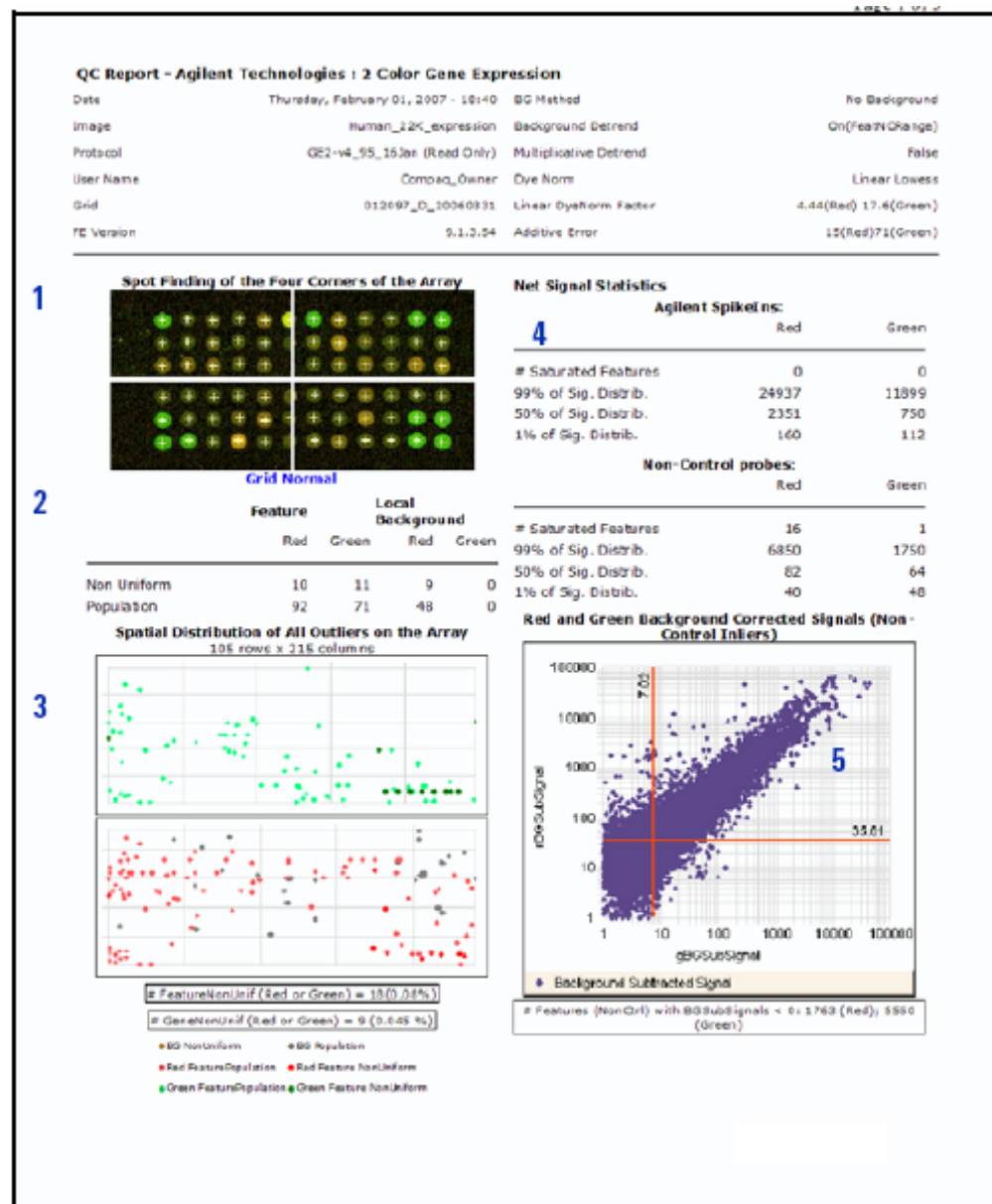


## QC Reportの確認 (2色プロトコル)

- 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。
  - 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

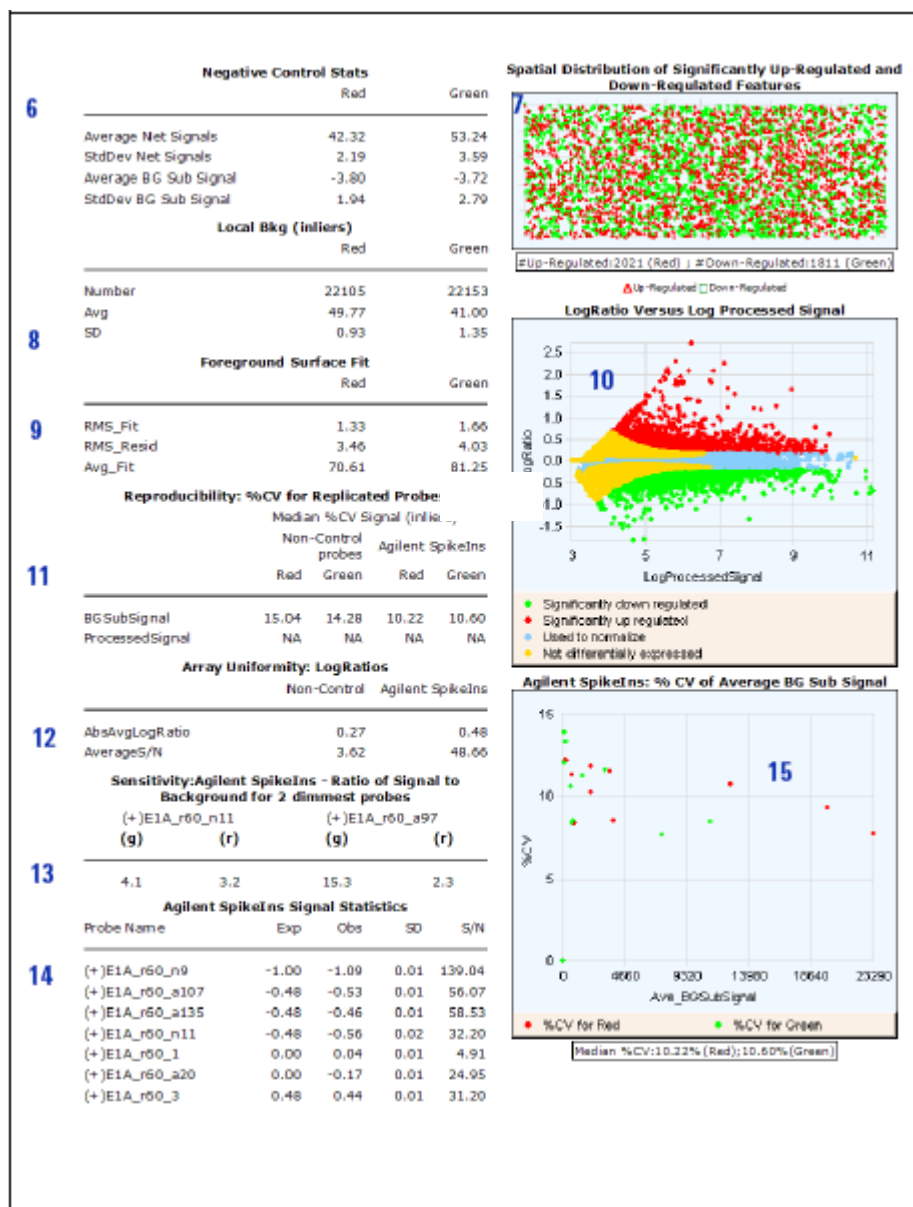
#### 1. Spot Finding of Four Corners

#### 2. Outlier Stats

#### 3. Spatial Distribution of Outliers

#### 4. Net Signal Statistics

#### 5. Plot of background-Corrected Signals (2色のみ)



6. Negative Control Stats

7. Spatial Distribution of Up- and Down- Regulated Features (2 色のみ)

8. Local Background Inliers

9. Foreground Surface Fit

10. Plot of LogRatio vs LogProcessed Signal

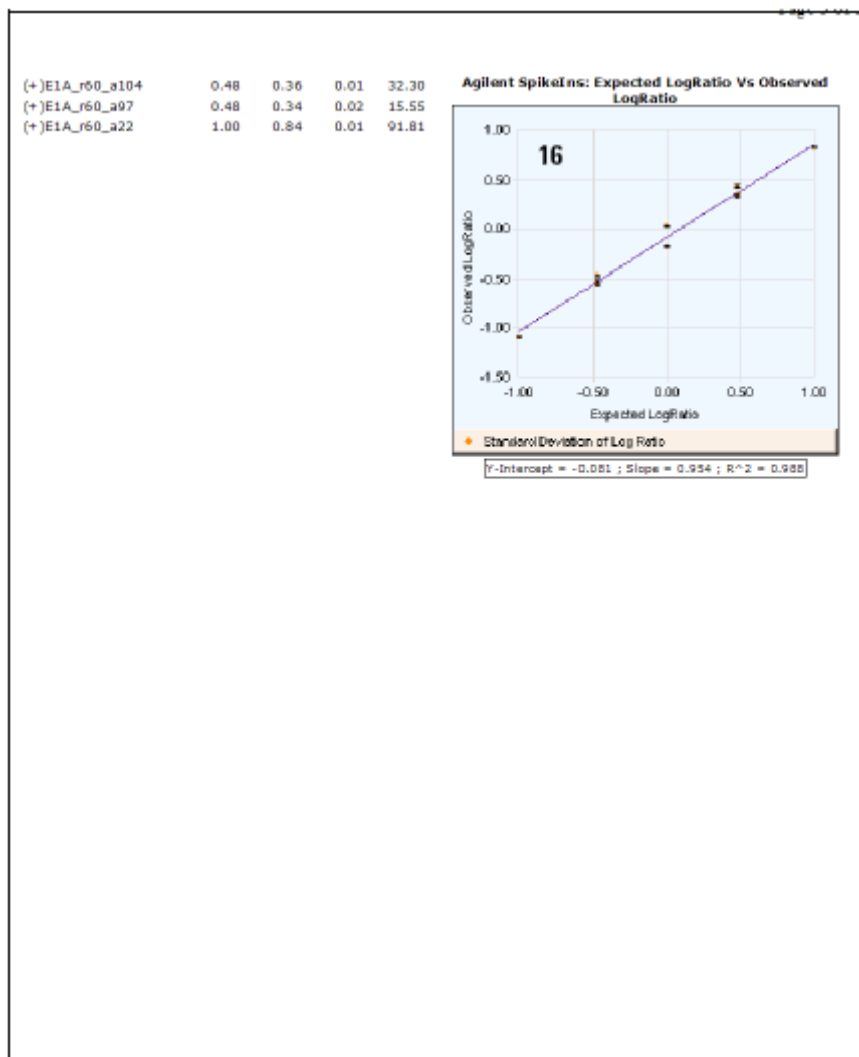
11. Reproducibility Statistics (%CV Replicated Probes)

12. Microarray Uniformity (2 色のみ)

13. Sensitivity

14. 2-color gene expression spike-in signal statistics

15. Reproducibility plot for 2-color gene expression (spike-in probes)



16.Spike-in Linearity Check for 2-color Gene Expression

## 用語の解説

**BGSubSignal** --- (Background Subtracted Signal) バックグラウンド値を差し引き、色素補正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。

**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 (NonCtrl)**--- 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内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。

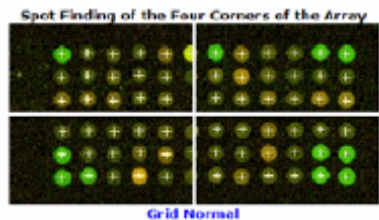
- Outliers** --- 基準から外れたフィーチャあるいはバックグラウンドに立つフラグです。Feature Non Uniformity Outlier、Population Outlier、Saturated Feature があります。
- Population** --- (Population Outlier) 同一のシグナル強度が期待される繰り返しスポット、あるいはすべてのローカルバックグラウンドの中で他と比べてシグナル値が外れているものに立つフラグです。
- Processed Signal (Proc. Sig.)** --- 数値化のすべてのアルゴリズムを経たシグナル強度です (色素補正およびマイナス値処理がされた値です)。
- 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



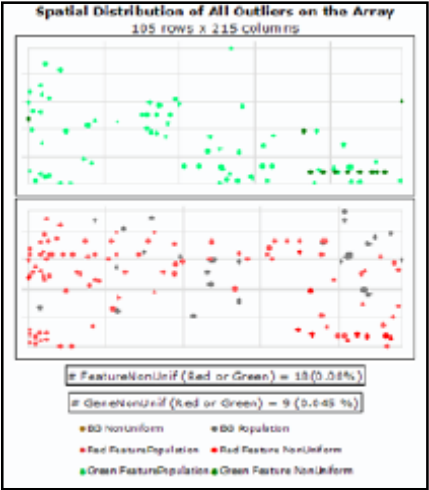
アレイの四隅と数値化に用いたグリッド位置(+)が表示され、グリッドがずれていないか確認できます。

2. Outlier Stats

	Feature		Local Background	
	Red	Green	Red	Green
Non Uniform	1	5	7	4
Population	50	50	2308	2099

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



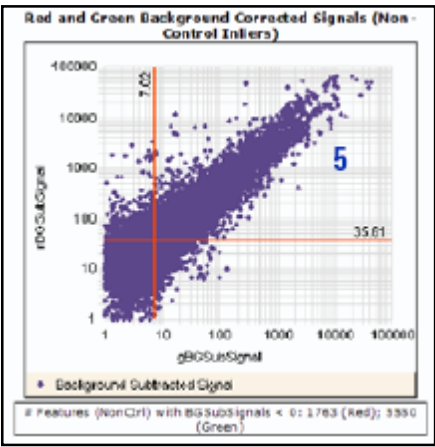
アレイ上のフラグの位置を表示しています。実験上明確な問題がないにもかかわらず、FeatNonUnif (Feature Non Uniformity outlier)が 5%を超える場合は弊社にお問い合わせください。

4. Net Signal Statistics

Net Signal Statistics		
Agilent SpikeIns:		
	Red	Green
NumSat	0	0
99%	24913	11899
50%	2351	750
1%	160	112
Non-Control probes:		
	Red	Green
NumSat	16	1
99%	6850	1750
50%	82	64
1%	40	48

シグナル強度の percentile 値を SpikeIn 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. Plot of background-Corrected Signals (2 色のみ)



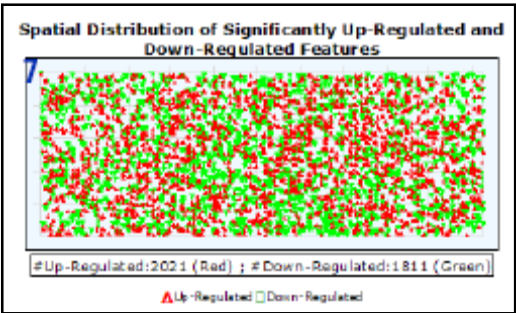
横軸に緑(Cy3)、縦軸に赤(Cy5)のシグナル強度をとった BGSubSignal(用語の解説参照)のスクアープロットです。コントロールプローブを除いた、Inlier の Feature の値が使用されています。  
赤線および数値は、各蛍光シグナルの中央値です。

6. Negative Control Stats

Negative Control Stats		
	Red	Green
Average Net Signals	42.32	53.24
StdDev Net Signals	2.19	3.59
Average BG Sub Signal	-3.80	-3.72
StdDev BG Sub Signal	1.94	2.79

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. Spatial Distribution of Up- and Down- Regulated Features (2 色のみ)



発現変動が有ると判定された遺伝子のスポットのアレイ上の位置を示します。  
エラーモデルから算出された P-value の値を元に判定します(デフォルトは P=0.01)。

## 8. Local Background Inliers

Local Bkg (inliers)		
	Red	Green
Number	22105	22153
Avg	49.77	41.00
SD	0.03	1.35

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。

## 9. Foreground Surface Fit

Foreground Surface Fit		
	Red	Green
RMS_Fit	1.33	1.66
RMS_Resid	3.46	4.03
Avg_Fit	70.61	81.25

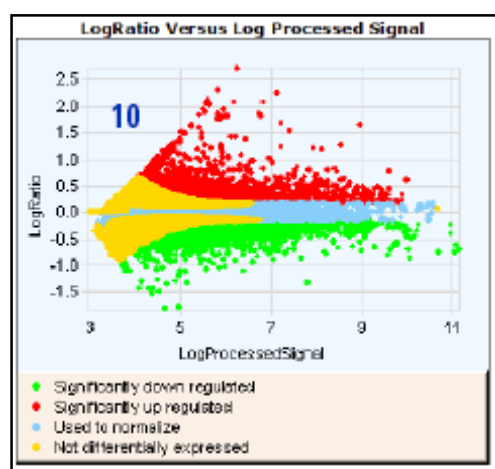
Spatial Detrend で見積もられた Foreground や補正の程度を示します。

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

## 10. Plot of LogRatio vs Average Log Signal (2 色のみ)



フラグがたっていない遺伝子スポットについて

横軸に各シグナル強度の平均値、縦軸にログ比をとった MA プロットです。

発現変動の有無が色分けして表示されます。

## 11. Reproducibility Statistics (Non-Control Replicated Probes)

Reproducibility: %CV for Replicated Probes				
	Median %CV Signal (inliers)			
	Non-Control probes		Agilent SpikeIns	
	Red	Green	Red	Green
BG SubSignal	15.04	14.28	10.22	10.60
ProcessedSignal	NA	NA	NA	NA

繰り返しスポットされている複数種の遺伝子プローブおよび Spike-In において、バックグラウンドシグナルおよびフィーチャシグナルの%CV(シグナルのSD 値/シグナルの平均値 × 100)の中央値が表示されます。値が低いほど再現性が高いことを示します。

## 12. Array uniformity: LogRatios (2 色のみ)

Array Uniformity: LogRatios		
	Non-Control	Agilent SpikeIns
AbsAvgLogRatio	0.27	0.48
AverageS/N	3.62	48.66

繰り返しスポットされている複数種の遺伝子プローブと Spike-In について、それぞれのログ比の平均の絶対値 (AbsAvgLogRatio: Absolute of averaged log ratio)および S/N の平均が表示されます。

## 13. Sensitivity: Agilent SpikeIns-Ratio of Signal to Background for 2 dimmest probes (2 色のみ)

Sensitivity: Agilent SpikeIns - Ratio of Signal to Background for 2 dimmest probes			
(+ )E1A_r60_n11		(+ )E1A_r60_a97	
(g)	(r)	(g)	(r)
4.1	3.2	15.3	2.3

複数あるスパイクインのスポットの中で、最少量加えるものに対してそのNet Signalとバックグラウンドの比が表示されます。

SpikeA (Cy3)で最少量のプローブ:(+ )E1A\_r60\_a97

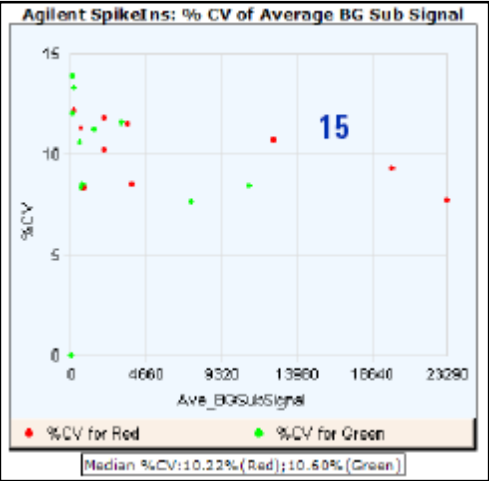
SpikeB (Cy5)で最少量のプローブ:(+ )E1A\_r60\_n11

14. Agilent SpikeIns LogRatio Statistics

Agilent SpikeIns Signal Statistics				
Probe Name	Exp	Obs	SD	S/N
(+)E1A_r60_n0	-1.00	-1.00	0.01	139.04
(+)E1A_r60_a107	-0.48	-0.53	0.01	56.07
(+)E1A_r60_a135	-0.48	-0.46	0.01	58.53
(+)E1A_r60_n11	-0.48	-0.56	0.02	32.20
(+)E1A_r60_1	0.00	0.04	0.01	4.91
(+)E1A_r60_a20	0.00	-0.17	0.01	24.95
(+)E1A_r60_3	0.48	0.44	0.01	31.20

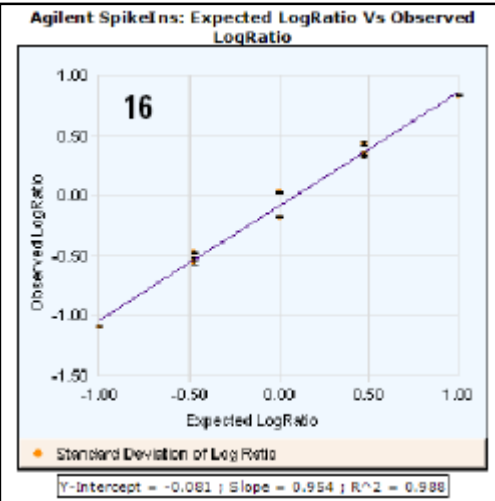
スパイクインに含まれる10種類のプローブの名前、期待されるログ比(Exp)、実測値のシグナル強度のログ比(Obs)などのテーブルです。

15. Agilent SpikeIns: %CV of Average BG Sub Signal



10 種類のスパイクインのフラグの立っていないスポットに関して、各蛍光シグナルの平均値に対して CV 値をプロットした図です。

16. Agilent SpikeIns: Expected LogRatio Vs Observed LogRatio



期待されるログ比に対して実測値のシグナル強度のログ比をプロットしたグラフです。  
傾きが 1、y 切片が 0、 $R^2$  が 1 になるのが理想的です。  
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。