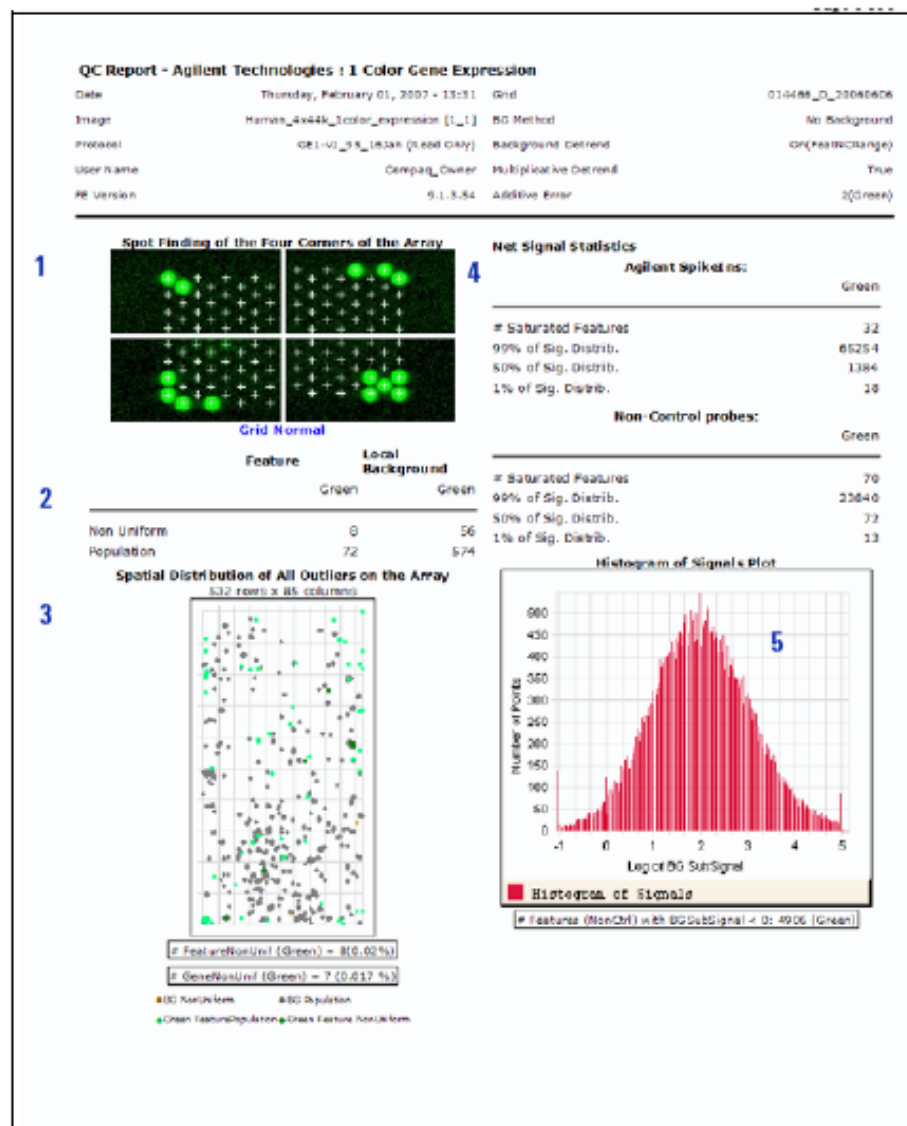


## QC Reportの確認 (1色プロトコル)

1. 出力ファイルの設定で、QCReportを選択した場合に自動でQCReportが作成されます。
2. PDF形式かhtml形式のQCReportファイルを開いて下さい。QC Reportを確認することができます。

各項目の詳細は、**Help > Reference Guide (2 QC Report Results)**で確認することができます。

- \* .htmlファイルと”QCReport\_Graphs”フォルダは同じフォルダ内に保存してください。異なるフォルダに保存しますと.htmlファイルを開いた際にグラフが表示されません。



### QC Report Header

1. Spot Finding of Four Corners
2. Outlier Stats
3. Spatial Distribution of Outliers
4. Net Signal Statistics
5. Histogram of Signals Plot (1色のみ)

6

Negative Control Stats

Green

Average Net Signals	17.22
StdDev Net Signals	1.23
Average BG Sub Signal	0.56
StdDev BG Sub Signal	1.11

Local Bkg (Inliers)

Green

Number	42530
Avg	33.94
SD	1.47

Foreground Surface Fit

Green

RMS_Fit	0.41
RMS_Resid	2.25
Avg_Fit	36.36

Multiplicative Surface Fit

Green

RMS_Fit	0.02
---------	------

Reproducibility: %CV for Replicated Probes

Median %CV Signal (Inliers)

Non-Control probes	Agilent SpikeIns
Green	Green

BG SubSignal	8.21	10.71
ProcessedSignal	8.17	11.03

Agilent SpikeIns Signal Statistics

Probe Name	Log (Relative Conc.)	Median (Log Proc. Sig.)	% CV	StdDev
(+)E1A_r60_3	0.30	0.46	59.88	0.22
(+)E1A_r60_a104	1.30	0.97	21.43	0.09
(+)E1A_r60_a107	2.30	1.66	13.60	0.05
(+)E1A_r60_a135	3.30	2.70	6.42	0.03
(+)E1A_r60_a20	3.83	3.05	9.83	0.04
(+)E1A_r60_a22	4.30	3.63	11.67	0.05
(+)E1A_r60_a97	4.82	4.17	9.68	0.04
(+)E1A_r60_n11	5.30	4.67	11.03	0.05
(+)E1A_r60_n9	5.82	4.69	12.62	0.06
(+)E1A_r60_1	6.30	4.81	2.28	0.01

Spatial Distribution of Median Signals for each Row

— Median BGSub Signal for Row  
— Median Proc Signal for Row

Spatial Distribution of Median Signals for each Column

— Median BGSub Signal for Column  
— Median Proc Signal for Column

12

6. Negative Control Stats

7. Local Background Inliers

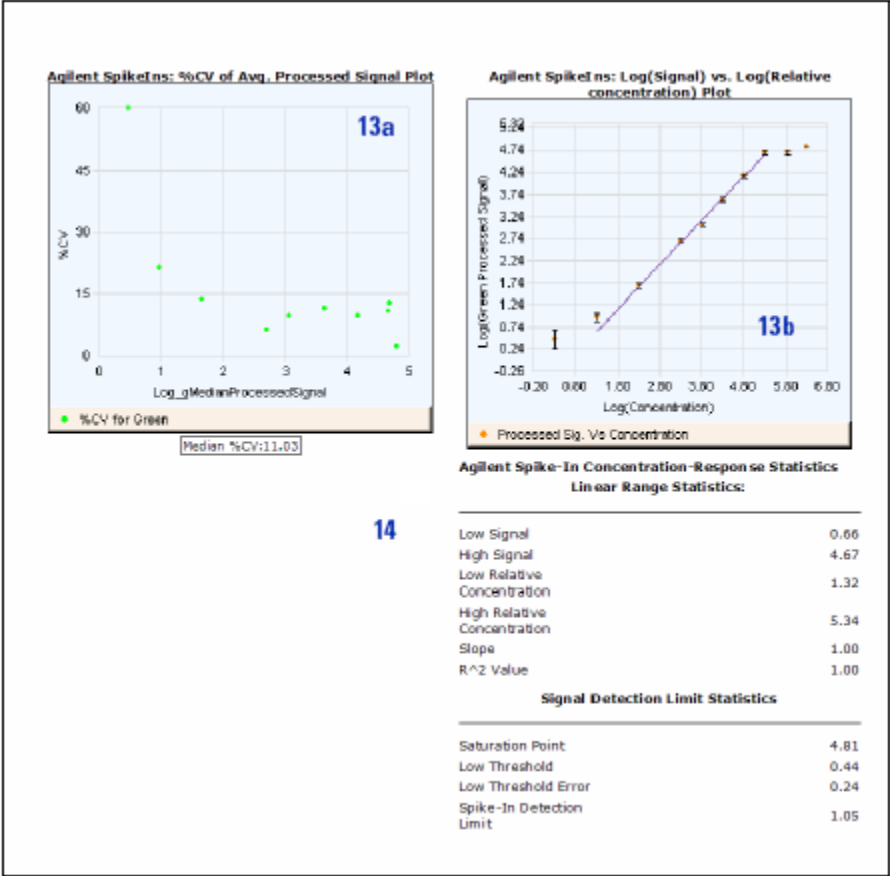
8. Foreground Surface Fit

9. Multiplicative Surface Fit

10. Reproducibility Statistics (%CV Replicated Probes)

11. Spatial Distribution of Median signals for each Row and Column (1色のみ)

12. 1-color Gene Expression Spike-in Signal Statistics



用語の解説

- BGSubSignal** --- (Background Subtracted Signal) バックグラウンド値を差し引き、Multiplicative Detrending を行う前のシグナル強度です。
- Bkg** --- (Background)
- FeatNonUnif** --- (Feature Non Uniformity Outlier) ゴミや傷などの影響で、フィーチャ内のシグナル強度が均一でない時にたつフラグです。
- Feature** --- スポットの中で、実際に数値化に使われる領域です。
- Foreground Surface Fit** --- 各スポットがもつ潜在的な蛍光(Foregroundシグナル)をスポットごとに見積もって差し引くアルゴリズムです。
- Inliers** --- フラグがたっていないフィーチャ、あるいはバックグラウンドです。
- Multiplicative Detrending (Multiplicative Surface Fit)** --- 空間的なシグナル強度の違いをスポットごとに見積もって差し引くアルゴリズムです。
- Net Signal** --- バックグラウンドを差し引く前のフィーチャのシグナル強度です。
- Non-control probes** --- スパイクインなどのコントロール以外のプローブ、つまり遺伝子プローブです。
- Non Uniform** --- (Non Uniformity Outlier) フィーチャ内あるいはローカルバックグラウンドを構成するピクセルのシグナル強度が均一でないときにたつフラグです。
- NumSat** --- (Number of Saturated Feature) シグナル強度が飽和しているフィーチャの数です。
- Outliers** --- 基準から外れたフィーチャあるいはバックグラウンドに立つフラグです。Feature Non Uniformity Outlier、Population Outlier、Saturated Feature があります。
- Population** --- (Population Outlier) 同一のシグナル強度が期待される、繰り返しスポットあるいはすべてのローカルバックグラ

ウンドの中で、他と比べてシグナル値が外れているものにたつフラグです。

**Processed Signal (Proc. Sig.)** --- 数値化のすべてのアルゴリズムを経たシグナル強度です (2色法とは数値化のアルゴリズムが異なり、マイナス値の処理、およびノーマライズはされていませんのでご注意ください)。

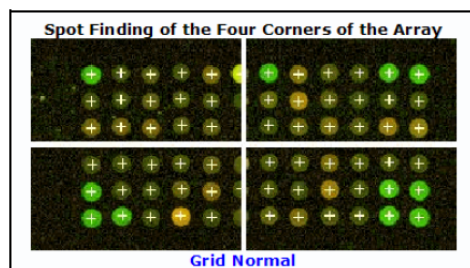
**StdDev** --- (Standard Deviation)

## 各項目の解説

### QC Report Headers

数値化した日付やTif画像のバーコード番号、使用したFEプロトコルなどが表示されます。

#### 1. Spot Finding of Four Corners



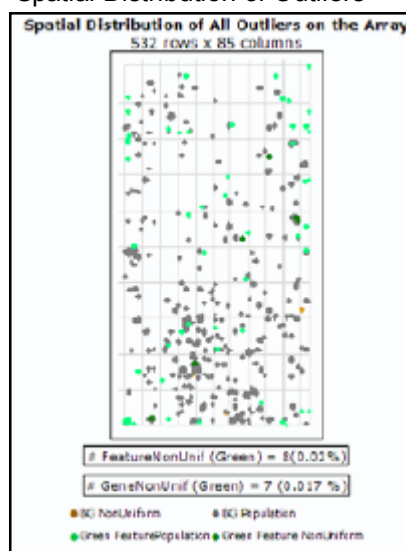
アレイの四隅と数値化に用いたグリッド位置(+)が表示され、グリッドがずれていないか確認できます。

#### 2. Outlier Stats

Feature	Local Background	
	Green	Green
Non Uniform	0	56
Population	72	574

フィーチャおよびバックグラウンドのフラグの数です。

#### 3. Spatial Distribution of Outliers



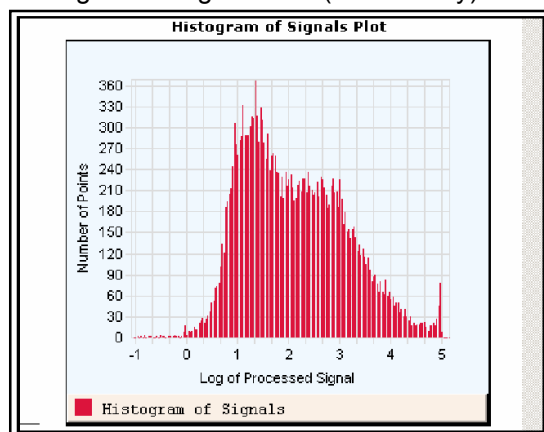
アレイ上のフラグの位置を示しています。フラグの種類が、プロットの下のカラークードで示されています。実験上明確な問題がないにもかかわらず、FeatNonUnif (Feature Non Uniformity outlier)が5%を超える場合は弊社にお問い合わせください。

#### 4. Net Signal Statistics

Net Signal Statistics	
Agilent Spike-ins:	
	Green
# Saturated Features	32
99% of Sig. Distrib.	65254
50% of Sig. Distrib.	1384
1% of Sig. Distrib.	18
Non-Control probes:	
	Green
# Saturated Features	70
99% of Sig. Distrib.	23840
50% of Sig. Distrib.	72
1% of Sig. Distrib.	13

シグナル強度の percentile 値を Spike-In および Non-Control probe について示しています。シグナル強度の弱い方から 1%あるいは 50%、99%にあたるフィーチャのシグナル強度が表示されます。シグナル強度が極端に低くないか、あるいは高くないか確認できます。

#### 5. Histogram of Signals Plot (1-color only)



シグナル強度(横軸)に対してフィーチャの数(縦軸)がプロットされています。シグナルレベルやヒストグラムの形をみることで、ラベル化以降の実験の再現性を見ることができます。

#### 6. Negative Control Stats

Negative Control Stats	
	Green
Average Net Signals	17.22
StdDev Net Signals	1.23
Average BG Sub Signal	0.56
StdDev BG Sub Signal	1.11

ネガティブコントロール(何もハイブリダイズしないスポット)シグナルの、Net Signal と BG SubSignal の平均値および SD 値が示しています。大まかに、バックグラウンドノイズの指標となります。

#### 7. Local Background Inliers

Local Bkg (inliers)	
	Green
Number	42530
Avg	33.94
SD	1.47

フラグスポットを除いたローカルバックグラウンドの数、シグナル強度の平均および標準偏差のテーブルです。アレイ全体の洗浄ムラやハイブリダイゼーションのムラなどの有無を確認できます。

#### 8. Foreground Surface Fit

Foreground Surface Fit	
	Green
RMS_Fit	0.41
RMS_Resid	2.25
Avg_Fit	36.36

Spatial Detrend で見積もられた Foreground や補正の程度を示します。

RMS\_Fit…補正前の Surface Fit の程度

RMS\_Resid…補正後のノイズ残渣

AvgFit…Foreground に含まれ、差し引かれたシグナルの量

## 9. Multiplicative Surface Fit

Multiplicative Surface Fit	
	Green
RMS_Fit	0.02

Surface Fit の RMS(root mean square)値を示します。

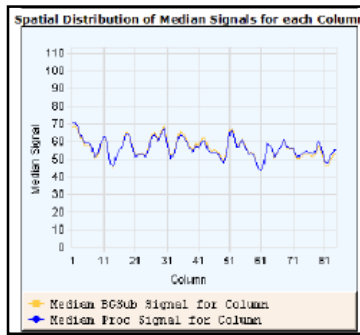
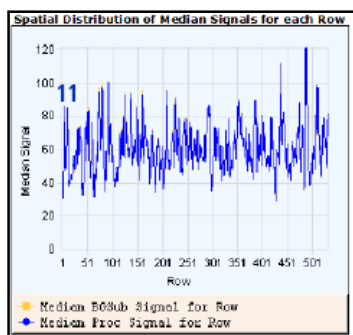
Multiplicative Detrending が Off になっている場合、この値は0になります。

## 10. Reproducibility (%CV for Replicated Probes)

Reproducibility: %CV for Replicated Probes		
	Median %CV Signal (inliers)	
	Non-Control probes	Agilent Spike-Ins
	Green	Green
BGSubSignal	8.21	10.71
ProcessedSignal	8.17	11.03

繰り返しスポットされている複数種の Non control probe と Agilent Spike-In において、BGSubSignal および ProcessedSignal の%CV(シグナルの SD 値/シグナルの平均値 × 100)の中央値が示されます。値が低いほど再現性が高いことを示します。

## 11. Spatial Distribution of Median Signals for each Row and Column (1 color only)



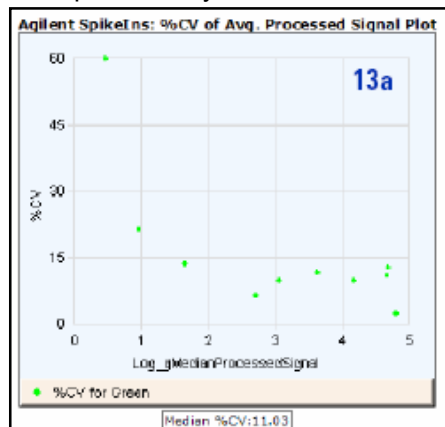
アレイの行(row)または列(column)に対して Processed Signal および BGSubSignal の中央値をプロットした図です。空間的な補正によってどの程度値が変化したか見るができます。

## 12. 1-color Gene Expression Spike-In Signal Statistics

Agilent Spike-Ins Signal Statistics				
Probe Name	Log (Relative Conc.)	Median (Log Proc. Sig.)	% CV	StdDev
(+)E1A_r60_3	0.30	0.46	59.88	0.22
(+)E1A_r60_a104	1.30	0.97	21.43	0.09
(+)E1A_r60_a107	2.30	1.66	13.60	0.05
(+)E1A_r60_a135	3.30	2.70	6.42	0.03
(+)E1A_r60_a20	3.83	3.05	9.83	0.04
(+)E1A_r60_a22	4.30	3.63	11.67	0.05
(+)E1A_r60_a97	4.82	4.17	9.68	0.04
(+)E1A_r60_n11	5.30	4.67	11.03	0.05
(+)E1A_r60_n9	5.82	4.69	12.62	0.06
(+)E1A_r60_1	6.30	4.81	2.28	0.01

30 回繰り返しスポットされている 10 種類のスパイクインプローブのプローブ名、期待値[Log(Relative Conc.)]、実測値の中央値[Log(Median Proc. Sig.)]、CV 値(%CV)および標準偏差値(StdDev)のテーブルです。

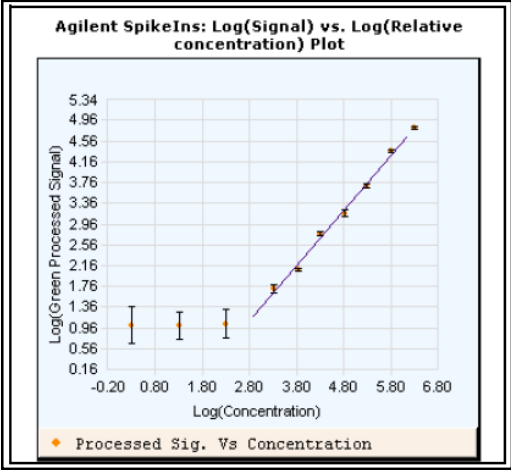
## 13a. Reproducibility Plots for 1-color Gene Expression (spike-in probes)



実測値の中央値(Log\_gMedianProcessedSignal)に対して CV 値をプロットしたグラフです。

ノイズレベルが高い低シグナル領域では CV 値は急激に高くなります。

13b. Spike-In Linearity Check for 1-color Gene Expression



濃度(横軸)に対して実測値(縦軸)をプロットしたグラフです。ノイズ領域にある濃度が薄い3点はエラーバーが大きく、一番濃い1点はサチュレーションしています。これらを除いた6点の直線性を評価します。

ラベル化以降の実験がうまくいっているかどうかのひとつの指標です。

スパイクインを加えていない場合でもグラフは表示されます。

14. Table of Values for Concentration-Response Plot (1-color only)

Agilent Spike-In Concentration-Response Statistics	
Linear Range Statistics:	
Low Signal	0.66
High Signal	4.67
Low Relative Concentration	1.32
High Relative Concentration	5.34
Slope	1.00
R^2 Value	1.00
Signal Detection Limit Statistics	
Saturation Point	4.81
Low Threshold	0.44
Low Threshold Error	0.24
Spike-In Detection Limit	1.05

Spike-in Concentration-Response Plot の直線性が保たれる範囲の傾きや、バックグラウンドと区別できる最小シグナル強度などのテーブルです。