

IDT ウェブサイトの使い方

IDTウェブサイトでは、製品紹介/注文/注文履歴照会等をお客様より直接行っていただけます。ここでは、その一部を紹介させていただきます。
 ※より詳しい内容はMBLライフサイエンスサイトに掲載しています。新しい項目も随時掲載予定です。あわせてご覧ください。
 「IDT プライマー」で検索 または オリゴ合成受託サービストップページ より 「IDTサイトの使い方 (http://ruo.mbl.co.jp/bio/idt/How_to_use.html)」

目次

アカウント取得方法

- 1.IDTウェブサイトへの登録方法について47
- 2. IDTウェブサイトへログインする方法.....47

データ取得方法

- 1. 納品物のデータ取得方法について48

ウェブサイトからのご注文方法

- 1.DNA合成(チューブ納品)50
- 2. Ultramer[®] DNA合成(チューブ納品)54
- 3. RNA合成(チューブ納品)56
- 4. DNA合成/Ultramer[®] DNA合成(プレート納品)58
- 5. PrimeTime[®] プレデザイン62
- 6. PrimeTime[®] カスタム65
- 7. LNA PrimeTime[®] Probes67
- 8. PrimeTime[®] Gene Expression Master Mix69
- 9. 人工遺伝子合成(Genes)69
- 10. 人工遺伝子合成(gBlocks[®])72
- 11. Alt-R™ CRISPR-Cas9 System74

IDTウェブツールを用いたLNA PrimeTime[®] Probes (LNA Dual Labeled Probes)の設計方法

- 1. LNA PrimeTime[®] Probes受注可能条件76
- 2. LNAを含む配列のT_m値を算出する方法.....76
- 3. SNPs検出のためのプローブを設計する方法77

アカウント取得方法

IDT製品を一度でも注文したことがある方は、すでにログインID (UserName) 及びパスワードを発行済みですので、2. IDTウェブサイトへログインする方法をご覧ください。

1. IDTウェブサイトへの登録方法について

1. 「MBL オリゴ」と検索して、DNAオリゴ・RNAオリゴ合成受託ページ (<http://ruo.mbl.co.jp/bio/idt/index.html>) にアクセスして下さい。
2. 「新規登録」をクリック (①) して下さい。
3. 依頼書ファイルをダウンロードして下さい (②)。



4. 依頼書ファイルの「ご依頼書」シートに必要な事項を記入し、oligo@mbl.co.jp までお送りください。
5. アカウント情報をお送りいたしますので、そのログインID (UserName) とパスワードを用いてIDTウェブサイト (<http://www.idtdna.com/site>) にログインして下さい。

2. IDTウェブサイトへログインする方法

- ログインに必要なもの
- ・ログインID (UserName)
 - ・パスワード

IDT製品を一度でも注文したことがある方は、すでにログインID (UserName) 及びパスワードを発行済みですので、初回発注後に弊社からの返信メールに添付されていた「ご登録のご案内」ファイルをご確認ください。
もし上記メールが見つからない場合は、[◎ UserName 及びパスワードが不明な場合](#) (次ページ) をご参照ください。

1. 「IDT DNA」と検索し、IDTウェブサイト (<http://www.idtdna.com/site>) にアクセスして下さい。
2. FlagをJapanに変更し (③)、Sign Inをクリック (④) して下さい。



3. ログインID (UserName) とパスワードを入力し、[Sign In] ボタンをクリック (⑤) して下さい。

4. ログインが完了すると、[Sign In] が[お客様名]に変更されます。

◎ UserName および パスワードが不明の場合

下記内容を oligo@mbl.co.jp までご連絡ください。迅速にUserNameとパスワードをお送りさせていただきます。 ウェブサイトにもメールフォームを準備していますので、そちらもご利用ください。

【件名】	UserName & パスワード照会
【内容】	IDT-MBL KK オリゴ担当者宛 UserName & パスワードの照会を依頼します。 お客様のご氏名・ご所属

◎ Flag を Japan にするのはなぜ？

IDTから日本総代理店である弊社に「注文があった」等、各種の連絡をしてもらうためです。

IDTでは、各Flag(各国)毎に代理店を設けているため、FlagをJapanにすることにより、日本の代理店である弊社に連絡が来ます。

もしFlagがUnited Statesのままですと、弊社には連絡が来ないため「合成完了・納品」等は弊社には分らず、お客様より連絡がなければ正式受注手続きを行うことが出来ません。また、United Statesで取得したログインIDでは、Japanにログインすることが出来ません。逆も同様です。

お手数をおかけいたしますが、FlagをJapanに変更してからアカウント登録/ログイン/注文入力をお願いいたします。

◎ IDT ウェブサイトログインするとhttp://sg.idtdna.com/siteに移動するのはなぜ？

IDTウェブサイトログインすると、その国用のサーバーのある国を通してウェブサイトを開覧することになります。日本の場合は、シンガポールにサーバーがありますので、シンガポールを示す「sg」がアドレスに付加されます。

データ取得方法

IDTでは、各種合成品の各種データをウェブサイトから取得することが出来ます。

合成品データは米国から日本への出荷の際に作成されますので、通常はお客様のお手元に製品が届いた時点で確実にウェブサイト内にアップロードされています。ここでは、そのデータの取得方法と、取得できるデータの種類を説明します。

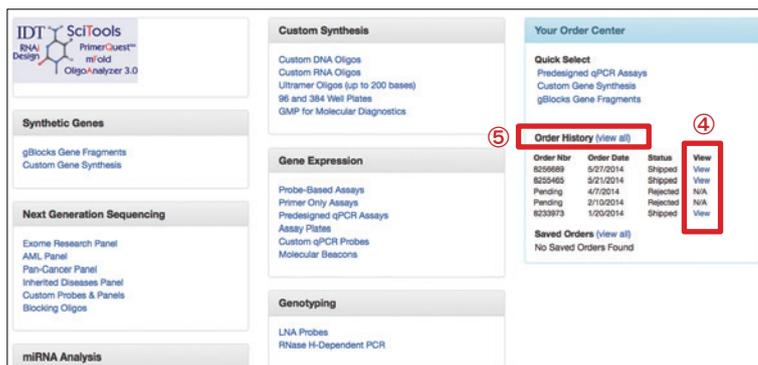
1. 納品物のデータ取得方法について

1. IDT ウェブサイト (http://www.idtdna.com/site) にアクセスし、ログインして下さい。(前ページ参照)

2. ログインできていること ①、FlagがJapanであることを確認 ②し、[Order Menu] タブをクリック ③して下さい。



3. Order Historyに合成履歴がありますので、該当するOrder NbrのViewをクリック ④して下さい。Order Nbrは、合成開始時にIDTからお客様に直接お送りしているOrder Confirmationメールに記載されています。



4. Order History内の[View all] をクリック (5) すると、下記のような画面が表示されます。



このZIPマークをクリックすることで、ESIデータやプラスミドマップなどのデータを一括でダウンロードすることができます。ダウンロード出来るデータは [◎ 合成品データの種類について](#) (ページ下部) をご覧ください。



このエクセルマークをクリックすることで、納品物のTm、OD、nmoles等の一覧 (Specs.csv) を取得出来ます。下記がSpecs.csvの一部です。(人工遺伝子合成等、このデータが空になっている場合もあります)

Unit Size	Bases	Sequence	Anhydrous Mol	nmoles/OD	ug/OD	Extinction Coef	GC Content	Tm (50mM NaC	Modifications a	Final OD	nmoles
0.1	50	TTT CGA GTG	15423	2.107925801	32.51054384	474400	50	70.18229363	PAGE Purifica	2.8	5.9
0.1	50	TTT CGA GTG	15423	2.107925801	32.51054384	474400	50	70.18229363	HPLC Purifica	1.3	2.7

5. [Order] をクリック (6) すると、1本ごとのデータを取得することが出来ます。Spec sheetは納品時に同梱している資料ですが、ここからも取得することが可能です。CEデータもここにあります。

※ 大量の人工遺伝子合成を依頼した場合など、ファイルが非常に重い場合は、ダウンロード出来ない場合もあります。その場合、弊社までご連絡いただければメール添付等でお送りさせていただきます。

※ No orders ... と表示される場合は、検索期間 (7) を変更して下さい。なお、合成開始後しばらくしてからOrder Historyに表示されるため、注文後しばらく経ってから検索してください。

◎ 合成品データの種類について

合成品に応じて、下記のデータを取得できます。

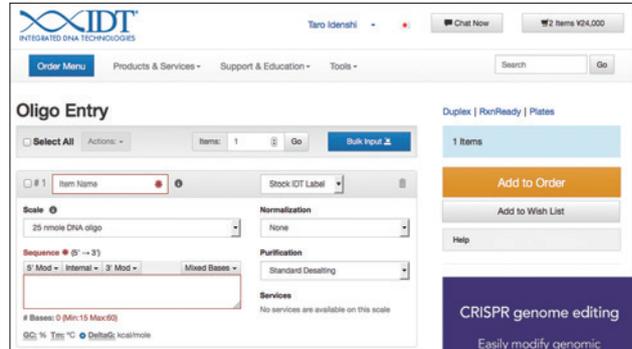
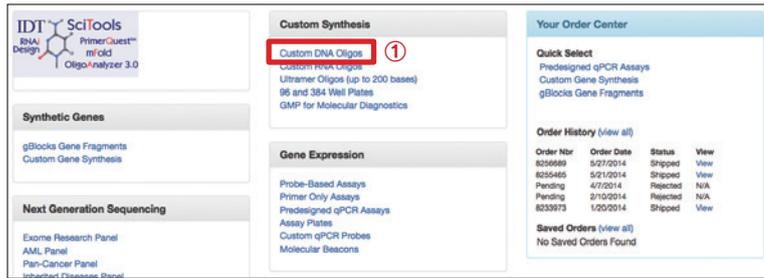
DNA/RNA 合成 (脱塩グレード)	ESIデータ、Specs.csv、Spec sheet
DNA/RNA 合成 (精製グレード)	ESIデータ、Specs.csv、CEデータ (60 bases まで)、Spec sheet
PrimeTime®	ESIデータ、Specs.csv、CEデータ (精製品のみ)、Spec sheet
Genes	プラスミドマップ、fastaデータ、波形データ .abi
gBlocks® Gene Fragment	fastaデータ
DsiRNA	ESIデータ、Spec sheet

※ Spec sheet は zip ファイル内に含まれておりません。上記5.を参照し、ご取得ください。

ウェブサイトからのご注文方法

1. DNA合成 (チューブ納品)

1. IDT ウェブサイト (<http://www.idtdna.com/site>) にアクセスし、ログインして下さい。
2. ログインできていること、FlagがJapanであることを確認し、[Order Menu]タブをクリックして下さい。(p.47 参照)
3. Order Menuページの [Custom DNA Oligos] (①) をクリックして下さい。
4. このページで1～数百本のDNAオリゴを発注できます。[1つずつ配列名と配列をそれぞれ入力する方法]は5.を、[エクセルシートからコピーアンドペーストで一括でオーダーする方法]は7.をご覧下さい。



[1つずつ配列名と配列をそれぞれ入力する方法]

5. 下記の様に配列名 (②) と配列 (③) を入力します。Tm値やGC含量が自動計算されます (④)。本数を増やす場合は (⑤) に数字を入力します。Sequence欄の5' Mod/Internal/3' Mod, Mixタブ (⑥) をクリックすれば、修飾や混合塩基を追加する事も出来ます。

6. 合成スケールと精製グレードを確認したら、[Add To Order (見積もる)] もしくは、[Add To Wish List (一旦保存する)] をクリックして下さい。

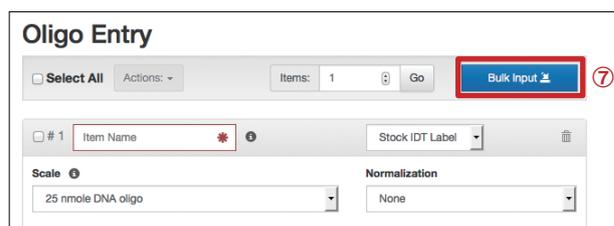
ADD TO ORDER ▶▶▶ p.52

ADD TO WISH LIST ▶▶▶ p.53

[エクセルシートからコピーアンドペーストで一括でオーダーする方法]

※配列数が多い場合は、こちらの注文方法が便利です。

7. [Bulk Input] をクリック (⑦) すると、ポップアップページが現れます。



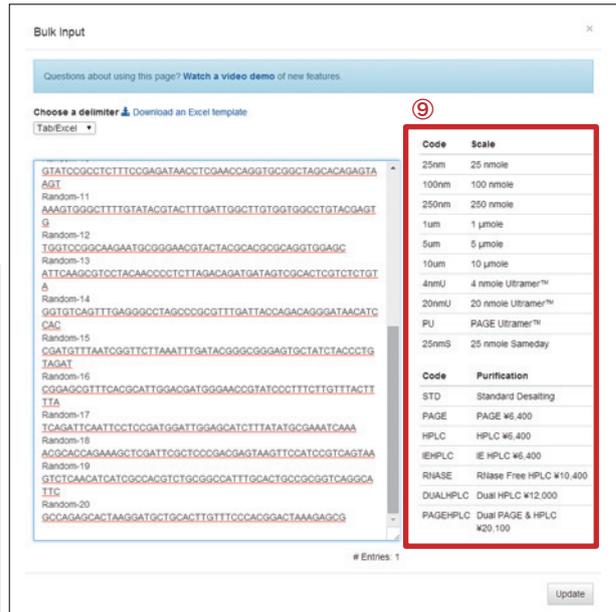
ポップアップページにエクセルシートからコピーアンドペーストを行います。

- ※ コピーアンドペーストを行う場合、エクセルシートでは隣り合ったセルに配列・配列名を入力してください。分かりにくい場合は、MBLライフサイエンスサイト (http://ruo.mbl.co.jp/bio/idt/how_to_order_dna.html) に掲載している動画をご参照ください。



8. 配列名・配列のみを入力すると、25 nmoleスケール・脱塩グレードで入力されます。スケールや精製グレードを指定したい場合は、エクセルシートのC列、D列(⑧)の様に、3列目、4列目にスケールや精製グレードの情報を入力してください。入力できる内容・記入方法はポップアップページの右欄(⑨)をご覧ください。

	A	B	C	D
1	Random-1	GCTAATAGGA	100nm	HPLC
2	Random-2	TCGGGGTGG	100nm	HPLC
3	Random-3	GACAGGATG	100nm	HPLC
4	Random-4	CAAGTTCCTG	100nm	HPLC
5	Random-5	GCTCTAGTTG	100nm	HPLC
6	Random-6	CCCCCGGCT	100nm	HPLC
7	Random-7	ATCTGGAGCAT	100nm	HPLC
8	Random-8	GTAAAGACAGA	100nm	HPLC
9	Random-9	GCGCGACTTTT	100nm	HPLC
10	Random-10	GTATCGGCCTC	25nm	STD
11	Random-11	AAAGTGGGCTT	25nm	STD
12	Random-12	TGGTCCGGCA	25nm	STD
13	Random-13	ATTCAAGCGTC	25nm	STD
14	Random-14	GGTGTCAAGTT	25nm	STD
15	Random-15	CGAGGCTTTC	25nm	STD
16	Random-16	CGAGGCTTTC	25nm	STD
17	Random-17	TCAGATCAAT	25nm	STD
18	Random-18	ACGGACAGAA	25nm	STD
19	Random-19	GTCTCAAGCAT	25nm	STD
20	Random-20	GCCAGAGGACT	25nm	STD



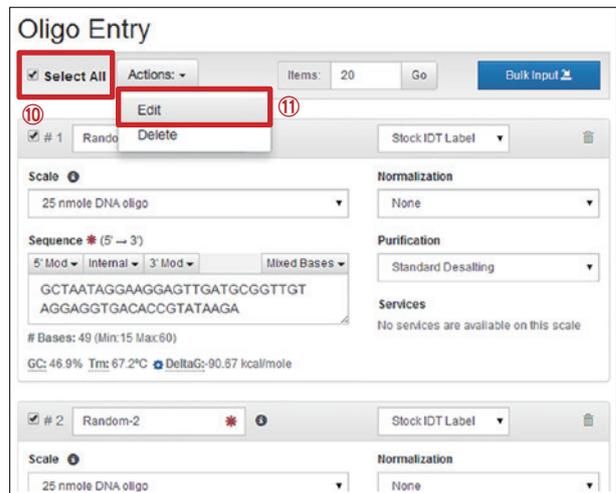
9. 一旦25 nmole合成スケール・脱塩グレードで入力した後、一括で合成スケール・精製グレードを変更する事も可能です。Select All をクリック(⑩)し、ActionsからEdit を選択(⑪)します。変更画面がポップアップされますので、スケール、精製グレードそれぞれを変更して下さい。

10. 合成スケールと精製グレードを確認したら、[Add To Order (見積もる)] もしくは、[Add To Wish List (一旦保存する)] をクリックして下さい。

ADD TO ORDER ▶▶▶ p.52

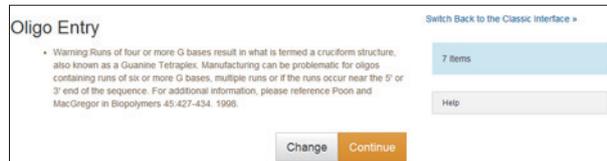
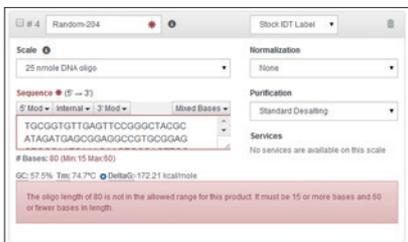
ADD TO WISH LIST ▶▶▶ p.53

- ※ [Add To Order (見積もる)] は、[Shopping Cart] という見積もり提示ページに入力内容が移るのみで合成までは行いません。「合成開始」には、[Shopping Cart] から次ページ12.以降をご参照ください。画面にて見積もりが必要な場合は、p.53の15.をご参照ください。



◎ エラーについて

スケールに規定されている塩基数から外れた場合は、下図左の様な案内が出ます。合成が難しいDNAに対しては、下図右の様な案内が表示されます。[Add To Order]、[Add To Wish List]のどちらを選択しても同じです。配列を変更しても構わない場合は、変更をお願いいたします。合成が難しいオリゴは、規定の納品量に満たない場合や合成出来ない場合もございます。



11. [Add To Order]をクリックした場合は、[Shopping Cart]にDNAが入ります。この状態でも、注文を変更する事が出来ます。

Shopping Cart
Current Order as of 2014/10/28 15:48:48 (MPDT)

ここで表示される納期は米国あるいはシンガポール国内向けの納期です。日本への納品は別途1~3日掛かります。

Item #	Name	Price
#1	Random-1	¥1,134
#2	Random-2	¥999
#3	Random-3	¥1,134
#4	Random-4	¥891
#5	Random-5	¥945

Annotations in image:
 - Item #1: "Ships within: 1 business day" (highlighted)
 - Item #2: "Guaranteed Yield: 3 ODs = 8.3 nmols = 95.1 µgrams" (highlighted) with note "保証収量" (Guaranteed yield)
 - Item #3: "Delete" button (highlighted) with note "削除" (Delete), "Wish Listに移動" (Move to Wish List), "修正 相補配列の追加" (Correction: Add complementary sequence)
 - Item #4: "Guaranteed Yield: 3 ODs = 7.7 nmols = 98.9 µgrams" (highlighted) with note "合成が難しい配列は Warnings と表示されます" (Sequences that are difficult to synthesize are shown as Warnings)
 - Item #5: "Warnings" button (highlighted)

12. 日本のお客様は、(12) をご選択下さい。(13) に Promotion Code を入力することが出来ます。価格 (14) は、注文完了後に oligo@mbl.co.jp からメールでお送り致します。注文内容の確認が完了したら、[Check Out] ボタンをクリック (15) して下さい。

#20 Random-20

Product: 25 nmole DNA Oligo
Purification: Standard Desalting
Sequence: 5'- AAC GAG CAG CGA ATG AAA TAC CTT GCT GCC T -3'

Ships within: 1 business day Length: 31
Guaranteed Yield: 3 ODs = 10 nmols = 94.8 µgrams

Ship order when complete (single shipment) (12)
 Ship items as available

Promo Code Go (13)

SubTotal	¥22,680 JPY
Shipping and Handling	Inquire
Tax	¥0 JPY
Total	Inquire

Continue Shopping
 (15)
 Delete All Items
 Save To Wish List
 Email Cart/Quote

14. 送付先情報と支払先情報の確認を行います。[Paper Spec Sheet]を選択 (16) し、[Continue]をクリック (17) してください。この欄が空白の方は次ページ◎送付先情報と支払先情報の入力についてをご覧ください。
 ※ 住所変更の際は oligo@mbl.co.jp までご連絡ください。

We are upgrading your website experience! [Click here](#) for more information.

Shipping and Billing

Step 1 - Review Shipping and Billing Addresses Manage Addresses

Shipping

名前: Integrated DNA Technologies MBL KK
 住所: 4-5-3 sakae naka-ku
 住所続き (optional): KDXnagoya building10F
 市町村: NAGOYA-SHI
 都道府県: Aichi
 郵便番号: 460-0008
 国: Japan
 電話番号: 01-52-857-1909
 内線 (optional):
 FAX番号 (optional):

Step 2 - Select Documentation Options

Paper Spec Sheet (16)
 Printed on paper, packaged with other materials, and shipped with the order

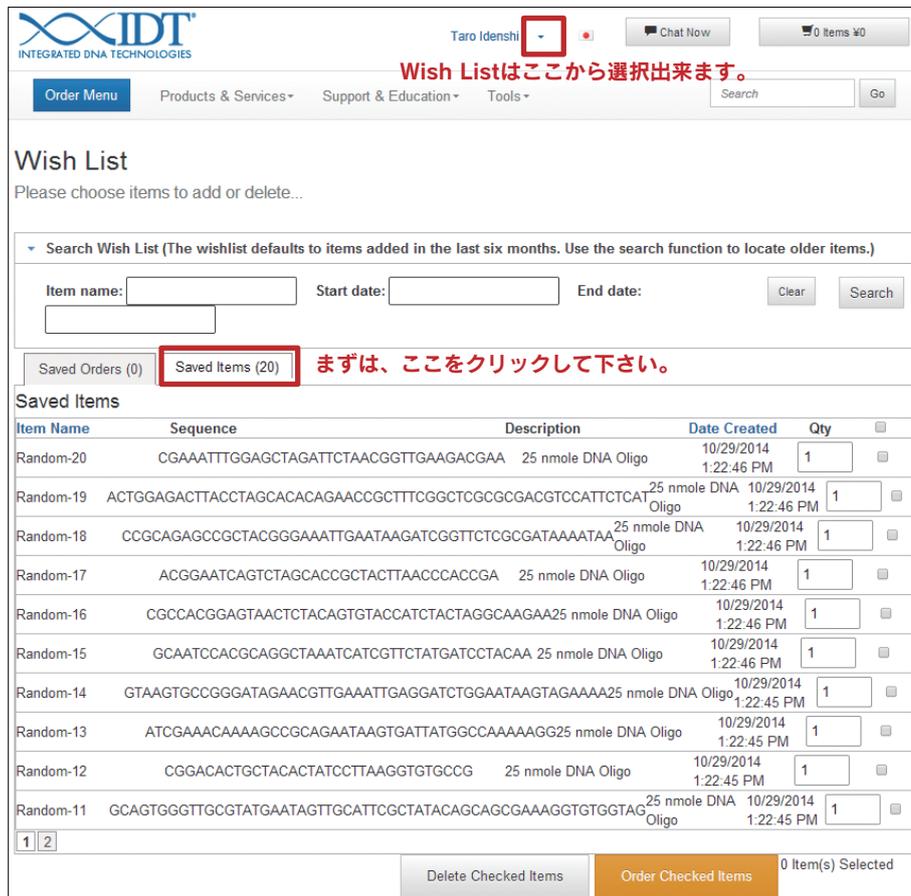
Electronic Spec Sheet
 Certificate of Analysis and all QC Data will be available online in Order History for two years.

(17)

15. [Submit] (18) をクリックして、発注完了です。翌営業日までに確認書をお送りする予定です。送られてこない場合は、oligo@mbl.co.jpまでお問い合わせください。その際は、メール件名に「注文確認」と入力してください。
- ※ 事前に書面にて見積が必要な場合は、Note欄に「Request Quote」とご記入下さい。合成開始前にメールにてお見積りをお送りさせて頂き、承認頂いてから合成を開始致します。



16. [Add To Wish List] をクリックした場合は、[Wish List] に注文内容が入ります。[Shopping Cart] に対して情報は少ないですが、チェックボックスを用いて一括で処理が出来ます。注文を完了するには、[Shopping Cart] を経由する必要があります。



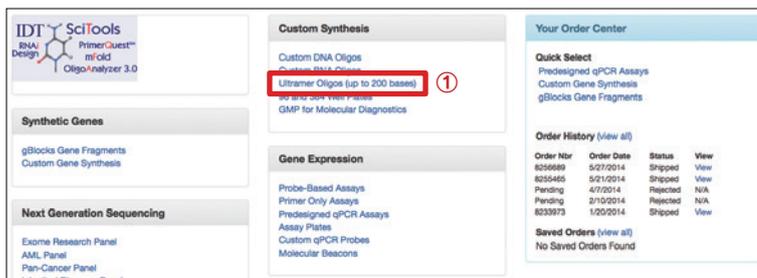
◎ 送付先情報と支払先情報の入力について

記入が完了しましたら [Continue] をクリック (19) してください。別途日本語での登録を、弊社よりお送りいたします「初回注文時確認書」にて行わせて頂く場合があります。何度もお手数をお掛けし申し訳ございません。入力完了後は、Shopping Cartのページ（前ページ11.）に戻ります。



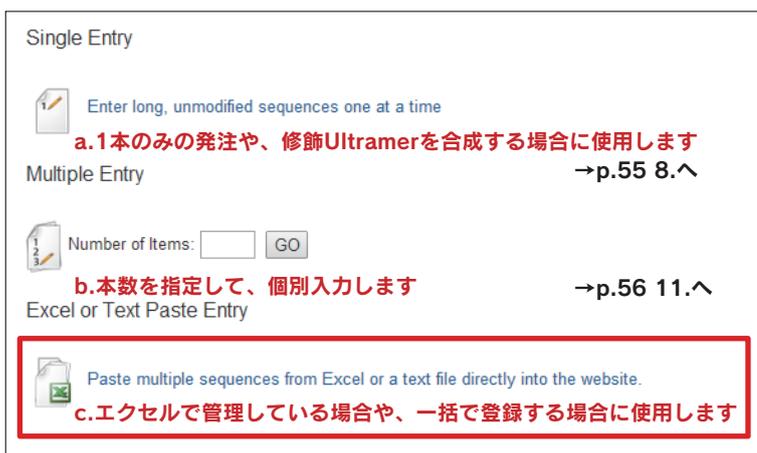
2. Ultramer® DNA合成 (チューブ納品)

1. IDT ウェブサイト (<http://www.idtdna.com/site>) からログインし、[Order Menu] タブをクリックして下さい。(p.47 参照)
2. Order Menu ページの [Ultramer Oligos (up to 200 bases)] (①) をクリックして下さい。



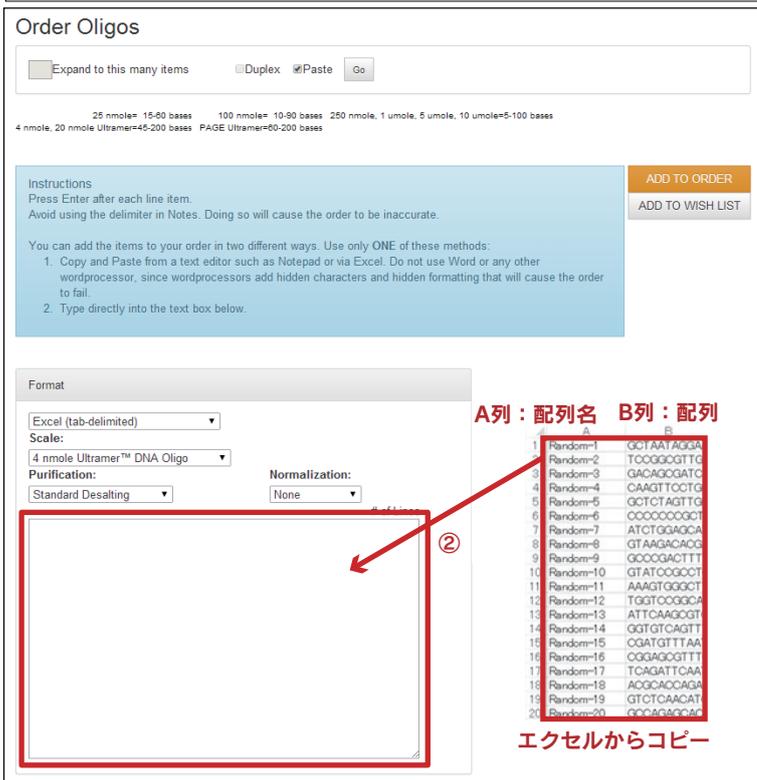
[エクセルで管理している場合や、一括で登録する場合]

3. 右記の3種の注文方法から1つをご選択下さい。まずは、最も使い勝手の良い [c.\[Excel or Text Paste Entry\]](#) を説明いたします。



4. DNAをエクセルシートよりコピーし、Order Oligo ページの最下部にある "Please do not enter synthesis..." という箇所 (②) に貼り付けます。

※ コピーアンドペーストを行う場合、エクセルシートでは隣り合ったセルに配列・配列名を入力してください。分かりにくい場合は、MBL ライフサイエンスサイト (http://ruo.mbl.co.jp/bio/idt/how_to_order_ultramer.html) に掲載している動画をご参照ください。

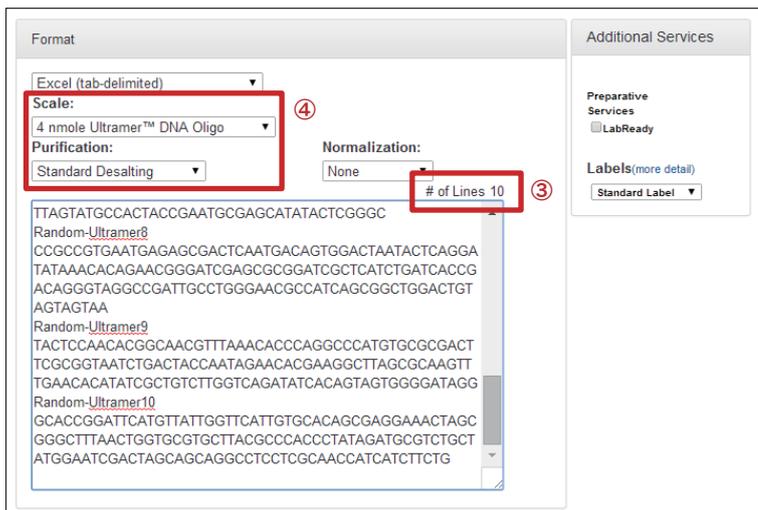


5. DNAを貼り付けた後、指定した通りの本数になっているかどうか確認して下さい (③)。もし本数がズれている場合は、「改行」がどこかに入っている可能性があります。例えば、10本の Ultramer をコピーアンドペーストすると # of Lines 10 と表示されます。

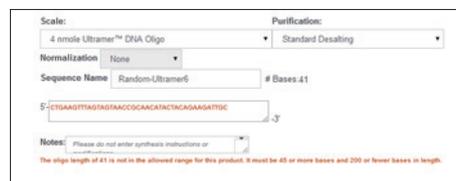
6. 合成スケールと精製方法の選択 (④) が完了したら、[Add To Order (見積もる)] もしくは、[Add To Wish List (一旦保存する)] をクリックします。

- ADD TO ORDER ▶▶▶ p.52
- ADD TO WISH LIST ▶▶▶ p.53

※ [Add To Order (見積もる)] は [Shopping Cart] という見積もり提示ページに入力内容が移るのみで合成までは行いません。「合成開始」には、[Shopping Cart] から次ページ12.以降をご参照ください。書面にて見積もりが必要な場合は、p.53の15.をご参照ください。

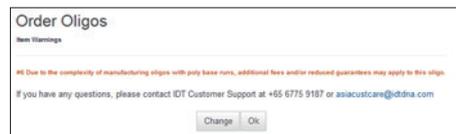


7. [Add To Order], [Add To Wish List] のどちらを選択した場合でも、注文内容に留意事項がある場合は、右記の様に注意書きが入ります。注意書きに従って、注文内容を変更して下さい。



また、合成が難しいDNAに対しても、右記の様な案内が表示されます。

配列を変更しても構わない場合は、変更をお願いいたします。稀に、規定の納品量に満たない場合や合成出来ない場合がございます。

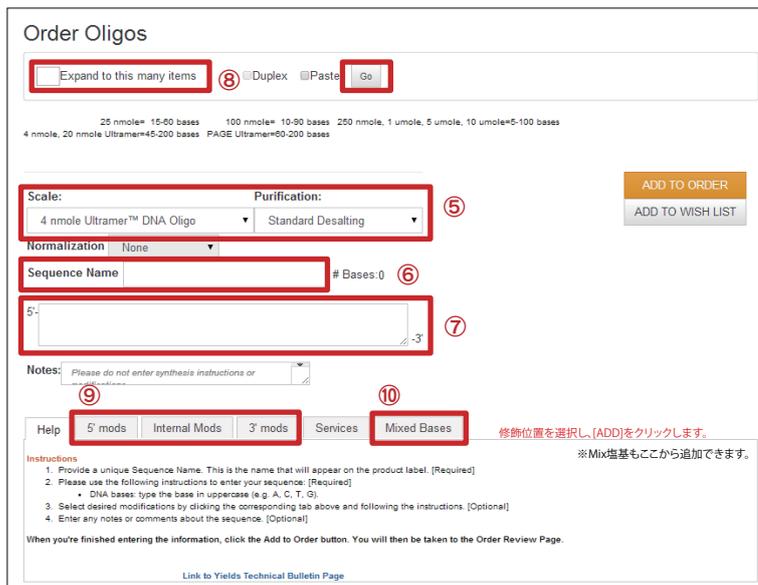


[1本のみ発注や、修飾 Ultramer を合成する場合]

8. a. [Single Entry] を選択して下さい。



9. 合成スケールと精製方法 (⑤)、配列名 (⑥)、配列 (⑦) をそれぞれ入力・選択して下さい。発注する本数を増やしたい場合は、(⑧) に数字を入力し、GOをクリックします。



10. 修飾がある場合は、ページ下部の修飾したい位置 (5' mods, internal, 3' mods) をクリック (⑨) します。タブ内の情報が選択されますので、[ADD] をクリックして下さい。例えば、5' mods内の5' FAMの[ADD] をクリックすると、[/56-FAM/] がDNA配列の5' 末端側に追加されます。Mix塩基も (⑩) から追加できます。この様に修飾を行い、最後に [Add To Order (見積もる)] もしくは [Add To Wish List (一旦保存する)] をクリックします。

- ADD TO ORDER ▶▶▶ p.52
- ADD TO WISH LIST ▶▶▶ p.53

[DNAの発注を行う方法(個別入力)]を選択する場合

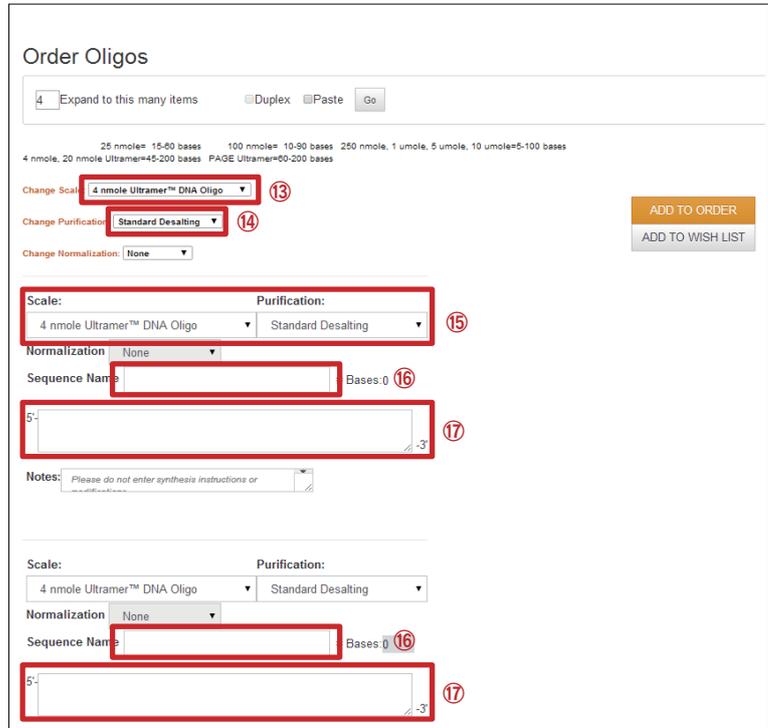
11. 右記 b. [Multiple Entry] に発注したい本数を入力 (11) し、[GO]をクリック (12) して下さい。



12. 合成スケール、精製方法は一括で選択できます (13、14)。個別に設定する場合は (15) で選択します。配列名及び配列を入力 (16、17) し、これを繰り返します。その後 [Add To Order (見積もる)] もしくは [Add To Wish List (一旦保存する)] をクリックして下さい。

ADD TO ORDER ▶▶▶ p.52

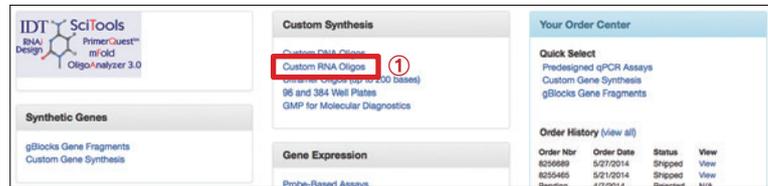
ADD TO WISH LIST ▶▶▶ p.53



3. RNA 合成 (チューブ納品)

1. IDT ウェブサイト (<http://www.idtdna.com/site>) からログインし、[Order Menu] タブをクリックして下さい。(p.47 参照)

2. Order Menu ページの [Custom RNA Oligos] (1) をクリックして下さい。



3. 1 ~ 数百本の RNA オリゴを発注できます。[1つずつ配列名と配列をそれぞれ入力する方法] は 4. を、[エクセルシートからコピーアンドペーストで一括でオーダーする方法] は 6. をご覧下さい。

※ RNA の注文には、独特の表記方法が必要ですが、web ページで簡単に変更できます。(次ページ参照)

[1つずつ配列名と配列をそれぞれ入力する方法]

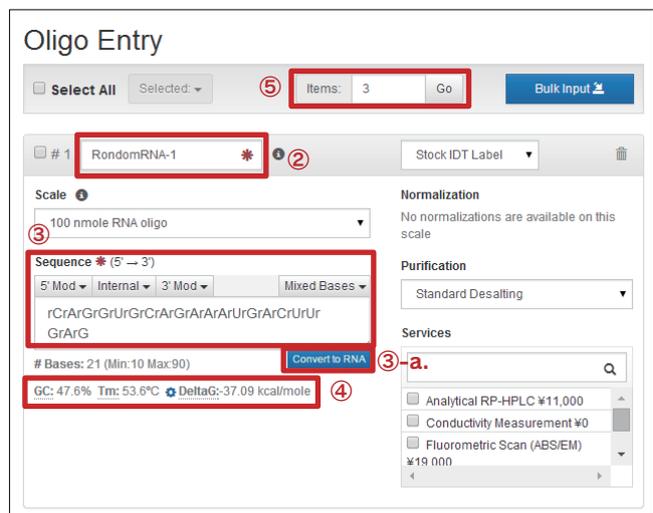
4. 下記の様に配列名 (2) と配列 (3) を入力します。DNA 形式で入力した場合は [Convert to RNA] (3-a.) をクリックしてください。Tm 値や GC 含量が自動計算されます (4)。

本数を増やす場合は (5) に数字を入力します。Sequence 欄の 5' Mod/Internal/3' Mod, Mix タブをクリックすれば、修飾や混合塩基を追加する事も出来ます。

5. 合成スケールと精製グレードを確認したら、[Add To Order (見積もる)] もしくは、[Add To Wish List (一旦保存する)] をクリックして下さい。

ADD TO ORDER ▶▶▶ p.52

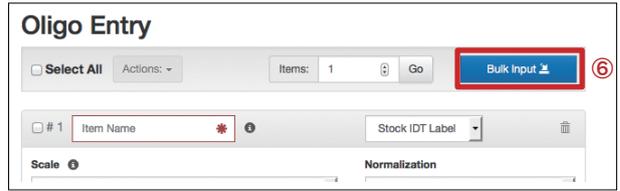
ADD TO WISH LIST ▶▶▶ p.53



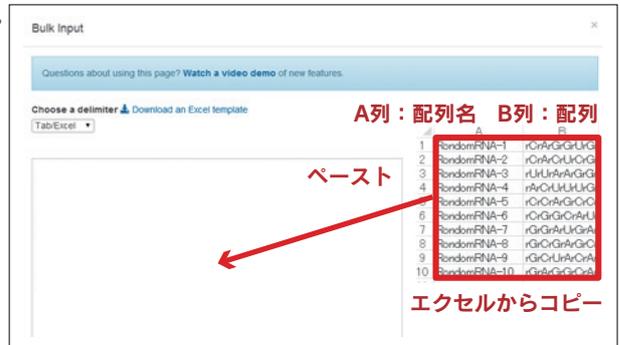
[エクセルシートからコピーアンドペーストで一括でオーダーする方法]

※配列数が多い場合は、こちらの注文方法が便利です。

6. [Bulk Input] をクリック (6) すると、ポップアップページが現れます。

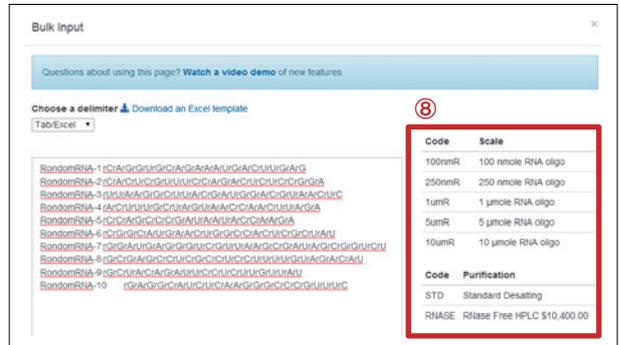


ポップアップページにエクセルシートからコピーアンドペーストを行います。



7. 配列名・配列のみを入力すると、25 nmoleスケール・脱塩グレードで入力されます。スケールや精製グレードを指定したい場合は、エクセルシートのC列、D列 (7) の様に、3列目、4列目にスケールや精製グレードの情報を入力してください。入力できる内容・記入方法はポップアップページの右欄 (8) をご覧ください。

#	A	B	C	D
1	RandomRNA-1	rCrArGrGUG	100nmR	STD
2	RandomRNA-2	rCrArCrUUCrG	100nmR	STD
3	RandomRNA-3	rUrUrArArGrG	100nmR	STD
4	RandomRNA-4	rArCrUUCrG	100nmR	RNASE
5	RandomRNA-5	rCrArGrCrG	100nmR	RNASE
6	RandomRNA-6	rCrGrCrArU	250nmR	STD
7	RandomRNA-7	rGrCrArUUGrA	250nmR	STD
8	RandomRNA-8	rGrCrArGrCrG	250nmR	STD
9	RandomRNA-9	rGrCrUrArCrAr	250nmR	STD
10	RandomRNA-10	rGrArGrGrG	250nmR	STD



※ コピーアンドペーストを行う場合、エクセルシートでは隣り合ったセルに配列・配列名を入力してください。分かりにくい場合は、MBLライフサイエンスサイト (http://ruo.mbl.co.jp/bio/idt/how_to_order_ultramer.html) に掲載している動画をご参照ください。

8. 一旦100 nmole合成スケール・脱塩グレードで入力した後、一括で合成スケール・精製グレードを変更する事も可能です。Select All をクリック (9) し、ActionsからEdit を選択 (10) します。変更画面がポップアップされますので、スケール、精製グレードそれぞれを変更して下さい。変更後、変更が適用されているかどうか、確認して下さい。



10. 合成スケールと精製グレードを確認したら、[Add To Order (見積もる)] もしくは、[Add To Wish List (一旦保存する)] をクリックして下さい。

- ADD TO ORDER ▶▶▶ p.52
- ADD TO WISH LIST ▶▶▶ p.53

◎ DNA/RNA を IDT 指定の記載方法に変換する場合

RNAをウェブサイトに入力する際、IDTでは「rN」という表記方法を用いています。

例えばRNAを発注する時は、右記のような表記である必要があります。 → **rUrArUrCrUrCrUrCrG**

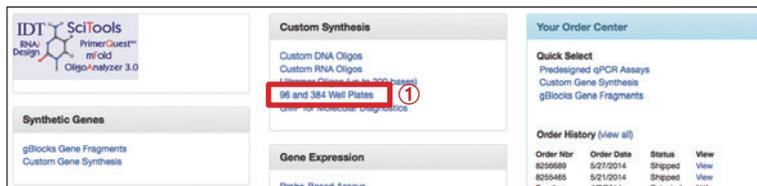
IDTウェブサイトでは、DNAの形式で入力を行っても一度にRNAの表記に変更する機能があります。



[Select All] をチェックした後、[Action] → [Conver To RNA] の順にクリックしてください。

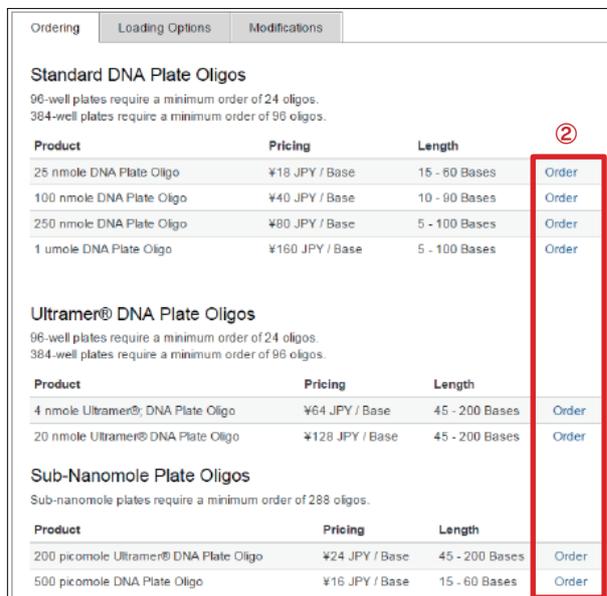
4. DNA合成/Ultramer® DNA合成 (プレート納品)

1. IDT ウェブサイト (<http://www.idtdna.com/site>) からログインし、[Order Menu] タブをクリックして下さい。(p.47参照)



2. Order Menuページの [96 and 384 well Plates] (①) をクリックして下さい。

3. 右記リストから必要なプレートを選択し、[order] (②) をクリックして下さい。



4. 例) 25 nmole Plateをオーダーします。

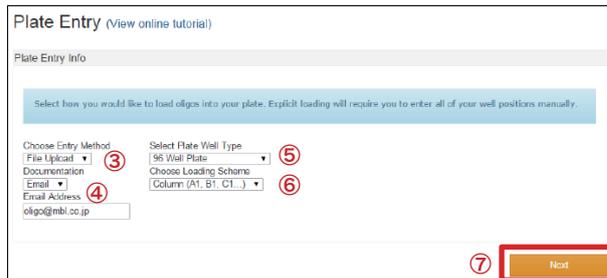
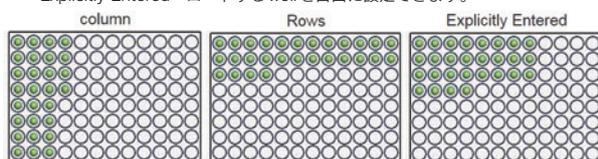
(③) エクセルファイルをアップロードする場合は [File Upload] を、コピーアンドペーストで配列を入力する場合は [Paste Entry] を選択します。

(④) Email Addressを入力して下さい。このアドレス宛に納品量等の詳細情報をお送りします。

(⑤) Plate Typeを選択して下さい。Mixプレートの場合はこちらをご参照下さい。

(⑥) プレートへのローディング方向を選択できます。

- Column(A1, B1, C1…) : A1から順に縦一列にローディングされます。
- Rows(A1, A2, A3…) : A1から順に横一列にローディングされます。
- Explicitly Entered : ロードするwellを自由に設定できます。



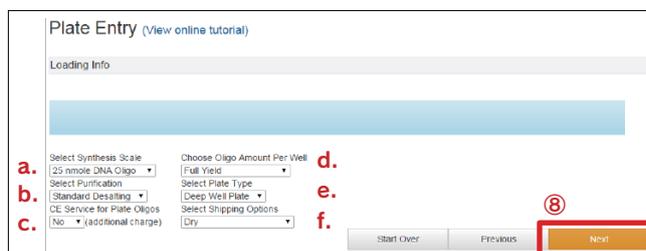
初めてご入力される場合は、(③) を upload、(⑥) を ColumnもしくはRowsでのご入力をお勧めします。選択後、Next (⑦) をクリックします。

エクセルファイルのアップロード ※ [File Upload] を選択

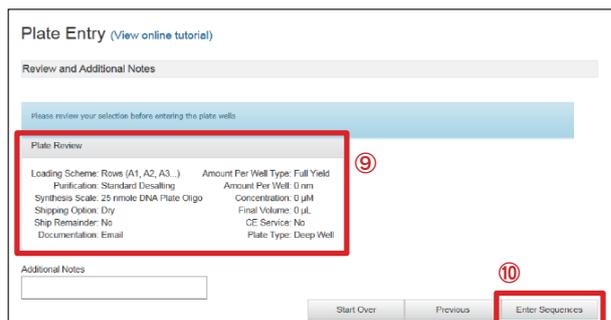
5. 下記をそれぞれ選択します。選択後、Next (⑧) をクリックします。

- 合成スケールを選択します。
- 精製グレードを選択します。
- CE (キャピラリー電気泳動) で純度を測定します (有料)。
- 各ウェル全量納品するか、等量納品するかを選択できます。合成スケールによって指定できる量が異なります。
- プレートの形状を選択します。(p.4参照)
- Dryをご選択下さい。

※ Wetをご選択頂いた場合、20,000円の送料がかかってしまいますのでご注意ください。



6. 内容 (⑨) を確認後、[Enter Sequences] をクリック (⑩) し、配列入力画面へと進んで下さい。

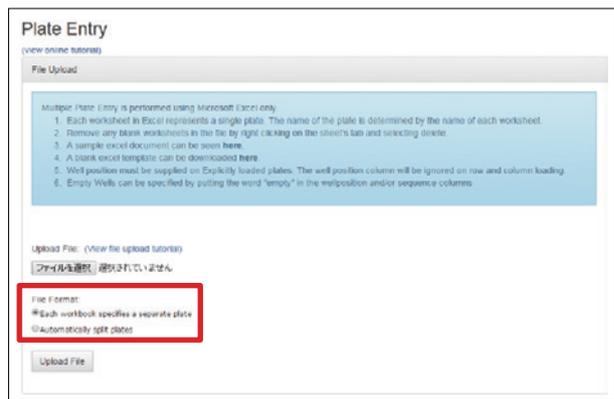


7. この画面でエクセルファイルをアップロードします。1シートにつき1プレートからのみの記載をお願いします。また、そのシート名がプレート名になります。余分なシートは削除して頂きますようお願い致します。

記入例は右記です。

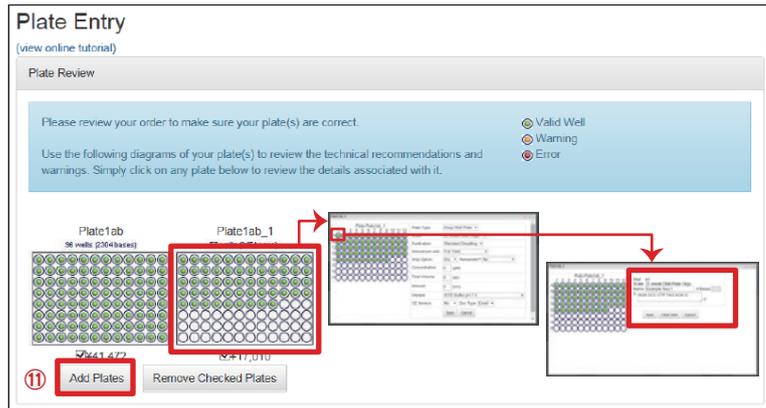
WellPosition	Name	Sequence
A1	Example Seq 1	AGAGCCCTTAGAGAG
A2	Example Seq 2	AGAGCCCTTAGAGAG
A3	Example Seq 3	AGAGCCCTTAGAGAG
A4	Example Seq 4	AGAGCCCTTAGAGAG
A5		
A6		
A7	Example Seq 7	AGAGCCCTTAGAGAG
A8	Example Seq 8	AGAGCCCTTAGAGAG
A9	Example Seq 9	AGAGCCCTTAGAGAG

Column, Rowsをご選択頂いた場合は、well position の記載は必要ありませんので、[配列名][配列]の2列のデータをアップロードして下さい。Explicitly Enteredを選択頂いた場合は、[Well position][配列名][配列]の3列のデータをuploadして下さい。ウェルを空にしたい場合、配列名と配列を「空白」にして下さい。

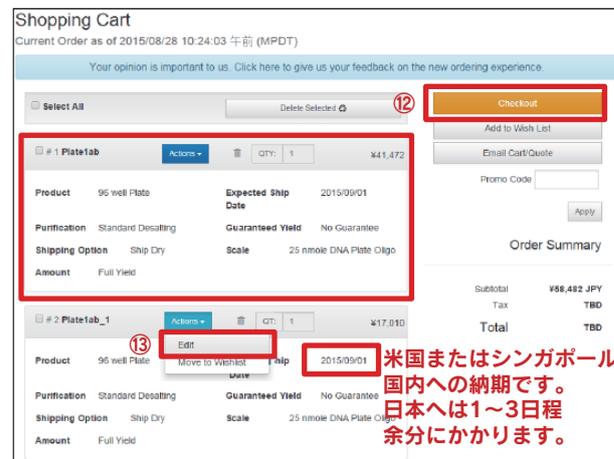


8. アップロード後、右記のような画面が表示されます。プレートをクリックすると、詳細データを確認できます。さらにwellをクリックすると、配列の情報も確認できます。[Add Plates]をクリック (11) すると shopping cart に移動します。

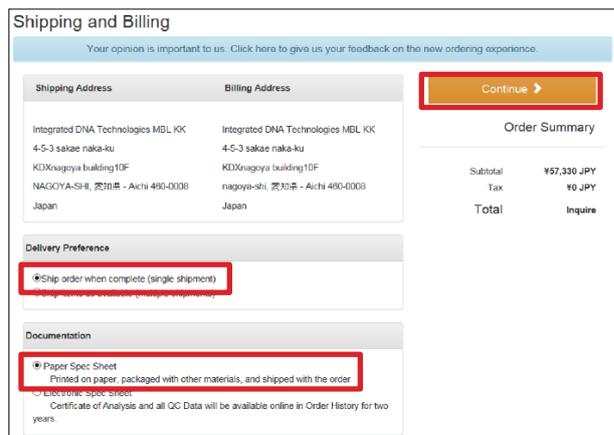
※稀に” You must supply the amount in nanomoles.” と表示され、次のステップへ進めなくなりますが、プレートをクリックし、中身を確認することで解消されます。



9. 内容が確認できたら、Check outをクリック (12) して下さい。プレートの内容を修正したい場合は、[Edit] (13) から修正できます。



10. 送付先情報と支払先情報の確認を行います。[Ship order when complete]と [Paper Spec Sheet] を選択し、[Continue] をクリックしてください。この欄が空白の方はp.53 送付先情報と支払先情報の入力についてをご覧ください。



11. Submit Orderをクリックして、発注完了です。翌営業日までに確認書をお送りする予定です。送られてこない場合は、oligo@mbi.co.jpまでお問い合わせください。その際は、メール件名に「注文確認」と入力してください。

※ 事前に書面にて見積が必要な場合は、Note欄に「Request Quote」とご記入下さい。合成開始前にメールにてお見積りをお送りさせて頂き、承認頂いてから合成を開始致します。



エクセルファイルのコピー & ペースト ※ [Paste Entry] を選択

12. 下記をそれぞれ選択します。選択後、Next (14) をクリックします。

- (a.) 合成スケールを選択します。
 - (b.) 精製グレードを選択します。
 - (c.) CE (キャピラリー電気泳動) で純度を測定します。(有料)
 - (d.) 入力形式を選択します。「paste data from Excel (tab)」を選択して下さい。エクセルからのコピー & ペーストで入力できます。
 - (e.) 各ウェル全量納品するか、等量納品するかを選択できます。合成スケールによって指定できる量が異なります。
 - (f.) プレートの形状を選択します。
 - (g.) Dryをご選択下さい。
- ※ Wetをご選択頂いた場合、20,000円の送料がかかりますのでご注意ください。
- (h.) プレート名を指定します。

Plate Entry (View online tutorial)

Loading Info

a. Select Synthesis Scale: 25 nmole DNA Oligo

b. Select Purification: Standard Desalting

c. CE Service for Plate Oligos: No (additional charge)

d. Paste Entry Delimiter: paste data from Excel (tab)

e. Choose Oligo Amount Per Well: Full Yield

f. Select Plate Type: Deep Well Plate

g. Select Shipping Options: Dry

h. Plate Name: Explicitly Entered

14

Start Over Previous Next

13. 内容 (15) を確認後、[Enter Sequences] をクリック (16) して下さい。

Plate Entry (View online tutorial)

Review and Additional Notes

Please review your selections before entering the plate wells

15

Loading Scheme: Rows (A1, A2, A3...)	Amount Per Well Type: Full Yield
Purification: Standard Desalting	Amount Per Well: 0 nm
Synthesis Scale: 25 nmole DNA Plate Oligo	Concentration: 0 µM
Shipping Option: Dry	Final Volume: 0 µL
Ship Remannder: No	CE Service: No
Documentation: Email	Plate Type: Deep Well

Additional Notes

16

Start Over Previous Enter Sequences

14. この画面で配列情報をアップロードします。

入力後は [Enter] キーを押して下さい。ノート欄は用いないで下さい。エラーが出てしまう恐れがあります。

入力方法は2つありますが、1回の注文ではどちらか1方のみをご使用下さい。

- a. 「Choose a Format (17)」にて、[Excel(tab-delimited)] を選択し、エクセルファイルからコピー & ペーストを行なって下さい。(推奨)
- b. 「Choose a Format (17)」にて、[name;sequence;note] または [name.sequence.note] を選択し、配列名、配列をそれぞれセミコロンやコロンで区切って直接書き込んで下さい。ウェルを空にしたい場合は、空白もしくは empty とご記載下さい。

Plate Entry (View online tutorial)

Ordering Instructions

Press Enter after each line item.

Avoid using the delimiter in Notes. Doing so will cause the order to be inaccurate.

You can add the items to your order in two different ways. Use only ONE of these methods:

- Copy and Paste from a text editor such as Notepad. Do not use Word or any other wordprocessor - wordprocessors add hidden characters and hides formatting that will cause the order to fail.
- OR
- Type directly into the text box below.
- Empty Wells can be specified by putting the word 'empty' in the wellposition and/or sequence columns.
- An example text file can be found [here](#).

17

Choose a Format: Excel (tab-delimited)

Additional Services

There are no services available for this product.

Entities

Start Over Submit

15. アップロード以降は前ページ8.~をご参照ください。

◎ Entries欄への記載方法について

ローディング方法で、ColumnもしくはRowsを選択した場合は、右記のように入力する必要があります。

Explicitly Entered を選択した場合のみ、Well Position を含めてコピー＆ペーストを行う必要があります。

Example Seq 1	AGAGCCCTTTAGAGAG
Example Seq 2	AGAGCCCTTTAGAGAG
Example Seq 3	AGAGCCCTTTAGAGAG
Example Seq 4	AGAGCCCTTTAGAGAG
Example Seq 5	AGAGCCCTTTAGAGAG
Example Seq 6	AGAGCCCTTTAGAGAG
Example Seq 7	AGAGCCCTTTAGAGAG
Example Seq 8	AGAGCCCTTTAGAGAG
:	:

A1	Example Seq 1	AGAGCCCTTTAGAGAG
A2	Example Seq 2	AGAGCCCTTTAGAGAG
A3	Example Seq 3	AGAGCCCTTTAGAGAG
A4	Example Seq 4	AGAGCCCTTTAGAGAG
A5	Example Seq 5	AGAGCCCTTTAGAGAG
A6	Example Seq 6	AGAGCCCTTTAGAGAG
A7	Example Seq 7	AGAGCCCTTTAGAGAG
A8	Example Seq 8	AGAGCCCTTTAGAGAG
:	:	:

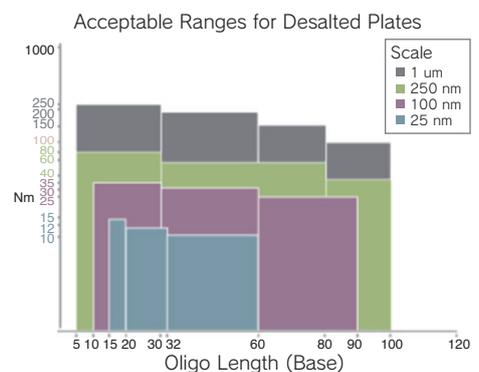
◎ 等量納品に関して

1. 等量納品をご依頼の場合は、[Choose Oligo Amount Per Well]にて、[Normalized in NMoles]を選択してください。

2. 右記のような画面に遷移しますので、Amount (18) に納品量を記入し、Next (19) をクリックします。等量化出来ない量の場合、[The maximum nanomole amount on the 25 nmole scale is X nanomoles. (X:数字)] と表示されます。

等量化出来る量は右表を参照して下さい。

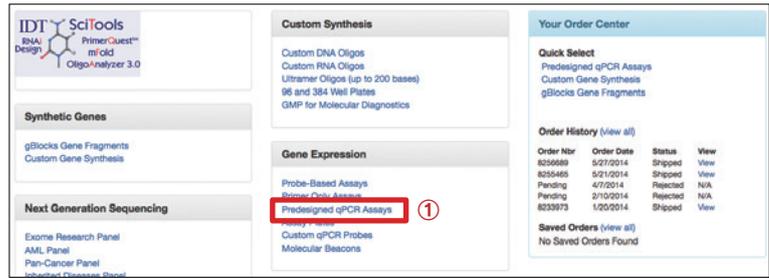
例) 100nmoleスケールで合成を行った場合、30 ~ 60 merであれば、30 mole/well まで指定できます。



5. PrimeTime® プレデザイン

1. IDT ウェブサイト (<http://www.idtdna.com/site>) からログインし、[Order Menu]タブをクリックして下さい。(p.47 参照)

2. Order Menuページの [Predesigned qPCR Assays] (①) をクリックして下さい。



プレデザイン Assaysの発注を行う方法

3. Assay を検索します。

※ [Assay ID] がわかっていて、かつ複数ある場合は次ページ (Batch方式) をご覧下さい。

(1) [Basic] になっていることを確認します (②)。

(2) [Gene Symbol] または [RefSeq] または [Assay ID] のキーワードを入力します (③)。※ どれか一つ以上で検索できます。

(a.) HGNCで認可された遺伝子名と遺伝子シンボル。NCBIのデータベースやEntrez Geneで登録された遺伝子名 (例 HPRT1)

(b.) NCBIが提供するReference Sequence。 ※ RefSeq IDでの検索が有効です (例 NM_000194)。

(c.) IDTのPrime Time Assay ID (例 Hs.PT.58.2145446)。

(3) [Species] 生物種を選択します (④)。

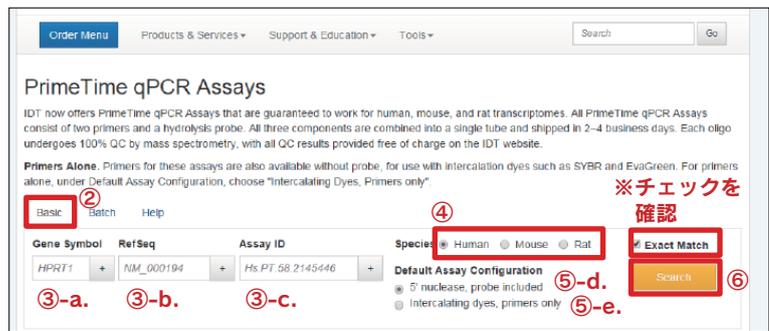
(4) [Default Assay Configuration] 検出方法を選択します (⑤)。

(d.) [5' nuclease, probe included]…プローブ法 (PCR-ハイブリダイゼーション法)

(e.) [Intercalating dyes, primers only]…インターカレーター法

(5) [Exact Match]のチェックを確認してください。Gene SymbolやRefSeqの一部しかわからない場合は、チェックをはずすことで曖昧な検索ができます。

(6) [Search] をクリック (⑥) してください。

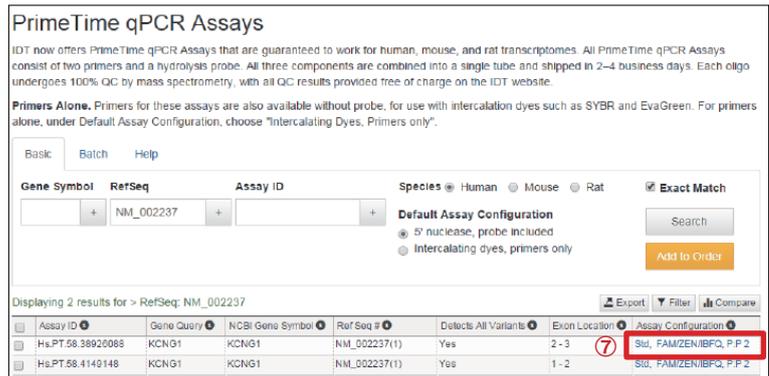


4. 検索結果が表示されます。

(1) 合成スケール、色素、PrimerとProbeの比率を変更したい場合は、[Assay Configuration]列の[Std, FAM/ZEN/IBFQ, P:P2]をクリック (⑦) します。変更がない場合は、4. (5) へお進みください。

※ StandardからMiniスケールへは、ここで変更します。

※ 検索結果からの選択時のポイントは次ページをご参照ください。

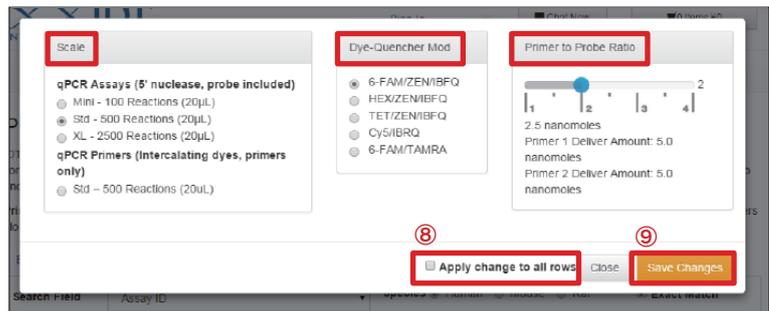


(2) ウィンドウが開きますので、[Scale]、[Dye-Quencher Mod]、[Primer to Probe Ratio] を選択します。

※ [Primer to Probe Ratio] はPrimerとProbeの比率のことで、通常は2:1になっています。例えば、ddPCRで4:1するなど、用途に合わせた比率に変更することができます。

(3) 全てのセットを同じ条件に変更する場合は (⑧) にチェックを入れます。選択した行のセットのみ変更する場合はチェックを外します。

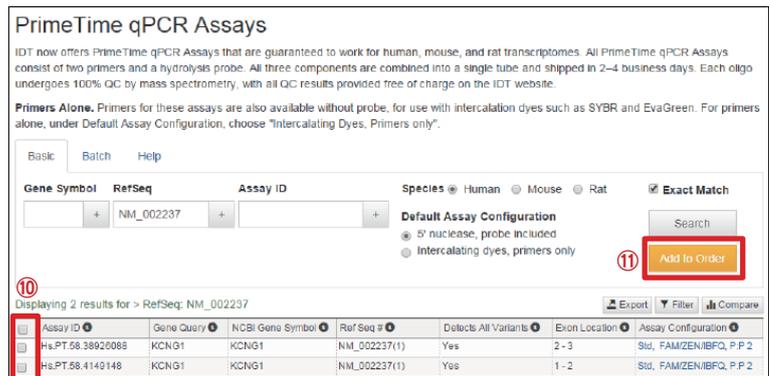
(4) [Save Changes] (⑨) をクリックします。



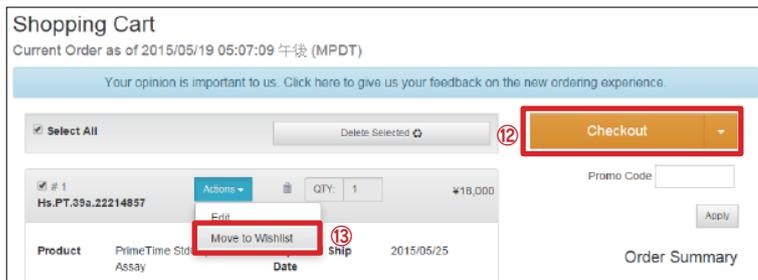
(5) 購入したいセットにチェックを入れます (⑩)。左上のマスにチェックを入れると一括で全ての行をチェックすることができます。

(6) [Add to Order (見積もる)] (⑪) をクリックします。

※ 配列情報は納品時に同梱されるSpec sheetに記載されます。



5. 注文を確定する場合は、[Check Out (注文)] ボタンをクリック (12) して下さい。確定しない場合は [Actions] をクリックし、プルダウンから [Move to Wishlist (一旦保存する)] をクリック (13) すると [Wish List] に注文内容が入ります。[Shopping Cart] に対して情報は少ないですが、チェックボックスを用いて一括で処理が出来ます。ただ、注文を完了するには、[Shopping Cart] を経由する必要があります。



6. 送付先情報と支払先情報の確認についてはp.52の14.以降をご覧ください。

[Assay ID] がわかっていて、且つ複数ある場合 (Batch 方式)

7. 検索します。

(1) [Batch] をクリックします。

(2) 入力形式は [Assay ID] を選択します。

[Assay ID]…IDT の Prime Time Assay ID (例 Hs.PT.58.2145446)。

(3) [Search Field] (14) に [Assay ID] を入力します。直接入力するか、もしくはお持ちのフォーマットからコピーし、貼り付けてください。

(4) [Species] 生物種は 選択しなくても検索できます。

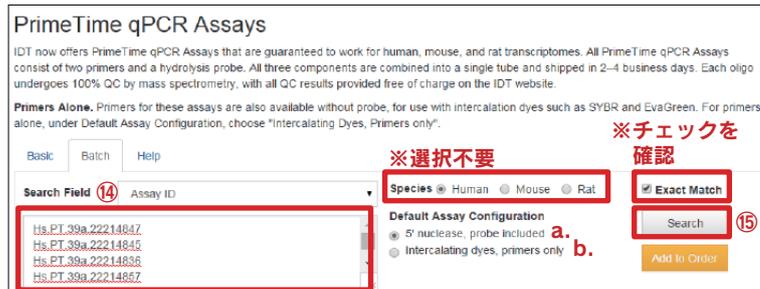
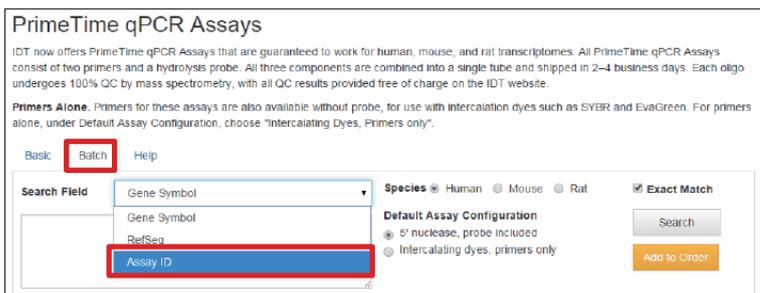
(5) [Default Assay Configuration] 検出方法を選択します。

(a.) プローブ法 (PCR-ハイブリダイゼーション法)

(b.) インターカレーター法

(6) [Exact Match] をチェックしていることを確認してください。

(7) [Search] のタブをクリック (15) してください。



8. 検索結果が表示されます。この後の操作方法は前ページ4.以降と同様です。

◎ Assay ID に含まれる情報

例: Hs.PT.39a.22214856.g



<生物種>

Hs: Homo Sapiens (human)

Mm: Mus Musculus (mouse)

Rn: Rattus Norvegicus (rat)

<製品カテゴリ>

PT: PrimeTime®

< Genomic DNA 由来の増幅の有無 >

g: イントロンを含む増幅サイズが短いので、Genomic DNA が混入した場合、増幅する恐れがあります。

gs: プローブ法がエキソンジャンクションに設計してありますので、プローブ法では Genomic DNA を増幅しませんが、インターカレーター法では Genomic DNA が混入した場合、増幅する恐れがあります。

空欄: Genomic DNA が混入していても増幅しません。

◎ 複数の Search 結果から選択するときのポイント

1. Assay ID に "g" や "gs" がいないこと

- ① "g" や "gs" がいないものは genomic DNA からの増幅を考慮する必要がありません。
- ② "gs" はプローブ法のみで選択することが可能です。

2. [Detects all variants] が [Yes] になっていること

- ① NCBI で登録されている Variant を全て検出することができます。

> 上記2つの条件を満たし、かつ、Search 結果で上位に表示されているセットをお勧めしています。

◎ Search 結果の補足

[Ref Seq #]の行の括弧内の数字にマウスを合わせますと、VariantのRef Seq NoとそのLocation情報が得られます。

Assay ID	Gene Query	NCBI Gene Symbol	Ref Seq #	Transcript	Location	All Variants	Exon Location	Assay Configuration
Hs.PT.56a.25865778	SERPINH1	SERPINH1	NM_001207014	NM_001235	2-3	Yes	3-4	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2
Hs.PT.56a.38408400	SERPINH1	SERPINH1	NM_001235(2)			Yes	3-5	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2
Hs.PT.56a.23113578	SERPINH1	SERPINH1	NM_001235(2)			Yes	5-6	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2
Hs.PT.56a.3873370.g	SERPINH1	SERPINH1	NM_001235(2)			Yes	1-3	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2

◎ 複数の Search 結果の例

(a) [Assay ID]に“g”がなく、[Detects All Variants]が[Yes]なので一番上を選択。

Assay ID	Gene Query	NCBI Gene Symbol	Ref Seq #	Detects All Variants	Exon Location	Assay Configuration
Hs.PT.56a.4533.g	CCNA2	CCNA2	NM_001237(1)	Yes	4-5	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2
Hs.PT.56a.39415515	CCNA2	CCNA2	NM_001237(1)	Yes	6-7	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2
Hs.PT.56a.1417536	CCNA2	CCNA2	NM_001237(1)	Yes	1-2	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2
Hs.PT.56a.1293104.g	CCNA2	CCNA2	NM_001237(1)	Yes	7-8	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2
Hs.PT.56a.40613162.g	CCNA2	CCNA2	NM_001237(1)	Yes	3-4	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2
Hs.PT.56a.24643161.g	CCNA2	CCNA2	NM_001237(1)	Yes	5-6	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2
Hs.PT.56a.38785387.g	CCNA2	CCNA2	NM_001237(1)	Yes	2-2	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2

(b) 一番上は[Detects All Variants]が[No]なので二番目を選択。

Assay ID	Gene Query	NCBI Gene Symbol	Ref Seq #	Detects All Variants	Exon Location	Assay Configuration
Hs.PT.58.39732427	GYPC	GYPC	NM_016815(2)	No	1-5	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2
Hs.PT.58.19177400	GYPC	GYPC	NM_001256584(3)	Yes	4-5	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2
Hs.PT.58.27305424.g	GYPC	GYPC	NM_002101(3)	Yes	1-1	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2

(c-1) [Assay ID]に“g”がついているが、候補が一つだけなのでこのセットを選択

Assay ID	Gene Query	NCBI Gene Symbol	Ref Seq #	Detects All Variants	Exon Location	Assay Configuration
Hs.PT.58.23045743.g	H2AFX	H2AFX	NM_002105(1)	Yes	1-1	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2

(c-2) [Assay ID]に“g”がついているが、全ての候補に“g”がついているので、一番上のセットを選択

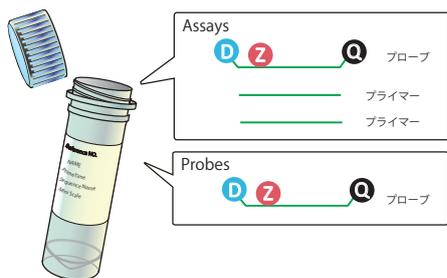
Assay ID	Gene Query	NCBI Gene Symbol	Ref Seq #	Detects All Variants	Exon Location	Assay Configuration
Hs.PT.58.895260.g	H2AFZ	H2AFZ	NM_002106(1)	Yes	3-4	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2
Hs.PT.58.21504851.g	H2AFZ	H2AFZ	NM_002106(1)	Yes	4-5	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2
Hs.PT.58.1957830.g	H2AFZ	H2AFZ	NM_002106(1)	Yes	1-3	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2

(c-3) [Assay ID]に“g”がついているが、全ての候補に“g”がついているので、上位であることと[Detects All Variants]が[Yes]であることから一番上のセットを選択

Assay ID	Gene Query	NCBI Gene Symbol	Ref Seq #	Detects All Variants	Exon Location	Assay Configuration
Hs.PT.56a.2070463.g	CAV3	CAV3	NM_033337(2)	Yes	3-3 ¹	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2
Hs.PT.56a.4533258.g	CAV3	CAV3	NM_001234(1)	No	2-4	Std, FAM/ZEN/IBFQ, P.P.2

(c)のように“g”があるセットを選択した場合、発現解析においてはDNase I処理にて、ゲノムDNAの除去を行ってください。

6. PrimeTime® カスタム

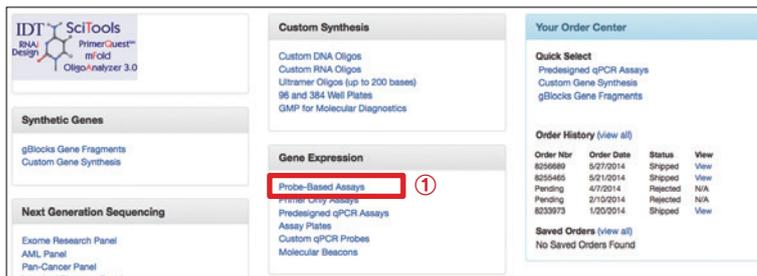


>> Assays
Primer2本 + Probe1本を、1本のチューブに入れて納品致します

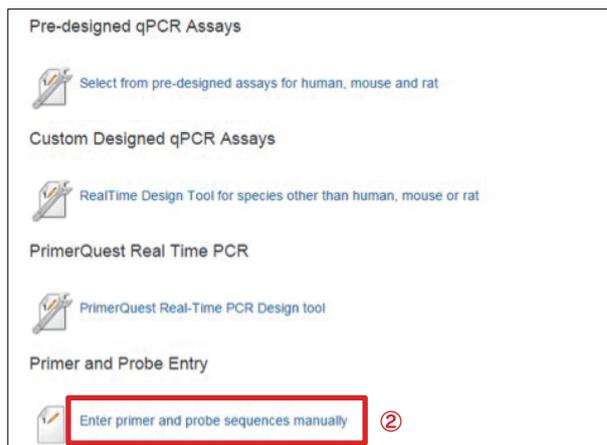
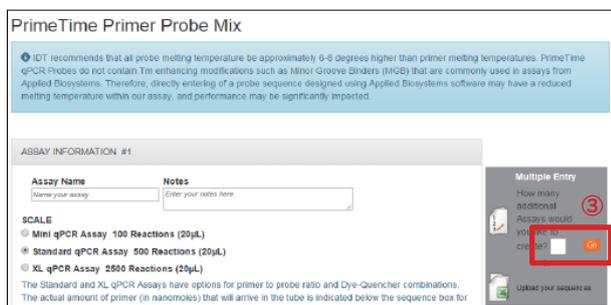
>> Probes
Probeのみを納品致します

[Assays : Primer2本 + Probe1本を、1本のチューブに入れて納品]

1. IDT ウェブサイト (<http://www.idtdna.com/site>) からログインし、[Order Menu]タブをクリックして下さい。(p.47参照)
2. Order Menuページの [Probe-Based Assays] (①) をクリックして下さい。



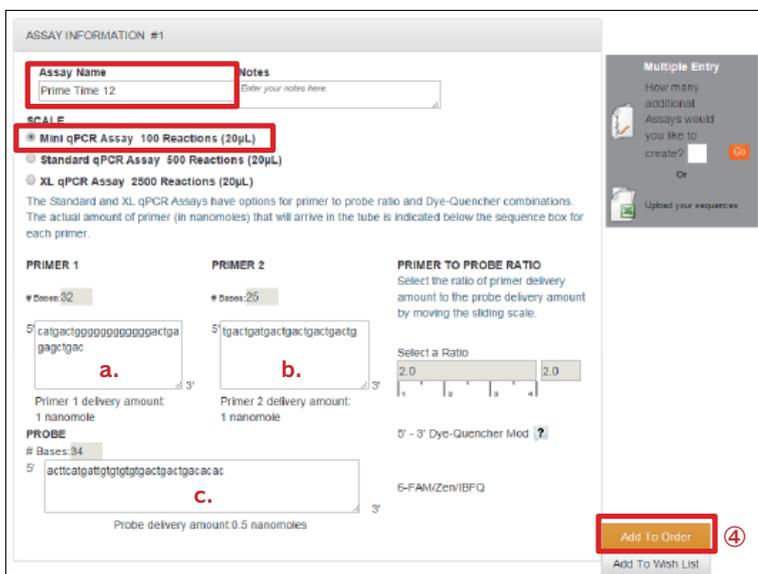
3. [Enter primer and probe sequences manually]をクリック (②) します。
4. 複数セットある場合は、[multiple Entry]の四角にセット数を入力して[Go]をクリック (③) します。※1セットの場合は、この手順は必要ありません。



5. Miniスケールの場合

- (1) [Assay Name]を入力します。
 - (2) [SCALE]の[Mini qPCR Assay 100 Reactions (20 μL)]を選択します。
 - (3) Forward Primerを[PRIMER 1] (a.) に、Reverse Primerを[PRIMER 2] (b.) に、Probeを[PROBE] (c.) に入力します。
 - (4) [Add To Order (見積もる)]をクリック (④) します。
- ※ Miniスケールの場合、PrimerとProbeの比率は2 : 1です。変更はできません。色素はFAM/ZEN/IBFQのみとなります。

ADD TO ORDER ▶▶▶ p.52
ADD TO WISH LIST ▶▶▶ p.53

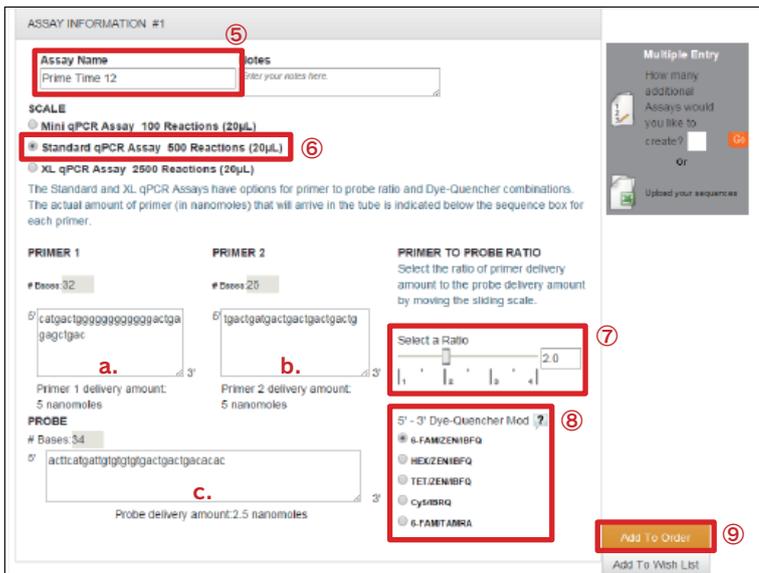


6. StandardスケールやXLスケールの場合

- (1) [Assay Name]を入力 (5) します。
- (2) [SCALE]を選択 (6) します。
- (3) Forward Primerを[PRIMER 1] (a.) に、Reverse Primerを[PRIMER 2] (b.) に、Probeを[PROBE] (c.) に入力します。
- (4) PrimerとProbeの比率を変更したい場合は[Select a Ratio]を変更 (7) します。Probe" 1" に対する、Primerの比率を入力します。バーをドラッグすることでも変更できます。
- (5) 5' -3' Dye-Quencher Mod]から色素を選択 (8) します。
- (6) [Add To Order (見積もる)]のタブをクリック (9) します。

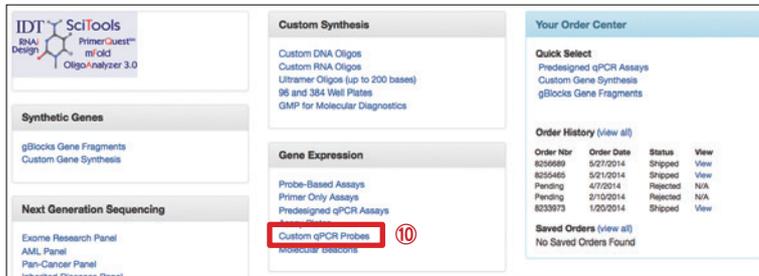
ADD TO ORDER ▶▶▶ p.52

ADD TO WISH LIST ▶▶▶ p.53



Probeのみを注文する場合

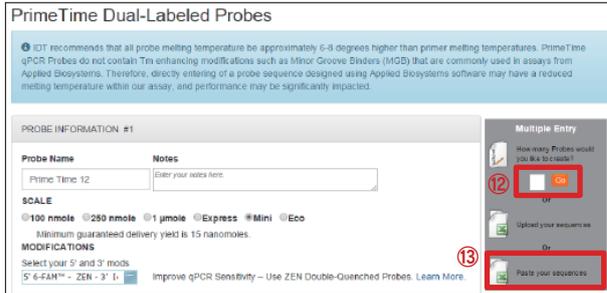
7. Order Menu ページの [Custom qPCR Probes]をクリック (10) して下さい。



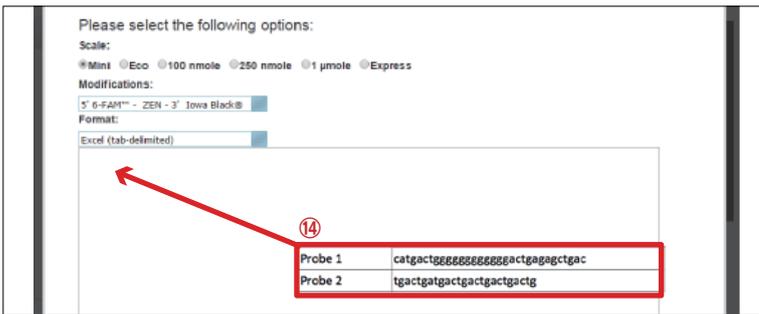
8. [Manually enter probes. Select from a wide variety of dyes, quenchers and scales]をクリック (11) します。



9. 複数本ある場合その1.[multiple Entry]にある四角にセット数を入力して[Go]をクリック (12) します。(→11.へ)
- 複数本ある場合その2,[Paste your sequences]をクリック (13) します。(→10.へ)



10. 右記ウィンドウが開きます。合成スケールを[Scale]から、[Modifications]から色素を、[Format]から[Excel(tab-delimited)]を選択します。エクセルを (14) のようにコピーし、こちらに貼り付けてください。配列名と配列が隣り合っている必要があります。



- このページで LNA Probe の入力を行います。
- [Probe Name] を入力 (⑥) します。
- [SCALE] を選択 (⑦) します。
- 色素を選択 (⑧) します。
- 配列を [SEQUENCE] に入力 (⑨) します。
- [Add To Order (見積もる)] のタブをクリック (⑩) します。

- カートに商品が入っていることを確認します。
- Primer を注文する場合は、続いて [Order Menu] のタブをクリック (⑪) して下さい。Primer のオーダー方法は p.50 をご参考ください。

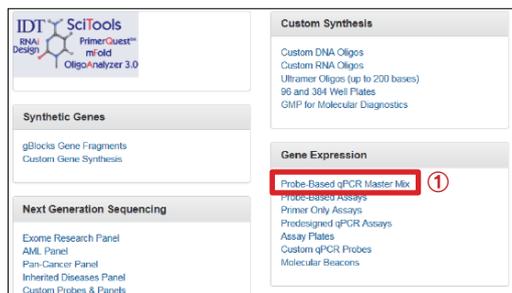
- ライセンスについての確認が出てきますので、Accept して下さい。

- 発送先住所が表示されます。確認後、[Continue] をクリックして下さい。

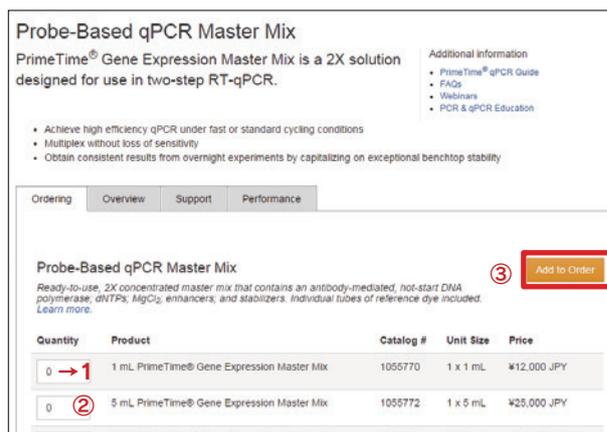
- [Submit Order] をクリックすると注文完了です。Note 欄に自由にメモを記載できます。
※注文完了後、もし誤りを見つけた場合は、oligo@mbl.co.jp までご連絡下さい。
※すでに合成を開始している場合、キャンセルを承れない事もございますので、ご了承下さい。

8. PrimeTime® Gene Expression Master Mix

1. IDT ウェブサイト (<http://www.idtdna.com/site>) からログインし、[Order Menu] タブをクリックして下さい。(p.47 参照)
2. Order Menu ページの [Probe-Based qPCR Master Mix] (①) をクリックして下さい。

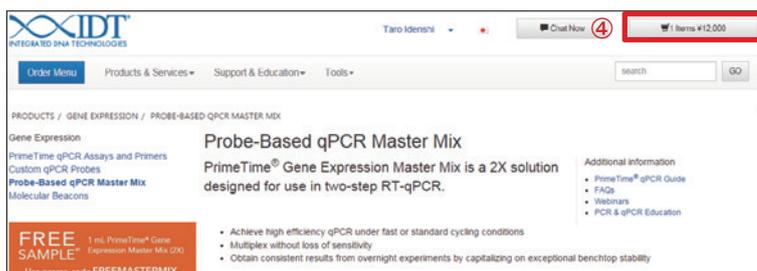


3. 必要な製品の量を入力し (②)、[Add to order] をクリック (③) します。
4. Success! とコメントされるので、x をクリックしてください。



5. Shopping Cart に製品が入りますので、クリック (④) して Shopping Cart に移動して下さい。

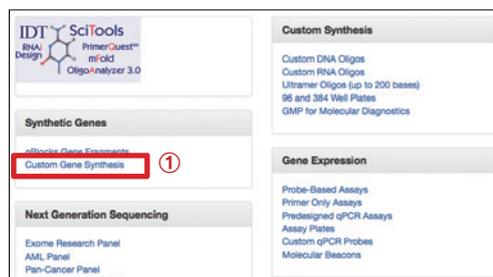
Shopping Cart ▶▶▶ p.52



9. 人工遺伝子合成 (Genes)

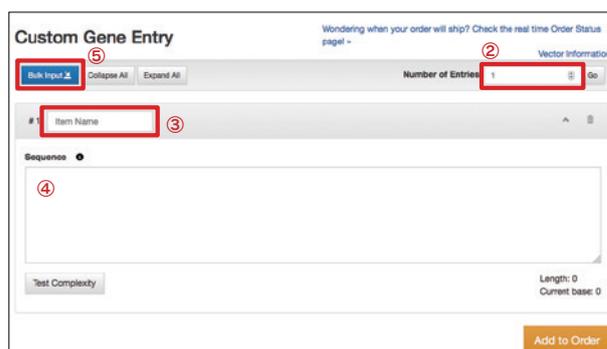
1. IDT ウェブサイト (<http://www.idtdna.com/site>) からログインし、[Order Menu] タブをクリックして下さい。(p.47 参照)
2. Order Menu ページの [Custom Gene Synthesis] (①) をクリックして下さい。

配列名・配列を1つずつ入力する方法は3.を、エクセルシートからコピー＆ペーストで一括で入力する方法(1～数百本)は4.をご参照ください。



[配列名・配列を1つずつ入力する方法]

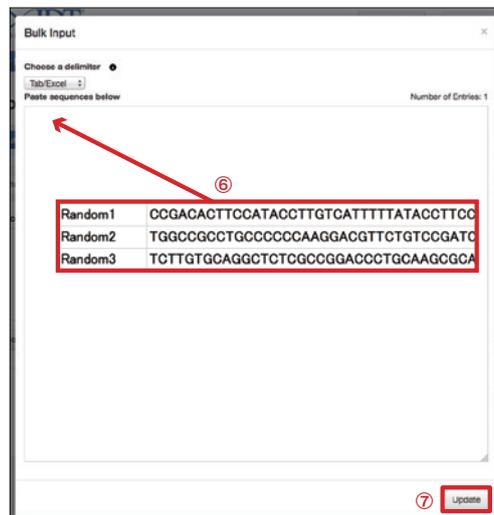
3. 本数 (②)、配列名 (③)、配列 (④) を入力します。
- 7.へ進んでください。



[エクセルシートからコピー&ペーストで一括で入力する方法 (1 ~数百本)]

※配列数が多い場合は、こちらの注文方法が便利です。

- [Bulk Input]をクリック (5) します。
- 右記の画面が開きますので、エクセルを (6) のようにコピーし、貼り付けてください。配列名と配列が隣り合っている必要があります。その後、Updateをクリック (7) します。



- 右記の画面になりますので、Expand Allもしくは、右側の折りたたみボタンをクリックして下さい。



- [Test complexity]ボタンをクリックして、個別の合成困難性をチェックして下さい。

下記メッセージが表示された場合は、合成困難な配列はありませんので、合成できます。

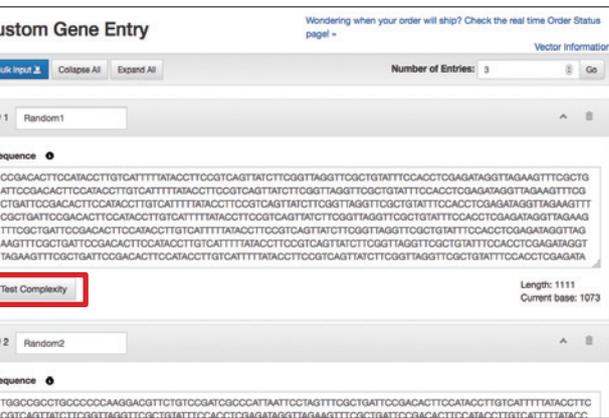


下記メッセージが表示された場合は、配列内に表示の制限酵素サイトがあることを示しています。合成困難性はございませんので、合成できます。



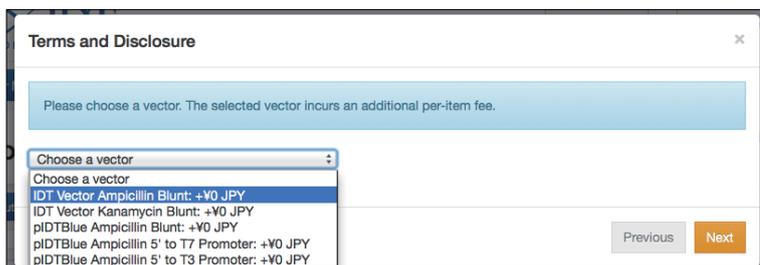
下記メッセージが表示された場合は、配列内に表示の合成困難性がございますので、その箇所を修正してください。

- ※ 合成困難性がある場合、納期及び費用が余分に掛かりますので、出来るだけ合成困難性は解消してください。
- ※ 合成困難性でお困りの場合は、oligo@mbl.co.jpまでご連絡ください。



- 合成困難性をチェック後、[Add to Order (見積もる)]をクリックします。

- Vectorを選択し、[Next]をクリックします。Vectorの詳細についてはhttp://ruo.mbl.co.jp/bio/idt/custom_gene.html#vector (IDT 人工遺伝子) で検索) をご参照下さい。



10. 右記のバイオハザードの画面のチェック項目をご確認頂き、[Add to Cart (進む)] をクリックして下さい。各項目の内容は下記の通りです。
- ・毒素をコードする配列が含まれますか？ (8)
 - ・病原性がある配列が含まれますか？もし含まれる場合は詳述して下さい。(9)
 - ・ウイルス由来で感染性のある配列、もしくはウイルス複製能のある配列は含まれますか？もし含まれる場合は、ウイルス名とその株をお教え下さい。(10)
 - ・人体に影響を及ぼす可能性のある病原因子をコードする配列は含まれますか？もし含まれる場合は、詳述して下さい。(11)
 - ・大腸菌の増殖を妨げる因子をコードする配列は含まれますか？もし含まれる場合は、詳述して下さい。(12)

Terms and Disclosure

In order to better provide for the safety of IDT personnel and prior to the acceptance of any order for genes, IDT requires that the following disclosure be completed by the ordering researcher or by an authorized representative of the ordering institution.

Does the requested cloned DNA sequence encode (either fully or partially) a toxin? (8)
 Yes No

Does the requested cloned DNA sequence relate to the pathogenicity of an organism? (9)
 Yes No **Please describe in detail the organism and the related pathogenicity:**

Does the requested cloned DNA sequence encode an infectious or replication competent form of a virus? (10)
 Yes No **Please list the virus and its strain:**

Does the requested cloned DNA sequence encode for an etiologic agent--(something which causes or may cause human disease)? (11)
 Yes No **Please describe in detail:**

Does the gene element encode a product that can interfere with cloning or propagation in bacterial hosts? (12)
 Yes No **Please describe in detail:**

I have read and accept IDT's terms and conditions

※最後に確認してください

10. 右記が[Shopping Cart (見積もり)] の画面です。内容を確認して下さい。確認が終わりましたら[Checkout] をクリック (13) して下さい。

Shopping Cart

Current Order as of 2015/07/13 08:49:48 午前 (MPDT)

Your opinion is important to us. Click here to give us your feedback on the new ordering experience.

Select All Delete Selected

#	Product	Expected Ship Date	Price
# 1	Random1 Gene 501-1500 bp Purification: N/A Additional Services: IDT Vector Amp Blunt	2015/07/13 Guaranteed Yield: No Guarantee	¥42,625
# 2	Random2 MiniGene 25-500 bp Purification: N/A Additional Services: IDT Vector Amp Blunt	2015/07/13 Guaranteed Yield: No Guarantee	¥22,000

Promo Code:

Order Summary

Subtotal: ¥86,625 JPY
 Tax: TBD
 Total: TBD

※米国内への予定納期です。日本へは2~3日程余分にかります。

11. 送付先情報と支払先情報の確認を行います。[Ship order when complete] と [Paper Spec Sheet] を選択し、[Continue] をクリック (14) して下さい。

Shipping and Billing

Your opinion is important to us. Click here to give us your feedback on the new ordering experience.

Shipping Address	Billing Address
MEDICAL AND BIOLOGICAL LABORATORIES MBL Delivery Center, Nippon Express Minamino 3-1, 1Minami-ku NAGOYA-SHI, 愛知県 - Aichi 457-0067 Japan	MEDICAL AND BIOLOGICAL LABORATORIES MBL Delivery Center, Nippon Express Minamino 3-1, 1Minami-ku NAGOYA-SHI, 愛知県 - Aichi 457-0067 Japan

Order Summary

Subtotal: ¥22,000 JPY
 Tax: ¥0 JPY
 Total: Inquire

Delivery Preference

Ship order when complete (single shipment)
 Ship items as available (multiple shipments)

Documentation

Paper Spec Sheet
Printed on paper, packaged with other materials, and shipped with the order

Electronic Spec Sheet
Certificate of Analysis and all QC Data will be available online in Order History for two years.

12. Submit Order をクリックして、発注完了です。翌営業日までにメールにて確認書をお送りする予定です。送られてこない場合は、oligo@mbi.co.jp までお問い合わせください。その際は、メール件名に「注文確認」と入力してください。
- ※ 事前に書面にて見積が必要な場合は、Note 欄に「Request Quote」とご記入下さい。合成開始前にメールにてお見積りをお送りさせて頂き、承認頂いてから合成を開始致します。

Secure Checkout

Your opinion is important to us. Click here to give us your feedback on the new ordering experience.

Additional Information

Notes:

Please contact Customer Care at 866-3-327-9168 if you have special instructions regarding the delivery of your order.

Order Summary

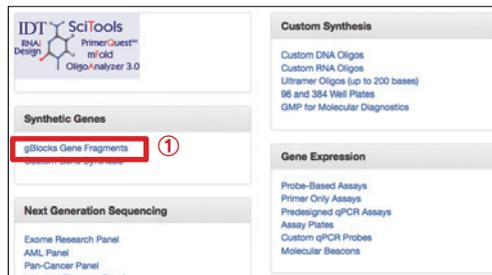
Subtotal: ¥86,625 JPY

10. 人工遺伝子合成 (gBlocks®)

直鎖状2本鎖DNA合成サービスであるgBlocks®は、合成困難性の基準が比較的厳しく、合成困難性ありと判断され、受注出来ない場合があります。しかし合成困難性の原因となっている配列や領域さえ分かれば、配列の修正を行い合成困難性を解消できることも少なくありません。

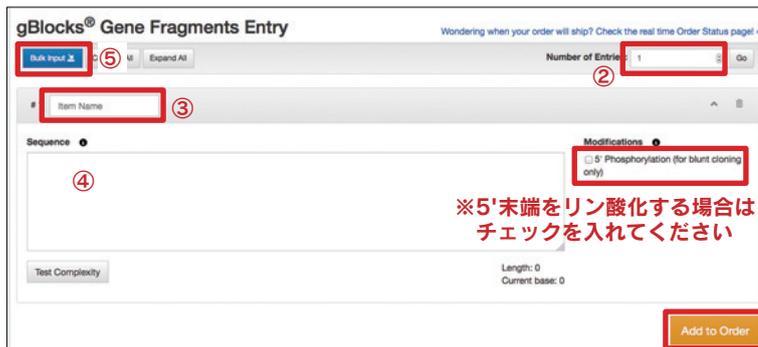
1. IDT ウェブサイト (<http://www.idtdna.com/site>) からログインし、[Order Menu] タブをクリックして下さい。(p.47参照)
2. Order Menu ページの [gBlocks Gene Fragments] (①) をクリックして下さい。

配列名・配列を1つずつ入力する方法は3.を、エクセルシートからコピー&ペーストで一括で入力する方法(1~数百本)は4.をご参照ください。



[配列名・配列を1つずつ入力する方法]

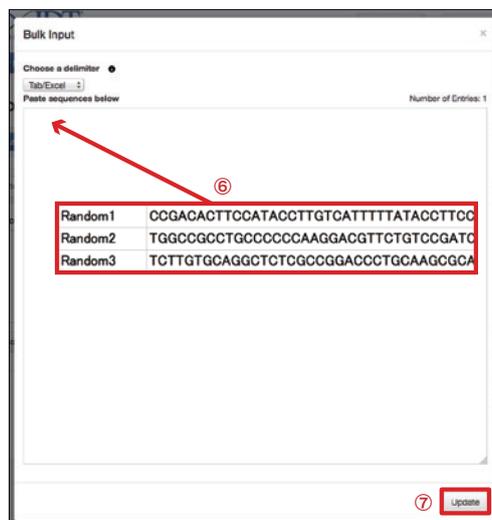
3. 本数 (②)、配列名 (③)、配列 (④) を入力します。Add to Order をクリックします。合成困難性がある場合は次ページ8.を、ない場合は次ページ9.をご確認ください。



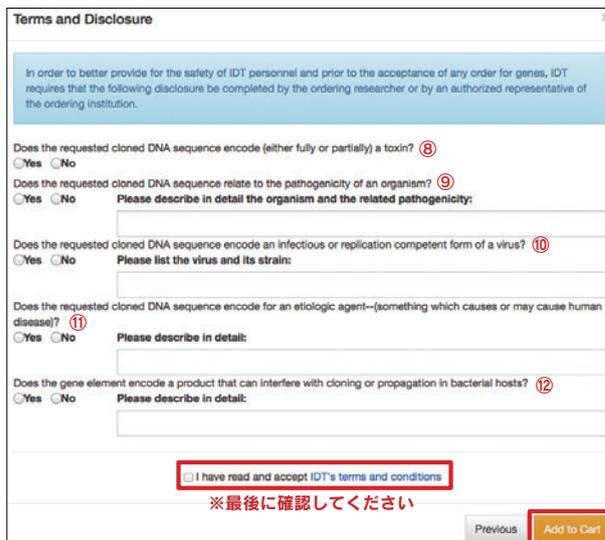
[エクセルシートからコピー&ペーストで一括で入力する方法(1~数百本)]

※配列数が多い場合は、こちらの注文方法が便利です。

4. [Bulk Input] をクリック (⑤) します。
5. 右記の画面が開きますので、エクセルを (⑥) のようにコピーし、貼り付けてください。配列名と配列が隣り合っている必要があります。その後、Update をクリック (⑦) します。
6. 下記の画面になりますので、[Add to Order (見積もる)] をクリックして下さい。合成困難性の確認と、Shipping Cart への追加が行われます。
 ※ 入力内容の詳細を見たい場合は、Expand All もしくは、右側の折りたたみボタンをクリックして下さい。[Test complexity] ボタンをクリックすれば、個別の合成困難性をチェックすることも出来ます。

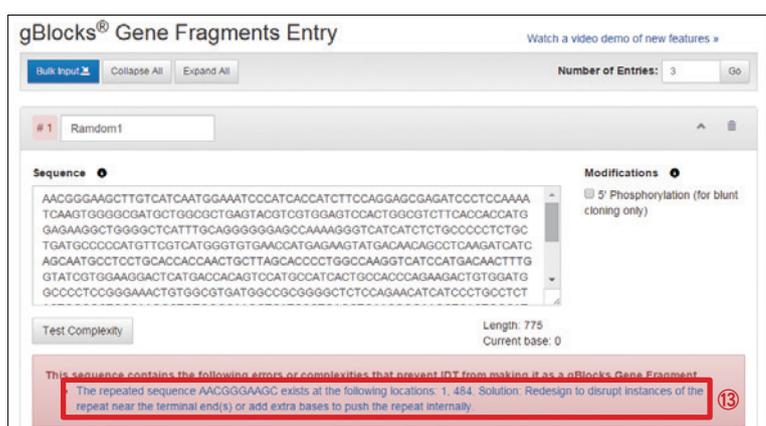


7. 右記のバイオハザード確認画面が出てくれば、入力頂いた配列はすべて合成可能です。チェック項目を確認頂き、[Add to Cart] をクリックして下さい。各項目の内容は下記の通りです。
 - ・毒素をコードする配列が含まれますか? (⑧)
 - ・病原性がある配列が含まれますか? もし含まれる場合は詳述して下さい。(⑨)
 - ・ウイルス由来で感染性のある配列、もしくはウイルス複製能のある配列は含まれますか? もし含まれる場合は、ウイルス名とその株をお教え下さい。(⑩)
 - ・人体に影響を及ぼす可能性のある病原因子をコードする配列は含まれますか? もし含まれる場合は、詳述して下さい。(⑪)
 - ・大腸菌の増殖を妨げる因子をコードする配列は含まれますか? もし含まれる場合は、詳述して下さい。(⑫)



8. もし合成困難な場合は、右記のように合成出来ない理由が表示されます。(13) をクリックしていただくと、簡単に配列の修正ができます。

※ 合成困難性がある場合、純度が下がりますので、出来るだけ合成困難性は解消してください。



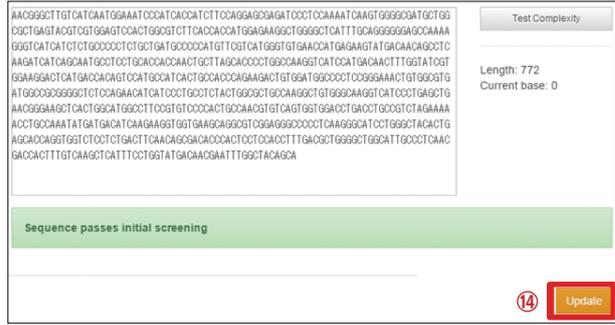
◎ 黄色の配列が合成困難性のある配列です。[Edit Sequence] をクリックして、配列を変更してください。



◎ 配列変更後、[Test Complexity] をクリックして合成困難性を確認して下さい。



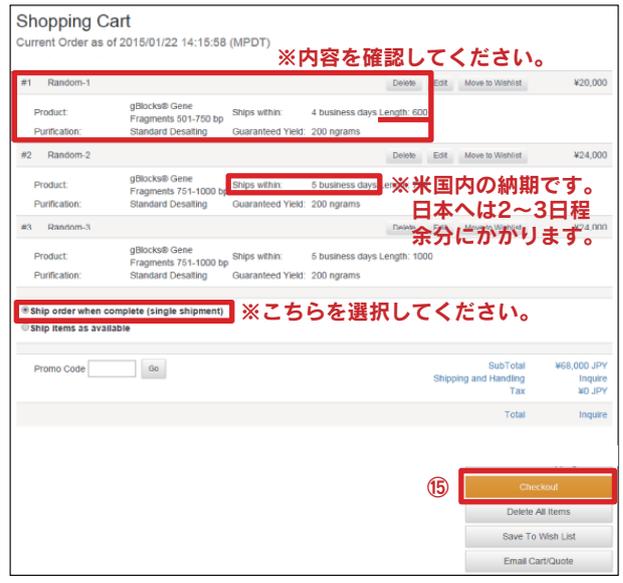
◎ 合成できる場合は、下記のようなメッセージが出ますので、[Update] をクリック (14) すると、オーダーの画面に戻ります。



9. Shipping Cartに遷移します。確認が終わったら[Checkout] をクリック (15) して下さい。

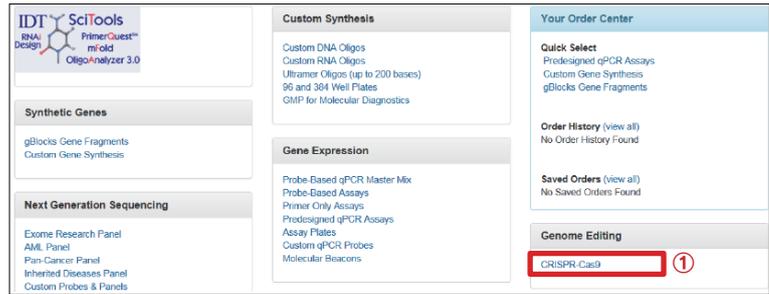
10. 送付先情報と支払先情報の確認を行います。[Paper Spec Sheet] を選択し、[Continue] をクリックしてください。

11. [Submit] をクリックして、発注完了です。翌営業日までに確認書をお送りする予定です。送られてこない場合は、oligo@mbi.co.jp までお問い合わせください。その際は、メール件名に「注文確認」と入力してください。



11. Alt-R™ CRISPR-Cas9 System

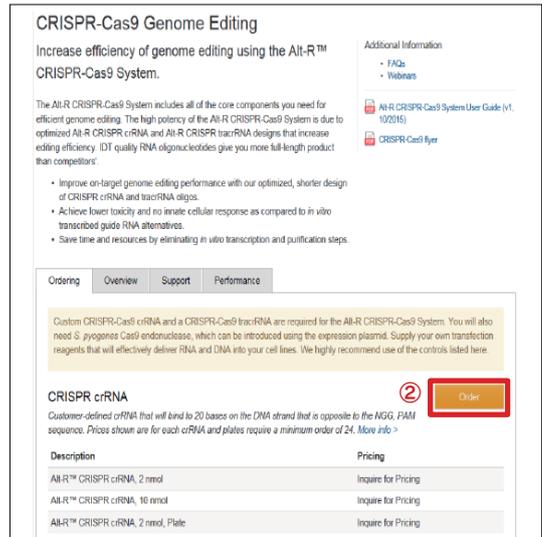
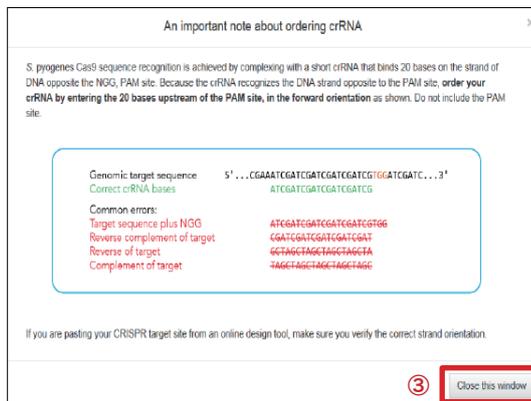
1. IDT ウェブサイト (<http://www.idtdna.com/site>) からログインし、[Order Menu] タブをクリックして下さい。(p.47 参照)



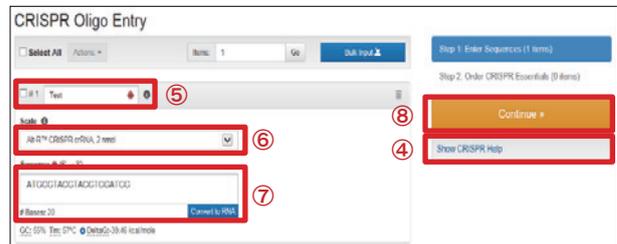
2. Order Menu ページの [CRISPR-Cas9] をクリック (①) して下さい。

3. 認識部位を含む crRNA を購入する場合、Order をクリック (②) して下さい。crRNA が不要な場合はページ下部 6. をご参照ください。

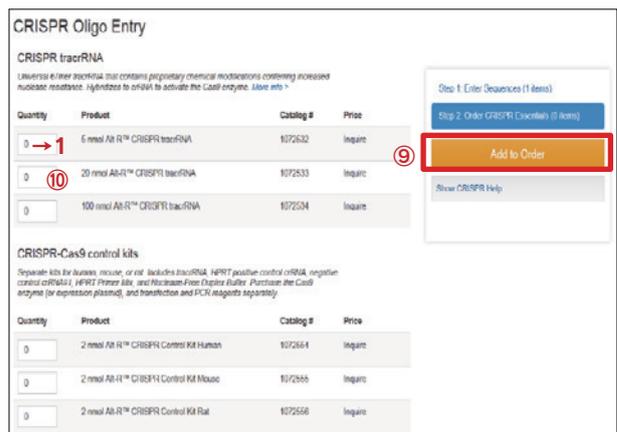
4. 入力方法が表示されるので、こちらをお読み頂き、[Close this window] (③) をクリックして下さい。簡潔に内容を記述しますと、「下記の様に PAM サイトから上流 20 bases を入力して下さい。」と書かれています。もう一度表示させる場合は、次ページの [Show CRISPR Help] (④) をクリックします。



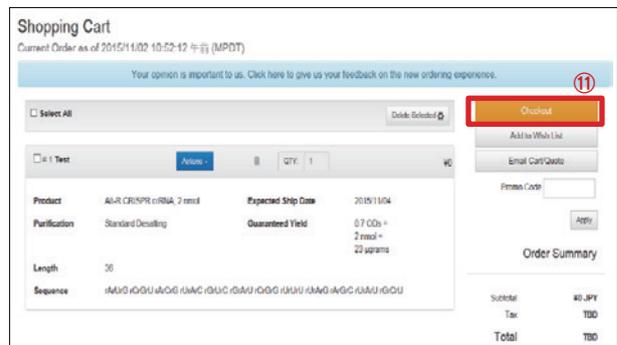
5. 配列名を入力 (⑤)、スケールを選択 (⑥)、20 base の DNA 配列を入力して [convert to RNA] (⑦) をクリックします。最後に [Continue] (⑧) をクリックします。



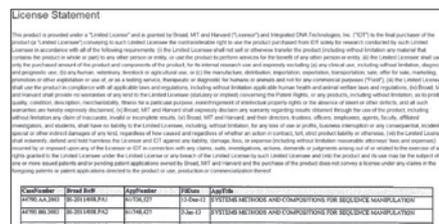
6. その他 Alt-R 製品の注文も行えます。すでに手元に tracrRNA 等をお持ちの場合は、[Add to Order (見積もる)] をクリック (⑨) して下さい。必要な場合は、必要な製品の個数を入力してから (⑩)、[Add to Order (見積もる)] をクリックします。



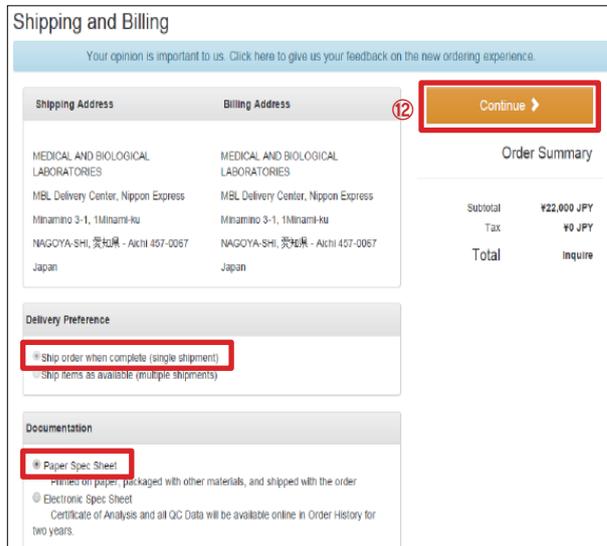
7. 内容に間違いがないか確認後、Checkout をクリック (⑪) します。



8. ライセンスに関わる記述が出てまいりますので、お読みの上、ページ最下部のAcceptをクリックして下さい。

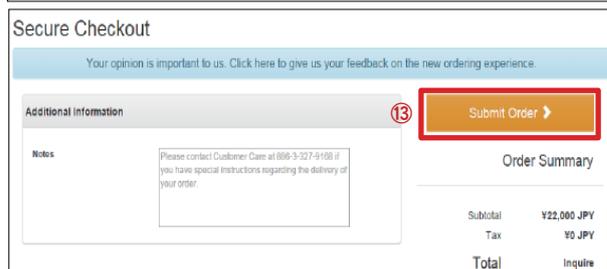


9. 発送先住所が表示されます。[Single Shipment]、[Paper Spec Sheet]を選択して下さい。確認後、[Continue]をクリック(12)して下さい。



10. [Submit Order] をクリック(13)すると注文完了です。

※ 事前に画面にて見積が必要な場合は、Note欄に「Request Quote」とご記入下さい。合成開始前にメールにてお見積りをお送りさせて頂き、承認頂いてから合成を開始致します。



IDT ウェブツールを用いた LNA PrimeTime® Probes (LNA Dual Labeled Probes) の設計方法

1. LNA PrimeTime® Probes 受注可能条件

1. 5' 末端に蛍光色素、3' 末端にクエンチャーがあるプローブ
2. 塩基数 10 ~ 25 bases
3. LNA は 1 ~ 6 個

2,3. を満たさない場合でも、特別注文で承ることが可能です。配列をご記入の上、oligo@mbl.co.jp までお問い合わせください。

■ 特別注文について

1. 最小合成スケール：250 nmole
2. 保証収量が小さくなります。
3. 特別注文費用がかかります。

2. LNA を含む配列の Tm 値を算出する方法

1. 「IDT Biophysics」と検索し、DNA Thermodynamics & Hybridization - IDT Biophysics (<http://biophysics.idtdna.com/>) にアクセスして下さい。

2. 初期パラメーターを3ヶ所変更 (①) して下さい。

※ このパラメーターは、一般的なマスターミックスの濃度です。使用するマスターミックスの組成が分かっている場合は、その組成にあわせて濃度を入力して下さい。

3. 設計予定のプローブの配列 (10 ~ 25 bases) を入力し、CALCULATE (②) をクリックして下さい。

※ LNA は塩基の前に「+」を入れて下さい (例：+A, +T, +G, +C)。SNP 検出でない場合は、全体に均等に LNA を設定することをおすすめします。

4. しばらくすると、Tm 値等が算出されます。

※ IDT では、LNA 塩基を含むオリゴのみの合成はライセンスの都合上出来ません。両末端に蛍光とクエンチャーの修飾がある LNA PrimeTime® Probes のみ合成可能です。

	T _m [°C]	Gibbs Energy (ΔG ₃₇) [kcal/mol]	Enthalpy (ΔH) [kcal/mol]	Entropy (ΔS) [cal/(K·mol)]
Exact match	63.77	-17.97	-106.50	-285.46

3. SNPs 検出のためのプローブを設計する方法

今回は本ツールを用いて、ランダムに作成した下記の配列で SNP の検出用プローブを設計したいと思います。

Wild Type : ACCTAAATGCAAGT **A** GCCACTAAGGAGCGC
 Mutant : ACCTAAATGCAAGT **C** GCCACTAAGGAGCGC

1. 前ページ 2-2. まで進めて下さい。

2. SNP ポジションを中心に左右 10 bp 程度の配列を選択し、SNP のポジションおよび両側の計 3 塩基を LNA にします。

Wild Type : AAATGCAAG+T+A+G C C A C T A A G G

3. この配列を Sequence 欄に入力 (③) し、その下にある Mismatch, Dangling Ends のチェックボックスにチェック (④) を入れ、CALCULATE をクリック (⑤) します。

4. INTRODUCE MISMATCH が Sequence 欄の下部に表示されますので、もう一方の相補鎖の塩基を入力 (⑥) します。また、ターゲットの配列情報から Unpaired Base の塩基を調べて入力 (⑦) します。下記配列の赤字部分をプローブとする場合、青字塩基の相補鎖である "T" が Unpaired Base に該当します。

Wild Type : AAATGCAAG+T+A+G C C A C T A A G G

5. 入力後、再度 CALCULATE をクリックすると、右記のような情報が表示されます。

Mismatch sequence:
 5'- T G C A A G + T + A + G C C A C T A A G G -3'
 3'- A C G T T C A G C G G T G A T -5'

Exact match sequence:
 5'- T G C A A G + T + A + G C C A C T A A G G -3'
 3'- A C G T T C A T C G G T G A T -5'

	T _m [°C]	Gibbs Energy (ΔG ₃₇) [kcal/mol]	Enthalpy (ΔH) [kcal/mol]	Entropy (ΔS) [cal/(K·mol)]
Mismatch	52.50	-13.89	-94.95	-261.38
Exact match	64.41	-19.12	-120.11	-325.61
Difference	11.90	-5.23	-25.15	-64.24

7. Exact match の T_m 値を 64 ~ 65°C、Mismatch の T_m 値を 55°C 以下、可能であればこの 2 つの T_m 値が 10°C 以上の差になるように 4 ~ 6 の作業を何度か繰り返します。計算毎にバッファー濃度設定と Mismatch の塩基を Unpaired Base を入力する必要があります (この入力の有無で T_m 値が大きく変わります)。

※ CALCULATE 後、「戻る」を 2 回クリックして最初の入力ページに戻るとバッファー濃度が保存されたまま配列の修正が出来ます (FireFox, Chrome, IE で確認済み)。

Mismatch sequence:
 5'- T G C A A G + T + A + G C C + A C T A -3'
 3'- T A C G T T C A G C G G T G A T T -5'

Exact match sequence:
 5'- T G C A A G + T + A + G C C + A C T A -3'
 3'- T A C G T T C A T C G G T G A T T -5'

	T _m [°C]	Gibbs Energy (ΔG ₃₇) [kcal/mol]	Enthalpy (ΔH) [kcal/mol]	Entropy (ΔS) [cal/(K·mol)]
Mismatch	52.36	-13.92	-96.46	-266.15
Exact match	64.13	-19.15	-121.62	-330.39
Difference	11.77	-5.23	-25.15	-64.24

◎ ワンポイントアドバイス

G と A のアレルを区別する場合、Exact match と Mismatch の T_m の差が出しにくい場合、相補鎖側でプローブを設計して下さい¹⁾。

最初はかなり時間がかかりますが、慣れると感覚的に T_m 値の変化がわかるため、短時間で設計できるようになります。

ピリミジン塩基 (T または C) を LNA にすると T_m が上昇しやすく、プリン塩基 (A または G) は、1 つ前の塩基が Pu の場合には T_m が上昇しやすいです。(A+G, A+A, G+G, G+A)

■ 参考文献

SNP ポジションとその両側の 3 塩基を LNA に設定するこの設計方法は、下記の文献を参考にしています。各ミスマッチの温度差についての記述もございます。オープンアクセス論文です。ぜひご覧ください。

1) You Y *et al.* Design of LNA probes that improve mismatch discrimination. *Nucleic Acids Res.* 34, e60 (2006)