

June 2008

QIAxcel User Manual

操作手順および BioCalculator Software 使用法

英語版マニュアル 5 章および 6 章に準じます。



Sample & Assay Technologies

| 目次 | ページ |
|---------------------------------|-----|
| 5 操作手順 | 4 |
| 5.1 QIAxcel Kitの開梱 | 4 |
| 5.2 QIAxcelのセットアップ | 5 |
| 5.3 QIAxcelの操作 | 7 |
| 5.4 カートリッジのインテンシティ・キャリブレーションの実施 | 13 |
| 5.5 メソッド (Method) の選択 | 14 |
| 5.6 メソッド (Method) の稼働 | 14 |
| 5.7 データ収集 | 16 |
| 6 BioCalculator Software | 17 |
| 6.1 メニューバーコマンド | 17 |
| 6.2 印刷手順 | 19 |
| 6.3 フォルダ設定 | 22 |
| 6.4 フォルダのアライメントおよびスケール調整 | 23 |
| 6.5 表のプロパティ | 24 |
| 6.6 グラフのプロパティ | 25 |
| 6.7 データ解析 | 27 |


5 操作手順


このセクションでは QIAxcel システムの操作方法を説明します。

ご使用前に、Section 3（英語版 UserManual）を参照し、QIAxcel の特徴についてご覧ください。

QIAxcel システムの稼働中は、Cartridge Door あるいは Sample Door を絶対に開けないでください。ドアを開くのはシステムを稼働していない時、あるいはソフトにより指示された場合のみにしてください。

注： QIAxcel の稼働中に Cartridge Door あるいは Sample Door を開けると、実行されている電気泳動が停止します。進行中のサンプル・ランを再開することはできません。但し、損失するサンプル容量が少ないため、そのまま新たにランを始めることができます。

| | | |
|--|--|------|
| 警告  | 人的な危害と装置の破損 QIAxcel の稼働中に動かさないでください。 | [W3] |
|--|--|------|

| | | |
|--|---|------|
| 警告  | 動作部への接触 QIAxcel 稼働中の動作部への接触を避けるために、Cartridge Door と Sample Door を閉じてください。 ドアのセンサーが作動しない場合は、弊社テクニカルサポートにお問い合わせください。 | [W9] |
|--|---|------|

5.1 QIAxcel Kitの開梱

1. まず QIAxcel Kit に添付のハンドブック（日本語版プロトコールとトラブルシューティングあり）を熟読する。
2. キットの箱からすべてのバッファー容器を取り出す。キット内容物の詳細はハンドブック（日本語版プロトコールとトラブルシューティングあり）に記述されている。
3. 10 ml の QX Wash Buffer を QX Cartridge Stand（本体に付属）の Reservoirs に入れて、2 ml のミネラルオイルをアプライし、水面をカバーする。
4. QIAxcel Gel Cartridge をパッケージから取り出して、キャピラリーチップからソフトゲル残渣を柔らかいティッシュペーパーで拭き取る。
5. QIAxcel Gel Cartridge の背面から purge cap seal を剥がし、QX Cartridge Stand にセットする。
注；purge hole から洩れたゲルは柔らかいティッシュペーパーで拭き取ります。
注；キャピラリーチップが QX Wash Buffer に浸っていることを確認してください。
6. 新しいカートリッジは QX Cartridge Stand にセットし、20 分間室温で安定化してから使用する。



図 4. QX Cartridge Stand にセットした QIAxcel Gel Cartridge

5.2 QIAxcelのセットアップ

5.2.1 バッファートレイの準備

実験を始める前の重要事項

- QX Alignment Marker が入った 12-Tube Strip を室温（15～25℃）に戻し、スピンドウンしてから使用します。
- QX Alignment Markers は 15～20 回の泳動を行なうごとに、あるいは 3 日ごとに交換することを推奨します。各種マーカーあるいはバッファの別途購入が可能です（英語版 E-1 ページ、Appendix E “Ordering Information” を参照）。
- 使用しない場合は QX Alignment Marker の入った 12-tube strip を-20℃で保存してください。
- QX Separation Buffer および QX Wash Buffer の量は、Gel Cartridge に記載されている泳動数の最大数に十分な量が添付されています。
- 12-Tube Strip を MARKER1 および MARKER2 の位置に軽く差し込みます。Tube Strip を強く差し込んだり、Tube Strip がゆるすぎると注入がうまくいかず、カートリッジ・キャピラリーを損傷することがあります。
- 使用前にすべての試薬を室温（15～25℃）に戻してください。

操作手順

1. 低刺激性の洗剤と温水でバッファートレイを洗浄し、イオン交換水あるいは逆浸透膜処理水ですすぐ。
2. バッファートレイの WP および WI の位置を 8 ml の QX DNA あるいは RNA Wash Buffer で満たす。
3. バッファートレイの BUF の位置を 18 ml の QX DNA あるいは RNA Separation Buffer で満たす。
4. 溶液の蒸発を防ぐためにこれら 3 つの位置にミネラルオイルを添加する。2 ml のミネラルオイルを WP と WI の位置に、4 ml のミネラルオイルを BUF の位置に重層する。
5. 15 μ l の QX Alignment Marker を QX 0.2 ml 12-Tube Strip の各ウェルにアプライする。

6. 各ウェルにミネラルオイルを 1 滴添加して、strip をバッファートレイの MARKER1 の位置にセットする。
7. 15 μ l の QX Intensity Calibration Marker を QX Colored 0.2 ml 12-Tube Strip の各ウェルにアプ
ライする。ミネラルオイルを 1 滴添加して、strip をバッファートレイの MARKER2 の位置にセット
する。



5.2.2 バッファートレイのセット

1. Cartridge Door と Sample Door を閉める。

注：QIAxcel システムの稼働中は、Cartridge Door あるいは Sample Door を絶対に開けないでください。稼働中に Cartridge Door あるいは Sample Door を開けると、実行されている電気泳動が停止します。

2. “Instrument Control” 画面の “Change Buffer” をクリックして、バッファートレイを装置の前面に移す。

3. Sample Door を開ける。

4. 溶液を充填したバッファートレイをバッファートレイホルダーに慎重にセットする。

装置に溶液をこぼさないように、またバッファートレイにセットしたバッファーター間でクロスコンタミが起きないように気をつけます。

注：12-tube strips が装置の前面に、バッファーターが後方にセットされていなければなりません。

5. Sample Door を閉じ、“Instrument Control” 画面の “Park” をクリックして、バッファートレイを WP 位置に移動させる。

5.2.3 QIAxcel Gel Cartridge と Smart key の取り付け

注：本操作を始める前に 4 ページの 5.1 をお読みください。

1. QIAxcel Gel Cartridge を QX Cartridge Stand から取り出す。

2. Cartridge Door を開き、QIAxcel Gel Cartridge を QIAxcel にセットする。Cartridge 情報ラベルを装置の前面に、purge hole を装置の背面に向けた状態にする。

注：5.1 のステップ 5 に記載されているように purge cap seal を外していることを確認します。

3. Smart key を smart key socket に差し込む。Smart key には裏表がないのでどちらの方向にも挿入可能。

4. Cartridge Door を閉める。

Cartridge ID と Cartridge Type が “Instrument Control” 画面に自動的に表示されます。

注：Smart key が差し込まれていない場合、装置はカートリッジを認識せず、動作しません。

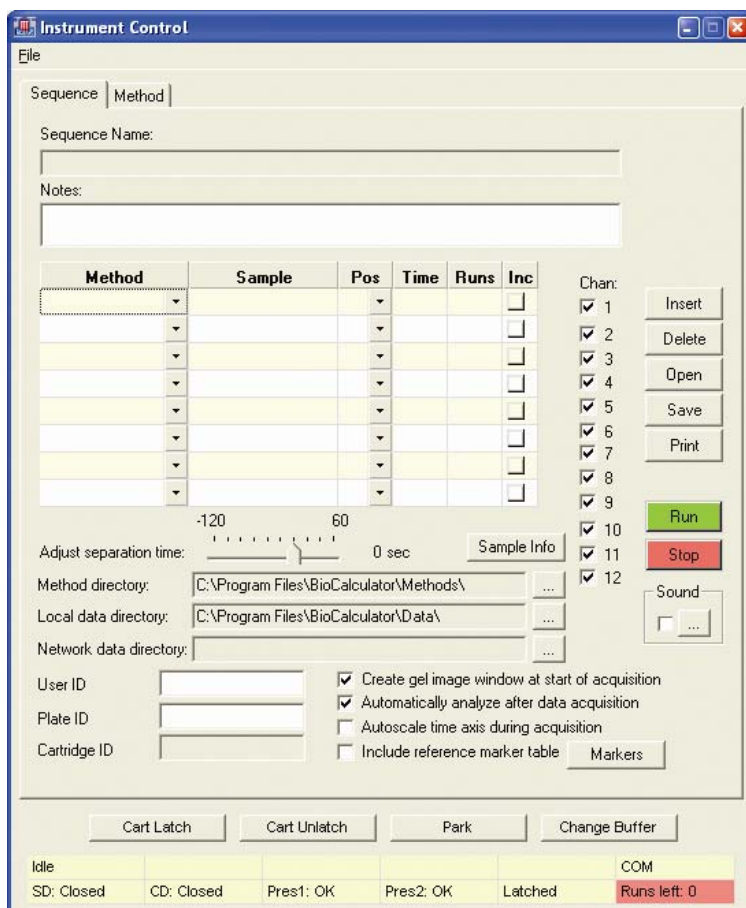
5.3 QIAxcelの操作

BioCalculator ソフトを立ち上げた時に表示される“Instrument Control”画面は、QIAxcel システムのユーザーインターフェースです。“Instrument Control”画面には2種類のタブ“Sequence”と“Method”があります。

“Sequence”タブ

このタブによりユーザー情報やサンプル情報の入力、使用する分離法の選択、データの出力、データの保存情報などが可能です。

“Instrument Control”画面で“Sequence”タブを選択



- Sequence Name** 現在のシークエンスのファイル名が表示される。
シークエンスは、QIAxcel システムにより行なわれる一連の電気泳動メソッドにて、本タブで設定する。
- Method** サンプルの各列ごとに使用するメソッドの選択が可能。
下向き矢印をクリックすると、QIAxcel 本体にセットされている QIAxcel Gel Cartridge が利用可能なインストール済みの全メソッドが表示される。
サンプルの各列ごとに複数のメソッドを使用することが可能。
“Sample”、“Pos”、“Runs”欄に入力されている情報に従って、各メソッドが順番に実施される。

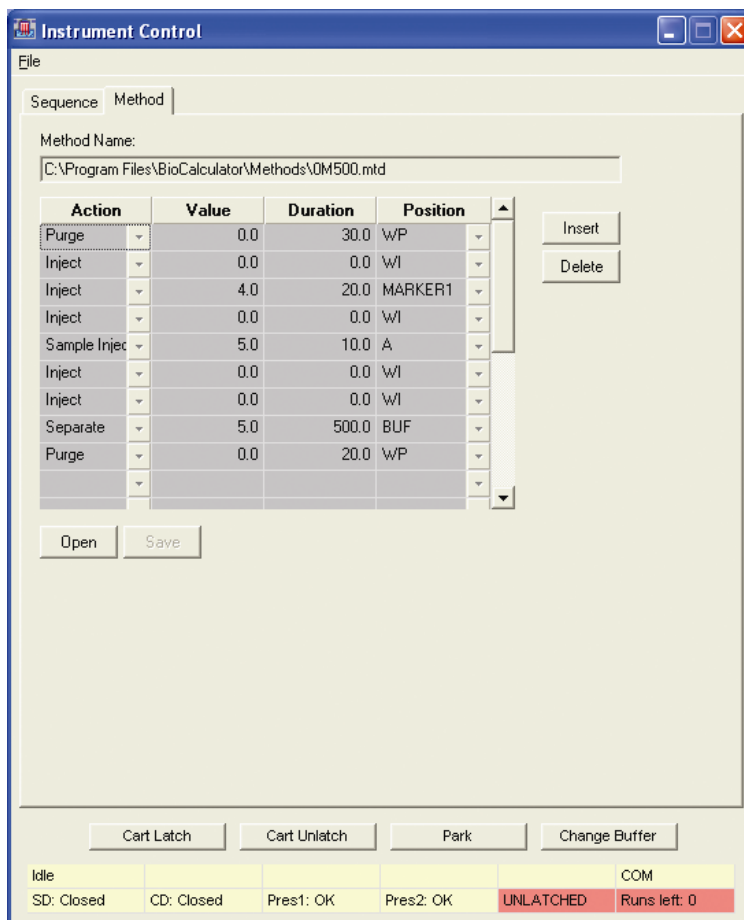
| | |
|------------------------|---|
| Sample | <p>サンプルのファイル名を入力する。</p> <p>この名前は個々のサンプルに関するものではなく、サンプル群に関するもの（例；列のサンプルすべてを記述）。サンプル名は文字と数字だけを使用し、スペースは使用しない（例；“.”、“/”、“@”、その他の記号は使用しない）。</p> |
| Pos | <p>サンプルの位置を選択する。</p> <p>サンプル位置はスタンダードのマイクロプレートの列フォーマットに従う（例；A～H）。位置に関する情報を入力しない場合は、デフォルトの設定である“A”の位置からサンプルが注入される。</p> |
| Time | <p>サンプル注入時間を入れる（5～40 秒を推奨）。</p> <p>未入力の場合はデフォルトのメソッド設定値が適用される。</p> <p>シグナルがポジティブな閾値より低い場合（28 ページの Positive threshold 参照）は、注入時間を増やしてシグナル強度を高くする。シグナルが飽和する場合は、サンプル注入時間を減らす。</p> |
| Runs | <p>実施する泳動回数を入れる（同一サンプルのリピート数など）。</p> |
| Inc. | <p>次のサンプル列を処理するためにこのオプションを選ぶ（例；“Pos:A; Runs:8; Inc.:チェック”を選択した場合、A 列で始め B に続き、H で終了する）。</p> |
| Chan. | <p>収集とディスプレイの必要なデータのチャンネルをチェックする。チャンネルが選択されていない場合でもデータは収集されるが、解析中にディスプレイされない。</p> |
| Insert | <p>クリックすると“sequence”表に選択された行の上に行挿入される。これにより 96 ウェルプレートを使用してもサンプルの各行で複数のメソッドを実施できる。</p> |
| Open | <p>シークエンスファイルを開く。シークエンスファイルは、以前使用し保存されていたメソッドである。</p> |
| Save | <p>シークエンスファイルとして一連のメソッドを保存する。</p> |
| Run | <p>選択したメソッドに従って、QIAxcel にアプライしたサンプルの解析を開始する。</p> <p>泳動が開始すると、カートリッジは自動的に Latch（固定）される。</p> |
| Stop | <p>サンプル解析を停止する。解析は再開できない。</p> |
| Adjust separation time | <p>泳動前あるいは泳動中に、電気泳動時間（Separation time）を増加／減少する。</p> |
| Sample Info | <p>サンプル情報は、以前作成したサンプル表（*.csv フォーマット）からインポートするか、マニュアルで入力する。詳細は 13 ページを参照。</p> |
| Notes | <p>各シークエンスでディスプレイ／印刷したい注釈をいれる。</p> |
| Print | <p>シークエンス表を印刷する。</p> |

| | |
|--|---|
| Sound | 電気泳動が完了したら音あるいは音楽を流すための*.mp3 ファイルを選択する。実行するボックスにチェックを入れる。 |
| Method directory | メソッドを保存しているコンピューターのハードドライブ上のファイルのパスをディスプレイする。 ディレクトリを変更するためには、“...”をクリックする。 |
| Local data directory | 泳動中に収集されたデータを保存するために、ローカルドライブのファイルパスを選ぶ。 ディレクトリを変更するためには、“...”をクリックする。 |
| Network data directory | 泳動中に収集されたデータを保存するための、ネットワークドライブのファイルパスを選ぶ。ネットワークに保存する際は、ローカルデータディレクトリも選ぶ。 ディレクトリを変更するためには、“...”をクリックする。 |
| User ID | ユーザー名あるいはユーザーIDを入れる。 選んだデータディレクトリにサブフォルダが自動的に作成される。 |
| Plate ID | プレート ID を入れる。 選んだデータディレクトリにサブフォルダが自動的に作成される。ユーザー名を入れると Plate ID フォルダが User ID フォルダの中に作成される。 |
| Cartridge ID | 現在使用中のカートリッジのシリアルナンバーとキャリブレーションの実施状況を表示する。 |
| Create gel image at start of acquisition | 選択したチャンネルのデータを泳動中に“Gel Image”画面で表示するために、このボックスにチェックを入れる。 |
| Automatically analyze after data acquisition | 泳動が完了後データ解析を自動的に始める場合、このボックスにチェックを入れる。 |
| Autoscale time axis during acquisition | データ収集中に各画面を自動で拡大／縮小する場合は、このボックスにチェックを入れる。 |
| Include reference marker table | 作成あるいは読み込んだリファレンスマーカーテーブルを、個々のデータファイルに保存する場合は、このボックスにチェックを入れる。 データファイルを開いた時に、使用したリファレンスマーカーテーブルが自動的に表示される。詳細は QIAxcel キットに添付のハンドブック（日本語版プロトコールとトラブルシューティングあり）に記載されている。 |
| Markers | 個々のデータファイルと共に使用・保存される特定のリファレンスマーカーを読み込むために、クリックする。詳細は QIAxcel キットに添付のハンドブック（日本語版プロトコールとトラブルシューティングあり）に記載されている。 |

“Method” タブ

“Instrument Control” 画面にあるこのタブは、メソッドを構成する個々のステップについて情報を表示したり、メソッドを編集するために使用します。さらに、このタブでメソッド・パラメーターの変更が可能です。

“Instrument Control” 画面で “Method” タブを選択



Method Name “Sequence” タブで選択したメソッドが入ったフォルダのファイルパスを表示。

Action メソッド中に QIAxcel が実施する個々のステップをリストする。

Value 個々の action の電圧を kV で表示する。

Duration 各ステップの時間（秒）を表示。

Position action が実施されているときのバッファートレイ/サンプルプレートホルダーの位置を表示。

Insert クリックすると action がメソッドに挿入される（QIAGEN Instrument Service スタッフのみ使用可能）。

選択された action の上に新しい action が挿入される。

Delete マークされている action を削除する（QIAGEN Instrument Service スタッフのみ使用可能）。

| | |
|------|--|
| Open | メソッドを開く。 |
| Save | メソッドを保存する（QIAGEN Instrument Service スタッフのみ使用可能）。 |

Buttons



| | |
|---------------|--|
| Cart Latch | Gel Cartridge を QIAxcel 内部に固定する。 注： 泳動が開始すると、カートリッジは自動的に固定されます。 |
| Cart Unlatch | Gel Cartridge の固定を解除して、QIAxcel から Gel Cartridge を取り出す。 |
| Park | Cartridge をバッファートレイ内の WP の位置に移動させる。必要なバッファーを含むバッファートレイがバッファートレイホルダーに挿入されてから、Park を行なう。 |
| Change Buffer | バッファーとマーカ交換の際に、バッファートレイを装置前方に移動する。 |

“Status Panel”

“Status Panel” は “Instrument Control” 画面の一番下にあり、QIAxcel 本体の状態を表示します。

| | | | | | |
|------------|------------|-----------|-----------|---------|--------------|
| Idle | | | | | COM |
| SD: Closed | CD: Closed | Pres1: OK | Pres2: OK | Latched | Runs left: 0 |

| | |
|----------------|---|
| Idle | システムが泳動可能な状態にある。 |
| SD | Sample Door が “Closed”（閉じている）、あるいは “Open”（開いている）。 |
| CD | Cartridge Door が “Closed”（閉じている）あるいは “Open”（開いている）。 |
| Pres1 | 窒素ガス圧：“OK” は、サンプル泳動に十分な窒素があることを示す。“LOW” の場合は、窒素が現在のサンプル泳動を行なうには十分であるが、泳動が終了したら N ₂ Cylinder を取り替える（英語版 Section 7.2.2 を参照）。 |
| Pres2 | 窒素ガス圧：“OK” は、サンプル泳動に十分な圧力があることを示す。“LOW” を示す場合は、窒素ガス圧が現在のサンプル泳動を行なうのに十分ではないので、解析を行なえない。英語版 Section 7.2.2 に従って N ₂ Cylinder を交換する。 |
| Latch/Unlatch | QIAxcel Gel Cartridge の固定状況（例；[Latch]は固定、[Unlatch]は固定解除）。 |
| Runs left | 現在挿入されている QIAxcel Gel Cartridge のラン残数。 |
| COM/ NO COM | QIAxcel 装置とコンピューターの接続状況（例；[COM]は接続、[NO COM]は切断）。 |

“File” メニュー

| | |
|-----------------------|---|
| Settings | “Settings” ダイアログボックスを表示する。 詳細は以下の “Settings” ダイアログボックスを参照。 |
| Detector Test | 12 チャンネルすべてに対して 1 秒間の検出器テストを行なう。 新しい Cartridge で、1 つ以上のチャンネルにおいてデータシグナルの検出がされず、ベースラインが平坦な場合、この検出器テストを行なう。 出力ファイル (detector.asc) を作成し、main directory (C:/Program Files/BioCalculator) に保存する。 |
| Intensity Calibration | QIAxcel Gel Cartridge のキャリブレーションを行なう。カートリッジのキャリブレーションは、そのカートリッジを初めて使用する前に必要。 詳細は 13 ページの 5.4 を参照。 |
| Autostart | BioCalculator ソフトウェアを立ち上げた時、“Instrument Control” 画面を自動的に表示する。 |
| Version | ソフトウェアとファームウェアのバージョンを表示する。 |

“Settings” ダイアログボックス

“Settings” ダイアログボックスは出荷時にセット済みの様々なパラメーターを表示します。これらの設定を変更する場合は事前に弊社テクニカルサポートにご相談ください。

| | |
|---------------|--|
| Comm. port | USB シリアルポート接続アダプターを用いてノートパソコンを使用する場合は、computer port を適切なポートに設定しなければならない。 Microsoft Windows のデバイスマネージャーのプロパティを確認して、適切なポートを探す。 |
| Rise time (s) | Rise time (データ収集時間) を増やすとバックグラウンド/ベースラインのノイズが減るが、分離能が下がり、ピーク幅が広がる。 Rise time (データ収集時間) を減らすと分離能が上がり、鋭いピークが得られるが、バックグラウンド/ベースラインのノイズが増加する。 デフォルト設定は 0.3 秒。 |
| Positions | これは transport setting を表示する。これらの設定はロックされ、変更はできない。 |
| Purge | このボタンは N ₂ cylinder を取り外す前に、N ₂ cylinder から残存圧力を放出する。ページは 3 分間行なわれる。ページが終了してから、N ₂ cylinder を取り除く。取り外しに関しては英語版 Section 7.2.2 を参照。 ページ機能は、古い Gel Cartridge の洗浄にも使用可能 (英語版 C-11 ページの Appendix C 参照)。 |
| Filter Check | Purge filter の目詰まりやコンタミをルーチンでチェックする。 |
| Leak Check | システム内の窒素漏れをルーチンでチェックする。 |

サンプル情報の入力

サンプル情報は、以前作成したサンプル表 (*.csv フォーマット) からインポートするか、マニュアルで入力します。

1. “Instrument Control” 画面の “Sequence” タブにある “Sample Info” をクリックする。“Sample Information” ダイアログボックスが表示される。このダイアログボックスは標準のマイクロプレート・フォーマットに従ってラベルされた表を表示する。行は A~H として、列は 1~12 として表示されている。
2. サンプル詳細はマニュアルで入力するか、または “Open” ボタンを用いて以前作成し保存したサンプル表からサンプル情報をインポートする。*.csv (comma separated value) フォーマットのデータをインポートする。

注：Microsoft Excel®を使用する際は、行と列の表示が BioCalculator sample information table と逆になります。Microsoft Excel で作成した表を *.csv ファイルとして保存します。BioCalculator ソフトは *.xls ファイルを認識しません。

5.4 カートリッジのインテンシティ・キャリブレーションの実施

新しいカートリッジは、サンプル解析を行なう前にインテンシティ・キャリブレーションが必要です。各キャピラリーのインテンシティは標準化され、次の泳動から反映されます。これは、インテンシティの読み取りの際に生じるカートリッジの各キャピラリー間のばらつきを補正します。各カートリッジのインテンシティ・キャリブレーションのデータは **calibration.log** と呼ばれるシングルファイルに保存されます。このファイルは BioCalculator root directory (**C:/Program Files/QIAxcelBioCalculator**) に保存されます。もし calibration.log ファイルの入ったコンピューターとは異なるコンピューターを使用する場合は、ファイルを新しいコンピューターに移します。あるいはカートリッジの再キャリブレーションが必要です。同様に、QIAxcel Gel Cartridge をキャリブレーションずみの QIAxcel 装置とは異なる装置で使用する場合、もう一度インテンシティ・キャリブレーションを行ないます。

Calibration wizardの実施

注：キャリブレーションに必要なトータル時間は約 16 分です。

1. “Instrument Control” 画面の “File/Intensity Calibration” を選んで calibration wizard を立ち上げる。
2. “Start” をクリックして Cartridge のインテンシティ・キャリブレーションを始める。
3. キャリブレーションが完了すると、“Calibration Verification” ダイアログボックスが開く。各チャンネルの “Pass” あるいは “Fail” を表示する。

注：キャリブレーションを行なった後のカートリッジは、標準化面積が 0.004~0.006 の範囲内に収まっている必要があります。

4. 1 個以上のチャンネルで標準化面積が範囲内に収まっていない場合は、インテンシティ・キャリブレーションを再度行なう。

注：再キャリブレーションの際には、新しく QX Intensity Calibration Marker 15 μ l を分注しなおし、使用してください。

カートリッジ・インテンシティの再キャリブレーション

1. 6 ページ、ステップ7にあるように QX Intensity Calibration Marker をバッファートレイ上にアプライする。
2. “Instrument Control” 画面の “File/Intensity Calibration” を選んで calibration wizard を立ち上げる。
3. “Recalibrate”、次に “Start” をクリックしてルーチンのキャリブレーションを始める。

5.5 メソッド (Method) の選択

各 QIAxcel Kit 用に多数のデフォルトのメソッドを用意しています。装置にカートリッジを取り付けた時、使用できるメソッドはそのカートリッジ・タイプに対応したもののみです。

注：お客さま独自のメソッドを作成する場合は、弊社テクニカルサポートにお問い合わせください。

各メソッド名は、使用する QIAxcel Kit/QIAxcel Gel Cartridge の情報、サンプル注入時間と電圧、電気泳動時間と電圧を示しています（図 5 参照）。

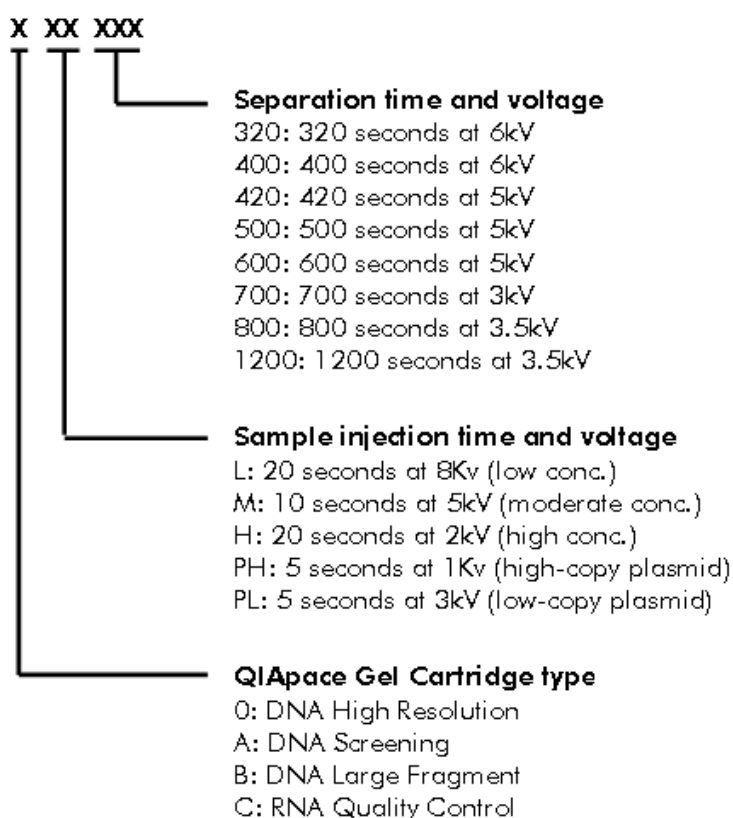


図 5. Method 名の付け方

各 QIAxcel Gel Cartridge で入手可能なメソッドのリスト、フラグメントサイズや解像度に関する情報は Appendix C（英語版 C-1 ページ）をご覧ください。

5.6 メソッド (Method) の稼動


QIAxcel にはデフォルトの Method がインストール済みです。QIAxcel Kit に添付のハンドブック（日本語版プロトコールとトラブルシューティングあり）あるいは Appendix C（英語版 C-1 ページ）を参照にして、最適なメソッドを決めてください。

実験開始前の準備事項

- QIAxcel Kit に入っている Handbook をよくお読みください。
- 使用する試薬および QX Alignment Marker を準備します。機器の使用に関しては、5 ページの“5.2 QIAxcel のセットアップ”、あるいは QIAxcel Kit ハンドブック（日本語版プロトコールとトラブルシューティングあり）をご覧ください。

注：サイズ測定には QX Alignment Marker が必要です。

- サンプルを準備します。機器の使用に関しては、5 章あるいは QIAxcel Kit に添付のハンドブック（日本語版プロトコールとトラブルシューティングあり）をご覧ください。最適な結果を得るためには、サンプル溶液は pH が 6~9 になるように調整し、イオン濃度は一般的な PCR バッファーより低くします。

| | |
|--|---|
| 注意  | カートリッジ損傷の危険 [C4] サンプル数が 12 未満の場合、空のサンプルウェルに QX DNA または RNA Dilution Buffer を充填します。空のウェルのままで泳動を行なうとキャピラリー・チャンネルが特に損傷することがあります。 |
|--|---|

- DNA サンプルのみ：サンプルの泳動を始める前に DNA サイズマーカー・リファレンステーブルを作成します。機器の使用に関しては、QIAxcel Kit ハンドブック（日本語版プロトコールとトラブルシューティングあり）をご覧ください。

重要：サイズマーカー・リファレンステーブルがないと、自動解析機能が作動しません。

操作手順

1. QIAxcel システムの電源を入れる。
装置は自動的に初期化テストを行なう。
2. コンピューターの電源を入れ、BioCalculator ソフトを立ち上げる。“Instrument Control”画面が表示される。
3. 6 ページの“QIAxcel Gel Cartridge と smart key の取り付け”に記載されているように、使用する QIAxcel Gel Cartridge をインストールする。
4. 5 ページの“バッファートレイの準備”に記載されているように、QX Alignment Marker の入ったバッファートレイをバッファートレイホルダーに入れる。
5. Sample strips は A の位置に、96 ウェルプレートはサンプルプレートホルダーに置く。
6. Method options からメソッドを選択する。デフォルト・メソッドの詳細は Appendix C（英語版 C-1 ページ）を参照。
7. サンプル名、サンプルのプレート位置、電気泳動回数を“Instrument Control”画面で入力する。
8. “Time”欄でサンプル注入時間の設定をする（最低：5 秒、最大：40 秒）。未入力の場合は初期設定値が適用される。
9. 同じ列のサンプルのマルチプレックス解析を行なうために、“Run”に泳動の実施（反復）回数を入力する。96 ウェルプレートで実行する場合は“Inc”にチェックを入れ、“Run”に 8 を入力する。
注：同じメソッドと注入時間がすべてのランに適用されます。列ごとに異なるメソッドを使用できます（詳細は 8 ページの Inc を参照）。
10. データが保存される場所を data directory で指定する。
注：オプションで User ID と Plate ID を入力するとデータディレクトリの下にサブフォルダが作成されます。

11. “Sample Info” をクリックして個々のウェルのサンプル情報を入力する。またスプレッドシートに既にセットアップされているサンプル情報は、*.csv ファイル形式でインポートすることができる。

12. 使用するチャンネルを有効にする（数個のサンプルしか泳動しない場合は、使用するチャンネルのみ有効にする）。

注：未使用のウェルには QX DNA あるいは RNA Dilution Buffer を入れて、チャンネルへの損傷を防ぎます。水を使用しないでください。チャンネルの損傷を招く可能性があります。

13. “Create gel image window at start of acquisition” にチェックを入れる。

14. “Automatically analyze after data acquisition” にチェックを入れる。

15. “Include reference marker table” にチェックを入れる。

16. “Marker” ボタンをクリックして “Reference Markers” ダイアログボックスを開く。

DNA サンプル： “Size/conc.”（DNA フラグメントサイズと濃度を測定）あるいは “Conc.”（DNA フラグメント濃度を測定）をプルダウンメニューから選ぶ。 “Size/conc.” を選ぶ場合は、必要な DNA リファレンスマーカーを開く。DNA リファレンスマーカーテーブルを作成するために使用したメソッドと同じメソッドをサンプル解析に使用する。

RNA サンプル：プルダウンメニューから “Conc.” を選ぶ（詳細は QIAxcel RNA Handbook を参照）

17. “Status Panel” で QIAxcel システムのステータスをチェックする。Cartridge Door (CD) と Sample Door (SD) を閉じる。

18. “Run” をクリックして泳動を始める。

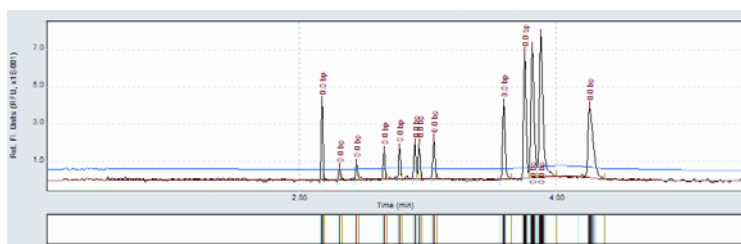
“Instrument Control” 画面で “sound” が設定されている場合、泳動が終了すると QIAxcel が *.mp3 ファイルの音で知らせます。

5.7 データ収集

“Instrument Control” 画面で正しい設定（9 ページ； Create gel image at start of acquisition）を入れると、データ収集の始めに “Gel Image” 画像が現れます。個々のサンプルはそれぞれエレクトロフェログラムおよびシングルのゲルイメージで表示されます。

すべての泳動データは、ローカルのデータディレクトリにサンプル名とともに保存されます。

エレクトロフェログラムとゲルイメージ



6 BioCalculator Software

BioCalculator ソフトウェアは QIAxcel システム用に開発されたユーザーフレンドリーなソフトで、簡便なデータ解析および迅速なデータ解釈を実現し、データ一覧は様々な形式で表示が可能です。結果はエレクトロフェログラムおよびゲルイメージフォーマット両方で表されます。

BioCalculator ソフトウェアは画期的なアルゴリズムを採用し、他のクロマトグラフ解析ソフトに比べて、電気泳動データをより正確に高い再現性で解析することが証明されています。ピークの数、高さ、幅、面積などピークの様々な特性を計算します。

6.1 メニューバーコマンド

“File” メニュー

| | |
|--------------------|--|
| Instrument Control | “Instrument Control” 画面が表示される (Blue USB ソフトウェアキー使用時のみ)。 |
| Open | “Open” ダイアログボックスを立ち上げて、保存しているデータをインポートする。 “Open data only” オプションでは、一緒に保存されているパラメーターはインポートされない。 |
| Close | 現在開いているウインドウ、ドキュメント、フォルダを閉じる。 |
| Save | 現在のファイル名でデータファイルを保存する。古いバージョンは上書き保存される。 |
| Save As | ユーザーが指定したディレクトリとファイル名でデータファイルを保存。ファイルは 3 種類のフォーマットで保存可能: BioCalculator Data file (*.hda または*.hff)、複数列 ASCII ファイル、あるいは Result ファイル。 注: ASCII ファイルには、生データおよびオプションで index、時間、ベースライン値を含めることが可能。Result ファイルは、ドキュメントテーブルからのピークテーブルを含む ASCII ファイルである。 |
| Copy | 現在アクティブなドキュメントを新しいドキュメントウインドウにコピーする。 |
| Find | ディレクトリあるいはオプションでサブディレクトリに保存されているデータファイルを検索する。 |
| Properties | 詳細なファイル情報を表示する。 |
| Page Setup | 印刷するドキュメントあるいはフォルダの書式を設定。 |
| Print Setup | ディスプレイ、印刷、保存する書式を設定する。 |
| Print Preview | 印刷するフォルダやドキュメントの印刷プレビューを表示。 |
| Print | ドキュメントあるいはフォルダを印刷。 |
| Export | 全てのデータファイルが閉じている場合、プレート・イメージを作成する。 |
| Exit | すべてのウインドウを閉じ、BioCalculator ソフトを終了する。 |

“Folder”メニュー

| | |
|---------------------|--|
| New | 新しいフォルダを作成。 |
| Save | フォルダデータファイルを現在のファイル名で保存する。古いバージョンは上書き保存される。 |
| Export | 現在のゲルイメージを JPEG 形式で保存する。 |
| Plate | 全 96 ウェルプレートの plate image/Result file を作成する。 |
| Close | 現在開いているウインドウフォルダを閉じる。 |
| Setup | フォルダのドキュメントを追加あるいは削除する。ドキュメントを動かして、表示順を変更することが可能。 |
| Alignment & Scaling | 重ね合わせた画面で、異なるドキュメントのスケールを相対的に拡大/縮小する。各データファイルは個々に時間軸とシグナル軸を拡大/縮小できる。 |
| Alignment | X 軸に対してスロープとオフセットを計算し、異なるすべてのドキュメントで時間上の 2 点を相互に関連付ける。 |

“Edit”メニュー

| | |
|------|--|
| Copy | 他のソフト・プログラムに転送するために、グラフと表をクリップボードにコピーする。 |
|------|--|

“View”メニュー

| | |
|--------------------|--|
| Scale | “Scale” ダイアログボックスが立ち上がり、ユーザーが XY 軸の表示範囲を指定し、XY 軸の名前の変更が可能。 |
| Auto scale | X 軸を変更せずに Y 軸のみを自動的に拡大/縮小する。 |
| Full scale | X 軸、Y 軸ともに自動的に拡大/縮小する。 |
| Invert | ゲルイメージのコントラストを反転させる。 |
| Contrast | ゲルイメージのコントラストをユーザーが変更する。 |
| Individual scaling | 個々のゲルイメージ画面のコントラストを自動調整する。 |
| Filebar | ウインドウ内で開いているデータファイルをすべて表示する。 |

“Analysis”メニュー

| | |
|---------------|--|
| Run | 設定したパラメーターを用いてゲルイメージフォルダのデータを解析する。 |
| Abort | 解析を停止する。 |
| Reprocess | 変更したパラメーターを用いて、ゲルイメージフォルダのデータをアップデートする。 |
| Clear Results | 1 個のチャンネルからのデータを選択している場合は、解析結果をリセットし、生データのベースラインと同じにする。 Folder View : Folder — アライメント結果をリセットする。 All documents — フォルダにある解析結果をリセットする。 |

| | |
|-------------------|---|
| Parameters | “Parameter setup” ダイアログボックスを開いて、パラメーターの設定を変更してから、データ解析を開始する（詳細は 27 ページの“データ解析”を参照）。 |
| Reference Markers | “Reference Marker” ダイアログボックスを開いて、リファレンスマーカーの情報を入力したり、既存のリファレンスマーカー・データをアップロードする。 |
| Settings | “Analysis Settings” ダイアログボックスを開き、データ解析後に自動的に行なわれる作業を設定する（解析直後にデータを印刷および保存するなど）。 |

“Window” メニュー

| | |
|-------------------|---|
| Cascade | 開いているすべてのウインドウを重ねて表示。 |
| Tile Horizontally | 開いているすべてのウインドウを横に並べて表示。 |
| Tile Vertically | 開いているすべてのウインドウを縦に並べて表示。 |
| Arrange Icons | メインウインドウの下の最小化されたウインドウのアイコンを配列する。メインウインドウの下部に開いたウインドウがある場合、このウインドウの下に隠れてアイコンが見えないことがある。 |
| Split | グラフとゲルイメージ画面の表示分割位置を調節する。 |
| Close all | 開いているすべてのウインドウを閉じる。 |
| File Names | ファイル名をクリックすると最小化されているファイルウインドウは最大化され、他のファイルよりも前面で表示される。 |

“Help” メニュー

| | |
|---------------------|---|
| Help Topics | ヘルプファイルを表示する。 |
| About BioCalculator | バージョンナンバーを含む BioCalculator に関する情報を表示する。 |

6.2 印刷手順

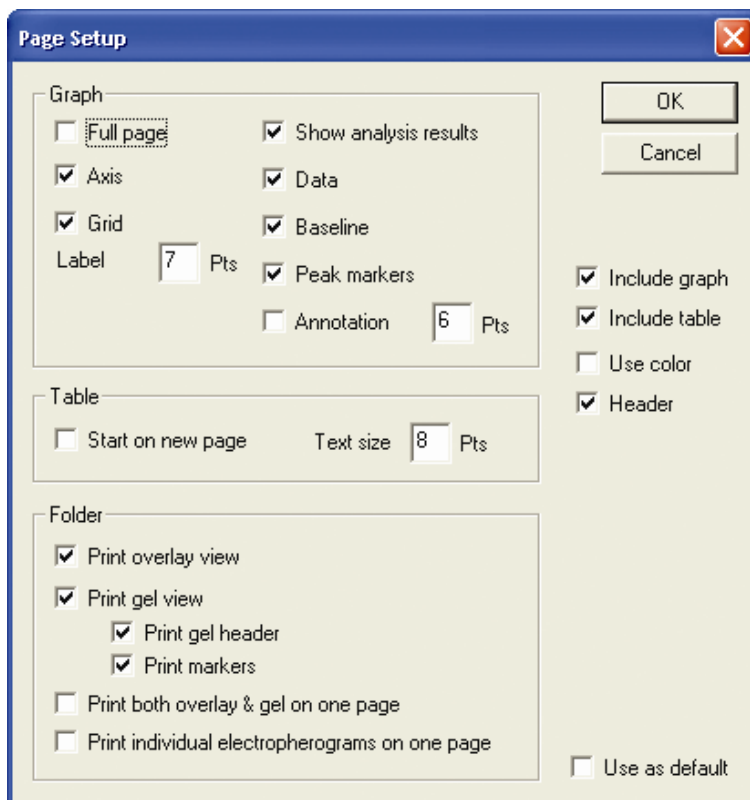
6.2.1 ページ設定

BioCalculator メニューバーの“File/Page Setup”をクリックして“Page Setup”ダイアログボックスを開きます。アクティブなウインドウを印刷する際に、このダイアログボックスで印刷様式を変更します。

注：“Page Setup”ダイアログボックスでは、“Plate Image & Result File Creator”ダイアログボックスで作成した Result の印刷プロパティは変更できません（19 ページの 6.7.2 参照）。

注：“Print Preview”機能（BioCalculator メニューバーの“File”からアクセス可能）で、変更が反映されたかどうかを印刷せずに確認できます。

“Page Setup” ダイアログボックス



| | |
|----------------|--|
| Include graph | レポートにエレクトロフェログラムを入れる。 |
| Include table | レポートにデータテーブルを入れる。 |
| Use color | カラー出力が可能になる。 |
| Header | ページの上部にファイル名、日付け、ユーザー、備考などを含むヘッダーが印刷される。エレクトロフェログラムが適宜拡大／縮小される。 |
| Use as default | これにチェックを入れると、現在の設定が保存され初期設定値になる。BioCalculator を終了し再び立ち上げた時に、これらのデフォルト設定が自動的に行なわれる。 |

“Graph” パネル

| | |
|-----------|--|
| Full page | 選択すると最初のページ全体にエレクトロフェログラムが印刷される。選択しない場合、ページの上半分だけにエレクトロフェログラムが印刷される。 |
| Axis | 軸ラベルがグラフに印刷される。 |
| Grid | グリッドがグラフに印刷される。 |
| Label | 軸ラベルのフォントサイズを設定する。 |

| | |
|-----------------------|--|
| Show analysis Results | これが有効で、解析結果が得られる場合、グラフ上にベースラインとピークマーカ（始点、頂点、終点）が印刷される。document view（個々のチャンネルで右クリック）で“Draw full baseline”を有効にすると、完全なベースラインと Threshold が印刷される。このオプションを無効にすると、検出されたピークの下にあるベースラインの一部のみが印刷される。 |
| Data | データがグラフ上に印刷される。 |
| Baseline | ベースラインがグラフ上に印刷される。 注： “Show analysis Results”が有効になっている場合のみ、ベースラインが印刷される。 |
| Peak markers | ピークマーカがグラフ上に印刷される。 注： “Show analysis Results”が有効になっている場合のみ、ピークマーカが印刷される。 |
| Annotation | コメントがグラフ上に印刷される。コメントのタイプ（時間/X 軸や名称）を設定するには“Document graph view”のプロパティを使用する。 軸ラベルのフォントサイズを設定する。 注： “Show analysis Results”が有効になっている場合のみ、コメントが印刷される。 |

“Table” パネル

| | |
|-------------------|---|
| Start on new page | これを選択すると、グラフが最初のページの上半分を占めている場合でも、新規ページに Result テーブルが印刷される。 |
| Text size | Result テーブルのフォントサイズを設定する。 |

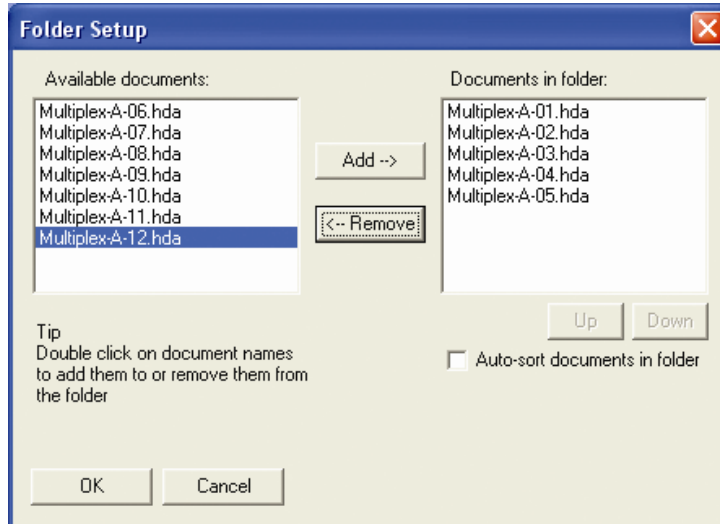
“Folder” パネル

| | |
|--|---|
| Print overlay view | フォルダウィンドウのエレクトロフェログラムが印刷される。 |
| Print gel view | フォルダウィンドウのゲルイメージが印刷される。 |
| Print both overlay and gel on one page | フォルダウィンドウのエレクトロフェログラムとゲルイメージが同じページに印刷される。 |
| Print individual electropherograms on one page | フォルダのすべてのエレクトロフェログラムとゲルイメージが並べて印刷される。 |

6.3 フォルダ設定

BioCalculator メニューバーで“Folder”と次に“New”を選択して新しいフォルダを作成した場合、これにはドキュメントが含まれていません。ドキュメントの選択や削除には、新しいフォルダウィンドウを選び、BioCalculator メニューバーで“Folder/Setup”を選択します。

“Folder Setup” ダイアログボックス



注：30 個までのドキュメントを同時に開くことが可能ですが、それ以上開くと、パソコンのスペックによってはソフトが不安定になることがあります。

フォルダのドキュメントの追加／削除

フォルダにドキュメントを追加する場合は、“Available documents”のドキュメント名をダブルクリックするか、ドキュメント名を選んで“Add”ボタンをクリックします。

フォルダからドキュメントを削除する場合は、“Documents in folder”のドキュメント名をダブルクリックするか、ドキュメント名を選んで“Remove”ボタンをクリックします。

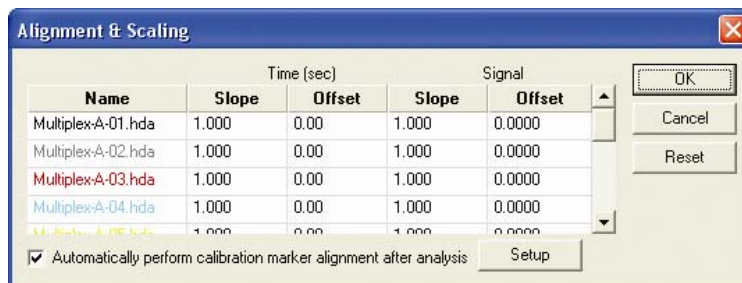
Auto-sort documents in folder

フォルダ中の全ドキュメントを昇順でソートします。

6.4 フォルダのアライメントおよびスケール調整

各データファイルは個々に時間とシグナル軸をスケール調整できます。アライメントとスケール調整は、BioCalculator メニューバーの“Folder/Alignment & Scaling”を選択すると表示される“Alignment & Scaling”ダイアログボックスで調節できます。

“Alignment & Scaling”ダイアログボックス



“Setup” ボタンによりアライメントの設定を変更することができます。ゲルイメージ画面における最初のドキュメントのマーカ泳動時間をアライメントの基準として使用することも、あるいはマニュアルで設定した泳動時間の絶対値をアライメントの基準として使用することもできます。

Alignment

BioCalculator メニューバーの“Folder/Alignment”を選択するとスロープとオフセット（時間/X 軸に対してのみ）を自動的に計算し、ゲルイメージあるいはエレクトロフェログラムのどちらかで得られた時間上の2点を関連付けます。この機能では、各ドキュメント上の2点をサイズの小さいほうから順に指定します。その後、BioCalculator ソフトが各ドキュメントのスロープとオフセットを自動的に計算し、Resulting overlay でこれらの2点を重ね合わせて表示します。

アライメント機能を選択すると、カーソルが上向き矢印に変わり、グラフ画面内でのみ動かすことができます。カーソルの色はトレースを行なうデータの色と一致します。

ファンクションキー

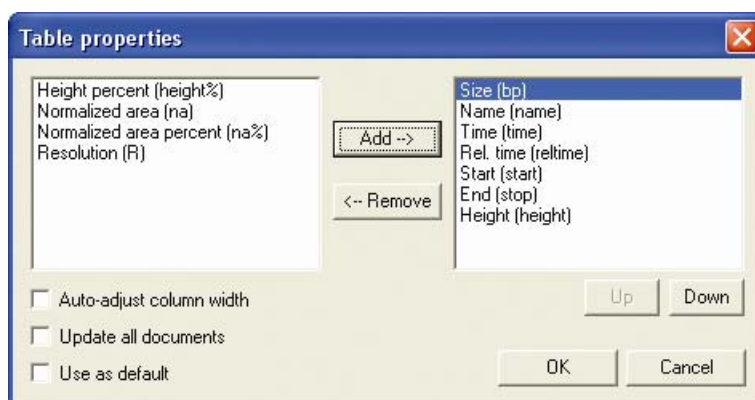
| | |
|-----------------------------|--|
| Left mouse button | マーカをセットする（2 マーカ／トレース） |
| Esc（Escape keyboard button） | アクティブなトレース用に指定した最後のマーカを削除、あるいはこのトレース上にマーカがない場合は関連するモードを終了する。 |
| Tab | トレース／ドキュメントを切り替える。 |
| Return | 指定したマーカを用いてアライメントが実行される。すべてのマーカを指定していないと、警告メッセージが表示される。 |

注：マーカの位置をさらに正確にするために、ズーム機能を使用します。もっともサイズが小さいマーカを最初にアライメントに用いてください。

6.5 表のプロパティ

Result テーブルを右クリックして立ち上がる “Table properties” ダイアログボックスにより、テーブルビューの変更を行なうことができます。

“Table properties” ダイアログボックス



列の追加／削除

Result テーブルの列を追加する場合は、左ボックスにある Result タイプをダブルクリックするか、Result タイプを選んで “Add” ボタンをクリックします。

Result テーブルの列を削除する場合は、右ボックスにある Result タイプをダブルクリックするか、Result タイプを選んで “Remove” ボタンをクリックします。

列の順序の変更

列の順序は、変更したい Result タイプを選んで、“Up” あるいは “Down” ボタンをクリックして、新しい位置に移動させることができます。

| | |
|--------------------------|---|
| Auto-adjust column width | “Auto-adjust column width” を選択すると、自動的にテーブルビューの列のサイズが変更する。 |
| Update all documents | “Update all documents” を選択すると、このテーブルビューのフォーマットが開いているすべてのドキュメントに適用される。 |
| Use as default | “Use as default” を選択すると、BioCalculator にインポートされるすべてのデータファイルに、このテーブルビュー・フォーマットがデフォルトとして使用される。 |

Result types

利用可能なResultタイプの一覧を下に示します。（ ）の中の文字は列のヘッダーに使用される略語です：

| | |
|--------------------------|----------------------|
| Name (name) | ピークの名前 |
| Time (time) | ピークが最大値に達したときの時間/X 値 |
| Start (start) | ピークが開始したときの時間/X 値 |
| End (stop) | ピークが終了したときの時間/X 値 |
| Height (height) | 最大値に達したときのピークの高さ |
| Height percent (height%) | 全シグナル強度の合計に対するシグナル強度 |

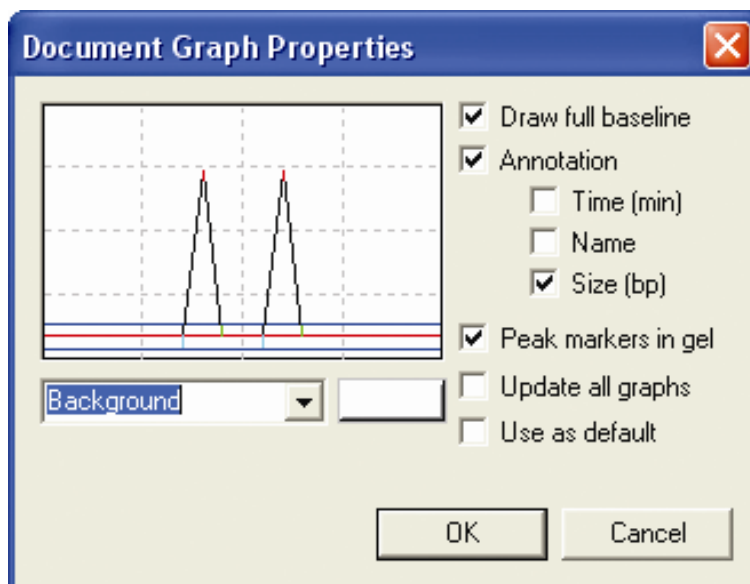
| | |
|-------------------------------|--------------------------------------|
| Normalized area (na) | 補正ピーク面積ともいう。これはピーク面積をピークの高さで割ったもの。 |
| Normalized area percent (na%) | 全補正ピーク面積の合計に対する補正ピーク面積の比率 |
| Resolution (R) | 前のピークに対する分離能。テーブルの最初のピークでは、ここが空欄になる。 |
| Size (bp) | フラグメントサイズ (bp) |
| Concentration (ng/μl) | サンプル溶液の濃度 |
| Rel. time (relTime) | ピークが最大値に達したときの相対時間/X 値 |

注：目的のピークにマウスでカーソルを合わせると、エレクトロフェログラム上で該当するピークの Result テーブルがハイライトで表示されます。

6.6 グラフのプロパティ

グラフのプロパティを変更するためには（例；背景色や表示色など）、各グラフあるいはフォルダグラフ上で右クリックして“Properties”を選択して“Document Graph Properties”を選ぶか、“Folder Graph Properties”ダイアログボックスをそれぞれ選びます。

“Document Graph Properties”ダイアログボックス



背景色と表示色の変更

変更したい項目をプルダウンメニューから選びます。それからプルダウンメニューの右側にある“Change color”（その項目の現在の色設定が表示されている）ボタンをクリックします。“Color”ダイアログボックスが開き、選択した項目で新しい色を選ぶことができます。

Draw full baseline

“Draw full baseline”を選択するとすべてのベースラインが表示されます。このオプションが選択されていない場合、検出したピークの下のみが表示されます。

Annotation

“Annotation”を選ぶと、“Time (min)”（XY データファイルでは X）、“Size (bp)”、“Name”のチェックボックスの設定により、時間（XY データファイルでは X 値）／名前／サイズにコメントを入れることができます。

Peak markers in gel

“Peak markers in gel”を選ぶと、ピーク開始と終了用に選んだ色がゲル画面上に表示されます。選んでいない場合は色が表示されません。

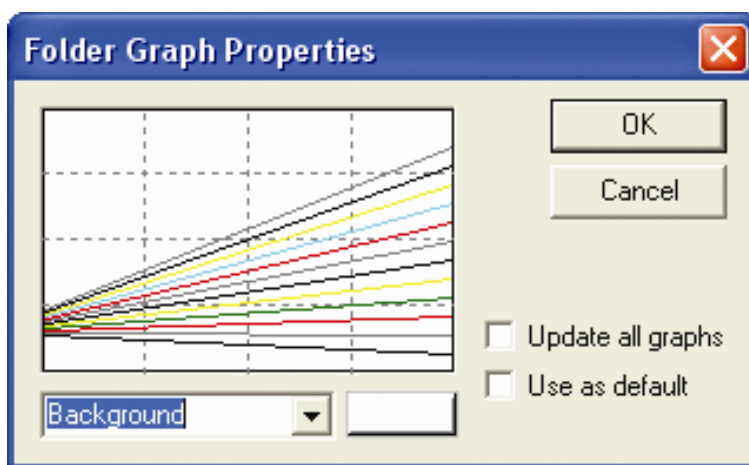
Update all graphs

“Update all graphs”を選択すると、現在開いている同一タイプ（ドキュメントおよびフォルダ）のグラフすべてにこの設定が適用されます。

Use as default

“Use as default”を選択すると、同一タイプ（ドキュメントおよびフォルダ）の新しいすべてのグラフにこの設定が初期設定値として適用されます。

“Folder Graph Properties”ダイアログボックス



背景色と表示色の変更

変更したい項目をプルダウンメニューから選びます。それからプルダウンメニューの右側にある“Change color”（その項目の現在の設定が表示されている）ボタンをクリックします。“Color”ダイアログボックスが開き、選択した項目で新しい色を選ぶことができます。

Update all graphs

“Update all graphs”を選択すると、同一タイプ（ドキュメントおよびフォルダ）で現在開いているすべてのグラフにこの設定が適用されます。

Use as default

“Use as default”を選択すると、同一タイプ（ドキュメントおよびフォルダ）の新しいすべてのグラフにこの設定が初期設定値として適用されます。

6.7 データ解析

6.7.1 パラメーターのセットアップ

BioCalculator メニューバーの“Analysis/Parameters”を選び、“Parameter setup”ダイアログボックスを立ち上げます。データ解析を行なう前に泳動パラメーターを変更できます。

“Parameter setup”ダイアログボックス

| Type | Time | Value |
|---------------------|------|-----------|
| Baseline Filter | 0.00 | 40.000000 |
| Pos. Threshold | 0.00 | 7.00% |
| Minimum Distance | 0.00 | 0.250000 |
| Suspend Integration | 0.00 | 0.50 |

テーブルは 3 列で構成されています。1 列目でパラメーターのタイプを選択します。2 列目はこのパラメーターの新しい値が電気泳動で実行されるタイムポイントに対応する時間（XY データファイルの X 値）を入力します。3 列目にはパラメーターの値を入れます。

Baseline Filter

Value = Filter size in seconds or points for XY data

ベースライン構築アルゴリズムで使用されている改変メディアンフィルターのフィルターサイズをセットします。メディアンフィルターサイズの初期設定値は、DNA 解析では 40 です。フィルターサイズを増やすとピーク面積は増加、フィルターサイズを減らすとピーク面積は減少します。

BioCalculator ソフトの“Help”メニューにはアルゴリズムに関して詳細に記載されています。

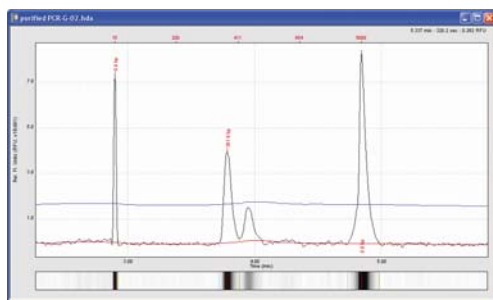
Positive threshold

Positive threshold は検出されなければならないピークの高さです。これはエレクトロフェログラムの最も高いピークを基準にして計算されます。例えば、エレクトロフェログラムの最も高いピークを、ベースラインから 100%となるようにします。Threshold を最も高いピークの半分にする場合は 50%になり、この値より高いピークはすべて検出されますが、これ以下のピークは検出されません。

この値を設定するには 2 通りの方法があります：

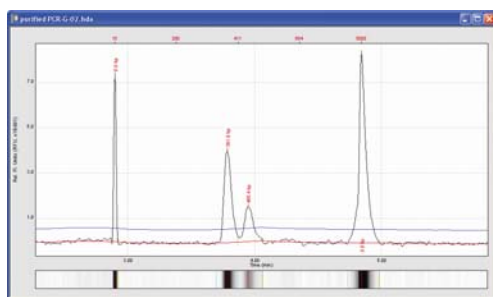
シグナル強度の絶対値 (AU)、あるいは最も高いピークを 100%としたときのパーセンテージ (%FS) で、この値はデータファイルごとに異なります。%FS 値を入力するために、数値の後ろに必ず“%”を、AU 値を入力するために、数値の後ろに必ず“A”を入れます。

15% positive threshold



← Threshold

7% positive threshold



← Threshold

Minimal distance

Value = Distance (seconds)

Minimal cluster distance は、2 個のピーク間あるいはピーク群の最小距離として表されます。2 個のピーク間距離が Minimal cluster distance より短い場合、BioCalculator はこの 2 つを別のピークとして検出しません。2 つのピークの距離は、ピーク 1 の右スロープ（下降部分）が Minimal peak height Threshold と交差する点と、ピーク 2 の左スロープ（上昇部分）がこの Threshold と再び交差する点の距離を示します。この Minimal cluster distance はピークテーリングにより 1 個のピークを複数個のピークとして検出することを回

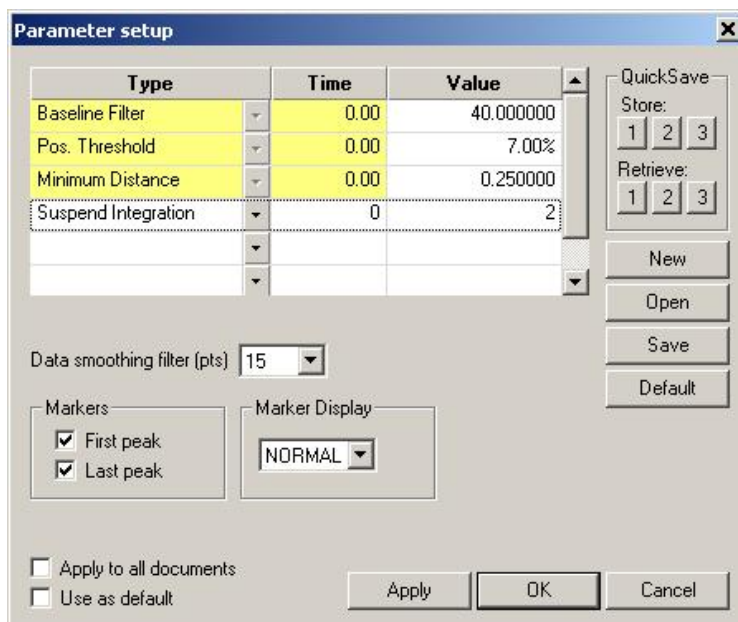
避するための重要なパラメーターです。例えば、ピークテリングで Threshold より低いシグナルを除外する操作を行わない場合、ノイズのスパイクの高さが Minimal peak height threshold を数回超えることとなります。Minimal cluster distance value をノイズのスパイク間の距離よりも長く設定することにより、これらノイズのピーク検出をすべて回避することができます。

Suspend Integration

“Suspend Integration” 機能を設定すると、指定したデータ区間（時間）においてデータ収集を行いません。これにより最終データでノイズピークの検出を回避することができます。初期設定は 0~0.5 分です。これは 0.5 分前に観察されたピークはすべて最終データで排除されることを意味します。

例えば、0~2 分の間でデータ収集を行わない場合は、“Time” 列に “0”、“Value” 列に “2” を入れます。すなわち 0 時点から 2 分間、データ収集が停止します。

“Parameter setup” ダイアログボックス



“Suspend Integration” を追加することが可能です。まず “Suspend Integration” に入力した後、“Parameter set up” table の次の空欄でプルダウンメニューから Suspend Integration を選びます。上記のようにデータ収集を行わない時間を入力します。

“QuickSave” パネル

- | | |
|----------|--|
| Store | ボタン “1”、“2”、“3” をクリックすると、それぞれ異なるパラメーター設定を最高 3 つまで保存する。 |
| Retrieve | ボタン “1”、“2”、“3” をクリックすると、既に保存されているパラメーターを呼び出すことができる。 |

“Markers” パネル

| | |
|---|--|
| “First peak” と “Last Peak” にチェックを入れる。 | 最初と最後のピークを用いて、“Gel Image” 画面で泳動時間の補正が行なわれる。Result テーブルで最初と最後のピークともにサイズ (bp) が “0” と表示される。 |
| “First peak” にチェックなし、“Last Peak” のみにチェック。 | 最後のピークのみを用いて、“Gel Image” 画面で泳動時間の補正が行なわれる。Result テーブルで最後のピークのサイズ (bp) が “0” と表示される。 |
| “First peak” と “Last Peak” にチェックが入っていない。 | “Gel Image” 画面で泳動時間の補正が行なわれない。リファレンスマーカーテーブルに従って、Result テーブルで最後のピークのサイズ (bp) が “0” と表示される。 |

“Marker Display” パネル

| | |
|--------|--|
| Normal | ゲルイメージとエレクトロフェログラムで “First peak” と “Last Peak” マーカーが表示される。 |
| Hide | ゲルイメージとエレクトロフェログラムで “First peak” と “Last Peak” マーカーを表示しない。 |
| Color | ゲルイメージとエレクトロフェログラムで “First peak” と “Last Peak” マーカーが色づけされる。ユーザーが色を選ぶことが可能。 |

Buttons

| | |
|---------|--|
| New | すべての解析パラメーターの値を初期設定値に戻す。 |
| Open | すでに保存している解析パラメーター (ANA) ファイルを開く。“Analysis Parameter” ダイアログボックス中のパラメーターはすべて自動的にアップデートされる。 |
| Save | 現在の解析パラメーターを ANA ファイルとして保存する。 |
| Default | インストール時に使用された最初の値を使用する。 |

Data smoothing

エレクトロフェログラムなどのデータファイルでは、目的のピークの S/N (signal-to-noise) 比が低下することがよく観察されます。BioCalculator ソフトの Data Smoothing filter (pts) は、適宜フィルターを調節することにより、S/N 比をあげることができます (Data Smoothing filter の初期設定値は 15 pts)。

注： Data Smoothing filter (pts) を増やし、データポイントを減らすと、滑らかなデータが得られますが、分離能が低くなります。例えば、2 つの接近したピークが分離できない場合は、“Data smoothing filter (pts)” を “OFF” にセットすると、高い分離能が得られます。

6.7.2 レポート作製

データは JPEG（ゲルイメージ）あるいは Microsoft Excel フォーマットでエクスポートされます。

1. BioCalculator メニューバーの“File”をクリックした後、“Export”をクリックして“Plate Image & Result File Creator”ダイアログボックスを開く。

注：すべてのデータファイルを閉じてから、エクスポート機能を使用します。

2. “Plate Directory” に、データがエクスポートされるファイルを指定する。
3. “Image/Result File Name” で、image/Results ファイルを保存するファイル名を作成するか指定する。
4. “Files to Process” 内でエクスポート用のファイルを選択する（最高 96 個）。

注：“Use these integration parameters” ボックスにチェックを入れていない場合は、保存されている integration parameters を用いてデータが処理されます。ボックスにチェックが入っている場合は、“Params” ボタンをクリックしてユーザーが編集したパラメーターに従って全データが処理されます。

注：“Use this Reference Marker table” ボックスにチェックを入れていない場合は、ファイルと一緒に保存されているリファレンスマーカーテーブルを用いてデータファイルが処理されます。リファレンスマーカーテーブルが保存されていない場合は、リファレンスマーカーは使用されません。ボックスにチェックが入っている場合は、“Markers” ボタンをクリックしてユーザーが編集したカスタム・リファレンスマーカーテーブルに従って全データが処理されます。

5. “Property” パネルで、エクスポートされた Microsoft Excel ファイルで表示したい領域を選択する。
6. “Image Format” パネルでは、表示したいゲルイメージのフォーマットを選択し（下を参照）、“Process” をクリックする。エクスポートしたファイルを見るために“Image/Result File Name” で指定したディレクトリを確認する。

“Image Format” パネル

■ Layout

| | |
|---|--|
|  | ゲルイメージが最初の列の A1-A12 を、次に 2 列目の B1-B12... と続く。 |
|  | ゲルイメージが最初の列の H1-H12 を、次に 2 列目の G1-G12... と続く。 |
|  | ゲルイメージが最初の列の H1-A1 を、次に 2 列目の H2-A2... と続く。 |
|  | ゲルイメージが最初の列の A1-H1 を、次に 2 列目の A2-H2... と続く。 |
|  | ゲルイメージが A1, B1, ...H12 まですべて一列で表示される。 |
|  | ゲルイメージが A1, A2, ...H12 まですべて一列で表示される。 |
|  | ゲルイメージが最初の列の A1, B1, ...H6 を、次に 2 列目の A7, B7, ...H12 を表示する。 |
|  | ゲルイメージが最初の列に A1, A2, ...D12 を、次に 2 列目に E1, E2, ...H12 を表示する。 |

| | |
|---------------------------|--|
| Rows/Col per page | 各列あるいは行の色を指定したり、選択した列あるいは行ごとに保存したり印刷することが個々に可能。 |
| Individual Scaling | 個々のゲルイメージ画面のコントラストを自動調整する。 |
| Zoom to Markers | 最初と最後のピークの外側にある不要な白色の部分が取り除かれる。 |
| Notes | 個々のエクスポートするイメージで、4行までのコメントを加えることが可能。 |
| File Format | プルダウンメニューからエクスポートするイメージのファイル形式（JPEG、TIF、BMPなど）を選ぶ。 |
| Display path and filename | エクスポートするイメージのヘッダーにパスとファイル名を表示する。 |
| Print Images(s) | 操作が終了したらデフォルトのプリンターに自動的に印刷。 |

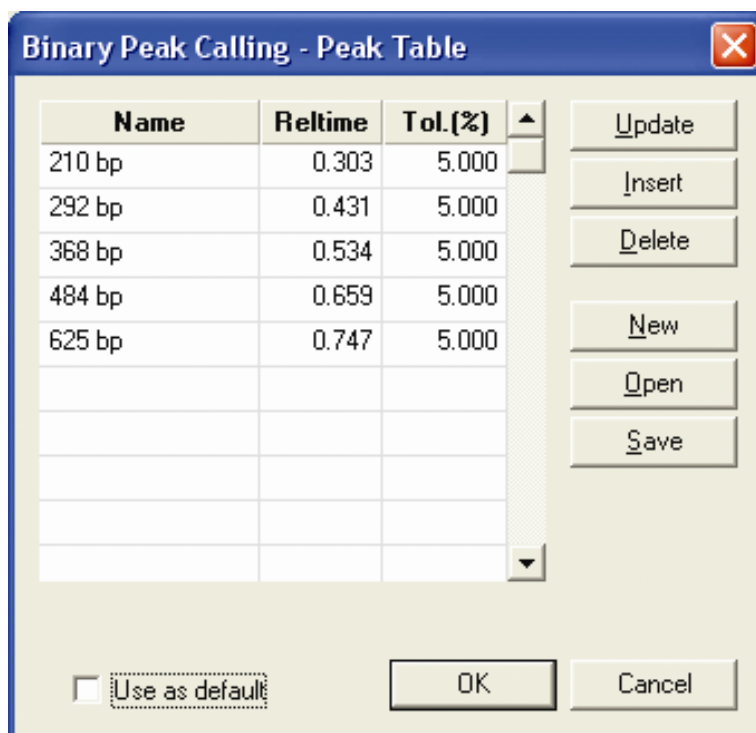
■ Gel panel

| | |
|------------|---|
| Resolution | 必要な分離能をプルダウンメニューから選ぶ。分離能はゲルレーンあたりで、全ゲルイメージあたりではない。 |
| Header | Name : 各ゲルイメージの上部のヘッダーにサンプル名を表示 Info : 各ゲルイメージの上のヘッダーにサンプル情報を表示 Well : 各ゲルイメージの上部のヘッダーにウェルの位置名を表示 |

■ Binary peak calling panel

| | |
|--------------|--|
| Enable/Table | *.csv 形式のピークテーブル・レポートや*.jpeg ファイルを作成する binary peak table を作成する。ピークテーブル・レポートには“0”（ピークが検出されない）、あるいは“1”（ピークが検出される）がピークに割り当てられる。 |
|--------------|--|

“Binary Peak Calling – Peak Table” ダイアログボックス



- Name *.csv report 上で表示される名前（フラグメントサイズなど）。
- Reltime binary peak calling を決めるための相対的泳動時間（reltime）。
それぞれ個々の*.hda データファイルの Result テーブルで、相対時間を探ることができる。少なくとも 12 個のデータサンプルから reltime を計算することを推奨する。
- Tol (%) binary peak calling を決めるための reltime の許容値（+/-%）。
Tol (%) 値は、少なくとも 12 サンプルの標準偏差を用いてユーザーが決める。

ピークテーブル・レポートの例

| | A | B | C | D | E | F | G |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|
| 1 | | 210 | 292 | 368 | 484 | 625 | |
| 2 | A01 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | |
| 3 | A02 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 4 | A03 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | |
| 5 | A04 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 6 | A05 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 7 | A06 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 8 | A07 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 9 | A08 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 10 | A09 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 11 | A10 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 12 | A11 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 13 | A12 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 14 | B01 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 15 | B02 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 16 | B03 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 17 | B04 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| 18 | B05 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| 19 | B06 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| 20 | B07 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| 21 | B08 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 22 | B09 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 23 | B10 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 24 | B11 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 25 | B12 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 26 | C01 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 27 | C02 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 28 | C03 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 29 | C04 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| 30 | C05 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 31 | C06 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| 32 | C07 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| 33 | C08 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 34 | C09 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 35 | C10 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |

Trademarks: QIAGEN® (QIAGEN Group); Microsoft Excel® (Microsoft).

本文に記載の会社名および商品名は各社の商標または登録商標です。

記載の QIAGEN 製品は研究用です。疾病の診断、治療または予防の目的に使用することはできません。

© 2008 QIAGEN, all rights reserved.

www.qiagen.co.jp

株式会社キアゲン ■ 〒104-0054 ■ 東京都中央区勝どき 3-13-1 Forefront Tower II

Tel:03-6890-7300 ■ FAX: 03-5547-0818 ■ E-mail:techservice-jp@qiagen.com

