

カスタムアレイ作成時の注意

カスタムアレイ用に選抜したProbeの大部分についてコピー数変化が見込まれる場合、dye normalization用のprobe groupも別途含める必要があります。

- **その数は？**

Minimum: Feature Extractionの機能上、全 available feature の 1% 以上。

Recommend: もし可能であれば、244K フォーマットの場合10%以上が望ましいです。

- **その内容は？**

non-aberrant がmajorであることが見込まれる領域、または常染色体にランダムに設定したプローブグループなどが望ましいです。

現在カスタムアレイ作成時、各常染色体からランダムに選択された “**Agilent Normalization Probe group**” を選択いただけます。（もちろん、このProbe groupをremoveして、ユーザ様定義によるprobe groupをかわりに載せていただいても構いません）

カスタムアレイ作成時 画面例(例: Human)

Create a Microarray Design from Existing ProbeGroup(s)

1. Select Species

2. Define Design

3. Layout Probes

4. Create ArrayDesign

Select Probes and Layout Options

Click add button to select ProbeGroup(s) from the system.

Normalization Probe Group Details:

Select	Probe Group name	
☐	Human_CGH_1k_Agilent Normalization Probe Group	
		Information on Normalization Probes Remove Add

Replicate Probe Group Details:

Select	Probe Group name	Replicate
☐	Human_CGH_1k_Agilent Replicate Probe Group	5
		Information on Replicate Probes Remove Add

Probe Group Details:

Select	Probe Group name	Control Type	Replicate	
				Remove Add

Enable Microarray Set [Info](#) : ☐

Fill Microarrays [Info](#) : ☐

Probe Group To Fill Microarray:

“Agilent Replicate Probe group” は何か？

244K, 2x105K mouse CGH catalogue microarrayのレプリケートプローブと同一。数値化後の replicate probe %CVをwatchするなどQCの目安に用いていただけます。Agilentのrecommendです。

Number of Microarrays per Slide:	2	Percentage Filled:	10.36242%
Number of Slides:	1	Number of Available Features:	94184
Total Number of Features:	105072	Number of User Controls:	0
Number of Agilent Controls:	4626	Number of Features occupied by Normalization Probes:	1262
Percentage filled using fill array:	10.36242 %	Number of Features occupied by Replicate Probes:	5000



Agilent Technologies

各デフォルトProbe Groupに含まれるプローブ数

	Human, mouse	
	Normalization	Replicate
1M	11K	1K
2x400K	5K	1K
4x180K	3K	1K
8v60K	1K	1K
244K	3K	1K
2x105K	1K	1K
4x44K	1K	300
8x15K	1K	300

ソフトの不具合により
マウス4x180KフォーマットのみDefault表示がされない
状況です。ご了承ください。



Mouse 4x180K の場合

Create a Microarray Design from Existing ProbeGroup(s)

1. Select Species
2. Define Design
3. Layout Probes
4. Create ArrayDesign

Select Probes and Layout Options

Click add button to select ProbeGroup(s) from the system.

Normalization Probe Group Details:

Select	Probe Group name
Add Normalization Controls	
Information on Normalization Probes Remove Add	

Replicate Probe Group Details:

Select	Probe Group name	Replicate
Add Replicate Controls		
Information on Replicate Probes Remove Add		

①Addをクリック

Probe Group Category List

Probe Group Name:

[Search](#) [Reset](#)

[Add All >>](#)
[Add >](#)
[< Remove](#)
[<< Remove All](#)

Selected Probe Group

②Mouse_CGH_3k_Agilent normalization Probe Groupと入力して「Search」をクリック

Probe Group Category List

Probe Group Name:

[Search](#) [Reset](#)

Folder: [Filter](#)

Search Results: 1 matching results found

Probe Group Name	Folder	Status
Mouse_CGH_3k_Agilent Normalization Probe Group	AgilentCatalog	Locked

[Add >](#)
[< Remove](#)
[<< Remove All](#)

Selected Probe Group

[Done](#)

③検索結果に表示されたらAddをクリックしてDoneをクリック

同様の方法で”Mouse_CGH_1k_Agilent Replicate Probe Group” をAddしてください。
(Replicateについてはx5推奨)

色素補正(Dye Normalization)の影響例

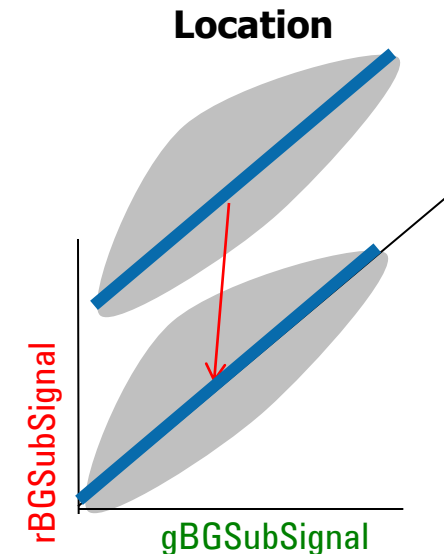
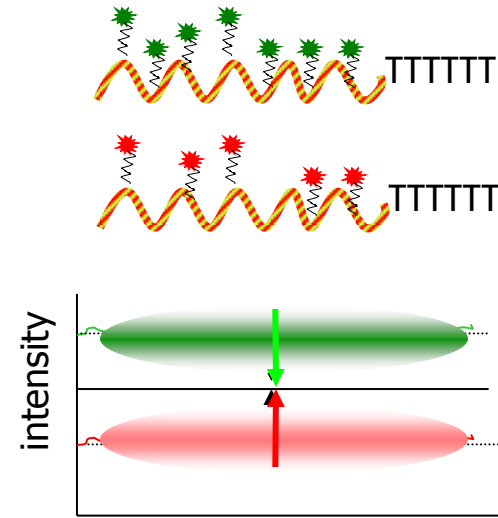
バイアス要因:

- 2つの色素のラベリング効率の相違
- スキャン時のレーザーパワーの違い

background-subtracted シグナルに
dye normalization factorをかけることにより
バイアスを補正する。

色素補正(正規化)における2つのステップ

1. 補正係数の計算に用いるフィーチャの選択
Rank Consistency Probes
(majorityがnon-aberrantという前提)
2. 補正係数の計算と各フィーチャへの適用
Linear



特定のGENELISTを使って DYE NORMALIZATIONする方法



Feature Extractionのオプション

コピー数不変の領域がmajorityでない場合(例:カスタムアレイ)

- Use Rank Consistent List of Normalization Genes

コピー数不変領域がmajorityである領域 "Normalization gene" * をユーザ定義により選抜し、その部分で補正係数の計算に用いるフィーチャを選択(rank consistent listの作成)かつ補正係数を決定する

* カスタムアレイ作成時、total のプローブ数の10%以上を推奨

(例 44K format の場合、4,400 probe以上)

なお、Feature Extraction機能上では1%以上が必要

- Use List of Normalization Genes (defined in grid templates)

絶対に不変であるという領域が分かっている場合には、そのプローブで補正係数を決定することもできます。(この場合はrank consistent listの作成は行われません)

特定のGeneListを使ってDyeNormalizationする方法

① GeneListを作成

左から ProbeName、GeneName、SystematicName を表記したテキストファイル形式で作成 (Chromosome numberとStartで昇順に並びかえる)

例

A_XXXXX1	GENE1	Chr1:8000000-8000059
A_XXXXX2	GENE2	Chr1:10000000-10000059
A_XXXXX3	GENE3	Chr2:150000000-150000059
⋮	⋮	⋮

マイクロアレイのDesignFileと一致するProbeName



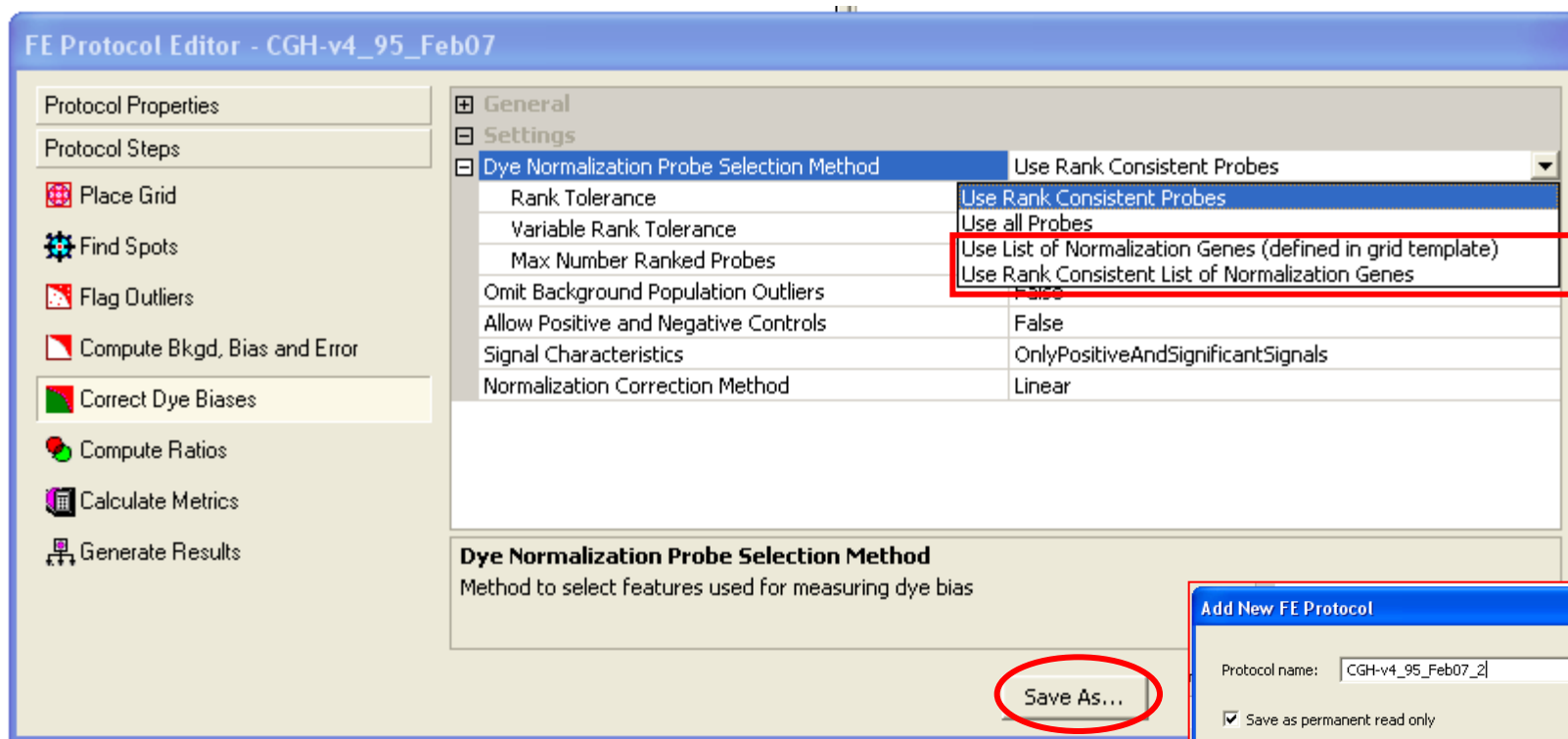
特定のGeneListを使ってDyeNormalizationする方法

② FE Protocolの設定を変更

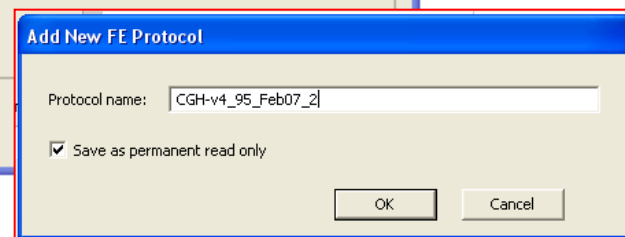
FE Protocolを選択し、

Correct Dye Biases > Dye Normalization Method

>Use Rank Consistent List of Normalization Genes を選択

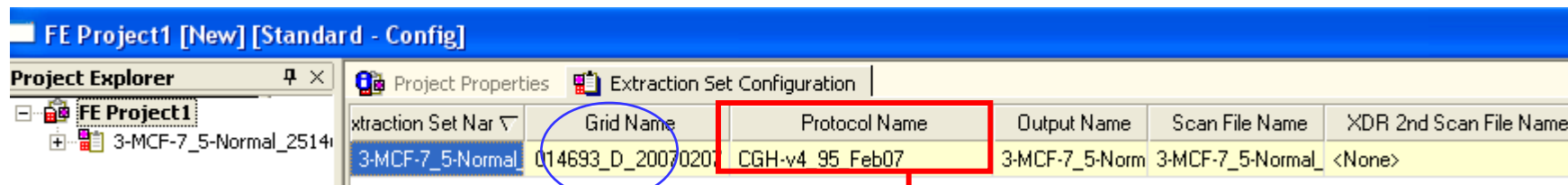


Save As...にて異なる名前で保存

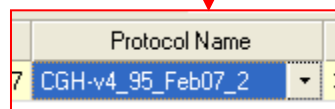


特定のGeneListを使ってDyeNormalizationする方法

③ ②で作成したFE Protocolを選択



※数値化を行うマイクロアレイの
DesignFileを選択



特定のGeneListを使ってDyeNormalizationする方法

④ GeneListの選択 その1

Project Properties > Other > External DyeNorm List File > 作成したGeneListをOpen

FE Project1 [New] [Standard - Config]

Project Explorer

- FE Project1
 - 3-MCF-7_5-Normal_2514

Project Properties | Extraction Set Configuration

Extraction Set Name	Grid Name	Protocol Name	Output Name	Scan File Name	XDR 2nd Scan File Name
3-MCF-7_5-Normal					

Project Properties | Extraction Set Configuration

- General
 - Operator: Unknown
- Input
 - Number of Extraction Sets Included: 1
- Output and Data Transfer
- Outputs
 - MAGE: Local file only
 - JPEG: Local file only
 - TEXT: Local file only
 - Visual Results: Local file only
 - Grid: Local file only
 - QC Report: Local PDF file only
 - FTP Send Tiff File: False
- Local File Folder
 - Same As Image: True
 - Results Folder
- FTP Setting
- Automatic Protocol Assignment
 - Highest Priority Default Protocol: Grid Template Default
 - Project Default Protocol
- Automatic Grid Template Assignment
 - Use Grid file if available: False
- Other
 - QC Metric Set
 - External DyeNorm List File**
 - Overwrite Previous Results: False

クリック



特定のGeneListを使ってDyeNormalizationする方法

④ GeneListの選択 その2

数値化を行うマイクロアレイのDesignFile を選択

> Default DyeNoem GeneList >Browse File...

> 作成したGeneListを選択 > リスト上にGeneList 名が表示されるので選択

The screenshot shows the 'FE GridTemplate Properties' dialog box with the 'General' tab selected. The 'Grid Template Name' is '014693_D_20070207'. The 'Default DyeNorm Gene List' is set to 'CGH-v4_95_Feb07'. A red box highlights the 'Default DyeNorm Gene List' field, and a red arrow points to the 'Browse File...' button. The 'Browse File...' button is highlighted in the 'Default DyeNorm Gene List' dropdown menu. The 'Browse File...' button is also highlighted in the 'Default DyeNorm Gene List' dropdown menu.

Grid Template Browser

- 014693_D_20070207
- 014693_D_F_20060615
- 014695_D_F_20060703
- 014698_D_20070207
- 014698_D_F_20060615
- 014699_D_F_20060703
- 014850_D_F_20060807
- 014850_D_F_20070207
- 014868_D_F_20060807
- 014879_D_F_20060807
- 014879_D_F_20070207
- 014950_D_F_20061108
- 015028_D_F_20061108
- 015223_D_F_20061127
- 015235_D_F_20061127
- 016436_D_20070426

FE GridTemplate Properties

General	
Grid Template Name	014693_D_20070207
Design ID	014693
Application	CGH
Species	H. sapiens
Vendor	Agilent
Pattern Date	Wed, Feb 07, 2007

Array Geometry

Array format	Dense pack even row offset
Zone format	Single hybridization
Total spots	243504
Subgrids	columns = 1, rows = 1
Spots per subgrid	columns = 912, rows = 267

Nominal spot diameters (in micron)

Horizontal	65.0
Vertical	65.0

Other

Default protocol	CGH-v4_95_Feb07
Default OneColor protocol	
Default DyeNorm Gene List	

Default OneColor protocol

CGH-v4_95_Feb07_2

Default DyeNorm Gene List

- <Create new...>
- <Browse file...>
- <Save As...>
- <Set empty>

Default DyeNorm Gene List

- TEST GENE LIST4
- TEST GENE LIST3
- TEST GENE LIST4
- <Create new...>
- <Browse file...>
- <Save As...>
- <Set empty>

カスタムアレイ作成時のdefaultのAgilent Normalization Probe(p.2)情報を取得する方法

Step 1. eArrayのProbe Groupの画面を表示します

Probe Groupを選択

CGHを選択

The screenshot shows the Agilent eArray web interface. The top navigation bar includes the Agilent Technologies logo, the eArray logo, and links for Help and Release. Below this, there are tabs for Workspace, Collaboration, and Public. The main navigation menu on the left includes Home, Microarray, Probe Group (circled in red), Probe, My Account, and Data. The 'Probe Group' tab is selected. In the top right corner, there is a 'Welcome Yu' message and a 'CGH' link (circled in red). Below the navigation bar, there is a search section with a 'Search' button and a 'Browse Probe Groups' link. The main content area contains search filters for Probe Group Name, Keyword, Folder, High Density, and a checkbox for 'Include subfolders'. At the bottom of the search section, there are buttons for 'Search', 'Reset', and 'Advance Search'.

カスタムアレイ作成時のdefaultのAgilent Normalization Probe(p.2)情報を取得する方法

Step 2 Probe Groupを検索します。

例: human 1M のカスタムアレイのデフォルトのノーマライゼーションプローブグループの場合

Human_CGH_11k_Agilent normalization Probe Group

プローブの数を入力します。
マイクロアレイのフォーマットにより
異なります。数字につきましてはp.3を参照。

上記のような名前をProbe Group Nameに
入力します

Agilent Technologies eArray

Workspace

Home Microarray **Probe Group** Probe My Account Data

Search | [Browse Probe Groups](#)

Probe Group Name:

Keyword [Info](#):

Folder: ☐ Include subfolders

High Density:

[Advance Search](#) ☒

Searchをクリック

カスタムアレイ作成時のdefaultのAgilent Normalization Probe(p.2)情報を取得する方法

Step 3. 情報をダウンロードします

Agilent Technologies eArray

Workspace Collaboration Public

Home Microarray **Probe Group** Probe My Account Data

Search | [Browse Probe Groups](#)

Probe Group Name: Folder:
Keyword [Info](#): High Density:

Status:

Search Results: 1 matching results found

[Share](#) [Compare](#) [Create Microarray](#) [Move](#)

☐	Probe Group Name ▲	No. of Probes	High Density	Folder	Status	Created Date		Act
☐	Human_CGH_11k_Agilent Normalization Probe Group	11488	true	AgilentCatalog	Locked	25-Feb-2009	Copy View Download	

[Share](#) [Compare](#) [Create Microarray](#) [Move](#)

[eArray Contact/Support](#) [eArray Terms of Use](#) [FAQ](#) © Copyright Agilent Technologies, Inc. 2002-2010