に新たな次元を切り拓きます。

なぜリキッドバイオプシーにおける エピジェネティック解析が重要？

遺伝的変異だけでは、生物学的全体像の一部しか捉えることができません。ヒストン修飾やDNAメチル化を含むエピジェネティック制御は、遺伝子発現、細胞アイデンティティ、そして疾患状態を規定します。血液からこれらの制御情報にアクセスすることで、以下が可能になります：

- 由来組織（tissue-of-origin）や転写活性に関する洞察の獲得
- DNA配列変異を超えた制御変化の検出
- バイオマーカー探索およびトランスレーショナル研究の可能性拡大

EpiFinder™ cNUCにより、これらの情報を標準的な血漿・血清サンプルから直接取得できます。



リキッドバイオプシーにおける エピジェネティック洞察から生物学的インパクトへ

EpiFinder™ cNUCは、循環ヌクレオソームから豊富なエピジェネティック情報を抽出することで、これまでアクセスできなかった制御レイヤーをリキッドバイオプシーにおいて可視化します。これにより、以下を含む幅広い探索研究およびトランスレーショナル応用が可能となります：

調節活性の解読

がん、炎症、加齢関連プロセスを含む、健康および疾患状態における制御機構の理解

バイオマーカーの探索および検証

高解像度のクロマチンシグネチャーに基づく解析

由来組織および転写状態のプロファイリング

ヌクレオソームに付随するヒストンマークを活用

縦断的モニタリング

疾患進行、治療応答、微小残存病変（MRD）の追跡

製品概要

EpiFinder™ cNUCキットは、事前のDNA精製を必要とせず、リキッドバイオプシーサンプルから直接、定量的かつマルチプレックスなエピジェネティックプロファイリングを可能にします。

本キットは、血漿または血清を用いて、ヒストン翻訳後修飾（hPTMs）およびDNAメチル化の並列解析に対応しています。すべての必要試薬を含み、単一ランで以下のプロファイリングを実現します：

- 最大5種類のヒストンPTMとDNAメチル化、もしくは
 - 最大6種類のヒストンPTM
- 最大24のリキッドバイオプシーサンプルに対応。

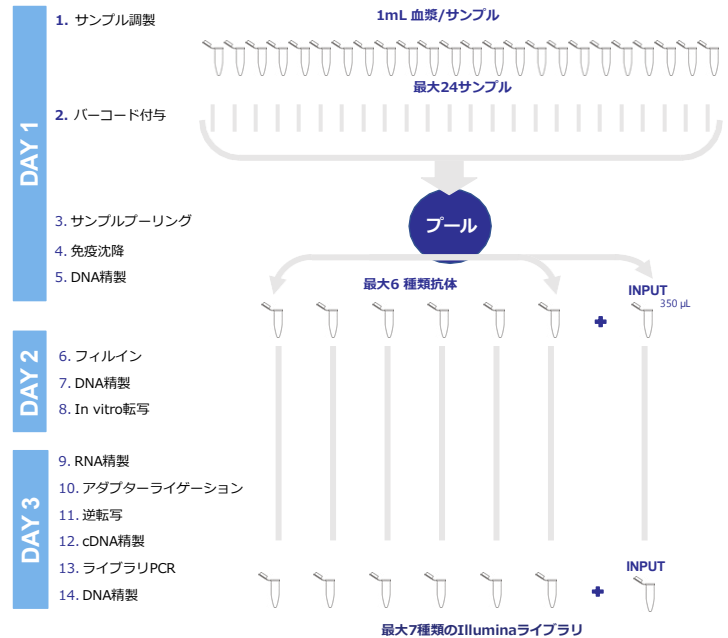
本ワークフローでは、インプットコントロールを含む7種類のシーケンシングライブラリーを製作します。すべてのライブラリーはバーコード化およびプールされ、単一のフローセル上で同時にシーケンスされます。これにより、1ランあたり最大168のゲノムワイドカバレッジトラックを取得可能です。インプットライブラリーは正規化に用いられるほか、大規模なコピー数変動の検出にも活用できます。

効率的なマルチプレックスワークフロー

EpiFinder™ cNUCのワークフローは、約14時間のハンズオンタイムで、3日間で完了します。

サンプルはバーコード付与およびプールされ、単一ランで最大24の血漿または血清サンプルを並列処理できます。最大6種類の検証済み抗体とインプットコントロールを用いたマルチプレックス免疫沈降を行い、その後ライブラリを調製し、サンプルあたり最大7種類のIllumina対応シーケンスライブラリを作製します。

作製されたライブラリはバーコード化され、Illuminaフローセル上でシーケンスされます。本ワークフローは最適化されたプロトコルに基づいており、ChIP-seqの経験がない研究者でも実施可能です。



オープンソースパイプラインによるシームレスなデータ解析

EpiFinder™ cNUCは、完全オープンソースのデータ処理パイプラインに対応しており、リキッドバイオプシー由来エピゲノムデータの透明性・再現性・スケーラビリティの高い解析を可能にします。

生データから解析可能データまで、本パイプラインは以下を含む一貫したエンドツーエンドのワークフローを提供します：

- 生データの品質管理 (QC)
- サンプルのデマルチプレックス
- ゲノムアライメント
- シグナルトラックの生成
(各マーカー・各サンプルごとの正規化カバレッジプロファイル)

得られるデータセットは、ゲノムワイドなシグナルカバレッジトラックとして出力され、ピークコーリング、変動解析、マルチオミクス統合解析、あるいはカスタム解析ワークフローなど、下流解析に即時利用可能です。

オープンソース設計により、高い透明性と柔軟性、既存のバイオインフォマティクス環境との互換性が確保されており、EpiFinder™ cNUCのデータをユーザーの既存解析パイプラインへシームレスに統合できます。

柔軟な利用形態

EpiFinder™ cNUCキットは自施設での運用に加え、サンプル処理からデータ解析までをカバーするEpigenica社の解析サービスを利用することで、エンドツーエンドのサポートを受けることも可能です。

主な特長

- 血液サンプルからヒストンPTMおよびDNAメチル化を並列プロファイリング
- 単一ランで最大144のゲノムワイド・エピジェネティックデータセットを取得可能
- シーケンス負荷と解析までの時間を削減する、コスト効率の高いマルチプレックスワークフロー
- DNA精製やスパイクインコントロールを必要としない、簡便で効率的なプロトコル
- オープンソースパイプラインにより、シーケンスから解析可能なエピゲノムデータへのシームレスな移行

検証済みエピゲノムターゲット

EpiFinder™ cNUCには、転写制御およびクロマチン状態に関わる主要なエピジェネティック特徴を標的とした、最適化・検証済みの抗体パネルが含まれています。ヒストン修飾は抗体ベースの免疫沈降により解析され、DNAメチル化はタグ付きMBD2タンパク質を用いて捕捉されます。

下表には、主要な検証済みターゲットと、それに対応するゲノム上の特徴をまとめています。なお、追加のエピジェネティックマークについても検証済みであり、ご要望に応じて利用可能です。

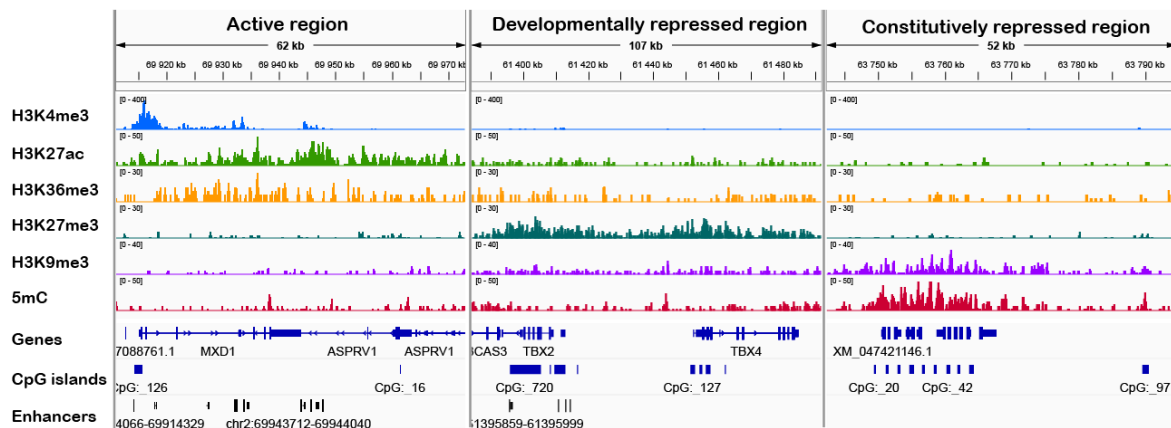
ターゲット*	関連するゲノム特徴
H3K4me3	活性と二価性 (bivalent) プロモーター
H3K27ac	活性プロモーターとエンハンサー
H3K36me3	活発に転写されている遺伝子領域 (3'末端側でエンリッチ)
H3K27me3	条件的に抑制された (ポリコム依存性) プロモーターおよび遺伝子領域
H3K9me3	恒常的に抑制された領域およびリピート配列
5mC	DNAメチル化 (CpGアイランドにおける遺伝子抑制を制御)

*すべての検証済みターゲットに対応する抗体およびキャプチャータンパク質は、本キットに含まれています。

感度と分解能

リキッドバイオプシーサンプル中の循環ヌクレオソーム数は限られていますが、EpiFinder™ cNUCは高い特異性でゲノムワイドなエピジェネティック情報を取得します。データの分解能は主にサンプル品質に依存します。

下図は、健康者血漿サンプルから得られた代表的なゲノムブラウザ（IGV）トラックの例を示しており、5種類のヒストン修飾（H3K4me3、H3K27ac、H3K36me3、H3K27me3、H3K9me3）およびDNAメチル化（5mC）を含む複数のエピジェネティックマークのエンリッチメントパターンを示しています。活性領域、発生過程で抑制された領域、恒常的に抑制された領域において、それぞれ既知の制御機能と一致する特徴的なシグナルプロファイルが観察されます。

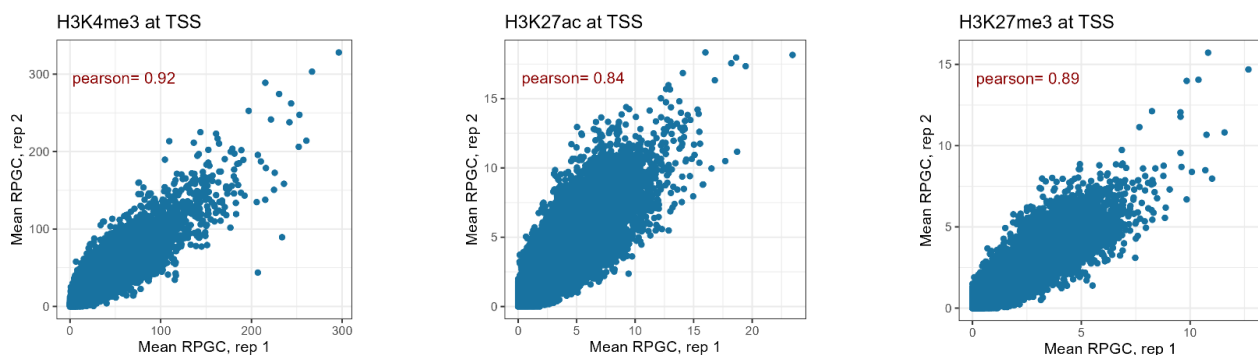


注：血液の採取および保存に関するベストプラクティスについてはお問い合わせください。

再現性

EpiFinder™ cNUC は、リキッドバイオプシーサンプルから再現性の高いゲノムワイド・エピゲノムプロファイルを提供します。代表的なヒストンマークにおいてテクニカルレプリケート間で高い一致性が確認されており、信頼性の高い性能を示しています。

下図は、健康者由来のEDTA血漿1mLから取得したH3K4me3、H3K27ac、H3K27me3におけるテクニカルレプリケート間の高い一致性を示しています。各プロットのデータ点は、タンパク質コード遺伝子の転写開始点（TSS）におけるRPGC正規化カバレッジの平均値を表しています。高いピアソン相関係数により、ゲノムワイドでの再現性が確認されます。



検証済みサンプルタイプ

EpiFinder™ cNUCは、以下のサンプルで検証されています：

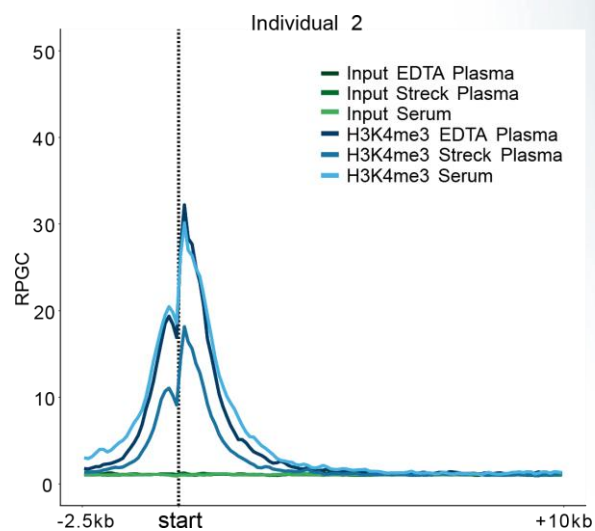
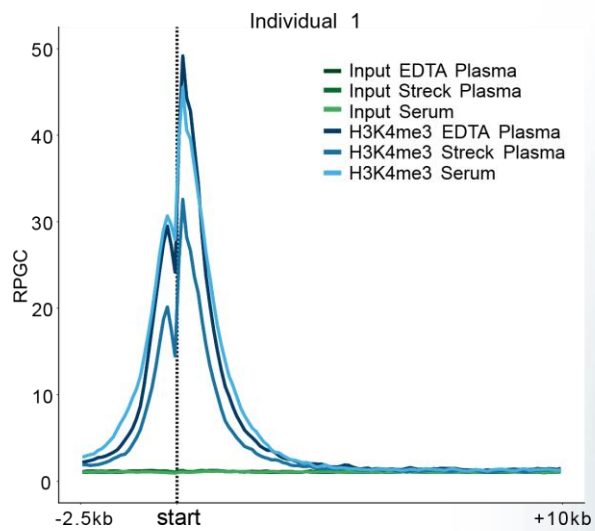
血清

EDTA採血管で採取した血漿

Cell-Free DNA BCT® (Streck)採血管で採取した血漿

下図の比較データは、上記の検証済み採血管を用いて2名の個体から採取した100 μ Lの血清または血漿サンプルにおいて、転写開始点（TSS）領域で一貫したH3K4me3エンリッチメントが得られることを示しています。

転写開始点（TSS）でのH3K4me3エンリッチメント



製品仕様

EpiFinder™ cNUC	
プロファイリング方法	ゲノムワイド
サンプルタイプ	血漿または血清
サンプル数 x ターゲット数	24 サンプル x 6 ターゲット
ターゲット	ヒストンPTMとDNAメチル化
1サンプルあたり開始材料量	200μl* ~1ml
シーケンス深度	5-30 百万リード/サンプル/免疫沈降

* 1 mL未満の解析には、解析サービスの利用を推奨いたします。

EpiFinder™ cNUCの推奨開始材料量は、1mLの血漿または血清です。サンプル量が限られている場合には、解析サービスを利用することで、より少量のインプットにも対応可能です。Epigenica社の解析チームが実現可能性を評価し、利用可能なサンプル量に基づいたデータ性能の見込みについてご案内します。

遺伝情報を超え：リキッドバイオプシーの次なるレイヤー

EpiFinder™ cNUCは、リキッドバイオプシーにエピジェネティック制御の視点をもたらします。血漿または血清から直接、マルチプレックスかつゲノムワイドなプロファイリングを可能にすることで、解析を遺伝的変異にとどめることなく、循環ヌクレオソームに刻まれた制御情報を解き明かします。標準的な血漿・血清量でスケラブルに運用可能な本プラットフォームは、リキッドバイオプシー・エピゲノミクスの新たな基準を確立します。

EpiFinder™ cNUCの詳細については、reagents@primetech.co.jp までお気軽にお問い合わせください。

 **Epigenica**

www.epigenica.se



お問合せ：

プライムテック株式会社

www.primetech.co.jp

ライフサイエンス事業部 バイオ試薬ソリューション部

東京都文京区小石川1-3-25 小石川大国ビル2F

Phone : 03-3816-0851 (代表) Fax : 03-3814-5080

E-mail : reagents@primetech.co.jp