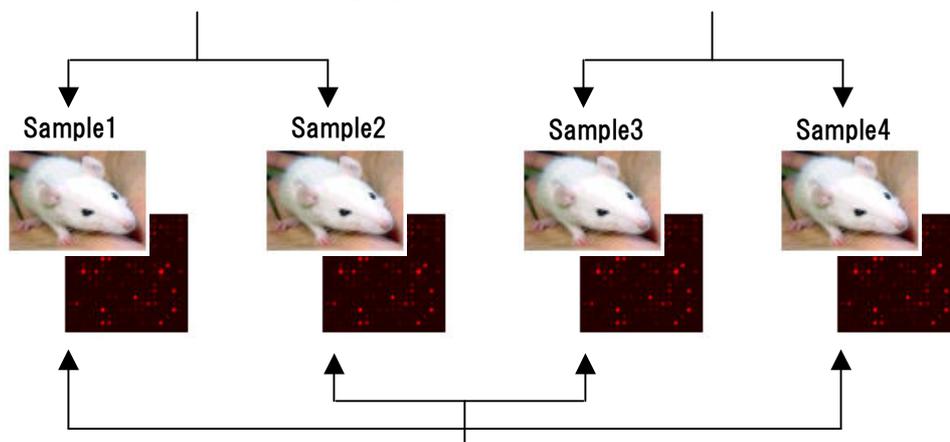


## Microarray Data Analysis Tool データ解析の進め方 Vol.7 — 比較データファイルの作り方 —

弊社マイクロアレイ受託解析サービスで、単色法での実験を選択された場合、お客様が指定されたサンプルの比較データを作成して納品しています。しかし、納品後にお客様の方で、指定の組み合わせ以外の比較データが必要になった場合、本ソフトウェアを使用して、希望の組み合わせで比較データを作成することができます。作成した比較データは、納品データファイルと同様に、Scatter PlotやGene Ontology解析などの機能を使用することができます。

申し込み時に、比較を指定した組み合わせ(全4サンプル)



この組み合わせの比較データで解析したい！

単色法のマイクロアレイ解析では、2色法とは違い、1実験分のマイクロアレイデータには、1サンプル分の実験データしかありません。そのため、各実験データ同士の比較を、容易に行うことができます。弊社マイクロアレイ受託解析サービスでは、単色法での実験でお申し込みをいただいた場合、1実験(サンプル)ずつの実験データを含んだ「Signal比較解析用実験データファイル」を納品しているため、このファイルを使用して、希望の組み合わせでサンプルの比較を行うことができます。また比較の際に、正規化の手法を選択できるので、納品データとは違う手法で正規化されたデータを作成することも可能です。なお、比較を行えるのは、同一プラットフォームのマイクロアレイデータのみとなります。

本マニュアルでは、比較データの作成の手順を紹介します。なお作成時には、ソフトウェアの「Signal比較データ解析」機能を使用しますが、本マニュアルでは機能の詳細説明は省き、操作手順のみを説明します。機能の詳細は、ソフトウェアの「User Manual」か、「データ解析の進め方 Vol.4」などをご参照ください。

## ソフトウェアの起動と実験データの読み込み

### 手順1. ソフトウェアの準備

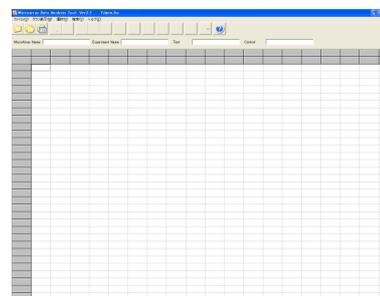
CDIに入っている「Microarray Data Analysis Tool」のフォルダを、自分のコンピュータにコピーしてください。

### 手順2. ソフトウェアの起動

コピーしたフォルダを開き、「MAtool.exe」のアイコンをダブルクリックしてください。右図のタイトル画面が表示され、ソフトウェアが起動します。

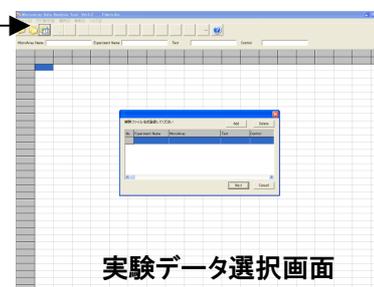


ソフトウェアが起動後は右図のメイン画面が表示されます。



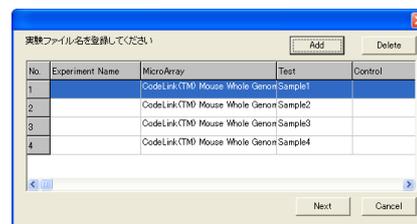
### 手順3. Signal比較解析実験データ読み込み

📅アイコンをクリックすると、右の画面が表示されます。「Add」ボタンをクリックし、対象となる実験データの選択・読み込みを行います。なおSignal比較解析用の実験データファイルは、1サンプル分の実験データしかもっていません。そのためファイル名も「Sample1 vs Sample2」ではなく、「Sample1」、「Sample2」のように1サンプルずつに分かれており、サンプル名の後ろに「Signal比較解析用」と入力されています。



実験データを読み込むと、右図のように選択したファイルの使用マイクロアレイ名、サンプル名等が表示されます。

ここでは、「Sample1～4」の4つの実験データを読み込みます。表示の確認が終わったら、「Next」ボタンをクリックして次へ進みます。



#### 手順4. 正規化と比較の組み合わせの指定

「Next」ボタンをクリックすると、「Data Edit」(下図)の画面が現れます。この画面では正規化の手法や、比較の組み合わせの選択を行います。

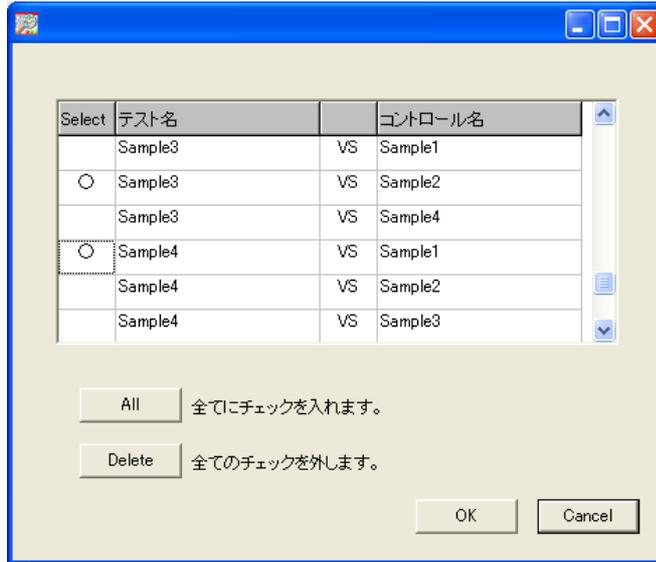
The screenshot shows the 'Data Edit' dialog box with the following details:

- Section 1:** 'Low data treatment' checkbox is unchecked. Below it are two input fields: the first contains '> Net intensity' and the second contains '= Net intensity'. A note below reads: '\*0.001以下の数値は自動的に0.001に切り上げられます。'
- Section 2:** 'Per Array Normalization' checkbox is checked. Under it are four radio buttons: 'Median', 'Mean', 'Quantile' (selected), and 'Control gene'. Each has an associated input field. To the right, 'Per Gene Normalization' is unchecked with its own radio buttons: 'Median', 'Mean', and 'Control experiment'. A button 'コントロールの指定をする' is located below the 'Control experiment' radio button.
- Section 3:** 'Ratio calculation' checkbox is checked. Below it is a blue link: '比較の組み合わせを指定する'.
- Buttons:** 'Next' and 'Cancel' buttons are at the bottom right.

①の項目では、弱いシグナル強度のスポットに対して、一定の値に数値を引き上げる処理の設定を行います。何も設定を行わなかった場合でも、シグナル強度が「0.001」以下のスポットは、自動的に「0.001」に変換されますので、ここでは設定を行わずに処理を進めていきます。

次に②の項目で、正規化の設定を行います。正規化には「Per Array Normalization」と「Per Gene Normalization」の2種類がありますが、比較データの作成を行う場合は、Per Gene Normalizationの設定を行う必要はなく、Per Array Normalizationのみを設定します。本ソフトウェアでは、Per Array Normalizationの手法として、4種類の計算手法が選択できますが、本解析では「Quantile」(数値指定なし)を選択します。

最後に③の項目で、比較するサンプルの組み合わせを指定します。チェックボックスにチェックを入れた後、「比較の組み合わせを指定する」という青色の文章をクリックすると、次ページのような「比較の組み合わせ一覧」画面が表示されます。

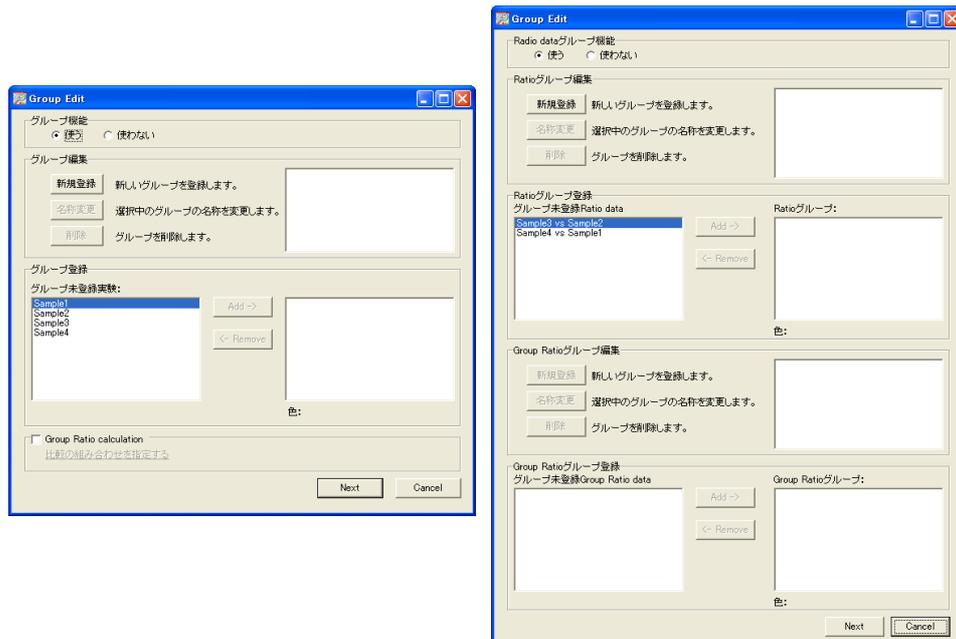


この画面では読み込んだ全ての実験データの組み合わせ(テスト、コントロールの入れ替え含む)が表示されます。各組み合わせの「Select」列をダブルクリックすると、「O」が入力されるので、このようにして比較したい組み合わせを選択してください。ここで指定した組み合わせに基づいて、「Ratioデータの計算」と「実験データファイルの作成」を行います。

なお1ページ目で示したとおり、本解析では「Sample4 vs Sample1」と「Sample3 vs Sample2」(テスト、コントロールの指定は任意)の比較データを作成することが目的なので、選択する組み合わせは上図のようになります。選択終了後、「OK」ボタンをクリックするとData Editの画面に戻るので、「Next」ボタンをクリックして先に進んでください。

## 手順5. 様々なデータのグループ化

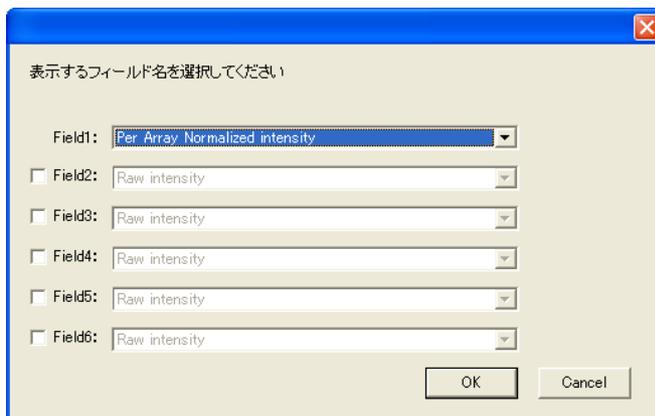
Data Edit画面から進むと、2種類の「Group Edit」画面が現れます。ここは実験データや、手順4で指定したRatioデータのグループ編集を行う画面なので、何も設定せず、「Next」ボタンをクリックし次に進みます。



## 手順6. 出力するデータの選択

2つ目のGroup Editから進むと、表示するフィールドの選択画面が現れます。最大6項目まで選択でき、ここで選択された項目のみがメイン画面に表示され、その後の検索に使用できます。

実験データファイルの作成が目的の場合は、どの項目を選択してもかまいません。本解析では、例として「Per Array Normalized intensity」を選択しました。



## 手順7. メイン画面の表示

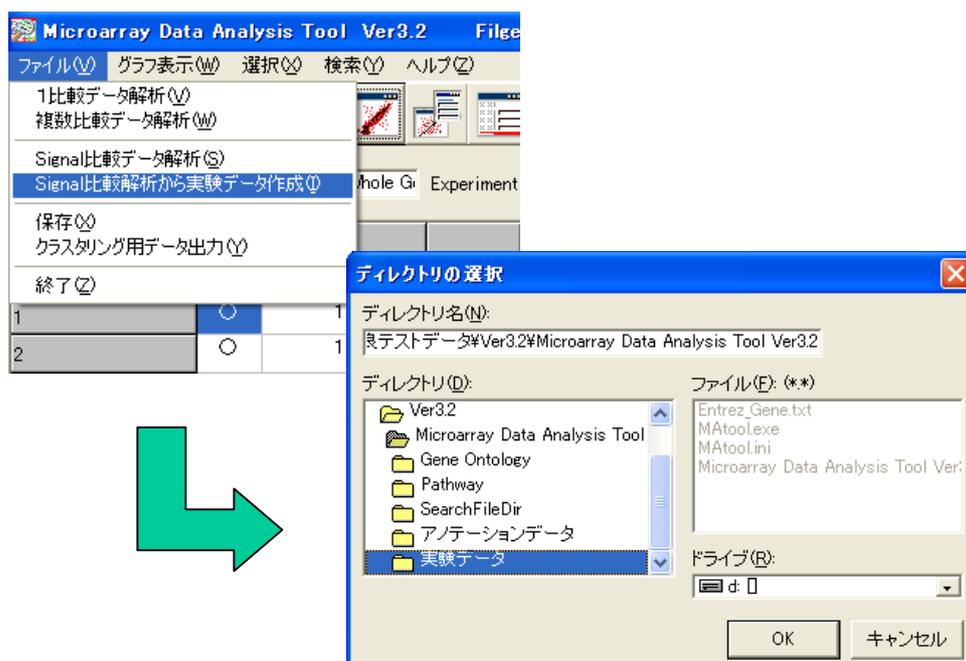
手順6の画面で、「OK」ボタンをクリックすると、メイン画面が表示されます。ここで、手順4の③で指定した、比較の組み合わせのRatioとLog2Ratioが表示されていることを確認してください。本解析では、「Sample4 vs Sample1」と「Sample3 vs Sample2」の2つの比較を指定したため、この2つの組み合わせで計算したデータが表示されています。

No.	Select	Block	Row	Column	Sample1 Per Array No.	Sample2 Per Array No.	Sample3 Per Array No.	Sample4 Per Array No.	Sample3 vs Sample2 ratio	Sample3 vs Sample2 log2Ratio	Sample4 vs Sample1 ratio	Sample4 vs Sample1 log2Ratio	P-value	FDR	解析対象
1	<input checked="" type="radio"/>	1	1					7772.55698	0.94708	-0.07843	0.96717	-0.04816	1	1	2
2	<input type="radio"/>	1	1					100.5945	2.6031	1.38023	1.07812	0.10852	1	1	0
3	<input type="radio"/>	1	1					33.02553	0.96497	-0.05144	0.92082	-0.119	1	1	2
4	<input type="radio"/>	1	1	4	126.86652	97.79165	103.56242	96.52367	1.05901	0.08272	0.76083	-0.39435	1	1	0
5	<input type="radio"/>	1	1	5	33.0404	8.41135	7.443	9.3096	0.88488	-0.17645	0.28446	-1.81371	1	1	0
6	<input type="radio"/>	1	1	6	12.01952	13.43012	28.1026	8.7246	2.0925	1.06523	0.67745	-0.56181	1	1	0
7	<input type="radio"/>	1	1					8472.97098	1.0324	0.046	1.06243	0.08737	1	1	2
8	<input type="radio"/>	1	1					7430.06617	0.95057	-0.07313	1.14487	0.19518	1	1	2
9	<input type="radio"/>	1	1					46.3403	0.23175	-2.10936	0.78113	-0.35636	1	1	0
10	<input type="radio"/>	1	1	12	13.71615	53.25012	13.80325	26.73362	0.25922	-1.94778	1.94906	0.96278	1	1	0
11	<input type="radio"/>	1	1	13	97.23065	40.02193	108.945	75.09098	2.72216	1.44475	0.77182	-0.37366	1	1	0
12	<input type="radio"/>	1	1	14	7091.56287	8678.60157	8384.52125	8218.76027	0.96611	-0.04973	1.15895	0.21282	1	1	2
13	<input type="radio"/>	1	1	15	7781.83803	7717.97508	8482.22703	7947.93347	1.09902	0.13622	1.02134	0.03047	1	1	2
14	<input type="radio"/>	1	1	17	24.8589	30.96748	18.28317	51.13867	0.5904	-0.0024	2.05716	1.04065	1	1	0
15	<input type="radio"/>	1	1	18	79.9148	72.0002	46.91085	48.03578	0.65154	-0.61803	0.60109	-0.73425	1	1	0

## 手順8. 比較データファイルの作成

メイン画面で、指定の組み合わせのRatioデータが表示されていることを確認したら、比較データファイルの作成を行います。

まず画面上部のメニューバーから、「ファイル」をクリックし、そこからさらに「Signal比較解析から実験データ作成」をクリックします。するとファイルを作成するための、フォルダ（ディレクトリ）の指定を求められるので、ここで「実験データ」フォルダを選択し、「OK」ボタンをクリックします。



## 手順9. ファイル作成の終了

手順8で「OK」ボタンをクリックすると、数秒後に指定のフォルダに、比較データファイルが出力されます。ここで作成したファイルは、予め弊社で作成して納品した、1比較用の比較データファイルと同じフォーマットになっているので、1比較または複数比較データ解析機能で読み込み、解析を行うことが可能です。

なお、この方法で作成できる比較データファイルは、「Summarization」を行う前のデータのみとなっています。複数スポットのデータをまとめた「Summarized data」の解析を行いたい場合は、ここで作成した比較データを読み込んだ後、「Summarization」を実行してください。

