

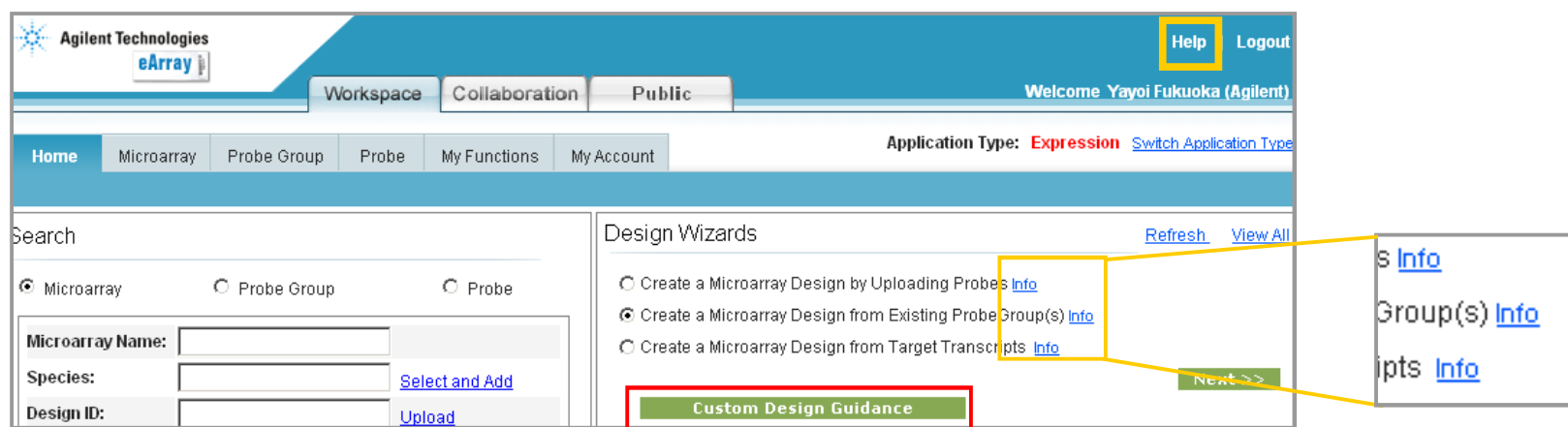
アレイフォーマットの選択 および アレイデザインの確定 — 遺伝子発現、Exon

カスタムアレイを作成するにあたって
カスタムアレイ作成の流れ

1. アレイデザインの作成
2. アレイデザインの確認・変更
3. アレイデザインの確定(Submit)

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。
- ・ 原核生物遺伝子発現マイクロアレイは、8x15Kフォーマットでのみ実験検証を行っております。

カスタムアレイ作成の流れ

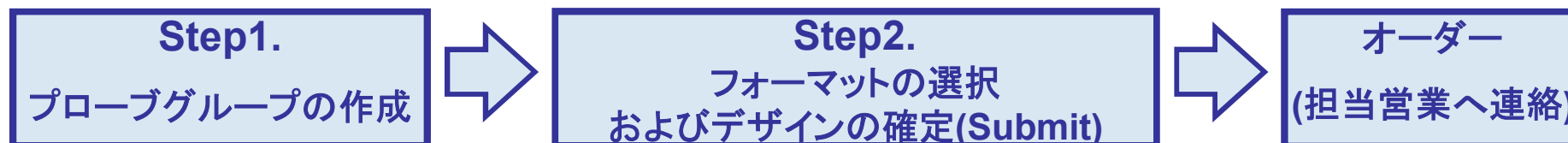
Step1.

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Step2.フォーマットの選択およびデザインの確定法について説明します。

1.アレイデザインの作成

1. Application TypeをExpressionと設定します。
2. Create Microarray Design from Existing Probe Group(s)を選択し、Nextをクリックします。

The screenshot shows the Agilent eArray web interface. At the top, there is a navigation bar with tabs for Home, Microarray, Probe Group, Probe, My Functions, My Account, and Data. The 'Expression' application type is selected and highlighted with a red box, with a link to 'Switch Application Type'. Below the navigation bar is a 'Releases & Announcements' section. The main content area is divided into two panels. The left panel is titled 'Search' and has three radio buttons: 'Microarray' (selected), 'Probe Group', and 'Probe'. Below the radio buttons is a form with three input fields: 'Microarray Name:', 'Species:', and 'Design ID:'. The 'Species:' field has a 'Select and Add' link, and the 'Design ID:' field has an 'Upload' link. At the bottom of the form are 'Search' and 'Reset' buttons. The right panel is titled 'Design Wizards' and has 'Refresh' and 'View All' links. It contains three radio buttons: 'Create a Microarray Design by Uploading Probes Info', 'Create a Microarray Design from Existing Probe Group(s) Info' (selected and highlighted with a red box), and 'Create a Microarray Design from Target Transcripts Info'. Below the radio buttons is a green 'Next >>' button and a green 'Custom Design Guidance' button. At the bottom of the right panel is a search results box containing the text 'Search Results: No matching results found'.

1.アレイデザインの作成

3. 遺伝子発現アレイの場合は、Select Array TypeをStandardにし、生物種をSelect Speciesから選択します。

Create a Microarray Design from Existing Probe Group(s)

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

Species is not required for Expression microarray designs.

Select Array Type : [Info](#) Standard Exon

Select Species :

Next >> Close

Exonアレイの場合は、Select Array TypeをExonにし、Select SpeciesからHuman, MouseおよびRatのいずれかを選択します。

Create a Microarray Design from Existing Probe Group(s)

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

Species is not required for Expression microarray designs.

Select Array Type : [Info](#) Standard Exon

Select Species :

You have selected to design an Exon Array. These arrays are not compatible with standard oligo-dT labeling kits. Agilent recommends the use of the Low-Input QuickAmp WT Labeling Kit (p/n 5190-2943, 5190-2944, 5190-2945 and 5190-3386). For sample processing, refer to the Agilent One Color Microarray-Based Exon Analysis Protocol or the Agilent Two Color Microarray-Based Exon Analysis Protocol versions 1.0 or later.

Next >> Close

Nextをクリックします。

1.アレイデザインの作成

4. “Microarray Name”を入力し(半角英数字)、Design formatを選択します。遺伝子発現アレイは1x1M, 2x400K, 4x180K, 8x60K, 1x244K, 2x105K, 4x44Kおよび8x15Kフォーマットから選択できます。Exonアレイは1x1M, 2x400K, 4x180Kおよび8x60Kから選択できます。

Create a Microarray Design from Existing Probe Group(s)

1. Select Species	Design Details	
2. Define Design	Microarray Name: <input type="text"/>	
3. Layout Probes	Design Format: <input type="text" value="Select Format"/> Show Details	Control Grid: <input type="text"/>
4. Create Microarray Design	Folder: <input type="text" value="Agilent"/>	Description: <input type="text"/>
	Species: <input type="text" value="H. sapiens"/>	Keywords: <input type="text"/>
	Attachment: <input type="text" value="+/-"/>	Comments: <input type="text"/>

Linker Details:	
<input type="checkbox"/> Append linker to 3' end info	
Linker Length:	<input checked="" type="radio"/> Make probes of length <input type="text" value="60"/>
	<input type="radio"/> Add linker of length <input type="text" value="0"/>

※原核生物遺伝子発現マイクロアレイは、8x15Kフォーマットでのみ実験検証を行っております。

※ 1x1M, 2x400K, 4x180Kおよび8x60Kフォーマットの場合、3umの解像度でスキャンできる高解像度のCスキャナが必要となります。

※全てのフォーマットにスパイクイン対応プローブが搭載されています。

1.アレイデザインの作成

5. 必要に応じて保存するFolderの選択やDescription, KeywordsおよびCommentsを入力します。

Create a Microarray Design from Existing Probe Group(s)

1. Select Species	Design Details	
2. Define Design	Microarray Name:	<input type="text"/>
3. Layout Probes	Design Format:	Select Format <input type="button" value="Show"/> Details
4. Create Microarray Design	Folder:	Agilent <input type="button" value="Control Grid"/>
	Species:	H. sapiens <input type="button" value="Description"/>
	Attachment:	+/- <input type="button" value="Keywords"/>
		<input type="button" value="Comments"/>

Linker Details:	
<input type="checkbox"/> Append linker to 3' end info	
Linker Length:	<input checked="" type="radio"/> Make probes of length <input type="text" value="60"/>
	<input type="radio"/> Add linker of length <input type="text" value="0"/>
Linker Sequence:	<input checked="" type="radio"/> Use Agilent linker sequence <input type="text" value="TATCCTACTATAC"/>
	<input type="radio"/> Use customer linker sequence <input type="text"/>

※Linkerについて

アジレントは60merでQCを行っており、総長60merを推奨しています。

60merに満たないプローブが含まれる場合、Linkerを足すことが可能です。

アジレントが設計したプローブに対しては必要ありません。

Linkerを含めて最長60merが指定可能です。不足場合は、Append linker to 3' endにチェックを入れてください。

Nextをクリックします。



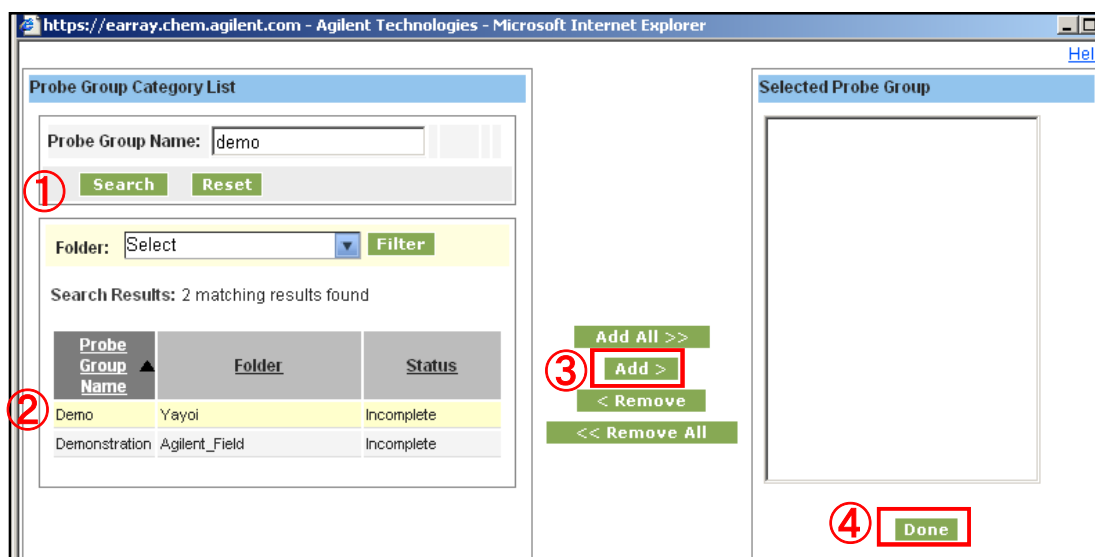
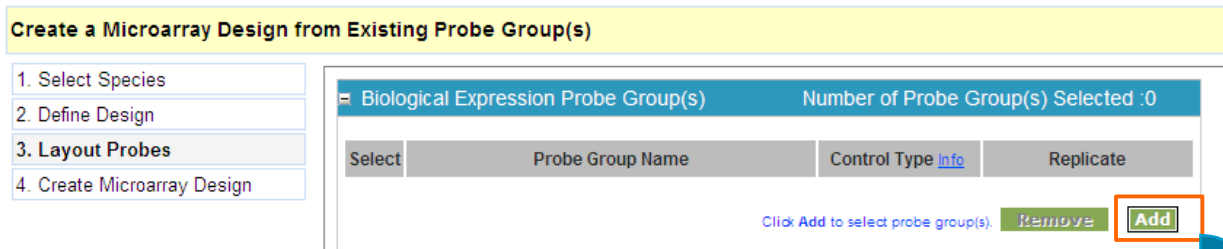
Agilent Technologies



アレイデザインの作成

1.アレイデザインの作成

6. Addをクリックし、アレイデザインに搭載するプローブグループを指定します。

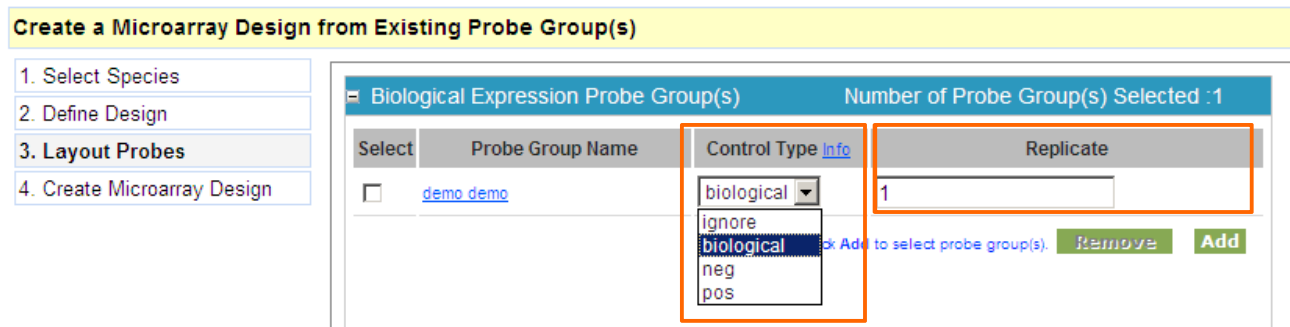


- ①プローブグループ名を入力し検索します
- ②表示された結果から、該当するものを選択します。選択すると、背景が黄色に変化します
- ③”Add>”をクリックします
- ④選択したプローブグループが右の欄に表示されたのを確認し、”Done”をクリックします

複数のプローブグループを指定する場合は、上記作業を繰り返します。

1.アレイデザインの作成

7. それぞれのプローブグループに対しControl TypeおよびReplicateを指定します。



Control Typeはbiologicalを選択してください。その他の選択肢では、実験後の数値化で遺伝子プローブと認識されません。

Replicateで繰り返し搭載数です。プローブごとに繰り返し数を変えたい場合は、プローブグループを予め別にしておく必要があります。

【注意！】実験後の数値化を適切に行うために、**少なくとも15種のプローブを5-10回繰り返し搭載**してください。またWhole Genomeではないアレイデザインの場合は、**発現変動が起きないであろうプローブを少なくとも1%は搭載**してください。詳しくはHomeタブの”**Custom Design Guidance**”をご覧ください。

1.アレイデザインの作成

8. Total Percentage Filledでプローブの搭載割合を確認します。50%は上回るようにしてください。設定が終わったらNextをクリックします。

Microarray Statistics:			
Number of Microarrays per Slide:	4	Percentage Filled by Selected Probe Groups:	2.75542%
Number of Slides:	1	Number of Available Features:	175896
Total Number of Features:	180880	Number of User Controls:	0
Number of Agilent Controls:	4974	Number of Features Occupied by Replicate Probes:	0
Total Percentage Filled:	2.75542 %		

→ 搭載可能な残りスポット数

Fill Microarrays: 搭載割合が100%に満たない場合に選択すると、Probe Group to Fill Microarrayで指定したプローブグループからランダムにプローブを選択し、空きスポットを埋めます。ただし搭載割合は100%にしなくても(空きスポットがあっても)問題ありません。

Enable Microarray Set: 搭載割合が100%を超えた場合に選択すると、2枚以上のスライドガラスにまたがってプローブが搭載されます(複数のアレイデザインができ、1サンプルにつき複数スライド実験する必要があります)。

1.アレイデザインの作成

9. Microarray Designのステータスを決めます。

Create a Microarray Design from Existing Probe Group(s)	
1. Select Species	Create microarray design with this status:
2. Define Design	
3. Layout Probes	
4. Create Microarray Design	
	<input checked="" type="radio"/> Draft Allows only you to edit the design. Later, you can change the status to any of the others. More
	<input type="radio"/> Review Lets you and the other users in your workgroup make changes to the design and save new versions of it. More
	<input type="radio"/> Complete Prevents further edits to the design. You must submit the design to Agilent Manufacturing before you can request a quote. More
	<input type="radio"/> Submitted Submits the design to Agilent Manufacturing, and lets you request a quote for the design. The design cannot be edited. <input type="checkbox"/> Design Checklist More

Draft:保存した後に作成したアレイデザインを作成者が編集することができます。

Review:作成者および同じworkgroupのユーザーがアレイデザインを編集することができます。ただし、新しいアレイデザインとして保存されます。

Complete:保存後にアレイデザインを編集することができません。Completeで保存すると、Design IDが発行され、デザインファイルやGeneList、スポット位置情報を含むTDTファイル等が作成されます。Completeでは発注することができませんが、**ステータスをSubmitにする前に、これらのファイルでデザインの最終確認を行ってください。**

Submit:アレイデザインを発注するには、ステータスをSubmitにする必要があります。

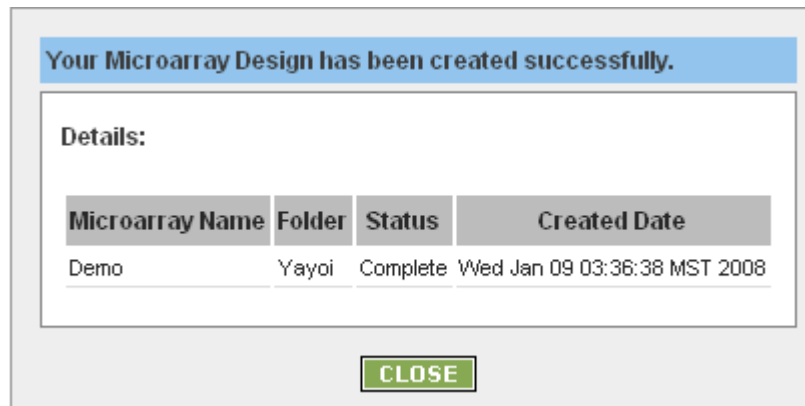
後からStatusを変えることができますが、CompleteやSubmitにした場合ReviewやDraftに変更することはできません。

1.アレイデザインの作成

10. "Submit"以外を選択し、Saveをクリックすると下記画面が表示されます。

"Close"をクリックします。

前画面で"Submit"を選択した場合は、" 3.アレイデザインの確定(Submit)"をご参照ください。



Your Microarray Design has been created successfully.

Details:

Microarray Name	Folder	Status	Created Date
Demo	Yayoi	Complete	Wed Jan 09 03:36:38 MST 2008

CLOSE

2.アレイデザインの確認・変更

作成したアレイデザインは、フォーマット選択時に指定したフォルダ内に自動で保存されます。オーダーする前に、デザイン内容を確認してください。

”Microarray”タブから、”Search”あるいは”Browse ArrayDesign”で該当アレイを表示させます。Actions欄のリンクからデザインの確認を行います。

<input type="checkbox"/>	Microarray Name ▲	Microarray Set Name	Folder Name	Status	Design ID	GPL Identifie	Created Date	Actions
<input type="checkbox"/>	de			Draft			21-Dec-2010	Copy Edit View Delete
<input type="checkbox"/>	delete			Complete	OXXXXX		13-Dec-2010	Copy View Download

Copy:アレイデザインをコピー(スポット位置は変わります)

Edit:アレイデザインの変更(StatusがDraftあるいはReviewのみ、後述)

View:該当アレイデザインの内容を表示。

Download: 該当アレイデザインのファイルをダウンロード(Review、Complete
あるいはSubmitにした場合のみ、後述)

Delete:アレイデザインの削除(DraftあるいはReviewのみ)

2.アレイデザインの確認・変更

Actions欄の”Edit”をクリックすると下記画面が表示されます。
変更を加えた後、画面下方の”Save”をクリックします。

Microarray Name: de Species: H. sapiens Design Format: 4 X 44K Show Details

Status: Draft Description: Comments: Keywords:

Folder: Attachment:

Control Grid: IS-45220-4-V1 4x44K GX EQC ERCC V20100113

Feature Layout: Randomized Customer Specified

Number of Available Features: 43333
Total Percentage Filled: 4.17293
Number of Features Occupied by Replicate Probes: 500

Select	Probe Group Name	Control Type	Replicate
<input type="checkbox"/>	demo demo	biological	1

Click Add to select probe group(s). Remove Add

Replicate Probe Group Details : Number of Replicate Probe Group(s) Selected :1

Fill Microarrays : Probe Group to Fill Microarray :

Enable Microarray Set :

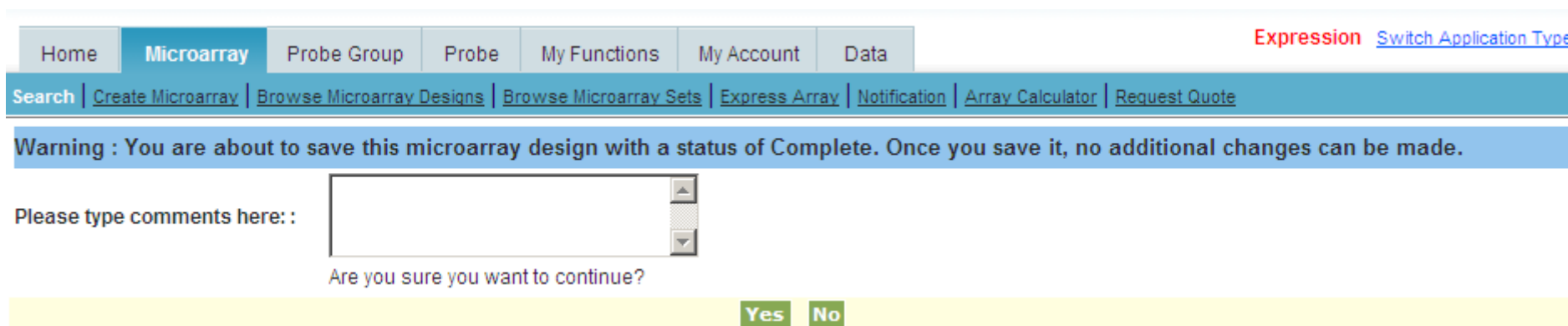
Save Reset Cancel

Statusの変更が可能です(CompleteやSubmitにした場合、ReviewやDraftに変更することはできません)。

「アレイデザインの作成」と同じ要領で変更します。

2.アレイデザインの確認・変更

ステータスをCompleteに変えた場合は、Saveをクリックすると下記画面が表示されます。空欄にコメントを入れ(半角英数字)、Yesをクリックします。



The screenshot shows the Agilent eArray web interface. At the top, there is a navigation menu with tabs for Home, Microarray, Probe Group, Probe, My Functions, My Account, and Data. To the right of the menu, there are links for Expression and Switch Application Type. Below the menu is a search bar and a list of links: Search, Create Microarray, Browse Microarray Designs, Browse Microarray Sets, Express Array, Notification, Array Calculator, and Request Quote. A blue warning banner reads: "Warning : You are about to save this microarray design with a status of Complete. Once you save it, no additional changes can be made." Below the warning, there is a text input field with the label "Please type comments here: :". To the right of the input field is a vertical scrollbar. Below the input field, the text "Are you sure you want to continue?" is displayed. At the bottom of the dialog, there are two buttons: "Yes" and "No".

Completeにした後、すぐにSubmitに変える必要はありません(ログアウトしても問題ありません)。アレイデザインを確認し、発注するデザインのみSubmitに変えてください。

2.アレイデザインの確認・変更

Actions欄の”Download”をクリックすると下記画面が表示されます。
ステータスがReviewの場合は、TDTファイルのみダウンロードできます。
“File write in progress”というメッセージが表示されたら、ファイルを作成中なのでしばらく時間をおいて確認をしてください。

<input type="checkbox"/>	Category	File Type
<input type="checkbox"/>	BED	BED
<input type="checkbox"/>	EXTERNALFULLGEML	GEML_1.0
<input type="checkbox"/>	EXTERNALFULLGEML2	
<input type="checkbox"/>	FASTA	
<input type="checkbox"/>	GAL	
<input type="checkbox"/>	GENELIST	List
<input type="checkbox"/>	IMAGENE	Image
<input type="checkbox"/>	SEQUENCELIST	List
<input type="checkbox"/>	TDT	TDT File

Download If you have difficulty downloading the desired file, Select and hold the <Ctrl> key until you get File DownLoad Window. This will bypass pop-up blocking software.

目的ファイルにチェックを入れ、
Ctrlキーを押しながらダウンロードしてください。

BED: UCSCのGenome Browserでカスタムトラックとしてインポートできるファイル

EXTERNALFULLGEML: Feature Extractionにインポートできるデザインファイル

GENELIST: アレイに搭載されている遺伝子のリスト

SEQUENCELIST: プローブ配列のリスト

TDT: アレイ上のスポット位置情報を含んだ、タブ区切りのテキストファイル

適当なファイルをダウンロードし、デザイン内容をご希望通りかご確認ください。

3.アレイデザインの確定(Submit)

1. "Microarray"タブから、"Browse ArrayDesign"あるいは"Search"から該当アレイを表示させます。
ステータスがDraftあるいはReviewの場合はActions欄の"Edit"をクリックし、現れた画面でステータスをSubmitにします。Completeの場合はActions欄の"Submit"をクリックします。

Design Format: Status: [Filter](#)

Search Results: 1 matching results found

[Share](#) [Move](#)

<input type="checkbox"/>	Microarray Name ▲	Microarrayset name	Folder Name	Status	Design Number	Created Date	Actions
<input type="checkbox"/>	Demo		Yayoi	Complete	0XXXXX	09-Jan-2008	Copy View Delete Submit Download Change Control Type

[Share](#) [Move](#)

3.アレイデザインの確定(Submit)

2. 表示された確認画面でコメント(半角英数字)を入力し、”Design check listをクリックします。

Warning : You are about to submit this Microarray Design. Once saved no changes can be made

Please enter comments in the textarea :

Are you sure you want to continue ?

[Design check list](#)

Yes No

3.アレイデザインの確定(Submit)

3. チェックリストの全ての項目を確認しチェックを入れ、“Done”をクリックします。

The screenshot shows a checklist titled "Did you:" with the following items:

- select the appropriate format (e.g. 244K 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?

Below the checklist is a warning dialog box with a blue header: "Warning : You are about to submit this Microarray Design. Once saved no changes can be made". It contains a text area with "ANY TXT", the question "Are you sure you want to continue?", a checked radio button for "Design check list", and "Yes" and "No" buttons.

At the bottom of the checklist area are "Done" and "Cancel" buttons.



“Close”をクリックします。



3.アレイデザインの確定(Submit)


”Microarray”タブから、”Browse ArrayDesign”あるいは”Search”で該当アレイを表示させます。

“Status”欄が”Submitted”になっていること、“Design Number”欄に0から始まる6桁の数字が表示されていることを確認してください。

Search Results: 1 matching results found

<input type="checkbox"/>	Microarray Name	Microarrayset name	Folder Name	Status	Design Number
<input type="checkbox"/>	Demo		Yayoi	Submitted	0XXXXX

また無事Submitされると、メールにてその旨をご連絡します。

 **Agilent Technologies**

You have submitted a design to manufacturing. However, an order needs to be placed for the synthesis to start. To place an order please use the request quote function on the eArray website. After doing so, you will receive a formal quote with further instructions to call in your PO number.

The details of the design are listed below:
Array Set Name = Demo
Design Number = 018940
Slide Format = 8 X 15K
Application = CGH
Customer Design ID = NeAT_design
Slide Layout = IS-15744-8-V1
Submission Date = 09-Jan-2008 04:06

The details of the Customer are listed below:

StatusをSubmittedにしないと、発注ができません。
Submitされたことを知らせるメールが到着した後、弊社営業所あるいは弊社製品取扱店にDesign Numberおよびスライド枚数をお伝えください。
Submitにただけでは発注になりません。
発注する前に、デザイン内容がご希望通りか確認してください。

* 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。