

本日の内容

- ▶ TruSeqカスタムアンプリコンの概要
- ▶ ワークフロー
 - DesignStudioによるカスタムアンプリコンの設計
 - 実験に必要な準備品、ワークフロー
 - シーケンス後のデータ解析用ソフトウェア
- ▶ TruSeqカスタムアンプリコンのパフォーマンス

GTATCATTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAACCGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTC
AGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATT
CGTGC AACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATT
ICTTCTTAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTC
CAACGTAACAGTAACACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTC
ATTAACGTACCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTC
GTATCATTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTC

ATTGA
GTAA
CAAC
CGTAT
ATTGA
ACGT
ATTGA

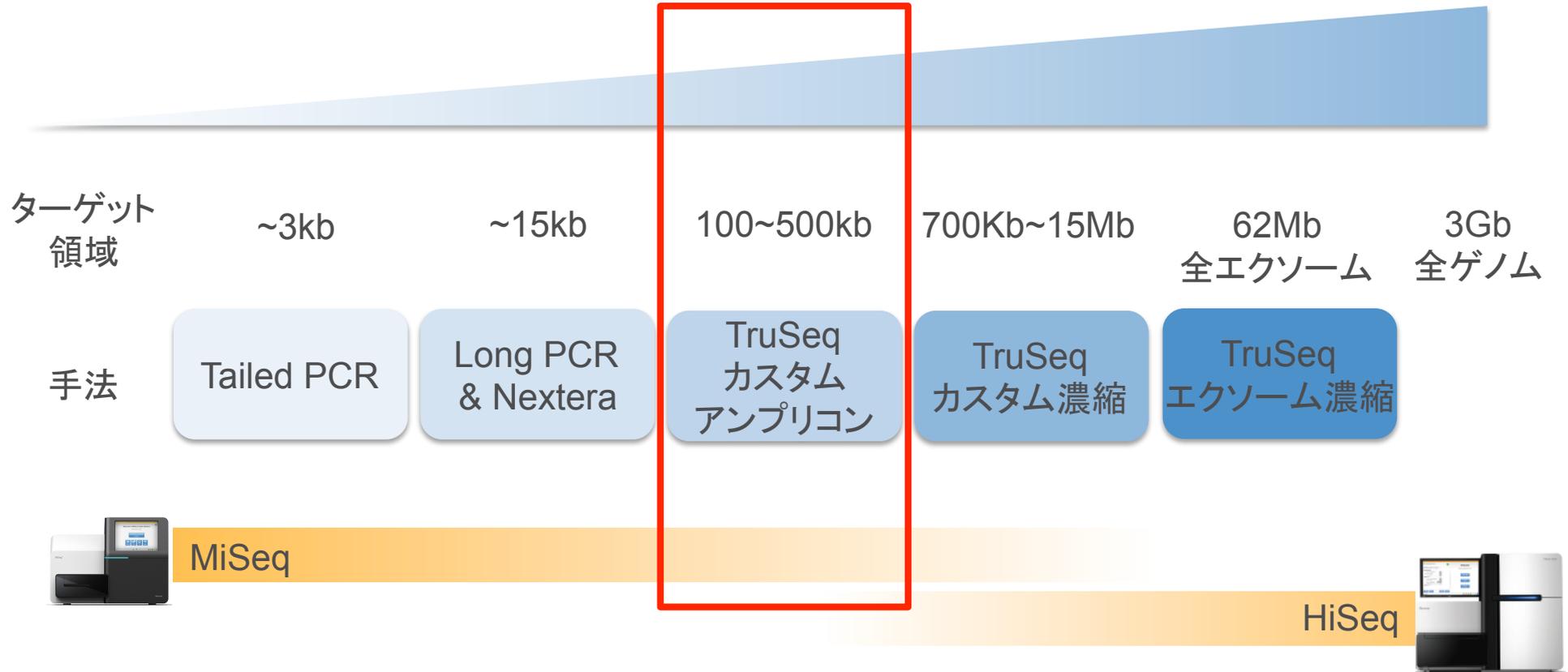


TruSeq カスタムアンプリコンの概要

GTATCATTAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTAACTTAACGAAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
AGTAACACACTTCTGTAACTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTAACTTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
CGTGGCAACAGTAACACACTTCTGTAACTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTAACTTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
ICTTCTTAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTAACTTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
CAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTAACTTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
ATTAACGTACCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTAACTTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
GTATCATTAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTAACTTAAGATTACTTGTATCCACTGAT

イルミナの提供するターゲット領域ソリューション

目的に適した手法を選択



GTATCATTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAACGTACCGTAAACGACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCACCGAACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACTTAAACGAAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATT
 AGTAACACACTTCTGTTAACTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAACGTACCGTAAACGACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCACCGAACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACTTAAAGATT
 CGTGCACAGTAACAGACTTCTGTTAACTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAACGTACCGTAAACGACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCACCGAACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACTTAAAGATT
 ICTTCTTAACTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAACGTACCGTAAACGACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCACCGAACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATT
 CAACCGTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAACGTACCGTAAACGACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCACCGAACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATT
 ATTAACGTACCATTAAGAGCTTCTGTTAACTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAACGTACCGTAAACGACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCACCGAACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATT
 GTATCATTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAACGTACCGTAAACGACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCACCGAACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACTTAAACGAAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATT



ATTGA
 GTAA
 CAAC
 CGTAT
 ATTGA
 AACGT
 ATTGA

TruSeqカスタムアンプリコンのワークフロー



DesignStudioによるTruSeqカスタムアンプリコン(TSCA)の設計

- ▶ 無料のソフトウェア
 - イルミナウェブサイトにて提供
- ▶ hg19配列に対して設計
- ▶ ターゲットの指定方法は2種類
 - 遺伝子名による指定
 - 染色体上の位置で指定
- ▶ 設計パラメータを自由に設定
 - エクソン領域に限定するか否か
 - エクソン領域の前後何塩基をターゲットに加えるか
 - 最初のエクソンの前と最後のエクソンの後を何塩基をターゲットとするか
 - 各アンプリコンの設計を捨てるか保持するか

The screenshot shows the DesignStudio interface for TruSeq Custom Amplicon. The main panel displays a table of targets with columns for Target, Chr:Start-Stop, Length, Amplicons, Avoid SNP, SNP Count, Coverage, Score, and Added. The table lists several targets, including CLCC1_Exon_202118240, CLCC1_Exon_202167440, CLCC1_Exon_202184940, CLCC1_Exon_202411140, TP53_Exon_188701140, and RFX4_Exon_190713840. The interface also shows a summary of 55 targets, 117 amplicons, and 0 gaps, with a cumulative target length of 18,004 bp and 88% coverage. A sidebar on the left contains project information and filters.

TARGET [?]	CHR:START-STOP	LENGTH	AMPLICONS [?]	AVOID SNP [?]	SNP COUNT [?]	COVERAGE [?]	SCORE [?]	ADDED
CLCC1_Exon_202118240	1 :109,484,027 - 109,484,120	94	1	Yes	0	100 %	95 %	09/30/2011
CLCC1_Exon_202167440	1 :109,490,233 - 109,490,340	108	1	Yes	0	100 %	95 %	09/30/2011
CLCC1_Exon_202184940	1 :109,505,983 - 109,506,111	129	1	Yes	0	100 %	95 %	09/30/2011
CLCC1_Exon_202411140	1 :109,482,258 - 109,482,404	147	1	Yes	0	100 %	95 %	09/30/2011
TP53_Exon_188701140	17 : 7,573,927 - 7,574,033	107	1	Yes	4	100 %	95 %	09/30/2011
TP53_Exon_188709140	17 : 7,590,695 - 7,590,863	169	1	Yes	0	100 %	95 %	09/30/2011
RFX4_Exon_190713840	3 :186,515,324 - 186,515,403	80	1	Yes	0	100 %	95 %	09/30/2011

DesignStudio上で課金が発生することはありません。

Myllumina (iCom)への登録手順



Create an Account

Personal Information * Required fields appear in bold

Salutation
Select a Value ▾

* First Name Middle Name * Last Name

* Job Title

Log In Information

* Email Address * Confirm Email

* Password * Confirm Password

Customer Information

Customer Number

Security Validation

* Type the two words:

fine

2つの単語を入力します:

no CAPTCHA™ stop spam. read books.

Reset Form

REGISTER

Why register?

- Place orders and track order status
- View and redeem quotes
- Design and order Illumina custom products
- Maintain favorite lists
- Manage subscriptions
- Register for upcoming webinars and view technical bulletins

Your username will be the same as the email address you enter.
Please use your work email to expedite account verification.

Your customer number is the number Illumina uses to identify your billing information. You may have received this in a welcome packet after you placed your first order or during your training. If you do not know your customer number it can be found on your invoice, order confirmation, or packing slip. If you do not have a recent invoice or packing slip, contact your institution's purchasing department or Illumina's Customer Service Team.

Type in the words that you see here. If you can't read the words then click the refresh icon next to the text box.

必要事項を記入

Customer number

- すでに試薬などお届けしている場合は送付状などに記載があるので、そちらからご確認いただけます
- 不明な場合は記入の必要はありません

必要事項を記入したら最後に“REGISTER” ボタンをクリック

確認メールを送付；届いたURLをクリックして登録を確認

設計対象を染色体上の位置で選ぶ

Coordinate タブを選択

TARGET REGION NAME
設計対象領域ごとに名前をつける

染色体番号と位置で領域を指定

EXONS ONLY (エクソン領域だけ) か FULL REGION (全塩基) を対象にするかを選択

EXONS ONLY の場合はエクソン領域をイントロン側に何塩基まで解析するかを RADDING PER EXON で指定

条件が決まったらADD REGION をクリック

下半分に加えた設計対象が表示される

PROJECT INFO
TEST_TSCA1
Homo sapiens UCSC iGenomes (hg19)
State: Created

DESIGN SUMMARY
Targets: 0
Cum. Target (bp): 0
Est Amplicons: 0
Orderable Amplicons: 0

FILTERS
all
LABELS
DESIGN WARNINGS [?]
Maximum Region Size
Target Proximity
Duplicate
Low Score
FILTERS
Avoid SNPs
Yes
No

Manage Targets
+ NEW TARGET REGION
Coordinate Gene File
TARGET REGION NAME
CHROMOSOME: Select...
Number: Start: Stop:
LABELS (SEPARATE MULTIPLE BY COMMA OR JUST PRESS TAB KEY EX: (LAB1, RESULTS5, ILLUMINA))
Labels:
TARGET SELECTION [?]: EXONS ONLY FULL REGION
+ PADDING PER EXON [?]: 0
ADD REGION CLOSE

FILTERS
All Page x DELETE SNP ON SNP OFF ↔ EXPO

TARGET REGION [?]	CHR:START-STOP	TARGET [?]	AMPLICONS [?]	AVOID SNP [?]	ADDED (UTC) ↓
<input type="checkbox"/> test1	11 : 1,000,000 - 1,010,000	7 EX	0	Yes	02/22/2012

設計対象を遺伝子名で選ぶ

Geneタブを選択

GENE NAME を入力する
 • GENE NAME は UCSC 等で使われているGene symbol を記入

最初のエクソンの前の何塩基、最後のエクソンの後の何塩基を設計対象とするかを入力
 Chr 12: 25,358,180 - 25,403,854 (45,775 bp)

EXONS ONLY (エクソン領域だけ) か FULL REGION (全塩基) を対象にするか選択

EXONS ONLY の場合はエクソン領域をイントロン側に何塩基まで解析するかを RADDING PER EXONで指定

条件が決まったらADD GENE をクリック

下半分に加えた設計対象が表示される

Table Data:

TARGET REGION [?]	CHR:START-STOP	TARGET [?]	AMPLICONS [?]	AVOID SNP [?]	ADDED (UTC)	INFO
<input type="checkbox"/> KRAS ±50	12 : 25,358,130 - 25,403,904	6 EX	0	Yes	02/22/2012	

遺伝子名あるいは染色体位置を指定したファイルを使う

File タブを選択

ファイルを選択

ファイルフォーマット例をダウンロードして編集可能

- 遺伝子で指定するファイル (Gene Template)
- 位置を指定するファイル (Coordinates Template)

ファイルがしっかりと読み込まれ、内容に問題が無ければCONFIRMをクリック

遺伝子で指定するファイル

	Gene	UpstreamBase	DownstreamBase	Padding	TargetType	Labels	E	F	G	H
1	PKP1	50	50	0	Exon	FromStudyXYZ, FromReportXYZ				
3	SPIN2B	50	50	10	FullRegion	FromStudyXYZ				
4	HSPB6	50	50	20	Exon					

染色体上の位置で指定するファイル

	Name	Chromosome	StartCoordinate	StopCoordinate	TargetType	Padding	Labels	E	F	G	H
2	UserName1	1	1	500	Exon	0	FromStudyXYZ, FromReportX				
3	UserName2	2	400	500	FullRegion	0	FromStudyXYZ				
4	UserName3	3	500	600	Exon	0					

ターゲット領域がリストアップされる

PROJECT INFO
TEST_TSCA1
 Homo sapiens UCSC
 iGenomes (hg19)
 State: Targeted

DESIGN SUMMARY
 Targets: 25
 Est Amplicons: 62

START DESIGN

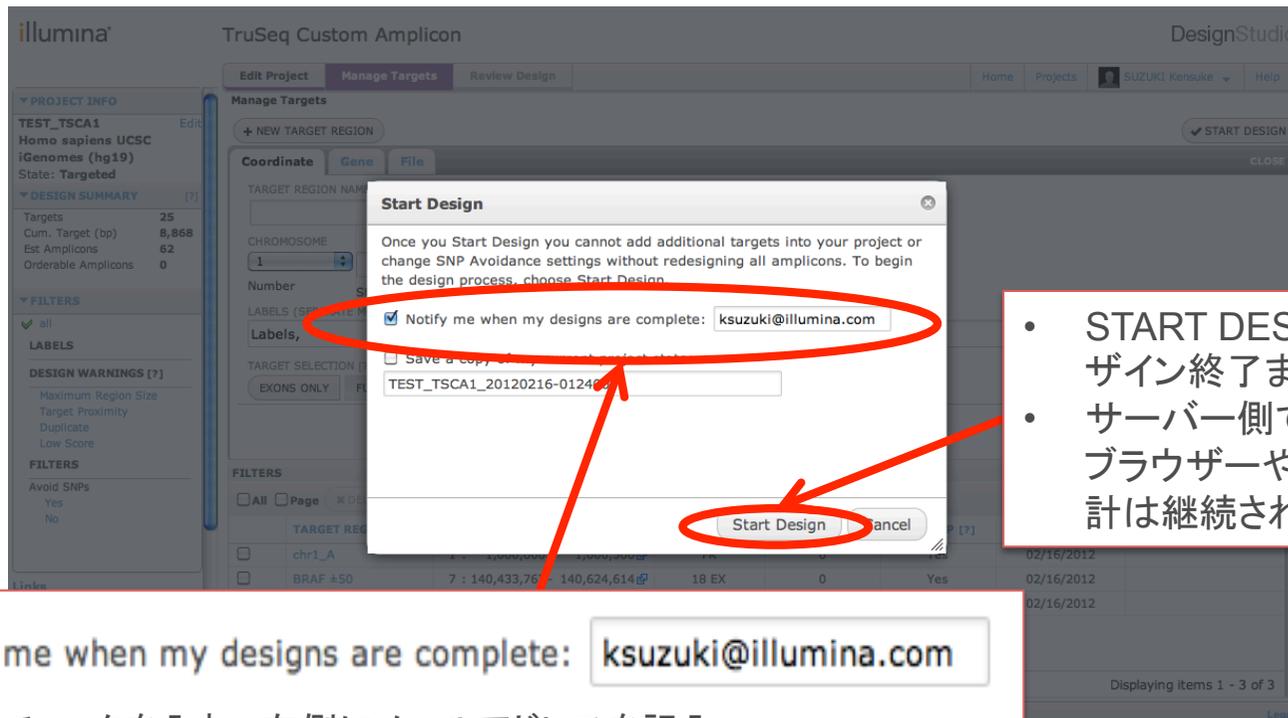
TARGET REGION [?]	CHR:START-STOP	TARGET [?]	AMPLICONS [?]	AVOID SNP [?]	ADDED (UTC) ↓
chr1_A	1 : 1,000,000 - 1,000,500	FR	0	Yes	02/16/2012
BRAF ±50	7 : 140,433,763 - 140,624,614	18 EX	0	Yes	02/16/2012
KRAS ±50	12 : 25,358,130 - 25,403,904	6 EX	0	Yes	02/16/2012

設計対象に問題が無ければ
START DESIGNをクリック

リストアップされた設計対象を確認

Est Amplicons の数からだいたいのコスト試算が可能

設計を開始；数時間から一晩かかる（遺伝子数による）



- START DESIGN をクリックしてからデザイン終了まで時間がかかる
- サーバー側で設計を行っているので、ブラウザやPCの電源を落としても設計は継続される

Notify me when my designs are complete: ksuzuki@illumina.com

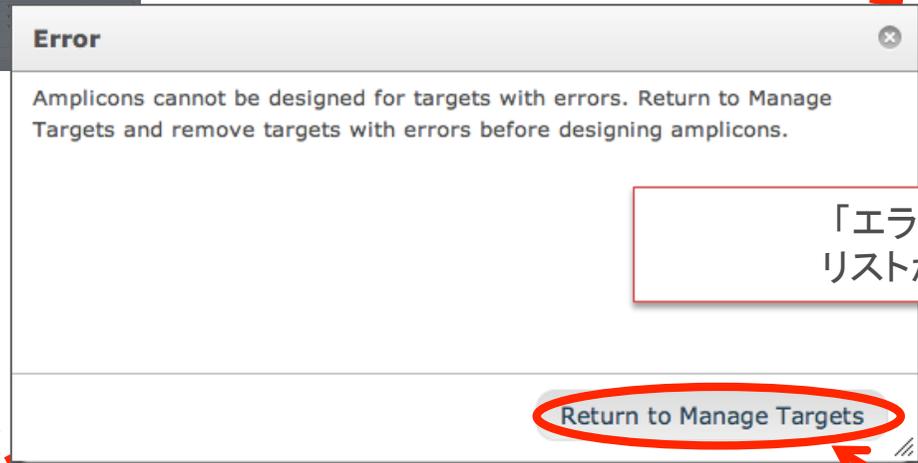
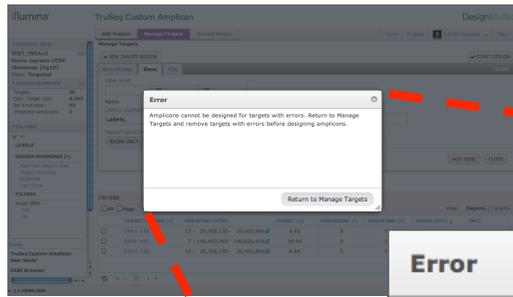
- 左端にチェックを入れ、右側にメールアドレスを記入
- 設計完了時に自動でメールのお知らせが届く

Save a copy of my current project state:

TEST_TSCA1_20120216-012400

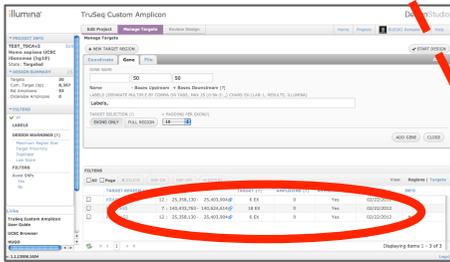
- このプロジェクトをコピーして別名保存するかどうか
- 好みに応じて選択

設計時に良くでる Error – 遺伝子の重複



「エラーのあるターゲットをリストから削除してください」

Return to Manage Targets をクリックしてターゲット選択画面に戻る



<input type="checkbox"/> All <input type="checkbox"/> Page <input checked="" type="checkbox"/> DELETED <input type="checkbox"/> SNP ON <input type="checkbox"/> SNP OFF <input type="button" value="EXPORT"/>		View: Regions Targets				
TARGET REGION [?]	CHR:START-STOP	TARGET [?]	AMPLICONS [?]	AVOID SNP [?]	ADDED (UTC) ↓	INFO
<input type="checkbox"/> KRAS ±50	12 : 25,358,130 - 25,403,904	6 EX	0	Yes	02/22/2012	D
<input type="checkbox"/> BRAF ±50	7 : 140,433,763 - 140,624,614	18 EX	0	Yes	02/22/2012	
<input checked="" type="checkbox"/> KRAS ±50	12 : 25,358,130 - 25,403,904	6 EX	0	Yes	02/22/2012	D

- 遺伝子名が重複しているというエラーが多い
- どちらかを削除する

設計が完了するとメールが届く

 **Your Amplicon Design for "test" is Ready for Review**

■ Illumina DesignStudio

送信日時: 2012年1月6日金曜日 11:08
宛先: ■ ksuzuki@illumina.com

Congratulations!

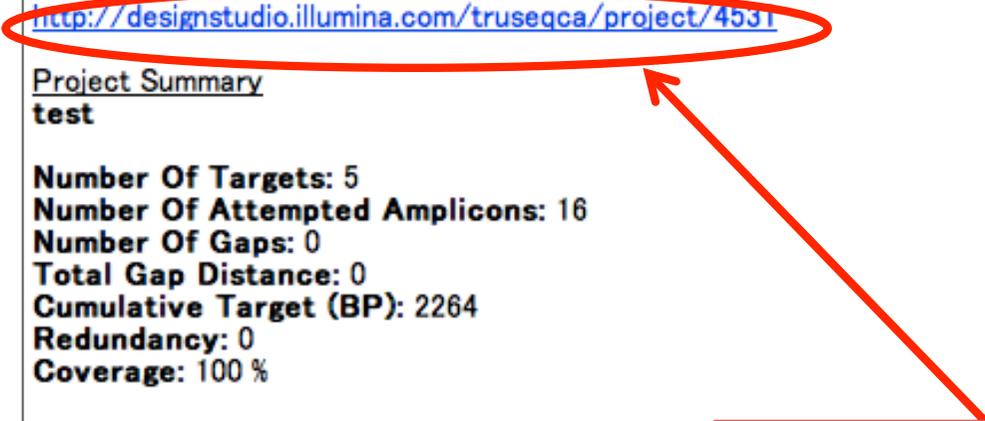
Your project test has completed design and is ready for your review. Please follow this link to review the designs for your TruSeq Custom Amplicon Kit in DesignStudio:

<http://designstudio.illumina.com/truseqca/project/4531>

Project Summary
test

Number Of Targets: 5
Number Of Attempted Amplicons: 16
Number Of Gaps: 0
Total Gap Distance: 0
Cumulative Target (BP): 2264
Redundancy: 0
Coverage: 100 %

Sincerely,
The Illumina DesignStudio Team



- リンクをクリックするとDesignStudioが開く
- MyIllumina にログインしていない場合はユーザ名とパスワードを入力すればDesignStudioのページが開く

設計の一例； ターゲット領域、アンプリコンの詳細情報を確認できる

設計できたアンプリコン

設計できなかったアンプリコン

デザインのサマリー

DESIGN WARNINGS [?]

ストランド情報

SNP情報

プローブスコア

ターゲット領域の情報

UCSCヘルク

AMPLICON	STRAND	AVOID SNP [?]	SNP COUNT [?]	SCORE [?]	INFO			
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> Amplicon (724526)	1 : 109,486,118 - 109,486,343	UserDefined_0	226	FORWARD	Yes	2	95 %	
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> Amplicon (724581)	1 : 109,479,572 - 109,479,801	Exon_2021181	230	REVERSE	Yes	4	95 %	
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> Amplicon (724584)	1 : 109,483,998 - 109,484,234	Exon_2021182	237	REVERSE	Yes	0	95 %	
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> Amplicon (724587)	1 : 109,472,003 - 109,472,229	Exon_2021673	227	FORWARD	Yes	0	95 %	
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> Amplicon (724591)	1 : 109,472,581 - 109,472,805	Exon_2021673	225	FORWARD	Yes	0	95 %	
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> Amplicon (724599)	1 : 109,474,953 - 109,475,217	Exon_2021673	235	FORWARD	Yes	0	95 %	
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> Amplicon (724600)	1 : 109,490,202 - 109,490,435	Exon_2021673	235	FORWARD	Yes	0	95 %	
<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> Amplicon (724603)	1 : 109,477,488 - 109,477,742	Exon_2021673	235	REVERSE	Yes	0	95 %	

DESIGN WARNING [?] の? をクリックすると

This displays target regions according to the type of notification.

[learn more ...](#)

と表示されるので learn more をクリックするとヘルプが表示される

- HELPをクリックするとヘルプが開く
- ? マークは直接項目のヘルプが開く

設計結果のスコアについてもヘルプに詳細を記載

Home
 Troubleshooting Custom Amplicon
 Error Codes
 Technical Assistance
 Revision History

Region, Target, and Amplicon Details

DesignStudio enables you to look at high- and low-level target details. To view low-level details for a target, ensure that you are on the Manage Targets page, and then click the link for the target in the Target Region column of the table in the bottom half of the window (which contains the target regions you have added). When you are looking at a specific target region, you can drill down to a specific probe by clicking a specific target. Finally, when you are looking at individual probes, you can toggle the View to see either probes or gaps.

Table: Regions and Targets Table

Field	Description
ADDED (UTC)	The Universal Time Code indicating when the target was added
AMPLICONS	The estimated number of amplicons that will be designed for the region or target
AVOID SNP	Indicates whether SNPs are being avoided for the target region and/or amplicon
CHR: START-STOP	The chromosome, followed by the start position and then the stop position in bp
COVERAGE	The total number of non-overlapping bases covered by the attempted amplicons divided by the total number of bases in design
INFO	Lists error codes for low scoring and duplicate probe targets. Hover over an error code to see what it means. See the Error Codes section for details.
LENGTH	The total number of bases for each target where the software will design amplicons. The length will help estimate the number of amplicons required to cover the region. Length is calculated in the following manner: (Target Coordinate Stop - Target Coordinate Start) + 1 - Target Length.
SCORE	This score reflects the predicted success rate of amplicons given Illumina's evaluation of the amplicon probes.

COVERAGE:
 設計対象塩基をどの程度カバーできたか

SCORE:
 独自評価プログラムにより、個別のアンプリコンがどの程度の割合で成功するか判定した結果

COVERAGE [%]	SCORE [%]	ADDED	INFO
100 %	87 %	02/17/2012	
100 %	95 %	02/17/2012	
100 %	83 %	02/17/2012	
100 %	95 %	02/17/2012	
0 %	0 %	02/17/2012	LS
100 %	95 %	02/17/2012	

90%以下の場合、黄色で表示
 増幅が失敗するかもしれない領域

設計基準を満たすアンプリコンがない場合
 LS: Low Score

最終的なプローブを整理(不要なプローブは削除)

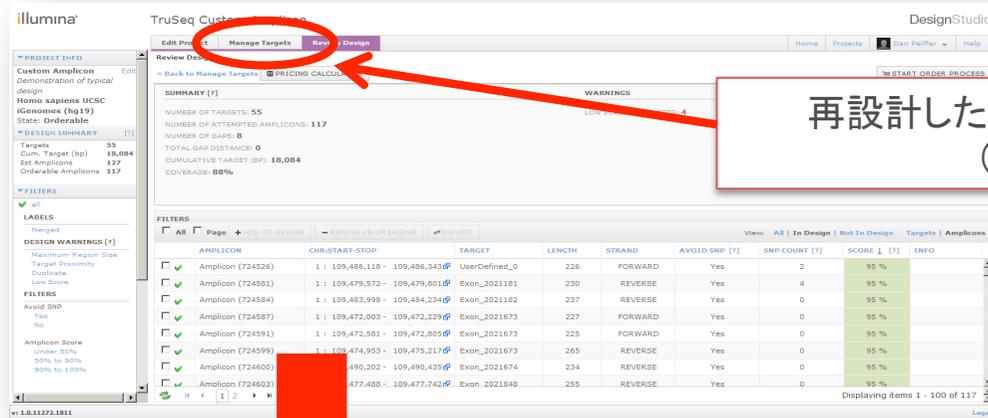
Amplicons をクリックして
プローブごとの表示に変更

不要なプローブにチェックを入れると
REMOVE FROM DESIGN ボタンがクリック
できるので、一括して削除が可能

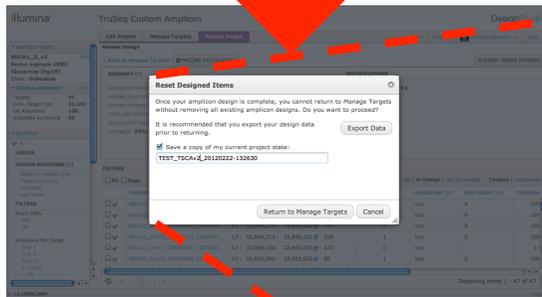
SCORE が黄色や赤色になっているアンプリコ
ンは、失敗する可能性がある

AMPLICON	CHR:START	TARGET	LENGTH	STRAND	AVOID SNP [?]	SNP COUNT [?]	SCORE [?]	INFO
<input type="checkbox"/> Amplicon (724526)	1 : 109,486,118 - 109,486,343	UserDefined_0	226	FORWARD	Yes	2	95 %	
<input type="checkbox"/> Amplicon (724581)	1 : 109,479,572 - 109,479,801	Exon_2021181	230	REVERSE	Yes	4	95 %	
<input type="checkbox"/> Amplicon (724584)	1 : 109,483,998 - 109,484,234	Exon_2021182	237	REVERSE	Yes	0	95 %	
<input type="checkbox"/> Amplicon (724587)	1 : 109,472,003 - 109,472,229	Exon_2021673	227	FORWARD	Yes	0	95 %	
<input type="checkbox"/> Amplicon (724591)	1 : 109,472,581 - 109,472,805	Exon_2021673	225	FORWARD	Yes	0	95 %	
<input type="checkbox"/> Amplicon (724599)	1 : 109,474,953 - 109,475,217	Exon_2021673	265	REVERSE	Yes	0	95 %	
<input type="checkbox"/> Amplicon (724600)	1 : 109,490,202 - 109,490,435	Exon_2021674	234	REVERSE	Yes	0	95 %	
<input type="checkbox"/> Amplicon (724601)	1 : 109,477,488 - 109,477,742	Exon_2021848	255	REVERSE	Yes	0	95 %	

設計に失敗した箇所はターゲット領域を再指定して再設計



再設計したい場合Manage Target をクリック
(設計前の状態に戻る)



Reset Designed Items

Once your amplicon design is complete, you cannot return to Manage Targets without removing all existing amplicon designs. Do you want to proceed?

It is recommended that you export your design data prior to returning.

Save a copy of my current project state:

現在の設計結果を出力

現在の設計結果を別名で保存したい場合

Return to Manage Targets をクリックすれば
設計前の状態に戻る

プローブデザインが確定したらデザインの確定作業を行う

illumina TruSeq Custom Amplicon DesignStudio

Review Design

Summary: NUMBER OF TARGETS: 55, NUMBER OF ATTEMPTED AMPLICONS: 117, NUMBER OF GAPS: 8, TOTAL GAP DISTANCE: 0, CUMULATIVE TARGET (BP): 18,084, COVERAGE: 88%

Warnings: LOW SCORING TARGETS: 4

AMPLICON	CHR:START-STOP	TARGET	LENGTH	STRAND	AVOID SNP [?]	SNP COUNT [?]	SCORE [?]	INFO
Amplicon (724526)	1 : 109,486,118 - 109,486,343	UserDefined_0	226	FORWARD	Yes	2	95.5%	
	(1) 1 : 109,479,572 - 109,479,801	Exon_2021181						
	(4) 1 : 109,483,998 - 109,484,234	Exon_2021182						
	(7) 1 : 109,472,003 - 109,472,229	Exon_2021673						
	(1) 1 : 109,472,581 - 109,472,805	Exon_2021673						
Amplicon (724599)	1 : 109,474,953 - 109,475,217	Exon_2021673	265	REVERSE	Yes	0	95%	
Amplicon (724600)	1 : 109,490,202 - 109,490,435	Exon_2021674	234	REVERSE	Yes	0	95%	
Amplicon (724603)	1 : 109,477,488 - 109,477,742	Exon_2021848	255	REVERSE	Yes	0	95%	

発注対象のアンプリコン
Orderable Amplicons

START ORDER PROCESS をクリックすると見積り対象の設計セットを確定

URLを確認する <http://designstudio.illumina.com/truseqca/project/5856#finaldesign>

確定作業を行った後に、見積り依頼が可能となります
(以下の項目を弊社担当営業または販売店までご連絡ください)

プロジェクトID

- アカウント名 (Myillumina へのログインID)
- プロジェクトID (URLの末尾に記載されている数字)
- 最終的に確定したアンプリコンの数 (Orderable Amplicons)
- サンプル数

TruSeqカスタムアンプリコンのワークフロー



33
GTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTC
AGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATT
CGTGGCAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATT
ICTTTCGAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTC
CAACGTAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTC
ATTAACGTACCATTAAGAGCTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTC
GTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTC

ATTGA
GTAAJ
CAACE
CGTAT
ATTGA
ACGD
ATTGA

実験に必要な準備品の確認

- ▶ TSCAに関する情報は www.illumina.com の TSCA のページにまとめられている

illumina®

Log in to get personalized account information. Quick Order View Cart (0)

800.809.4566 MyIllumina Tools

APPLICATIONS SYSTEMS SERVICES SCIENCE SUPPORT COMPANY

Support / Sequencing / Kits and Reagents / **TruSeq Custom Amplicon**

Subscribe | | Follow us: |

Product Support Add to Cart

TruSeq Custom Amplicon Support

Illumina product support pages provide fast, convenient access to product information, requirements and compatibility, training, downloadable resources, and tips and techniques identified by other researchers and Illumina scientists. We are constantly building out these pages to add more resources, so if you don't see what you need right now, come back soon.

Catalog IDs: FC-130-1001, FC-130-1003, FC-130-1006, FC-130-1007

Download Reagent Prep Guide

What's New

- Experiment Manager User Guide
02/01/2012
- Illumina Experiment Manager
01/30/2012
- TruSeq Custom Amplicon Library
Prep Reagents MSDS
12/20/2011

Support

- Contents & Storage
- Input Requirements
- Documentation & Literature
- Training
- Questions & Answers
- Best Practices

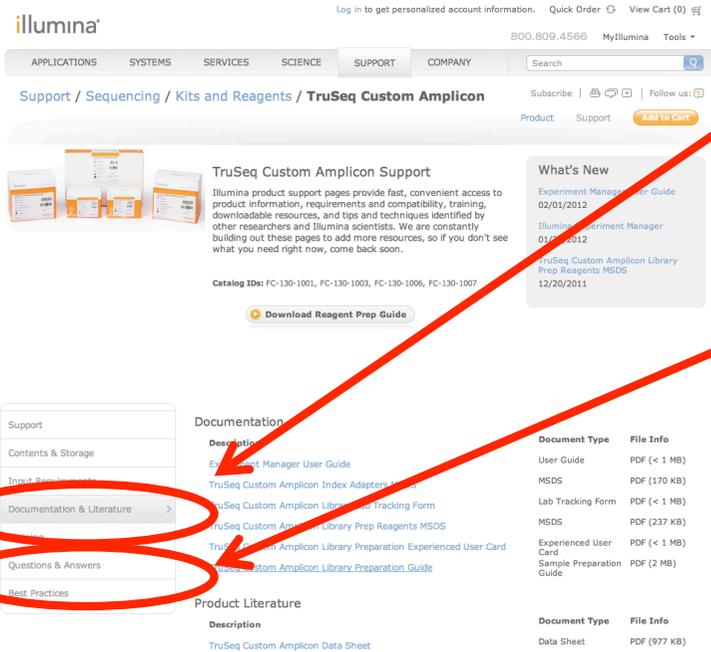
Features:

- Amplify hundreds of genomic targets in a single reaction and sequence up to 96 samples in a single MiSeq run.
- Generate up to 384 amplicons across 96 samples within a single plate, with less than 3 hours hands on time.
- Easily create and manage projects using Illumina's online DesignStudio software.
- Perform variant calling and analysis across all samples using simple on-instrument, automated analysis software.
- Get the convenience of a fully integrated DNA-to-data solution including online probe design and ordering, assay, sequencing, automated data analysis and offline software for reviewing results.

TruSeq Custom Amplicon Calculator

This convenient tool will help you calculate your supported sample multiplexing level based on the number of targeted regions and desired coverage. A customer login is required.

確認いただきたい資料



Documentation & Literature の
「TruSeq Custom Amplicon Library Preparation
Guide」

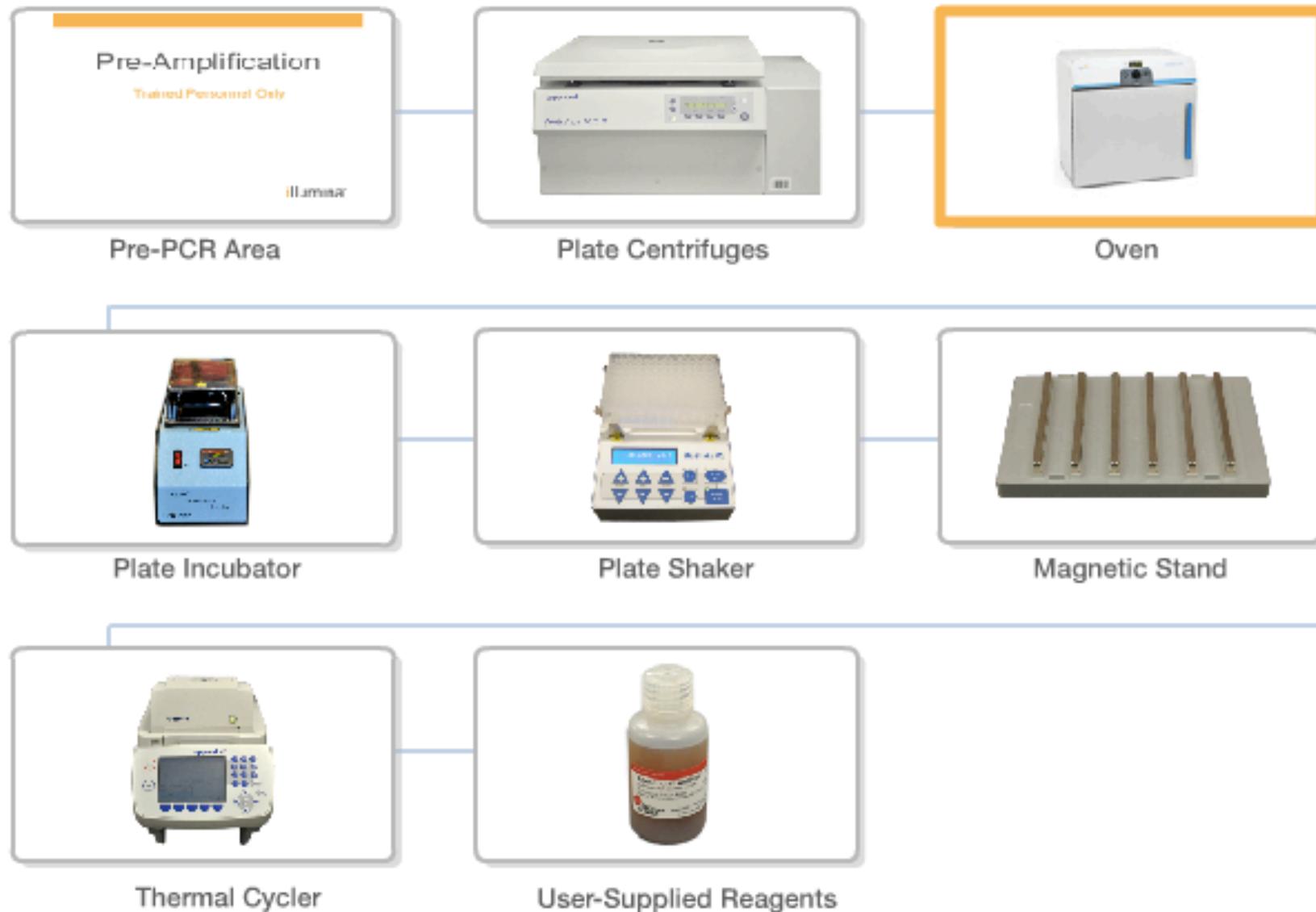
Training の
「Sample Preparation: TruSeq Custom Amplicon
(TSCA)」

Download Not Available

The file you requested either doesn't exist or you don't have permission to view it.

と表示された場合、ログインされたアカウントにマニュアルを見る権限がありません。イルミナまでご連絡ください。

実験に必要な準備品の確認



37
 GTATCATTAAAGATTACTTGTATCCACTGATCAACGTAACCGTAACGAAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTAACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
 AGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATCAACGTAACCGTAACGAAAGATTACTTGTATCCACTGATCAACGTAACCGTAACGAAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTAACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
 CGTGGCAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATCAACGTAACCGTAACGAAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTAACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
 ICTTCTCAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATCAACGTAACCGTAACGAAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTAACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
 CAACCTAGATTACTTGTATCCACTGATCAACGTAACCGTAACGAAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTAACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
 ATTAACGTAACCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATCAACGTAACCGTAACGAAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTAACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
 GTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATCAACGTAACCGTAACGAAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTAACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGAT

ATTTGA
 GTAAAT
 CAACG
 CGTAT
 ATTTGA
 AACGT
 ATTTGA

実験に必要な準備品の確認

- ▶ TSCA サンプル調製ガイド
 - TruSeq Custom Amplicon Library Preparation Guide

Equipment

Pre-PCR

Equipment	Supplier
37° Incubator	Forced Air Oven, VWR International or comparable
Heat Block, 96-well	SciGene, Hybex Microsample Incubator for PCR plate
Tabletop Centrifuge	General lab supplier (Plate centrifuge that attains designated speeds of protocol)

NOTE
Use a dedicated set of pipettes, pipette tips, vortexer, and centrifuge for pre-amplification steps.

Post-PCR

Equipment	Supplier
Magnetic Stand-96	DynaMag™-96 Side Skirted
Post-PCR Plate Shaker	Q Instruments, BioShake IQ, Part#1808-1806
Tabletop Centrifuge	General lab supplier (Plate centrifuge that attains designated speeds of protocol)
Gel Electrophoresis Supplies and Apparatus	General lab supplier
[Optional] Bioanalyzer System	Agilent Technologies
Heat Block for 1.5mL centrifuge tubes	General lab supplier

NOTE
Use a dedicated set of pipettes, pipette tips, vortexer, heat block, and centrifuge for post-amplification steps.

Additional Components

Consumable	Catalog #
TruSeq Index Plate Fixture Kit	FC-130-1005
TruSeq Custom Amplicon Filter Plate	FC-130-1006
TruSeq Index Plate Fixture and Collar Kit	FC-130-1007

User-Supplied Consumables

Quantity	Consumable	Supplier
As needed	10 N NaOH (prepare from tablets or use a standard solution)	General lab supplier
3	96-well skirted PCR plates, 0.2 ml, polypropylene	Bio-Rad, Part # MSP-9601
3	96-well storage plates, 0.8 ml (MIDI plates)	Fisher Scientific, Part # AB-0859
5 ml	Agencourt AMPure XP, 60 ml kit	Beckman Coulter, Part # A63881/A63880
3	Adhesive aluminum foil seal	Beckman Coulter, Part # 538619
As needed	Conical tubes, 15 ml	General lab supplier
2	Eppendorf microcentrifuge tubes (screw top recommended)	General lab supplier
40 ml	Ethanol, 200 proof for molecular biology	General lab supplier
1	Microseal 'A' adhesive seals	Bio-Rad, Part # MSA-5001
As needed	Microseal 'B' adhesive seals	Bio-Rad, Part # MSB-1001
2	PCR Eight-Tube Strips	General lab supplier
As needed	Solution basin, PVC, non-sterile (trough)	Labcor, Part# 730-001
As needed	Agarose gel electrophoresis apparatus	General Lab Supplier
As needed	Agarose gel (2% or 4%)	General Lab Supplier
As needed	DNA molecular weight markers	General Lab Supplier
As needed	Ice bucket	General Lab Supplier

TruSeq Custom Amplicon Library Preparation Guide 9

Getting Started

MiSeqでシーケンス

- ▶ カートリッジ式の試薬キット
 - シーケンスに必要な試薬が全てまとめられている
 - 溶かして、ライブラリーをロードしてセットするだけ
- ▶ RFIDを採用した試薬のトラッキング
- ▶ 簡潔で自動化されたワークフロー



44
GTATCATTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
AGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATT
CGTGCACACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAO
ICTTCTCAACACTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCA
CAACCGTACCATTAAGAGCTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAO
ATTAACGTACCATTAAGAGCTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAO
GTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGAT

ATTTGA
GTAA
CAAC
CGTAT
ATTGAI
ACGT
ATTGA

MiSeqでシーケンス

- ▶ カートリッジ式の試薬キット
 - シーケンスに必要な試薬が全てまとめられている
 - 溶かして、ライブラリーをロードしてセットするだけ
- ▶ RFIDを採用した試薬のトラッキング
- ▶ 簡潔で自動化されたワークフロー

Go



45
GTATCATTAAGATTACTTTGATCCACTGATTCAAACGTACCGTAAACGAAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAACGAAACGATCATTAAGATTACTTTGATCCACTGATTC
AGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTTGATCCACTGATTCAAACGTACCGTAAACGAAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATT
CGTGCACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTTGATCCACTGATTCAAACGTACCGTAAACGAAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATT
ICTTCCAAACCTTAAGATTACTTTGATCCACTGATTCAAACGTACCGTAAACGAAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTTGATCCACTGATTC
CAACCGTACATTAAAGATCTGTTAACCTTAAGATTACTTTGATCCACTGATTCAAACGTACCGTAAACGAAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTTGATCCACTGATTC
ATTAACCGTACATTAAAGATCTGTTAACCTTAAGATTACTTTGATCCACTGATTCAAACGTACCGTAAACGAAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTTGATCCACTGATTC
GTATCATTAAGATTACTTTGATCCACTGATTCAAACGTACCGTAAACGAAACGATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTTGATCCACTGATTC

TruSeqカスタムアンプリコンのワークフロー

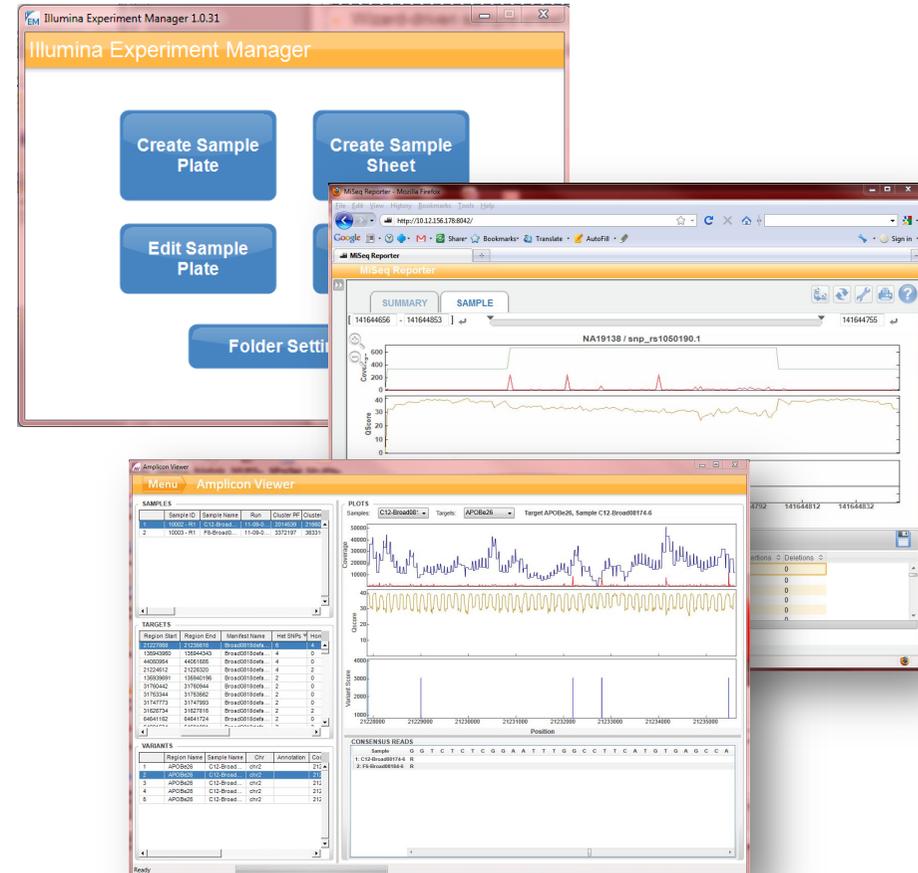


GTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTC
AGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTC
CGTGCACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTC
ICTTCCAAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTC
CAACCGTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTC
ATTAACGTACCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTC
GTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCAAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGATTC

ATTGA
GTAAJ
CAACE
CGTAT
ATTGA
ACGD
ATTGA

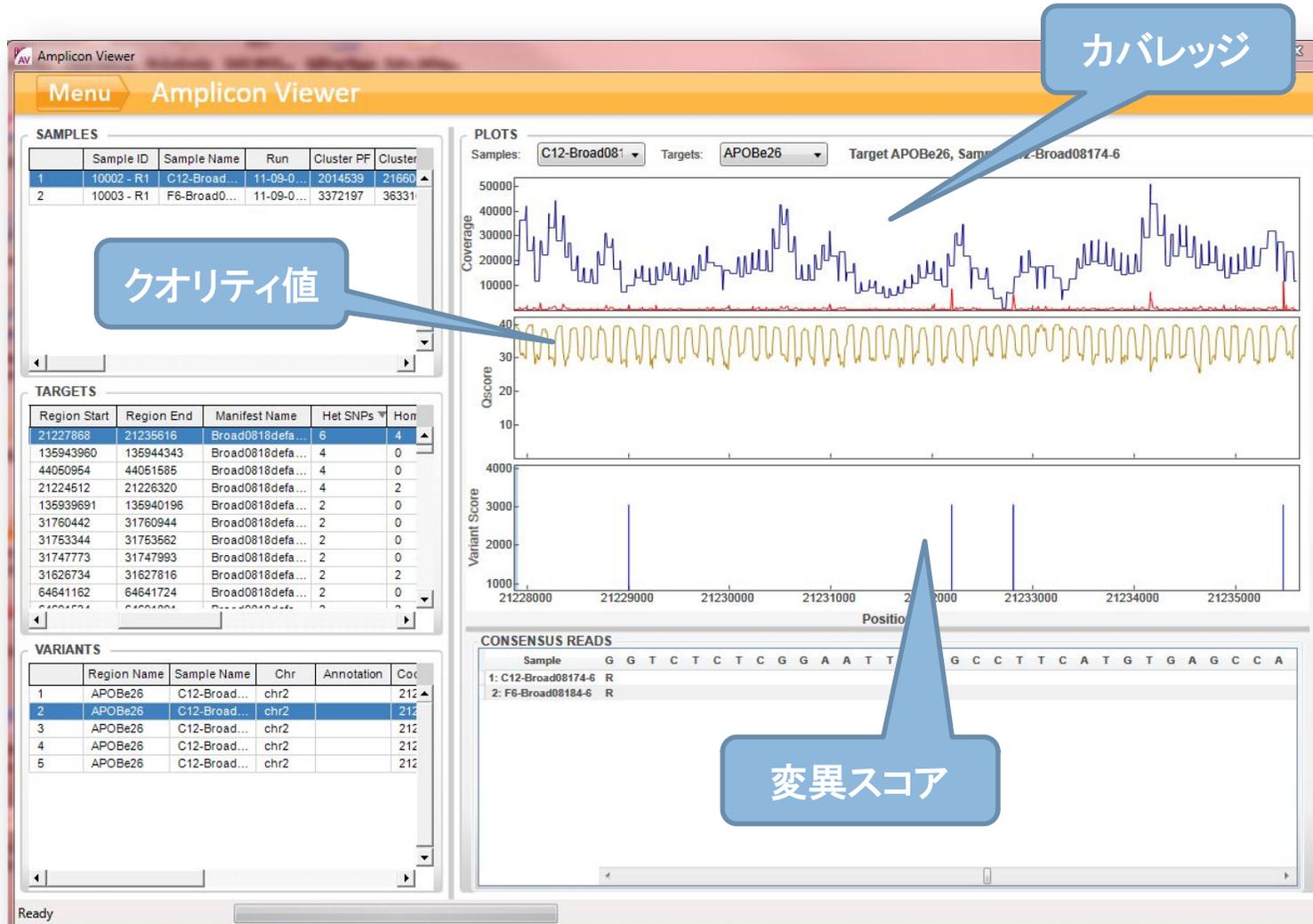
データ解析をサポートするソフトウェア群

- ▶ Illumina Experiment Manager
 - サンプルシート作成用ソフト
 - ウィザード形式でサンプルシートを作成
- ▶ MiSeq Reporter
 - MiSeq内蔵のソフトウェア
 - サンプルのインデックスを分割
 - リードのアライメント
 - 検出した変異のレポート
 - 他のWindows7のPCでも利用可能
- ▶ Illumina Amplicon Viewer
 - 解析結果の視覚化ツール
 - 複数サンプルの解析結果を同時に表示
 - 他のWindows7のPCで利用可能
 - 結果をExcel読み取り可能形式で出力



MiSeq をご購入いただいたお客様には
これらのソフトは無料でご提供しています
他のWindows7のPCで利用可能

Illumina Amplicon Viewer; 8kbの連続領域を53個のアンプリコン(タイリング)で行った例



アッセイ詳細情報

項目	詳細	ポイント
DNAスタート量	250ng	• 希少なサンプルでも解析を可能に
コンテンツ	最大384ターゲットまで	• 複数箇所を同時に処理
アンプリコンサイズ	250-275bp	• ほとんどのエクソンをターゲットにすることが可能
アッセイの設計	>90%	• 興味のあるターゲットを効率よく設計
アッセイ時間	約2時間のハンズオン 8時間以内に終了	• 迅速なアッセイで解析までの時間を短縮
インデックス	最大96まで	• 1プレートで多数のサンプルを簡単に準備
濃縮特異性	>70%	• 興味のあるターゲット領域にフォーカス
カバレッジ均一性	>80% at >0.2X mean	• シーケンス必要量を最適化
ジェノタイピング整合性	≥ 99%	• 高精度なデータ
納期	6-8週間	• 迅速なプロジェクトの実施

52
 GTATCATTAAGATTACTTTGATCCACTGATTCACCGTACCGTAAACGATCAATTAAGACTAAATTAACGTACCATTAAGAGCTACCGTCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTAACTTAAACGAAACGTATCATTAAGATTACTTTGATCCACTGAT
 AGTAACACACTTCTGTAACTTAAAGATTACTTTGATCCACTGATTCACCGTACCGTAAACGATCAATTAAGACTAAATTAACGTACCATTAAGAGCTACCGTCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTAACTTAAACGAAACGTATCATTAAGATTACTTTGATCCACTGAT
 CGTGCACAGTAACACACTTCTGTAACTTAAAGATTACTTTGATCCACTGATTCACCGTACCGTAAACGATCAATTAAGACTAAATTAACGTACCATTAAGAGCTACCGTCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTAACTTAAACGAAACGTATCATTAAGATTACTTTGATCCACTGAT
 ICTTCTCAACACTTAAAGATTACTTTGATCCACTGATTCACCGTACCGTAAACGATCAATTAAGACTAAATTAACGTACCATTAAGAGCTACCGTCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTAACTTAAACGAAACGTATCATTAAGATTACTTTGATCCACTGAT
 CAACCGTACGATTACTTTGATCCACTGATTCACCGTACCGTAAACGATCAATTAAGACTAAATTAACGTACCATTAAGAGCTACCGTCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTAACTTAAACGAAACGTATCATTAAGATTACTTTGATCCACTGAT
 ATTAACGTAACATTAAAGACTTCTGTAACTTAAAGATTACTTTGATCCACTGATTCACCGTACCGTAAACGATCAATTAAGACTAAATTAACGTACCATTAAGAGCTACCGTCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTAACTTAAACGAAACGTATCATTAAGATTACTTTGATCCACTGAT

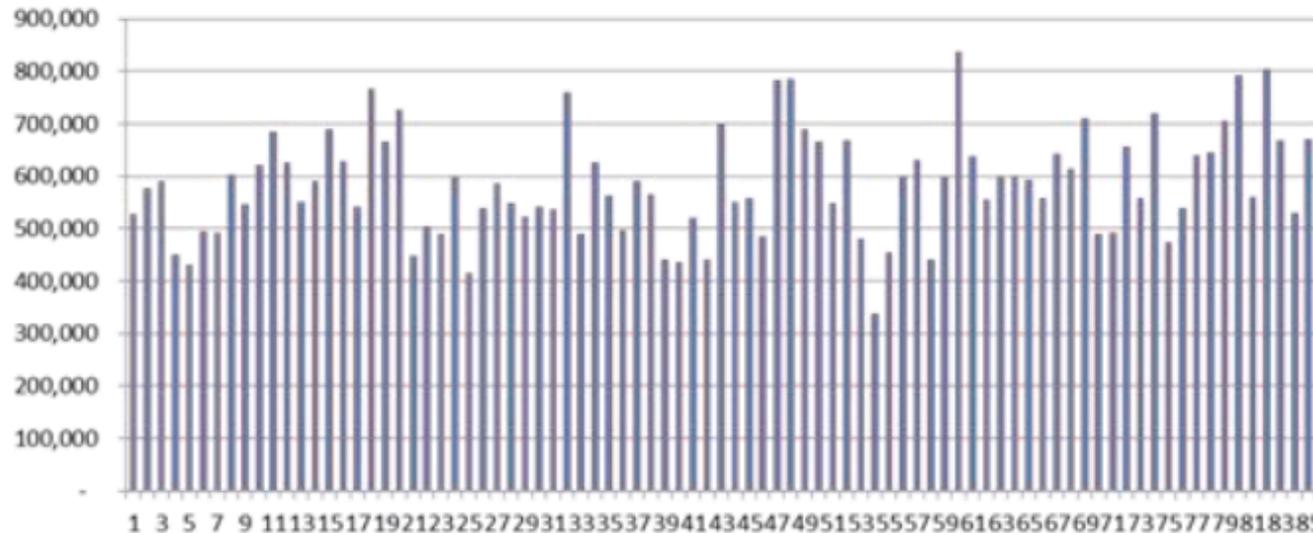
ATTGA
 GTAA
 CAAC
 CGTAT
 ATTGA
 ACGT
 ATTGA

Broad Institute からの報告

http://www.illumina.com/systems/miseq/webinars/miseq_broad_institute/index.ilmn

TruSeq Custom Amplicon Assay (TSCA)

Reads by sample



~15% CV

55
GTATCATTAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAACGGAACGTATCATTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
AGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATT
CGTGCACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAC
ICTTCTTAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTAT
CAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
ATTAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGAT
GTATCATTAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTATCCACTGAT

ご清聴ありがとうございました。

GTATCATTAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTCCACTGAT
AGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTCCACTGAT
CGTGGCAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTCCACTGAT
ICTTCTCAACCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTCCACTGAT
CAACCTAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTCCACTGAT
ATTAACGTACCATTAAGAGCTTCTGTTAAOCTTAAAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTCCACTGAT
GTATCATTAGATTACTTGTATCCACTGATTCACCGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATAACGTACCATTAAGAGCTACCGTGCAACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAOCTTAAOOGAACGTATCATTAAGATTACTTGTCCACTGAT

ATTGA
GTAA
CAAC
CGTAT
ATTGA
AACGT
ATTGA