

標 準 操 作 手 順 書

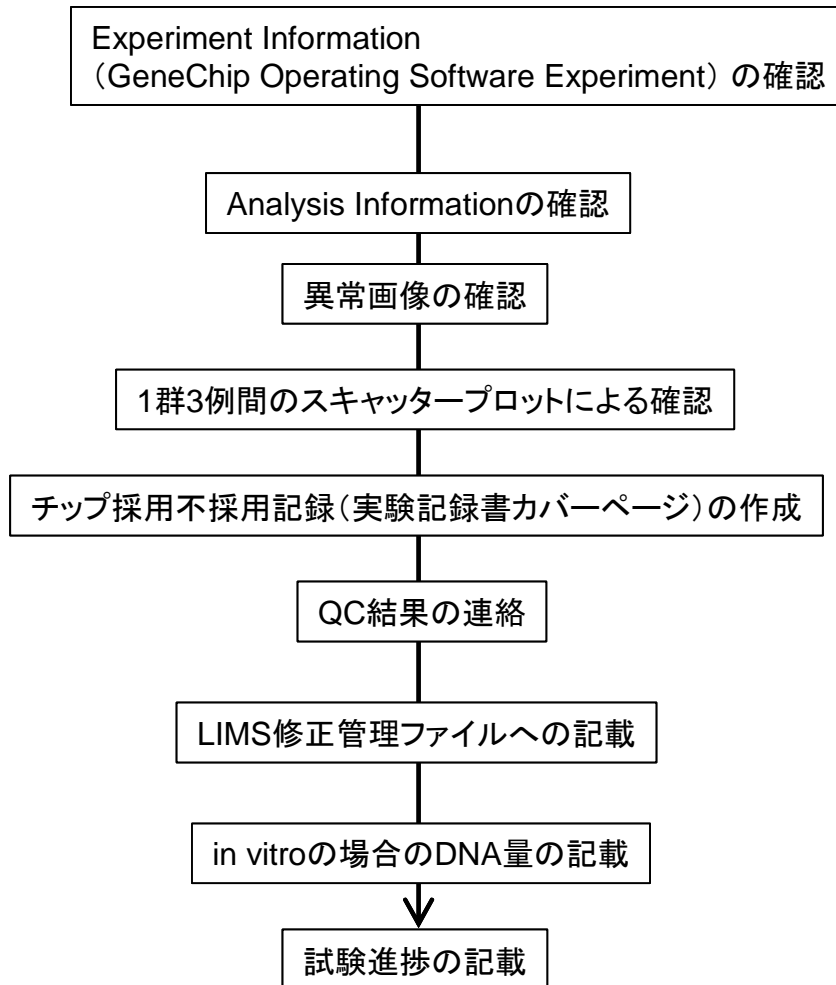
表 題 Quality Control (QC)

承認 _____ 年 月 日

目 次

分類	項目	ページ
GEN114	作業手順の流れ図	
Ver.4	1.序	2
	2.QC	
	2.1 Experiment Information (GeneChip Operating Software Experiment) の確認	2
	2.2 Analysis Information の確認	2-3
	2.3 異常画像の確認	4
	2.4 1群3例間のスキャッタープロットによる確認	4-5
	2.5 チップ採用不採用記録 (実験記録書カバーページ) の作成	5
	2.6 QC 結果の連絡	5
	2.7 LIMS 修正管理ファイルへの記載	5
	2.8 in vitro の場合の DNA 量の記載	5
	2.9 試験進捗の記載	6
	3. ファイルの保存元、保存先	6-7

作業手順



1 序

本プロトコールでは、Quality Control (QC)の手順について記載する。

TGP で実施している遺伝子発現実験では、様々な QC を行うことでデータの信頼性を保っている。具体的には下記の操作を実行しており、各工程の最後には工程責任者が実験記録書の内容を確認し二重のチェックを行っている。

- ① 標準操作手順書 (SOP) の整備。
- ② 詳細な実験操作を記載した実験記録書の整備、及び逐次書込・チェックによる確認。
- ③ サンプル量や試薬量の計算等のコンピュータ化による、人為的ミスの防止。
- ④ totalRNA 抽出あるいは cRNA の断片化の際の電気泳動による品質の確認。
- ⑤ GeneChip スキャン画像の異常の確認。

また、一連の QC の最終段階として、以下に示すデータ QC を行い実験の成否およびデータの精度を担保している。

2. QC

ファイルの保存元、保存先は 3. ファイルの保存元、保存先を参照のこと。

2.1. Experiment Information (GeneChip Operating Software Experiment) の確認

- 1) QC 担当者が、GEN113 に従い印刷された Experiment Information により、チップの種類、Fluidics プロトコールを確認し蛍光ペンでチェックする。
- 2) 問題があれば、工程責任者及び実験担当の工程責任者に連絡する。

2.2. Analysis Information の確認

Affymetrix システムから出力される Analysis Information を用いて、チップデータのバックグラウンド、プレゼントコールの割合、GAPDH、スパイクコントロールなどの値を確認することで、チップ実験の成否を判定する。これらのパラメータに関して基準値から外れているものがあつた場合、Scatter plot を含めたデータを吟味し、QC 担当者および工程責任者がデータ採用可否を総合的に判断する。

RawQ パラメータを新規に QC 事項に含めるか否かは、統合 DB 採用データの RawQ パラメータの確認終了後に判断する。当面は、RawQ パラメータが同一試験内の他個体データに比べてある程度揃っていれば採用とする。

- 1) QC 担当者が、GEN113 に従い印刷された Analysis Information を用いて、下記パラメータを確認する。

Background : 150 以下

Corner : 15000~20000 以下

Central : 15000~20000 以下

Number Present : 実験内で大きく値が異なるサンプルは不採用

Housekeeping Controls

AFFX_RAT_GAPDH : Sig (3'/5')が 3 以下

AFFX_RAT_BETA-ACTIN : Sig (3'/5')が 3 以下 (必須)

AFFX-HUMGAPDH/M33197 : Sig (3'/5')が 3 以下

AFFX-HSAC07/X00351 : Sig (3'/5')が 3 以下

Spike Controls

AFFX-BIOB : Det(5')=P

AFFX-BIOC : Det(5')=P

AFFX-BIOD : Det(5')=P

AFFX-CRE : Det(5')=P

AFFX-DAP : Det(5')=P

AFFX-THR : Sig(5')>2500 (A チップ) 、 >2000~2500 (2.0 チップ)

- 2) 異常が認められた場合は、工程責任者及び実験担当の工程責任者が総合的に判断する。
- 3) 「実験記録書 6-2」の最終ページ「工程責任者の確認」の確認日欄に日付を記入、確認者欄に工程責任者の判子を押す。
- 4) 問題がなければ、コメント欄に OK と記載する。
- 5) 問題があれば、具体的な内容と対処を記載する。
- 6) 必要な場合、実験担当の工程責任者がコメントを記載する。

2.3. 異常画像の確認

- 1) GEN113 に従い、スキャン画像の異常の報告を受けた工程責任者は、異常が認められたスキャン画像を確認する。「確認印」を押し、工程責任者の名前と確認した日付を記載する。問題がある場合は、コメントを記載する。
- 2) 「実験記録書 6-2」の最終ページ「工程責任者の確認」の確認日欄に日付を記入、確認者欄に工程責任者の判子を押す。
- 3) 問題がなければ、コメント欄に OK と記載する。
- 4) 問題があれば、具体的な内容と対処を記載する。
- 5) 必要な場合、実験担当の工程責任者がコメントを記載する。
- 6) GeneChip 不良によるものと判断した場合、Affymetrix 社に連絡し、GeneChip の代替品を要求する。

2.4. 1 群 3 例間のスキッタープロットによる確認

Affymetrix システムからダウンロードした遺伝子発現値データを用いて 1 群 3 例間のスキッタープロットを描画することで、群内の変動を確認する。なお 2004 年 7 月からは従来の Scal 補正データを用いたスキッタープロットの確認に加え、Perchip (median) 補正データを用いたスキッタープロットの確認も行っており、2004 年 12 月には Perchip (median) から Perchip (mean) に補正方法を変更している。ソフトウェアとして統計パッケージ「R」および IT 部門で開発した R スクリプトを用いている。

- 1) スキッター描画手順に従い、1 群 3 例間のスキッタープロットを描画し、PowerPoint に貼付する。
- 2) 「実験記録書 6-2」の最終ページ「スキッタープロットを用いた QC の結果」の確認日欄に日付を記入、確認者欄に工程責任者の判子を押す。
- 3) スキッタープロットに問題がなければ「問題なし」をチェックし、コメント欄に取り消し線を書く。

- 4) スキャッタープロットに問題があれば、「問題あり」をチェックし、コメント欄に具体的な内容と対処を記載する。

2.5. チップ採用不採用記録（実験記録書カバーページ）の作成

- 1) チップ採用不採用記録のテンプレートに従い、Working ID、動物種、細胞種、臓器名、EXP.ID、時点、化合物を入力する。
- 2) サンプル ID 及びチップ ID を入力する。
- 3) QC 結果より判断した採用／不採用を入力する。
- 4) QC の過程で記載されたコメントを要約し入力する
- 5) Wxxxxx.xls(xxxxx は WorkingID)のファイル名で保存する。

2.6. QC 結果の連絡

- 1) テクニシャンへ QC 結果をメールで送信する（cc 研究員）。
- 2) 送信したメールを保存する。

2.7. LIMS 修正管理ファイルへの記載

- 1) やり直しサンプルがあった場合、LIMS 修正管理ファイルに不採用サンプルを記載し、統合 DB での不採用フラグ対処を IT 部門に依頼する。

2.8. in vitro の場合の DNA 量の記載

- 1) 「実験記録書 3」の DNA 実験計算結果のページの DNA(ng)列の DNA 量を DNA 計算.xml（ラット細胞）或いは DNA 計算(Human50～).xml（ヒト細胞）に入力して計算する。
- 2) Exp.ID に該当するファイルに計算されたデータを移して、保存する。

2.9. 試験進捗の記載

- 1) GCOS (GCOS クライアントのパソコン) でチップの Sample ID 及びチップの数を確認する。
- 2) vivo 試験進捗管理.xls 或いは vitro 試験進捗管理 N.xls の GCOS (TGP-QC)欄にチップ数 (不採用、有効)、不採用エクセルを記入する。

3. ファイルの保存元、保存先

- 1) R インストーラー
¥¥Tgfs¥TGP2¥03-IT
- 2) スキャッター描画手順
¥¥Tgfs¥TGP2¥01-Research¥21-Experiment¥18-SOP¥スキャッター描画手順.doc
- 3) チップ採用不採用記録 (実験記録書カバーページ) の作成
¥¥Tgfs¥TGP2¥01-Research¥07-データ QC¥チップ採用不採用記録
- 4) QC 結果の連絡メール
¥¥Tgfs¥TGP2¥01-Research¥11-新人対応-引継ぎ¥QC 関連業務¥QC 結果連絡メール
- 5) スキャッタープロットを貼付した PowerPoint ファイル、「Name_List.TXT」、
「Name_List2.TXT」
¥¥Tgfs¥TGP2¥01-Research¥Pivot Data¥1_vivo_rat
¥¥Tgfs¥TGP2¥01-Research¥Pivot Data¥2_vitro の当該フォルダ
- 6) LIMS 修正管理ファイル
¥¥Tgfs¥TGP2¥01-Research¥07-データ QC¥実験関連 DB 修正¥LIMS 修正管理ファイル.xls

7) DNA 量の記載

¥¥Tgfs¥TGP2¥01-Research¥04- 委託試験 vitro¥TGP1¥ 三菱化学安科研 (in vitro)¥DB 登録用¥DNA 計算.xls (ラット細胞)

¥¥Tgfs¥TGP2¥01-Research¥04- 委託試験 vitro¥TGP1¥ 三菱化学安科研 (in vitro)¥DB 登録用¥DNA 計算(Human50~).xls (ヒト細胞)

8) 試験進捗の記載

¥¥Tgfs¥TGP2¥01-Research¥02-試験進捗¥vivo 試験進捗管理.xls

¥¥Tgfs¥TGP2¥01-Research¥02-試験進捗¥vitro 試験進捗管理 N.xls

以下余白