# eArray7.9 ベイト設計ガイド SureSelect ターゲットエンリッチメントシステム RNAキャプチャカスタムキット



2012.10. version 3.7





eArray eArray	SureDesign	SureDesign
<b>用途</b> -SureSelect RNAキャプチャキット作成 - カスタムマイクロアレイ作成	用途 -SureSelec - HaloPlex	ct <mark>DNA</mark> キャプチャキット作成 k カスタムデザイン作成

# SureSelect DNAキャプチャカスタムキットをデザインする 場合はSureDesignの和文資料をご参照下さい。

http://www.chem-agilent.com/contents.php?id=1002474



# DNAキャプチャキットとRNAキャプチャキット

#### DNAキャプチャ用キット (SureDesign対応) キャプチャ対象はゲノムDNAです。最大 24 Mbまでのターゲット領域がキャプチャできます。 キャプチャしたいゲノムDNA上のエクソンまたは任意の領域にベイトがデザインされます。





キャプチャしたい領域設定



RNAキャプチャ用キット (eArray対応)

キャプチャ対象は転写産物です。最大 5.9 Mbまでのターゲットがキャプチャできます。 キャプチャしたい転写産物の配列に対してベイトがデザインされます。





# インデックス(Index)キット

複数のサンプルを1レーンもしくは1区画に混合してシーケンスする手法です。マルチプレックスシーケンスまたはバーコードシーケンスとも呼ばれます。個々のサンプルを識別するために、各サンプルのDNAフラグメントには、固有のインデックス(バーコード)配列を付加させます。





### SureSelect製品体系

- 1. ターゲットとする領域をカバーするキャプチャライブラリ(ベイト)キットを選択 ※ベイトはNGSプラットフォームを問わず、共通です。
- 2. 使用するベイトの種類、NGSプラットフォームに適合した試薬キットを選択

3. 反応数を選択 16反応、96反応、480反応



# SureSelect ポストプール式 キャプチャライブラリ(ベイト)キット

#### カタログ製品



DNAキャプチャライブラリキット SureSelect カタログ製品

> Human All Exon V4キット Human All Exon V4+UTRsキット Human All Exon 50Mbキット Human Methyl-Segキット Human Kinomeキット Human Chr Xキット 新Human Chr Xキット(EA) Mouse All Exonキット Bovine All Exon キット(EA) Canine All Exon キット(EA) Zebrafish All Exon キット(EA)



RNAキャプチャライブラリキット カタログ製品 Human Kinome RNAキット

#### カスタム製品

DNAキャプチャライブラリキット カスタム製品

DNA Custom 1 kb – 499 kb DNA Custom 0.5 Mb – 2.9 Mb DNA Custom 3 Mb – 5.9 Mb DNA Custom 2ELIDs (サイズ約12Mbまで) DNA Custom 3ELIDs (サイズ約24Mbまで)



RNAキャプチャライブラリキット カスタム製品

RNA Custom 1 kb – 499 kb RNA Custom 0.5 Mb – 2.9 Mb RNA Custom 3 Mb – 5.9 Mb

このRNAキャプチャカスタムキットの デザインにのみ、 eArrayを使用します



- SureSelect試薬キット
- ベイトの種類
  - DNAキャプチャ
  - RNAキャプチャ
  - Methyl-SEQキャプチャ
- NGSプラットフォーム
  - イルミナ HiSeq (HSQ)
  - イルミナ MiSeq (MSQ)
  - SOLiD4 (SOLiD5500 近日登場)
  - Roche 454 GS FLX and GS Junior

DNAキャプチャ用としてご提供しているXTキットは RNAキャプチャでは対応する製品がありません。 ライブラリ調製試薬については別途ご用意下さい。





#### SureSelect eArrayのフロー ログインからオーダーまで





# 用語と定義

- Bait: ベイト
  - Transcriptのターゲット領域をキャプチャするための 120base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 Transcript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

 $\sim$ 



- 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









- ELID (Enrichment Library ID)
  - SureSelectライブラリのID番号です。この番号により、個々のライブラリが認識されます。eArrayから情報を得るときや、オーダーの際に必要となる番号で重要な情報です。カスタムライブラリを作製してオーダーする際は、必ずこの番号を記録しておくようにします。
- 1ELIDに入れられる最大ベイト数
  - 57,680です。SureSelectのベイトはまずアレイとして製造され、アレイから切り離されてビオチン化RNAに転写されます。アレイ1枚に搭載できるスポット数が、1ELIDのベイト数の上限となります。
- 1キットに入れられる最大ELID数
  - DNAキャプチャの場合、ベイト数が57,680を超えると、ELIDの数が増えてい きます。DNAキャプチャの場合、ひとつのキットには、3ELID(最大約24Mb)ま で入れることができます。ですが、RNAキャプチャは1ELIDのみです。



# はじめに Agilent eArrayへのアクセス

- アクセス: https://earray.chem.agilent.com/earray/
- はじめてのアクセスの場合 Request for Registrationが必要
- 参考;登録に関する資料 http://www.chem-agilent.com/pdf/2\_Workspace\_Toroku\_101216.pdf





#### Agilent eArray アプリケーションの選択

• Application Type を選択

🔆 Ag	ilent Technolo eArra	gies Ay II							Help   Release Notes   Log Out
			Wor	kspace	Colla	boration	Public	;	Welcome
Home	Libraries	Bait Groups	Baits	My Fund	tions	My Account	Data		Application Type SureSelect RNA Enrichment Expression ChIP
Search <ul> <li>Librari</li> <li>Librari</li> </ul>	ies y Name:	) Bait G	roups			⊚ Baits		Librai	CGH SureSelect Capture Array microRNA Create Library from Bait Uploa Create Library from Existing Create Library by Bait Tiling
Specie ELID:	25:	Searc	h R	eset	ad A	pplic Γ <mark>Sur</mark> α	atic eSe	on ele¢	Typeのプルダウンから ect RNA Enrichment」 を選択



# eArrayのSureSelect RNAキャプチャアプリケーションで 行うこと

Target Typeを選択します。Transcript targetsもしくはGenomic Intervals

#### <u>Transcript Targetsの場合</u>

UploadしたGeneBankのIDリストまたはFASTAのシーケンスをもとに、指定したtiling frequencyで ベイトがデザインされます。UniGeneに登録されている転写産物をキャプチャしたい場合に用います。



#### <u>Genomic Intervalsの場合</u>

UniGeneに登録されていない配列をキャプチャするために、gDNAの位置情報を指定する場合に 用います。





gDNA上でキャプチャしたい領域設定





#### Bait Groupの作成 Baitのデザイン

• Baits のページを選択し、Bait Tiling をクリック



• Bait Tilingをクリックすると、Baitをデザインする画面に入る



#### Bait Groupの作成 Baitのデザイン





#### Bait Groupの作成 Bait Tiling Frequency





#### Bait Groupの作成 Baitのデザイン





# Bait Groupの作成 View Design Details (I)

Bait Group のデザインのサマリを見るには Baits ページのView Design をクリックします。

1 job found.							
Job ID	Job Name	Status	Design Type	Creation Date ▼	Position in Queue		Actions
Pl	test	Completed	RNA Bait tiling	15-May-2012	NA	Delete   View Create Bait G	Design   Download   Group
Refresh							



L

# RNAEnrichment\_tdt ファイルの確認

#### BaitScoreの意味

- 1. Not masked and unique in genome.
- 2. Not masked but may hit other regions/transcripts of the genome.
- 3. Masked but unique
- 4. Masked and not unique

						K
1	BaitID	Sequence	ChromosomalLocation	TargetID	StartPosition	BaitScore
2	PI426370158_CUST_R_1	CTTGACGACAAGC	TGACAAAATCCCCTCCAT	gi 439339 gb T12590.1 T12590	1	2
3	PI426370158_CUST_R_141	TCCCAGTGTCCTT	TGAATcgacttccttttttcttttt	gi 78190459 ref NM_000978.3	40	2
4	PI426370158_CUST_R_153	CGAGGACGTGGTC	GGTCCTCTGGTGCGAAA	gi 78190459 ref NM_000978.3	100	2
5	PI426370158_CUST_R_165	GOTGTAATCAATT	GTGCTGACAACACAGGAG	gi 78190459 ref NM_000978.3	160	2
6	PI426370158_CUST_R_177	GGGATCAAGGGAC	GGCTGAACAGACTTCCC	gi 78190459 ref NM_000978.3	220	2
7	PI426370158_CUST_R_189	ACAGTCAAGAAAG	GCAAACCAGAGCTCAGAA	gi 78190459 ref NM_000978.3	280	2
8	PI426370158_CUST_R_201	CAACGAAAGTCAT.	ACCGTAGAAAAGATGGcg	gi 78190459 ref NM_000978.3	340	2
9	PI426370158_CUST_R_213	GTCATAGTGAACA	ATAAAGGCGAGATGAAAG	gi 78190459 ref NM_000978.3	400	2
10	PI426370158_CUST_R_231	tttttttttttttttttttttttttttttttt	tggtgggggtgagTGGGGGTT	gi 1629490 gb AA085955.1 AA085	11	2
11	PI426370158_CUST_R_243	GCCTGTGTTCCCA	GTTAAAGAAGAGGCAGC	gi 1629490 gb AA085955.1 AA085	71	2
12	PI426370158_CUST_R_255	CCAAGATGGACCA	GAGAGGCCAAACAACCT	gi 1629490 gb AA085955.1 AA085	131	2
13	PI426370158_CUST_R_267	TGAAGAGGAGAGG	GGCTGCGCTGCCTTCTG	gi 1629490 gb AA085955.1 AA085	191	2
14	PI426370158_CUST_R_279	GATGTGGGTGCCA	AGACTGATTTACTGTGCC	gi 1629490 gb AA085955.1 AA085	251	2
15	PI426370158_CUST_R_291	CTOTTCCACTCCA	GGAGACAGGCGCCACTT	gi 1629490 gb AA085955.1 AA085	311	2
16	PI426370158_CUST_R_330	GGACTTCCGGCGG	GTGACGCGCCCGGGTTC	gi 49472820 ref NM_001539.2	1	1
17	PI426370158_CUST_R_352	CCCCGGCTGCGC/	ACAGCTOGGOGOTOOTTO	gi 49472820 ref NM_001539.2	110	2
18	PI426370158_CUST_R_364	ACCGGCAGTAGAA	GATGGTGAAAGAAACAAC	gi 49472820 ref NM_001539.2	170	2
19	PI426370158_CUST_R_376	ATGCTACTCAGGA	AGAATTGAAAAAGGCTTA	gi 49472820 ref NM_001539.2	230	2
20	PI426370158_CUST_R_388	ATAAGAACCCAAA	TGAAGGAGAGAAGTTTAA	gi 49472820 ref NM_001539.2	290	2
21	PI426370158_CUST_R_400	Ctgatgcaaagaaaaggg	gaattatATGACAAAGGAGGA	gi 49472820 ref NM_001539.2	350	2
22	PI426370158_CUST_R_412	GAGCAGGTGGCGG	STTTTGGCTCCCCCATGG	gi 49472820 ref NM_001539.2	410	2
23	PI426370158_CUST_R_424	gaaggatgcagagagaaa	iggagaggtaaAAATGTTGTA0	gi 49472820 ref NM_001539.2	470	2
24	PI426370158_CUST_R_436	AAGACTTATATAAT	GGTGCAACAAGAAAACT	gi 49472820 ref NM_001539.2	530	2
25	PI426370158_CUST_R_448	AATGTGAAGGTAG.	AGGAGGTAAGAAAGGAGC	gi 49472820 ref NM_001539.2	590	2
26	PI426370158_CUST_R_460	CTGGAATGCAAAT.	AAGAATTCATCAGATAGG	gi 49472820 ref NM_001539.2	650	2
27	PI426370158_CUST_R_473	CATGGAGTGCCAG	GGCCATGGGGAGCGGAT	gi 49472820 ref NM_001539.2	714	2
28	PI426370158_CUST_R_485	CGGAAGGAAGATA	GTTCGagagaagaaaattttaga	gi 49472820 ref NM_001539.2	774	2
29	PI426370158_CUST_R_497	AGATGGCCAGAAG	ATAACATTCCATGGTGAA	gi 49472820 ref NM_001539.2	834	2
30	PI426370158_CUST_R_509	CGATATTATCATT	GTGTTAGATCAGAaggacca	gi 49472820 ref NM_001539.2	894	2
31	PI426370158_CUST_R_521	CCTTTTCATGTGT.	ATGGACATACAGCTCGTT	gi 49472820 ref NM_001539.2	954	2
32	PI426370158_CUST_R_533	ATCTACTCTTGAC.	AACCGAACCATCGTCATC	gi 49472820 ref NM_001539.2	1014	2

RNAEnrichment\_tdtファイルをOpenし 必ずBaitScoreを確認します。 BaitScoreが4のBaitがあれば、リピート 配列である可能性が高いので、デザイン から除外することを推奨します。 (次ページ参照) 2および3のScoreをライブラリに含めるか どうかは、実験の目的に応じて決定します。



# BaitScore4を除外して再デザイン

- 1. RNAEnrichment\_tdt をExcelで開き、BaitScore4を除外したファイルを作成します。
- 2. さらに、BaitIDとSequenceのカラムを残し、その他のカラムは削除します。
- 3. BaitIDをSequenceのカラムのファイルをタブ区切りテキストとして保存します。

4	A	В	С	D	E	F
1	BaitID	Sequence	Chromosor	TargetID	StartPositic	BaitScore
2	PI426370158_0	CTTGACG	ACAAGOTG	gi 439339 g	1	2
3	PI426370158_0	TCCCAGT	GTOOTTTG	gi 7819045	40	2
4	PI426370158_0	CGAGGAC	GTGGTGGC	gi 7819045	100	2
5	PI426370158_0	GCTGTAA	CAATTGT	gi 7819045	160	2
6	PI426370158_0	GGGATCA	AGGGACGC	gi 7819045	220	2
7	PI426370158_0	ACAGTCA	AGAAAGGC	gi 7819045	280	2
8	PI426370158_0	CAACGAA	AGTCATAC	gi 7819045	340	2
9	PI426370158_0	GTCATAG	GAACAAT.	gi 7819045	400	2
10	PI426370158_0	tttttttttttttt	ttttttttttgg	gi 1629490	11	2
11	PI426370158_0	GCCTGTG	FTCCCAGT	gi 1629490	71	2
12	PI426370158_0	CCAAGAT	GACCAGA	gi 1629490	131	2
13	PI426370158_0	TGAAGAG	GAGAGGGG	gi 1629490	191	2
14	PI426370158_0	GATGTGG	GTGCCAAG	gi 1629490	251	2
15	PI426370158_0	CTCTTCC.	ACTOCAGO	gi 1629490	311	2
16	PI426370158_0	GGACTTC	CGCCGGG1	gi 4947282	1	1
17	PI426370158_C	CCCCGGC	TGCGCAC/	gi 4947282	110	2
18	PI426370158_0	ACCGGCA	GTAGAAGA	gi 4947282	170	2
19	PI426370158_0	ATGCTAC	CAGGAAG	gi 4947282	230	2
20	PI426370158_0	ATAAGAA	CCAAATG.	gi 4947282	290	2
~		- · ·		1.0.7000	050	

	A	В	С	D	E	
1	BaitID	Sequence				
2	PI426370158_0	CTTGACG/	ACAAGCTG	ACAAAATC	COCTOCA	TCC/
3	PI426370158_0	TOCCAGT	GTOOTTTG	iAAT oga otto	octtttttctttt	ttoog
4	PI426370158_0	CGAGGAC	GTGGTGGG	STOCTOTG	GTGCGAAA	ATTO:
5	PI426370158_0	GCTGTAAT	FCAATTGT	GOTGACAA	CACAGGA	GOOA
6	PI426370158_0	GGGATCA	AGGGACGC	CTGAACA	GACTTOCO	GCT
7	PI426370158_0	ACAGTOAA	AGAAAGGC	AAACCAGA	AGCTCAGA	АААА
8	PI426370158_0	CAACGAAA	AGTCATAC	CGTAGAAA	AGATGGog	gtgttti
9	PI426370158_0	GTCATAG	FGAACAAT.	AAAGGCGA	GATGAAAC	GGTT
10	PI426370158_0	tttttttttttttt	ttttttttttgg	,tgggggtgag	FGGGGGTT	CTG,
11	PI426370158_0	GCCTGTG	TTCCCAGT	TAAAGAAC	GAGGCAGC	TGG(
12	PI426370158_0	CCAAGATO	GGACCAGA	GAGGCCA	AACAACCT	GAG(
13	PI426370158_0	TGAAGAG	GAGAGGGG	CTGCGCT	GOOTTOTO	GATG
14	PI426370158_0	GATGTGG	GTGCCAAG	ACTGATTI	FACTGTGC	0000
15	PI426370158_0	стоттоси	ACTOCAGE	AGACAGG	CGCCACTT	000
16	PI426370158_0	GGACTTO	CGGCGGGT	GACGCGC	CCGGGTT	CGGC



# 作成したベイトシーケンスファイルのUpload





# 作成したベイトシーケンスファイルのUpload

Home	Libraries	Bait Groups	Baits	My Functions	My Account	Data				Sure Select RNA Enrichment
	Sea	rch Upload	Bait Tiling			1				
Bait Para	ameter An	d File Details								
Library Ca	ategory 🧿	RNA Capture								
Bait Para	ameter De	tails							Bait U	pload File Details
Species:	n fo	H. sapiens	*					Upload Type:	O Upload Baits Only Info	, ,
Remo	ve replicate	baits from uploa	ıd <u>Info</u>						Create New Bait Grou	In Info Oncogene-Score123
Bait Prec	edence:	<ul> <li>Overwrite m</li> </ul>	atching baits	s <u>Info</u>				Upload File:	BaitScore_exclude4.txt	
		🔘 Skip matchi	ng baits <u>Info</u>					File Format: Info	MINIMAL	
		O Cancel uplo	ad if any bai	ts already exist				File Type:	TDT	
Length:		120	*							
Define U	ploaded F	ile Columns							^	
Preview										
BaitID		Sequen	се							
PI426370	158_CUST	_R_1 CTTGAC	CGACAAGCT	GACAAAATCCCC	TCCATCCAGC	AGCCGGA	CCTTGCAGAAGAG	GACCCCGTTCACGA	AGGGAACCGCAGTCAGCT	
PI426370	158_CUST	_R_141 TCCCA	STGTCCTTT	GAATcgacttcctttttt	ctttttttccggCGTT(	CAAGATGT	CGAAGCGAGGAC	STGGTGGGTCCTCTG	GTGCGAAATTCCGGATTT	
PI426370	158_CUST	_R_153 CGAGG	ACGIGGIG	GGICCICIGGIG	GCGAAATTCCG	GATTICCT	IGGGICHCCGG			
PI426370	158_CUST	_R_105 GCTGT	CAAGGGAC	GGCTGACACACAC	TTCCCGCTGC		GTGACATGGTGA	TGGCCACAGTCAAGA		
PI426370	158_CUST	R_189 ACAGTO	CAAGAAAGG	CAAACCAGAGCT	CAGAAAAAAGG	TACATCCA	GCAGTGGTCATT	CGACAACGAAAGTCAT	ACCGTAGAAAAGATGGcgt	
From the	lists below	, select the most	t appropriat	e label for each c	olumn.				_	
BaitID		✓ BaitSec	quence	<b>~</b>					~	4
<								]	>	
My upl	oaded file c Up ル( 境	ontains column h loadしたう の先頭行に 計合は、こ	<sup>ieadings</sup> テキスト こHeade こをク	- ファイ erがある リック			Upload	Cancel adをクリック	,	



# すべての Bait Group のデザインの完了

- ライブラリの作成に入る前に、ひとつのライブラリに入れる予定のすべてのBait Groupのデザインを完了させます。
- 複数のBait Groupをひとつのライブラリに入れるケースとしては:
  - 異なるターゲット領域に対して、異なるデザイン条件を設定した場合
  - 自分がすでにデザインしていたBait Groupを、新規のBait Groupに加えたい場合
  - ターゲット領域のタイプの違いに合わせて、それぞれ独立したBait Groupを作成したい場合。 例えば、ChrXのexon領域とキナーゼに関与する領域 など。

Search Results: 2 matching results found							
Refresh							
Job ID	Job Name	<u>Status</u>	Design Type	Creation Date	Position in Queue	Actions	
BI407194606	SecondBaitGroup	In Queue	BaitTiling	06-Feb-2009	Job 1 of 1	Delete	
BI407162395	FirstBaitGroup	Completed	BaitTiling	05-Feb-2009	NA	Delete   View Design   Download	
Refresh							



## Libraryの作成 Libraryに入れるBait Groupの選択





## Libraryの作成 Speciesの選択





Librar Home Create I Libr の の 利用可能なうち 何%を 使用しているか わかります。	yの作成 Lib 1. ライブラリの名前 を設定 Libraries Bait Groups Baits My Fund Search   Create Library   rowse Library   Notific Library : Library Categor : Standard ary Name: Status: Draft escription: tachment: ④ atistics: Number of Librarie Total Number of Easture	raryの定義付( ctions My Account Da ation   Request Quote Species: H. sapiens Folder: Agilent_Field Comments: Keywords:	ナ 必要に応じて ption, Keywords, mmentsを入力	2. Baitの長さを選択 (現在は120bpのみ) Application Type SureSelect Target Enrichment マ ength: 120 マ					
※後述	% Occupied before auto replication	<b>1:</b> 99.03 %							
Bait Gro	up Details Library Creation Details								
<ul> <li>Bio</li> </ul>	logical SureSelect Target Enrichment Bait Gro	oup(s)Number of Bait Group(s) Selected :3							
				Click Add to select bait group(s). Remove Add					
Select	Bait Group name		F	Replicate					
	MultiELID3	1							
	MultiELID4	1	4. /	ヾイトのBoostingを					
	□ MultiELID5 1 選択(次ページ参照)								
Agilent O Maxi	Agilent Recommended Boosting: O Maximize Capacity  Balanced  Maximize Performance								
		Create Rese	et Cancel						



# Agilent Recommended Boosting

- Maximize performance キャプチャ効率が最大になるようにeArrayが相対 的なベイト濃度を自動的に調整します。ベイト濃度が自動的に調整されるため、 複数のベイトグループを使ってLibraryを作製するときに、ベイトグループごとに Replicate Numberを入力することができません。キャプチャ効率は最大になり ますが、ベイトの数が大幅に増加する場合があるので、注意が必要です。
- Balanced eArray7.8までMaximize Performanceで使用されていたベイト 濃度調整方法です。ベイト数がある程度増加しキャプチャ効率も向上しますが、 上記の設定ほどは増加しません。 Replicate Numberは入力できません。
- Maximize capacity 複数のベイトグループを使ってLibraryを作成するときに、入力したReplicate Numberに基づいて、利用できる最大数までベイト数を増やす機能です。

Bait Gro	up Details Library Creation Details							
<ul> <li>Biol</li> </ul>	Biological Sure Select Target Enrichment Bait Group(s)Number of Bait Group(s) Selected :3							
		Click Add to select bait group(s). Remove Add						
Select	Bait Group name	Replicate						
	MultiELID3	1						
	MultiELID4							
	MultiELID5	1						
			~					
Agilent I	Recommended Boosting:							
🔘 Maxii	nize Capacity 💿 Balanced 🔘 Maximize Performance							
		Create Reset Cancel						



# Libraryの作成 % Occupied before auto replication

#### % Occupied before auto replication

 デザインしたBaitとアジレント既定のコントロールBait
 の数が、設計可能な全Baitに占める割合
 例)デザインしたBaitの数が12,000の場合、コントロールベイト 70を含んだ全Bait数が57,750なので
 12,000 / 57,750 = 20.8 %

特に繰り返し回数を指定しないときには、最大Bait数まで 自動的にReplicationされます。



## Libraryの作成 ライブラリの詳細を確認





#### Libraryの作成 ライブラリの詳細を確認した後、**Save**





## Libraryの作成 ライブラリの**Submit**

Home Edit Librar	Libraries Search <u>Creat</u> ry : index-inp me:	Bait Groups te Library   <u>Browse</u> ut-500kb Lib	Baits My Functions	1. Libra ライブラリをSubmit して Status:	aryのStatusを変更 tしたい場合は、Completeを選択 、Saveします。 Draft ✔ Draft Review
Status:		Di	raft		Complete
Folder:		Dr Re	eview	0	120
Attachmen	nt:	Co	omplete	Keywords:	
% Occupied Base Cover Bait Grou	d before auto ro rage (Mb) <u>Info</u> : up Details	eplication <u>Info</u> : 4.8 0.1 Library Creatio	88312 % 166740 n Details	Number of Available Features: 54930 Number of Unique Baits Info: 2444	Number of Libraries: 1
E Biologi					
Biologi	ical SureSele	ct Target Enrich	nment Bait Group(s)		Number of Bait Group(s) Selected :1
Select	ical SureSele	ct Target Enrich Bait Gr	nment Bait Group(s) roup name		Number of Bait Group(s) Selected :1 Replicate
Select	ical SureSeler	ct Target Enrich Bait Gr b	nment Bait Group(s) roup name	1	Number of Bait Group(s) Selected :1 Replicate
Select	ical SureSeler	ct Target Enrich Bait Gr 쇼	nment Bait Group(s) roup name	1	Number of Bait Group(s) Selected :1 Replicate Click Add to select bait group(s). ใยสามวาย Add
Select	ical SureSelect	ct Target Enrich Bait Gr d	nment Bait Group(s)	1	Replicate         Click Add to select bait group(s).         Remove         Add         2.         Save をクリック
Enable Lit	ical SureSelect	ct Target Enrich Bait Gr	nment Bait Group(s)		Number of Bait Group(s) Selected :1 Replicate Click Add to select beit group(s). 2とmove Add
Enable Lit	ical SureSelect	et Target Enrich Bait Gr b oosting: Maximize pe	erformance		Replicate         Click Add to select bait group(s).         Remove         Add         2.         Saveをクリック



#### Libraryの作成 LibraryのSubmitの実行

1. 必要なコメントを入力し、Yesをクリック	2. 必要なコメントを入力し、 <mark>Design</mark> check listをクリック
Home         Libraries         Bait Groups         Baits         My Functions         My Account         Data           Search         Create Library         Browse Library         Notification         Request Quote	Home         Libraries         Bait Groups         Baits         My Functions         My Account         Data           Search         Create Library         Browse Library         Notification         Request Quote
Warning : You are about to save this library with a status of Complete. Once you save it, no changes can be made. Please type comments here::	Please type comments here: : Are you sure you want to continue? Design Checklist
Are you sure you want to continue? Yes No	Im
	マージを入れてて Done を ジリッジッ ※次ページ参照
Library successfully submitted.	Create a design that works with your sequencing equipments, Bits, and protocols?  May your soler the "Solera" betters on the mash, this Sone'side: I target frank hourd 14 design all be solerable to Agliter for the paper of earlying this design. To sounds equipment, an <i>Agliter</i> types-sounds with a solerable to the sole of the sole of the sole of the solerable to the sole of the

4. ここで Yes をクリックすると、ライブラリ作成が完了し、submitされます。Submitしたライブラリを 実際にオーダーするためには、次の見積もり請求 (quote) に進みます. SubmitしただけではLibraryをオーダーしたことにはなりません。必ず次のquoteのステップが必要です。



# Libraryの作成 **Designにあたっての注意事項**





現時点では、コントロール

### Quoteの作成 見積もり依頼するLibraryの選択

Libraries のページをクリック Search Library をクリック					2. Library Name(一部でもOK)または ELIDで見積もり依頼したいLibraryをサーチ						
Hom	e Librar es	Bait Groups	Baits My Functio	ons My Account	Data			Application Type SureSelect Target Enrichment			
	Search   Cre	eate Library   Bro	wse Library   Notificatio	n Request quote							
Libraries 🔿 eArrayXD Libraries											
Library Name: index		index			Folder Name: AI		All		Include subfolders		
			Select and	d Add				Upload			
		e 🔿 Obsolete			Created by:						
Creat	ed Date:	From:	To:			Containing Bait Group:			Select and Add		
Keyw	ords:				I	Length:	All				
Librai	гу Туре:	All									
14 lib	oraries found.				Search	Reset			Status: Select V Filter		
14 lib Sha	oraries found. are Move		Eolder Name	Library Tuna	Status	Reset	ELID	Longth	Status: Select Filter 1 2 Next Last		
14 lib Sha	are Move Library N index-500kb	ame 🔺	Folder Name Agilent, Field	Library Type Normal	Search Status Draft	Created Date 15-May-2012	ELID	Length 120	Status: Select V Filter 1 2. Next Last Actions Edit   View   Delete		
14 lib	are Move Library N index-500kb index-6Mb-input	iame ▲ t	Folder Name Agilent_Field Agilent_Field	Library Type Normal Normal	Search Status Draft Submitted	Created Date           15-May-2012           25-May-2010	ELID 029160 1	Length 120 120	Status: Select V Filter 1 2 Next Last Actions Edit   View   Delete Order Library   View   Download   Publish		
14 lib Sha	are Move Library N index-500kb index-6Mb-inpu index-input-1Mb	ame ▲ t	Folder Name Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field	Library Type Normal Normal Normal	Search Status Draft Submitted Submitted	Created Date           15-May-2012           25-May-2010           14-Apr-2010	ELID 029160 1 028086 1	Length 120 120 120	Status: Select V Filter 1 2 Next Last Actions Edit   View   Delete Order Library   View   Download   Publish Order Library   View   Download   Publish		
14 lib	Index-input-2Mb	iame ▲ t	Folder Name Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field	Library Type Normal Normal Normal Normal	Search Status Draft Submitted Submitted Submitted	Created Date           15-May-2012           25-May-2010           14-Apr-2010           14-Apr-2010	ELID 029160 1 028086 1 028087 1	Length 120 120 120 120	Status: Select V Filter 1 2 Next Last Actions Edit   View   Delete Order Library   View   Download   Publish Order Library   View   Download   Publish Order Library   View   Download   Publish		
14 lit	index-input-2006 index-input-2006	lame ▲ t o kb	Folder Name Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field	Library Type Normal Normal Normal Normal Normal	Search Status Draft Submitted Submitted Submitted Complete	Created Date           15-May-2012           25-May-2010           14-Apr-2010           14-Apr-2010           05-Apr-2010	ELID 029160 1 028086 1 028087 1 027854 1	Length 120 120 120 120 120	Status: Select V Filter 1 2 Next Last Actions Edit   View   Delete Order Library   View   Download   Publish Order Library   View   Download   Publish Order Library   View   Download   Publish View   Delete   Submit   Download		
14 lib	Move Library N index-500kb index-6Mb-input index-input-1Mb index-input-2Mb index-input-300 index-input-4Mb	ame ▲ t b kb	Folder Name Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field	Library Type Normal Normal Normal Normal Normal Normal	Search Status Draft Submitted Submitted Submitted Complete Submitted	Created Date           15-May-2012           25-May-2010           14-Apr-2010           14-Apr-2010           05-Apr-2010           12-Apr-2010	ELID 029160 1 028086 1 028087 1 027854 1 027854 1 02070 1	Length 120 120 120 120 120 120	Status: Select V Filter 1 2 Next Last Actions Edit   View   Delete Order Library   View   Download   Publish Order Library   View   Download   Publish Order Library   View   Download   Publish View   Delete   Submit   Download Order Library   View   Download   Publish		
14 lit	index-input-2Mb index-input-2Mb index-input-2Mb index-input-2Mb index-input-2Mb	ame ▲ t b kb kb	Folder Name Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field	Library Type Normal Normal Normal Normal Normal Normal Normal	Search Status Draft Submitted Submitted Submitted Complete Submitted Review	Created Date           15-May-2012           25-May-2010           14-Apr-2010           05-Apr-2010           12-Apr-2010           05-Apr-2010	ELID 029160 1 028086 1 028087 1 028087 1 028087 0 1	Length 120 120 120 120 120 120 120 120	Status: Select Trilter 1 2 Next Last Actions Edit   View   Delete Order Library   View   Download   Publish Order Library   View   Download   Publish Order Library   View   Download   Publish View   Delete   Submit   Download Order Library   View   Download   Publish Review   View   Delete   Download		
14 lit	index-input-300 index-input-1Mb index-input-2Mb index-input-2Mb index-input-300 index-input-300 index-input-500	lame ▲ t b b kb kb kb	Folder Name Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field	Library Type Normal Normal Normal Normal Normal Normal Normal Normal	Search Status Draft Submitted Submitted Submitted Complete Submitted Review Submitted	Created Date           15-May-2012           25-May-2010           14-Apr-2010           05-Apr-2010           12-Apr-2010           05-Apr-2010           05-Apr-2010           05-Apr-2010           05-Apr-2010           05-Apr-2010           05-Apr-2010	ELID 029160 1 028086 1 028087 1 027854 1 027854 1 028070 1 035764	Length 120 120 120 120 120 120 120 120 120	Status: Select  Filter  Status: Select  Filter  Scheme Sch		
14 lik	Move     Library N     Index-500kb     index-6Mb-input     index-input-1Mb     index-input-2Mb     index-input-300     index-input-500     index-input-500     index-input-500	ame ▲ t b kb kb kb kb	Folder Name Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field Agilent_Field	Library Type Normal Normal Normal Normal Normal Normal Normal Normal Normal Normal	Search Search Status Draft Submitted Submitted Submitted Submitted Review Submitted Submitted	Reset Reset Created Date 15-May-2012 25-May-2010 14-Apr-2010 14-Apr-2010 05-Apr-2010 05-Apr-2010 05-Apr-2010 05-Apr-2010	ELID 029160 1 028086 1 028087 1 027854 1 027854 1 028070 1 1 035764	Length 120 120 120 120 120 120 120 120	Status: Select 『▼ Filter 1 2 Next Last Actions Edit   View   Delete Order Library   View   Download   Publish Order Library   View   Download   Publish Order Library   View   Download   Publish View   Delete   Submit   Download   Publish View   Delete   Submit   Download   Publish Review   View   Delete   Download   Publish Review   View   Delete   Download   Publish Review   View   Delete   Download   Publish Review   View   Delete   Download   Publish Review   View   Download   Publish Crder Library   View   Download   Publish		



#### Quoteの作成 Library見積もり依頼の詳細を設定(必ずライブラリ設計者による設定が必 要)





## Quoteの作成 Libraryキット見積もり依頼のreviewとSubmit





## Quoteの作成 Libraryキット見積もり依頼のreviewとSubmit

Review Order	
Library Information	ベイトの数が多く、ELID数が複数となった例です。
Library Name: MultiELID-test3	この例では 80334455が
ELID: \$0334455	たい人合体のロロトなります
Library Part Number: 5190-0407	イット主体のELIDとなります。
Reagent Kit Part Number: Not Available	
Species: H. sapiens	
Length: 120	
Order Details	
Library Quantity: 1	
Number of Unique Baits 🔢 : 138501	
Base Coverage (Mb) 🔢 : 9.288819	
Sequencing Platform: HiSeq	
Reagent Kit: XT	
Automation kit:	
Sample size: 16	
Customer Details	
Workgroup Name: Agilent Technologies	
Company Name: Internal	
Company Number: Internal	





アジレント社担当営業もしくは取り扱い販売店から 見積もり金額の提示 → 発注へ



#### 標準納期は発注後約6~8週間です。



# SureSelectデータ解析時のBuildに関する注意点

- 次世代シーケンサによるキャプチャDNAのシーケンシングデータを Reference Genome sequenceにMappingする際は、使用する Reference Genome SequenceのBuildと、アジレントが提供するキャ プチャターゲットの位置情報を示すBEDファイルのBuildが一致するよう に注意してください。
- eArrayでサポートしているGenomeのBuild情報は、次ページを参照してください。
- 特にHumanの場合、eArrayでは2010年5月1日の時点でhg18からhg19 にBuildが切り替わっています。5月1日以降に入手したBEDファイル用 いる場合、Mappingにはhg19のBuildをお使いください。
- ライブラリをいつ作成したかわからない場合は、3ページ後の方法で確認できます。



# eArrayがサポートしているゲノム 2012年5月時点 1/2 (Buildにご注意ください!)

- ・ヒト H. sapiens, UCSC hg19, GRCh37, February 2009
- ・マウス M. musculus, UCSC mm9, NCBI Build 37, July 2007
- ・ラット R. norvegicus, UCSC rn4, HGSC Version 3.4, November 2004
- ・イヌ C. familiaris, UCSC canFam2, v2.0, May 2005
- ・ウシ UCSC bosTau4, Baylor build Btau\_4.0, October 2007 もしくは UMD UMD3.1, UMD build UMD\_3.1, August 2009
- ・ニワトリ G. gallus, UCSC galGal3, WUSTL v2.1, May 2006

・ショウジョウバエ D. melanogaster, UCSC dm3, BDGP Release 5, April 2006

- •線虫 C. elegans, UCSC ce4, WormBase WS170, January 2007
- •出芽酵母 S. cerevisiae, UCSC sacCer2, SGD, June 2008
- •分裂酵母 S. pombe, NCBI Build 1.1, February 2002



# eArrayがサポートしているゲノム 2012年5月時点 2/2 (Buildにご注意ください!)

- ・アラビドプシス A. thaliana, TAIR 10, November 2010
- ・イネ O.sativa, IRGSP5, June 2008
- •アカゲザル M. mulatta, UCSC rheMac2, Dpse\_2.0, January 2006
- ・マーモセット C. jacchus, UCSC calJac3, WUGSC 3.2, March 2009
- ・メダカ O. latipes, UCSC oryLat2, NIG/UT MEDAKA1, October 2005
- ・ゼブラフィッシュ D. rerio, UCSC danRer7, Sanger Zv9, July 2010



# ライブラリ作成日の確認 確認したいライブラリのSearch





# ライブラリ作成日の確認 ライブラリのView

Home	Libraries	Bait Groups	Baits	My Functions	My Account	Data					Sure Select Target Enrichment
	Search	Create Library	rowse Libra	rry Notification R	equest Quote	1					
<ul> <li>Librari</li> </ul>	• Libraries O eArrayXD Libraries										
Library N	ame:						Fo	lder Name:	All	•	Include subfolders
Species:				Select and	Add		E	.ID:	0279351		Upload
Design S	tatus:	⊙ All ◯ Act	ive 🔿 Obs	olete			Ci	reated by:			
Created [	Date:	From:		To:			C	ontaining bait group:			Select and Add
Keyword	s:						Le	ength:	All	•	
Library T	ype:	All		•							
	Search Reset										
Design F Search F Move	Design Format:     Select     Image: Select       Search Results: 1 matching results found       Move										
	Libra	iry Name 🔺		Folder Name	Library	<u>у Түре</u>	<u>Status</u>	Created Date	ELID	Length	Actions
on on	cogene-plus		Agiler	nt_Field	Supplemental		Submitted	06-Apr-2010	0279351	120	/iew   Quote   Download   Publish
Move	Move Share										
									内容 Vi	を確認し iewをク	したいLibraryの リックします



# ライブラリ作成日の確認

View Library : 101027	_6targets Library Category	Standard	
Library Name:	101027_6targets	Species:	H. sapiens
Status:	Submitted	Description:	
Folder:	LSCA_JapanSupportSpace	Comments:	
Attachment:		Keywords:	
GPL Identifier Info:		ELID:	0308921
Number of Libraries per Slide:	1	Number of Slides:	1
Number of Agilent Controls:	70	Percentage Filled by Selected Bait groups	0.54892 %
Number of User Controls:	0		
Base Coverage (Mb) Info :	0.018360	Number of Unique Baits Info :	247
Other Design Creation Det Created by: Created Date:	alls		10/27/2010
Date Modified:			10/27/2010
Date Submitted:			10/27/2010
e Date を確認します。	Humanの場	合、2010年4月30日以前な 2010年5月1日以降な	よら hg18 よら hg19



# お問い合わせ先

• eArray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

SureSelectのeArray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。

