カスタムアレイ作成の流れ



カスタムアレイ作成の流れ



Step1_検索するプローブリストの準備 - 括検索する場合

- ・一つのProbe Groupにまとめたいプローブの、検索条件リストを作成し、一括検索すると 便利です。一括検索は、染色体領域、ProbelDあるいはCGHの場合はGene Annotations で条件を設定できます。
- ・リストはタブ区切りのテキスト形式で準備してください。

エクセルを使って準備する場合は、Windows OSにインストールされているExcel 2003を使用し、テキスト形式で保存してください。Mac OSあるいはExcel2007を使った場合、不具合を生じます。 エクセルを用いテキストファイルとして保存した場合は、必ずファイル内容に決められた文字以外は 含まれていないことを確認してください。

・タイトル行をいれず、一行目から検索するプローブの情報にしてください。

例:ProbelDで検索する場合

A_17_P00011122 A_17_P00711157 A_17_P00631562 A_17_P02886476 A_17_P05639559 A_17_P04666491 A_17_P05174006 A_17_P05455235 A_17_P04024210 A_17_P04689510 A_17_P04889510 A_17_P01897639

・プローブリストは英語名にし、日本語を含まないフォルダに保存してください。 例:Cドライブ>eArray

・資料中"Step1_HD-CGH/HD-ChIPのプローブ検索 条件の入力法"もあわせてご覧ください。



Step1_HD-CGH/HD-ChIPのプローブ検索

1. eArrayのログイン後画面の右上で、検索したいマイクロアレイのアプリケーション(Expression、 CGH、ChIP)を確認します。

Home	Microarray	Probe Group	Probes	My Account				Application Type	Expression	Switch Applic	cation Typ
Search						Design Wizards				<u>Refresh</u>	<u>View Al</u>
Microarr	ray	C Probe Grou	p	C Simple	e Probe	Create a Microarray Design Create a Microarray Design	by Uploa from Exis	ding Probes <u>Info</u> sting ProbeGroup()	s) Info		
Microarra	y Name:					O Create a Microarray Design	from Tar	get Transcripts Inf	<u>0</u>		
Species:			5	Select and Add						Ne	кt >> –
Design Nu	imber:		<u> </u>	<u>Jpload</u>							
						Search Regulte: 0 matching r	roculte foi	und			

2. 異なるアプリケーションの場合は、Switch Application Typeをクリックし、該当するアプリケーション に変更します。



・CGH、ChIPのいずれかを選び、Changeをクリック

・Set As Default View Typeにチェックを入れ、Saveをクリックすると ログイン時のアプリケーションとして選択されます。



Step1_HD-CGH/HD-ChIPのプローブ検索

 アプリケーションを設定後、"Probes"のタブをクリックします。
 タブ内の"Search"、"HD Probe Search"を選択します(選択された項目は、白抜きの文字になります)。

Home	Microarray	Probe Group	Probes	My Account	Site Maintenance		Application Type: ChIP	Switch Application Type
Se	earch Upload	Genomic Tiling						
O Simple I	Probe Searcl	n 🗢 Chromo	somal Locat	ion Search	💿 HD Probe Sear	ch		
Search Na	me				Select HD S	earch By	Genomic Intervals	•
Species	Select	•			Extended Inter	val Boundary I <u>nfo</u>	5' Base Pairs 0	
Build Numl	per						3' Base Pairs 0	
Filters <u>Info</u>	Averag	e Spacing 🔽	0		Genomic Interv	als <u>Info</u>		► ▼ Upload
TM Filtered	Probes 🔽	HM Filtered Pr	obes 🔽					
					Search R	eset		

2. 検索条件を設定・入力します。



Step1_HD-CGH/HD-ChIPのプローブ検索 検索条件の設定

Search Name:検索の名前を入力します。

Species:プルダウンから選択します。
 生物種を選択すると、プローブ設計元の
 データベースのビルド番号が表示されます。
 必ずご確認ください。

Filters:必要に応じてプルダウンから選択し、
 現れた欄に数字を入力します。
 Average Spacing:平均解像度を指定
 Probe per Interval:指定された検索領域内の
 プローブ間隔を指定
 Total Probes:全プローブ数を指定

Include Regions(CGHのみ):
 All:指定された全ての領域で検索
 Exonic:エキソン領域を検索
 Intragenic:遺伝子内領域を検索

<u>ChIPの場合</u>

Search Name	ChIP_search
Species	H. sapiens
Build Number	H. sapiens, UCSC hg18, NCBI Build 36, March
Filters Info	None
TM Filtered Pro	bes 🔽 HM Filtered Probes 🔽

CGHの場合

Search Name	
Species	Select
Build Number	
Filters <u>Info</u>	None
Include Regions	All
TM Filtered Probes	HM Filtered Probes

•TM Filtered Probes: Agilentプロトコル用の予測Tm値を持つプローブを返します。

・HM Filtered Probes: 1つの遺伝子に結合するプローブを返します。



Step1_HD-CGH/HD-ChIPのプローブ検索 検索条件の設定

Select HD Search By:

Genomic Intervals:指定されたゲノムの領域から検索 "Genomic Intervals"に領域を入力します。 Probe ID:プローブIDで検索。選択後表示される "Probe Id"にIDを入力します。 Gene Annotations (CGHのみ): GenBankのAccessionIDやgene symbolで検索。 選択後表示される"Gene

Annotations"に入力します。

Expanded Interval Boundary:

Genomic Intervalで検索する場合、各領域の 3'あるいは5'方向に指定領域を伸ばして検索 できます。

Prefer Catalog Probes:チェックを入れると、 カタログアレイの搭載プローブが優先されます。

ChIPの場合

Select HD Search By	Genomic Intervals 💌
Extended Interval Boundary Info	5' Base Pairs 0
	3' Base Pairs 0
Genomic Intervals <u>Info</u>	In a state of the

CGHの場合

Select HD Search By	Gene Annotations 💌
Extended Interval Boundary Info	5' Base Pairs 0
	3' Base Pairs 0
Gene Annotations Info	Upload
Prefer Catalog Probes Info	



Step1_HD-CGH/HD-ChIPのプローブ検索 条件の入力法

"Genomic Intervals"、"Probe Id "および"Gene Annotations"欄には、1つあるいは複数の条件を入力できます。

・条件が1つの場合、図のように記入します。

Genomic Intervalsの場合、"chr1"とすると1番染色体全体が検索対象領域 となります。_____

Genomic Intervals Info	chr1:1-500001	
		✓ Upload

・条件が複数の場合、各条件間に"|"を入力します。

Genomic Intervals Info	chr1:1-		Heleed
	000001/cm1.24494200	•	upioau

Probe IdやGene Annotationsでも入力法は同じです。



Step1_HD-CGH/HD-ChIPのプローブ検索 条件の入力法

 ・欄に入力せずリストを元にバッチ検索をする場合、あらかじめテキストファイルで リストを作成します。

欄の右にある"Upload"をクリックします。現れたウィンドウで"Browse"(あるいは "参照")をクリックし、リスト化したテキストファイルを指定します。"Upload File"を クリックします。

テキストファイルのリスト例:

chr1:1-500001
chr1:244942000-24612794
chr2:1-500001
chr2:242318000-243615958
chr3:1-500001
chr3:198789000-199344050

Please Enter the Following Details

File Name C\Documents and Settin ____ Browse...

Upload File

テキストファイルは、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。

```
検索欄に自動的に反映されます。
```

Genomic Intervals Info Chr1:1- 500001|chr1:24494200 Upload

Probe IdやGene Annotationsでも入力法は同じです。





Step1_HD-CGH/HD-ChIPのプローブ検索 検索の開始

3. 全ての項目を設定し"Search"をクリックします。

🔘 Simple Probe	e Search 🛛 😳 Chromosomal Location Searc	h 💿 HD Probe Search	
Search Name	Demo	Select HD Search By	Genomic Intervals 💌
Species	R. norvegicus 💌	Extended Interval Boundary Info	5' Base Pairs 0
Build Number	R. norvegicus, UCSC m4, HGSC Version 3.4, f		3' Base Pairs 🛛
Filters I <u>nfo</u>	Total Probes 🗾 100000	Genomic Intervals Info	chr1:1- 500001 chr1:24494200 V Upload
Include Regions	All	Prefer Catalog Probes I <u>nfo</u>	
TM Filtered Prob	es 🗹 HM Filtered Probes 🗹		
		Search Reset	

4. "OK"をクリックします。



Step1_HD-CGH/HD-ChIPのプローブ検索 検索の状態

eArrayに再ログインした場合、アプリケーションを設定後、"Probes"タブ→ "Search"→"HD Probe Search"を選択することでStatusを表示できます。

Refresh					
Search Name	Search Type	Status	Job Position	Submitted Date	Actions
Demo_RatCGH	GenelntervalSearch	Not Started	Job 1 of 1 Jobs	12-Feb-2008	Delete Search Criteria
"Refresh"を 新しい状況	クリックすると に変わります。	▼ Stat Searching ▼ Statu Complete	tus <u>Job Pos</u> g is <u>Job Position</u>	ition Submitted Date 12-Feb-2008	Actions

Status :Not Started 検索開始待ち Status :Searching 検索中 Status :Complete 検索終了 Job Position :Job X of Y Queueの中 での順番(検索は開始されておらず、検索 待ちの状態)

検索が終了すると、その旨を伝えるメールが届きます。

検索数やご使用環境により、検索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からログアウト可能です)。



Step1_HD-CGH/HD-ChIPの検索閲覧

検索が終了すると、StatusがCompleteになり、Actions欄に"View"、"Delete"および"Search Criteria"が現れます。

Refresh

Search Name	Search Type	Status	Job Position	Submitted Date	Actions
Demo	GenelntervalSearch	Complete		12-Feb-2008	<u>View Delete Search Criteria</u>

Delete:検索結果を削除します。

Search Criteria:設定した検索条件を閲覧できます。

View:現れた別ウィンドウで検索結果のサマリやプローブリスト等を閲覧できます。 "Download"をクリックすると、UCSCのゲノムブラウザに取り込めるBedファ イルがダウンロードできます。 また、こちらから結果をプローブグループ化できます。<u>結果を確認後、</u> <u>プローブグループ化する場合は、"Create Probe Group"をクリックします。</u>

プローブグループ化しなかった場合、 結果は検索終了後48時間後に自動削除されます。



Step1_HD-CGH/HD-ChIPの検索閲覧

5. 検索結果を確認します。

"View"をクリックすると"Summary Result"、"Detail Result"、"Probes List"および "Chromosome View"が別ウィンドウで閲覧できます。

Summary Result Detail Re	sult Probes List Chromosome View	Summary	Result	
		Search Criteria		
Search Name	Demo	Search Type	GeneIntervalSearch	
Species	R. norvegicus	Genomic Intervals	chr1:1-500001 Click to view all	八刀し/こ、快糸朱竹
Extended Interval Boundary <u>Info</u>	05' Base Pairs 03' Base Pairs	Prefer Catalog Probes Info	Yes	
Include	All Gene Confidence <u>Info</u> Low	Filters	Total Probes 100000	
TM Filtered Probes	Yes	HM Filtered Probes	Yes	
		Search Summary		К
Length	223682220	RM Length	109102379	
Total Number of Probes	99328	Average probes per 1000bp	0	
Probes per Interval	16554			検系結果の做安
Exonic Probes	2131	Percent Exonic Probes	2.0	
Intragenic Probes	26997	Percent Intragenic Probes	27.0	
TM Filtered Probes	0	HM Filtered Probes	0	J

HD Summary Result categories

- Length Total interval length considered for search result
- **RMLength** Number of probes before removing redundancy.
- Total Number of Probes Total number of resultant probes before filtering.
- Average probes per 1000 bp The average number of probes retrieved per 1000 base pairs
- Probes per Interval Number of probes per interval provided in search criteria.
- Exonic Probes Number of Exonic type probes in final result.
- Percent Exonic Probes Fraction of retrieved probes that are Exonic type.
- Intragenic Probes Number of Intragenic type probes in final result.
- Percent Intragenic Fraction of retrieved probes that are Intragenic type.
- TM filtered probes Number of TM filtered probes in the final result
- HM filtered probes Number of HM filtered probes in the final result



Step1_HD-CGH/HD-ChIPの検索閲覧

ummary Result Det											
Search Results: 6	matching results	found		044	Tetel Number		Francia	•	Decksoner	THEFILLES	
Interval Value	▲ Chromosome	Start	Length	Length	of Probes	Intragenic Probes	Probes	Average probes per 1000bp	Probes per Interval	Probes	Probes
chr1:1-500001	chr1	1	500001	354217	0	0	0	0	0	0	0
chr1:244942000- 24612794	chr1	24612794	220329207	107546375	98559	26781	2111	0	98559	0	0
chr2:1-500001	chr2	1	500001	317211	0	0	0	0	0	0	0
chr2:242318000- 243615958	chr2	242318000	1297959	606550	763	216	20	0	763	0	0
chr3:1-500001	chr3	1	500001	278026	6	0	0	0	6	0	0
chr3:198789000- 199344050	chr3	198789000	555051	0	0	0	0	0	0	0	0

設定条件(領域、ProbelD等) に対する検索結果詳細

HD Detailed Result categories

- Interval Value Chromosomal location range or cytoband, or annotation entered as search criteria.
- Chromosome Chromosone values of given interval.
- Start Interval start position.
- Length Total interval length considered for search result
- RMLength Number of probes before removing redundancy.
- Total Number of Probes Total number of resultant probes before filtering.
- Intragenic Probes Number of Intragenic type probes in final result.
- Exonic Probes Number of Exonic type probes in final result.
- Average probes per 1000 bp The average number of probes retrieved per 1000 base pairs
- Probes per Interval Number of probes per interval provided in search criteria.
- TM filtered probes Number of TM filtered probes in the final result
- HM filtered probes Number of HM filtered probes in the final result



nmary Result De	etail Resul		Chror	nosome View			P	rob	e Lis	st				
earch Results: !	99328 ma	tching re	sults found						Pages [<u>(1)Fir</u>	<u>st]</u> 1	2345	[Next >>] [Last (9933.)]	
Internal ID	Validated	Probe Type	Species	Gene Name	Gene Symbol	Accessions	<u>Chromosomal</u> Location	Cytoband	ProbelD	Exonic	: Intragenic	IS TM Filtered	IS HM Filtered	
A_86_P00250304	0	CGH	R. norvegicus	entg NEL-like 1 (chicken)	entg Nell1	ref NM_031069	chr1:100000061- 100000121	rn q22	A_86_P00250304	0	3	0	0	
A_86_P00250309	0	CGH	R. norvegicus	entg NEL-like 1 (chicken)	entg Nell1	ref[NM_031069	chr1:100001091- 100001147	rn q22	A_86_P00250309	0	3	0	0	
A_86_P00250318	0	CGH	R. norvegicus	entg NEL-like 1 (chicken)	entg Nell1	ref NM_031069	chr1:100002957- 100003017	rn q22	A_86_P00250318	0	3	0	0	
A_86_P00250321	0	CGH	R. norvegicus	entg NEL-like 1 (chicken)	entg Nell1	ref NM_031069	chr1:100003813- 100003866	rn q22	A_86_P00250321	0	3	0	0	検索されたフローフお。
A_86_P00250325	0	CGH	R. norvegicus	entg NEL-like 1 (chicken)	entg Nell1	ref NM_031069	chr1:100005266- 100005324	rn q22	A_86_P00250325	0	3	0	0	けなせてはおのキニ
A_86_P00250329	0	CGH	R. norvegicus	entg NEL-like 1 (chicken)	entg Nell1	ref NM_031069	chr1:100006861- 100006921	rn q22	A_86_P00250329	0	3	0	0	19 随9る1頁報の衣示
A_86_P00250332	0	CGH	R. norvegicus	entg NEL-like 1 (chicken)	entg Nell1	ref NM_031069	chr1:100008110- 100008170	rn q22	A_86_P00250332	0	3	0	0	
A_86_P00250337	0	CGH	R. norvegicus	entg NEL-like 1 (chicken)	entg Nell1	ref NM_031069	chr1:100009638- 100009698	rn q22	A_86_P00250337	0	3	0	0	
A_86_P00250342	0	CGH	R. norvegicus	entg NEL-like 1 (chicken)	entg Nell1	ref NM_031069	chr1:100010726- 100010786	rn q22	A_86_P00250342	0	3	0	0	
A_86_P00250346	0	CGH	R. norvegicus	entg NEL-like 1 (chicken)	entg Nell1	ref NM_031069	chr1:100011860- 100011914	rn q22	A_86_P00250346	0	3	0	0	
									Pages [<u>(1)</u> Fir	<u>st]</u> 1	2345	[Next >>] [Last (9933)]	

eArray内で閲覧するには、右上あるいは右下でPageを変えてください。 10,000プローブまで表示できます。

検索結果が10,000を超える場合、"Download"をクリックするとBedファイルが ダウンロードできます。

BedファイルにはProbeIDおよびChromosomalLocationが含まれています。 BedファイルはUCSCのゲノムブラウザに取り込めます。



6. Probe Group化します。

"Status"がCompleteになっていることを確認し、"View"をクリックします。

Refresh						
Search Name	Search Type	Status	Job Position	Submitted Date		Actions
Demo	GeneIntervalSearch	Complete		12-Feb-2008	<u>View</u>	<u>Delete Search Criteria</u>

現れた別ウィンドウで、"Create Probe Group"をクリックします。

	s	Search Criteria	
Search Name	Demo	Search Type	GeneIntervalSearch
Species	R. norvegicus	Genomic Intervals	chr1:1-500001 <u>Click to view all</u>
Extended Interval Boundary I <u>nfo</u>	05' Base Pairs 03' Base Pairs	Prefer Catalog Probes Info	Yes
Include	All Gene Confidence Info Low	Filters	Total Probes 100000
TM Filtered Probes	Yes	HM Filtered Probes	Yes
	Se	earch Summary	
Length	223682220	RM Length	109102379
Total Number of Probes	99328	Average probes per 1000bp	0
Probes per Interval	16554		
Exonic Probes	2131	Percent Exonic Probes	2.0
Intragenic Probes	26997	Percent Intragenic Probes	27.0
TM Filtered Probes	0	HM Filtered Probes	0



- Probe Group Nameを記入します。必要に応じて、"Descriptions"や"Keyward"、 "Folder"を記入・選択します。"Status"でIncompleteは変更可能、Lockedは変更 不可の状態です。
 - 全て入力し、"Create Probe Group"をクリックします。

		Create a Probe Group	
Probe Group Name:		Created Date:	02/12/2008
Туре:	ССН	Status:	
Description:		No. of Probes:	99328
Created By:	YAYOI FUKUOKA	Keywords:	
Eolder:	LSCA_JapanSupportSpac 🔻		
		Create Probe Group Cancel	

OKをクリックします。プローブグループが作られると、その旨伝えるメールが 届きます。_____

Probe Group Name: AllDemo_Rat

Your Create Probe Group Request has been submitted.

After your request has been processed, you will receive a notification about the status through email

You will be able to search for the Probe Group only after you receive the email indicating successful creation of the Probe group.







作成したプローブグループは、"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



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。



"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				Applica	ation Type: CGH	Switch Application T
	Search Brows	e ProbeGroup									
Browse Wor —Category	rkGroup By Cat	egory	View P	robe Group							
Browse Cata	alog By Catego	ny	Stat	<mark>is:</mark> Select		Filter					
E-Category Applic	ations 25		Co	ch Results: 2 m mpare	atching results found Create Microarray	/ Shai	re Move				
				Probe Group	Name A <u>No.of</u> Probes	<u>High</u> Density	Folder	<u>Status</u>	Created Date	Actio	ons
Browse By F	older			AllDemo_Rat	99328	true	LSCA_JapanSupportSpace	Incomplete	12-Feb- 2008	<u>Copy</u> <u>Edit</u> <u>View</u> <u>Download</u>	Delete
		ce名		test	14680	true	LSCA_JapanSupportSpace	Incomplete	12-Feb- 2008	<u>Copy</u> <u>Edit</u> <u>View</u> <u>Download</u>	Delete
	5		Co	mpare	Create Microarray	/ Shai	re Move				

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。

