SureDesign SureFISHアプリケーション ~CreateDesigns機能~



はじめに

ウェブツール SureDesignを用いて、カスタムのSureFISHプローブを作成可能です。

SureDesign https://earray.chem.agilent.com/suredesign/

SureDesign





SureDesign をお使いいただく際は、ご登録が必要です。 ご登録の方法につきましては下記ウェブサイト http://www.chem-agilent.com/contents.php?id=1002474 「SureDesignの登録法」の内容をご覧ください。



デザインの作成

転座検出のためのbreak apartプローブ・Dual Fusionプローブ、および1箇所の標的領域のプローブをデザイン可能です。



- 1. ログイン後の画面、上にあるCreate Designsをクリックします。
- 2. SureFISH を選択します。

なお、"Show Advanced Option"のボタンはSureFISHでは機能いたしません。

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. 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。
- Spacies: 生物種は現在ヒトにのみ対応しています。
- 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。
- Category

Break Apart: 転座の検出のためのbreak apartプローブをデザインするときに選択。 Dual Fusion: 転座の検出のためのdual fusionプローブをデザインするときに選択。 Single Probe: 1箇所の標的領域のプローブをデザインするときに選択。

• Design Type

Shared: SureDesignユーザでカスタムプローブをデザインする他ユーザの方にデザインを紹介することがあります。(他のお客様に、お客様の個人情報をお知らせするということではありません)(sharedの選択をお薦めします)

Private: Privateでデザインされたプローブでも、他のお客様が同じデザインをデザインされた場合は販売することをご了承ください。Privateをご要望の際は弊社営業までお問い合わせください。

SureDesign	Help - Define Design
CustomFISH Define Design	
 Define Design Define Targets Enter Parameters Review Targets Recommend Design Care Posign Complete Design Complete Species: NA Category: NA	Hame:
Download	Cancel

Ł

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)

SureDesign		Help - Define Target
CustomFISH Define Targets		
Define Design 🗸	* Targets:	
Define Targets		
Enter Parameters Review Targets	領域の入力方法例:	
Recommend Design Select Oligos	■Gene ID, Gene Symbol (例 SMAD4)	
Finalize Design Complete	■Accession番号(例 NM 005359)	
Species: H. sapiens Category: Single Probe	■ UCSC browser coordinate	
Targets		
Input Region Size: NA Oligos	(例 chr18:48573407-48573675)	
# Oligos: NA		
	Clear	
Download		
	Cancel	Back Next

入力内容

- 1) Break Apartの場合
 - Breakするターゲット領域を1つ指定
 - Breakpointを1つ指定
 - 2つのプローブの染色体位置を指定

デフォルトで2つのプローブの位置が提示されます。(デフォルトのプローブ長400kb)





・Breakpoint を1つ指定した場合: 50 kb



• 標的領域を2つ指定(遺伝子名、染色体位置)

デフォルトで2つのプローブの位置が提示されます。(デフォルトのプローブ長 ≧500 kb)



2) Single Probe の場合

左

- ・ 標的領域を1つ指定(遺伝子名、染色体位置)
- デフォルトで2つのプローブの位置が提示されます。(デフォルトのプローブ長 ≥100 kb)

右



標的領域2

3. Enter Parameter

設計位置の微調整を行います。

1) Break apartの場合

1 領域を入力した場合

- Reference Point: 中心位置
- 5' Gap: 中心位置(Reference Point)から 5'側のSureFISH プローブ3'末端との距離
- 3' Gap:中心位置(Reference Point)から 3'側のSureFISH プローブ5'末端との距離
- 5' Design Input Region*: 5'側のSureFISH プローブ標的領域長
- 3' Design Input Region*: 3' 側のSureFISH プローブ標的領域長

SureDesign		Help - Enter	Parameter
CustomFISH En	ter Parameters		
Define Design Define Targets Enter Parameters Review Targets	* *	Selection Parameters	^
Recommend Design Select Oligos Finalize Design Complete		5' Gap: 100.0 kbp 3' Gap: 100.0 kbp 5' Design Input Region: 400.0 kbp 3' Design Input Region: 400.0 kbp	
Category: Targets Input Region Size: Oligos	ыreaк apart NA	Gene/Ragion	
# Oligos:	NA	5'	
		The 5' and 3' designations above are relative to the positive DNA strand. If your gene of interest is on the possitive strend, the declanations should be reversed 6' a. 5' are because the 2' are and idea surger. Cancel Back	∨ Next

デフォルトではターゲット領域を含まないように、プローブ位置が提示されています。 (Design Input Region 400 kb) ※デフォルトの3'Gap・5'Gap: それぞれ ≦100 kb



3'Gap および 5'Gap の長さと<mark>(0.001 – 200 kb</mark>) 5'Design Input Region および 3' Design Input Region <mark>(400 kb - 2 Mb)</mark> を設定できます。

3. Enter Parameter (続き)

2) Dual Fusionの場合

```
それぞれの領域について、標的領域(Target Coordinate)と標的サイズ(Target Size)
が表示されます。5' 側(Left Padding)と3' 側(Right Padding)によりデザインする領域を
調整します。
```

最終的なInput領域のサイズ (Input Region Size*) が表示されます。

SureDesign					Help - Enter Parame	ter
CustomFISH Enter Parameter	5					
Define Design	~	Selection Parameters				
Define Targets	×	Target:	ALK	RET		
Enter Parameters Review Targets		Target Coordinates:	chr2:29415640-30144477	chr10:4	3572475-43625799	
Recommend Design		Target Size:	728.838 kbp	53.325	kbp	
Select Oligos		Left Padding:	0.0 kbp	223.337	kbp	
Finalize		Right Padding:	0.0 kbp	223.338	kbp	
Design Complete		Input Region Size:	728.838 kbp	500.000	kbp	
Targets						
Input Region Size: NA						
# Oligos: NA						
	Download					
					Cancel Back Next	
ddina <	(デフォ _←	ルト:標的	。 領域をカバー) >	>	Right Padd	ling
dding < 左	(デフォ _←	· ルト:標的 標的	領域をカバー)	> 右	Right Padd	ling
dding < 左 く	(デフォ <	ルト : 標的 標的 Input Reg	領域をカバー) 領域 gion Size 一	> 右 >	Right Padd	ling
dding 左 そ ※標的領域が ≦ Input Regior	(デフォ く 500 kt Sizeた	ボルト:標的 標的 Input Reg の場合は が 500 kbに Coordina	領域をカバー) 領域 gion Size ― なるように予め te, Target Si		Right Padd	l ing ngされ
dding 左 そ ※標的領域が ≦ Input Regior	(デフォ 500 kt Sizet Farget (デフォ	ボルト:標的 標的 Input Reg のの場合は が 500 kbに Coordina tルト:標的	領域をカバー) 領域 gion Size ― なるように予め te, Target Si 词領域をカバー		Right Padd	ling
dding 左 ※標的領域が ≦ Input Regior	(デフォ 500 kt n Sizet 「arget (デフォ	ボルト:標的 標的 Input Reg のの場合は が500 kbに Coordina ドルト:標的	領域をカバー) 領域 gion Size ― なるように予め te, Target Si	ち 右 う り 自動的に Ze り Righ	Right Padd 一 こ左右にPaddir t Padding	ling
dding ← 左 左 そ ※標的領域が ≦ Input Region	(デフォ < 500 kh Sizet 「arget (デフォ	ボルト:標的 標的 Input Reg の場合は が500 kbに Coordina サルト:標的	領域をカバー) 領域 gion Size — なるように予め te, Target Si 1領域をカバー 領域	た た う た た た た	Right Padd 一 二 こ左右にPaddir t Padding	ling
dding ← 左 左 ※標的領域が ≦ Input Region	(デフォ < 500 kh Sizet 「arget (デフォ	ボルト:標的 標的 Input Reg の場合は が500 kbに Coordina サルト:標的	領域をカバー) 領域 gion Size — なるように予め te, Target Si 1領域をカバー 領域	右 う つう か自動的に ze Righ	Right Padd 一 二 左右にPaddir t Padding	ling
dding ← 左 左 ※標的領域が ≦ Input Region	(デフォ <	ボレト:標的 標的 Input Reg の場合は が500 kbに Coordina サルト:標的 標的 Input Reg	領域をカバー) 領域 gion Size ― なるように予め te, Target Si 河領域をカバー う 領域 gion Size →	右	Right Padd	ling

Left Padding および Right Padding を設定できます。 ただし Input Region Sizeで設定可能な範囲は 500 kb - 2 Mb です。

3. Enter Parameter (続き)

2) Single Probeの場合

標的領域(Target, Target Coordinate)と標的サイズ(Target Size)

が表示されます。5' 側(Left Padding)と3' 側(Right Padding)によりデザインする領域を 調整します。

最終的なInput領域のサイズ (Input Region Size*) が表示されます。

			arameter
CustomFISH Enter Parameter	ers		
Define Design Define Targets Enter Parameters Review Targets Recommend Design Select Oligos Finalize Design Complete # Oligos: NA	Selection Parameters Target : Target Coordinates: Target Size: Left Padding: Right Padding: Input Region Size: Download	chr10:43572475-43625799 chr10:43572475-43625799 53.325 kbp 23.337 kbp 23.338 kbp 100.000 kbp	
		Cased Pack	Next
	(テノオルト:標的領域 <	或をカバー) 	
t Padding < 左 く	(テノオルト:標的領域 その行う。 標的領域 一一 Input Region	城をカバー) 	
E Padding 左 、 然標的領域が Input Regio	(テノオルト:標的領域 標的領域 Input Region	<pre> def def def def def def def def def def</pre>	ていま
t Padding 左 ※標的領域が Input Regio	(テノオルト:標的領域 標的領域 Input Region ≦100 kb の場合は on Sizeが 100 kbになる Target Coordinate, (デフォルト:標的領域	<pre> def def def def def def def def def def</pre>	ていま
t Padding 左 米標的領域が Input Regio	(テノオルト:標的領域 標的領域 Input Region ≦100 kb の場合は on Sizeが 100 kbになる Target Coordinate, (デフォルト:標的領域	<pre> def def def def def def def def def def</pre>	ていま

Left Padding および Right Padding を設定できます。 ただし Input Region Sizeで設定可能な範囲は 100 kb - 2 Mb です。

4. Review Target Input Region Sizeなどを考慮され、最終的に決定した標的領域が表示されます。

SureDesign					Help - Review Target
CustomFISH Review Targets					
Define Design	4	Target Details			
Define Targets		Target ID	Base Pairs	Position	
Enter Parameters		chr2:29415640-30144477	728838	chr2:29415640-30144477	
Poviour Tarretz	•	chr10:43349138-43849137	500000	chr10:43349138-43849137	
Recommend Design Select Oligos Finalize Design Complete Origos # Oligos: NA	ownload				
				Cancel	Back Next

5. Recommended Design

Design Nameを変更できます。Designに進むプローブのチェックボックスを選択します。 (Dual FusionやBreak apartの場合はプローブが2つできるのでNextをクリックし、2つ目

```
も選択します(下図①②))
```

最後にBegin Oligo Selectionをクリックします。

1

reDesign						Help - Reco	ommend [
ustomFISH Recomme	nd Design						
Define Design		Your Probe Design	1 of 2:				
Define Targets	1	Pesign	Name			Design Inp	ut Regior
Enter Parameters		ISH_te	est2_1			chr2:29415	i640-
Review Targets						30144477	
Recommend Design							
Select Oligos							
Finalize		Paced on your innu	t Agilant racor	monds the following designs a	which might fit your poods. Sime	alv coloct your	aun das
Design Complete		to continue designi	ing new probes	or choose a recommended des	ign from the list below:	pry select your	own des
# Oligos: NA		Recommendation	for target regio	on chr2:29415640-30144477	View Desig	ın Overlap in U	JCSC Brov
		Design ID	Catalog ID	Design Region	Design Size	Overlap	Action
		0590491	G100985	chr2:29447618-30045453	597.836 kbp	82.03 %	Downlo
2 reDesign						Help - Reco	mmend [
stomFISH Recomme	end Design						
Define Design	4	Your Probe Design	2 of 2:				
Define Targets	~	Vesign	Name			Design Input	Region
Enter Parameters	~	FISH_te	est2_2			43849137	138-
Review Targets	~	·					
Recommend Design							
Select Oligos							
Finalize		Based on your inpu	t, Agilent recor	nmends the following designs v	vhich might fit your needs. Simp	ly select your	own desi
Design Complete		to continue designi	ing new probes	or choose a recommended desi	ign from the list below:		
# Oligos: NA		Recommendation	for target regio	on chr10:43349138-43849137			
		Design ID	Catalog ID	Design Region There are no recommenda	Design Size	Overlap	Action
	Download						
					Cancel Back	Begin Oligo	Selectio

もしデザイン領域と重なる既存のデザイン(ほかのSureDesignユーザによるデザイン)が存在している場合、Recommendationとして表示されます。(上図① _____) もしその既存デザインを選択する場合はそのチェックボックスを選択します。 下記のメッセージが表示されますのでYesをクリックします。

War	ning	0
	You have selected a recommended design which you will be able to directly order at the the next step. Do you wish to continue?	÷
	Yes)

デザインの見積もり作成



2) 画面左Download(下図②)より、必ずデザイン内容を確認してください*。(各種レポートの内容につきましては p. 15 を参照)

確認後、「Finalize Design」をクリックしデザインをFinalizeします(下図③)。 (Finalize後は変更できません。変更する場合は「Modify Design」をクリックします。

SureDesign						Help -	Finalize Desi
CustomFISH Fir	alize						
Define Design Define Targets Enter Parameters Review Targets Recommend Design		You are now ready to final • These designs can • A design ID will be • Each design inform have submitted a p	lize these designs. After finali no longer be modified. assigned to each design. lation will be sent to Agilent's yurchase order.	izing: manufacturing facility. Man	ufacturing will r	not begin u	intil you
Select Oligos	×	Design Details:					
Finalize		Design Name	Design Input Region	Design Region	Design Region	# Oligos	Coverage
Design Complete		SureFISH ALK 5' BA 598kb	chr2:29447618-30045453	chr2:29447618-30045453	597.836 kbp	77604	77.05 %
CustomEISH Design		FISH_test2_2	chr10:43349138-43849137	chr10:43354893-43849282	494.390 kbp	47153	57.88 %
Name: Species: Category:	test2 H. sapiens Dual Fusion						
Targets							
Input Region Size:	597.835 kbp 500.000 kbp						
# Oligos:	77604 47153						
# Oligos.	77004 [47155						
	Download	2			(3	
					Modify Design	Fina	ize Design

*注意: Coverageが50%を下回るもの、Total Oligo が 1,000を下回るものは 推奨いたしません。下回った場合は弊社サポートまでご連絡ください。

3) Exit Design Wizardをクリックします

ureDesign					Help - Design Con
ustomFISH Design Compl	ete				
our CustomFISH designs are now co	mplete.				
Design Name	Design ID	Catalog ID	Design Region	Design Region Size	Coverage
ureFISH ALK 5' BA 598kb	0590491	G100985	chr2:29447618-30045453	597.836 kbp	77.05 %
ISH_test2_2	0695661	NA	chr10:43354893-43849282	494.390 kbp	57.88 %
				ſ	

- 2. 見積もり作成(デザインFinalize後のプローブ、もしくはRecommendのプローブ選択時)
- Home画面の真ん中の項目(下図①)に表示されます。
 をクリックします。

SureDesign	Home Find Designs	Create Designs			
Start Designing Suresetet DNA	CGH ChP	CustomFISH	Show Advanced Options	Yuko Kaneda (Agile	nt Technologies) Messages (1) Yuko Sawada 07 Sep 22:57 PM. Imvitation to Join Collaboration You have been invited by Yuko Sawada to join collaboration new fish test.
Designs: In Progress You have no design(s) in progress		CostonFISH	Recent and Favorite: ALK 5' BA 598(b) ALK 5' BA 598(b) Completed 08-5ep-2014 Completed 08-5ep-2014	토 분 문 분	Accept Reject
					Launch Pad

- (素) 標識の色(赤・緑・青)、Kit Size(5µLもしくは20µL)、チューブの数(Vial Size)、 オーダーキット数(Quantity)を入力します。
- 3) Request a Quoteをクリックします。

) SureDesign				<u> </u>		Help - Order
CustomFISH Order Order Description	Design ID	Dye Color	Kit Size	Vial Size Quantity	Part Number	Workgroup Name Agilent Technologies Company Name Internal Company Number
FISH_test2_2 SureFISH ALK 5' BA 598kb	0695661		5 V 5 V		G110996R-8 G100985G	Internal You are currently logged into SureDesign. SureDesign shares a shopping cart with the aglient Genomics website. To purchase online, you also need to be
						registered with that site. To check-out, click the cart icon, and you will be transferred to the Agilent Genomics page. You must be logged in to see your discounted prices.
					Add to C	art Request a Quote Cancel

上記操作完了されましたら、弊社担当営業にお知らせください。

各種レポートに含まれる情報

- 最初に設定した プローブ設計領域とその長さ: Design Input Region, Input Region Size (ファイル名: xxxxx_Targets.txt および xxxxx_Regions.bed)
 オリゴでカバーしている領域と
- その長さ: Design Region, Design Size (ファイル名:xxxxx_Covered.bed)
- ■オリゴのトータル数: Total Oligos
 ■最大Gap長: Maximum gap
 ■オリゴがカバーしている割合: Covarege
 ■平均GC: Average GC



■ 上記情報を含むPDFレポート

(ファイル名:xxxx_Report.pdf)

SureDesign	CustomFISH Design R	eport		
General Information User: Workgroup: A Folder	File Type: CustomFISH Design Report Created By: CustomFISH Standard Design Wizard Timestamp: 0			
Design ation Design Name: FISH_test2_2 Design ID: Species: H. sapiens, hg19, GRCh37, February 2009) Category: Single Probe				
Design Details Design Input Region: chr10:43349138-43849137 Input Region Size: 500.000 kbp Design Region: chr10:43354983-43849282 Design Size: 494.339 kbp Total Oligos: 47153 Maximum gap: 10.066 kbp Coverage: 57.80% Average GC: 55.42%				
Target Summary Region Size : 500.000 kbp				
Design Details				
Target ID	DesignRegion	Size	Coverage	Total Oligos
RET	chr10:43354893-43849282	494390	57.88%	47153

Total Oligos が 1000 より小さい Design Coverageが 50% より小さい → お問い合わせください。

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。