

QC Metrics

- ・QC Metricsとは、アレイの数値化データのサマリをアジレント社の経験に基づく参考値と比べることで、ラベル化以降数値化までの実験ステップに問題がないかを評価するツールです。

ただし個々の結果はサンプルの抽出法や品質などに影響をうけるため、参考値は必ず満たさなければならない基準値ではありません。

- ・Feature Extraction v9.1以降で数値化すると出力されます。



内容

使用上の注意

1. QC Metricsとは
2. QC Metricsの出力例
3. 各アプリケーションのMetrics
4. QC Metricsの出力法（順序変えたのでは？）



使用上の注意

アジレントのDNAマイクロアレイは、インクジェットを用いた*in situ*合成法で phosphoramidite法に基づいたDNAの化学合成を行い、製造されています。

また様々なクオリティのサンプル溶液を、スライドガラス上でハイブリダイゼーションして、専用洗浄液で洗浄、乾燥するという、液体をベースとした実験なので、アレイ上のわずかなしみやムラ、溶液の飛び散りは不可避であり、数十万から数百万のスポットを100%保証するものではありません。

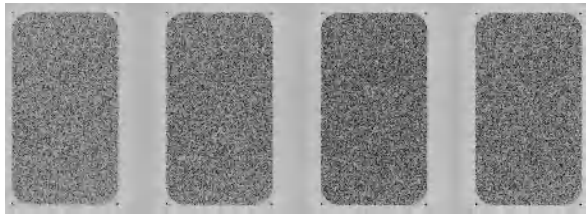
そのため、種々のフラグ指標を評価し、全般的に見て解析に支障がないレベルか、実験途中でなにか誤りがないか、またはフラグが解析に支障を与えており、データの排除や、再実験の必要性があるのかを判断するための参考値がQCメトリックです。



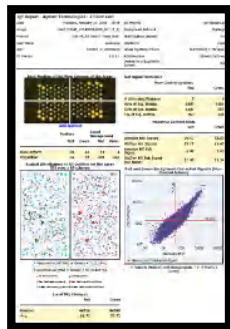
1. QC Metricsとは



実験は成功している...?
スキャン画像から判断するのは難しい

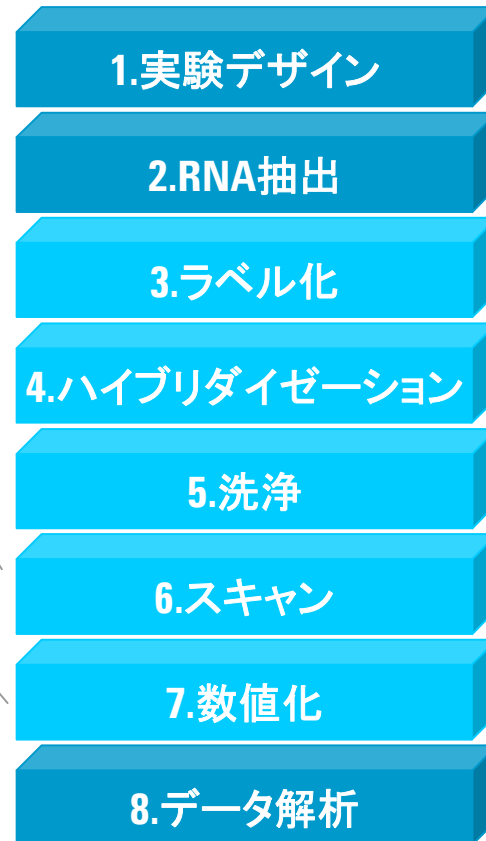


どの項目を見ればいいのか?
たくさんのQCレポートを
全部相互比較するのは大変だ...

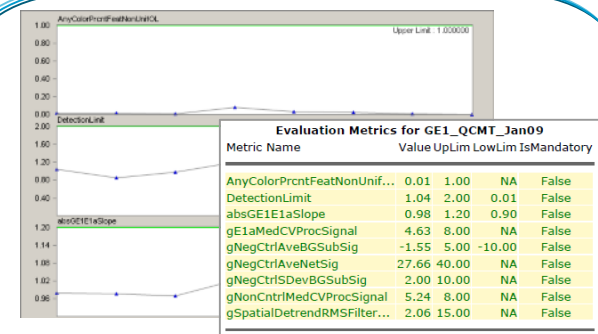


QCレポート

マイクロアレイ実験の流れ



『これらの実験ステップで
問題がなかったか』を
評価するツール



QC metricsの出力データ

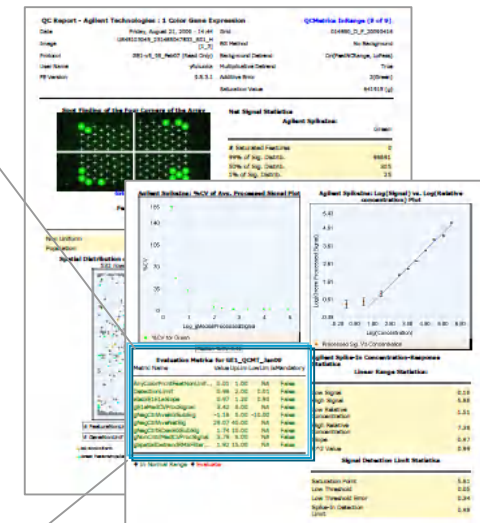


Agilent Technologies

2. QC Metricsの出力例

◆QCLレポート内にQC metricsが出力されます。

Evaluation Metrics for GE1_QCMT_Jan09				
Metric Name	Value	UpLim	LowLim	IsMandatory
AnyColorPrcntFeatNonUnif...	0.01	1.00	NA	False
DetectionLimit	1.04	2.00	0.01	False
absGE1E1aSlope	0.98	1.20	0.90	False
gE1aMedCVPProcSignal	4.63	8.00	NA	False
gNegCtrlAveBGSubSig	-1.55	5.00	-10.00	False
gNegCtrlAveNetSig	27.66	40.00	NA	False
gNegCtrlSDevBGSubSig	2.00	10.00	NA	False
gNonCntrlMedCVPProcSignal	5.24	8.00	NA	False
gSpatialDetrendRMSFilter...	2.06	15.00	NA	False



遺伝子発現の例

Metric Name QCLレポート内の数項目

アプリケーションによって異なります。

Value 実際にアレイから計算された値

UpLim, LowLim アジレント開発部の経験に基づく値。

設定されていない場合もあります。

IsMandatory: False (現在はずべてFalseです)

各Metricは経験に基づいた『**参考値**』であり、必ず満たさなければいけない『基準値』ではないことを意味します。



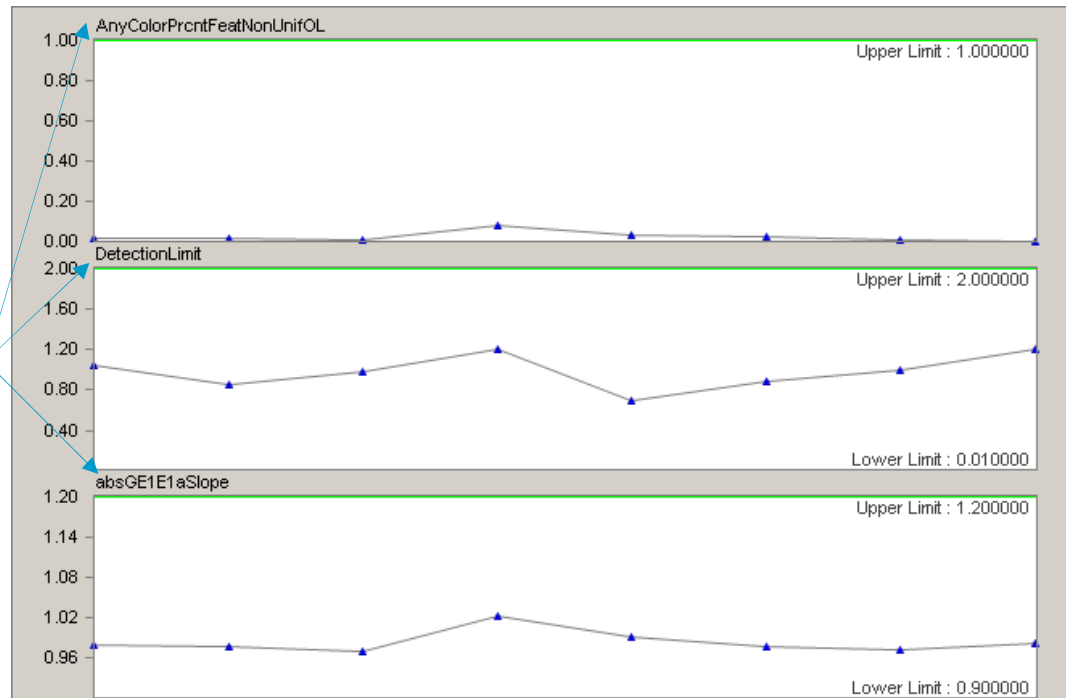
Agilent Technologies

2. QC Metricsの出力例

◆同時に数値化したアレイに対してQC ChartがPDFで出力されます。

32ビットのPC使用時のみ。64ビットのPCでは出力されません。

各QC Metric



遺伝子発現の例
(8アレイ)

横軸：各アレイ
縦軸：各Metricの値



Agilent Technologies

3. QC Metricsの出力法

数値化が終了すると出力されます。

Feature Extraction 10.x以降はデフォルトで出力されるよう、設定されています。

◆Feature Extraction 9.xの場合

1. Feature Extractionを立ち上げます。

View > QC Metric set browserにチェックを入れるとブラウザが表示されます。
ブラウザ内で目的のアプリケーションのQC Metric setがあることを確認します。
(新しくQC Metric setをインポートするにはxページをご覧ください。)

2. 通常通り、数値化を行う画像、プロトコル、デザインファイルおよび出力ファイルの設定を行います。

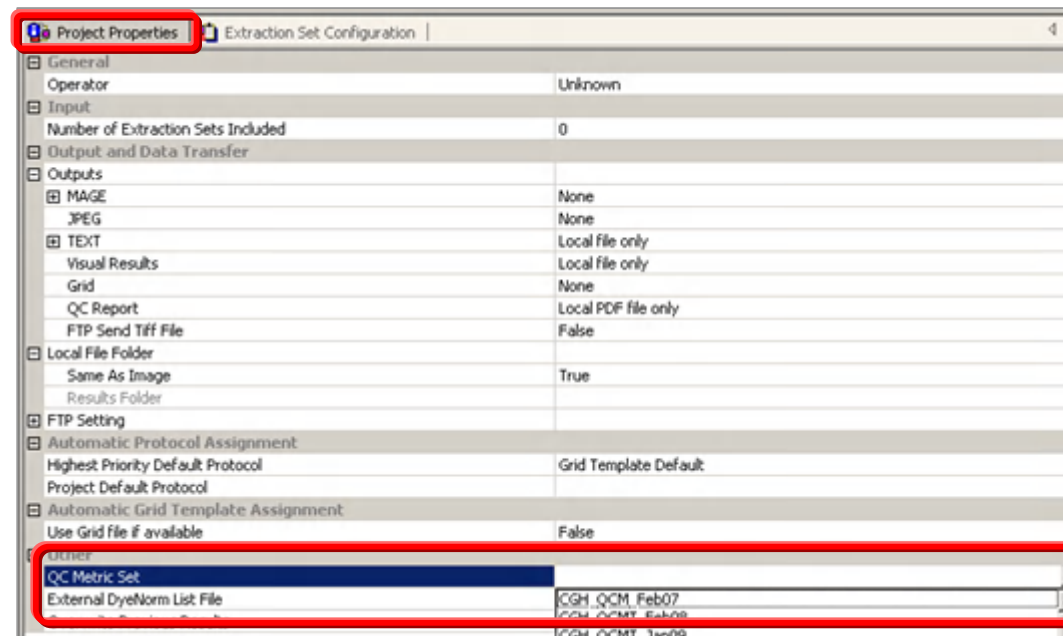


3. QC Metricsの出力法

◆Feature Extraction 9.xの場合(続き)

3. 通常通り、数値化を行う画像、プロトコル、デザインファイルおよび出力ファイルの設定を行います。数値化を始める前に下記設定を行います。

Project Propertiesタブ内、“QC Metric Set”のプルダウンから目的のQC Metric setを選択します。



Projectを保存後、数値化を開始します。



4. 新しくQC Metricをインポートする方法

◆Feature Extraction 9.xおよび10.x

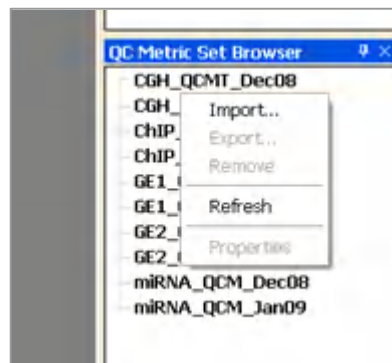
下記サイトからQC Metric Setをダウンロードします。

<http://www.chem.agilent.com/en-us/products/software/lifesciencesinformatics/pages/gp61128.aspx>

Winzip、Lhaz version 1.33あるいはWindows XP以降に付属のソフト(解凍するファイル上で右クリック>Open with(プログラムから開く)>Compressed(zipped)Foldersと選択)で、ダウンロードしたファイルを解凍します。それ以外のソフトで解凍したファイルはFeature Extractionにインポートできない場合があります。

Feature ExtractionのQC Metric Set Browser内で右クリック>Importと選択し、上記で解凍したファイルを指定します。

QC Metric Set Browserがない場合は、Feature Extractionを立ち上げ、View>QC Metric Set Browserと選択して下さい。



Feature Extraction 9.xの場合

次回の数値化時に、新しいMetric Setを指定します。

Feature Extraction 10.xの場合

次ページ参照

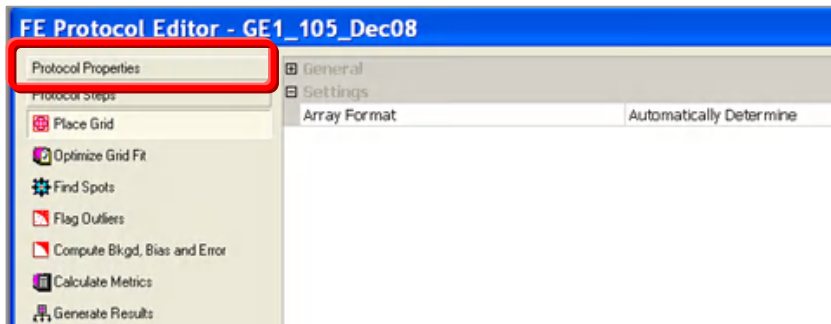


Agilent Technologies

4. 新しくQC Metricをインポートする方法

◆Feature Extraction 10.x

FE Protocol Browser内にある目的の数値化プロトコルをダブルクリックします。
現れたFE Protocol Editor中、Protocol Propertiesをクリックします。



“Metricset”のプルダウンから目的のQC Metric Setを選択します。
異なるアプリケーションのMetricを選ばないように注意してください。



OKをクリックします。通常通り数値化を行います。

5. 各アプリケーションのMetrics

遺伝子発現1カラー(GE1_QCMT_Jan09)

Metric Name	IsMandatory	Upper Limit	Lower Limit
absGE1E1aSlope	False	1.20000	0.90000
AnyColorPrcntFeatNonUnifOL	False	1.00000	
DetectionLimit	False	2.00000	0.01000
gE1aMedCVProcSignal	False	8.00000	
gNegCtrlAveBGSubSig	False	5.00000	-10.00000
gNegCtrlAveNetSig	False	40.00000	
gNegCtrlSDevBGSubSig	False	10.00000	
gNonCntrlMedCVProcSignal	False	8.00000	
gSpatialDetrendRMSFilteredMinusFit	False	15.00000	

absGE1E1aSlope スパイクインプロットの傾き

AnyColorPrcntFeatNonUnifOL FeatureNonUniformityOutLierの割合

gE1aMedCVProcSignal スパイクインのCV%の中央値

gNonCntrlMedCVPrecsignal 遺伝子由来プローブの数値化シグナル強度CV%の中央値

gNegCtrlAveBGSubSig ネガティブコントロールのBGSubSignal平均値

gNegCtrlSDevBGSubSig ネガティブコントロールのBGSubSignalの標準偏差

gNegCtrlAveNetSig ネガティブコントロールの数値化前生シグナルの平均値

DetectionLmit スパイクインの検出限界シグナル強度

gSpatialDetrendRMSFilteredMinusFit 位置依存的なバックグラウンドをどの程度補正したかを示す指標

BGSubSignal バックグラウンドを差し引いた値

5. 各アプリケーションのMetrics

遺伝子発現2カラー (GE2_QCMT_Jan09)

Metric Name	IsMandatory	Upper Limit	Lower Limit
absE1aObsVsExpCorr	False		0.86000
absE1aObsVsExpSlope	False		0.85000
AnyColorPrcntFeatNonUnifOL	False	1.00000	
gE1aMedCVBkSubSignal	False	25.00000	
gNegCtrlAveBGSubSig	False	10.00000	-20.00000
gNegCtrlSDevBGSubSig	False	15.00000	
gNonCntrlMedCVBkSubSignal	False	25.00000	
rE1aMedCVBkSubSignal	False	25.00000	
rNegCtrlAveBGSubSig	False	4.00000	-20.00000
rNegCtrlSDevBGSubSig	False	6.00000	
rNonCntrlMedCVBkSubSignal	False	25.00000	

absE1aObsVsExpCorr スパイクインプロットのR²

absE1aObsVsExpSlope スパイクインプロットの傾き

AnyColorPrcntFeatNonUnifOL FeatureNonUniformityOutLierの割合

g/rE1aMedCVBkSubSignal スパイクインのBGSubSignalのCV値の中央値

g/rNegCtrlAveBGSubSig ネガティブコントロールのBGSubSignal平均値

g/rNonCntrlMedCVPrecsignal 遺伝子由来プローブの数値化シグナル強度CV%の中央値

g/rNegCtrlSDevBGSubSig ネガティブコントロールのBGSubSignalの標準偏差

g:Green signal(Cy3)

r:Red signal(Cy5)

BGSubSignal バックグラウンドを差し引いた値



Agilent Technologies

5. 各アプリケーションのMetrics

aCGH (CGH_QCMT_Jan09)

Metric Name	IsMandatory	Upper Limit	Lower Limit
AnyColorPrntFeatNonUnifOL	False	1.00000	
DerivativeLR_Spread	False	0.30000	
g_BGNoise	False	15.00000	
g_Signal2Noise	False		30.00000
g_SignalIntensity	False		50.00000
gRepro	False	0.20000	
r_BGNoise	False	15.00000	
r_Signal2Noise	False		30.00000
r_SignalIntensity	False		50.00000
rRepro	False	0.20000	

ChIP-on-chip (ChIP_QCMT_Jan09)

Metric Name	IsMandatory	Upper Limit	Lower Limit
AnyColorPrntFeatNonUnifOL	False		
DerivativeLR_Spread	False		
g_BGNoise	False		
g_Signal2Noise	False		
g_SignalIntensity	False		
gRepro	False		
r_BGNoise	False		
r_Signal2Noise	False		
r_SignalIntensity	False		
rRepro	False		

AnyColorPrntFeatNonUnifOL FeatureNonUniformityOutLierの割合

DerivativeLR_Spread 変化が大きいプローブ間を除く、ゲノム上で隣り合うプローブ間のLogRatioノイズ

g/r_BGNoise ネガティブコントロールプローブの標準偏差

g/r_Signal2Noise Signal Intensity/BG Noise

g/r_SignalIntensity バックグラウンド補正シグナルの中央値

g/rRepro 繰り返し搭載されているプローブのCVの中央値

g:Green signal(Cy3)

r:Red signal(Cy5)

BGSubSignal バックグラウンドを差し引いた値

ChIP-on-chipにはUpper LimitおよびLower Limitは設定されていません。



Agilent Technologies

5. 各アプリケーションのMetrics

miRNA発現アレイ(miRNA_QCMT_Jan09)

Metric Name	IsMandatory	Upper Limit	Lower Limit
AddErrorEstimateGreen	False		
AnyColorPrntFeatPopnOL	False		
gNonCtrlMedPrntCVBGSubSig	False		
gTotalSignal75pctile	False		

AddErrorEstimateGreen 各featureのバックグラウンドのノイズレベル

Excellent:<5

Good:5-12

Bad:12<

AnyColorPrntFeatPopnOL Feature Population Outlinerの割合

Excellent:<8%

Good:8-15%

Bad:15%<

gNonCtrlMedPrntCVBGSubSig 遺伝子由来プローブのBGSubSigalのCV値

Excellent:<10%

Good:10-15%

Bad:15%<

gTotalSignal75pctile gTotalSignalの75percentileのシグナル強度

サンプルによって大きく異なります。



Agilent Technologies