

# ImageQuant TL (ver.8.2)

## 操作手順



2021/04/12

### ImageQuant TL 操作手順書

ここでは、ImageQuant TL の各モジュールの使い方を、実際の解析の流れに沿ってご紹介します。本マニュアルは、ソフトウェアの画面全体を示すことで理解しやすいよう工夫されています。

#### 目次

1.	ソフトウェアの起動	1ページ
2.	解析の準備 (画像の切り出しと回転・コントラスト調整・拡大/縮小)	5ページ
3.	バンドボリューム解析 - Analysis Toolbox	12 ページ
4.	1D ゲル解析 - 1D gel analysis	
	① オートマチック解析(レーン作成・バックグラウンド削除・バンド検出)	22 ページ
	② ステップワイズ解析(分子量測定)	25 ページ
	③ ステップワイズ解析(バンド定量・標準化)	28 ページ
	④ ステップワイズ解析(レーン作成・バックグラウンド削除・バンド検出)	31 ページ
5.	コロニーカウンティング - Colony Counting	41 ページ
6.	アレイ解析 - Array analysis	45 ページ
7.	イメージの重ね合わせ	
	① ImageQuant TL ver. 8.0	51 ページ
	② ImageQuant TL ver. 7.0 以前	55 ページ

#### ImageQuant TL では以下のことが可能です。

モジュール	用途
	ウェスタンブロッティングメンブレン上のバンドの相対比較。
Analysis Toolbox	特定のバンドのタンパク質/DNA 量の相対比較。
	スロットブロットやドットブロット上のタンパク質/DNA 量の相対比較。
	一次元電気泳動ゲルの解析。もしくはウェスタンブロッティングメンブレン上のバンドのより詳し
	い解析。
	3 バンド以上のタンパク質量/DNA 量の値を元に検量線を引き、タンパク質/DNA 量を求め
1D gel analysis	ය.
	1 バンドのタンパク質量/DNA 量の値を元に、未知のバンドの量を求める。
	分子量マーカーの情報から、未知のバンドの分子量を求める。
Colory Counting	ディッシュ上のコロニーのカウント、ボリュームの計算。
Colony Counting	簡易的な 2D 解析。(複数ゲルのマッチングには非対応)
Array analysis	タイタープレートやスロットブロットなど、規則的なパターンのサンプルの定量。

#### 1. ソフトウェアの起動

1) ソフトウェアを起動します。デスクトップの ImageQuant TL アイコンをダブルクリックします。

My Documents			
My Network			
	ImageQuantT		
www. Recycle Bin			

2) コントロールセンターが表示されます。4 つのモードがあります。1D gel analysis を選択します(他のモジ ュールでも同様のことが可能です)。'1D gel analysis'ボタンをクリックするとモジュールが開きます。

My Documents	In age Qu	ant TL Control Centre	
My Computer	Imag IIII IIII	DeQuant TL <u>1D ael analysis</u> Analyze 1D electrophy or gel images <u>Analyze inages</u> using area and profile-based tools	
Recycle Ein	<ul><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li><li>()</li></ul>	Colony Counting Count colonies or detect 2D electrophoresis spots Array analysis Analyze dot/slot blots, microplates or macroarrays Online Help Look up queries in the comprehensive reference guide	

 'Open'ボタンをクリックして練習用の画像を開きます。画像は、C:/Documents and Settings /All Users/Application Data/GE Healthcare/ImageQunat TL/Images (Windows XP)もしくは C:¥ProgramData¥GE Healthcare¥ImageQuant TL¥Images (Windows 7)の中です。 1D\_norm.tif を選びます。

QImageQuant TL 1D v8.1 -	1.0_Norm.tif	_ C 🗙
File Edit View Analysis Plays Open Poly Print Pi	ter Window Help Control Annotate Offices Colour Options Eak Hogge Single Ortfice Character Offices Colourset Character Charac	
	Open 🛛 🖓 🔀	
ane Creation	Look in interes • the circles	
Background Subhaction	2 Zhanneldir	<u></u>
Band Datarting		
JVA Contraction	Ta Shart Carlos	1
Calibration	≥]2dramalds Design	
Duartily Calibration	Array_micratite.tit	
Les Normalisation	SSS Colory_Spots.t#	There are no lanes to show.
C -	Computer	
	10 C	
Display Profiles:	Notwork File name Id_Narmtif Dpm	
C Overlaid	Files of type All ImageQuantTL image files (#.61).5.61(*.get*.de;%.i * Canool	×
C Sjacked	Analyse this image using: 🔽 Preview	
St. Lana Selection	10	
Di caretaria	electrophoresis gel	
	No lanes have been created.	
hatvations A Parameters /		
	Tab Rolected Lane (All Loose Committee /	
track.	Let Construe rais V ou raise V continuent V	

- 4) 1D gel analysis が開きます。インターフェースは 4 つのパートに分かれています。
  - 1- ナビゲーター: 実行画面とパラメーター調節およびインストラクションの表示
  - 2 イメージウィンドウ
  - 3 レーンプロファイルウィンドウ
  - 4- メジャーメントウィンドウ: 計算結果の表示



5) ×ボタンでウィンドウを閉じた場合には、左下のアイコンで再び開くことができます。

ウィンドウのサイズを元に戻すには、Windows メニューより、'Arrange all windows'を選択します。

[ ImageQuant TL 1D v8.1 - 1	ld_norm.tif	J X
File Edit View Analysis Repo	orts Window Help	
Open Copy Print Pr	review Ann te antrast colour Options Edit Image Single Overlay Channell Channell Channell	
	🗉 Image Window Zoomed to fit] 💶 🗖 🗙 🖾 Lane	
Automatic Stepwise		
Automatic analysis steps:		
Background Subtraction		
Band Detection		
Manual only analysis steps:	There are no lanes to show.	
Molecular Size Calibration		
Normalisation		
1D Analysis		
<ul> <li>If required, select an area of interest in the Image window</li> </ul>	4	×
<ul> <li>Press the Automatic button to run through the selected</li> </ul>		<u> </u>
steps		
<ul> <li>Press the Stepwise button to run through the steps one bulance</li> </ul>		
Click for help	🛎 Measurements Window	
	No lanes have been created	
	INVITATES TAVE DEET CLEAKED.	
Instructions /		
		-
	Selected Lane & All Lanes & Comparison /	
Ready		

#### 2. 解析の準備(画像の切り出しと回転・コントラスト調整・拡大/縮小)

1) 'Edit Image'ボタンをクリックすると、イメージの編集が可能になります。イメージエディターにイメージが表示され、切り出しや回転を行うことができます。

IQ ImageQuant TL 1D v8.1 -	1d_norm.tif	_ 7 🗙
File Edit View Analysis Rep	Mindow Help	
Open Copy Print P	Preview Annotate Colour Options Edit Image Single Overfay Channel Channel Channel Channel Channel	
• (b)	🗄 Image Window [Zoomed to fit]	
Automatic Stepwise	9. H 🗹 🖟 🖑	
		<u>^</u>
	S Inage Editor - DB., 11d norm.tit (Zoom to hit)	
Automatic analysis steps:		
Background Subtraction		
Band Detection		
Manual only analysis steps:	There are no lanes to show.	
Molecular Size Calibration Quantity Calibration		
Normalisation		
	<b>32 22 32 32</b>	
	== == ==	
1D Analysis		
<ul> <li>If required, select an area of interest in the Image window</li> </ul>		
<ul> <li>Press the Automatic button to run through the selected</li> </ul>	S	
steps		
<ul> <li>Press the Stepwise button to run through the steps one</li> </ul>		
Click for help	Heasurements Window	
		<b>^</b>
	Ready	
	No lanes have been created.	
Instructions		
		-
	Selected Lane & All Lanes & Comparison /	
Ready		

2) はじめにイメージを切り出します。1D ゲル解析を行う場合、ゲルの端やその他ノイズとなるようなエリアが 含まれると、正しく認識されません。アイコンを矢印にして、切り出したい範囲をクリック&ドラッグで囲み



- [ ImageQuant TL 1D v8.1 1d\_norm.tit \_ @ 🗙 Preview Annotate Colour Options Edit Image Single Overlay Channel ) Open 3 4 4 Print 📑 Imag 🗖 🔀 🔛 Lane (b) Stepwise *Å* Automatic 🔍 lil 🛃 🖉 🖑 ۹ 🖻 In 📝 Image Editor – D:¥...¥1d\_norm.tif (Zoom to Fit) 💦 🔲 🗙 File Image Marker Zoom Automatic analysis steps: Oro to area 🍯 🔍 🗸 R 🔽 Lane Creation Rotate clockwise Rotate anticlockwise Flip horizontal Flip vertical Eackground Subtraction == Rand Detection Manual only analysis steps: There are no lanes to show. Molecular Size Calibration Filter... Quantity Calibration \_\_\_\_\_ Contrast. Normalisation Colour.. \_\_\_\_ -1D Analysis If required, select an area of interest in the Image window Press the Automatic button to run through the selected steps Press the Stepwise button to run through the steps one by one • 📕 Measurements Window Click for help Crop image to selected rectangle No lanes have been created. Instructions / Selected Lane ( All Lanes ( Comparison / 1 Ready
- 3) Edit メニューから'Crop to area'を選ぶと、切り出したイメージが表示されます。

4) 電気泳動パターンが斜めになっている場合は、'Freeform Rotate'ボタンを押してイメージを回転しま す。



Q ImageQuant TL 1D v8.1 - 1	d_norm.tif		
Open Copy Print Pr	eview Annotate Contrast Colour Options Edit Inage	Single Overlay Channel1 Channel2 Channel3 Channel4	
Automatic Stepwise	Image Window [Zoomed to fit]		
Automatic analysis steps: C Lane Creation Eackground Subtraction F Background Subtraction Manual only analysis steps: Molecular Size Calibration Quanity Calibration Normalization	✓ Image Editor Fis Image Mark ≥ ⊕ ⊙ □	- D.¥¥I d_norm.tif (Zoom to Fit)	There are no lanes to show.
1D Analysis • If required, select on area of interest in the Image window • Press the Automatic button to run through the selected steps • Press the Stepwise button to run through the steps one by one • Click for help	Measurements Window		
	Freeform rotate mod	No lanes have been created.	   • [

5) 格子が表示されます。レーンの向きにあわせて、格子をクリック&ドラッグで回転します。

6) 格子を回転すると、イメージも回転します。



7) Image メニューから 90 度回転や、反転することもできます。画像の編集が終わったら'Save as'を選択して保存します。オリジナル画像とは別名で保存してください。オリジナルイメージに上書き保存しようとするとエラーが表示されます。



8) 編集後のイメージを、'Open'ボタンを押して、開きます。

[ ImageQuant TL 1D v8.1 -					🗖 🗗 🔽
File Edit View Analysis Rep	oorts Window Help				
	Preview Annotate Contrast Color	r Options Edit Image	Single Overlay Channell Channel Channel Channel Channel	l nel4	
	Image Window [Zoomed to		💶 🗖 🔀 📓 Lane		
Automatic wise	9、11 歴 県 ファイルを開く			? 🛛	
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	ファイルの場所	D: 🗁 Images	- = = = -		
Automatic analysis steps:	最近使ったファイ ほう デスクトッフ マイドキュッシュー マイ コンビュー・ マイ カンビュー・	2channeldir d d.Basictif d d.Basictif d d.Basictif d d.Barntif d d.Darntif d d.Darntif d d.Darntif d d.Ters tif S.Channelds d Aray, Blottif d Aray, Blottif Golony, Spots.tif			no lanes to show.
<ul> <li>If required, select an area of interest in the Image window</li> </ul>	A CONTRACTOR	ファイル名(N): 1c	d_norm_crop.tif	Open	v k
<ul> <li>Press the Automatic button to run through the selected steps</li> </ul>		ファイルの種類(T): A	II ImageQuantTL image files (*.tif,*.tiff,*.gel,*.ds,*.i ▼	キャンセル	
Press the Stepwise button to run through the steps one by one     Click for help	Analyse this image of the second seco	w using: F Preview w Uppes of 1D			
					_
	Selected Lane 🖌 All	_anes 🖌 Comparison /	4		
Ready					

9) 次にイメージのコントラストを調節します。ツールバーの'Contrast'ボタンを押すと、ピクセルのシグナル強 度(濃さ)のヒストグラムが表示されます。二つのスライダーの両端に小さな三角形があります。



10) 右側の三角形もしくは赤いライン上で、クリック&ドラッグすると、イメージを濃く表示します。横軸は色の濃淡を示していて、スライダーの間でグレースケールが決められています。縦軸は各濃度のピクセルの 分布を示しています。

[ ImageQuant TL 1D v8.1 - 1	d_norm_crop.tif		
File Edit View Analysis Repo	rts Window Help		
Open Copy Print Pr	eview Annotate Contrast Colour Options	Edit Image Single Overlay Channel1 Channel2 Channel	3 Channel4
a Du	Image Window [Zoomed to fit]	🔳 🗖 🔀 Lane	
Automatic Stepwise	🔍 lil 🔡 💭 🖑	Contrast	
Automatic analysis steps: ✓ Lane Creation ✓ Background Subtraction ✓ Band Detection Manual only analysis steps: Molecular Size Calibration Quantity Calibration Normalisation		Charnel  Ch	There are no lanes to show.
<ul> <li>1D Analysis</li> <li>If required, select an area of interest in the Image window</li> <li>Press the Automatic button to nun through the selected ateps</li> <li>Press the Stepvise button to nun through the steps one by one</li> <li>Click for help</li> </ul>	Measurements Window	Intege Histogram Low It is in the second se	ed.
	Selected Lane ( All Lanes ( )	Comparison /	 

11) 薄いバンドを見たいときは、右のスライダーを左に寄せます。同様に、左のスライダーを右に寄せると、イメージは白く(明るく)なり、バックグラウンドを低く表示できます。



12) 元のイメージに戻したい場合は、右にある'Defaults'ボタンをクリックします。コントラストを変えても、数 値情報(バンドボリューム)が変わることはありません。コントラストの調整は解析中にいつ、何度行っ ても問題ありません。

[ ImageQuant TL 1D v8.1 - 1	ld_norm_crop.tif		🗖 🗗 🔀
File Edit View Analysis Repo	rts Window Help		
Open Copy Print Pr	eview Annotate Contrast Colour Options	Edit Image Single Overlay Channel1 Channel2 Channel	3 Channel4
e Da	📑 Image Window [Zoomed to fit]	💶 🗖 🗙 🖀 Lane	
Automatic Stepwise	🔍 1=1 🔛 🚛 🖑	Contrast X	
Automatic analysis steps: Cane Creation Background Subtraction Band Detection Manual only analysis steps: Molecular Size Clibration Quantity Calibration Normalisation 10 Analysis • If provision detect an area of		Invert display Preview / Edit sample area	There are no lanes to show.
interest in the Image window • Press the Automatic button to run through the selected steps • Press the Stepwise button to run through the steps one by one	Measurements Window	Hight 221 = Defaults 131 Pixel Intensity 239 Manual =	
Click for help	() Selected Lane (All Lanes (		ad.
Ready			/

13) イメージを拡大するには、イメージウィンドウの左上にある虫眼鏡ボタンをクリックして、拡大したいところ をクリック&ドラッグします。



#### 3. バンドボリューム解析 - Analysis Toolbox -

1) コントロールセンターの Analysis Toolbox を選択します。

My Documents		
In Computer	🔽 ImageQuant TL Control Centre	
My Network	ImageQuant TL         ImageQuant TL <td< th=""><th></th></td<>	
Recycle Bin	Colony Counting Count colonies or detect 2D electrophoresis spots         Array analysis Analyze dot/slot blots, microplates or macroarrays         Online Help Look up queries in the comprehensive reference guide	

2) 'Open'ボタンをクリックして練習用の画像を開きます。データは、C:/Documents and Settings /All Users/Application Data/GE Healthcare/ImageQunat TL/Images (Windows XP) もしくは C:¥ProgramData¥GE Healthcare¥ImageQuant TL¥Images (Windows 7)の中にありま す。'1D\_basic.tif'を選びます。

[ ImageQuan	nt TL Tool		- 1d_Basic.ti					🔳 🗗 🔀
File Edit Vie	ew Analysis	Object	Window Help					
Open Ci	-Ca 🗮 Copy Prir	) 🖸 t Previe	w Annotate	Contrast Colour	Options Edit Image	Single Overlay Channel1 Channel2 Channel3 Cha	4 annel4	
	Γ,	,	Image Wind	ow (Zoomed to Fi	it)		🔛 Line Window	
	q	ar	a 11 🛃 🕼	ファイルを間く			? 🔀	
Areas Li	lines Se	ector		ファイルの場所の:	🗀 Images		<b> </b> -	<u></u>
	<b>N</b>	<b>k</b>			Channel.dir			
а -	Z			最近使ったファイル	Id_Basic.tif			
0 0	-2. Auto	drace	日日日		Id_Norm.tif Id_Tiers.tif			
Ħ	C.		12 28	デスクトップ	33 2channel.ds ■ Array Blottif			
			-	21 K+15/1	Array_microtitre.t	tif		
4		1	<b>1</b>		Colony_Spots.tif			No profiles to display.
Previous	Next	•		קר באתב אר				
Autotrace Para	ameters	_	1					
Edge pixel inte	ensity	-		マイ ネットワーク				
Threshold 50	)				ファイル名(N): ファ (川の話題(T))	1d_Basic.tif	Open trail	
Region of Inter	erest	-			ノアイ ノレリノイ里大見 (17:	All imageQuant i L image files (*.tir(*.tir(*.tir(*.ds)*.i )	44500	· ·
Width 10	00 ріхе	s 上	ſ	Analyse this image u	sing: Vrev	view		×
Height 10	00 pixe	s 📕	Area Windo	for general analysis u	using a range			
				of area and profile-b	ased tools.			
						•		
						Nn area data to display		
Instructions	Parameters /							
	-9 ⊞ (							
Ready								

3) 'Shape Definition'ボタンをクリックします。次のスライドの画面に切り替わります。

🔃 ImageQuant TL Toolbox v8	.1 - 1d_Basic.tif		_ @ 🛛
File Edit View Analysis Obje	ct Window Help		
Open Copy Print P	eview Annotate Colour Options Estit Image Single Overlay Channel1	Channel2 Channel3 Channel4	
	🔯 Image Window (Zoomed to Fit)	💶 🗖 🔀 Line Window	
	🔍 11 🕎 💭 🖑	۹ 🛃	
명 Shape Definition		*	<b>A</b>
Background Subtraction			
	*********	No profiles to display.	
Previous Restart			
Experiment Overview • Click on an analysis step to review or edit			
<ul> <li>Use the steps to perform further analysis</li> </ul>			
<ul> <li>Press Restart to clear analysis and start again</li> </ul>	•		
Click for help	🗰 Area Window		
	No area	a data to display.	

4) イメージを拡大するには、イメージウィンドウの左上にある虫眼鏡ボタンをクリックして、拡大したいところ を左ボタンを押した状態でドラッグします。

[ ImageQuant	t TL Toolb	ox v8.1 -	1d_Basic.tif						_ @ 🛛
File Edit Viev	w Analysis	Object	Window Help						
Open Co	b 🎒	Preview	w Annotate Contrast C	🍪 📰 💋	age Single Overlay	Channel1 Channel2 Cha	3 4 annel3 Channel4		
	~	. 😥	Image Window (Zoomed	to Fit)			🗖 🛛 🔛 Li		
	Clea		🕻 14 🛃 🕼 🖑				<u>م</u>	₽	
Areas Lin	ner Sele	eter 1	-						<u>_</u>
					_				
- R - 3	z ,	`							
	Z. Autot	race		🗩 🖛 🖛 🕬					
S 2	- /	1							
Ⅲ									
								No profiles to display.	
Previous		•							
	110.11	_ []							
Autotrace Para	meters								
Edge pixel inter	nsity								
I hreshold 50									
Region of Intere	est								<b>_</b>
Width 100	) pixels	. 🛄							
Height 100	) pixels		Area Window						
· · ·									
						No area data to disp	lay.		
Instructions A	Parameters /	_							
0.79 2.79		01							
	9 III								
Ready									

IQ Image(	luant TL	Toolbox v	v8.1 = 1d_Basic.tif	
File Edit	View A	nalysis Ob	oject Window Help	
Open	Copy	Print	Preview Annotate Contrast Colour Options Edit Image Single Overlay Channelt Channels C	annel4
		$\mathbf{x}$	📓 Image Window (1.73:1)	🖀 Line Window 📃 🗖 🗙
		Clear	🔍 1i 🛃 💭 🖑	۹ 🖻
Areas	Lines	Selector		<u> </u>
	<ul> <li>N</li> </ul>	ĸ		
	tangle			
o	2	Autotrace		
\$	V	ď		
Ħ				
4		⇒		No profiles to display.
Previous	•	Next		
Autotraci	a Parameter			
Edge pix	el intensity-			
Threshol	d 50			
Begion c	f Interest			
Width	100	nivels	·	
Haiaht	100		Area Window	
neigni	100	pixels		
			No area data to display.	
L. b. atomatic				
I instructio	ns A Param al cal lo			
60,00 60,00 60,00		⊞ ₩		
Danda				

5) ナビゲーターの左上の'Rectangle'(四角、レクタングル)ボタンをクリックし、選択します。

6) イメージ上でバンドをクリック&ドラッグで囲みます。後でこの枠をコピーするため、少し大きめの枠で囲み ます。マウスを放すと、メジャーメントウィンドウでその枠に含まれる数値が数値化されます。



7) 検出枠を選択し、右クリックで'Copy'、'Paste'を選び、枠をコピーします。他の目的バンドに移動させま す。

[ ImageQuant TL Toolbox v	3.1 ~ 1d_Basic.tif	
File Edit View Analysis Obj	ect Window Help	
Open Copy Print F	review Annotate Contrast Colour Options Edit Image Single Overlay Channel1 Channel2 Channel3 Ch	 annel4
×	🛿 Image Window (1.74:1)	🔛 Line Window
Clear	9, H 🕅 🔛 🖑	۹. E
Areas Lines Selector		<u></u>
S 2/ d		
Ħ		
	1	
		No profiles to display.
Previous Next		
Autotrace Parameters		
Edge pixel intensity		
Threshold 50		
Region of Interest		<b>_</b>
Width 100 pixels		
Height 100 pixels	Area Window	
	Image: Program (1)         Operating (1)         Discretion (1)         Disc	00 28.42 807.64 79.00 199.00 52.42 76 .00 28.94 526.27 81.00 181.00 47.58 76
Instructions / Parameters /		
12 <u>12</u> 4 🖽 🏧	<u>د</u>	×
Ready		

8) コピーの検出枠は'2'という名前から、メジャーメントウィンドウの Name に入力して書き換えることができま す。



9) カーソルを'Selector'(矢印)にして、コピーした枠を並べます。枠を削除したい場合には、'Clear'アイ コンをクリックします。

File Edit View Analysis Object Window Help Copen Copy Print Prevere Anotate Colour Options Edit Image Single Overlay Channels Channels Channels	
Image       Image <th< td=""><td></td></th<>	
Image Window (1.74:1)         Image Window (1.74:1)           Q 11 III III         Q	
	<u>_</u>
Areas Lines Selector	
1 2 3 4 5 6 7 8 9 Na profiles to divelop	
Previous Next	
Autorary Parameters	
Threshold 50	
Will 100 poet	
Height 100 pixels	cent Ar
1 90339.00 90339.00 0.00 0.00 None 103.00 115.82 87.00 28.42 807.64 79.00 199.00 1028	78
2 117122.00 117122.00 0.00 0.00 None 123.00 150.16 254.00 50.31 3637.54 84.00 254.00 13.32	78
3 99782.00 99782.00 0.00 None 105.00 127.93 87.00 45.83 2100.49 81.00 254.00 11.35	78
4 124398.00 124398.00 0.00 0.00 None 141.00 159.48 254.00 50.06 3360224 85.00 254.00 14.15 14.00	78
1/10/10/10/10/10/10/10/10/10/10/10/10/10	76
7 82905.00 82905.00 0.00 0.00 None 96.00 10629 87.00 28.77 827.63 81.00 254.00 9.43	78
8 114146.00 114146.00 0.00 0.00 None 130.00 14634 94.00 50.36 2536.42 84.00 254.00 12.99	78
hatuctions Parameters / Paramet	78
	>

10) 検出枠を設定し終えたら、バックグラウンドを削除します。ナビゲーターの'Next'ボタンをクリックして、バッ クグラウンドの設定画面を表示します。



11) ナビゲーターの左上の'Rectangle'(四角)ボタンをクリックし、図中の枠'10'のようにバックグラウンド領域を枠で囲みます。バックグラウンドはこの枠の明るさの平均値で計算されます。



12) カーソルを'Selector'(矢印)にして、緑のバンドの枠を囲んで全て選択します(白い四角が枠に表示されます)。ナビゲーターの'Parameter'でバックグラウンドの引き方を設定します。'Image rectangle/Ellipse'のボタンを選択します。プルダウンから'10'を選択し、Subtract をクリックするとバックグラウンドが引き算されます。



13) 右から 2 番目のバンドはバックグラウンドが濃いので、設定しなおします。ナビゲーターの'Rectangle'ボタンを押して、濃いレーンで図の枠''11'のようにバックグラウンドを設定し直します。

🔯 ImageQuant TL Toolbox v	/8.1 = 1d_Basic.tif		_ 7 🛛
File Edit View Analysis Ob	ject Window Help		
Open Copy Print	Preview Annotate Colour Options Edit Image Single Overlay Channell Channell Channell	3 4 annel3 Channel4	
r x	🔯 Image Window (1,74:1)	🔲 🔀 🕍 Line Window	_ 🗆 🗙
Subtract Clear	9, 11 🕑 🚑 🖑	۹ 🖻	
Background shape Selector			
	1 2 3 4 5 6 7 8 9	No profiles to display.	
Previous Next			
Selected method:	10 11		
• None			
C Local Average			
C Local <u>M</u> edian			<u> </u>
○ <u>H</u> istogram Peak			
C Image Rectangle/Ellipse	🗰 Area Window		
11 🔹	Name Volume Volume + Ba., Background Background , Background , Median Inten., Averag	se Inte Mode Intensi Std Dev Variance Min Intensity Max Intensity	Percent Ar
	2 47455.51 10339.00 59656.39 89.30 Shape 10 103.00 115.82	2842 80764 79.00 199.00 82 254.00 60.31 3637.54 84.00 254.00 18	.83 70
	3 30126.61 99782.00 69655.39 89.30 Shape 10 105.00 127.93	87.00 45.83 2100.49 81.00 254.00 11	95 67
	4 54742.61 124398.00 69655.39 89.30 Shape 10 141.00 159.48 5 7998.61 77654.00 69655.39 89.30 Shape 10 94.00 99.56	254.00 60.06 3607.24 85.00 254.00 21 88.00 15.34 235.40 81.00 146.00 31	.71 72 7 40
	5 24242.51 93898.00 69655.39 89.30 Shape 10 106.00 120.38	91.00 34.26 1173.99 83.00 205.00 9.6	1 66
	7 13249.51 82905.00 59555.39 89.30 Shape 10 95.00 105.29 8 44490.51 114145.00 59555.39 89.30 Shape 10 130.00 145.34	87.00 28.77 827.63 81.00 254.00 5.2 94.00 50.36 2536.42 84.00 254.00 17	5 56 65 73
	9 9134.61 78790.00 69655.39 89.30 Shape 10 95.00 101.01	87.00 14.93 222.84 81.00 146.00 3.6	2 56
			2

14) カーソルを'Selector'(矢印)にして、計算しなおす緑のバンド枠'8'を選択します。ナビゲーターの'Parameter'で'Image rectangle/Ellipse'のボタンを押し、'11'を選択します。このようにバンド個々に 異なるバックグラウンドを設定できます。



15) メジャーメントウィンドウの項目の表示を変更する場合は、ツールバーの'Options'をクリックし、ダイアログ ボックスを表示させます。Table タブの項目にチェックを入れると、メジャーメントウィンドウに表示されま す。



16) Excel などで開くことができるファイル形式(.CSV 形式)でデータをエクスポートします。メジャーメントウィ

ンドウをアクティブにして、Edit メニューから'Export to File'を選択し、.CSV 形式でファイルを保存します。



17) Excel でファイルを開くと、エクスポートされたデータが表示されます。この数値から、バンドの Volume の 棒グラフを作ります。 Volume があるセルを選んで、グラフウィザードで棒グラフを作ります。Volume は シグナル強度×面積の数値で、バンドのタンパク質量や DNA 量を比較します。



18) 画像を Excel などにコピーしたい場合には、ImageQuant TL に戻り、イメージウィンドウをアクティブにして、 Edit メニューから'Copy to Clipboard'を選択します。



#### 19) 空いているセルの上で右クリックし、'Paste'をクリックします。

🗶   🛃 🕷	<b>) •</b> (° •	-   <del>-</del>					E	xport.csv -	Microsoft (	Excel							c	- # %
ファイル	本-77	挿入	ページ レイアウ	ト数式	データ	校閲 表	示										۵ 🕜	- # X
Ē.	м	S Pゴシック	~ 1	1 · A A	==	≡ ॐ∵	🔓 折り返し	て全体を表示す	5 標準		-			<b>H</b>		Σ -	Ż	<pre>m</pre>
貼り付け	<b>3</b> B	IU-	🖽 •   🍐	· <u>A</u> · <u>#</u>	· = =		セルを結	合して中央揃え	- 9 - 9	/o ,	08 条件付 書式	き テーブルとして	セルの スタイル・	挿入削調	ŧ 書式	<u>∎</u> . ⊘.≁	並べ替えと	検索と 選択 ▼
クリップボー	5 6		フォント		Ge .		配置		Ga .	数値	5	スタイル		セル	,		編集	
	A11	•	fx fx															~
	А	В	С	D	E	F	G	Н	I	J	К	L	M	N	0		Ρ	Q
1		Volume	Volume + E	Background	Backgroun	Backgrour	Median Inte	Average In N	lin Intensi	Max Intensi	y							
2	1	20683.61	90339	69655.39	89.3	Shape 10	103	115.82	79	199								
3	2	47466.61	117122	69655.39	89.3	Shape 10	123	150.16	84	254								
4	3	30126.61	99782	69655.39	89.3	Shape 10	105	127.93	81	254								
5	4	54742.61	124398	69655.39	89.3	Shape 10	1 41	159.48	85	254								
6	5	7998.61	77654	69655.39	89.3	Shape 10	94	99.56	81	146								
7	6	24242.61	93898	69655.39	89.3	Shape 10	106	120.38	83	205								
8	7	13249.61	82905	69655.39	89.3	Shape 10	96	106.29	81	254								
9	8	30121.31	114146	84024.69	107.72	Shape 11	130	146.34	84	254								
10	9	9134.61	78790	69655.39	89.3	Shape 10	95	101.01	81	146								
11																		
12																		
13	1.1			· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·														
14	- 12	1 11 1			- <b>T</b>					Vo	lumo							
15	- 14			1 1 1 1						vo	ume			_				=
16	- 10							60000										
17	- 31																	
18								50000	_									
19	- 23	-		-		1												
20								40000										
21	- 1- 1	1	2 3 4	5 6	7 8	9												
22	-							30000						Volume				
23								20000										
24			10		11													
25		14 C. C. C.	_		_	-		10000			_		_					
26	- 5.3																	
27					- 16 <b>- 2</b>			0										
28								1	2 3	4 5	6	7 8	9	_				
29							L											
30		5 8 1 1 3																
31																		•
14 + H	Export	t / 🔁 /								•								▶ []
コマンド															10	)% 😑		+

#### 4.1D ゲル解析 – 1D gel analysis –

#### ①オートマチック解析(レーン作成・バックグラウンド除去・バンド検出)

1) コントロールセンターの'1D gel analysis'を選択します。

ImageQuant TL         ImageQuant TL         ImageQuart TL <td< th=""><th>ImageQuant TL   ImageQuant TL</th><th>My Computer</th><th>🖸 ImageQuant TL Control Centre</th><th></th></td<>	ImageQuant TL   ImageQuant TL	My Computer	🖸 ImageQuant TL Control Centre	
Look up queries in the comprehensive reference guide		Ny lebuork.	ImageQuart TL         ImageQuart TL         ImageDecemperature         Analyze 1D electrophoresis gel images         ImageDecemperature         ImageDecemperature	

2) 解析を始める前に、コントラストを調節して、バンドを見やすくします。はじめに'Automatic'解析を行い ます。

[ ImageQuant TL 1D v8.1 -	1d_norm_crop.tif	
File Edit View Analysis Repo	orts Window Help	
Open Copy Print Pr	Preview Annotate Colour Options Exit Image Single Charmel1 Charmel2 Charmel3	
A Do	🗄 Image Window (Zoomed to fit)	
Automatic Stepwise		
Automatic analysis steps: Lane Creation Background Subtraction Band Detection Manual only analysis steps: Melocular Size Calibration Quantity Calibration Normalisation	There are no lanes to show.	×
1D Analysis • If required, select an area of		-
<ul> <li>Press the Automatic button to run through the selected steps</li> </ul>		<u>&gt;</u>
<ul> <li>Press the Stepwise button to run through the steps one</li> </ul>		
by one     Click for help	🖾 Measurements Window	
	No lanes have been created.	
	Selected Lane & All Lanes & Comparison /	) •

3) 'Automatic'を押すと、解析ステップの次の3つのアクションが実行されます。



- 4) 解析結果はメジャーメントウィンドウに表示されます。次の3つのタブがあります。
  - 1 Selected Lane: 選択している(レーンの番号をクリック)レーン
  - 2 All Lanes: 全てのレーン
  - 3 Comparisons: 同じ高さに並んでいる全レーンのバンドの比較



5) メジャーメントウィンドウの最大化ボタンを押すと、メジャーメントウィンドウだけが表示されます。デフォルトのウィンドウ表示に戻したい場合には、Window メニューの'Arrange windows'を選択します。

[ ImageQu	ant TL 1D v8.1 -	1d_norm	n_crop.tif -	[Comparise	ons between La	nes:ch	annel1]									<sup>5</sup> ×
🗮 File Edi	t View Analysis	Reports	Window He	elp											-	ъ×
Open 2	Copy Print	Preview	Arrange W Close All V	'indows Windows		) hage	Single O	rerlay Channel1	2 Channel2 Ci	3	4 nnel4					
-		RefBar	1 Image W	indow [Zoomeo	to fit]							Lane 2				-
m		Numbe	2 Lane 1 [	100%] Current I	Lane	Vol(ug)	MW	Rf	Band No	Volume	Vol+BkGnd	Calib Vol(ug)	MW	Rf	Band No	
	Lane Creation	1	3 Compari:	sons between I	Lanes : channel I					5527.67	71 91 4 00	-		0179		
		3	1	10647.40	131734.00		-	- 0.198	2	61 41 .41	58040.00	-	-	0.212		
	Background	4	2	1625.60	38440.00		-	- 0.278	3	1702.44	38969.00	-	-	0.292		
<b>BH</b>	Subtraction	5	3	6730.83	65128.00		-	- 0.330	4	6916.47	71332.00	-	-	0.340		
		6	4	2710.27	39996.00		-	- 0.368	5	2657.07	40262.00	-	-	0.377		
74	Band Detection	7	5	7576.40	71719.00		-	- 0.410	6	7401.60	71909.00	-	-	0.425		
		8	b	3251.33	61973.00		_	- 0.472	/	3365.23	62250.00	-	-	0.485		
+	Molecular Size	10	é é	7623.85	79880.00		-	- 0.533	° 9	7711.00	85561.00	-	-	0.547		
	Calibration	11	9	6345.50	83858.00		-	- 0.797	10	61 46.77	78929.00	-	-	0.816		
		12	10	9734.78	92676.00		-	- 0.906	11	10354.62	1 04001.00	-	-	0.925	1	
Display Pro C Curr C Dyc C Star R Lan	Restart Riles: et only rilaid de d e Selection Parameters /															
		4 >	Selected	Lane 🖌 All	Lanes AComp	arison /			•							
Arrange the ch	ild windows neatly															_

6) 'Options'ボタンを押し、メジャーメントウィンドウに表示するデータを選択します。Table タブの各項目にチ エックを入れると、表に項目が表示されます。

IQ ImageQuant TL 1D v8.1 - 1d	_norm_cr	op.tif												_ 7	×
File Edit View Analysis Reports	Window	Help													
Open Copy Print Previ	ew Ann	iotate Co	ontrast Colo	bur Options	Edit Image	gle Overlay	Channel1 Ch	2 annel2 Ch	annel3 Chann	lei4					
_	Image							🖁 🔛 Lai							X
🖉 Lane Creation	Q. 1:1	म् 🔊 🖑						9	JF.						
Background Subtraction Band Detection Molecular Size Calibration				5 6 • Opti ima	7 8 9 • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	les   Lane Selec	tion Printing/C	Copying							•
Quentity Calibration		•••• •••			ble fields The tables in data fields. T Position (r Volume	the Measuremer hese can be sele nm) nches)	ts Window can cted from the lis	show different to below:	ent ♪						
Display Profiles:		<u> </u>	•		✓ Volume + ✓ Calib/Nor Peak Heig	Background m Volume ght		Ξ		50	100 Pixel P	osition	150	200	
C Durdeid					Peak + B	ackground								T	-
C Stacked					□ Area □ Band Per	centage		~							_
R <sup>an</sup> Luce Colorian					Tables or	n All Lanes tab sh	own vertically					1	/ / .	/	
Eane Selection	<u> </u>														
	- Compa	arisons b	etween La	nes:c				'							×
	Number	Band No	Volume	Vol+BkGnd	Lane 1 Calib Vol(ug)	MW	Rf	Band No	Volume	Vol+BkGnd	Calib Vol(ug)	MW	Rf	Band No	-
1 2 3 4 5 5 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7		1 2 3 4 5	10647.40 1625.60 6730.83 2710.27 7576.40	131734.00 38440.00 65128.00 39996.00 71719.00			0.198 0.278 0.330 0.368 0.410	1 2 3 4 5 6	5637.67 61 41.41 1702.44 6916.47 2657.07 7401.60	71814.00 58040.00 38969.00 71332.00 40262.00 71909.00	-		0.179 0.212 0.292 0.340 0.377 0.425		
Instructions Parameters		7	11117.60	106181.00	-	-	0.472	, 8	11297.74	111592.00	-	-	0.486		
	1	8	7623.85 6345.50	79880.00 83858.00	-	-	0.679	9 10	7711.00 6146.77	85561.00 78929.00	-	-	0.698		•
	(I)∖s	elected l	Lane 🖌 Al	Lanes <b>\C</b>	omparison /			<b> </b>		1				Þ	Γ

#### 4.1D ゲル解析 – 1D gel analysis –

#### ②ステップワイズ解析(分子量測定)

1) 'Molecular Size Calibration'ボタンを押して、分子量マーカーのバンド位置を元に、他のレーンのバンド の分子量を測定します。



2) GE ヘルスケアから販売のあるマーカーの各バンドの分子量情報はプリセットされています。Full Range Rainbow Marker (RPN800E)の場合には、'ECL Plex Rainbow'を選択します。目的のマーカーがな い場合は作成し、情報を保存できます。'Edit'ボタンをクリックし、マーカー情報を登録します。



3) イメージウィンドウからマーカーのレーンを選び、一番上のバンドの青い四角にカーソルを合わせクリックします。青い四角が赤くなり、その分子量を示す黄色い線がイメージ上に表示されます。ゲルの両端に同じマーカーのレーンがあればそのレーンもクリックします。バンドと分子量値を編集するには、バンド上のポイントをクリック&ドラッグします。





4) Curve Type (曲線の種類) で'Linear Log Curve'を選択し、'Compute'ボタンを押します。

5) マーカーのバンドの分子量(kDa)が計算されます。メジャーメントウィンドウで赤く表示されているのは、 分子量測定曲線上で高分子/低分子バンドの外に位置するバンドです。



#### 4.1D ゲル解析 – 1D gel analysis –

#### ③ステップワイズ解析(バンド定量・標準化)

1) 次にバンドの定量を行います。'Quantity Calibration'アイコンをクリックし、複数のバンドの濃度情報を 元に検量線を描きます。



2) 検量値を入力するバンドの青い四角を押すと、入力欄が表示され、数値を入力すると検量線が作成



3) 'Calibrate'ボタンを押すと検量値がメジャーメントウィンドウの表の Calib Volume(単位)に反映され ます。メジャーメントウィンドウで赤く表示されているのは、最も高濃度/低分子のバンドよりも検量線上 で外に位置するバンドになります。



4) 次に標準化(ノーマライゼーション)の手順を示します。先に示した Quantity Calibration ではいくつか のポイントを使って検量線を作成するのに対し、ノーマライズは1本のバンドの値を基準に、標準化した



[ ImageQuant TL 1D v8.1 - 1	1d_norm_c	rop.tif												_ @ 🛛
File Edit View Analysis Repo	orts Window	v Help												
Open Copy Print Pr	review An	P notate Co	ontrast Cold	ur Options	Edit Image Sin	igle Overla	y Channel1 Ch	2	3 4 annel3 Chann	nel4				
1 V	🗄 Image	Window	Zoomed to	o fit]				🛛 🔛 Lan						
Normalise Clear	Q, 11	2 🖉 🍕						۹ 🗜	3					
Normalised to: No band(s) selected Previous Next The normalised volume is 100 nanogram											Pixel Po	9 • • • • • • • • • • • • •		
of bands, normalising to a group														
<ul> <li>their average volume</li> <li>their collective volume</li> </ul>	<u> </u>								1		1/1	1	, ,	
	📑 Comp													
	RefBand Lane 1			1004.0		8 IN 1			Lane 2	1004 0		A 111		
	Number 1	Band No	Volume	Vol+BkGnd	Norm Vol(ng)	MW (kd)	Rf	Band No	Volume	Vol+BkGind	Norm Vol(ng)	MW (kd)	Rf	Band No
	2	1	11495.59	125827.00	-	-	0.084	1	5782.33	75981.00	-	-	0.060	1
	4	2	1645.59	34533.00	-	-	0.140	2	1779.62	46987.00	-	-	0.1 03	
	5	4	7501.40	75599.00	-	-	0.242	4	7046.67	69666.00	-	-	0.250	4
	6	5	2588.80	36724.00	-	-	0.287	5	2705.93	42563.00	-	-	0.293	5
	8	5	7953.80 3261.00	76397.00 65862.00			0.337	5	7639.40	75981.00 65799.00			0.348 0.41 8	7
Instructions A Parameters /	9	8	11675.00	118493.00	-	-	0.483	8	11481.00	112254.00	-	-	0.489	8
	10	9	7776.77	84802.00	-	-	0.663	9	7884.30	85010.00	-	-	0.663	9
		10 Selected	6/66.22	83781.00	mnarison /	-	U.798	10	6319.00	/8063.00	-1	- 1	U./99	10 -
		icicoteu i	Conce A Poi	Curico Aoc	inparison y									

5) 'Normalization'ボタンをクリックすると'Normalization'の画面が表示されます。

6) バンド上の青い四角をクリックし、ナビゲーターの入力欄にそのバンドのタンパク質量の値を入力しま す。'Normalize'アイコンをクリック、メジャーメントウィンドウの Calib vol (単位) に結果が表示されま



#### 4.1D ゲル解析 – 1D gel analysis –

#### ④ステップワイズ解析(バックグラウンド除去・バンド検出)

1) ここでは、前述の自前述の自動解析(Automatic)で行ったレーン作成、バックグラウンド削除、バンド検出の 3 つのステップをマニュアルで行います。はじめにレーン作成を行います。'Stepwise'をクリックしてください

	o	
[ ImageQuant TL 1D v8.1 -	1d_norm_crap.tif	- 🖻 🔀
File Edit View Analysis Rep	ports Window Help	
Open Copy Print P	Preview Annotate Contrast Colour Options Eat Image Single overlay Channel? Channel?	
Automatic Stepwise	E Imace Window [Zoomed to fit]	
Automatic analysis steps: ✓ Lane Creation ✓ Background Subtraction ✓ Band Detection Manual only analysis steps: Molecular Size Calibration Quantity Calibration Normalisation	There are no lanes to show.	
1D Analysis • If required, select an area of interest in the Image window • Press the Automatic button to run through the selected steps • Press the Stepwise button to	 ۲۲	<u> </u>
run through the steps one by one	A Measurements Window	
Click for help	No lanes have been created.	
	Selected Lane & All Lanes & Comparison /	
Ready		

2) 'Select edit mode'を'Create Lanes'にします。その下の'Manual'アイコンをクリックします。左下のパネルの'Number of Lanes'にレーン数を入力します。この場合は 11 レーンと入力します。'Lane % width'はレーン幅とレーン間の間隔の割合を足して 100%としたときのパーセンテージです。ここでは 95%と設定します。'Number of Tiers'は 1 です。



3) 左端のレーンの左上(泳動開始点)から右端レーンの右下(泳動終点)までをクリック&ドラッグで作成 します。失敗したら、'Clear'ボタンで消して再度行います。



4) レーンがスマイリング(曲がっている)を起こしている場合には、認識エリアをスマイリングに合わせて補

正することができます。'Select edit mode'を'Create Lanes'から'Edit Multiple Lanes'を選択します。

🛄 ImageQuant IL 1D v8.1 -	Ta_norm_crop.tit	(= )( <sup>_</sup> )
File Edit View Analysis Re	borts Window Help	
Open Copy Print	Preview Annotate Contrast Colour Options Edit Image Single Overlay Ortannel Channels Channels	
	E Image Window (Zoomed to fit)	
Accept Clear	<ul> <li>प मा 🗹 💀 🕄</li> </ul>	
Select edit mode: Create Lanes v Create Lanes Edit Multiple Lanes Edit Single Lanes	This lane has no profile	4
The whole image Previous Next Number of Tiers		
Number of Lanes 11		<u>}</u>
Lane % width 95 📑	This lane has no profile	
	🗄 Measurements Window [Lane 1, channel 1]	
Instructions Parameters	No measurements to display	
	★ Selected Lane	<b>&gt;</b>
X:53 Y:10 Int:151.000		

 'Bend/Resize Lane Box'を選択し、枠の4隅のポイントをドラッグします。枠とレーンをあわせます。このイ メージの場合、すそ広がりのカタチにあわせます。コーナー以外のところを左クリックすると変曲点が作成 できます。点を消すときはその上で右クリックします。



#### イント(変曲点)を削除したい場合には、ポイント上で右クリックしてください。



7) Edit Single Lane モードにすると、各レーンごとに'Bend/Resize'で幅を変更したり、'Move'で動かすことが できます。

[ ImageQuant TL 1D v8.1 -	1d_norm_crop.tif		
File Edit View Analysis Rep	orts Window Help		
Open Copy Print P	review Annotate Contrast Colour Options Edit Image Single	Overlay Channell Channel2 Channel3 Channel4	
🗸 🗙	Image Window (Zoomed to fit)	💶 🗖 🔛 🖾 Lane 1 [100%]	×
Accept Clear	<b>よ</b> 目 階 節 公	Q ₪	
Select edit mode:		10 11	
Edit Single Lanes 🔹			
🔒 Bend / Resize			
N#+ Move			
9_P Add Grimeree			
			This lane has no profile
The whole image			
⇐ . ⇒ .			
Previous Next			
List laws with			
16 - pixels Apply			<b>v</b>
		<u> </u>	×
X Delete Current Lane			
	<b>ا</b>		This lane has no profile
	Measurements Window [Lane 1, channel 1]		
			<u></u>
		No measurements to display	
\ Instructions \ Parameters /			
	11) Selected Lane All Lanes & Commercision	1	• •
X 7 Y: 128 Int: 159,000	Lane A An Lanes A comparison /	(L*)	

🔯 ImageQuant TL 1D v8.1 -	ld_norm_crop.tif							
File Edit View Analysis Rep	orts Window Help							
Open Copy Print P	review Annotate Contrast Colour Options Edit Image Single	Overlay Channel Channel2 Channel3 Channel4						
/ V	Image Window [Zoomed to fit]	💶 🗖 🔀 🕍 Lane 10 [100%]	🗙					
Accept Clear	🗣 til 🛃 💭 🖑	۹ 🖻						
Select edit mode: Edit Single Lanes			This lane has no profile					
		4						
X Delete Current Lane	٩		This lane has no profile					
	Measurements Window [Lane 10, channel 1]							
Instructions Parameters	No measurements to display							
	★ Selected Lane & All Lanes & Comparison /	4						

<sup>8)</sup> 全レーンの設定終了後、'Next'ボタンを押してバックグラウンド削除に進みます。

9) レーン上にあるレーンナンバーをクリックすると、そのレーンのプロファイルのデンシトグラムが右のウィンドウ に表示されます。レーンプロファイルは横軸がレーンの長さ、縦軸がシグナル強度として表示されていま す。



10) バックグラウンド削除方法は'Rolling ball'を推奨しています。ある大きさの半径を持つボール(球)がレーンの下側を転がっていると想像してください。その軌道上でベースラインを引きます。半径(Radius) は'200'で試してみてください。



11) 'Subtract'をクリックすると、紫色のベースラインがすべてのレーンプロファイル下に表示されます。'Next'ボ タンを押して、'Band Detection'(バンド検出)に進みます。



12) 'Detect'アイコンをクリックしてピークを検出します。



13) 'Minimum slope'のバーはバンド検出の感度を決めます。Slopeとはプロファイル中のカーブの立ち上がり



14) 角度を上げると、バンド検出感度が下がります。濃度の低いバンドが検出されなくなります。適切な感 度でバンド検出の後、マニュアルで編集します。



15) バンドを消去するには、そのバンド上で右クリックしてください。複数のバンドを消去したい場合には、対 象バンドを右クリック&ドラッグで囲みます。



<sup>16)</sup> 右クリック&ドラッグで一括消去したときは警告が出るので、'Yes'をクリックします。



17) 全てのバンドを消すには'Clear'ボタンを押します。バンドを追加するには、バンドの上で左クリックします。 これはイメージ、プロファイルどちらからでも設定できます。異なるレーンで横に並んでいるバンドを選択し てみましょう。



18) メジャーメントウィンドウに選択したバンドの値が表示されます。'Volume'はイメージウィンドウ上でレーン とバンドを挟む赤(点)線に囲まれた範囲内のピクセル値の合計です。このデータをエクセルに転送し ましょう。メジャーメントウィンドウで'All lanes'タブを選択します。



19) メジャーメントウィンドウをアクティブにして、Edit メニューから'Export to Excel'を選ぶと、数値がエクセルに 転送されます。



#### 5. コロニーカウンティング – Colony Counting –

1) コントロールセンターの'Colony Countin'を選択して、イメージを開きます。

My Documents			
Wy Computer	[ ImageQua	int TL Control Centre	
Ny Network	Imag	eQuant TL	
		<u>1D gel analysis</u> Analyze 1D electrophoresis gel images	
InsequentT	٩	Analysis Toolbox Analyze images using area and profile-based tools	
1		Colony Counting Count colonies or Count 2D electrophoresis spots	
Recycle Bin		<u>Array analysis</u> Analyze dot/slot blots, microplates or macroarrays	
	2	Online Help Look up queries in the comprehensive reference guide	

2) 'Detect'ボタンをクリックします。





3) マウスを左クリックした状態で、イメージの左上から右下へドラッグして、検出範囲を設定します。

 4) マウスを放すと検出枠内のコロニーが検出され、コロニーが青く表示されます。検出感度は、ナビゲータ ーの'Sensitivity' 'Operator Size'などで調節できます。検出されたコロニーは、メジャーメントウィンドウで 数値化されます。



5) コロニーを検出できたら、必要に応じてコロニーの編集を行います。ナビゲーターの'Next'ボタンをクリック します。



6) ナビゲーターのツールで編集します。

Draw or Erase Features: コロニーのマニュアル追加(左クリック)と消去(右クリック)

Delete Features : コロニーの削除

Split Features : コロニーの分割

編集後、ナビゲーターの'Renumb.'をクリックすると、イメージ左上から順に番号が割り当てられます。



7) 最後に、バックグラウンドを削除します。ナビゲーターの'Next'ボタンをクリックします。

[ ImageQuant TL Colony v8	.1 = colony_petri.tif								_ 7 🛛
File Edit View Analysis Win	dow Help								
Open Copy Print F	Preview Annotate Original	Colour Options E	dit Image						
• ×	🛞 Image Window (Zoom	ed to Fit)						Zoom Window	
Renumb. Clear	🔍 1il 🛃 🕼 🖑								
Pen/eraser size (at 1:1)							<u> </u>		
••••									
🖉 Draw or Erase Features	1								
🚱 Delete Features									
Split Features		1	•					and a second sec	
\									
Previous Next		•• \/ • \	1						
Edit			. 1						
Draw features on the Image									
button; erase using the right									
Renumber the features after							U H		
editing	•				~				
- Cack for help	🗰 Measurements Windo	w (76 colonies)							_ 🗆 🗙
				This	image contair	is 76 colonies.			^
	Colon y Number Coords	Volume	Vol + BkGnd	Background	Area	Average Intensity	Gircularity		
	1 (367.1	24) 6623.00	6623.00	0.00	42	157.69	0.06		
	2 (389.1	26) 10832.00	10832.00	0.00	65	166.65	0.42		
	3 (331,1	29) 1455.00	1455.00	0.00	9	101.57	0.79		
	4 (363.1	407 4701.00	4701.00	0.00	30	131.97	0.84		
	6 (287.1	47) 9466.00	9466.00	0.00	50	157.77	0.92		
Instructions	7 (342 1	47) 15520.00	15520.00	0.00	95	157.77	0.07		
1/mrs availed	8 (461 1	50) 714.00	714.00	0.00	5	142.80	0.77		
	9 (315.1	55) 32745.00	32745.00	0.00	174	18819	0.85		
	10 (452.1	60) 7259.00	7259.00	0.00	58	125.16	0.90		
-   -	11 (264-1	61) 1845.00	1845.00	0.00	15	123.00	0.01		×
Dandy									

8) ナビゲーターの Parameters の'Image Rectangle'のボタンを押して選択します。イメージウィンドウで、バックグラウンドと設定するエリアを囲みます。バックグラウンドはこの枠の明るさの平均値で計算されます。



#### 6. アレイ解析 - Array analysis -

1) コントロールセンターの'Array analysis'を選択して、イメージを開きます。



2) 画像を開いたら、ナビゲーターの'Spot Detection'をクリックします。



3) ナビゲーターの Parameters の Grid Type で、該当グリッドを選択します。該当グリッドが一覧にない場合は、Grid 数を設定して作成します。グリッド情報は保存できるので、次からは選択するだけです。



 'Detect'をクリックすると、イメージウィンドウで検出グリッドが表示され、メジャーメントウィンドウで、各ウェ ルの数値が表示されます。



5) 認識したグリッドの径を調節したい場合には、'Auto-size upon creation'のチェックを外し、数値を変更 して径を変更できます。四隅ウェルをドラッグするとグリッド位置を全体的に微調整できます。1 ウェルず つ動かしたい場合には、ナビゲーターの'Move&Resize Spots'をクリックし、ウェルを動かします。



6) 'Next'をクリックしてネガティブコントロールの設定画面に進みます。



- 7) ネガティブコントロールを設定します。
  - 1 ナビゲーターの Parameters の'Negative Controls'のボタンを押します。
  - 2 Image Window で、ネガティブコントロールのウェルをクリックし、
  - 3- ナビゲーターの'Set negative control'ボタンをクリックします。
  - 4- バックグラウンドは、ネガティブコントロールウェルのインテンシティの平均値で計算されます。



Subtract													
	c .	0	-										
the survey of the			000	00	000	$\mathbf{b}$							•
<ul> <li>Set negative control</li> </ul>													•
Deselect negative control					$\mathbf{O}$								06 88
						0				000		0000	0 8
					$\mathbf{O} \mathbf{O} \mathbf{O}$					000	00	0000	0 🕺
										000	0000	0000	0
Method: Negative Controls													
Inculor. Incigative controls		000		00		OI							
Drouiouo Nout		000			000	$) \cap ($							
Previous Next													
		OOO	) 🔘 🔘	000	000								
Selected method:		00		00	000	0							
Spot Surface Minimum		000	$\mathcal{O}$		000								
Spot Edge Average						-							
Negative Controls						1000							
C Image Rectangle													
C None	•								•				
												C	
	H Mea	surements Wi	ndow LVolum	ej									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	<b>_</b>
	A	2849833.33	84134.72 95005.04	1399019.33	512116.84 955175.22	2000002 22	1003561.33	1215367.33	317793.87	169695.57	434670.88	224220.34	
	C	2512993.33	91203.99	2013097.33	2620297.33	1486301.33	2792153.33	1279395.33	786139.33	1985461.33	1038317.33	1177017.33	
	D	2005279.33	112595.53	2963231.33	724579.33	2185061.33	2170469.33	2496235.33	2108583.33	1766465.33	2696491.33	1874253.33	
	E	1324813.33	178145.33	2419697.33	2628903.33	2057155.33	1755449.33	1946205.33	2161625.33	1806228.84	2218527.33	150331.35	
	F	893575.33	134554.01	1927185.33	3198733.33	1615075.33	2266282.34	1650376.34	624596.36	26318.67	40364.49	Background	
Instructions Darameters	H	161397.39	89428.23	53271.02	55563.81	1398708.44	1421898.86	6391.40	269759.83	67643.08	64432.85	Background	
( insuccous /( and inegers /													
													-
		Current Grid	🖌 Selected	Spots 🖌 All :	Spots /		•						•

- 9) 標準化(ノーマライゼーション)を行います。
  - 1 イメージウィンドウで濃度既知のウェルをクリックします。
  - 2- ナビゲーターの入力欄に、選択したウェルに既知の値を入力します。

3 - 'Normalise'をクリックすると、メジャーメントウィンドウの値が更新されます。 値の大きさごとにメジャー

メントウィンドウの格子の色が変わります。



10) 必要に応じて、フラッグ表示することができます。ナビゲーターの'Next'ボタンをクリックします。



#### 11) サンプルの有無の判定を行います。

- 1- イメージウィンドウで、サンプル量が存在するウェルを選択します。
- 2 パラメーターの'Define spots as present'ボタンをクリックします。
- 3 パラメーターの'Estimate'ボタンをクリックすると、メジャーメントウィンドウでサンプルの有無が表示され



#### 7. イメージの重ね合わせ

#### (1) ImageQuant TL ver 8

1) ここではマーカーと化学発光、多重蛍光などの同じサンプルの画像を重ね合わせて同時に表示する手順を示します。コントロールセンターの 4 つのモードから使用したいものを選択します。ここでは 1D gel analysis を選択します。このうち Colony Counting のみは重ね合わせに対応しません。

y Documents			
yr Computer	[ ImageQu	ant TL Control Centre	
Sa Ka Kalawat	Imag	geQuant TL	
10		<u>1D gel analysis</u> Analyze 1D electro exesis gel images	
A second	٩	Analysis Toolbox Analyze images using area and profile-based tools	
	0	<u>Colony Counting</u> Count colonies or detect 2D electrophoresis spots	
Recycle Bin		<u>Array analysis</u> Analyze dot/slot blots, microplates or macroarrays	
	8	Online Help Look up queries in the comprehensive reference guide	

2) 'Open'ボタンから重ね合わせたい画像の1枚目を開きます。コントロールセンターより使用したいモードを



3) File メニューより'Create Multiplex Image'を選択します。

[ ImageQuant TL 1D v8.1 — u	insep1.cel	- 6 🛛
File Edit View Analysis Repor	rts Window Help	
Open Image Ctrl+O Save Save As	rew Annotate Contrast Colour Options Edit Image Single Overlay Channel1 Channel2 Channel3 Channel4	
Create Multiplex Image	- I A Lane	
Load Preferences Save Preferences	<u>↓</u> <u>↓</u> <del>↓</del> <del>↓</del>	
Invert Measurements Image Properties		
Print Ctrl+P Print Setup Print Preview Printing Options		
Exit manada only analysis stops:	There are no lanes to show.	
Molecular Size Calibration		
Quantity Calibration		
Truimaisauun		
1D Analysis		
<ul> <li>If required, select an area of interest in the Image window</li> </ul>		
<ul> <li>Press the Automatic button to run through the selected steps</li> </ul>		
<ul> <li>Press the Stepwise button to run through the steps one</li> </ul>		
by one	🗄 Measurements Window	
Uick for help		<b>^</b>
	No lanes have been created.	
	Selected Lane & All Lanes & Comparison /	• •

- 4) 重ね合わせに関する情報ファイル(data set, .ds)の名前を付けます。
  - 1-ファイル名を入力します。
  - 2 'Brouse'をクリックして重ね合せする画像(.gelもしくは.tif)を選択し、Openをクリックします。

[ ImageQuant TL 1D v8.1 -	- unsepi.gel	_ 7 🗙
File Edit View Analysis Rep	ports Window Help	
Open Copy Print F	Device         OF         Op         Device         Op         Device         Device	
. (b.	🗄 Image Window [Zoomed to fit]	
Automatic Stepwise	ч н 🖻 🖗 🖞 🦳 🖉	
		A
Automatic analysis steps:		
Lane Creation	Create Multiplex Image	
<ul> <li>Background Subtraction</li> <li>Band Detection</li> </ul>		
Manual only analysis steps:	1. What do you want to call the new multiplex image?	
Molecular Size Calibration	2. Select up to 4 imane files to make up the multiplev imane	
Normalisation	Folder: D:4Documents and Settinos#All Users#Acolication Data#GE	
	unsep1.gel	
1D Analysis		
If required, select an area of	Notes: a) Images must be in the same folder	-
Press the Automatic button	b) Images must already be aligned and the same size	
to run through the selected steps	3. Your multiplex image file will be created in the image folder	
<ul> <li>Press the Stepwise button to run through the steps one</li> </ul>	Create Cancel	
Click for help	🗄 Measurements Window	
	3	
	No lanes have been created.	
Instructions		
		_
	Selected Lane & All Lanes & Comparison /	
Ready		

3 – 'Create'をクリックすると.ds ファイルが作成されます。 ImageQuant TL 1D v8.1 - unsep1.cel

- ImageQuant TL 1D v8.1 Gell\_Cy2Cy3.ds File Edit View Analysis Reports Window Help - 7 🛛 Open Copy Preview Annotate Office Contrast Colour Options Edit Image Single Overlay Channel Channel Channel Channels Channels Print 🗄 Image Window [Zoomed to fit] 💶 🗖 🔀 Lan () Stepwise *A*utomatic 🔍 1:1 🛃 💭 🖑 ۹ 🖪 Automatic analysis steps: ✓ Lane Creation
   ✓ Background Subtraction
   ✓ Band Detection Manual only analysis steps: There are no lanes to show Molecular Size Calibration Quantity Calibration Normalisation 1D Analysis If required, select an area of interest in the Image window Press the Automatic button to run through the selected steps Press the Stepwise button to run through the steps one by one
   Click for help ┛ 📕 Measurements Wi No lanes have been created. Instructions / --Selected Lane ( All Lanes ( Comparison / • Ready
- 5) 重ね合わせた画像が表示されます。画面の緑色、赤色は疑似カラーです。

6) 疑似カラー設定は'Color 'アイコンを押して、一覧より変更できます。



7) 重ね合せたイメージを開くには、ImageQuant TL の各モジュールで.ds ファイルを開きます。 各チャンネル の表示 / 非表示は、ツールバーの Channel ボタンの On/Off で行います。

🔯 ImageQuant TL 1D v8.1 -	Gell_Cy2Cy3.ds	×
File Edit View Analysis Rep	arts Window Help	
Open Copy Print P	Image: Contrast     Colour     Options     Exit     Image: Colour     Colour     Options     Exit     Exit     Image: Colour     Colour     Options     Exit     Image: Colour     Colo	
. (h.	🗄 Image Window [Zoomed to fit]	×
Automatic Stepwise		٦
		<u>_</u>
Automatic analysis steps:		
🔽 Background Subtraction		
Band Detection		
Manual only analysis steps: Molecular Size Calibration	There are no lanes to show.	
Quantity Calibration		
Normalisation		
4D Anabaia		
If required, select an area of		-1
interest in the Image window		
<ul> <li>Press the Automatic button to run through the selected states</li> </ul>		$\otimes$
Press the Stepwise button to		$\otimes$
run through the steps one by one	Measurements Window	
Click for help		
	No lanes have been created.	
Instructions (		
	Selected Lane & All Lanes & Comparison /	-
Ready		-

#### 7. イメージの重ね合わせ

#### ② ImageQuant TL ver 7 以前

1) コントロールセンターの FluorSep を選択します。FluoreSep では、異なるイメージを最大 4 枚まで重ね 合せることができます。重ね合せるイメージは、同サイズ、同解像度の.gel ファイルである必要がありま す。.gel から.tif への変換は、拡張子の変更のみで行うことができます。

, uter	Q Control Ce	entre	
	Image	eQuant TL	
_		<u>10 gel analysis</u> Anglyze a 1D electrophoresis gel image	
		Analyse a 12 electrophenesis generating Analyse an image using area and profile-based tools	
		Colony Counting Count colonies or detect 2D electrophoresis spots	
		Array analysis Analyze a dot/slot blot, microtiter plate or macroarray	
	0	Online Help Look up queries in the comprehensive reference guide	
		Also contained in the	is installation.
		FluorSep IQ Tools	is instaliation:
	I	•	

- 2) Dataset Builder を起動します。
  - 1 メニューバーの File / Buid DataSet を選択すると、
  - 2 Dataset Builder ダイアログボックスが表示されます。

🐕 FluorSep	- 7 🛛
File View Help	
Build DataSet.	
1 tobeccefp.ds	
2 Acolor 3mm all build rote de	
g topecogtpus	
E≲it	
2 Dataset Builder	
GEL Sources	
СНЗ	
Separated DS for analysis Build Cancel	

- 3) 重ね合わせたい画像を登録します。
  - 1 チャンネル 1 (CH1) のブラウズボタンをクリックして、
  - 2 重ね合せするイメージ(.gel ファイル)を選択し、Open をクリックします。
  - 3 同様に、チャンネル 2, (3,4) もイメージを Open します。

File View Help	
Dataset Builder	
GEL Sources	
CH2	
Separated US for analysis Duto Cancer	
Look in: 🔁 IDTL 🚽 🗢 🖻 📅 🔝	
Ecoli Cy2eel	
M Ecoli Cy5gel	
File name: 2channel.dij Open	
i nos di vyoc. 🛛 Do initiges ( .us) 🔄 🔄 Cancel	
Ready	

- 4) 重ね合わせに関する情報ファイル(data set, .ds)の名前を付けます。
  - 1 Dataset Builder ダイアログボックスの Build ボタンをクリックします。
  - 2 イメージのデータセット名と保存先を指定します。
  - 3 Save ボタンをクリックします。

FluoreSep で重ね合せると、データセットファイル(.ds)ファイルが作成されます。

Verv Heb P 1234 III V B 5 + 2 S C III V Dataset Builder CEL Sources CHI D VOcuments and SettingW 305012555 IIII CHI D VOcuments and SettingW 305012555 IIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIII	
Image: Contract Builder       Dataset Builder       GEL Sources       CH1     DVDocuments and Setting#3050128511       CH1     DVDocuments and Setting#3050128511	
Dataset Builder       GEL Sources       CH1     DVDocuments and Setting#/3050128511       CH2     DvDocuments and Setting#/3050128511	
Dataset Builder     X       GEL Sources     CH1       CH1     DVDocuments and Setting#3050128511       CH2     DvDocuments and Setting#3050128511	
Detaset Builder       GEL Sources       CH1     D-VDocuments and Setting#3050128511       CH2     D-VDocuments and Setting#3050128511	
Oataett Builder     X       GEL Sources     GEL Sources       CHI     D-WDocuments and Setting#3050126511       DR     D-WDocuments and Setting#3050126511	
GEL Sources CH1 D/Documents and Setting#/3050128511 CH2 D/Documents and Setting#/3050128511	
CH1 [D #Documents and Setting#305012851]	
CH2 D-MD as marks and Cellingel 20501 2951	
CH3 D.4Documents and Setting# 3050128511	
Security DS for analysis Build	
Save as	
Save in 🔁 10TL 🔍 🛨 🖻 😤 🔠 🕇	
File name: Ecoli Save	
Save as type: DS Images (#dc)	

5) 'Dataset was built successfully'と表示されたら、OK ボタンをクリックします。

🐕 FluorSep	💶 🖻 🔀
File View Help	
Image: Contract Sector     Contract Exister     Contract Exis	
Restu	
Neduy	

6) データセット名.ds ファイルと、データセット名.DIR フォルダーが作成されます。

Name 🔺	↓ Type	-	Size	-
2channel.DIR	File Folder			
🔟 2channel.ds	DS File			1 KB

7) .DIR フォルダーを開くと、ファイル名が UNSEP に変更された各.gel ファイルと、データセットファイル.ds ファ イルが、入っています。

※.DIR フォルダーと、.DIR フォルダー内のファイルは削除したり、ファイル名を変えたりしないで下さい。重ね合せたイメージが開かなくなります。

Name 🔺	↓ Type	▼ Size ▼
🔟 2channel.ds	DS File	1 KB
UNSEP1.GEL	GEL File	102 KB
III UNSEP2.GEL	GEL File	102 KB

8) 重ね合せたイメージを開くには、ImageQuant TL の各モジュール(Colony Counting を除く)で.ds ファ イルを開きます。各チャンネルの表示 / 非表示は、ツールバーの Channel ボタンの On/Off で行います。



## お問合せ先

## **Cytiva** (サイティバ)

グローバルライフサイエンステクノロジーズジャパン株式会社 〒169-0073 東京都新宿区百人町 3-25-1 サンケンビルヂング お問い合わせ:バイオダイレクトライン Tel:03-5331-9336 e-mail:<u>tech-jp@cytiva.com</u> www.cytivalifesciences.co.jp