

SureDesign

CGHアプリケーション

～CreateDesigns機能～

CGH/CGH+SNP スタンダード デザインウィザードによる
デザインの作成 (p.4)

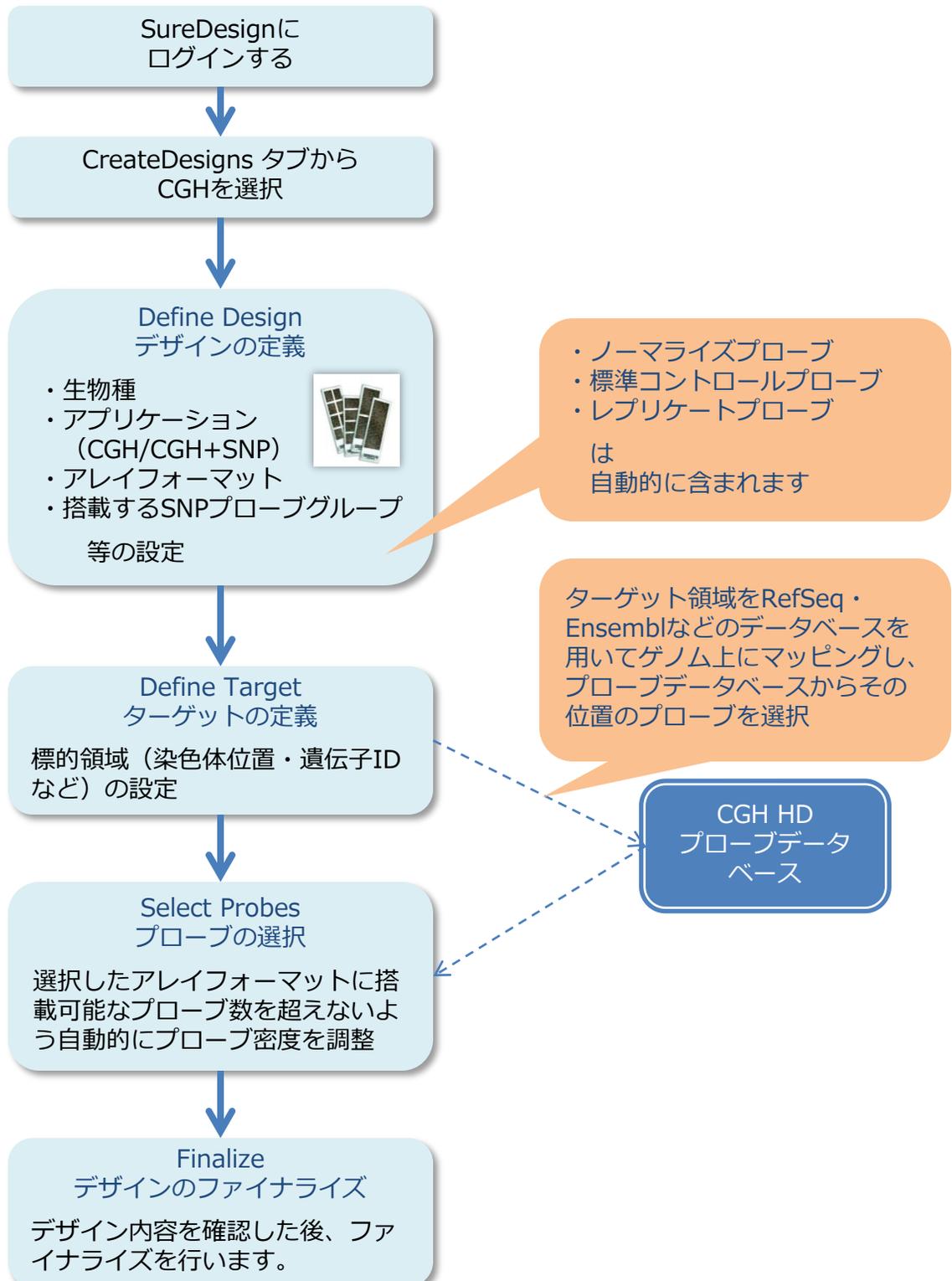
CGH/CGH+SNP アドバンスド デザインウィザードによる
デザインの作成 (p.11)

1x1M・2x400K・4x180K・8x60K フォーマットのマイクロアレイのスキヤンには、高解像度仕様のAgilent スキャナが必要です。

2014年2月作成

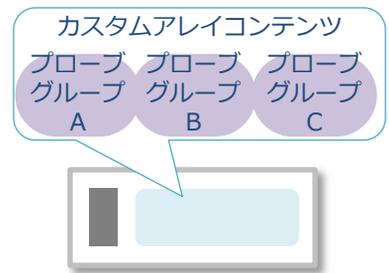
カスタムアレイ作成の流れ (スタンダード デザインウィザード) : p.4より

ヒト・マウス・ラットのアレイデザイン用に最適化されています。



カスタムアレイ作成の流れ (アドバンスド デザインウィザード) : p.11より

プローブグループ単位でマイクロアレイのコンテンツを決定していきます。デザインの柔軟性を高めたいときや、ヒト・マウス・ラット以外の生物種でデザインするとき。



- ・生物種
- ・アプリケーション (CGH/CGH+SNP)
- ・アレイフォーマット
- ・コントロールグリッド等の設定



・ノーマライズプローブ
・レプリケートプローブ
は
デフォルトで搭載されますが
削除することも可能

Select HD Probes

ターゲット (遺伝子・染色体位置など) の定義

CGH HDプローブデータベースからプローブの選択
配置するプローブ数などを設定

選択プローブはプローブグループとして保存

Select from an existing Design/Probegroup

既存アレイデザインを選択

既存アレイデザインに含まれるプローブグループが選択

既存プローブグループを選択

プローブIDで選択

選択プローブはプローブグループとして保存

Upload probes

新規プローブをアップロード

プローブはプローブグループとして保存

Design new probes

ターゲット (遺伝子・染色体位置など) の定義

プローブはプローブグループとして保存

各プローブグループの取舍選択・繰り返し数の設定
デザイン内容を確認した後、ファイナライズを行います。

CGH/CGH+SNP スタンダード デザインウィザードによる デザインの作成

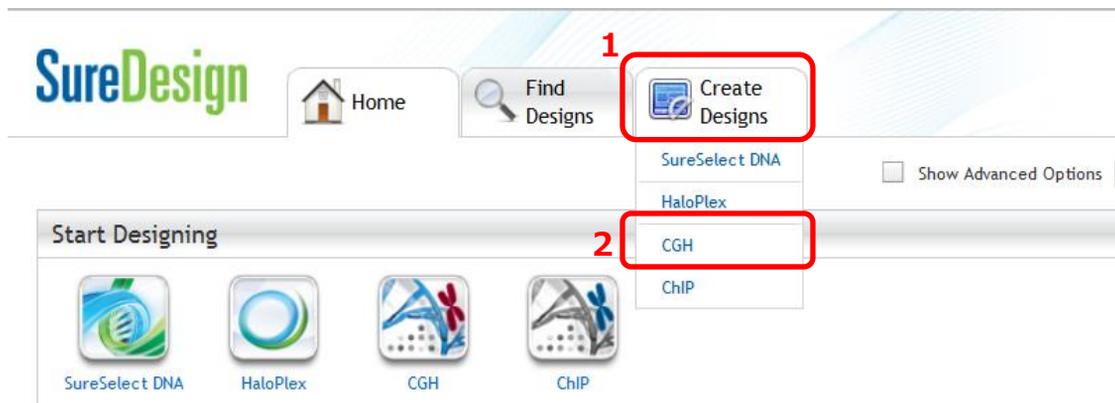
CGH/CGH+SNP スタンダード デザインウィザードは、ヒト、ラット、マウスのアレイデザイン用に最適化されています。

- 選択したアレイフォーマットに搭載可能なプローブ数を越さないように、ターゲット領域のプローブ密度が自動的に選択されます。
- 標準コントロールグリッドが自動的に含まれます。
- ゲノム全体に配置されたノーマライゼーションプローブが自動的に含まれます。
- レプリケートプローブが自動的に含まれるため、Agilent Feature ExtractionでQC メトリック計算が可能です。

別の生物種に対してデザインする場合、またはデザインの柔軟性を高めたい場合、アドバンスド ウィザードを使用してください。

注意：使用されるPC画面の大きさにより、各ステップの画面右下のボタン（例：Next）が画面上に表示されないときは、画面右のスクロールバーを併せてお使いください。

1. 画面、上にあるCreate Designsをクリックします。
2. CGHを選択します。



Designウィザードの開始

1. **Define Design** : 下記内容を設定し、右下の Next をクリックします。

- Design Name: デザイン名を入力します。
 - 入力できる名前の長さは100文字未満です。先頭に使用できる文字は英数字 (A~Z, a~z, 0~9) のみです。それ以降に使用できる文字は英数字、アンダースコア (_)、ピリオド (.)、ハイフン (-) です。
- Species: 生物種を選択します。右の **Select** をクリックし、これからデザインする生物種を選びます。
- Create In: デザインの作成先フォルダを設定します。右の **Select** をクリックし、フォルダを選択します。
- Application: CGHかCGH+SNPを選択します
- Array format: マイクロアレイフォーマットを選択します。(ApplicationでCGH+SNPを選択している場合、1x1M・2x400K・4x180K・8x60K のみ選択可能)
- SNP probes (ApplicationでCGH+SNPを選択しているときに表示されます)

8x60K:	Genomic_SNP_15K
4x180K:	Genomic_SNP_30K
	Genomic_SNP_60K
2x400K, 1x1M:	Genomic_SNP_60K
	Genomic_SNP_100K*

*1SNPあたり2プローブが配置されているものも含まれています。

The screenshot shows the 'Define Design' step of the SureDesign wizard. The interface includes a sidebar with navigation options like 'Define Design', 'Define Targets', 'Review Targets', 'Select Probes', 'Finalize', and 'Design Complete'. The main area contains several input fields: 'Design Name' (highlighted with a red circle), 'Species' (set to 'H. sapiens'), 'Build' (set to 'H. sapiens, hg19, GRCh37, February 2009'), 'Create In' (set to 'Agilent'), 'Application' (set to 'CGH'), and 'Array Format' (set to '8 x 60 K'). Below these fields is a text box explaining that the wizard is optimized for Human, Rat, and Mouse array designs and lists several automated features like probe density selection and inclusion of control and normalization probes. At the bottom right, there are 'Cancel' and 'Next' buttons, with the 'Next' button highlighted by a red circle.

2. Define Target : 下記内容を設定し、右下の Next をクリックします。

- Target: Gene Name・Transcript ID・Gene IDや染色体位置情報*によりターゲットを入力します。Databases・Parametersの設定内容に基づき、これらのターゲットをゲノム上にマップし、定義されたプローブデータベースから、それらの場所に一致するプローブグループが選択されます。右の Upload ボタンでファイルをアップロードすることも可能です。（* UCSC browserフォーマットかBEDフォーマットで入力）

ファイルをアップロードする場合、ファイルが下記形式であることを確認してください。

- ファイル拡張子は .txt であること
- 1列に1ターゲットを入力すること
- ターゲットは gene symbol、accession、chromosomal coordinates、UCSC browserフォーマットか BED フォーマットであること

☆フォーマットなどについては右の Example を参照

- Databases: ターゲットの染色体位置情報を参照するデータベースを選択します。作成する生物種にあったものを選択してください。
- Parameters:
 - Replicate Count: プローブの繰り返し回数を設定（1～10）
 - Genome-Wide Backbone: ターゲット以外の領域（=Backbone）に、均等に配置するプローブの数を設定します。（CGHを選択したときのみ使用可能）

例 5% : 搭載できるプローブ数の 5% までを backboneに使用

- Include Flanking Regions (5' and 3'): 遺伝子で入力されたターゲットの各エクソン/UTRの近傍領域も含める場合は、その近傍の塩基数を入力（染色体位置情報で入力されたターゲットに対してはこの近傍領域は考慮されません）
- Allow Synonyms: この項目にチェックした場合は、ターゲットとして入力された遺伝子名についてSynonymsも参照対象とし、その染色体位置情報をもとにすることがあります。もし入力した遺伝子名が他の遺伝子のSynonymsにも含まれている場合は、両方をターゲットとして選択されます。

例：ターゲットにHER2と入力した場合、SureDesignはERBB2に基づき染色体位置情報のマッピングを行います。

例：ターゲットにDSPと入力した場合、desmoplakinとdentin sialophosphoproteinの2つの遺伝子として、位置情報をそれぞれターゲット領域として決定。

(2x400K CGH+SNPの例)

バックボーンプローブ : 96,341

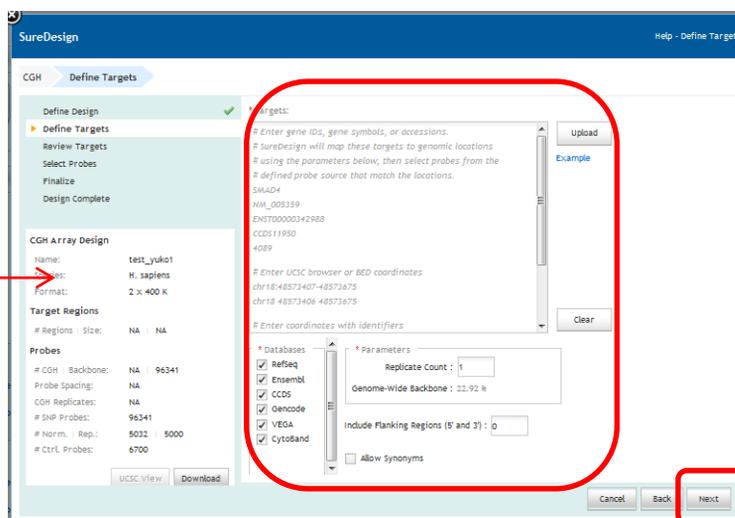
ノーマライゼーションプローブ : 5,032

レプリケートプローブ : 5,000

コントロールプローブ : 6,700

SNPプローブ : 96,341

がすでにデザインに含まれています。



3. Review Target : ターゲットとして認識された領域一覧と、プローブの数を確認できます。

1. 内容を確認し、必要に応じて Backをクリックしてターゲットやパラメータの変更を行います。内容に問題なければ Begin Probe Selectionをクリックします。

Target Summary:

(1列目) Define targetで入力されたターゲットの数

(2列目) SureDesignが認識した染色体位置情報の数。ターゲットが複数の染色体位置にマップされた場合は、Define targetで入力した数以上の出力があります。

(3列目) SureDesignがデータベースで見つけられなかったターゲットの数

例 :

Target ID	# Regions	Base Pairs	Position
ASAT	1	110011	chr16:876942-887942
ABCA12	1	20886	chr2:215796266-216003151
ABCA4	1	128315	chr1:94488391-94586705
ABCB11	1	109270	chr2:169778564-169887833
ABCB4	1	78739	chr7:87031015-87109751
ABCB7	1	103169	chr6:74272007-74276175
ABCC1	1	193498	chr16:16045434-16236931
ABCC8	1	84018	chr11:17414402-17498449
ABHD5	1	44239	chr3:43731605-43775863
ACAD5	1	14274	chr12:121163538-121177811
ACAN	1	71912	chr15:89346674-89418585
ACAT1	1	26649	chr11:10799243-108018891
ACE	1	44788	chr17:61954422-6199209

(2x400K CGH+SNPの例)

バックボーンプローブ : 96,341

ノーマライゼーションプローブ : 5,032

レプリケートプローブ : 5,000

コントロールプローブ : 6,700

SNPプローブ : 96,341

ターゲットのプローブ : ~37,894 (繰り返し=x1)

プローブ占有率 : 58.84%

CGH Array Design	Value
Name:	Test_Yuko4
Species:	H. sapiens
Format:	2 x 400 K
Target Regions	
# Regions	37
Size:	5.684 Mb
Probes	
# CGH Backbone:	~21087 96341
Probe Spacing:	~269 bp
CGH Replicates:	10
# SNP Probes:	96341
# Norm. Rep.:	5032 5000
# Ctrl. Probes:	6700
% Filled:	~100.0%

同じターゲットで繰り返しを x10 にするとターゲットのプローブが ~21,807 となりプローブ間隔 (Probe spacing) が 150 bp から 269 bpへと変化しました。プローブ占有率は ~100%

2. 次の画面で Close Design Wizardをクリックします。(この後 SureDesignをログアウトしても結構です) Homeタブ上の Designs: In Progress (p.8 図参照) で状況を確認できます ( ボタンをクリックし更新できます)。

作成したデザインのFinalize

1. プローブの選択作業が完了すると、メールで完了が知らされます。メールには下図のようなサマリファイルが添付されています。

Design Information

Design Name: ttesttt
Species: H. sapiens (H. sapiens, hg19, GRCh37, February 2009)
Array Format: 8 x 60 K
Total Probes in design: 62976

Target Summary

9 Target IDs resolved to 9 targets comprising 9 regions.
0 Target IDs were not found.
Region Size: 1.058 Mbp

Target Parameters

Databases: RefSeq, Ensembl, CCDS, Gen
Region: Entire Transcribed Region
Region Extension: 0 bases from 3' end and
Allow Synonyms: No

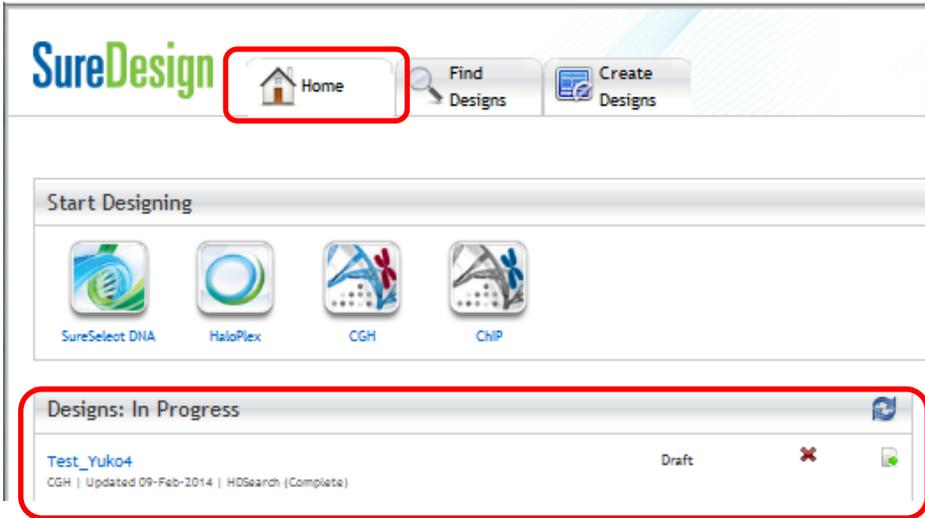
Biological Probe Summary

Probegroup Name: ttesttt
Probe Replication Factor: 1x
Total Unique Probes: 7054
Median Probe Spacing: 91 bp
Total Target Bases Analyzable: 791.964 k
Target Coverage: 74.84315 %
Percentage of High Quality Probes: 64.4%

Design Details

Target ID	Interval	Coverage	Total Probes	Median Probe Spacing
ABAT	chr16:8768422-8878432	64.3872%	641	82
ABCA12	chr2:215796266-216003151	76.99023%	1451	91
ABCA4	chr1:94458391-94586705	90.606705%	1050	92
ABCB11	chr2:169778564-169887833	74.87142%	715	92
ABCB4	chr7:87031013-87109751	80.754135%	569	93
ABCB7	chrX:74273007-74376175	65.82597%	618	83
ABCC1	chr16:16043434-16236931	62.919514%	1017	94
ABCC8	chr11:17414432-17498449	85.99348%	658	91
ABHD5	chr3:43731605-43775863	86.49088%	335	93

2. Home画面の Designs: In ProgressのリストにあるデザインのContinueボタン をクリックします。

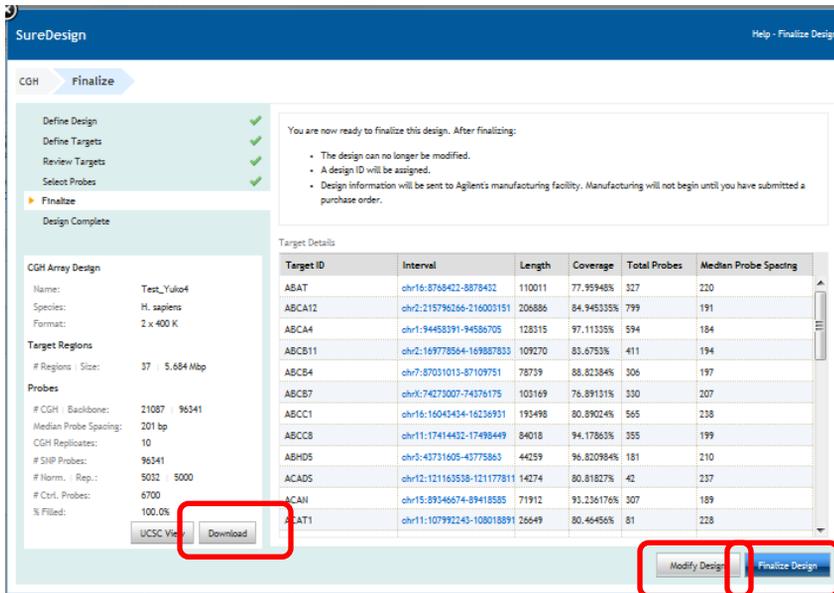


The screenshot shows the SureDesign web interface. At the top, there is a navigation bar with the SureDesign logo and buttons for 'Home', 'Find Designs', and 'Create Designs'. The 'Home' button is highlighted with a red box. Below the navigation bar, there is a 'Start Designing' section with four icons: SureSelect DNA, HaloPlex, CGH, and CHIP. At the bottom, there is a 'Designs: In Progress' section, which is also highlighted with a red box. It contains a table with one row: 'Test_Yuko4' (Draft) with a 'Continue' button icon.

1. Finalize

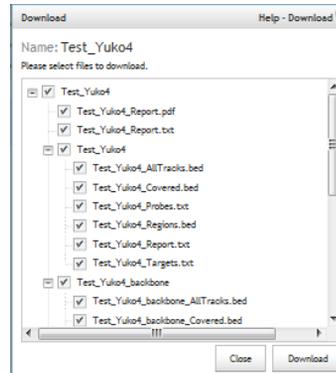
このデザインをファイナライズすることができます。ファイナライズすると、次のとおりとなります。

- デザインを変更できなくなります。
- デザイン ID が割り当てられます。
- デザイン情報がアジレントの製造設備に送信されます。製造作業は、正式に発注されるまで開始されません。

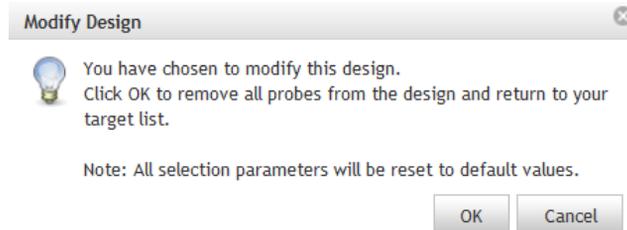


- Download: 各種ファイルをダウンロードして内容の確認が可能

例: 「..._Report.txt」というファイルには各ターゲットの Coverage・total probe数・Median Probe Spacing (bp) の情報が含まれています。



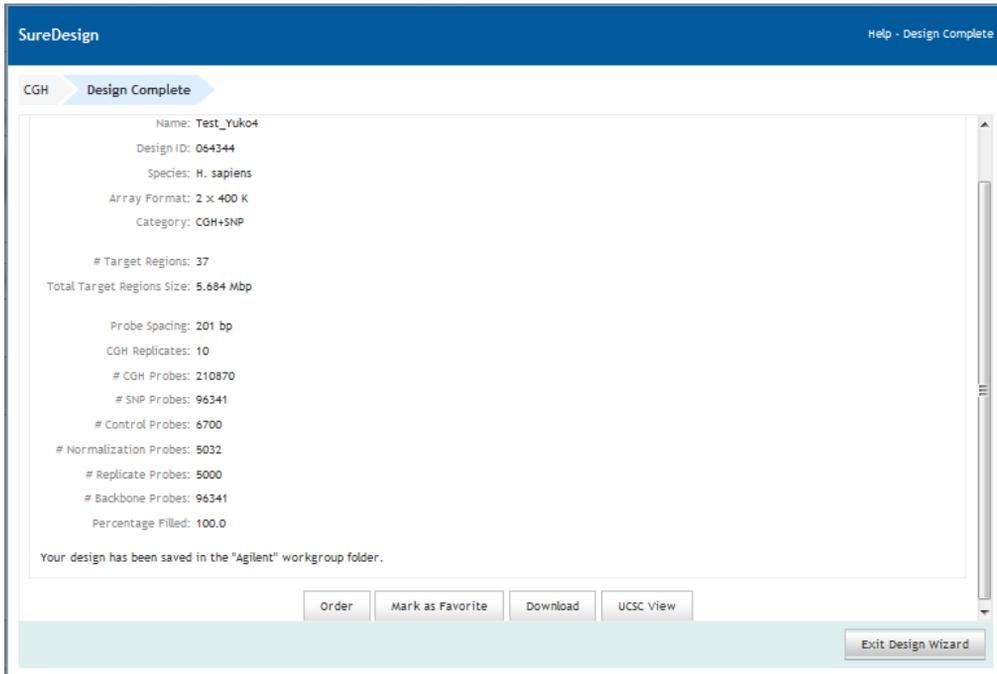
- Modify Design: 現在選択されているプローブ内容をリセットし、ターゲットリストの入力画面にもどります。



内容の確認が完了したら、Finalize Design をクリックします。

2. Design Complete

デザインがファイナライズされました。statusが Completeとなり、Design ID が発行されます。Finalize直後ではDownloadからデザインファイルなどのダウンロードができませんが、しばらくすると可能になります。



ご発注いただく際は、Design ID とスライド枚数を弊社担当営業にお知らせください。

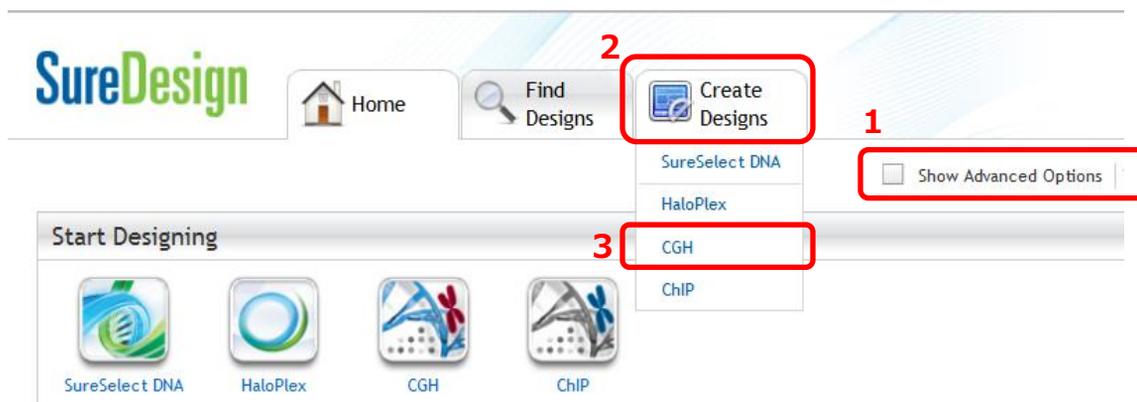
CGH/CGH+SNP アドバンスド デザインウィザードによる デザインの作成

ヒト・マウス・ラット以外の生物種に対してデザインする場合、またはデザインの柔軟性を高めたい場合、アドバンスド ウィザードを使用してください。

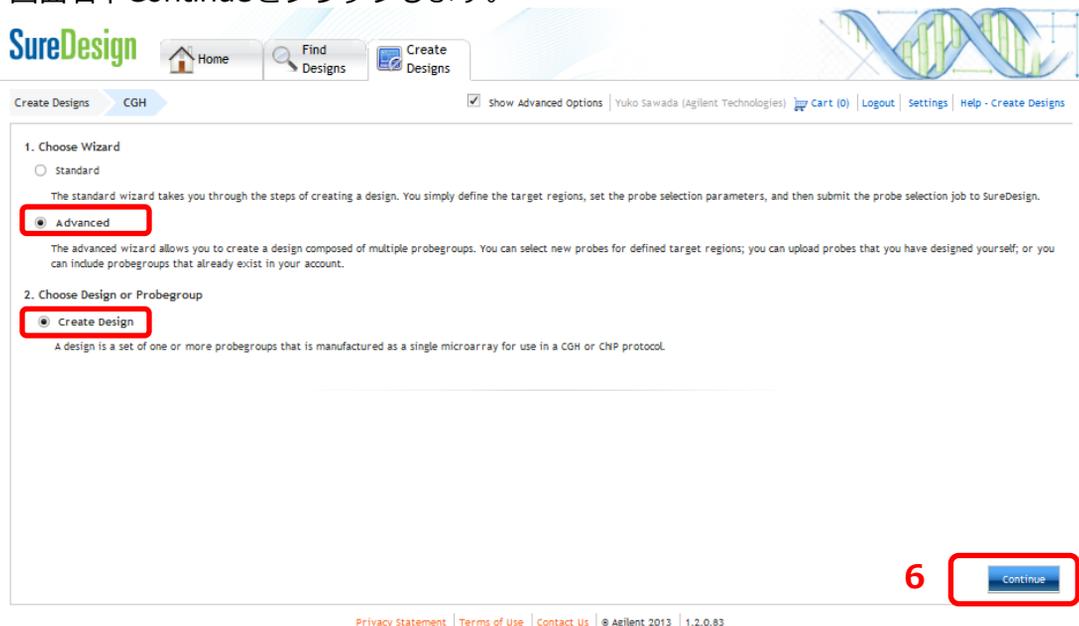
アドバンスド ウィザードでは、複数のプローブグループから構成されるデザインを作成できます。定義したターゲット領域にプローブを選択することも、ユーザ定義の配列をもつプローブをアップロードすることも、すでに存在するプローブグループを含めることもできます

注意：使用されるPC画面の大きさにより、各ステップの画面右下のボタン（例：Next）が画面上に表示されないときは、画面右のスクロールバーを併せてお使いください。

1. Show Advanced Optionsをクリックします。
2. 画面右上にあるCreate Designsをクリックします。
3. CGHを選択します。



4. Choose Wizard はAdvancedを選択します。
5. Choose Design or ProbegroupからCreate Designを選択します。
6. 画面右下Continueをクリックします。



Designウィザードの開始

1. **Define Design** : 下記内容を設定し、右下の Next をクリックします。

- Design Name: デザイン名を入力します。
 - 入力できる名前の長さは100文字未満です。先頭に使用できる文字は英数字 (A~Z, a~z, 0~9) のみです。それ以降に使用できる文字は英数字、アンダースコア (_)、ピリオド (.)、ハイフン (-) です。
- Species: 生物種を選択します。右の **Select** をクリックし、これからデザインする生物種を選びます。ApplicationをCGH+SNPに選択している場合、ヒトのみ選択可能です。
- Create In: デザインの作成先フォルダを設定します。右の **Select** をクリックし、フォルダを選択します。
- Application: CGHかCGH+SNPを選択します
- Array format: マイクロアレイフォーマットを選択します。(ApplicationでCGH+SNPを選択している場合、1x1M・2x400K・4x180K・8x60Kのみ選択可能)
- Control Grid: 最も新しい日付のものを選択することをお勧めします。

SureDesign Help - Define Design

CGH (Advanced) Define Design

Define Design

Add/Review Content

- Select HD probes
- Select Existing Probes
- Upload probes
- Tile Genes or Regions
- Finalize

CGH Array Design

Name:	NA
Species:	NA
Format:	NA

Probes

# CGH Probes:	NA
# Ctrl. Probes:	NA
# Norm. Probes:	NA
# Rep. Probes:	NA
# Filter:	NA

UCSC View Download

* Design Name:

* Species: [Select](#)

Build: H. sapiens, hg19, GRCh37, February 2009

* Create In: [Select](#)

* Application:

* Array Format:

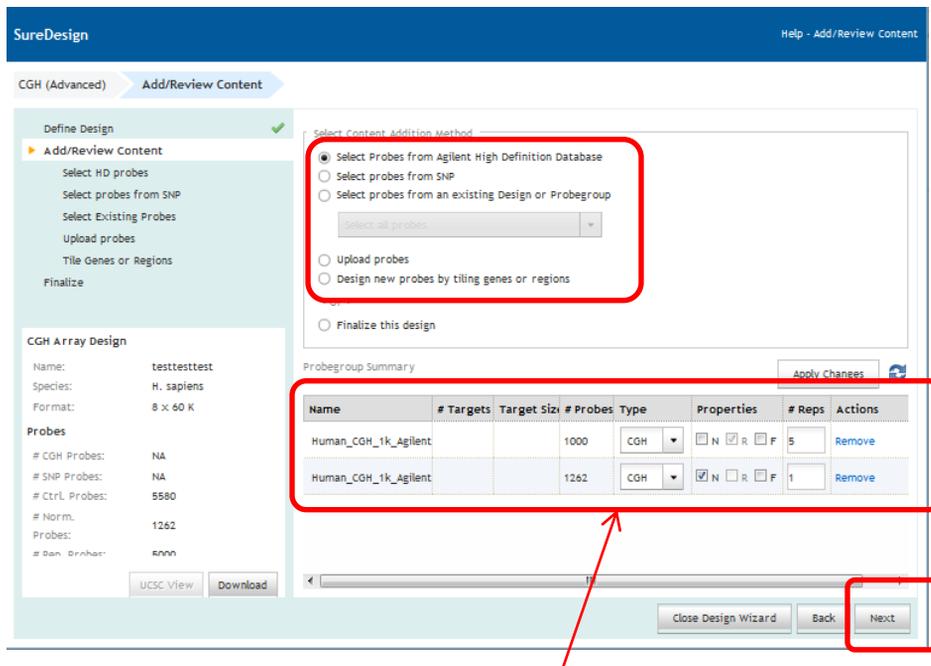
* Control Grid:

Description:

Keywords:

Cancel **Next**

2. Add/Review Content



ゲノム全体から選抜されたレプリケートプローブとノーマライズプローブが表示されていることがあります。もしカスタムアレイのコンテンツに加えたいくなければ右のRemoveをクリックしてください。

- 1) Select Probes from Agilent High Definition Database
(Agilent 高解像度データベースからプローブを選択) →p.14
- 2) Select probes from SNP (SNP からプローブを選択) * →p.18
ApplicationでCGH+SNPを選択しているときのみ表示されます。
- 3) Select probes from an existing Design or Probegroup
(既存のデザインまたはプローブグループからプローブを選択)
 - A. Select all probes (プローブグループ内のすべてのプローブを選択) →p.20
 - B. Select Probes from Probe ID (プローブIDでプローブを選択) →p.22
- 4) Upload probes (プローブのアップロード) →p.25
- 5) Design new probes by tiling genes or regions
(遺伝子またはターゲット領域から新規プローブをデザインします) →p.26
対応生物種が限られます。

注意：この新規プローブ作成機能で作られたプローブは、Agilent高解像度データベースのプローブ (p.14) や既存カタログアレイ上のプローブ (p.20) よりもパフォーマンスが低いことが多いため、Agilent高解像度データベースなどにプローブがない場合にのみお使いください。

- 6) Finalize this design (このデザインをファイナライズします) →p.30

1)-5) いずれかを選択し (3を選択する場合はSelect all probes/Select Probes from Probe ID も選択し)、右下の Nextをクリックします。

1) Select Probes from Agilent High Definition Databaseを選択した場合 (Agilent 高解像度データベースからプローブを選択)

1)-1. 下記内容を設定し、右下の Next をクリックします。

- Target: Gene Name・Transcript ID・Gene IDや染色体位置情報*によりターゲットを入力します。Databasesなどの設定内容に基づき、これらのターゲットをゲノム上にマップし、定義されたプローブデータベースから、それらの場所に一致するプローブグループが選択されます。右の Upload ボタンでファイルをアップロードすることも可能です。(* UCSC browserフォーマットかBEDフォーマットで入力)

ファイルをアップロードする場合、ファイルが下記形式であることを確認してください。

- ファイル拡張子は .txt であること
- 1列に1ターゲットを入力すること
- ターゲットは gene symbol、accession、chromosomal coordinates、UCSC browserフォーマットか BED フォーマットであること

☆フォーマットなどについて詳しくは右の [Example](#) を参照

- Databases: ターゲットの染色体位置情報を参照するデータベースを選択します。作成する生物種にあったものを選択してください。
- Include Flanking Regions (5' and 3'): 遺伝子で入力されたターゲットの各エクソン/UTRの近傍領域も含める場合は、その近傍の塩基数を入力（染色体位置情報で入力されたターゲットに対してはこの近傍領域は考慮されません）
- Allow Synonyms: この項目にチェックした場合は、ターゲットとして入力された遺伝子名についてSynonymsも参照対象とし、その染色体位置情報をもとにすることがあります。もし入力した遺伝子名が他の遺伝子のSynonymsにも含まれている場合は、両方をターゲットとして選択されます。

例：ターゲットにHER2と入力した場合、SureDesignはERBB2に基づき染色体位置情報のマッピングを行います。

例：ターゲットにDSPと入力した場合、desmoplakinとdentin sialophosphoproteinの2つの遺伝子として、位置情報をそれぞれターゲット領域として決定。

The screenshot shows the 'Define Targets' step in the SureDesign software. The interface is divided into several sections:

- Define Design:** Includes options like 'Add/Review Content', 'Select HD probes', 'Select Existing Probes', 'Upload probes', and 'Tile Genes or Regions'.
- CGH Array Design:** Shows fields for Name, Species, and Format.
- Probes:** Lists various probe types and their counts.
- Targets:** A large text area for entering gene IDs, symbols, or accessions. It includes an 'Upload' button and an 'Example' link.
- Databases:** A list of databases with checkboxes for selection: RefSeq, Ensembl, CCDS, Gencode, VEGA, and CytoBand.
- Include Flanking Regions (5' and 3'):** A checkbox and a text input field for specifying the number of flanking regions.
- Allow Synonyms:** A checkbox.
- Navigation:** 'Cancel', 'Back', and 'Next' buttons at the bottom right, with 'Next' highlighted by a red box.

1)-2.ターゲットとして認識された領域一覧を確認し、右下の Next をクリックします。

Target Summary:

(1列目) Define targetで入力されたターゲットの数

(2列目) SureDesignが認識した染色体位置情報の数。ターゲットが複数の染色体位置にマップされた場合は、Define targetで入力した数以上の出力があることがあります。

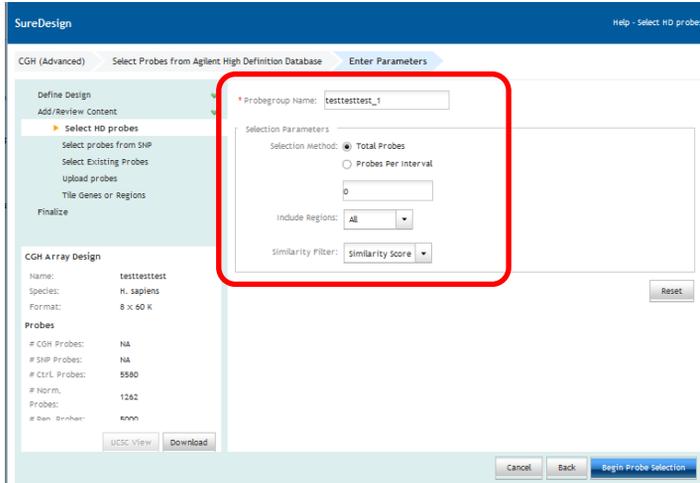
(3列目) SureDesignがデータベースで見つけられなかったターゲットの数

The screenshot shows the 'Review Targets' step in the SureDesign software. The 'Target Summary' section is highlighted with a red box, showing 12 identifiers entered, 12 identifiers found, and 0 identifiers not found. Below this is a table of target details with columns for Target ID, # Regions, Base Pairs, and Position. The 'Download' button at the bottom left and the 'Next' button at the bottom right are also highlighted with red boxes. An arrow points to the 'Download' button.

Target ID	# Regions	Base Pairs	Position
ADAM17	1	67307	chr2:9428615-9699921
ADAMTS1	1	9123	chr21:28208406-28217728
ADAMTS10	1	30497	chr19:8645124-8675620
ADARB1	1	152711	chr21:46493768-46646478
ADCK3	1	90010	chr1:227085237-227178246
ADH7	1	23477	chr4:100333418-100356894
ADSL	1	43964	chr22:40742504-40786467
AFF2	1	500055	chrX:147582139-149082193
AFF3	1	898486	chr2:100163716-100759201
AGAP1	1	637712	chr2:236402733-237040444
AGBL4	1	1491100	chr1:48998527-50489626
ADGF1	1	35984	chr8:76328076-76361089

Download をクリックすると、ターゲット領域情報の詳細など各種ファイルをダウンロードできます。

1)-3. Probe Groupの名前を入力し、パラメータを設定したあと Begin Probe Selectionをクリックします。



パラメータ

- Selection Method

Total Probes: 全ターゲットに配置する全プローブ数を設定します。設定しているマイクロアレイのフォーマットの最大搭載プローブ数により、入力可能な数字の上限が決まります。

Probes Per Interval: 各ターゲットに配置するプローブ数を設定します。設定しているマイクロアレイのフォーマットの最大搭載プローブ数とターゲットの数により、入力可能な数字の上限が決まります。

- Include Regions

All: すべての領域

Exonic: エクソン領域

Intragenic: 遺伝子領域

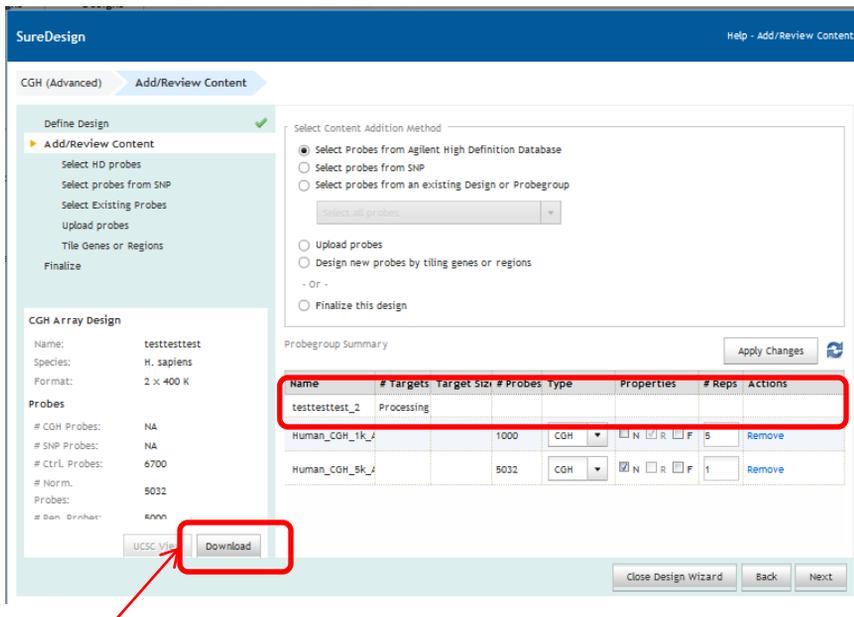
- Similarity Filter

No Filter: フィルター無し

Similarity score: 標的領域以外に、100%もしくは高い相同性を持つ領域がリファレンスゲノムに対してないプローブのみを選択。

Perfect Match: 100%同じ配列を持つ領域がリファレンスゲノムに対して1箇所しかないプローブのみを選択。(標的領域以外に、高い相同性を持つ領域がリファレンスゲノムに対して1箇所以上あるプローブは選択結果に含まれます)

1)-4. 最初の画面にもどります。Probegroup Summaryに新しく作成したProbe Groupが表示されます。作成が完了されるまでは Processingという表記になっていますが、Probe Groupの作成が完了するとメールが届きます。



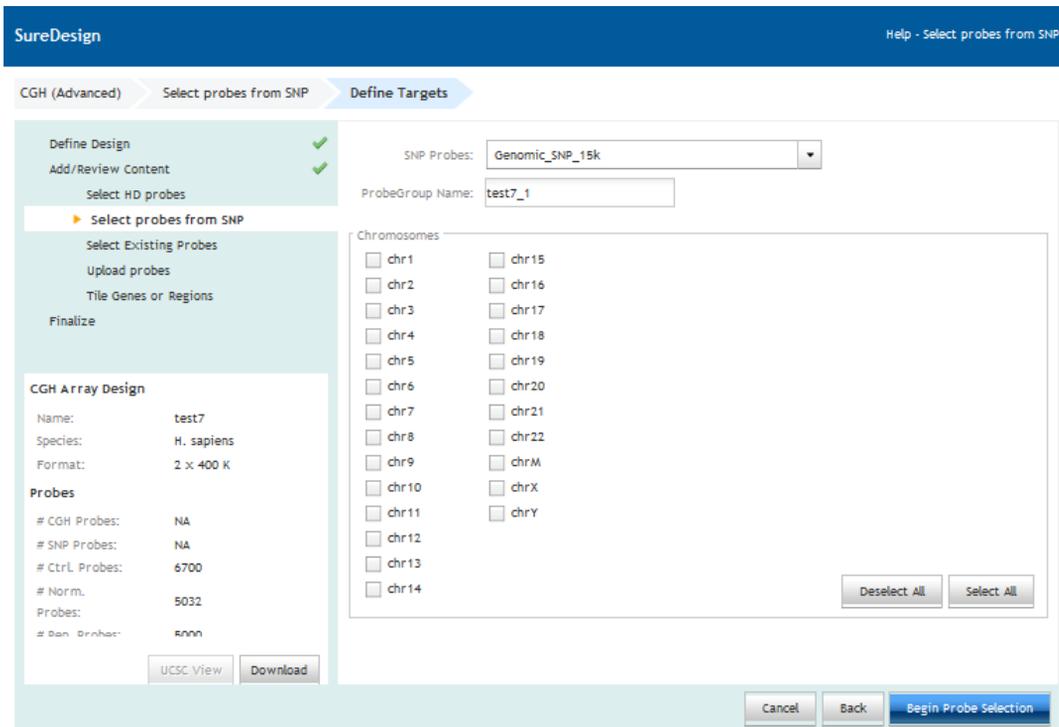
Downloadから各種ファイルをダウンロード可能です。

例：「…_Report.txt」というファイルには

各ターゲットの Coverage ・ total probe数 ・ Median Probe Spacing (bp) の情報が含まれています。

1)-5. 繰り返しで載せたい場合は、#Repsに繰り返しの数を入力し、Apply Changesをクリックします。5回以上の繰り返しの場合は、レプリケートプローブとして認識され、Agilent フィーチャーエクストラクションで QC メトリック計算が可能です。

2) Select Probes from SNPを選択した場合 (SNP からプローブを選択)



2)-1. 下記各項目を設定し、Begin Probe Selectionをクリックします。

- SNP Probes: 既存のSNPプローブグループを選択します。(設定しているマイクロアレイのフォーマットにより表示される内容が異なります)
 - Genomic_SNP_15K
 - Genomic_SNP_30K
 - Genomic_SNP_60K
 - Genomic_SNP_100K*

*1SNPあたり2プローブが配置されているものも含まれています。

- ProbeGroup name : これから作成するProbeGroupの名前を入力します。
- Chromosome: SNPプローブを含める染色体を設定します。CGHプローブも配置した染色体から選択してください。

2)-2. 最初の画面にもどります。Probegroup Summaryに新しく作成したProbe Groupが表示されます。作成が完了されるまでは Processingという表記になっていますが、Probe Groupの作成が完了するとメールが届きます。

The screenshot shows the 'Add/Review Content' step in the SureDesign software. The 'Probegroup Summary' table is highlighted with a red box. The table contains the following data:

Name	# Targets	Target Size	# Probes	Type	Properties	# Reps	Actions
test7_1	Processing						
Human_CGH_1K_Ag			1000	CGH	<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> F	5	Remove
Human_CGH_5k_Ag			5032	CGH	<input checked="" type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> F	1	Remove

2)-3. 繰り返しで載せたい場合は、#Repsに繰り返しの数を入力し、Apply Changesをクリックします。5回以上の繰り返しの場合は、レプリケートプローブとして認識され、Agilent フィーチャーエクストラクションで QC メトリック計算が可能です。

3) -A. Select probes from an existing Design or Probegroupを選択した場合 (既存のデザインまたはプローブグループからプローブを選択) :

- Select all probes (プローブグループ内のすべてのプローブを選択) の場合

The screenshot shows the 'Select Existing Probes' dialog in SureDesign. The 'Design' radio button is selected (3)-A-1. The workspace is set to 'Agilent Catalog' and the folder is also 'Agilent Catalog' (3)-A-2. A table of probe sources is displayed (3)-A-3):

Select	Design ID	Name	Species	Category	Format	Creation Date	Created By
<input type="checkbox"/>	042477	Agilent-042477	H. sapiens	CGH	8 x 60 K	01-Aug-2012	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	042249	Agilent-042249	H. sapiens	CGH	4 x 180 K	25-Jul-2012	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	042300	Agilent-042300	H. sapiens	CGH-SNP	4 x 180 K	24-Jul-2012	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	036465	SurePrint G3 CGH plu	H. sapiens	CGH-SNP	4 x 180 K	11-Sep-2011	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	035689	SurePrint G3 CGH plu	H. sapiens	CGH	4 x 180 K	27-Jul-2011	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	033872	SurePrint G3 CGH plu	H. sapiens	CGH-SNP	2 x 400 K	22-Apr-2011	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	031750	ISCA CGH 105K v2	H. sapiens	CGH	2 X 105K	16-Dec-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	031748	ISCA CGH 180K v2	H. sapiens	CGH	4 x 180 K	16-Dec-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	031747	ISCA CGH 44K v2	H. sapiens	CGH	4 X 44K	16-Dec-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	031746	ISCA CGH 60K v2	H. sapiens	CGH	8 x 60 K	16-Dec-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	031283	SurePrint G3 CGH plu	H. sapiens	CGH-SNP	2 x 400 K	23-Nov-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	030587	CCMC CGH plus SNP	H. sapiens	CGH-SNP	4 x 180 K	07-Oct-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	029830	SurePrint G3 Human	H. sapiens	CGH-SNP	4 x 180 K	27-Aug-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	028081	SurePrint G3 Human	H. sapiens	CGH-SNP	2 x 400 K	04-Jun-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	027065	SurePrint G3 Bet CGH	R. norvegicus	CGH	1 x 1 M	16-Mar-2010	Agilent Technologies

The 'Next' button is highlighted (3)-A-4).

3)-A-1. DesignかProbegroupを選択します。

- Design : 既存デザインに含まれるプローブグループを使用するときに、デザインを選択
- Probegroup: 既存プローブグループを選択

3)-A-2. WorkgroupおよびFolderを選択します。

Workgroup

- Agilent Catalog: アジレントカタログマイクロアレイデザインもしくはアジレントカタログマイクロアレイのプローブグループから選択
- My Workgroup: 自分で作成したもの (デザインもしくはプローブグループが存在するフォルダを右のFolderで選択します。右の **Select** をクリックして選択可能)

3)-A-3. ProbegroupもしくはDesignを選択します。

3)-A-4. Next をクリックします。

3)-A-5. 最初の画面にもどります。Probegroup Summaryに新しく作成したProbe Group (3)-A-1でDesignを選択した場合は、そのデザインに含まれるProbe Group)が表示されます。

The screenshot shows the SureDesign interface with the 'Add/Review Content' step selected. The 'Probegroup Summary' table is as follows:

Name	# Targets	Target Size	# Probes	Type	Properties	# Reps	Actions
test7_1			3516	SNP	<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> F	1	Remove
ISCA CGH 180K bac			125061	CGH	<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> F	1	Remove
ISCA CGH 180K tarz			21445	CGH	<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> F	1	Remove
Human_CGH_1K_Az			1000	CGH	<input type="checkbox"/> N <input checked="" type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> F	5	Remove
Human_CGH_5K_Az			5032	CGH	<input checked="" type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> F	1	Remove

3)-A-6. 繰り返しで載せたい場合は、#Repsに繰り返しの数を入力し、Apply Changesをクリックします。5回以上の繰り返しの場合は、レプリケートプローブとして認識され、Agilent フィーチャーエクストラクションで QC メトリック計算が可能です。

3) -B. Select probes from an existing Design or Probegroupを選択した場合 (既存のデザインまたはプローブグループからプローブを選択) :

- Probes from Probe ID (既存プローブグループ内のからProbe IDで選択)の場合

The screenshot shows the 'Select Existing Probes' step in the SureDesign software. The interface is divided into several sections:

- 3)-B-1:** The 'Design' radio button is selected under the 'Select Existing Probes' section.
- 3)-B-2:** The 'Workspace' dropdown menu is set to 'Agilent Catalog'.
- 3)-B-3:** A table of 'Probe Source' is displayed, listing various probe groups with columns for Design ID, Name, Species, Category, Format, Creation Date, and Created By.
- 3)-B-4:** The 'Next' button is highlighted at the bottom right of the interface.

Select	Design ID	Name	Species	Category	Format	Creation Date	Created By
<input type="checkbox"/>	042477	Agilent-042477	H. sapiens	CGH	8 x 60 K	01-Aug-2012	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	042249	Agilent-042249	H. sapiens	CGH	4 x 180 K	25-Jul-2012	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	042300	Agilent-042300	H. sapiens	CGH-SNP	4 x 180 K	24-Jul-2012	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	036465	SurePrint G3 CGH plu	H. sapiens	CGH-SNP	4 x 180 K	11-Sep-2011	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	035689	SurePrint G3 CGH Pot	H. sapiens	CGH	4 x 180 K	27-Jul-2011	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	033872	SurePrint G3 CGH plu	H. sapiens	CGH-SNP	2 x 400 K	22-Apr-2011	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	031750	ISCA CGH 105K v2	H. sapiens	CGH	2 X 105K	16-Dec-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	031748	ISCA CGH 180K v2	H. sapiens	CGH	4 x 180 K	16-Dec-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	031747	ISCA CGH 44K v2	H. sapiens	CGH	4 X 44K	16-Dec-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	031746	ISCA CGH 60K v2	H. sapiens	CGH	8 x 60 K	16-Dec-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	031283	SurePrint G3 CGH plu	H. sapiens	CGH-SNP	2 x 400 K	23-Nov-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	030587	CCMC CGH plus SNP	H. sapiens	CGH-SNP	4 x 180 K	07-Oct-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	029830	SurePrint G3 Human	H. sapiens	CGH-SNP	4 x 180 K	27-Aug-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	028081	SurePrint G3 Human	H. sapiens	CGH-SNP	2 x 400 K	04-Jun-2010	Agilent Technologies
<input type="checkbox"/>	027065	SurePrint G3 Bet CGH	R. norvegicus	CGH	1 x 1 M	16-Mar-2010	Agilent Technologies

3)-B-1. DesignかProbegroupを選択します。

- Design : 既存デザインに含まれるプローブグループを使用するときに、デザインを選択
- Probegroup: 既存プローブグループを選択

3)-B-2. WorkgroupおよびFolderを選択します。

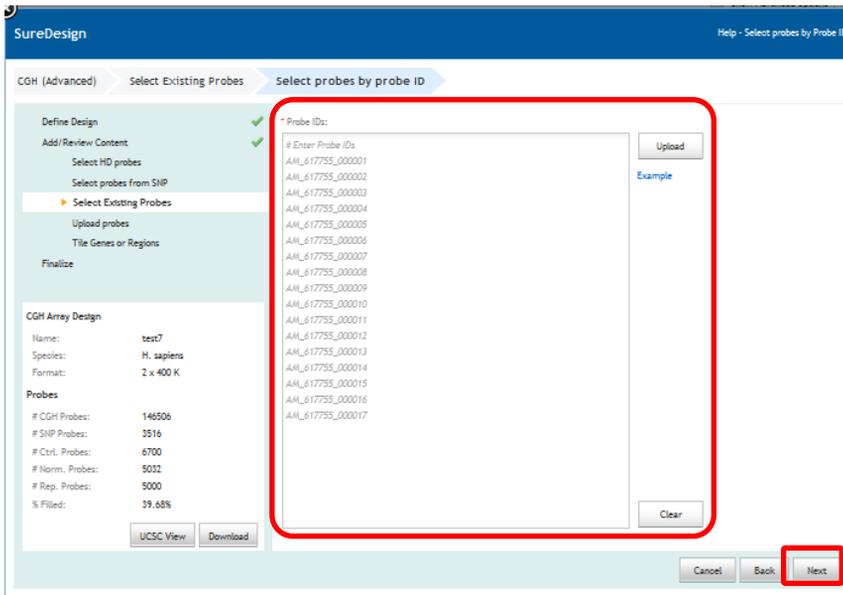
Workgroup

- Agilent Catalog: アジレントカタログマイクロアレイデザインもしくはアジレントカタログマイクロアレイのプローブグループから選択
- My Workgroup: 自分で作成したもの (デザインもしくはプローブグループが存在するフォルダを右のFolderで選択します。右の **Select** をクリックして選択可能)

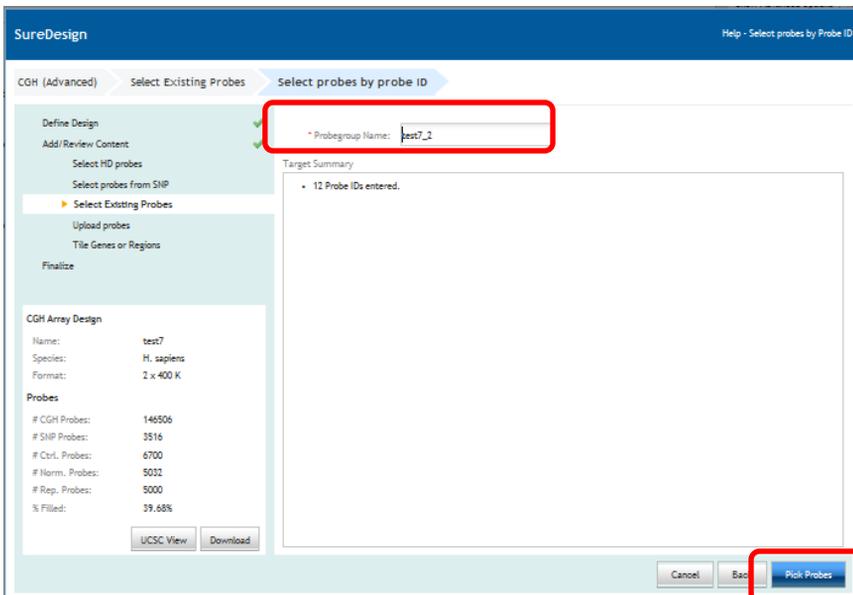
3)-B-3. ProbegroupもしくはDesignを選択します。

3)-B-4. Next をクリックします。

3)-B-5. Probe ID を入力します。もしくは UploadによりProbe IDをファイルでアップロードすることも可能です。形式は [Example](#)を参照してください。入力が完了したら、右下のNextをクリックします。



3)-B-6. 新たに作成するProbe Groupの名前を入力します。右下のPick Probesをクリックします。



3)-B-7. 最初の画面にもどります。Probegroup Summaryに新しく作成したProbe Groupが表示されます。作成が完了されるまでは Processingという表記になっていますが、Probe Groupの作成が完了するとメールが届きます。

The screenshot shows the SureDesign interface with the 'Add/Review Content' step selected. The 'Probegroup Summary' table is highlighted with a red box. The table has the following data:

Name	# Targets	Target Size	# Probes	Type	Properties	# Reps	Actions
testtesttest_2	Processing						
Human_CGH_1K_A		1000		CGH	<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> F	5	Remove
Human_CGH_5K_A		5032		CGH	<input checked="" type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> F	1	Remove

3)-B-8. 繰り返して載せたい場合は、#Repsに繰り返しの数を入力し、Apply Changesをクリックします。5回以上の繰り返しの場合は、レプリケートプローブとして認識され、Agilent フィーチャーエクストラクションで QC メトリック計算が可能です。

4) Upload probes (プローブのアップロード) を選択した場合

4)-1. Probegroup Nameに、新しく作成するプローブグループの名前を入力します。

4)-2. File Nameの右の Browseボタンをクリックし、アップロードするプローブのファイルを選択します。アップロードするプローブのファイルの形式は 2-Columnか6-Columnの内容です。Templateのボタンをクリックし内容を参照してください。(アップロードするファイルはzipしてください)

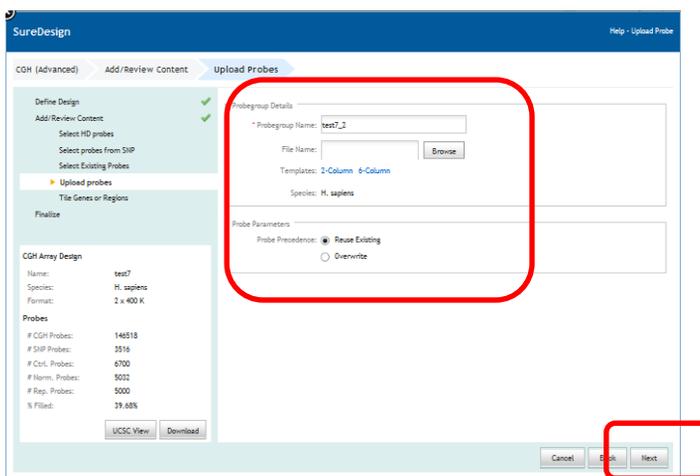
4)-3. Probe Parameterを選択します。

Probe Precedence (プローブIDが一致するプローブの優先順位)

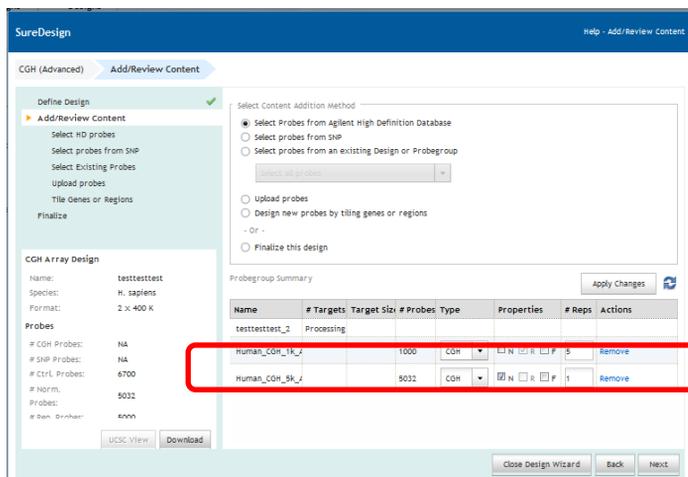
Reuse Existing : 同じIDを持つプローブが既存の場合、アノテーションは既存のものを保持 (配列は上書きされません)

Overwrite: 同じIDを持つプローブが既存の場合、アノテーションはアップロードされた情報で上書き (配列は上書きされません)

4)-4. 上記内容を設定後、右下のNextをクリックします。



4)-5. 最初の画面にもどります。Probegroup Summaryに新しく作成したProbe Groupが表示されます。作成が完了されるまでは Processingという表記になっていますが、Probe Groupの作成が完了するとメールが届きます。



4)-6. 繰り返して載せたい場合は、#Repsに繰り返しの数を入力し、Apply Changesをクリックします。5回以上の繰り返しの場合は、レプリケートプローブとして認識され、Agilent
25
フィーチャーエクストラクションで QC メトリック計算が可能です。

5) Design new probes by tiling genes or regions を選択した場合

(遺伝子またはターゲット領域から新規プローブをデザインします)

注意：この新規プローブ作成機能で作られたプローブは、Agilent高解像度データベースのプローブ (p.14) や既存カタログアレイ上のプローブ (p.20) よりもパフォーマンスが低いことが多いため、Agilent高解像度データベースなどにプローブがない場合にのみお使いください。

5)-1. 下記内容を設定し、右下の Next をクリックします。

- Target: Gene Name・Transcript ID・Gene IDや染色体位置情報*によりターゲットを入力します。Databasesなどの設定内容に基づき、これらのターゲットをゲノム上にマップし、定義されたプローブデータベースから、それらの場所に一致するプローブグループが選択されます。右の Upload ボタンでファイルをアップロードすることも可能です。(* UCSC browserフォーマットかBEDフォーマットで入力)

ファイルをアップロードする場合、ファイルが下記形式であることを確認してください。

- ファイル拡張子は .txt であること
- 1列に1ターゲットを入力すること
- ターゲットは gene symbol、accession、chromosomal coordinates、UCSC browserフォーマットか BED フォーマットであること

☆フォーマットなどについて詳しくは右の [Example](#) を参照

- Databases: ターゲットの染色体位置情報を参照するデータベースを選択します。作成する生物種にあったものを選択してください。
- Include Flanking Regions (5' and 3'): 遺伝子で入力されたターゲットの各エクソン/UTRの近傍領域も含める場合は、その近傍の塩基数を入力（染色体位置情報で入力されたターゲットに対してはこの近傍領域は考慮されません）
- Allow Synonyms: この項目にチェックした場合は、ターゲットとして入力された遺伝子名についてSynonymsも参照対象とし、その染色体位置情報をもとにすることがあります。もし入力した遺伝子名が他の遺伝子のSynonymsにも含まれている場合は、両方をターゲットとして選択されます。

例：ターゲットにHER2と入力した場合、SureDesignはERBB2に基づき染色体位置情報のマッピングを行います。

例：ターゲットにDSPと入力した場合、desmoplakinとdentin sialophosphoproteinの2つの遺伝子として、位置情報をそれぞれターゲット領域として決定。

Screenshot of the SureDesign software interface showing the 'Define Targets' step. The 'Targets' field is highlighted with a red box and contains the following text: '# Enter gene IDs, gene symbols, or accessions. # SureDesign will map these targets to genomic locations # using the parameters below, then select probes from the # defined probe source that match the locations. SAKD94 NH_005339 ENST00000242988 CCDS11950 4089 # Enter UCSC browser or BED coordinates chr18:48573407-48573679 chr18:48573408-48573679 # Enter coordinates with identifiers'. Below the 'Targets' field, the 'Databases' section is also highlighted with a red box and shows checked options for RefSeq, Ensembl, CCDS, Gencode, VEGA, and Cytoband. The 'Include flanking regions (5' and 3')' checkbox is unchecked, and the 'Allow synonyms' checkbox is checked. The 'Next' button at the bottom right is also highlighted with a red box.

5)-2.ターゲットとして認識された領域一覧を確認し、右下の Next をクリックします。

Target Summary:

(1列目) Define targetで入力されたターゲットの数

(2列目) SureDesignが認識した染色体位置情報の数。ターゲットが複数の染色体位置にマップされた場合は、Define targetで入力した数以上の出力があることがあります。

(3列目) SureDesignがデータベースで見つけれなかったターゲットの数

The screenshot shows the 'Review Targets' step in the SureDesign software. The 'Target Summary' section is highlighted with a red box, showing 12 identifiers entered and 12 found. Below it is a table of target details with columns for Target ID, # Regions, Base Pairs, and Position. The 'Download' button is also highlighted with a red box and an arrow pointing to it.

Target ID	# Regions	Base Pairs	Position
ADAM17	1	67307	chr2:9428615-9699921
ADAMTS1	1	9123	chr21:28208906-28217728
ADAMTS10	1	30497	chr19:8648124-8675620
ADARB1	1	152711	chr21:46493768-46646478
ADCK3	1	90010	chr1:227088237-227178246
ADH7	1	23477	chr4:100333418-100356894
ADSL	1	43964	chr22:40742504-40786467
AFF2	1	900055	chrX:147582139-149082193
AFF3	1	898486	chr2:100163716-100759201
AGAP1	1	637712	chr2:236402733-237040444
AGBL4	1	1491100	chr1:48998527-50489626
AGGF1	1	35984	chr8:76328076-76361089

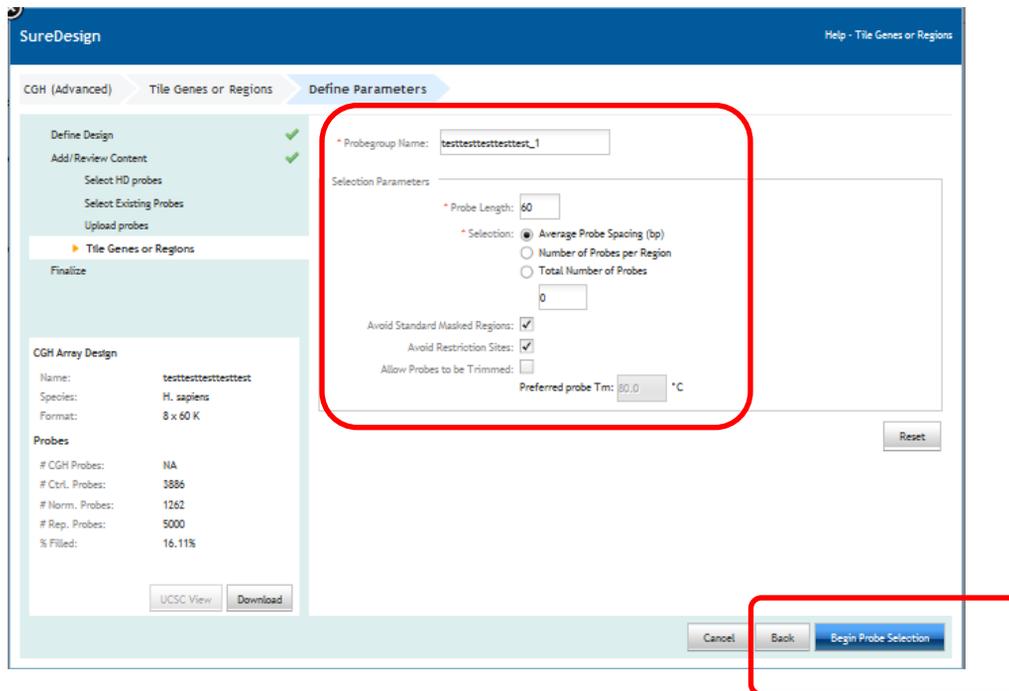
Download をクリックすると、ターゲット領域情報の詳細など各種ファイルをダウンロードできます。

5)-3. Probegroup Nameに、新しく作成するProbe Groupの名前を入力します。

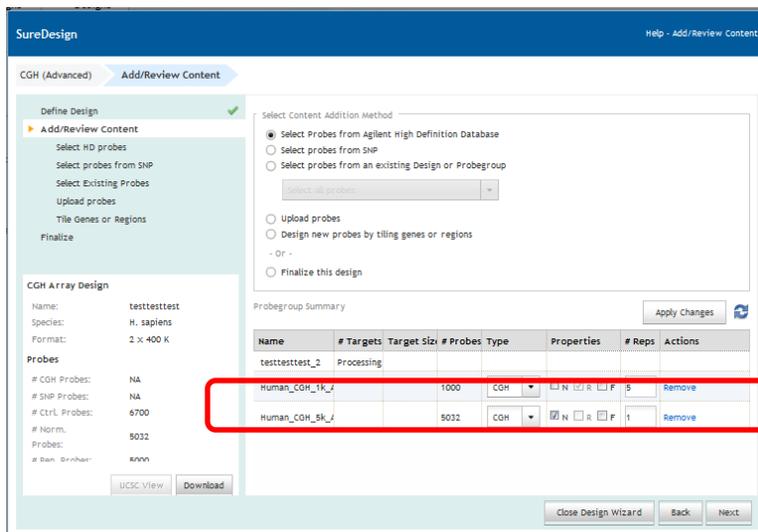
5)-4. Selection Parameterの下記項目を設定します。

- Probe Length: 作成するプローブ長（デフォルトは60 mer）
- Selection
 - Average Probe Spacing (bp): 平均プローブ間距離。最小設定値は150bpです。
 - Number of Probes per Region: 各ターゲットの最大プローブ数
 - Total Number of Region: ターゲットの全プローブ数
- Avoid Standard Masked Region : (標準的な繰り返しゲノム領域のプローブを排除)
Repeat Masker とWindows Masker Masking Tools でマスクされる領域を排除します。
- Avoid Restriction Sites : AluI, RsaI制限酵素認識部位を避けます。
- Allow Probes to be Trimmed : プローブのトリミングを許可。入力したTm値により近づけるために45bpより長いプローブに関して最小45塩基まで短くします。（Probe Lengthが45bpより短く設定されている場合は、チェックボックスを選択していてもこの機能は働きません。
- Preferred probe Tm

5)-5. 入力が完了したら、右下の Begin Probe Selectionをクリックします。



5)-6. 最初の画面にもどります。Probegroup Summaryに新しく作成したProbe Groupが表示されます。作成が完了されるまでは Processingという表記になっていますが、Probe Groupの作成が完了するとメールが届きます。



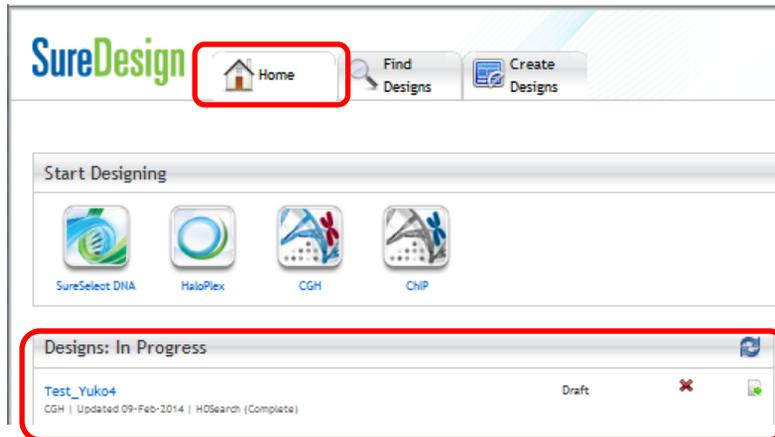
5)-7. 繰り返して載せたい場合は、#Repsに繰り返しの数を入力し、Apply Changesをクリックします。5回以上の繰り返しの場合は、レプリケートプローブとして認識され、Agilent フィーチャーエクストラクションで QC メトリック計算が可能です。

作成したデザインのFinalize

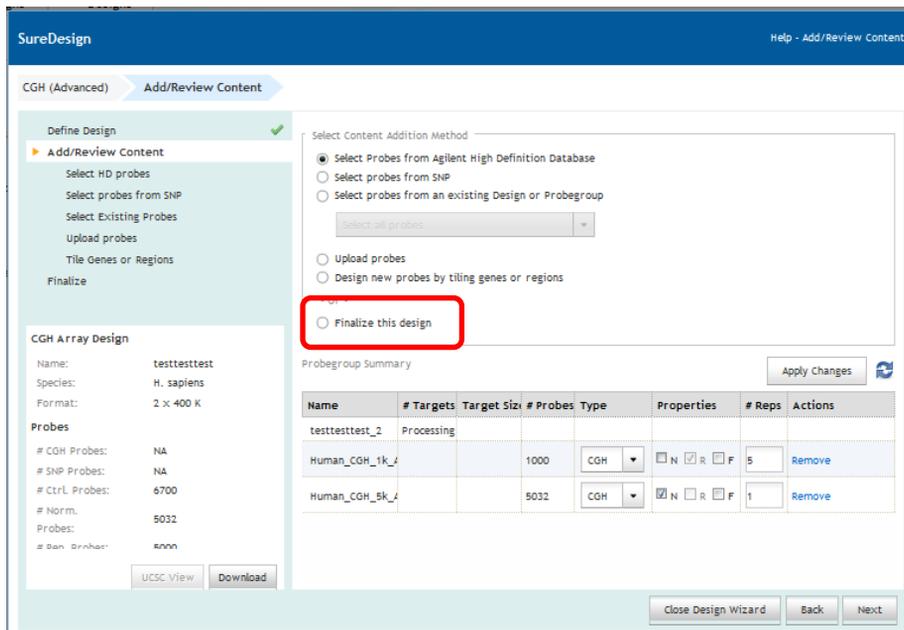
デザインをファイナライズすることができます。ファイナライズすると、次のとおりとなります。

- デザインを変更できなくなります。
- デザイン ID が割り当てられます。
- デザイン情報がアジレントの製造設備に送信されます。製造作業は、正式に発注されるまで開始されません。

(Home画面の Designs: In ProgressのリストにあるデザインのContinueボタン をクリックします。)

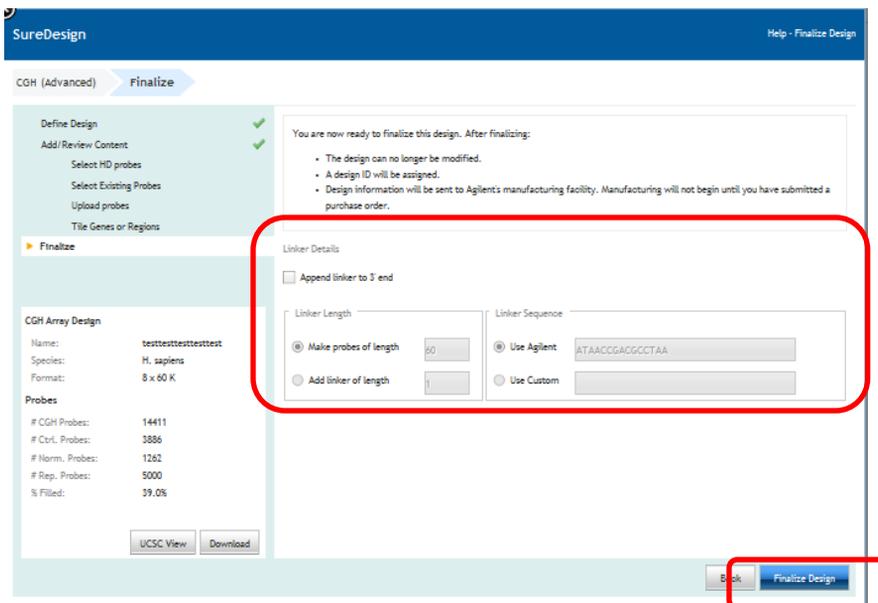


Finalize this designを選択してNextをクリックします。



1. Finalize

下記内容を設定したあと、右下の Finalize Designをクリックします。



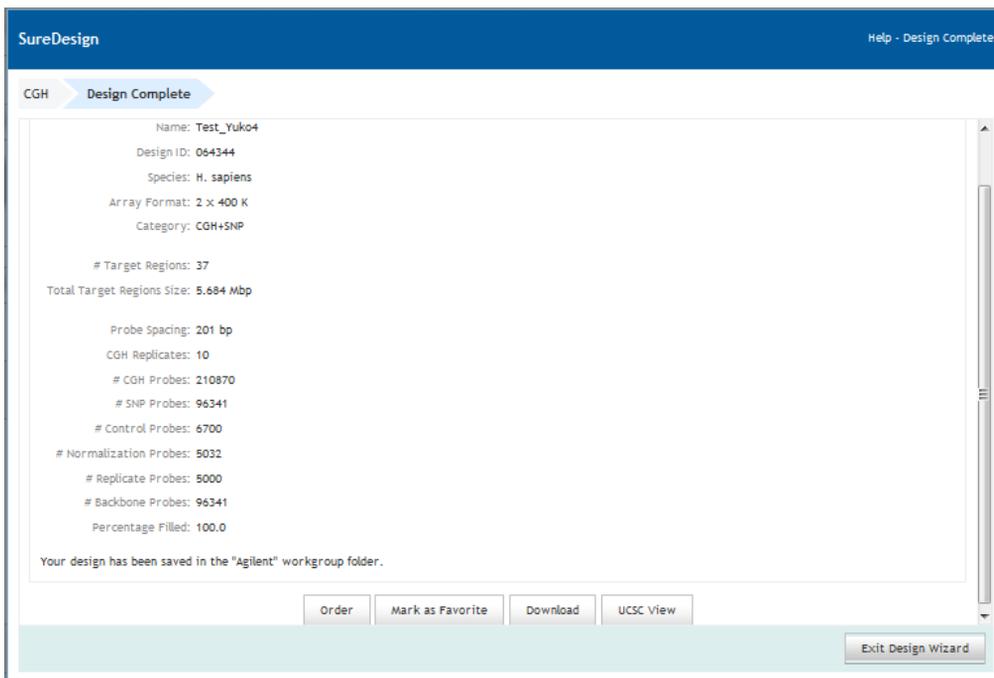
- Append linker to 3' end (リンカーを3'末端に付けます)

リンカー付加をONにした場合、下記を設定します。

- Linker Length (リンカー長) **全プローブ長 60merを推奨 (プローブデータベースからプローブを選択した際は不要です)**
 - Make probes of length (リンカーを含めたプローブ長)
 - Add linker of length (付加するリンカー長)
- Linker Sequence
 - Use Agilent (Agilentデザインのリンカー)
 - Use Custom (ユーザデザインのリンカー)

2. Design Complete

デザインが完了となりました。statusが Completeとなり、Design ID が発行されます。Finalize直後ではDownloadからデザインファイルのダウンロードができませんが、しばらくすると可能になります。



ご発注いただく際は、Design ID とスライド枚数を弊社担当営業にお知らせください。

SureDesignに関するサポートお問い合わせ窓口

TEL: 0120-477-111

E-mail: email_japan@agilent.com

SureDesign に関する質問と明示ください。

価格、納期等のご質問は、担当営業にご連絡ください。