

4.異常係数削除

いくつかの要因により、係数学習中に係数の値が異常な値を示すことがある。全体に対して悪影響を及ぼす可能性があるため、学習の途中で、異常係数を見つけて出し削除した。

想定される異常係数発生の要因

異常計測値	デブリなど、計測上の異常な値が含まれている場合には、異常な係数を生み出す可能性がある。一定の範囲内のエラーであれば、学習により他の実験結果により打ち消されるが、打ち消されず残る可能性がある。
係数不足	塩基配列からプローブとmRNAの間の離脱速度を示す係数を使用する。しかし、計算時間を実用時間に収めるために閾値を決めてあり、一定の長さ以下の関係しか見だせなかった組み合わせは、係数を作成していない。塩基配列の間違った係数が作成されなかった組み合わせで、強い関係があった場合には、異常な係数となる可能性がある

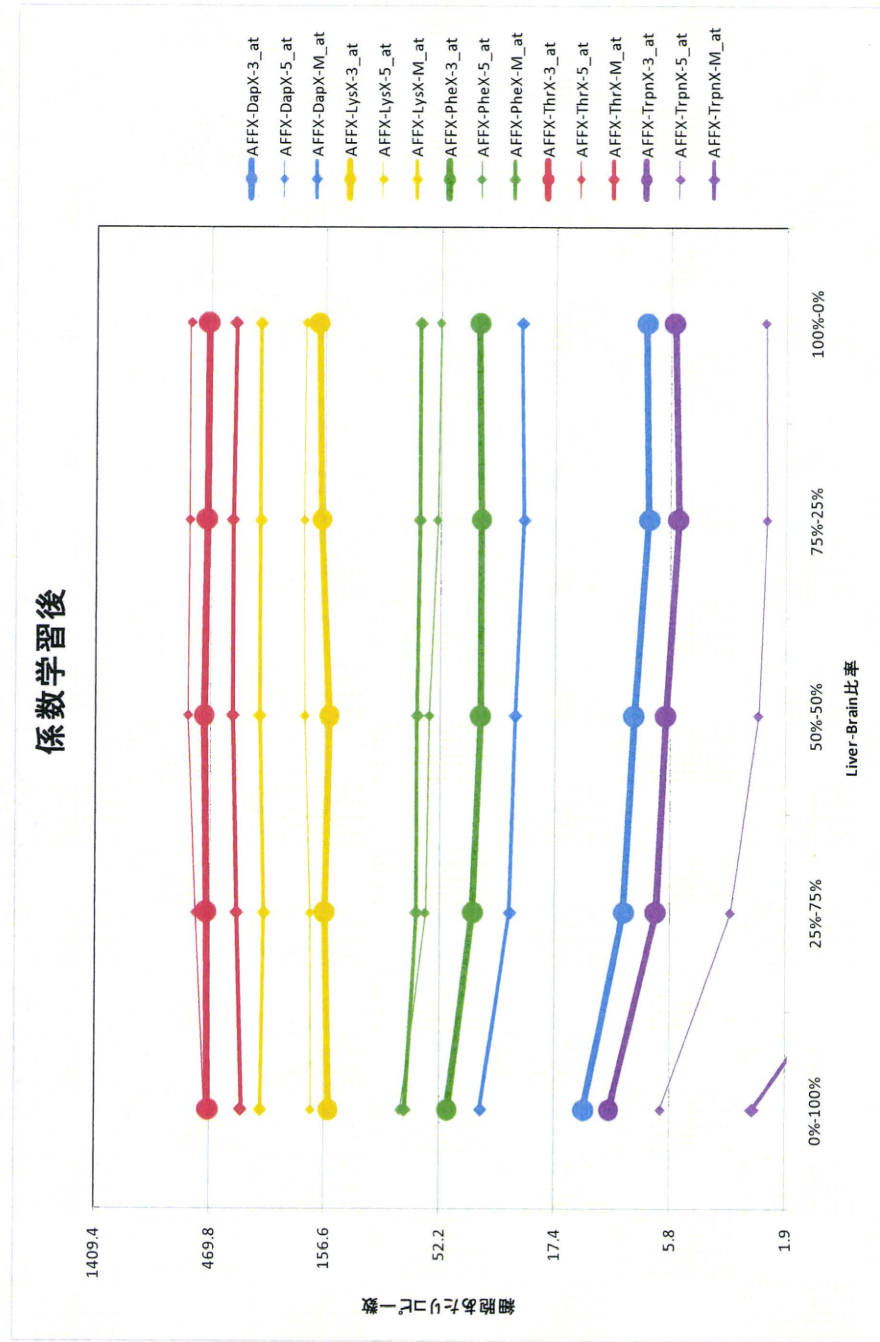
4.異常係数削除

学習の途中で次のものを削除した

係数値	<p>解離係数300以上の通常ターゲットに関する係数 非特異的結合の解離係数を計算の都合上350としている。半特異的結合の解離係数が、これに近い値は削除</p>
異常プローブ	<p>PMプローブの設計上ターゲットとの解離係数が8以上 目的とするRNAとの解離係数として1程度を目標としている。速く解離しすぎるので削除</p> <p>MMプローブの設計上ターゲットとの解離係数が1未満 目的とするRNAとPMとの解離係数として1程度を目標としている。MMプローブと強く結合するのは削除</p> <p>解離係数が0.3以下を含むプローブ 強力すぎる結合なので、不整合と考えられる。(25mer一致が2か所存在することも考えられる)</p> <p>ターゲットとの結合が存在しないプローブ 異常係数として削除されたものなど</p> <p>PMプローブ内の解離係数順位トップとターゲットとの解離係数の比率 本来はターゲットがトップのはずだが、1.5倍を超えたら初期値として使用しない。4倍を超えたらプローブ削除</p> <p>PMプローブの存在しないMMプローブ 設計上ターゲットを代表するものがPMプローブである。MMはいくつか存在しても構わないが、MMの方が主に なる」と計算上不安定になる</p>
ターゲット内	<p>ターゲットの初期化に使用しているプローブよりも、解離しにくいプローブが存在する ターゲット特異性があるとみなされているプローブよりも、解離しにくいプローブが存在するとは考えにくい</p>

5.係数学習後の補正性能 LBMデータGSC濃度

GSCの濃度が与えた濃度の比率通りの推定値になっているか確認した。

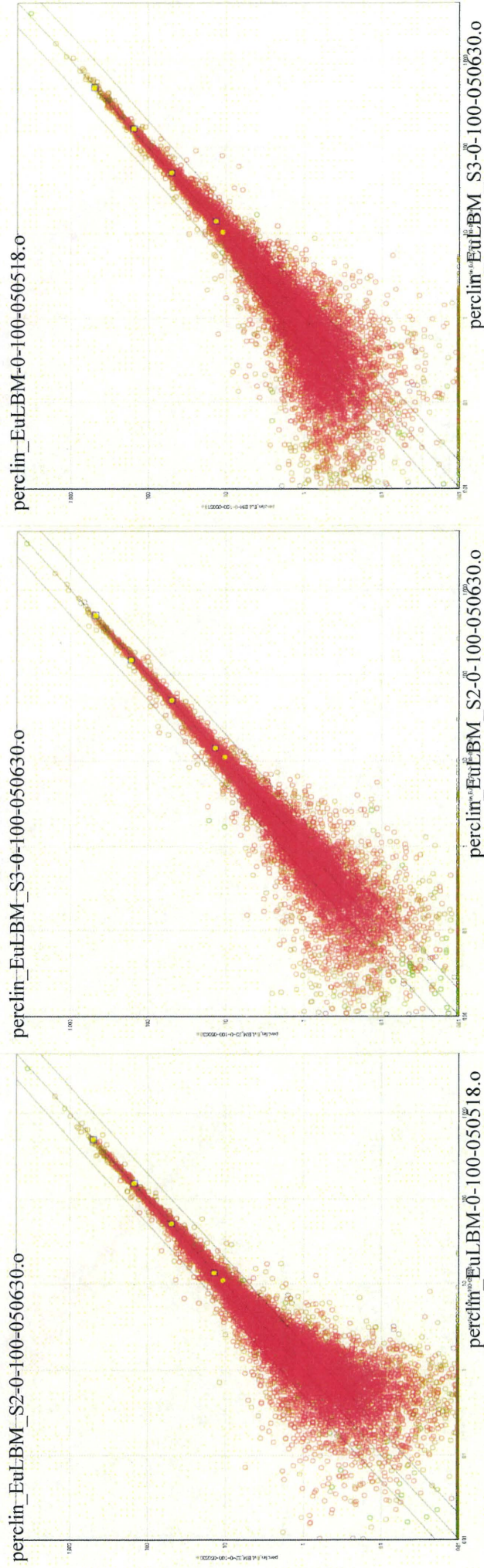


1番目THRと2番目Lysは、与えた濃度通りの補正結果となった。

5.係数学習後の補正性能 LBMデータ散布図による確認

Liver-Brain-Mixtureの三重化実験データを用いて、低発現域における偏差を確認した。

Liver0%-Brain100% 三重化データをサイクリックに散布図を作成した

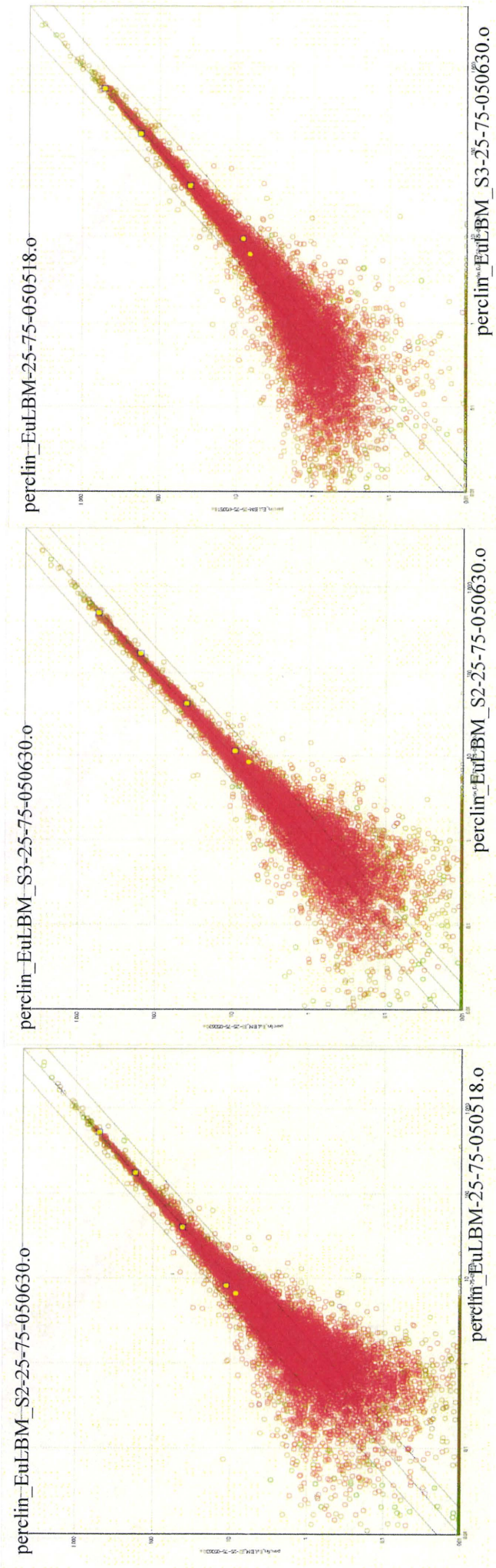


EuLBM-0-100-050518が他の2チップよりも、少し大きな値となっているが、1コピー以下である

5.係数学習後の補正性能 LBMデータ散布図による確認

Liver-Brain-Mixtureの三重化実験データを用いて、低発現域における偏差を確認した。

Liver25%-Brain75% 三重化データをサイクリックに散布図を作成した

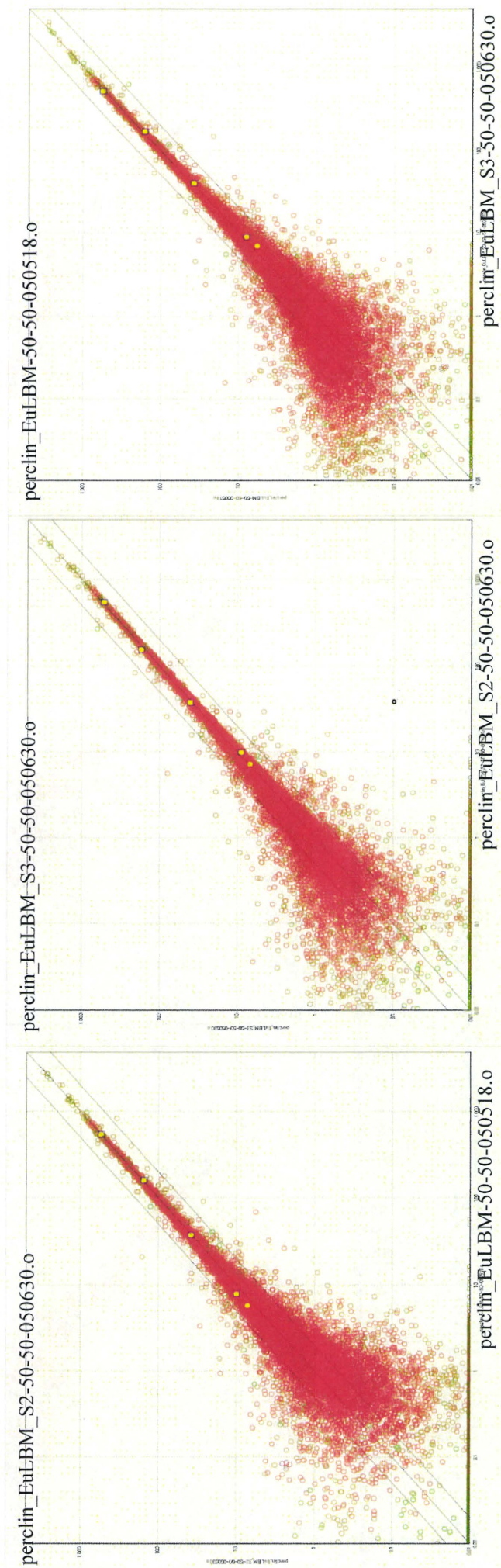


EuLBM-25-75-050518が他の2チップよりも、少し大きな値となっているが、1コピー以下である

5.係数学習後の補正性能 LBMデータ散布図による確認

Liver-Brain-Mixtureの三重化実験データを用いて、低発現域における偏差を確認した。

Liver50%-Brain50% 三重化データをサイクリックに散布図を作成した

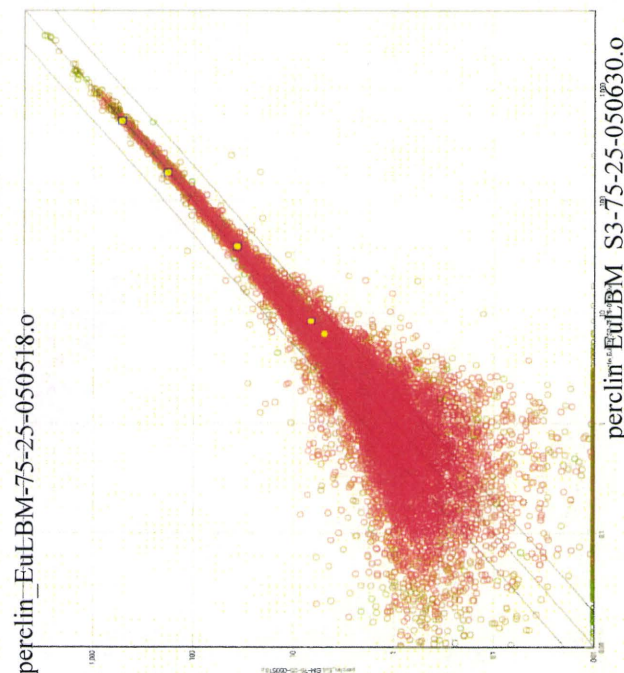
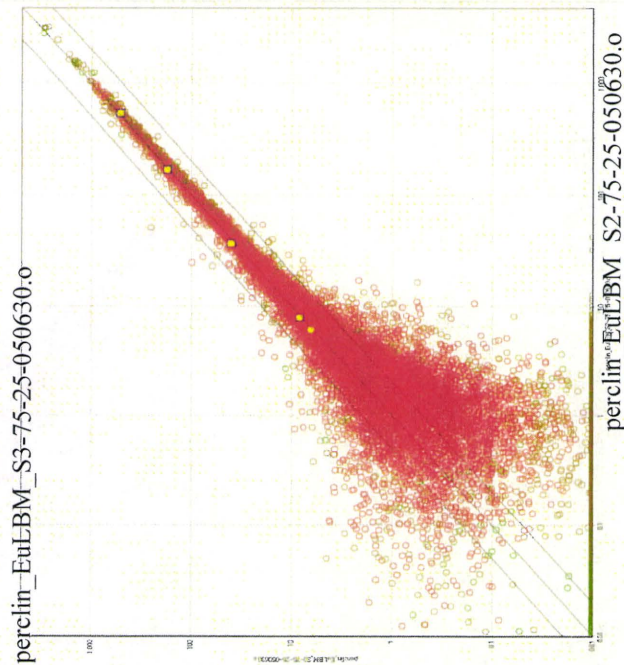
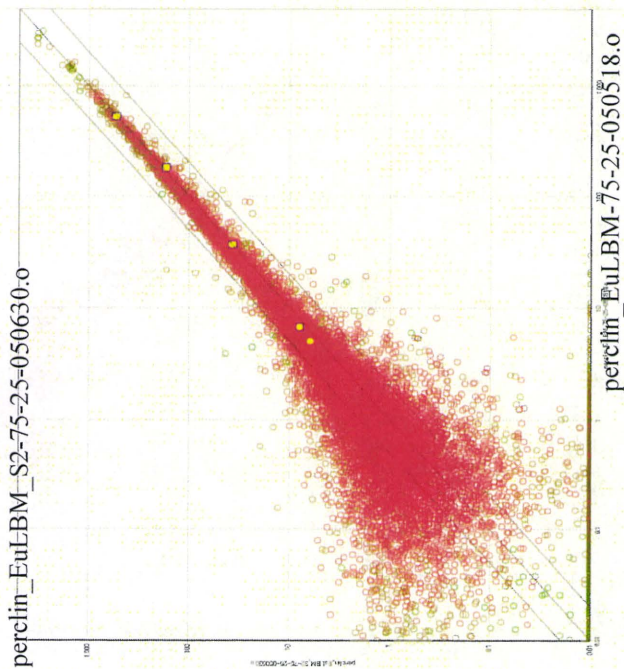


EuLBM-50-50-050518が最も高く、EuLBM_S3-50-50-050630が最も低く出ている。しかし、その差も1コピー以下である

5.係数学習後の補正性能 LBMデータ散布図による確認

Liver-Brain-Mixtureの三重化実験データを用いて、低発現域における偏差を確認した。

Liver25%-Brain75% 三重化データをサイクリックに散布図を作成した

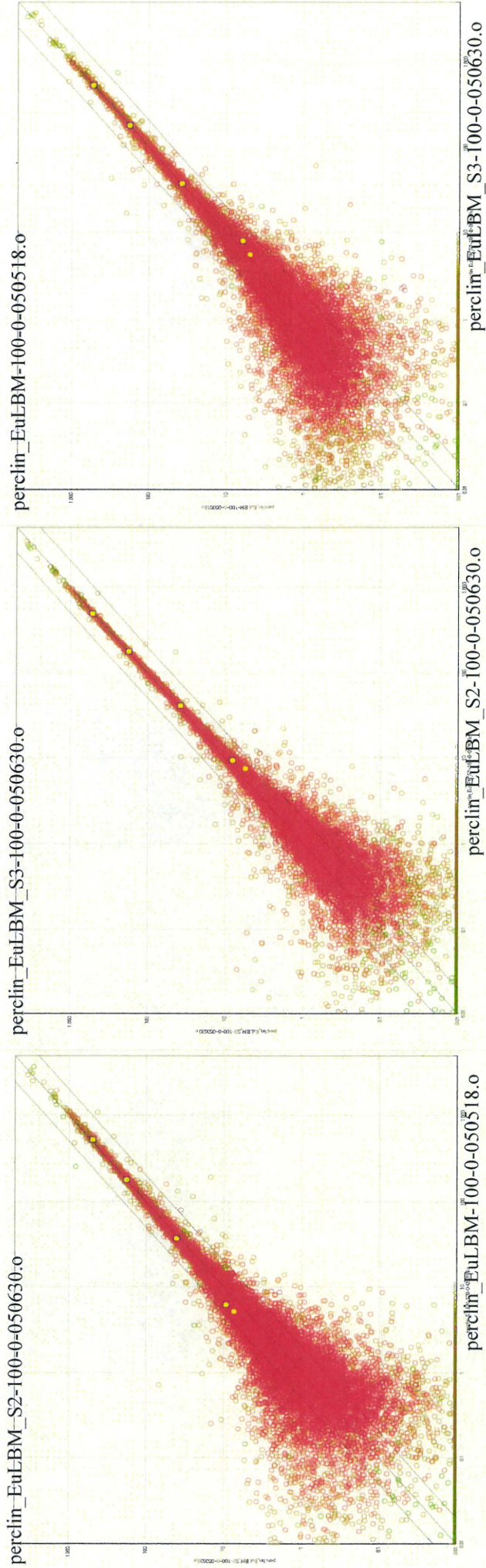


EuLBM_S3-75-25-050630が最も低く出ている。その差は1コピー以下である

5.係数学習後の補正性能 LBMデータ散布図による確認

Liver-Brain-Mixtureの三重化実験データを用いて、低発現域における偏差を確認した。

Liver25%-Brain75% 三重化データをサイクリックに散布図を作成した



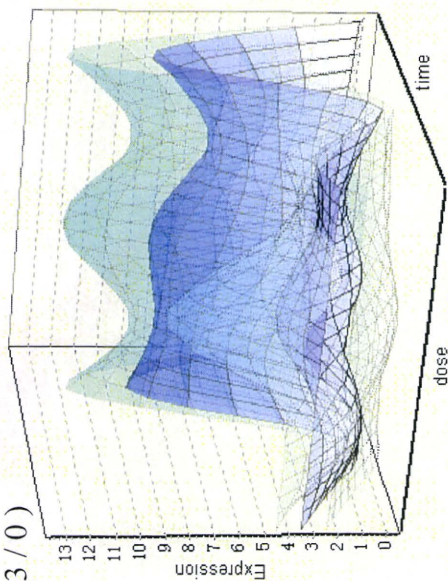
EuLBM_S3-25-75-050518が小さく、EuLBM-100-0-050518が最も大きい、その差は、1コピー以下である

5.係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG/QPCR結果比較

遺伝子Per1の比較

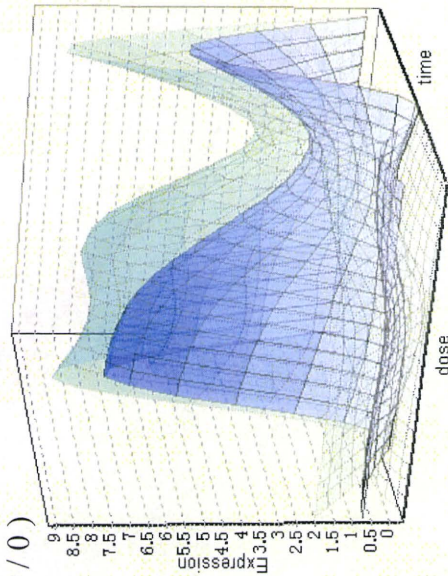
MAS5

TTG020-L_SpNC_0_449851_at
Per1
(13 / 0)



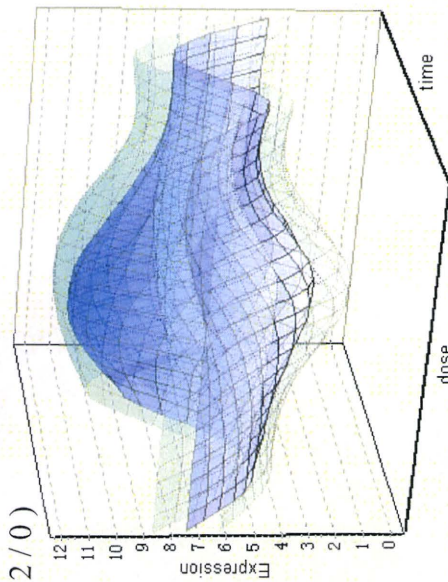
MLANG

perclin_TTG020-L_201410126
Per1
(9 / 0)



QPCR

TTG020-L_QPCR_SpNC_0
Per1
(12 / 0)



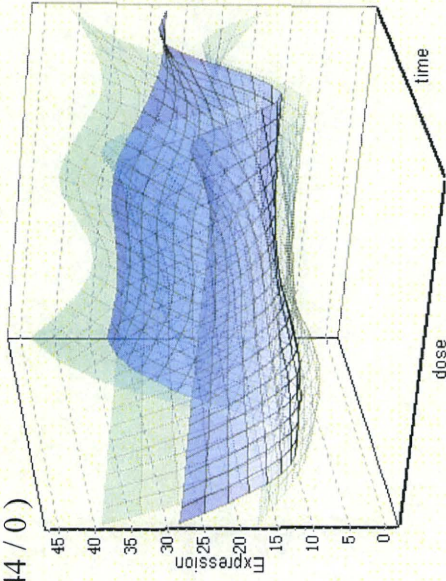
MAS5の2h, Mid-Lowにおける大きな変動は消えたが、QPCRとは異なる動きを示しており、別の遺伝子を観測している可能性がある。

5.係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG/QPCR結果比較

遺伝子Ahrの比較

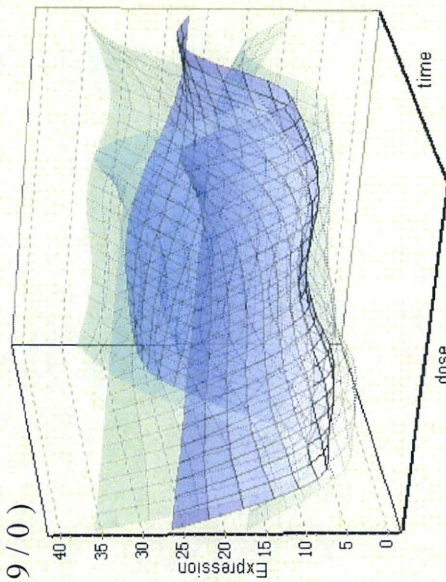
MAS5

TTG020-L_SpNC_0_422631_at
Ahr
(44 / 0)



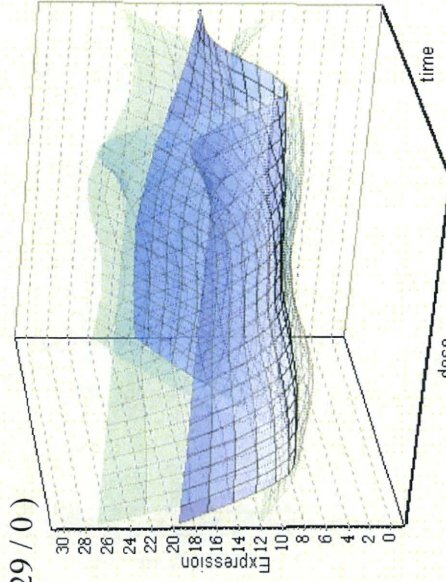
MLANG

perclin_TTG020-L_201410126
Ahr
(39 / 0)



QPCR

TTG020-L_QPCR_SpNC_0
Ahr
(29 / 0)



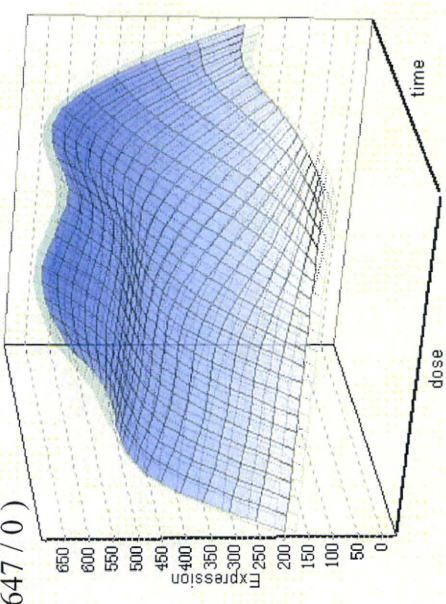
3手法の結果ではほぼ似た形状が得られた。

5.係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG/QPCR結果比較

遺伝子Cyp1a2の比較

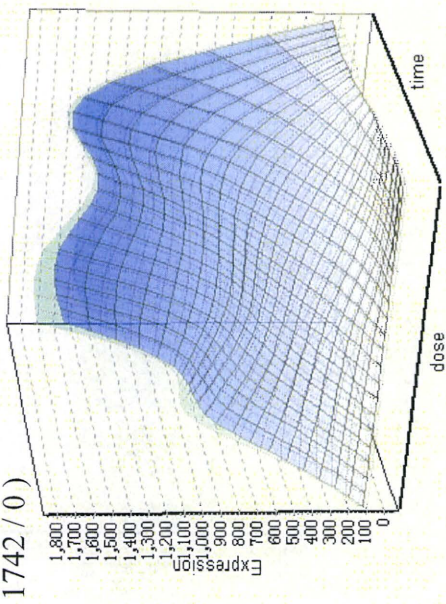
MAS5

TTG020-L_SpNC_0_450715_at
Cyp1a2
(647 / 0)



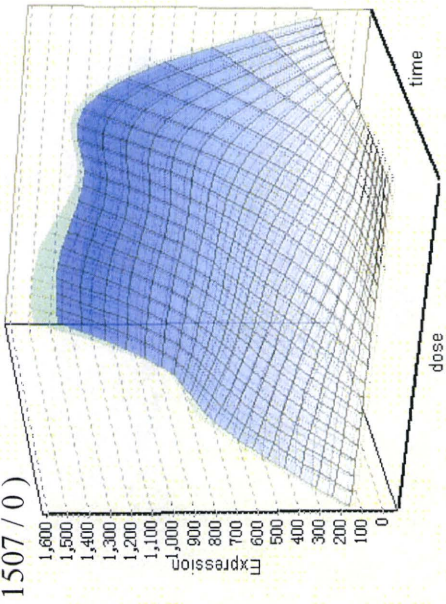
MLANG

perclin_TTG020-L_201110126
Cyp1a2
(1742 / 0)



QPCR

TTG020-L_QPCR_SpNC_0_0
Cyp1a2
(1507 / 0)



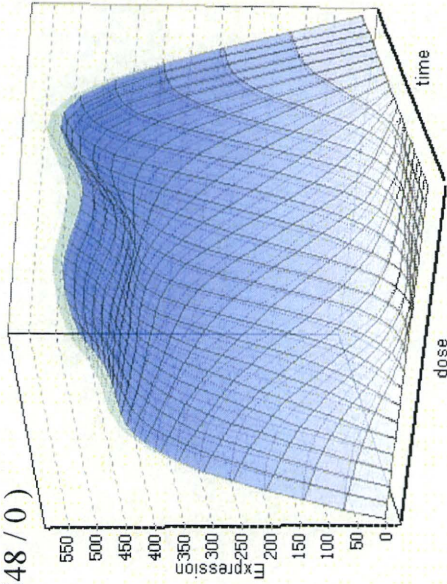
MAS5では、飽和により、8hや24hの形状が分からないが、MLANGは24hまで、mRNAが増加していることまで補正できている。

5.係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG/QPCR結果比較

遺伝子Cyp1a2の比較

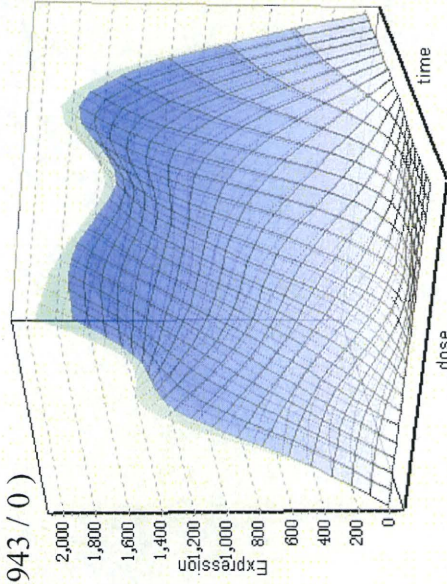
MAS5

TTG020-L_SpNC_0422217_a_at
Cyp1a1
(548 / 0)



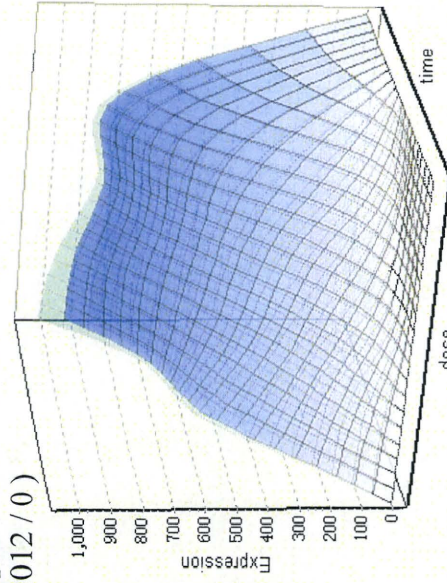
MLANG

percin_TTG020-L_14211414126
Cyp1a1
(1943 / 0)



QPCR

TTG020-L_QPCR_SpNC_0422217_a_at
Cyp1a1
(1012 / 0)

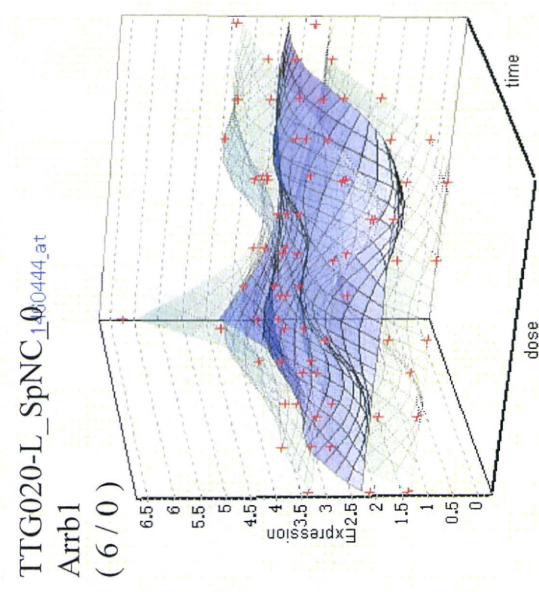


MAS5では、飽和により、8hや24hの形状が分からないが、MLANGは24hまで、mRNAが増加していることまで補正できている。

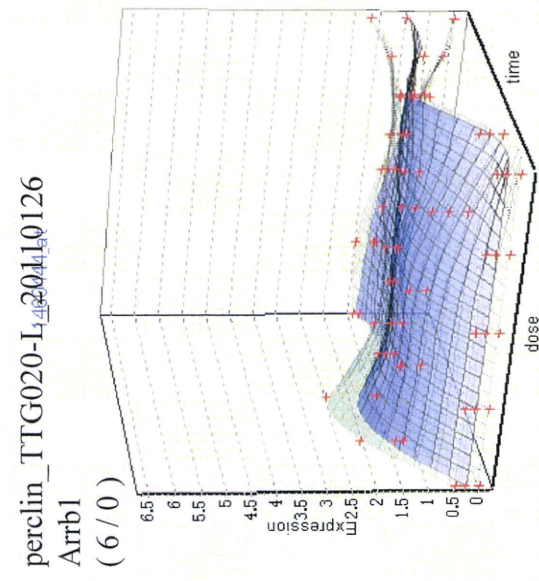
5.係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG結果比較

MAS5/MLANGで異なる変動と思われるプローブセットの例 (1460444_at : Arrb1)

MAS5



MLANG



MAS5では、制御を受けていない変動とみえるが、MLANGではSDが小さく制御を受け
ている変動を示している

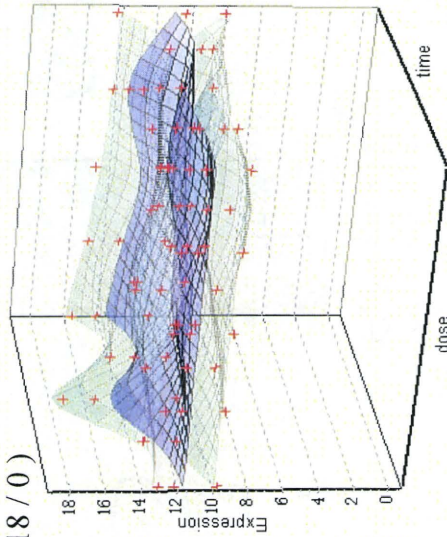
5.係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG結果比較



MAS5/MLANGで異なる変動と思われるプローブセットの例 (1452700_s_at : Kbtbd7)

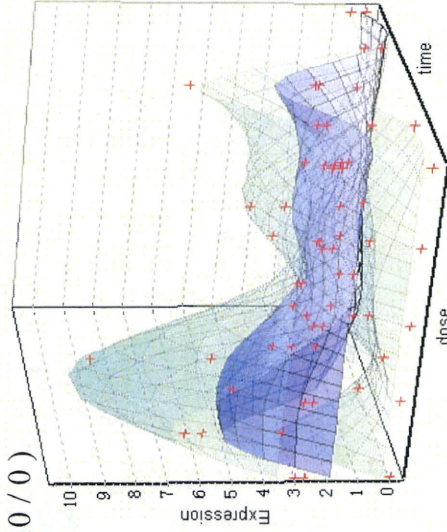
MAS5

TTG020-L_SpNC1452700_s_at
Kbtbd7
(18 / 0)



MLANG

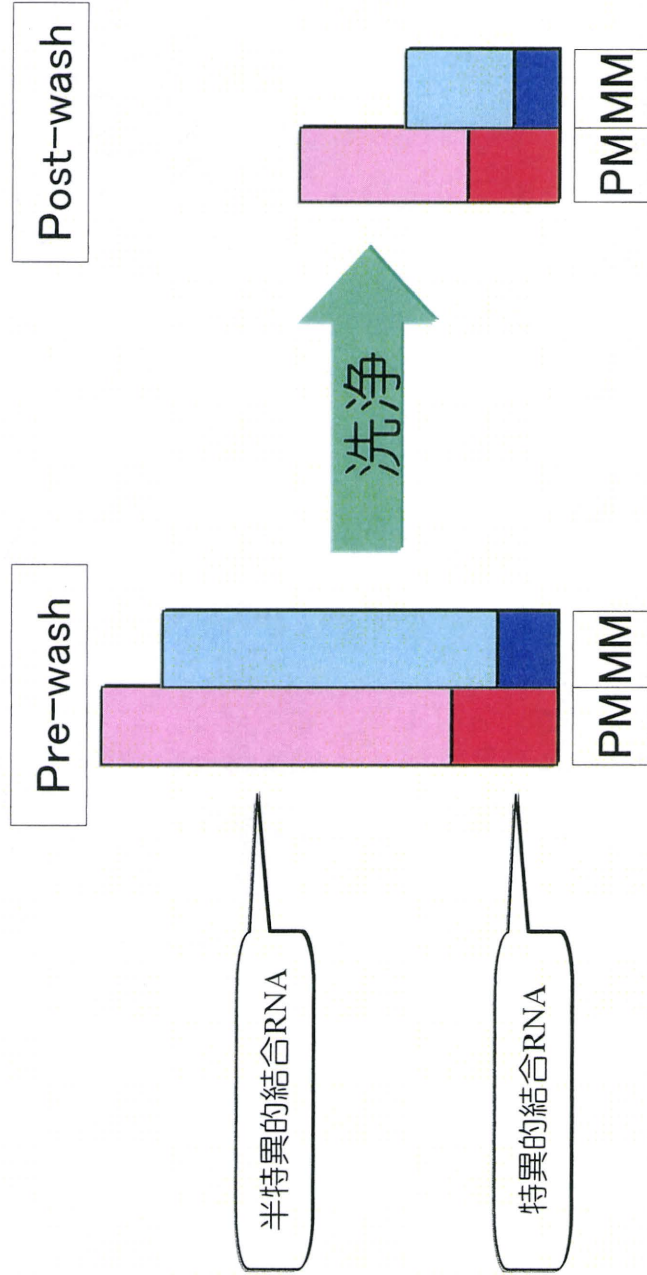
perclin_TTG020-L_452700_s_at
Kbtbd7
(10 / 0)



MAS5では、12コピー程度存在し制御を受けていないようにみえる。MLANGでは、4hでピークを示すサーカディアンらしき変動が存在するようみえる

5.係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG結果比較

1460444_at : Arrb1、1452700_s_at : Kbtbd7の結果を導くと想定される現象



特異的結合RNAと比較して、離脱速度の差異が小さい半特異的結合RNAが多く存在する
場合

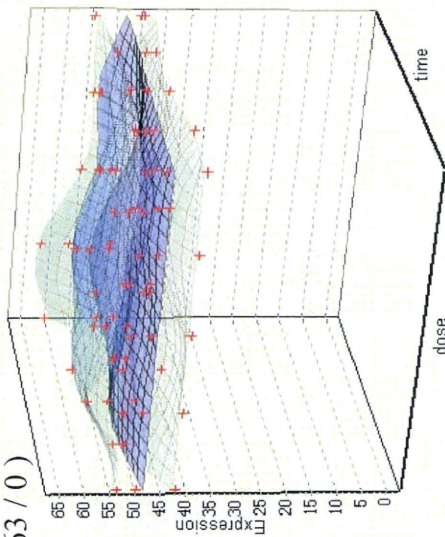
半特異的結合RNAが洗浄されずに蛍光値として観測されるため、MAS5では半特異的結合RNAの発現をプローブセットの発現値としてのみなした可能性がある

5.係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG結果比較

MAS5/MLANGで異なる変動と思われるプロブセットの例 (1460621_x_at : Ywhaq)

MAS5

TTG020-L_SpNC40621_x_at
Ywhaq
(63 / 0)



MLANG

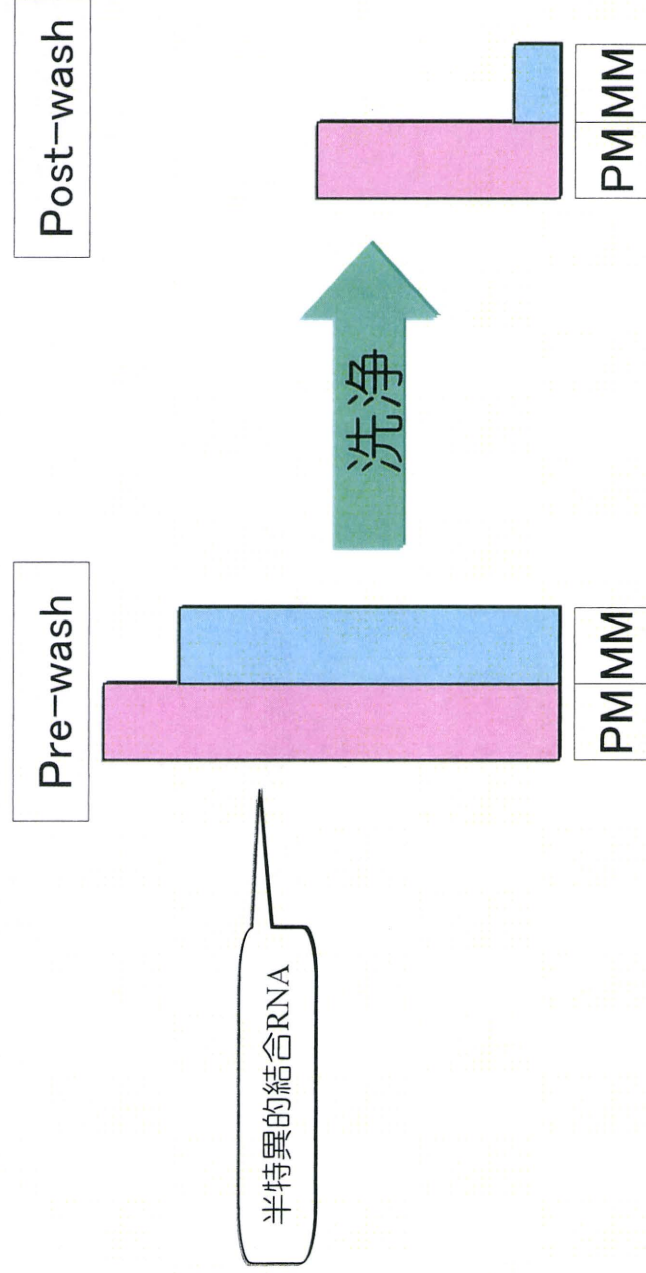
perclin_TTG020-L_20110126
Ywhaq
(63 / 0)



MAS5では、50コピー程度の発現量となっていたが、MLANGでは、発現量0と推定された。

5.係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG結果比較

1460621_x_at : Ywhaqの結果を導くと想定される現象



特異的結合RNAと比較して離脱速度の差異が小さく、濃度の高い半特異的結合RNAが存在し、特異的結合RNAが存在しない場合

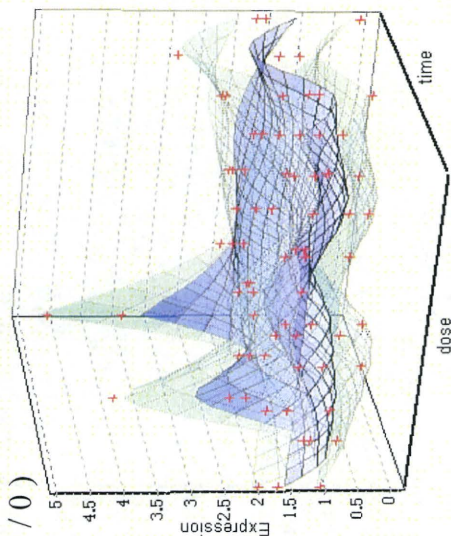
半特異的結合RNAが洗浄で残り蛍光値として観測されるため、MAS5では半特異的結合RNAの蛍光強度をプローブセットの発現値としてみなされた可能性がある

5.係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG結果比較

MAS5/MLANGで異なる変動と思われるプロブセットの例 (1457423_x_at : Nalcn)

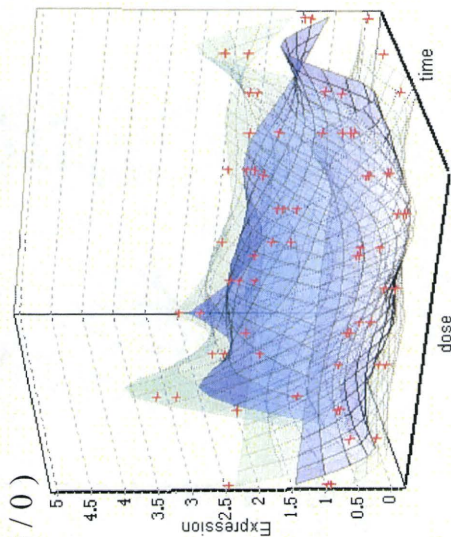
MAS5

TTG020-L_SpNC_107423_at
LOC675405 /// Nalcn
(5 / 0)



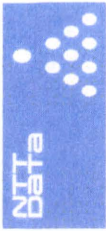
MLANG

perclin_TTG020-L_20110126
LOC675405 /// Nalcn
(5 / 0)



MAS5では、Dose方向での変動が大さいが、MLANGでは、Dose方向での変動が少なく、サーカディアンらしき変動が現れており、化合物の影響を受けない遺伝子として認識できる。

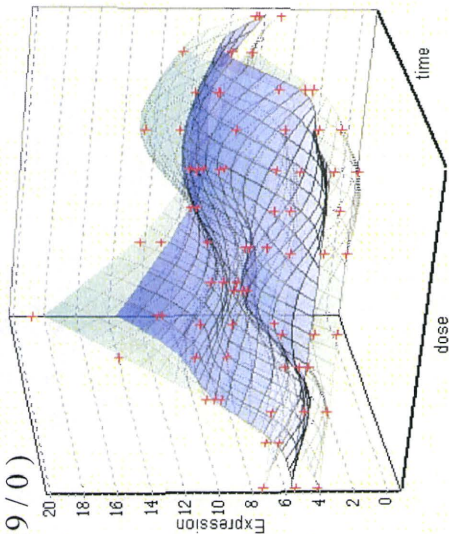
5. 係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG結果比較



MAS5/MLANGで異なる変動と思われるプローブセットの例 (1452291_at : Arap2)

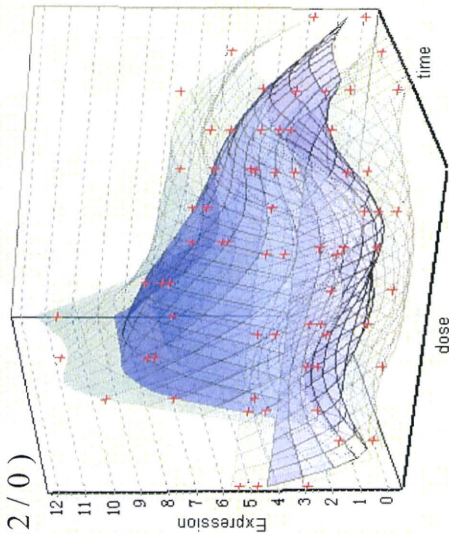
MAS5

TTG020-L_SpNC_1452291_at
Arap2
(19 / 0)



MLANG

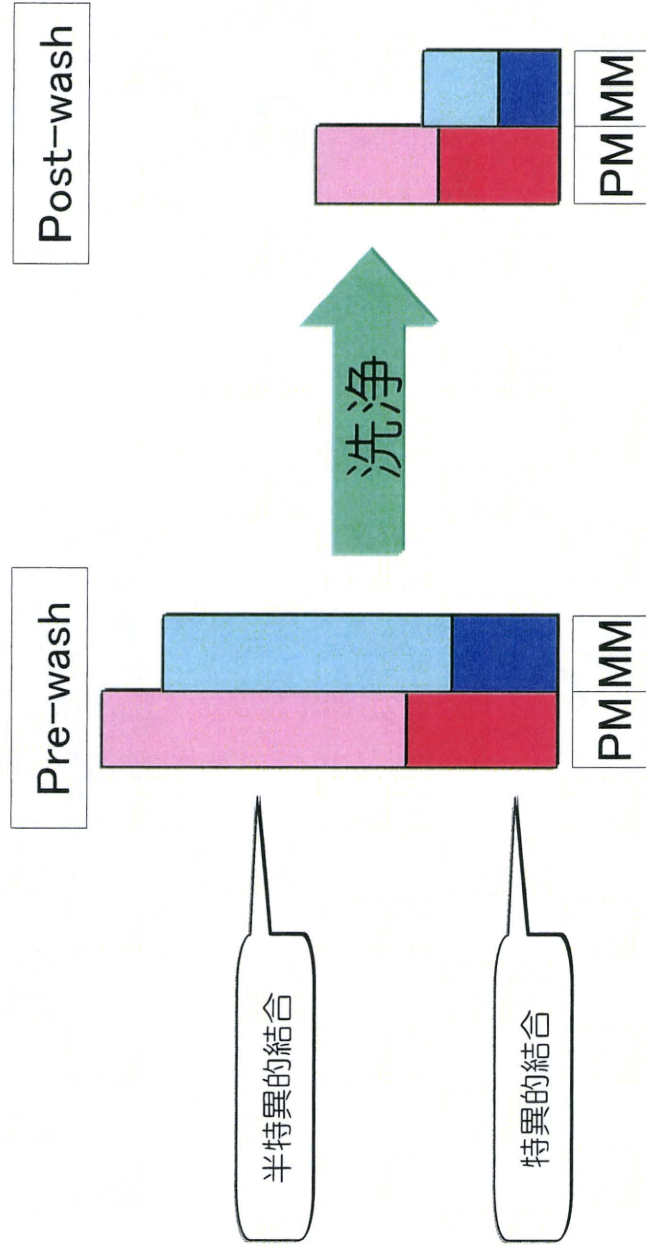
perclin_TTG020-L_1452291_at
Arap2
(12 / 0)



MAS5では、制御を受けていないようにみえる。MLANGでは、化合物の影響により、2h下がりが8hで上がる制御を受けているとみえる

5.係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG結果比較

1457423_x_at : Nalcn、1452291_at : Arap2結果を導くと想定される現象



特異的結合RNAと比較して、離脱速度と濃度のバランスのとれた半特異的結合RNAが存在する場合

洗浄後に、特異的RNAと半特異的RNAが同程度量残ると、PM5では、PM/MMの特異的結合、半特異的結合を区別していないため、MAS5の推定値が若干高く、不安定な結果となる