
Gel-Pro Analyzer[®]

Version 4.5 for Windows[™]

スタートアップマニュアル

Media Cybernetics, Inc.
8484 Georgia Avenue, Suite 200
Silver Spring, MD 20910
(301) 495-3305, FAX (301) 495-5964 (米国)
<http://www.mediacy.com>
MAN GEL 50N45 2003j



株式会社 日本ローパー
メディアサイバネティクス事業部

本社

〒135-0033 東京都江東区深川 2-8-19 サクライビル 3F
TEL 03-5639-2751 FAX 03-5639-2774

大阪営業所

〒567-0082 大阪府豊中市新千里東町 1-4-2
千里ライフサイエンスセンタービル 9F
TEL 066-155-0181 FAX 066-6155-0188

Homepage: <http://www.planetron.co.jp>

著作権について

Copyright 1995–2006 Media Cybernetics, Inc.

All Rights Reserved

(著作権法により、本製品に関するあらゆる権利は保護されています。)

マニュアル翻訳、作成、日本語版著作権

(株)日本ローパー メディアサイバネティクス事業部

〒135-0033 東京都江東区深川2-8-19サクライビル3F

本書の内容を無断で複製、転載することは原著作者および日本語版著作者の権利の侵害となります。

商標、登録商標について

Gel-Pro, Image-Pro, Image-Pro Plus, Image-Pro Express, Auto-Pro, Array-Pro, Materials-Pro, Scope-Pro, Fluoro-Pro, Stage-Pro, AFA, SharpStack, 3D Constructor, IQBase, IQstudio, HALO Image File Format Library, Dr. HALO, HALO, HALO DPE, HALO F/X, HALO Desktop Imagerは、Media Cybernetics, Inc. の登録商標です。

本書に記載されているその他の商標、登録商標は、対応する各会社が所有する商標や登録商標です。

目次

注記：Gel-Pro Analyzer の動作環境とインストール方法については、別紙の「インストール手順」をご覧ください。

第1章 さあ、始めましょう.....	1-1
はじめに	1-1
Gel-Pro Analyzer を起動する.....	1-1
Gel-Pro Analyzer のアプリケーションウィンドウとツール	1-1
タイトルバー.....	1-2
メニューバー.....	1-2
ツールバー.....	1-3
ステータスバー.....	1-8
画像ウィンドウ	1-8
ダイアログボックスのチェックボタン.....	1-9
ツールパレット	1-10
Gel-Pro Analyzer を終了する.....	1-11
第2章 1次元ゲルの解析.....	2-1
測定内容.....	2-1
解析画像の要件.....	2-1
操作の概要.....	2-2
2.1 実験データの入力	2-3
2.2 画像を開く/画像の前処理.....	2-5
2.3 測定領域の限定ーレーン・バンドの検出.....	2-7
2.4 定量.....	2-15
2.4.1 分子量 (Molecular Weight) の測定.....	2-15
2.4.1.1 分子量スタンダードによる較正.....	2-16
2.4.1.2 スマイリング補正 (Slant)	2-20
2.4.1.3 分子量の算出.....	2-23
2.4.2 質量 (Amount) の測定.....	2-27
2.4.2.1 バックグラウンドの補正.....	2-27
2.4.2.2 アプライ量による較正	2-33

2.4.2.3 較正曲線による較正	2-36
2.4.3 積分光学濃度 (IOD) の測定	2-42
2.4.4 相対量の算出	2-43
2.4.5 レーンプロファイル	2-46
2.4.6 表示オプションを使用する	2-50
2.5 測定結果を外部へ出力する	2-57
2.6 データベース	2-63
2.6.1 データベースに測定結果を保存する	2-63
2.6.2 データベースから測定結果を開く	2-65
第3章 ドットプロットの解析	3-1
測定内容	3-1
解析画像の要件	3-1
操作の概要	3-1
3.1 実験データの入力	3-2
3.2 画像を開く/画像の前処理	3-4
3.3 測定領域の限定—ドットの検出	3-6
3.4 ドットの質量の較正	3-15
3.5 定量—測定結果(質量/IOD/相対量)の算出	3-19
3.5.1 質量(マス)の算出	3-19
3.5.2 積分光学濃度 (IOD) の算出	3-21
3.5.3 相対量の算出	3-22
3.6 データベースに測定結果を保存する	3-26
第4章 コロニーカウンティング	4-1
測定内容	4-1
解析画像の要件と操作の概要	4-1
4.1 実験データの入力	4-2
4.2 画像を開く	4-4
4.3 オプションの設定	4-5
4.4 画像を平坦化する	4-9
4.5 測定範囲を限定する	4-10

4.6 画像を2値化してコロニーを抽出する	4-11
4.7 自動カウントを実行し、測定結果を表示する	4-12
4.8 データベースに測定結果を保存する	4-15
第5章 濃度の測定	5-1
測定内容	5-1
解析画像の要件と操作の概要	5-1
5.1 実験データの入力	5-2
5.2 画像を開く	5-4
5.3 濃度の較正を行なう	5-5
5.4 測定領域をトレースし、測定を実行する	5-6
5.5 データベースに測定結果を保存する	5-11
付録A その他のツール	A-1
ツールバー	A-1
AOI(対象領域: Area of Interest)ツール	A-2
その他のコマンドツールボタン	A-3
メニューバー	A-5
ステータスバー	A-6
単一フレームボタンと複数フレームボタン	A-7
ファンクションキー	A-7
AOIに関する解説	A-8
矩形AOIツール	A-9
楕円AOIツール	A-10
自由曲線AOIツール	A-11
Traceツールで自由曲線AOIを定義する方法	A-11
Magic Wandツールで自由曲線AOIを定義する方法	A-15
外接四角形について	A-17
付録B 画像をスキャナで取り込む	B-1
TWAINスキャナから画像を取り込む手順	B-1

付録C 空間較正	C-1
寸法の較正(単位当たりピクセル数) – 操作手順	C-2
付録D 21 CFR Part 11対応機能	D-1
Audit Trail (コマンドログ)オプション	D-1
Image Info Overlay (画像情報を重ね表示)	D-2
索引	索引-1
ライセンスについて.....	ライセンス-1

第1章 さあ、始めましょう

Gel-Pro Analyzer のご採用を有り難うございます。本章では、Gel-Pro Analyzerが備えるツールのうち、頻繁に使用されるものをご紹介します。

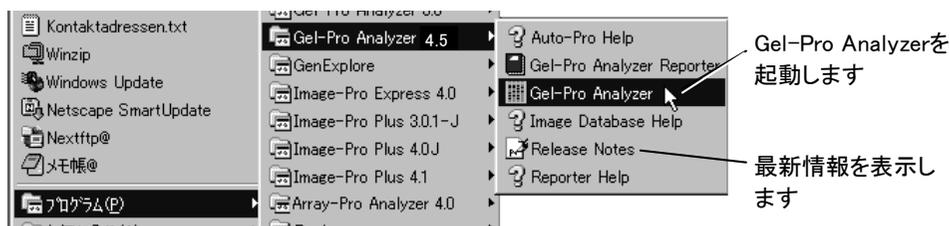
はじめに

本スタートアップマニュアルは、Gel-Pro Analyzer の基本的な使用法について解説したものです。必ず最後までお読みの上、Gel-Pro Analyzer で実際に操作練習を行なって下さい。

Gel-Pro Analyzer の各コマンドについての詳しい説明は、製品に付属の英文マニュアルと、Help(ヘルプ)メニューの Gel-Pro コマンドで表示されるオンラインヘルプ(英文)もご覧下さい。

Gel-Pro Analyzer を起動する

注記: 起動する前に、「スタート」-「プログラム」-「Gel-Pro Analyzer 4.5」にある「Release Notes」(英文)を必ずお読み下さい。「Release Notes」には、製品に関する最新情報や、マニュアルに記載されていない情報が記載されています。



Windowsの「スタート」ボタンから「プログラム」-「Gel-Pro Analyzer 4.5」-「Gel-Pro Analyzer」の順にクリックすると Gel-Pro Analyzer が起動し、次ページ図のアプリケーションウィンドウが開きます。

Gel-Pro Analyzer のアプリケーションウィンドウとツール

Gel-Pro Analyzerを起動すると、Gel-Pro Analyzer のアプリケーションウィンドウが開きます。アプリケーションウィンドウには、タイトルバー、メニューバー、ステータスバー、ツールバー、ツールパレットがあります。次ページの図は、Gel-Pro Analyzerのアプリケーションウィンドウが装備するツールと、他の機能を示しています。以下、この章では、解析に必要な主な機能のみを紹介します。他のツールについては、「付録A その他のツール」(A-1ページ)をご参照下さい。



画像情報/操作ヘルプ カーソル位置/輝度 画像サイズ 較正データ 空きメモリ

注記:本マニュアルでは、Windows 98の画面イラストを使って操作を解説しています。Windows Me/NT4.0/2000/XPでは、画面表示や操作が若干異なることがあります。

▼ タイトルバー

タイトルバーは、プログラム名(“Gel-Pro Analyzer”)を表示します。画面上に画像ウィンドウが開いているときは、プログラム名の右隣に、現在アクティブになっている画像ファイルの名前が表示されます。

タイトルバーには、このほかWindowsアプリケーションに共通な  (最大表示ボタン)、 (最小表示ボタン)、 (クローズボタン)の各ボタンもあります。Gel-Pro Analyzerがアクティブになっているときは、タイトルバーが強調表示になります。

▼ メニューバー

アプリケーションウィンドウの上部にあるメニューバーには、Gel-Pro Analyzerのメニューが表示されます。

File Edit Acquire 1D-Gels Dot-Blots Tools Macro Window Help

メニューをクリックするとその下にコマンドの一覧が表示され、コマンドをクリックすることで画像処理・解析等を実行できます。メニュー内の各コマンドについて詳しくは、Help

(ヘルプ)メニューの Gel-Pro コマンドで表示されるオンラインヘルプ(英文)をご覧ください。

▼ ツールバー

画面上部にあるツールバーには、Gel-Pro Analyzerの各コマンドをアイコンの形で表示コマンドツールボタン(下図)が並んでいます。これらのボタンをクリックすると、メニューを開かずに、直接 Gel-Pro Analyzerのコマンドを実行することができます。



解析で使用する主なコマンドツールボタンの機能は、以下の通りです。他のコマンドツールについては、「付録A その他のツール」(A-3 ページ)をご参照下さい。

- AOI (対象領域: Area of Interest) ツール:

「AOI」ツールは、画像処理・計測の対象を画像内の特定領域のみに限定するとき 사용됩니다。例えば、画像にノイズが多く、Gel-Pro Analyzer のレーン・バンド自動検出機能が正しく動作しない時は、予め画像内の測定対象領域のみをAOIで囲ってから自動検出を実行する必要があります。



作成するAOIの形状によっていくつかのAOIツールがありますが、Gel-Pro Analyzer の解析で使用する主な「AOI」ツールは、NEW AOI (新規AOI) ツールと矩形AOI ツールです。他の「AOI」ツールについては、「付録A その他のツール」の「AOIに関する解説」(A-8 ページ)を参照して下さい。



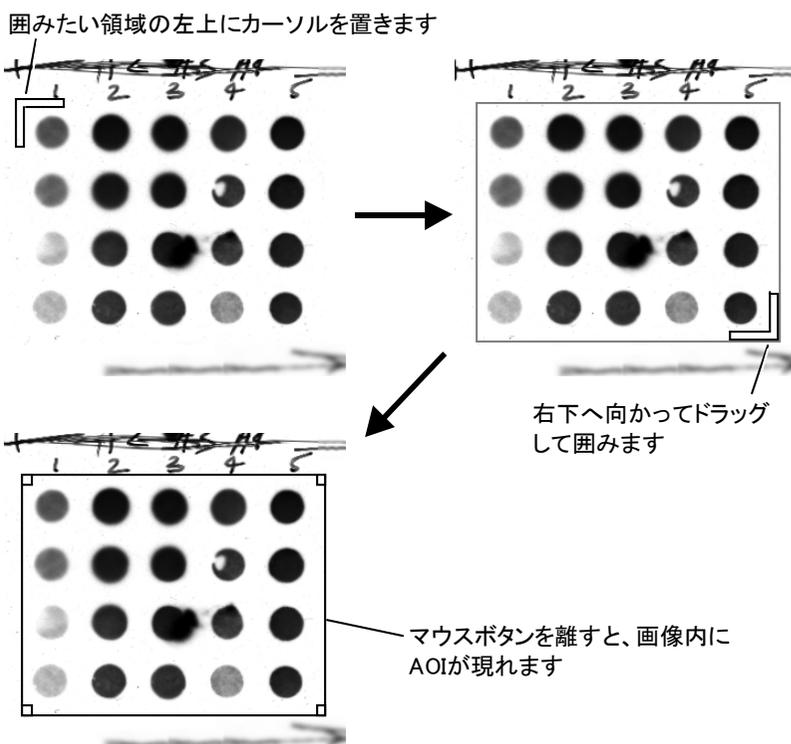
「NEW AOI」(新規AOI) ボタン: 画像内に既にAOIがあればそれを解除し、新規AOIの作成用カーソルを表示します。例えば画像内にはすでにアクティブな矩形AOIが存在しているが、それを捨てて別の矩形AOIを作成したい、という場合にこのボタンをクリックします。クリックすると古いAOIが画面からクリアされ、矩形AOI作成用カーソルが表示されて、新規のAOIを作成できるようになります。



「矩形AOI」 ボタン: このツールを使用すると、画像内に矩形、つまり四角形のAOIを新規作成したり、既に画像内に存在している矩形AOIをアクティブにすることができます。使用するには、このボタンをクリックして選択して下さい。選択中は、ボタンがアクティブになります。

このツールは、画像内に既に矩形AOIが存在している場合とない場合とで、動作の仕方が変わります。

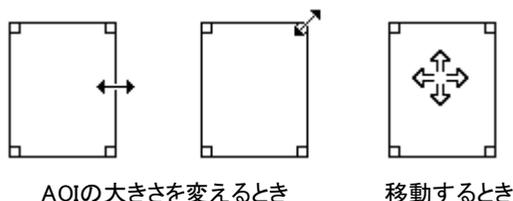
- 画像内に既に矩形AOIが存在している場合は、矩形AOI ボタンを選択すると、そのAOIがアクティブになります（そのAOIが画像内に現れます）。新規の矩形AOIを作成したいときは、矩形AOI ボタンを選択した後、NEW AOI（新規AOI）ボタン（）をクリックして下さい。これで現在のAOIが削除され、矩形AOI作成用カーソル（）が表示されて新規のAOIを作成できるようになります。
- 画像内に矩形AOIが存在していない場合は、矩形AOI作成用カーソル（）が表示されます。このカーソルを、AOIで囲みたい領域の左上に置き、領域の右下までドラッグしてから、マウスボタンを離します。



注記：[Shift]キーを押しながらドラッグすると、正方形の矩形AOIができます。

作成した矩形が、AOIとなって画像中に現れます。矩形AOIが画像内でアクティブになっているときは、その大きさと位置を変更できます。

AOIの大きさを変えるには、カーソルをAOIの端ないしコーナーに置き、二方向カーソルが表示されたらドラッグして下さい。AOI全体を移動するには、カーソルを矩形AOIの中央に置き、四方向カーソルが表示されたらドラッグして下さい。



- **ズームツール・パンツール:**

ズームツールとパンツールは、画像の表示を拡大・縮小したり、全体を画面に表示しきれない、大きい画像をスクロールするときに使います。



 「ズームツール」ボタン:ズームツールは、ウィンドウ内の画像表示を拡大、縮小するのに使います。

- 画像の表示サイズを拡大する:ズームツールをクリックして選択し、カーソルを画像内に入れます(カーソルが虫メガネ形になります)。左マウスボタンをクリックすると拡大します。最大で1600%まで拡大できます。
- 画像の表示サイズを縮小する:ズームツールをクリックして選択し、[Shift]キーを押しながら画像内を左マウスボタンをクリックすると、縮小します。クリックする毎に画像の表示サイズが1/2になります。画像が元のサイズの10%になるまで縮小できます。

注記:

- 拡大・縮小は、画像を右マウスボタンでクリックすると表示されるポップアップメニューのズームコマンドでも行なえます。このコマンドを使用すると、拡大、縮小および特定倍率へのズームが可能です。
- 特定の解析ツールが動作している時は、ズームツールを使用できないことがあります。
- ズームツールは、解像度に関して画像の実サイズを変更するものではありません。単に画像の表示サイズを拡大、縮小するだけです。

画像の解像度を変えて、画像の実サイズを変更するときは Edit (編集)メニューの Resize (サイズ変更)コマンドを使用します。詳しくは、

オンラインヘルプの「キーワード」から Resize (サイズ変更)コマンドの項を開いてご参照下さい。



「パンツール」ボタン: パンツールは、画像ウィンドウ内に収まりきらない画像をスクロールするもので、スクロールバーと似た機能です。

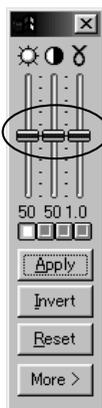
パンツールボタンをクリックするとカーソルが手の形に変わりますので、画像をたぐりよせるようにドラッグして下さい。ドラッグした方向にスクロールします。

- コントラスト強調ツール・BCGつまみ:

以下のツールは、画像内に写っている解析対象物(レーン、バンド、ドットやコロニーなど)と背景とのコントラストを強調し、計測・解析を容易にするためのものです。以下のツールを呼び出すには、画面上に画像が開いている状態で、コントラスト強調ボタン(🔍)をクリックします[あるいは Edit (編集)メニューの Contrast Enhancement (コントラスト強調)コマンドを実行します]。



「コントラスト強調」ボタン: このボタンは、BCGつまみとコントラスト強調ツールを表示します。



「BCGつまみ」: このつまみを使うと、現在アクティブな画像の輝度値、コントラスト値、ガンマ補正値を簡単に調節できます。

BCGつまみ(スライダ)

スケール上のつまみ(スライダ)を上へ動かすと設定値が増加し、下へ動かすと減少します。

注記: BCGつまみを動かすと画像が変化しますが、これは画像の表示をルックアップテーブル(ピクセル値を変換するテーブル)で変化させているだけで、画像内の各ピクセルが持つ値は変更されません。BCGつまみの設定を画像のピクセル値に反映したいときは、つまみの下にある Apply (適用) ボタン(下記参照)をクリックします。



「輝度つまみ」(B: Brightness): 画像内の全体的な光量を変更します。



「コントラストつまみ」(C: Contrast): 画像内の「最も明るい部分」対「最も暗い部分」のコントラストを変更します。



「ガンマ補正つまみ」(G: Gamma): 画像内の「非常に暗い領域」や「非常に明るい領域」のコントラストを改善します。

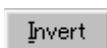


「色成分選択」ボタン: カラー画像のコントラストをBCGつまみで調整するとき、色成分(カラーチャンネル)を選択するボタンです。左から順に輝度、R(赤)、G(緑)、B(青)の各チャンネルを選択します。BCGつまみで調整を行なう前に、あらかじめいずれかのボタンをクリックして、調整する色成分を指定します。

注記: 色成分選択ボタンはグレイスケール画像では使用できません。グレイスケール画像で調節できるのは輝度のみです。



「適用」ボタン: BCGつまみで画質改善を行なった後でこのボタンをクリックすると、その設定を実際に画像内のピクセル値に反映します。画質を改善した状態で画像の印刷・保存を行なう時に使います。



「反転」ボタン: 画像の反転を行なうボタンです。グレイスケール画像の場合は白黒が反転し、カラー画像の場合は反対色の表示になります。このボタンの機能は Edit (編集)メニューの Invert Contrast (コントラストを反転する)コマンドと同じです。



「リセット」ボタン: BCGつまみで行なった調整をリセットします。このボタンの機能は Edit (編集)メニューの Reset Contrast (コントラストをリセットする)コマンドと同じです。

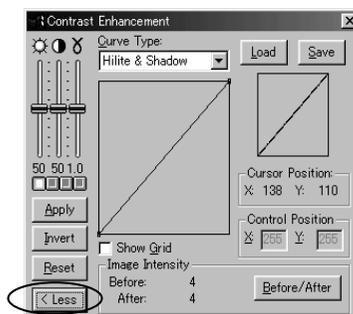
注記: 一旦 Apply (適用)ボタンで画像に書き込んだ設定値をリセットするには、書き込んだ直後に Edit (編集)メニューの Undo (アンドウ)コマンドを使用して下さい。



More> (詳細設定)ボタン: このボタンをクリックすると、BCGつまみの右側に Contrast Enhancement (コントラスト強調)ダイアログボックスが表示され、カラーマップを使用してコントラストを細かく調整することができます。

このボタンの機能は Edit (編集)メニューの Contrast Enhancement (コントラスト強調) コマンドと同じです。

詳細は、オンラインヘルプの「キーワード」から Contrast Enhancement (コントラスト強調) コマンドの項を開いてご覧下さい。



注記: Contrast Enhancement ダイアログボックスが開いている間、More> (詳細設定)ボタンは <Less (簡易設定)ボタンに変わっています(上図)。<Less ボタンをクリックすると、Contrast Enhancement ダイアログボックスが元の大きさに戻ります。



「最適合わせ込み」ボタン: 画像のコントラストを自動的に最適化します。詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から Best Contrast(コントラスト最適化)の項を開いてご覧下さい。



「コントラストをリセット」ボタン: コントラスト設定をリセットして、画像を元の状態に戻します。詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から Reset Contrast (コントラストをリセットする)の項を開いてご覧下さい。

▼ ステータスバー

画面下部にあるステータスバーには、画面に表示中の画像、カーソルの位置とピクセルの値、処理の進行状況等の各種情報が表示されます。詳細は「付録A その他のツール」の「ステータスバー」の項(A-6ページ)を参照して下さい。



▼ 画像ウィンドウ

画像は、アプリケーションエリア内にある画像ウィンドウに表示されます。画像ウィンドウには、画像ファイルが入っています。通常の場合、Gel-Pro Analyzer が処理を実行する対象となるのは、アクティブな画像ウィンドウのみです。

アクティブなウィンドウは、アプリケーションエリア内で一番上に表示され、タイトルバーが強調表示されています。アクティブでないウィンドウをアクティブにするには、そのウィンドウにカーソルを当ててマウスボタンをクリックします。

画像ウィンドウには、このほかにも最大表示ボタン()、最小表示ボタン()、クローズボタン()、および専用のコントロールメニューと右マウスクリックで表示されるコンテキストメニューがあります。

- 画像ウィンドウのコントロールメニュー:

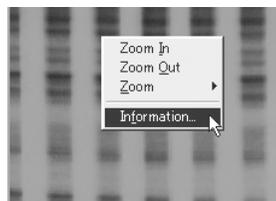
画像ウィンドウの左上にあるアイコンを1回クリックするとコントロールメニューが表示され、ウィンドウを最大・最小表示する、ウィンドウを閉じる、ウィンドウを切り替える等の操作を行なうコマンドが表示されます。



- 画像ウィンドウのコンテキストメニュー:

マウскарソルを画像内の任意の位置に置いた状態で右マウスボタンをクリックすると、Gel-Pro Analyzer 固有のコマンドを含むメニューが表示されます。

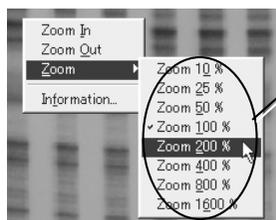
このメニューのコマンド (右図) は、現在アクティブな画像の拡大・縮小、および画像についての情報の表示に使用します。



- Zoom In (拡大): このコマンドは、ウィンドウ内の画像の表示を現在の2倍に拡大します。

- Zoom Out (縮小): このコマンドは、ウィンドウ内の画像の表示を現在の1/2に縮小します。

- Zoom (ズーム): このコマンドをクリックすると右隣にサブメニューが現れ、10%~1600%の固定倍率を表示します。その中から表示倍率を選択して下さい (右図)。



サブメニューから倍率を選択します

- Information (情報): 画像についての情報を表示します。このコマンドの機能は、Edit (編集)メニューの Info (画像情報)コマンドと同じです。詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から Info (画像情報)の項をご参照下さい。

▼ ダイアログボックスのチェックボタン

Gel-Pro Analyzer のコマンドを実行した時に表示されるダイアログボックスには、タイプ入力された数値・文字をチェックする機能を持つものがあります。

ダイアログボックスに値を入力すると、入力欄の右側に、右図のような2つのボタンが現れることがあります。



- チェックボタン (☑): このボタンをクリックすると、入力された値が適正值かどうかリミットチェックを行ないます。入力された値が適正值のときは、このボタンが消えます。入力された値が適正範囲にないときは、ボタンが消えずに残りますので、値を訂正して下さい。

注記: チェックボタンをクリックする代わりに、[Enter] キーを押してもリミットチェックを行ないます。

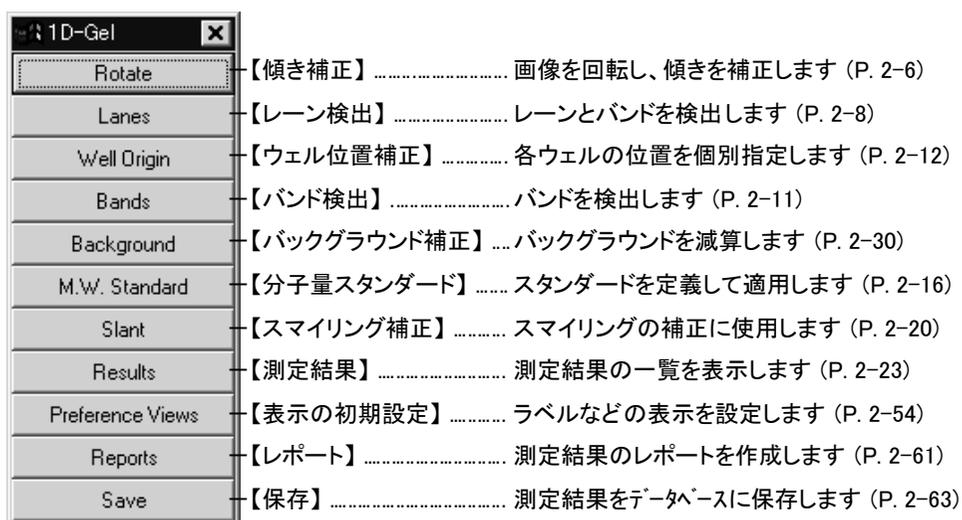
- リセットボタン (✖): このボタンをクリックすると、入力欄に入力された値を消して、元の値にリセットします。新しい値を入力し直すときに使用します。

▼ ツールパレット

Gel-Pro Analyzer では、画像の解析に専用のツール群を使用しますが、1次元電気泳動ゲル解析とドットプロット解析のツールは、専用のツールパレットとして画面に表示されます。

ツールパレットには、各ツールを起動するボタンが並んでおり、ボタンを上から下へ順にクリックすることで、解析を実行できるようになっています。

- 1D-Gel ツールパレット(1次元電気泳動ゲル解析用):

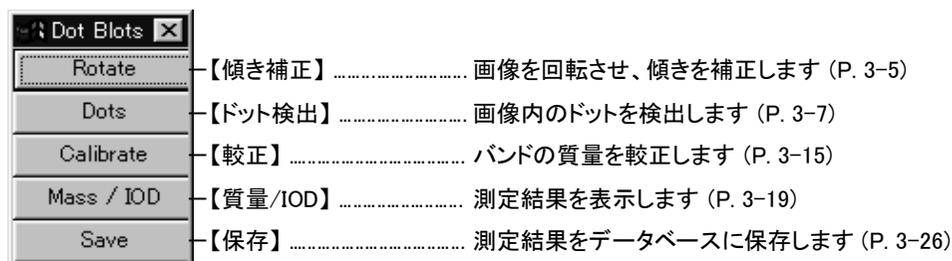


1次元ゲル解析に使用するツールパレットです。このツールパレットは、以下の場合に表示されます。

- File (ファイル) メニューの Experiment (実験) コマンドを実行し、Function Type (解析のタイプ) 欄でDNA analysis (DNA解析)、RNA analysis (RNA解析)、Protein analysis (蛋白質解析)、Single band analysis (単一バンド解析)のいずれかを選択した時
- 1D-Gels メニューの Show ToolBar (ツールバーを表示する) コマンドを実行した時

1D-Gel ツールパレットの使用法については、本書の第2章「1次元ゲルの解析」をご参照下さい。

- Dot Blots ツールパレット(ドットプロット解析用):



ドットプロット解析に使用するツールパレットです。このツールパレットは、以下の場合に表示されます。

- File (ファイル) メニューの Experiment (実験) コマンドを実行し、Function Type(解析のタイプ) 欄で Dot blot analysis (ドットプロット解析) を選択した時
- Dot-Blots メニューの Show ToolBar (ツールバーを表示する) コマンドを実行した時

Dot Blots ツールパレットの使用法については、本書の第3章「ドットプロットの解析」をご参照下さい。

注記: コロニーカウンティングと濃度測定では、上記のようなツールパレットの代わりに測定用のウィンドウが表示されます。

Gel-Pro Analyzer を終了する

Gel-Pro Analyzer を終了するには、File (ファイル) メニューから Exit (終了) コマンドを実行します。

>>> 次のステップとして、第2章「1次元ゲルの解析」へ進みましょう。

第2章 1次元ゲルの解析

測定内容

Gel-Pro Analyzer は、1次元電気泳動ゲル画像について、以下のデータを測定できません。

- 各バンドの分子量 (molecular weight, M.W.)
- 各バンドの質量 (amount)
- バンドの積分光学濃度 (integrated optical density, IOD)
- バンドの相対量 (relative abundance, Rel. ab.)

本章では、Gel-Pro Analyzer の操作練習として、製品に付属のサンプル画像を使用し、以上のそれぞれについて測定します。

解析画像の要件

以下の練習では、解析画像の例としてサンプル画像の“Prot1.tif”を使用しますが、一般に Gel-Pro Analyzer で測定する1次元電気泳動ゲル画像は、以下の要件を満たしている必要があります。

- グレイスケール画像 [8/12/16ビットグレイスケール形式、ないし Floating Point (浮動小数点) 形式] であること。

解析画像がカラー画像の場合は、測定を行なう前に、あらかじめ Edit (編集) メニューの Convert To (変換) コマンドにてグレイスケール画像 (Gray Scale 8/12/16 ないし Floating Point) に変換するか、あるいは Color Channel (色成分) コマンドの Extract (抽出) を使用して、測定対象のチャンネル (R, G, B のいずれか) をグレイスケール画像として抽出する必要があります。

- 較正 (calibration) の基準が存在すること。

分子量の測定では、画像内に最低1本の分子量マーカのレーン (基準レーン) が写っている必要があります。

質量の測定では、各ウェルにアプライした遺伝物質の量が既知であること、または画像内に写っている複数のバンド (基準バンド) の質量が既知である必要があります。

- 1次元電気泳動ゲル画像の場合、ウェルが画像の上辺側にある必要があります (ウェル自体が写っている必要はありません)。画像内のレーンが傾いていたり、ウェルが左右の辺ないし下辺にある場合は、1D-Gel ツールパレットの Rotate (傾き補正) ボタンで画像の向きを修正できます。

操作の概要

この練習での操作の概要は以下の通りです。

- Gel-Pro Analyzer を起動し、Experiment (実験) ダイアログで基本設定を行なう (2-3ページ)
- 画像を開く(2-5ページ)
- 画像の前処理を行なう(2-6ページ)
- 測定領域を限定する(レーンとバンドを検出する)(2-7ページ)
- 分子量を測定する(2-15ページ)
- 質量を測定する(2-27ページ)
- 積分光学濃度(IOD)を測定する(2-42ページ)
- 相対量を算出する(2-43ページ)
- レーンプロファイルを操作する(2-46ページ)
- 表示オプションを使用する(2-50ページ)
- 測定結果を外部へ出力する(2-57ページ)
- データベースを使用する(2-63ページ)

この操作の大部分は、画面に表示される 1D-Gel ツールパレット(下図)のボタンを、上から下へ順にクリックすることで実行できます。

Rotate	【傾き補正】 画像を回転し、傾きを補正します (P. 2-6)
Lanes	【レーン検出】 レーンとバンドを検出します (P. 2-8)
Well Origin	【ウェル位置補正】 各ウェルの位置を個別指定します (P. 2-12)
Bands	【バンド検出】 バンドを検出します (P. 2-11)
Background	【バックグラウンド補正】 バックグラウンドを減算します (P. 2-30)
M.W. Standard	【分子量スタンダード】 スタンダードを定義して適用します (P. 2-16)
Slant	【スマイリング補正】 スマイリングの補正に使用します (P. 2-20)
Results	【測定結果】 測定結果の一覧を表示します (P. 2-23)
Preference Views	【表示の初期設定】 ラベルなどの表示を設定します (P. 2-54)
Reports	【レポート】 測定結果のレポートを作成します (P. 2-61)
Save	【保存】 測定結果をデータベースに保存します (P. 2-63)

ツールパレットは、Experiment (実験) ダイアログボックスで選択した Function Type (解析のタイプ) によって切り替わります(詳細は下記の2-4をご参照下さい)。

この練習には、約1時間かかります。

2.1 実験データの入力

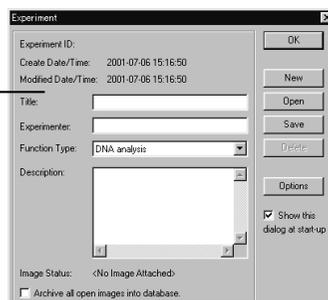
まず最初の操作として、実験データを入力する必要があります。操作手順は以下のようになります。

▼ 操作－実験データの入力：

1. Gel-Pro Analyzer をまだ起動していない場合は、Windows の「スタート」メニューの「プログラム」にある「Gel-Pro Analyzer 4.5」の「Gel-Pro Analyzer」をクリックして、Gel-Pro Analyzer を起動します。Gel-Pro Analyzer のアプリケーションウィンドウがアクティブになったら、以下の操作を開始できます。

Gel-Pro Analyzer が起動すると、通常は Experiment (実験) ダイアログボックスが自動的に開きます(右図)。

Experimentダイアログボックス(ここに実験データを入力します)

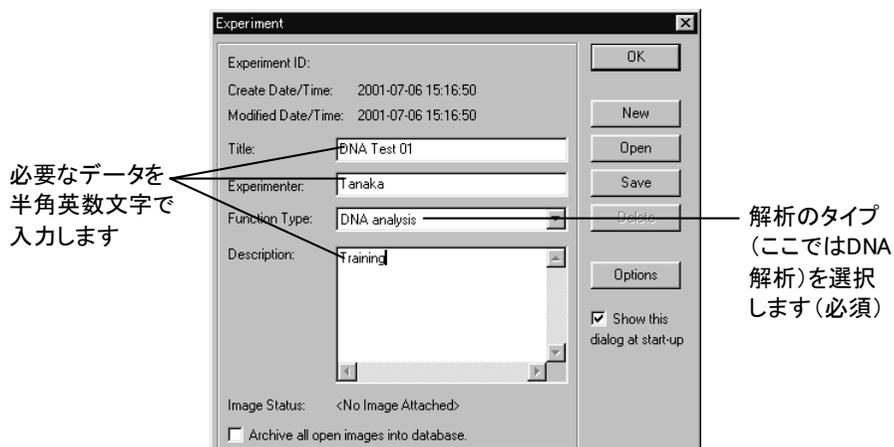


注記: Gel-Pro Analyzer の起動時に Experiment ダイアログボックスが開かないときは、File (ファイル) メニューの Experiment コマンドを実行して開いて下さい。

Experiment ダイアログボックスで、測定の内容に合わせて基本設定を行ない、同時に実験データを入力する必要があります。

2. Title (タイトル) 欄に、実験のタイトルを半角英数文字で入力します。ここでは、例として「DNA Test 01」と入力します。

注記: Gel-Pro Analyzer では、原則として日本語の文字を使用できません。半角英数文字のみをご使用下さい。



3. Experimenter (実験者) 欄に、実験者の名前を入力します。上図では、例として“Tanaka”と入力しています。
4. Function Type (解析のタイプ) 欄で、DNA analysis (DNA解析) を選択します。
注記: Function Typeの指定は、必ず行なう必要があります(下記を参照)。
5. Description (説明) 欄に、“Training”と入力します。
6. OK ボタンをクリックして Experiment ダイアログボックスを閉じます。
これで実験データの 입력は完了です。

>>> 次のステップ「2.2 画像を開く/画像の前処理」へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】実験データについて

■ Function Type (解析のタイプ):

Experiment ダイアログボックスの Function Type (解析のタイプ) は、Gel-Pro Analyzer の基本的な動作を決定する重要な設定です。解析内容に合わせて Function Type を設定することにより、測定に使用する解析ツールや、測定データの単位などが自動的に選択されます。測定を開始する前に、ここで必ず正しい Function Type を指定しておく必要があります。

Function Type 欄で選択できるのは、以下の設定値です。

- Add User Defined Type この項目を選択すると、ユーザ定義の新規 Function Type を作成できます
- DNA analysisDNA 解析を行ないます
- RNA analysisRNA 解析を行ないます
- Protein analysis蛋白質の解析を行ないます
- Single band analysisシングルバンド解析を行ないます
- Dot blot analysisドットプロット解析を行ないます
- Colony countingコロニーカウントを行ないます
- Area density指定領域について濃度測定を行ないます

■ その他の実験データ:

Experiment ダイアログボックスの Title、Experimenter、Description の各欄に入力した値(実験データ)は、1D-Gel ツールパレットの Save (保存) ボタンにより、このままデータベース(2-63ページを参照)に登録され、データベースから実験データを検索する時に使用できます。

Experiment ダイアログボックスは、File (ファイル) メニューの Experiment コマンドを実行することで、Gel-Pro Analyzer の操作中にいつでも呼び出すことができ、実験データを入力・編集できます。

2.2 画像を開く/画像の前処理

次のステップとして、解析対象となる画像ファイルを Gel-Pro Analyzer 上に開き、必要に応じて前処理を行ないます。この操作の概要は以下の通りです。

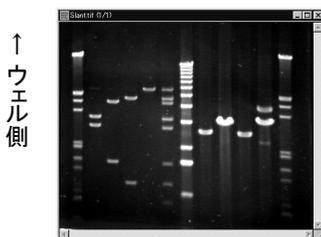
- 画像を開く:
解析画像は、予め保存した画像ファイルから開いたり、スキャナ(B-1ページを参照)、カメラなどの画像取り込みデバイスから取り込んで開くことが可能です。
- 画像の前処理:
画像の前処理とは、測定に先立って、測定目的のために画像を最適化する処理です。Gel-Pro Analyzer の1次元ゲル解析では、ゲルのウェルが画像の上辺に写っている必要があります。このため、ゲルが傾いていたり、ウェルが画像の左右や下に写っているときは、画像の傾きを補正する必要があります。

この他、必要に応じて、画質の改善(下記の7.)、画像の較正などの処理を行なうこともあります。

▼ 操作—画像を開く/画像の前処理:

<画像を開く>

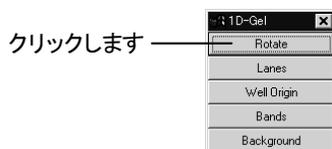
1. File メニューの Open (開く) コマンドを実行して、Open File (ファイルを開く) ダイアログボックスを開きます。
2. Gel-Pro Analyzer のアプリケーションフォルダの中にある“Images”フォルダ(通常は“C:\Gelpro45\Images”)を開きます。
3. “Slant.tif”ファイルを選択し、「開く」ボタンをクリックして、解析画像“Slant.tif”を開きます。



このサンプル画像“Slant.tif”では、ウェルが上辺の側にあり、かつレーンにも傾きがないので、前処理(画像の傾きの補正)を行なう必要はありません。もし画像の傾きの補正を行なう必要がある時は、以下の4.~6.のような手順になります。

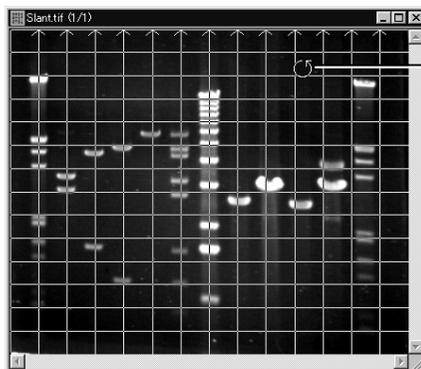
<画像の前処理：傾きを補正する>

4. (任意、画像の傾きを補正する場合のみ) 1D-Gel ツールパレットの Rotate (傾き補正) ボタンをクリックします。

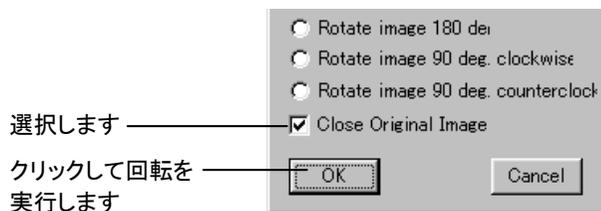


画像上にグリッドが重ね表示され、同時に Rotate ダイアログボックスが表示されます。

5. (任意、画像の傾きを補正する場合のみ) Align grid with the lanes, arrows pointing toward the wells (矢印をウェルの方向へ向けて、グリッドをレーンと平行にする) オプションが選択されていることを確認し、画像内をドラッグしてグリッドの向きをレーンと平行にします。その際、グリッドの矢印(↑↑↑)がウェルの方向を向くようにして下さい。



6. (任意、画像の傾きを補正する場合のみ) Close Original Image (処理後に元の画像を閉じる) オプションが選択されていることを確認して、OKボタンをクリックします。



これで、傾きを補正した新規画像が作成され、同時に元の画像は閉じます。

以降の処理と測定は、全てこの新規画像(“Untitled...”という名前になります)に対して行なわれます。

注記: この新規画像は、この時点ではまだ保存されていません。測定終了後に1D-Gel ツールパレットの Save (保存) ボタンで実験データを保存しようとすると、画像を保存するように促すダイアログボックスが表示されます。

次に、画像内のシグナルを鮮明化するために、画像のルックアップテーブル(LUT)を最適化します。

<画像の前処理: 鮮明化>

7. Gel-Pro Analyzer の画面上部にあるツールバーから、最適合わせ込みボタンをクリックします。



最適合わせ込みボタン

この操作により、画像内のレーンやバンドが鮮明に見えるようになります。

注記: この操作は、画像を鮮明化するために、画像の表示を変更しただけです。画像データ自体は変更していません。詳しくは、1-6ページのルックアップテーブルの注記をご参照下さい。

>>> 次のステップ 「2.3 測定領域の限定 – レーン・バンドの検出」へ進んで下さい。

2.3 測定領域の限定 – レーン・バンドの検出

次のステップとして、解析画像内の測定領域(定量を行なう対象領域)を限定する必要があります。この処理の概要は以下の通りです。

- 矩形AOI で、画像内の測定対象領域を囲む:
 スミアのひどい画像では、画像内に矩形AOI を作成して、測定対象領域(レーンが写っている領域)のみを囲んでおくと、以降のレーン・バンドの抽出が容易になります(測定対象領域のみを予め囲んでおくことで、測定に含めたくないスミアの部分が処理対象から除外され、レーンやバンドの自動検出の精度が向上します)。
- 定量するレーンとバンドの領域を検出する:
 1D-Gel ツールパレットの Lanes ボタンで、画像内のレーンの範囲を検出します。レーンを検出後、今度はそれぞれのレーンの範囲内でバンドの検出が行なわれます。

レーンとバンドの検出はほぼ自動で行なわれますが、手動での補正も可能です。

上記の処理を行なう操作手順は、以下の通りです。

▼ 操作—レーン・バンドの検出:

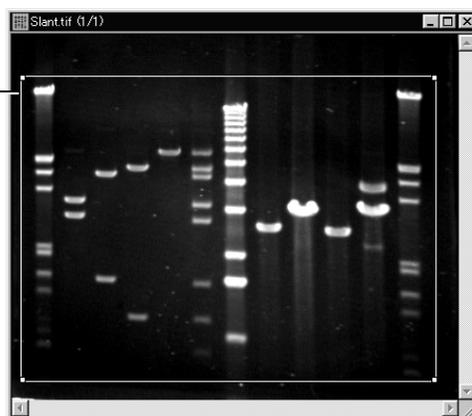
<測定対象を AOI で囲む>

1. (任意) 画像のスミアがひどい場合は、測定対象のレーンのみを囲むように矩形 AOI を作成します。画面上部の矩形 AOI ボタンをクリックして選択し、マウスで画像内をドラッグして、測定したい領域のみを囲みます。



矩形 AOI ボタン

矩形 AOI で測定対象領域を囲みます



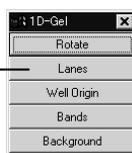
注記: 矩形 AOI の作成方法について詳しくは、1-4ページをご参照下さい。

下の2.以降の操作は、AOI がアクティブになった状態(画像内にAOIが表示されている状態)で行ないます。

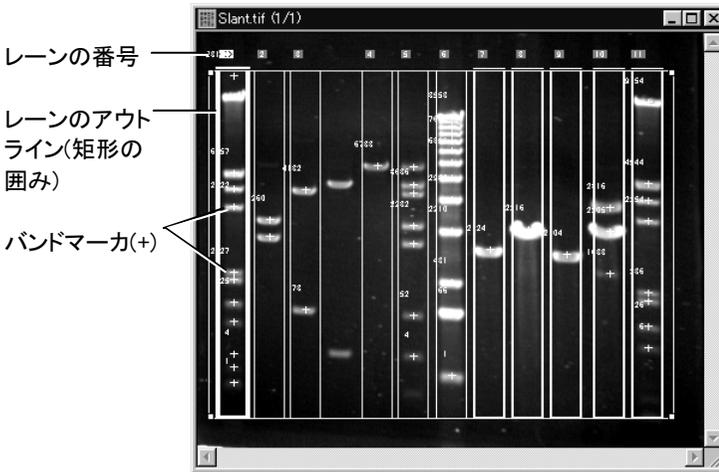
<レーンとバンドを自動検出>

2. 1D-Gel ツールパレットの Lanes (レーン検出) ボタンをクリックします。

クリックします



画像内の各レーンが検出されて矩形のアウトラインで囲まれ、レーン内のバンドも検出されてバンドマーカ(+印)でマークされます。

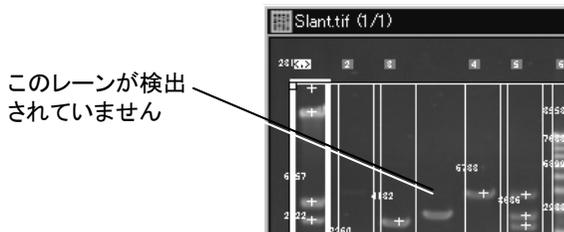


検出されたレーンは、左から順に1、2、3、...と番号が振られ、色分けされた矩形のアウトラインで囲まれます。

同時に、レーンの検出方法を設定する Lanes ダイアログボックスと、Lane Profile (レーンプロファイル) ウィンドウが開きます。

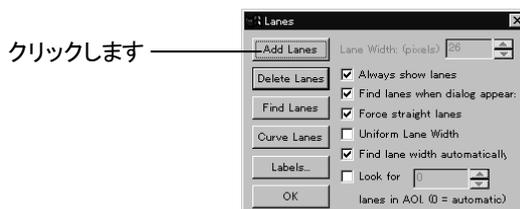
<検出されなかったレーンを手動で追加>

ここで、検出されたレーンをよく見ると、3番目と4番目のレーンの間に、検出されていないレーンが1本あることが分かります。



従って、ここで欠けているレーンを手動で追加します。

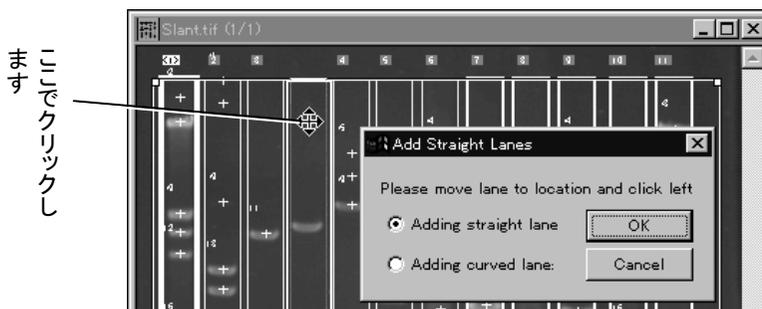
3. Lanes ダイアログボックスの Add Lanes (レーンを追加) ボタンをクリックします。



4. Add Straight Lanes (直線のレーンを追加) ダイアログボックスが開いたら、Adding straight lane (直線のレーンを追加する) オプションが選択されていることを確認し、画像ウィンドウの中にカーソルを入れます。

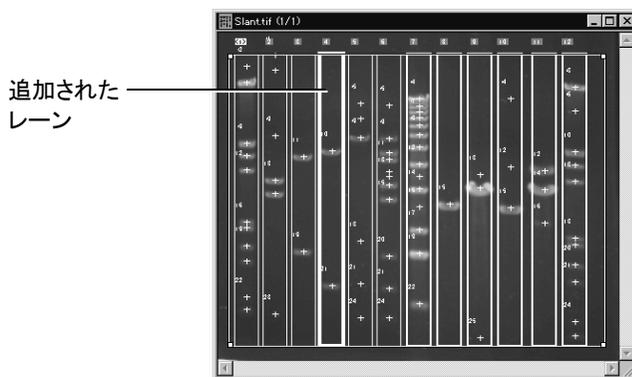
カーソルが四方向矢印の形になり、同時にレーンと同じ長さの矩形が表示されます。

5. カーソルを3番目と4番目のレーンの間まで移動し、クリックします。



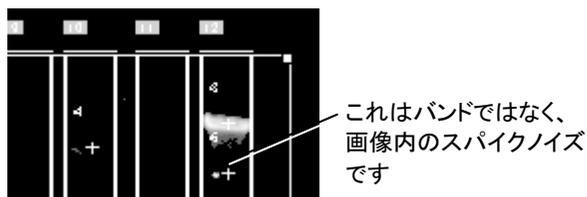
クリックすると、その位置にレーンのアウトラインが表示されますので、Add Straight Lanes ダイアログボックスの OK ボタンをクリックします。

これで、3番目と4番目のレーンの間に新しいレーンが検出され、表示されます。新しいレーン上のバンドは自動検出され、バンドマーカ(+印)でマークされます。



<不要なバンドマーカを除去>

次に、検出されたレーンの中のバンドマーカ(+印)を調べると、12番目のレーンの上から2番目のバンドマーカが、実際のバンドではないことが分かります。



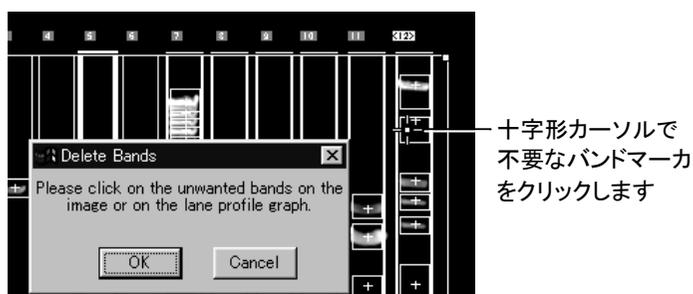
従って、このバンドマーカを除去する必要があります。除去する手順は以下の通りです。

6. バンドマーカを除去するには、1D-Gel ツールパレットの Bands (バンド検出) ボタンをクリックします。



Bands ダイアログボックスが開いたら、Delete Bands (バンドを削除) ボタンをクリックします(上図)。

7. カーソルを画像ウィンドウに入れると、カーソルが十字形に変わりますので、12番目のレーンの上から2番目のバンドマーカをクリックします。



クリックすると、バンドマーカが消えます。

注記: このとき、カーソルを解析画像のウィンドウに入れる代わりに Lane Profile ウィンドウに入れ、レーンプロファイル内のピークをクリックしてバンドマーカを消すこともできます。

8. 最後に、Delete Bands ダイアログボックスの OK ボタンをクリックします。

これで、不要なバンドマーカが除去されました。

注記: バンドを削除するのではなく、新たに追加する時は、Bands ダイアログボックスの Add Bands (バンドを追加) ボタンを使用し、バンドを追加したい箇所を十字形カーソルでクリックします。

以上の操作で、解析画像内のレーンとバンドが検出されました。この次のステップとして、分子量、積分光学濃度などの定量を行いません。

>>> 次のステップ「2.4 定量」(2-15ページ)へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】レーン・バンドの検出 – その他のオプション:

■ 自動検出時にレーンの検出漏れが多いとき、検出感度を上げる:

画像内に予め矩形AOIを作成した場合、「このAOIの範囲内に...本数のレーンを強制的に検出せよ」という形で自動検出を行なうことができます。解析画像内のレーンの本数が既知であるときは、このオプションを使用されると便利です。

これを行なうには、まず画像内に矩形AOIを作成してから、1D-Gel ツールパレットの Lanes (レーン検出) ボタンをクリックして Lanes ダイアログボックスを開き、Look for (指定本数) オプションを選択し、その右の欄にレーンの本数を入力します。その後 Find Lanes (レーン検出実行) ボタンをクリックすると、矩形AOIの範囲内で、Look for 欄に指定された本数のレーンを検出します。

■ バンドの自動検出の感度を指定する:

1D-Gel ツールパレットの Bands (バンド検出) ボタンで Bands ダイアログを表示し、Min. band height (バンドピークの最小高さ) の数値を調節します。小さい値を指定するとバンド検出の感度が高くなり、シグナルの弱いバンドでも検出します。反対に大きい数値を指定すると、シグナルの強いバンドのみを検出します。

■ 「各レーンの中に、最大...本までのバンドを検出する」という形でバンドの検出感度を指定したい:

1D-Gel ツールパレットの Bands (バンド検出) ボタンをクリックし、Bands ダイアログボックスで Options (オプション) ボタンをクリックすると、Bands Options (バンドのオプション) ダイアログボックスが表示されます。このダイアログボックスにある Retain the largest (検出する本数) オプションを選択し、検出するバンドの最大本数を Retain the largest の右の欄に入力し、OK をクリックします。Bands ダイアログボックスの Find Bands (バンド検出実行) ボタンをクリックすると、シグナルの強いバンドから順に、指定した本数以下のバンドのみを検出します。

■ 各ウェルの位置を個別指定したい:

スマイリングなどが原因で、ウェルの位置(レーンの開始位置)がレーンごとに上下にずれている場合は、各ウェルの位置を個別指定できます。これを行なうには、ツールパレットの Well Origin (ウェル位置補正) ボタンをクリックして Define Well Origin (ウェル原点を指定) ダイアログを開きます。カーソルが十字形になりますので、画像上部のウェルの位置を順にクリックして「*」印を付けていきます。全ウェルの位置に「*」印が付いたら、OK ボタンをクリックします。



- Always show Well Origin Line: このオプションを選択すると、ウェルの位置を示す線が表示されます。
- Polynomial Fit Line: 各ウェルの位置を、多項式の曲線で結びます。
- Delete Line: ウェルの位置設定を解除したいときにクリックします。

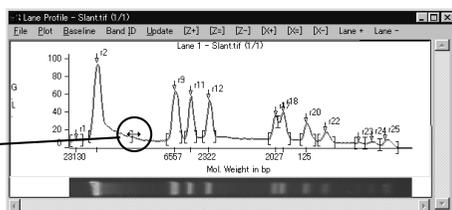
■ 一旦検出したバンドの位置を変更する:

バンドマーカの位置は変更できません。バンドマーカの位置が不適切なときは、ツールパレットの Bands ボタンをクリックし、Delete Bands (バンドを削除) ボタンでバンドを一旦除去した後、Add Bands (バンドを追加) ボタンで適切な位置に新しいバンドを追加して下さい。

■ バンドのピークの範囲を調節する:

ピークの範囲を調節するには、Lane Profile ウィンドウのグラフ内で、バンドの谷マーカ(下図)をドラッグします。バンドのピークの範囲は、谷マーカから谷マーカまでの間となります。

谷マーカ
(「**ど**」)を
ドラッグして
ピークの範囲
を指定します

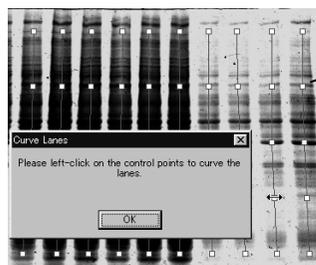


注記: 谷マーカの形は、1D-Gel ツールパレットの Preference Views (表示の初期設定) ボタンで変更できます(各カッコの他に、点線やハッチパターンの形に変更できます)。詳しくは、2-56ページをご覧ください。

■ 湾曲したレーンを正しく検出したい:

これを行なうには、1D-Gel ツールパレットの Lanes (レーン検出) ボタンをクリックして Lanes ダイアログボックスを開き、Force straight lanes (強制的に直線レーンとして検出) オプションを非選択にしてから、Find Lanes ボタンでレーンの自動検出を再実行します。

また、湾曲したレーンを自動検出で適切に検出できないときは、手動でレーンのアウトラインを湾曲させることもできます。これを行なうには、Lanes ダイアログボックスの Curve Lanes (レーンを湾曲) ボタンをクリックし、画像内に表示される垂直線の節(ハンドル)をドラッグして湾曲させ、Curve Lanes ダイアログボックスの OK ボタンをクリックします。



レーンの湾曲に合わせて、ハンドル(□)を下ドラッグします

■ 湾曲したバンドを正しく検出したい:

湾曲したバンドは、手動で検出させることができます。これを行なうには、ツールパレットの Bands ボタンをクリックして Bands ダイアログボックスを開き、Curve Bands (バンドを湾曲) ボタンをクリックします。Band Correction (バンドの補正) ダイアログボックスが開いたら、Add Curves (カーブを追加) ボタンをクリックし、カーソルで画像内の湾曲したバンドをクリックします。最初にレーンの一番上にある曲がったバンドをクリックし、次にレーンの一番下にあるバンドをクリックしてから、最後にレーンの中央にあるバンドをクリックすると、最も効率よく作業できます。クリックされたバンドには節のある横線が表示されます。湾曲したバンドを全てクリックしたら、Add Band Curve ダイアログボックスの OK ボタンをクリックします。横線は自動的にバンドの曲がり具合に合わせて湾曲しますので、必要に応じて横線の節をドラッグして補正します(下図)。

最後に、Band Correction ダイアログボックスの Done (終了) ボタンをクリックします。

**■ スマイリングを補正する:**

スマイリング(バンドの垂直方向のずれ)補正の手順については、「2.4.1.2 スマイリング補正」(2-20ページ)をご覧ください。

■ レーンの位置と幅を変更する:

レーンの位置を変更するには、1D-Gel ツールパレットの Lanes ボタンをクリックして Lanes ダイアログボックスを開いた状態で、解析画像内のレーンのアウトライン(各レーンを囲む、色付きの矩形の枠)を直接ドラッグします。

- レーンの幅を個別に変更するには、1D-Gel ツールパレットの Lanes ボタンをクリックして Lanes ダイアログボックスを開き、Uniform Lane Width (レーン幅を一律にする) オプションを非選択にしてから、画像内のレーンのアウトラインの左右の辺をドラッグして幅を変更します。
- 全レーンの幅を一律に変更するには、Uniform Lane Width オプションを選択してから、任意のレーンのアウトラインをドラッグするか、あるいは Lane Width (pixels) [レーン幅 (ピクセル単位)] 欄に幅を入力します。

■ 画像の背景の領域がバンドとして認識され、バンドが背景として認識されてしまう場合の対処:

通常、このような問題は発生しませんが、万一発生した場合は、1D-Gel ツールパレットの Bands (バンド検出) ボタンで Bands ダイアログボックスを開き、画像内のバンドと背景の関係に合わせて Dark bands, bright background (バンドが白、背景が黒) オプションないし Bright bands, dark background (バンドが黒、背景が白) オプションのいずれかを選択してから、Find Bands (バンド検出実行) ボタンをクリックして再検出を行ないます。

2.4 定量

解析画像内の測定対象領域が限定され、レーンとバンドが検出されたら、次のステップとして、検出されたバンドの定量を行ないます。

Gel-Pro Analyzer では、測定する対象や較正の方法によって、次の定量が可能です。

- 分子量(molecular weight)の測定 (本ページ):
解析画像内に写っている分子量マーカのレーンを基準として較正を行ない、バンドの泳動量からバンドの分子量を求めます。
- 質量(amount)の測定 (2-27ページ):
各レーンへのアプライ量、または解析画像内のバンドの既知の質量に基づいて較正を行ない、バンドの質量(マス)を求めます。
- 積分光学濃度(IOD)の測定 (2-42ページ):
- 相対量の算出 (2-43ページ):

上記の測定を行なう操作手順は、以下の通りです。

2.4.1 分子量 (Molecular Weight)の測定

各バンドの分子量の測定は、バンドの泳動量を基準に行ないます。この測定を行なうには、以下の要件を満たす必要があります。

- 各レーンのウェルが、解析画像の上辺側にあること:
Gel-Pro Analyzer は、バンドが画像の上から下へ向かって泳動したもとして泳動量を算出します。従って、ウェルが画像の上方にある必要があります。もし上方にない場合は、1D-Gel ツールパレットの Rotate (傾き補正) ボタンで補正できます(2-6ページをご参照下さい)。
ここで練習に使用しているサンプル画像“Slant.tif”では、ウェルが画像の上方にあるので、傾きを補正する必要はありません。
- 解析画像内に少なくとも1本の分子量マーカ(基準レーン)が写っていること:
画像内に写っている分子量マーカが、分子量の較正の基準となります。ここで練習に使用している画像“Slant.tif”では、左右両端にある2本のレーン(1番と12番のレーン)が分子量マーカ (Lambda DNA/Hind III Fragments)です。

このほか、スマイリングのひどい画像では、等分子量の横列のバンド同士を結びつける「スマイリング補正」(2-20ページ)を行なう必要もあります。

以下の手順で、画像内の各バンドの分子量を測定します。

注記: 分子量でなく、質量(amount)、積分光学濃度(IOD)、ないし相対量のみを測定したい場合は、ここから直接以下のページへ進んでも構いません。

- 「2.4.2 質量 (Amount) の測定」(2-27ページ)
- 「2.4.3 積分光学濃度 (IOD) の測定」(2-42ページ)
- 「2.4.4 相対量の算出」(2-43ページ)

2.4.1.1 分子量スタンダードによる校正

上記のように、分子量の測定には、解析画像内に基準レーン(分子量マーカ)が写っている必要があります。分子量マーカに基づく校正の手順は、以下の通りです。

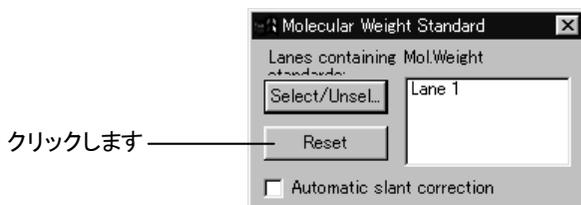
▼ 操作 — 分子量スタンダードによる校正

<分子量マーカのレーンを選択>

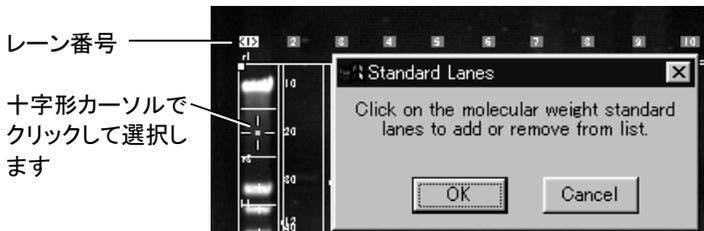
1. 解析画像内にレーンとバンドが表示された状態で、1D-Gel ツールパレットの M. W. Standard (分子量スタンダード) ボタンをクリックし、Molecular Weight Standard ダイアログボックスを開きます。



2. ダイアログボックスの上部にある Reset (リセット) ボタンをクリックし、分子量マーカの選択をいったん解除します。



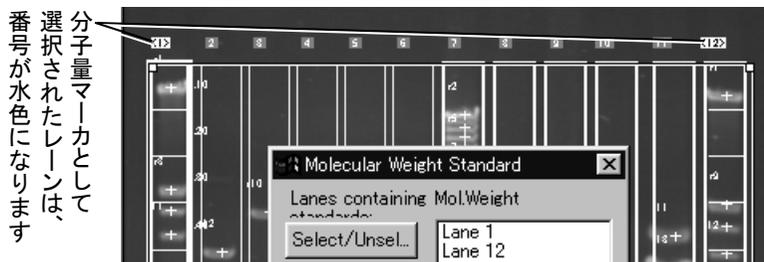
3. Select/Unsel (マーカ選択/非選択) ボタンをクリックします。Standard Lanes (スタンダードのレーン) ダイアログボックスが開きます。
4. "Slant.tif" 画像内にカーソルを入れ、1番目のレーンのアウトライン内にカーソルを置きます。カーソルが十字形になったら、クリックします。



レーン番号
十字形カーソルで
クリックして選択し
ます

これで1番目のレーンの上にあるレーン番号が水色になり、分子量マーカとして選択されたことを示します。

- 同様に、12番目のレーンのアウトライン内をクリックして、選択します。
12番のレーンも水色のレーン番号が付き、Select/Unsel ボタンの右側の欄に“Lane 1”、“Lane 12”と表示されます（下図）。



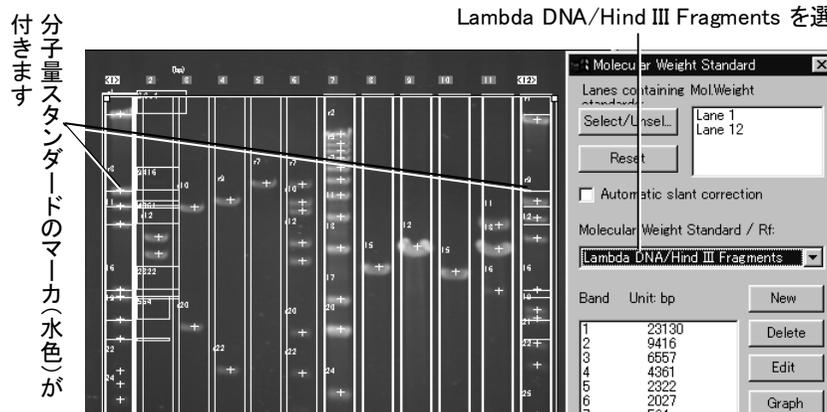
分子
量マ
ーカ
とし
て選
択さ
れた
レー
ンは、
番号
が水
色に
なり
ます

<分子量スタンダードの選択>

次に、上で選択した分子量マーカのレーンに、分子量スタンダードの値を適用して較正を行ないます。

- Molecular Weight Standard ダイアログボックスのMolecular Weight Standard /Rf. 欄をクリックして、Lambda DNA/Hind III Fragments を選択します。

画像内の1番目と12番目のレーンのバンドに、分子量スタンダードのマーカ(水色)が付きます。



分子
量ス
タン
ダー
ドの
マー
カ(水
色)が
付き
ます

注記：分子量スタンダードのマーカは、自動的にバンド上に位置決めされます。自動位置決め時の感度を指定したい時や、手動で位置決めしたい時は、下記の「分子量スタンダード – その他のオプション」をご覧ください。

7. Molecular Weight Standard ダイアログボックスの OK ボタンをクリックして閉じます。

上記の操作により、分子量マーカのレーン(1番と12番)にLambda DNA/Hind III Fragments の分子量スタンダードが適用され、それに基づいて他の全てのバンドの分子量が較正・算出されました。

>>> 次のステップ 「2.4.1.2 スマイリング補正(Slant)」(2-20ページ)へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】分子量スタンダード – その他のオプション:

■ 分子量スタンダードを新規作成する:

スタンダードを新規作成するには、Molecular Weight Standard ダイアログボックスの New (新規作成) ボタンをクリックして Create New Molecular Weight Standard (分子量スタンダードの新規作成)ダイアログボックスを開き、以下を行います。

1. Name (名前)欄に新規スタンダードの名前を半角英数文字で入力します。
2. Unit (単位)欄で単位を選択します。bp, Kb, kDa, pI のいずれかを選べます。
3. Genetic Material (遺伝物質) 欄で遺伝物質の種類を選択します。DNA, RNA, Protein のいずれかを選べます。
4. Molecul. Weight 欄にバンドの分子量を1つずつ入力し、入力する度に Add (追加) ボタンをクリックします。

入力した値を削除するときは Delete (削除) ボタンを、変更するときは Change (変更) ボタンを使用します。

5. バンドを分子量を入力し終わったら、OK ボタンをクリックします。

以上の操作により新規スタンダードが登録され、Molecular Weight Standard ダイアログボックスの Molecular Weight Standard /Rt. 欄に表示されます。

■ 既存の分子量スタンダードの値を変更する:

変更するには、変更したいスタンダード名を Molecular Weight Standard ダイアログボックスの Molecular Weight Standard /Rt. 欄で選択し、Edit (編集) ボタンをクリックします。Edit Molecular Weight Standard ダイアログボックスが開いたら、各欄の値を変更できます。バンドの分子量の値を変更するには、変更したい値を Molecular Weights 欄で選択してから、Molecul. Weight 欄に新しい数値を入力し、Change (変更) ボタンをクリックして変更します。変更が全て終了したら、OK ボタンをクリックします。

■ 分子量スタンダードのマーカを自動位置決めする感度を調節する:

各バンドの上に表示される分子量スタンダードのマーカ(水色)は、分子量スタンダードを選択すると同時に自動で位置決めされますが、この時の合わせ込みの度合いを変更できます。変更するには、Molecular Weight Standard ダイアログボックスの Options (オプション) ボタンをクリックして M. W. Standard Options (分子量スタンダードのオプション)ダイアログボックスを開きます。このダイアログで、以下のオプションを選択できます。

- Manual positioning only (手動位置決めのみ): このオプションを選択すると、Molecular Weight Standard ダイアログボックスで分子量スタンダードを選択した時に、マーカは自動的に位置決めされません。
- Match band for band (1本ずつ合わせる): 自動合わせ込み時に、上(ウェル側)のバンドから順に、1本ずつバンドとスタンダードのマーカを合わせます。通常はこの設定にしておきます。
- Allow one missing band (欠けたバンド1本まで許容する): 自動合わせ込み時に、欠けたバンド(スタンダードの値に合わないバンド)を1本まで許容します。この設定を選択した場合、スタンダードの値に合わないバンドが1本以下であれば、そのバンドを飛び越して次のバンドにマーカを付けます。
- Allow two missing bands (欠けたバンド2本まで許容する): 自動合わせ込み時に、欠けたバンド(スタンダードの値に合わないバンド)を2本まで許容します。この設定を選択した場合、スタンダードの値に合わないバンドが2本以下であれば、そのバンドを飛び越して次のバンドにマーカを付けます。
- Standard band finding sensitivity (スタンダードのバンドの検出感度): 分子量スタンダードの検出感度を指定します。分子量マーカのバンドが、他のレーンのバンドよりもシグナルが弱いときは、この欄の値を増やします。反対に、マーカのシグナルが他のバンドのシグナルよりも強いときは、この欄の値を減らして下さい。

上記のオプションを設定した後、OK ボタンをクリックし、Molecular Weight Standard ダイアログボックスの Auto Loc. (自動位置決め) ボタンをクリックすると、オプションの設定に基づいて自動位置決めを行いません。

■ 分子量スタンダードのマーカを手動で位置決めする：

手動でマーカを位置合わせしたい場合は、以下のように操作します。

1. Molecular Weight Standard ダイアログボックスの下部にある Locate (位置決め) ボタンをクリックします。Position Molecular Weight Standard (分子量スタンダードを位置決めする) ダイアログボックスが開きます。
2. 各バンドの上に表示されている、水色の分子量スタンダードのマーカをマウスでドラッグします。
3. マーカを正しい位置まで動かしたら、マーカを一度クリックして、マーカの右に表示されている数値(分子量の値)に四角囲みが付くようにします。四角囲みを付けることで、マーカがその位置に固定されます。
4. 全てのマーカを位置決めし終わったら、Position Molecular Weight Standard ダイアログボックスの OK ボタンをクリックします。

■ 分子量スタンダードのマーカを常に表示する：

バンド上の水色のマーカは、通常は Molecular Weight Standard ダイアログボックスを閉じると同時に消えますが、これを常に表示させるには、ダイアログボックス下部の Always show mol. weight standard (分子量スタンダードを常に表示する) オプションを選択します。

■ 分子量スタンダードの値をグラフ表示する：

Molecular Weight Standard ダイアログボックスの Graph (グラフ表示) ボタンをクリックすると、分子量と泳動量の関係を示すグラフを表示します。

2.4.1.2 スマイリング補正 (Slant)

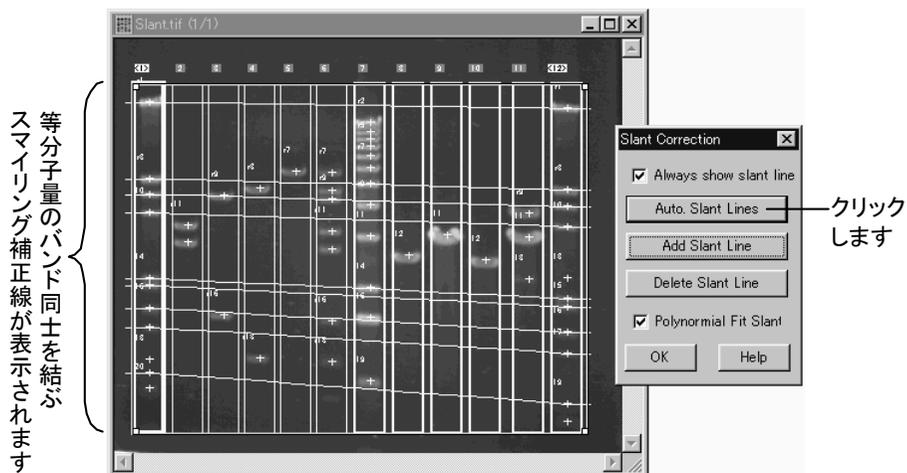
泳動時の電圧等の影響で、バンドの泳動距離が不均一になった画像では、等分子量のバンド同士を横方向に結んで補正を行なうことができます。

▼ 操作 — スマイリング補正

1. 1D-Gel ツールパレットの Slant (スマイリング補正) ボタンをクリックします。



- Slant Correction ダイアログボックスが開いたら、Polynomial Fit Slant (多項式のあてはめ関数を補正線に適用) が選択されていることを確認します。
- Auto. Slant Lines (自動で補正線を引く) ボタンをクリックします。
画像内に黄色のスマイリング補正線が表示されます。



- OK ボタンをクリックして、Slant Correction ダイアログボックスを閉じます。この操作により、画像内の等分子量のバンド同士が補正線によって結ばれ、スマイリングが補正されました。

注記: 上記の Auto. Slant Lines ボタンは、画像内に複数の分子量マーカ(ここでは1番と12番のレーン) が写っている場合のみ使用できます。分子量マーカのレーンが1本だけの場合は、手動でスマイリング補正線を引く必要があります。手動で補正を行なう手順は、下記の「スマイリング補正—その他のオプション」をご覧ください。

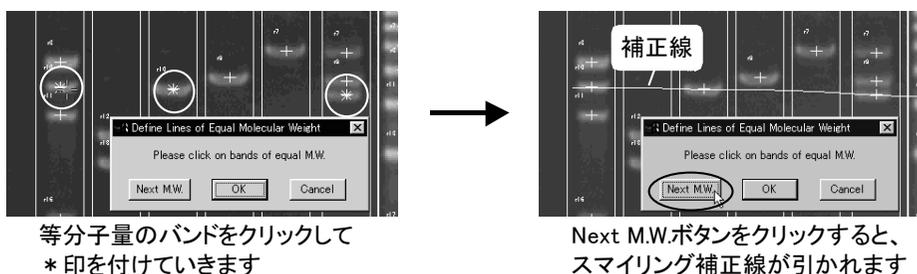
>>> 次のステップ 「2.4.1.3 分子量の算出」(2-23ページ)へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】スマイリング補正 — その他のオプション:

■ 手動でスマイリング補正線を引く:

これを行なうには、Slant Correction ダイアログボックスで Add Slant Line (手動で補正線を引く) ボタンをクリックし、画像内にカーソルを入れて、等分子量のバンドを横方向にクリックしていきます(クリックされたバンドには黄色の * 印が付きます)。



1列のバンドを全てクリックしたら、Define Lines of Equal Molecular Weight (等分子量のバンドを結ぶ線を引く)ダイアログボックスの Next M. W.(次へ進む)ボタンをクリックします。これで、* 印の付いたバンドがスマイリング補正線で結ばれます。この操作を繰り返して、必要な本数の補正線を引いてから、Define Lines of Equal Molecular Weight ダイアログボックスの OK ボタンをクリックして下さい。

■ スマイリング補正線にあてはめ(フィッティング)関数を適用する:

これを行なうには、Slant Correction ダイアログボックスの Polynomial Fit Slant (多項式にあてはめ関数を補正線に適用) オプションを選択してから補正線を引きます。このオプションを選択しないと、補正線はバンド同士を結ぶ直線になります。

注記: このオプションは、Gel-Pro Analyzer バージョン4.0以前にはありませんでした。このため、旧バージョンの Gel-Pro Analyzer で作成した実験データをバージョン4.0以降で開くと、この Polynomial Fit Slant オプションは自動的に非選択になります。これは、測定結果の整合性を維持するためです。

■ スマイリング補正線を削除する:

これを行なうには、Slant Correction ダイアログボックスの Delete Slant Line (補正線を削除) ボタンをクリックして Delete Iso-M.W. Lines (等分子量線を削除) ダイアログボックスを開き、解析画像内の不要な補正線を十字形のカーソルでクリックします。不要な補正線を全て削除したら、OK をクリックします。

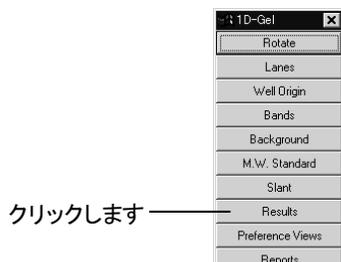
補正線を全て削除するときは、Delete All Lines (全補正線を削除) ボタンをクリックします。

2.4.1.3 分子量の算出

これまでの操作で、各バンドの分子量は既に算出されています。分子量を表示する操作は以下の通りです。

▼ 操作 — 分子量の算出

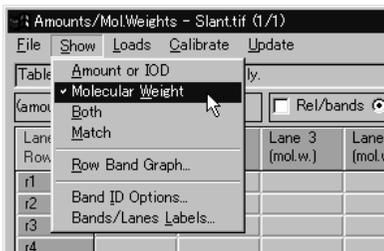
- 1D-Gel ツールパレットの Results (測定結果) ボタンをクリックします。



上記の操作で、Amounts/Mol. Weights (質量/分子量) ウィンドウが表示されます(下図)。

Lanes:	Lane 1 (mol.w.)	Lane 2 (mol.w.)	Lane 3 (mol.w.)	Lane 4 (mol.w.)	Lane 5 (mol.w.)	Lane 6 (mol.w.)	Lane 7 (mol.w.)	Lane 8 (mol.w.)	Lane 9 (mol.w.)	Lane 10 (mol.w.)
r1	23130									
r2							18218			
r3							16282			
r4							14966			
r5							13757			
r6							12295			
r7					10244	10101	10684			
r8	9416						8424			
r9				7536		7128				
r10	6557		6381			5881				
r11	4361						5134			
r12		3845				3630			3508	
r13		3275					3468			
r14						3057				
r15								2887		2757

- 分子量は [mol. w.] (分子量) の列に表示されます。表の中に [mol. w.] が表示されていない場合は、Show (表示) メニューから Molecular Weight (分子量) または Both (両方を表示する) オプションを選択して下さい。



これで分子量が [mol. w.] の列に表示されます。

注記: 測定結果を外部に出力する手順は下記の「2.5 測定結果を外部へ出力する」(2-57ページ)で、結果をデータベースに保存する手順は「2.6 データベース」(2-63ページ)で説明します。

>>> 次のステップ 「2.4.2 質量 (Amount) の測定」(2-27ページ)へ進んで下さい。

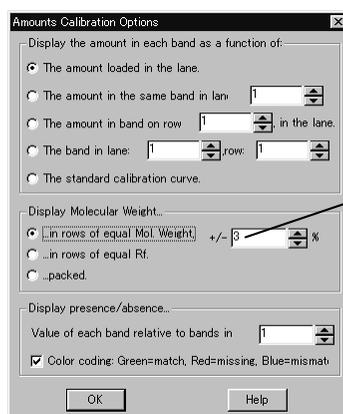
以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】分子量の測定 – その他のオプション:

■ Amounts/Mol. Weights (質量/分子量) ウィンドウの表内の数値と解析画像内のバンドの位置関係:

表内の数値は、解析画像内のバンドにほぼ対応する位置に表示されています。表内の数値の表示位置は、Amounts/Mol. Weights ウィンドウの Calibrate (校正) メニューにある Ratio to Band/Lane (バンド/レーンに対する比) コマンドで指定できます。

Ratio to Band/Lane コマンドを実行して表示される Amounts Calibration Options (質量校正のオプション) ダイアログボックスの Display Molecular Weight (分子量の表示オプション) 欄では、分子量について以下の表示オプションを選択できます。



バンドを等分子量とみなす許容度を指定します

- In rows of equal Mol. Weight (等分子量の横列に表示): 等分子量のバンドの測定値を横列に並べて表示します。バンド同士を等分子量と見なす許容度は、右隣の +/- 欄で指定できます。左右のレーンに対応するバンドが存在しないときは、その位置のセルが表内で空欄になります。

- In rows of equal Rf (等Rfの横列に表示): Rf (レーンの全長に対する泳動距離の比)が同じバンドを横列に並べて表示します。左右のレーンに対応するバンドが存在しないときは、その位置のセルが表内で空欄になります。
- Packed (詰めて表示): 左右のレーンのバンドとの対応関係を見捨て、各レーン内のバンドの値を上から順に詰めて配列します。このため、このオプションを選択したときは、表内の各レーンの内部に空欄のセルが生じません。

Lanes: Rows	Lane 1 (mol.w.)	Lane 2 (mol.w.)	Lane 3 (mol.w.)	Lane 4 (mol.w.)	Lane 5 (mol.w.)	Lane 6 (mol.w.)
r1	23130					
r2	9416				10244	10101
r3	6567		6381	7536		7128
r4						5881
r5	4361					3630
r6		3275				3057
r7						200
r8	2322				11	8
r9	2027					
r10			321			
r11	564					
r12	125					
r13	10					
r14	3					
r15	1					

通常の表示

Lanes: Bands	Lane 1 (mol.w.)	Lane 2 (mol.w.)	Lane 3 (mol.w.)	Lane 4 (mol.w.)	Lane 5 (mol.w.)	Lane 6 (mol.w.)
1	23130	3845	6381	7536	10244	10101
2	9416	3275	321	11		7128
3	6567					5881
4	4361					3630
5	2322					3057
6	2027					200
7	564					8
8	125					
9	10					
10	3					
11	1					
12						

Packed オプション選択時の表示

■ 等分子量のバンドの、レーン間でのマッチングを調べる:

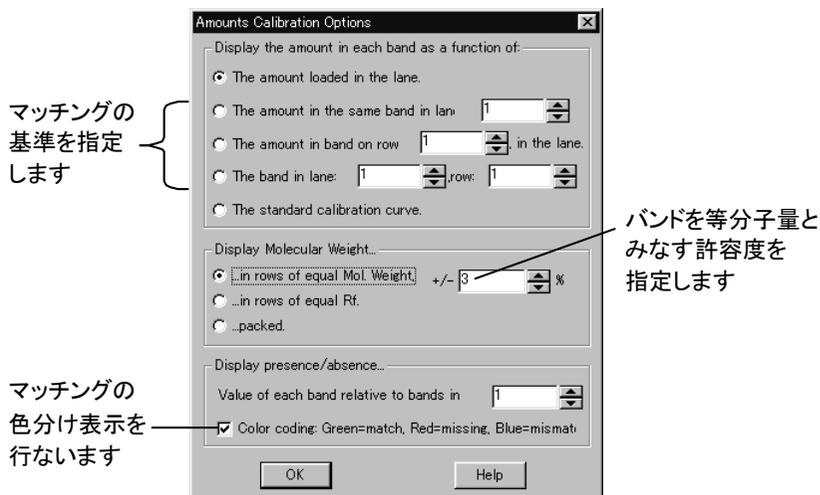
これを行なうには、Amounts/Mol. Weights の Show (表示) メニューにある Match (マッチング) オプションを選択します。このオプションでは、指定した基準レーン上のバンドと一致するバンド(等分子量のバンド)が、他のレーンに存在するかどうかを数字と色で表示します。

Lanes: Rows	Lane 1 (mol.w.)	Lane 2 (mol.w.)	Lane 3 (mol.w.)	Lane 4 (mol.w.)	Lane 5 (mol.w.)	Lane 6 (mol.w.)	Lane 7 (mol.w.)	Lane 8 (mol.w.)
r1	1	0	0	0	0	0	0	0
r2							-1	0
r3							-1	0
r4							-1	0
r5							-1	0
r6							-1	0
r7						-1	-1	-1
r8	1	0	0	0	0	0	1	0
r9					-1		-1	0
r10	1	0	1	0	0	0	1	0
r11	1	0	0	0	0	0	1	0
r12		-1					-1	0

各セルに表示される数値と色の関係は次の通りです。

- 基準レーン内のバンドに一致するバンドが存在する: 緑、 1
- 基準レーン内のバンドに一致するバンドが存在しない: 赤、 0
- 基準レーン内のバンドに一致しないバンドが存在する: 青、 -1

マッチングの設定は、Calibrate (較正) メニューの Ratio to Band/Lane (バンド/レーンに対する比) コマンドを実行し、Amounts Calibration Options (質量較正のオプション) ダイアログボックスを開いて行ないます。



- 特定のバンドが基準バンドと等分子量であるかどうかを判断する許容度は、Display Molecular Weight (分子量の表示) 欄の in rows of equal Mol. Weight (等分子量の横列に表示) オプションの右にある +/- 欄で指定します。
- 基準バンドのレーンは、The amount in the same band in lane... (相対量の基準となるレーンの番号) 欄で指定します。例えば、この欄で1番目のレーンを指定すると、1番目のレーン内の各バンドと比べて等分子量のバンドが、他のレーンに存在するかどうかを判定します。
- 色分け表示を行なうには、Display presence/absence (マッチング時の有無の表示) 欄にある Color coding (色分け) オプションを選択します。

■ 測定データを外部出力する方法:

これについては、2-57ページ以降をご覧ください。

2.4.2 質量 (Amount) の測定

解析画像内のレーンとバンドが検出されたら、バンドの質量を算出することができます。この処理の概要は次の通りです。

- バックグラウンドの補正：

バックグラウンド(画像の背景の領域)の値をバンドのシグナルから減算することで、測定値を補正する処理です。
- 質量の較正：

質量を測定する場合、次の2つの較正のうち、いずれかが必要となります。

 - 各レーンのウェルにアプライした遺伝物質の質量を基準にして較正する
または
 - 画像内に写っている、既知の質量を持つバンドを基準にして較正する
- 質量の算出

質量を測定する手順は、以下の通りです。

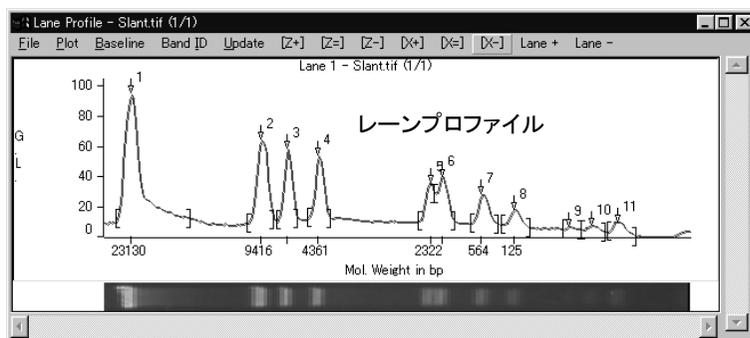
2.4.2.1 バックグラウンドの補正

最初に、バックグラウンドの値をバンドの値から減算します。

▼ 操作 – バックグラウンドの補正:

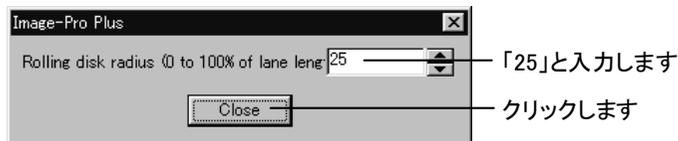
1. 画像内にレーンとバンドが表示された状態で、1D-Gels メニューの Show Graph (レーンプロファイルを表示) コマンドを実行します。

Lane Profile ウィンドウが開き、レーンプロファイルが表示されます。

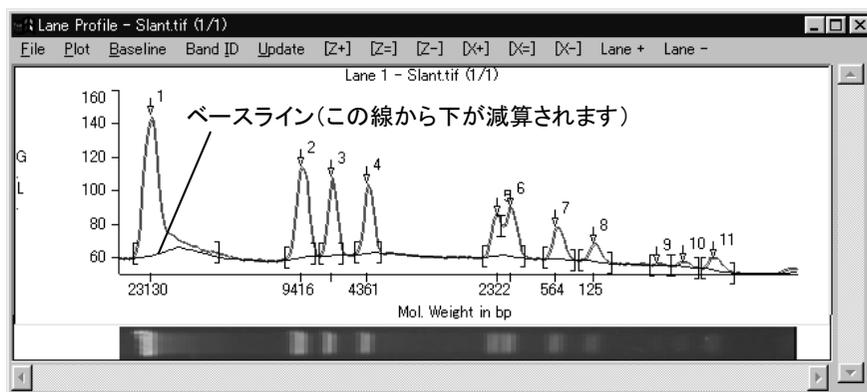


注記：レーンプロファイルの表示は、上図とは異なっている可能性があります。レーンプロファイルについて詳しくは、「2.4.5 レーンプロファイル」(2-46ページ)をご覧ください。

2. Lane Profile ウィンドウの Baseline (ベースライン)メニューにある Profile minus baseline (ベースラインから下を表示しない) オプションが非選択になっていることを確認します。
3. Baseline メニューにある Rolling Disk (ローリングディスク)コマンドを実行します。
4. ダイアログボックスの Rolling disk radius (0 to 100% of lane length) [ローリングディスクの半径(レーンの長さの0~100%)] 欄に「25」と入力し、Close ボタンをクリックします。



これで、ローリングディスク・フィルタによるバックグラウンド補正が適用されました。



補正の結果は、レーンプロファイルに表示されるベースラインで確認できます。ベースラインよりも下の部分が、バンドの値から減算されます。

>>> 次のステップ「2.4.2.2 アプライ量による校正」(2-33ページ)へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】バックグラウンドの測定 – その他のオプション:

上記の Rolling Disk (ローリングディスク)オプションの他にも、Gel-Pro Analyzer は様々なバックグラウンド補正オプションをサポートしています。

バックグラウンド補正オプションは、以下の手順で呼び出せます。

- Lane Profile ウィンドウの Baseline (ベースライン) メニューでオプションを選択する
または
- 1D-Gel ツールパレットの Background (バックグラウンド補正) ボタンで Background Correction (バックグラウンド補正) ダイアログボックスを開き、Background correction selected (選択中のバックグラウンド補正オプション) 欄でオプションを選択する

使用可能なバックグラウンド補正オプションは、以下の通りです。

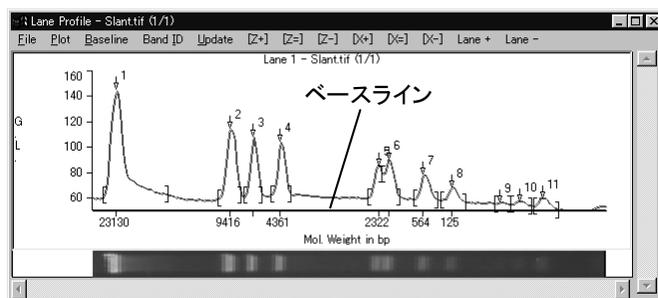
■ None (補正なし):

Lane Profile ウィンドウの Baseline メニューから None を選択すると、バックグラウンド補正を行いません。この設定ではベースラインを表示しません。

■ Flat (平坦):

このオプションを選択すると、ベースラインが水平の直線として表示されます。このベースラインのレベルは、各レーン内で検出された最も低い値を表します。

Flat
選択時

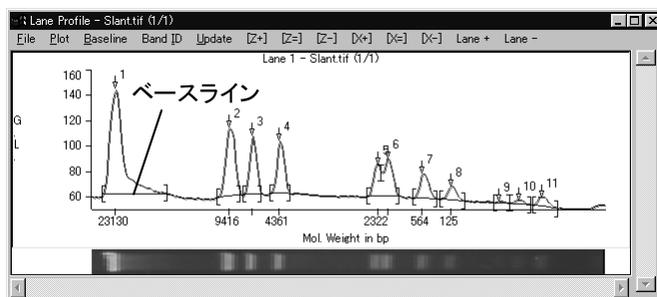


■ Join Valleys (谷間を結ぶ):

各レーンの最も低い点(「谷」のレベル)を結ぶことで、滑らかな曲線のベースラインを引きます。

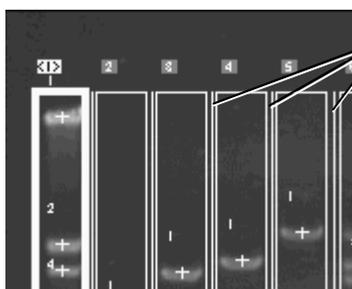
このオプションを選択すると、Maximum baseline slope (1 to 100%) [ベースラインの最大傾き(1~100%)]を設定するダイアログボックスが表示されます。Maximum baseline slope とは、谷同士を結ぶベースラインの最大の傾きで、1~100%の範囲で指定します。隣接する2つの谷を結ぶ線の傾きがこの設定値を越える場合は、その2つの谷は結ばれず、ベースラインは次の谷へ順次スキップし、その谷との傾きが設定値を越えないかどうか判断します。

Join
Valleys
選択時



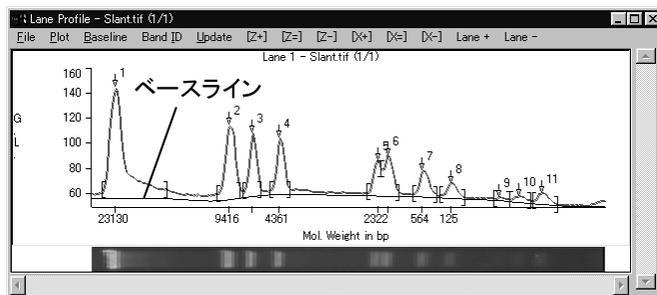
■ From Image (値を画像から取得):

このオプションを選択すると、解析画像内にバックグラウンド補正線(紫色の垂直線)が引かれ、その線上の値をバックグラウンドの値としてバンドの値から減算します。



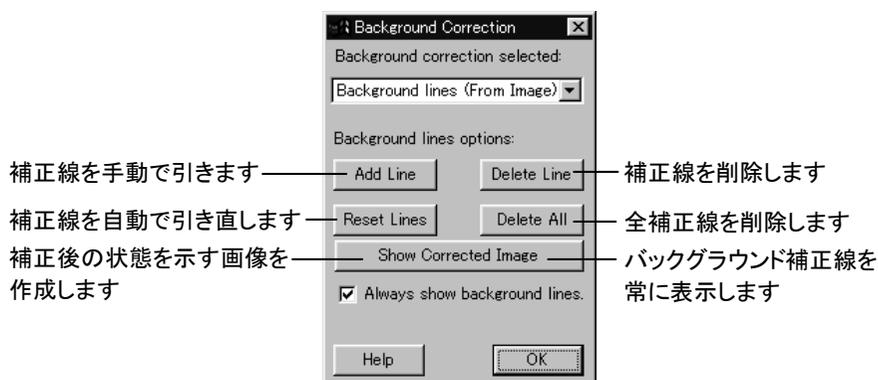
各レーンに最も近い位置の補正線が、そのレーンにとってのバックグラウンドとなります。

From
Image
選択時



紫色のバックグラウンド補正線は、From Imageオプションを選択すると同時に、画像内に自動的に引かれますが、手動で任意の位置に引くこともできます。補正線を手動で引くには、1D-Gel ツールパレットで Background ボタンをクリックして Background Correction ダイアログボックスを開き、以下の手順を実行します。





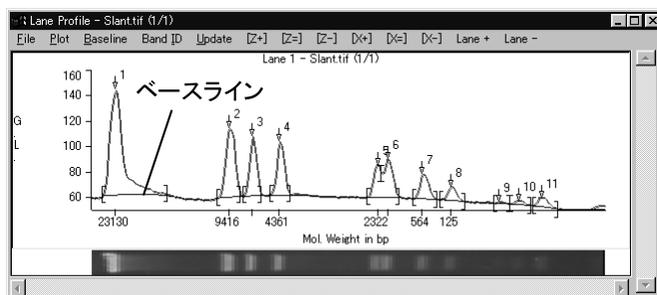
- 新しい補正線を引くには、Add Line (補正線を追加) ボタンをクリックしてから、画像内にカーソルを入れ、補正線を追加したい位置をクリックします。最後に Add Background Lines (バックグラウンド補正線を追加) ダイアログボックスの OK ボタンをクリックします。
- 既存の補正線を削除するには、Delete Line (補正線を削除) ボタンをクリックしてから、画像内の不要な補正線をクリックし、Delete Background Lines (バックグラウンド補正線を削除) ダイアログボックスの OK ボタンをクリックします。
- 全ての補正線を一度に削除するには、Delete All (全削除) ボタンをクリックします。
- 全ての測定線をリセットしてデフォルトの位置に戻すには、Reset Lines (補正線をリセット) ボタンをクリックします。
- バックグラウンドの値を減算した状態の画像を見たいときは、Show Corrected Image (補正後の画像を表示) ボタンをクリックします。補正後の状態を表す画像が、新規画像として作成されます。
- 紫色のバックグラウンド補正線は、通常は Background Correction ダイアログボックスを閉じると同時に消えます。補正線を常に表示させたい場合は、Always show background lines (バックグラウンド補正線を常に表示) オプションを選択します。

注記: Well Origin (ウェル位置補正、2-12ページ)でウェルの位置を指定しているときは、バックグラウンド補正線の長さが不均一になるためFrom Imageオプションを使用できませんので、ご注意ください。

■ Filtered Profile (プロファイルをフィルタ処理):

このオプションは、モフォロジカル切断フィルタを使用して画像のバックグラウンドを抽出し、これを減算します。つまり、フィルタ処理によって画像のピーク部分を全て除去し、残った部分をバックグラウンドとします。

Filtered
Profile
選択時

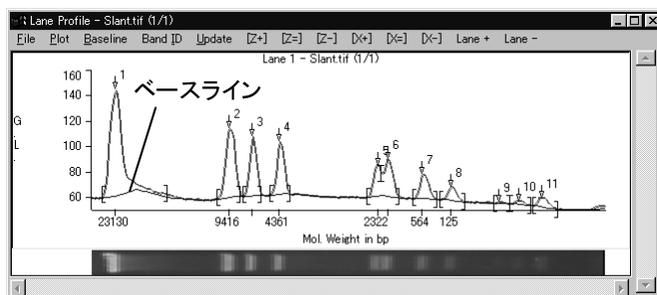


このオプションを選択するとダイアログボックスが開き、Filter diameter (0 to 50% of lane length) [フィルタの直径 (レーンの長さの0~50%)]の値を指定できます。この値はフィルタの直径で、レーンの長さの0~50%の範囲で指定できます。大きい値を指定するほど、ベースラインは平坦になります。

■ Rolling Disk (ローリングディスク):

このオプションは、谷から谷へディスクを転がすことによりバックグラウンドを抽出します。ベースラインは、ディスクの輪郭上の最も高い点を通る軌跡になります。

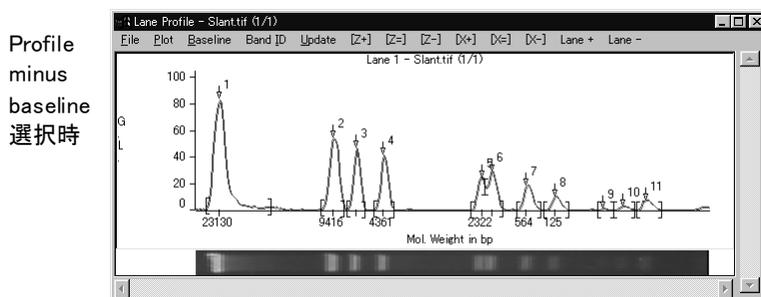
Rolling
Disk
選択時



このオプションを選択するとダイアログボックスが開き、Rolling disk radius (0 to 100% of lane length) [ローリングディスクの半径(レーンの長さの0~100%)]を指定できます。この値はローリングディスクの半径で、レーンの長さの0~100%の範囲で指定できます。大きい値を指定するほど、ベースラインは平坦になります。

■ Profile minus baseline (ベースラインから下を表示しない):

このオプションを選択すると、ベースラインから下の領域 (プロファイルから減算される部分) をラインプロファイルに表示しません (つまり、バックグラウンド減算後のピークのみを表示します)。



バックグラウンド減算後の画像を見たいときは、1D-Gel ツールパレットの Background ボタンをクリックし、Show Corrected Image (補正後の画像を表示) ボタンをクリックして下さい。減算後の状態を表す画像が、新規画像として作成されます。

2.4.2.2 アプライ量による較正

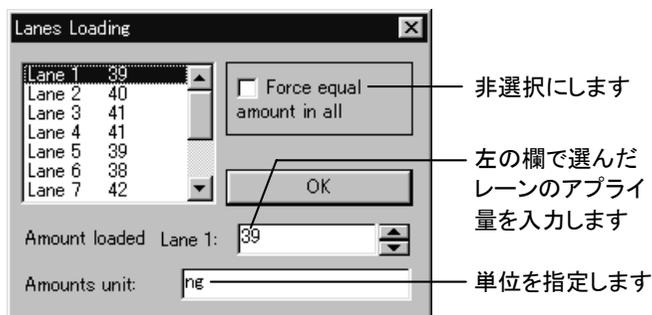
ゲルの各ウェルにアプライした遺伝物質の量が既知であるときは、アプライ量による較正を行いません。

アプライ量による較正では、レーンにアプライされた全体の量を既知の値として、各バンドとレーン全体の比率から個々のバンドの質量(マス)を算出します。例えば、レーンへのアプライ量が 39 ng で、特定のバンドがレーン全体に対して30%の比率を占める場合、そのバンドの質量は $39 \times 0.3 = 11.7$ ng になります。

▼ 操作 — アプライ量による較正:

1. 画像内にレーンとバンドが表示された状態で、1D-Gel ツールパレットの Results(測定結果) ボタンをクリックして、Amounts/Mol. Weights (質量/分子量) ウィンドウを開きます。
2. Show (表示) メニューから Both (両方を表示する) を選択します。
3. Loads (アプライ量) をクリックします。Lanes Loading (各レーンのアプライ量) ダイアログボックスが開きます。
4. Force equal amount in all (全レーンを等量にする) オプションが非選択になっていることを確認します。
5. 左の欄で Lane 1 をクリックして選択してから、Amount loaded in lane 1 (レーン1のアプライ量) 欄に「39」と入力し、リミットチェックボタン をクリックします。

これで、左の欄に“Lane 1 39”と表示されます。



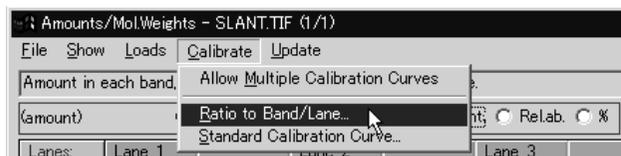
6. 同様に、各レーンの値を以下のように入力します。

Lane 2	→	40
Lane 3	→	41
Lane 4	→	41
Lane 5	→	39
Lane 6	→	38
Lane 7	→	42
Lane 8	→	41
Lane 9	→	39
Lane 10	→	42
Lane 11	→	41
Lane 12	→	39

7. Amounts unit (質量の単位) 欄に、“ng”と入力します。

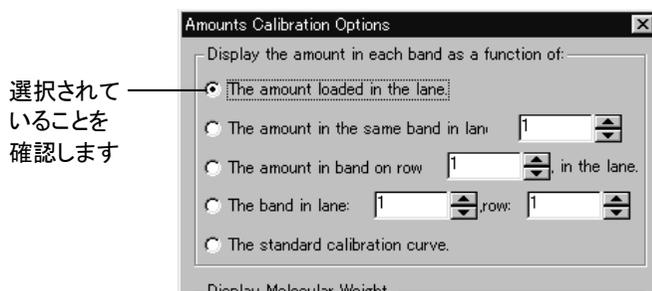
8. 最後に OK をクリックして Lanes Loading ダイアログボックスを閉じます。

9. Calibrate (校正) メニューにある Ratio to Band/Lane (バンド/レーンに対する比) コマンドを実行します。



Amounts Calibration Options (質量校正のオプション) ダイアログボックスが開きます。

10. Display the amount in each band as a function of (各バンドの質量を算出する基準) 欄で、The amount loaded in the lane. (レーンへのアプライ量) オプションが選択されていることを確認し、OK ボタンをクリックします。



11. Amounts/Mol. Weights ウィンドウの上部にある、Amounts (質量) オプションを選択します。



以上で、アプライ量による較正が終了し、各バンドの質量が Amounts/Mol. Weights ウィンドウの [amount] の列に表示されます。

Lanes:	Lane 1 (mol.w.)	(amount)	Lane 2 (mol.w.)	(amount)	Lane 3 (mol.w.)	(amount)	Lane 4 (mol.w.)	(amount)
r1	23130	13.441						
r2								
r3								
r4								
r5								
r6								
r7								
r8	9416	6.7097						
r9								
r10	6557	4.1780			6381	23.457	7536	25.695
r11	4361	3.8190						
r12			3845	20.741				
r13			3275	19.253				
r14								
r15								

注記: アプライ量による較正と、後述の較正曲線による較正は相互排他的です。Calibrate (較正) メニューの Ratio to Band/Lane (バンド/レーンに対する比) コマンドで The amount loaded in the lane. (レーンへのアプライ量) を選択するとアプライ量による較正がかかり、The standard calibration curve. (標準較正曲線) を選択すると較正曲線による較正がかかります。

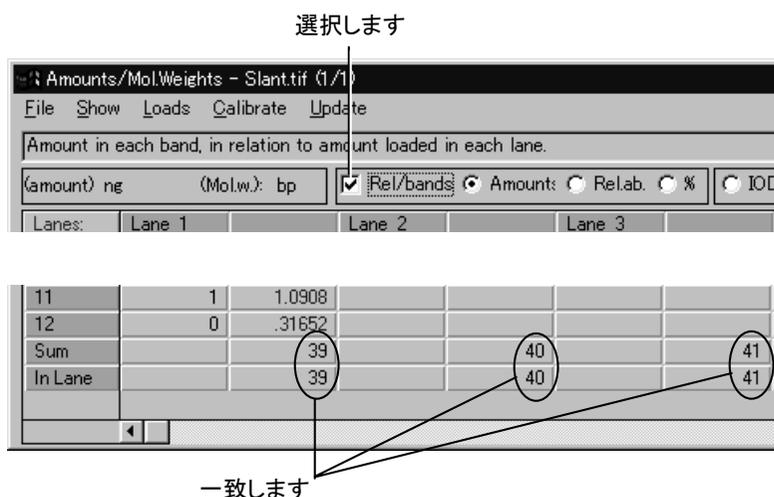
>>> 次のステップ 「2.4.2.3 較正曲線による較正」(2-36ページ)へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】アプライ量による校正 — その他のオプション:

■ レーンの質量の損失を補償する:

Amounts/Mol. Weights ウィンドウの Rel/bands (相対量/バンド) オプションを選択すると、レーン内に検出された質量ではなく、レーンへのアプライ量(上記)に対する相対量として質量を算出します。



これにより、各バンドの質量が比例的に増加してバンド間の空隙部分を補償し、各レーンの質量の合計(Sum)がアプライ量に一致します。

2.4.2.3 校正曲線による校正

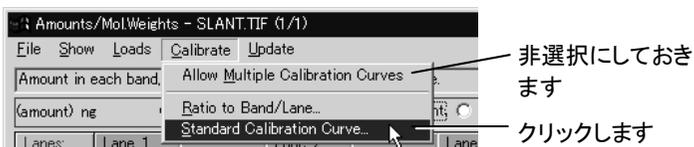
各レーンのウェルへのアプライ量ではなく、特定のバンドの質量が既知である場合は、校正曲線(検量線)による校正を行なうことができます。

以下の操作では、例として1番目のレーンの1番目のバンドの質量が 12.6 ng、2番目のバンドが 6.6 ng、3番目のバンドが 4.2 ngであることが既知のデータとして与えられているものとし、それに基づいて校正曲線を作成して校正を行ないます。

▼ 操作 — 校正曲線による校正

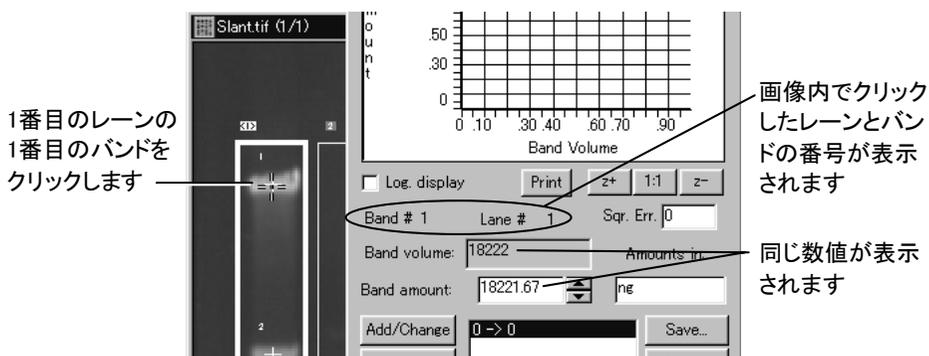
1. 画像内にレーンとバンドが表示された状態で、1D-Gel ツールパレットの Results (測定結果) ボタンをクリックして、Amounts/Mol. Weights (質量/分子量) ウィンドウを開きます。

- Show (表示) メニューから Both (両方を表示する) を選択します。
- Calibrate (校正) メニューから Standard Calibration Curve (標準校正曲線) を選択します(Allow Multiple Calibration Curves は、ここでは非選択にしておきます)。

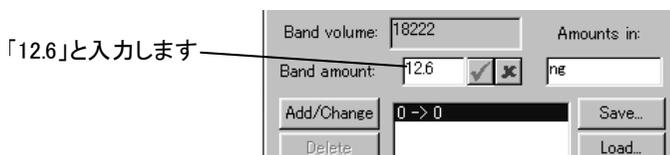


Calibrating amounts from known bands (既知のバンドで質量を校正) ダイアログボックスが表示されます。

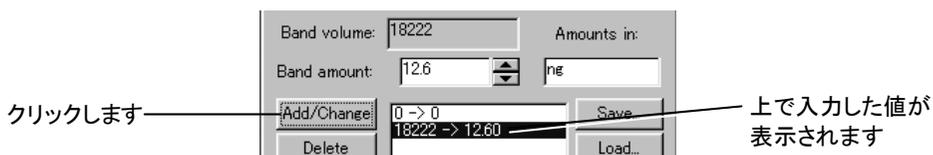
- 解析画像内にカーソルを入れ、カーソルが十字形になったら、1番目のレーンの1番目のバンドをクリックします。Band volume (バンドの量) 欄と Band amount (バンドの既知の質量) 欄に同じ数値が表示されます。



- Band amount 欄に、「12.6」と入力します。

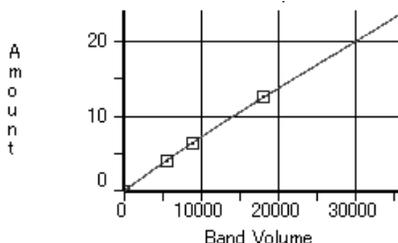


- Add/Change (追加/変更) ボタンをクリックします。入力した質量の値が中央下の欄に表示されます。

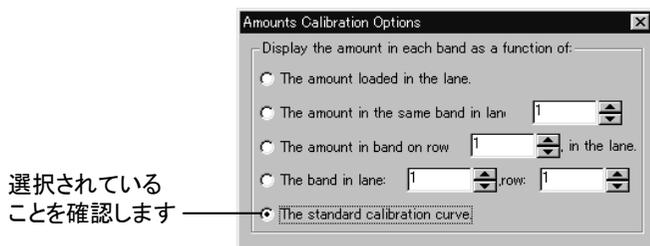


- 同様に、1番目のレーンの2番目のバンドをクリックし、Band amount 欄に「6.6」と入力してから、Add/Change ボタンをクリックします。
- 同様に、1番目のレーンの3番目のバンドをクリックし、Band amount 欄に「4.2」と入力してから、Add/Change ボタンをクリックします。

9. Amounts in (質量の単位) 欄に“ng”と入力します。
10. Fitting Method (あてはめ方式) 欄で Best Fit (最適合わせ込み) を選択します。
中央の較正曲線(検量線)が最適化され、変化します(下図)。



11. OK をクリックして Calibrating amounts from known bands ダイアログボックスを閉じます。
12. Amounts/Mol. Weights ウィンドウの Calibrate (較正) メニューにある Ratio to Band/Lane (バンド/レーンに対する比) コマンドを実行します。
Amounts Calibration Options (質量較正のオプション) ダイアログボックスが開きます。
13. Display the amount in each band as a function of (各バンドの質量を算出する基準) 欄で、The standard calibration curve. (標準較正曲線) オプションが選択されていることを確認し、OK をクリックします。



14. Amounts/Mol. Weights ウィンドウの上部にある、Amounts (質量) オプションを選択します。



上記の操作で、画像内のバンドの質量が、バンドの既知の質量に基づいて較正されました。各バンドの質量は、Amounts/Mol. Weights ウィンドウの [amount] の列に表示されます。

注記: 前述のアプライ量による校正と、上記の校正曲線による校正は相互排他的です。Calibrate (校正) メニューの Ratio to Band/Lane (バンド/レーンに対する比) コマンドで The amount loaded in the lane. (レーンへのアプライ量) を選択するとアプライ量による校正がかかり、The standard calibration curve. (標準校正曲線) を選択すると校正曲線による校正がかかります。

>>> 次のステップ「2.4.3 積分光学濃度 (IOD) の測定」(2-42ページ) へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】校正曲線による校正 — その他のオプション:

■ Fitting Method (あてはめ方式) 欄で選択可能なオプション:

Calibrating amounts from known bands ダイアログボックスの Fitting Method 欄では、曲線のあてはめ用の関数として、以下のオプションを選択できます。

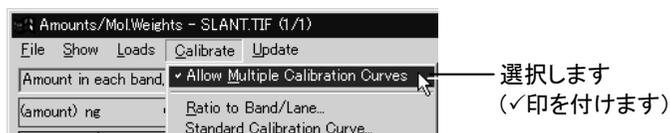
- 1st order Lagrange: 1次ラグランジュ
- 2nd order Lagrange: 2次ラグランジュ
- 3rd order Lagrange: 3次ラグランジュ
- 1st order polynomial: 1次多項式
- 2nd order polynomial: 2次多項式
- 3rd order polynomial: 3次多項式
- Best Fit: 最適合わせ込み(これを選択すると、最適なあてはめ関数を自動選択します)

■ 校正曲線の下に表示される Sqr. Error (二乗誤差):

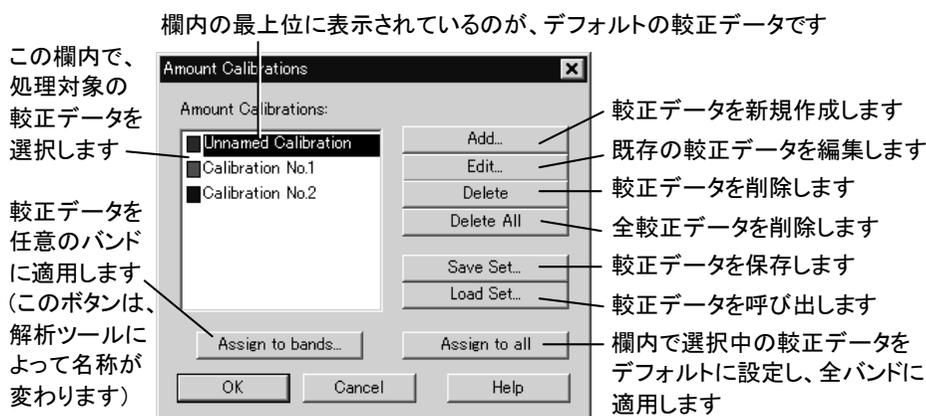
Sqr. Error は、Fitting Method 欄で polynomial オプションが選択された時に、校正曲線に対する相関係数を表示します。この値が0に近いほど、理想的な曲線になります。

■ 複数の校正データセットを使用する:

Gel-Pro Analyzer に複数の校正データセットを登録して、切り替えながら使用することができます。これを行なうには、Amounts / Mol. Weights ウィンドウの Calibrate メニューにある Allow Multiple Calibration Curves (複数の校正曲線を使用する) オプションを選択します(クリックして「✓」印を付けます)。

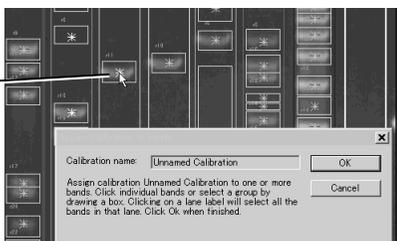


Allow Multiple Calibration Curves オプションを選択してから Standard Calibration Curve (標準構成曲線)コマンドを実行すると、次の Amount Calibrations (質量較正データセット)ダイアログボックスが表示されます。



- 較正データを新規作成して登録するには、Add (追加)ボタンをクリックします。Calibrating amounts from known bands (既知のバンドで質量を較正) が開きますので、2-37ページの4.以降の手順で較正を行なって下さい。
- 較正が終了すると、較正データがGel-Pro Analyzerに登録され、上の Amount Calibrations ダイアログの欄に表示されます。
- 既存の較正データの内容を変更するには、その較正データ名を Amount Calibrations 欄内で選択してから、Edit (編集)ボタンをクリックして下さい。すると Calibrating amounts from known bands ダイアログが開きますので、2-37ページの4.以降の手順で較正をやり直して下さい。
- 較正データを削除するには、Amount Calibrations 欄内で較正データ名を選択してから Delete (削除)ボタンをクリックします。全較正データを一括削除するには、Delete All (全削除)ボタンをクリックします。
- Amount Calibrations 欄に表示されている全較正データをファイルに保存するには、Save Set (較正データセットを保存)ボタンをクリックし、ファイル名を付けて保存します(ファイルは "*.cst"形式になります)。
- 較正データをファイル(".cst")から呼び出すには、Load Set (較正データセットをロード)ボタンをクリックし、ファイルを選択して開きます。ファイルから呼び出された較正データは、Amount Calibrations 欄に表示されます。
- Amount Calibrations 欄に表示されている較正データから一つを選んで、画像内の特定のバンドに適用したいときは、Amount Calibrations 欄で較正データを選択してから、Assign to bands (指定バンドに適用)ボタンをクリックします。Assign Calibration to bands (較正データを指定したバンドに適用)ダイアログが開き、画像内の全バンドに赤い「*」印が付きますので、較正データを適用したいバンドをクリックします。

校正データを適用したいバンドをクリックして、黄色の * 印を付けます



クリックされたバンドには黄色の「*」印が付きます。最後にAssign Calibration to bands ダイアログのOK ボタンをクリックします。

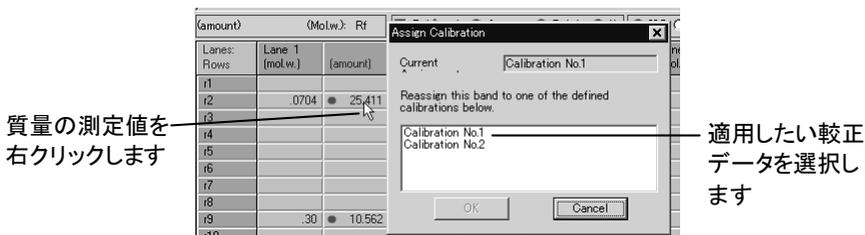
注記: Amount Calibrations ダイアログボックスは、ドットプロット解析ツール (Dot Blot) や、濃度の解析ツール (Area Density) からでも使用できますが、その場合は、Assign to bands ボタンの名前が次のように変わります。

1D-Gelsでのボタン名	DotBlotでのボタン名	Area Densityでのボタン名
Assign to bands (指定バンドに適用)	Assign to dots (指定ドットに適用)	Assign to areas (指定領域に適用)

- Amount Calibrations 欄に表示されている校正データから一つを選んでデフォルトの校正データに設定し、同時に画像内の全バンドに適用したいときは、校正データを選択してから、Assign to all (全バンドに適用) ボタンをクリックします。

ボタンをクリックすると、校正データが全バンドに適用され、同時に選択中の校正データが Amount Calibrations 欄の最上位に表示されます。

- Amount Calibrations ダイアログボックスでの作業が終了したら、OK ボタンをクリックして下さい。
- Amount Calibrations ダイアログで複数の校正データを作成して登録している場合、測定結果の表からバンドに校正データを適用することもできます。これを行なうには、Amounts/Mol. Weights ウィンドウの中で、バンドの質量の測定値 (Amount) を右クリックします。すると次のダイアログが開きます。



校正データを欄内で選択してから、OK をクリックして適用します。

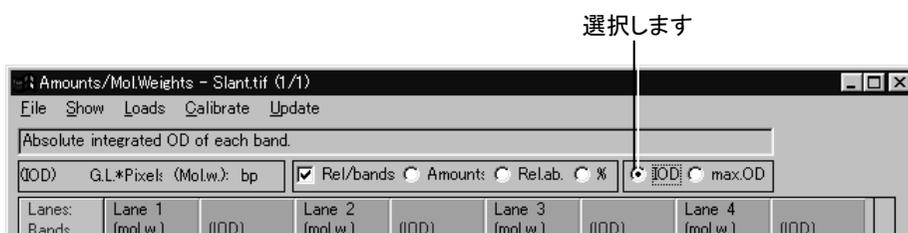
注記: 上記の操作は、ドットプロット解析ツールの測定結果ウィンドウ (Integrated Intensity または Calibrated Mass) や、濃度測定ツールの Area Density Tool ウィンドウ内の測定値を右クリックすることでも実行可能です。

2.4.3 積分光学濃度 (IOD) の測定

解析画像内のレーンとバンドが検出されたら、バンドの積分光学濃度を算出できません。手順は以下の通りです。

▼ 操作 – 積分光学濃度(IOD)の測定

1. Amounts/Mol. Weights (質量/分子量) ウィンドウの Show (表示) メニューから Amount or IOD (質量または積分光学濃度) オプション、または Both (両方を表示する) オプションを選択します。
2. Amounts/Mol. Weights ウィンドウ上部の IOD (積分光学濃度) オプションを選択します。



この操作で、[IOD]の列に積分光学濃度が表示されます。

The screenshot shows the same window as above, but now the table is populated with data. The 'IOD' column is highlighted. The data is as follows:

Lanes: Rows	Lane 1 (mol.w.)	(IOD)	Lane 2 (mol.w.)	(IOD)	Lane 3 (mol.w.)	(IOD)	Lane 4 (mol.w.)	(IOD)
r1	23130	18222						
r2								
r3								
r4								
r5								
r6								
r7								
r8	9416	9096.1						
r9							7536	7013.8
r10	6557	5664			6381	7186.4		
r11	4361	5177.2						
r12			3845	7364.1				
r13			3275	6837.9				
r14								
r15								

>>> 次のステップ「2.4.4 相対量の算出」(次ページ)へ進んで下さい。

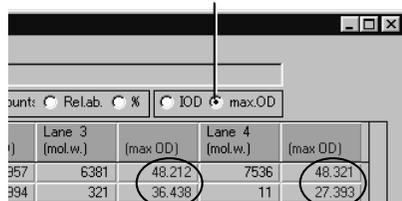
以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】積分光学濃度の測定 — その他のオプション:

■ max. OD (最大光学濃度) を算出する:

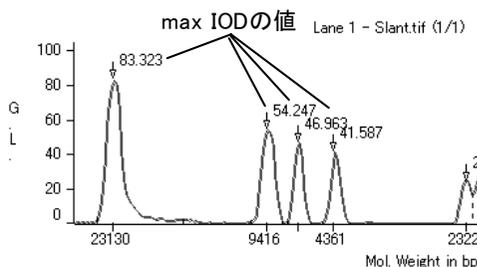
Amounts/Mol. Weights ウィンドウの Show メニューから Amount or IOD オプションないし Both オプションを選択した状態で、Amounts/Mol. Weights ウィンドウの上部にある max. OD オプションを選択します。レーンプロファイルの各ピークの値が [max OD] の列に表示されます。

選択します



	Lane 3 (mol.w.)	(max OD)	Lane 4 (mol.w.)	(max OD)
957	6381	48.212	7536	48.321
994	321	36.438	11	27.393

値が [max OD] の列に表示されます



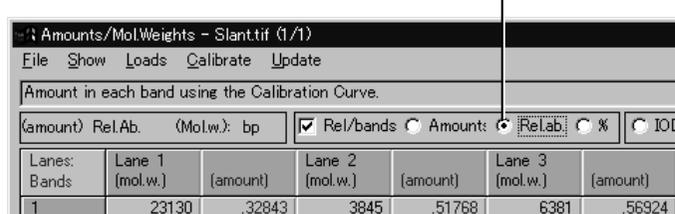
2.4.4 相対量の算出

解析画像内のレーンとバンドが検出されたら、特定のバンドを基準バンドに指定して、それに対する他のバンドの相対量を算出できます。手順は以下の通りです。

▼ 操作 — 相対量の算出:

1. Amounts/Mol. Weights (質量/分子量) ウィンドウの Show (表示) メニューから Amount or IOD (質量または積分光学濃度) オプション、または Both (両方を表示する) オプションを選択します。
2. Amounts/Mol. Weights ウィンドウ上部の Rel. ab. (相対量) オプションを選択します。

選択します



Lanes:	Lane 1 (mol.w.)	(amount)	Lane 2 (mol.w.)	(amount)	Lane 3 (mol.w.)	(amount)
Bands	23130	.32843	3845	.51768	6381	.56924

3. Calibrate (校正) メニューの Ratio to Band/Lane (バンド/レーンに対する比) コマンドを実行して Amounts Calibration Options (質量校正のオプション) ダイアログボックスを開きます。
4. Display the amount in each band as a function of (各バンドの質量を算出する基準) 欄で、以下のいずれかのオプションを指定します。

- The amount in the same band in lane ... (相対量の基準となるレーンの番号):

このオプションを選択し、右の欄内で基準レーンの番号を指定すると、そのレーン内のバンドの値が全て「1」に正規化され、画像内の対応する横列のバンドの値が、全て基準からの相対値になります。例えば、1番のレーンを基準レーンに指定すると、1番のレーン内のバンドの値が全て「1」になります。同時に、1番のレーンの各バンドに対して水平方向で対応する他のレーンのバンドが相対値で算出されます。

Lanes: Rows	Lane 1 (Rel.Ab.)	Lane 2 (Rel.Ab.)	Lane 3 (Rel.Ab.)	Lane 4 (Rel.Ab.)	Lane 5 (Rel.Ab.)	Lane 6 (Rel.Ab.)	Lane 7 (Rel.Ab.)
r1	1						
r2							undet.
r3	1				.63565	.44670	.84066
r4	1		1.2536	1.2249		.97703	
r5							undet.
r6	1						1.7175
r7							undet.
r8	1						undet.
r9	1						2.3826

- The amount in band on row ..., in the lane (相対量の基準となるバンド横列の番号):

このオプションを選択し、欄内で基準のバンド横列の番号を指定すると、その横列のバンドの値が全て「1」に正規化され、各レーン内の他のバンドの値が、その基準からの相対値になります。

Lanes: Rows	Lane 1 (Rel.Ab.)	Lane 2 (Rel.Ab.)	Lane 3 (Rel.Ab.)	Lane 4 (Rel.Ab.)	Lane 5 (Rel.Ab.)	Lane 6 (Rel.Ab.)	Lane 7 (Rel.Ab.)
r1	3.0004						
r2							undet.
r3	1.5715					undet.	.71848
r4	1		1	1			1
r5						.83924	
r6	.91418						undet.
r7						.93058	undet.
r8	.52080						
r9	.80594						undet.

- The band in lane: ..., row: ... (相対量の基準となるレーンの番号...バンドの番号...):
このオプションを選択し、最初の欄でレーンを、次の欄でバンドの横列を指定すると、画像内の1個のバンドを基準バンドに指定し、それ以外の全バンドの値をその基準からの相対値として算出できます。

Lanes:	Lane 1 (Rel.Ab.)	Lane 2 (Rel.Ab.)	Lane 3 (Rel.Ab.)	Lane 4 (Rel.Ab.)	Lane 5 (Rel.Ab.)	Lane 6 (Rel.Ab.)	Lane 7 (Rel.Ab.)
r1	1						
r2							.38352
r3	.52376				.33293	.23396	.44031
r4	.33329		.41783	.40825		.32563	
r5						.27328	
r6	.30469						.52329
r7						.30303	.62202
r8	.17358						
r9	.26861						.64001

- 上記のオプションのいずれかを設定した後、Amounts Calibration Options ダイアログボックスの OK ボタンをクリックします。これで、指定した基準に基づいて、画像内の各バンドの相対量が算出され、[Rel. Ab.] の列に表示されます。

Lanes:	Lane 1 (Rel.Ab.)	Lane 2 (Rel.Ab.)	Lane 3 (Rel.Ab.)	Lane 4 (Rel.Ab.)	Lane 5 (Rel.Ab.)	Lane 6 (Rel.Ab.)	Lane 7 (Rel.Ab.)
r1	1						undet.
r2							undet.
r3	1				.63565	.44670	.84066
r4	1		1.2536	1.2249		.97703	
r5						undet.	
r6	1						1.7175
r7		undet.				undet.	undet.
r8	1						
r9	1						2.3826
r10							
r11	1		1.8289				5.7340
r12	1					1.7897	
r13				23.780		12.832	
r14	1						
r15	1						5.4354

注記: 相対量を算出する場合、対応する基準バンドを持たないバンドの値は、“undet.” (測定不能) と表示されます。

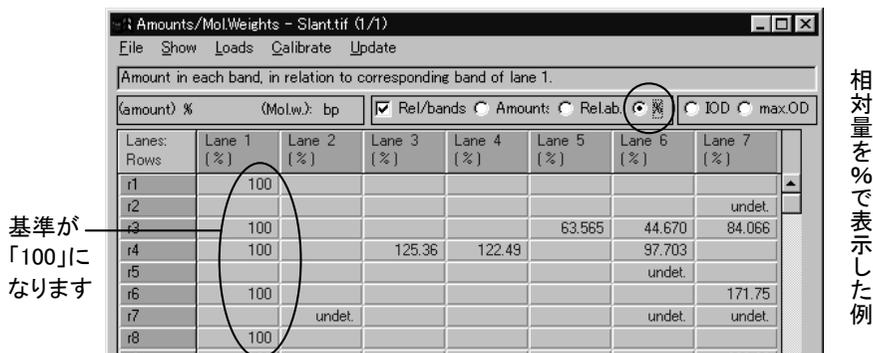
>>> 次のステップ「2.4.5 レーンプロファイル」(2-46ページ)へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】相対量の算出 – その他のオプション:

- 相対量の基準バンドの値を 100% に正規化して、他のバンドの値をパーセンテージで算出させる:

これを行なうには、Amounts/Mol. Weights ウィンドウの上部にある % オプションを選択します。



2.4.5 レーンプロファイル

1次元ゲルの解析では、1D-Gel ツールパレットの Lanes ボタンで画像内のレーンとバンドを検出すると同時に、Lane Profile (レーンプロファイル) ウィンドウが表示されます。

このウィンドウは、ゲル画像内の各レーン、ないし複数のレーンのプロファイル(濃度断面)をグラフ表示するものです。

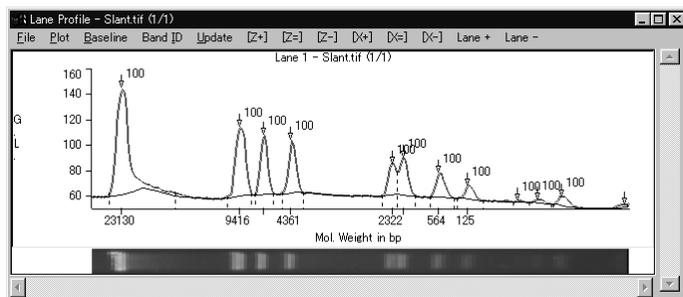
▼ 操作 – レーンプロファイル:

<レーンプロファイルを開く>

レーンプロファイル (Lane Profile ウィンドウ) は、通常は1D-Gel ツールパレットの Lanes (レーン検出) ボタンでレーンとバンドの検出を行なうと同時に、自動的に表示されます。もしレーンプロファイルが画面に表示されていないときは、次の操作で表示できます。

1. Gel-Pro Analyzer の 1D-Gels (1次元ゲル解析) メニューにある Show Graph (レーンプロファイルを表示) コマンドを実行します。

Lane Profile ウィンドウが表示されます。



<1本のレーンプロファイルを見る>

2. レーンプロファイルを1本ずつ見たいときは、Lane Profile ウィンドウの Plot (プロット) メニューにある Show single lane (単一レーンを表示) オプションをクリックして選択してから、Lane Profile ウィンドウの上部にある Lane + ボタンまたは Lane - ボタンをクリックします。

表示中のレーンの番号は、レーンプロファイルの上部に表示されます。

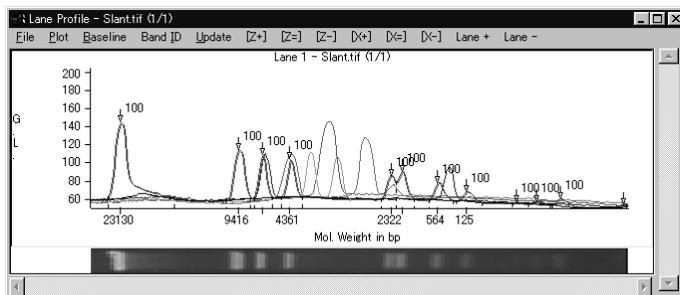


注記: Lane + ボタンまたは Lane - ボタンをクリックする代わりに、解析画像内のレーンのアウトライン(各レーンを囲む色付きの矩形枠)を直接クリックしても、表示されるレーンを切り替えることができます。

<複数のプロファイルを重ね表示する>

3. 複数のレーンプロファイルを重ねて見たいときは、Plot メニューにある Show multiple lanes (複数レーンを表示) オプションをクリックして選択してから、解析画像内の複数のレーンをクリックします。クリックされたレーンに対応するプロファイルが、Lane Profile ウィンドウに重ね表示されます。

複数の
プロファイルを
重ね表示した例



4. 全レーンを表示したいときは、Plot メニューから Show all lanes (全レーンを表示) オプションを選択します。

>>> 次のステップ「2.4.6 表示オプションを使用する」(2-50ページ)へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】レーンプロファイル — その他のオプション:

■ レーンプロファイルの File (ファイル) メニュー:

グラフや、グラフの元データの出力を行なうコマンドがあります。データの出力方法は、「レーンプロファイルの出力オプション」(2-59ページ)をご覧ください。

■ レーンプロファイルの Plot (プロット) メニュー:

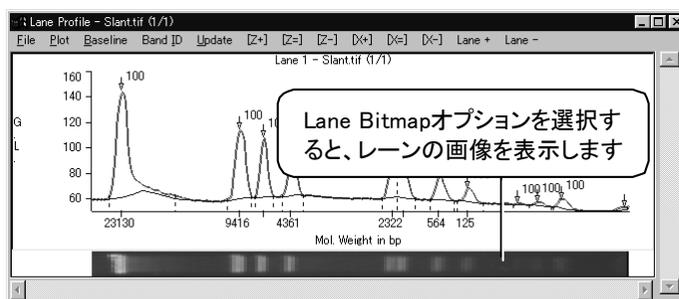
レーンプロファイルに表示するレーンを選択します。

- Show single lane (単一レーンを表示): 単一のレーンを表示します。

表示するレーンを選択するには、そのレーンを解析画像内でクリックするか、あるいは Plot メニュー内に表示されるレーンの番号 (“Lane 1”, “Lane 2”など) をクリックします。

注記: Lane + および Lane - ボタンで表示するレーンを切り替える時は、この Show single lane オプションを選択しておく必要があります。

- Show multiple lanes (複数のレーンを表示): このオプションを選択してから画像内の複数のレーンをクリックすると、クリックした複数のレーンプロファイルが重ね表示されます。
- Show all lanes (全レーンを表示): 全レーンを重ねて表示します。
- Lane Bitmap (レーンのビットマップを表示): このオプションを選択すると、レーンプロファイルの下に、現在選択中のレーンの画像を横向きに表示します。



■ レーンプロファイルの Baseline (ベースライン) メニュー:

このメニューには、バックグラウンド補正を行なうコマンドが表示されます。このメニューのコマンドについて詳しくは、「2.4.2.1 バックグラウンドの補正」(2-27ページ) をご覧下さい。

■ レーンプロファイルの Band ID (バンドID) コマンド:

このコマンドは、バンドのラベル(標識)の表示方法、およびバンドの検出方法を指定する Bands Options (バンドのオプション) ダイアログボックスを表示します。バンドのラベルの表示方法については、「バンドに任意のラベルを付ける」(2-53ページ) をご参照下さい。バンドの検出方法については、「レーン・バンド検出 – その他のオプション」(2-12ページ) をご参照下さい。

■ レーンプロファイルの Update (更新) コマンド:

このコマンドをクリックすると、レーンプロファイルの表示を更新します。

■ [Z+]、[Z=]、[Z-] ボタン:

これらのボタンは、レーンプロファイルのグラフを垂直方向に拡大・縮小します。[Z+]が拡大、[Z-]が縮小、[Z=]が等倍の表示になります。グラフの細部が見にくい時に使用します。

■ [X+]、[X=]、[X-] ボタン:

これらのボタンは、レーンプロファイルのグラフを水平方向に拡大・縮小します。[X+]が拡大、[X-]が縮小、[X=]が等倍の表示になります。グラフの細部が見にくい時に使用します。

注記: このボタンの動作は、X-Zoom MW Lines (水平方向ズーム時の分子量線) に関係します。詳しくは、2-55ページをご覧下さい。

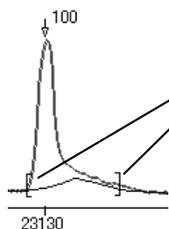
■ Lane +、Lane - ボタン:

これらのボタンは、Plot メニューで Show single lane (単一レーンを表示) が選択されている時に、表示するレーンを選択するのに使用します。Lane +/Lane - をクリックすると、表示されるレーンが切り替わります。

注記: これらのボタンは、Plot メニューの Show single lane オプションを選択してからご使用下さい。

■ 谷マーカ:

このマーカはマウスでドラッグでき、バンドのピークの範囲を調節するのに使用します。詳しくは、2-13、2-54、2-56ページをご覧下さい。



谷マーカ
ドラッグしてバンドの範囲を変更できます
[Preference Viewsの設定により、このような角カッコ形のほか、点線やハッチパターン
の形になることもあります(詳しくは2-56ページ
をご覧ください)]

2.4.6 表示オプションを使用する

Gel-Pro Analyzer では、画像やグラフ等の表示を細かく設定できます。以下では、例として幾つかの表示設定を行ないます。

▼ 操作 – 表示オプションを使用する:

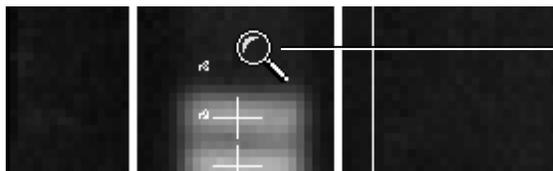
<画像全体を拡大・縮小する>

1. 解析画像の表示の拡大・縮小は、ツールバーのズームツールボタン(下図)、ないし画像内を右クリックして表示されるコンテキストメニューで行ないます。



ズームツールボタン

ツールバーのズームツールボタンをクリックして選択し、カーソルを画像内に入れると虫メガネの形になりますので、拡大したい任意の箇所を2回クリックして下さい。2回クリックしたことにより、400%の表示サイズになります。



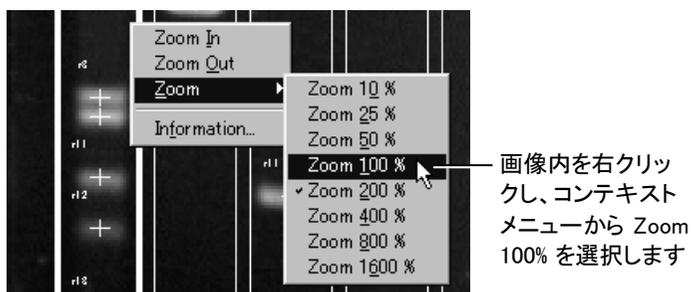
ズームツールで
画像内をクリック
すると拡大します

この状態で、解析画像の細部を容易に確認できます。

2. 次に、[Shift] キーを押しながら画像内を1回クリックします。これで画像の表示が縮小され、200%に戻ります。

注記: ズームツールは、他の解析ツールの動作中は使用できないことがあります。そのような場合は、次の手順で、コンテキストメニューの Zoom オプションを使用します。

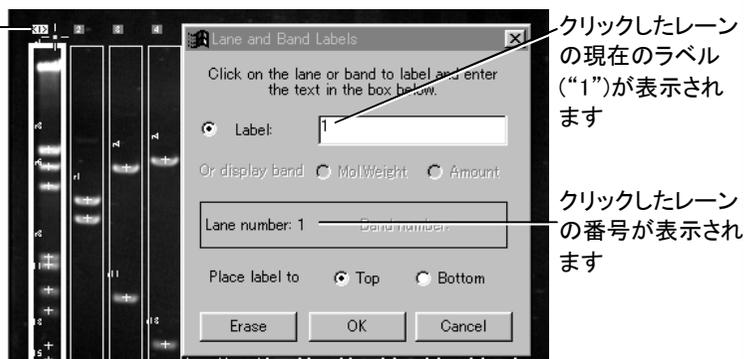
- 次に、カーソルを解析画像内に入れて右クリックし、コンテキストメニューから Zoom — Zoom 100% を選択します。これで、画像の表示サイズは元に戻ります。



<レーンに任意のラベル(標識)を付ける>

- 1D-Gel ツールパレットの Lanes (レーン検出) ボタンをクリックして Lanes ダイアログボックスを開き、Labels (ラベル) ボタンをクリックします。Lane and Band Labels ダイアログボックスが開いたら、以下のように操作します。
- 1番目のレーンの上に表示されている番号にマウスを合わせ、十字カーソルが表示されたら、クリックします。

1番目のレーンの上にある、レーンの番号をクリックします



注記: この時、レーンのアウトラインの内部をクリックしないように注意して下さい。レーンの上の番号を正確にクリックして下さい。

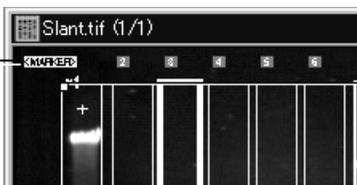
- Label (ラベル) 欄に、現在のラベル (“1”) が表示されていますので、これを削除し、“MARKER” とタイプします。

注記: ラベルに使用できるのは、半角英数文字で15文字までです。

- OK ボタンをクリックします。

これで、1番目のレーンの上に、“MARKER” と表示されます。

1番目のレーンのラベルが“MARKER”に変更されました



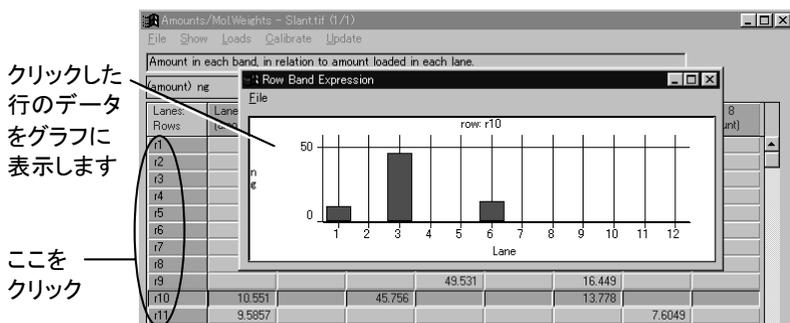
>>> 次のステップ「2.5 測定結果を外部へ出力する」(2-57ページ)へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】その他の表示オプション:

■ バンドの横列の測定値をグラフで表示する:

1D-Gel ツールパレットの Results (測定結果) ボタンで Amounts/Mol. Weights (質量/分子量) ウィンドウを開いた状態で、Show (表示) メニューの Row Band Graph (バンド横列のグラフを表示) コマンドを実行します。Row Band Expression (バンド横列の発現) グラフが表示されたら、Amounts/Mol. Weights ウィンドウ内で、表示したいバンドの横列をクリックして選択します (横列を選択する時は、ウィンドウの左端の Lanes: Rows の列に表示される “r1”, “r2” 等のセルをクリックして下さい)。



注記: Row Band Graph コマンドは、Packed (詰めて表示) オプション (2-25ページ参照) の選択時は使用できません。

■ レーンのラベルをレーンの上でなく、下に表示する:

ラベルをレーンの上でなく、レーンの下に表示したいときは、1D-Gel ツールパレットの Lanes (レーン検出) ボタンをクリックして Lanes ダイアログボックスを開き、Labels (ラベル) ボタンをクリックして Lane and Band Labels ダイアログボックスを開きます。このダイアログで、Place label to (ラベルの表示位置) 欄で Bottom (下) を選択してから OK をクリックします。

■ レーンのラベルを削除する:

レーンのラベルを削除するときは、Lane and Band Labels ダイアログボックス(上記参照)を開いた状態で、削除したいレーンの番号を十字カーソルでクリックして選択してから、Erase (削除) ボタンをクリックします。

■ バンドに任意のラベル(標識)を付ける:

1D-Gel ツールパレットの Bands (バンド検出) ボタンをクリックして Bands ダイアログボックスを開き、Labels (ラベル) ボタンをクリックします。Lane and Band Labels ダイアログボックスが開いたら、以下のように操作します。

1. 解析画像内にカーソルを入れ、ラベルを付けたいバンドのマーカ(+)にカーソルを合わせて、“=”形のカーソルが表示されたらクリックします。
2. Label (ラベル) 欄に、表示したいラベルをタイプします(半角英数文字で8文字まで)。
3. OK ボタンをクリックします。

ラベルの表示位置は、Place label to (ラベルの表示位置) 欄で変更できます。Upper Left (左上)、Upper Right (右上)、Center Above (真上)、Lower Left (左下)、Lower Right (右下) のいずれかの位置を選択できます。

注記: ラベルとして測定値を表示したいときは、解析画像内のバンドをクリックして選択した後、Or display band (バンドの測定値を表示) 欄で Mol. Weight (分子量) または Amount (質量) を選択します。

■ バンドに付けた任意のラベルを削除する:

バンドの任意のラベルを削除するときは、バンドの番号を十字カーソルでクリックして選択した後、Erase (削除) ボタンをクリックします。

■ 全バンドのラベルとして、バンドの番号や測定値を表示させる:

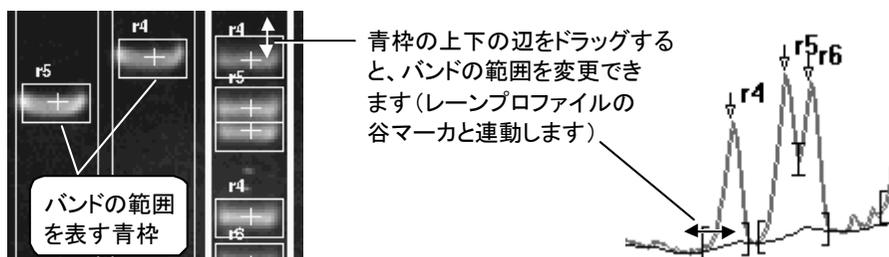
1D-Gel ツールパレットの Bands (バンド検出) ボタンをクリックして Bands ダイアログボックスを開き、Options (オプション) ボタンをクリックして Bands Options (バンドのオプション) ダイアログボックスを開きます。その後、以下のように操作します。

- バンドのラベルとしてバンドの番号を表示させたい時は、ダイアログの上部にある Band numbers (バンド番号) オプションを選択し、OK をクリックします。
- ラベルとして測定値を表示させたい時は、Molecular Weight (分子量) または Amount (質量) オプションを選択して、OK をクリックします。
- バンドのラベルを表示させたくない時は、None (なし) を選択してから OK をクリックします。

■ 各バンドの範囲を表示させる:

それぞれのバンドの範囲 (バンドの質量、IODの値を測定する時に、値を取り込む範囲) を解析画像内に表示したい時は、1D-Gel ツールパレットの Bands (バンド検出) ボタンをクリックして Bands ダイアログボックスを開き、Options (オプション) ボタンをクリックします。Bands Options (バンドのオプション) ダイアログボックスが開いたら、ダイアログの下部にある Show band extents. (バンドの範囲を表示) オプションを選択し、OK をクリックします。

これで、解析画像内の各バンドを囲む、青い枠が表示されます。

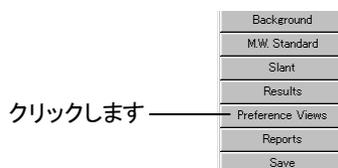


この枠の上辺と下辺をドラッグして、バンドの範囲を変更できます。

注記: バンドを囲む青い枠の上辺と下辺は、Lane Profile ウィンドウに表示される谷マーカ(2-13、2-56ページ参照)に対応し、ドラッグすると連動します。

■ ラベルの文字色を変更する:

1D-Gel ツールパレットの Preference Views (表示の初期設定) ボタン(下図)をクリックして Data Views (データの表示) ダイアログボックスを開き、Color Palette (カラーパレット) タブで指定します。



- Marker Lane Colors (レーンの色): レーンのアウトラインの色と、レーン番号の色を、レーン毎に指定します。色を変更するには、右側の色表示フィールドをダブルクリックして、「色」ダイアログボックスから色を選択します。
- Band Label Colors (バンドのラベルの色): バンドのラベルの色を、ラベルの種類毎に指定します。色を変更するには、右側の色表示フィールドをダブルクリックして、「色」ダイアログボックスから色を選択します。
- Component Colors (各部の表示色): 画像内に表示される各種データのラベル色を、データの種類毎に指定できます。色を変更するには、右側の色表示フィールドをダブルクリックして、「色」ダイアログボックスから色を選択します。

- Color Lane Text (レーン番号を色表示): このオプションを選択すると、レーン番号を色分け表示します。

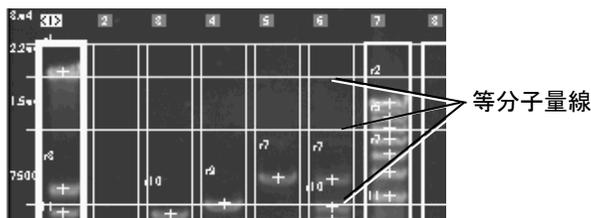
■ ラベルの文字を大きくする:

1D-Gel ツールパレットの Preference Views (表示の初期設定) ボタンをクリックして Data Views (データの表示) ダイアログボックスを開き、View Settings (表示設定) タブの Large Label Text (大きいラベル文字) を選択します。

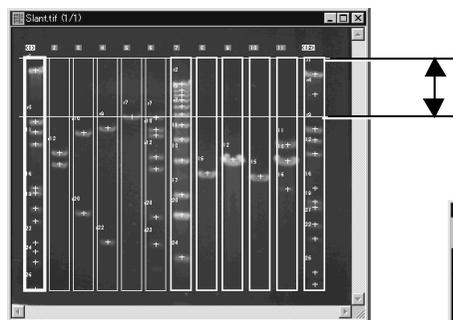
■ その他の表示設定:

1D-Gel ツールパレットの Preference Views (表示の初期設定) ボタンをクリックして Data Views (データの表示) ダイアログボックスを開くと、View Settings (表示設定) タブのオプションで以下の設定が可能です。

- Band Label Position (バンドラベルの位置): この欄で、バンドのラベルの表示位置を指定できます。Upper Left (左上)、Upper Right (右上)、Center Above (真上)、Lower Left (左下)、Lower Right (右下) のいずれかの位置を選択できます。
- Background Lines (バックグラウンド補正線を表示): このオプションを選択すると、バックグラウンドの補正を From Image (値を画像から取得) オプションで行なっている時に、紫色のバックグラウンド補正線(2-30ページ)を画像内に常時表示します。
- Slant Lines (スマイリング補正線): このオプションを選択すると、スマイリング補正を行なった時に、黄色のスマイリング補正線(2-22ページ)を画像内に常時表示します。
- iso-MW Lines (等分子量線): このオプションを選択すると、画像内に等分子量線を表示します。

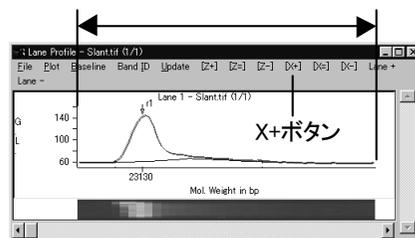


- Well Origin Line (ウェル位置補正線): 1D-Gel ツールパレットの Well Origin ボタンでウェルの位置を補正した場合、補正線を表示します(2-12ページを参照)。
- X-Zoom MW Lines (水平方向ズーム時の分子量線): このオプションを選択すると、Lane Profile ウィンドウの [X+] ボタンでレーンプロファイルを水平方向に拡大表示した時に、レーンプロファイルに表示されている範囲を解析画像内に表示します。



X-Zoom MW Lines:

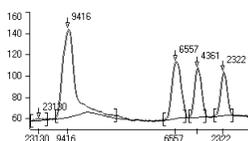
レーンプロファイルをX+ボタンでX方向に拡大表示した時、表示中の範囲に対応する部分(←→)を解析画像内に示します



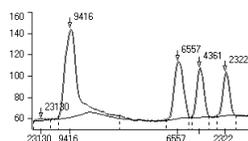
■ レーンプロファイルのラベル表示を変更する:

Lane Profile ウィンドウ内の表示オプションを変更するには、1D-Gel ツールパレットの Preference Views (表示の初期設定) ボタンをクリックして Data Views (データの表示) ダイアログボックスを開き、View Settings (表示設定) タブの Profile Options (プロファイルのオプション) 欄で指定します。

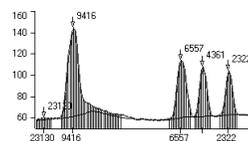
- Band Indicator (バンドの谷マーカ): 谷マーカの表示を変更します。None (なし)、Brackets (角カッコ形)、Dotted Line (点線)、Hatch Pattern (ハッチパターン) のいずれかを選択できます。



Brackets 選択時



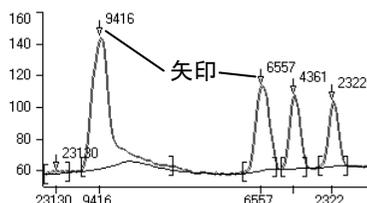
Dotted Line 選択時



Hatch Pattern 選択時

いずれの谷マーカも、ドラッグすることでバンドのピークの範囲を変更できます(2-13、2-54ページを参照)。

- Arrows on Peaks (ピーク上に矢印を表示): このオプションを選択すると、レーンプロファイル内のピークを示す矢印が表示されます。



- Large Label Text (大きいラベル文字): 解析画像内やレーンプロファイル内のラベル(レーン・バンドの番号、数値など)を大きい文字で表示します。

■ 表示設定を保存して再呼び出します:

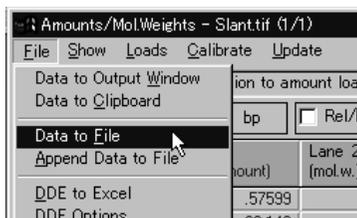
ラインプロファイルの表示設定や、ラベルの表示設定の一部は、Data Views (データの表示) ダイアログボックスの下部にある Save (保存) ボタンをクリックするとファイル (*.vws) に保存でき、Load (ロード) ボタンで再び読み込むことができます。

2.5 測定結果を外部へ出力する

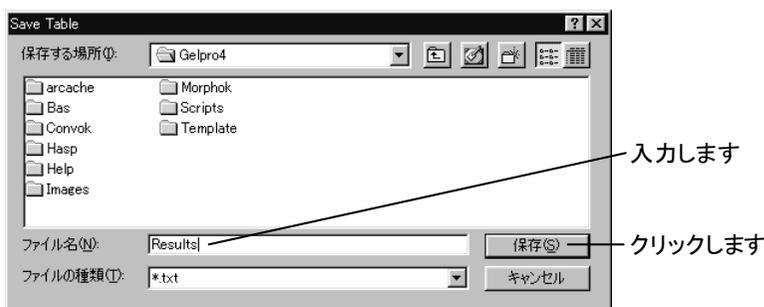
Gel-Pro Analyzer では、測定結果データ、グラフ等を外部に出力して利用できます。ここでは例として、測定データをテキストファイルに保存します。

▼ 操作 – 測定結果を外部へ出力する:

1. Amounts/Mol. Weights (質量/分子量) ウィンドウが画面に開いた状態で、同ウィンドウの File (ファイル) メニューにある Data to File (データをファイルに保存する) コマンドを実行します。



2. Save Table (表のデータを保存する) ダイアログボックスが開いたら、「ファイル名」欄に「Results」と入力し、「保存」ボタンをクリックします。



この操作で、測定結果は、「Results.txt」という名前のテキストファイル形式 (*.txt) に保存されました。

保存されたデータは、表計算ソフト、ワープロソフト等へ読み込むことができます。

>>> 次のステップ「2.6 データベース」(2-63ページ)へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】測定データの出力 – その他のオプション:

Gel-Pro Analyzer では、上記の他にも様々な仕方でデータを外部へ出力することができます。

■ 測定データの出力オプション:

Amounts/Mol. Weights (質量/分子量) ウィンドウに表示される分子量、質量、IODなどのデータを外部に出力ないし保存する方法は、以下の通りです。

● 測定データを既存のテキストファイルに追記する:

測定データを既存のテキストファイルに追記(アペンド)するには、Amounts/Mol. Weights ウィンドウの File メニューにある Append Data to File (データをファイルにアペンド) コマンドを実行し、既存のテキストファイルを選択して保存を実行します。測定データは、選択したテキストファイルの末尾に追記されます。

● 測定データをExcel へ転送する:

1D-Gel ツールパレットの Results (測定結果) ボタンで Amounts/Mol. Weights (質量/分子量) ウィンドウを開き、File (ファイル) メニューにある DDE to Excel (Excel へ DDE 転送) コマンドを実行すると、測定結果のデータを表計算ソフトの Microsoft Excel へ直接転送できます。このコマンドを実行する度に、測定結果のデータがワークシート内に貼り付けられます。

- 1回転送する度に、データを下方へ貼り付けたい場合は、File メニューのDDE Options (DDEのオプション) コマンドを実行して、Append next data set to the bottom オプションを選択します。
- 転送の度に、データを右方向へ貼り付けたいときは、File メニューのDDE Options (DDEのオプション) コマンドを実行して、Append next data set to the right オプションを選択します。
- 転送の度に、決められた増分でデータの貼り付け位置をずらしていきたいときは、File メニューのDDE Options (DDEのオプション) コマンドを実行し、Increment position for next data set by を選択してから、Row (行)と Col (列) の欄で、増分の行数、列数を指定します。

注記: DDE to Excel コマンドの実行時に、“Could not load Excel. Please check path”というエラーメッセージが表示された場合は、DDE Options コマンドを実行して Dynamic Data Exchange Options (ダイナミックデータ交換のオプション) ダイアログボックスを開き、Path (パス) 欄の Browse (参照) ボタンをクリックして、Excel の正しいパスを指定して下さい。

● 測定データをテキストファイルに保存する:

測定データをファイルに保存するには、Amounts/Mol. Weights (質量/分子量) ウィンドウの File (ファイル) メニューにある Data to File (データをファイルに保存する) コマンドを実行します。ファイルは、テキストファイル形式 (*.txt) で保存されます。

注記: 測定データを既存のテキストファイルに追記(アペンド)するには、File メニューにある Append Data to File (データをファイルにアペンド) コマンドを実行し、既存のテキストファイルを選択して保存を実行します。測定データは、選択したテキストファイルの末尾に追記されます。

● 測定データをクリップボードにコピーする:

測定データをクリップボードにコピーするには、Amounts/Mol. Weights (質量/分子量) ウィンドウの File (ファイル) メニューにある Data to Clipboard (データをクリップボードへコピー) コマンドを実行します。クリップボードへコピーしたデータは、ワープロソフトや表計算ソフト等に貼り付けることができます。

● 測定データをプリンタに出力する:

測定データをプリンタで印刷するには、Amounts/Mol. Weights (質量/分子量) ウィンドウの File (ファイル) メニューにある Print (印刷) コマンドを実行します。「印刷」ダイアログボックスが開いたら、必要な設定を行ない、OK ボタンで印刷を実行します。測定データは、罫線付きで印刷されます。

■ レーンプロファイルの出力オプション:

レーンプロファイルのグラフ、およびグラフの元データ(グラフを作成する元となった数値データ)を保存するには、以下の手順に従って下さい。

● レーンプロファイルをファイルに保存する:

レーンプロファイルの元データは、テキストファイルに保存が可能です。保存するには、Lane Profile ウィンドウの File (ファイル) メニューにある Data To File (データをファイルに保存する) コマンドを実行します。ファイルは、テキストファイル形式 (*.txt) で保存されます。

保存されるデータの内容は、File (ファイル) メニューにある Output Options (出力のオプション) コマンドで指定できます。このコマンドを実行すると Lane Profile Output Options (レーンプロファイルの出力オプション) ダイアログボックスが表示され、以下のオプションを選択できます。

- Legend (凡例): このオプションを選択すると、測定データの表の凡例 (画像名、測定データの単位、項目名など) が出力されます。
- Molecular Weight (分子量): このオプションを選択すると、出力されるデータの左端に、分子量が表示されます。
- Baseline (ベースライン): バックグラウンドの補正(減算)を行なっている場合、このオプションを選択すると、バックグラウンドの値が一緒に出力されます。
- Subtract baseline (ベースラインを減算): バックグラウンドの補正(減算)を行なっている場合、このオプションを選択すると、グラフの元データからバックグラウンドの値を減算した後の値が出力されます。
- Single lane (単一レーン): このオプションを選択すると、現在解析画像内で選択中のレーンに対応するデータのみを出力します。

注記: データを既存のテキストファイルに追記(アペンド)するには、File メニューにある Append Data to File (データをファイルにアペンド) コマンドを実行し、既存のテキストファイルを選択して保存を実行します。測定データは、選択したテキストファイルの末尾に追記されます。

● レーンプロファイルをクリップボードにコピーする:

レーンプロファイルでは、グラフと数値データの両方をクリップボードへ転送できます。

- グラフをクリップボードにコピーするには、Lane Profile ウィンドウの File (ファイル) メニューにある Graph To Clipboard (グラフをクリップボードへコピー) コマンドを実行します。クリップボード内のグラフは、ベクトルデータを扱えるワープロソフトや表計算ソフトなどへの貼り付けが可能です。
- グラフの元データをクリップボードにコピーするには、Lane Profile ウィンドウの File (ファイル) メニューにある Data To Clipboard (データをクリップボードへコピー) コマンドを実行します。クリップボード内のデータは、ワープロソフトや表計算ソフトなどへの貼り付けが可能です。

出力するデータの内容は、File (ファイル) メニューにある Output Options (出力のオプション) コマンドで指定できます。詳しくは、上の「レーンプロファイルをファイルに保存する」の項をご覧ください。

- レーンプロファイルを Excel に転送する:

レーンプロファイルの元データは、Microsoft Excel に転送できます。詳しくは、「測定データをExcel へ転送する」(2-58ページ)をご覧ください。

- レーンプロファイルをプリンタに出力する:

レーンプロファイルのグラフをプリンタで印刷するには、File (ファイル) メニューにある Print Graph (グラフを印刷する) コマンドを実行します。「印刷」ダイアログボックスが開いたら、必要な設定を行ない、OK ボタンで印刷を実行します。

■ 解析画像の出力オプション:

- 解析画像をクリップボードへコピーする:

解析画像と、その上に表示されているオーバーレイ(レーンやバンドのラベル、マーカ、測定値、各種補正線など)を一緒にクリップボードへコピーするには、以下の手順を実行して下さい。

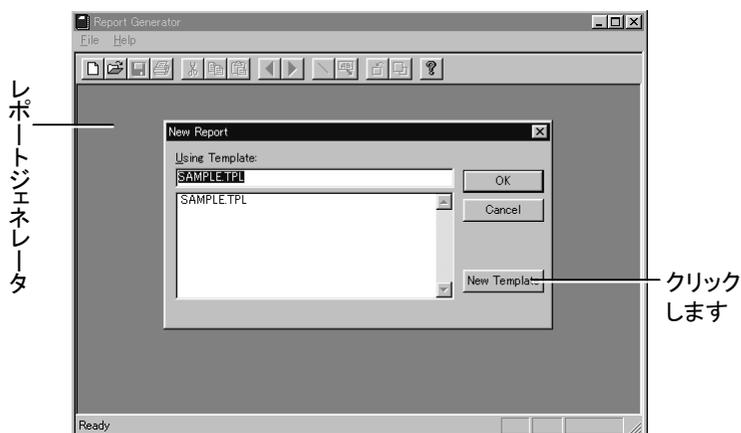
1. 1D-Gel ツールパレットの Report (レポート) ボタンをクリックして、Report Generator (レポートジェネレータ) を起動します(右図)。

レポートジェネレータは、解析画像と測定値の表・グラフなどをレイアウトして報告書を作成するツールです。

クリックします

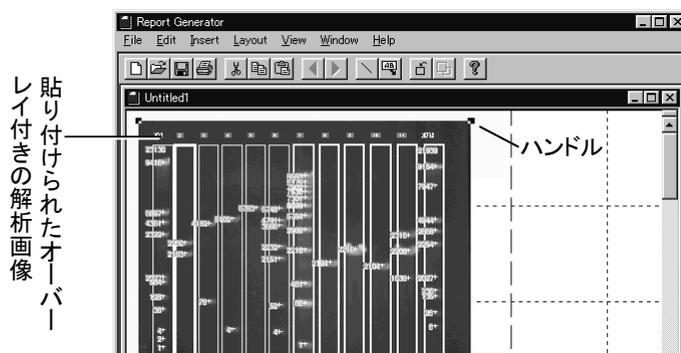


2. Report Generator ウィンドウの File (ファイル) メニューから New (新規作成) コマンドを実行し、New Report (新規レポート) ダイアログボックスを開きます(下図)。



3. New Template (新規テンプレート) ボタンをクリックして、新規レポートウィンドウ(“untitled...”)を開きます。
4. Insert (挿入) メニューから Image with Overlay (オーバーレイ付き画像) コマンドを実行します。

これで、解析画像がオーバーレイ(ラベル、マーカなど)と一緒に、レポートウィンドウに貼り付けられます。

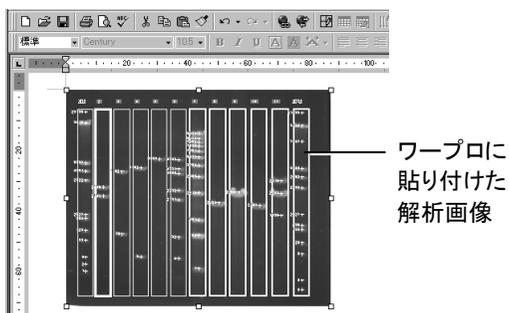


注記: このとき、画像の代わりに灰色の矩形領域 (プレースホルダ) が貼り込まれた場合は、Layout (レイアウト) メニューの Show Data (データを表示) を実行して下さい。

5. 次に、貼り付けられたオーバーレイ付きの画像をクリックし、画像の四隅にハンドル(■)が付いた状態で、Edit (編集) メニューの Copy (コピー) コマンドを実行します。これで、解析画像がオーバーレイと共にクリップボードへコピーされました。

注記: 必要であれば、Report Generator ウィンドウの File メニューにある Save (上書き保存) コマンドを実行して、レポートを保存します(ここではレポートを保存せずに Report Generator を終了しても構いません)。

6. ベクトルデータを扱えるワープロソフト、表計算ソフトなどを起動し、貼り付け先の文書を開いてから、「貼り付け」コマンドを実行して、解析画像を文書内に貼り付けます(下図)。



● 解析画像をプリンタに出力する:

解析画像をプリンタで印刷するには、Gel-Pro Analyzer の File (ファイル) メニューから Print (印刷) コマンドを実行します。

Print ダイアログボックスが開いたら、必要に応じて Setup (セットアップ) ボタンで印刷設定を行ない、以下のオプションを選択してから、Print ボタンをクリックして印刷を実行します。

- Fit To Page (最大サイズ): このオプションを選択すると、用紙に合わせて最大サイズで印刷します。
- Print Overlay (オーバーレイを印刷): このオプションを選択すると、オーバーレイ(画像内のラベル、レーンのアウトラインなど)を解析画像と一緒に印刷します。非選択にすると、解析画像のみを印刷します。

2.6 データベース

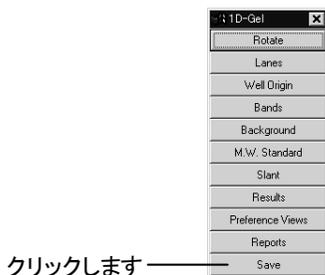
Gel-Pro Analyzer には Access® ベースのデータベースが内蔵されており、解析画像と解析結果を、測定オプションの設定値やコメントと共に保存し、再呼び出すことができます。

2.6.1 データベースに測定結果を保存する

測定の終了後に、測定結果をデータベースに保存する手順は以下の通りです。

▼ 操作 — データベースに測定結果を保存する:

1. 測定が終了した状態で、1D-Gel ツールパレットの Save (保存) ボタンをクリックします。



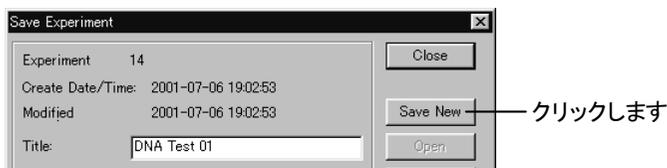
Experiment (実験) ダイアログボックスが開きます。



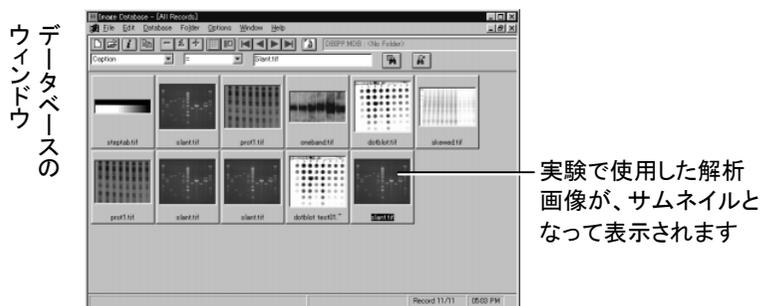
ここで、必要に応じて Title (タイトル) 欄や Description (説明) 欄にコメントを入力・編集できます。

注記:

- Experiment ダイアログボックスに入力した文字データ (実験データ) は、実験データをデータベースから呼び出す時の、検索文字列になります。
 - 文字データは全て半角英数文字で入力して下さい。日本語の全角文字は、全角の数字やアルファベットを含めて入力しないで下さい (日本語は、たとえ入力できても、保存後に文字化けを起こす可能性があります)。
2. Save New (新規保存) ボタンをクリックします。これで、データベースが起動し、解析画像と解析結果がデータベースに登録されます。



データベースのウィンドウに、登録された解析画像のサムネイル (ミニチュア画像) が表示されます。



3. 以上で解析のセッションが全て終了しました。

Gel-Pro Analyzer の File (ファイル) メニューにある Exit (終了) コマンドを実行して、Gel-Pro Analyzer を終了します。

>>> 次のステップ「2.6.2 データベースから測定結果を開く」へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】データベース – 注意事項:

- データベースに保存できるのは、ディスクに保存済みの画像ファイルのみです。従って、解析画像がまだ1度も保存されていないときは、Save New ボタンをクリックすると同時に Save File As (ファイルを別名で保存) ダイアログボックスが表示されます。この場合は、ファイルの保存先、ファイルの種類、ファイル名を指定して、画像をファイルに保存して下さい。
- データベースに保存されるデータの実体は、解析画像のサムネイル (ミニチュア画像) と解析画像ファイルへのリンク情報、および実験データ (Experiment ダイアログボックスに入力した文字データ、測定時のオプション設定) です。解析画像自体がデータベースに保存されるわけではありませんので、解析画像のファイル名を変更したり、ファイルを削除ないし移動すると、データベースから解析画像を呼び出せなくなりますので、ご注意下さい。また、測定結果のデータそれ自体をデータベースに保存しているのではなく、実験時に使用した設定値のみを保存しています。これにより、実験データを再呼び出した時に、保存された設定に基づいて再度自動測定を行ない、前回の測定時と同一の結果を算出するようになっています。このため、解析画像に画像処理を加えると、測定結果も変化しますのでご注意下さい。

2.6.2 データベースから測定結果を開く

一旦データベースに保存された解析画像や測定結果は、データベースから再呼び出して、再度実験を行なうことができます。

データベースから実験データを呼び出す手順は以下の通りです。

▼ 操作 – データベースから測定結果を開く:

<解析画像のファイル名から開く方法>

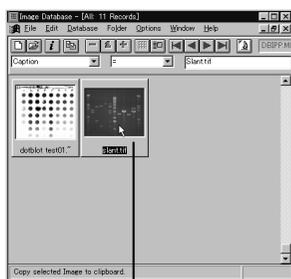
1. Gel-Pro Analyzer を起動します。

2. ツールバーのデータベースボタン(下図)をクリックして、データベースを起動します。

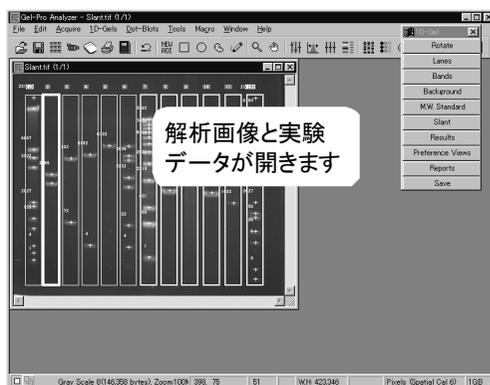


データベースボタン

3. データベース内で、解析画像(ここでは"slant.tif")をダブルクリックします。



データベースのウィンドウで
解析画像のサムネイルを
ダブルクリックします

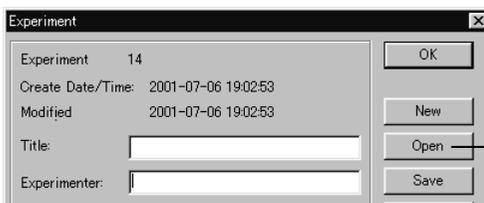


以上の操作で、解析画像"slant.tif"と実験データが一緒に呼び出されます。

- レーンプロファイルを開きたい時は、1D-Gels メニューの Show Graph (レーンプロファイルを表示) コマンドを実行します。
- 測定結果を表示したいときは、1D-Gel ツールパレットの Results (測定結果) ボタンをクリックします。

<実験データを検索して開く方法>

1. Gel-Pro Analyzer を起動します。
2. Experiment ダイアログボックスの Open (開く) ボタンをクリックします。

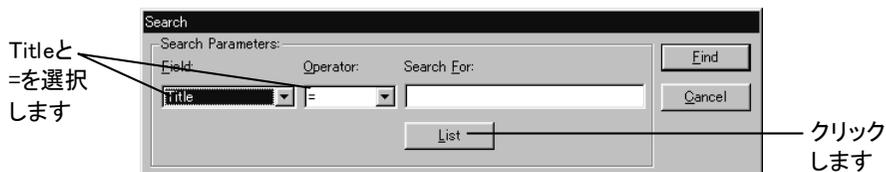


クリックします

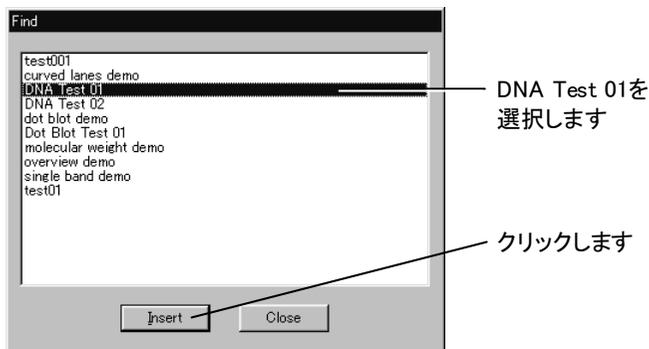
注記: Experiment ダイアログボックスが画面に開いていない場合は、File (ファイル) メニューの Experiment コマンドを実行して下さい。

これでデータベースが起動し、同時に Search (検索) ダイアログボックスが開きます。

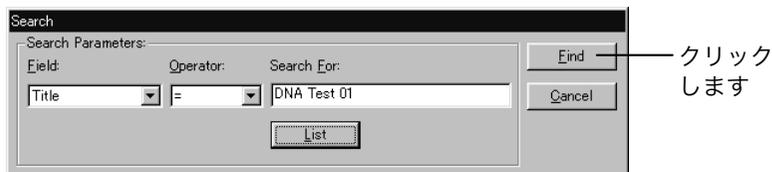
3. Search (検索) ダイアログボックスの Field (フィールド) 欄で、Title (タイトル) を選択します。
4. Operator (演算子) 欄で“=”を選択します。
5. List (一覧表示) ボタンをクリックします。



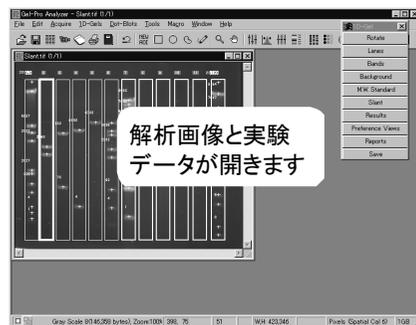
6. Find (検索対象を選択して下さい) ダイアログボックスで、開きたい実験データのタイトル(ここでは“DNA Test 01”)をクリックして選択します。



7. Insert (挿入) ボタンをクリックします。
8. Search ダイアログボックスの Search For (検索対象) 欄に“DNA Test 01”と表示されたことを確認してから、Find (検索実行) ボタンをクリックします。



以上の操作で、解析画像“slant.tif”と実験データと一緒に呼び出されます。



- レーンプロファイルを開きたい時は、1D-Gels メニューの Show Graph (レーンプロファイルを表示) コマンドを実行します。
- 測定結果を表示したいときは、1D-Gel ツールパレットの Results (測定結果) ボタンをクリックします。

>>> 以上で、「第2章 1次元ゲルの解析」の操作練習は全て終了です。

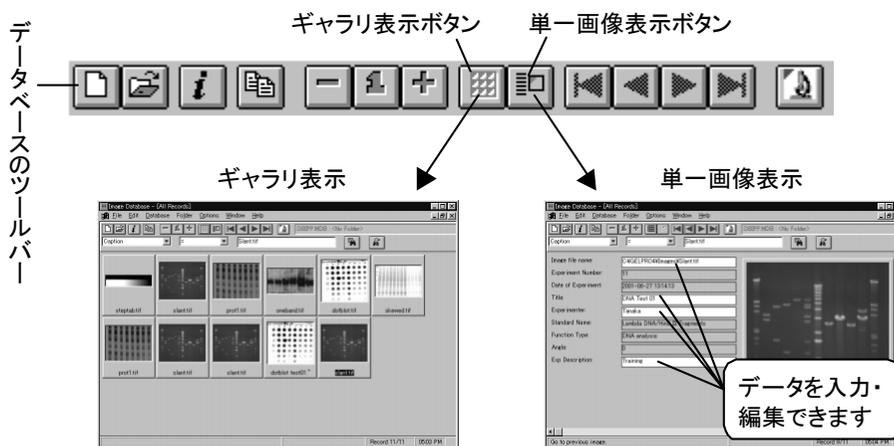
最後に Gel-Pro Analyzer を終了するときは、File (ファイル)メニューの Exit(終了)コマンドを実行して下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】データベース – その他のオプション:

■ データベースの表示を切り替える:

データベースでは、ギャラリー表示(全画像を一覧表示するモード)と単一画像表示(画像を1枚ずつ表示し、画像の属性情報やコメントなどを並べて表示するモード)の2つの表示を切り替えられます。切り替えるには、データベースのツールバーからギャラリー表示ボタンまたは単一画像表示ボタンを選択します。



単一画像表示では、実験データを入力・編集できます。

■ ギャラリー表示のサムネイル(ミニチュア画像)のサイズを変更する:

これを行なうには、データベースのツールバーにある次のボタンを使用します。

- [-]: サムネイルを縮小します。
- [1]: サムネイルをデフォルトのサイズにします。
- [+]: サムネイルを拡大します。

■ データベースに登録した実験データを削除する:

実験データを削除するには、データを上記の手順(「2.6.2 データベースから測定結果を開く」、2-65ページ)で開いた後に、Experiment (実験) ダイアログボックスの Delete (削除) ボタンをクリックします。警告のメッセージ (“You are about to delete the current experiment. Are you sure?”: 「現在表示中の実験データを本当に削除しますか?」) が表示されたら、「はい」をクリックして削除を実行します。

注記: 実験データの削除はアンドウできませんので、ご注意ください。

■ データベースに全画像を登録する:

1D-Gel ツールパレットの Save (保存) ボタンで実験データを保存する時、通常は解析画像1枚のみがデータベースに登録されますが、画面に開いている全画像を登録したいときは、Experiment (実験) ダイアログボックスの Archive all open images into database (表示中の全画像をデータベースに登録) オプションを選択します。

■ データベースに画像のみを登録する:

実験データを登録せずに、画像のみをデータベースに登録したいときは、次の2通りの手順のいずれかで行なって下さい。

- 現在画面に表示中の画像をデータベースに登録するときは、Gel-Pro Analyzer の File(ファイル) メニューの Save to Image Database (画像データベースに登録) コマンドを実行します。Image Archiving (画像のアーカイブ) ダイアログボックスで OK をクリックすると、登録されます。
- 現在画面に表示していない画像ファイルをデータベースに登録するときは、まず Gel-Pro Analyzer のツールバーにあるデータベースボタン()でデータベースを起動し、次にデータベースウィンドウの Database メニューにある Add Records (レコードを追加) コマンドを実行します。Open File (ファイルを開く) ダイアログボックスでデータベースに登録したい画像ファイルを選択し、「開く」ボタンをクリックすると登録されます。複数のファイルを一括して登録したいときは、[Ctrl]キーを押しながら登録したいファイルをクリックすると、複数のファイルを一度に選択できます。

注記: いずれの場合も、データベースに登録できるのは、既にディスクに保存済みの画像ファイルのみです。一度もディスクに保存されていない画像をデータベースに登録しようとすると、ファイルの保存ダイアログが表示されますので、画像を一旦ディスクに保存して下さい。

>>> 以上で、第2章の練習は全て終了です。次のステップとして、「第3章 ドットプロットの解析」へ進みましょう。

第3章 ドットプロットの解析

測定内容:

Gel-Pro Analyzer は、ドットプロットの定量を行なえます。測定可能なデータは以下の通りです。

- ドットの質量
- ドットの積分光学濃度 (IOD)

解析画像の要件:

- グレイスケール画像 (Gray Scale 8/12/16および Floating Point)であること。
画像がカラー画像である場合は、測定を行なう前に、あらかじめ Edit (編集) メニューにある Convert To (変換) コマンドまたは Color Channel (色成分) コマンドにてグレイスケール画像にしておく必要があります。
- 質量の較正 (calibration) の基準が存在すること。質量の測定では、画像内に写っている複数のドット(基準ドット)の質量が既知である必要があります。

操作の概要:

ここでは、主に以下の練習を行ないます。

- Gel-Pro Analyzer を起動し、Experiment (実験) ダイアログで基本設定を行なう (3-2ページ)
- 画像を開く (3-4ページ)
- 画像の前処理を行なう(画像の傾きを補正する) (3-5ページ)
- 測定領域を限定する/ドットを検出する (3-6ページ)
- ドットの質量を較正する (3-15ページ)
- 質量を測定する (3-19ページ)
- 積分光学濃度 (IOD) を測定する (3-21ページ)
- 相対量を算出する (3-22ページ)
- 測定結果をデータベースに保存する (3-26ページ)

この操作の大部分は、画面に表示される Dot Blots (ドットプロット) ツールパレットのボタンを、上から下へ順にクリックすることで実行できます。

Rotate	【傾き補正】	画像を回転させ、傾きを補正します (P. 3-5)
Dots	【ドット検出】	画像内のドットを検出します (P. 3-7)
Calibrate	【校正】	バンドの質量を校正します (P. 3-15)
Mass / IOD	【質量/IOD】	測定結果を表示します (P. 3-19)
Save	【保存】	測定結果をデータベースに保存します (P. 3-26)

ツールパレットは、Experiment (実験) ダイアログボックスで選択した Function Type (解析のタイプ) によって切り替わります(1-10ページをご参照下さい)。

この練習には、約30分かかります。

3.1 実験データの入力

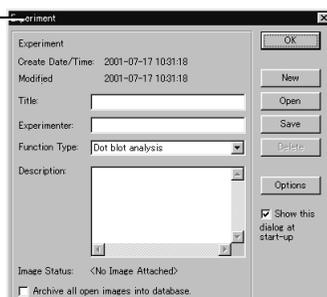
まず最初の操作として、実験データを入力する必要があります。操作手順は以下のようになります。

▼ 操作 — 実験データの入力:

1. Gel-Pro Analyzer をまだ起動していない場合は、Windows の「スタート」メニューの「プログラム」にある「Gel-Pro Analyzer 4.5」の「Gel-Pro Analyzer」をクリックして、Gel-Pro Analyzer を起動します。Gel-Pro Analyzer のアプリケーションウィンドウがアクティブになったら、以下の操作を開始できます。

Gel-Pro Analyzer が起動すると、通常は Experiment (実験) ダイアログボックスが自動的に開きます。

Experimentダイアログボックス(ここに実験データを入力します)

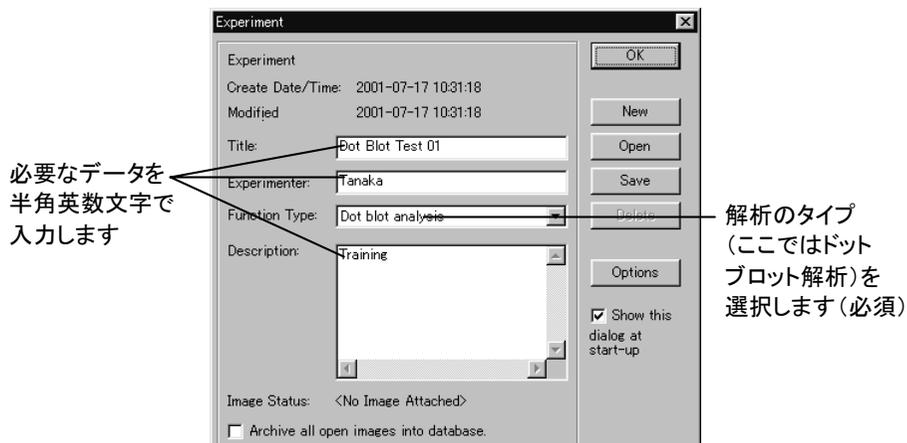


注記: Gel-Pro Analyzer の起動時に Experiment ダイアログボックスが開かないときは、File (ファイル) メニューの Experiment コマンドを実行して開いて下さい。

Experiment ダイアログボックスで、測定の内容に合わせて基本設定を行ない、同時に実験データを入力する必要があります。

2. Title (タイトル) 欄に、実験のタイトルを半角英数文字で入力します。ここでは、例として“Dot Blot Test 01”と入力します。

注記: Gel-Pro Analyzer では、原則として日本語の文字を使用できません。半角英数文字のみをご使用下さい。



3. Experimenter (実験者) 欄に、実験者の名前を入力します。上の図では、例として“Tanaka”と入力しています。
4. Function Type (解析のタイプ) 欄で、Dot blot analysis (ドットプロット解析) を選択します。

注記: Function Type の指定は、必ず行なう必要があります。
5. Description (説明) 欄に、“Training”と入力します。
6. OK ボタンをクリックして Experiment ダイアログボックスを閉じます。

注記: 実験データについて詳しくは、2-4ページの「【参考】 実験データについて」をご覧ください。

>>> 次のステップ 「3.2 画像を開く/画像の前処理」(3-4ページ)へ進んで下さい。

3.2 画像を開く/画像の前処理

次のステップとして、解析対象となる画像ファイルを Gel-Pro Analyzer 上に開き、必要に応じて前処理を行ないます。この操作の概要は以下の通りです。

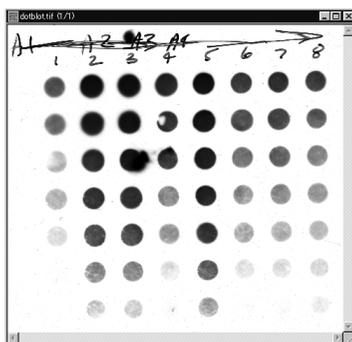
- 画像を開く:
解析画像は、予め保存した画像ファイルから開いたり、スキャナ (B-1 ページを参照)、カメラなどの画像取り込みデバイスから取り込んで開くことが可能です。
- 画像の前処理:
画像の前処理とは、測定に先立って、測定目的のために画像を最適化する処理です。ドットプロット解析では、画像に写っているドットの列を、画像の辺と平行にしておく、ドットのグリッドを手動で作成する時などに便利です。

この他、必要に応じて、画質の改善、画像の較正などの処理を行なうこともあります。

▼ 操作 — 画像を開く/画像の前処理:

<画像を開く>

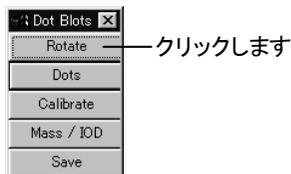
1. File メニューの Open (開く) コマンドを実行して Open File (ファイルを開く) ダイアログボックスを開きます。
2. Gel-Pro Analyzer のアプリケーションフォルダの中にある "Images" フォルダ (通常は "C:\¥Gelpro45¥Images") を開きます。
3. "Dotblot.tif" ファイルを選択し、「開く」ボタンをクリックして、解析画像 "Dotblot.tif" を開きます。



この画像を見ると、ドットの列が全体的にやや左へ傾いているのがわかります。このままでも測定は可能ですが、ドットのグリッドを手動で作成する場合などでは、ドットの列に傾きがない方が便利です。このため、以下の処理で画像の傾きを補正します。

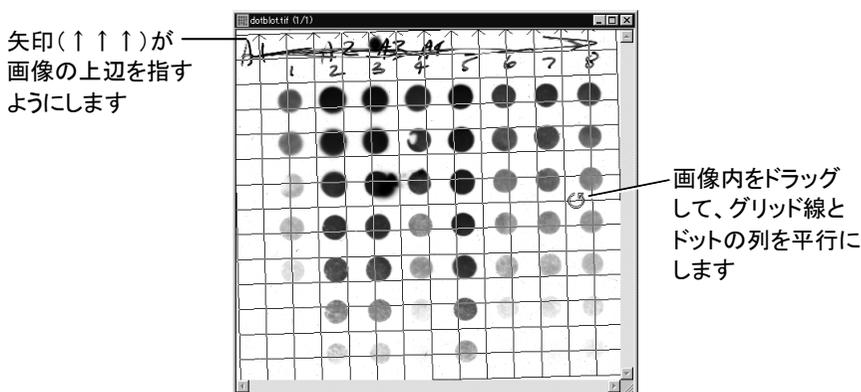
＜画像の傾きを補正する＞

4. Dot Blots ツールパレットの Rotate (傾き補正) ボタンをクリックします。



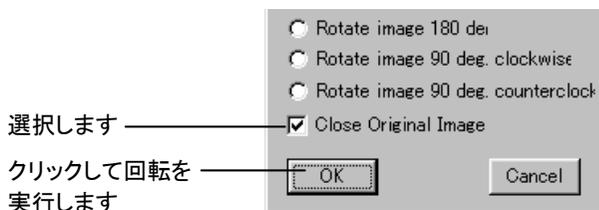
画像内に補正用のグリッド線(格子)が表示され、同時に Rotate ダイアログボックスが表示されます。

5. 画像内にカーソルを入れ、カーソルが曲がった矢印の形(☞)になったら、マウスをドラッグしてグリッド線を回転させ、グリッド線とドットの列を平行にします。

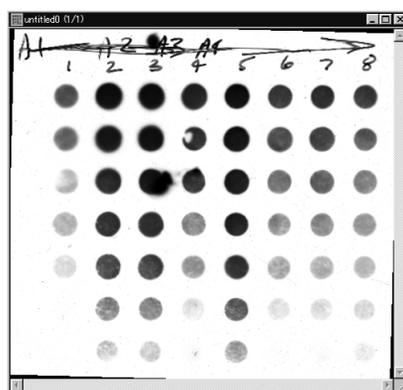


このとき、グリッド線の矢印(↑↑↑)が、必ず画像の上辺側を向くようにして下さい。この矢印の指す方向が、傾き補正後の画像の上辺になります。

6. グリッド線がドットの列と平行になったら、Rotate ダイアログボックスの Close Original Image (処理後に元の画像を閉じる) オプションが選択されていることを確認して、OK ボタンをクリックします。



これで画像の傾きが補正され、補正後の画像が新規画像("untitled...")として画面上に開きます。



回転後の画像が新規画像 (“untitled”)として画面に残ります (元の画像は自動的に閉じます)

注記:

- 補正後は、元の画像 (“Dotblot.tif”) が自動的に閉じることに注意して下さい。これ以降、解析は補正後の新規画像 (“untitled...”) で行なうことになります。
- このように、解析を新規画像で行なう場合は、解析の終了時 (Dot Blots ツールパレットの Save ボタンで、測定結果をデータベースに保存する時など。3-26 ページを参照) に、解析画像をディスクに保存する必要があります (“Workspace '...' has not been saved. You need to save it to a file.”: 「ファイル'...' は未保存です。ファイルに保存する必要があります」と表示されますので、OK をクリックして保存します)。

>>> 次のステップ 「3.3 測定領域の限定 – ドットの検出」へ進んで下さい。

3.3 測定領域の限定 – ドットの検出

次のステップとして、解析画像内の測定領域 (定量を行なう対象領域) を限定する必要があります。この処理の概要は次の通りです。

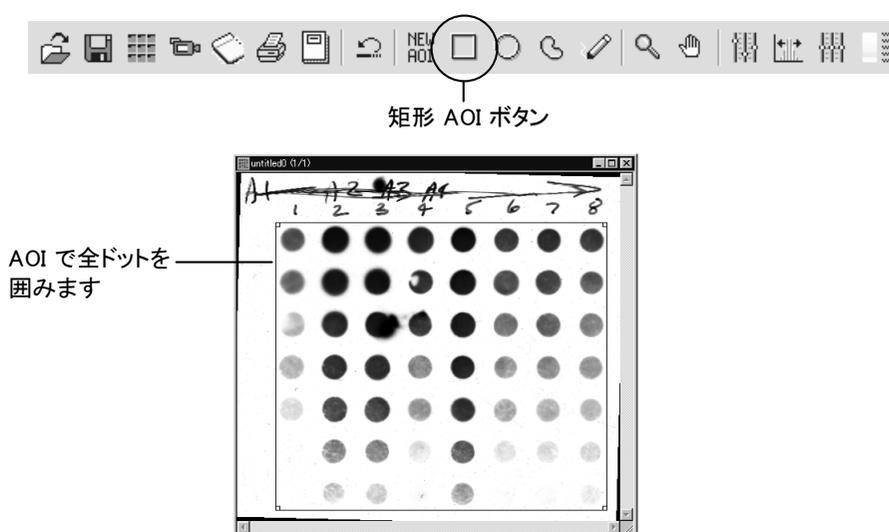
- 矩形AOIで、画像内の測定対象領域を囲む:
スミアのひどい画像では、画像内に矩形AOIを作成して、測定対象領域 (ドットが写っている領域) のみを囲んでおくと、以降のドットの自動抽出が容易になります (測定対象領域のみを予め囲んでおくことで、測定に含めたくないスミアの部分を除外できます)。
- 定量するドットの領域を検出する:
この処理は、Dot Blots ツールパレットの Dots (ドット検出) ボタンをクリックして Dots ダイアログボックスを開き、Find Dots (ドット検出実行) ボタンをクリックすることで自動的に行なうか、あるいは同ダイアログボックスの Make Grid (グリッド作成) ボタンでグリッドを手動作成し、そのグリッドを画像に適用することで行ないます。

上記の処理を行なう操作手順は、以下の通りです。

▼ 操作 — 測定領域の限定—ドットの検出:

<測定対象をAOIで囲む>

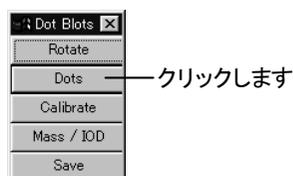
1. ドットを自動検出する場合は、最初に画像内の測定対象領域を予めAOIで囲んでおくと、検出の成功率が高くなります。AOIを作成するには、ツールバーの矩形 AOI ボタンをクリックして選択し、解析画像内をドラッグして、全ドットを囲む AOIを作成します。



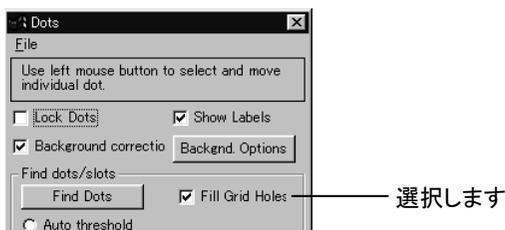
AOIを作成するときは、できる限りドットの部分のみを囲み、画像の周辺部のスミアなどの部分を避けるようにします。場合により、矩形 AOI よりも自由曲線 AOI (A-11ページを参照) で囲んだ方が良いこともあります。

<ドットを自動検出する>

2. Dot Blots ツールパレットの Dots (ドット検出) ボタンをクリックして、Dots ダイアログボックスを開きます。

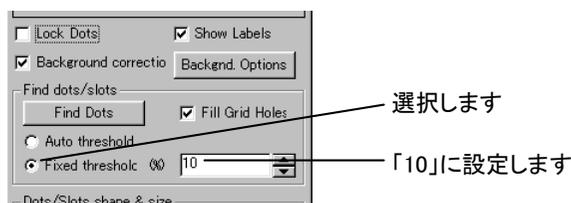


3. Find dots/slots (ドット/スロットの検出) 欄の Fill Grid Holes (グリッドの隙間を埋める) オプションを選択します。



注記: この設定は、ドットの列の中に欠落ドット(シグナルがないドット)があった時でも、そのドットが存在するものとして検出する、という意味です。

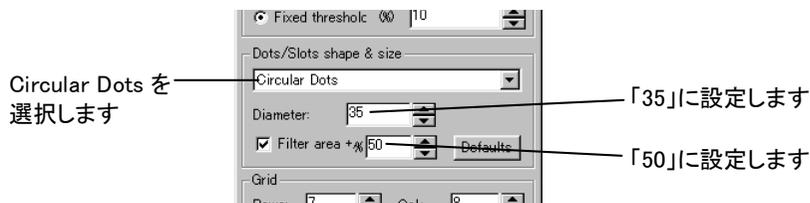
4. Find dots/slots 欄の Fixed threshold (%) [固定閾値(%)]オプションを選択し、右の欄のスピンボタンをクリックして、数値を「10」に設定します。



注記: スピンボタンをクリックする代わりに、欄に直接「10」とタイプして、リミットチェックボタン をクリックしても構いません。

Fixed threshold (%)欄の数値を変更すると、2値化によって画像内の領域が選択され、数秒間だけ赤く表示されます。ドットの部分のみが赤く表示されるように設定する必要があります。この欄の数値は、シグナルの薄いドットを検出する時は低い値に、濃いドットを検出する時は高い値に設定します。“Dotblot.tif”画像には薄いドットが含まれているので、「10」のような低い値に設定すると、ほぼ全てのドットを検出できます。

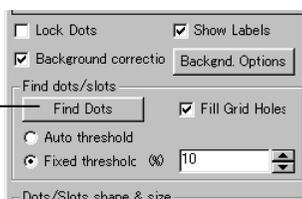
5. Dots/Slots shape & size (ドット/スロットの形状と大きさ) 欄で、Circular Dots (円形のドット) を選択します。
6. Dots/Slots shape & size 欄の Diameter (直径) を「35」に設定します。
7. Dots/Slots shape & size 欄の Filter area +/- (%) [指定直径比±(%)]オプションを選択し、右の欄内の数値を「50」に設定します。



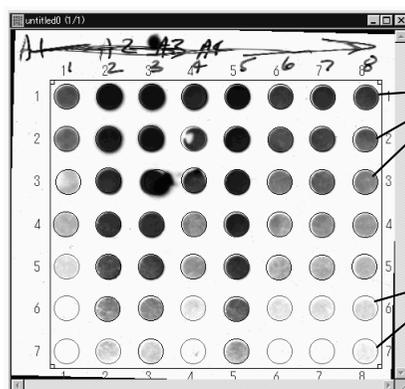
注記: この設定は、Diameter 欄で指定した直径 (35ピクセル) の $\pm 50\%$ の領域のみをドットとして検出し、それ以外の領域はドットと見なさない、という意味です。これにより、微細なゴミや、大きなスミアの領域がドットとして検出されてしまうのを防ぎます。Filter area +/- (%) オプションを選択せずにドットの自動検出を行なうと、ドットでない領域をドットとして誤認識する確率が高くなります。

8. 1.で作成した AOI が画面に表示されていることを確認してから、Find Dots (ドット検出実行) ボタンをクリックします。

クリックしてドットを
自動検出します



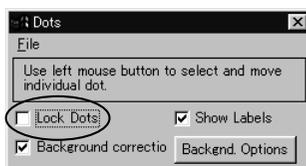
これで、画像内の (AOI で囲まれた領域の) ドットが自動検出され、各ドットを囲むドット枠(○)が表示されます。



各ドットが赤い
ドット枠(○)で
囲まれます

シグナルがない、
ないし薄い箇所の
ドット枠は、黄色に
なります

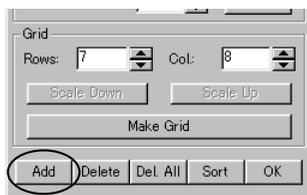
- 実際にドットが存在している場合、その枠は赤で表示されます。
 - ドットが存在していない、ないしシグナルが薄い箇所のドット枠は、黄色で表示されます。
9. ここで、ドット枠の位置が実際のドットとずれている、ドット枠の大きさが不適当、不要な領域がドットとして誤認識されて検出されている、正しく検出されていないドットがある、等の場合は、以下の手動で手動補正できます。
- ドット枠の位置を修正する:
 - a. Dots ダイアログボックスの Lock Dots (ドット枠を固定) オプションが選択されている場合は、クリックして非選択にします。



- b. ドット枠を直接マウスでドラッグして、位置を修正します。
- ドット枠の大きさを変更する:
 - a. Dots ダイアログボックスの Diameter (直径) 欄の数値を変更します。この数値を変更すると、全ドット枠の直径が一律に変更されます。
- 不要なドット枠を削除する手順:
 - a. Dots ダイアログボックスの Delete (削除) ボタンをクリックします。



- Delete Dot (ドットを削除) ダイアログボックスが表示されます。カーソルを画像内に入れます。
- b. 削除したいドット枠にカーソルを重ね、カーソルが十字形になったら、クリックして削除します。
 - c. 不要なドット枠を全て削除したら、Delete Dot ダイアログボックスの OK ボタンをクリックして、ダイアログを閉じます。
- 検出されなかったドットを検出させる手順:
 - a. Dots ダイアログボックスの Add (追加) ボタンをクリックします。



- Add Dot (ドットを追加) ダイアログボックスが表示されます。カーソルを画像内に入れます。
- b. 検出されなかったドットの位置にカーソルを置き、カーソルが十字形になったらクリックしてドット枠を追加します。

- c. 必要なドットを全て追加し終わったら、Add Dot ダイアログボックスの OK ボタンをクリックします。

注記:

- 不要なドット枠を削除したり、新しいドット枠を追加すると、ドット枠に振られている番号の順序が乱れることがあります。[この番号は、Dot Blots ツールパレットの Mass/IOD (質量/IOD) ボタンで測定結果のウィンドウを表示し、Show (表示) メニューの List (一覧表示) オプションを選択した時に表示されます。] この番号を正しく振り直すには、Dots ダイアログボックスの Sort (並べ替え) ボタンをクリックします。
- ドット枠を修正中に、修正の操作をアンドウしたい時は、Dots ダイアログボックスの File (ファイル) メニューにある Load Previous Pattern (直前のグリッドをロードする) を実行して下さい。

10. 全てのドットに枠が正しく表示されたら、Dots ダイアログボックスの OK ボタンをクリックして、ダイアログを閉じます。

これでドットの検出は終了です。

注記:

- このように作成したドットの枠は、全体(グリッド)としてファイルに保存し、再利用が可能です。その手順は、下記の「グリッドを保存・再呼び出しする」(3-13ページ)をご覧ください。
- 検出されたドットのシグナルから、バックグラウンド(画像の背景)の値を減算することができます。バックグラウンドのオプションについては、下記の「バックグラウンド補正オプション」(3-14ページ)をご覧ください。

>>> 次のステップ「3.4 ドットの質量の較正」(3-15ページ)へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】ドットの検出 – その他のオプション:

画像によっては、上記のようなドットの自動検出を行なうよりも、手動でグリッドを作成し、それを適用する方が効率よく作業できる場合があります。

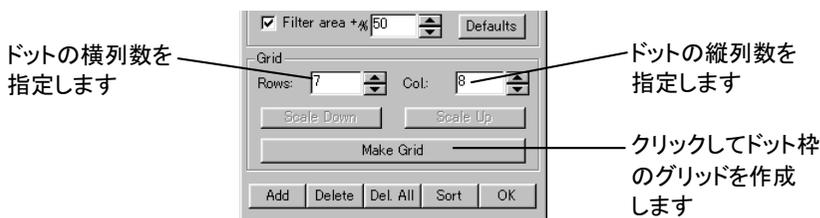
グリッドは、一旦作成した後は保存と再利用が可能です。

それぞれの手順は以下の通りです。

■ 手動でグリッドを作成する:

ドットを自動検出するのではなく、予めドットのグリッドを手動で作成して、そのグリッドを画像に適用することによりドットを認識させる場合は、以下のように操作します。

- 解析画像を開き、Dot Blots ツールパレットの Dots (ドット検出) ボタンをクリックし、Dots ダイアログボックスを開きます。
- 解析画像に写っているドットの横列数と縦列数を調べ、Grid (グリッド作成) 欄の Rows (横列数) と Col. (縦列数) にそれぞれの値を入力します。



上図は、横列数 = 7列、縦列数 = 8列と入力した例です。

- Make Grid (グリッド作成実行) ボタンをクリックします。これで、解析画像内に指定した縦横列数でドット枠のグリッドが作成されます。

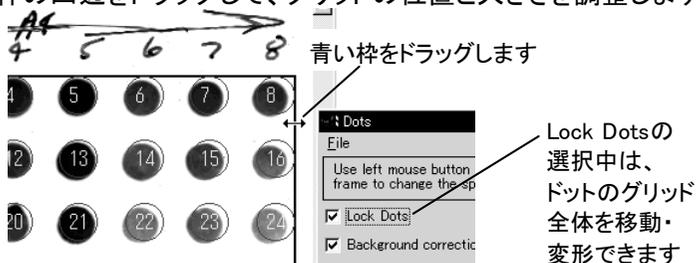
注記: 解析画像内に、既にドット枠やグリッドが存在している場合は、Make Grid ボタンをクリックした時に警告("Program will reposition the dots." :「ドットを再配置します」)が表示されますので、OK をクリックしてグリッドの作成を実行します。

この後、ドット枠の位置と大きさを修正する必要があります。

● グリッド全体の位置と大きさを修正する:

グリッド全体を修正する時は、以下のように操作します(個々のドットの間隔は全て均等になります)。

- Dots ダイアログボックスの Lock Dots (ドット枠を固定) オプションを選択します。グリッド全体を囲む青色の枠が表示されます。
- 青色の枠の四辺をドラッグして、グリッドの位置と大きさを調整します。



● ドット枠の位置を個別に修正する:

ドットを個別に移動する必要がある時(ドットの間隔を均等にしたくない場合)は、以下のように操作します。



- Dots ダイアログボックスの Lock Dots (ドット枠を固定) オプションを非選択にします。
- ドット枠を直接マウスでドラッグして、位置を修正します。
- 位置を修正し終わったら、Lock Dots オプションを再び選択します。

● ドット枠の大きさを変更する:

- Dots ダイアログボックスの Diameter (直径) 欄の数値を変更します。この数値を変更すると、全ドット枠の直径が一律に変更されます。

● グリッドを保存・再呼び出する:

- 作成したグリッドをファイルに保存するには、Dots ダイアログボックスの File (ファイル) メニューから Save Dot Pattern (ドット枠のグリッドを保存する) を実行します。Save Setting (設定を保存) ダイアログボックスで保存場所を指定し、ファイル名を入力してから「保存」ボタンをクリックします。グリッドは、グリッドファイル(*.grd)として保存されます。
- 保存済みのグリッドをファイルから呼び出すには、Dots ダイアログボックスの File (ファイル) メニューから Load Dot Pattern (ドット枠のグリッドをロードする) を実行します。Load Setting (設定をロード) ダイアログボックスで開きたいグリッドファイル(*.grd)を選択し、「開く」ボタンをクリックして開きます。

解析画像上に開いたグリッドは、上記の手順で位置や大きさを修正して下さい。

■ バックグラウンド補正オプション:

ドットのシグナルから、画像のバックグラウンド(背景)の値を減算することができます。このようなバックグラウンド補正を行なうには、Dots (ドット検出) ダイアログボックスで Background correction (バックグラウンド補正) オプションを選択し、次に Backgnd. Options (補正オプション) ボタンをクリックして Background Correction Wizard (バックグラウンド補正ウィザード) ダイアログボックスを開き、以下のオプションのいずれかを選択します。

- Use the background correction method in version 3.0 to guarantee results consistent with those obtained with that version (バージョン3.0で算出された結果との整合性を取るために、3.0と同じ方法でバックグラウンド補正を行なう): このオプションを選択すると、Gel-Pro Analyzer バージョン 3.0/3.1と同じ方法で補正を行ないます。
- Outline clear of the dot. (ドット枠がドットと接触していない): このオプションを選択すると、各ドット枠(ドットを囲む、色付きのアウトライン)の線上のピクセル値をバックグラウンド値として取り込み、これをそのドットのシグナルから減算します。このオプションを使用できるのは、ドット枠がドット自体と重なっていない場合です。このオプションを使用する時は、Dots ダイアログボックスの Diameter の値を調節してドット枠の径を十分に大きくとり、各ドット枠内にドットが完全に収まるようにして下さい。

ドット枠がドットと接触していない例:

全ドットがこのような状態であれば、Outline clear of the dot オプションを使用できます



ドット枠がドットと接触している例:

このようなドットが多い場合は、Outline close to the dot オプションを使用します



- Outline close to the dot. (ドット枠がドットと近接している): このオプションを選択すると、各ドット枠の線上のピクセル値を取り込み、その最低値をバックグラウンド値に設定して、この値をそのドットのシグナルから減算します。このオプションを使用するのは、ドット枠の一部がドットに重なっている場合です。通常、このオプションがデフォルトになっています。特に、ドットが密に配列されている場合は、このオプションを選択しておく便利です。

今回の操作練習では、この設定にしておきます。

- Background dots. (バックグラウンドドットを使用): このオプションは、解析画像内にコントロール用のバックグラウンドドット(シグナルの写っていないドット領域)が存在している場合に使用します。このオプションを使用するには、Background dots. オプションを選択してから、Select Background dots (バックグラウンドドットを選択) ボタンをクリックします。Turn Background Dots On/Off (バックグラウンドドットの選択/非選択) ダイアログボックスが開いたら、解析画像内にカーソルを入れます。

カーソルが十字形になったら画像内のバックグラウンドドットをクリックして選択します。選択されたドットの枠は紫色になります。

一旦バックグラウンドドットに指定したドットを非選択にしたい時は、そのドットをもう一度クリックします。

上記のいずれかのオプションを選択したら、Background Correction Wizard ダイアログボックスの OK ボタンをクリックしてダイアログを閉じます。これで、選択した補正オプションが画像に適用されます。

3.4 ドットの質量の較正

ドットプロットの測定値を質量（マス）として算出する場合は、質量の較正を行なう必要があります。

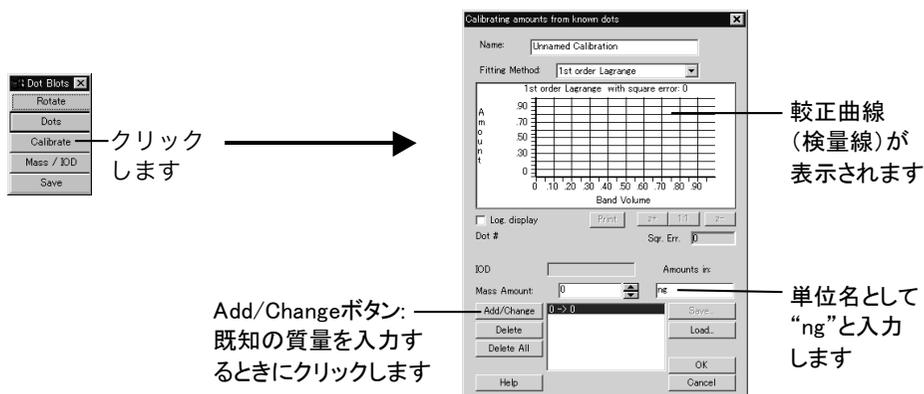
較正を行う条件として、解析画像内に、既知の質量を持つドット（基準ドット）が存在している必要があります。

以下の操作では、上から1列目の横列の1番目のドットの質量が 12 ng、同じ列の5番目のドットが 40 ng、6番目のドットが 20 ng、3番目の横列の1番目のドットが 3 ngであることが既知のデータとして与えられていて、それに基づいて較正するものとします。

上記の処理を行なう操作手順は、以下の通りです。

▼ 操作 – ドットの質量の較正:

1. 解析画像内の全ドットが検出された状態で、Dot Blots ツールパレットの Calibrate（較正）ボタンをクリックして、次の Calibrating amounts from known dots（既知のドットで質量を較正）ダイアログボックスを開きます。



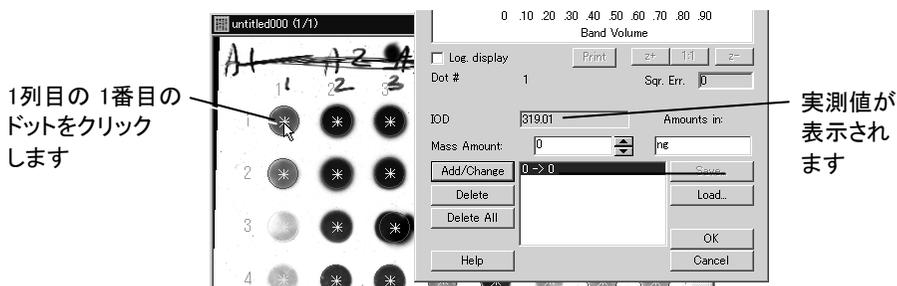
注記:ここで、上のダイアログの代わりに Amount Calibration というダイアログが開いた場合は、一旦 Dot Blots ツールパレットの Mass/IOD をクリックして測定結果の表を開き、Calibrate メニューの Allow Multiple Calibrations オプションを非選択にしてから、再度ツールパレットの Calibrate をクリックして下さい。

2. ダイアログボックスの下部にある Amounts in (質量の単位) 欄に“ng”と入力し、チェックボタン をクリックします。

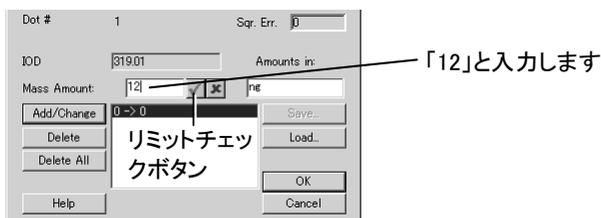
3. Add/Change (追加/変更) ボタン (上図) をクリックします。

画像内の全ドットに「*」印が付きます。

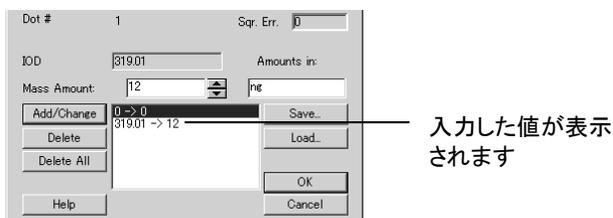
4. 解析画像内にカーソルを入れ、一番上の横列の1番目のドットをクリックします。IOD (積分光学濃度) 欄に数値(実測値)が表示されます。



5. Mass Amount (質量) 欄に、「12」と入力してから、リミットチェックボタン をクリックします。



これで、入力した質量の値が下の欄に表示されます。

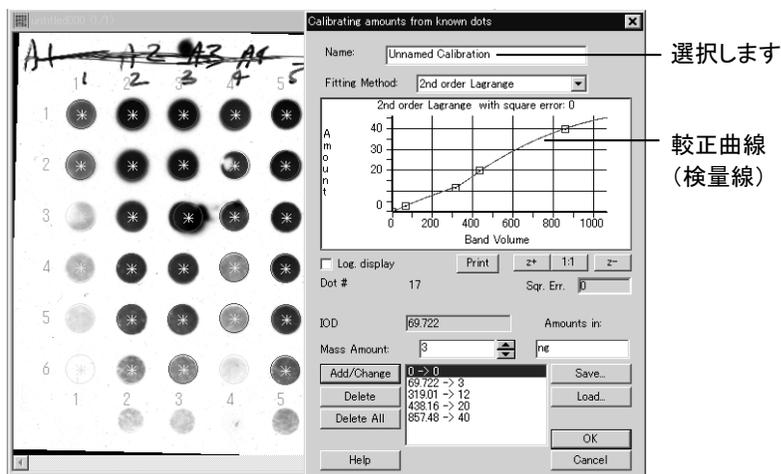


ダイアログボックス上部のグラフには、校正曲線(検量線)が表示されます。

6. 上の3.~5.と同様の手順で、一番上の横列の5番目のドットの値を、40 ng に校正して下さい。
7. 上の3.~5.と同様の手順で、一番上の横列の6番目のドットの値を、20 ng に校正して下さい。
8. 上の3.~5.と同様の手順で、上から3番目の横列の1番目のドットの値を、3 ng に校正して下さい。

9. Fitting Method (あてはめ方式) 欄で 2nd odr Lagrange (2次ラグランジュ) を選択します。

較正曲線が変形します。



10. OK をクリックして Calibrating amounts from known dots ダイアログを閉じます。

上記の操作で、画像内のドットの質量が、4つのドットの既知の質量に基づいて較正されました。

>>> 次のステップ「3.5 定量 — 測定結果(質量/IOD/相対量)の算出」(3-19ページ)へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】ドットの質量の較正 — その他のオプション:

Calibrating amounts from known dots (既知のドットで質量を較正) ダイアログボックスでは上記の操作の他に以下の処理が可能です。

■ 較正曲線グラフを対数表示にする:

これを行なうには、Calibrating amounts from known dots ダイアログボックスの Log. display (対数表示) オプションを選択します。

■ 較正曲線グラフを拡大・縮小表示する:

グラフをZ軸方向へ拡大するには、[z+] ボタンをクリックします。Z軸方向へ縮小するには、[z-] ボタンをクリックします。グラフを元の大きさに戻すには、[1:1] ボタンをクリックします。

■ Fitting Method (あてはめ方式):

この欄で選択可能な較正曲線のあてはめ関数は、以下の通りです。

- 1st odr Lagrange (1次ラグランジュ) – 1st odr polynomial (1次多項式)
- 2nd odr Lagrange (2次ラグランジュ) – 2nd odr polynomial (2次多項式)
- 3rd odr Lagrange (3次ラグランジュ) – 3rd odr polynomial (3次多項式)

■ 一旦入力した基準ドットの値を変更する:

Add/Change ボタンで入力した値を変更するには、変更したい値を Calibrating amounts from known dots ダイアログの欄で選択してから、Mass Amount (質量) 欄に新しい値を入力し、Add/Change (追加/変更) ボタンをクリックします。

■ 一旦入力した基準ドットの値を削除する:

これを行なうには、削除したい値を Calibrating amounts from known dots ダイアログボックスの欄で選択してから、Delete (削除) ボタンをクリックします。

■ 較正データをファイルに保存する:

これを行なうには、Calibrating amounts from known dots ダイアログボックスの File (ファイル) メニューから Save Calibration Curve (IOD + Mass + Dot #) [較正曲線(積分光学濃度+質量+ドット番号)を保存する] コマンドを実行し、Save Setting (設定を保存)ダイアログでファイル名を入力してから、「保存」ボタンをクリックします。較正データは、スタンダードファイル (*.std) に保存されます。

■ 較正データをファイルから再呼び出しする:

これを行なうには、Calibrating amounts from known dots ダイアログボックスの File メニューにある、以下のいずれかのコマンドを実行します。

- Load Calibration Curve (IOD + Mass) [較正曲線(積分光学濃度+質量)をロードする]: このコマンドは、スタンダードファイル(*.std)に保存されている積分光学濃度と、較正済みの質量の値を、そのままロードして現在の解析画像に適用します。従って、このコマンドは、質量の較正に使用した解析画像と、現在使用中の画像が同一である時に使用して下さい。

本コマンドを実行後、スタンダードファイルを選択し、「開く」ボタンをクリックしてファイルを開いて下さい。

- Load Standard Dots (Mass + Dot #)[基準ドット(質量+ドット番号)をロードする]: このコマンドを実行すると、スタンダードファイル(*.std)から基準ドットの位置と、その質量のみをロードします。積分光学濃度の値は、スタンダードファイルから読み出されずに、画像から直接取得されます。従って、このコマンドは、質量の較正に使用した解析画像とは別の画像に、スタンダードフ

ファイルの較正データを適用したい時に使用します(基準ドットの位置が全て一致している必要があります)。

本コマンドを実行後、スタンダードファイル(*.std)を選択し、「開く」ボタンをクリックしてファイルを開いて下さい。

■ 複数の較正データセットを使用する:

Dot Blotsツールパレットの Mass /IOD ボタンで表示される測定結果ウィンドウで、Calibrate メニューにある Allow Multiple Calibrations (複数の較正データを使用する) オプションを選択してから Calibrate Mass コマンドを実行すると(またはツールパレットの Calibrate ボタンをクリックすると)、複数の較正データセットを使用できます。複数の較正データの使用方法については、2-39ページの「複数の較正データセットを使用する」をご覧ください。

3.5 定量 – 測定結果(質量/IOD/相対量)の算出

解析画像内のドットが全て検出されたら、ドットを定量できます。ドットについて算出できるのは、以下の値です。

- 質量(マス):
質量を算出するには、上記の手順 (3-15ページ参照)で較正を行なう必要があります。
- 積分光学濃度 (IOD)
- 相対量

上記の測定を行なう手順は、以下の通りです。

3.5.1 質量(マス)の算出

始めに、ドットの質量(マス)を算出します。質量は、上の3.4で行なった較正に基づいて算出されます。

▼ 操作 – 質量の算出:

1. Dot Blots ツールパレットの Mass/IOD (質量/IOD) ボタンをクリックして、測定結果ウィンドウを開きます。



クリック
します



Calibrated Mass (ng)							
File	Show	Update	Sampling...	Help			
#Col	1	2	3	4	5	6	
Max:	43.465491						
Min:	2.3162701						
Mean:	14.117594						
Std. Dev.:	13.089697						
Sum:	790.58625						
#Col	1	2	3	4	5	6	
Row	1	12	41.7145	40.9561	31.1821	40	20
2	8.61942	35.1728	38.9222	17.1059	39.0125	15.5902	
3	3	28.3630	43.4655	23.5109	33.9651	7.56143	
4	3.46208	23.6947	26.2505	5.57194	27.7309	4.48255	
5	2.56518	15.4292	17.9312	4.47025	21.8871	3.53038	
6	2.32070	5.26721	5.29609	2.46374	9.22035	2.46195	
7	2.31627	2.61444	2.62905	2.33575	3.57449	2.32225	

測定結果のウィンドウが開きます

注記: このとき、測定結果ウィンドウは、Calibrated Mass (較正済みの質量) というウィンドウ名になっているはずですが、もし Integrated Intensity (積分強度、輝度総和) というウィンドウ名が表示される場合は、質量の較正を行っていない可能性があります。この場合は、上記の「3.4 ドットの質量の較正」(3-15ページ)の手順で、解析画像に較正を適用して下さい。

- Show (表示) メニューで Calibrated Mass (較正済みの質量) が選択されていることを確認します。他のオプションが選択されているときは、Calibrated Mass を選択します。

Calibrated Massが
選択されていることを
確認します

Calibrated Mass (ng)							
File	Show	Update	Sampling...	Help			
#Col	1	2	3				
Max:	43.465491						
Min:	2.3162701						
Mean:	14.117594						
Std. Dev.:	13.089697						
Sum:	790.58625						
#Col	1	2	3				
Row	1	12	41.7145	40.9561	31.1821	40	20
2	8.61942	35.1728	38.9222	17.1059	39.0125	15.5902	
3	3	28.3630	43.4655	23.5109	33.9651	7.56143	
4	3.46208	23.6947	26.2505	5.57194	27.7309	4.48255	
5	2.56518	15.4292	17.9312	4.47025	21.8871	3.53038	
6	2.32070	5.26721	5.29609	2.46374	9.22035	2.46195	
7	2.31627	2.61444	2.62905	2.33575	3.57449	2.32225	

これで、各ドットの質量の値が表示されます。

統計
データ

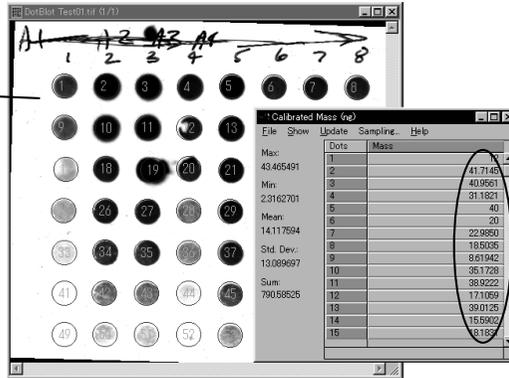
Calibrated Mass (ng)							
File	Show	Update	Sampling...	Help			
#Col	1	2	3	4	5	6	
Max:	43.465491						
Min:	2.3162701						
Mean:	14.117594						
Std. Dev.:	13.089697						
Sum:	790.58625						
#Col	1	2	3	4	5	6	
Row	1	12	41.7145	40.9561	31.1821	40	20
2	8.61942	35.1728	38.9222	17.1059	39.0125	15.5902	
3	3	28.3630	43.4655	23.5109	33.9651	7.56143	
4	3.46208	23.6947	26.2505	5.57194	27.7309	4.48255	
5	2.56518	15.4292	17.9312	4.47025	21.8871	3.53038	
6	2.32070	5.26721	5.29609	2.46374	9.22035	2.46195	
7	2.31627	2.61444	2.62905	2.33575	3.57449	2.32225	

測定結果ウィンドウの左端には、測定値の統計データ (Max: 最大値、Min: 最小値、Mean: 平均値、Std. Dev.: 標準偏差、Sum: 合計) が表示されます。

- 各ドットの質量を、解析画像内のドットと同じ配列で表示したい時は、Show メニューの Rows and Columns (縦横列で表示) オプションを選択します。通常はこの表示になっています(上図)。
- 各ドットの質量を、ドットの通し番号順に表示したい時は、Show メニューの List (一覧表示) オプションを選択します。

List表示の例:

ドットに通し番号が
付きます



測定値は
番号順に
並びます

注記: このオプションを選択すると、解析画像内のドット枠に、通し番号が表示されます。この通し番号が乱れている場合(順番通りに並んでいない場合は、Dot Blots ツールパレットの Dots (ドット検出) ボタンをクリックし、Dots ダイアログボックスの Sort (並べ替え) ボタンをクリックして、番号を振り直します(3-26ページを参照)。

5. ドットの質量の代わりに、ドットのバックグラウンドの値を算出したい時は、Show メニューの Background Values (バックグラウンド値) を選択します。

>>> 次のステップ「3.5.2 積分光学濃度(IOD)の算出」へ進んで下さい。

3.5.2 積分光学濃度 (IOD) の算出

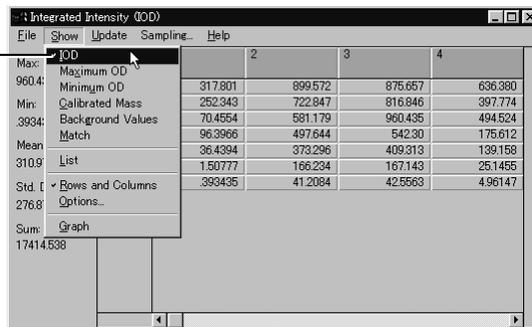
次に、ドットの積分光学濃度、最大・最小光学濃度を算出します。

▼ 操作 – 積分光学濃度の算出:

1. Dot Blots ツールパレットの Mass/IOD (質量/IOD) ボタンをクリックして、測定結果ウィンドウを開きます。
2. Show (表示) メニューから IOD (積分光学濃度) オプションを選択します。

これで、各ドットの積分光学濃度の値が表示されます。

IODを選択すると、
積分光学濃度の
値が算出されます



- 各ドットの積分光学濃度を、解析画像内のドットと同じ配列で表示したい時は、Show メニューの Rows and Columns (縦横列で表示) オプションを選択します。
- 各ドットの積分光学濃度を、ドットの通し番号順に表示したい時は、Show メニューの List (一覧表示) オプションを選択します。

注記: このオプションを選択すると、解析画像内のドット枠に、通し番号が表示されます。この番号が乱れている場合(順番通りに並んでいない場合)は、Dot Blots ツールパレットの Dots (ドット検出) ボタンをクリックし、Dots ダイアログの Sort (並べ替え) ボタンをクリックして、番号を振り直します(3-26ページ参照)。

- 積分光学濃度の代わりに、最大光学濃度(Maximum OD)の値を算出したい時は、Show メニューの Maximum OD を選択します。
- 最小光学濃度(Minimum OD)の値を算出したいときは、Show メニューの Minimum OD を選択します。

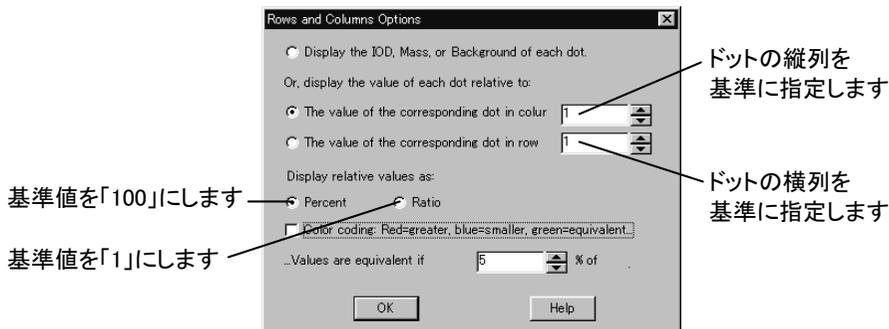
>>> 次のステップ「3.5.3 相対量の算出」へ進んで下さい。

3.5.3 相対量の算出

最後に、相対量の算出を行ないます。相対量の算出では、特定のドットの列を基準に設定する必要があります。

▼ 操作 — 相対量の算出:

- Dot Blots ツールパレットの Mass/IOD (質量/IOD) ボタンをクリックして、測定結果ウィンドウを開きます。
- 上記の「3.5.1 質量(マス)の算出」または「3.5.2 積分光学濃度(IOD)の算出」のいずれかを実行して、相対量の元になるデータ(質量または積分光学濃度)を表示させます。
- Show (表示) メニューの Options (オプション) をクリックして、Rows and Columns Options (縦横列表示のオプション) ダイアログボックスを開きます。



- 例えば、解析画像内の一番左のドットの縦列を基準ドット列に設定して、他のドットの値をその基準からの相対値として算出するときは、The value of the corresponding dot in column... (相対量の基準となるドット縦列の番号) オプションを選択してから、その右の欄に「1」と入力します。
- 基準ドットの値を「1」に設定する場合は、その下にある Ratio (比率) オプションを選択してから、OK ボタンをクリックします。

測定結果のウィンドウ内で、一番左のドット縦列の値が全て「1.0」になり、他のドットの値はその基準からの相対値になります。

#Col Row	1	2	3	4
1	1.0	2.8	2.8	2.0
2	1.0	2.9	3.2	1.6
3	1.0	8.2	13.6	7.0
4	1.0	5.2	5.6	1.8
5	1.0	10.2	11.2	3.8
6	1.0	110.3	110.9	16.7
7	1.0	104.7	108.2	12.6

1番目の縦列を基準 (=1) に設定した例

- 例えば、解析画像内の、上から2番目の横列のドットを基準ドット列に指定する場合は、Show メニューの Options (オプション) をクリックして Rows and Columns Options (縦横列表示のオプション) ダイアログボックスを開き、The value of the corresponding dot in row ...(相対量の基準となるドット横列の番号) オプションを選択してから、その右の欄に「2」と入力します。
- 基準ドットの値を「100」に設定する場合は、その下にある Percent (%) オプションを選択してから、OK ボタンをクリックします。

測定結果のウィンドウ内で、上から2番目のドット横列の値が全て「100.0」になり、他のドットの値はその基準からの相対値になります。

#Col Row	1	2	3	4
1	125.9	124.4	107.2	160.0
2	100.0	100.0	100.0	100.0
3	27.9	88.4	117.6	124.3
4	38.2	68.8	66.4	44.1
5	14.4	51.6	50.1	35.0
6	0.6	23.0	20.5	6.3
7	0.2	5.7	5.2	1.2

2番目の横列を基準 (=100) に設定した例

>>> 次のステップ「3.6 データベースに画像を保存する」(3-26ページ)へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】測定結果の算出 – その他のオプション:

■ マッチング:

ドット間のマッチングを調べるには、Dot Blots ツールパレットの Mass/IOD (質量/IOD) ボタンをクリックして測定結果のウィンドウを開き、Show (表示) メニューにある Match (マッチング) オプションを選択します。このオプションでは、指定した基準ドット列(ドットの縦列ないし横列)に相当するドットが、他の列にも存在するかどうかを表示します。

File	Show	Update	Sampling...	Help			
Max:	43.465491						
Min:	2.3162701						
Mean:	14.081077						
Std. Dev.:	13.038753						
Sum:	788.54029						
¥Col	1	2	3	4	5		
Row	1	2	3	4	5	6	7
	1	-1	-1	1	-1	1	
	-1	-1	-1	0	-1	-1	
	-1	-1	-1	-1	-1	-1	
	-1	-1	-1	-1	-1	-1	
	-1	-1	-1	-1	-1	-1	
	-1	-1	-1	-1	-1	-1	

各セルに表示される数値と色の関係は次の通りです。

- 基準ドット列のドットと等量のドット: 緑、 1
- 基準ドット列のドットよりも大きい値のドット: 赤、 0
- 基準ドット列のドットよりも小さい値のドット: 青、 -1

マッチングの設定は、測定結果のウィンドウの Show (表示) メニューにある Options (オプション) コマンドを実行し、Rows and Columns Options (縦横列表示のオプション) ダイアログボックスを開いて行ないます。

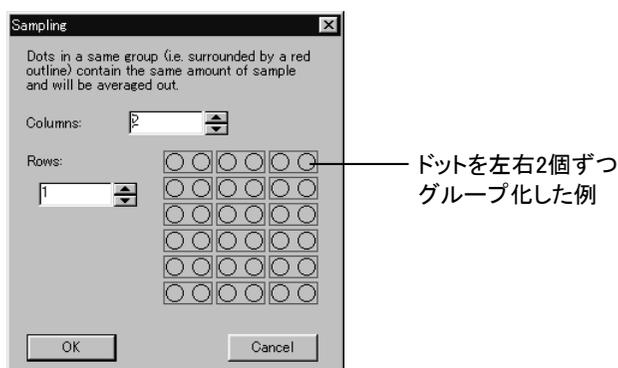
- ドットの縦列を基準ドットにする場合は、The value of the corresponding dot in column... (相対量の基準となるドット縦列の番号) 欄で基準ドット列を指定します。例えば、この欄で「1」を指定すると、1番目のドット縦列(最も左側の縦列)内の各ドットと比べて等量のドットが、他の縦列に存在するかどうかを判定します。
- ドットの横列を基準ドットにする場合は、The value of the corresponding dot in row ... (相対量の基準となるドット横列の番号) 欄で基準ドット列を指定します。例えば、この欄で「1」を指定すると、1番目のドット横列(最も上の横列)内の各ドットと比べて等量のドットが、他の横列に存在するかどうかを判定します。
- 色分け表示を行なうには、Color coding (色分け) オプションを選択します。

- 特定のドットが基準ドットと等分子量であるかどうかを判断する許容度は、Values are equivalent if ... % [等量と見なす許容範囲 (%)] 欄で指定します。

■ ドットのグループ化を行なう:

解析画像内の複数のドットがリプリケート(複製)である場合、それらをグループ化し、グループ毎に測定値を平均して算出することができます。

グループ化を行なうには、Dot Blots ツールパレットの Mass/IOD (質量/IOD) ボタンをクリックして測定値のウィンドウを開き、Sampling (サンプリング) コマンドを実行します。Sampling ダイアログボックスが開いたら、グループ化したいドットの横の個数を Column (横の個数) 欄に、縦の個数を Rows (縦の個数) 欄にそれぞれ入力します。

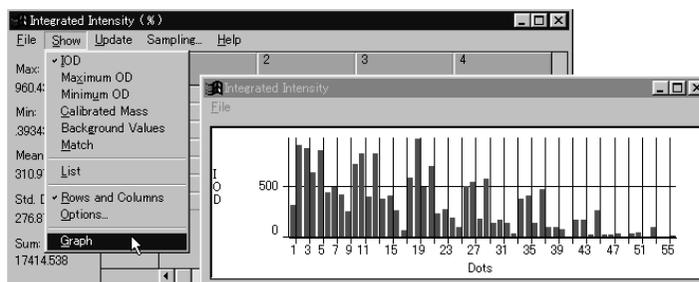


注記: ドットの列の縦横の個数は、Column および Rows 欄で指定した数値で割り切れる必要があります。例えば解析画像内のドットが横に8個並んでいる場合、Column 欄に「3」と指定すると割り切れず、正しく処理されません。

ドットのグループ化を行なった後は、測定結果のウィンドウに表示される測定値が、各グループの平均値となります(ドット毎の値ではありません)。

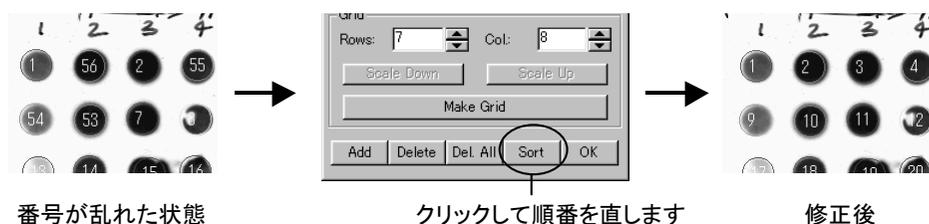
■ 測定結果をグラフで表示する:

測定結果のウィンドウの Show (表示) メニューから Graph (グラフ) コマンドを実行すると、画像内の各ドットの値をグラフに表示します。データの分布を見るときに使用します。



注記: このグラフの横軸に表示されている数字は、各ドットの番号です。この番号に対応する番号を解析画像内に表示するには、測定結果ウィンドウの Show メニューの List (一覧表示) オプションを選択します。

解析画像内の番号が乱れている場合(順番通りに並んでいない場合)は、Dot Blots ツールパレットの Dots (ドット検出) ボタンをクリックし、Dots ダイアログボックスの Sort (並べ替え) ボタンをクリックして、番号を振り直して下さい。



グラフ自体、もしくはグラフの元データを外部へ出力する時は、グラフのウィンドウの File (ファイル) メニューにあるコマンドを使用します。これらのコマンドについては、レーンプロファイルの出力についての説明 (2-59ページ) をご参照下さい。

■ 測定結果を再計算する:

測定結果のウィンドウの表示が乱れたときは、ウィンドウの Update (更新) コマンドを実行して下さい。

■ 測定結果を外部へ出力する:

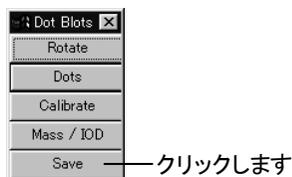
Dot Blots ツールパレットの Mass/IOD (質量/IOD) ボタンで表示される測定結果ウィンドウの File (ファイル) メニューには、測定結果を外部に出力するコマンドがあります。これらのコマンドについては、「2.5 測定結果を外部へ出力する」(2-57ページ)をご参照下さい。

3.6 データベースに測定結果を保存する

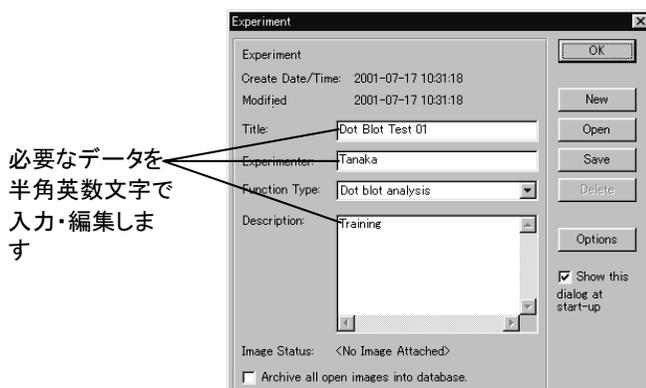
測定の終了後に、測定結果をデータベースに保存する手順は以下の通りです。

▼ 操作 — データベースに測定結果を保存する

1. 測定が終了した状態で、Dot Blots ツールパレットの Save (保存) ボタンをクリックします。

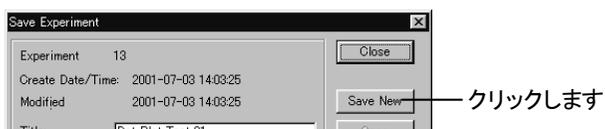


Experiment (実験) ダイアログボックスが開きます。ここで、必要に応じて Title (タイトル) 欄や Description (説明) 欄にコメントを入力・編集できます。

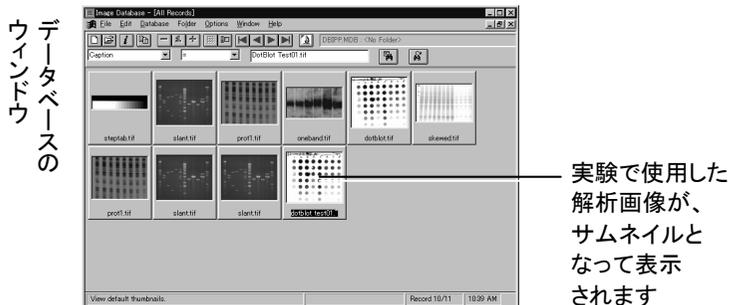


注記:

- Experiment ダイアログボックスに入力した文字データ (実験データ) は、実験データをデータベースから呼び出す時の、検索文字列になります。
 - 文字データは全て半角英数文字で入力して下さい。日本語の全角文字は、全角の数字やアルファベットを含めて入力しないで下さい。
2. Save New (新規保存) ボタンをクリックします。これで、データベースが起動し、解析画像と解析結果がデータベースに登録されます。



データベースのウィンドウに、登録された解析画像のサムネイル(ミニチュア画像)が表示されます。



注記: ここで“Workspace ‘...’ has not been saved. You need to save it to a file.” (「ファイル’...’は未保存です。ファイルに保存する必要があります)と表示されたら、OK ボタンをクリックして、画像をファイルに保存して下さい。

3. 以上でドットプロット解析のセッションは終了しましたので、Gel-Pro Analyzer の File (ファイル) メニューにある Exit (終了) コマンドを実行して、Gel-Pro Analyzer を終了します。

注記: データベースの使用法については、「2.6 データベース」(2-63ページ)をご参照下さい。

>>> 以上で、「第3章 ドットプロットの解析」の操作練習は全て終了です。次のステップとして、「第4章 コロニーカウンティング」へ進みましょう。

第4章 コロニーカウンティング

測定内容:

Gel-Pro Analyzerのコロニーカウンティング・ツールを使用すると、菌を培養したシャーレの画像内にあるコロニーを自動カウントできます。コロニーカウンティングで測定できるデータは以下の通りです。

- コロニーの個数 (Count)
- コロニーの面積 (Area)、直径 (Diameter)、周囲長 (Perimeter) など若干のパラメータ

本章では、Gel-Pro Analyzer に付属のサンプル画像を使用して、コロニーの個数を自動カウントする手順を練習します。

解析画像の要件と操作の概要:

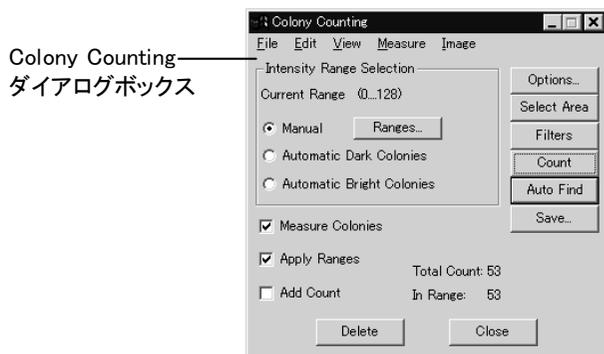
以下の練習では、例としてサンプル画像の“Colony.tif”を使用しますが、濃度測定ツールで測定する解析画像は、以下の要件を満たしている必要があります。

- グレースケール画像 (Gray Scale 8/12/16および Floating Point) であること。
画像がカラー画像である場合は、測定を行なう前に、あらかじめ Edit (編集) メニューの Convert To (変換) コマンドや Color Channel (色成分) コマンドにてグレースケール画像にしておく必要があります。
- コロニーの部分と背景の部分に、ある程度のコントラストがあること。
コロニーと背景のコントラストが非常に弱い場合は、自動カウントできないことがあります。

ここで行なう操作練習の概要は、以下の通りです。

- Gel-Pro Analyzerを起動し、Experiment ダイアログで基本設定を行なう (4-2ページ)
- 画像を開く (4-4ページ)
- オプションの設定を行なう (4-5ページ)
- 画像を平坦化する (4-9ページ)
- 測定範囲を限定する (4-10ページ)
- 画像を2値化してコロニーを抽出する (4-11ページ)
- 自動カウントを実行し、測定結果を表示する (4-12ページ)
- 測定結果をデータベースに保存する (4-15ページ)

この操作の大部分は、画面に表示される Colony Counting (コロニーカウンティング) ダイアログボックス(下図)のボタンやコマンドを使用することで実行できます。



Colony Counting ダイアログボックスは、Experiment ダイアログボックスの Function Type 欄で Colony counting を選択するか、あるいは Gel-Pro Analyzer の Tools (ツール) メニューで Colony Counting (コロニーカウンティング) を選択することで表示されます (次ページをご参照下さい)。

この練習には、約30分かかります。

4.1 実験データの入力

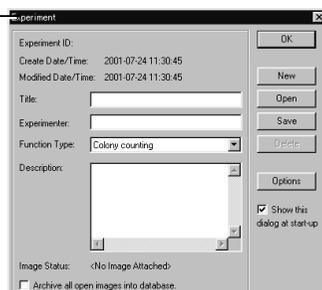
まず最初の操作として、実験データを入力する必要があります。操作手順は以下のようになります。

▼ 操作 — 実験データの入力:

1. Gel-Pro Analyzer をまだ起動していない場合は、Windows の「スタート」メニューの「プログラム」にある「Gel-Pro Analyzer 4.5」の「Gel-Pro Analyzer」をクリックして、Gel-Pro Analyzer を起動します。Gel-Pro Analyzer のアプリケーションウィンドウがアクティブになったら、以下の操作を開始できます。

Gel-Pro Analyzer が起動すると、通常は Experiment ダイアログボックスが自動的に開きます。

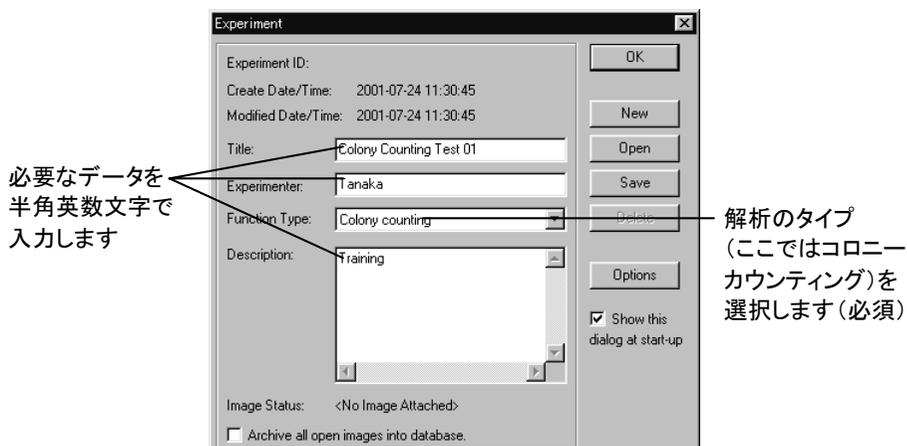
Experiment ダイアログ
ボックス (ここに実験
データを入力します)



注記: Gel-Pro Analyzer の起動時に Experiment ダイアログボックスが開かないときは、File メニューの Experiment コマンドを実行して開いて下さい。

Experiment ダイアログボックスで、測定の内容に合わせて基本設定を行ない、同時に実験データを入力する必要があります。

Title 欄に、実験のタイトルを半角英数文字で入力します。ここでは、例として“Colony Counting Test 01”と入力します。



注記: Gel-Pro Analyzerでは、原則として日本語の文字を使用できません。半角英数文字のみをご使用下さい。

2. Experimenter 欄に、実験者の名前を入力して下さい。上の図では、例として“Tanaka”と入力しています。
3. Function Type 欄で、Colony counting (コロニーカウンティング) を選択します。
選択すると同時に、Colony Counting (コロニーカウンティング) ダイアログボックスが画面に開きます。
4. Description 欄に、“Training”と入力します。
5. OK ボタンをクリックして Experiment ダイアログボックスを閉じます。

注記: 実験データについては、2-4ページの「【参考】実験データについて」をご覧ください。

>>> 次のステップ「4.2 画像を開く」(4-4ページ) へ進んで下さい。

4.2 画像を開く

次のステップとして、解析対象となる画像ファイルを Gel-Pro Analyzer 上に開きます。画像は、予め保存した画像ファイルから開いたり、スキャナ (B-1 ページを参照)、カメラなどの画像取り込みデバイスから取り込んで開くことが可能です。

▼ 操作 – 画像を開く:

1. File (ファイル) メニューの Open (開く) コマンドを実行して Open File (ファイルを開く) ダイアログボックスを開きます。
2. Gel-Pro Analyzer のアプリケーションフォルダの中にある "Images" フォルダ (通常は "C:\¥Gelpro45¥Images") を開きます。
3. "Colony.tif" ファイルを選択し、「開く」ボタンをクリックして、"Colony.tif" ファイルを開きます。



この解析画像はグレイスケール画像で、明るい背景の中にシャーレが写っており、その中に測定対象のコロニーが黒い点のように見えます。

また、この画像にはシェーディング (輝度のムラ) があります。シャーレの中心部分が明るく、周辺部はやや暗くなっています。

以下の操作では、この解析画像内のコロニーをカウントします。

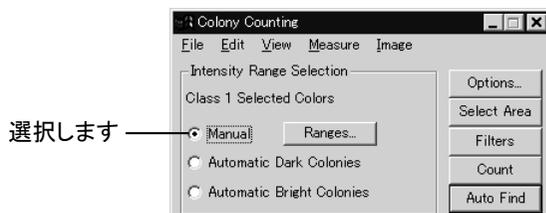
>>> 次のステップ「4.3 オプションの設定」(次ページ) へ進んで下さい。

4.3 オプションの設定

次に、測定オプション設定を行ないます。手順は以下のようになります。

▼ 操作 — オプションの設定:

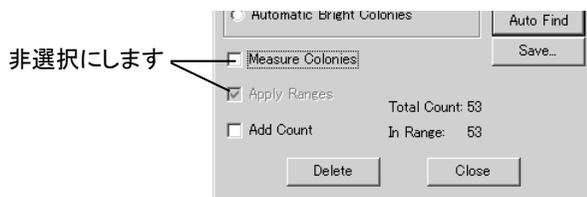
1. Colony Counting (コロニーカウンティング) ダイアログボックスの Manual (手動抽出) オプションを選択します。



注記: このオプションは、解析画像内のコロニーの色と背景の色との関係を手動で指定する場合に使用します(この操作は、「4.6 画像を2値化してコロニーを抽出する」で行ないます)。

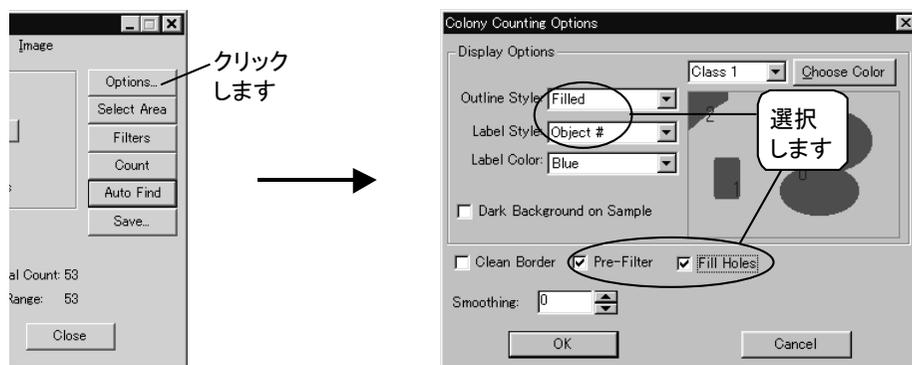
2. Measure Colonies (コロニーの測微を行なう) オプションを非選択にします。

同時に、Apply Ranges (選別レンジを適用) オプションも非選択の状態になります。



注記: このように設定するのは、この練習ではコロニーのカウントのみを行なうためです。コロニーについて面積などの測定を行なったり、測定結果に基づいてコロニーの選別を行なうときは、これらのオプションを選択しておく必要があります(4-6ページを参照)。

3. Colony Counting ダイアログボックスの Options (オプション) ボタンをクリックして Colony Counting Options (コロニーカウンティングのオプション) ダイアログボックスを開き、Outline Style (アウトラインの形式) 欄で Filled (塗りつぶし) を選択し、Label Style (ラベルの形式) 欄で Object # (オブジェクトの番号) を選択します。



4. 同じダイアログボックスの Pre-Filter (予め選別) オプションを選択します。

注記: このオプションは、選別レンジ (4-8ページ参照) を使用したときに、コロニーの通し番号が非連続になるのを防ぐために選択します。ここでは選別レンジを使用していないので、本来この設定は必要ありませんが、通常はこの Pre-Filter オプションを選択しておくことをお勧めします。

5. 同じダイアログボックスの Fill Holes (穴を埋める) オプションを選択し、OK ボタンをクリックして Colony Counting Options ダイアログボックスを閉じます。

>>> 次のステップ「4.4 画像を平坦化する」(4-9ページ) へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

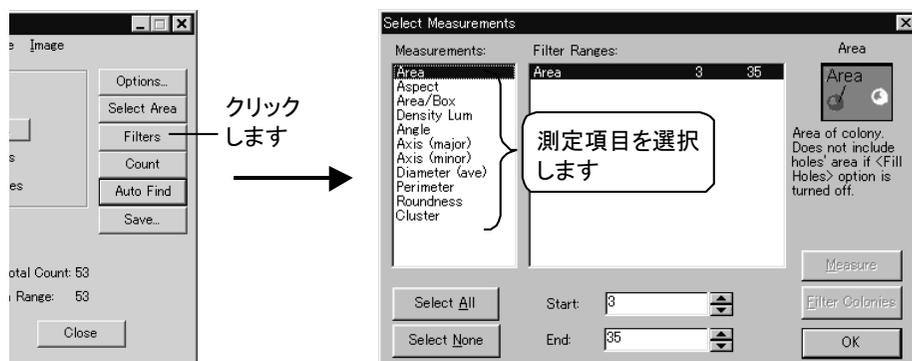
【参考】その他のオプション設定:

上記4.3の操作では、コロニーのカウントのみを行なうため、測定の設定オプションを全て非選択にしています。カウントのみでなく、面積などの測定を行なう場合や、測定結果に基づいてコロニーの選別を行なう時は、以下のように設定します。

■ コロニーの面積などを測定する(測徴を行なう)場合:

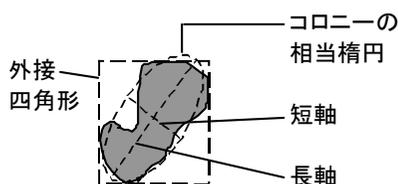
これを行なうには、Colony Counting ダイアログボックスの Measure Colonies (コロニーの測徴を行なう) オプションを選択し、次に Colony Counting ダイアログボックスの Filters (選別フィルタ) ボタンをクリックして、Select Measurements (測定項目) ダイアログボックスを開きます。

このダイアログボックスの左にある Measurements (測定項目) 欄で、測定したい項目を選択します。



選択可能な項目は以下の通りです。

- Area (面積): 各コロニーの面積です。
- Aspect (楕円長短軸比): 各コロニーの相当楕円の長軸と短軸の比です。



- Area/Box (四角形面積比): 各コロニーの面積と、コロニーの外接四角形の面積比です。
- Density Lum (平均輝度): 各コロニーの平均輝度です。
- Angle (角度): 各コロニーの相当楕円の長軸が、画像の基準軸に対して何度傾いているかを測定します。

画像の基準軸は通常は画像のY軸に一致しますが、Gel-Pro Analyzer の File (ファイル) メニューの Calibration (較正) — Spatial Calibration (空間較正) コマンドで Angle Offset (角度オフセット) の較正を行っている場合は、Angle Offset で指定した角度が基準軸となります。

- Axis (major) (楕円の長軸): 各コロニーの相当楕円の長軸の長さです。
- Axis (minor) (楕円の短軸): 各コロニーの相当楕円の短軸の長さです。
- Diameter (ave) [直径(平均)]: 各コロニーの平均直径です。
- Perimeter (周囲長): 各コロニーの周囲長(外周)です。
- Roundness (真円度): 各コロニーの真円度です。真円度は、 $[\text{周囲長}^2 \div (4 \times \pi \times \text{面積})]$ で算出されます。
- Cluster (クラスタ内個数): 複数のコロニーが凝集して1個としてカウントされている場合、この測定項目を選択すると、凝集している部分(クラスタ)に含まれているコロニーの個数を推定します。

必要な測定項目を選択したら、OKボタンをクリックします。測定は、Colony Counting ダイアログボックスの Count (カウント実行) ボタンをクリックした時点で行なわれます(4-12ページを参照)。

注記: 測定値をピクセル単位でなく実寸(mm、 μ mなど)で算出させたいときは、画像に予め空間較正をかけておく必要があります。空間較正については、「付録 C 空間較正」(C-1ページ)をご覧ください。

■ 測定結果に基づいてコロニーの選別を行なう場合:

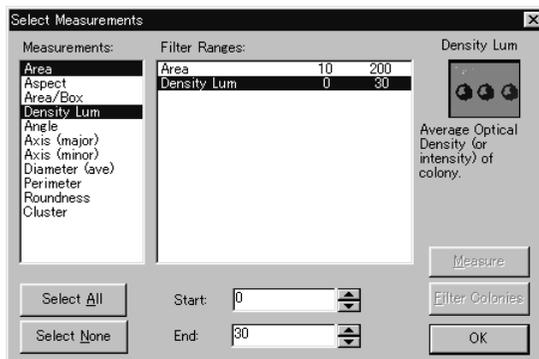
これを行なうには、Colony Counting ダイアログボックスの Measure Colonies (コロニーの測微を行なう) オプションと Apply Ranges (選別レンジを適用) オプションを選択し、次に Colony Counting ダイアログボックスの Filters (選別フィルタ) ボタンをクリックして、Select Measurements (測定項目) ダイアログボックスを開きます。

このダイアログボックスの中央にある Filter Ranges (選別レンジ) 欄で測定項目を選択し、その下の Start (最小) および End (最大) 欄で測定値を限定します。

例えば、Filter Ranges 欄で Area (面積) を選択してから Start に「10」、End に「200」と入力すると、面積が 10 ~ 200 のコロニーのみをカウントおよび測定の対象とし、それ以外のコロニーは測定対象から除外します。

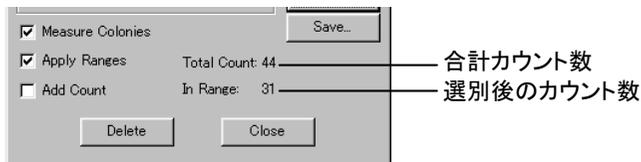
この機能を利用すると、自動カウント時にコロニー以外の微細なゴミ等と一緒にカウントされてしまうのを防ぐことができます。

選別レンジの設定を複数の測定項目について行なうと、測定対象のコロニーを「絞り込む」ことができます。例えば次の図のように設定すると、面積(Area)が10 ~ 200で、かつ平均輝度が0 ~ 30のコロニーのみを測定対象として抽出します。



設定が終了したら、OKボタンをクリックします。選別は、Colony Counting ダイアログボックスの Count (カウント実行) ボタンをクリックした時点で行なわれます(4-12ページを参照)。

選別レンジを設定してカウントを行なった場合、カウント実行後に Colony Counting ダイアログボックスの In Range (レンジ内) 欄に表示されるカウント数が、選別後のコロニー数になります。これに対し、Total Count (カウント合計) 欄の数値は、選別レンジを適用する前の合計カウント数です。



4.4 画像を平坦化する

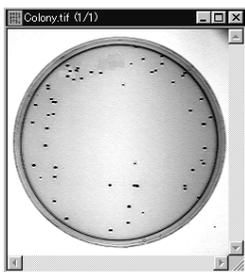
上の4.2で見たように、解析画像“Colony.tif”には、輝度のムラがあります。画像をこのまま2値化(4-11ページ参照)して自動カウントすると、画像の背景からコロニーを正しく抽出できず、カウントに失敗する可能性がありますので、2値化を行なう前に、画像を予め以下の手順で平坦化しておきます。

▼ 操作 — 画像を平坦化する:

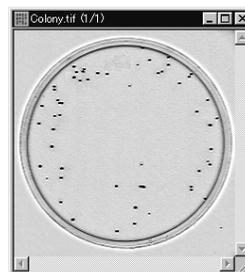
1. Colony Counting ダイアログボックスの Image (画像) メニューから Flatten Background (背景を平坦化) コマンドを実行し、Flatten Background ダイアログボックスを開きます。
2. Background (背景) 欄の Bright (明るい) オプションを選択します。これは、この解析画像では明るい背景に黒いコロニーが写っているためです。
3. Max. Feature Size (コロニーの最大幅) 欄で、「20」を指定します。この欄は、コロニーの最大径をピクセル単位で指定します。
4. OK をクリックして画像の平坦化を実行します。



(平坦化処理前
輝度ムラがあります)



(平坦化処理後
輝度ムラが除去されました)



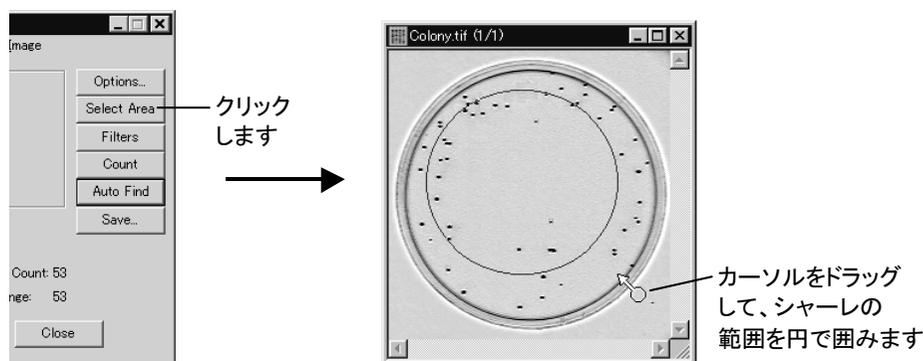
>>> 次のステップ「4.5 測定範囲を限定する」(4-10ページ) へ進んで下さい。

4.5 測定範囲を限定する

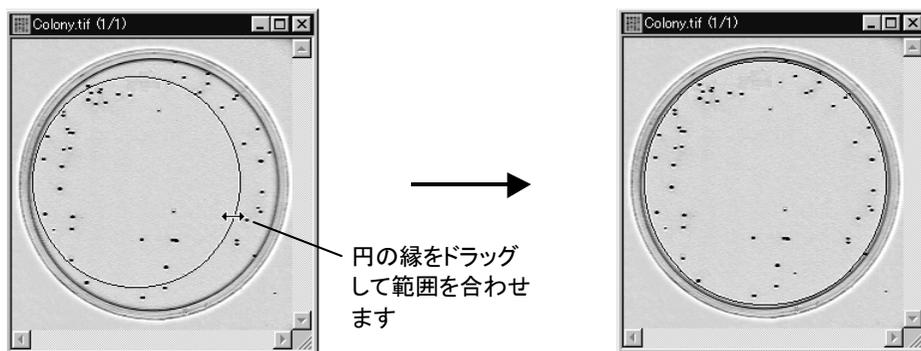
次に、解析画像内の測定範囲(ここではシャーレの範囲)を限定します。手順は以下のようになります。

▼ 操作 — 測定範囲を限定する:

1. Colony Counting ダイアログボックスの Select Area (範囲を指定) ボタンをクリックし、カーソルを解析画像内に入れます。
2. カーソルが  のような形になったら、画像内をドラッグして、シャーレの範囲を円で囲みます。



円の縁をドラッグして、シャーレの範囲に合わせて下さい。



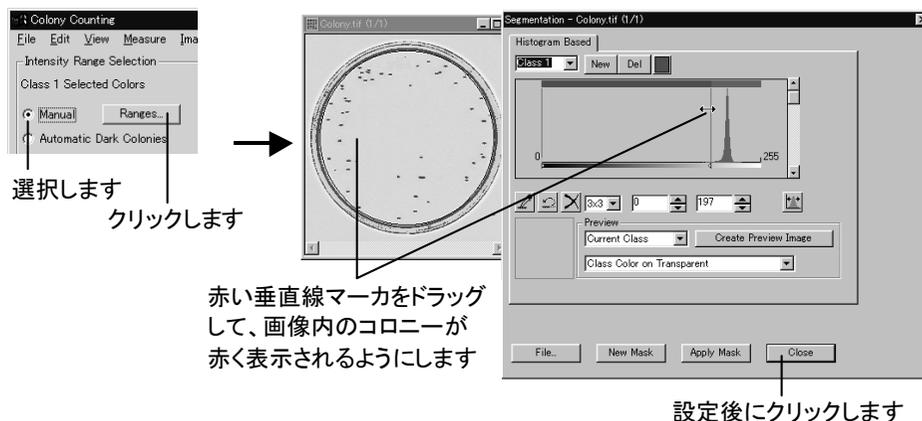
>>> 次のステップ「4.6 画像を2値化してコロニーを抽出する」(次ページ)へ進んで下さい。

4.6 画像を2値化してコロニーを抽出する

次に、画像を2値化して、コロニーの部分(画像内の暗い点の部分)が背景から抜き出されるようにします。手順は以下の通りです。

▼ 操作 – 画像を2値化してコロニーを抽出する:

1. Colony Counting ダイアログのManual (手動抽出)を選択し、Ranges (輝度レンジ) ボタンをクリックして Segmentation (色抽出) ウィンドウを開きます。



2. ウィンドウの中央に表示されるヒストグラムの両側にある、赤い垂直線マーカをドラッグして、画像内のコロニーの部分(暗い点の部分)が赤く表示されるように2値化します(上図)。この画像では、下限(左側のマーカ)を「0」、上限(右側のマーカ)を「197」前後に設定すると、コロニーが赤く表示されます。
3. 完了したら、Close (閉じる) ボタンをクリックして Colony Counting ダイアログボックスへ戻ります。

>>> 次のステップ「4.7 自動カウントを実行し、測定結果を表示する」(4-12 ページ)へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】その他のオプション設定:

■ 画像を自動で2値化し、コロニーを抽出する:

画像内のコロニーの領域と背景の領域の明るさの関係に基づいて、自動で画像を2値化してコロニーを抽出できます。これを行なうには、上の4.6の手順の代わりに以下のオプションのいずれかを選択し、次の4.7の手順に進みます。

- Automatic Dark Colonies (暗い色のコロニーを自動抽出)
- Automatic Bright Colonies (明るい色のコロニーを自動抽出)

4.7 自動カウントを実行し、測定結果を表示する

上記の設定の後、自動カウントを実行します。

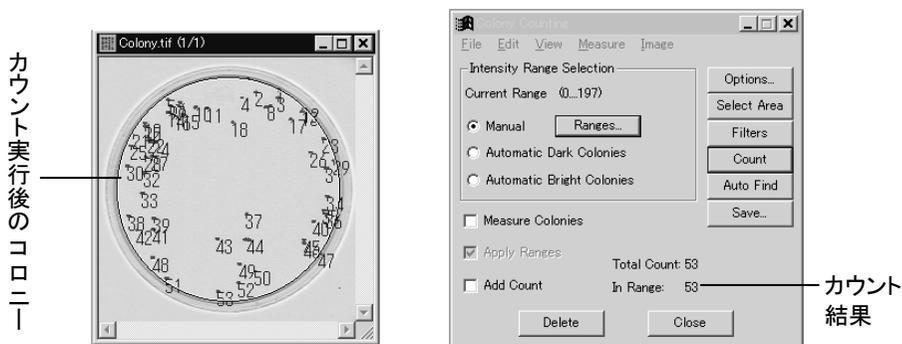
▼ 操作 — 自動カウントを実行し、測定結果を表示する:

1. Colony Counting ダイアログの Count (カウント実行) ボタンをクリックします。



これでコロニーの自動カウントが実行されます。

解析画像内のコロニーには赤いアウトライン (輪郭線) が付き、通し番号が振られます。



カウント結果は、Colony Counting ダイアログボックスの右下に表示されます。

注記: コロニーの測定を行なった場合は、Count ボタンをクリックすると同時に測定も実行されます。

>>> 次のステップ「4.8 データベースに測定結果を保存する」(4-15ページ)へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

【参考】自動カウント – その他のオプション:

■ コロニーを測定した場合の測定値の表示:

4-6ページの「コロニーの面積などを測定する場合」のオプションを使用してコロニーの測定を行なった場合、測定結果を表示するには、Colony Counting ダイアログボックスの View (表示) メニューにある以下のコマンドを使用します。

– Data Set (データセット):

各コロニーの測定値を表示します。

– Statistics (統計):

測定値から算出された統計データを表示します。表示される統計データは以下の通りです。

- Min (最小値)
- Max (最大値)
- Range (レンジ: 最小値と最大値の差)
- Mean (平均)
- Std. Dev (標準偏差)
- Samples (サンプル数: 測定対象となったコロニーの個数)

– Distribution (分布グラフ):

測定結果の分布を示す度数分布ヒストグラムを表示します。

測定結果は、いずれも外部への出力が可能です。外部出力の方法については、「2.5 測定結果を外部へ出力する」(2-57ページ)をご参照下さい。

■ 不要な領域がコロニーとしてカウントされる、あるいは必要なコロニーがカウントされない場合:

このような場合、カウントの結果を手動補正できます。手順は以下のようになります。

– 不要な領域をカウントから除外する:

不要な領域(コロニーではないゴミや、シャーレの縁の一部など)がカウントされてしまった時は、まず Colony Counting ダイアログボックスの Edit (編集) メニューにある Remove/Show Colonies (コロニーの除外/復帰) コマンドをクリックします。

次に、解析画像内の不要な領域（誤ってコロニーとしてカウントされているもの）をクリックして除去します（一度クリックすると除去され、もう一度クリックすると再度表示されます）。

不要な領域を全て除去したら、Gel-Pro Analyzer ダイアログボックスの Continue（続ける）ボタンをクリックします。これでカウント結果が更新されます。

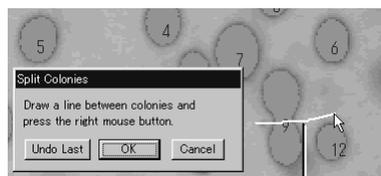
注記: 不要な領域をカウントから一括除去するには、選別レンジを利用できません。選別レンジについては、「測定結果に基づいてコロニーの選別を行なう場合」(4-8ページ) をご覧ください。

- カウントされなかったコロニーをカウントに追加する:

これを行なうには、Colony Counting ダイアログボックスの Edit（編集）メニューにある Draw/Merge Colonies（コロニーを描く/結合する）コマンドを実行し、解析画像内をマウスでドラッグしてコロニーの輪郭を描き、Draw/Merge Colonies ダイアログボックスの OK ボタンをクリックします。描いたコロニーが解析画像内に表示され、同時にカウントが更新されます。

■ 2つのコロニーが1個としてカウントされている場合:

この場合、Colony Counting ダイアログボックスの Edit（編集）メニューにある Split Colonies（コロニーを分割する）コマンドを実行し、マウスで2つのコロニーを分離する線を引いてから、Split Colonies ダイアログボックスの OK ボタンをクリックします。



分離する線を引きます

コロニーが分割され、同時にカウントが更新されます。

■ コロニーカウントを完全自動で行なう:

カウントを完全に自動処理で行なうこともできます。これを実行するには、解析画像を開いてから、Tools（ツール）メニューの Colony Counting（コロニーカウンティング）コマンドを実行して Colony Counting ダイアログボックスを開き、Auto Find（自動検出）ボタンをクリックします。

一連の自動処理が実行され、カウントの結果(カウント数と、コロニーの大きさを2つの等級に自動分類した結果)が表示されます。

注記: 完全自動でカウントする場合、画像内にシャーレが見つからないと、“Could not find dish.”（「シャーレが見つかりません」）と表示されます。この場合は、Continue（続ける）ボタンをクリックし、画像内に表示される円をドラッグして測定範囲を指定してから、Continue ボタンをクリックしてカウントを実行して下さい。

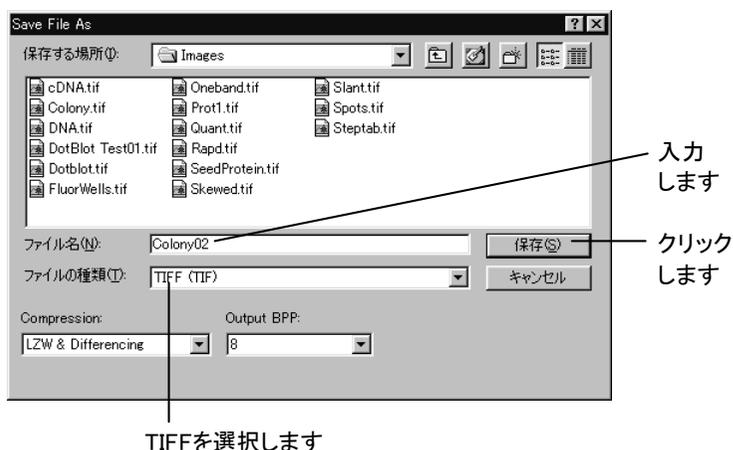
4.8 データベースに測定結果を保存する

測定の終了後に、測定結果をデータベースに保存する手順は以下の通りです。

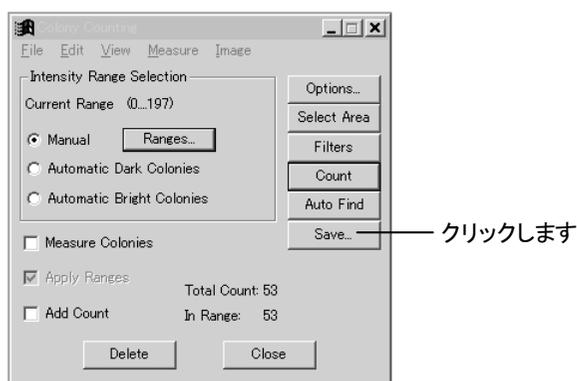
▼ 操作 – データベースに測定結果を保存する:

1. 測定が終了した状態で、Gel-Pro Analyzer の File (ファイル) メニューから Save As (名前を付けて保存) コマンドを実行します。

Save File (ファイルを保存) ダイアログボックスの「ファイルの種類」欄で TIFF (TIF) を選択し、「ファイル名」欄に“Colony02”と入力してから、「保存」ボタンをクリックします。

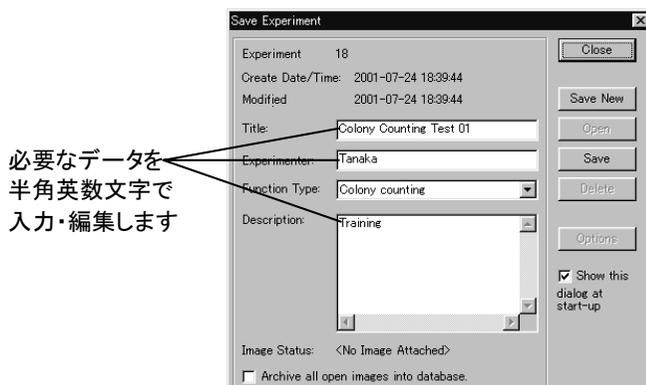


2. 次に、Colony Counting ダイアログボックスの Save (保存) ボタンをクリックします。



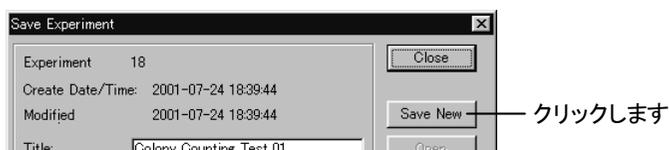
Experiment (実験) ダイアログボックスが開きます。

ここで、必要に応じて Title (タイトル) 欄や Description (説明) 欄にコメントを入力・編集できます。

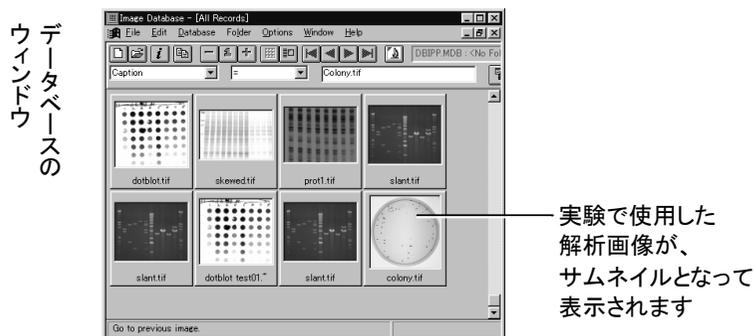


注記:

- Experiment ダイアログボックスに入力した文字データ (実験データ) は、実験データをデータベースから呼び出す時の、検索文字列になります。
 - 文字データは全て半角英数文字で入力して下さい。日本語の全角文字は、全角の数字やアルファベットを含めて入力しないで下さい。
3. Save New (新規保存) ボタンをクリックします。これでデータベースが起動し、解析画像と解析結果がデータベースに登録されます。



データベースのウィンドウに、登録された解析画像のサムネイル(ミニチュア画像)が表示されます。



4. 以上でコロニーカウンティングのセッションは終了しましたので、Gel-Pro Analyzer の File (ファイル) メニューにある Exit (終了) コマンドを実行して、Gel-Pro Analyzer を終了して下さい。

注記: データベースの使用法について詳しくは、「2.6 データベース」(2-63ページ)をご参照下さい。

>>> 以上で、「第4章 コロニーカウティング」の操作練習は全て終了です。
次のステップとして、「第5章 濃度の測定」へ進みましょう。

第5章 濃度の測定

測定内容:

Gel-Pro Analyzerの濃度測定ツールを使用すると、解析画像内の測定対象領域をトレースして囲み、その領域の濃度を測定することができます。濃度測定で測定可能な主要データは、以下の通りです。

- 測定対象領域(バックグラウンドを除く)の積分光学濃度 [Total Density (OD)]
- 測定対象領域(バックグラウンドを除く)の平均光学濃度 [Mean Density (OD)]
- 測定対象領域の面積 (Area)

注記: 上記以外の測定項目については、5-10ページをご覧ください。

本章では、Gel-Pro Analyzer に付属のサンプル画像を使用して、以上の測定項目について、必要なオプション設定を行ないながら測定します。

解析画像の要件と操作の概要:

以下の練習では、例としてサンプル画像の“Spots.tif”を使用しますが、濃度測定ツールで測定する解析画像は、以下の要件を満たしている必要があります。

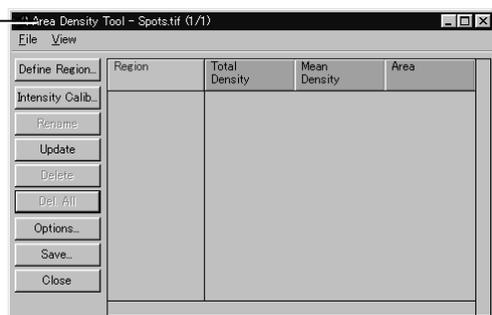
- グレイスケール画像 (Gray Scale 8/12/16および Floating Point) であること。
画像がカラー画像である場合は、測定を行なう前に、あらかじめ Edit (編集) メニューの Convert To (変換) コマンドまたは Color Channel (色成分) コマンドにてグレイスケール画像にしておく必要があります。
- 濃度の較正 (density calibration) を適用した画像であること。
濃度の測定を行なうには、解析画像に濃度の較正をかける必要があります。

ここで行なう練習の概要は、以下の通りです。

- Gel-Pro Analyzer を起動し、Experiment ダイアログで基本設定を行なう (5-2ページ)
- 画像を開く (5-4ページ)
- 濃度の較正を行なう (5-5ページ)
- 測定領域をトレースし、測定を実行する (5-6ページ)
- 測定結果をデータベースに保存する (5-11ページ)

この操作の大部分は、画面に表示される Area Density Tool (濃度測定ツール)ダイアログボックス(下図)のボタンをクリックすることで実行できます。

Area Density Tool
ダイアログボックス



Area Density Tool ダイアログボックスは、Experiment ダイアログボックスの Function Type 欄で Area density を選択するか、あるいは Gel-Pro Analyzer の Tools (ツール)メニューで Area Density (濃度測定) を選択することで表示されます (5-3ページをご参照下さい)。

この練習には、約10分かかります。

5.1 実験データの入力

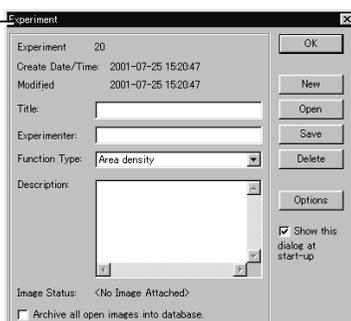
まず最初の操作として、実験データを入力する必要があります。操作手順は以下のようになります。

▼ 操作 — 実験データの入力:

1. Gel-Pro Analyzer をまだ起動していない場合は、Windows の「スタート」メニューの「プログラム」にある「Gel-Pro Analyzer 4.5」の「Gel-Pro Analyzer」をクリックして、Gel-Pro Analyzer を起動します。Gel-Pro Analyzer のアプリケーションウィンドウがアクティブになったら、以下の操作を開始できます。

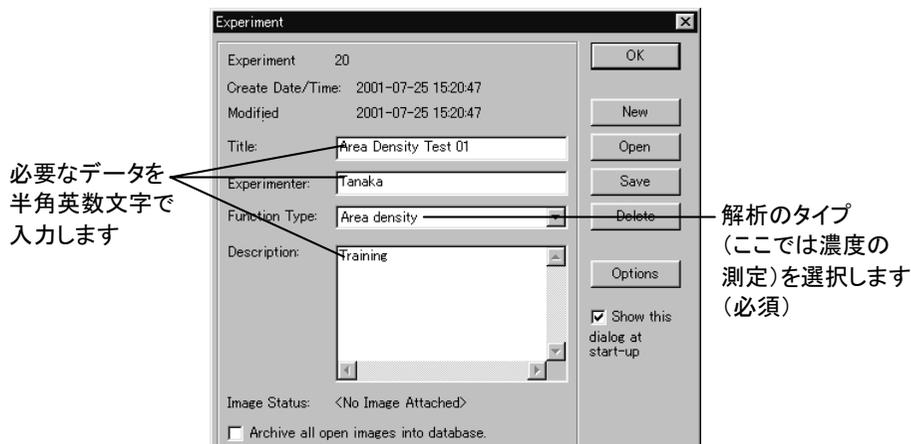
Gel-Pro Analyzer が起動すると、通常は Experiment ダイアログボックスが自動的に開きます。

Experimentダイアログ
ボックス(ここに実験
データを入力します)



注記: Gel-Pro Analyzer の起動時に Experiment ダイアログボックスが開かないときは、File メニューの Experiment コマンドを実行して開いて下さい。

Experiment ダイアログボックスで、測定の内容に合わせて基本設定を行ない、同時に実験データを入力する必要があります。



Title欄に、実験のタイトルを半角英数文字で入力します。ここでは、例として“Area Density Test 01”と入力します(上図)。

注記: Gel-Pro Analyzerでは、原則として日本語の文字を使用できません。半角英数文字のみをご使用下さい。

2. Experimenter欄に、実験者の名前を入力します。上図では、例として“Tanaka”と入力しています。
3. Function Type欄で、Area density (濃度測定) を選択します。
選択すると同時に、Area Density Tool (濃度測定ツール) ダイアログボックスが画面に開きます。
4. Description欄に、“Training”と入力します。
5. OKボタンをクリックしてExperimentダイアログボックスを閉じます。

注記: 実験データについて詳しくは、2-4ページの「【参考】実験データについて」をご覧ください。

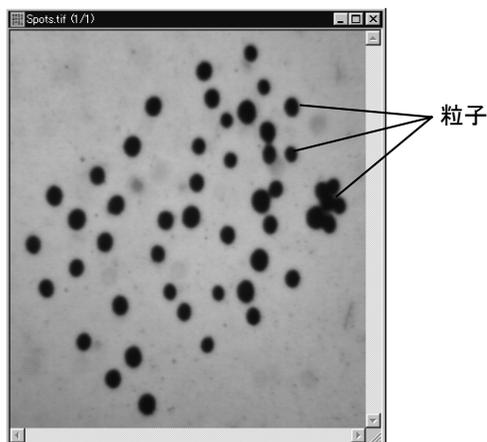
>>> 次のステップ「5.2 画像を開く」(5-4ページ) へ進んで下さい。

5.2 画像を開く

次のステップとして、解析対象となる画像ファイルを Gel-Pro Analyzer 上に開きます。画像は、予め保存した画像ファイルから開いたり、スキャナ、カメラなどの画像取り込みデバイスから取り込んで開くことが可能です。

▼ 操作 — 画像を開く:

1. File (ファイル) メニューの Open (開く) コマンドを実行して Open File (ファイルを開く) ダイアログボックスを開きます。
2. Gel-Pro Analyzer のアプリケーションフォルダの中にある "Images" フォルダ (通常は "C:\¥Gelpro45¥Images") を開きます。
3. "Spots.tif" ファイルを選択し、「開く」ボタンをクリックして、"Spots.tif" ファイルを開きます。



この画像はグレイスケール画像で、明るい背景の中に、黒い測定対象(粒子)が写っています。

以下の操作では、この黒い粒子の濃度(積分光学濃度と平均濃度)を測定します。

>>> 次のステップ「5.3 濃度の較正を行なう」(次ページ)へ進んで下さい。

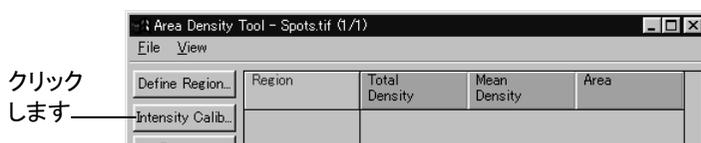
5.3 濃度の較正を行なう

次に、画像に対して濃度の較正を行なう必要があります。手順は以下のようになります。

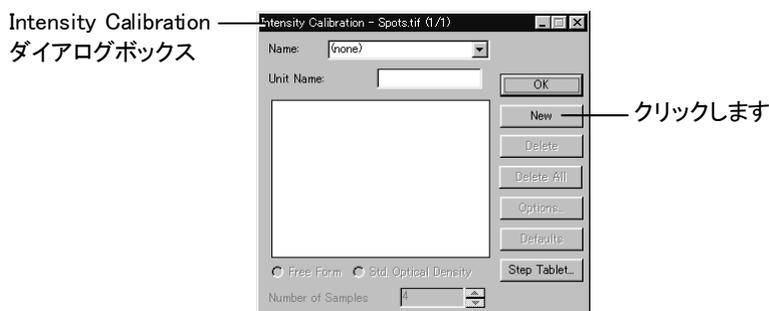
注記: 濃度の較正を行っていない解析画像を測定すると、測定値が算出されません。従って以下の較正の操作は必須です。

▼ 操作 — 濃度の較正を行なう:

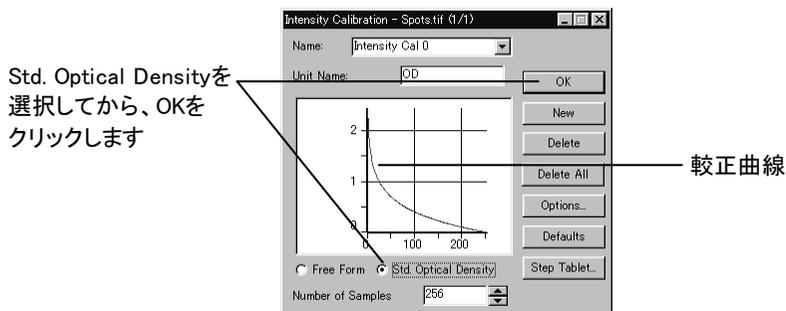
1. Area Density Tool (濃度測定ツール) ダイアログボックスの Intensity Calib (輝度較正) ボタンをクリックします。



2. Intensity Calibration (輝度較正) ダイアログボックスが開きます。



3. New (新規) ボタンをクリックします(上図)。
4. Std. Optical Density (標準光学濃度) オプションをクリックして選択します。
ダイアログボックスに、標準光学濃度の較正曲線(検量線)が表示されます。



5. OK ボタンをクリックします。

これで Intensity Calibration ダイアログボックスが閉じ、解析画像“Spots.tif”に濃度の較正がかかりました。

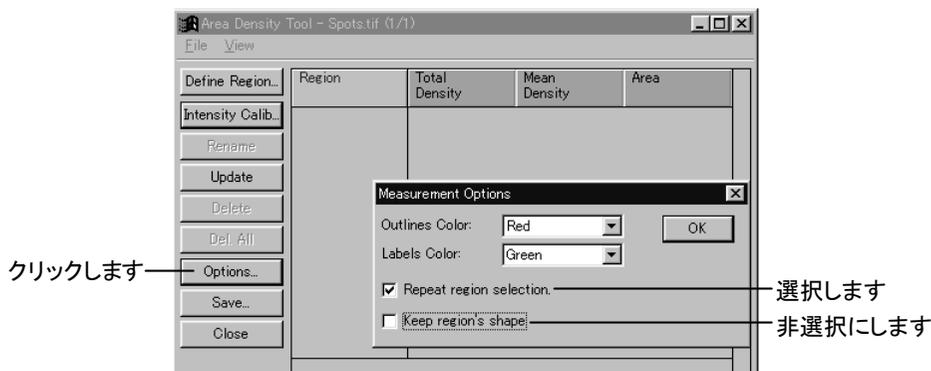
>>> 次のステップ「5.4 測定領域をトレースし、測定を実行する」へ進んで下さい。

5.4 測定領域をトレースし、測定を実行する

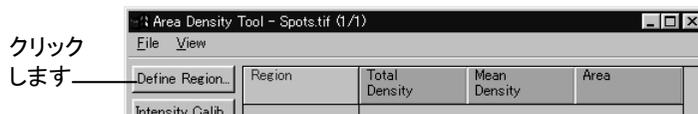
次に、解析画像内の測定対象領域（解析画像内の黒い粒子）をトレースして、測定を実行します。

▼ 操作 — 測定領域をトレースし、測定を実行する:

1. Area Density Tool ダイアログボックスの Options (オプション) ボタンをクリックして Measurement Options (測定オプション) ダイアログボックスを開き、Repeat region selection (領域の選択を反復する) オプションを選択します。



2. 同じダイアログボックスで、Keep region's shape (領域の形状を保持する) オプションを非選択にします。OK ボタンをクリックして Measurement Options ダイアログボックスを閉じます。
3. 次に、Define Region (領域を指定) ボタンをクリックします。



Area Measurement メッセージボックスと、Magic Wand (マジックワンド) ダイアログボックスが開きます。



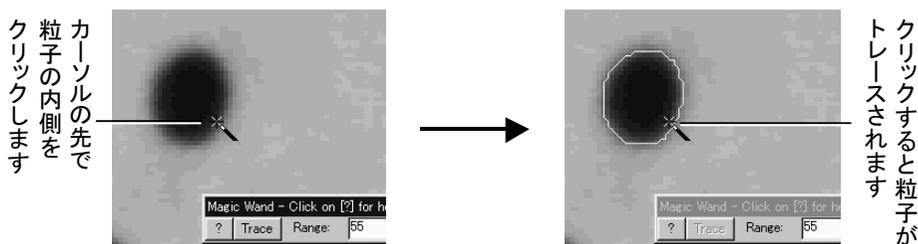
注記: このとき、Magic Wand ダイアログボックスの代わりに Trace (トレース) ダイアログボックスが表示された場合は、Trace ダイアログの Wand ボタンをクリックして、Magic Wand ダイアログボックスに切り替えて下さい。



クリックして Magic Wand に切り替えます

4. 画像の中にカーソルを入れると魔法の杖の形 (☞) になります。このカーソルの先の部分 (☞) で画像内の黒い粒子をクリックします。

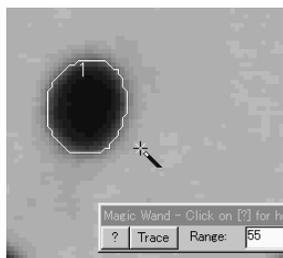
クリックした粒子の輪郭がトレースされます。



注記: このとき、粒子の全体でなく一部のみがトレースされてしまう場合は、Magic Wand ダイアログボックスの Range (レンジ) の値を増やしてから、再度粒子をクリックして下さい。

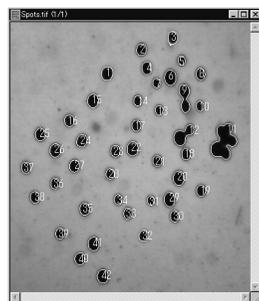
5. 画像内を右クリックします。

これで粒子のトレース線が確定し、粒子に番号が付きます。

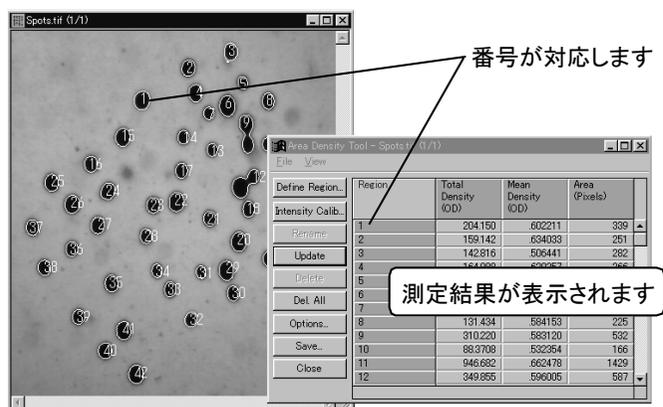


画像内を右クリックするとトレース線が確定し、粒子に番号が付きます

6. 上の4.~5.の手順を繰り返して、解析画像内の全粒子をトレースします (右図)。



7. 全粒子をトレースし終わったら、Area Measurement メッセージボックスの End (終了) ボタンをクリックします。これでトレースと測定が終了し、測定結果が Area Density Tool ダイアログボックスの表に表示されます。



- 表の Region (領域) の列に表示される番号は、解析画像内の各粒子に振られた番号に対応します。
- Total Density (OD) の列は、積分光学濃度(バックグラウンド部分を除く)を表示します。
- Mean Density (OD) の列は、平均光学濃度(バックグラウンド部分を除く)を表示します。
- Area の列は、面積を表示します。

注記: 面積の測定値は、画像に空間較正がかかっているときは較正済みの値になります [「付録C 空間較正」(C-1ページ)をご参照下さい]。

以上で粒子の濃度の測定は終了です。

>>> 次のステップ「5.5 データベースに測定結果を保存する」(5-11ページ)へ進んで下さい。

以下は、ご参考用の詳細情報です。

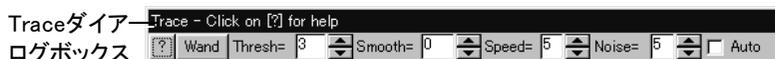
【参考】濃度の測定 — その他のオプション:

■ マウスのドラッグで任意の形状をトレースして測定する:

Magic Wand (マジックワンド) ツールは、解析画像の背景と測定対象の領域との間に十分なコントラストがある場合に有効ですが、コントラストが不十分な場合、Magic Wand では正しくトレースできないことがあります。そのような場合は、Magic Wand の代わりに Trace (トレース) ツールを使用して、測定対象領域をマウスでなぞることにより領域をトレースします。

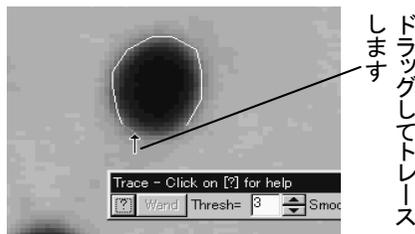
これを行なうには、上記の3.~5.の手順を以下のように変更します。

3. Define Region (領域を指定) ボタンをクリックします。Magic Wand ダイアログボックスが表示されたら、同ダイアログの Trace (トレース) ボタンをクリックして、Trace ダイアログボックスを開きます。



4. 画像内にカーソルを入れ、測定対象物の輪郭をなぞるようにマウスをドラッグしてトレースします。

なぞるのに失敗したら、[Backspace] キーを押し続けてトレース線を戻し、引き直して下さい。



注記: Trace ツールによるトレースの方法については、「付録A その他のツール」(A-11ページ)をご覧ください。

5. トレースが終了したら、画像内で右クリックします。

これで粒子のトレース線が確定し、粒子に番号が付きます。

■ 不要な測定対象の領域を削除する:

上記の手順で測定対象の領域をトレースしたあとで、不要な領域を削除したいときは、以下の手順で行ないます。

1. まず不要な領域を画像内でクリックします。クリックした領域に対応する測定値が Area Density Tool ダイアログボックスの表内でも選択されたことを確認します。
2. Area Density Tool ダイアログボックスの Delete (削除) ボタンをクリックします。
3. “Delete Measurements” (“測定値を削除しますか?”) というメッセージが表示されたら、「はい」を選択して削除を実行します。

■ 同一の形状・同一の大きさの測定対象領域が画像内に複数個存在している場合:

この場合は、Area Density Tool ダイアログボックスの Options (オプション) ボタンをクリックして、Keep region's shape (領域の形状を保持する) を選択してから Define Region ボタンをクリックし、最初の測定対象領域をトレースします。

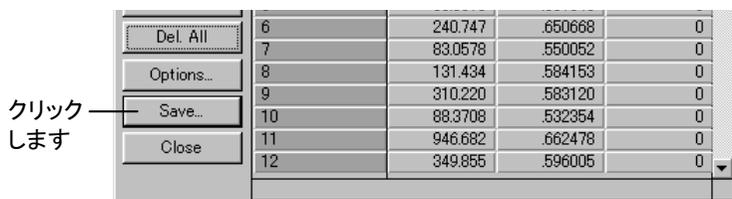
トレースが終わったら画像内を右クリックしてトレース線を確定し、次にトレース線をドラッグして移動し、別の測定対象領域の上に重ねてから、右クリックします。これで最初の領域のトレース線が2番目の領域にコピーされました。この要領で、トレース線の移動と右クリックを繰り返して、画像内の全ての測定領域にトレース線を重ね、最後に Area Measurement メッセージボックスの End (終了) ボタンをクリックします。

5.5 データベースに測定結果を保存する

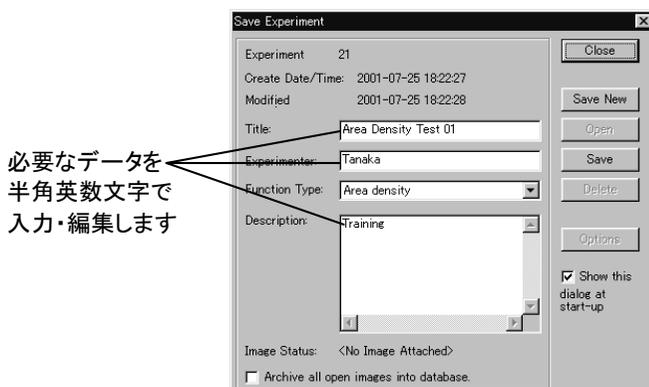
測定の終了後に、測定結果をデータベースに保存する手順は以下の通りです。

▼ 操作 — データベースに測定結果を保存する:

1. 測定が終了した状態で、Area Density Tool (濃度測定ツール) ダイアログボックスの Save (保存) ボタンをクリックします。

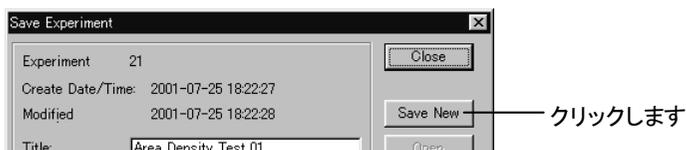


2. Experiment (実験) ダイアログボックスが開きます。ここで、必要に応じて Title (タイトル) 欄や Description (説明) 欄にコメントを入力・編集できます。



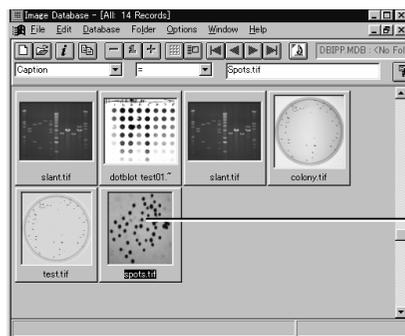
注記:

- Experiment ダイアログボックスに入力した文字データ (実験データ) は、実験データをデータベースから呼び出す時の、検索文字列になります。
 - 文字データは全て半角英数文字で入力して下さい。日本語の全角文字は、全角の数字やアルファベットを含めて入力しないで下さい。
2. Save New (新規保存) ボタンをクリックします。これでデータベースが起動し、解析画像と解析結果がデータベースに登録されます。



データベースのウィンドウに、登録された解析画像のサムネイル(ミニチュア画像)が表示されます。

データベースの
ウィンドウ



実験で使用した
解析画像が、
サムネイルとなって
表示されます

注記: ここで“Workspace ‘...’ has not been saved. You need to save it to a file.” (「ファイル’...’は未保存です。ファイルに保存する必要があります」) と表示されたら、OK ボタンをクリックして、画像をファイルに保存して下さい。

3. 以上で濃度解析のセッションは終了しましたので、Gel-Pro Analyzer の File (ファイル) メニューにある Exit (終了) コマンドを実行して、Gel-Pro Analyzer を終了します。

注記: データベースの使用法について詳しくは、「2.6 データベース」(2-63ページ) をご参照下さい。

>>> 以上で、Gel-Pro Analyzer の操作練習は全て終了です。製品についての詳しい情報は、Help (ヘルプ) メニューのコマンドで表示される英文オンラインヘルプおよび英文マニュアルをご覧ください。

付録A その他のツール

ここでは、Gel-Pro Analyzerのその他の主要なツールについてご説明します。第1章と重複する説明もありますが、整理のために合わせて記述します。

ツールバー

画面上部にあるツールバーには、Gel-Pro Analyzerの各コマンドをアイコンの形で表すコマンドツールボタン(下図)が並んでいます。これらのボタンをクリックすると、メニューを開かずに、直接 Gel-Pro Analyzerのコマンドを実行することができます。

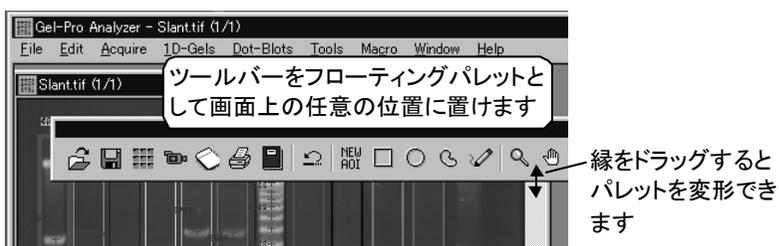


ツールバーは、[F5]キー[または Window (ウィンドウ)メニューの Hide/Show Tools (ツールバーの表示/非表示)コマンド]で表示・非表示を切り替えられます。また、ツールバーを画面上部から切り離して、フローティングパレットとして画面上の任意の位置に置くことができます。

ツールバーを切り離すには、ツールバーの右端または左端をマウスで下へ向かってドラッグします。



切り離されたツールバーはフローティングパレットになり、画面上の任意の位置に置いて使用できます。



また、フローティングパレットの縁にカーソルを置き、二方向矢印が表示されたときにドラッグすると、フローティングパレットを自由な形(横長、縦長など)に変形できます。

ツールバーを元の位置(メニューバーの真下)に戻すには、フローティングパレットをメニューバーの上へドラッグして下さい。

▼ 「AOI (対象領域: Area of Interest)」ツール:

「AOI」ツールは、画像処理・計測の対象を画像内の特定領域のみに限定するとき 사용됩니다。Gel-Pro Analyzerの多くのコマンドでは、実行範囲をAOIで限定することができます。解析処理や画像処理を実行すると、AOIで囲まれた範囲内のピクセルのみが処理対象となり、AOIの外側のピクセルは処理対象から除外されます。



定義するAOIの形状によって、いくつかのAOIツールがあります。

 「New AOI」(新規AOI)ボタン: 現在定義されているAOIを解除し、それと同一タイプの新規AOIを定義できます。例えば画像内にはすでにアクティブな自由曲線AOIが存在しているが、それを捨てて別の自由曲線AOIを定義したい、という場合にこのボタンをクリックします。これによって古いAOIが画面からクリアされ、自由曲線AOI作成用カーソルが表示されて、新規のAOIを定義できるようになります。

 「矩形AOI」ボタン: このツールを使用すると、画像中で四角形、つまり矩形のAOIを新規に定義したり、アクティブにすることができます。このツールを使用したいときは、クリックして選択して下さい。選択中は、ツールのボタンがアクティブになります。

 「楕円AOI」ボタン: このツールを使用すると、画像中で円形ないし楕円形のAOIを新規に定義したり、アクティブにすることができます。このツールを使用したいときは、クリックして選択して下さい。選択中は、ツールのボタンがアクティブになります。

 「自由曲線AOI」ボタン: このツールを使用すると、画像中で自由曲線AOIを新規に定義したり、アクティブにすることができます。どのような多角形でも自由曲線AOIとして定義できます。このツールを使用したいときは、クリックして選択して下さい。選択中は、ツールのボタンがアクティブになります。

このボタンでは、Magic Wand (マジックワンド) ツールとTrace (トレース) ツールを切り替えて使うことができます。

Magic Wand (マジックワンド) とTrace (トレース) について詳しくは、A-8ページの「AOIに関する解説」をご覧ください。

▼ その他のコマンドツールボタン:

ツールバーには、この他にもコマンドを簡単に呼び出すボタンアイコンが並んでいます。ボタンをクリックすることにより、メニューを開かずにコマンドを実行できます。

ツールの説明: ボタンの機能を知るには、ツールバー上のボタンアイコンにカーソルを重ねます。すると、コマンドについての短い説明がカーソルの下に示されます(右図)。



但し、処理対象となる画像が存在しなかったり、あるいは現在アクティブな画像が処理不可能な画像形式になっている、等の理由で使用できないコマンドについては、説明文が表示されません。

-  **Open (開く) ボタン:** 画像ファイルを開きます。詳しくは、オンラインヘルプ(英文)の「キーワード」から Open (開く)コマンドの項を開いてご覧下さい。
-  **Save (上書き保存) ボタン:** 画像ファイルを保存します。詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から Save (上書き保存)コマンドの項を開いてご覧下さい。
-  **Image Database (画像データベース) ボタン:** Gel-Pro Analyzerの内蔵画像データベースを呼び出します。詳しくは、「2.6 データベース」(2-63ページ)をご覧下さい。
-  **Video/Digital (ビデオ/デジタル) ボタン:** 画像をカメラから取り込みます。詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から Video/Digital (ビデオ/デジタル)コマンドの項を開いてご覧下さい。
-  **Scan (スキャン) ボタン:** 画像をスキャナから取り込みます。詳しくは、「付録B 画像をスキャナで取り込む」(B-1ページ)をご覧下さい。
-  **Print (印刷) ボタン:** 画像をプリンタで印刷します。詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から Print (印刷)コマンドの項を開いてご覧下さい。
-  **「アンドウ」(Undo) ボタン:** 直前に行った操作を取り消します。詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から「Undo」コマンドの項を開いてご覧下さい。
-  **Annotate (注釈) ボタン:** 画像に文字、矢印等の注釈を入れます。詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から Annotate (注釈)の項を開いてご覧下さい。



Optimize image (最適合わせ込み)ボタン: 画像のコントラストを自動的に最適化します。詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から Best Contrast(最適合わせ込み)の項を開いてご覧下さい。



Reset enhancement(コントラストをリセットする)ボタン: コントラスト設定をリセットして、画像を元の状態に戻します。詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から Reset Contrast (コントラストをリセットする)コマンドの項を開いてご覧下さい。



Colorize Image (擬似カラー)ボタン: グレースケールの画像に擬似カラーを着色します。詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から Pseudo-Color (擬似カラー)コマンドの項を開いてご覧下さい。



View 1D-Gel Tool Bar (1D-Gelツールパレットを表示)ボタン: 1D-Gelツールパレットを表示します。詳しくは、「第2章 1次元ゲルの解析」をご覧下さい。



View Dot Blots Tool Bar(Dot Blotsツールパレットを表示)ボタン: Dot Blotsツールパレットを表示します。詳しくは、「第3章 ドットブロットの解析」をご覧下さい。



View Colony Counting Tool (コロニーカウンティングツールを表示)ボタン: Colony Counting ダイアログボックスを表示します。詳しくは、「第4章 コロニーカウンティング」をご覧下さい。



View Area Density Tool (濃度測定ツールを表示)ボタン: Area Density Tool ダイアログボックスを表示します。詳しくは、「第5章 濃度の測定」をご覧下さい。



Macro Management(マクロ)ボタン: マクロコマンドを実行します。詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から Macro コマンドの項を開いてご覧下さい。



Record Macro(マクロの自動記録)ボタン: マクロの記録を開始します。詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から Record Macro Command(マクロの自動記録)コマンドの項を開いてご覧下さい。



Macro Editor(マクロ編集)ボタン: 既存のマクロの編集を行います。詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から Edit Macro Command(マクロ編集)コマンドの項を開いてご覧下さい。

メニューバー

アプリケーションウィンドウの上部にあるメニューバーには、Gel-Pro Analyzerのメニューが表示されます。

File Edit Acquire 1D-Gels Dot-Blots Tools Macro Window Help

メニューをクリックするとその下にコマンドの一覧が表示され、コマンドをクリックすることで画像処理・解析等を実行できます。

- File (ファイル) : 主に画像ファイルの入出力に関係するコマンドがあります。画像の較正コマンドもこのメニューにあります。
- Edit (編集) : 画像の編集(コピー、貼り付け、画像サイズ変更、回転等)や画像データ形式の変換を行なうコマンドがあります。
- Acquire (取り込み) : カメラやスキャナから画像を取り込むコマンドがあります。
- 1D-Gels (1次元ゲル解析) : 1次元ゲル解析用のツールパレットを表示するコマンド、レーンプロファイルを表示するコマンド、実験データを表示するコマンド、バンドやレーンのラベルを変更するコマンドなどがあります。
- Dot-Blots (ドットプロット解析) : ドットプロット解析用のツールパレットを表示するコマンドがあります。
- Tools (ツール) : コロニーカウンティングを自動実行するコマンド、濃度測定用ダイアログボックスを開くコマンド、バックグラウンド補正コマンド、サーフェイスプロット(輝度の3次元表示)コマンドがあります。
- Macro (マクロ) : Gel-Pro Analyzer内蔵の言語IPBasicを使用して、操作を自動化するためのコマンドがあります。他にデモ用に用意されたマクロのロード、実行を行うコマンドがあります。
- Window (ウィンドウ) : 画面に開いている画像ウィンドウを並べ直したり、アクティブなウィンドウを切り替えるコマンドがあります。
- Help (ヘルプ) : Gel-Pro Analyzer のオンラインヘルプ(英文)を起動するコマンドがあります。

メニュー内の各コマンドについての詳しい説明は、Help (ヘルプ)メニューの Gel-Pro コマンドを実行し、オンラインヘルプ(英文)をご覧ください。

ステータスバー

画面下部にあるステータスバーには、画面に表示中の画像、カーソルの位置とピクセルの値、処理の進行状況等の各種情報が表示されます。



- ① 単一フレームボタン/複数フレームボタン: 次ページをご覧ください。
- ② メッセージバー: メッセージバーは、画面上の画像についての情報や、画像処理・解析処理の進行状況、コマンドの説明を表示します。
 - カーソルを画像のタイトルバーに重ねると、画像についての情報[画像のデータ形式、ピクセルの値(輝度値、RGB値)、バイト数、表示サイズ]が表示されます。
 - 時間のかかる処理が進行中の時は、処理の名称と処理の進行状況を示すインジケータが表示されます。
 - メニュー内のコマンドをクリックすると、そのコマンドの説明が表示されます。
- ③ カーソルの位置: カーソルの画像内での位置を表示します。原点は、通常は画像の左上の角です。画像に空間較正をかけている場合は、カーソルの位置を実寸で表示します[詳しくは、「付録C 空間較正」と、オンラインヘルプの「キーワード」から Preferences(初期設定)コマンドの項を開いてご参照下さい]。
- ④ ピクセルの値: カーソル位置のピクセルの値を表示します。モノクロ画像では輝度値、フルカラー画像ではRGB値、パレット形式の画像ではインデックス番号を表示します[詳しくは、「付録C 空間較正」と、オンラインヘルプの「キーワード」から Preferences(初期設定)コマンドの項を開いてご参照下さい]。
- ⑤ AOIの座標: 画像内に矩形AOIまたは楕円AOIがあるとき、そのAOI(またはAOIの外接四角形)の頂点の座標を表示します。
- ⑥ 画像のサイズ: 画像の縦横の解像度またはAOIのサイズ["W"(横)、“H”(縦)]を表示します。
- ⑦ 輝度測定単位: 輝度較正を行なった場合、輝度較正の単位名を表示します[詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から Preferences(初期設定)コマンドの項を開いてご参照下さい]。
- ⑧ 空間測定単位: 空間較正を行なった場合、測定値の単位と較正データ名を表示します[詳しくは、「付録C 空間較正」と、オンラインヘルプの「キーワード」から Preferences(初期設定)コマンドの項を開いてご参照下さい]。
- ⑨ 空きメモリ: Gel-Pro Analyzerが使用できるメモリ(RAM)の量を示します。

単一フレームボタンと複数フレームボタン

Gel-Pro Analyzerの画面下部、ステータスバーの左端にある単一フレームボタン(□)と複数フレームボタン(☰)は、複数フレームを含む画像ファイル(シーケンスファイル、*.seq)に対して処理を行なう際に、単数のフレームに処理を適用するか、それとも複数のフレームに適用するかを指定するボタンです。

画面の左下角に2つのボタンが並んでいます



- **単一フレームボタン(□)**: このボタンを選択してからシーケンスファイルに対して処理を行なうと、シーケンスファイルの中の1枚の画像(現在画面に表示中のフレーム)のみに対して処理を実行します。その他のフレームは処理されません。

注記: Gel-Pro Analyzer の画面上でアクティブになっている画像がシーケンスファイルでなく単一画像の場合は、常に単一フレームボタンが選択された状態になっています。

- **複数フレームボタン(☰)**: このボタンを選択してからシーケンスファイルに対して画像処理を実行すると、シーケンスファイルに含まれる全フレーム(またはシーケンス内で選択中の全フレーム)に対して一括処理を行ないます。

注記: 単一フレームボタン、複数フレームボタンについての詳細は、オンラインヘルプの「キーワード」から Sequence Tools (シーケンスツール)コマンドの項を開いてご覧下さい。

ファンクションキー

Gel-Pro Analyzer で使用できるファンクションキーは以下の通りです。

- [F2]キー: 次の画像をアクティブにします[Window (ウィンドウ)メニューの Next Image (次の画像)コマンドと同じです]。
- [F3]キー: 前の画像をアクティブにします[Window (ウィンドウ)メニューの Prev. Image (前の画像)コマンドと同じです]。
- [F4]キー: 画面上のメニューバーとツールバーの表示/非表示を切り替えます。プレゼンテーションなどで、画面に画像のみを表示したいときは、このキーでメニューバーとツールバーを隠すと便利です。

注記: 測定・解析用のツールパレットやダイアログボックスは、[F4]キーを押しても常に画面上に残ります。また、ツールバーをフローティングパレット(A-1ページを参照)にしている場合、[F4]キーを押してもパレットは画面上に残ります。

- [F5]キー：ツールバーの表示／非表示を切り替えます[Window (ウィンドウ)メニューの Hide/Show Tool Bar (ツールバーの表示/非表示)コマンドと同じです]。
注記：ツールバーを非表示にしている間は、AOIツールとパンツールを使用できませんのでご注意ください。
- [F6]キー：このキーを押すと、現在の画面表示をそのままプリンタで印刷します [File (ファイル)メニューの Print Screen (画面印刷)コマンドと同じです]。
- [F7]キー：このキーを押すと、現在の画面表示を画像として取り込み、ファイルに保存します。[F7]以外のキーを取り込み用キーに指定することもできます。詳しくは、オンラインヘルプの「キーワード」から Screen Capture (画面取り込み設定)コマンドの項を開いてご覧下さい。

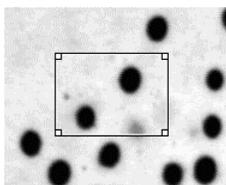
AOIに関する解説

AOI (Area of Interest: 対象領域、ROIとも呼びます)は、画像内に作成される限定領域です。多くのコマンドは、画像内にAOIが作成されている場合、AOIの範囲のみに対して限定的に作用します。AOIは任意の形状のものを作成できますが、常に閉じた図形となります。新規のAOIを作成する手順は以下の通りです。

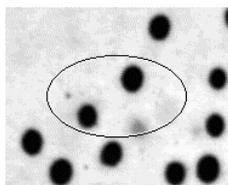
1. AOIで囲む領域の形に合わせてAOIツールを選択します。矩形AOI(□)、楕円AOI(○)、自由曲線 AOI(自由曲線)の各ツール中から、適切なものをクリックして選択します(次ページ以降のAOIツールボタンの説明をご参照下さい)。AOIツールを選択すると、選択中(アクティブ)であることを示すために、ツールのボタンが奥へ引っ込んだような表示になります。



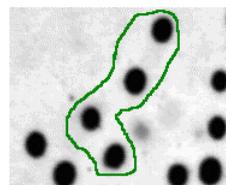
2. 画像内でマウスをドラッグして、AOIを描きます。



矩形AOI



楕円AOI



自由曲線AOI

画像内にAOIができれば、それに対応するAOIツールボタンをクリックするたびに、AOIのアクティブ・非アクティブの状態を切り替えることができます。現在アクティブになっているAOIは画像内に表示され、対応するAOIツールボタンがアクティブになります。

現在アクティブになっているAOIは、それに対応するAOIツールボタンをクリックすると非アクティブになります。AOIを非アクティブにすると、そのAOIは画像から消え、対応するAOIツールボタンは通常の状態に戻ります。

例として、まず矩形AOIを定義します。次に楕円AOIを定義し、ボタンをクリックして非アクティブにします。最後に自由曲線AOIを定義します。ここで矩形AOIボタンをクリックすると、前回定義した矩形AOIが再度アクティブになります。同様に、楕円AOIまたは自由曲線AOIを選択すると、直前に定義された楕円AOIまたは自由曲線AOIがそれぞれアクティブになります。

▼ 矩形AOI ツール:

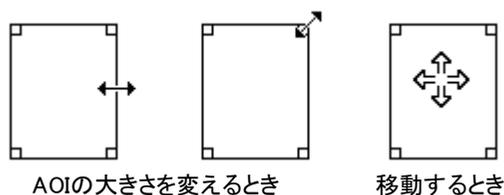
このツールは、画像内に定義済みの矩形AOIが存在している場合とない場合とで、動作の仕方が変わります。

- 画像中に定義済みの矩形AOIが存在している場合、矩形AOIボタンを選択すると、そのAOIがアクティブになります(そのAOIが画像中に現れます)。新規の矩形AOIを定義したいときは、矩形AOIボタンを選択した後、「NEW AOI」(新規AOI)ボタン()をクリックして下さい。これで現在のAOIが削除され、矩形AOI作成用カーソル()が表示されて新規のAOIを定義できるようになります。
- 画像中に定義済みの矩形AOIが存在していない場合は、矩形AOI作成用カーソル()が表示されます。このカーソルを、AOIとして定義したい領域の左上に置き、マウスボタンを領域の右下までドラッグしてから、マウスボタンを離します。

注記: [Shift]キーを押しながらドラッグすると、正方形の矩形AOIができます。

定義した矩形が、AOIとなって画像中に現れます。矩形AOIが画像内でアクティブになっているときは、その大きさと位置を変更できます。

AOIの大きさを変えるには、カーソルをAOIの端ないしコーナーに置き、二方向カーソルが表示されたらドラッグして下さい。AOI全体を移動するには、カーソルを矩形AOIの中央に置き、四方向カーソルが表示されたらドラッグして下さい(下図)。

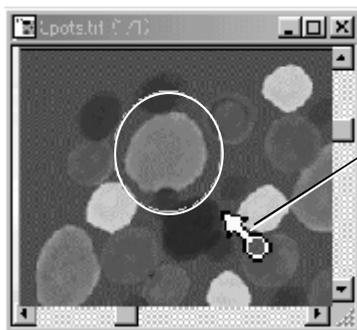


▼ 楕円AOIツール: 

このツールは、画像内に定義済みの楕円AOIが存在している場合とない場合とで、動作の仕方が変わります。

- 画像中に定義済みの楕円AOIが存在している場合、楕円AOIボタンを選択すると、そのAOIがアクティブになります（AOIが画像内に現れます）。新規の楕円AOIを定義したいときは、楕円AOIボタンを選択した後、「NEW AOI」（新規AOI）ボタン（)をクリックして下さい。これで現在のAOIが削除され、楕円AOI作成用カーソル（)が表示されて新規のAOIを定義できるようになります。
- 画像中に定義済みの楕円AOIが存在していない場合は、楕円AOI作成用カーソル（)が表示されます。マウスボタンを押してカーソルをドラッグし、所望の円形ないし楕円形ができた時点でマウスボタンを離して下さい。

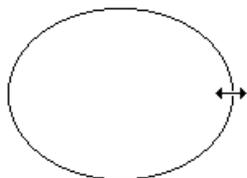
注記: [Shift]キーを押しながらドラッグすると、真円のAOIができます。



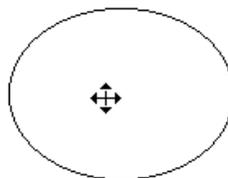
楕円ドロワーイング用
カーソルをドラッグして、
楕円形または円形の
AOIを描いて下さい

今定義した楕円が、AOIとなって画像中に現れます。

楕円AOIが画像内でアクティブになっているときは、その形状・大きさと位置を変更できます。AOIの形状と大きさを変更するには、AOIの上下左右の端にカーソルを置き、二方向カーソルが表示されたらドラッグして下さい。AOI全体を移動するには、カーソルを楕円の中央に置き、四方向カーソルが表示されたらドラッグして下さい(下図)。



AOIの大きさを変えるとき

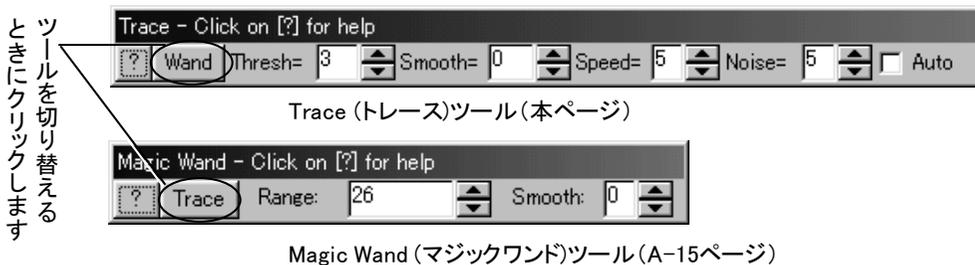


移動するとき

▼ 自由曲線 AOIツール:

このツールは、画像内に定義済みの自由曲線AOIが存在している場合といない場合で、動作の仕方が変わります。

自由曲線AOIを定義するには、Trace (トレース) ツールと Magic Wand (マジックwand) ツール (wandツール) の2つを使用できます。両方のツールを切り替えるには、Wand (wand) ボタンまたは Trace (トレース) ボタンをクリックします。



- 画像中に定義済みの自由曲線AOIが存在している場合、自由曲線AOIボタンを選択すると、既存のAOIがアクティブになります (そのAOIが画像内に現れます)。新規の自由曲線AOIを定義したいときは、自由曲線AOI ボタンを選択した後、「NEW AOI」(新規AOI) ボタン () をクリックして下さい。これで既存のAOIが削除され、新規のAOIを定義できるようになります。
- 画像中に定義済みの自由曲線AOIが存在していない場合は、そのまま自由曲線AOIを定義できます。自由曲線AOIの定義には、以下の方法を利用できます。

Trace (トレース) ツールで自由曲線AOIを定義する方法:

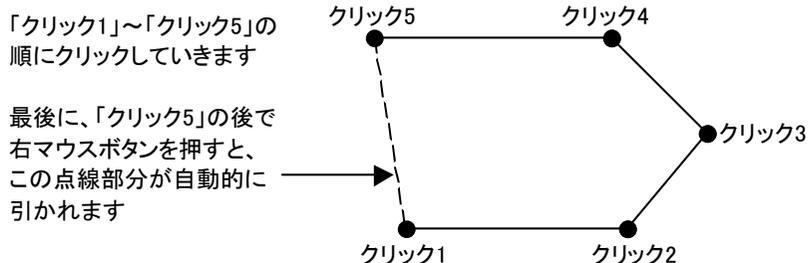
トレースツールは、画像内のオブジェクトが不鮮明ないし複雑な形状で、トレースを手動で行なったり、手動で補正する必要があるときに使用します。カラー画像内のオブジェクトをトレースするときも、通常はトレースツールを使用します。



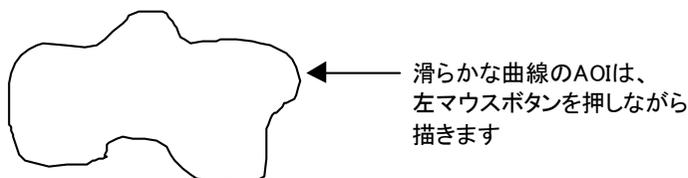
注記: 画面に Magic Wand (マジックwand) ダイアログボックスが表示された場合は、Trace (トレース) ボタンをクリックすると、Trace のダイアログ (上図) に切り替わります。

- 多角形の各頂点を手動でクリックしていく方法: この方法を使うと、直線の線分から成る多角形 (折れ線の図形) を定義できます。このような多角形を定義するには、多角形の (始点を含む) 各頂点で左マウスボタンをクリックしていき、最後に右マウスボタンをクリックして図形を閉じ、AOIを確定して下さい。

下の例は、マウスを5回クリックして、5角形のAOIを定義した例です。



- **フリーハンドで描く方法:**この方法では、滑らかな曲線を描くことができます。左マウスボタンを押し続けながらカーソルをドラッグして描きます。下図の曲線のAOIは、この方法で描いたものです。



注記: 描くのに失敗したら、[Backspace] キーを押し続けて下さい。[Backspace] キーを押すことで、トレースの線を逆方向へ戻すことができます。

描き終わったら、右マウスボタンをクリックして下さい。描いた図形の始点と終点が自動的に結ばれ、AOIが確定されます。

注記: フリーハンドによる方法で曲線をトレースしにくいときは、多角形の頂点をクリックする方法(上記)を使うと、上手にトレースできます。

- **オブジェクトを自動トレースする方法:** Trace (トレース) ツール用ダイアログボックスの Auto (自動) オプションを選択すると(オプションのチェックボックスをクリックして「✓」印を付けます)、自動トレース機能を使用できます。Auto(自動)オプションを使うと、画像内のオブジェクトを自動的にトレースしてAOIを定義できます。



自動トレースを行なう場合は、このオプションを選択して下さい

Auto (自動) オプションを選択したら、画像内でトレースしたいエッジ上にある、最初の2点を指定する必要があります。最初の点はトレース線の始点を定めるもので、2番目の点はトレースする方向を指定するものです。点を指定するには、左マウスボタンを画像内でクリックします。

次の例は、オブジェクトの自動トレースを開始する方法を示しています。



自動トレースの始点を「クリック1」で指定し、次に「クリック2」でトレースの進行方向を指定します

最初の2点をクリックして指定すると、オブジェクトの輪郭の残りの部分が自動的にトレースされます

トレース線が始点に戻った時点で、Gel-Pro Analyzerはトレースを終了します。図形を確定するには、右マウスボタンをクリックして下さい。確定するとトレース線の色が変わります。

Gel-Pro Analyzerがトレースするエッジを見失ったり、あるいは画像ウィンドウの端にぶつかった場合は、トレースが停止します。このような場合は、右マウスボタンをクリックしてトレースを終了するか、Auto（自動）オプションを解除して手動でトレースを続けるか、あるいはトレース中のエッジ上にある次の点を指定し、自動トレースを継続して下さい（トレースを継続したいエッジ上をクリックします）。

注記：

- 自動トレースが誤った方向へ暴走したときは、画像内を1回クリックするか、あるいはスペースバーを押すと自動トレースを停止できます。[Backspace]キーを押し続けるとトレース線を逆方向へ戻すことができます。
- [Shift]キーを押しながらマウスを逆方向へ動かすと、トレース線を素早く戻すことができます。
- 自動トレースの速度が速すぎるときは、自動トレース用ダイアログボックスのSpeed（速度）欄の数値を減らして下さい（下記を参照）。
- Auto（自動）オプションを選択していないときでも、自動トレースを実行できます。Auto（自動）を選択していないときは、トレースの始点（上図の「クリック1」）を1回クリックして指定した後、進行方向を指定する点（「クリック2」）をダブルクリックすると自動トレースを開始します。

Gel-Pro Analyzerは、エッジを検出できない時は、トレースを全く行ないません。

Trace (トレース)ツールのオプション:

Gel-Pro Analyzerのエッジ検出メカニズムを微調整するには、トレース用ダイアログボックスのオプションを使用します。Gel-Pro Analyzerがエッジをうまくたどれない場合や、AOIの中に入れてたくない要素まで一緒にトレースしてしまうときは、このダイアログボックス内の設定値を調整して下さい。



- 「?」ボタン:このボタンはヘルプ画面を表示します。
- Wand (ワンド)ボタン: Magic Wand(マジックワンド)(次ページ)に切り替えます。
- Thresh (閾値):この値を設定すると、トレースしているオブジェクトと背景とのコントラスト・レベルを指定できます。閾値のスケールは、「1」から「10」までです。画像のコントラストが弱いときは低い数値に設定します。コントラストが強い時は高い数値に設定します。
- Smooth (平滑化):この値を設定すると、エッジをトレースする際の各ノード(頂点)間のピクセルの数(0から9まで)を指定できます。高い値に設定すると、アウトラインが滑らかになります(こうすると、細かい凹凸を無視するようになります)。反面、この設定だとエッジを見失う頻度も高くなります。また、「3」ないし「4」以上の値を指定すると、エッジをはみ出してしまうことがあります。
- Speed (速度):この値を設定すると、トレースの進行速度を調整できます。指定できる値は、「1」から「9」までです。低い値ほど、トレースの速度が遅くなります。トレースの進行状況を目で確認したい場合や、自動トレースが頻繁に暴走する場合は、トレース速度を遅く設定しておくとう便利です。
- Noise (ノイズ):この値は、エッジを自動トレースする際の、前方の探索深度を指定します。指定できる探索値は「0」から「5」までです。画像にノイズが多く、エッジが途切れている箇所が多いときは、高い値を設定して下さい。
通常のエッジの場合は低い値にとどめて下さい。高い値にすると、トレースにかかる時間が長くなります。
- Auto (自動)オプション: 自動トレース機能を使用するときは、このオプションを選択して下さい。自動トレースについて詳しくは、前述の「オブジェクトを自動トレースする方法」をご覧ください。

いずれの方法で自由曲線AOIを新規定義した場合でも、右マウスボタンを押すと図形が閉じて確定され、定義した自由曲線AOIが画像上に現れます。

自由曲線AOIは、一旦右マウスボタンを押して確定してしまうと、形を変えることができなくなります。確定後に形の変更が必要になった場合は、AOIを描き直して下さい。まず、「NEW AOI」(新規AOI)ボタンをクリックして、既存の自由曲線AOIを画像から削除し、再度AOIを描きます。

自由曲線AOIは、他の位置へ移動できます。カーソルを自由曲線AOIの内部に置くと、カーソルが四方向カーソルに変わります。この状態でドラッグすると、AOI全体を移動できます。



Magic Wand (マジックwand) ツールで自由曲線AOIを定義する方法:

Magic Wand(マジックwand)ツールは、画像内の輝度値の差に基づいてオブジェクトを自動トレースします。

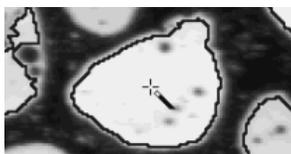


注記: 画面に Trace (トレース)ダイアログボックスが表示された場合は、Wand(wand)ボタンをクリックすると、Magic Wand(マジックwand)のダイアログ(上図)に切り替わります。

Magic Wand(マジックwand)ツールは、トレース線の手動補正ができませんので、画像内のオブジェクトと背景に明確な輝度差がある場合に使用して下さい。また、輝度差のみに基づいてオブジェクトをトレースするので、主にモノクロ画像でご使用下さい(カラー画像では使用できない場合があります)。

- Magic Wand(マジックwand)による自動トレースの方法:

カーソルを画像内に入れるとマジックwand(魔法の杖)の形(☞)になりますので、カーソルの先端部分(☞)で画像内のオブジェクトをクリックします。クリックしたオブジェクトの周囲がトレースされます。



引き続き右マウスボタンを押すと図形が確定され、定義した自由曲線AOIが画像内に現れます。

自由曲線AOIは、形を変えることができません。確定後に形の変更が必要になった場合は、AOIを作成し直して下さい。まず「NEW AOI」ボタンをクリックして、既存の自由曲線AOIを画像から削除し、再度 Magic Wand でAOIを作成します。

自由曲線AOIは、別の位置へ移動できます。カーソルを自由曲線AOIの内部に置くと、カーソルが四方向カーソルに変わります。この状態でドラッグすると、AOI全体を移動できます。



注記:

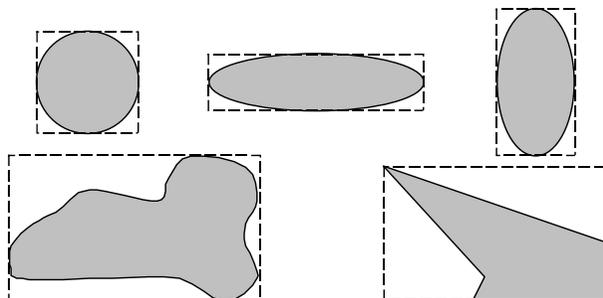
- 画像内のオブジェクトをマジックワンドでクリックするときは、必ずワンドの先端の部分(+)でクリックして下さい。
 - 画像内の複数のオブジェクトをトレースしたいときは、[Ctrl]キーを押しながらオブジェクトをクリックして下さい。
 - クリックしたオブジェクトの全体がトレースされず、一部分のみがトレースされてしまうときは、Magic Wand(マジックワンド)ダイアログボックスの Range (レンジ) 欄の数値を増やしてみてください(下記を参照)。
 - オブジェクトと背景の輝度差に明確な差がない場合、オブジェクト同士がつながっている場合、ないしカラー画像の場合は、Trace (トレース) ツールでトレースする方が便利です。Trace (トレース) ツールを使用するには、Magic Wand (マジックワンド) ダイアログボックスの Trace (トレース) ボタンをクリックして、Trace ツール用のダイアログボックスに切り替えて下さい。
- Magic Wand(マジックワンド)ツールのオプション:



- 「?」ボタン: このボタンはヘルプ画面を表示します。
- Trace (トレース) ボタン: Trace ツール(A-11ページ)に切り替えます。
- Range (レンジ): この欄の数値は、トレースされるオブジェクトに含まれる階調の数(浮動小数点形式の画像ではパーセンテージ)を示します。マジックワンドでクリックしたオブジェクトの全体がトレースされず、一部のみがトレースされてしまうときは、この数値を増やして下さい。
- Smooth (平滑化): この欄に高い値を設定すると、AOIのアウトラインが滑らかになります(細かい凹凸は無視されます)。

外接四角形について

外接四角形は、矩形でないAOI(楕円AOI、自由曲線AOI)を完全に取り囲む最小の長方形です。一部のコマンド(Copy (コピー)、Paste (貼り付け)、Save As(名前を付けて保存)コマンドなど)では、画像内の矩形領域に対して処理を行いません。矩形でないAOIに対してそのようなコマンドを適用すると、そのAOIに外接する四角形を指定範囲と見なして処理を適用します。次の図は、様々な図形の外接四角形(点線部分)を示しています。



Gel-Pro Analyzerは、AOI自体にコマンドを適用できる場合はそうしますが、もしできない場合はAOIの外接四角形に対して適用します。

付録B 画像をスキャナで取り込む

Gel-Pro Analyzer はTWAIN規格に準拠するスキャナに対応していますので、TWAINスキャナから直接画像を取り込むことができます。

取り込みの手順は以下のようになります。

注記：Gel-Pro Analyzer では、TWAINドライバで画像取り込みを行なうスキャナの他に、TWAINドライバで動作する画像取り込みボードやデジタルカメラ等を、全てScan (スキャン)コマンドおよび Select Scanner (スキャナーの選択)コマンドでサポートします。そのようなTWAIN機器の場合も、下記の操作手順に準じます。

TWAINスキャナから画像を取り込む手順：

TWAIN対応のスキャナから画像取り込みを行なう場合の基本的な手順は、以下の通りです。

1. Acquire (取り込み) メニューの Select Scanner (スキャナの選択)コマンドを実行し、スキャナのTWAINドライバを選択します。

Gel-Pro Analyzer は、C:\Windows\Systemの中のTWAINフォルダにインストールされているTWAINドライバを一覧表示します。その中から使用スキャナのドライバを選択して下さい。



注記：通常、この1.の操作による設定は保存されますので、使用スキャナを変更しない限り、次回使用時からこの設定手順は不要となります。

2. Acquire メニューの Scan (スキャン)コマンドを実行します。

これで TWAIN ドライバが起動しますので、取り込み設定を行なってから取り込みを実行して下さい。取り込みの設定は、スキャナにより異なります。設定についてはスキャナのマニュアルをご覧ください。

スキャナから取り込んだ画像は、Gel-Pro Analyzer の画面に表示されます。

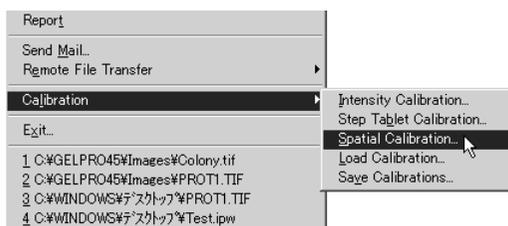
注記：TWAINスキャナ(ないしその他のTWAINデバイス)から画像を取り込む場合は、Gel-Pro Analyzer のマクロから取り込み処理を制御できません。取り込みは手動で行なって下さい。

付録C 空間較正

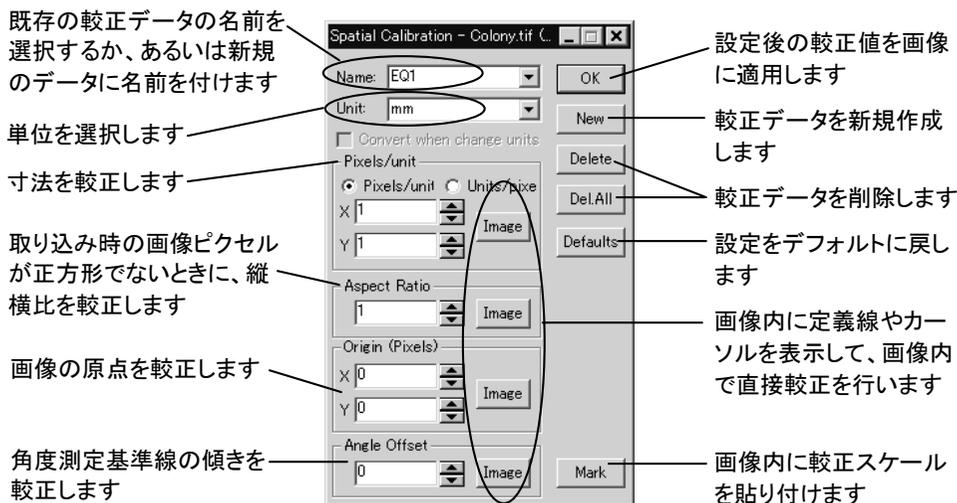
Gel-Pro Analyzer のコロニーカウンティング機能（第4章を参照）を使用すると、コロニーのカウントだけでなく、各コロニーについて測微（面積や周囲長などの、特徴量の測定）を行なえます（4-6ページを参照）。また、濃度の測定（第5章を参照）でも、測定対象領域の面積を測定できます。

これらの測定を行なう場合、測定結果は通常はピクセル（画素）単位で算出されますが、画像に予め空間較正（寸法の較正）を適用しておくこと、測定値が実寸（ μm 、 mm など）の値に換算されて算出されます。

空間較正を行なうには、画面上に較正したい画像を開いてから、Gel-Pro Analyzer の File（ファイル）メニューにある Calibration（較正）コマンドをクリックしてサブメニューを開き、Spatial Calibration（空間較正）コマンドを実行します。



Spatial Calibration（空間較正）コマンドを実行すると、Spatial Calibrationダイアログボックスが表示されます。



このダイアログボックスのタイトル（“Spatial Calibration”）の右隣には、Spatial Calibration コマンドの実行時にアクティブになっていた画像の名前（上図の例では“Colony05.tif”）が表示されており、この Spatial Calibration ダイアログボックスがその画像にリンクしていることがわかります。

Spatial Calibration (空間較正)ダイアログボックスの機能は次の通りです。

- 寸法の較正(単位当たりピクセル数):
寸法の測定単位 [デフォルトでは Pixels (ピクセル=画素)]を、「マイクロメータ」、「ミリメートル」等の実測値の単位に較正します。
- 縦横比の較正:
特殊なカメラなどで、取り込んだピクセルが正方形でないときに、ピクセルの縦横比を指定して正方形に較正します。
- 原点の較正:
画像の原点(デフォルトでは画像の左上角)を任意の位置に指定します。
- 角度の較正(角度オフセット):
画像内のコロニーの傾きを測定する際の基準となる方向(デフォルトでは画像のY軸が0°)を任意の角度に指定します。
- 較正スケールの貼り付け:
寸法の較正を行なった後、較正スケールを画像内に貼り付けます。

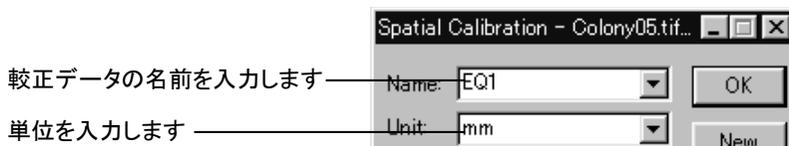
以下では、上記の機能のうち、寸法の較正の操作手順のみを説明します。他の機能については、Gel-Pro Analyzer の Help (ヘルプ) メニューから Gel-Pro コマンドを実行してオンラインヘルプ(英文)を起動し、「キーワード」タブで Spatial Calibration の項目をクリックして説明をご覧ください。

寸法の較正(単位当たりピクセル数) – 操作手順:

寸法の較正は、空間較正の中で最も基本的なものです。画像内のピクセル数(画素数)と実寸との関係(例えば「20ピクセル=1 μ m」など)を指定しておく、Gel-Pro Analyzer が算出する測定結果が実寸値に自動換算されます。操作手順は以下の通りです。

1. 画像を開き、File メニューの Calibration にある Spatial Calibration(空間較正)コマンドを実行して Spatial Calibration ダイアログボックスを開きます。通常の場合、大部分のボタンはグレイ表示(使用不可)になっています。
2. New (新規)ボタンをクリックして新規較正データを作成し、Name (名前)欄に較正データの名前(較正值セット名)をタイプします。

注記: 較正值の名前は、デフォルトで“Spatial Cal...”になりますが、例えばサンプルの名前や、顕微鏡の倍率を表す“x50”、“x100”のような名前にしておくと便利です。



校正データの名前を入力します

単位を入力します

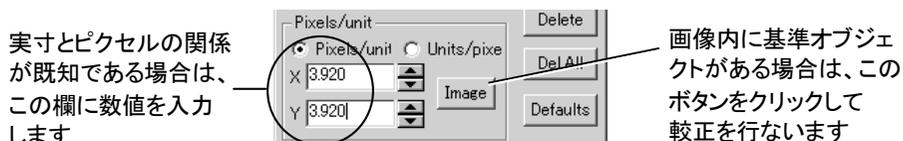
- Unit (単位) 欄で単位を選択します(上図)。

この欄で、実寸の測定単位("mm"など)を選択します。

- Pixels/unit (単位当たりピクセル数)を選択してから、実寸とピクセル数との関係が既知である場合(例えば 3.92 ピクセル = 1 mmであることがわかっている時)は、水平(X)と垂直(Y)の両方向の1単位となるピクセル数を直接指定します。

X 欄と Y 欄に単位当りのピクセル数を直接タイプするか、または  ボタンを使って入力します(下図)。

注記: 画像取り込みデバイスによってはピクセルが正方形でない場合がありますので、ここではXとYの値を別々に指定できるようになっています。入力した X 値と Y 値が同一でない場合、Aspect Ratio (縦横比) 欄の数値が自動的に更新され、入力した X 値と Y 値の関係(X/Yの比率)を反映します。また、Aspect Ratio の値を「1」以外に変更すると、その値に合わせて Y の値を自動的に変更します。



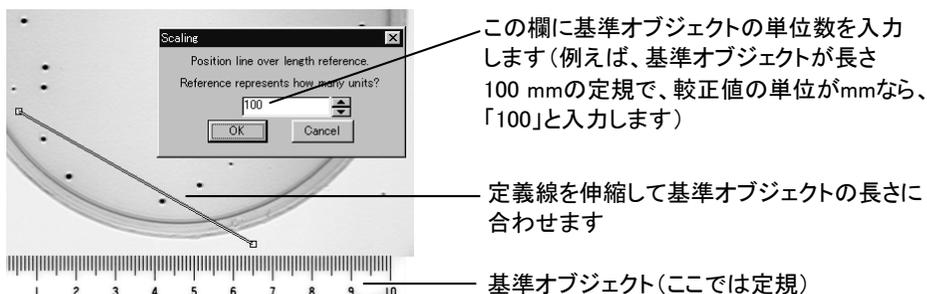
実寸とピクセルの関係が既知である場合は、この欄に数値を入力します

画像内に基準オブジェクトがある場合は、このボタンをクリックして較正を行ないます

- (別の方法) 実寸とピクセル数との関係が不明で、かつ画像内に寸法の基準となるオブジェクト(顕微鏡のスケール、マイクロバー、定規など)が写っている場合は、上の4.の手順を行なう代わりに、Image (画像で) ボタン(上図)をクリックし、画像内の基準オブジェクトを使用して較正を行ないます。

Image (値を) ボタンをクリックすると Scaling (スケーリング) ダイアログボックスが表示され、同時に定義線が画像内に現れます。

Scaling ダイアログボックス内の Reference represents how many units? (基準の既知の長さ) 欄に、基準オブジェクトの単位数(基準オブジェクトの長さが何単位に相当するか)を入力して下さい(下図)。



この欄に基準オブジェクトの単位数を入力します(例えば、基準オブジェクトが長さ 100 mm の定規で、較正値の単位が mm なら、「100」と入力します)

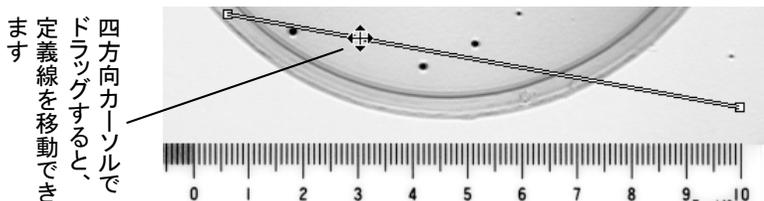
定義線を伸縮して基準オブジェクトの長さに合わせます

基準オブジェクト(ここでは定規)

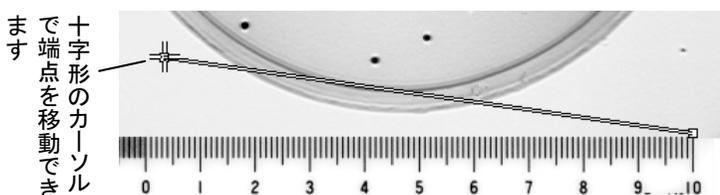
次に、定義線を基準オブジェクトに重ねて、長さを合わせます。

マウスを使って、定義線の長さをオブジェクトの長さに合わせて下さい。カーソルを定義線に当てるとカーソルが変形し、定義線全体や、その両端の点を移動できます。

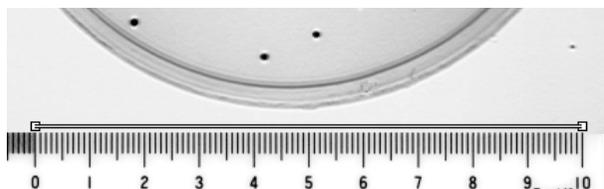
定義線全体を移動するには、カーソルを定義線の中ほどに当て、カーソルが四方向矢印になったら定義線を所望の位置までドラッグします。



定義線の端の点を移動したい場合は、まずカーソルをその点に当て、カーソルが十字カーソルになったら、点を所望の位置までドラッグします。



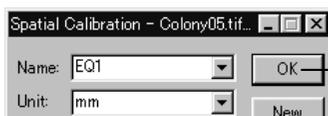
定義線の位置・長さを調節して、定義線の長さが基準オブジェクトの長さと同しくなるようにして下さい(下図では定規の 100 mm の長さに合わせています)。



Scaling ダイアログボックスに基準オブジェクトの長さ(ここでは「100」)が入力されていることを確認してから、OK ボタンをクリックして Spatial Calibration (空間較正)ダイアログボックスへ戻して下さい。

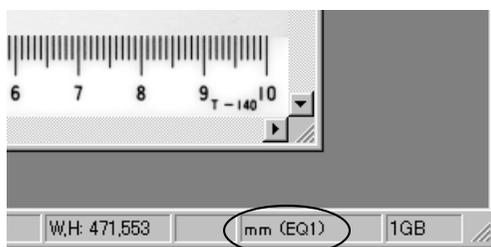
Gel-Pro Analyzer は、定義線の下にあるピクセルの数を、Scaling ダイアログボックスで指定した単位数で除算し、較正値を計算します。算出した較正値は、Pixels/Unit (単位あたりピクセル数)欄の X、Y 欄に表示されます。

- 較正が終了した後、Spatial Calibration (空間較正)ダイアログボックスの OK ボタンをクリックして較正を画像に適用します。ダイアログボックスは閉じます。

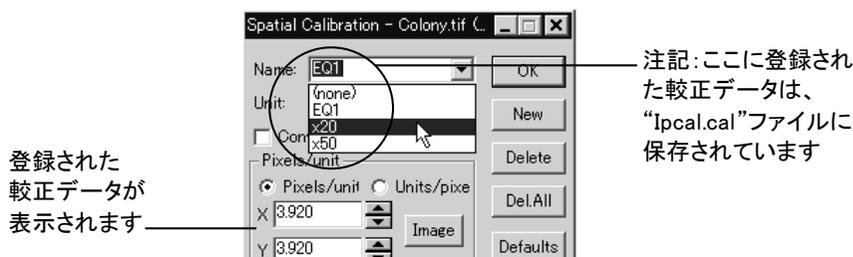


最後に OK をクリックして、較正値を画像に適用します

OK ボタンをクリックすることにより較正が画像に適用され、同時に画面下のステータスバーの右端に、測定単位名と較正データの名前が表示されます(下図)。



同時に、較正データはGel-Pro Analyzer に登録され、次に Spatial Calibration (空間較正)コマンドを実行したときに、Spatial Calibration ダイアログボックスの Name (名前) 欄に表示されます。



この後、Gel-Pro Analyzer のコロニーカウンティング・ツール(第4章を参照)を使用してコロニーの測微を行ったり、濃度測定ツール(第5章を参照)で面積を測定すると、測定結果に較正がかかり、測定結果データが実寸値として算出されます。

7. (任意) Gel-Pro Analyzer の File (ファイル)メニューの Save (上書き保存)コマンド実行して、較正データを画像ファイル内に保存します。

特定のファイルフォーマットの画像(TIFFなど)では、上記の手順により較正データを画像ファイル内に保存することが可能です。JPEGやBMPなどのファイルフォーマットでは較正データを画像ファイルに保存できませんので、ご注意ください。

8. (任意) Calibration コマンドのサブメニューから Save Calibrations (較正値を保存)を実行し、較正データに名前を付けてファイルに保存します。

上の6.までの手順で行なった較正の結果は、自動的に較正值ファイル Ipcal.cal (通常はC:\Gelpro4のフォルダにあります)に保存されていますが、それ以外のファイルに保存したいときは、8.の手順で保存します。Save Calibrations コマンドは、Spatial Calibration (空間較正)ダイアログボックスの Name (名前)欄に表示される較正データを全て保存します。

Calibration (較正)コマンドのサブメニューにある Intensity Calibration (輝度較正)コマンドで輝度較正を行なっている場合は、空間較正のデータだけでなく、輝度較正のデータもファイルに保存されます。

注記:

- 上記の操作で較正データを作成した後は、同じ較正データを別の画像に適用することができます。例えば、同一の顕微鏡レンズ倍率で100枚の画像を取り込んだ場合、最初の1枚のみを上記の手順で較正した後は、同じ較正データを残りの99枚に適用できます。較正データを他の画像に適用するには、まず画像を開き、Spatial Calibration（空間較正）コマンドを実行し、Name（名前）欄で適用する較正データを選択してから、OK ボタンをクリックします。
- Gel-Pro Analyzer では、1枚の画像を較正すると、その較正值がデフォルトとなり、次に画面に開いた画像にも同じ較正データが自動的に適用されます。このため、場合によっては予想外の較正データが画像に自動適用されることがありますので、ご注意ください。但し、その画像にあらかじめ別の較正データがかかっていた場合（画像ファイル内に別の較正データが保存されていた場合）は、画像内に始めから保存されていた較正データが優先されます。

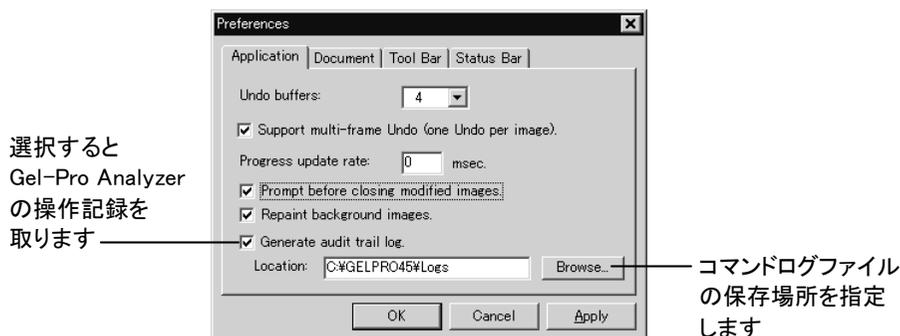
付録D 21 CFR Part 11対応機能

Gel-Pro Analyzer ver. 4.5では、FDA(米国食品医薬品局)の21 CFR Part 11(連邦規則第21条第11章)に定められた、電子署名・電子記録に関する規則に対応するために、いくつかの機能が搭載されました。

以下、それらの機能について説明します。

Audit Trail (コマンドログ) オプション:

Edit(編集)メニューの Preference(初期設定)コマンドで表示される Preferences ダイアログボックスの Application(動作オプション)タブに、Generate audit trail log(コマンドログを作成する)オプションが追加されました。



このオプションを選択しておくで、Gel-Pro Analyzer を起動してから終了するまでの全イベントが監査証跡として記録されます。

コマンド
ログの例

```

2003/07/30 15:54:46.130 Gel-Pro Analyzer version 4.5.0.61 session started by user morita.
2003/07/30 15:54:50.420 ret = lpGelShow(GPEXP, 1)
2003/07/30 15:55:33.040 ret = lpAppMove(72, 0)
2003/07/30 15:55:33.040 ret = lpAppSize(1025, 789)
2003/07/30 15:55:33.040 ret = lpAppMove(72, 0)
2003/07/30 15:55:53.960 ret = lpGelSetText(EXP_NAME, "Protein analysis")
2003/07/30 15:55:53.960 ret = lpGelShow(GPEXP, 0)
2003/07/30 15:56:35.980 ret = lpDocMove(0, 0)
2003/07/30 15:56:35.980 * New workspace document ID is 0
2003/07/30 15:56:35.980 ret = lpAppSelectDoc(0)
2003/07/30 15:56:38.400 ret = lpDocSize(383, 323)
2003/07/30 15:56:38.400 ret = lpHsLoad("C:\GELPRO45\Images\FROT1.TIF", "tif")
2003/07/30 15:56:40.380 ret = lpHsCaSet(ACAL_ATTR_CALMODE, ACAL_SINGLECAL_MODE, 0, IPNULL)
2003/07/30 15:56:41.980 ret = lpGelLanes()
2003/07/30 15:56:41.360 ret = lpGelShow(GRGRAPH, 1)
2003/07/30 15:56:41.530 ret = lpGelShow(GPLANE, 1)
2003/07/30 15:56:49.110 ret = lpGelShow(GPLANE, 0)
2003/07/30 15:58:54.780 ret = lpGelDeleteSlant(-1)
  
```

コマンドログファイル(*.log)は、Gel-Pro Analyzer のアプリケーションフォルダ(通常は C:\GELPRO45)の下に作成される“Logs”フォルダ内に、1日単位で、テキストファイル形式にて記録されます(拡張子は“.log”ですが、テキストデータですので、「メモ帳」等のテキストエディタで開けます)。

コマンドログファイルの保存場所を指定したいときは、Browse(参照)ボタンをクリックして指定して下さい。

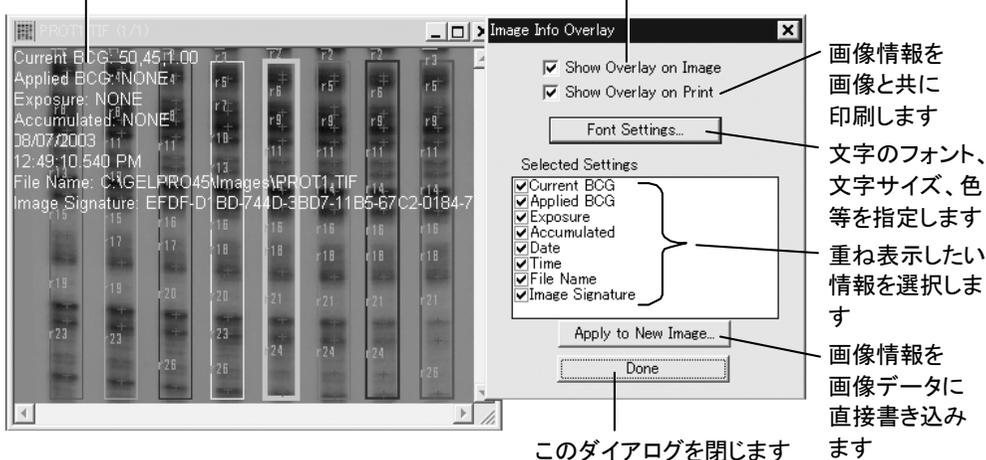
注記：現在記録中のログファイルは、Gel-Pro Analyzerの起動中は開けません。また、Gel-Pro Analyzer上でマクロを実行した場合は、マクロが開始されたことは記録されますが、マクロのステップ中にある各イベントは記録されません。

Image Info Overlay (画像情報を重ね表示) コマンド:

Edit (編集) メニューの Image Info Overlay (画像情報を重ね表示) コマンドを使用すると、画像の作成日時、輝度・コントラストの設定値、画像の署名などの情報を、画像上に重ね表示します。

画像情報が画像内に重ね表示されます

画像への重ね表示を実行します



画像に画像情報を重ね表示するには、あらかじめ測定を行なった後、Edit (編集) メニューの Image Info Overlay コマンドを実行して Image Info Overlay ダイアログ(上図)を開きます。

注記:

- 解析ツールを使用して、画像上にあらかじめ何らかのアウトラインやラベルなどを表示した状態でないと、画像情報は表示されません。
- 重ね表示される文字の色やサイズを変更したいときは、Font Settings (フォント設定) ボタンをクリックして設定して下さい。

Selected Settings (表示する情報) 欄で表示したい情報を選択した後、Show Overlay on Image (情報を画像に重ね表示する) オプションを選択すると、選択した情報が画像に重ね表示されます(上図)。

表示される情報のうち、Image Signature (画像の署名)は、現在画面上でアクティブになっている画像の現在の状態を示す固有の文字列を生成します。この文字列は、画像に変更が加えられる度に変化しますので、文字列が変化したかどうかを調べることで、画像が改変されたかどうかを確認でき、「デジタル署名」として利用できます。

画像上に重ね表示された情報は、画像を保存しても一緒に保存されません。重ね合わせられた情報を画像データに直接書き込んで画像ファイルに保存したい場合は、Image Info Overlay ダイアログの Apply to New Image (新規画像に書き込む) ボタンをクリックします。

- Overlay Position (書き込み位置): 画像情報を書き込む位置を指定します。Header (画像の上部) または Footer (画像の下部) を選択できます (下図は、Header を選択した例です)。
- Fill Color (地の色): 画像情報を書き込む領域の、地の色を指定します。Black (黒)、Gray (灰色)、White (白) のいずれかを指定できます (下図は、Black を指定した例です)。
- Apply Data Overlay (測定ラベル、アウトライン等を書き込む): このオプションを選択すると、解析ツールが表示するラベルや、アウトライン等を一緒に画像に書き込みます。

注記: 書き込まれる文字の色やサイズを変更したいときは、一旦 Cancel をクリックして Image Info Overlay ダイアログに戻り、Font Settings (フォント設定) ボタンをクリックして設定して下さい。

OK ボタンをクリックすると、新規画像が作成され、その中に上で指定した情報が書き込まれます。



作成された画像(上図)はフルカラー形式の画像で、画像情報等を示す文字は画像データと一体化しています。この画像は、このまま任意の画像形式で保存できます。

注記: Apply New Image ボタンで作成された画像(上図)は、フルカラー形式なので Gel-Pro Analyzer で再測定することはできません(測定には元のモノクロ画像が必要です)。あくまで測定終了後の結果データ保存用としてご使用下さい。

索引

- ボタン, データベース, 2-68
 %, Amounts/Mol. Weights, 2-46
 *.cst (校正データファイル), 2-40
 *.grd (グリッドファイル), 3-13
 *.log (コマンドログファイル), D-1
 *.seq (シーケンスファイル), A-7
 *.std (スタンダードファイル), 3-18
 *.txt (測定値の保存形式), 2-57, 2-59
 *.vws (表示設定ファイル), 2-57
 [amount], Amounts/Mol. Weights, 2-35
 [Backspace]キーでトレースを戻す, 5-9, A-12
 [F2]キー, A-7
 [F3]キー, A-7
 [F4]キー, A-7
 [F5]キー, A-8
 [F6]キー, A-8
 [F7]キー, A-8
 [IOD], Amounts/Mol. Weights, 2-42
 [max OD], Amounts/Mol. Weights, 2-43
 [mol. w.], Amounts/Mol. Weights, 2-23
 [Rel. Ab.], Amounts/Mol. Weights, 2-45
 [X+], [X=], [X-], Lane Profile, 2-49
 [Z+], [Z=], [Z-], Lane Profile, 2-49
 + (バンドマーカ), 2-10
 + ボタン, データベース, 2-68
 1 ボタン, データベース, 2-68
 1D-Gel ツールパレット, 1-10, 2-2
 1D-Gels (1次元ゲル解析) メニュー, A-5
 1D-Gels, 1-10
 1st odr Lagrange, Calibrating amounts from known dots, 3-18
 1st odr polynomial, Calibrating amounts from known dots, 3-18
 1st order Lagrange, Calibrating amounts from known bands, 2-39
 1st order polynomial, Calibrating amounts from known bands, 2-39
 1次元ゲルの解析, 2-1
 21 CFR Part 11対応機能, D-1
 2nd odr Lagrange, Calibrating amounts from known dots, 3-18
 2nd odr polynomial, Calibrating amounts from known dots, 3-18
 2nd order Lagrange, Calibrating amounts from known bands, 2-39
 2nd order polynomial, Calibrating amounts from known bands, 2-39

2値化, 画像を2値化してコロニーを抽出する, 4-11
 3rd odr Lagrange, Calibrating amounts from known dots, 3-18
 3rd odr polynomial, Calibrating amounts from known dots, 3-18
 3rd order Lagrange, Calibrating amounts from known bands, 2-39
 3rd order polynomial, Calibrating amounts from known bands, 2-39

A

Acquire (取り込み) メニュー, A-5
 Add Background Lines, Background Correction, 2-31
 Add Band Curve, 2-14
 Add Bands, Bands, 2-11
 Add Curves, Band Correction, 2-14
 Add Dot, 3-10
 Add Lanes, Lanes, 2-9
 Add Line, Background Correction, 2-31
 Add Records, Database, 2-69
 Add Slant Line, Slant Correction, 2-21
 Add Straight Lanes, 2-10
 Add User Defined Type, 2-4
 Add, Amount Calibrations, 2-40
 Add, Dots, 3-10
 Add/Change, Calibrating amounts from known bands, 2-37
 Add/Change, Calibrating amounts from known dots, 3-16
 Align grid with the lanes, arrows pointing toward the wells, 2-6
 Allow Multiple Calibration Curves, Amounts/Mol. Weights, 2-39
 Allow Multiple Calibrations, Area Density, 5-10
 Allow Multiple Calibrations, Dot Blots, 3-19
 Allow one missing band, M. W. Standard Options, 2-19
 Allow two missing bands, M. W. Standard Options, 2-19
 Always show background lines, Background Correction, 2-31
 Always show mol. weight standard, 2-20
 Always show Well Origin Line, 2-13
 Amount Calibrations, 2-40
 Amount loaded in lane, Lanes Loading, 2-33
 Amount or IOD, Amounts/Mol. Weights, 2-42
 Amount, Bands Options, 2-53
 Amount, Lane and Band Labels, 2-53
 Amounts Calibration Options, 2-24, 2-34, 2-38, 2-44
 Amounts in, Calibrating amounts from known dots, 3-16
 Amounts unit, Lanes Loading, 2-34
 Amounts, Amounts/Mol. Weights, 2-38
 Amounts/Mol. Weights ウィンドウの表内の数値と解析画像内のバンドの位置関係, 2-24

Amounts/Mol. Weights, 2-23
Angle Offset, 4-7
Angle, Select Measurements, Colony Counting, 4-7
Annotate (注釈) ボタン, A-3
AOI, 真円の楕円AOI, A-10
AOI, 正方形の矩形AOI, A-9
AOI (対象領域: Area of Interest), 1-3, A-2, A-8
AOIで測定領域を限定する, 2-8, 3-7
AOIに関する解説, A-8
AOIの座標, ステータスバー, A-6
AOIの大きさを変える、AOIを變形する, 1-5
Append Data to File, File, Amounts/Mol. Weights, 2-58
Append next data set to the bottom, DDE Options, 2-58
Append next data set to the right, DDE Options, 2-58
Apply Data Overlay, Apply to New Image, D-3
Apply Ranges, Colony Counting, 4-5, 4-8
Apply to New Image, Image Info Overlay, D-3
Apply, Contrast Enhancement, 1-7
Archive all open images into database, 2-69
Area Density Tool, 5-2
Area density, Function Type, 2-4
Area density, 5-3
Area Measurement, Area Density Tool, 5-6
Area of Interest (AOI), A-8
Area, Area Density Tool, 5-8
Area, Select Measurements, Colony Counting, 4-7
Area/Box, Select Measurements, Colony Counting, 4-7
Arrows on Peaks, Data Views, 2-56
Aspect Ratio, Spatial Calibration, C-3
Aspect, Select Measurements, Colony Counting, 4-7
Assign Calibration to bands, 2-40
Assign to all, Amount Calibrations, 2-40
Assign to areas, Amount Calibrations, 2-41
Assign to bands, Amount Calibrations, 2-40
Assign to dots, Amount Calibrations, 2-41
Audit trail, D-1
Auto Find, Colony Counting, 4-14
Auto Loc., Molecular Weight Standard, 2-19
Auto, Trace, A-12, A-13, A-14
Auto. Slant Lines, Slant Correction, 2-21
Automatic Bright Colonies, Colony Counting, 4-11
Automatic Dark Colonies, Colony Counting, 4-11
Axis (major), Select Measurements, Colony Counting, 4-7
Axis (minor), Select Measurements, Colony Counting, 4-7

B

Backgd. Options, Dots, 3-14

Background Correction Wizard, ドットプロットの解析, 3-14
Background Correction, 1D-Gel, 2-30
Background correction, Dots, 3-14
Background dots, Dot Blot, 3-14
Background Lines, Data Views, 2-55
Background Values, Show, Dot Blots, 3-21
Background, 1D-Gel ツールパレット, 1-10, 2-30
Backspaceキーでトレースを戻す, 5-9, A-12
Band amount, Calibrating amounts from known bands, 2-37
Band Correction, 1D-Gel, 2-14
Band ID, Lane Profile, 2-49
Band Indicator, Data Views, 2-56
Band Label Colors, Data Views, 2-54
Band Label Position, Data Views, 2-55
Band numbers, Bands Options, 2-53
Band volume, Calibrating amounts from known bands, 2-37
Bands Options, Bands, 2-12
Bands, 1D-Gel ツールパレット, 1-10, 2-11
Baseline, Lane Profile Output Options, 2-60
Baseline, Lane Profile, 2-28, 2-49
BCGつまみ, 1-6
Best Contrast, 1-8
Best Fit Contrast, 1-8
Best Fit, Calibrating amounts from known bands, 2-38, 2-39
Both, Amounts/Mol. Weights, 2-23
Both, Show menu, Amounts/Mol. Weights, 2-37
bp, Create New Molecular Weight Standard, 2-18
Brackets, Data Views, 2-56
Bright bands, dark background, 2-14
Bright, Flatten Background, 4-9
Brightness Control, 1-6
Browse, Dynamic Data Exchange Options, 2-59

C

Calibrate, Amounts/Mol. Weights, 2-24, 2-37
Calibrate, Dot Blots ツールパレット, 1-11
Calibrated Mass, Dot Blots, 3-20
Calibrated Value, View, Area Density Tool, 5-10
Calibrating amounts from known bands, 2-37
Calibrating amounts from known dots, Dot Blots, 3-15
Calibration, Spatial Calibration, C-1
CFR, 21 CFR Part 11対応機能, D-1
Change, Molecular Weight Standard, 2-19
Circular Dots, Dots, 3-8
Close Original Image, Rotate, 2-6, 3-5
Cluster, Select Measurements, Colony Counting, 4-7
Col., Dots, 3-12
Colony Counting Options, 4-5
Colony Counting, 2-4, 4-2, 4-3

Colony.tif, 4-4
 Color Channel, 2-1, 3-1, 4-1, 5-1
 Color coding, Amounts Calibration Options, 2-26
 Color coding, Rows and Columns Options, 3-24
 Color Lane Text, Data Views, 2-55
 Color Palette, Data Views, 2-54
 Colorize Image (擬似カラー)ボタン, A-4
 Component Colors, Data Views, 2-54
 Contrast Control, 1-6
 Contrast Enhancement, 1-6
 Convert To, 2-1, 3-1, 4-1, 5-1
 Could not find dish, 4-14
 Could not load Excel. Please check path, 2-59
 Count, Colony Counting, 4-12
 Create New Molecular Weight Standard, 2-18
 cst (較正データファイル), 2-40
 Curve Bands, 2-14
 Curve Lanes, 2-13

D

Dark bands, bright background, 2-14
 Dark, Flatten Background, 4-9
 Data Set, Colony Counting, 4-13
 Data to Clipboard, File, Amounts/Mol. Weights, 2-59
 Data To Clipboard, Lane Profile, 2-60
 Data to File, File, Amounts/Mol. Weights, 2-57
 Data To File, File, Lane Profile, 2-59
 Data Views, 1D-Gel, 2-54
 DDE Options, File, Amounts/Mol. Weights, 2-58
 DDE to Excel, File, Amounts/Mol. Weights, 2-58
 Define Lines of Equal Molecular Weight, 2-22
 Define Region, Area Density Tool, 5-6
 Define Well Origin, 2-12
 Delete All Lines, Slant Correction, 2-22
 Delete Background Lines, Background Correction, 2-31
 Delete Bands, Bands, 2-11
 Delete Dot, Dots, 3-10
 Delete Iso-M.W. Lines, 2-22
 Delete Line, Background Correction, 2-31
 Delete Measurements, 濃度の測定, 5-9
 Delete Slant Line, Slant Correction, 2-22
 Delete, Area Density Tool, 5-9
 Delete, Dots, 3-10
 Delete, Experiment, 2-69
 Density List, View, Area Density Tool, 5-10
 Density Lum, Select Measurements, Colony Counting, 4-7
 Description, Experiment, 2-4, 3-3, 4-3, 5-3
 Diameter (ave), Select Measurements, Colony Counting, 4-7
 Diameter, Dots, 3-8

Display Molecular Weight, Amounts Calibration Options, 2-24
 Display presence/absence, Amounts Calibration Options, 2-26
 Display the amount in each band as a function of, 2-34, 2-38, 2-44
 Distribution, Colony Counting, 4-13
 DNA analysis, 2-4
 Dot blot analysis, 2-4, 3-3
 Dot Blots ツールパレット, 1-11, 3-2
 Dotblot.tif, 3-4
 Dot-Blots (ドットプロット解析)メニュー, A-5
 Dots, Dot Blots ツールパレット, 1-11
 Dots, Dot Blots, 3-7
 Dots/Slots shape & size, Dots, 3-8
 Dotted Line, Data Views, 2-56
 Draw/Merge Colonies, Edit, Colony Counting, 4-14
 Dynamic Data Exchange Options, 2-58

E

Edit (編集)メニュー, A-5
 Edit, Amount Calibrations, 2-40
 End, Area Measurement, 5-8
 End, Select Measurements, 4-8
 Erase, Lane and Band Labels, 2-53
 Excel, レーンプロファイルの元データをExcelへ出力する, 2-61
 Excel, 測定結果をExcelへ出力する, 2-58
 Exit, 1-11
 Experiment, 2-3, 3-2, 4-2, 5-2
 Experimenter, Experiment, 2-4, 3-3, 4-3, 5-3

F

FDA, D-1
 Field, Search, 2-67
 File (ファイル)メニュー, A-5
 Fill Color, Apply to New Image, D-3
 Fill Grid Holes, Dots, 3-8
 Fill Holes, 4-6
 Filter area +/- (%), Dots, 3-8
 Filter diameter (0 to 50% of lane length), 2-32
 Filter Ranges, Select Measurements, Colony Counting, 4-8
 Filtered Profile, 2-31
 Filters, Colony Counting, 4-6, 4-8
 Find Dots, Dots, 3-9
 Find dots/slots, Dots, 3-8
 Find Lanes, Lanes, 2-12
 Find, Search, 2-67

Fit To Page, Print, File, 2-63
Fitting Method, Calibrating amounts from known bands, 2-38, 2-39
Fitting Method, Calibrating amounts from known dots, 3-17, 3-18
Fixed threshold (%), Dots, 3-8
Flat, Baseline, Lane Profile, 2-29
Flatten Background, Image, Colony Counting, 4-9
Font Settings, Image Info Overlay, D-2
Force equal amount in all, Lanes Loading, 2-33
Force straight lanes, 2-13
From Image, Baseline, Lane Profile, 2-30
Function Type, Experiment, 1-10, 1-11, 2-4, 3-3, 4-3, 5-3

G

Gamma Control, 1-6
Gel-Pro Analyzer のツール, 1-1, A-1
Gel-Pro Analyzer を起動する, 1-1
Gel-Pro Analyzer を終了する, 1-11
Gel-Pro Analyzerの画面, 1-2
Generate audit trail log, D-1
Genetic Material, Create New Molecular Weight Standard, 2-18
Graph To Clipboard, Lane Profile, 2-60
Graph, Molecular Weight Standard, 2-20
Graph, Show, Dot Blots, 3-25
grd (グリッドファイル), 3-13
Grid, Dots, 3-12

H

Hatch Pattern, Data Views, 2-56
Help (ヘルプ)メニュー, A-5
Hide/Show Tool Bar, A-8

I

Image Archiving, 2-69
Image Database (画像データベース) ボタン, A-3
Image Info Overlay, D-2
Image Signature, Image Info Overlay, D-2
Image with Overlay, Insert, Report Generator, 2-62
Image, Colony Counting, 4-9
Image, Spatial Calibration, C-3
In Range, Colony Counting, 4-9
In rows of equal Mol. Weight, Amounts Calibration Options, 2-24
In rows of equal Rf, Amounts Calibration Options, 2-25
Increment position for next data set by, DDE Options, 2-58
Info, Edit, 1-9

Information, コンテキストメニュー, 1-9
Insert, Search, 2-67
Integrated Intensity, Dot Blots, 3-20
Integrated optical density (IOD), 2-42
Intensity Calib, Area Density Tool, 5-5
Intensity Calibration, Area Density, 5-5
Intensity Calibration, C-5
Invert Contrast, Edit, 1-7
IOD (integrated optical density), 2-42
IOD, Calibrating amounts from known dots, 3-16
IOD, Show, Dot Blots, 3-21
IODの測定, ドットプロットの解析, 3-21
iso-MW Lines, Data Views, 2-55

J

Join Valleys, Baseline, Lane Profile, 2-29

K

Kb, Create New Molecular Weight Standard, 2-18
kDa, Create New Molecular Weight Standard, 2-18
Keep region's shape, Measurement Options, Area Density Tool, 5-6, 5-9

L

Label Style, Colony Counting Options, 4-5
Labels, Lanes, 2-51
Lagrange, 2-39, 3-18
Lambda DNA/Hind III Fragments, 2-17
Lane +, Lane -, Lane Profile, 2-49
Lane and Band Labels, 2-51
Lane Bitmap, Plot, Lane Profile, 2-48
Lane Profile Output Options, 2-60
Lane Profile, 2-27
Lane Width (pixels), 2-14
Lanes Loading, 2-33
Lanes, 1D-Gel ツールパレット, 1-10
Lanes: Rows, Amounts/Mol. Weights, 2-52
Large Label Text, Data Views, 2-55, 2-56
Legend, Lane Profile Output Options, 2-60
Less ボタン, 1-7
List, Search, 2-67
List, Show, Dot Blots, 3-20, 3-22
Load Calibration Curve (IOD + Mass), 3-18
Load Dot Pattern, 3-13
Load Previous Pattern, File, Dots, 3-11
Load Set, Amount Calibrations, 2-40
Load Standard Dots (Mass + Dot #), 3-18
Load, Data Views, 2-57

Loads, Amounts/Mol. Weights, 2-33
Locate, Molecular Weight Standard, 2-20
Lock Dots, Dots, 3-9, 3-12
log (コマンドログファイル), D-1
Log. display, Calibrating amounts from known dots, 3-17
Look for, Lanes, 2-12

M

M. W. Standard Options, 2-19
M. W. Standard, 1D-Gel ツールパレット, 1-10
Macro Editor (マクロ編集) ボタン, A-4
Macro Management (マクロ) ボタン, A-4
Macro (マクロ) メニュー, A-5
Magic Wand, 5-6, A-15
Magic Wand ツールで画像内をトレースして濃度を測定する, 5-6
Make Grid, Dots, 3-12
Manual positioning only, M. W. Standard Options, 2-19
Manual, Colony Counting, 4-5, 4-11
Marker Lane Colors, Data Views, 2-54
Mass Amount, Calibrating amounts from known dots, 3-16
Mass/IOD, Dot Blots ツールパレット, 1-11
Mass/IOD, Dot Blots, 3-19
Match band for band, M. W. Standard Options, 2-19
Match, Amounts/Mol. Weights, 2-25
Match, Show, Dot Blots, 3-24
Max, Statistics, Colony Counting, 4-13
Max. Feature Size, Flatten Background, 4-9
max. OD (最大光学濃度) を算出する, 2-43
max. OD, Amounts/Mol. Weights, 2-43
Max., Statistics, Area Density Tool, 5-10
Maximum baseline slope (1 to 100%), 2-29
Maximum Intensity, View, Area Density Tool, 5-10
Maximum OD, Show, Dot Blots, 3-22
Mean Background, View, Area Density Tool, 5-10
Mean Density (OD), Area Density Tool, 5-8
Mean Raw Density, View, Area Density Tool, 5-10
Mean, Statistics, Area Density Tool, 5-10
Mean, Statistics, Colony Counting, 4-13
Measure Colonies, Colony Counting, 4-5, 4-8
Measurement Options, Area Density Tool, 5-6
Measurements, Select Measurements, Colony Counting, 4-7
Min, Statistics, Colony Counting, 4-13
Min. band height, 2-12
Min., Statistics, Area Density Tool, 5-10
Minimum Intensity, View, Area Density Tool, 5-10
Minimum OD, Show, Dot Blots, 3-22
Mol. Weight, Lane and Band Labels, 2-53

Mol. Weight, Create New Molecular Weight Standard, 2-18
Molecular Weight Standard /Rt., 2-17, 2-18
Molecular Weight Standard, 2-16
Molecular Weight, 2-15
Molecular Weight, Amounts/Mol. Weights, 2-23
Molecular Weight, Bands Options, 2-53
Molecular Weight, Lane Profile Output Options, 2-60
More> ボタン, 1-7

N

NEW AOI (新規AOI), 1-3
New AOI ボタン, A-2
New Report, Report Generator, 2-61
New Template, New Report, 2-62
New, Intensity Calibration, 5-5
New, Spatial Calibration, C-2
Next Image, A-7
Next M. W., Define Lines of Equal Molecular Weight, 2-22
Noise, Trace, A-14
None, Baseline, Lane Profile, 2-29

O

Object #, Colony Counting Options, 4-5
Open (開く) ボタン, A-3
Open, Experiment, 2-66
Operator, Search, 2-67
Optimize image (最適合わせ込み) ボタン, A-4
Options, Area Density Tool, 5-6
Options, Colony Counting, 4-5
Options, Molecular Weight Standard, 2-19
Or display band, Lane and Band Labels, 2-53
Outline clear of the dot, 3-14
Outline close to the dot, 3-14
Outline Style, Colony Counting Options, 4-5
Output Options, Lane Profile, 2-60
Overlay Position, Apply to New Image, D-3

P

Packed, Amounts Calibration Options, 2-25
Path, Dynamic Data Exchange Options, 2-59
Percent (%), Rows and Columns Options, 3-23
Perimeter, Select Measurements, Colony Counting, 4-7
pl, Create New Molecular Weight Standard, 2-18
Pixels/Unit, Spatial Calibration, C-3
Place label to, Lanes and Band Labels, 2-52
Plot, Lane Profile, 2-47, 2-48
Polynomial Fit Line, Well Origin, 2-13

Polynomial Fit Slant, Slant Correction, 2-21, 2-22
Polynomial, Calibrating amounts from known bands, 2-39
Position Molecular Weight Standard, 2-20
Preference Views, 1D-Gel ツールパレット, 1-10, 2-54
Preferences, Edit, D-1
Pre-Filter, Colony Counting Options, 4-6
Prev. Image, A-7
Print Graph, File, Lane Profile, 2-61
Print Overlay, Print, File, 2-63
Print Screen, A-8
Print(印刷)ボタン, A-3
Print, File, 2-63
Print, File, Amounts/Mol. Weights, 2-59
Profile minus baseline, 2-28, 2-32
Profile Options, Data Views, 2-56
Program will reposition the dots, 3-12
Protein analysis, Experiment, 2-4

R

Range, Magic Wand, 5-7, A-16
Range, Statistics, Area Density Tool, 5-10
Range, Statistics, Colony Counting, 4-13
Ranges, Colony Counting, 4-11
Ratio to Band/Lane, Amounts/Mol. Weights, 2-24
Ratio to Band/Lane, Calibrate, Amounts/Mol. Weights, 2-34, 2-38, 2-44
Ratio, Rows and Columns Options, 3-23
Readme (Release Notes), 1-1
Record Macro (マクロの自動記録)ボタン, A-4
Reference represents how many units?, Spatial Calibration, C-3
Region, Area Density Tool, 5-8
Rel. ab. (relative abundance), Amounts/Mol. Weights, 2-43
Rel/bands, Amounts/Mol. Weights, 2-36
Release Notes, 1-1
Remove/Show Colonies, Edit, Colony Counting, 4-13
Repeat region selection, Measurement Options, 5-6
Report Generator, 2-61
Reports, 1D-Gel ツールパレット, 1-10
Reset Contrast, 1-7, 1-8
Reset enhancement (コントラストをリセットする)ボタン, A-4
Reset Lines, Background Correction, 2-31
Resize, Edit, 1-5
Results, 1D-Gel ツールパレット, 1-10, 2-23
Retain the largest, 2-12
RNA analysis, 2-4
ROI (AOI), A-8

Rolling disk radius (0 to 100% of lane length), 2-28, 2-32
Rolling Disk, 2-28, 2-32
Rotate, 1D-Gel ツールパレット, 1-10, 2-6
Rotate, Dot Blots ツールパレット, 1-11, 3-5
Roundness, Select Measurements, Colony Counting, 4-7
Row Band Expression, 2-52
Row Band Graph, Show, Amounts/Mol. Weights, 2-52
Rows and Columns Options, Show, Dot Blots, 3-22, 3-23
Rows and Columns, Show, Dot Blots, 3-20, 3-22
Rows, Dots, 3-12
Run automatic colony counting?, 4-14

S

Samples, Statistics, Area Density Tool, 5-10
Samples, Statistics, Colony Counting, 4-13
Sampling, Dot Blots, 3-25
Save Calibration Curve (IOD + Mass + Dot #), 3-18
Save Calibrations, C-5
Save Dot Pattern, 3-13
Save New, Experiment, 2-65, 3-27, 4-16, 5-11
Save Set, Amount Calibrations, 2-40
Save to Image Database, 2-69
Save (上書き保存)ボタン, A-3
Save, 1D-Gel ツールパレット, 1-10
Save, Area Density Tool, 5-11
Save, Colony Counting, 4-15
Save, Data Views, 2-57
Save, Dot Blots ツールパレット, 1-11, 3-26
Scaling, Spatial Calibration, C-3
Scan (スキャン)ボタン, A-3
Scan, Acquire, B-1
Screen Capture, A-8
Search For, Search, 2-67
Search, Database, 2-66
Segmentation, Colony Counting, 4-11
Select Area, Colony Counting, 4-10
Select Background dots, 3-14
Select Measurements, Colony Counting, 4-6, 4-8
Select Scanner, Acquire, B-1
Select/Unsel, Molecular Weight Standard, 2-16
Selected Settings, Image Info Overlay, D-2
seq (シーケンスファイル), A-7
Sequence Tools, A-7
Show all lanes, Plot, Lane Profile, 2-47, 2-48
Show band extents., Bands Options, 2-54
Show Corrected Image, Background Correction, 2-31
Show Data, Layout, Report Generator, 2-62
Show Graph, 1D-Gels, 2-27, 2-46
Show multiple lanes, Plot, Lane Profile, 2-47, 2-48

Show Overlay on Image, Image Info Overlay, D-2
 Show Overlay on Print, Image Info Overlay, D-2
 Show single lane, Plot, Lane Profile, 2-48
 Show ToolBar, 1D-Gels, 1-10
 Show ToolBar, Dot-Blots, 1-11
 Show, Amounts/Mol. Weights, 2-23
 Signature, Image Signature, Image Info Overlay, D-2
 Single band analysis, Experiment, 2-4
 Single lane, Lane Profile Output Options, 2-60
 Slant Correction, 1D-Gel, 2-21
 Slant Lines, Data Views, 2-55
 Slant, 1D-Gel ツールパレット, 1-10
 Slant, 1D-Gel, 2-20
 Slant.tif, 2-5
 Smooth, Magic Wand, A-16
 Smooth, Trace, A-14
 Sort, Dots, 3-11, 3-21, 3-22, 3-26
 Spatial Cal..., C-2
 Spatial Calibration, C-1
 Speed, Trace, A-14
 Split Colonies, Edit, Colony Counting, 4-14
 Spots.tif, 5-4
 Sqr. Error, Calibrating amounts from known bands, 2-39
 Standard band finding sensitivity, M. W. Standard Options, 2-19
 Standard Calibration Curve, Calibrate, Amounts/Mol. Weights, 2-37
 Standard Lanes, Molecular Weight Standard, 2-16
 Start, Select Measurements, Colony Counting, 4-8
 Statistics, Colony Counting, 4-13
 Statistics, View, Area Density Tool, 5-10
 std (スタンダードファイル), 3-18
 Std. Dev, Statistics, Colony Counting, 4-13
 Std. Dev., Statistics, Area Density Tool, 5-10
 Std. Optical Density, Intensity Calibration, 5-5
 Subtract baseline, Lane Profile Output Options, 2-60
 Sum, Statistics, Area Density Tool, 5-10

T

The amount in band on row ..., in the lane
 The amount in the same band in lane, 2-44
 The amount loaded in the lane., 2-34, 2-39
 The band in lane: ..., row., 2-45
 The standard calibration curve., 2-38, 2-39
 The value of the corresponding dot in column, 3-23
 The value of the corresponding dot in column, Rows and Columns Options, 3-24
 The value of the corresponding dot in row, Rows and Columns Options, 3-23, 3-24

Thresh, Trace, A-14
 Title, 2-3, 3-3, 4-3, 5-3
 Tools (ツール)メニュー, A-5
 Total Background, View, Area Density Tool, 5-10
 Total Count, Colony Counting, 4-9
 Total Density (OD), Area Density Tool, 5-8
 Total Raw Density, View, Area Density Tool, 5-10
 Trace, 5-7, 5-8, A-11
 Traceツールで画像内をトレースして濃度を測定する, 5-8
 Turn Background Dots On/Off, 3-14
 TWINスキヤナ, B-1
 txt (測定値の保存形式), 2-57, 2-59

U

undet., 2-45
 Undo (アンドウ)ボタン, A-3
 Uniform Lane Width, 2-14
 Update, Dot Blots, 3-26
 Update, Lane Profile, 2-49
 Use the background correction method in version 3.0 to guarantee results consistent with those obtained with that version, 3-14

V

Values are equivalent if ... %, 3-25
 Video/Digital (ビデオ/デジタル)ボタン, A-3
 View 1D-Gel Tool Bar (1D-Gelツールパレットを表示)ボタン, A-4
 View Area Density Tool (濃度測定ツールを表示)ボタン, A-4
 View Colony Counting Tool (コロニーカウンティングツールを表示)ボタン, A-4
 View Dot Blots Tool Bar (Dot Blotsツールパレットを表示)ボタン, A-4
 View Settings, Data Views, 2-55
 View, Area Density Tool, 5-10
 View, Colony Counting, 4-13
 vws (表示設定ファイル), 2-57

W

Wand, A-15
 Well Origin Line, 2-55
 Well Origin, 1D-Gel ツールパレット, 1-1, 2-12
 Window (ウインドウ)メニュー, A-5
 Workspace '...' has not been saved..., 3-6, 3-28, 5-12

X

X-Zoom MW Lines, Data Views, 2-55

Z

Zoom In, コンテキストメニュー, 1-9

Zoom Out, コンテキストメニュー, 1-9

Zoom, コンテキストメニュー, 2-50

あ行

空きメモリ, ステータスバー, A-6

あてはめ関数, スマイリング補正, 2-21, 2-22

あてはめ方式, 較正曲線による較正, 1次元ゲルの解析, 2-39

あてはめ方式, ドットの質量の較正, ドットプロットの解析, 3-18

穴を埋める, 4-6

アプライ量による較正, 2-33

アプリケーションウィンドウ, 1-2

1次元ゲルの解析, 2-1

1次元ゲル解析, 質量(マス)の測定, 2-27

1次元ゲル解析, 分子量の測定, 2-23

色成分選択ボタン, 1-7

色分け表示, 等分子量のバンドのマッチング, 2-26

印刷, 画像を印刷する, 2-63

印刷, 測定結果をプリンタで印刷する, 2-59

印刷, レーンプロファイルを印刷する, 2-61

ウェル位置の補正, 2-12

ウェル位置の補正線, 2-55

オーバーレイ, 2-61, 2-63

オプションの設定, コロニーカウンティング, 4-5

か行

カーソルの位置, ステータスバー, A-6

解析のタイプ, 2-4, 3-3, 4-3, 5-3

外接四角形, A-17

外部へ出力, 画像をオーバーレイとともにワープロなどの外部ソフトへ出力する, 2-61

カウンティング, コロニーカウンティング, 4-1

カウント結果, コロニーカウンティング, 4-12

カウント, 自動カウント, コロニーカウンティング, 4-14

カウントを実行する, コロニーカウンティング, 4-12

拡大・縮小, 画像の表示の拡大・縮小, 1-5, 2-50

角度オフセット, C-2

角度の較正, C-2

角度, コロニーカウンティングの測定項目, 4-7

画像ウィンドウ, 1-8

画像情報を画像に書き込む, D-3

画像情報を画像に重ね表示する, D-2

画像内のコロニーをカウントする, 4-1

画像内の領域をトレースして濃度を測定する, 5-6, 5-8

画像の傾きの補正, 1次元ゲル解析, 2-6

画像の傾きの補正, ドットプロットの解析, 3-5

画像のサイズ, ステータスバー, A-6

画像の署名, D-2

画像の鮮明化, 2-7

画像の表示を拡大・縮小, 1-5, 2-50

画像の要件, 1次元ゲルの解析, 2-1

画像の要件, コロニーカウンティング, 4-1

画像の要件, ドットプロットの解析, 3-1

画像の要件, 濃度の測定, 5-1

画像を印刷する, 2-63

画像をオーバーレイとともにクリップボードへコピーする(画像をワープロなどへ出力する), 2-61

画像をグレイスケールに変換, 2-1, 3-1, 4-1, 5-1

画像をスキャナで取り込む, B-1

画像を2値化してコロニーを抽出する, 4-11

画像を開く/画像の前処理, 1次元ゲルの解析, 2-5

画像を開く/画像の前処理, ドットプロットの解析, 3-4

画像を開く, コロニーカウンティング, 4-4

画像を開く, 濃度の測定, 5-4

画像を平坦化する, 4-9

傾き, 画像の傾きの補正, 1次元ゲル解析, 2-6

画面印刷, A-8

画面取り込み設定, A-8

画面, Gel-Pro Analyzerの画面, 1-2

カラーマップ, 1-7

監査証跡, D-1

ガンマ補正つまみ, 1-6

基準オブジェクト, 空間較正, C-3

基準ドット列, 3-23

基準ドット, 3-15

基準バンド, 2-26, 2-43

基準レーン, 2-25

既知の質量を持つバンド, 2-36

既知の質量を持つドット, 3-15

起動, Gel-Pro Analyzer を起動する, 1-1

輝度測定の単位, ステータスバー, A-6

輝度つまみ, 1-6

輝度のムラを除去する, 4-9

輝度のムラ, 4-4

ギャラリ表示, データベース, 2-68

キャリブレーション(空間較正), C-1

菌のコロニーをカウントする, 4-1

空間測定の単位, ステータスバー, A-6

空間較正, C-1

矩形AOI ツール, A-9

矩形AOIボタン, A-2
矩形AOI, 1-3, 2-8, A-9
クラスタ内個数, コロニーカウンティングの測定項目, 4-7
グラバツール(パンツール), 1-6
グラフ, 測定結果をグラフで表示する, ドットプロットの解析, 3-25
グラフ, バンドの横列の測定値をグラフで表示する, 2-52
グリッド線, 画像の傾きの補正, 3-5
グリッド, ドットのグリッド全体の位置と大きさを修正する, 3-12
グリッド, ドットのグリッドを手動で作成する, 3-12
グリッド, ドットのグリッドを保存, 再呼び出する, 3-13
クリップボード, レーンプロファイルをクリップボードにコピーする, 2-60
クリップボード, 画像をオーバーレイとともにクリップボードへコピーする, 2-61
クリップボード, 測定結果をクリップボードにコピーする, 2-59
グループ化, ドットのグループ化を行なう, 3-25
グレイスケール画像, 2-1, 3-1, 4-1, 5-1
計数, コロニーの計数(カウンティング), 4-1
検索, データベース, 2-66
減算, バックグラウンドの減算, 1次元ゲル解析, 2-27
検出感度, レーン・バンドの検出感度, 2-12
原点の較正, C-2
検量線, 2-36, 2-38, 3-15, 3-16
検量線, 濃度の較正, 5-5
較正, アプライ量による較正, 2-33
較正曲線グラフを拡大・縮小表示する, ドットの質量の較正, 3-17
較正曲線グラフを対数表示にする, ドットの質量の較正, 3-17
較正曲線(検量線), 濃度の較正, 5-5
較正曲線による較正, 1次元ゲル解析, 2-36
較正曲線, 2-36, 2-38, 3-15
較正, 空間較正, C-1
較正スケールの貼り付け, C-2
較正済みの質量(マス), 濃度の測定, 5-10
較正データの保存, 2-40
較正データをファイルに保存する/再呼び出する, ドットの質量の較正, 3-18
較正データを右クリックで適用, 2-41
較正, ドットの質量の較正, 3-15
較正, 濃度の較正を行なう, 5-5
較正, 複数の較正データを使用する, 2-39, 3-19, 5-10
較正, 分子量スタンダードによる較正, 2-16
コマンドツールボタン, 1-3, A-1

コマンドログ, D-1
コロニーカウンティング, 4-1
コロニーカウンティングの測定項目, 4-7
コロニーカウンティングを完全自動で行なう, 4-14
コロニーの選別を行なう, 4-8
コロニーの測微を行なう, 4-6
コロニーを自動でカウントする, 4-14
コンテキストメニュー, 画像ウィンドウ, 1-9
コントラスト強調ツール, 1-6
コントラストつまみ, 1-6
コントラストをリセットボタン, 1-8
コントロールメニュー, 画像ウィンドウ, 1-8

さ行

最小輝度(濃度), 濃度の測定, 5-10
最大輝度(濃度), 濃度の測定, 5-10
最大光学濃度を算出する, 2-43
最大・最小光学濃度の測定, ドットプロットの解析, 3-22
最適合わせ込みボタン, 1-8, 2-7
サムネイル, データベース, 3-27, 2-65, 4-16
サムネイルのサイズを変更する, 2-68
シーケンスファイル, A-7
シェーディング, 4-4
シェーディング補正(輝度ムラの除去), 4-9
四角形面積比, コロニーカウンティングの測定項目, 4-7
実験データの入力, 1次元ゲル解析, 2-3
実験データの入力, コロニーカウンティング, 4-2
実験データの入力, ドットプロットの解析, 3-3
実験データの入力, 濃度の測定, 5-2
質量の較正, 複数の較正データを作成する, 2-40
質量の測定, 1次元ゲル解析, 2-27
自動カウント, コロニーカウンティング, 4-14
自動でコロニーカウンティングを行なう, 4-14
自動2値化, コロニーカウンティング, 4-11
シャーレ, 4-4
シャーレの範囲を囲む, コロニーカウンティング, 4-10
周囲長, コロニーカウンティングの測定項目, 4-7
自由曲線AOIツール, A-11
自由曲線AOIをトレースツールで作成する, A-11
自由曲線AOIをマジックワンドツールで作成する, A-15
自由曲線AOIボタン, A-2
十字形カーソル, 2-11
終了する, Gel-Pro Analyzer を終了する, 1-11
縮小・拡大, 画像の表示を縮小・拡大, 1-5, 2-50
出力, 画像をプリンタへ出力する, 2-63
出力, 画像をオーバーレイとともにワープロなどの外部ソフトへ出力する, 2-61

初期設定コマンド, D-1
 真円度, コロニーカウンティングの測定項目, 4-7
 新規AOIボタン, A-2
 新規AOI, 1-3
 垂直線マーカ, 4-11
 ズームツール, 1-5, 2-50
 スキャナ, 画像をスキャナで取り込む, B-1
 ステータスバー, 1-8, A-6
 スマイルング補正, 2-20
 スマイルング補正線, 2-55
 スマイルング補正線を削除する, 2-22
 スマイルング補正線を手で引く, 2-21
 スミア, 3-6
 寸法の較正, C-1, C-2
 積分光学濃度の測定, ドットプロットの解析, 3-21
 積分光学濃度(OD)の測定, 2-42
 選別, コロニーの選別を行なう, 4-8
 選別レンジ, 4-8
 操作の概要, 1次元ゲル解析, 2-2
 操作の概要, コロニーカウンティング, 4-1
 操作の概要, ドットプロットの解析, 3-1
 相対量の基準, 1次元ゲル解析, 2-44
 相対量の算出, 1次元ゲル解析, 2-43
 相対量の測定, ドットプロットの解析, 3-22
 ソースの選択, TWINスキャナで画像を取り込む, B-1
 測微, コロニーの測微を行なう, 4-6
 測定結果ウィンドウ, ドットプロットの解析, 3-20
 測定結果, コロニーカウンティング, 4-12, 4-13
 測定結果のウィンドウ, 2-23
 測定データをExcelへ転送する, 2-58
 測定結果を外部へ出力する, 1次元ゲル解析, 2-57
 測定結果をグラフで表示する, ドットプロットの解析, 3-25
 測定結果をクリップボードにコピーする, 2-59
 測定結果をテキストファイルに追記する, 2-58
 測定結果をプリンタに出力する, 2-59
 測定項目, コロニーカウンティング, 4-6
 測定, 最大光学濃度を算出する, 2-43
 測定, 最大・最小光学濃度の測定, ドットプロットの解析, 3-22
 測定, 質量(マス)の測定, 3-19
 測定, 積分光学濃度の測定, 1次元ゲル解析, 2-42
 測定, 積分光学濃度の測定, ドットプロットの解析, 3-21
 測定, 相対量の測定, ドットプロットの解析, 3-22
 測定対象領域とバックグラウンド両方の合計積分光学濃度, 濃度の測定, 5-10
 測定対象領域とバックグラウンド両方の平均濃度, 濃度の測定, 5-10

測定, 濃度の測定, 5-1
 測定範囲を限定する, コロニーカウンティング, 4-10
 測定, 分子量の測定, 2-23
 測定領域の限定 — ドットの検出, 3-6
 測定領域の限定, 1次元ゲル解析, 2-7

た 行

ダイアログボックスのチェックボタン, 1-9
 対象領域(AOI), A-8
 タイトルバー, 1-2
 楕円AOIツール, A-10
 楕円AOIボタン, A-2
 楕円長短軸比, コロニーカウンティングの測定項目, 4-7
 楕円の短軸, コロニーカウンティングの測定項目, 4-7
 楕円の長軸, コロニーカウンティングの測定項目, 4-7
 縦横比の較正, C-2
 谷マーカ, 2-13
 谷マーカの表示を変更する, Data Views, 2-56
 谷マーカ, レーンプロファイル, 2-49
 単位あたりピクセル数, C-2
 単一画像表示, データベース, 2-68
 単一フレームボタンと複数フレームボタン, A-7
 チェックボタン, 1-9
 直径(平均)], コロニーカウンティングの測定項目, 4-7
 ツール, Gel-Pro Analyzer のツール, 1-1, A-1
 ツールバー, 1-3, A-1
 ツールバーを切り離す, A-1
 ツールパレット, 1-10
 定義線, 空間較正, C-3
 定量, 1次元ゲル解析, 2-15
 定量, ドットの定量, 3-19
 データベース, 2-64
 データベースから測定結果を開く, 2-65
 データベースに画像のみを登録する, 2-69
 データベースに全画像を登録する, 2-69
 データベースに測定結果を保存する, コロニーカウンティング, 4-15
 データベースに測定結果を保存する, ドットプロットの解析, 3-26
 データベースに測定結果を保存する, 濃度の測定, 5-11
 データベースに測定結果を保存する, 2-64
 データベースのデータを削除する, 2-69
 データベースボタン, 2-66
 適用ボタン, 1-7
 デジタル署名, D-2
 電子署名, D-1, D-2
 同一形状の測定領域を連続測定する, 5-9

- 統計データ, ドットプロット解析, 3-20
 統計データ, 濃度の測定, 5-10
 等分子量線, 2-55
 度数分布ヒストグラム, コロニーカウンティング, 4-13
 ドットのグリッド全体の位置と大きさを修正する, 3-12
 ドットのグリッドを手動で作成する, 3-12
 ドットのグリッドを保存, 再呼び出しする, 3-13
 ドットのグループ化を行なう, 3-25
 ドットの検出, ドットプロットの解析, 3-7
 ドットの質量の較正, 3-15
 ドットの自動検出, 3-9
 ドットの直径を指定する, 3-8
 ドットの番号が乱れたとき, 3-26
 ドットプロットの解析, 3-1
 ドット枠, 3-9
 ドット枠の位置を修正する, 3-9
 ドット枠の色, 3-9
 ドット枠の大きさを変更する, 3-10
 ドット枠を削除する, 3-10
 ドットを手動で検出する, 3-10
 取り込み, 画像をスキャナで取り込む, B-1
 トレース線を戻す, 5-9
- ## な行
- 2値化, 画像を2値化してコロニーを抽出する, 4-11
 2値化, 自動2値化, コロニーカウンティング, 4-11
 日本語の使用制限, 2-3, 3-3, 4-3, 5-3
 濃度断面, 2-46
 濃度の較正を行なう, 濃度の測定, 5-5
 濃度の測定, 5-1
- ## は行
- パーセンテージ, 相対量を%で算出する, 2-46
 バックグラウンドの補正, 1次元ゲル解析, 2-27
 バックグラウンド部分の積分光学濃度, 濃度の測定,
 5-10
 バックグラウンド部分の平均光学濃度, 濃度の測定,
 5-10
 バックグラウンド補正オプション, ドットプロットの解析,
 3-14
 バックグラウンド補正線, 1次元ゲル解析, 2-55
 バックグラウンド補正線を引く, 1次元ゲル解析, 2-31
 バックグラウンドを除く積分光学濃度 (IOD), 濃度の測
 定, 5-8
 バックグラウンドを除く平均光学濃度, 濃度の測定, 5-
 8
 バックスペースキー, 5-9, A-12
 パンツール, 1-6
 反転ボタン, 1-7
 バンドに任意のラベルを付ける, 2-53
 バンドの横列の測定値をグラフで表示する, 2-52
 バンドの検出, 2-7, 2-11
 バンドのピークの範囲を表示させる, 2-54
 バンドのピークの範囲を調節する, 2-13
 バンドマーカ, 2-10
 バンドマーカの位置を変更する, 2-13
 バンドマーカ, バンドマーカを追加する, 2-11
 バンドマーカ, 不要なバンドマーカを除去する, 2-10
 ハンドル, レポートジェネレータ, 2-62
 バンド, 湾曲したバンドを検出, 2-14
 ピークの範囲を調節する, 2-13
 ピクセルの値, ステータスバー, A-6
 ヒストグラム, 2値化, コロニーカウンティング, 4-11
 ヒストグラム, 度数分布ヒストグラム, コロニーカウンテ
 イング, 4-13
 表示オプションを使用する, 2-50
 表示サイズ, 1-5
 表示設定を保存して再呼び出しする, 2-57
 標準光学濃度, Intensity Calibration, 5-5
 ファンクションキー, A-7
 フィッティング関数, スマイルング補正, 2-21, 2-22
 フィッティング関数, 較正, 2-39, 3-18
 複数の較正データセットを使用する, 2-39, 3-19, 5-10
 複数フレームボタン, A-7
 不要なバンドマーカを除去, 2-10
 プリント, レーンプロファイルをプリントする, 2-61
 プリント, 測定結果をプリントする, 2-59
 プレースホルダ, 2-62
 フローティングパレット, A-1
 分子量スタンダードの値を変更する, 2-19
 分子量スタンダードの選択, 2-17
 分子量スタンダードのマーカを自動位置決めする時
 の感度調節, 2-19
 分子量スタンダードのマーカを手動で位置決めする,
 2-20
 分子量スタンダードのマーカ, 2-17
 分子量スタンダードをグラフ表示する, 2-20
 分子量スタンダードを新規作成する, 2-18
 分子量スタンダードによる較正, 2-16
 分子量の算出, 2-23
 分子量の測定, 1次元ゲル解析, 2-15
 分子量マーカ, 2-16
 平均輝度, コロニーカウンティングの測定項目, 4-7
 平坦化, 画像を平坦化する, 4-9
 ベースライン, レーンプロファイル, 2-28
 変換, 画像をグレイスケールに変換, 2-1, 3-1, 4-1, 5-1
 保存, 較正データを保存, 2-40
 保存, 測定結果を保存する, 1次元ゲル解析, 2-57

保存, データベースに測定結果を保存する, コロニー
カウンティング, 4-15
保存, データベースに測定結果を保存する, ドットプロ
ットの解析, 3-26
保存, データベースに測定結果を保存する, 濃度の測
定, 5-11
保存, データベースに測定結果を保存する, 1次元ゲ
ル解析, 2-64
保存, 表示設定を保存して再呼び出しする, 2-57
保存, レーンプロファイルの元データをファイルに保存
する, 2-59
ボタン, コマンドツールボタン, 1-3, A-3

ま行

マウスドラッグで画像内をトレースして濃度を測定す
る, 5-8
マジックワンド, 5-6
マスの測定, 1次元ゲル解析, 2-27
マッチング, 等分子量のバンドの、レーン間でのマッ
チングを調べる, 2-25
マッチング, ドットプロットの解析, 3-24
マッチングの基準, 等分子量のバンドのマッチング, 2-
26
魔法の杖のカーソル, 5-7, A-15
虫メガネ形カーソル, 2-50
メッセージバー, ステータスバー, A-6
メニューバー, 1-2, A-5
面積, コロニーカウンティングの測定項目, 4-7
面積, 濃度の測定, 5-8

や行

横向き, レーンプロファイルの下にレーンの画像を横
向きに表示する, 2-48
四方向カーソル, 2-10

ら行

ラベルの文字色を変更する, 2-54
ラベルの文字を大きくする, 2-55
ラベル, バンドに測定値をラベルとして付ける, 2-53
ラベル, バンドに任意のラベルを付ける, 2-53
ラベル, バンドに番号をラベルとして付ける, 2-53
ラベル, レーンに任意のラベルを付ける, 2-51
リセットボタン, コントラスト強調, 1-7
リセットボタン, リミットチェック, 1-9
リブリケート, 3-25
リミットチェックボタン, 1-9
粒子の濃度を測定する, 5-4
レーン・バンドの検出, 2-7

レーンの位置と幅を変更する, 2-14
レーンのラベルを削除する, 2-53
レーン・バンドの検出感度を調節する, 2-12
レーンプロファイル, 2-27
レーンプロファイルの下にレーンの画像を表示する,
2-48
レーンプロファイルの出力オプション, 2-59
レーンプロファイルの元データをExcelへ出力する, 2-
61
レーンプロファイルの元データをファイルに保存する,
2-59
レーンプロファイルのラベル表示を変更する, 2-56
レーンプロファイル, 複数のプロファイルを重ね表示
する, 2-47, 2-48
レーンプロファイルをクリップボードにコピーする, 2-60
レーンプロファイルを操作する, 2-46
レーンプロファイルをプリンタに出力する, 2-61
レーン, 湾曲したレーンを検出, 2-13
レーンを手動で追加, 2-9
レポートジェネレータ, 2-61
レンジ, 選別レンジ, 4-8
ローリングディスク, 2-28, 2-32
ログ, コマンドログ, D-1

わ行

湾曲したバンドを検出, 2-14
湾曲したレーンを検出, 2-13
ワンド, 5-6

ライセンスについて

プログラムを納めたディスクもしくはCD-ROM（これ以降「プログラム媒体」と略します）、またはマニュアル類の保護カバーを開封する前に、本ライセンス契約書をお読み下さい。プログラム媒体またはマニュアル類を開封された場合は、お客様が、本ライセンス契約(個人・エンドユーザライセンス契約)の条件に同意されたものと見なします。本ライセンスの条件に同意されない場合は、本製品を、保護カバーを開封せずに、レシートのコピーを添付して、Media Cybernetics, Inc.または日本での販売元(株)プラネトロン(これ以降Mediaと記します)宛に至急ご返送下さい。ライセンス料をお返し致します。

プログラムに対するライセンス

Mediaは、ソフトウェア、プログラム媒体、コピープロテクトキー（不正コピー防止キー）、およびマニュアルを含むGel-Pro Analyzer for Windows（これ以降、総称的に「本製品」と記します）を複製、出版、販売、ライセンス供与する、および流通させる世界的な権利を所有します。所望の結果を得るために本製品を採用された責任、および本製品をインストールして使用される責任は、お客様（ライセンス所有者）が負われるものとします。

ライセンスの供与

本ライセンスにより、Mediaは、ライセンス所有者（お客様）が本ライセンスの条件に従い、本製品を非独占的に1個人として単独に使用されることを認めます。ライセンス所有者による以下の行為は許可されています。

1. ライセンス所有者が所有、借用、あるいはその他の方法で管理している1台のワークステーションで本製品を使用すること。この場合、ネットワーク接続されているか、その他のコンフィギュレーションが設定されているかは問いません。
2. 1台のワークステーションで本製品を使用する予備として、本製品のバックアップ・コピーを1つ作成すること。
3. 1台のワークステーションで使用するために、本製品を他のプログラムに組み込むこと(組み込まれた本製品のあらゆる部分は、組み込み後も本ライセンスの条件の適用対象となります)。
4. 以下の条件が満たされた場合に、本ライセンスを第三者に譲渡すること。
 - a) その第三者が本ライセンスの条件に同意した場合
かつ
 - b) Mediaが、書面により譲渡を承認した場合

本製品を譲渡する場合は、譲渡と同時に、本製品の全てのコピー、および他のプログラムに組み込まれた本製品のあらゆる部分を譲渡先に引き渡すこととします。

本製品の全てのコピー、および他のプログラムに組み込まれた本製品のあらゆる部分には、Mediaの商標と著作権の注意書きを必ず複製して添付することとします。

ライセンス所有者による以下の行為は禁止されています。

1. 本製品、または他のプログラムに組み込まれた本製品の部分を、同時に複数のワークステーションで使用すること。
2. 上記4.で明示的に許可されている以外の第三者に、本製品、本ライセンス、他のプログラムに組み込まれた本製品の部分のいずれかでも、これを複製、貸与、配布、販売、ライセンス、サブライセンス、ないし譲渡すること。

Mediaの権利

本製品には、著作権、商標、企業秘密に関するアメリカ合衆国内法および国際法、ないし協定によって保護された、Mediaの所有する資料が含まれていることを、ライセンス所有者は承認し、これに同意するものとします。本製品に関わる一切の権利、利益はMediaに帰属します。本ライセンスにより、本製品に関わる一切の権利、利益はライセンス所有者に供与されません。本ライセンスにより供与されるのは、本ライセンスに規定された仕方です。終了される、制限付きの使用権のみです。ライセンス所有者は、本ライセンスにより明確に許可された以外の仕方本製品が使用されたり、複製ないし配布されることを防止するために、最大限の努力を払うこととします。

ライセンスの条件

本ライセンスは、終了されるまで有効です。ライセンス所有者は、(コピープロテクトキーを含む)本製品を、本製品のあらゆるコピー、他のプログラムに組み込まれた本製品のあらゆる部分(およびマニュアルのあらゆるコピー)と共

に全てMediaへ返却することにより、いかなる時点でもライセンスを終了できます。また、ライセンス所有者が、本ライセンスの条件をいずれにかかわらず遵守しない場合は、Mediaからの通告なしにライセンスは自動的に終了されます。このようにライセンスが終了した場合、ライセンス所有者は、本製品、本製品の全てのコピー、および他のプログラムに組み込まれた本製品のあらゆる部分(およびマニュアルのあらゆるコピー)をMediaに返却することに同意するものとします。

制限付き保証

Mediaは、通常の使用条件下で、ソフトウェアが供給されるプログラム媒体が材質、製品状態において、レシートによって証明されるプログラム媒体の入手日から90日間、欠陥がないことを保証します。

上記の点を除いて、本製品は「現状のまま」提供され、明示、暗示のいずれにかかわらず一切の保証を含みません。保証しない例としては、本製品の商品性や特定の目的に対する適合性についての暗示的な保証がありますが、これに限定されるものではありません。本製品の品質や性能に対する全責任は、ライセンス所有者が負うものとします。万一本製品に欠陥があると判明した場合でも、必要な全ての修復、修正に関する全コストはライセンス所有者が負担するものとします(MediaおよびMedia製品の正規販売会社のいずれも、これに関するコストは負担しません)。

補償の制限

Mediaが負う全責任、およびライセンス所有者が受ける補償は以下のものみに限定されています。

1. Mediaの制限付き保証内容を満たさないプログラム媒体が、レシートのコピーと共にMediaへ返送された場合、プログラム媒体を代替品と交換すること。
2. 製品状態において欠陥のないプログラム媒体の代替品をMediaが送付できない場合、本製品の全コピーとレシートのコピーをMediaへ返送することにより、ライセンス所有者は本ライセンスを終了できる。この場合、製品の代金は返金されます。

本製品を使用すること、あるいは使用できないことによって発生する逸失利益、節約できると見なされていた金額の損失、あるいはその他の間接的、例外的、懲罰的、偶発的、結果的な損害賠償、請求、訴訟を含むあらゆる損害賠償に対して、いかなる場合でもMediaは責任を負いません。この場合、そのような損害賠償、請求、訴訟などの可能性についてMediaが通告されていても、Mediaは責任を負いません。

司法管轄によっては、偶発的、あるいは結果的な損害に対する保証の制限や除外を認めていないので、上記の制限や除外が当てはまらない場合もあります。

商標について

Gel-Pro Analyzer™はMediaの商標です。したがって、この商標に対する権利、ライセンス、および利益は供与されません。

準拠法

本ライセンスはアメリカ合衆国メリーランド州法に準拠し、同法によって解釈されるものとします。同法はメリーランド州内で締結したライセンスに対して適用され、履行されます。

可分性

万一、司法管轄内の法廷により本ライセンスの一部が無効、あるいは履行不可能だと宣告された場合でも、それ以外の条件は完全な効力を有するものとします。

権利放棄

本ライセンス内に記載されたあらゆる権利について、いずれかの側が自己の権利を行使しなかった場合でも、または契約違反時に相手側に対して行動を起こさなかった場合でも、それ以降に権利を行使する権利、または契約違反時に相手側に対して行動を起こす権利を放棄したとは見なさないこととします。

完全合意

ライセンス所有者は本ライセンスを読み、理解し、ライセンスの条件に同意したことを認めたものとします。さらに、本ライセンスがライセンス所有者個人とMediaの間での排他的な契約として締結されたこと、および、本ライセンスの内容に関して、ライセンス所有者とMediaとの間における口頭、書面、その他の形態によるあらゆる提案、あるいは本ライセンス以前に取り交わされたあらゆる契約は、本ライセンスの締結により無効になることに同意するものとします。



株式会社 日本ローパー
メディアサイバネティクス事業部

〒135-0033東京都江東区深川12-8-19サクライビル3F
TEL 03-5639-2751 FAX 03-5639-2774

Homepage: <http://www.planetron.co.jp>
E-Mail: mc_support@roper.co.jp