

# ΕΝΟΠΟΙΗΣΗ /ΣΥΓΧΩΝΕΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ (DATA MERGING)

Γ. Λαλλάς  
Βιολόγος - PhD

III ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ,  
2<sup>ο</sup> Βασικό Σεμινάριο Κυτταρομετρίας Ροής, Γ.Ν.Α. «Γ. Γεννηματάς», 02/02/13

# Τι εννοούμε με τον όρο: “Merge Data”

Σωληνάριο 1 (6χρωμία) – FCS File 1

Σωληνάριο 2 (6χρωμία) – FCS File 2

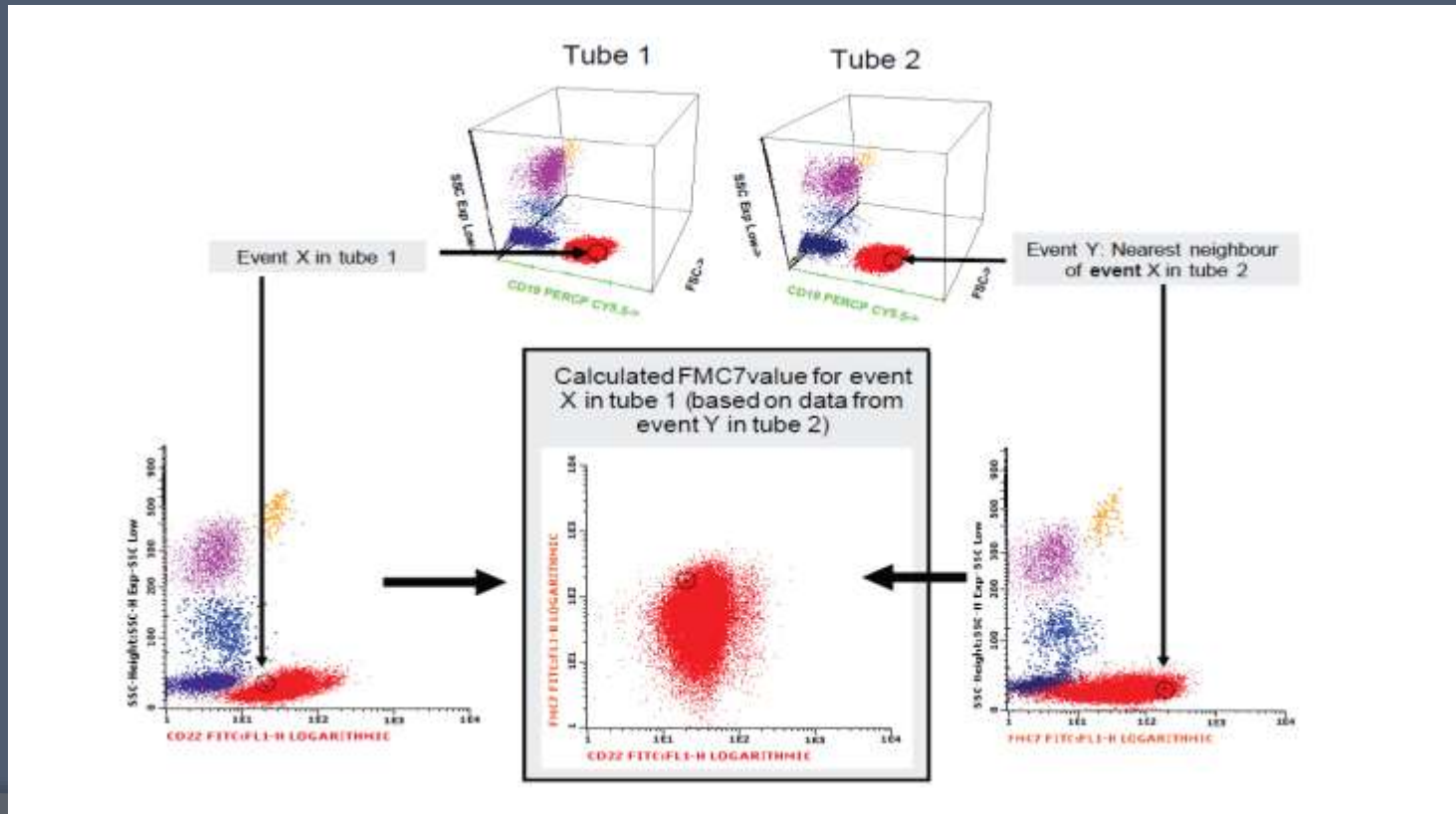
Σωληνάριο 3 (6χρωμία) – FCS File 3



**MERGE FILE:** Ένα αρχείο ανάλυσης το οποίο περιλαμβάνει τα δεδομένα των διαφορετικών σωληναρίων – **ΣΤΟ ΠΑΡΑΠΑΝΩ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΤΟ “MERGE” ΑΡΧΕΙΟ ΚΑΝΕΙ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΠΟΥ ΘΑ ΕΙΧΑΜΕ ΜΕ ΈΝΑΝ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΗΤΗ ΡΟΗΣ 18 ΧΡΩΜΑΤΩΝ!**

# Αρχή “MERGE FILE”

- **ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΠΡΟΤΥΠΟΥ** (pattern recognition) με εφαρμογή του αλγορίθμου *k*-nearest neighbor (*k*-NN) και χρήση υπολογισμού της **ευκλείδειας απόστασης**
- Απαραίτητη η χρήση κοινών δεικτών ανά σωληνάριο
- Αναγνώριση όμοιων κυττάρων με βάση κοινά χαρακτηριστικά (μέγεθος, κοκκίωση, κοινούς δείκτες ανά σωληνάριο, μέση ένταση φθορισμού) μεταξύ των διαφόρων σωληναρίων



# Απαιτήσεις εφαρμογής “merging”

- ⦿ Ύπαρξη κοινών δεικτών σε κάθε σωληνάριο (backbone markers)
- ⦿ Σταθερότητα έκφρασης των κοινών δεικτών
- ⦿ Ομοιομορφία ως προς τον αριθμό των γεγονότων ανάλυσης του πληθυσμού ενδιαφέροντος
- ⦿ Σταθερά “settings” ανά σωληνάριο
- ⦿ Αύξηση αριθμού κοινών δεικτών – μείωση στατιστικού λάθους

# How to merge... / Διαδικασία ενοποίησης

- Επιλογή κοινών δεικτών ανά σωληνάριο
- Οι δείκτες αυτοί πρέπει να προσδιορίζουν τον πληθυσμό ενδιαφέροντος (π.χ Τ κύτταρα, Β κύτταρα, βλάστες κ.α)
- Τρέξιμο και αποθήκευση ξεχωριστών αρχείων
- Επιλογή πληθυσμού ενδιαφέροντος
- MERGE πληθυσμού
- Ανάλυση σε ένα αρχείο

# MERGE 6 διαφορετικών αρχείων

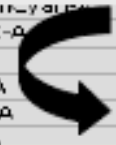
## MERGED & CALCULATED LISTMODE DATA FILE

Parameters\File	Files					
	1	2	3	4	5	6
FSC-A	C	C	C	C	C	C
SSC-A	C	C	C	C	C	C
KAPPA:FITC-A	R	E	E	E	E	E
LAF	R	E	E	E	E	E
CD	R	R	R	R	R	E
CD	C	C	C	C	C	C
IaI	R	E	E	E	E	E
CD	C	C	C	C	C	C
CD	C	C	C	C	C	C
CD79h:PE-A	C	C	C	C	C	C
CD103:FITC-A	E	R	E	E	E	E
CD10:PE-A	E	R	E	E	E	E
CD49:APC-A	E	R	E	E	E	E
CD81:FITC-A	E	E	R	E	E	E
CD79h:PE-A	E	E	R	E	E	E
CD2	E	E	R	E	E	E
CD3	E	E	E	R	E	E
CD6	E	E	E	R	E	E
CXC	E	E	E	R	E	E
CD2	E	E	E	E	R	E
LATF	E	E	E	E	R	E
CD11a:APC-A	E	E	E	E	R	E
CD38:FITC-A	E	E	E	E	R	R
CD25:PE-A	E	E	E	E	E	R
CD138:PerCP-Cy5-5-A	E	E	E	E	E	R

Parameters

6 Files x  
10 parameters x  
100.000 events

1 File x  
25 parameters x  
600.000 events

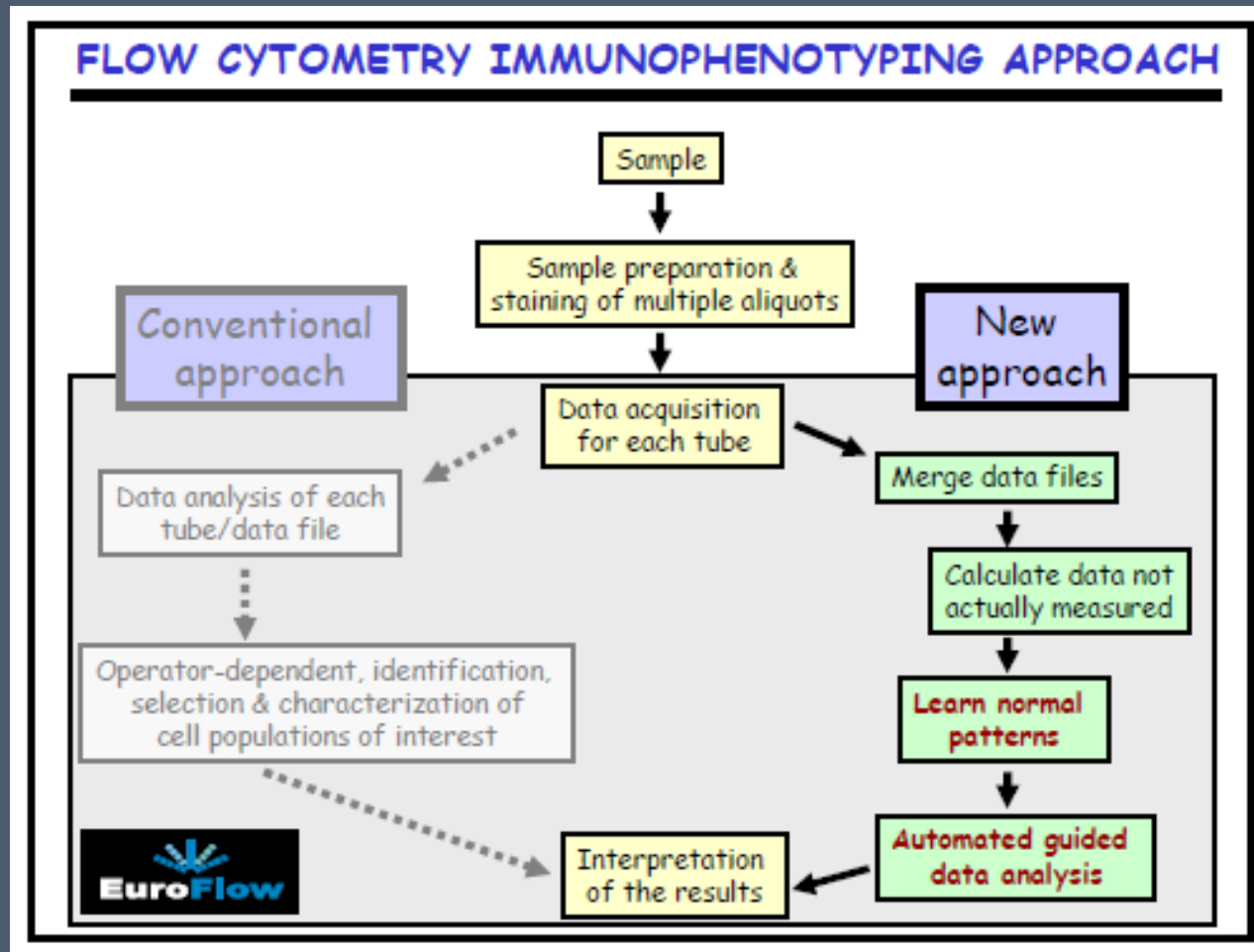


Parameter coding

- C = Common
- R = Measured
- E = Calculated



# Συγχώνευση δεδομένων κατά την ανάλυση του ανοσοφαινοτύπου



# Εφαρμογές

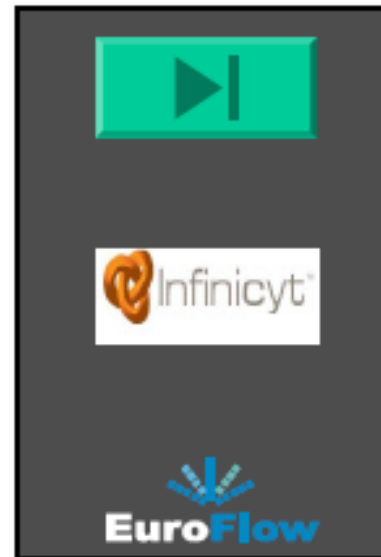
- Σε αρχεία δεδομένων του ίδιου δείγματος παρουσιάζεται ολόκληρος ο ανοσοφαινότυπος ενός δείγματος, ακόμα και εάν αυτός αποτελείται από τα δεδομένα «τρεξίματος» αρκετών σωληναρίων (aliquots), δηλ. όταν απαιτείται η χρήση μεγάλου αριθμού μονοκλωνικών αντισωμάτων
- Σε αρχεία δεδομένων διαφορετικών δειγμάτων παρουσιάζονται τα αρχεία δεδομένων από το «τρέξιμο» διαφορετικών δειγμάτων, δυνατότητα σύγκρισης αποτελεσμάτων, εκτίμηση MRD



# Σε αρχεία δεδομένων του ίδιου δείγματος

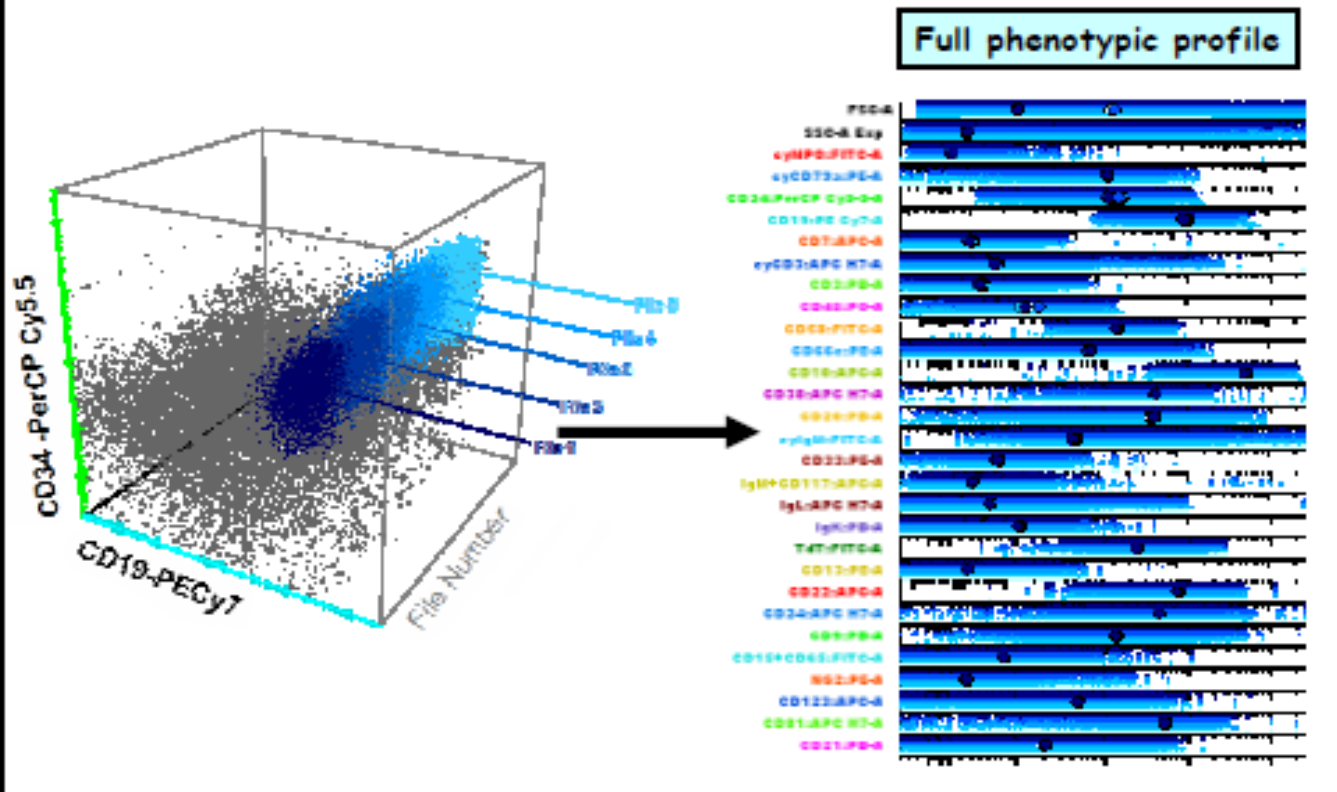
## DATA IN A MERGED DATA FILE

PARAMETER	TUBE No								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
FSC-HEIGHT	C	C	C	C	C	C	C	C	C
SSC-HEIGHT	C	C	C	C	C	C	C	C	C
CD11b-FITC	R								
CD13-PE	R								
CD45-PerCP	C	C	C	C	C	C	C	C	C
CD34-APC	C	C	C	C	C	C	C	C	C
CD2-FITC		R							
CD56-PE		R							
HLADR-FITC			R	R					
CD117-PE			R						
CD123-PE				R					
CD15-FITC					R				
CD16-PE					R				
CD22-FITC						R			
CD25-PE						R			
CD65-FITC							R		
7.1-PE							R		
CD61-FITC								R	
CD33-PE								R	
CD71-FITC									R
Glyphorin-PE									R



# Πλήρης ανοσοφαινότυπος πολλαπλών σωληναρίων σε ένα αρχείο ανάλυσης

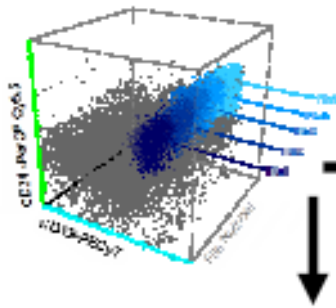
## MERGED DATA FILES FOR SINGLE STEP GATING



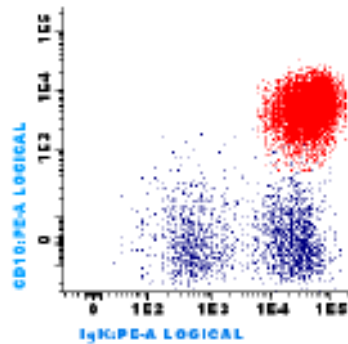
A single gating step for 5 different data files (tubes)

# Ανάλυση δεικτών με κοινό φθοριόχρωμα

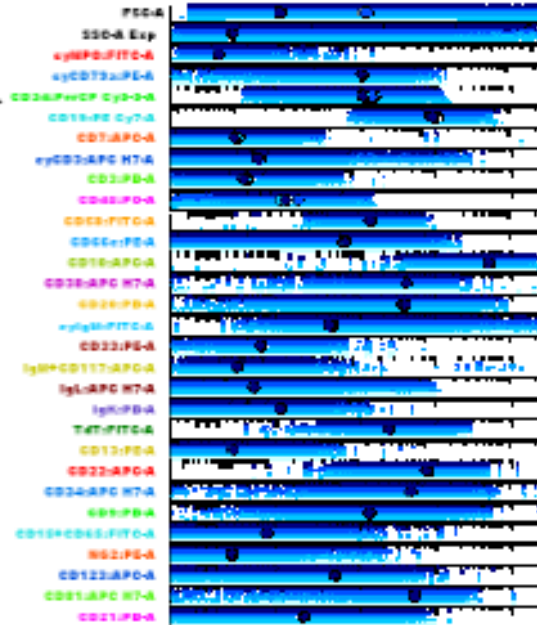
## MERGED AND CALCULATED DATA FILE



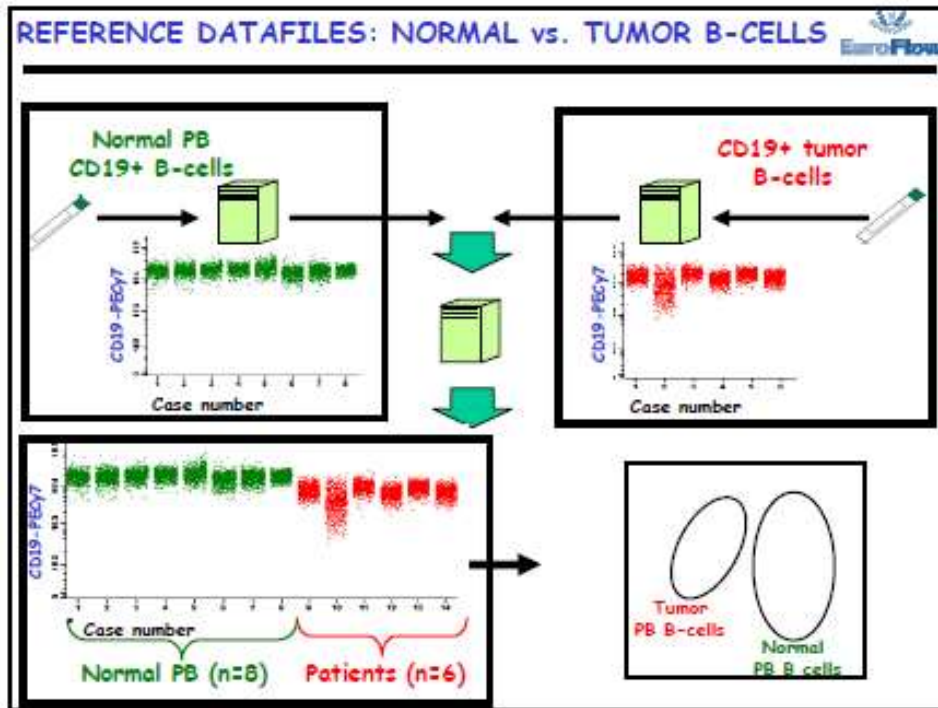
Impossible phenotypic profile



Full phenotypic profile



# Χρήση “MERGING” ΓΙΑ MRD

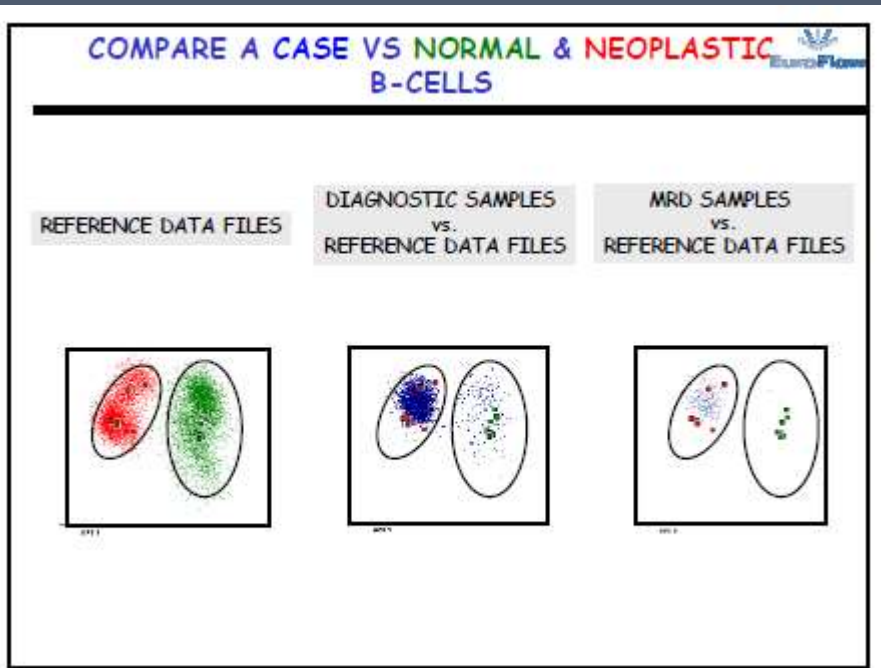


**STEP 1:** Επιλογή δεικτών διαχωρισμού φυσιολογικών / παθολογικών κυττάρων

**STEP 2:** “MERGING” αρχείων φυσιολογικών / παθολογικών κυττάρων

**STEP 3:** Δημιουργία προτύπων αναφοράς

# Χρήση “MERGING” ΓΙΑ MRD



**STEP 4:** Ανάλυση παθολογικού δείγματος με χρήση κοινού συνδυασμού δεικτών

**STEP 5:** Σύγκριση με πρότυπα αρχεία

**STEP 6:** Εκτίμηση MRD

# Software με δυνατότητα “merging”

- Infinicyt
- Kaluza® Analysis Software
- FlowJo
- De Novo Software FCS Express

**Σας ευχαριστώ  
για την προσοχή σας!**