

# HaloPlex カスタムデザイン操作方法

SureDesign version 7.8 （日本語版）

2023/02/01

予告無くソフトウェアのアップデートを行う場合があります。  
そのため、本資料とソフトウェア画面が異なる場合があります。ご了承ください。

【最新資料のダウンロードサイト】

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

# HaloPlex カスタムデザイン操作方法

1. 用語と定義 --- 3
2. カスタムデザイン作成の前に --- 6
3. スタンダードウィザードによるカスタムデザイン --- 9
  - 3-1 デザインの定義 --- 11
  - 3-2 ターゲットの定義 --- 12
  - 3-3 ターゲットの確認 --- 24
  - 3-4 プローブデザインの開始 --- 29
  - 3-5 プローブデザインの確認 --- 31
  - 3-6 ファイナライズ --- 35
  - 3-7 デザインサービス --- 46
4. カスタムデザインのオーダー --- 50
5. お問い合わせ先 --- 55

# 1. 用語と定義

# 1 用語と定義①

## ● HaloPlex Probe

- ゲノムDNAの制限酵素処理によって生じる断片のうち、ターゲット領域に当たる断片の両端 20数 base に対して相補的な配列を持つシングルオリゴヌクレオチド



### HaloPlex



制限酵素で消化した  
gDNA フラグメント

- シーケンス  
プライマーモチーフ
- サンプルインデックス
- ブリッジ or エマルジョン  
PCR プライマー
- ターゲットと相補的な  
プローブシーケンス

### HaloPlex HS



制限酵素で消化した  
gDNA フラグメント

- シーケンス  
プライマーモチーフ
- サンプルインデックス
- ブリッジ or エマルジョン  
PCR プライマー
- ターゲットと相補的な  
プローブシーケンス
- 分子バーコード (10 bp)

# 1 用語と定義②

## ● デザイン

- HaloPlex Probe の集まりで、一つのキットとして製造されるオリゴのセットです。



## ● デザイン ID

- HaloPlex デザインの ID 番号です。この番号により、個々のデザインが認識されます。SureDesign から情報を得るときや、オーダーの際に必要な番号で重要な情報です。HaloPlex カスタムデザインを作成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。

## ● 一つのデザインに搭載できるプローブ数について

- デザインはキャプチャサイズやプローブ数によって5つの価格帯に区分されます。Tier1 デザインは、最大 15 K アンプリコンを含む必要があります。
- HaloPlex のみ : Tier 1 Plus デザインは、15 K~20 K アンプリコンを含む必要があります。

### 【HaloPlex】

- Tier1 : 1 - 500 Kbp (15,000 プローブ未満であること)
- Tier1 Plus : 1 - 500 Kbp (15,000 - 20,000 プローブであること) 注 : Tier1 Plus のカテゴリは HaloPlex のみです。
- Tier2 : 0.501 - 2.599 Mbp (2,000,000 プローブ未満であること)
- Tier3 : 2.6 - 5.0 Mbp (2,000,000 プローブ未満であること)

## 2. カスタムデザイン作成開始の前に

## 2 カスタムデザイン作成開始の前に

### スタンダードウィザードとアドバンスドウィザード

SureDesign には2つのカスタム作成ウィザードがあります。

●スタンダードウィザード (“アドバンスドオプションの表示” がチェックされていない状態) → 本資料をご覧ください。

- ・ 標準的な条件でプローブを設計
- ・ 1つのプローブグループからデザインを作成

●アドバンスドウィザード (“アドバンスドオプションの表示” がチェックされている状態)

→ 別資料「[HaloPlex アドバンスドオプションによるカスタムデザイン作成ガイド](#)」をご覧ください。

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

- ・ 条件を変更してプローブを設計
- ・ 複数のプローブグループ、または複数のデザインを組み合わせでデザインを作成
- ・ 独自のプローブをアップロードしてデザインを作成

SureDesign



Home



Find  
Designs



Create  
Designs

☒ Show Advanced Options

Cart (0) | [Logout](#) | [Settings](#) | [Help - Home](#)

Start Designing



SureSelect DNA



SureSelect RNA



SureSelect  
All-In-One



OneSeq



HaloPlex



CGH



CustomFISH



SureGuide



SurePrint OLS

Messages (0)

You have no messages.

You will be notified here when:

- Agilent has scheduled SureDesign maintenance or upgrades.
- A new user has requested to join your workgroup.

## 2 カスタムデザイン作成開始の前に

### HaloPlex HS

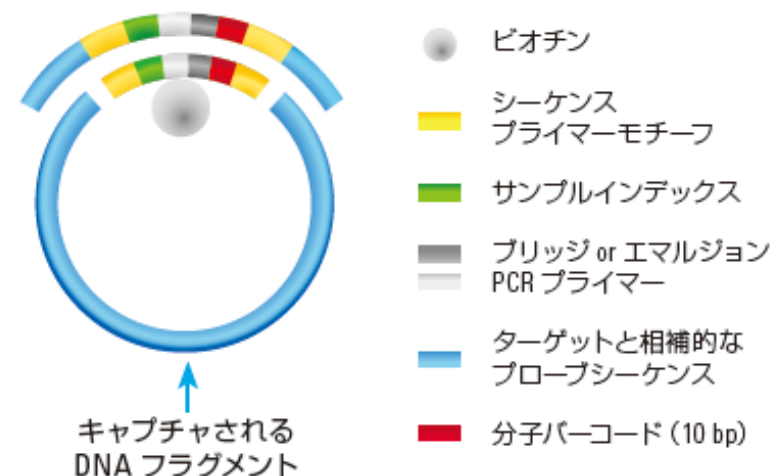
SureDesign 3.0 から追加された HaloPlex HS は、従来の HaloPlex をベースに、**DNA ライブラリに分子バーコードを導入**することで PCR の Duplication を効果的に排除し、従来の NGS で用いられてきた手法と比較して、低頻度の変異を高い信頼性で検出することを目的とした製品です。

**HaloPlex HS と従来の HaloPlex ではプローブの構造や実験プロトコル等が異なり、互換性はありません。**必ずカスタムデザイン作成前に、どちらを使用する予定か確認してからデザイン作成を開始して下さい。

HaloPlex HS は、より最適な結果を得るために、**SureDesignのアドバンスドオプションおよび「FFPE サンプルに最適化」オプション**を利用することをお勧めしています。

初めて HaloPlex HS デザインを作成される場合は、別資料「**HaloPlex アドバンスドオプションによるカスタムデザイン作成ガイド**」をご覧ください。

#### 分子バーコード対応 HaloPlex HS のハイブリダイゼーション

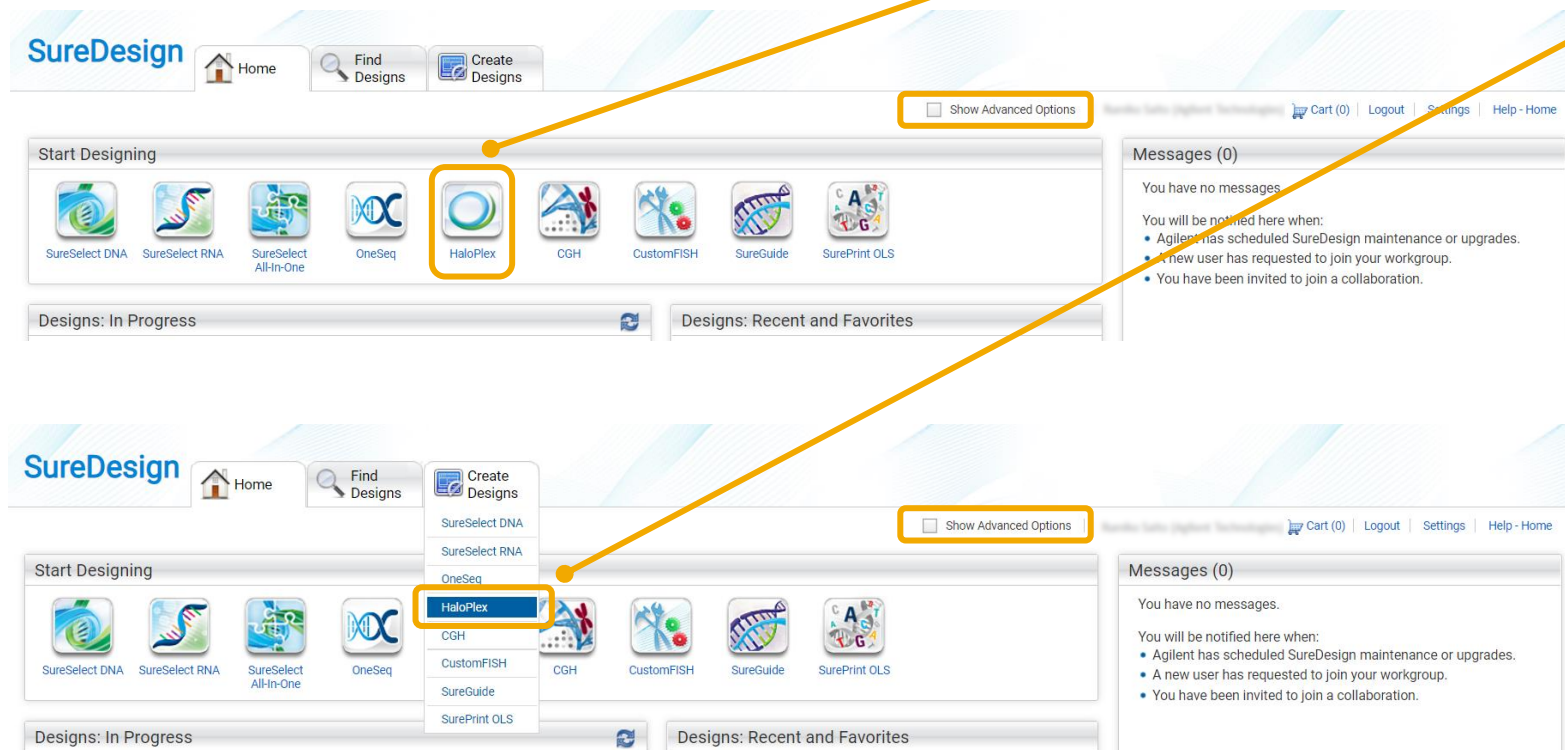




### 3. スタンドアードウィザードによるカスタムデザイン作成

## 3 スタンダードウィザードによるカスタムデザイン作成

【アドバンスドオプション】からチェックが外れている状態で、ホームタブの HaloPlex、もしくはデザイン作成タブの HaloPlex をクリックしてウィザードを開始します。



### カスタムデザイン作成の流れ

#### SureDesign

HaloPlex

Define Design

- Define Design デザインの概要決定
- Define Targets ターゲット領域の決定
- Review Targets ターゲット領域のレビュー
- Select Probes デザインに入れるプローブの選択
- Finalize ファイナライズ

## 3-1 デザインの定義

SureDesign Help - Define Design

HaloPlex Define Design

Define Design

Define Targets

Review Targets

Select Probes

Finalize

Design Category

☒ HaloPlex Next Gen PCR

☐ HaloPlex<sup>HS</sup> High sensitivity Next Gen PCR using molecular barcodes

\* Design Name:

\* Species:

\* Build: UCSC hg19, GRCh37, February 2009

\* Create In:  [Select](#)

\* Platform:

\* Read Length:

どちらかを選択します。

【デザイン名】に任意の名前を入力します。

【生物種】はH. sapiens のみです。

これから作成するデザインを入れるフォルダを選択します。

【選択】をクリックして、新しくフォルダを作成することもできます。

### プラットフォームとリード長

\* Platform:

\* Read Length:

100

150

250

NGS プラットフォームはイルミナのみです。  
リード長を100 bp、150 bp、250 bp から選択します。

ここで選択するリード長は実際にシーケンシングする際のリード長です。  
使用予定の機種・試薬にあわせてリード長を選択します。  
デザインとシーケンスのリード長が異なると、期待されるカバー率が得られなくなります  
のでご注意ください。

## 3-2 ターゲットの定義

SureDesign Help - Define Target

HaloPlex Define Targets

Define Design ☒ Define Targets ☒ Review Targets ☐ Select Probes ☐ Finalize ☐

**HaloPlex Design**  
Name: Halodemo  
Species: H. sapiens (hg19)  
Category: HaloPlex

**Target Regions**  
# Regions: NA  
Size: NA

**Sequenced Regions**  
# Amplicons: NA  
Size: NA  
Price Tier: NA  
Coverage: NA

UCSC View Download

**\* Targets:**  
# Enter gene IDs, gene symbols, or accessions.  
# SureDesign will map these identifiers to genomic locations  
# using the parameters below, then select probes from the  
# reference genome that match the locations.  
SMAD4  
NM\_005359  
ENST00000342988  
CCDS11950  
4089  
  
# Enter UCSC browser or BED coordinates  
chr18:48573407-48573675  
chr18 48573406 48573675  
  
# Enter coordinates with identifiers  
chr18:48575655-48575704 MyGene1  
chr18 48577713 48577795 MyGene2 # exon 1  
chr18 48578994 48579032 MyGene2 # exon 2  
  
# Enter cytoband  
7p22.1

Upload

Example

Clear

**\* Databases**  
☒ RefSeq  
☒ Ensembl  
☒ CCDS  
☒ Gencode  
☒ VEGA  
☒ SNP  
☒ CytoBand

**Regions of Interest**  
☒ Coding Exons  
☐ Coding Exons + UTRs ☒ 5' UTR ☒ 3' UTR  
☐ Entire Transcribed Region

Include Flanking Bases:  
3': 10 bp 5': 10 bp

☐ Allow Synonyms

Cancel Back Next

ターゲットとする遺伝子または領域を、ここに示されたいずれかの形式で直接入力します。

- GeneID (推奨)
- GeneSymbol、AccessionID
- SNP ID
- 位置情報
- アノテーション付き位置情報

ターゲットをリストしたテキストファイルをアップロードすることも可能です。

画面に直接入力できる検索項目は500個以下です。500個を超える場合、ターゲットをリストしたテキストファイルをアップロードする必要があります。

どの領域をターゲットとするのかを選択します。

その領域の両側をどれだけ拡張してキャプチャするかを選択します。

Synonym を許容するかどうか選択します。

※詳細は次ページ以降を参照

参照データベースを選択します。

## 3-2 ターゲットの定義：遺伝子名、アクセッションIDでの直接入力

**SureDesign** Help - Define Target

HaloPlex Define Targets

Define Design ☒ **Define Targets** Review Targets Select Probes Finalize

**HaloPlex Design**  
 Name: Halodemo  
 Species: H. sapiens (hg19)  
 Category: HaloPlex

**Target Regions**  
 # Regions: NA  
 Size: NA

**Sequenced Regions**  
 # Amplicons: NA  
 Size: NA  
 Price Tier: NA  
 Coverage: NA

**\* Targets:**  
 BRCA1  
 Upload  
 Example  
 Clear

**\* Databases**  
☒ RefSeq  
☒ Ensembl  
☒ CCDS  
☒ Gencode  
☒ VEGA  
☒ SNP  
☒ CytoBand

**Regions of Interest**  
☒ Coding Exons  
☐ Coding Exons + UTRs ☒ 5' UTR ☒ 3' UTR  
☐ Entire Transcribed Region

**Include Flanking Bases:**  
 3': 10 bp 5': 10 bp

☐ Allow Synonyms

Cancel Back Next

### ■ 遺伝子の指定方法

(例)

• Gene ID	4089
• Gene Symbol	SMAD4
• RefSeq	NM_005359
• Ensemble	ENST00000342988
• CCDS	CCDS11950
• VEGA	OTTHUMT00000255993
• Gencode	ENST00000342988
• SNP	RS3740345

- 入力形式は混在していてもかまいません。  
Gene ID を利用すると、選択したデータベースに登録されている Isoform を網羅し、かつ Synonym の影響を避けることができます。
- 直接入力できるターゲットは500個までです。  
500個を超える場合は次ページを参照してテキストファイルをアップロードして下さい。

### ■ Allow Synonym

ここにチェックを入れると、Synonym も含めたデザインになります。  
不要な遺伝子も入ってしまう可能性もあることにご注意ください。

## 3-2 ターゲットの定義：遺伝子名、アクセッションIDのアップロード

### ■テキストファイルをアップロードする場合の入力例 (GeneSymbol)

それぞれの GeneSymbol が  
異なる行に記載されている必要があります。  
ファイルは**タブ区切りテキストファイル**として保存してください。  
カンマなどの記号は使用できません。  
ターゲット数の上限は80,000個です。

	A
1	AKT2
2	APC
3	BCL3
4	BCR
5	BRCA1
6	BRCA2
7	CBL
8	CCND1
9	CDK4
10	CSF1R
11	DCC
12	E2F1
13	EGFR
14	ELK1
15	ELK3

【アップロード】をクリックし、続けて【参照】をクリックして  
【アップロードするファイル】を選択します。

## 3-2 ターゲットの定義：ターゲットの位置情報での直接入力

The screenshot shows the 'Define Targets' step in the SureDesign HaloPlex wizard. The 'Targets' list contains 'BRCA1'. The 'Databases' section has checkboxes for RefSeq, Ensembl, CCDS, Gencode, VEGA, SNP, and CytoBand, all of which are checked. The 'Regions of Interest' section has radio buttons for 'Coding Exons' (selected), 'Coding Exons + UTRs', and 'Entire Transcribed Region'. There are also checkboxes for '5' UTR' and '3' UTR'. The 'Include Flanking Bases' section has dropdowns for '3'' and '5'' both set to '10' bp. The 'Allow Synonyms' checkbox is unchecked. The 'HaloPlex Design' section on the left shows 'Name: Halodemo', 'Species: H. sapiens (hg19)', and 'Category: HaloPlex'. The 'Sequenced Regions' section shows '# Amplicons: NA', 'Size: NA', 'Price Tier: NA', and 'Coverage: NA'. The 'UCSC View' and 'Download' buttons are at the bottom left. The 'Cancel', 'Back', and 'Next' buttons are at the bottom right.

位置情報でターゲットを入力した場合、【データベース】【キャプチャしたい領域】で設定したパラメータは反映されません。  
入力した位置がそのまま、プローブ設計対象となります。

### ■ 位置情報のフォーマット

下記 A または B のいずれかのフォーマットで入力します。  
フォーマットから、塩基の数が判断されます。フォーマットが異なると、意図した領域と1 bp ずれが生じますのでご注意ください。

#### A : Browser format

染色体の最初の塩基を「1番目」として、何番目の塩基までという指定方法（one-based, closed）タブまたはスペースで区切って領域に ID をつけることができます。いくつかの領域に同じ ID をつけることも可能です。

下記フォーマットに従い、1行に1 interval記載します。

```
chr18:48573407-48573675    MyGene1
chr18:48575046-48575240    MyGene1
```

#### B : Bed format

染色体の最初の塩基を「0番目」として扱い、終わりのポジションを1つ次の番号で指定（zero-based, half open）。タブまたはスペースで区切って4番目のカラムに領域の ID を入力することができます。いくつかの領域に同じ ID をつけることも可能です。

下記フォーマットに従い、1行に1 interval 記載します。

```
chr18    48573406    48573675    MyGene2
chr18    48575045    48575240    MyGene2
```



## 3-2 ターゲットの定義：ターゲットの位置情報のアップロード

The screenshot shows the 'Define Targets' step in the SureDesign software. The 'Targets' list contains 'BRCA1'. The 'Upload' button is highlighted with an orange box. The 'Regions of Interest' section is also highlighted with an orange box, showing options for 'Coding Exons' and 'Include Flanking Bases'. The 'HaloPlex Design' section on the left shows design parameters like Name, Species, and Target Regions.

位置情報でターゲットを入力した場合、【データベース】【キャプチャしたい領域】で設定したパラメータは反映されません。  
入力した位置がそのまま、プローブ設計対象となります。

■ ターゲットの位置情報を含んだテキストファイルをアップロード  
前ページを参照し、Browser format または Bed format でターゲットの位置情報（Genomic interval）を含んだファイルを作成します。

それぞれの interval は異なる行に記載されている必要があります。  
ファイルはテキストファイルとして保存してください。  
カンマなどの記号は使用できません。

<Browser formatの場合の例>

```

ファイル(F) 編集(E) 検索(S) 表示(V) 比制
[Icons]
無題-1 * x
1 chrX:10007765-10007844↓
2 chrX:100111356-100111454↓
3 chrX:100115321-100115393↓
4 chrX:100111356-100111842↓
5 chrX:100127312-100127561↓
6 chrX:100128441-100128546↓
7 chrX:100129035-100129201↓
8 chrX:100129838-100129928↓
9 chrX:100130023-100130203↓
10 chrX:100132207-100132476↓
  
```

【アップロード】をクリックし、続けて【参照】をクリックして  
【アップロードするファイル】を選択します。



## 3-2 ターゲットの定義：ターゲット遺伝子・位置情報を混在させるケース

SureDesign Help - Define Target

HaloPlex Define Targets

Define Design ☒ Review Targets Select Probes Finalize

**\*Targets:**

BRCA1	
NM_005359	
OTTHUMT00000255993	
ENST00000342988	
RS3740345	
chr18:48573407-48573675	MyGene1
chr18:48575046-48575240	MyGene1
chr18:48575655-48575704	MyGene1
chr18:48577714-48577795	MyGene1
chr18:48578995-48575240	MyGene1
chr18:48571141-48571373	MyGene1

Upload Example Clear

**HaloPlex Design**

Name: Halodemo  
Species: H. sapiens (hg19)  
Category: HaloPlex

**Target Regions**

# Regions: NA  
Size: NA

**Sequenced Regions**

# Amplicons: NA  
Size: NA  
Price Tier: NA  
Coverage: NA

UCSC View Download

**\*Databases**

☒ RefSeq  
☒ Ensembl  
☒ CCDS  
☒ Gencode  
☒ VEGA  
☒ SNP  
☒ CytoBand

**Regions of Interest**

☒ Coding Exons  
☐ Coding Exons + UTRs  
☐ Entire Transcribed Region

☒ 5' UTR ☒ 3' UTR

Include Flanking Bases:  
3' : 10 bp 5' : 10 bp

☐ Allow Synonyms

Cancel Back Next

GeneSymbol や Accession ID と位置情報を一度に入力することも可能です。

### ■ 重要

この場合、下部の【データベース】【キャプチャしたい領域】で設定される条件は、GeneSymbol や Accession ID、SNP ID で入力されたターゲットにのみ適用され、ゲノム上の位置情報で入力されたターゲットには適用されません。

例)

この設定では、Gene Symbol / Accession ID に対してはコーディングエクソンに 10 bp ずつ Flanking した領域がターゲット領域となりますが、ゲノム上の位置情報についてはその位置情報そのものがターゲット領域となります。（位置情報内部のコーディングエクソンは検索しません。Flanking 設定も反映されません。）

## 3-2 ターゲットの定義：データベースの選択

**SureDesign** Help - Define Target

HaloPlex Define Targets

Define Design ☒ **Define Targets** Review Targets Select Probes Finalize

**Targets:**

- ABL
- AKT2
- APC
- BCL2ALPHA
- BCL2BETA
- BCL3
- BCR
- BRCA1
- BRCA2
- CBL
- CCND1
- CDK4
- CRK-II
- CSF1R

Upload Example

Clear

**HaloPlex Design**

Name: Halodemo  
Species: H. sapiens (hg19)  
Category: HaloPlex

**Target Regions**

# Regions: NA  
Size: NA

**Sequenced Regions**

# Amplicons: NA  
Size: NA  
Price Tier: NA  
Coverage: NA

UCSC View Download

**\* Databases**

- ☒ RefSeq
- ☐ Ensembl
- ☒ CCDS
- ☐ Gencode
- ☐ VEGA
- ☐ SNP
- ☐ CytoBand

**Regions of Interest**

- ☒ Coding Exons
- ☐ Coding Exons + UTRs ☐ 5' UTR ☒ 3' UTR
- ☐ Entire Transcribed Region

Include Flanking Bases:

3' : 10 bp 5' : 10 bp

☐ Allow Synonyms

Cancel Back Next

入力したGene ID、GeneSymbol や Accession ID に対して検索を行うデータベースを選択します。

複数のデータベースを選択した場合、この例では選択した RefSeq および CCDS に登録されているコーディングエクソンの位置情報をサーチして両方の情報を反映する結果が出力されます。

## 3-2 ターゲットの定義：SNPデータベースの選択

SureDesign Help - Define Target

HaloPlex Define Targets

Define Design ☒ **Define Targets** Review Targets Select Probes Finalize

**Targets:**

- RS10824072
- RS112643076
- RS142879319
- RS2072434
- RS2076303
- RS2277475
- RS2744380
- RS28639484
- RS336283
- RS35717505
- RS3729711
- RS3737378
- RS370345
- RS45459491

Upload Example Clear

**HaloPlex Design**

Name: Halodemo  
Species: H. sapiens (hg19)  
Category: HaloPlex

**Target Regions**

# Regions: NA  
Size: NA

**Sequenced Regions**

# Amplicons: NA  
Size: NA  
Price Tier: NA  
Coverage: NA

UCSC View Download

**\* Databases**

- ☐ RefSeq
- ☐ Ensembl
- ☐ CCDS
- ☐ Gencode
- ☐ VEGA
- ☒ SNP
- ☐ CytoBand

**Regions of Interest**

- ☒ Coding Exons
- ☐ Coding Exons + UTRs ☐ 5' UTR ☒ 3' UTR
- ☐ Entire Transcribed Region

Include Flanking Bases:

3' : 10 bp 5' : 10 bp

☐ Allow Synonyms

Cancel Back Next

SNP ID をキャプチャのターゲットとして入力できます。

入力した SNP ID の位置情報を中心に指定した隣接領域の長さが足された領域がターゲット領域として設定され、その領域に対して、指定した条件でプローブが設計されます。

例えば3'、5'側にそれぞれ 10 bp の隣接領域を設定した場合、SNP 位置をはさんで計 21 bp の領域がターゲットとなります。  
(Repeat Masker との重なりにより、ターゲット領域のサイズは若干変わる場合があります)

なお、SNP の rs ID は頻繁に Update されているため、Not Foundになる場合があります。その場合は、SNP位置から±10 bp程度の幅をもたせたターゲット位置情報をご入力ください。(後述参照)

## 3-2 ターゲットの定義：ターゲット領域の選択

SureDesign Help - Define Target

HaloPlex Define Targets

Define Design ☒ **Define Targets** Review Targets Select Probes Finalize

**\* Targets:**

- ABL
- AKT2
- APC
- BCL2ALPHA
- BCL2BETA
- BCL3
- BCR
- BRCA1
- BRCA2
- CBL
- CCND1
- CDK4
- CRK-II
- CSF1R

Upload

Example

Clear

**HaloPlex Design**

Name: Halodemo  
Species: H. sapiens (hg19)  
Category: HaloPlex

**Target Regions**

# Regions: NA  
Size: NA

**Sequenced Regions**

# Amplicons: NA  
Size: NA  
Price Tier: NA  
Coverage: NA

UCSC View Download

**\* Databases**

- ☒ RefSeq
- ☐ Ensembl
- ☒ CCDS
- ☐ Gencode
- ☐ VEGA
- ☐ SNP
- ☐ CytoBand

**Regions of Interest**

☒ Coding Exons  
☐ Coding Exons + UTRs ☒ 5' UTR ☒ 3' UTR  
☐ Entire Transcribed Region

Include Flanking Bases:  
3' : 10 bp 5' : 10 bp

☐ Allow Synonyms

Cancel Back Next

入力した遺伝子について、選択したデータベースに登録されている位置情報をサーチします。

【ターゲット】の画面にゲノム上の位置情報を入力した場合は、その入力した位置情報がターゲットとなります。  
ここでの設定は反映されません。

詳細は次のページをご参照ください。

## 3-2 ターゲットの定義：キャプチャしたい領域のパラメータ設定

Regions of Interest

☒ Coding Exons

☐ Coding Exons + UTRs ☒ 5' UTR ☒ 3' UTR

☐ Entire Transcribed Region

Include Flanking Bases:

3' :  ▼ bp 5' :  ▼ bp

☐ Allow Synonyms

### ■ Allow Synonym

ここにチェックを入れると、Synonym も含めたデザインになります。  
不要な遺伝子も入ってしまう可能性もあることにご注意ください。

### ■ キャプチャしたい領域

入力した遺伝子について選択したデータベースに登録されている位置情報を検索します。

- ・コーディングエクソンのみ
  - ・コーディングエクソン + 5'UTR、3'UTR
  - ・全転写領域
- のいずれかが選択できます。

### ● コーディングエクソン + UTRs

5' UTR, 3' UTR のそれぞれで含めるかどうかを設定できます。

### ● 全転写領域

Coding Exon、Intron、UTR をすべて含んだ領域の位置情報を検索します。

※Non Coding RNA を検索する場合はコーディングエクソン+UTRs または全転写領域を選択してください。

### ■ 隣接領域を含む

指定した領域からの延長分を0、10、25、50 bp から選択できます。  
コーディングエクソンまたコーディングエクソン + UTR を選択したときのみ有効です。

## 3-2 ターゲットの定義：設定の完了

SureDesign Help - Define Target

HaloPlex **Define Targets**

Define Design ☒ **Define Targets** Review Targets Select Probes Finalize

**HaloPlex Design**  
Name: Halodemo  
Species: H. sapiens (hg19)  
Category: HaloPlex

**Target Regions**  
# Regions: NA  
Size: NA

**Sequenced Regions**  
# Amplicons: NA  
Size: NA  
Price Tier: NA  
Coverage: NA  
[UCSC View](#) [Download](#)

**\* Targets:**  
ABL  
AKT2  
APC  
BCL2ALPHA  
BCL2BETA  
BCL3  
BCR  
BRCA1  
BRCA2  
CBL  
CCND1  
CDK4  
CRK-II  
CSF1R

[Upload](#)  
[Example](#)  
[Clear](#)

**\* Databases**  
☒ RefSeq  
☐ Ensembl  
☒ CCDS  
☐ Gencode  
☐ VEGA  
☐ SNP  
☐ CytoBand

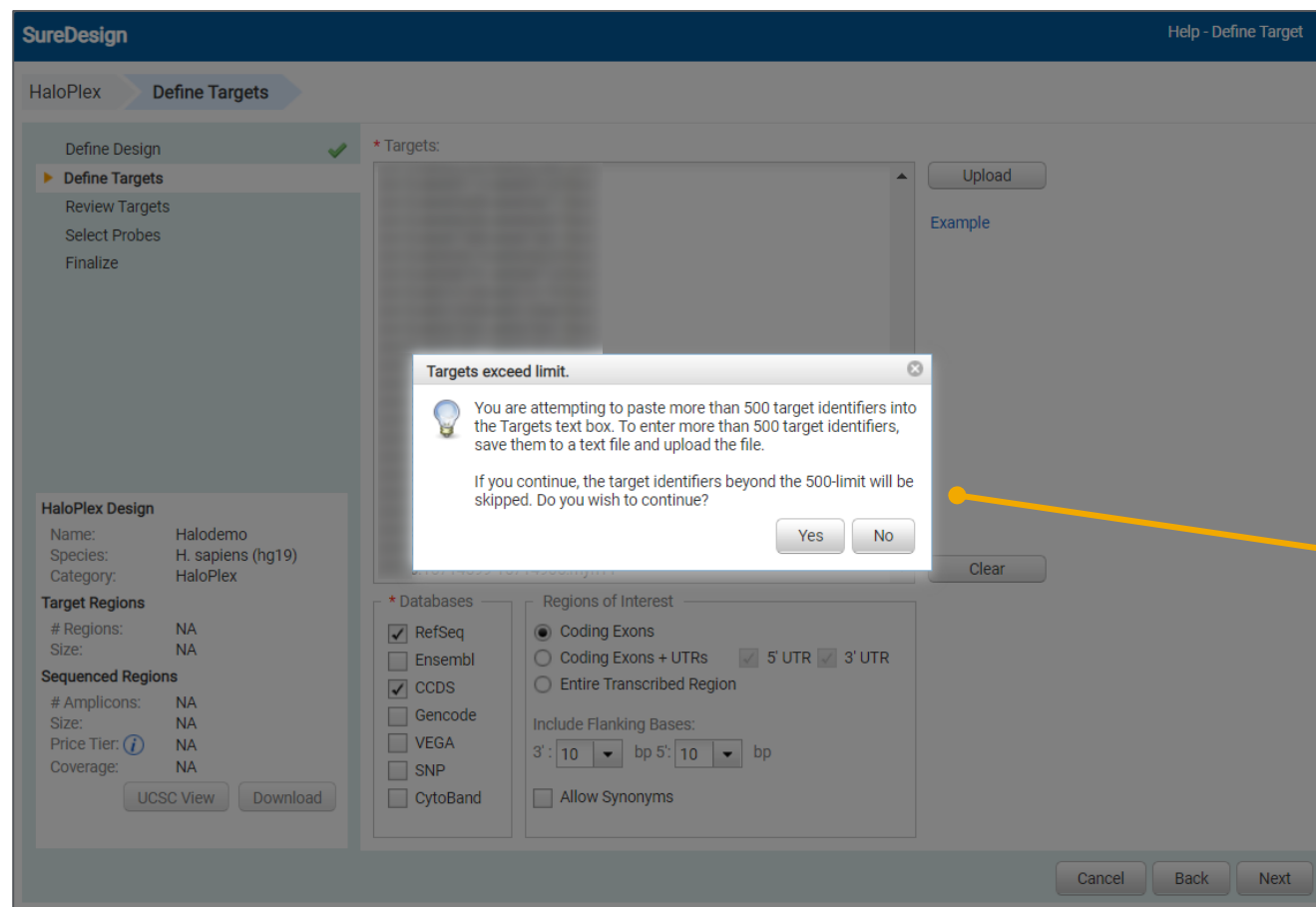
**Regions of Interest**  
☒ Coding Exons  
☐ Coding Exons + UTRs ☒ 5' UTR ☒ 3' UTR  
☐ Entire Transcribed Region

**Include Flanking Bases:**  
3' : 10 bp 5' : 10 bp  
☐ Allow Synonyms

[Cancel](#) [Back](#) [Next](#)

設定が完了したら、【次へ】をクリックします。  
設定条件によるサーチが開始されます。

## 3-2 ターゲットの定義：ターゲット領域が上限を超えた場合



入力したターゲットの合計が500を超えると、メッセージが表示されます。Yes を選択すると、500となるように調整し続行します。No を選択すると、元の画面に戻るので500を超えないように数を調整してください。

## 3-3 ターゲットの確認：Not found になったターゲットの確認

**SureDesign** Help - Review Target

HaloPlex **Review Targets**

Define Design ✓  
Define Targets ✓  
▶ **Review Targets**  
Select Probes  
Finalize

**HaloPlex Design**  
Name: Halodemo  
Species: H. sapiens (hg19)  
Category: HaloPlex

**Target Regions**  
# Regions: 161  
Size: 42,013 kbp

**Sequenced Regions**  
# Amplicons: NA  
Size: NA  
Price Tier: NA  
Coverage: NA

UCSC View Download

**Target Summary**

- 14 Target IDs resolved to 10 targets comprising 161 regions.
- 4 Target IDs were not found.

**Target Details** [view targets in UCSC](#)

Target ID	# Regions	Base Pairs	Position
ABL	Not found		
BCL2ALPHA	Not found		
BCL2BETA	Not found		
CRK-II	Not found		
AKT2	13	1706	chr19:40739769-40771184
APC	18	9171	chr5:112043405-112179833
BCL3	9	1545	chr19:45252038-45262882
BCR	23	4276	chr22:23523138-23657719
BRCA1	23	6118	chr17:41197685-41276123
BRCA2	26	10777	chr13:32890588-32972917
CBL	16	3041	chr11:119077118-119170501
CCND1	5	988	chr11:69456072-69466060
CDK4	7	1052	chr12:58142298-58145510
CSF1R	21	3339	chr5:149433622-149466000

Cancel Back **Begin Probe Selection**

Not Found になっているターゲットの有無を【[ターゲットサマリ](#)】で確認し、具体的にどの Target ID が Not Found であるかを【[ターゲット詳細](#)】の画面で確認してください。

Not Found になっているターゲットは、他の名前に変更する必要があります。【[戻る](#)】で元の画面に戻り、UCSC Genome Browser で検索できる ID にターゲット名を変更して再度デザインしてください。



## 3-3 ターゲットの確認：ターゲット領域の確認

トータルのサイズが自分の予想と大きく異なっていないかを確認します。大きく異なっている場合、設定を間違えている可能性があるため、【戻る】で戻り、設定を再確認します。

**SureDesign** Help - Review Target

HaloPlex **Review Targets**

Define Design ✓  
Define Targets ✓  
▶ **Review Targets**  
Select Probes  
Finalize

**Target Summary**

- 10 Target IDs resolved to 10 targets comprising 161 regions
- 0 Target IDs were not found.

**Target Details** [View targets in UCSC](#)

Target ID	# Regions	Base Pairs	Position
AKT2	13	1706	chr19:40739769-40771184
APC	18	9171	chr5:112043405-112179833
BCL3	9	1545	chr19:45252038-45262882
BCR	23	4276	chr22:23523138-23657719
BRCA1	23	6118	chr17:41197685-41276123
BRCA2	26	10777	chr13:32890588-32972917
CBL	16	3041	chr11:119077118-119170501
CCND1	5	988	chr11:69456072-69466060
CDK4	7	1052	chr12:58142298-58145510
CSF1R	21	3339	chr5:149433622-149466000

**HaloPlex Design**

Name: Halodemo  
Species: H. sapiens (hg19)  
Category: HaloPlex

**Target Regions**

# Regions: 161  
Size: 42,013 kbp

**Sequenced Regions**

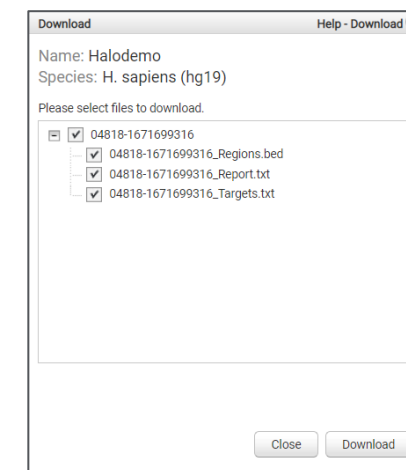
# Amplicons: NA  
Size: NA  
Price Tier: NA  
Coverage: NA

[UCSC View](#) [Download](#)

Cancel Back **Begin Probe Selection**

Not Found になったターゲットが0になったことを確認します。

デザイン結果をダウンロードして内容を確認します。



## 3-3 ターゲットの確認：ダウンロードしたファイルによるターゲット領域の確認

<Design name>\_Regions.bed

	A	B	C	D	E	F
1	browser position chr19:40739769-40739868					
2	track name="Target Regions" description="Agilent HaloPlex - H"					
3	chr19	40739768	40739868	AKT2		
4	chr19	40740941	40741064	AKT2		
5	chr19	40741159	40741267	AKT2		
6	chr19	40741786	40742021	AKT2		
7	chr19	40742153	40742302	AKT2		
8	chr19	40743865	40744008	AKT2		
9	chr19	40744801	40744890	AKT2		
10	chr19	40745941	40746027	AKT2		
11	chr19	40747834	40747986	AKT2		
12	chr19	40748430	40748604	AKT2		
13	chr19	40761054	40761186	AKT2		
14	chr19	40762822	40762971	AKT2		
15	chr19	40771118	40771184	AKT2		
16	chr5	1.12E+08	1.12E+08	APC		
17	chr5	1.12E+08	1.12E+08	APC		
18	chr5	1.12E+08	1.12E+08	APC		
19	chr5	1.12E+08	1.12E+08	APC		
20	chr5	1.12E+08	1.12E+08	APC		
21	chr5	1.12E+08	1.12E+08	APC		

ターゲット領域を  
Bed ファイルの形式で出力したものです。  
UCSC Genome Browserなどで  
確認できます。

<Design name>\_ Report.txt

	A	B	C	D	E	F
1	# File Summary					
2	File Type: HaloPlex Design Report					
3	Created By: HaloPlex Standard Design Wizard					
4	User:					
5	Workgroup:					
6	Folder:					
7	Timestamp:					
8						
9	# Design Summary					
10	Design Name: Halodemo					
11	Design ID: 04818-1672020712					
12	Design Category: HaloPlex					
13	Species: H. sapiens (UCSC hg19, GRCh37, February 2009)					
14	Platform: Illumina					
15	Read Length: 100 bp					
16						
17	# Target Summary					
18	10 Target IDs resolved to 10 targets comprising 161 regions.					
19	0 Target IDs were not found.					
20	Region Size: 42.013 kbp					
21						

ターゲット領域をサーチする条件や  
サーチ結果をまとめたサマリレポートです。

<Design name>\_ Targets.txt

	A	B	C	D	E	F
1	# File Type: Input Targets File					
2	# Timestamp:					
3	# User:					
4	# Created By: HaloPlex Standard Design Wizard					
5	# Species: H. sapiens (UCSC hg19, GRCh37, February 2009)					
6						
7						
8	# Found IDs					
9	AKT2					
10	APC					
11	BCL3					
12	BCR					
13	BRCA1					
14	BRCA2					
15	CBL					
16	CCND1					
17	CDK4					
18	CSF1R					
19						
20						
21						

入力したターゲットの一覧です。  
ターゲットを再確認できます。

### 3-3 ターゲットの確認：UCSC Genome Browser によるターゲット領域の確認

**SureDesign** Help - Review Target

HaloPlex **Review Targets**

Define Design ✓  
Define Targets ✓  
▶ **Review Targets**  
Select Probes  
Finalize

**Target Summary**

- 10 Target IDs resolved to 10 targets comprising 161 regions.
- 0 Target IDs were not found.

**Target Details**

Target ID	# Regions	Base Pairs	Position
AKT2	13	1706	
APC	18	9171	
BCL3	9	1545	
BCR	23	4276	
BRCA1	23	6118	
BRCA2	26	10777	
CBL	16	3041	
CCND1	5	988	
CDK4	7	1052	
CSF1R	21	3339	

**UCSC Genome Browser on Human (GRCh37/hg19)**

move <<< << < > >> >>> zoom in 1.5x 3x 10x base zoom out 1.5x 3x 10x 100x

multi-region chr19:40,739,768-40,771,184 31,417 bp. gene, chromosome range, search terms, help pages, see example go examples

chr19 (q13.2) 19p13.3 19p13.2 p13.11 19p12 19q12 13.11 13.12 19q13.2 13.32 13.33 13.43

Scale chr19: | 40,745,000 | 40,750,000 | 40,755,000 | 40,760,000 | 40,765,000 | 40,770,000 |

10 kb hg19

Agilent HaloPlex - Halodemo - Target regions of interest given as input to probe selection

Reference Assembly Fix Patch Sequence Alignments

Reference Assembly Alternate Haplotype Sequence Alignments

UCSC Genes (RefSeq, GenBank, CCDS, Rfam, tRNAs & Comparative Genomics)

AKT2 AKT2 AKT2 AKT2 AKT2

RefSeq genes from NCBI

Sequences SNPs

Publications: Sequences in Scientific Articles

**HaloPlex Design**

Name: Halodemo  
Species: H. sapiens (hg19)  
Category: HaloPlex

**Target Regions**

# Regions: 161  
Size: 42,013 kbp

**Sequenced Regions**

# Amplicons: NA  
Size: NA  
Price Tier: NA  
Coverage: NA

UCSC View Download

【View targets in UCSC】をクリックすると、UCSC Genome Browser に、SureDesign が見つけたターゲットが表示されたウェブページが開きます。

ターゲット領域が  
カスタムトラックとして表示されます。

## 3-3 ターゲットの確認：ターゲット領域の確認の完了、デザイン開始

**SureDesign** Help - Review Target

HaloPlex **Review Targets**

Define Design ✓  
Define Targets ✓  
▶ **Review Targets**  
Select Probes  
Finalize

**HaloPlex Design**  
Name: Halodemo  
Species: H. sapiens (hg19)  
Category: HaloPlex

**Target Regions**  
# Regions: 161  
Size: 42.013 kbp

**Sequenced Regions**  
# Amplicons: NA  
Size: NA  
Price Tier: NA  
Coverage: NA

UCSC View Download

**Target Summary**

- 10 Target IDs resolved to 10 targets comprising 161 regions.
- 0 Target IDs were not found.

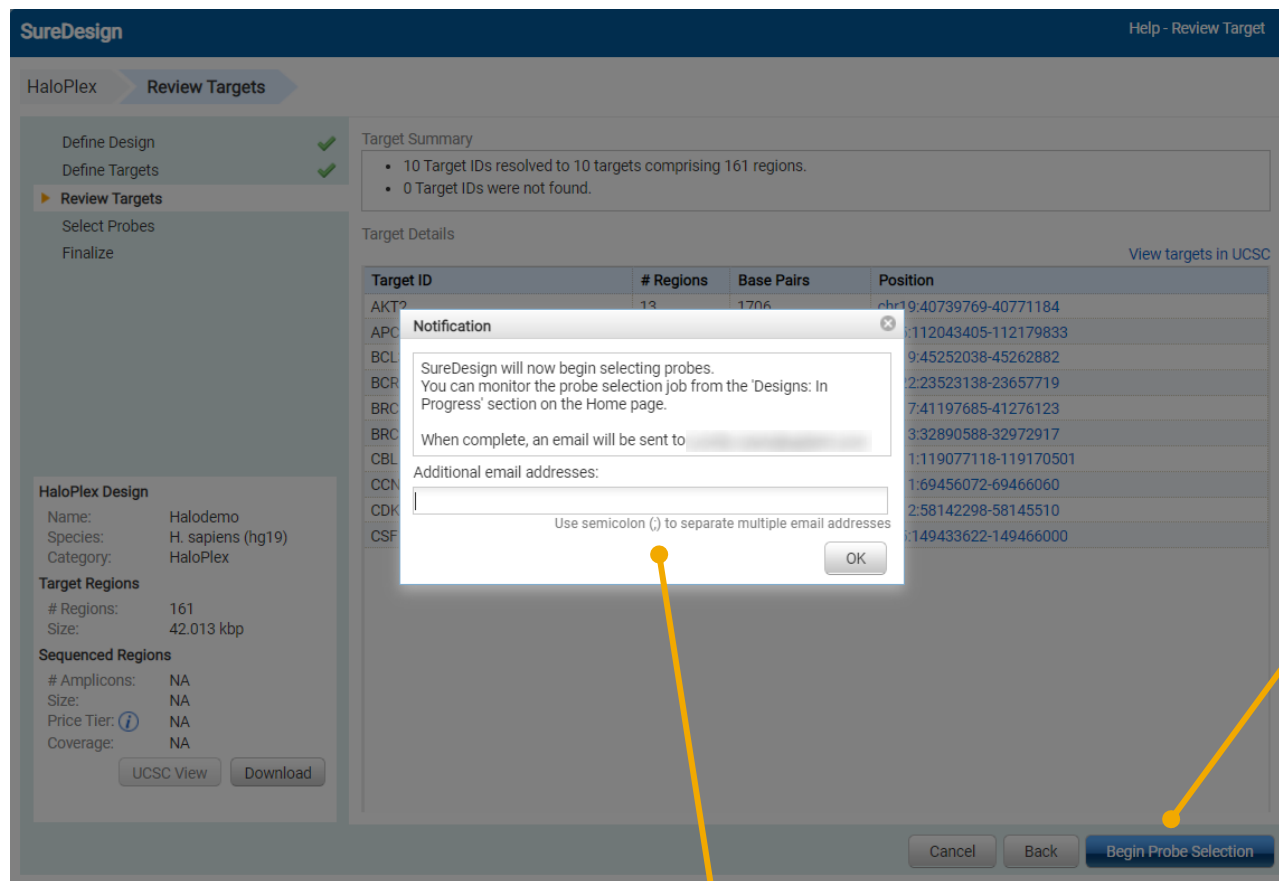
**Target Details** [View targets in UCSC](#)

Target ID	# Regions	Base Pairs	Position
AKT2	13	1706	<a href="#">chr19:40739769-40771184</a>
APC	18	9171	<a href="#">chr5:112043405-112179833</a>
BCL3	9	1545	<a href="#">chr19:45252038-45262882</a>
BCR	23	4276	<a href="#">chr22:23523138-23657719</a>
BRCA1	23	6118	<a href="#">chr17:41197685-41276123</a>
BRCA2	26	10777	<a href="#">chr13:32890588-32972917</a>
CBL	16	3041	<a href="#">chr11:119077118-119170501</a>
CCND1	5	988	<a href="#">chr11:69456072-69466060</a>
CDK4	7	1052	<a href="#">chr12:58142298-58145510</a>
CSF1R	21	3339	<a href="#">chr5:149433622-149466000</a>

Cancel Back **Begin Probe Selection**

ターゲット領域の確認が完了したら  
【**プローブ選択の開始**】をクリックします。  
プローブデザインの画面に進みます。

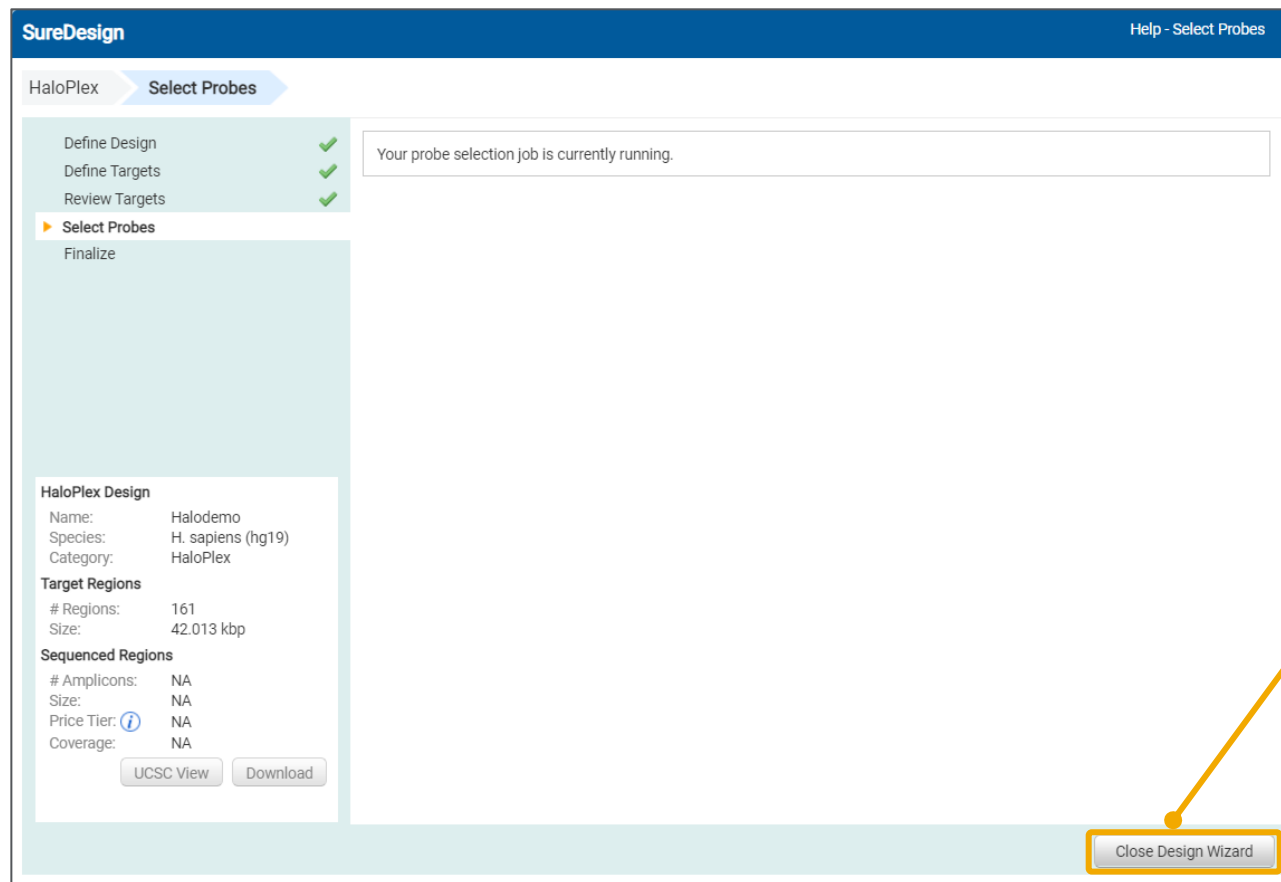
## 3-4 パラメータの入力：プローブデザインの開始



プローブデザインのパラメータを設定したら、**【プローブ選択の開始】**をクリックしてプローブデザインをスタートさせます。

プローブデザインにはある程度の時間がかかります。  
プローブデザインが完了すると、SureDesign に登録されているメールアドレスに、メールで完了のお知らせがきます。  
もし別のメールアドレスでの受信が必要な場合には、ここでメールアドレスを入力します。

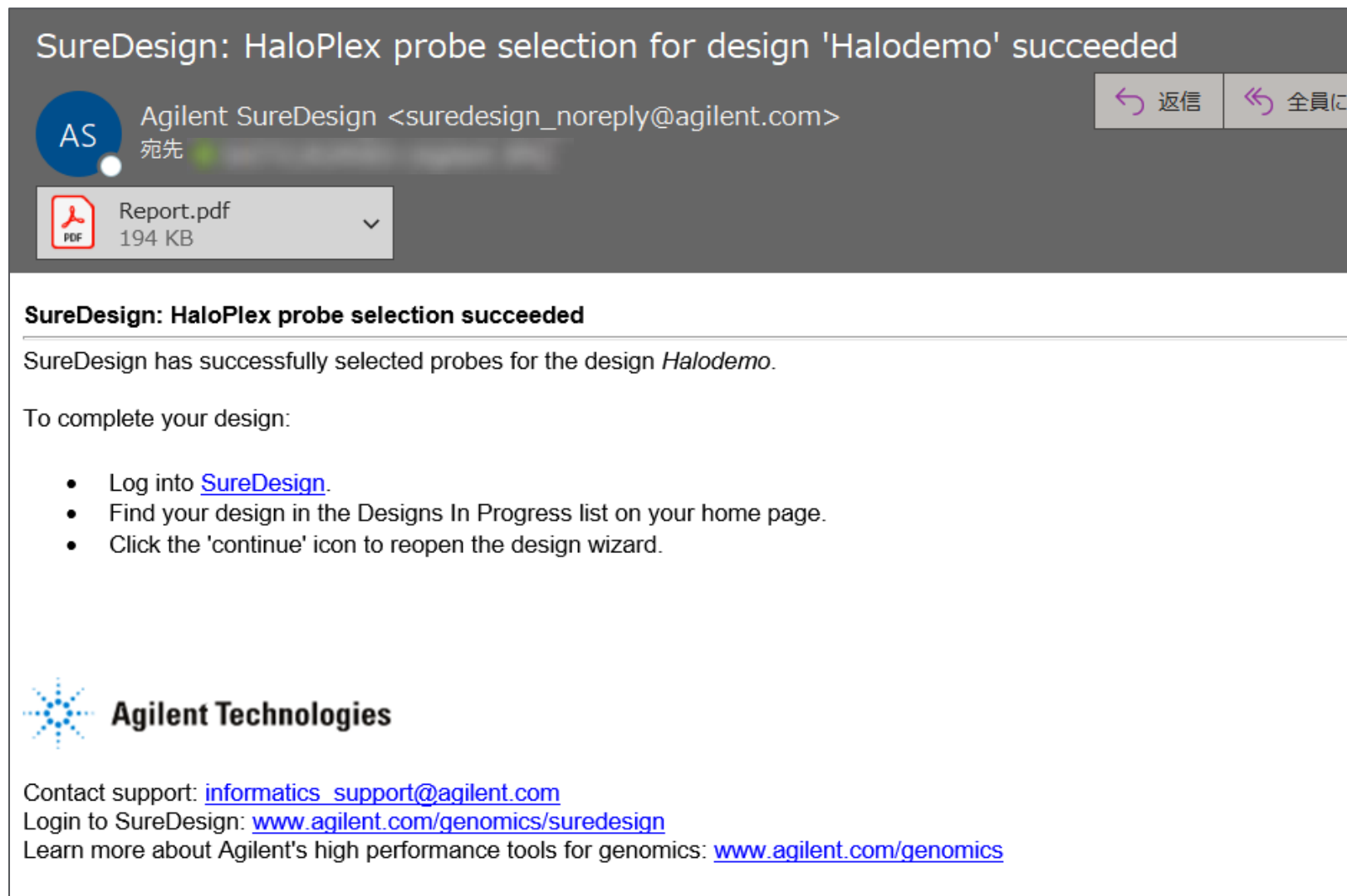
## 3-4 パラメータの入力：プローブデザインの開始



【デザインウィザードを閉じる】をクリックして、この画面を閉じます。

## 3-5 プローブデザインの確認

プローブデザインが完了すると、下記のメールが登録されたメールアドレスに届きます。



添付レポートでデザインの結果を確認した後に、再度 SureDesign にログインして、次のステップに進みます。



## 3-5 Reportによるプローブデザインの確認

### Design Information

Design Name: Halodemo

Design ID: [REDACTED]

Design Category: HaloPlex

Species: H. sapiens (UCSC hg19, GRCh37, February 2009)

Platform: Illumina

Read Length: 100 bp

リード長が使用予定のシーケンサ・試薬に適合していることを確認します。

### Target Summary

10 Target IDs resolved to 10 targets comprising 161 regions.

0 Target IDs were not found.

Region Size : 42.013 kbp

Not Found になっているターゲットがないことを確認します。

### Amplicon Summary

Total Amplicons: 2732

Total Target Bases Analyzable: 41.34 kbp

Total Sequenceable Design Size: 89.42 kbp

Target Coverage: 98.40 %

Recommended Minimum Sequencing per Sample: 17.88 Mbp

Pricing: Illumina Tier 1 (Target Region Size = 0 - 500 kbp; up to 15K probes).

P/N: G9901B/C

トータルのプローブの数とサイズ、Pricing Tier を確認します。

推奨シーケンス量を確認します。

### Target Parameters

Databases: RefSeq, CCDS

Region: Coding Exons

Region Extension: 10 bases from 3' end and 10 bases from 5' end.

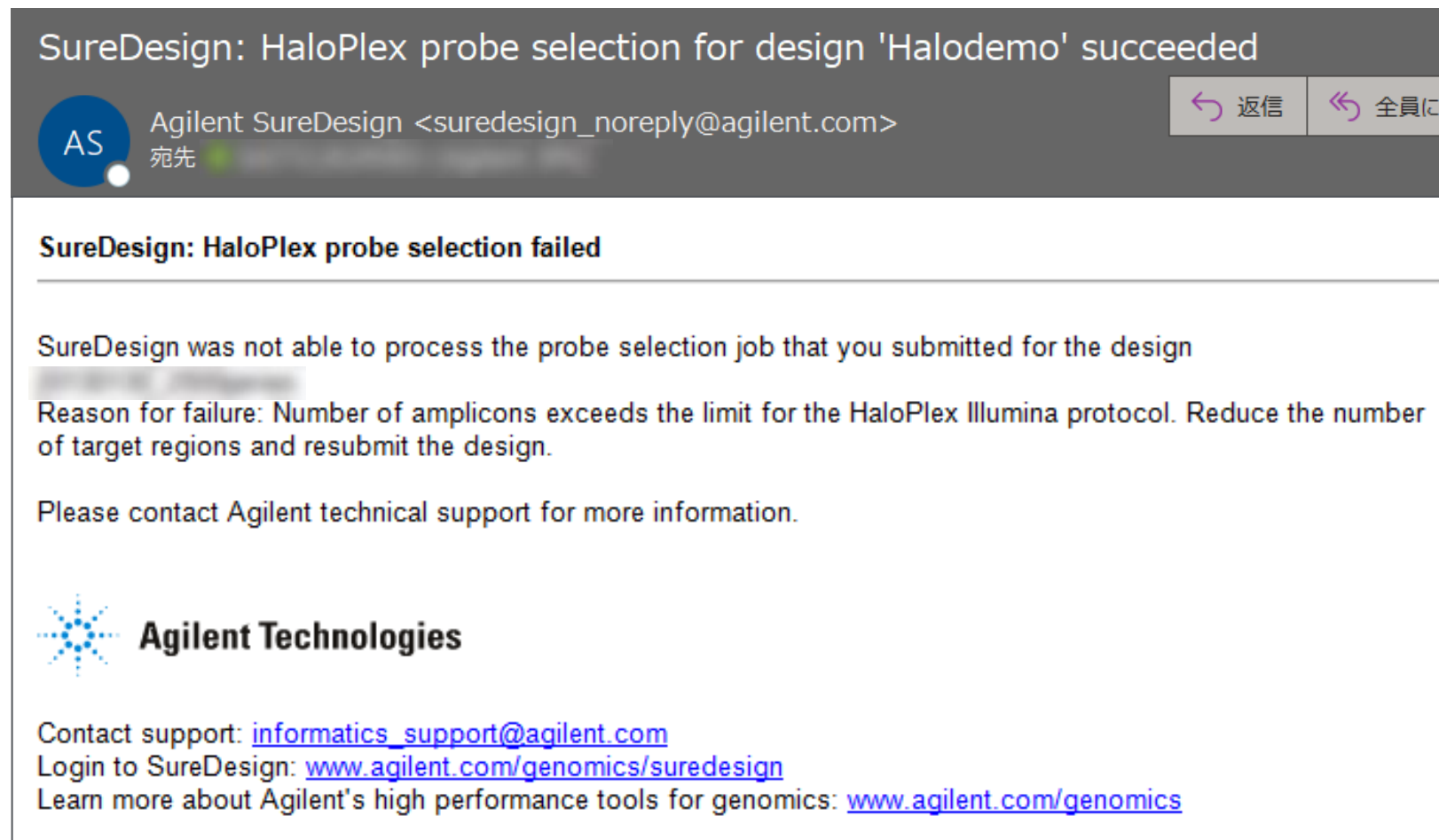
Allow Synonyms: No

設定パラメータを確認します。



## 3-5 プローブデザインの確認：プローブ数が上限を超えた場合

プローブデザインが完了すると、下記のメールが登録されたメールアドレスに届きます。



HaloPlex で1つのデザインに含めることのできるプローブ数は最大 200,000個です。入力したターゲット領域に対してデザインされるプローブ数が 200,000を超えると、左記のメールが届きます。

ターゲット領域を減らして再度デザインしてください。

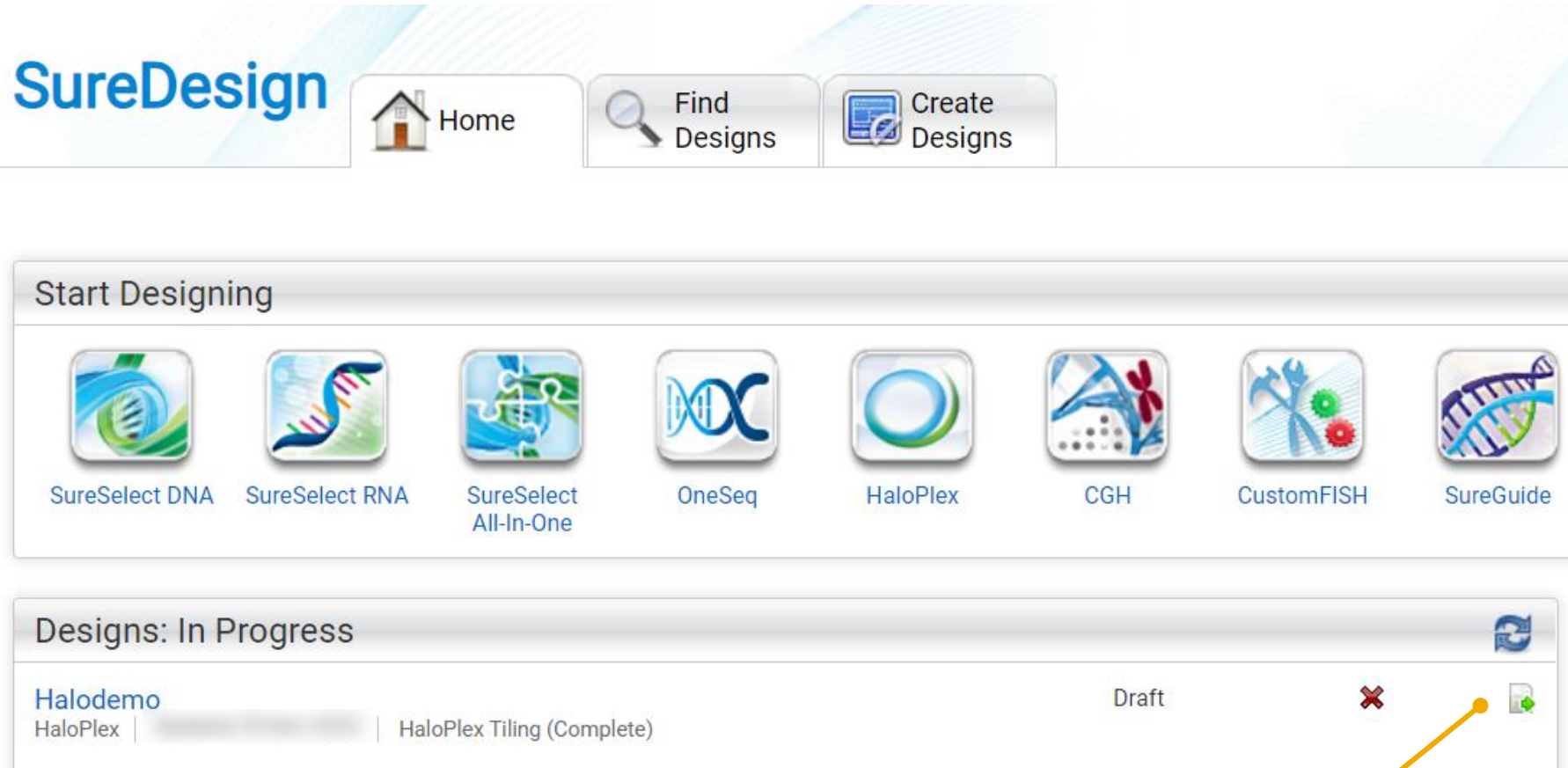
## 3-5 Reportによるプローブデザインの確認

### Design Details

遺伝子ごと、領域ごとに Design Coverage が表示されます。

Target ID	Regions	Coverage	High Coverage ( ≥ 90%)	Low Coverage ( < 90%)
AKT2	13	100.00 %	13	0
APC	18	98.74 %	16	2
BCL3	9	100.00 %	9	0
BCR	23	99.04 %	22	1
BRCA1	23	96.62 %	22	1
BRCA2	26	97.95 %	25	1
CBL	16	97.60 %	15	1
CCND1	5	100.00 %	5	0
CDK4	7	99.71 %	7	0
CSF1R	21	99.70 %	21	0

## 3-6 ファイナライズ



ホームタブの【デザイン作成：進行中】中のデザインで Continue ボタンをクリックして、次のステップに進みます。

## 3-6 ファイナライズ：プローブデザインの確認

**SureDesign** Help - Finalize Design

HaloPlex **Finalize**

Define Design ✓  
Define Targets ✓  
Review Targets ✓  
Select Probes ✓  
▶ **Finalize**

You are now ready to finalize this design. After finalizing:

- The design can no longer be modified.
- A design ID will be assigned.
- Design information will be sent to Agilent's manufacturing facility. Manufacturing will not begin until you have submitted a purchase order.

Target Details

Target ID	Interval	Length	Coverage	# Regions	# Good Coverage
-----------	----------	--------	----------	-----------	-----------------

**HaloPlex Design**

Name: Halodemo  
Species: H. sapiens (hg19)  
Category: HaloPlex

**Target Regions**

# Regions: 161  
Size: 42.013 kbp

**Sequenced Regions**

# Amplicons: 2732  
Size: 89.424 kbp  
Price Tier: ⓘ Tier 1  
Coverage: 98.40 %

UCSC View Download

レポートおよび左記のデザインサマリにて、プローブデザインを再確認します。特に Price Tier（サイズとプローブ数によって価格帯が変わります）が予想した価格帯のサイズになっているかどうか、再度ご確認ください。

デザインを再度変更したい場合は Modify Design を、このまま最終確定する場合は Finalize Design をそれぞれクリックします。ファイナライズすると、このデザイン情報はアジレントの製造部に送られますが、実際にオーダーするまでは製造は開始されません。

Modify Design Finalize Design

## 3-6 ファイナライズ：ダウンロードしたファイルによるプローブデザインの確認

デザインの変更・ファイナライズ前にデザインファイルをダウンロードできます。

7ファイルをダウンロードして確認します。  
各ファイルの詳細は次ページで説明します。

**Download**

Name: Halodemo  
Species: H. sapiens (hg19)

Please select files to download.

- ☒ 04818-1672020712
  - ☒ 04818-1672020712\_Report.pdf
  - ☒ Halodemo\_AllTracks.bed
  - ☒ Halodemo\_Amplicons.bed
  - ☒ Halodemo\_Covered.bed
  - ☒ Halodemo\_Regions.bed
  - ☒ Halodemo\_Report.txt
  - ☒ Halodemo\_Targets.txt

Close Download

**Haloplex Design**

Name: Halodemo  
Species: H. sapiens (hg19)  
Category: Haloplex

**Target Regions**

# Regions: 161  
Size: 42.013 kbp

**Sequenced Regions**

# Amplicons: 2732  
Size: 89.424 kbp  
Price Tier: Tier 1  
Coverage: 98.40 %

UCSC View Download

Coverage	# Regions	# Good Coverage
100	13	13
98.74	18	16
100	9	9
99.04	23	22
96.62	23	22
97.95	26	25
97.6	16	15
100	5	5
99.71	7	7
99.7	21	21

Modify Design Finalize Design

# 3-6 ファイナライズ：ダウンロードしたファイルによるプローブデザインの確認

&lt;Design ID&gt;\_Amplicons.bed

	A	B	C	D	E	F
1	browser position chr19:40739769-40739868					
2	track name="Amplicons" description="Agilent HaloPlex - Halodemo Amplicons" c					
3	chr5	112043217	112043665	AM_j500162_000001	1000	-
4	chr5	112043300	112043433	AM_j500162_000002	1000	+
5	chr5	112043312	112043509	AM_j500162_000003	1000	-
6	chr5	112043312	112043509	AM_j500162_000004	1000	+
7	chr5	112043351	112043590	AM_j500162_000005	1000	+
8	chr5	112043360	112043410	AM_j500162_000006	1000	-

Design に含まれる Amplicon の位置情報を記載した bed ファイル

14	chr5	112043480	112043579	AM_j500162_000012	1000	+
15	chr5	112043509	112043620	AM_j500162_000013	1000	-
16	chr5	112043531	112043660	AM_j500162_000014	1000	-
17	chr5	112043557	112043667	AM_j500162_000015	1000	-
18	chr5	112073943	112074096	AM_j500162_000634	1000	-
19	chr5	112073949	112074234	AM_j500162_000635	1000	+
20	chr5	112073952	112074237	AM_j500162_000636	1000	-
21	chr5	112074007	112074125	AM_j500162_000637	1000	+

&lt;Design ID&gt;\_ Covered.bed

	A	B	C	D	E	F
1	browser position chr19:40739769-40739868					
2	track name="Covered" description="Agilent HaloPlex - Halodemo - C					
3	chr5	112043222	112043662	APC		
4	chr5	112073948	112074319	APC		
5	chr5	112090396	112090847	APC		
6	chr5	112101685	112101780	APC		
7	chr5	112101940	112102232	APC		
8	chr5	112102669	112102764	APC		

Design でカバーされる領域の位置情報を記載した bed ファイル

14	chr5	112128033	112128345	APC		
15	chr5	112128360	112128455	APC		
16	chr5	112136744	112136839	APC		
17	chr5	112136873	112137148	APC		
18	chr5	112137189	112137284	APC		
19	chr5	112150987	112151125	APC		
20	chr5	112151155	112151464	APC		
21	chr5	112154428	112154524	APC		

&lt;Design ID&gt;\_ Regions.bed

	A	B	C	D	E	F
1	browser position chr19:40739769-40739868					
2	track name="Target Regions" description="Agilent HaloPlex - Halod					
3	chr19	40739768	40739868	AKT2		
4	chr19	40740941	40741064	AKT2		
5	chr19	40741159	40741267	AKT2		
6	chr19	40741786	40742021	AKT2		
7	chr19	40742153	40742302	AKT2		
8	chr19	40743865	40744008	AKT2		

最初に Input したターゲット領域の位置情報を記載した bed ファイル

14	chr19	40762822	40762971	AKT2		
15	chr19	40771118	40771184	AKT2		
16	chr5	112043404	112043589	APC		
17	chr5	112074087	112074167	APC		
18	chr5	112090577	112090732	APC		
19	chr5	112102012	112102117	APC		
20	chr5	112102875	112103097	APC		
21	chr5	112111315	112111444	APC		

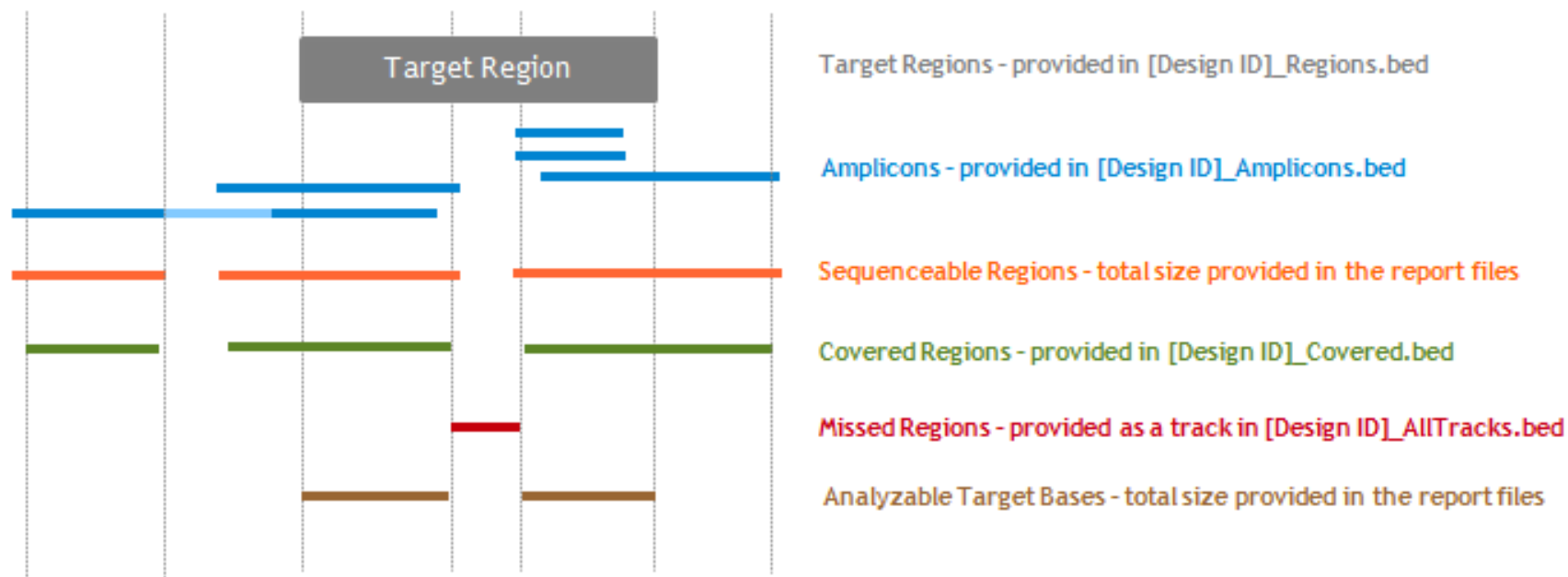
&lt;Design ID&gt;\_ AllTracks.bed

	A	B	C	D	E	F
1	browser position chr19:40739769-40739868					
2	track name="Target Regions" description="Agilent HaloPlex - Halod					
3	chr19	40739768	40739868	AKT2		
4	chr19	40740941	40741064	AKT2		
5	chr19	40741159	40741267	AKT2		
6	chr19	40741786	40742021	AKT2		
7	chr19	40742153	40742302	AKT2		

Amplicon、Covered、Regions、Missed (プローブでカバーされなかったターゲット) の4トラックの情報を含むbed ファイル

15	chr19	40771118	40771184	AKT2		
16	chr5	112043404	112043589	APC		
17	chr5	112074087	112074167	APC		
18	chr5	112090577	112090732	APC		
19	chr5	112102012	112102117	APC		
20	chr5	112102875	112103097	APC		
21	chr5	112111315	112111444	APC		

## 3-6 ファイナライズ：デザインの最終確認



- Target Regions
- Amplicons
- Sequenceable Regions
- Covered Regions
- Missed Regions
- Analyzable Regions

ターゲット領域の位置情報： [Design ID]\_Regions.bed に記載されています。

実際に増幅されるアンプリコンの位置情報： [Design ID]\_Regions.bed に記載されています。

Amplicon の位置情報とリード長から計算された、実際にシーケンスされる領域  
この領域の合計が、Report.pdf ファイルの "Total Sequenceable Design Size" となります。

Sequenceable Regionの両端を 5 bp ずつ削った領域。  
両端 5 bp は制限酵素認識サイトのためバイアスがかかる可能性があり、解析可能領域からは除外しています。  
[Design ID]\_Covered.bed に記載にされています。

解析できない領域： [Design ID]\_AllTracks.bed の中のトラックとして記載されています。

Target Region のうち、Covered に入っている領域  
この領域の合計が、Report.pdf ファイルの "Total Target Bases Analyzable" となります。



## 3-6 ファイナライズ：ダウンロードしたファイルによるプローブデザインの確認

<Design ID>\_ Report.txt

```
ファイル(F) 編集(E) 検索(S) 表示(V) 比較(C) マクロ(M) ツール(T) ウィンドウ(W) ヘルプ(H)
Halodemo_Report.txt x
1 # File Summary
2 File Type: HaloPlex Design Report
3 Created By: HaloPlex Standard Design Wizard
4 User:
5 Workgroup:
6 Folder:
7 Timestamp:
8
9 # Design Summary
10 Design Name: Halodemo
11 Design ID:
12 Design Category: HaloPlex
13 Species: H. sapiens (UCSC hg19, GRCh37, February 2009)
14 Platform: Illumina
15 Read Length: 100 bp
16
17 # Target Summary
18 10 Target IDs resolved to 10 targets comprising 161 regions.
19 0 Target IDs were not found.
20 Region Size: 42.013 kbp
21
```

Design のサマリーを記載した  
テキストファイル

<Design ID>\_Report.pdf



Design のサマリーを記載した PDF ファイル  
メールで到着するものと同じ内容

<Design ID>\_ targets.txt

```
ファイル(F) 編集(E) 検索(S) 表示(V) 比較(C) マクロ(M) ツール(T) ウィンドウ(W) ヘルプ(H)
Halodemo_Targets.txt x
1 # File Type: Input Targets File
2 # Timestamp:
3 # User:
4 # Created By: HaloPlex Standard Design Wizard
5 # Species: H. sapiens (UCSC hg19, GRCh37, February 2009)
6
7
8 # Found IDs
9 AKT2
10 APC
11 BCL3
12 BCR
13 BRCA1
14 BRCA2
15 CBL
16 CCND1
17 CDK4
18 CSF1R
19
20
21
```

最初に Input した  
ターゲットの内容



## 3-6 ファイナライズ : UCSC Genome Browser によるプローブデザインの最終確認

**SureDesign** Help - Finalize Design

HaloPlex **Finalize**

Define Design ✓  
Define Targets ✓  
Review Targets ✓  
Select Probes ✓  
▶ **Finalize**

You are now ready to finalize this design. After finalizing:

- The design can no longer be modified.
- A design ID will be assigned.
- Design information will be sent to Agilent's manufacturing facility. Manufacturing will not begin until you have submitted a purchase order.

**UCSC Genome Browser on Human (GRCh37/hg19)**

move <<< << < > >> >>> zoom in 1.5x 3x 10x base zoom out 1.5x 3x 10x 100x

multi-region chr19:40,739,768-40,771,184 31,417 bp. gene, chromosome range, search terms, help pages, see example go examples

chr19 (q13.2) 19p13.3 19p13.2 p13.11 19p12 19q12 13.11 13.12 19q13.2 13.32 13.33 13.43

Scale chr19: 40,745,000 40,750,000 40,755,000 40,760,000 hg19 40,765,000 40,770,000

Target Regions  
Covered  
Missed

Agilent HaloPlex - Halodemo - Target regions of interest given as input to probe selection  
Agilent HaloPlex - Halodemo - Genomic regions expected to be amplified  
Agilent HaloPlex - Halodemo - Target regions of interest that will not be amplified  
Agilent HaloPlex - Halodemo Amplicons

Reference Assembly Fix Patch Sequence Alignments  
Reference Assembly Alternate Haplotype Sequence Alignments  
UCSC Genes (RefSeq, GenBank, CCDS, Rfam, tRNAs & Comparative Genomics)

AKT2 AKT2 AKT2 AKT2 AKT2 AKT2

**UCSC View** Download

**HaloPlex Design**  
Name: Halodemo  
Species: H. sapiens (hg19)  
Category: HaloPlex

**Target Regions**  
# Regions: 161  
Size: 42.013 kbp

**Sequenced Regions**  
# Amplicons: 2732  
Size: 89.424 kbp  
Price Tier: Tier 1  
Coverage: 94.40 %

UCSC View

【UCSC View】をクリックすると、UCSC Genome Browser に、デザインの内容が表示されたウェブページが開きます。

## 3-6 ファイナライズ

**SureDesign** Help - Design Complete

SureSelect DNA **Finalize**

Define Design ✓  
Define Targets ✓  
Review Targets ✓  
Enter Parameters ✓  
Select Probes ✓  
▶ Finalize

You are now ready to finalize this design. After finalizing:

- The design can no longer be modified.
- A design ID will be assigned.
- Design information will be sent to Agilent's manufacturing facility. Manufacturing will not begin until you have submitted a purchase order.

**Target Details**

Target ID
ARHGAP9
C9ORF24
CASK
COL27A1
CWH43
ELL
FFAR3
GART
IL1RL1
IL23R
KRTAP5-7
NKX2-6
OCIAD1

**SureSelect DNA Design**

Name: Oncogene  
Species: H. sapiens (hg19)  
Category: SureSelect DNA  
Hybridization: 90 Minutes

**Target Regions**

# Regions: 206  
Size: 30.523 kbp

**Probes**

# Probes: 1455  
Size: 46.731 kbp  
Price Tier: Tier 1  
Coverage: 98.89 %

UCSC View Download

レポートおよび左記のデザインサマリにてプローブデザインを再確認します。特に【価格の階層】（サイズによって価格帯が変わります）は、予想した価格帯のサイズになっているかどうか、必ず再確認ください。

デザインを再度変更したい場合は【デザインの変更】を、このまま最終確定する場合は【デザインのファイナライズ】をクリックします。ファイナライズすると、このデザイン情報はアジレントの製造部に送られますが、実際にオーダーするまでは製造は開始されません。

※この画面が最終確認となります。ご注意ください。

Modify Design Finalize Design

## 3-6 ファイナライズ

SureDesignHelp - Design Complete

SureSelect DNAFinalize

Define Design

Define Targets

Review Targets

Enter Parameters

Select Probes

Finalize

SureSelect DNA Design

Name: Oncogene

Species: H. sapiens (hg19)

Category: SureSelect DNA

Hybridization: 90 Minutes

Target Regions

# Regions: 206

Size: 30.523 kbp

Probes

# Probes: 1455

Size: 46.731 kbp

Price Tier: Tier 1

Coverage: 98.89 %

UCSC View

Download

You are now ready to finalize this design. After finalizing:

- The design can no longer be modified.
- A design ID will be assigned.
- Design information will be sent to Agilent's manufacturing facility. Manufacturing will not begin until you have submitted a purchase order.

Target Details

Target ID
ARHGAP9
C9ORF24
CASK
COL27A1
CWH43
ELL
FFAR3
GART
IL1RL1
IL23R
KRTAP5-7
NKX2-6
OCIAD1

chr8:23559954-23564121	946	100	2	2
chr4:48833529-48862789	972	97.74	10	9

Modify Design

Finalize Design

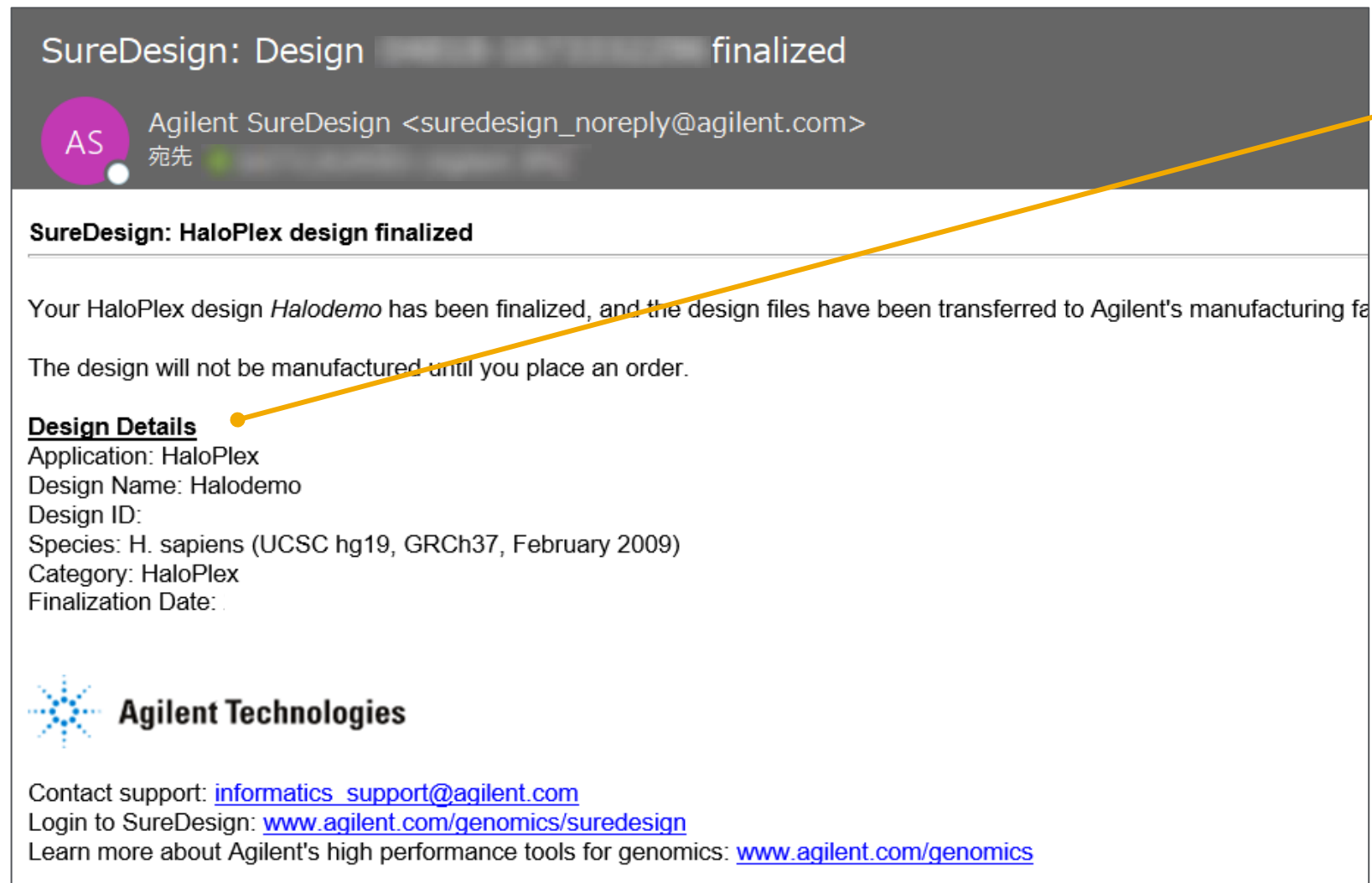
レポートおよび左記のデザインサマリにてプローブデザインを再確認します。特に【価格の階層】（サイズによって価格帯が変わります）は、予想した価格帯のサイズになっているかどうか、必ず再確認ください。

デザインを再度変更したい場合は【デザインの変更】を、このまま最終確定する場合は【デザインのファイナライズ】をクリックします。ファイナライズすると、このデザイン情報はアジレントの製造部に送られますが、実際にオーダーするまでは製造は開始されません。

※この画面が最終確認となります。ご注意ください。

## 3-6 ファイナライズ

デザインがファイナライズされたことをお知らせするメールが、登録されているメールアドレス宛に送信されます。



このメールには以下の情報が記載されています。

- Application 名
- デザイン名
- Design ID
- 生物種
- Finalize した日

## 3-6 ファイナライズ：デザインの確認

**SureDesign** Help - Design Complete

HaloPlex Design Complete

Your HaloPlex design is now complete.

Name: Halodemo  
Design ID: 04818-1672020712  
Species: H. sapiens (UCSC hg19, GRCh37, February 2009)

# Target Regions: 161  
Total Target Regions Size: 42,013 kbp

# Amplicons: 2732  
Total sequenced regions size: 89,424 kbp  
Price Tier: Tier 1  
Coverage: 98.40 %

Your design has been saved in the workgroup folder.

**Order** Mark as Favorite **Download** UCSC View

Exit Design Wizard

ファイナライズしたデザインを確認します。

デザイン詳細を【**ダウンロード**】ボタンから取得できます。ここでダウンロードできるファイルは前ステップでダウンロードしたファイルと同じ内容になります。

【**お気に入りに設定する**】ボタンを押すと、ホームタブの【**デザイン作成：最近作成したもの・お気に入り**】欄に表示されます。

このデザインで発注するための見積を依頼する場合、この【**Order**】をクリックします。

## 3-7 デザインサービス

ターゲットとする遺伝子やゲノム領域のリストをお預かりして、HaloPlex のデザインを代行するデザインサービス（無料）もご用意しています。

下記のような複雑な条件設定が必要な際などに、ぜひご利用ください。

- 遺伝子によって、Coding Exon のみ、UTR ありなど、条件を変更したい
- Synonym を除いて設計したい
- Non coding RNA も設計に含めたい

ターゲット遺伝子やゲノム領域のリスト（次ページ以降参照）をご用意いただきまして、担当営業あてにお問い合わせください。



## 3-7 デザインサービス：お知らせいただく内容②

### ●ターゲット領域の情報：ゲノム位置情報の場合

下記 A または B のいずれかのフォーマットのリストをご用意ください。

フォーマットから、塩基の数が判断されます。フォーマットが異なると、意図した領域と 1 bp ずれが生じますのでご注意ください。

#### A : Browser format

染色体の最初の塩基を「1番目」として、何番目の塩基までという指定方法です。(one-based, closed)  
タブまたはスペースで区切って領域に ID をつけることができます。いくつかの領域に同じ ID をつけることも可能です。

下記フォーマットに従い、1行に1 interval 記載します。

```
chr18:48573407-48573675  MyGene1
chr18:48575046-48575240  MyGene1
```

#### B : Bed format

染色体の最初の塩基を「0番目」として扱い、終わりのポジションを1つ次の番号で指定します。(zero-based, half open)  
タブまたはスペースで区切って4番目のカラムに領域の ID を入力することができます。いくつかの領域に同じ ID をつけることも可能です。

下記フォーマットに従い、1行に1 interval 記載します。

```
chr18    48573406    48573675    MyGene2
chr18    48575045    48575240    MyGene2
```



## 4. カスタムデザインのオーダー

## 4 カスタムデザインのオーダー（見積依頼）

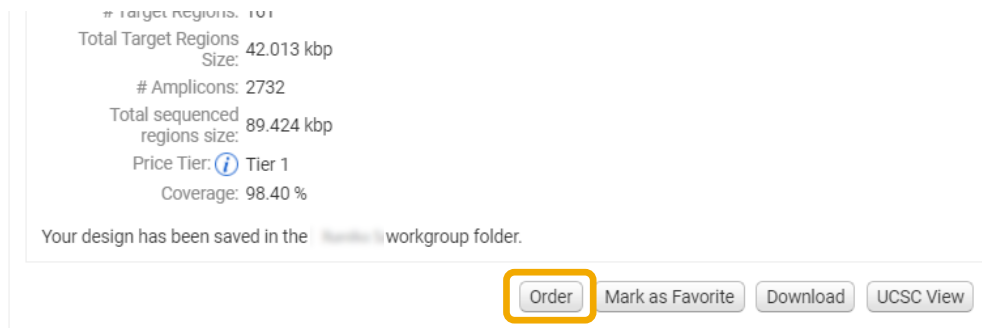
これ以降の操作につきましては、購入方法の資料もご参考ください。

SureDesign 日本語資料サイト内「購入方法」

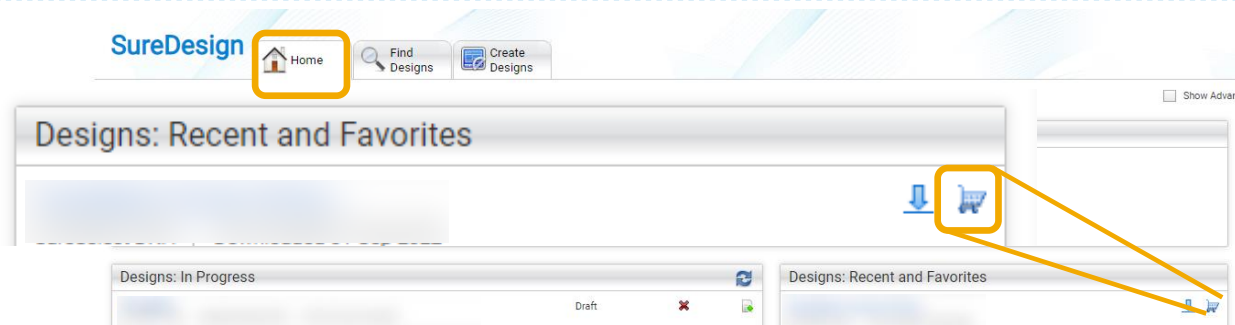
<http://www.chem-agilent.com/contents.php?id=1002474>

# オーダー（見積依頼）

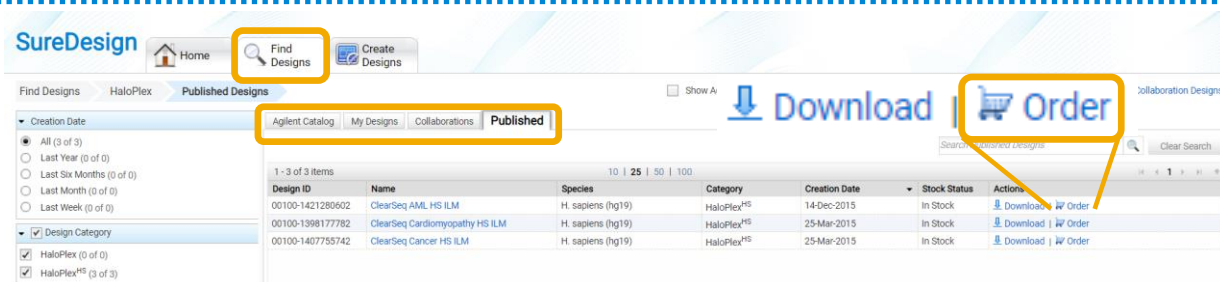
1) 見積画面に進むには、3つの方法があります。下記方法 A、B、C のいずれかで見積画面に入ります。



**方法 A** ; 前項の続き画面から手配する場合  
【Order】ボタンをクリックします。



**方法 B** ; ホームタブの【デザイン作成：最近作成したもの・お気に入り】の中から該当するデザインの Order ボタンをクリックします。



**方法 C** ; デザイン検索タブの【マイデザイン】タブ（もしくは【コラボレーション】タブや【パブリッシュド】タブ）の中の該当するデザインの【アクション】欄にある Order ボタンをクリックします。

## 2) 見積内容を設定します。

The screenshot shows the 'Order' tab of the SureDesign HaloPlex interface. The form includes fields for Design Name, Design ID, Quantity (set to 1), Sequencing Platform (Illumina), Automation Kit (unchecked), Sample size (set to 48), and Design Part Number (G9901C). A callout box with three bullet points explains the fields: Quantity (number of kits), Automation Kit (select if used), and Sample Size (number of samples per kit, with an example of 48). The bottom of the form has 'Add to Cart', 'Request a Quote', and 'Cancel' buttons. A note at the bottom left states that HaloPlex designs are not compatible with HaloPlex<sup>HS</sup>.

**SureDesign** Help - Order

HaloPlex **Order**

Design Name:

Design ID:

\* Quantity:

Sequencing Platform: Illumina

Automation Kit: ☐

Sample size:

Design Part Number: G9901C

Note: HaloPlex designs are not compatible with HaloPlex<sup>HS</sup>. Please re-design this library as a HaloPlex<sup>HS</sup> library if you wish to upgrade your platform.

**Callout Box:**

- 数量：注文するデザインのキットの個数を設定します。  
(例えば 96 reaction 反応の試薬を 2 セット頼む場合、ここは 2 を入力します。)
- 自動化キット：  
お使いの自動化キットがある場合は選択します。
- サンプルサイズ：キットの 1 キットあたりのサンプル数を選択します。  
左図の 48 とは、一種類のデザインを 48 サンプルの解析にしようすることを意味します。  
(例えば 48 reaction の試薬を 2 セット購入する場合、  
Sample Size は 48 を選択し、Quantity を 2 と入力します)

**SureDesign** Help - Order

HaloPlex **Order**

Design Name: [Redacted]  
Design ID: 04818-1672020712  
\* Quantity: 1  
Sequencing Platform: Illumina  
Automation Kit: ☐  
Sample size: 48  
Design Part Number: G9901C

Note: HaloPlex designs are not compatible with HaloPlex<sup>HS</sup>. Please re-design this library as a HaloPlex<sup>HS</sup> library if you wish to upgrade your platform.


Workaround Name: [Redacted]  
Company Name: [Redacted]  
Company Number: [Redacted]

You are currently logged into SureDesign.  
SureDesign shares a shopping cart with the Agilent 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.

3) 【見積の依頼】ボタンをクリックします。

\*【カートに追加】ボタンは日本ではご利用いただけません。

**Request quote successful** ×

 Thank You. Your request quote is submitted. You will receive email which re-confirm this quote request. An Agilent sales representative will soon contact you.

4) 【見積の依頼が完了しました】のボックスが表示されますので【閉じる】ボタンで閉じてください。

## SureDesign: Request for quote

We have received your request-for-quote for the following HaloPlex kit:

### Design Details

Design ID: [REDACTED]  
Design Name: [REDACTED]  
Species: H. sapiens

### Kit Details

Sequencing Platform: Illumina  
# Samples: 48  
Quantity: 1  
Design Part Number: G9901C



標準納期は  
発注後約6～8週間です。

5) 見積請求が送信された旨、メールが到着します。

差出人 ; Agilent SureDesign [suredesign\_noreply@agilent.com]

タイトル ; SureDesign: Request for quote for HaloPlex kit received

内容 ; デザイン情報および見積もり依頼で設定いただいた内容

6) アジレントの担当営業もしくは取り扱い販売店から  
見積金額の提示 → 発注へ  
\* 発注の際の注意事項は別紙をご参考ください。

# お問い合わせ先

## ● 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](mailto:email_japan@agilent.com)

電話・メール受付時間：土・日・祝祭日・5/1を除く、9:00～12:00 および 13:00～17:00

※「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。



# Agilent

Trusted Answers