

焦磷酸验证位点挑选指南

1. 从关注基因挑选位点进行验证

1.1 从差异分析总表拉相关基因的位点信息

1.2 整理合并数据

1.3 筛选标准

1.3.1 P 值 < 0.05

1.3.2 $\Delta\beta \geq 0.1$

1.3.3 Mean $\beta \geq 0.1$, 因为若样本位点的 β 太低, 焦磷酸验证平台的灵敏度不够, 可能会导致结果出现误差。

1.3.4 UCSC_REFGENE_GROUP: 最好位于 TSS200 或 1500, 若没有合适的 CG 位点, 可适当放宽条件。因为启动子区的 cg 位点的甲基化程度通常和基因表达负相关[1]。Gene body 区的 cg 位点的甲基化程度通常和基因正相关[2、3]

1.3.5 SNP_DISTANCE: 挑选 CG 位点距离 SNP 位点距离大于 10 以上的位点, 若没有合适的 CG 位点, 可适当放宽条件[4]。因为 SNP 位点若与 CG 位点重合或距离太近, 会影响实验结果。

1.3.6 SNP_MinorAlleleFrequency: 挑选等位的突变频率 ≤ 0.05 的 CG 位点, 若没有合适的 CG 位点, 可适当放宽条件[4]。

2. 挑选可以区分组别的标志物

2.1 筛选标准

2.1.1 P 值 < 0.05

2.1.2 $\Delta\beta \geq 0.1$

2.1.3 Mean $\beta \geq 0.1$, 因为若样本位点的 β 太低, 焦磷酸验证平台的灵敏度不够, 可能会导致结果出现误差。

2.1.4 UCSC_REFGENE_GROUP: 最好位于 TSS200 或 1500, 若没有合适的 CG 位点, 可适当放宽条件。因为启动子区的 cg 位点的甲基化程度通常和基因表达负相关[1]。Gene body 区的 cg 位点的甲基化程度通常和基因正相关[2、3]

2.1.5 SNP_DISTANCE: 挑选 CG 位点距离 SNP 位点距离大于 10 以上的位点, 若没有合适的 CG 位点, 可适当放宽条件[4]。因为 SNP 位点若与 CG 位点重合或距离太近, 会影响实验结果。

2.1.6 SNP_MinorAlleleFrequency: 挑选 CG 位点附近最小等位基因频率 ≤ 0.05 的 CG 位点, 若没有合适的 CG 位点, 可适当放宽条件 [4]。

2.2 缩小范围

得到满足以上条件的 CG 位点后, 在再从里面挑选位于自己感兴趣基因和课题相关基因的位点。

3. 参考文献

[1] Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. Cell. 2007;128:683–692. doi: 10.1016/j.cell.2007.01.029.

[2] Jones PA. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat. Rev. Genet.* 2012;13:484–492. doi: 10.1038/nrg3230.

[3] Murtha M, Esteller M. Extraordinary cancer epigenomics: thinking outside the classical coding and promoter box. *Trends Cancer.* 2016;2:572–584. doi:

10.1016/j.trecan.2016.08.004. [4]Murtha M, Esteller M. Anxiety Associated

Increased CpG Methylation in the Promoter of Asb1: A Translational Approach

Evidenced by Epidemiological and Clinical Studies and a Murine Model.

Neuropsychopharmacology. 2017;43:342. 10.1038/npp.2017.102.