

GenePix Pro 7 取扱マニュアル

(日本語版)

(株)インターメディカル

TEL 052-731-8000

FAX 052-731-5050

gene@intermedical.co.jp

目次

第1章 GenePixPro7.2 ソフトウェアリファレンス

1.1	各タブに共通する機能	5
1.1.1	Preview Scan	5
1.1.2	Data Scan	5
1.1.3	Single Wavelength Scan	5
1.1.4	Preview Scan then Data Scan	5
1.1.5	Data Scan All	5
1.1.6	Stop Scan	5
1.1.7	Analyze	5
1.1.8	Analyze All	6
1.1.9	File...	6
1.1.10	Feature	18
1.1.11	Find	19
1.1.12	Copy	20
1.1.13	Options	20
	Workflow タブ	20
	Analysis タブ	23
	Batch Analysis タブ	28
	Alignment タブ	30
	Display タブ	32
	File Open タブ	34
	File Save タブ	35
	Folders タブ	37
	Other タブ	38
	Print タブ	39
1.1.14	Hardware Settings	41
1.1.15	Hardware Diagnostics	43
1.1.16	Calibration の操作方法	46
1.1.17	Help	48
1.2	Image タブ	49
1.2.1	Image	51
1.2.2	Tools	52
1.2.2.1	Lock Settings	52
1.2.2.2	Undo Move Region	52

1.2.2.3	Align Blocks	52
1.2.2.4	Image Tools	53
1.2.2.5	Color Selection	54
1.2.2.6	Hand Mode	57
1.2.2.7	Zoom Mode	57
1.2.2.8	Undo Zoom	57
1.2.2.9	Zoom Full Scale	57
1.2.2.10	Navigation Tool	57
1.2.2.11	Block Mode	58
1.2.2.12	Replicate Block Mode	59
1.2.2.13	Feature Mode	59
1.2.2.14	Measuring Tools	62
1.2.2.15	View Measuring Tools	63
1.2.2.16	View Blocks	64
1.2.2.17	New Blocks	64
1.2.2.18	Block Properties	66
1.2.2.19	View Scan Area	68
1.2.2.20	New Scan Area	68
1.2.2.21	Scan Area Properties	68
1.2.2.22	New Settings	68
1.2.2.23	Erase All Scan Area Images	69
1.2.2.24	Unlock All Scan Area	69
1.2.2.25	Display	69
1.2.3	Feature Viewer	69
1.3	Histogram タブ	70
1.3.1	Image	70
1.3.2	X Axis	70
1.3.3	Y Axis	71
1.3.4	Image Balance	71
1.4	Lab Book タブ	71
1.4.1	履歴	72
1.4.2	Comment	72
1.4.3	Add Comment	72
1.4.4	Edit Comment	72
1.4.5	New	72
1.4.6	Open	73
1.5	Batch Analysis タブ	74

1.5.1	Select image files and GAL or GPS files to process	74
1.5.2	Align and analyze	75
1.6	Result タブ	76
1.6.1	解析項目	77
1.6.2	File	81
1.6.2.1	Save To Acuity	81
1.6.3	Table	81
1.6.3.1	Data Types...	81
1.6.3.2	Resize	82
1.6.3.3	Select All	82
1.6.3.4	Group Rows	82
1.6.3.5	Display...	83
1.6.3.6	Show Selection	83
1.6.4	Normalization	83
1.6.4.1	Configure...	83
1.6.4.2	Apply	84
1.6.4.3	Remove	85
1.6.4.4	Flag Features...	85
1.7	Scatter Plot タブ	87
1.7.1	Visualization	88
1.7.2	X Axis	88
1.7.3	Y Axis	88
1.7.4	Display	88
1.8	Report タブ	90
1.8.1	File	91
1.8.2	Navigate	92
1.8.2.1	Back	92
1.8.2.2	Forward	92
1.8.2.3	Stop	92
1.8.2.4	Refresh	92
1.8.2.5	Home	92

第1章 GenePixPro7.2 ソフトウェアリファレンス

1.1 各タブに共通する機能

ソフトウェアの右側にあるアイコンは、どのタブからでも利用できる機能です。主にハードウェア制御・ソフトウェアの設定に関する機能になっています。

1.1.1 Preview Scan



解析する位置を確認するために解像度 **40 μ m** でスライド全体のデータ取り込みをします。

1.1.2 Data Scan



Hardware Settings(1.1.13)の **pixel size(μ m)**で指定した解像度で解析したい範囲のデータを高解像度で取り込みをします。(高解像度 **5 μ m**)

1.1.3 Single Wavelength Scan



Hardware Settings(1.1.13)の **pixel size(μ m)**で指定した解像度で解析したい範囲の **1 波長**のデータを高解像度で取り込みをします。

1.1.4 Preview Scan then Data Scan



Preview Scan(1.1.1)と **Data Scan(1.1.2)**を続けて行います。

1.1.5 Data Scan All



複数のスキャン領域設定に対して高解像度スキャンを行います。

1.1.6 Stop Scan



現在のスキャニング動作を中止します。

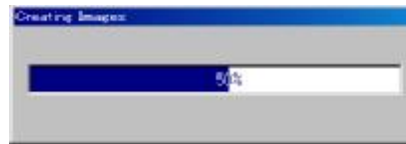
1.1.7 Analyze



解析します

解析中は次のような画面が表示されます。

100%になるまでお待ち下さい。



1.1.8 Analyze All



複数のスキャン領域に対してすべての解析を行います。

1.1.9 File...

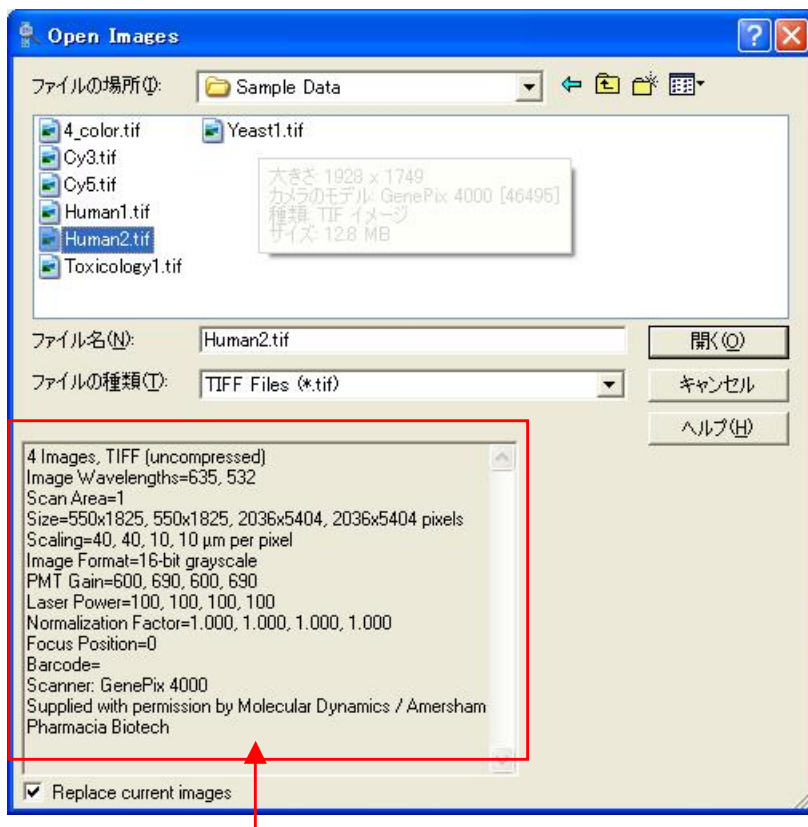


スキャンした画像、解析するために必要な設定ファイル、数値化されたデータの保存やファイルの読み出し等を行います。

Open Images...	Ctrl+O
Open Image Set...	
Save Images - Active Scan Area	Ctrl+S
Save Image Set...	
Export Images	Ctrl+E
Recent Images	▶
<hr/>	
New Settings	Alt+N
Open Settings...	Alt+O
Save Settings	Alt+S
Save Settings As...	Alt+H
Recent Settings	▶
<hr/>	
Load Array List...	Alt+Y
Recent Array Lists	▶
<hr/>	
Open Results...	Alt+R
Save Results - Active Scan Area...	Alt+U
Save Results - All Scan Areas...	
Export Results...	
Save to Acuity	Ctrl+Q
Recent Results	▶
<hr/>	
Open Report...	Alt+T
New Report...	
Export Report...	Alt+X
Recent Reports	▶
<hr/>	
Print...	Ctrl+P
<hr/>	
Properties...	Alt+Enter

• Open Images...

保存している画像を読み出します。このメニューを選択しますと、次の画面が表示されます。



取得したときの設定情報が表示されます。

ファイル名：データファイルを指定します。

ファイルの種類：データファイルの種類を指定します。

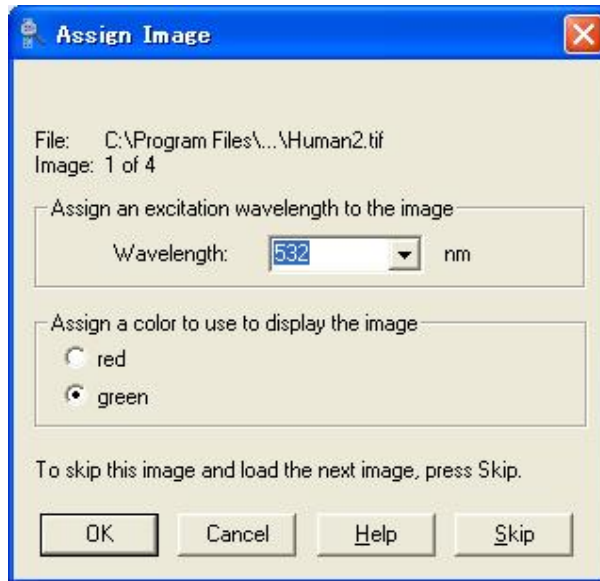
TIFF Files (*.tif)

JPEG Files (*.jpg)

Molecular Dynamics (*.gel)

All Files (*.*)

開く(O) ボタンをクリックすると **Option(1.1.12)の File Open** タブの “**Enable user-assigned wavelengths and channels**” の項目にチェックが入っている場合には、次の画面が表示されます。



File : ファイル名

Image : 画像の枚数

Assign an excitation display the image : 画像の励起波長の設定をします。

Wavelength : 波長を **nm** で設定します。

Assign a color to use to display the image : 画像の表示色を赤か緑で設定をします。

red : 赤

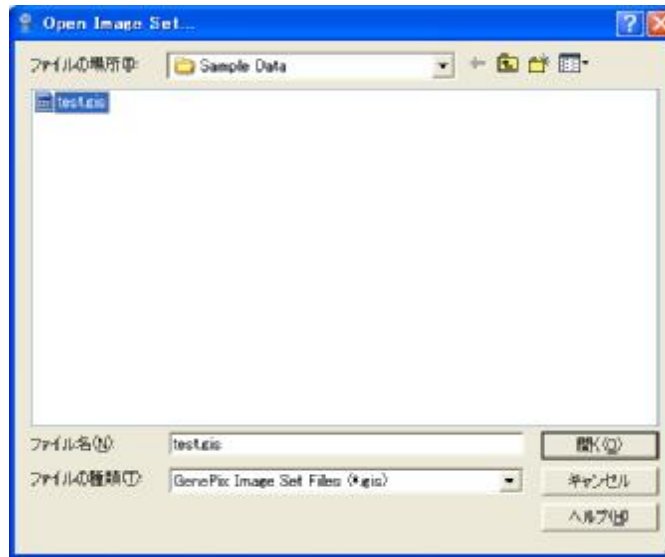
green : 緑

To skip this image and load the next image , press Skip :

画像を選択したくない場合には、**Skip** を押します。

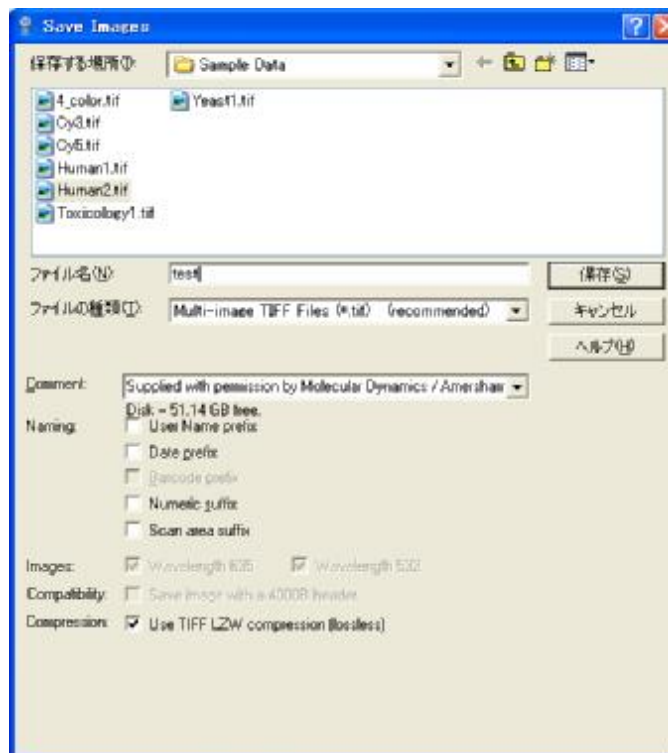
• **Open Images Set...**

拡張子が **gis** ファイルの画像を開きます。



• Save Images – Selected Scan Area...

Image タブに表示されている画像を保存します。このメニューを選択しますと、次の画面が表示されます。



ファイル名：データファイルを指定します。

ファイルの種類：データファイルの種類を指定します。

Multi-Image TIFF Files(*.tif) :

可逆圧縮で **Preview** と **635nm** と **532nm** の画像を同時に保存します。

Single-Image TIFF Files(*.tif) :

可逆圧縮で **Preview** と **635nm** と **532nm** と レシオの画像を 1 枚ずつ保存します。

2 種類 (Wavelength 635 and/or 532) のファイルを選択します。

Comment : 注釈を入れて、どのようなデータが判別できるようにします。

Naming : ファイル名に付加する情報を選択します。

User Name prefix : ユーザーの名前データ

Data prefix : 日付データ

Barcode prefix : バーコードデータ

Numeric suffix : シーケンシャル番号

Images : **Multi-Image TIFF Files** 以外の場合の出力する画像の種類

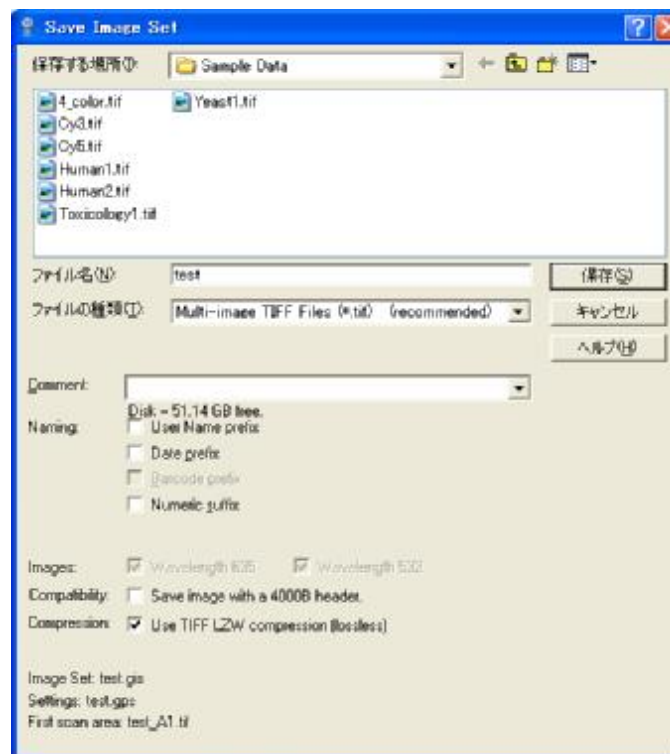
Wavelength 635 : データスキャン時 **635nm** の画像

Wavelength 532 : データスキャン時 **532nm** の画像

Compression : **LZW** 圧縮をして **TIFF** 形式で画像を保存します。

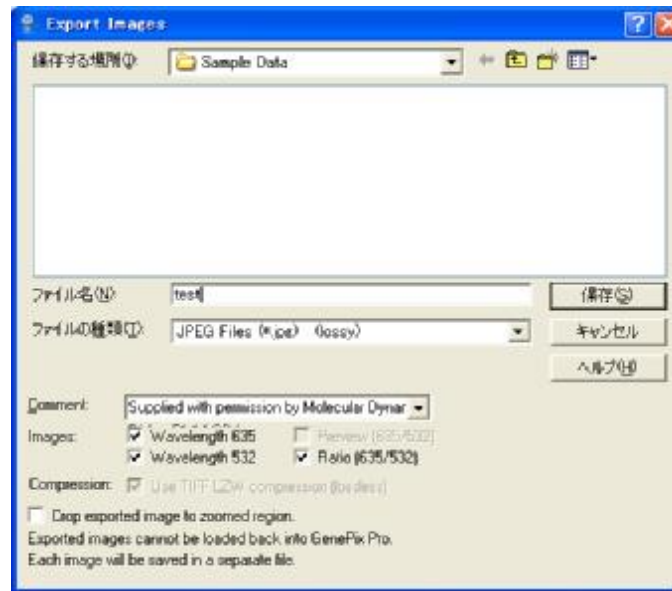
• **Save Image Set...**

複数のスキャン領域を一つのファイルとしてセットで保存することができます。



• Export Images

JPEG 形式で画像を保存することができます。



ファイル名：データファイルを指定します。

ファイルの種類：データファイルの種類を指定します。

JPEG Files(*.tif)：非可逆圧縮で **1** 枚の画像を保存します。

Single-Image TIFF Files(*.tif)：可逆圧縮で **1** 枚の画像を保存します。

2 種類 (Wavelength 635 and/or 532) のファイルを選択します。

Comment：注釈を入れて、どのようなデータが判別できるようにします。

Images：**Multi-Image TIFF Files** 以外の場合の出力する画像の種類

Wavelength 635：635nm 時の画像

Wavelength 532：532nm 時の画像

Preview (635nm / 532nm)：Preview 時の画像

Ratio (635nm / 532nm)：レシオ画像

Compression：LZW 圧縮をして **TIFF** 形式で画像を保存します。

Crop exported image to zoomed region：Image タブ上の範囲における画像を **Export** します。

• Recent Images

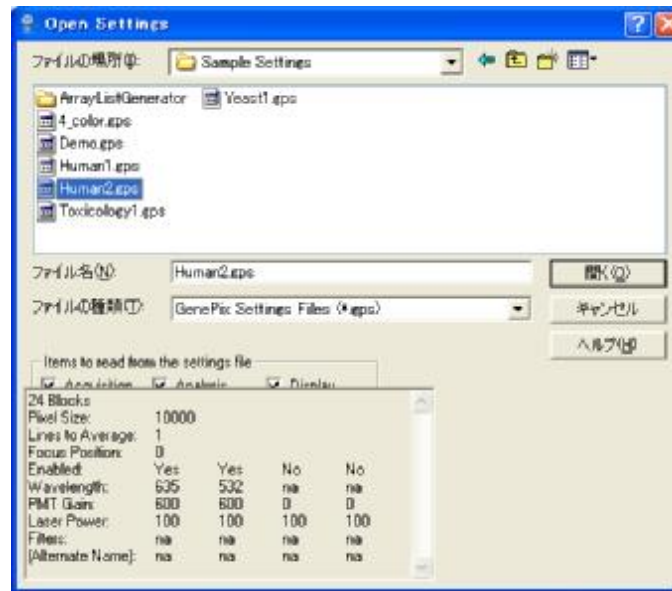
過去に使用した **Image** 画像ファイルを参照し開くことができます。

• New Settings

設定してあるセッティング情報を初期状態に戻します。

- **Open Settings...**

保存してある設定を読み出します。



ファイル名：データファイルを指定します。

ファイルの種類：データファイルの種類を指定します。

GenePix Pro Settings Files (*.gps)：GenePix 用の設定ファイルの表示

Scanalyze Grid Files (*.sag)：Scanalyze 用の設定ファイルの表示

All Files (*.*)：全てのファイルの表示

Items to read from the settings file：保存したい設定を選択します。

Acquisition：PMT 電圧、平均化回数、スキャンエリア

Analysis：ブロック情報、遺伝子名、ID

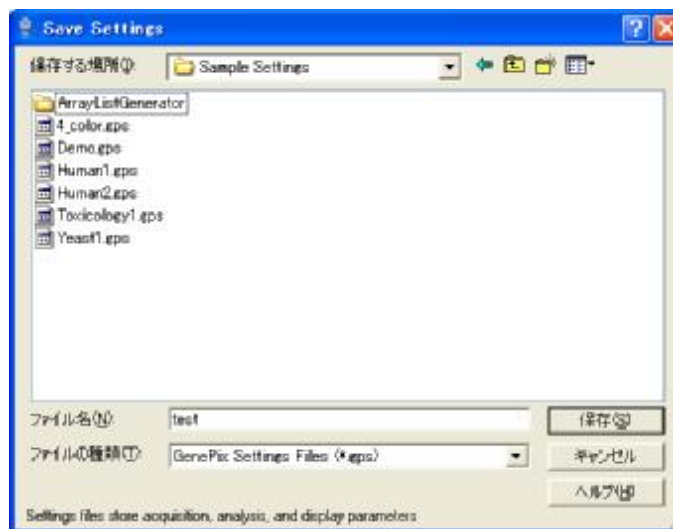
Display：画像表示設定（コントラスト、輝度、カラーセレクション）

- **Save Settings**

選択した設定を保存します。

- **Save Settings As...**

選択した設定を指定したファイル名で保存します。



ファイル名：データファイルを指定します。

ファイルの種類：データファイルの種類を指定します。

GenePix Pro Settings Files (*.gps) : GenePix Pro5.0 以降の機能がすべて使える形式です。

GenePix 3.0 Files (*.gpr) : GenePix Pro3.0 でも読み込める形式です。

GenePix 4.0 Files (*.gpr) : GenePix Pro4.0 でも読み込める形式です。

GenePix Array List Files (*.gal) : GenePix 用のアレイリストファイルです。

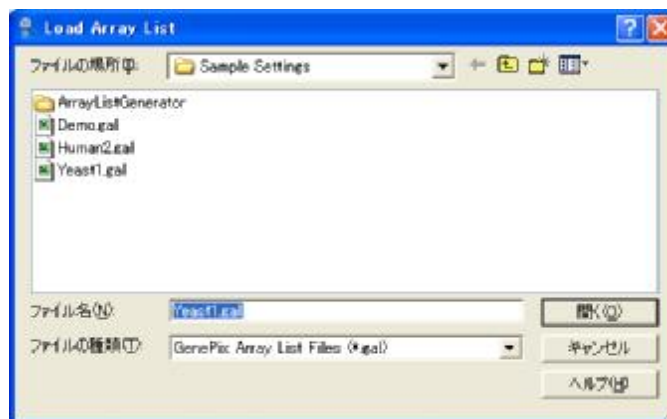
All Files (*.*) : 全てのファイルを表示します。

• Recent Settings

過去に使用したセッティングファイルを参照し開くことができます。

• Load Array List...

アレイリスト (GAL ファイル) を読み込みます。



ファイル名：データファイルを指定します。(GAL ファイル名)

ファイルの種類：GAL ファイルとして読み込むファイルの形式を指定します。

GenePix Array List Files(*.gal) : GAL ファイルです。

Clone Tracker Files(*.txt) : Clone Tracker 形式のファイルです。

All Files(*.*) : 全てのファイルの表示します。

• Recent Array Lists...

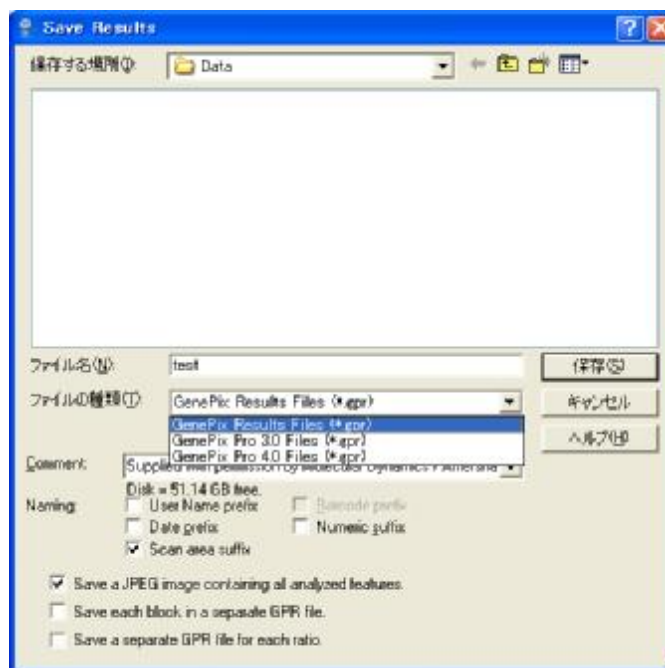
過去に使用したアレイリストファイルを参照し開くことができます。

• Open Results...

保存した **Result** を読み込みます。

• Save Results – Selected Results Sheet...

現在の **Result** 内容を保存します。



ファイル名：データファイルを指定します。

ファイルの種類：データファイルの種類を指定します。

GenePix Result Files(*.gpr) : GenePix Pro5.0 以降の機能がすべて使える形式です。

GenePix 3.0 Files(*.gpr) : GenePix Pro3.0 でも読み込める形式です。

GenePix 4.0 Files(*.gpr) : GenePix Pro4.0 でも読み込める形式です。

All Files(*.*) : 全てのファイルを表示します。

Comment : 注釈を入れて、どのようなデータが判別できるようにします。

Disk = 51.44GB free : C ドライブの空き容量を表示します

Naming : ファイル名に付加する情報を選択します。

User Name prefix : ユーザーの名前データ

Data prefix : 日付データ

Barcode prefix : バーコードデータ

Numeric suffix : シーケンシャル番号

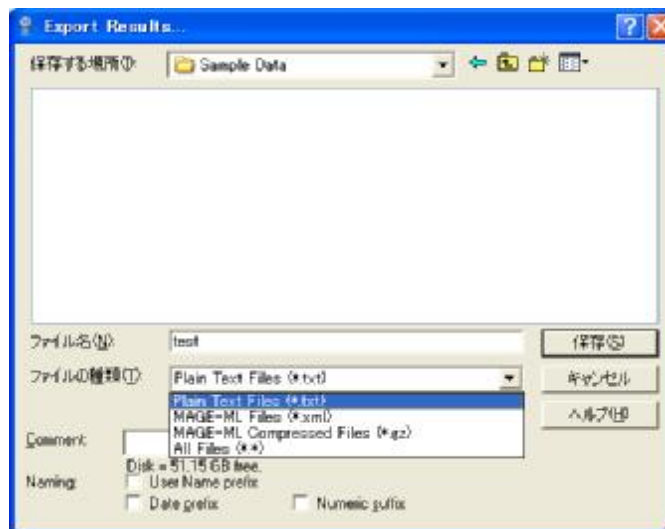
- **Save a JPEG image containing all analyzed features.**
すべての解析された **feature** を含んだ **JPEG** 画像で保存します。
- **Save each block in a separate GPR file.**
それぞれの **block** ごとに分けて **GPR** ファイルで保存します。
- **Save a separate GPR file for each ratio.**
それぞれのレシオを分けて **GPR** ファイルで保存します。

- **Save All Results...**

数値化している全ての **Result** 内容を保存します。個別に保存します。

- **Export Results**

Result ファイルをいろいろな形式で保存することができます。



ファイル名 : データファイルを指定します。

ファイルの種類 : データファイルの種類を指定します。

PlainText Files(*.txt) : テキストファイルで保存します。

MAGE-ML Files(*.xml) : **MAGE-ML** で保存します。

MAGE-ML Compressed Files(*.gz) : 圧縮をかけて **MAGE-ML** で保存します

All Files(*.*) : すべてのファイルを表示します。

Comment : 注釈を入れて、どのようなデータが判別できるようにします。

Naming : ファイル名に付加する情報を選択します。

User Name prefix : ユーザーの名前データ

Data prefix : 日付データ

Barcode prefix : バーコードデータ

Numeric suffix : シーケンシャル番号

• Save to Acuity

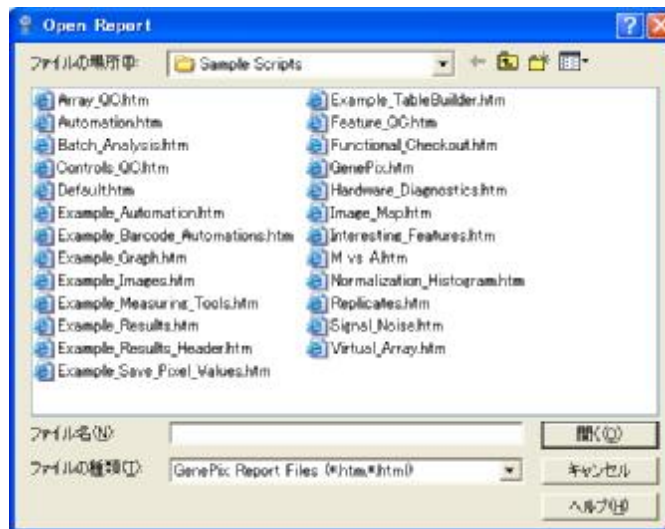
解析後の結果 (**Result** ファイル) を遺伝子発現解析ソフトウェア **Acuity** のデータベースをエクスポートします。

• Recent Results

過去に使用した **Result** ファイルを参照し開くことができます。

• Open Report

現在表示されているレポートをファイルに書き出します。



ファイル名 : データファイルを指定します。

ファイルの種類 : データファイルの種類を指定します。

GenePix Pro Report Files(*.htm,*.html) : GenePix Pro レポートファイル

All Files(*.*) : すべてのファイルを表示します。

- **New Report...**

マクロプログラムを編集します。



- **Export Report...**

現在表示されているレポートをファイルに書き出します。

- **Recent Reports**

過去に使用した **Report** ファイルを参照し開くことができます。

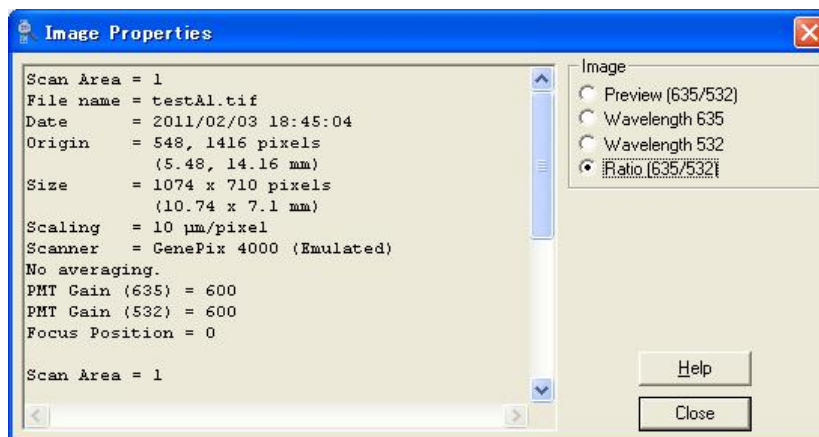
- **Print...**

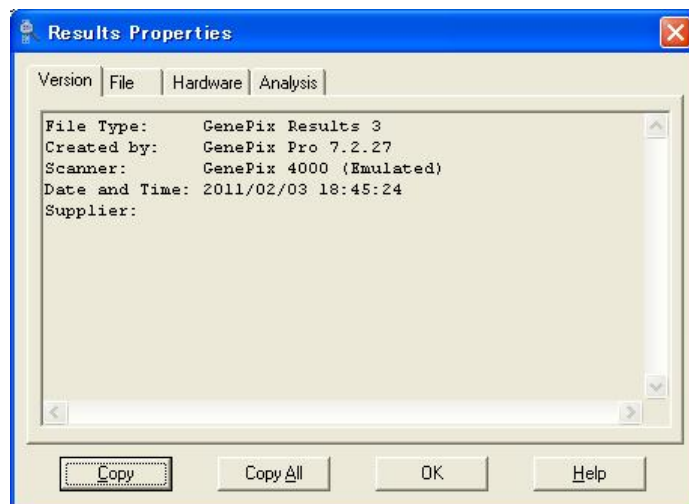
Image タブ(1.2)、**Scatter Plot** タブ(1.6)、**Report** タブ(1.7)の印刷を行います。

- **Properties...**

現在、**Image** タブ、**Result** タブに表示されている画像の情報を表示します。

(**Image** タブと **Result** タブのみ有効となります。)





1.1.10 Feature



Feature Mode において選択した **Feature** に対し **Flag** 等をつけます。

Go to Web	W
Flag Good	O
Flag Bad	A
Flag Absent	T
Flag Not Found	N
User Defined Flags	
Configure User Defined Flags...	
Clear Flags	L
Clear Flags Except Absent	X
Include in Normalization	M
Remove from Normalization	Ctrl+M
Clear Nudges	Ctrl+U
Show Local Feature Background	
Select All Features	Ctrl+A
Select Features in Selected Blocks	Ctrl+Shift+A

Go to Web :

Option の **Analysis(1.1.13)** の **Web Address for Feature information** で設定した **URL** のデータベースへアクセスします。

Flag Good :

Feature に **Good** フラグ(Ⓞ)を表示します。

Flag Bad :

Feature に **Bad** フラグ(×)を表示します。

Flag Absent :

Feature に **Flag Absent** フラグ(⌊)を表示します。

Flag Not Found :

Feature に Not Found フラグ(Ⓧ)を表示します。

Clear Flags :

表示した Flag を消去します。

Clear Flags Except Absent :

Absent フラグを除いて選択した Flag を消去します。

Include in Normalization :

Normalization フラグ(□)を表示します。

Remove from Normalization :

Normalization フラグを消去します。

Clear Nudges :

選択された Feature の直径、座標を標準状態へ戻します。

Show Local Feature Background :

各 Feature のバックグラウンドを表示します。Feature(1.1.9)にて説明します。

Select All Features :

全ての Feature を選択します。

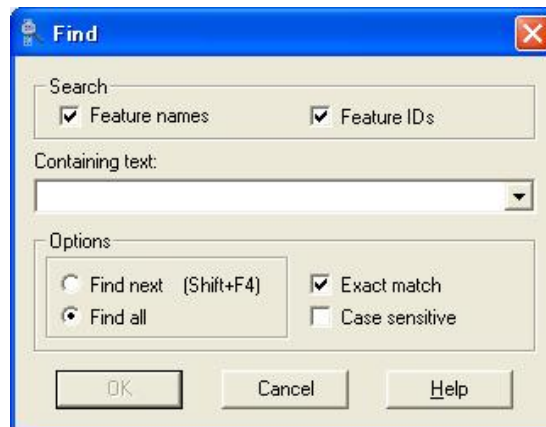
Select Features in Selected Blocks :

選択した Block の feature を選択します。

1.1.11 Find



遺伝子名や遺伝子 ID で、データを検索します。このボタンをクリックしますと次のようなウィンドウが表示されます。



Search : 検索箇所を指定します。

- **Feature Names** : 遺伝子名
- **Feature IDs** : 遺伝子 ID

Containing text : 検索文字列を指定します。

Options : オプション

- **Find next** : 次の検索を行います。
- **Find all** : すべての検索を行います。
- **Exact match** : 完全に一致させたい場合に選択します。
- **Case sensitive** : 大文字、小文字を区別したい場合に選択します。

1.1.12 Copy



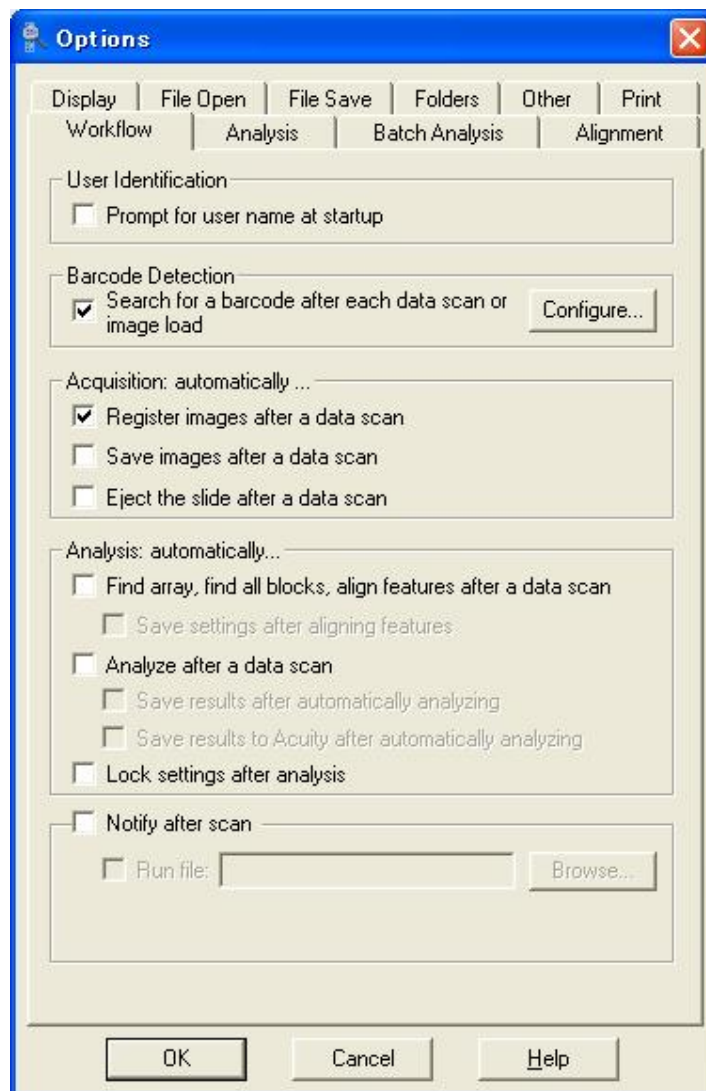
現在画面に表示されているタブの内容をクリップボードにデータを転送します。**Image** タブでは画像、**Histogram** や **Scatter Plot** タブでは画像や数値データ、**Result** データでは数値データでクリップボードに転送されます。他アプリケーションを使用してデータのインポートができます。

1.1.13 Option



ソフトウェアの各種内容を設定します。このボタンをクリックした場合の設定事項を次に表示します。

・ Workflow タブ



User Identification : ユーザー設定を行います。

Prompt for user name at startup. : チェックすると、ユーザー毎に設定を変更できます。

GenePix Pro を一度終了し、再起動しますと、次の画面が表示されます。



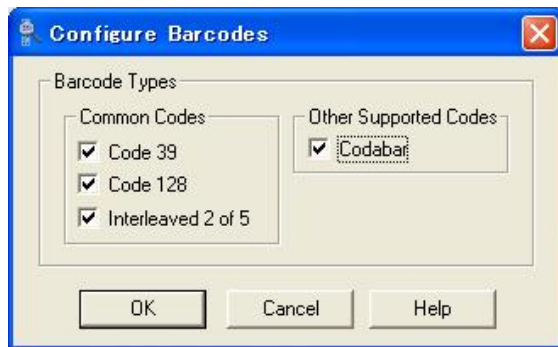
User Name : ユーザー名を選択・入力して下さい。

新規ユーザーの場合は次の画面が表示されます。新しく作成する場合には **Ok** をクリックします。



Barcode Detection : バーコード設定を行います。

- **Search for a barcode after each data scan or image load.** : スライドにあるバーコードを認識するか、しないかを選択します。チェックすると、認識機能を利用します。
- **Configure...** : このボタンをクリックしますと次の画面が表示されます。



Barcode Types : バーコードの種類を選択します

- **Common Codes** : Code39, Code128, Interleaved2 of 5
- **Other Supported Codes** : Codabar

特に問題がなければ、全てをチェックして下さい。

Acquisition automatically... : 自動取得

- **Register images after a data scan.** : データスキャン後に、画像を記名します。
- **Save images after a data scan.** : **Data Scan** 後に、画像を保存します。
- **Eject the slide after a data scan.** : データスキャン後に、スライドを取り出します。

Analysis: automatically... : 自動解析 (シングルスキャンのみ)

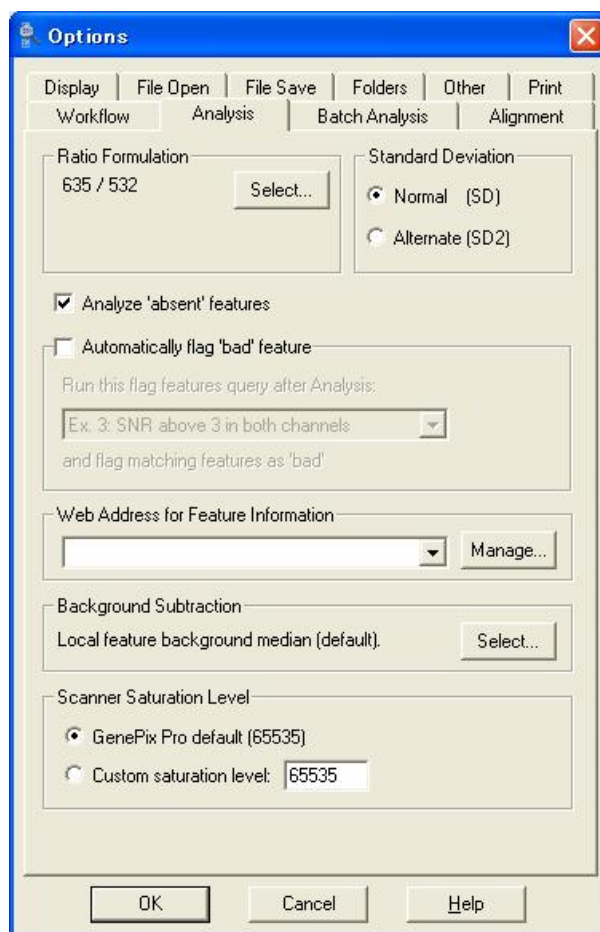
- **Find array , find all blocks , align features after a dada scan.** : データスキャン後に、**Array** を検出し、**Block** を検出した後に **Feature** のアライメントを行います。

- **Save settings after aligning feature.** :
Feature のアライメント後にセッティングファイルを保存します。
- **Analyze after a data scan.** :
データスキャン後に、解析します。
- **Save results after automatically analyzing.**
自動解析後に **Result** データを保存します。
- **Save results to Acuity after automatically analyzing.**
自動解析後に、**Acuity** に **Result** データを保存します。
- **Lock settings after analysis**
解析後に、セッティングファイル(**Block**)を固定します。

Notify after scan : Scan 後に通知します。

- **Email to:**メールアドレスを設定します。
- **Run file:**メーカーとやりとりするためのファイルを選択します。

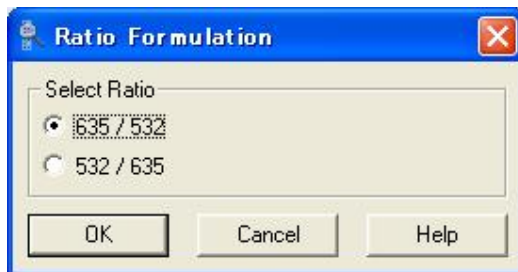
• Analysis タブ



Ratio Formulation : レシオ比を選択します。

Select...

このボタンをクリックしますと次の画面が表示されます。



Select Ratio

- **635 / 532** : レシオ比を **635 / 532** に設定します。
- **532 / 635** : レシオ比を **532 / 635** に設定します。

Standard Deviation : **Background** の **SD** (標準偏差) の計算方法を選択します。

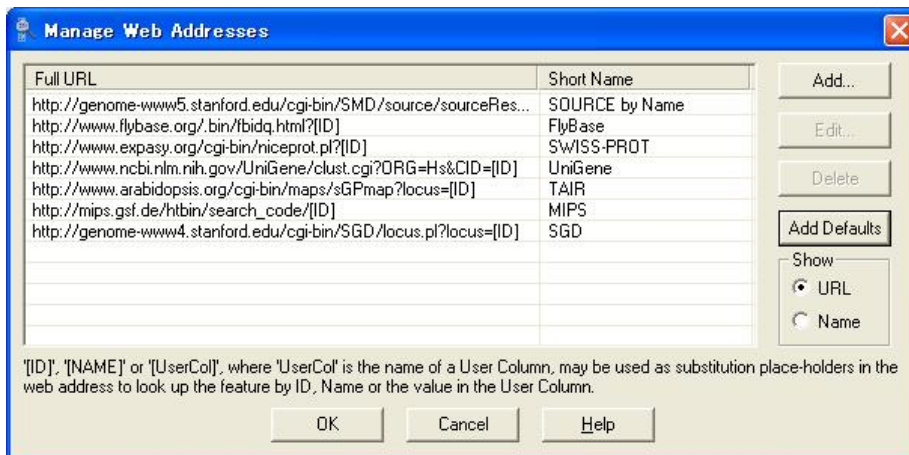
- **Normal(SD)** : 数学で、通常利用される標準偏差で計算します。
- **Alternate(SD2)** : **median** より小さい値のみを利用し、標準偏差を計算します。

Analyze 'absent' feature : **Absent** フラグである **Feature** を解析するか、しないかを選択します。

Web Address for Feature Information : ゲノムデータベースへの **URL** を記述します。

Manage...

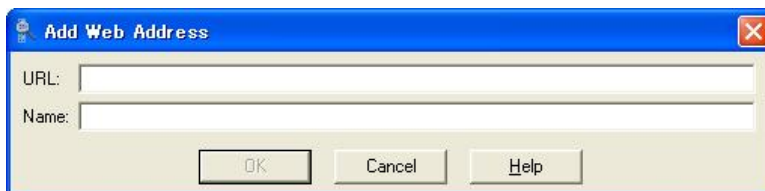
このボタンをクリックしますと次の画面が表示されます。



Add : ゲノムデータベースへの **URL** を追加します。

Add...

このボタンを押しますと次の画面が表示されます。



- **Add Web Address :**

ゲノムデータベースへの URL と Short Name を記入し OK を押します。“Manage Web Addresses” の Full URL と Short Name へ記述されます。

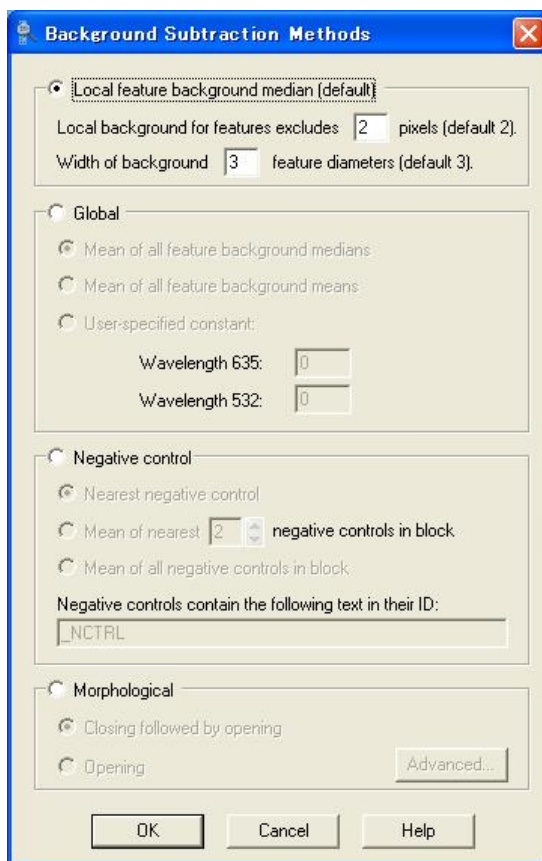
- **Edit :** “Manage Web Addresses” の Full URL と Short Name を編集します。
- **Delete :** “Manage Web Addresses” の Full URL と Short Name を削除します。
- **Add Defaults :** 初期設定の URL を追加します。
- **Show :** “Web Address for Feature Information” の表示を URL or Name のどちらかで設定します。

Background Subtraction Methods

Background の計算方法を指定します。また、**Local Background** の領域を設定します。

Select...

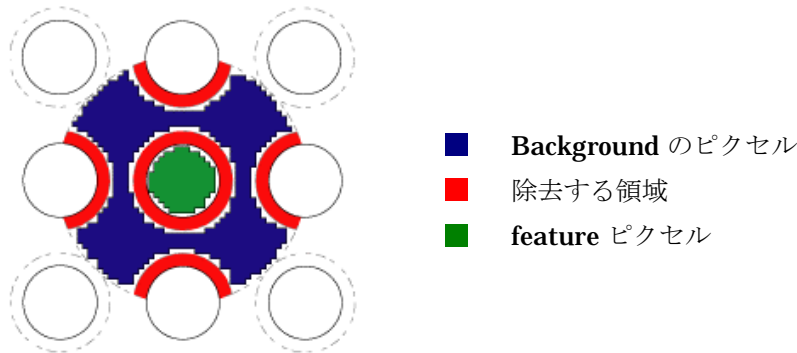
このボタンをクリックしますと、次の画面が表示されます。



Local feature background median (default)

GenePix Pro3.0 までの従来の **Background** 計算方式。

Default 値は、**Feature** の 3 倍の直径領域から **Feature** との境界である 2 ピクセル幅の円に相当するピクセルを除去した領域を **Background** として定義します。



Global

全ての **Feature** で波長毎に 1 つの **Background** が計算されます。**Background** の計算方法には、次の方法があります。

- **Mean of all feature background medians**
全ての “**Local feature background median**” の平均
- **Mean of all feature background means**
全ての “**Local feature background mean**” の平均
- **User-specified constant**
ユーザーの指定した値
- **Wavelength 635: Cy5(赤)側**の設定を行います。
- **Wavelength 532: Cy3(緑)側**の設定を行います。

Negative control

Negative control のバックグラウンド減算を使用するために、**GAL** ファイルにおける **ID** を「**_NCTRL**」とするか、**ID** の一部として「**_NCTRL**」を使用して **Feature** を認識させます。各 **Feature** に関しては、同じブロック内にある一番近い **Negative control** の **Name** が **Result** タブの **Negative Control** コラムに表示されます。

- **Nearest negative control**
一番近くにある **Negative control** スポットの中央値の蛍光強度を **BG(Background)** 値として使用します。**Nearest** というのは、**Euclidian** 直線を引いた時の最短距離を意味します。
- **Mean of nearest 2 negative controls in block**
ブロック内の **N** 個の **Nearest negative control** スポットの中央値の平均を **Feature** の **BG** 値として使用します。
- **Mean of all negative controls in block**
ブロック内のすべての **Nearest negative control** スポットの中央値の平均を **Feature** の **BG** 値として使用します。

Negative controls contain the following text in their ID: `_NCTRL`

ネガティブコントロールはそれらの **ID** に次のテキストを含んでいます:**`_NCTRL`**。

Morphological

形態論のバックグラウンド減算は初期のローカルの **feature** バックグラウンド中央値より低いバックグラウンド評価を与える、強健な方法です。GenePix Pro は 2 つの異なる形態論の方法を使用します: **closing**(最大のフィルタ)および **opening** (最小のフィルタ)。

- **Closing followed by opening**

この方法は、非常に小さな地域に関するローカルの最大そして次により大きなエリアに関するローカルの最小をとります。

それは、単独で開くことの形態論よりバックグラウンドの著しく高い評価を提供しますが、初期のローカルなバックグラウンド中央値よりわずかに低い評価です。

- **Opening**

この方法は一つの **feature** のバックグラウンドとしてローカルの最小値を取り、したがって、**closing** および **opening** よりバックグラウンドのはるかに低い評価を生産します。ローカルのエリアのデフォルト・サイズは側 **2.5 feature separation** (それらは、各ブロックの名目上のブロック特性によって決定される)の正方形です。この値は高度なボタンのクリックにより形成することができます。

Scanner Saturation level

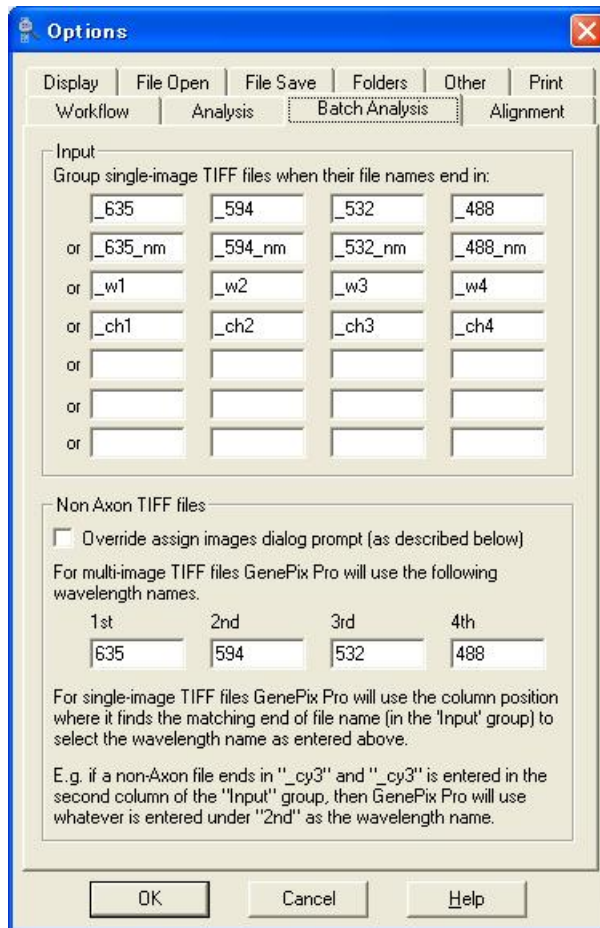
- **GenePix Pro default [65535]**

サチュレーションレベルを初期設定にします。

- **Custom saturation level**

サチュレーションレベルを任意に設定します。

• Batch Analysis



Input

- Group single-image TIFF files when their files names end in:

	_635	_594	_532	_488
or	_635_nm	_594_nm	_532_nm	_488_nm
or	_w1	_w2	_w3	_w4
or	_ch1	_ch2	_ch3	_ch4

Single-Image TIFF ファイル名の語尾が上記になる場合には、Single-Image TIFF ファイル名をグループ化します。

Non Axon TIFF files : 非 Axon TIFF ファイルの場合

- Override assign images dialog prompt[as described below]
割り当てられたイメージを迅速に優先します。

For multi-image TIFF files GenePix Pro will use the following wavelength names.

1st 635 2nd 594 3rd 532 4th 488 :

Multi-image TIFF ファイルについては、GenePix Pro が次の波長名を使用します。

1st	2nd	3rd	4th
635	594	532	488

For single-image TIFF files GenePix Pro will use the column position where it finds the matching end of files name [in the 'Input' group] to select the wavelength name as entered above. :

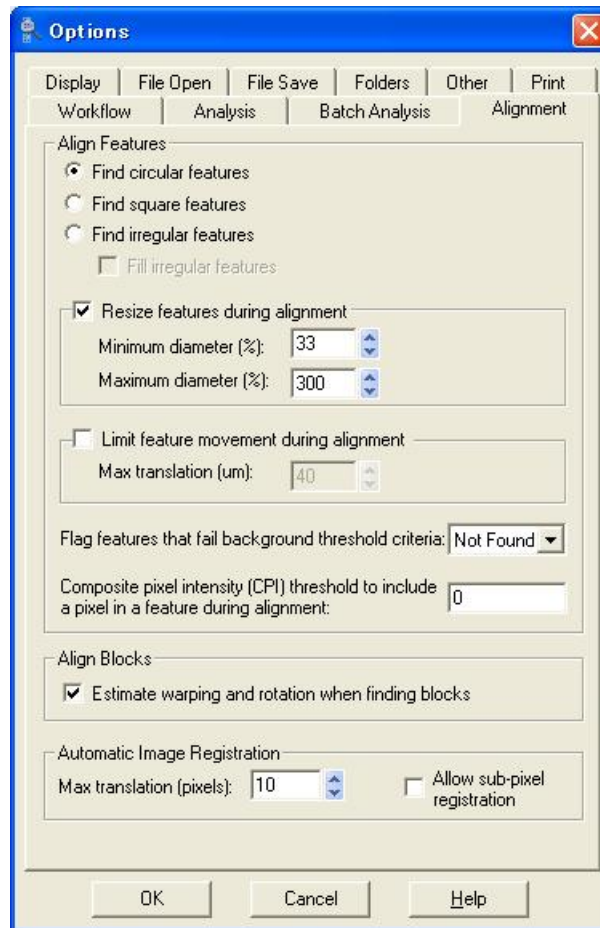
Single-image TIFF ファイルについては、GenePix Pro が上記に入力されるような波長名を選択するためにそれが [Input グループの中で] ファイル名の一致する終了を見つける column 位置を使用します。

E.g. if a non-Axon file ends in “_cy3” and “_cy3” is entered in the second column of the “ Input “ group , then GenePix Pro will use whatever is entered under “ 2nd “ as the wavelength name. :

E.g. 非 Axon ファイルが “_cy3” に終わって、“_cy3” が Input グループの 2 番目のコラムに入力されると、GenePix Pro は波長名として “2 番目” の下で入力されるものなら何でも使用します。

The screenshot shows the GenePix Pro software interface. The 'Input' section is titled 'Group single-image TIFF files when their file names end in:' and contains a grid of input fields for file name suffixes. The first row has fields for '_635', '_594', '_532', and '_488'. Below this are rows for 'or' followed by suffixes like '_635_nm', '_594_nm', '_532_nm', '_488_nm', and then '_w1', '_w2', '_w3', '_w4', and finally '_ch1', '_ch2', '_ch3', '_ch4'. There are also three empty rows for additional suffixes. The 'Non Axon TIFF files' section has a checkbox for 'Override assign images dialog prompt (as described below)'. Below this, it says 'For multi-image TIFF files GenePix Pro will use the following wavelength names.' and shows a table with the same wavelength names as in the first image: 1st (635), 2nd (594), 3rd (532), and 4th (488).

・ Alignment タブ



Align Features : Feature をアライメントします。

- ・ **Find circular features** :
円形な **Feature** に対して検出を行います。
- ・ **Find square features** :
正方形な **Feature** に対して検出を行います。
- ・ **Find irregular features** :
不規則な **Feature** に対して検出を行います。
- ・ **Resize features during alignment** : **Auto Align** を行なったときに、**Feature** の径を変更するかしないかを選択します。
 - ・ **Minimum diameter[%]** :
Feature の径をどの程度まで小さくするかパーセントで指定します。
 - ・ **Maximum diameter[%]** :
Feature の径をどの程度まで大きくするかパーセントで指定します。

• **Limit feature movement during alignment :**

アライメント中に **feature** を動かす距離を制限します

- **Max translation[μ m]:** : 最大で **10~10000 μ m** までの範囲を自動調整します。

Flag features that fail background threshold criteria: :

バックグラウンド閾値基準に失敗した **Featre** に対してフラグをつけるかどうかを指定します。

Composite pixel intensity(CPI)threshold to include a pixel in a feature during alignment: :

各波長の **Total Intensity** がどの程度までないといけないかを指定します。

Align Blocks : **Block** をアライメントします。

• **Estimate warping and rotation when finding blocks :**

ゆがみと回転を推測してブロックの検出を行います。

Automatic Image Registration : 自動的に **Image** をアライメントします。

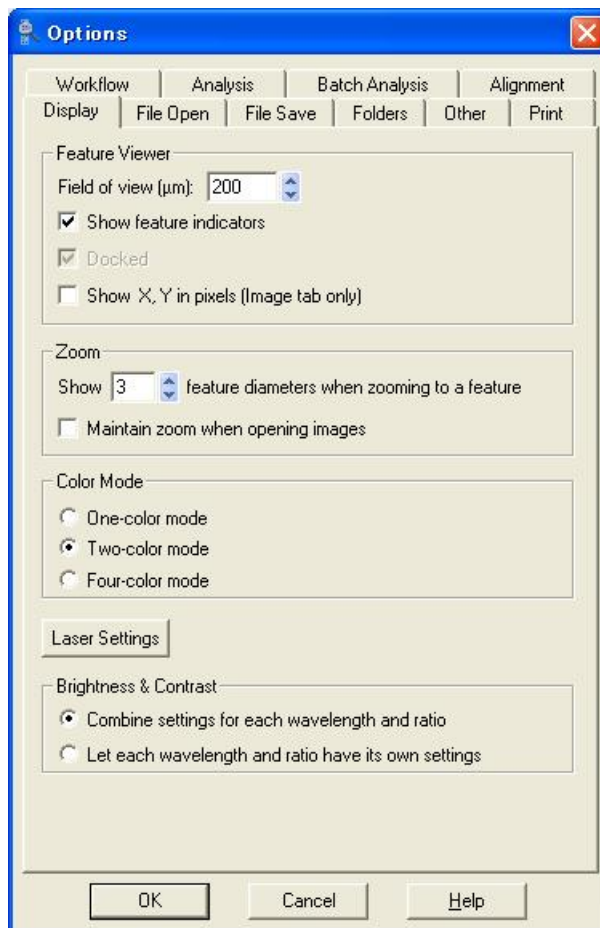
• **Max translation[pixels]:**

最大で **10~100 pixel** までの範囲を自動調整します。

• **Allow sub-pixel alignment**

10pixel 以下の範囲を自動調整します。

・ Display タブ



Feature Viewer : **Image** タブで利用可能な **Feature Viewer** 機能に対する設定項目です。

- ・ **Field of view [µm]** : **Feature Viewer** の一辺の長さを指定します。
- ・ **Show feature indicators** : **Feature** の認識する囲みを表示させます。
- ・ **Docked** : **Four-color mode** の場合のみ、チェックをはずすと **Feature Viewer** のみを切り離して移動することができます。
- ・ **Show X, Y in pixels [Image tab only]** : **Image** タブ上において **Feature** の **X,Y** 座標の位置を **pixel** サイズで表示します。

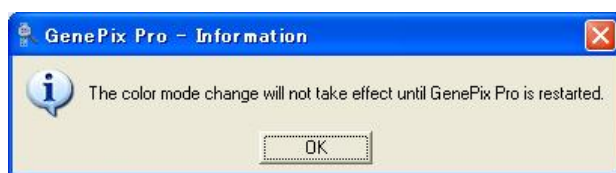
Zoom to Feature

Image タブで、**Feature mode** で **Feature** を選択している場合に“0”キーを押すと、一つの **Feature** が拡大されます。このときの **Feature** を何個まで拡大して表示するかを設定します。

Color Mode

- **One-color mode** : 1 波長の画像を解析する場合にチェックします。
- **Two-color mode** : 2 波長の画像を解析する場合にチェックします。
- **Four-color mode** : 4 波長の画像を解析する場合にチェックします。

注 : モードを変更した場合は、次の画面が表示されます。



ソフトウェアを終了し、再度起動した場合にこの設定が有効になります。

Brightness & Contrast : 輝度とコントラストの Setting

- **Combine settings for each wavelength and ratio** :
波長およびレシオの輝度とコントラストの設定をそれぞれ統一させます。
- **Let each wavelength and ratio have its own settings** :
波長およびレシオ毎に輝度とコントラストの設定を変えることができます。

・ File Open タブ

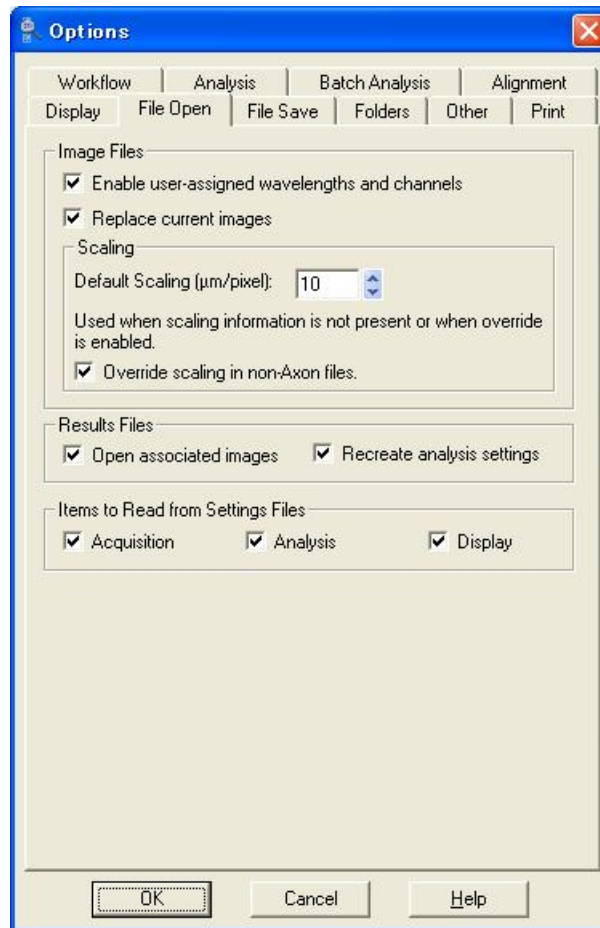


Image Files

- ・ **Enable user-assigned wavelengths and channels** :
ユーザーが指定した波長とチャンネルを有効にします。
- ・ **Replace current images** : 現在の画像を置き換えます。

Scaling

- ・ **Default Scaling[µm/pixel]** : 標準のスケーリングを指定します。
- ・ **Override scaling in non-Axon files.** : Axon 社以外のファイルのスケールを優先します。

Result Files : Result ファイルを設定します。

- ・ **Open associated images** : 関連する画像を開きます。
- ・ **Recreate analysis settings** : 解析の設定を作り直します。

Items to Read from Setting Files : Setting ファイルから読み込む項目を設定します。

- **Acquisition** : 取り込み
- **Analysis** : 解析
- **Display** : 表示

• **File Save** タブ

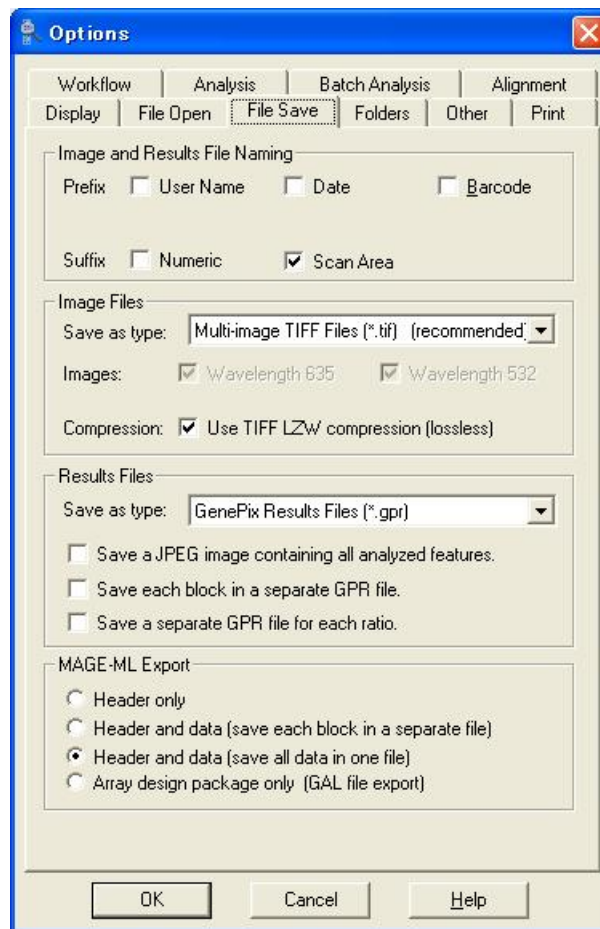


Image and Results File Naming : Image と **Result** のファイル名に付加する情報を選択します。

- **Prefix** : 下記の表示として前に付け加えます
 - **User Name** : ユーザーの名前
 - **Date** : 日付
 - **Barcode** : バーコード
- **Suffix** : 下記の表示として末尾に付け加えます
 - **Numeric** : シーケンシャル
 - **Scan Area** : スキャン領域

Image Files : Image ファイルを設定します。

- **Save as type** : イメージの保存形式を下記のどちらかで選択します。

Multi-image TIFF Files[* .tif] [recommeded] :

Multi-image TIFF ファイル形式 (推奨)

Single-image TIFF Files[* .tif] : Single-image TIFF ファイル形式

- **Wavelength635** : 635nm のイメージ画像を保存します。
- **Wavelength532** : 532nm のイメージ画像を保存します。

Results Files : Result ファイルの設定をします。

- **Save as type** : イメージの保存形式を下記のどちらかで選択します。

GenePix Result Files(*.gpr) : GenePix Pro5.0 以降の機能がすべて使える形式です。

GenePix 3.0 Files(*.gpr) : GenePix Pro3.0 でも読み込める形式です。

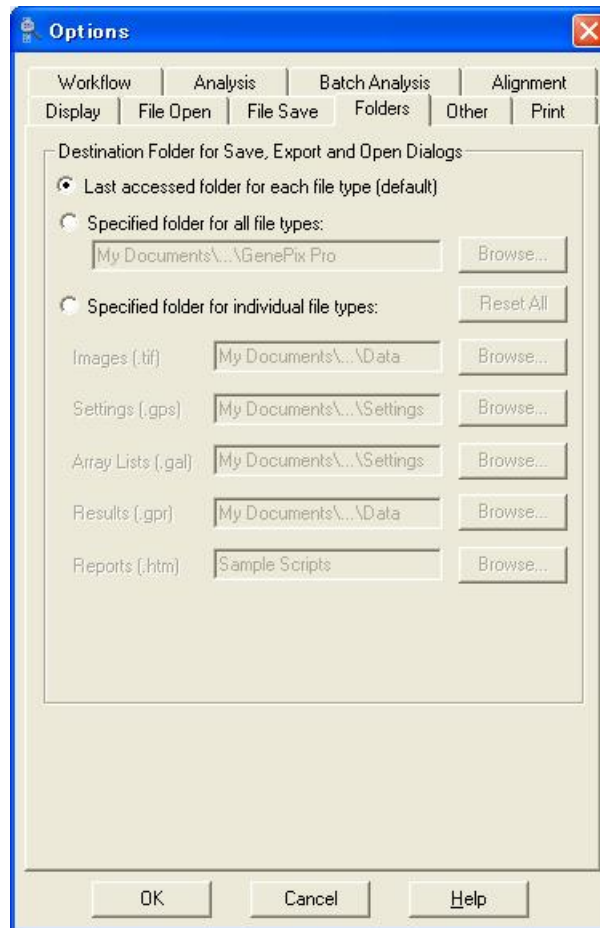
GenePix 4.0 Files(*.gpr) : GenePix Pro4.0 でも読み込める形式です。

- **Save a JPEG image containing all analyzed features.**
すべての解析された feature を含んだ JPEG 画像で保存します。
- **Save each block in a separate GPR file.**
それぞれの block ごとに分けて GPR ファイルで保存します。
- **Save a separate GPR file for each ratio.**
それぞれのレシオを分けて GPR ファイルで保存します。

MAGE-ML Export : MAGE-ML をエクスポートする際、下記の情報を示します。

- **Header only** :
Header 情報のみ表示します。
- **Header and data[save each block in a separate file]** :
Header 情報と各 Block を別々のファイルで保存します。
- **Header and data[save all data in one file]** :
Header 情報とすべてのデータを一つのファイルに保存します。
- **Array design package only[GAL file export]** :
アレイデザインパッケージ (GAL ファイルのエクスポート) のみ表示します。

・ Folders タブ

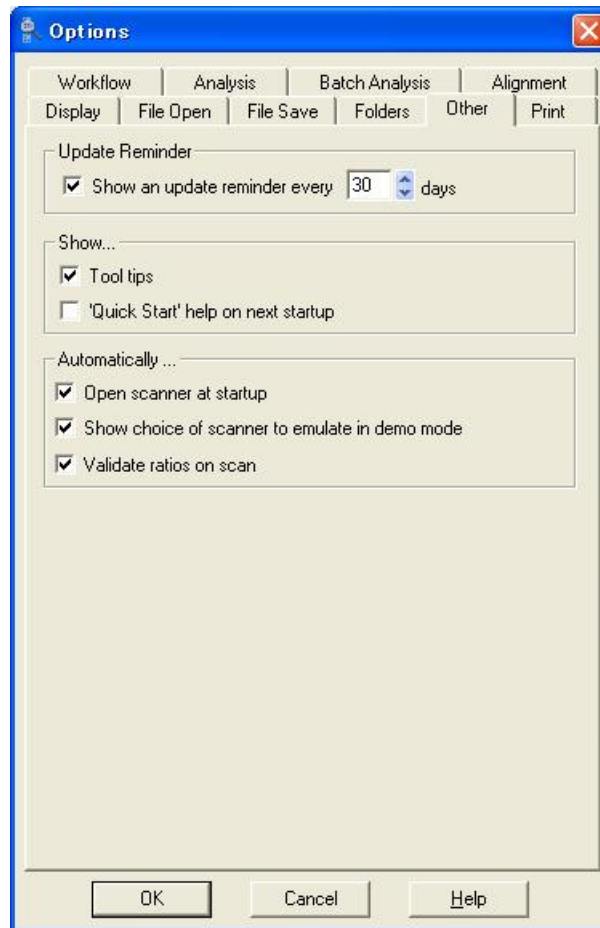


Destination Folder for Save , Export and Open Dialogs :

保存、エクスポート、ダイアログを開くためのフォルダ先を設定します。

- ・ **Last accessed folder for each files type[default] :**
それぞれのファイルに対し、最後にアクセスしたフォルダ場所に設定します。
- ・ **Specified folder for all files types :**
すべてのファイルに対し、フォルダ場所を設定します。
- ・ **Specified folder for individual file types :**
個々のファイル (Image , Setting , Array List , Result , Report など) に対し、フォルダ場所を設定します。

・ Other タブ



Update Reminder : アップデートの提示

- ・ **Show an update reminder every xx days** :
バージョンアップのお知らせを指定した間隔毎に提示します。

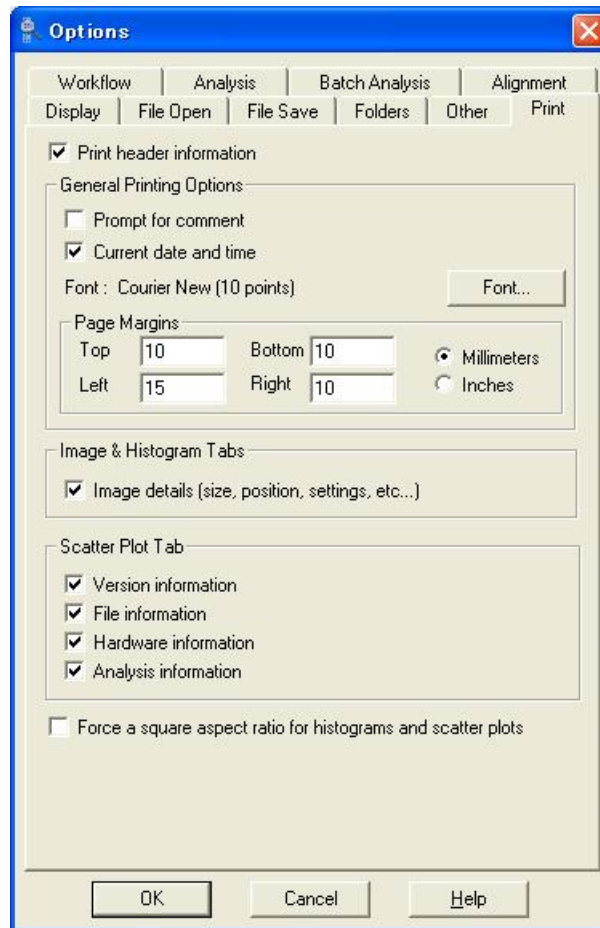
Show... : 表示

- ・ **Tool tips** : 各アイコン部分にカーソルを持っていくと、アイコン名が表示されます。
- ・ **'Quick Start' help on next startup** : 起動時にヘルプを表示します。

Automatically... : 自動化

- ・ **Open scanner at startup** : 起動後、スキャナーを認識させます。
- ・ **Show choice of scanner to emulate in demo mode** :
デモモードで対応させるために、スキャナー選択画面を表示させます。
- ・ **Validate ratios on scan** : スキャン上のレシオを有効にします。

・ Print タブ



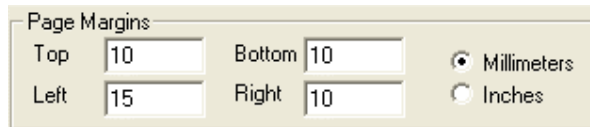
・ **Print header information** : ハードの情報を表示し、印刷します。

General Printing Options : プリンターのオプション設定

- ・ **Prompt for comment** : コメントを入力し、印刷します。
- ・ **Current date and time** : 印刷した日付と時間を表示します。

Font... : フォントを設定します。クリックしますと次の画面が表示されます。





• **Page Margins** : ページの余白設定

- **Top** : 上の余白を設定します。
- **Bottom** : 下の余白を設定します。
- **Left** : 左の余白を設定します。
- **Right** : 右の余白を設定します。
- **Millimeters** : ミリメートル単位で表示します。
- **Inches** : インチ単位で表示します。

Image & Histogram Tabs : **Image** タブと **Histogram** タブ設定

- **Image details[size , position , setting , etc...]** :
Image、**Histogram** タブでの画像のサイズ、**Setting** 情報などを表示し、印刷します。

Scatter Plot Tab : **Scatter Plot** タブの設定

- **Version information** : **Scatter Plot** タブでのバージョン情報を表示し、印刷します。
- **File information** : **Scatter Plot** タブでのファイル情報を表示し、印刷します。
- **Hardware information** : **Scatter Plot** タブでのハードウェア情報を表示し、印刷します。
- **Analysis information** : **Scatter Plot** タブでの解析情報を表示し、印刷します。

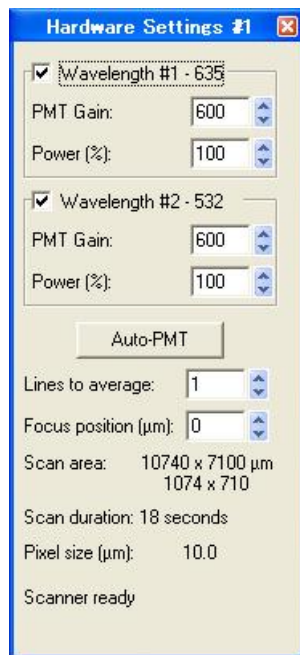
• **Force a square aspect ratio for histograms and scatter plots** :

Histogram と **Scatter Plot** を正方形に表示し、印刷します。

1.1.14 Hardware Settings

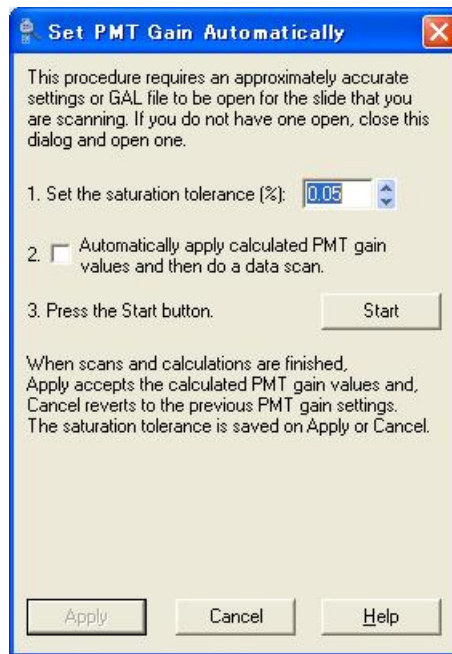


光電子増倍管の感度調整（PMT）を行います。このボタンを押しますと次の画面が表示されます。



- **Wavelength 635nm** : チェックをしない場合は、画像表示されません。
 - **PMT Gain** : 635nm の PMT ゲインを指定します。
 - **Power(%)** : 635nm のレーザーパワーを指定します。
(4000B では 10 , 30 , 100 の 3 段階調整可能、4100A では調整不可、4300A/4400A では 5~100%まで調整可能となります。)
- **Wavelength 532nm** : チェックをしない場合は、画像表示されません。
 - **PMT Gain** : 532nm の PMT ゲインを指定します。
 - **Power(%)** : 532nm のレーザーパワーを指定します。
(4000B では 10 , 30 , 100%の 3 段階調整可能、4100A では調整不可、4300A/4400A では 5~100%まで調整可能となります。)

: **PMT Gain** の自動調整を行います。クリックすると以下の画面が表示されます。



1. アレイ全体の飽和状態を何%までとするかを設定します。最大**0～2(%)**まで変更可能です。
2. チェックを入れると指定された **PMT Gain** 値 (**350**) から感度調整を開始し、計算された **PMT Gain** 値が自動入力され、データスキャンまでを自動で行う設定となります。もし、チェックを入れない場合には画面下にそれぞれの **PMT Gain** 値が表示されますので “**Apply**” ボタンを押して **Hardware Setting** に入力します。
3. “**Start**” ボタンをクリックして自動感度調整を開始します。

Line to average : スキャンを複数回して平均値を利用する場合の回数を指定します。

Focus position[μm] : 焦点位置を調整します。(-50 μm ～200 μm)

Scan area : **Data Scan** によりスキャンするサイズが表示されます。

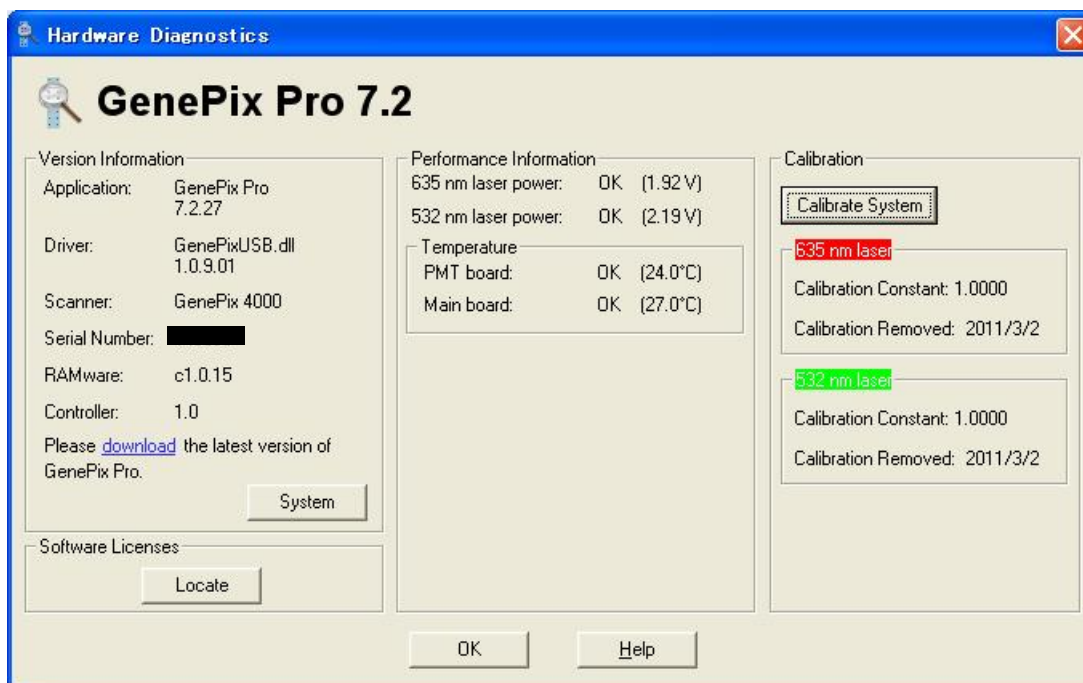
Scan duration : **Data Scan** のスキャン時間が表示されます。

Pixel size[μm] : データスキャン時の解像度を指定します。

1.1.15 Hardware Diagnostics



ソフトウェア、ハードウェアの現在の状態を表示します。



Version Information : バージョン情報

- **Application** : ソフトウェア名とソフトウェアのバージョン番号が表示されます。この画面では、次のようになります。
 - ソフトウェア名 : **GenePix Pro**
 - バージョン番号 : **7.2.2.27**
- **Driver** : 現在使用しているスキャナーを制御するドライバのソフトウェア名とバージョン番号が表示されます。この画面では、次のようになります。
 - ソフトウェア名 : **AxGenePixDemo.dll**
 - バージョン番号 : **2.1.1.29**
- **Scanner** : 現在使用しているスキャナー名が表示されます。スキャナーを接続していない場合は、次のようになります。
 - **GenePix 4000(Emulated)**
- **Serial Number** : 現在使用しているスキャナーのシリアル番号が表示されます。スキャナーを接続していない場合は、次のようになります。
 - **0**

- ・ **RAMware** : 現在使用しているスキャナーのファームウェアが表示されます。
- ・ **Controller** : 現在使用しているスキャナーの PIC のバージョンが表示されます。
スキャナーを接続していない場合は、次のようになります。

- ・ **0.0**

Please [download](#) the latest version of **GenePix Pro** : 最新のソフトウェアへアップデートする場合に、[download](#) をクリックして下さい。自動的に、インターネットブラウザが起動し、ダウンロード可能なサイトへ以降します。ライセンスキーがない場合は、表示されません。

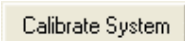
Performance Information : 性能情報

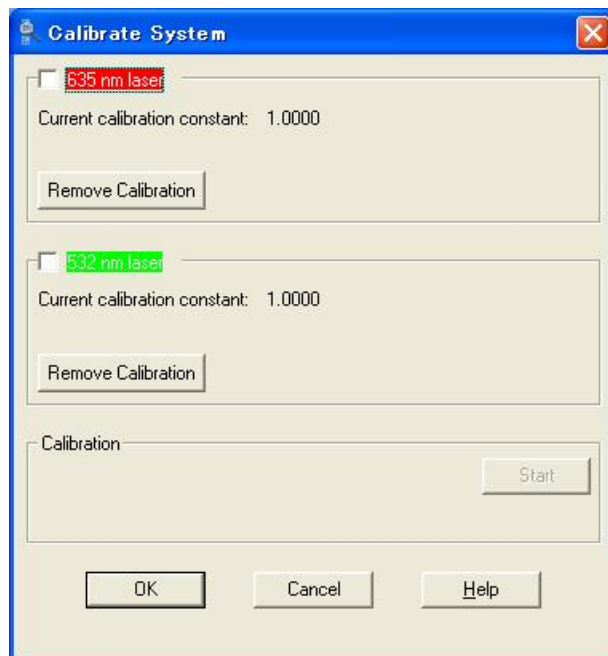
- ・ **635 nm laser power** :
635 nm のレーザー状態が表示されます。「**OK**」の表示ならば、問題ありません。
「**OK**」以外の表示ならば、弊社担当へご連絡下さい。
- ・ **532 nm laser power** :
532 nm のレーザー状態が表示されます。「**OK**」の表示ならば、問題ありません。
「**OK**」以外の表示ならば、弊社担当へご連絡下さい。
- ・ **Temperature** : スキャナーの内部温度が表示されます。
PMT board : **PMT board** の温度表示となります。「**OK**」の表示ならば、問題ありません。
Main board : **Main board** の温度表示となります。「**OK**」以外の表示ならば、弊社担当へご連絡下さい。

Calibration の操作方法

・ Calibrate System

スキャナーが複数ある場合、各スキャナーの感度キャリブレーションのために利用します。

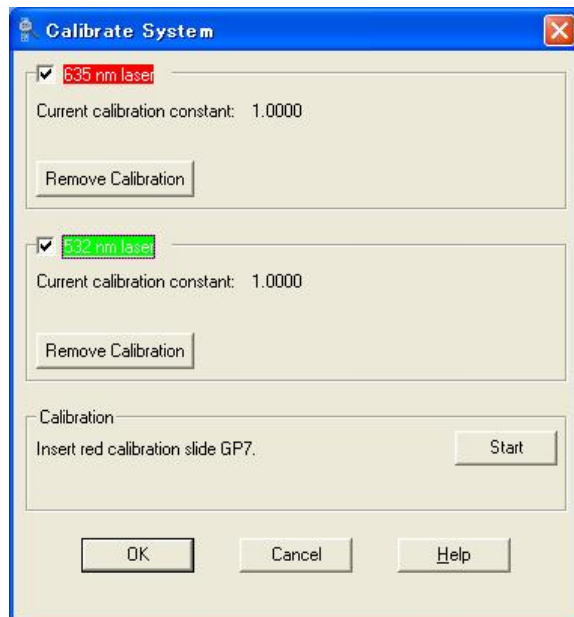
 このボタンを押すと下記の画面が表示されます。各機能は、次の通りです。



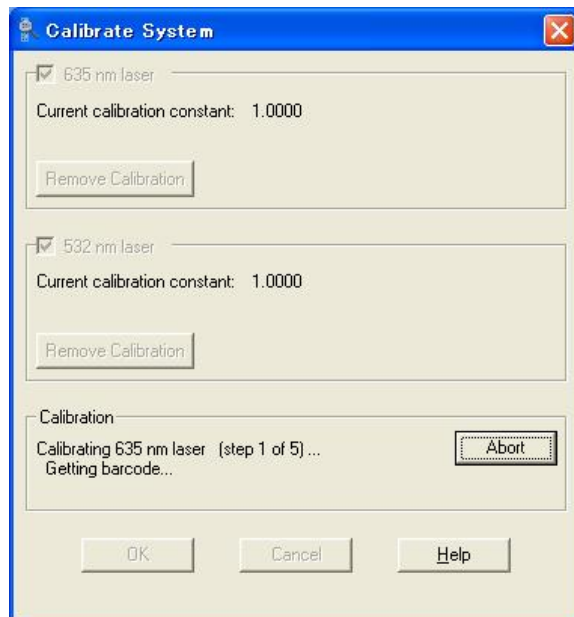
- ・ **635 nm laser** : **635nm** のキャリブレーションを行いたい場合に、チェックします。
Current calibration constant : 現在の **635 nm** レーザーのキャリブレーション定数です。
Remove Calibration :
現在の **635 nm** レーザーのキャリブレーション定数を破棄し、**1.000** を利用します。
- ・ **532 nm laser** : **532nm** のキャリブレーションを行いたい場合に、チェックします。
Current calibration constant : 現在の **532 nm** レーザーのキャリブレーション定数です。
Remove Calibration :
現在の **532 nm** レーザーのキャリブレーション定数を破棄し、**1.000** を利用します。

1.1.15 Calibration の方法について

はじめに“635 nm laser” および “532 nm laser” にチェックを入れます。

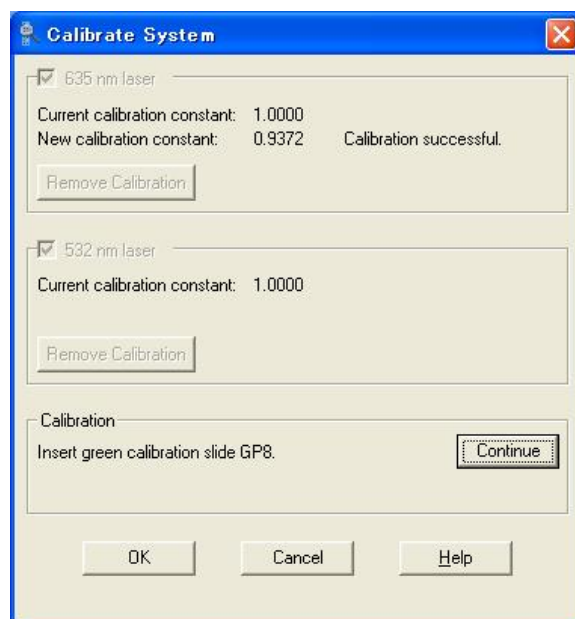


両レーザーにチェック後、画面下に“Insert red calibration slide GP7.”と表示されますので **GenePix4000B** にキャリブレーションスライド **GP-7** スライド (赤色) をセットします。セットが完了しましたら“**Start**” ボタンをクリックします。すると以下のように **635nm laser** のキャリブレーションを行い **Step1** から **5** までスキャンを行います。

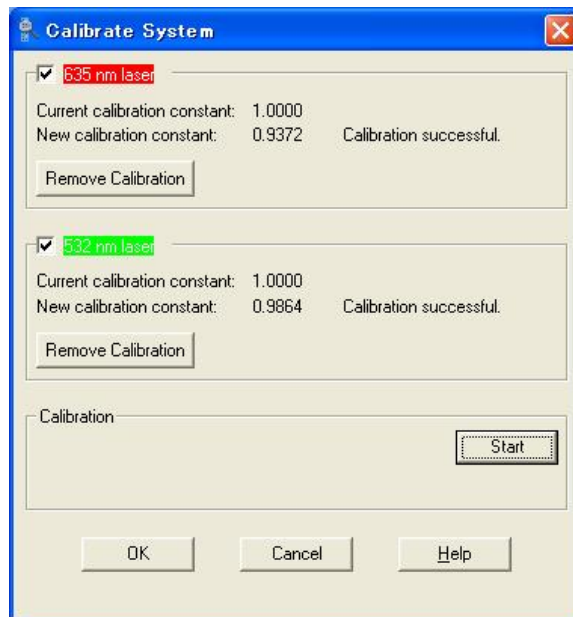


Step5 までのスキャンが完了しましたら “**New calibration constant: 数値**” で正常であれば “**Calibration successful.**” と表示されます。

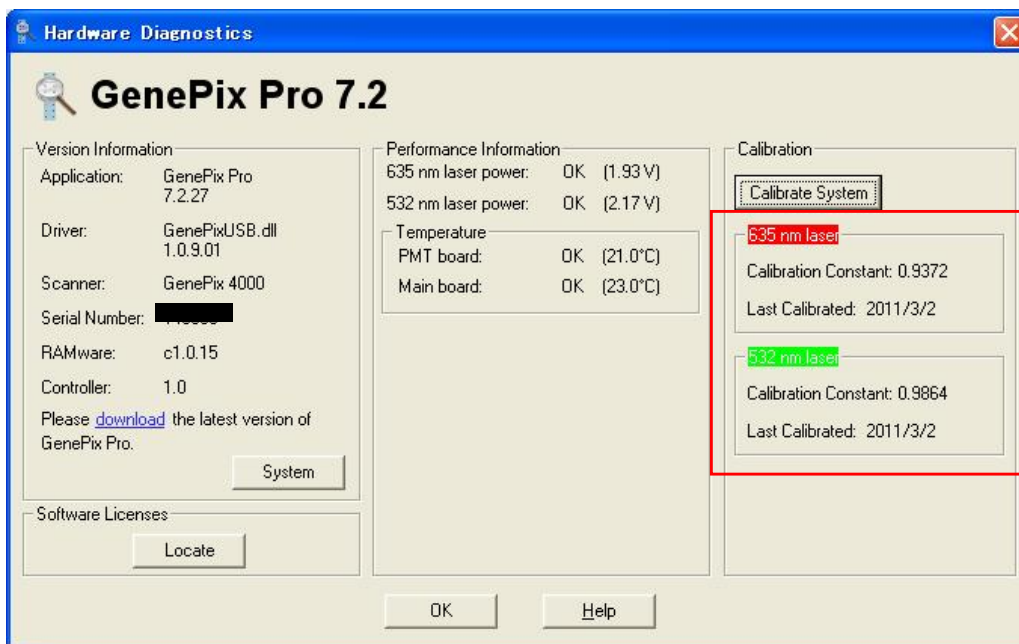
同時に画面下に “**Insert green calibration slide GP8**” と表示されますので、キャリブレーションスライド **GP-8** スライド（緑色）に入れ替えます。セットしましたら “**Continue**” ボタンをクリックします。



635nm laser と同様に **Step1** から **5** までスキャンを行います。**Step5** までのスキャンが完了しましたら “**New calibration constant: 数値**” で正常であれば “**Calibration successful.**” と表示されます。



最後に“OK”ボタンをクリックします。**Hardware Diagnostics**にキャリブレーションの数値と作業を実施した日付が表記されるようになります。



*ソフトウェアのバージョンが**7.1.1.26**にて表記しております。作業内容は変わりません。

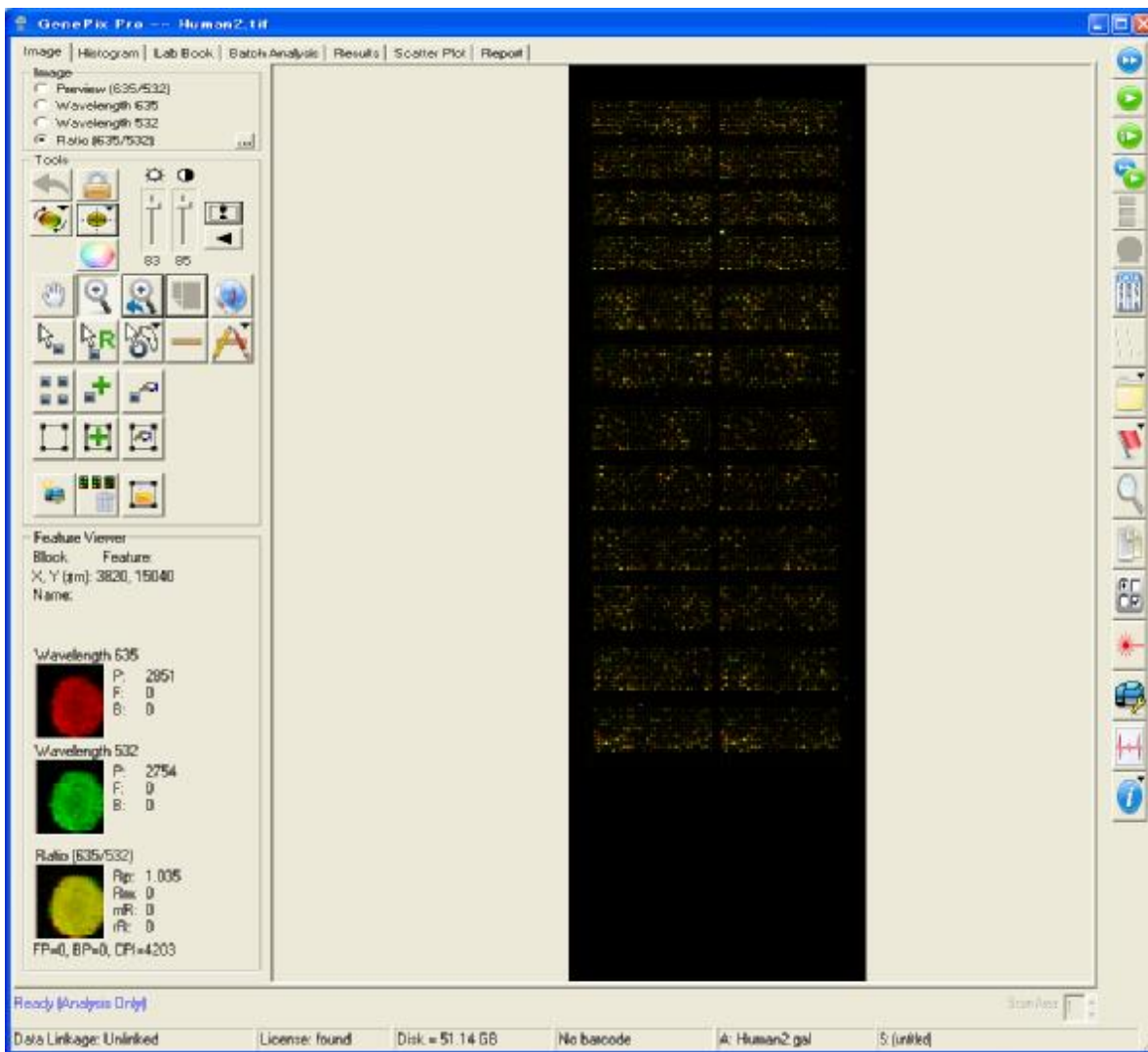
1.1.17 Help



オンラインヘルプを表示します。

1.2 Image タブ

Image タブはスキャナーから取り込まれたイメージを疑似カラーで表示します。解析領域の設定、カラーセレクションなどの設定も行います。



画面の下には、ステータスバーがあり、現在の状態を表示しています。左側から、次のような内容が表示されています。

Ready : 現在の **GenePix** ソフトウェアの動作状態を示します。

Unlinked : 解析されていない状態。解析されていれば **Linked** と表示されます。

Hardware Key : ソフトウェア制御キー(dongle)を認識しているかどうかを表示します。

not found : Dongle を認識していない状態です。

found : Dongle を認識している状態です。

Disk : ハードディスクの空き容量を表示します。

B : バーコードを表示します。

A : アレイリストファイル名を表示します。

S : **GenePix Setting** ファイル名を表示します。

バーコードは、ソフトウェアの機能で搭載しているため、**GenePix** 以外で取得した画像にも摘要
できます。バーコードは、どこに書かれていても問題はありませんが、水平、垂直から傾いている
と読みとれない場合があります。また、現在サポートされていないバーコードもあります。

ブロックがなく、画像が表示されている箇所では右クリックすると、次の画面が表示されます。

Block Mode	B
● Zoom Mode	Z
Feature Mode	F
Replicate Block Mode	R
Hand Mode	H

Block Mode : **Block** モードにします。

Zoom Mode : **Zoom** モードにします。

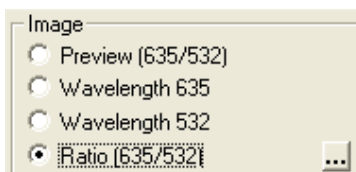
Feature Mode : **Feature** モードにします。

Replicate Block Mode : **Replicate Block** モードにします。

Hand Mode : **Hand Mode** モードにします。

1.2.1 Image

画面にどの画像を表示させるかを選択します。



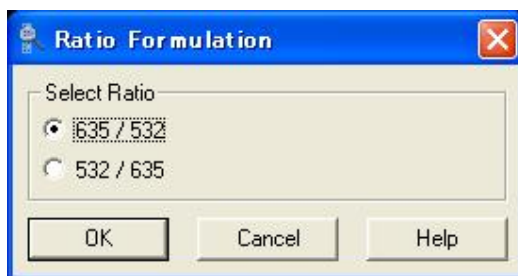
Preview[635/532] : Preview Scan(1.1.1)で取得したレシオ画像

Wavelength 635 : Data Scan(1.1.2)で取得した **635 nm** の画像

Wavelength 532 : Data Scan(1.1.2)で取得した **532 nm** の画像

Ratio[635/532] : Data Scan(1.1.2)で取得したレシオ画像

... このボタンをクリックしますと次の画面が表示されます。



Select Ratio : レシオ比を選択します。

• **635 / 532** or **532 / 635**

1.2.2 Tools(Ctrl+L)

1.2.2.1 Lock Settings(Ctrl+L)



一度設定した **Block** 及び **Feature** グリッドを動かないように固定します。

1.2.2.2 Undo Move Region(Ctrl+Z)



Zoom(1.2.8)、**Feature** の操作以外の操作を一回取り消します。

1.2.2.3 Align Blocks



解析ブロック・スポットを自動で位置合わせ（オートアライメント）します。また特定の検索も行うことができます。このボタンをクリックしますと、次の画面が表示されます。

Find Array, Find All Blocks, Align Features F8 Options...	
Find Array	Alt+Shift+F7
Find Selected Array	Alt+F7
Find All Blocks	Shift+F7
Find Selected Blocks	F7
Find All Blocks, Align Features	Shift+F6
Find Selected Blocks, Align Features	F6
Align Features in All Blocks	Shift+F5
Align Features in Selected Blocks	F5
Align Selected Features	Alt+F5

Find Array , Find All Block , Align Features :

Array を検出し、**Block** を検出した後に **Feature** のアライメント行います。

Options... :

オプション機能(1.1.12)の設定を行います。

Find Array :

Array を検出します。

Find Selected Array :

選択された **Array** を検出します。

Find All Blocks :

すべての **Block** を検出します。

Find Selected Blocks :

選択された **Block** を検出します。

Find All Blocks , Align Features :

すべての **Block** を検出した後に **Feature** をオートアライメントします。

Find Selected Blocks , Align Features :

選択した **Block** を検出した後に **Feature** をオートアライメントします。

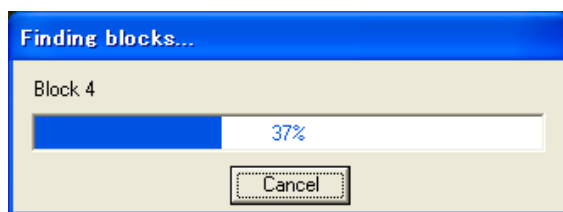
Align Features in All Blocks :

すべての **Block** において **Feature** をオートアライメントします。

Align Selected Features :

選択した **Feature** のオートアライメントを行います。

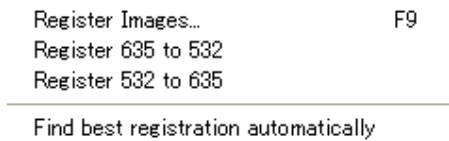
オートアライメント中は次のような画面が表示されます。100%になるまでお待ち下さい。



1.2.2.4 Image Tools

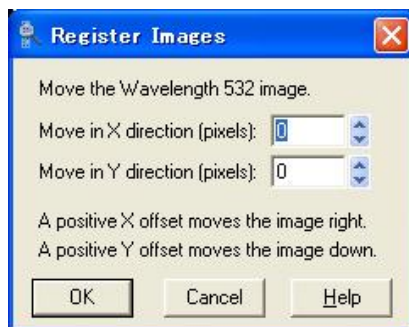


二枚の画像の位置調整および画像の回転を行います。このボタンをクリックしますと次の画面が表示されます。



Register Images...

この項目を選択しますと次の画面が表示されます。



Move the Wavelength 532 image.

Wavelength 532 nm の画像をそれぞれ X, Y 方向に動かします。(単位: ピクセル)

Move in X direction[pixels]: 調整したいピクセル分だけ X 方向 (右) に動かします。

Move in Y direction[pixels]: 調整したいピクセル分だけ Y 方向 (下) に動かします。

Register 635 nm to 532 nm :

532 nm の TIFF 画像を固定し、635 nm の TIFF 画像を動かして画像ずれを調整します。

Register 532 nm to 635 nm

635 nm の TIFF 画像を固定し、532 nm の TIFF 画像を動かして画像ずれを調整します。

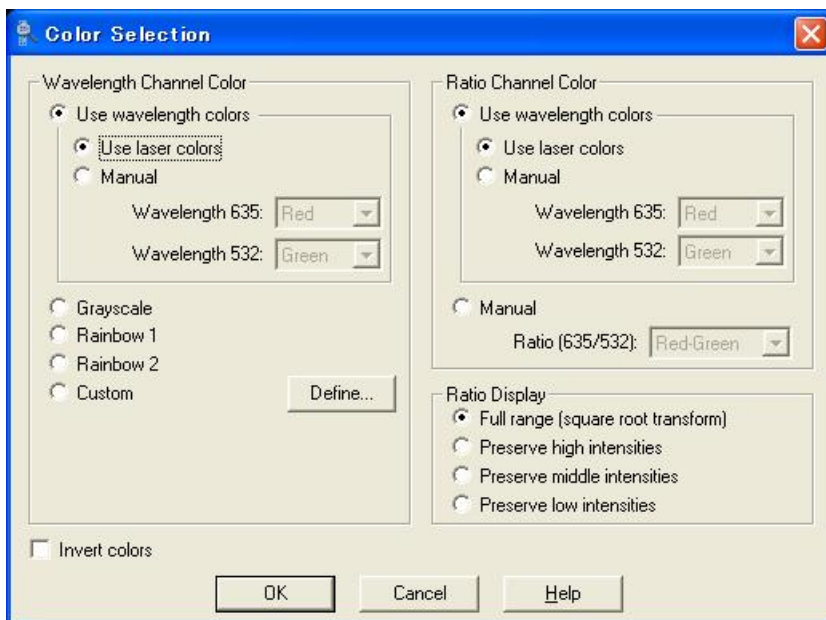
Find best alignment automatically

635 nm の TIFF 画像と 532 nm の TIFF 画像の画像ずれを自動的に最良の位置へ調整します。

1.2.2.5 Color Selection(C)



レシオ画像のカラーテーブルを変更します。このボタンをクリックしますと次の画面が表示されます。



Wavelength Channel Color :

それぞれの Wavelength 画像に対して疑似カラー表示を行います。








- Use wavelength colors
- Use laser colors

通常のカラータブル (Wavelegth635 nm に赤、Wavelegth532 nm に緑) を使用します。

• **Manual**

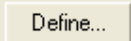
それぞれの **Wavelength 635 nm** と **Wavelength 532 nm** に [Red , Green , Blue , Yellow] の中からカラーテーブルを任意に設定します。

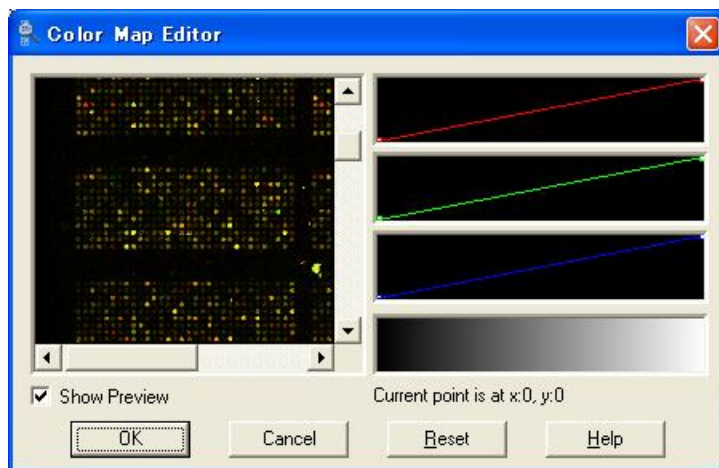
次に **Red , Green , Blue , Yellow , Gray , Rainbow1, Rainbow2** のカラーテーブルを下記に表示します。

- **Red Scale** 
- **Green Scale** 
- **Blue Scale** 
- **Yellow Scale** 
- **Gray Scale** 
- **Rainbow1** 
- **Rainbow2** 

• **Custom**

それぞれの **Wavelength** 画像のカラーテーブルをカスタムに設定します。

 このボタンをクリックしますと次の画面が表示されます。



Custom に設定することで、それぞれの **Wavelength** に対して **RGB** のコントラストを任意に変更することができます。

Ratio Channel Color

Ratio 画像に対して疑似カラー表示します。

- **Use wavelength colors**

 - Use laser colors**

 - 通常のカラーテーブル (**Wavelegth635 nm** に赤、**Wavelegth532 nm** に緑) を使用します。

 - Manual**

 - それぞれの **Wavelength 635 nm** と **Wavelength 532 nm** を [**Red , Green , Blue , Yellow**] の中からカラーテーブルを任意に設定します。

- **Manual**

- レシオ画像を [**Red-Green , Red-Blue , Green-Blue**] の中からカラーテーブルを任意に設定します。

 - Red-Green**

 - Wavelength 635 nm** に赤、**Wavelength 532 nm** に緑のカラーテーブルにします。

 - Red-Blue**

 - Wavelength 635 nm** に赤、**Wavelength 532 nm** に青のカラーテーブルにします。

 - Green-Blue**

 - Wavelength 635 nm** に緑、**Wavelength 532 nm** に青のカラーテーブルにします。

Ratio Display

- **Full range(square root transform)**

- 各波長の **Intensity** を計算し **8bits** とし、 $8bits + 8bits = 16bits = 2^{16} = 65536$ 色の疑似カラーを表現しています。

- **Preserve high Intensity**

- 各波長の **Intensity** が **256** ~ **65535** に疑似カラーをつけて表示します。**255** 以下は暗くなります。

- **Preserve middle Intensity**

- 各波長の **Intensity** が **16** ~ **4095** に疑似カラーをつけて表示します。**16** 以下は暗く、**4095** 以上は飽和状態にします。

- **Preserve low Intensity**

- 各波長の **Intensity** が **0** ~ **255** に疑似カラーをつけて表示します。**255** 以上は飽和状態にします。

1.2.2.6 Hand Mode(H)



自由に画像を移動することができます。

1.2.2.7 Zoom Mode(Z)



画面を拡大できる **Zoom** モードにします。通常は **Zoom Mode** を選択し、画面にて拡大したい部分をドラッグし囲んで頂きます。一度拡大するとこのモードは解除されないのので何度でも拡大することができます。また、このモードを選択して拡大したい部分をクリックしますと約 **2** 倍に拡大されます。

1.2.2.8 Undo Zoom(Alt+Z)



Zoom 操作を一回取り消します。つまり、一つ前の拡大率に戻します。

1.2.2.9 Zoom Full Scale(Alt+F)



全体の画像を表示します。

1.2.2.10 Navigation Tool(Alt+V)



このアイコンをクリックしますと下記のようなナビゲーションウィンドウが表示され、その中で **Image** 画像を自由に拡大・縮小・移動することができます。



1.2.2.11 Block Mode(B)



Block を操作可能なモードになります。

Alt + クリックしながらドラッグすると **Zoom** することができます。

Del で選択された **Block** を消去できます。

Ctrl + クリックしながらドラッグすると **Block** を複製することができます。

Ctrl + **A** で全ての **Block** を選択できます。

←, ↑, →, ↓ で指定した **Block** を移動することができます。

Ctrl+←, Ctrl+↑, Ctrl+→, Ctrl+↓ で指定した **Block** を拡大縮小することができます。

+ , - で指定した **Block** を回転することができます。指定したブロック上で右クリックすると次のような画面が表示されます。

Positioning Hot Keys	Arrows
Stretch Hot Keys	Ctrl+Arrows
Rotate Hot Keys	+ / -
Pivot Hot Keys	Ctrl + / -
<hr/>	
Block Properties...	F10
<hr/>	
Delete Block	Del
<hr/>	
• Block Mode	B
Zoom Mode	Z
Feature Mode	F
Replicate Block Mode	R
Hand Mode	H

Positioning Hot Keys (Arrows) : 移動はで行なえます。

Stretch Hot Keys (Ctrl+Arrows) : 形の ←, ↑, →, ↓ 変形は、

Ctrl+←, Ctrl+↑, Ctrl+→, Ctrl+↓ で行なえます。

Rotate Block (+ / -) : 回転は、+ , -で行なえます。

Block Properties... (F10) : **Block / Scan Area Properties(1.2.20)**ダイアログを表示します。キーボードの **F10** を押しますと次の画面が表示されます。



*詳細は **New Blocks(1.2.19)**を参照。

Delete Block (Del) : 現在のブロックを削除します。

Block Mode (B) : **Block** モードにします。

Zoom Mode (Z) : **Zoom** モードにします。

Feature Mode (F) : **Feature** モードにします。

Replicate Block Mode (R) : **Replicate Block** モードにします。

1.2.2.12 Replicate Block Mode(R)



ブロックのない箇所でクリックすることにより、最後に指定したブロックを複製する **Replicate Block** モードにします。その他の機能は、**Block** モードと同等です。

1.2.2.13 Feature Mode(F)

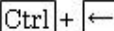
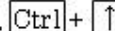
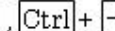
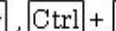


Feature を操作する **Feature** モードにします。

指定した **Feature** 上で右クリックすると次のような画面が表示されます。

Positioning Hot Keys	Arrows
Diameter Adjustment	Ctrl+Arrows
Move Selected Feature	Alt+Arrows
Cycle through Selection	[]
Zoom to Feature	0
<hr/>	
Go to Web	W
<hr/>	
Flag Good	O
Flag Bad	A
Flag Absent	T
Flag Not Found	N
User Defined Flags	
Configure User Defined Flags...	
Clear Flags	L
Clear Flags Except Absent	X
<hr/>	
Include in Normalization	M
Remove from Normalization	Ctrl+M
<hr/>	
Clear Nudges	Ctrl+U
<hr/>	
Show Local Feature Background	
<hr/>	
Block Properties...	F10
Pixel Plot	P
<hr/>	
Block Mode	B
Zoom Mode	Z
● Feature Mode	F
Replicate Block Mode	R
Hand Mode	H

Positioning Hot Keys  ,  ,  ,  (**Arrows**) : 移動はで行えます。

Diameter Adjustment (Ctrl+Arrows) : 大きさの変更は、
 ,  ,  ,  で行えます。

Move Selected Feature (Alt+Arrows) : 選択した **Feature** を動かします。

Cycle through Selection ([,]) : 選択した **Feature** にカーソルを合わせ、カーソルを **1Feature** ずつ左右に移動させます。

Zoom to Feature (0) : **Feature** を **Zoom** することができます。

Go to Web : 選択された **Feature** の **Data** を **Option(1.1.13)**より設定された **Address** より **Web** 上にて検索します。

Flag Good (O) : 指定した **Feature** に **Good Flag** をつけます。

Flag Bad (A) : 指定した **Feature** に **Bad Flag** をつけます。

Flag Absent (T) : 指定した **Feature** に **Absent Flag** をつけます。

Flag Not Found (N) : 指定した **Feature** に **Not Found Flag** をつけます。

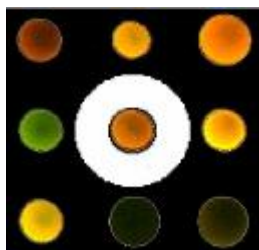
Clear Flag (L) : 指定した **Feature** の **Flag** を **Clear** にします。

Include in Normalization (M) : 指定した **Feature** に **Normalize Flag** を立てます。

Remove from Normalization (Ctrl+M) : **Normalize Flag** を無効にします。

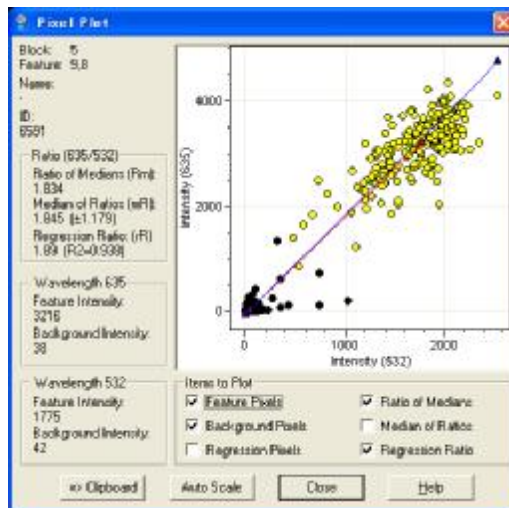
Clear Nudges (Ctrl+U) : 選択された **Feature** の直径、座標を標準状態へ戻します。

Show local Feature Background : この項目を選択すると、下図のように指定した **Feature** の **Background** 領域(白く表示された部分)を見ることができます。



Block Properties (F10) : **Block / Scan Area Properties(1.2.20)**ダイアログを表示します。

Pixel Plot P : 選択している **Feature** の各 **Pixel** の波長 1 の **Intensity** を縦軸に、波長 2 の **Intensity** を横軸にし、グラフ化します。次のようなグラフが表示されます。



Block : **Block** の番号

Feature : **Column** の番号と **Row** の番号

Name : 遺伝子名

ID : 遺伝子 ID

Ratio Type : どの **Ratio** を表示するかを選択します。

Ratio of Median (Rm) : 中央値のレシオ

Median of Ratios (mR) : 各ピクセルのレシオの中央値

Regression Ratio (rR) : **Feature** の 2 倍の半径の回帰比

Wavelength 635 : 波長 635 nm 時の情報

Feature Intensity : **Feature** の輝度の中央値

Background Intensity : バックグラウンドの輝度の中央値

Wavelength 532 : 波長 532 nm 時の情報

Feature Intensity : **Feature** の輝度の中央値

Background Intensity : バックグラウンドの輝度の中央値

Items to Plot : 横軸 532 nm の輝度、縦軸 635 nm の輝度をグラフで描画する項目

Feature Pixels : 各ピクセルの **Feature Intensity**

Background Pixels : 各ピクセルの **Background Intensity**

Regression Pixels : **Feature** の半径の 2 倍の領域の **Intensity**

Ratio of Medians : 中央値のレシオ

Median of Ratios : 各ピクセルのレシオの中央値

Regression Ratio : 回帰比

=> Clipboard

現在画面に表示されているタブの内容をクリップボードにデータを転送します。

Auto Scale

現在表示されているグラフの横軸、縦軸をコンピュータが見やすいと思われる大きさに自動調整します。

Block Mode (B) : **Block** モードにします。

Zoom Mode (Z) : **Zoom** モードにします。

Feature Mode (F) : **Feature** モードにします。

Replicate Block Mode (R) : **Replicate Block** モードにします。

Hand Mode : **Hand** モードにします。

1.2.2.14 Measuring Tools



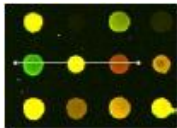
このアイコンをクリックすると次の画面が表示されます。

Simple Line Profile
Polyline Profile
Rectangular Averaged Line

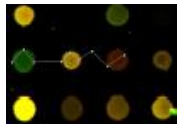
ライン上の各ピクセルにおける輝度を表示します。

Rectangular Region
Polygonal Region
Elliptical Region

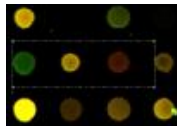
指定した枠内の最大頻度を 1 とした場合の各輝度における頻度の割合を表示します。(ヒストグラム)



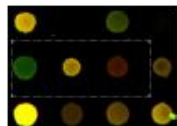
Simple Line Profile : 直線を引きます。



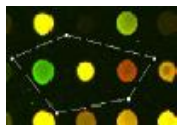
Polyline Profile : 多様線を引きます。



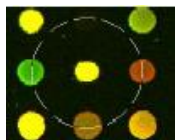
Rectangular Averaged Line : 四角形線を引きます。(Y 軸のピクセル輝度の積算値を平均化したものを表示)



Rectangular Region : 四角形を描きます。



Polygonal Region : 多角形を描きます。



Elliptical Region : 円を描きます。

1.2.2.15 View Measuring Tools(Ctrl+M)



このアイコンをクリックすると、次の画面が表示されます。
横軸にピクセル数、縦軸に **Intensity** をとり、グラフとして表示します。

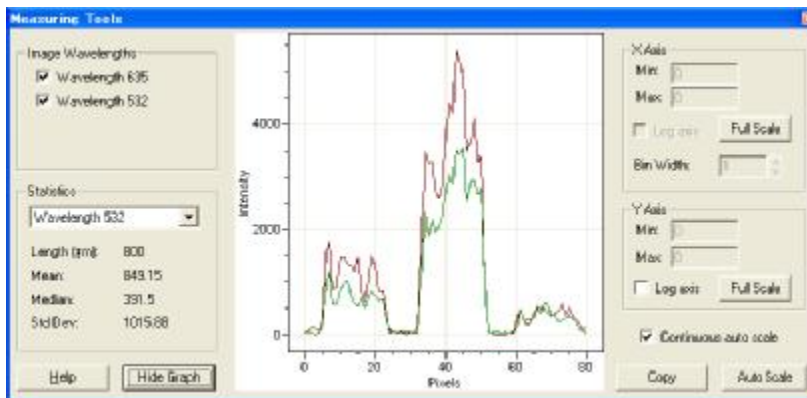


Image Wavelengths

Wavelength 635

Wavelength 532

Statistics

Wavelength 532

Length (μm): 800

Mean: 849.15

Median: 391.5

Std Dev: 1015.88

Wavelength 635 nm を表示します。
Wavelength 532 nm を表示します。

計算値を表示したい波長を指定します。

Length[μm] : ライン間の距離

Mean : ライン間のピクセル輝度の平均値

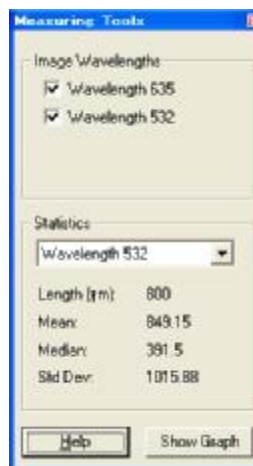
Median : ライン間のピクセル輝度の中央値

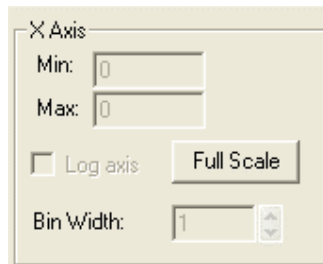
Std Dev : ライン間のピクセル輝度の標準偏差値

Help ヘルプ画面にリンクします。

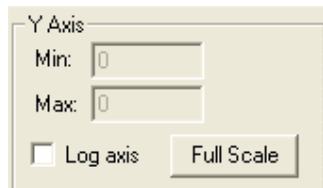
Show Graph 右図のようにグラフを消去します。

Hide Graph グラフを表示します。





- Min** : X 軸の最小値を設定します。
- Max** : X 軸の最大値を設定します。
- Log axis** : X 軸を対数表示します。
- Full Scale** : X 軸を全ての値を有効にします。
- Bin Width** : X 軸の表示間隔を設定します。




- Min** : Y 軸の最小値を設定します。
- Max** : Y 軸の最大値を設定します。
- Log axis** : Y 軸を対数表示します。
- Full Scale** : Y 軸を全ての値を有効にします。

Continuous auto scale 常にコンピュータが見やすいと思われる大きさに表示します。


Copy グラフをコピーします。貼り付けるアプリケーションにより図または数値で表示します

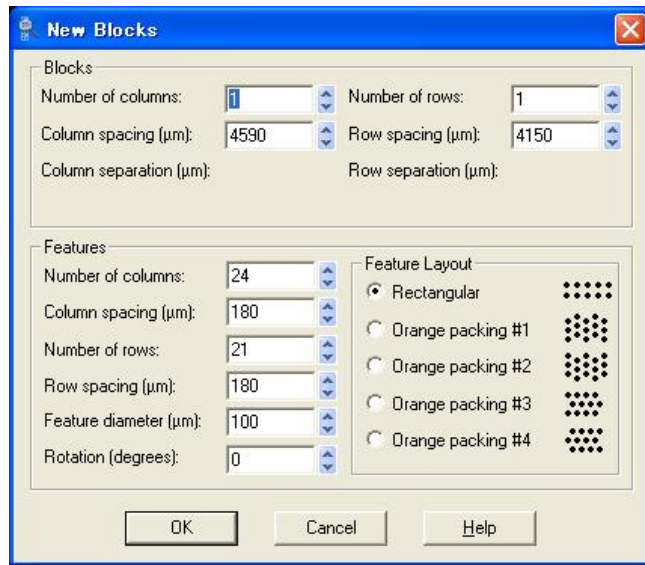
Auto Scale コンピュータが見やすいと思われる大きさに表示します。

1.2.2.16 View Blocks(Ctrl+B)

 ブロックを表示します。このボタンが凹んだ状態になっている場合は、ブロックを表示しています。凹んでいない場合は、ブロックを表示しません。**View Scan Area(1.2.17)**と一緒に有効にすることはできません。

1.2.2.17 New Blocks(Ctrl+N)

 新規にブロックを作成します。クリックすると次の画面が表示されます。



・ **Blocks** (Block の情報)

Number of columns : 横方向のブロック数

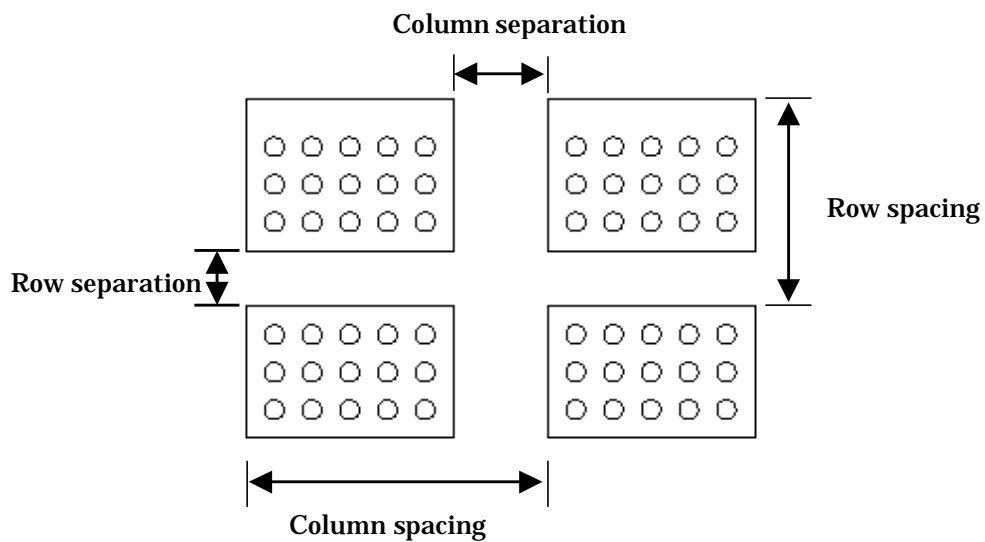
Number of rows : 縦方向のブロック数

Column spacing[μm] : 図参照

Row spacing[μm] : 図参照

Column separation[μm] : ブロック間の横の距離

Row separation[μm] : ブロック間の縦の距離



・ Features (Feature の情報)

Number of columns : 横方向の Feature 数

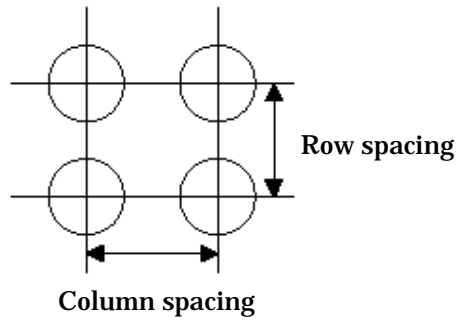
Column spacing[μm] : Feature の中心から中心までの横の距離 (図参照)

Number of rows : 縦方向の Feature 数

Row spacing[μm] : Feature の中心から中心までの縦の距離 (図参照)

Feature diameter[μm] : Feature の直径

Rotation[degrees] : 全体の歪み



・ Feature Layout

Feature のレイアウト (並べ方) を変更できます。

Rectangular



まっすぐ

Orange packing #1

ジグザグ (下から)

Orange packing #2

ジグザグ (上から)

Orange packing #3

ジグザグ (左から)

Orange packing #4

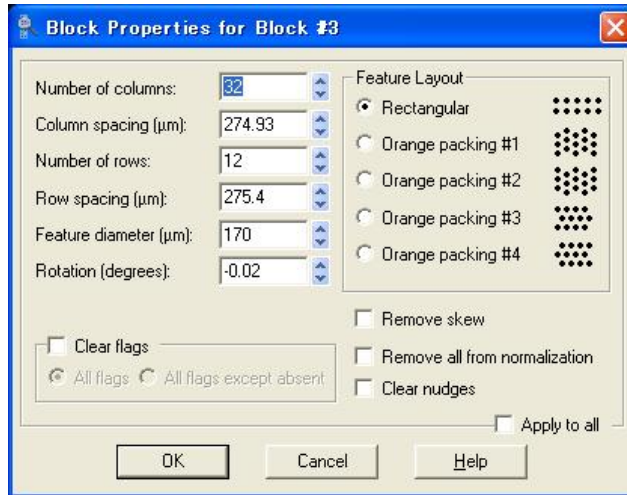
ジグザグ (右から)

} に設定します

1.2.2.18 Block Properties(F10)



選択された Block の情報を開きます。クリックすると下記の画面が開きます。



Block 特性の表示内容を下記に示します。

Number of columns : 横方向の **Feature** 数

Column spacing[µm] : **Feature** の中心から中心までの横の距離 (図参照)

Number of rows : 縦方向の **Feature** 数

Row spacing[µm] : **Feature** の中心から中心までの縦の距離 (図参照)

Feature diameter[µm] : **Feature** の直径






Rotation[degrees] : 全体の歪み

Clear flags

All flags : 全ての **Flag** を **Clear** にします。

All flags except absent : **Absent Flag** を除いた **Flag** を **Clear** にします。

Feature のレイアウト (並べ方) を変更できます。

Rectangular		まっすぐ	} に設定します。
Orange packing #1		ジグザグ (下から)	
Orange packing #2		ジグザグ (上から)	
Orange packing #3		ジグザグ (左から)	
Orange packing #4		ジグザグ (右から)	

Remove skew : **irregular Feature Alignment** に対して無効にします。

Remove all from normalization : すべての **Normalize Flag** を無効にします。

Clear nudge : 選択された **Feature** の直径、座標を標準状態へ戻します。

Apply to all : 存在するすべての **Block** に、この状態を適用します。

1.2.2.19 View Scan Area(Ctrl+V)

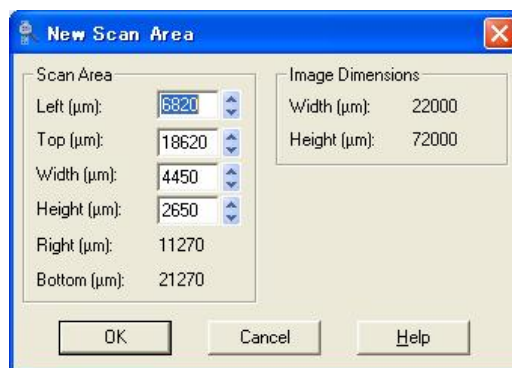


Data Scan(1.1.2)を行なう領域を特定します。また、現在、設定した領域の確認・変更することができます。**Delete** で選択された **Scan Area** を削除します。

1.2.2.20 New Scan Area(Ctrl+A)



スキャン領域を新たに追加します。(複数選択する場合に利用します。) クリックすると下記の画面が開きます。



Scan Area : スキャン領域は四角となります。

Left [µm] : 左上の **X** 座標 (変更可)

Top [µm] : 左上の **Y** 座標 (変更可)

Width [µm] : スキャン領域の幅 (変更可)

Height [µm] : スキャン領域の高さ (変更可)

Right [µm] : 右下の **X** 座標 (**Left + Width**)

Bortton [µm] : 右下の **Y** 座標 (**Top + Height**)

Image Dimensions : 最大のイメージ領域

Width [µm] : 幅

Height [µm] : 高さ

1.2.2.21 Scan Area Properties(F11)



選択されたスキャン領域の情報を表示します。

1.2.2.22 New Setting(Alt+N)



設定してあるセッティング情報を初期状態に戻します。

1.2.2.23 Erase All Scan Area Images(Alt+E)



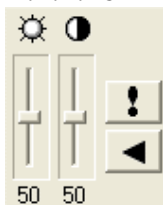
現在 **Image** タブ上で開いているイメージ情報を削除します。

1.2.2.24 Unlock All Scan Areas (Ctrl+K)




Lock された全てのスキャン領域を解除します。

1.2.2.25 Display



疑似カラー表示している画像の輝度やコントラストを変更します。

 を押すと、コンピュータが見やすいと思われる輝度・コントラストに自動設定します。

 を押すと、輝度・コントラストをそれぞれ **50** に設定します。

1.2.3 Feature Viewer

カーソルの周囲にある **Feature** を表示します。

Feature Viewer

Block Feature:
X, Y (μm): 13240, 6720
Name:

Wavelength 635

 P: 21411
F: 0
B: 0

Wavelength 532

 P: 10425
F: 0
B: 0

Ratio (635/532)

 Rp: 2.054
Rm: 0
mR: 0
rR: 0

FP=0, BP=0, CPI=23877

Block : **Block** の番号表示します。

Feature : **Feature** の番号表示します。

X, Y[μm] : カーソルの **X, Y** 座標を表示します。

Name : 遺伝子名を表示します。

Wavelength 635, 532

P : カーソルで指定した **Pixel** の輝度

F : カーソルで指定した **Feature** の輝度 (中央値)

(**setting** ファイルを置いた場合のみ有効となります。)

B : カーソルで指定した **Feature** のバックグラウンド輝度 (中央値)

Ratio[635 / 532]

Rp : 各ピクセルのレシオ

Rm : 中央値のレシオ

mR : レシオの中央値

rR : 回帰レシオ (傾き)

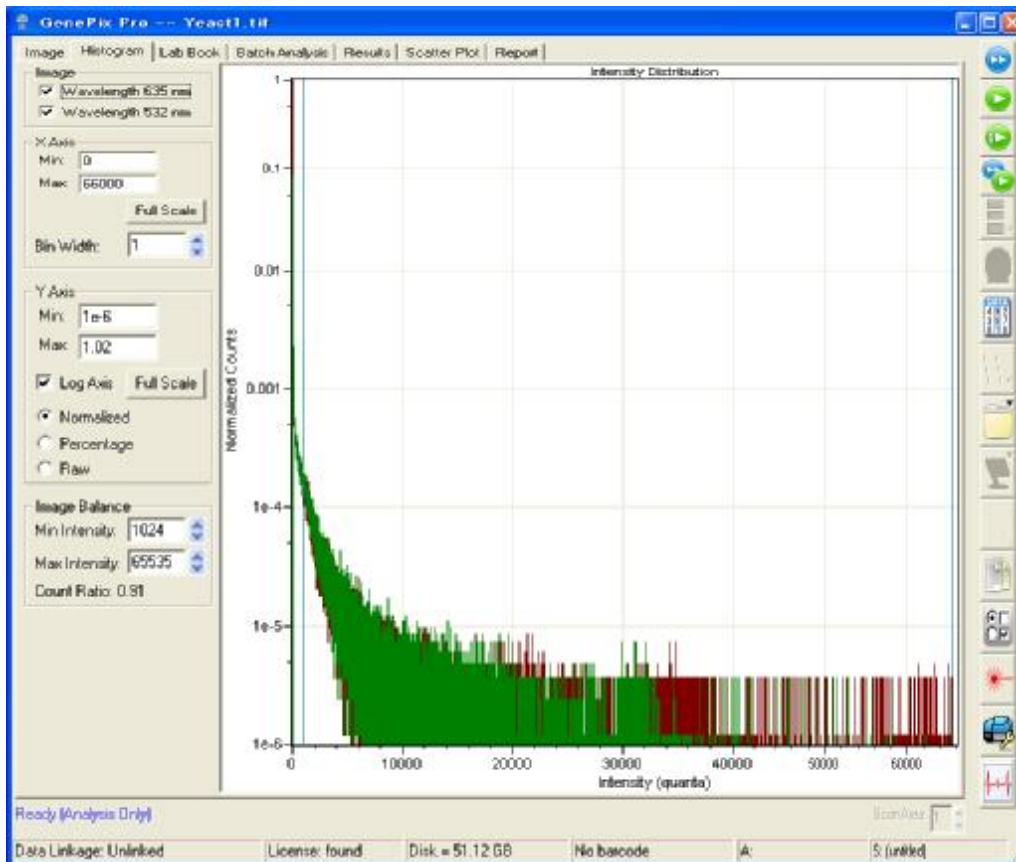
FP : **Feature** のピクセル数

BP : **Background** のピクセル数

CPI : 各波長の **Total Intensity** がどの程度までないといけないかの表示

1.3 Histogram タブ

Histogram タブは、Image タブの現在のイメージ画面に表示されている画像のヒストグラムを表示します。横軸には各波長の Intensity、縦軸には頻度となっています。



1.3.1 Image

ヒストグラム表示する画像を選択します。

Image

Wavelength 635 nm

Wavelength 532 nm

Wavelength 635 : 波長 1 (赤) の画像を選択します。

Wavelength 532 : 波長 2 (緑) の画像を選択します。

1.3.2 X Axis

ヒストグラムの X 軸に関する設定を行います。

X Axis

Min: 0

Max: 66000

Full Scale

Bin Width: 1

Min : X 軸の最小値

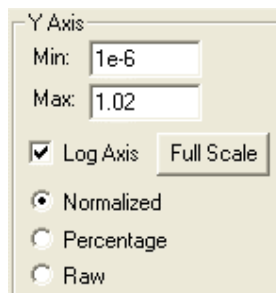
Max : X 軸の最大値

Full Scale : すべての値を有効にします。

Bin Width : X 軸の表示間隔を設定します。

1.3.3 Y Axis

ヒストグラムの Y 軸に関する設定を行います。



Min : Y 軸の最小値

Max : Y 軸の最大値

Log Axis : Y 軸を対数表示します。

Full Scale : すべての値を有効にします。

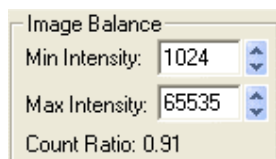
Normalized : 縦軸を **Normalized Counts** で表示します。(通常の設定)

Percentage : 縦軸を **Percentage(%)** で表示します。

Raw : 縦軸を **Raw(Counts)** で表示します。

1.3.4 Image Balance

Min Intensity と **Max Intensity** で囲まれたヒストグラムのレシオを計算します。設定範囲は、**1~65550** で指定します。



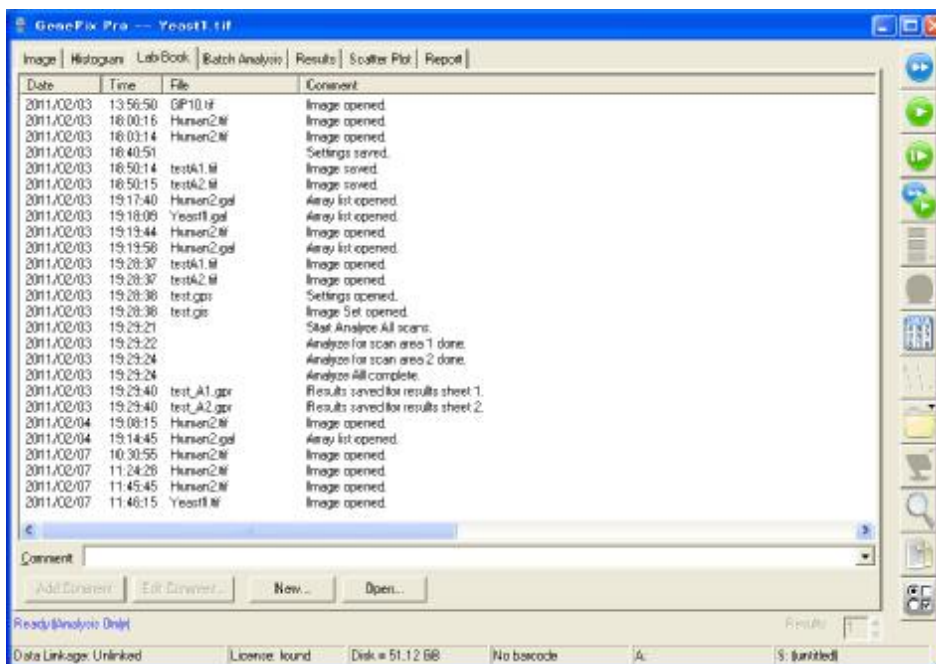
Min Intensity : 横軸の最小値を設定します。

Max Intensity : 横軸の最大値を設定します。

Count Ratio : **Min Intensity** と **Max Intensity** で囲まれたヒストグラムのレシオを示します。

1.4 Lab Book タブ

Lab Book タブは、ファイルの読み出しや書き込みの時の履歴を残します。



1.4.1 履歴

以下の項目が履歴として残されます。

- **Data** : 日付
- **Time** : 時間
- **File** : ファイル名
- **Comment** : コメント
- **Path** : ファイルのあるパス名

1.4.2 Comment

Comment:

Add Comment(1.4.3)や**Edit Comment(1.4.4)**をする時に、適用されるコメントとなります。

1.4.3 Add Comment

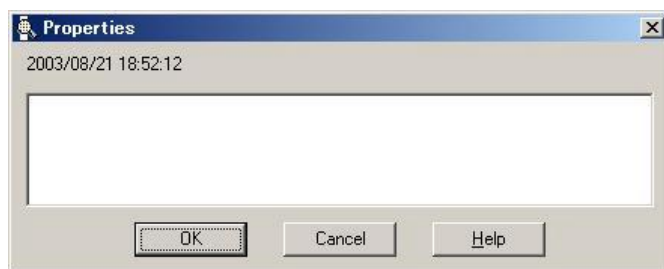
Add Comment

Comment(1.4.2)に入力したコメントを履歴の最後に追加します。

1.4.4 Edit Comment

Edit Comment...

履歴のコメントを変更したい行を選択し、**Comment(1.4.2)**に入力すると、該当する履歴のコメントの変更を行います。クリックすると、次の画面が表示されます。



1.4.5 New

New...

すべての履歴を消去し、新しく履歴を登録していきます。必要であればファイルの場所を選択し、ファイル名、ファイルの種類を設定し保存してください。



保存する場所：履歴を保存したいファイルのパス名を選択します。

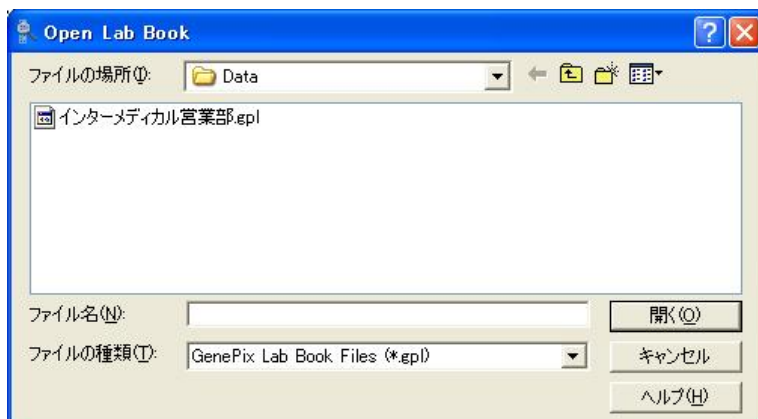
ファイル名：履歴を保存したいファイル名を指定します。

ファイルの種類：ファイルリストに表示するファイルの種類を選択します。

1.4.6 Open

Open...

履歴ファイルを開きます。このボタンを押すと次の画面が表示されます。



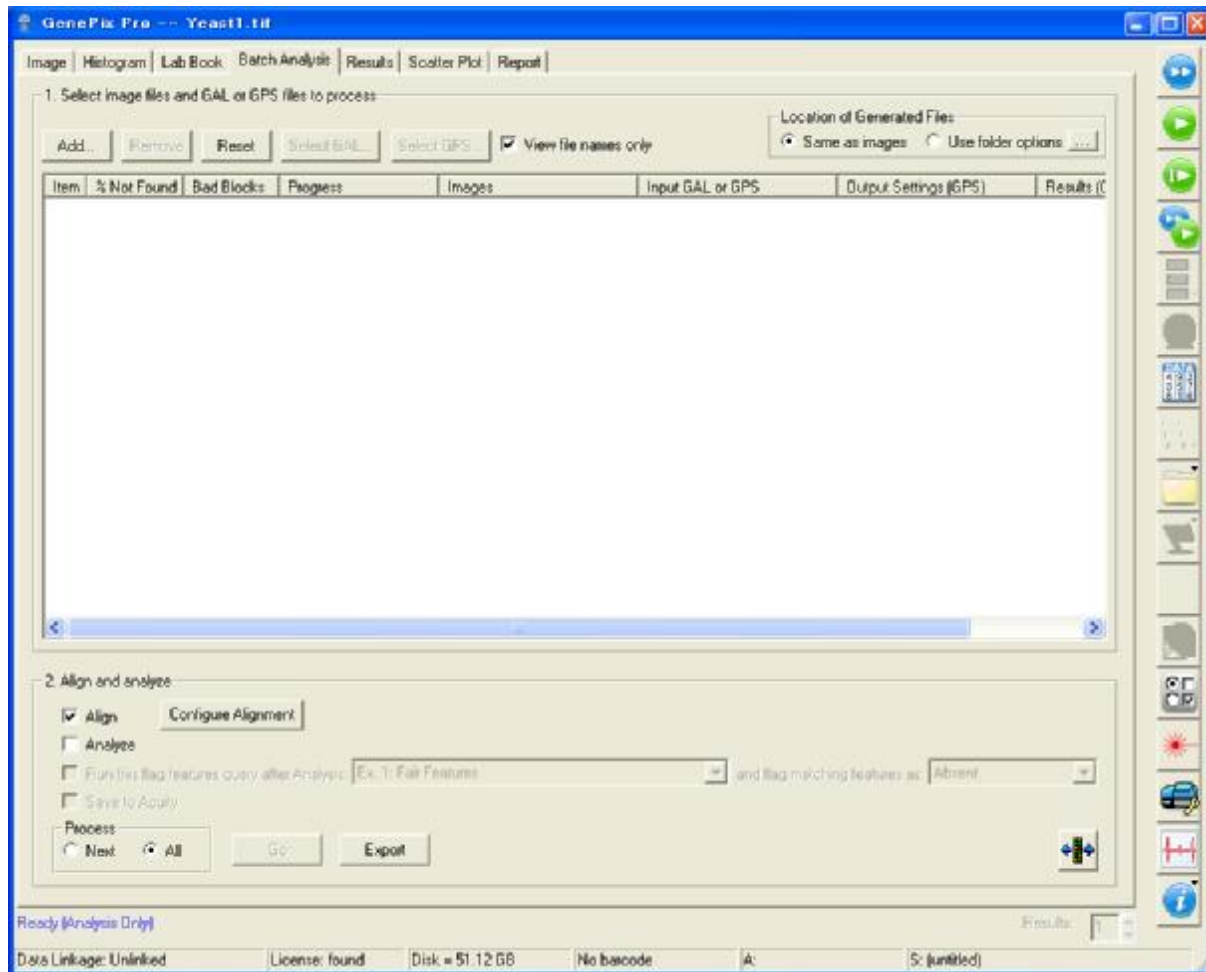
ファイルの場所：履歴を保存してあるファイルのパス名を選択します。

ファイル名：履歴を保存してあるファイル名を選択します。

ファイルの種類：ファイルリストに表示するファイルの種類を選択します。

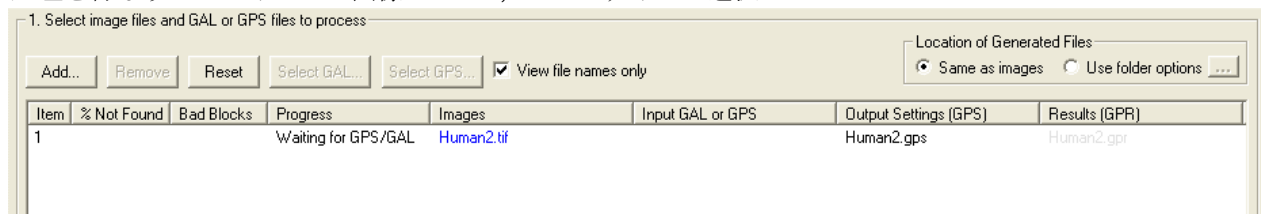
1.5 Batch Analysis タブ

いくつかの画像データを一括処理（解析）したい場合に利用します。



1.5.1 Select image files and GAL or GPS files to process

処理を行なうためのイメージ画像と GAL , GPS ファイルの選択



Add... Image 及び GAL , GPS ファイルを読み込みます。

Remove 読み込んだ **Image** 及び **GAL** , **GPS** ファイルを削除します。

Reset リセットします。

Select GAL... **GAL** ファイルを選択します。

Select GPS... **GPS** ファイルを選択します。

View files names only : チェックを入れるとファイルのみを表示します。

Location of Generated Files
 Same as images Use folder options ... : 保存する場所を設定します。

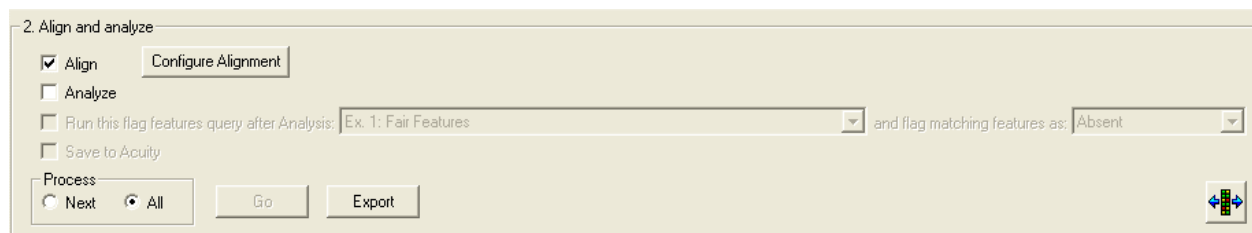
Same as images : 保存されている **Image** と同じ場所に設定します。

Location of Generated Files
 Same as images Use folder options ...

Use folder options : **Option** 機能の **Folders** タブ機能を利用して任意に設定します。

1.5.2 Align and analyze

アライメントと解析を行います。



Align : チェックを入れると推奨のアライメントを行います。

Analyze : チェックを入れると解析を行います。

Run this flag feature query after Analysis : 解析後にクエリ機能を起動させます。

and flag matching features as: : クエリ機能に該当する **feature** に対して **Flag** を立てます。

Process :

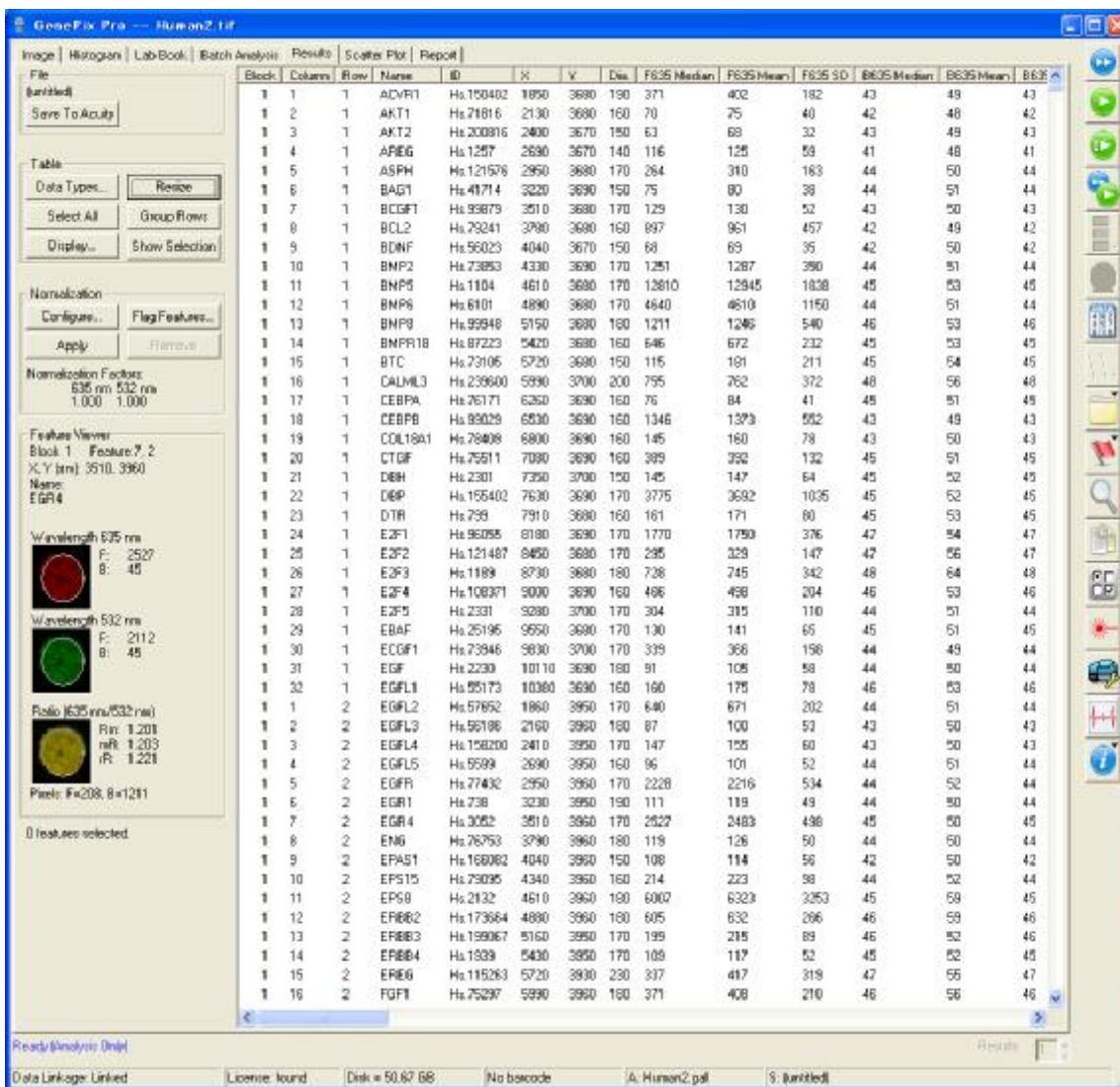
Next : チェック入れると複数のデータの対して一つを解析します。

All : チェックを入れると複数のデータに対して全てのデータを解析します。

Go : 実行します。

1.6 Result タブ

Result タブは、Analyze で解析した項目を表示、検索などの簡単な処理を持っています。



スプレッドシートで右クリックを押すと、マウスカーソルのある行のフラッグを変更する事ができます。

Go to Web	W
Flag Good	O
Flag Bad	A
Flag Not Found	N
Flag Absent	T
User Defined Flags	
Configure User Defined Flags...	
Clear Flags	L
Clear Flags Except Absent	X
Include in Normalization	M
Remove from Normalization	Ctrl+M

Go to web (W) : 選択された **Feature** の **Data** を **Option(1.1.13)** で設定された **Address** より **Web** 上にて検索します。

Flag Good (O) : マウ斯卡ーソルのある行の **Feature** の **Flag** を **Good** にします。

Flag Bad (A) : マウ斯卡ーソルのある行の **Feature** の **Flag** を **Bad** にします。

Flag Not Found (N) : マウ斯卡ーソルのある行の **Feature** の **Flag** を **Not Found** にします。

Flag Absent (T) : マウ斯卡ーソルのある行の **Feature** の **Flag** を **Absent** にします。

Clear Flags (L) : マウ斯卡ーソルのある行の **Feature** の **Flag** を無効にします。

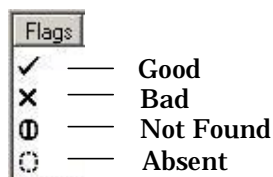
Clear Flags Except Absent (X) : マウ斯卡ーソルのある行の **Absent Flag** を除いた **Feature** の **Flag** を無効にします。

Include in Normalization (M) : マウ斯卡ーソルのある行の **Feature** に **Normalize Flag** を立てます。

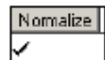
Remove from Normalization (Ctrl+M) : マウ斯卡ーソルのある行の **Normalize Flag** を無効にします。

1.6.1 解析項目 (全 58 項目)

Flags : 下記のようにフラグを立てることができます。



Normalize : ノーマライゼーションする際に基準とする **Feature** にフラグを立てます。



Autoflag : **Flag Feature** より立てた **Flag** に対してチェックを表示

Block : ブロックの番号

Column : ブロック内の **Feature** の横の番号

Row : ブロック内の **Feature** の縦の番号

Name : 遺伝子名 (アレイリストで対応するもの)

ID : 遺伝子 ID (アレイリストで対応するもの)

Negative Control : 同じブロック内にある一番近い **Negative control** の **Name** を表示

X : **Feature** の中心の **X** 座標

Y : **Feature** の中心の **Y** 座標

Dia : **Feature** の直径

F635 Median : 635nm の **Feature** 蛍光強度の中央値

F635 Mean : 635nm の **Feature** 蛍光強度の平均値

F635 SD : 635nm の **Feature** 蛍光強度の標準偏差

F635 CV : $F635 SD / F635 Mean$

B635 : 635nm のバックグラウンド蛍光強度

B635 Median : 635nm のバックグラウンド蛍光強度の中央値

B635 Mean : 635nm のバックグラウンド蛍光強度の平均値

B635 SD : 635nm のバックグラウンド蛍光強度の標準偏差

B635 CV : $B635 SD / B635 Mean$

%B635 + 1SD : 635nm の Feature 蛍光強度中、**B635 Median + B635SD** 以上を占める割合

%B635 + 2SD : 635nm の Feature 蛍光強度中、**B635 Median + B635SD × 2** 以上を占める割合

F635%Sat. : 635nm の Feature ピクセル蛍光強度が **65536** を占める割合

F532 Median : 532nm の Feature 蛍光強度の中央値

F532 Mean : 532nm の Feature 蛍光強度の平均値

F532 SD : 532nm の Feature 蛍光強度の標準偏差

F532 CV : 532nm の Feature 蛍光強度の変動係数 $F532 SD / F532 Mean$

B532 : 532nm のバックグラウンド蛍光強度

B532 Median : 532nm のバックグラウンド蛍光強度の中央値

B532 Mean : 532nm のバックグラウンド蛍光強度の平均値

B532 SD : 532nm のバックグラウンド蛍光強度の標準偏差

B532 CV : 532nm のバックグラウンド蛍光強度の変動係数 $B532 SD / B532 Mean$

%B532 + 1SD : 532nm の Feature 蛍光強度中、**B532 Median + B532SD** 以上を占める割合

%B532 + 2SD : 532nm の Feature 蛍光強度中、**B532 Median + B532SD × 2** 以上を占める割合

F532%Sat. : 532nm の Feature ピクセル蛍光強度が **65535** を占める割合

F635 Total Intensity : 635nm の Feature 蛍光強度の積算値 ($F635 Mean \times F Pixels$)

F532 Total Intensity : 532nm の Feature 蛍光強度の積算値 ($F532 Mean \times F Pixels$)

SNR 635 : 635nm の S/N 比
$$\left(\frac{F635 Mean - B635 Mean}{B635 SD} \right)$$

SNR 532 : 532nm の S/N 比
$$\left(\frac{F532 Mean - B532 Mean}{B532 SD} \right)$$

Ratio of Medians [635/532] : 中央値のレシオ

$$\left(\frac{\langle (I_{p,\lambda 2})_n \rangle_{med} - \langle (I_{B,\lambda 2})_m \rangle_{med}}{\langle (I_{p,\lambda 1})_n \rangle_{med} - \langle (I_{B,\lambda 1})_m \rangle_{med}} \right)$$

Ratio of Means [635/532] : 平均値のレシオ

$$\left(\frac{\sum_{i=1}^1 [I_{p,\lambda 2} - \langle (I_{B,\lambda 2})_m \rangle_{med}]_i}{\sum_{i=1}^1 [I_{p,\lambda 1} - \langle (I_{B,\lambda 1})_m \rangle_{med}]_i} \right)$$

Median of Ratios [635/532] : 各ピクセルのレシオの中央値

$$\left(\left(\frac{I_{p,\lambda 2} - \langle (I_{B,\lambda 2})_m \rangle_{med}}{I_{p,\lambda 1} - \langle (I_{B,\lambda 1})_m \rangle_{med}} \right)_n \right)_{med}$$

Mean of Ratios [635/532] : 各ピクセルのレシオの平均値

$$\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left(\frac{I_{p,\lambda 2} - \langle (I_{B,\lambda 2})_m \rangle_{med}}{I_{p,\lambda 1} - \langle (I_{B,\lambda 1})_m \rangle_{med}} \right)_i$$

それぞれの単語の意味を次に示します。

- * $I_{p,\lambda 2}$: 波長 **2** の **Feature** のピクセル蛍光強度
- * $I_{B,\lambda 1}$: 波長 **1** のバックグラウンドのピクセル蛍光強度
- * $\langle (I_{p,\lambda 2})_n \rangle_{med}$: 波長 **2** の **Feature** 蛍光強度ピクセル **n** 個の中央値
- * $\langle (I_{B,\lambda 1})_m \rangle_{med}$: 波長 **1** のバックグラウンド蛍光強度ピクセル **m** 個の中央値

Ratios of SD [635/532] : レシオの標準偏差

Rgn Ratio [635/532] : 回帰レシオ (傾き)

Rgn R² : レシオの相関係数

Log Ratio [635/532] : **Ratio of Medians [635/532]** の対数表示

$$\log_2 \left(\frac{\langle (I_{p,\lambda 2})_n \rangle_{med}}{\langle (I_{p,\lambda 1})_n \rangle_{med}} \right)$$

F635 Median – B635 : **F635 Median – B635 Median**

F532 Median – B532 : **F532 Median – B532 Median**

F635 Mean – B635 : **F635 Mean – B635 Median**

F532 Median – B532 : **F532 Mean – B532 Median**

Sum of Medians [635/532] : **F635 Median – B635 + F532 Median – B532**

$$\langle (I_{p,\lambda 2})_n \rangle_{med} + \langle (I_{p,\lambda 1})_n \rangle_{med} - \langle (I_{B,\lambda 1})_m \rangle_{med} - \langle (I_{B,\lambda 1})_m \rangle_{med}$$

Sum of Means [635/532] : **F635 Mean – B635 + F532 Mean – B532**

$$\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left(I_{p,\lambda 2} - \langle (I_{B,\lambda 2})_m \rangle_{med} \right)_i + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left(I_{p,\lambda 1} - \langle (I_{B,\lambda 1})_m \rangle_{med} \right)_i$$

F Pixels : **Feature** のピクセル数

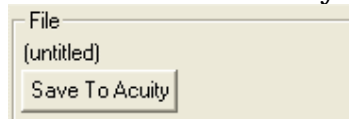
B Pixels : **Background** のピクセル数

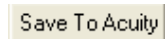
Circularity : **Feature** スポットの真円率

Index : シーケンシャル番号

1.6.2 File

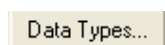
1.6.2.1 Save To Acuity

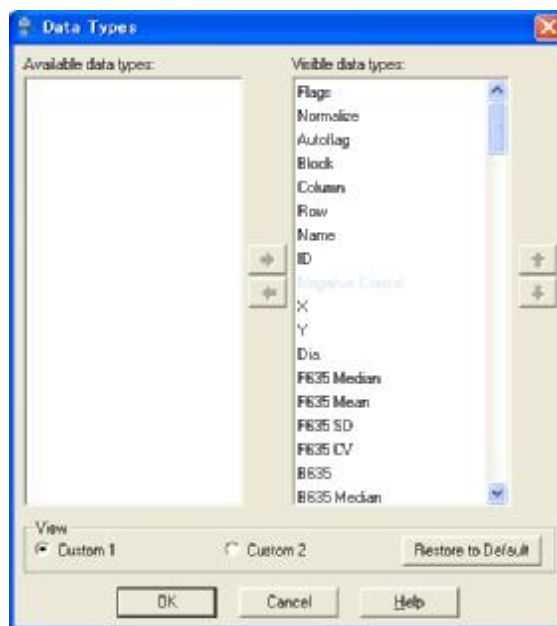


 をクリックすると **Acuity** にデータをエクスポートして保存します。

1.6.3 Table





1.6.3.1 Data Types...

 **Results** 表示の際に、必要な項目のみを表示する事ができます。このボタンをクリックすると、次の画面が表示されます。

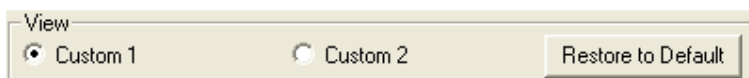


Available data types : **Result** 表示しないための項目

Visible data types : **Result** 表示するための項目

-  **Visible data types** で選択した項目を **Result** 表示しないように **Available data types** に移動します。
-  **Available data types** で選択した項目を **Result** 表示するように **Visible data types** に移動します。
-  **Visible data types** で選択した項目を **Result** 表示で左側にくるように上部に移動します。
-  **Visible data types** で選択した項目を **Result** 表示で右側にくるように下部に移動します。

Visible data types で選択した項目を **Result** 表示で右側にくるように下部に移動します。



Result 表示するためのパターンを **Custom1** , **Custom2** と任意に設定することができます。

Restore to Default 標準（初期設定）の状態に戻します。

1.6.3.2 Resize

Resize 各項目が圧縮されて表示されます。

Flag	Normalize	AutoFlag	Block	Column	Row	Name	ID	Negative Control	X	Y
1	1	1		1	1	ACVR1	Hs.150402		1850	3680
1	2	1		1	2	AKT1	Hs.71816		2130	3680
1	3	1		1	3	AKT2	Hs.200816		2400	3670
1	4	1		1	4	AREG	Hs.1257		2690	3670
1	5	1		1	5	ASPH	Hs.121576		2950	3680
1	6	1		1	6	BAG1	Hs.41714		3220	3690
1	7	1		1	7	BCGF1	Hs.99879		3510	3680
1	8	1		1	8	BCL2	Hs.75241		3780	3680
1	9	1		1	9	BDNF	Hs.56023		4040	3670
1	10	1		1	10	BMP2	Hs.73853		4330	3690
1	11	1		1	11	BMP5	Hs.1104		4610	3680
1	12	1		1	12	BMP6	Hs.6101		4890	3680
1	13	1		1	13	BMP8	Hs.59548		5150	3680
1	14	1		1	14	BMP8B	Hs.67223		5420	3680
1	15	1		1	15	BT2	Hs.73105		5720	3680
1	16	1		1	16	CAH3	Hs.279000		5990	3700
1	17	1		1	17	CE3PA	Hs.78171		6260	3690
1	18	1		1	18	CE3PB	Hs.98029		6530	3690
1	19	1		1	19	COL16A1	Hs.78409		6790	3700
1	20	1		1	20	CT3F	Hs.79511		7080	3690
1	21	1		1	21	DBH	Hs.2201		7350	3700
1	22	1		1	22	DBP	Hs.155402		7640	3690

1.6.3.3 Select All

Select All 全ての **Feature** を選択します。

Flag	Normalize	AutoFlag	Block	Column	Row	Name	ID	Negative Control	X	Y
1	1	1		1	1	ACVR1	Hs.150402		1850	3680
1	2	1		1	2	AKT1	Hs.71816		2130	3680
1	3	1		1	3	AKT2	Hs.200816		2400	3670
1	4	1		1	4	AREG	Hs.1257		2690	3670
1	5	1		1	5	ASPH	Hs.121576		2950	3680
1	6	1		1	6	BAG1	Hs.41714		3220	3690
1	7	1		1	7	BCGF1	Hs.99879		3510	3680
1	8	1		1	8	BCL2	Hs.75241		3780	3680
1	9	1		1	9	BDNF	Hs.56023		4040	3670
1	10	1		1	10	BMP2	Hs.73853		4330	3690
1	11	1		1	11	BMP5	Hs.1104		4610	3680
1	12	1		1	12	BMP6	Hs.6101		4890	3680

1.6.3.4 Group Rows

Group Rows 選択した **Feature** をトップへ移動させます。

Flag	Normalize	AutoFlag	Block	Column	Row	Name	ID	Negative Cor
1	1	1		1	1	ACVR1	Hs.150402	
1	2	1		1	2	AKT1	Hs.71816	
1	3	1		1	3	AKT2	Hs.200816	
1	4	1		1	4	AREG	Hs.1257	
1	5	1		1	5	ASPH	Hs.121576	
1	6	1		1	6	BAG1	Hs.41714	
1	7	1		1	7	BCGF1	Hs.99879	
1	8	1		1	8	BCL2	Hs.75241	
1	9	1		1	9	BDNF	Hs.56023	
1	10	1		1	10	BMP2	Hs.73853	
1	11	1		1	11	BMP5	Hs.1104	
1	12	1		1	12	BMP6	Hs.6101	

➔

Flag	Normalize	AutoFlag	Block	Column	Row	Name	ID	Negative Cor
1	12	1		1	1	BMP6	Hs.6101	
1	1	1		1	2	ACVR1	Hs.150402	
1	2	1		1	3	AKT1	Hs.71816	
1	3	1		1	4	AKT2	Hs.200816	
1	4	1		1	5	AREG	Hs.1257	

1.6.3.5 Display...

Display...

各条件下での表示の有無を設定します。



Normalization

- **Included** : **Normalization Flag** と各 **Flag** を含んだ **Feature** に対して、**Result** 表示するかしないかを設定します。
- **Excluded** : **Normalization Flag** を含まない各 **Flag** だけの **Feature** に対して、**Result** 表示するかしないかを設定します。

チェックあり : **Result** 表示します。

チェックなし : **Result** 表示しないようにします。

1.6.3.6 Show Selection

Show Selection

このボタンをクリックすると選択された **Feature** を **Result** タブ画面上に表示させます。

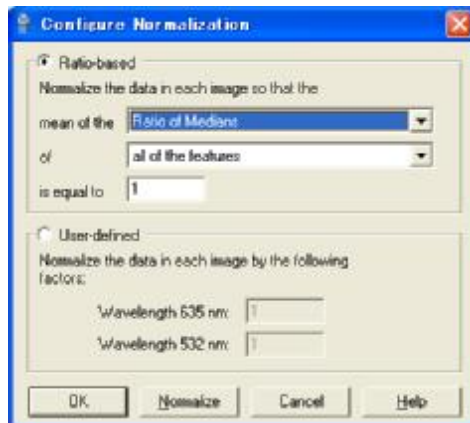
1.6.4 Normalization

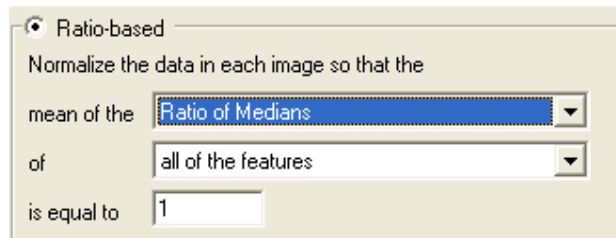
いくつかのサンプルデータ比較等のためにデータを正規化します。

1.6.4.1 Configure...

Configure...

ノーマライゼーションの条件を設定します。このボタンをクリックすると、次の画面が表示されます。





Ratio-based : **Ratio** をベースに設定します。

Mean of the XXX of YYY is equal the features ZZZ

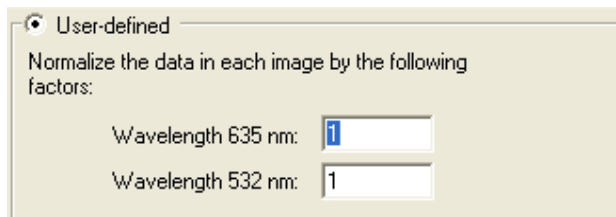
XXX : レシオを 5 種類の中から選択します。

- **Ratio of Medians** : 中央値のレシオ
- **Ratio of Means** : 平均値のレシオ
- **Median of Ratios** : レシオの中央値
- **Medians of Ratios** : レシオの平均値
- **Regression Ratio** : 回帰レシオ (傾き)

YYY : 以下に示す 2 項目の中から選択します。

- **the normalization features** : **Normalize** フラグを立てた **Feature** に対してノーマライズを行います。複数の **Feature** を選択した場合は、それらの平均値をノーマライズ設定した数値になります。
- **all of the features** : サンプル全体の発現比が **1 : 1** になるようにノーマライズします。

ZZZ : ノーマライズ後のレシオの数値を設定します。



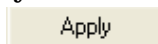
User-defined : **Intensity** をベースに設定します。

- **Wavelength 635:**
 - **Wavelength 532:**
- } それぞれの波長の **Intensity** をユーザ指定の数値(0.1~10)で任意に設定することができます。



数値変更後、このボタンをクリックするとノーマライズします。

1.6.4.2 Apply



クリックするとノーマライズが実行されます。

1.6.4.3 Remove

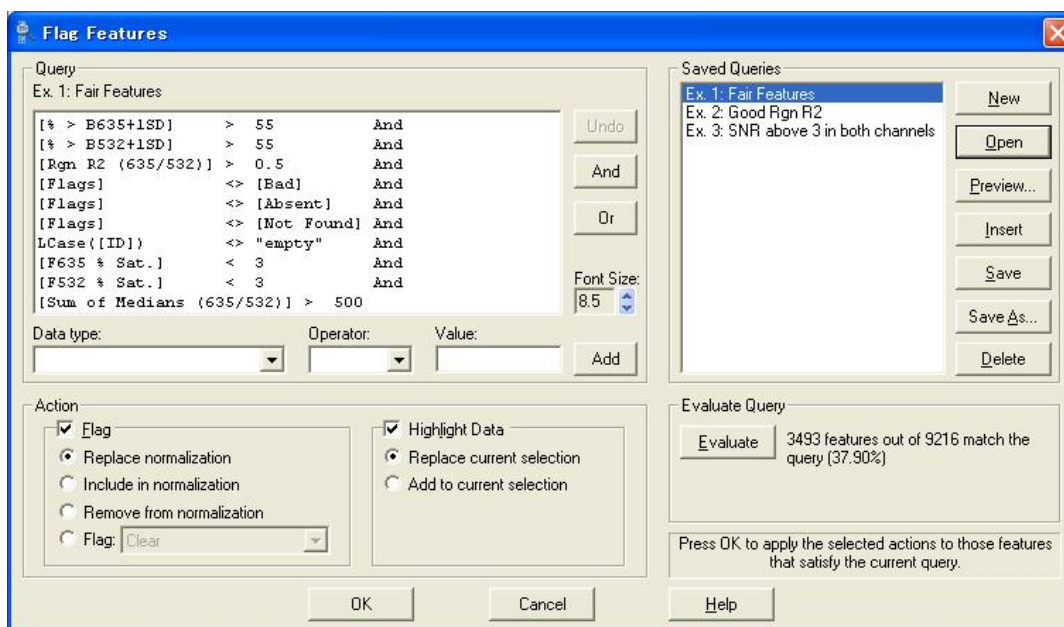
Remove

このボタンをクリックするとノーマライズを元に戻します。

1.6.4.4 Flag Features...

Flag Features...

スポット検索やフラグ機能により高度なデータ抽出を行います。このボタンをクリックすると次の画面が表示されます。



・データクエリー機能

Data type: Operator: Value:

Data Type : Result 項目から任意に設定します。

Operator : 記号を選択します。

Value : 任意の数値等を設定します。

Undo

1つ前に入力したものが消去されます。

And

And が表示されます。

Or

Or が表示されます。

Font Size:

8.5

画面表示される文字の大きさを設定します。

Add 選択した項目を追加します。

Action

Flag

Replace normalization

Include in normalization

Remove from normalization

Flag: Clear

Highlight Data

Replace current selection

Add to current selection

- **Replace normalization**

前に **Normalize** フラグを立てたものから次に条件設定したものに置き換えて **Normalize** フラグを立てます。

- **Include in normalization**

前に **Normalize** フラグを立てたものから次に条件設定したものを追加して **Normalize** フラグを立てます。

- **Remove from normalization**

クエリー画面に表示している条件の **Normalize** フラグをはずします。

- **Flag**

条件に応じた **Feature** にフラグを立てます。

- **Replace current selection**

条件に応じた **Feature** を青く表示します。

- **Add to current selection**

さらに条件を追加した **Feature** を青く表示します。

- **Saved Queries**

New Query 画面上の文字を消します。

Open 保存している条件を開きます。

Preview... 保存している条件をプレビューします。

Insert Query 画面上に表示されている条件に、選択した保存条件を追加します。

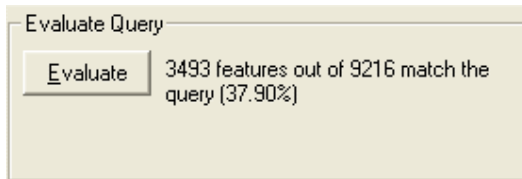
Save 保存している条件に、新しく作成した条件を追加して保存します。

Save As... 新しく作成した条件に名前をつけて保存します。

Delete

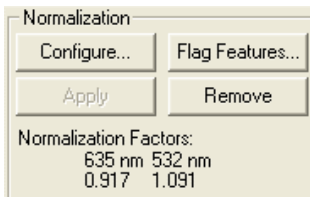
保存している条件を消します。

・ Evaluate Query



Evaluate

Query 画面上に表示している条件において、該当する **Feature** の個数及び割合 (%) を表示します。

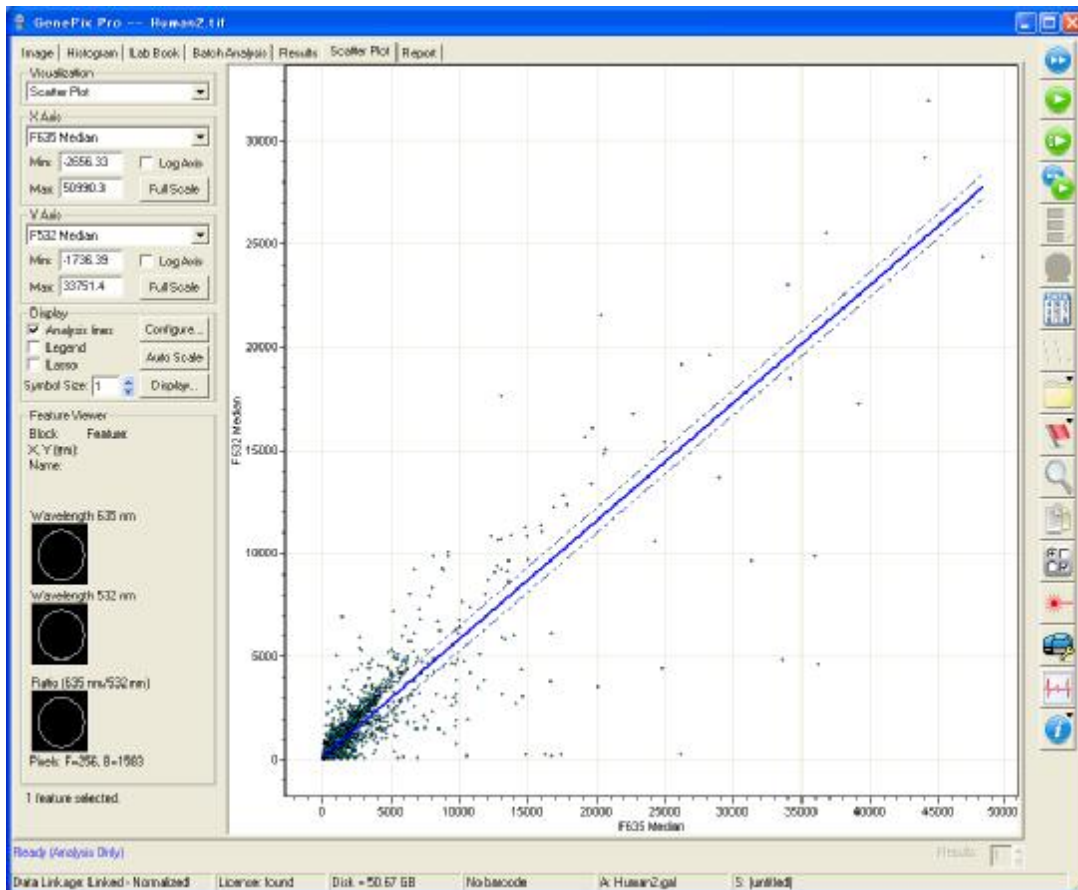


Normalization Factor

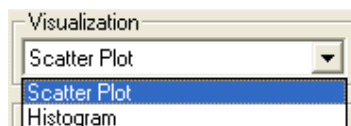
ノーマライズ係数 (**Normalization Factor**) を表示します。

1.7 Scatter Plot タブ

Scatter Plot タブは、**Result** タブで解析された項目を **X 軸** と **Y 軸** に割り当てプロットする機能です。



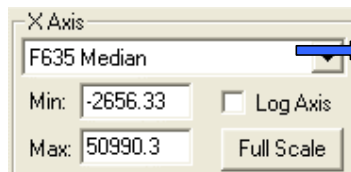
1.7.1 Visualization



Scatter Plot と Histogram の切り替えが自由にできます。

1.7.2 X Axis

X 軸に関する設定を行います。



X 軸に割り当てたい項目を選択します。

Min : 最小値

Max : 最大値

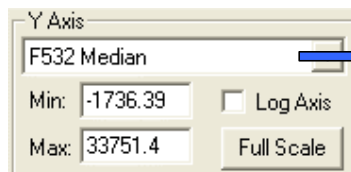
Log Axis : 対数表示にします。

Full Scale

すべての値を有効にします。

1.7.3 Y Axis

Y 軸に関する設定を行います。



Y 軸に割り当てたい項目を選択します。

Min : 最小値

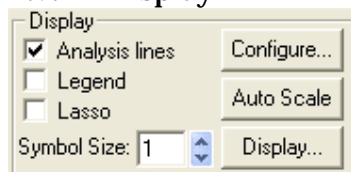
Max : 最大値

Log Axis : 対数表示にします。

Full Scale

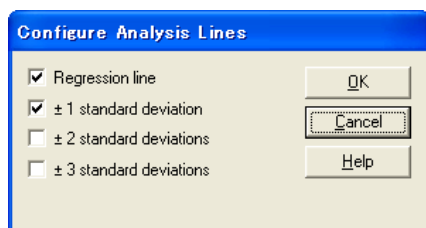
すべての値を有効にします。

1.7.4 Display



Configure...

このボタンをクリックしますと、次の画面が表示されます。



Regression line : 回帰直線を表示します

± 1 standard deviation : 回帰直線 ± 1SD (標準偏差)

± 2 standard deviation : 回帰直線 ± 2SD (標準偏差)

± 3 standard deviation : 回帰直線 ± 3SD (標準偏差)

上記の項目にチェックすると Scatter Plot に直線が表示されます。

Analysis lines : チェックすると **Configure** で設定した回帰直線及び標準偏差を表示します。

Legend : チェックするとフラグの情報をグラフ右上に表示します。

Auto Scale コンピュータが適切と思うように、**X** 軸、**Y** 軸の最小値、最大値を決定します。

Symbol Size: 1 グラフをプロットするシンボルのサイズを設定します。

Display... このボタンをクリックすると、次の画面が表示されます。



Normalization

- **Included** : **Normalization Flag** と各 **Flag** を含んだ **Feature** に対して、**Result** 表示するかしないかを設定します。
- **Excluded** : **Normalization Flag** を含まない各 **Flag** だけの **Feature** に対して、**Result** 表示するかしないかを設定します。

チェックあり : **Result** 表示します。

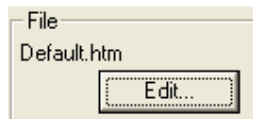
チェックなし : **Result** 表示しないようにします。

1.8 Report タブ

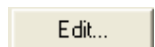
Report タブは、マクロ言語により GenePix Pro ソフトウェアを制御する機能、グラフ、ヒストグラム、表などを任意に作成する機能をもっています。一連のスキャン条件、必要な解析項目が決定すれば、スキャンから解析、レポート作成までマクロ作成により、自動運転できます。

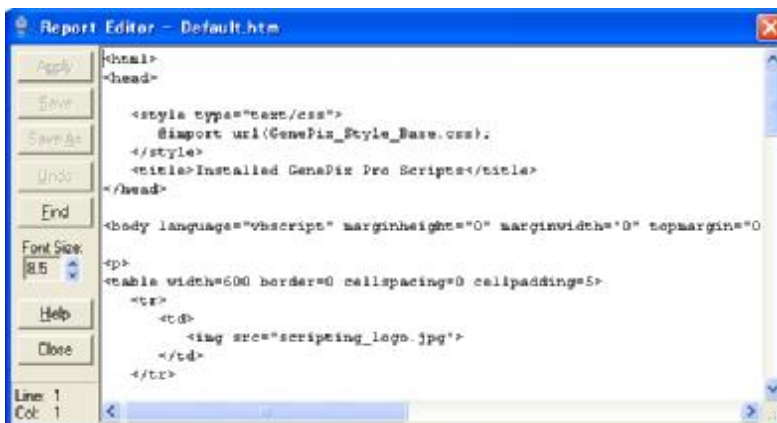


1.8.1 File




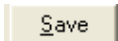
Report タブのスクリプトの編集、印刷を行なうボタングループです。各ボタンの上に現在利用中のスクリプトファイル名が表示されます。各機能は、次項で説明します。

 現在表示されている **Report** の編集を行います。編集画面は、次のようになっています。

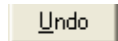


各ボタンには、次の意味があります。

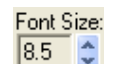
 **Apply** スクリプトの変更点を反映します。

 **Save** 現在開いているスクリプトに編集したスクリプトを上書きします。以前の内容は消えます

 **Save As** ファイル名を入力し、スクリプトを保存します。

 **Undo** 処理を一回戻します。

 **Find** 検索を行いたい場合に指定します。

 **Font Size** スクリプトを表示しているフォントサイズを変更します。


 **Help** ヘルプを表示します。

1.8.2 Navigate



Report タブの表示を制御するアイコングループです。左から順番に **Back** , **Forward** , **Stop** , **Refresh** , **Home** のアイコンになります。各機能は、次項で説明します。


1.8.2.1 Back

 以前に表示されていた **Report** 画面に戻します。


1.8.2.2 Forward

 **Back** アイコンで戻った場合に、一つ前に表示されていた **Report** 画面に戻します。

1.8.2.3 Stop

 現在、表示されている **Report** の処理や表示処理を中断させます。再度、処理を行なう場合には、**Refresh** アイコンを利用して下さい。

1.8.2.4 Refresh

 現在、表示されている **Report** 内容を更新します。

1.8.2.5 Home

 **Report** 表示を、デフォルトのファイルを表示します。標準でインストールされた場合は、「C:¥Axon¥Scripts¥GenePixPro6¥Default.htm」が該当します。