

プローブのアップロード

遺伝子発現

CGH/CNV

ChIP-on-chip/CpG Island

- ・アップロードとは
- ・アップロードするファイルの準備
- ・アップロード操作
- ・アップロードの状況
- ・アップロードしたProbeGroupの確認・変更
- ・既存プローブのアノテーション情報の変更

※2010年12月現在、miRNAプローブを
eArrayにアップロードすることはできません。

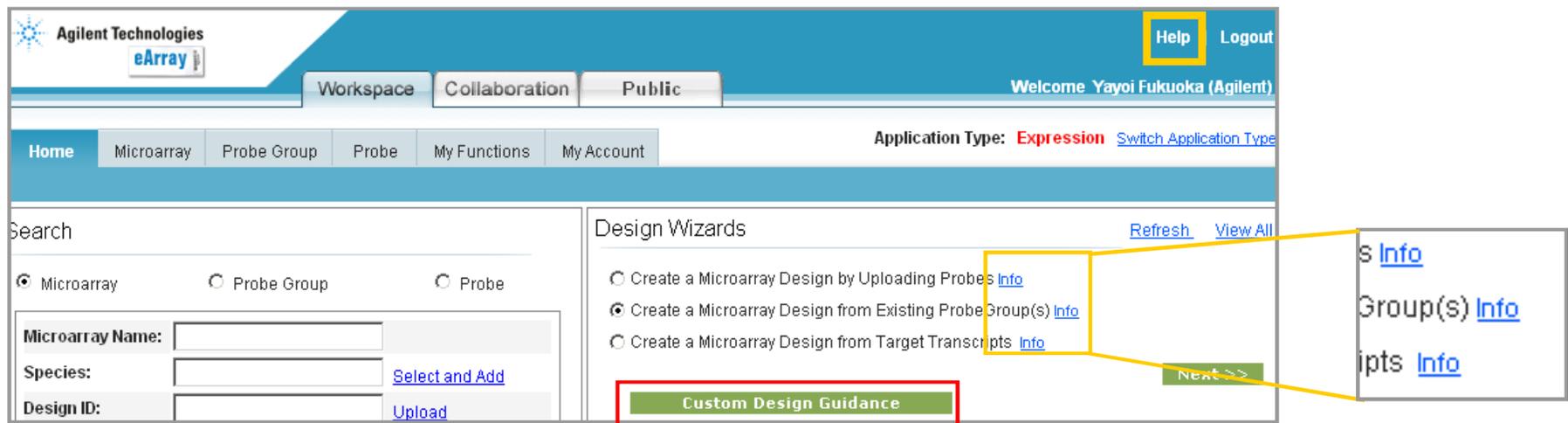


Agilent Technologies

eArray

カスタムアレイを作成するにあたって

- ・ System Requirement (別紙) をご確認くださいのうえ、eArrayをご利用ください。
- ・ 推奨繰り返しスポット数等の記載がありますので、“[Custom Design Guidance](#)”を必ずご一読ください。
アプリケーションタイプを選択後、“Design Wizard”内にリンクがあります。
- ・ [Info](#) をクリックすると、各機能の簡単な説明が別ウィンドウで現れます。
より詳しい機能説明はHelpを参照してください。



- ・ 情報の取り扱い等に関する記載がありますので、使用規約をご一読ください。
eArrayログイン後は、画面下方の[eArray Terms of Use](#)をクリックするとご覧いただけます。

カスタムアレイ作成の流れ

Step1.

最初にカスタムアレイに搭載するプローブを選択し、**プローブグループとして保存**します。プローブグループとは、1つ以上のプローブで構成されるまとまりです。

Step2.

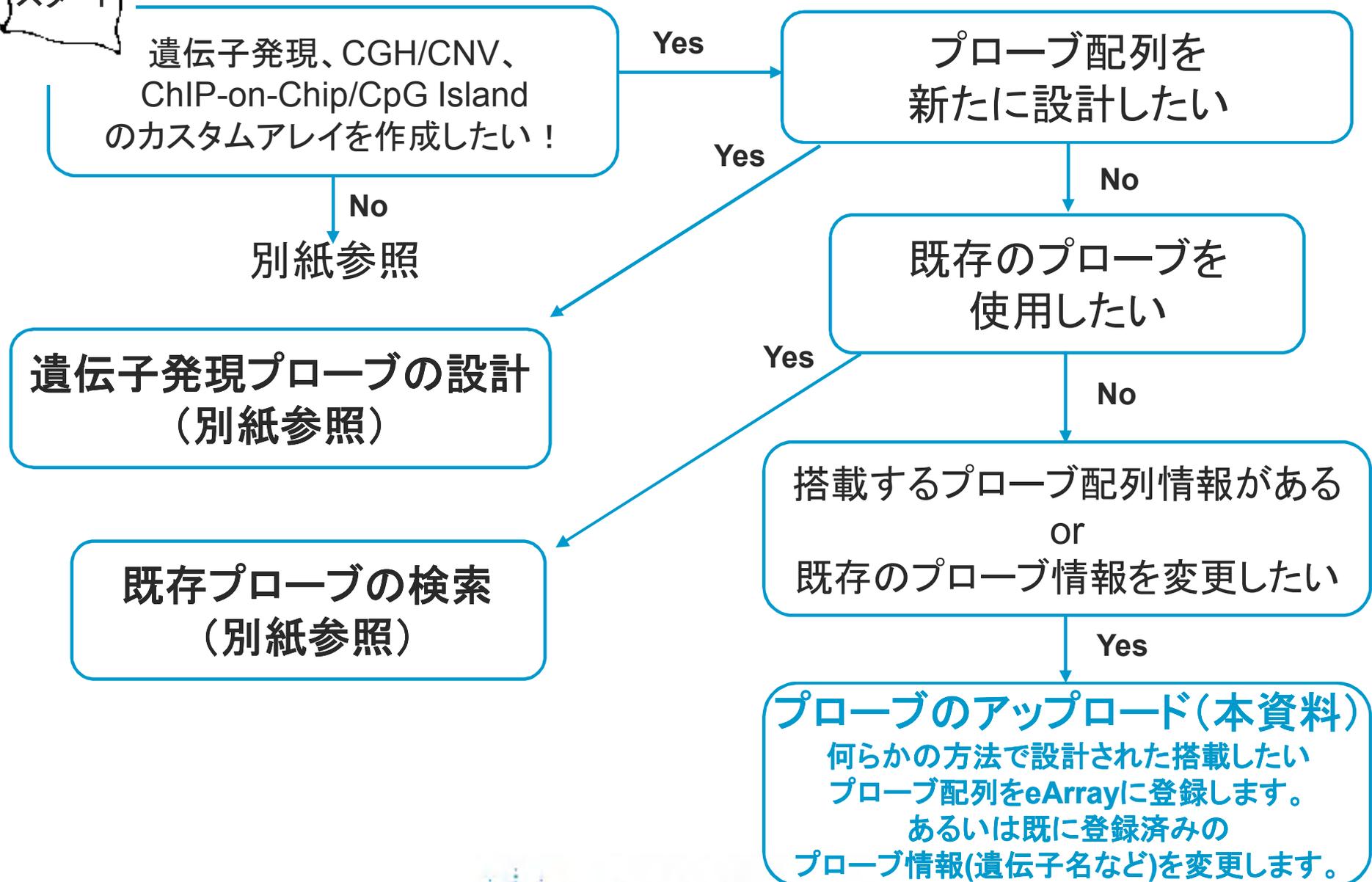
アレイフォーマットを選択し、Step1.で保存した**プローブグループを指定**します。複数のプローブグループを指定することもできます(**プローブグループごとに繰り返し搭載数を設定するので、異なる繰り返し数で搭載したいプローブはStep1でプローブグループを分けておく必要があります**)。

カスタムアレイのデザイン作成が終了したら、デザインの確定(Submit)を行います。



この資料ではStep1.プローブグループの作成法について説明します。

プローブグループ作成法の選択

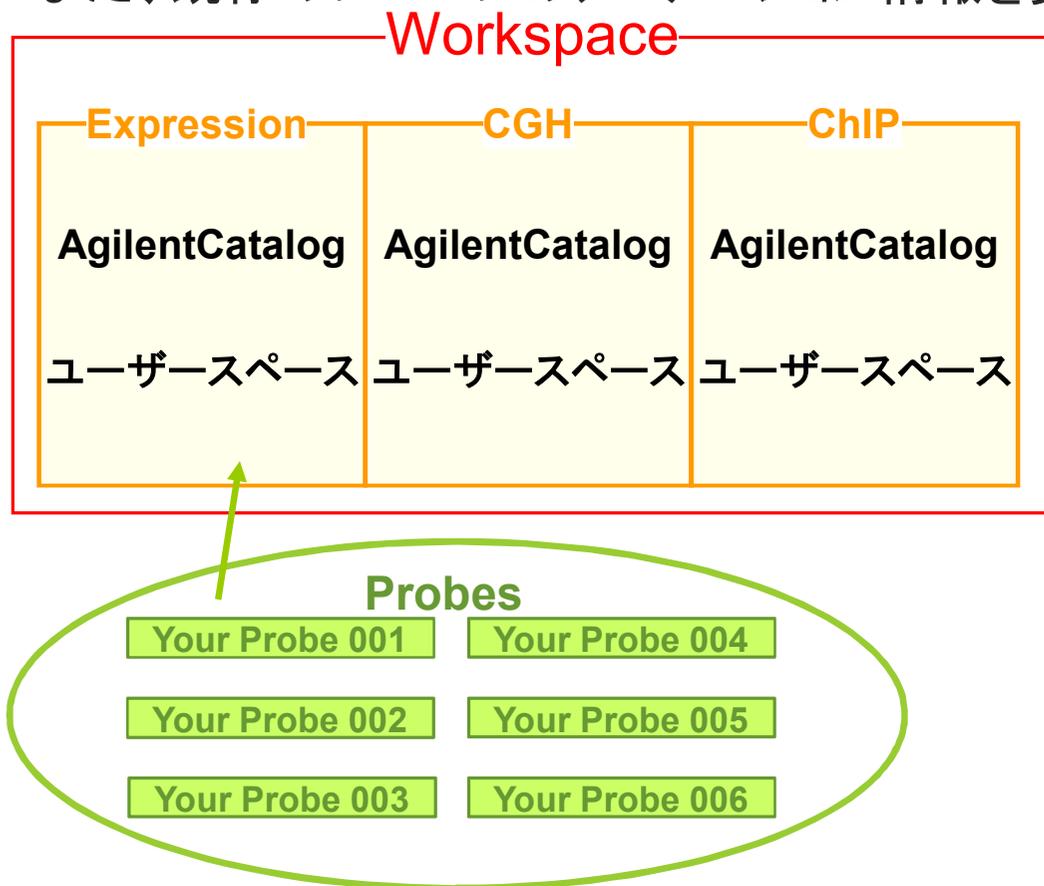


Agilent Technologies



Uploadとは

お持ちのプローブを、eArrayのworkspaceに登録することです。
Uploadしプローブグループとして登録することで、アレイに搭載することが可能です。
eArray内に希望するプローブがない、あるいは遺伝子発現用プローブを設計後、
アノテーション情報を付加したいとき等に適しています。
また、既存のプローブのアノテーション情報を変えることも可能です(後述)。



Expression, CGHおよびChIPのうち
選択したアプリケーションの
ユーザースペースに保存されます。
microRNAにはuploadできません。

※20-60merの配列をuploadできます。



Agilent Technologies

eArray

プローブのアップロードからプローブグループ作成まで

この資料では、プローブをeArrayに登録し、プローブグループ化する手順を説明します。

Step.2フォーマットの選択/デザインの確定操作は別紙をご覧ください。

内容

1. Uploadするファイルの準備
2. Upload作業
3. Uploadしたファイルの確認
4. UploadしたProbe Groupの確認・変更

既存プローブのアノテーションを変える場合

1.Uploadするファイルの準備

アップロードするプローブをリストとして準備します。

- ・CompleteフォーマットまたはMinimalフォーマットでプローブリストを準備します。
- ・デザインファイルはアップロードされた情報が反映されるので、より情報が多いCompleteをお勧めします。
- ・ファイル名は半角英数字のみにしてください。またファイルを保存するフォルダのパスも半角英数字のみにしてください。

【注意】

※Agilentの解析ソフト、Agilent Genomic Workbenchでデータを解析する際は必ずChromosomalLocationが必要なので、CGH/CNVあるいはChIP-oh-chip?CpG Island arrayのカスタムアレイはCompleteフォーマットをお勧めします。

※一度にアップロードする数は200,000プローブに留めてください。



1.Uploadするファイルの準備

【Completeフォーマット】

- ・以下の7項目からなるリストをタブ区切りのテキスト形式、またはエクセル形式のファイルで準備してください。

ProbeID, Sequence, TargetID, Accessions, GeneSymbols, Description, ChromosomalLocation

- ・エクセル2007をお使いの場合は、エクセル2003の形式で保存してください。
- ・各項目には文字制限や表記フォーマットなどの注意点があります。
- ・ProbeIDおよびSequenceは必須です。その他の項目で該当する情報がない場合は、空欄にしてください。

例

ProbeID	Sequence	TargetID	Accessions	GeneSymbols	Description	ChromosomalLocation
AB00001	TCGATCG	MN_001 2	Ref MN_001 2	ABC	Unkown	chr1 :123-180
AB00002	ATCATTAC	MN_001 3	Ref MN_001 3	XYZ	Unkown	
AB001 43	TCGATCA	MN_001 4	Ref MN_001 4			

※1プローブにつき、TargetID, Accessions, GeneSymbols, DescriptionおよびChromosomalLocationの合計が半角英数字3500文字以下になるようにしてください。

1.Uploadするファイルの準備

【Completeフォーマット】

ProbeID: 各プローブ配列にユニークなIDで、**15文字以内**になるようにつけてください。

Sequence: プローブ配列は5'→3'の向きになるように入力してください。

20mer ~ 60merの長さのプローブがアップロード可能ですが、60mer以外は保証の対象外です。配列はIUB/IUPACの核酸コードの簡略版で記述します。配列は文字A,T,G,Cのみを含むようにします。

TargetID: 大元の配列にユニークなIDです。各転写産物を代表するAccessionID(Primary Accession)として参照することも可能です。情報が無い場合は空欄にしてください。

Accessions: 核酸の配列、またはたんぱく質の配列を参照するIDです。<ソース>|<ID>あるいは<ID>のフォーマットで準備してください。<ソース>はデータベースのシンボル、<ID>はそのデータベースでのAccessionIDになります。

例 ref|AK075564 あるいは AK075564

Accessionsは複数のIDを対応させる事も可能です。複数並べる場合には、”|”の文字で区切ってください。

例 gil7657630|ref|NM_015752

情報が無い場合は空欄にしてください。



1.Uploadするファイルの準備

【Completeフォーマット】

GeneSymbols: 表現型、遺伝子産物、遺伝子の機能などを表すユニークなシンボルです。
情報が無い場合は空欄にしてください。

Description: 各プローブの詳細です。情報が無い場合は空欄にしてください。

ChromosomalLocation: 各プローブの染色体番号と位置情報です。

ChromosomalLocationは2つ以上含むことはできません。

例chr19:11392326-11391822

情報が無い場合は空欄にしてください。

Agilentの解析ソフト、Agilent Genomic Workbenchでデータを解析する際は必ずChromosomalLocationが必要です。

1.Uploadするファイルの準備

【MINIMAL(Simple)フォーマット】

- ・ ProbeIDおよびSequenceからなるリストをタブ区切りのテキスト形式、またはエクセル形式のファイルで準備してください。
- ・ エクセル2007をお使いの場合は、エクセル2003の形式で保存してください。

ProbeID: 各プローブ配列にユニークなIDで、**15文字以内**になるようにつけてください。

Sequence: プローブ配列は5'→3'の向きになるように入力してください。

20mer ~ 60merの長さのプローブがアップロード可能ですが、60mer以外は保証の対象外です。配列はIUB/IUPACの核酸コードの簡略版で記述します。配列は文字A,T,G,Cのみを含むようにします。

例

ProbeID	Sequence
AB00001	TCGATCGATCGATCOTTAGCTACATGATACGATCATCGATGTGCT
AB00002	ATCATTAGCTGAAACTGATCGTTTTTCGATCATTTATCCCGATCGATATCGATGCTATAGC
AB00143	TCGATCATCGTGACTATCGATATCGATCGTTGGGGATCGAAAATGTTAGCT

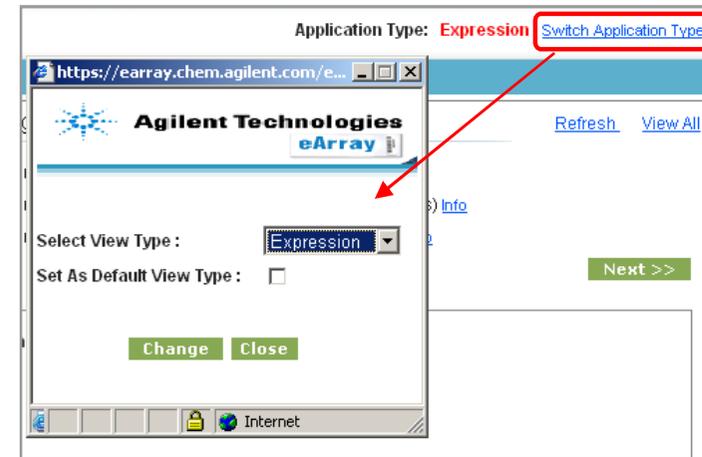
Agilentの解析ソフト、Agilent Genomic Workbenchでデータを解析する際は必ずChromosomalLocationが必要なので、CGH/CNVあるいはChIP-on-chip/CpG Island arrayはCompleteフォーマットにしてください。



2. Upload操作

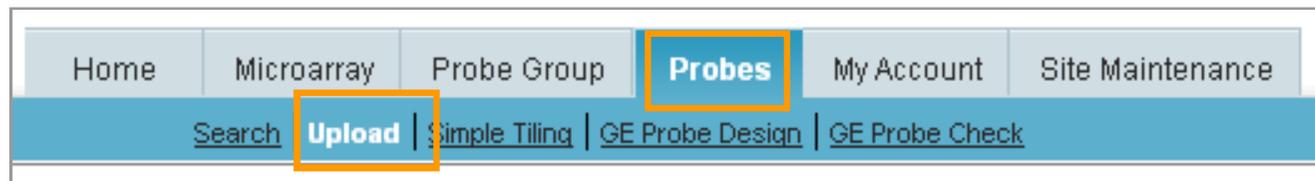
1. eArrayのログイン後画面の右上で、該当するアプリケーションタイプ(Expression、CGHあるいはChIP)になっていることを確認します。

アプリケーションタイプを変更するには、
“Switch Application Type”をクリックし、
該当するアプリケーションを選択し
”Save”をクリック
します。



2. Upload操作

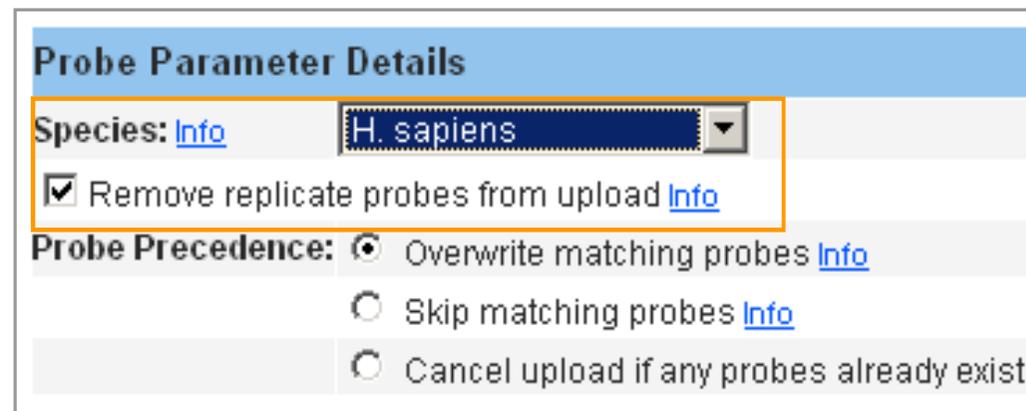
2. "Probes"タブをクリックし、"Upload"を選択します。選択した項目は白抜き文字に変わります。



3. Uploadする際の設定を入力・選択します。

Species:生物種を選択します。

Remove replicate probes from upload
アップロードするファイル中に重複があった場合、チェックが入っていると重複したプローブを除いてアップロードされます。



2. Upload操作

Probe Precedence

3種から選択します。

Overwrite matching probes

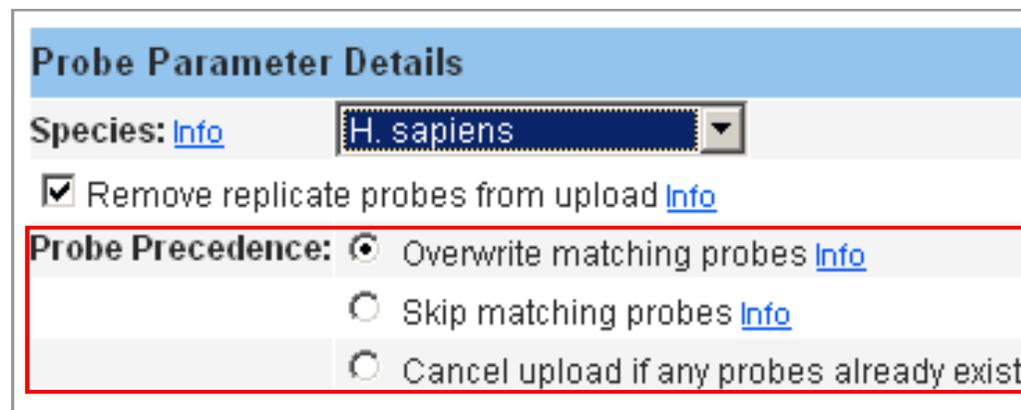
ProbeIDおよび配列が同じプローブがworkspaceにすでにあった場合、その他の項目の情報を上書きします。

Skip matching probes

ProbeIDおよび配列が同じプローブがworkspaceにすでにあった場合、それ以外のプローブをアップロードします。

Cancel upload if any probes already exist

ProbeIDおよび配列が同じプローブがworkspaceにすでにあった場合、アップロード自体をキャンセルします。



Probe Parameter Details

Species: [Info](#)

Remove replicate probes from upload [Info](#)

Probe Precedence: Overwrite matching probes [Info](#)
 Skip matching probes [Info](#)
 Cancel upload if any probes already exist

2. Upload操作

Upload Type:

2種から選択します。

Upload Probes Only

プローブをアップロードしますが、プローブグループは作られません。

Create New Probe Group

アップロードとともに、プローブグループ化します。

Upload Probe File Details	
Upload Type:	<input type="radio"/> Upload Probes Only Info <input checked="" type="radio"/> Create New Probe Group Info <input type="text" value="Demo"/>
Upload File:	<input type="text"/> <input type="button" value="Browse..."/>
File Format: Info	COMPLETE <input type="button" value="v"/>
File Type:	TDT <input type="button" value="v"/>

Upload File “Browse”をクリックし、準備したファイルを指定します。

ファイルは、名前に全角を含めないフォルダに保存をしてください。

C:以下に全角が含まれると、認識されません。

File Format:COMPLETEあるいはMINIMALから、ファイルのフォーマットを選択します。

File Type:MS-EXCELあるいはTDTから、ファイルタイプを選択します。Excel2007をお使いの場合は、Excel2003のファイル形式(.xls)で保存してください。



Agilent Technologies

eArray

2. Upload操作

4. すべて選択・指定したら”Next”をクリックします。

The screenshot shows two panels: 'Probe Parameter Details' and 'Upload Probe File Details'. In the 'Upload Probe File Details' panel, the 'Next' button is highlighted with an orange box.

Probe Parameter Details	Upload Probe File Details
Species: Info H. sapiens	Upload Type: <input type="radio"/> Upload Probes Only Info
<input checked="" type="checkbox"/> Remove replicate probes from upload Info	<input checked="" type="radio"/> Create New Probe Group Info Demo
Probe Precedence: <input checked="" type="radio"/> Overwrite matching probes Info	Upload File: C:\Documents and Settings Browse...
<input type="radio"/> Skip matching probes Info	File Format: Info COMPLETE
<input type="radio"/> Cancel upload if any probes already exist	File Type: TDT
<input type="button" value="Next"/>	<input type="button" value="Cancel"/>

5. 各ヘッダーをプルダウンから選択します。

この2つをあわせます。

準備したファイルにヘッダーを含んでいる場合は、My upload file contains”Column Headings”にチェックを入れます。

“Upload”をクリックします。

The screenshot shows the 'Define Uploaded File Columns' dialog. A red circle highlights the checkbox 'My uploaded file contains' and a red arrow points to the 'Sequence' dropdown menu.

Define Uploaded File Columns	
Preview	
ProbeID	Sequence
A_52_P616047	TGTCCGAAGTGTCTCAGTGCCAACCAACGGAATGGCGAAGAACGGCAGTGAAGCAGACA
A_51_P288390	CCCTGAGTCCACATGCACACCTCAGCAGCCTATATTTATTTGTTTCTGGTTTAGCCTCAA
A_52_P276815	TCTCATCATTGTACGAGAAGTTTCTTCATAAGCACTATAGACAAAAACAATGGGGGAAGA
A_52_P363216	CAGATGATGTAGCAAGCCTTAGGATGGTTCATGATCAGTAGGAAGCAAATCTAAGACCT
A_52_P594049	GAAACAGCTGGAGGGAGAAGTGGGCAGTGCTGCTCTTTGCACTGTTTTGTTTTGTTTTA
A_52_P429944	TATCATTCTGAGCCAGCTCCACCTTATCTTGGTCCAAAGAGCAGTTTGTTCCATGTGG
Match columns from preview by selecting the appropriate columns from following dropdowns	
ProbeID	Sequence
<input type="checkbox"/> My uploaded file contains	ProbeID
	Sequence
	TargetID
	Accessions
	GeneSymbols
	Description
	ChromosomalLocation
	Ignore
<input type="button" value="Upload"/> <input type="button" value="Cancel"/>	

2. Upload操作

6. “Close”をクリックします。

File successfully submitted to the upload queue. You will be notified of file errors or upload success via email. You will be able to search for the uploaded probes/probe group only after you receive the email indicating upload success.

CLOSE

プローブ数やご使用環境により、アップロードに必要な時間は異なります。数時間あるいは数日かかることもあります(その間、eArrayからログアウトしても問題ありません)。終了あるいは何らかの理由でUploadできなかった場合、その旨を知らせるメールが届きます。

3. Uploadの状況

アップロードの状態は、“Home”タブで確認できます。

アップロードの場合はJob Typeが”ProbeUpload”となっています。Refreshをクリックすると最新の情報に更新されます。

Status :Upload pending アップロード待ち

Status :Complete アップロード終了

Status :Error 何らかの理由でアップロードがキャンセルされた

→エラー原因がメールで送られます。

Job Position :Job X of Y Jobs

アップロード待ち

アップロードが問題なく終わると、

Pending Jobsからなくなります。

The screenshot shows the Agilent eArray web interface. At the top, there are navigation tabs: Home, Microarray, Probe Group, Probes, My Account, and Site Maintenance. Below the tabs is a search section with radio buttons for Microarray (selected), Probe Group, and Simple Probe. There are input fields for Microarray Name, Species, and Design Number, along with buttons for Search and Reset. Below the search section is a 'Pending Jobs' section with a 'Refresh' and 'View All' link. A table displays search results for pending jobs. The first row is highlighted with a red border.

Job Type	Job Name	Status	Created Date	Job Position	Action
ProbeUpload	ID378389145	Upload Pending	13-Feb-2008	Job 1 of 1 Jobs	Delete
ProbeDesign	short2	Probe Design Completed	08-Feb-2008		Delete

Failureの記録は”Delete”するまで残ります。Uploadが問題なく終了した場合はHomeタブに表示されないのので、メールあるいは”Probe Group”タブから確認してください。

3. Uploadの状況

何らかの理由でプローブ設計が完了しなかった場合、その旨伝えるメッセージメールおよび原因を簡単に記載したファイルが届きます。

Errors in file submitted for upload

差出人: **Agilent Technologies (eArray)** (earray_noreply@agilent.com)
送信日時: 2008年2月12日 11:50:32

添付ファイル ダウンロード

Agilent Technologies

Dear [redacted]

Your file submitted for upload on Mon Feb 11 19:53:10 MST 2008 could not go through because of errors. error report is attached. To view the error messages within the help file, place your cursor over the red text.

Sincerely,
Agilent Technologies eArray website

Line Number	ProbeID	Sequence	TargetID	Accessions	Gene
5	A_65_P100170	OSAGCAGAAAGCAAGACTGAACAGACTOTGGGOTGGAGCAGTGAGOOTGOTAGTGTTTAT	uc0sterHJ019009	ref NM_053252 gb AF305087 gb AF305088	#LOC...
8	A_65_P100474	AGTOGOTAAATTGTACTGGTTTAAAGTGTGCATTAGTAGTGTOTCCDAGOTAGATTGTAAG	uc0sterHJ002740	ref NM_010923 ref NM_180960 gb AB004048 gb AK003004	#Next...

Line number 8: For Column : Accessions, Field : ref|NM_010923|ref|NM_180960|gb|AB004048|gb|AK003004 is not valid as per File Format.

エラーメッセージメールに添付されているファイル(html)を開くと、エラーの原因となったカラムが赤く表示されます。カーソルを持っていくあるいはクリックするとエラー理由が表示されます。ファイル内容を確認・変更後、再度アップロード操作を行ってください。

3. Uploadの状況 –よくあるエラー原因

これらのエラーが生じたときは、必要があればファイルを訂正し、再度Uploadしてください。

- ・ファイル中に同じProbeIDで異なる配列のプローブがあり、アップロードする際に“Remove replicate probes from upload”を選択した
- ・ファイル中に同じProbeID、同じ配列のプローブがあり、アップロードする際に”Remove replicate probes from aupload”を選択しなかった
- ・すでにeArrayに登録されているプローブを再度アップロードした際はアノテーション情報が自動で上書きされるが、すでに登録されているプローブのオーナーが異なるアカウントであり、上書きすることができない
- ・すでに登録されているプローブと同じProbeIDを持っているが、配列や生物種、アプリケーションタイプが異なっている
- ・1つ以上のプローブが指定ファイルフォーマットに沿っていない
- ・Upload中にシステムエラーが起こった

4. UploadしたProbe Groupの確認・変更

プローブグループとしてアップロードした場合は、“Probe Group”タブから確認できます。
“Search”で検索あるいは、“Browse ProbeGroup”でブラウズし、表示させます。

・ブラウズして表示させる場合

The screenshot shows the 'View Probe Group' interface. On the left, there are navigation menus for 'Browse WorkGroup By Category', 'Browse Catalog By Category', and 'Browse By Folder'. The 'Workspace名' is highlighted in blue. The main area shows a table of probe groups with the following data:

<input type="checkbox"/>	Probe Group Name	No. of Probes	High Density	Folder	Status	Created Date	Actions
<input type="checkbox"/>	Demo0213	10	false	LSCA_JapanSupportSpace	Incomplete	13-Feb-2008	Copy Edit View Delete Download
<input type="checkbox"/>	catalogMouse	10	false	LSCA_JapanSupportSpace	Incomplete	11-Feb-2008	Copy Edit View Delete Download

プローブグループが作成できたら、Step2.アレイデザインの作成に進みます。

* デザイン途中で6ヶ月経ったもの、あるいはデザイン終了後6ヶ月間オーダーされなかったデザインは自動的にProbe Groupごと削除されますのでご注意ください。

4. UploadしたProbe Groupの確認・変更

検索結果あるいはブラウズした場面で“Actions”欄内の青いリンクをクリックすると各種操作ができます。

Copy:プローブグループを複製し、同じ内容のプローブグループを作ります。

Edit:プローブの削除、プローブグループ名の変更等ができます。

View:プローブグループの内容を閲覧します。

Delete:プローブグループを削除します。

Download:各種フォーマットでプローブのリストをダウンロードします。

Home Microarray **Probe Group** Probes My Account Site Maintenance Application Type: **Expression** [Switch Application](#)

Search | **Browse ProbeGroup**

Browse WorkGroup By Category
-Category

Browse Catalog By Category
-Category
+ Applications
+ Species

Browse By Folder
-ROOT
Workspace名
AgilentCatalog

View Probe Group

Status:

Search Results: 4 matching results found

<input type="checkbox"/>	Probe Group Name	No. of Probes	High Density	Folder	Status	Created Date	Actions
<input type="checkbox"/>	Demo0213	10	false	LSCA_JapanSupportSpace	Incomplete	13-Feb-2008	Copy Edit View Delete Download
<input type="checkbox"/>	catalogMouse	10	false	LSCA_JapanSupportSpace	Incomplete	11-Feb-2008	Copy Edit View Delete Download
						07-Feb-	

Probe Groupの作成が終了したら、Step2.アレイデザインの作成をしてください。

4. UploadしたProbe Groupの確認・変更

◆Probe GroupのEdit画面(内容変更)

Probe ID	Accessions	Gene Name	Gene Symbol
<input type="checkbox"/> CUST_1_PI417455851	refINM_005343.2 lgj 47117697		
<input type="checkbox"/> CUST_2_PI417455851	refINM_005343.2 lgj 47117697		
<input type="checkbox"/> CUST_3_PI417455851	refINM_203331.1 lgj 42716298		

グループ名の変更やDescription, Keyword等の追記ができます。また、プローブの削除・追加も可能です。変更後はSave Probe Groupをクリックします。

4. UploadしたProbe Groupの確認・変更

◆Probe Groupのダウンロード



Select type to download [Info](#)

TDT
 FASTA
 COMPLETE
 MINIMAL
 BED

DOWNLOAD CLOSE

If you have difficulty downloading the desired file, hold the <Ctrl> key until a File Download dialog box appears, which bypasses pop-up blocking software.

Actions欄のDownloadをクリックすると、ダウンロードするファイルフォーマットを選択できます。ダウンロードできないときには、『保存』をクリックするまでCtrlキーを押し続けてください。

Attribute	TDT	FASTA	COMPLETE	MINIMAL	BED
ProbeID	●	●	●	●	●
Sequence	●	●	●	●	
TargetID	●		●		
Species	●				
GeneName	●				
GeneSymbol	●		●		
Description	●		●		
ControlType	●				
Accessions	●		●		
ProbeGroups	●				
Status	●				
ValidationMethod	●				
Chromosomal Location	●		●		●
CytoBand	●				
GoIDs	●				

● — Attribute included in file format

ファイル形式によって含まれる情報が異なります(左図参照)。必ずしもすべての情報が含まれるわけではありません(アップロードした情報以外の内容は含まれません)。

既存プローブのアノテーションを変える場合

Uploadと同じ操作ですでに存在するプローブグループのアノテーションを変えることができます。

変更したプローブグループが、すでにアレイデザインとして使われている場合、変更後のアノテーション情報が自動的にデザインファイルやGeneList等に反映されます。変更前のデザインファイル等はダウンロードできなくなるのでご注意ください。

【必要なもの】

- ・更新したい情報を含んだCompleteフォーマットのファイル

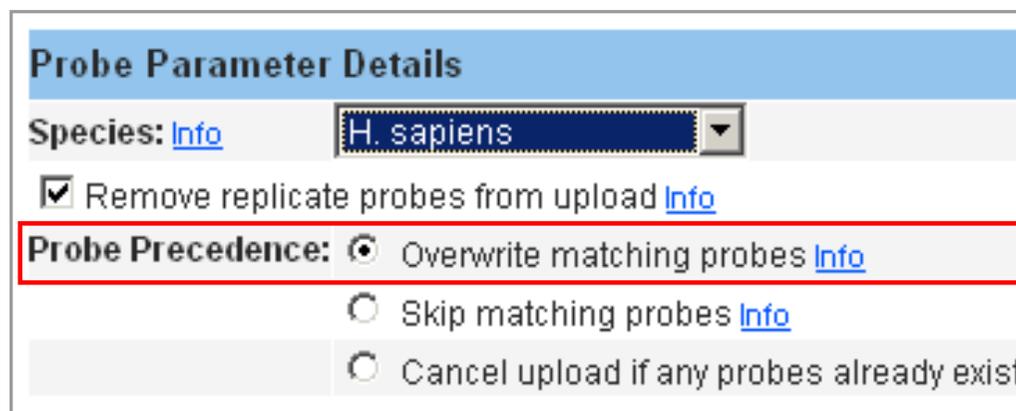
プローブグループの内容は、前ページの方法でダウンロードできます。TDTあるいはCompleteフォーマットでダウンロードし、アップロードするフォーマットに成型してください。ただし、ProbeIDおよびSequenceは変更しないでください。この2つの項目で、既存のプローブと同じプローブであることを判別します。

既存プローブのアノテーションを変える場合

操作は前述のプローブアップロードと同じです。

ただし、**Probe Precedence**は必ず**Overwrite matching probes**を選択してください。こちらを選択することで、既存の情報の上書きが行われます。

Upload TypeはUpload Probes Onlyを選択してください。



Probe Parameter Details

Species: [Info](#) H. sapiens

Remove replicate probes from upload [Info](#)

Probe Precedence: Overwrite matching probes [Info](#)

Skip matching probes [Info](#)

Cancel upload if any probes already exist

プローブグループの情報アップデートが完了したら、メールが届きます。

前述の方法で、プローブグループの内容を確認してください。

アレイデザインとして使われているプローブグループの場合は、デザインファイルやGeneList等にもアップデートが反映されるので、確認してください。