

1枚から出来る アジレントのカスタムアレイ eArrayのご紹介

December, 2009
アジレント・テクノロジー株式会社
バイオアプリケーショングループ



アジレント eArray



eArray 6.5

Print what you want, when you want it.

強力なカスタムアレイ作成ツール

eArrayとは <https://earray.chem.agilent.com/earray/>

1)カスタムアレイ作成ツール

Webベースのカスタムアレイデザインツール
お客様自身で操作でき、製造費のみで
自由にカスタムアレイの作成が可能！

2)カタログアレイの情報データベース

カタログアレイの有用な情報をダウンロード可能。
例：BEDファイルや配列情報等

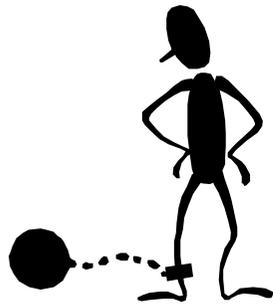
3) 新機能 SureSelectライブラリ作成ツール



従来のカスタムアレイの概念を覆す 画期的なカスタムアレイ作成ツール

従来(他社)

デザイン料が高い
1回の発注枚数が多い
リスクがあり敷居が高い



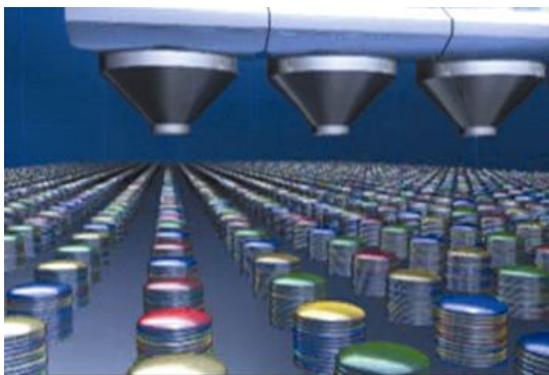
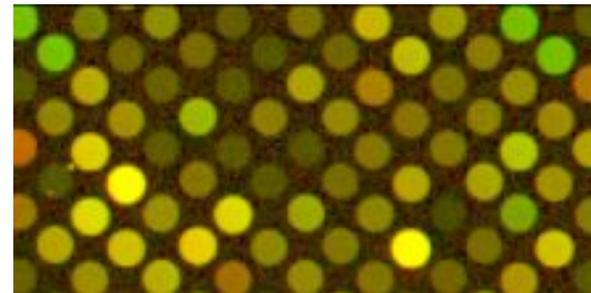
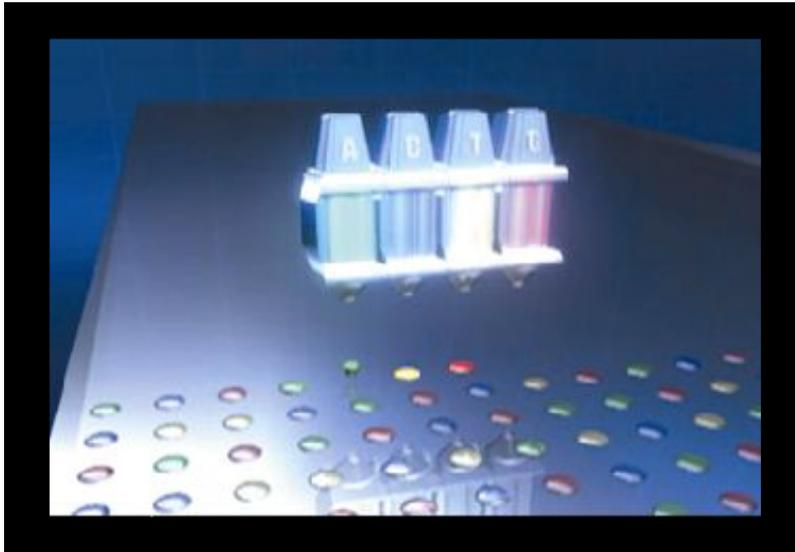
アジレント eArray

デザイン料フリー
1枚からオーダー可能
気軽に試すことができる



アジレントカスタムアレイの製造法

Inkjet技術を使い、高いフレキシビリティを実現！



-1x3インチスライドガラスにIn situ合成
-25~60merのオリゴを搭載可能

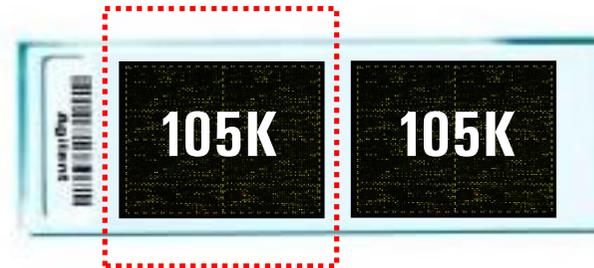
フォーマットの種類

— Gene Expression, miRNA, CGH/CNV, ChIP-on-chip/CH3

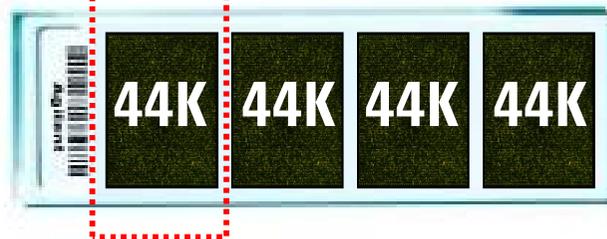
1 x 244K



2 x 105K



4 x 44K



8 x 15K



miRNAアレイは8x15Kのみ

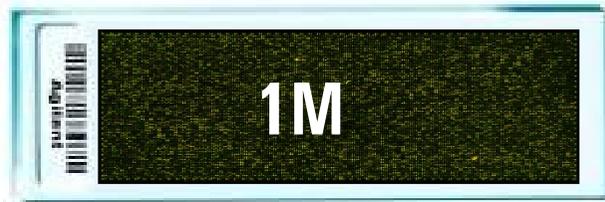
※2009年12月現在

プローブの高密度化、ハイスループット化やランニングコストの抑制など
目的に応じてフォーマットの選択が可能！

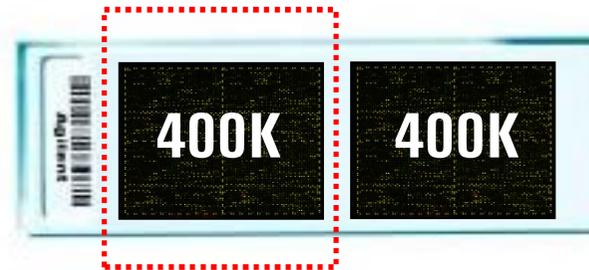
フォーマットの種類

— CGH/CNV, ChIP-on-chip/CH3

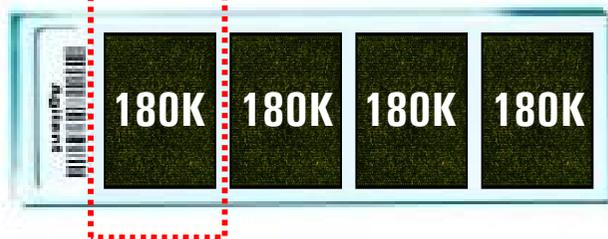
1 x 1M



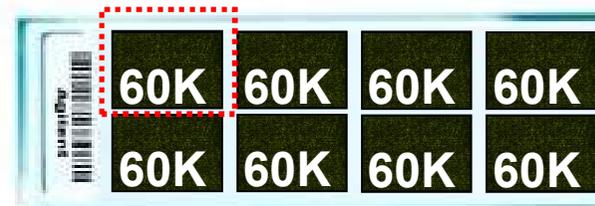
2 x 400K



4 x 180K



8 x 60K



※2009年12月現在

プローブの高密度化、ハイスループット化やランニングコストの抑制など
目的に応じてフォーマットの選択が可能！
2009年冬現在、これらのフォーマットは遺伝子発現、miRNAアレイには対応していません。

こんなときは...アジレント eArray !

目的の生物種がカタログアレイにない

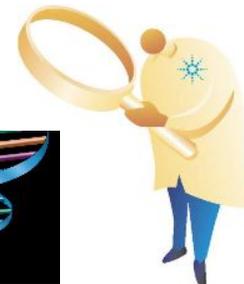
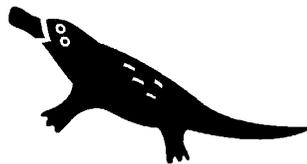
研究テーマで絞り込んだコンテンツのみ搭載したい

gDNAの限定された領域を、さらに高解像度で解析したい

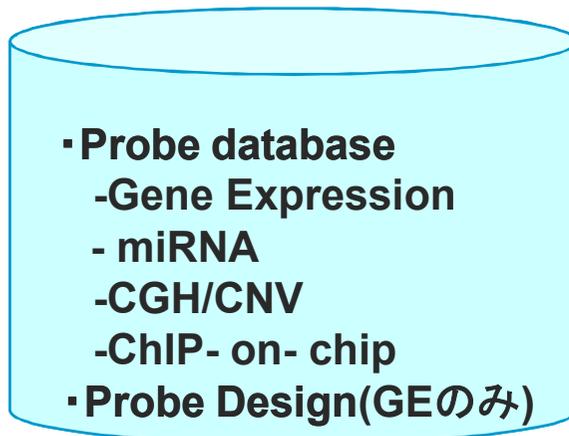
自分でデザインした独自のプローブを搭載したい

多数のサンプルを一度に分析したい

ランニングコストを下げたい

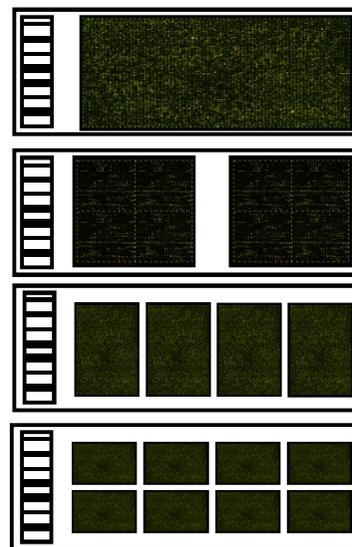


eArrayのフロー ログインからオーダーまで



ユーザー登録無料！
ご利用約款への同意が必要です。

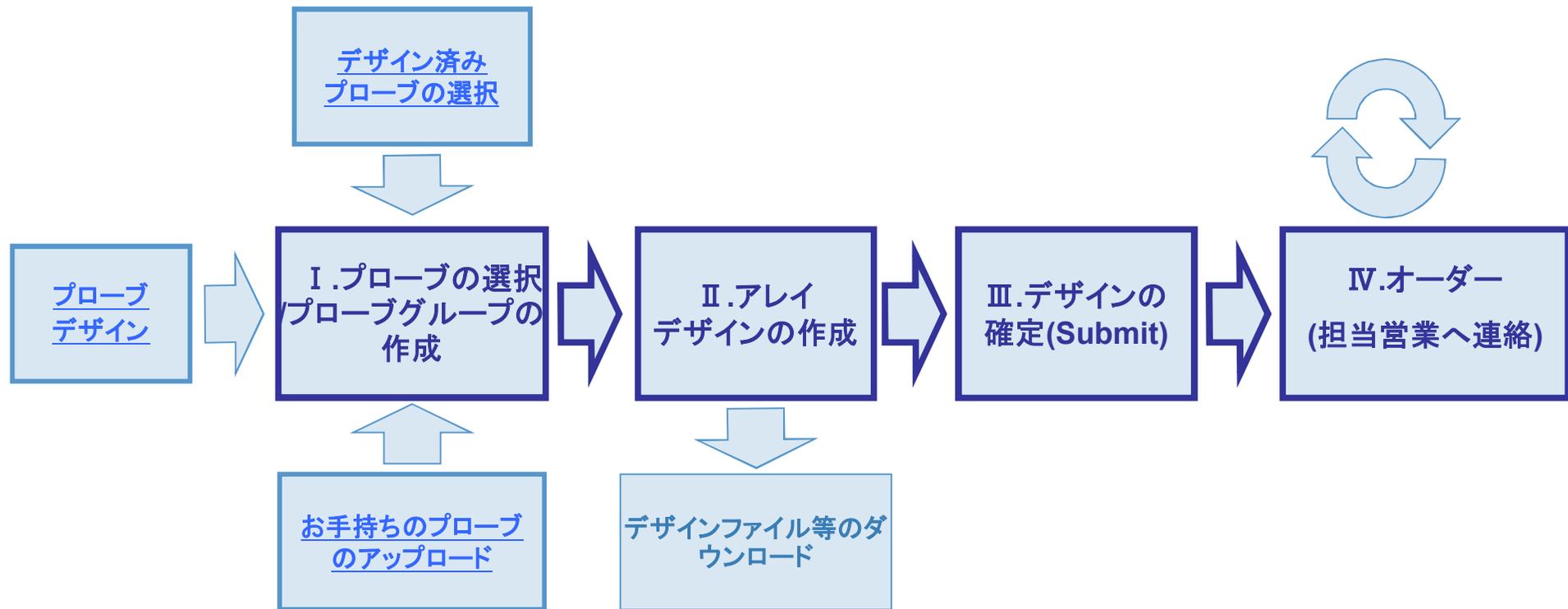
アジレントが設計した
プローブを無料で利用可能！
新規シーケンスから
プローブデザイン可能！



**1枚から
オーダー可能！**

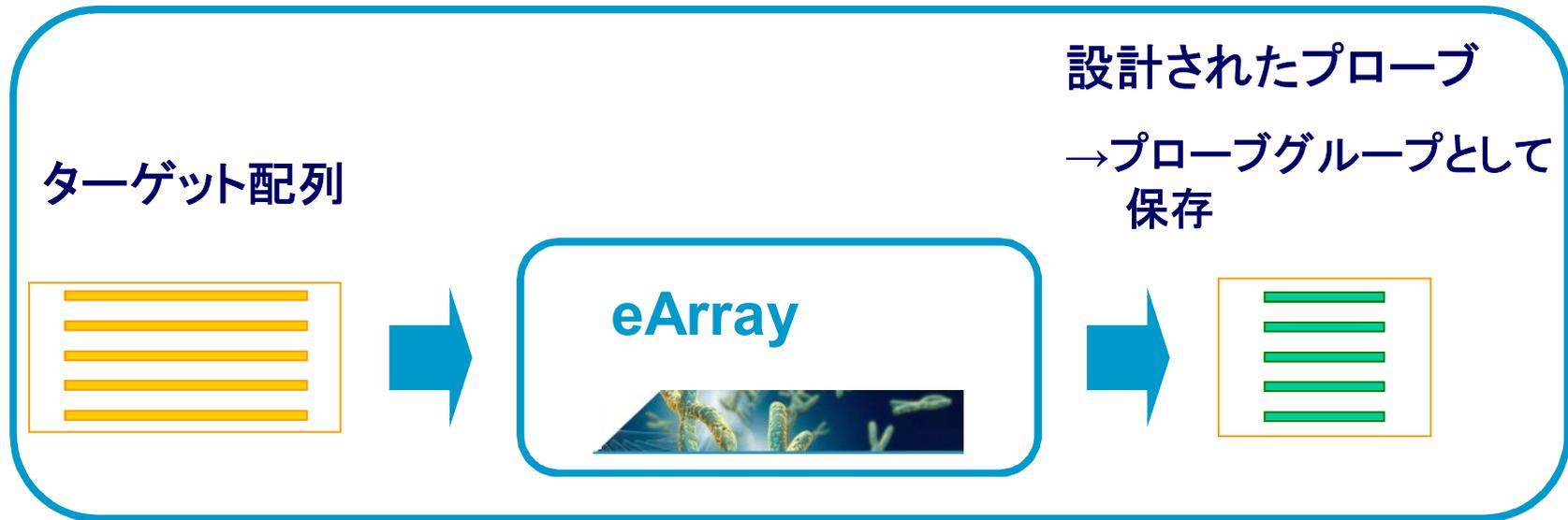
ご利用可能アプリケーション: Gene Expression, miRNA, CGH, ChIP-on-chip

カスタムアレイ設計のフロー



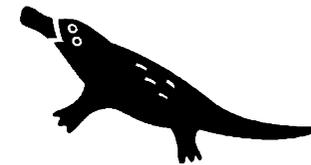
自由に設計可能、デザイン料フリー

I. プローブの選択/プローブグループの作成 プローブデザイン（遺伝子発現のみ）

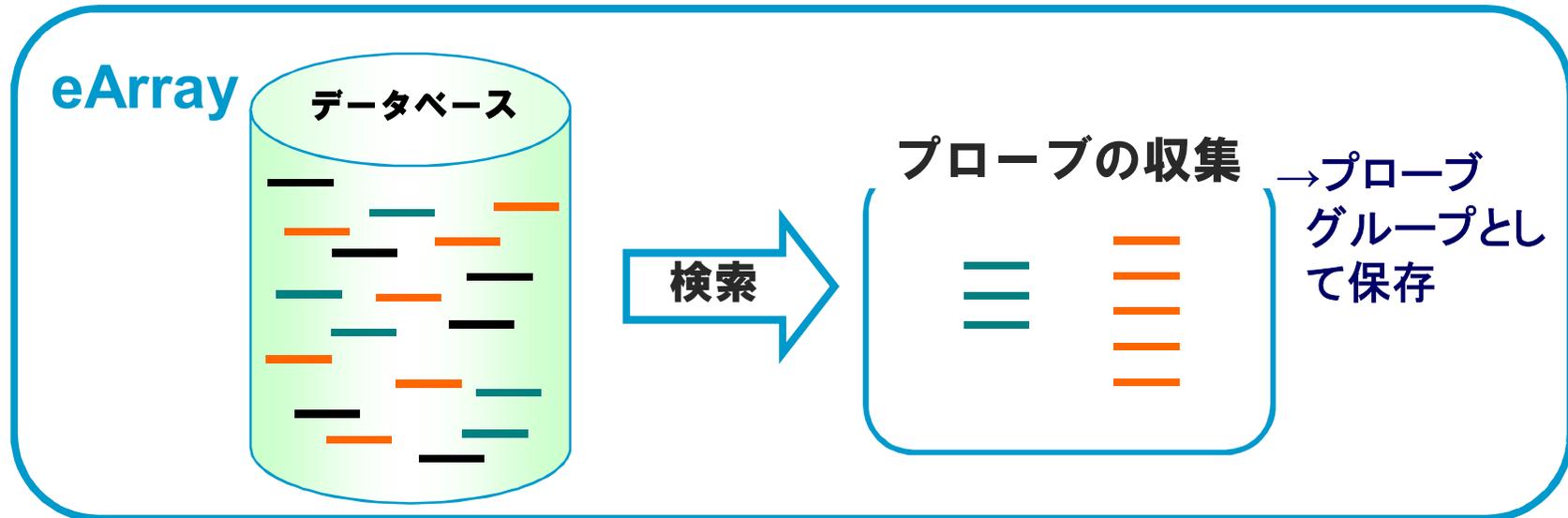


こんなときに使えます

- ・ゲノムが新規に解読された
- ・独自のRNAシーケンス情報を持っている



I. プローブの選択/プローブグループの作成 プローブ検索

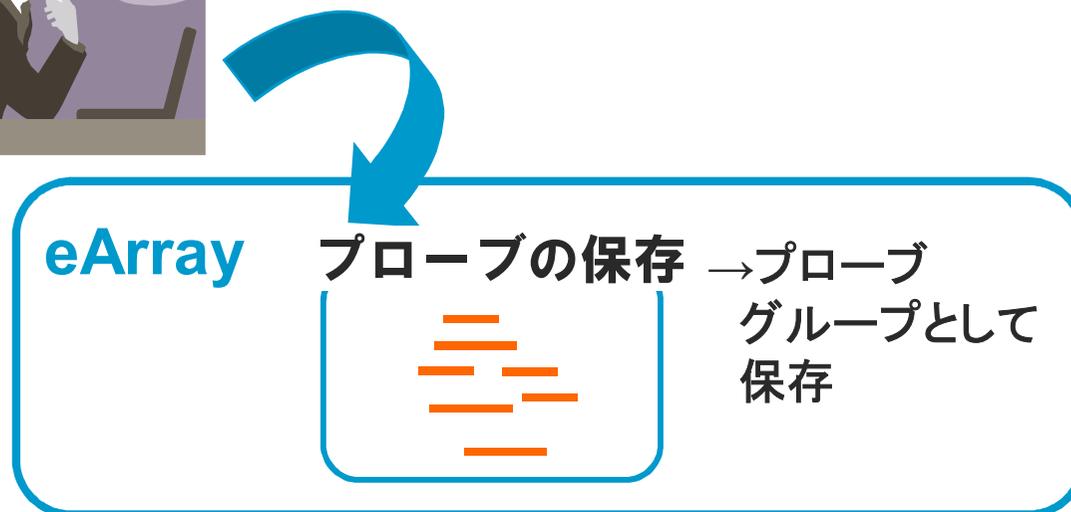


こんなときに使えます

- ・より解像度を上げたい
- ・カタログアレイに載っていない領域も搭載したい
(主にCGH/CNV、ChIP-on-chip/CpG Island array)



I.プローブの選択/プローブグループの作成 独自プローブのアップロード



こんなときに使えます

- ・自分でデザインしたプローブを搭載したい

II. アレイデザインの作成

Home Microarray Probe Group Probes My Account

Design Wizard <https://earray.chem.agilent.com> - Agilent Technologies - Microsoft Internet Explorer

Create a Microarray Design from Existing ProbeGroup(s)

1. Select Species
2. Define Design
3. Layout Probes
4. Create ArrayDesign

Search Re

Define Design

Microarray Name

Design Format: Select Format Show Details

Folder:

Species:

2 X 105K
4 X 44K
8 X 15K
1 X 244K

Linker Details:

Four microarray spot layouts are shown in a callout box:

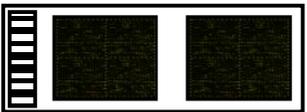
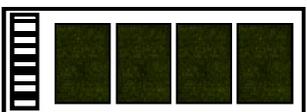
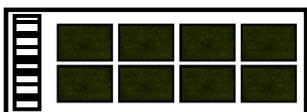
- 1 large spot
- 2 medium spots
- 4 small spots in a row
- 4 small spots in a 2x2 grid

生物種やフォーマット、I で作成したプローブグループの指定

スポットの繰り返し搭載数も指定できます。

Ⅱ. アレイデザインの作成

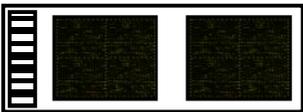
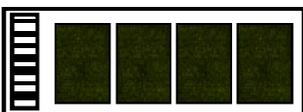
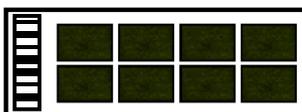
現在利用できるフォーマットとアプリケーション

1 x 244 K	2 X 105 K	4 x 44 K	8 x 15 K
			
Gene Expression	Gene Expression	Gene Expression	Gene Expression
			miRNA
CGH/CNV	CGH/CNV	CGH/CNV	CGH/CNV
ChIP-on-chip	ChIP-on-chip	ChIP-on-chip	ChIP-on-chip
CpG Island array	CpG Island array	CpG Island array	CpG Island array

*生物種により利用できるフォーマットに制限がある場合があります。

II. アレイデザインの作成

新高密度フォーマットとアプリケーション

1 x 1M	2 X 400 K	4 x 180 K	8 x 60 K
			
CGH/CNV	CGH/CNV	CGH/CNV	CGH/CNV
ChIP-on-chip CpG Island array	ChIP-on-chip CpG Island array	ChIP-on-chip CpG Island array	ChIP-on-chip CpG Island array

III. IV. デザインの最終決定及びオーダー

III. デザイン内容を確認後(必要があれば変更を加え)、確定

Did you:

- select the appropriate format (e.g. 24W etc.)?
- include the necessary controls not already incorporated in the design?
- include the appropriate probes that target the appropriate species?
- check the quality and form (e.g. length, linkers, etc.) of any uploaded probes on this microarray?
- for your intended use, include only those uploaded probes for which you agree to take full responsibility?
- include the appropriate probe groups with the correct probes?
- fill all the unused features on the microarray you wanted filled?
- include the required technical replicates and/or experimental replicates?
- create a design that works with your equipment, kits, and protocols?

After you select the "Submit" button on the main, this microarray will be submitted to Agilent microarray design. To enable ordering an Agilent representative will contact you to confirm.

By selecting "Done" button below, you are confirming that you have reviewed your microarray to the checklist above. Independent of the checklist, you are responsible for your design's fit.

By selecting "Submit", you are also confirming acceptance for an Agilent representative to call. You will NOT be sent to you and invoiced until an Agilent representative has contacted you and you received.

If ordered, custom microarrays are warranted as articles of manufacture (workmanship) do not agree to the above checklist or do not wish to order and have an Agilent representative. "Cancel" button.

Done Cancel

Array Design is successfully submitted.

CLOSE

IV. 発行されるDesign IDと発注枚数を担当営業へ連絡

約4週間で納品

eArrayの各機能の詳細設定

Application Type: **microRNA** [Switch Application Type](#)

Search

Microarray Probe Group Probe

Design Wizards [View All](#)

Create a Microarray Design from Existing ProbeGroup(s) [Info](#)

Application Type: **CGH** [Switch Application Type](#)

Species [Info](#) [Search](#) [Upload](#) [Genomic Tiling](#) [Reannotate](#) [DNA Analytics Download](#)

Design ID:

Search Your Probes Interval Finder HD Probe Search

Standard HD Probe Search [Info](#) Advanced HD Probe Search [Info](#)

Job Information

Search Name [Info](#) *

Select HD Search By Genomic Intervals

Interval Options

Application Type: **Expression** [Switch Application Type](#)

Species

Build Number [Search](#) [Upload](#) [Simple Tiling](#) [GE Probe Design](#) [GE Probe Check](#) [Reannotate](#)

Probe Options

Filters [Info](#)

Prefer Catalog Probe

Use TM Filter [Info](#)

Similarity Filter [Info](#)

Base Composition Methodology [Info](#) Tm Matching Methodology [Info](#)

Probe Details

Design Job Name

Probe Length 60 bp

Probes per Target 1

Masking Vector [Info](#) Repeat [Info](#)

Probe Orientation Sense [Info](#) Antisense [Info](#)

Design Options Best Probe Methodology [Info](#) Best Distribution Methodology [Info](#)

Design with 3' Bias [Info](#)

Target File Details

Species H. sapiens

Upload in FASTA Format [Info](#)

Upload as Genbank Accessions [Info](#)

Transcriptome Details

Use Target File as Transcriptome [Info](#)

Select Agilent-provided Transcriptome (by Species) [Info](#)

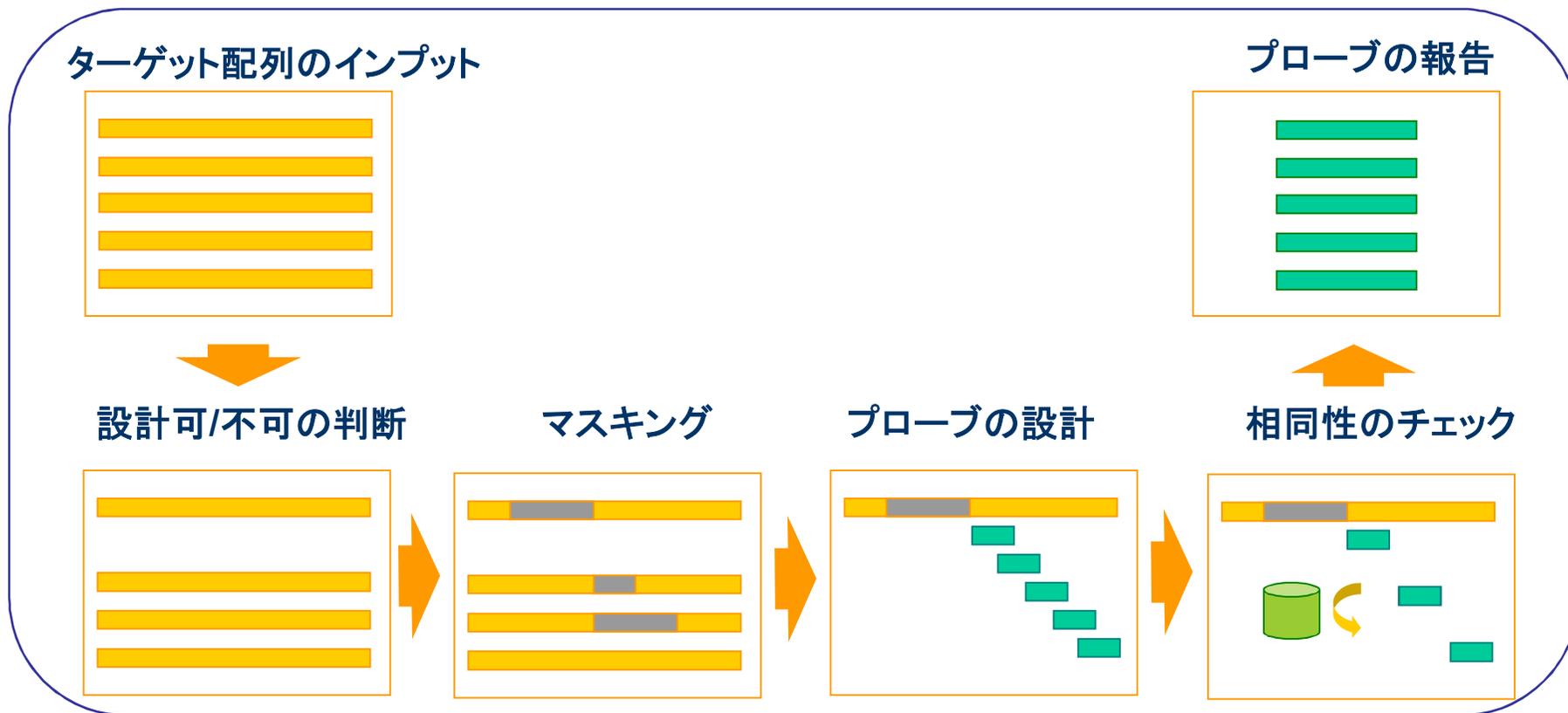
Species H. sapiens

Upload Transcriptome File [Info](#)



プローブ設計の流れ — Gene Expression

Probe Design Process



プローブ設計例 — Gene Expression

真核生物・原核生物ともプローブ設計可能

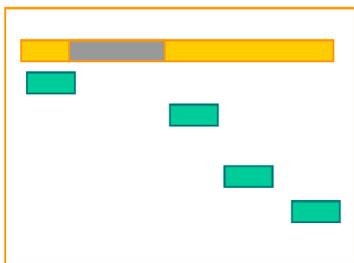
真核生物の場合: Base Composition Methodology



Design with 3' Bias [Info](#)

- ・オリゴdTプライマーを用いたラベル化
- ・3'末端1,000bp以内にプローブを設計

原核生物の場合: Tm Matching Methodology



Design with 3' Bias [Info](#)

- ・ランダムプライマーを用いたラベル化
- ・ターゲット配列全体がプローブ設計対象

プローブ設計 — Gene Expression

<input checked="" type="radio"/> Base Composition Methodology Info		<input type="radio"/> Tm Matching Methodology Info	
Probe Details		Target File Details	
Design Job Name	<input type="text"/>	Species	<input type="text" value="H. sapiens"/>
Probe Length	<input type="text" value="60"/> bp	<input checked="" type="radio"/> Upload in FASTA Format Info	<input type="text"/>
Probes per Target Info	<input type="text" value="1"/>	<input type="radio"/> Upload as Genbank Accessions Info	<input type="text"/>
Masking	<input checked="" type="checkbox"/> Vector Info <input checked="" type="checkbox"/> Repeat Info	Transcriptome Details	
Probe Orientation	<input checked="" type="radio"/> Sense Info <input type="radio"/> Antisense Info	<input type="radio"/> Use Target File as Transcriptome Info	
Design Options	<input checked="" type="radio"/> Best Probe Methodology Info <input type="radio"/> Best Distribution Methodology Info	<input checked="" type="radio"/> Select Agilent-provided Transcriptome (by Species) Info	<input type="text" value="H. sapiens"/>
<input type="checkbox"/> Design with 3' Bias Info		<input type="radio"/> Upload Transcriptome File Info	<input type="text"/>
<input type="button" value="Submit"/> <input type="button" value="Cancel"/>			

- ・設計プローブ長や設計プローブ数を指定可能
(設計できなかった場合、指定数を下回ることもあります)
- ・FASTAフォーマットあるいはAccessionIDリストでターゲット配列を指定
- ・相同性チェック用配列を指定可能
- ・Tm値を設定可能(Tm Matching Methodologyのみ)

アジレントプローブ設計の基本コンセプト —CGH, ChIP-on-chip

プローブ設計の基準例:

- T_m (融解温度)
- 特異性
- 二次構造を形成しない

CGH

ヒト、マウス、ラット

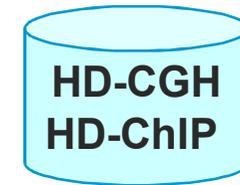
- ・繰り返し配列領域を排除
- ・*Alu I*と*Rsa I*切断領域を排除
- ・ゲノムDNAに対して特異性を持つ

ChIP-on-chip

ヒト、マウス、ラット、
酵母、その他

- ・繰り返し配列領域を排除
- ・CpGアイランドプローブを含む
- ・ゲノムDNAに対して特異性を持つ

CGHおよびChIP-on-chip用プローブデータベース Database Summary



CGH用プローブデータベース(HD-CGH)

Species	Probe#	Median Density	Build Annotation
Human	28.7Million	<50 bp	NCBI Build 36
Mouse	7.3 Million	200 bp	NCBI Build 37
Rat	6.9 Million	200 bp	UCSC Rn4

In addition to - *C. elegans*; *G.gallus*; *B.taurus*; *C.familiaris*; *P.troglodytes*; *M.mulatta*

ChIP-on-chip用プローブデータベース(HD-ChIP)

Species	Probe#	Median Density	Build Annotation
Human	23.8 Million	<100 bp	NCBI Build 36
Mouse	27.4 Million	<100 bp	NCBI Build 37
Rat	22.1 Million	<100 bp	UCSC Rn4

In addition to - *A. gambiae*; *A. thaliana*; *C. elegans*; *D. melanogaster*; *S. cerevisiae* (~ 1.0 M each)

D.spseudoobscura; *D.smulans*

※2009年10月現在

HD-CGH/HD-ChIPの検索条件

Home | Microarray | Probe Group | **Probe** | My Functions | My Account

Application Type: **ChIP** [Switch Application Type](#)

[Search](#) | [Upload](#) | [Genomic Tiling](#) | [DNA Analytics Download](#)

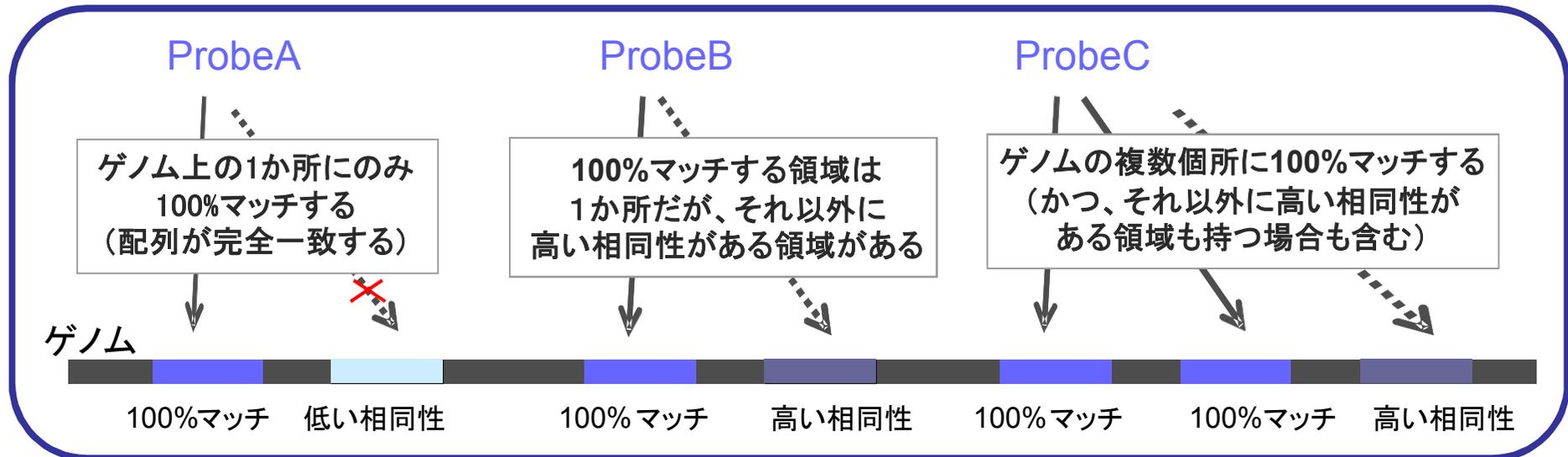
Search Your Probes Interval Finder HD Probe Search

Standard HD Probe Search [Info](#) Advanced HD Probe Search [Info](#)

Job Information		Interval Options	
Search Name Info	<input type="text"/> *	Select HD Search By	Genomic Intervals ▾
Species	Select ▾ *	Extended Interval Boundary Info	5' Base Pairs <input type="text"/>
Build Number	<input type="text"/>		3' Base Pairs <input type="text"/>
Probe Options			
Filters Info	None ▾	Genomic Intervals Info	<input type="text"/> * <input type="button" value="Upload"/>
Use TM Filter Info	YES ▾	Exclusion Standard Interval Info	<input type="checkbox"/>
Similarity Filter Info	Similarity Score Filter ▾	Exclusion Custom Interval Info	<input type="checkbox"/>
		<input type="button" value="Search"/>	<input type="button" value="Reset"/>

- ・Chromosome Location、AccessionIDやGeneSymbol等から検索可能
- ・多量のプローブを検索する際は、リストを作成し一括検索
- ・プローブ数を指定可能(Filters)
- ・ゲノム上の複数個所にマップされるプローブの検索も可能(Similarity Filters)

HD-CGH/HD-ChIPの検索 -Similarity Filter



Filter	Filter In	Filter Out
Similarity Score Filter	ProbeA	ProbeB ProbeC
Perfect Match Filter	ProbeA ProbeB	ProbeC
No Filter	ProbeA ProbeB ProbeC	

※HD-CGHはHuman, Mouse
およびRatのみ対応

miRNA用プローブのデータベース

Sanger miRBase Rel.14.0に収載されている
105種の生物について、miRNAプローブを設計



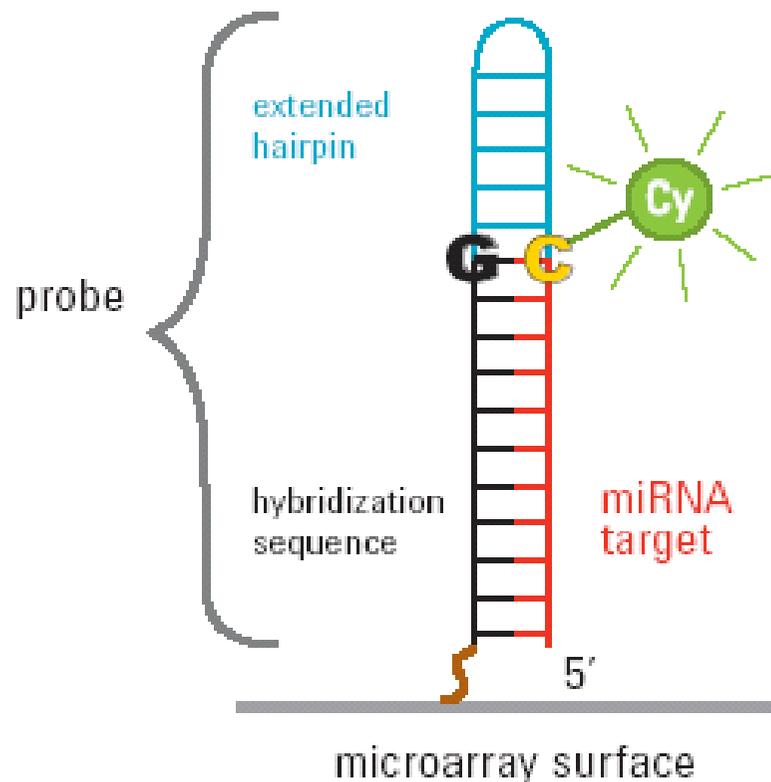
Arabidopsis thaliana	Lemur catta	Triticum aestivum
Caenorhabditis briggsae	Macaca mulatta	Tribolium castaneum
Caenorhabditis elegans	Macaca nemestrina	Dictyostelium discoideum
Drosophila melanogaster	Pan paniscus	Mouse cytomegalovirus
Homo sapiens	Pongo pygmaeus	Carica papaya
Mus musculus	Saguinus labiatus	Pygathrix bieti
Oryza sativa	Pan troglodytes	Symphalangus syndactylus
Rattus norvegicus	Fugu rubripes	Brassica oleracea
Epstein Barr virus	Tetraodon nigroviridis	Brassica rapa
Gallus gallus	Physcomitrella patens	Vitis vinifera
Drosophila pseudoobscura	Simian virus 40	Ornithorhynchus anatinus
Danio rerio	Rhesus lymphocryptovirus	Ciona savignyi
Xenopus laevis	Xenopus tropicalis	Oikopleura dioica
Zea mays	Bos taurus	Ciona intestinalis
Sorghum bicolor	Herpes Simplex Virus 1	Solanum lycopersicum
Kaposi sarcoma-associated herpesvirus	Bombyx mori	Drosophila ananassae
Ovis aries	Schmidtea mediterranea	Drosophila erecta
Apis mellifera	Mareks disease virus	Drosophila grimshawi
Anopheles gambiae	Monodelphis domestica	Drosophila mojavensis
Canis familiaris	Gossypium hirsutum	Drosophila persimilis
Mouse gammaherpesvirus 68	Gossypium rammindii	Drosophila sechellia
Human cytomegalovirus	Gossypium herbecium	Drosophila simulans
Medicago truncatula	Chlamydomonas reinhardtii	Drosophila virilis
Saccharum officinarum	Rhesus monkey rhadinovirus	Drosophila willistoni
Glycine max	Cricetulus griseus	Drosophila yakuba
Populus trichocarpa	Mareks disease virus type 2	BK polyomavirus
Sus scrofa	Brassica napus	JC polyomavirus
Ateles geoffroyi	Pinus taeda	
Gorilla gorilla	Selaginella moellendorffii	
Lagothrix lagotricha	Human immunodeficiency virus 1	

注意1) Human, Mouse, Rat以外のプローブはすべてin silicoデザインであり
実験的にバリデーションされていません

注意2) 現行のラベル化プロトコールでは対応できない生物種があります

アジレントmiRNAアレイ プローブデザイン

高い配列選択性、サイズ選択性の実現



1. **Stilt** (茶色部分) での嵩上げにより、Hybridization Sequence (黒色部分) の溶液中での自由度Up
2. ターゲットの3' 末端には、エンドラベルで Cytosineが付加される。対応するプローブの位置にGuanineを配置することでターゲットとプローブのハイブリダイゼーションを安定化
3. ヘアピンキャップ構造により、同一配列を持つ、より長い前駆体のハイブリを不安定化
4. 実験によるTm Matching、プローブ配列の最適化

Direct and sensitive miRNA profiling from low-input total RNA, Wang H *et al.* RNA. 13 (1): 151-9, 2007

このようなご要望は...

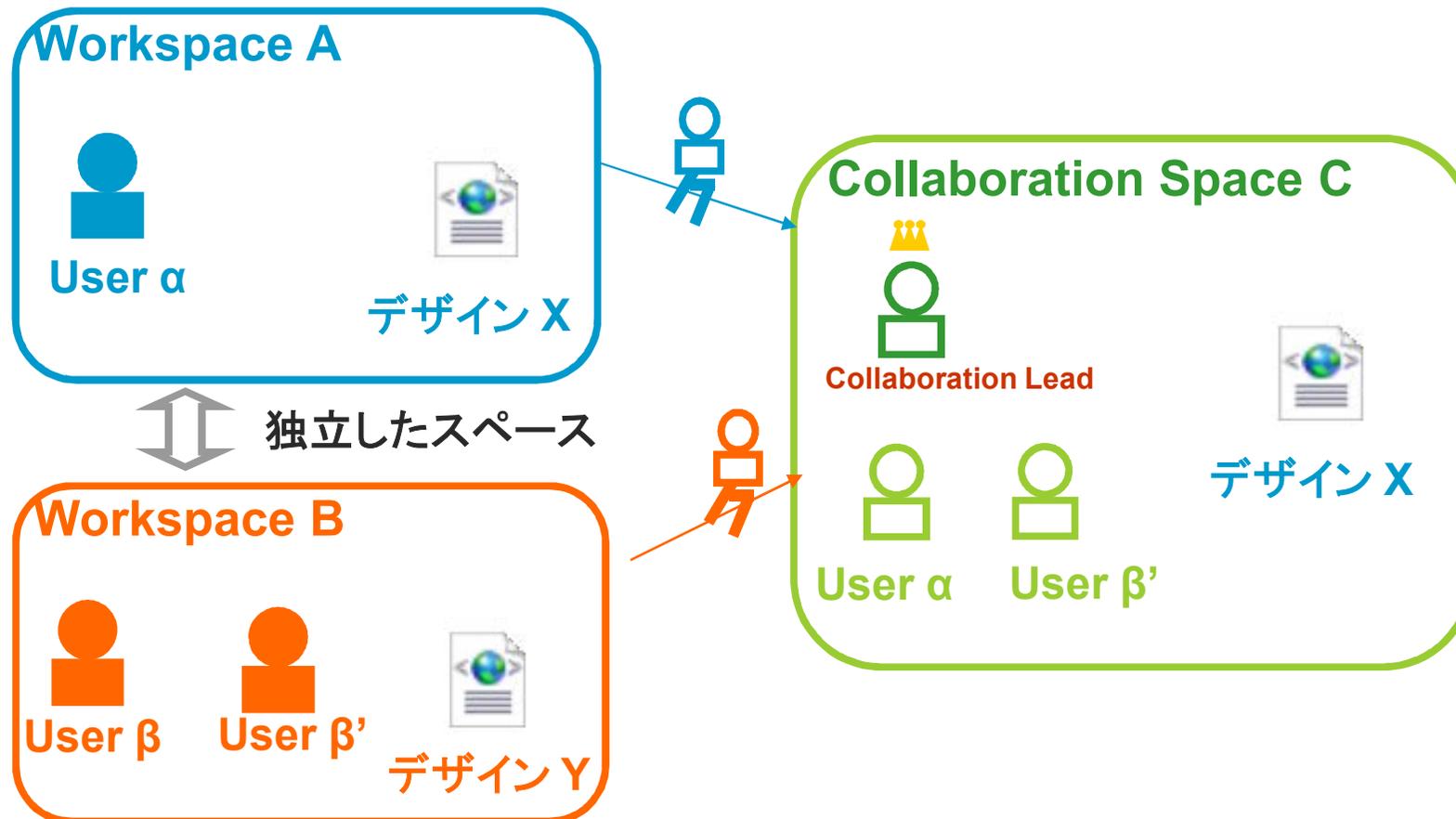
- 目的の生物種がカタログアレイにない
→配列情報からプローブ設計(GEのみ)
- 研究テーマで絞り込んだコンテンツのみ搭載したい
→自由にデザイン可能
- gDNAの限定された領域を、さらに高解像度で解析したい
→設計済みプローブの利用(CGH/CNV、ChIP on Chip)
- 自分でデザインした独自のプローブを搭載したい
→アップロード可能
- 多数のサンプルを一度に分析したい
- ランニングコストを下げたい
→マルチパックフォーマットの利用

アジレント eArrayで解決！

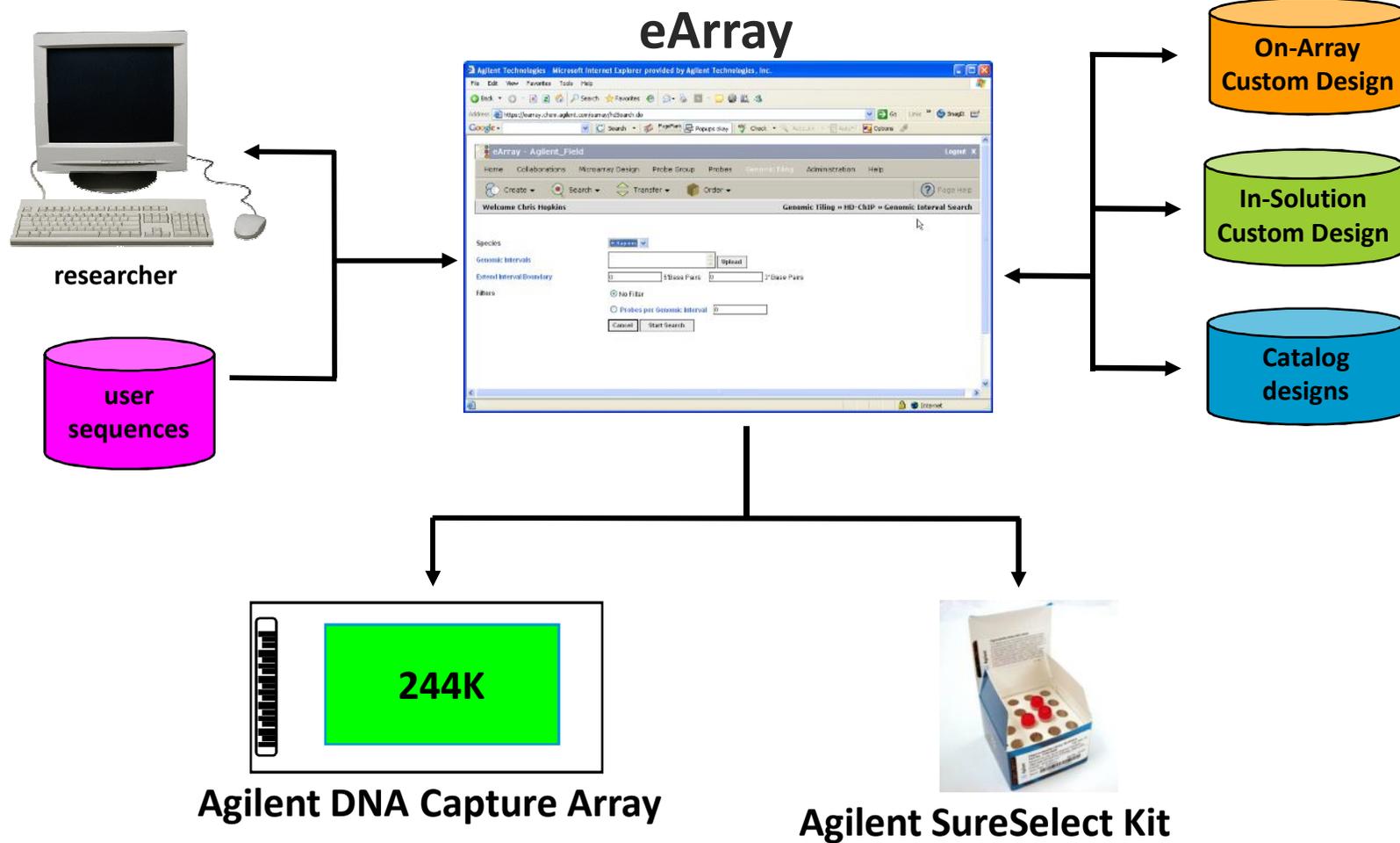
必要があれば...

Collaboration space

共同研究などの場合、特定のデザインを他の研究グループと共有することができます。



さらに進化するeArray SureSelectへの対応



SureSelect eArrayのフロー ログインからオーダーまで

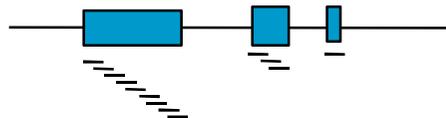
ログイン



ユーザー登録無料！

ご利用約款への同意が必要です。

ターゲットに
Baitデザイン



eArrayが2009年4月現在
サポートしているゲノム

ヒト

マウス

ラット

ショウジョウバエ

線虫

出芽酵母

アラビドプシス

その他のゲノムは独自デザイン
のBaitをUpload

ライブラリ
作製

Library

Bait Group1
Bait Group 2
Bait Group 3
.....

ターゲット領域

1キットあたり

1 Mb~3.3 Mb

ライブラリ
の注文



10反応分から
オーダー可能

用語と定義

Bait: ベイト

- ゲノムのターゲット領域に相補的な配列をもつ、120bpの長さのシングルオリゴシーケンス

釣りの例えからの用語 ゲノムDNAの池(Pond)の中のターゲット領域を釣ってくるためのエサ(Bait)

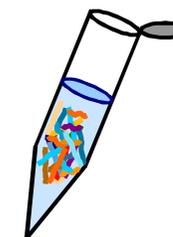


Bait Group: ベイトグループ

- ひとつ、もしくは複数のターゲット領域にデザインされたBaitのグループ

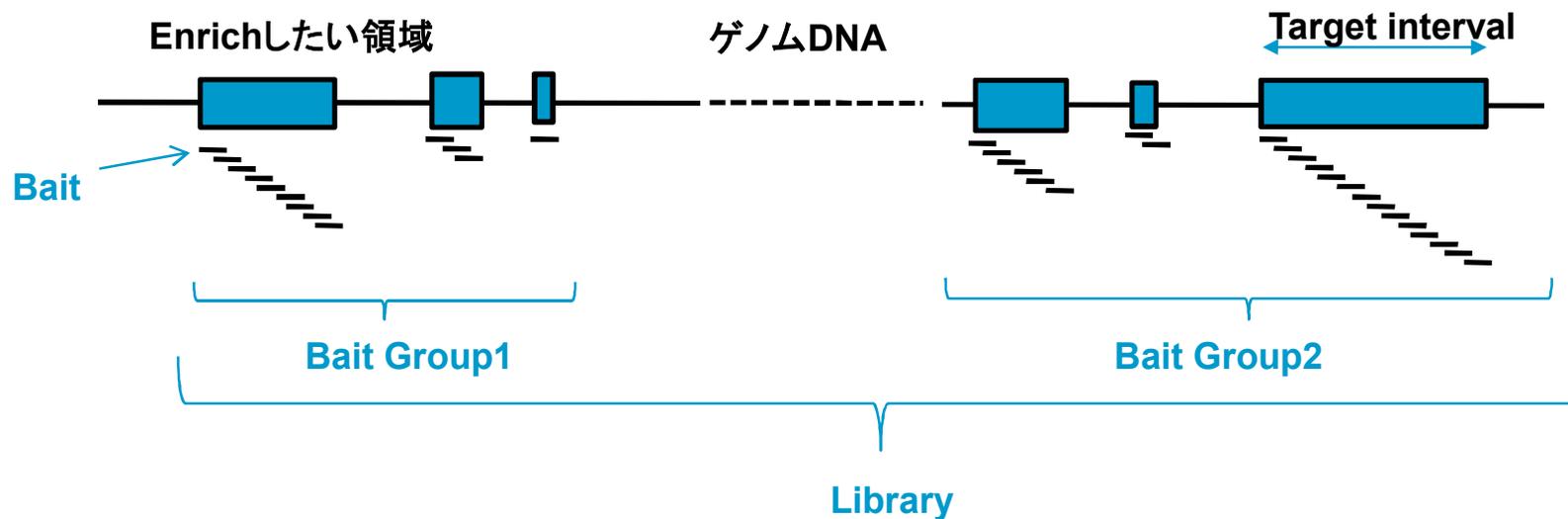
Library: ライブラリ

- ひとつ、もしくは複数のBait Groupから成る
- ひとつのキットとして製造されるオリゴのセット



eArrayのSureSelectアプリケーションで行うこと

1. シーケンスで読みたい領域(ターゲット)を決定
2. ターゲット領域に対してBaitをデザイン
3. Bait Groupを集めたライブラリを作成



gDNAのどの位置でもターゲット領域として設定可能