

# Melanie 9

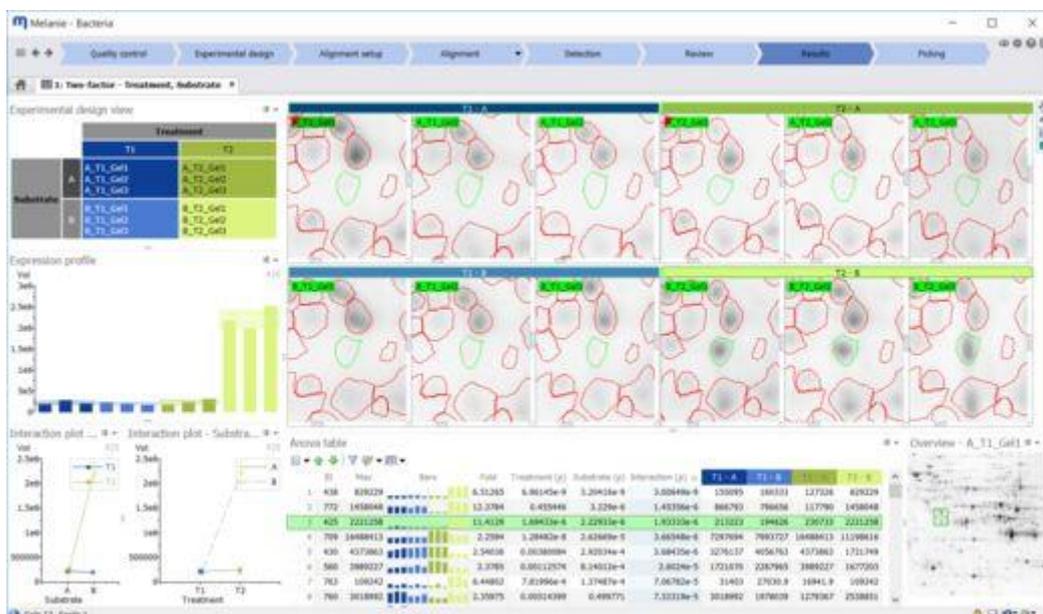
簡易操作手順

DIGE with internal standard

2 ページ

Single Stain

26 ページ



## Melanie 9 操作ガイド\_DIGE with internal standard

### DIGE with internal standard

この章では、Melanie DIGE with internal standard を用いて処理サンプルとコントロールを比較して統計学的に有意な発現差異を示すタンパク質を検出する方法について説明します。

このチュートリアルでは、多くの複製サンプルを使い、内部標準を組み込んで、DIGE の実験的設計の解析を解説しています。このチュートリアルでは、バクテリア培養のコントロールおよび処理グループ間で、統計学的に顕著な差異を示すタンパク質を見つける方法を説明しています。

このチュートリアルでは、C:\Program Files\GE Healthcare\Melanie 8\Tutorialsにある12枚のゲルファイルを使用します。

### DIGE with internal standard とは

いくつかのサンプルが同じゲル上で泳動された解析、その 1 つは内部標準の場合、このオプションを使用します。

Note : ソフトウェアで、DIGE 機能がない、もしくは灰色で表示されている場合、DIGE モジュールのライセンスが有効ではないので、この後のチュートリアルを行うことはできません。Melanie DIGE ライセンス をお買い求めください。

下の表で示すように、バクテリア溶解液の 4 つの複製ゲルがあります。

ゲル番号	Cy2	Cy3	Cy5
ゲル 1	内部標準	コントロール 1	処理済 1
ゲル 2	内部標準	処理済 2	コントロール 2
ゲル 3	内部標準	コントロール 3	処理済 3
ゲル 4	内部標準	処理済 4	コントロール 4

各ゲルに内部標準サンプルがあり、コントロールおよび処理済サンプルをノーマライズできます。内部標準サンプルはコントロール、処理済溶解液を等量混合して作成したものです。

## 1 ソフトウェアの起動、終了

### 1.1 ソフトウェアの起動



Melanie は、Microsoft Windows のメニューで Start > Programs > Melanie を選択することにより起動します。デスクトップ上の Melanie のアイコンをダブルクリックして起動することもできます。

### 1.2 ソフトウェアの終了

Melanie のプログラムを閉じるには、メニューの File > Exit を選択します。プログラムウィンドウの右上端の Close ボタンをクリックすることもできます。Melanie は、終了する前にゲルイメージやそれらとマッチングするデータに対する修正を保存するかどうか確認するダイアログボックスが現れます。開いているワークスペースは自動的に保存されます。

## 2 Projects

解析の最初のステップは、プロジェクトを作成し、ゲル画像をインポートすることです。これらの画像は自分の画像にすることもできますし、Single Stain チュートリアルや DIGE チュートリアル画像を使用することもできます。

プロジェクトは、「プロジェクト」ウィンドウで管理されます。

### 2.1 新しいプロジェクトを作成する

The screenshot shows the Melanin software interface with the 'Create project' dialog box open. The dialog box has a 'Project name' field containing 'Project 5' and three radio button options: 'Single stain', 'DIGE with internal standard', and 'Multiple stain without internal standard'. The 'DIGE with internal standard' option is selected. Below this option, there is a dropdown menu for 'Minimal dye' set to 'Minimal dye' and another dropdown for 'Internal standard' set to 'Cy2'. A text box explains that this option is used when multiple samples are analyzed on the same gel and one is an internal standard. The 'Create' button is highlighted with a blue box and the text '④ [Create]をクリック'. Other annotations include: '① 新しいプロジェクトの作成' pointing to the 'New' button in the top-left; '② プロジェクト名入力 例: 「DIGE tutorial」' pointing to the 'Project name' field; and a blue box on the left listing '[More]アイコン' (Open project, Duplicate project) and '[More]アイコン' (Open project, Duplicate project).

① 新しいプロジェクトの作成

プロジェクトの終了

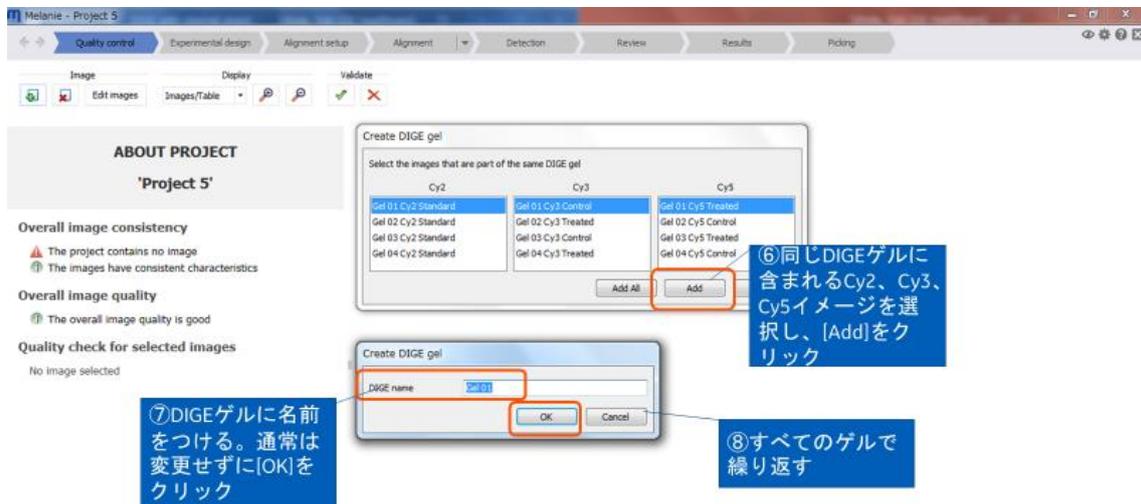
② プロジェクト名入力  
例: 「DIGE tutorial」

[More]アイコン  
・ [Open] プロジェクトを開く  
・ [Duplicate] プロジェクトのコピー

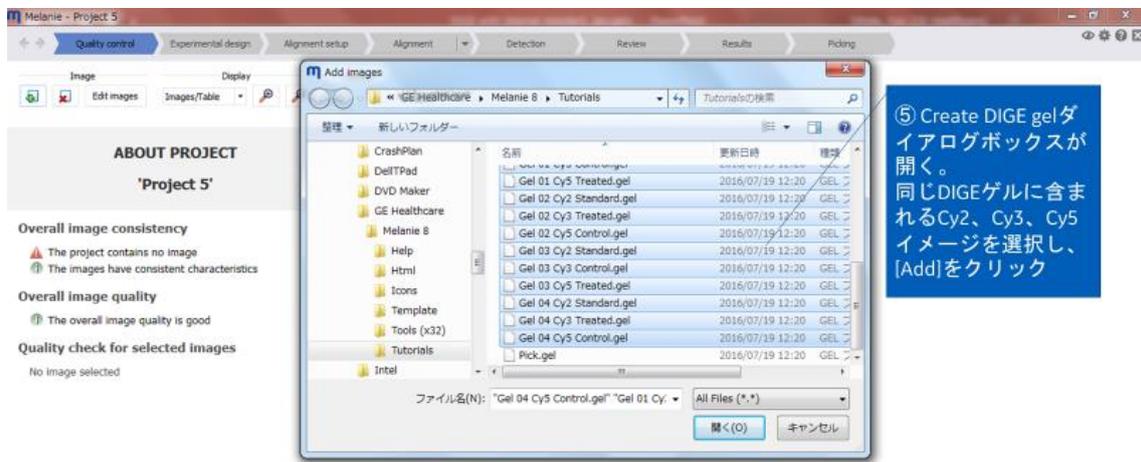
③ DIGE with internal standard  
いくつかのサンプルが同じゲル上で泳動された解析、その1つは内部標準の場合、このオプションを使用。

④ [Create]をクリック

## 2.2 イメージを選択する



Note : イメージ (Image) とゲル (Gel) の違いに注意してください。ゲルは、1 つまたは複数のイメージが含まれます。DIGE および他のマルチ染色実験の場合、2 つ以上のイメージが同じゲルに属します。

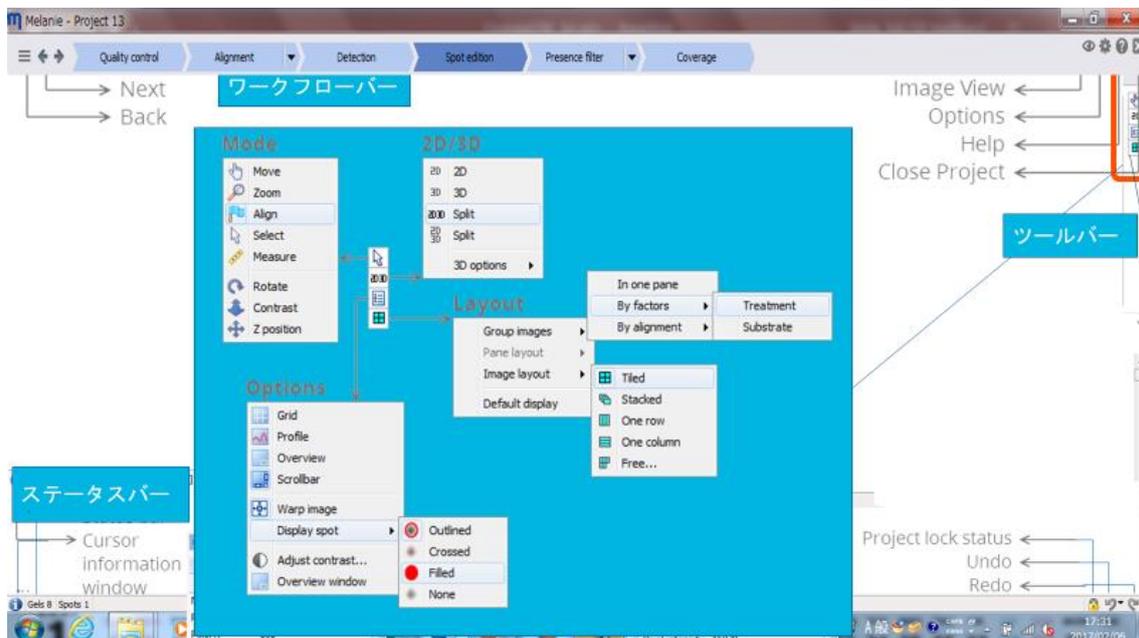


このチュートリアルでは、C:\Program Files\GE Healthcare\Melanie 8\Tutorialsにある12枚のゲルファイル (Gel 01 Cy2 Standard.gelからGel 04 Cy5 Control.gel) を使用



### 3 表示領域

表示領域には、画像ビューが表示されます。ツールバーのさまざまなオプションを使用して、これらのビューを操作およびカスタマイズできます。



#### 3.1 2D/3D 表示の操作

	2D view	3D view
イメージの移動	スクロールホイールを押しながらドラッグ スクロールホイールをダブルクリックし選択域の中央を表示	Ctrl + スクロールホイールを押しながらドラッグ
イメージのズーム	スクロールホイールを回転	スクロールホイールを回転
イメージの回転	-	スクロールホイールを押しながらドラッグ
ピーク高の変化	-	Ctrl + スクロールホイールを回転

## 4 解析のステップを以下に要約します

<b>Quality control</b>	画像の品質と整合性の確認 Melanie は、画像キャプチャ手順を最適化するために必要なフィードバックを提供します。必要に応じて、ゲルの再スキャンや画像の編集を行います。
<b>Experimental design</b>	解析の設計の定義 Experimental デザインウィザードを使用して、共通のデザイン、ファクター名、ファクターレベルのいずれかを作成し、イメージを割り当てます。
<b>Alignment setup</b>	アライメント（スポットの位置あわせ）方法の指定 アライメントの効率を高め、マッチの編集作業を最小限に抑えるには、最初に類似した画像のグループ内で画像を補正することができます。
<b>Alignment</b>	画像の補正と、ゲル同士の位置変化の修正 アライメント階層内の画像を補正し、ツールを使用して各アライメントペアを体系的に見直し、必要に応じてマッチを編集します。
<b>Detection</b>	すべての画像のスポットの検出と定量化 自動的に計算された検出パラメータを微調整し、典型的なスポットパターンの生成に考慮する画像を選択します。
<b>Review</b>	スポットの確認と標準化（ノーマライズ） スポットパターンを確認し、スポットを編集したり、アラインメントを修正したりすることもできます。
<b>Results</b>	結果の検証 Melanie は解析デザインに合わせた専用のツールと統計テストを自動的に提案します。スポットをフィルタリングし、スポットセットを使用してタグ付けし、さまざまなプロットとオプションを使用してスポットを検証します。
<b>Picking</b>	切り出し（ピッキング）するスポットの選択とエクスポート ピッキングのスポットを選択しピッキングリストを作成します。

## 5 Quality control

Quality Control ステップでは、これらの画像とそのプロパティを表示し、品質と整合性をチェックし、必要に応じて編集し、さらに解析するイメージを検証することができます。画像の追加、削除、名前の変更も可能です。

Note : イメージ (Image) とゲル (Gel) の違いに注意してください。ゲルは、1 つまたは複数のイメージが含まれます。DIGE および他のマルチ染色実験の場合、2 つ以上のイメージが同じゲルに属します。

① [Edit Image]  
DIGEゲルの編集(オプション)  
切り出し、回転など

複数の画像を選択するには、CtrlキーまたはShiftキーを押しながら

パス - 緑 - すべての外観が正しいとすれば、自信を持って分析を進めることができる

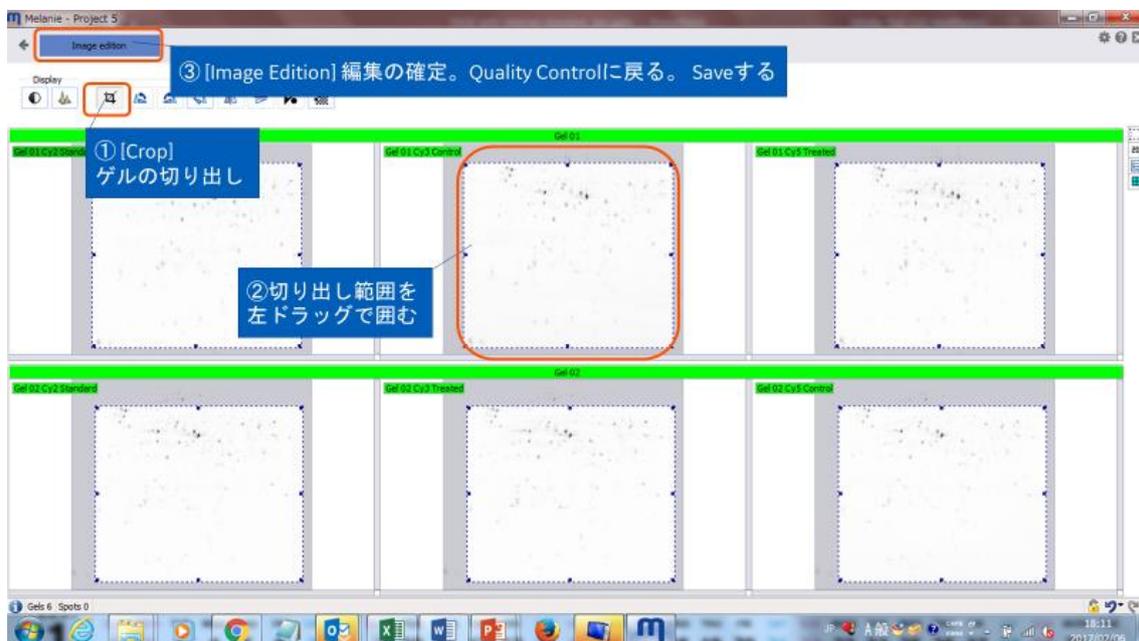
注意 - 黄色 - 受け入れられるが、注意。Melanieは分析の質を低下させる可能性のある問題を発見

警告 - 赤 - 異常が確認され、Melanieは分析の品質に悪影響を与える問題を検出

Estimated bit depth	Gray levels %	Dynamic range %	Saturated area %	Background doping %	Min value
16	16	24	42	0	0 53.44
16	16	21	38	0	0 23.63
16	16	31	58	0	0 29.90
16	16	36	40	0	0 82.74

## 5.1 イメージの編集

Edit > Edit images ボタンをクリックすると、画像編集モードに移行します。

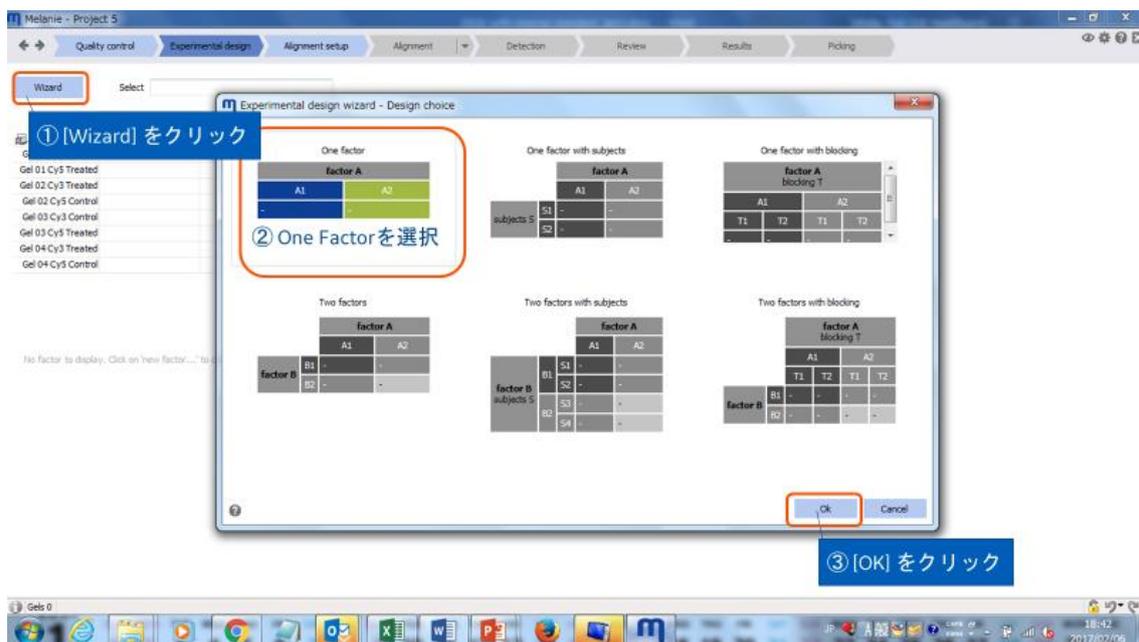


次のステップ Experimental Design をクリックし、変更を保存（Save modifications）して移動します。

## 6 Experimental Design - 解析デザイン

Experimental Design ステップでは、実験的デザインに関する情報を指定または編集できます。実験のメインファクター、サブジェクト、ブロック、その他の変数など。この情報は、ワークフロー全体でアライメント設定、画像表示レイアウト、適切な統計テスト、データ解析ツールを提案するために使用されます。

### 6.1 実験デザインを選択する



## 6.2 要因 (Factor) と Factor レベルの名前をつける

ウィザードの 2 番目の画面で Factor と Factor レベルの名前を変更します。

① [Factor] 主要因名を入力  
例: 「E.coli」

② [Factor level name] のデフォルト (A1, A2) をダブルクリック  
各 Factor レベルにサンプル名 「Control」、「Treated」 を入力

イメージファイル名にFactorレベルを識別する文字列があると[String in file]欄に表示される。そのファイル名のイメージが自動的にFactorレベルに割り当てられる。できない場合は、次のステップで画像をFactorレベルに割り当てることができる。

③ [Create] をクリック

Wizard でファクター、レベル振り分けができなかった場合

Wizardでファクター、レベル振り分けができなかった場合

Warning note - The number of samples per treatment combination is not consistent/balanced. The statistical test will apply a correction. However, it is generally better to have the same (or very similar) number of samples per treatment.

① 振り分けるイメージを[New level] エリアにドラッグ

② [level] 名を入力  
例: 「Treated」

次のステップ[Aliment setup]をクリックし、変更を保存 (Save modifications) して移動します。

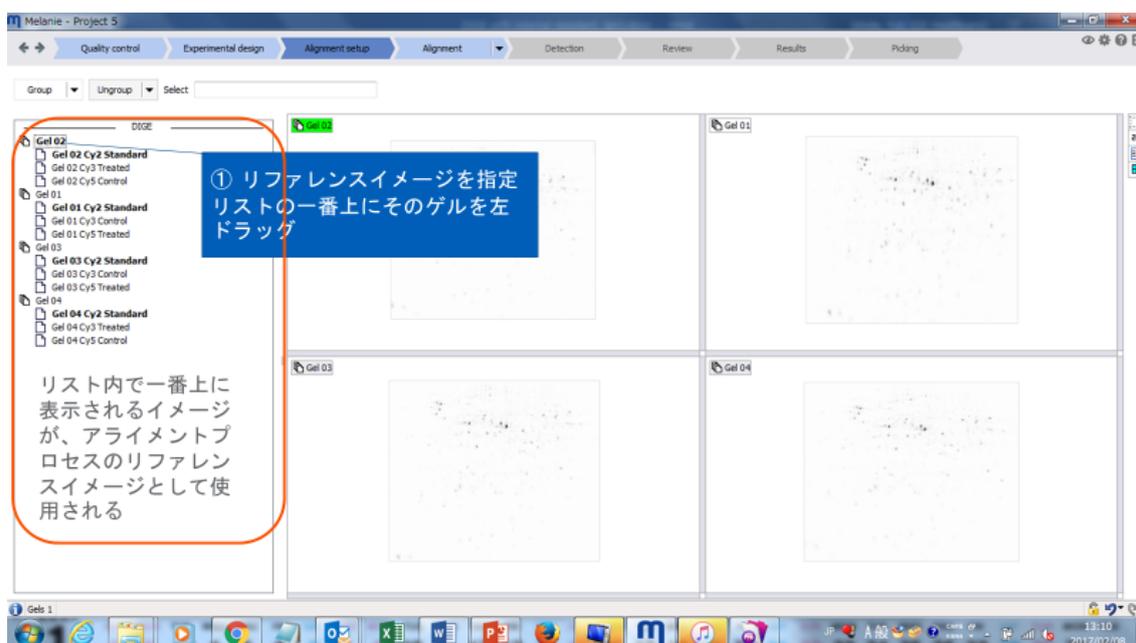
## 7 Alignment setup アライメントセットアップ

アライメントは実験中のイメージのスポット位置をリファレンスイメージに合わせます。アライメントは、画像解析プロセスにおいて非常に重要です。アライメントが不十分な場合、その結果生じるスポット検出および定量は根拠が薄くなります。

アライメントセットアップはリファレンスイメージを設定します。内部標準を含む DIGE 実験では、すべてのイメージは、各ゲルの Standard（内部標準）イメージを使って合わせます。各ゲルの内部標準イメージは、リファレンスイメージ（リスト内の一番上のゲルの内部標準イメージ）に対してあわせます。

### 7.1 リファレンスイメージを指定する

リスト内で一番上に表示されるイメージが、アライメントプロセスのリファレンスイメージとして使用されます。リファレンスイメージを変更するには、リストの一番上にそのゲルをドラッグします。

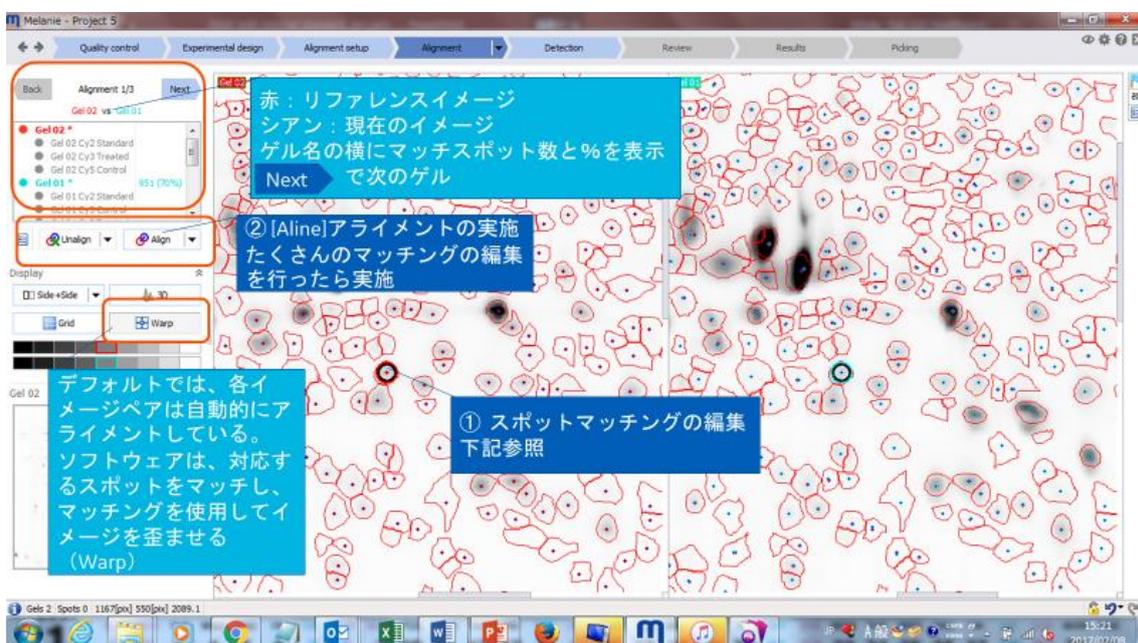


次のステップ Aliment をクリックし、変更を保存（Save modifications）して移動します。

## 8 Alignment アライメント

アライメントは、実験中の各イメージとそのリファレンスイメージとの間のスポットマッチングを見つけ、各イメージを Warp してリファレンスイメージと重ね合わせて行います。アライメントは、イメージ解析プロセスにおいて非常に重要です。アライメントが不十分な場合、その結果生じるスポット検出および定量化は根拠が薄くなります。

### 8.1 アライメントをするには



イメージでのマッチングスポットは以下のように表示されます。

	自動マッチ	ユーザーマッチ
非選択時		
選択時		

**マッチングの削除**：右マウスボタン

マッチスポットを右クリック、マッチを削除する確認ウィンドウで[Yes]をクリック

**マッチングの追加**：左マウスボタン

片方の画像でスポットの最も濃い部分を左クリック。両方の画像にシンボルが表示される。

もうひとつのイメージのマッチ位置をダブルクリックするか、マッチシンボルを正しい位置にドラッグ

**既存マッチングの位置編集**：左マウスボタン

マッチしているスポットをクリック。シンボルを正しい位置にドラッグ。

## 8.2 アライメントの実施



Current images（現在のイメージペア）、All images（ツリービューにあるすべてのイメージ）、Choose images（イメージを選択）、Non-aligned images（アライメントされていないイメージ）でアライメントを実施でき、それぞれ以下の実施方法が選択できます。

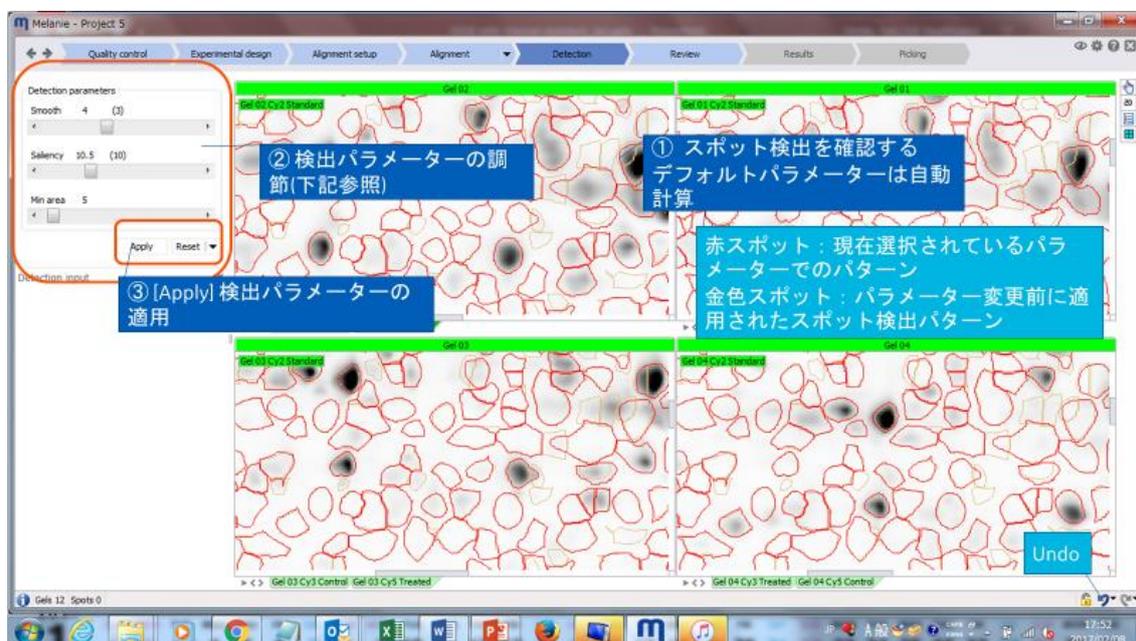
Based on user matches：ユーザーマッチングのみを用い、新しくアライメントを実行します。

Based on all matches：ユーザーと自動マッチを保ちながら、新しくアライメントを実行します。

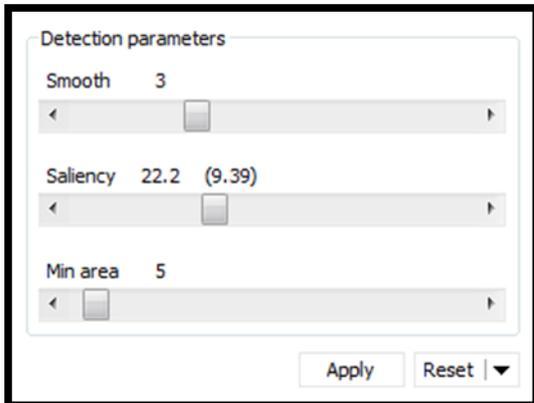
次のステップ Detection をクリックし、変更を保存（Save modifications）して移動します。

## 9 Detection スポット検出

スポット検出ステップの目的は、解析中のすべてのイメージを表す固有のスポットパターンを生成することです。最初に、すべてのイメージの融合イメージを作成します。次いで、自動的に計算された、または微調整された検出パラメータを使用して、融合イメージ上にスポットを検出します。最後に、スポットパターンをすべての個々のイメージに伝播させ、スポットを定量化します。



## 9.1 検出パラメータを設定する



自動的に計算されたパラメータを使用すると、適用されるスポットパターンの即時プレビューが表示されます。検出パラメータは微調整することができます：

**Smooth**：スポットの分割。数値が小さいほど細かく分割。

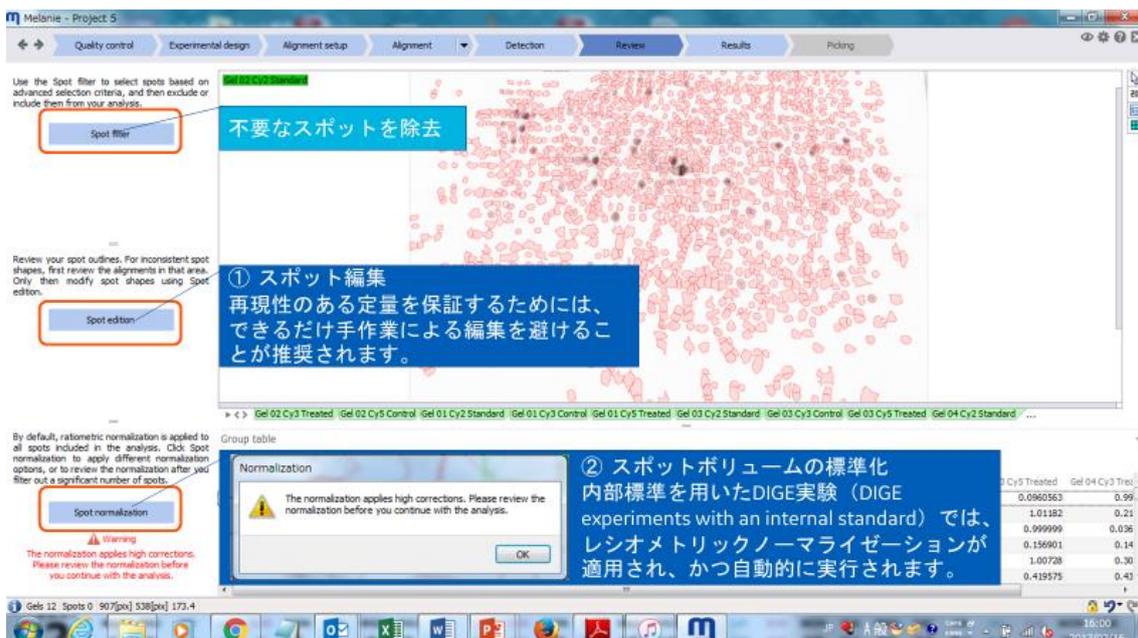
**Saliency**：スポットの突出度。数値が大きいほど濃いスポットを検出。

**Min area**：スポットとして考慮しない面積。ツブツブごみを除く。

現在選択されているパラメータの値は各スライダの上であり、赤いスポットのパターンに対応しています。パラメータを変更すると以前に適用されたスポット検出パラメータは、カッコ内に記載され、金色のスポットで表示しています。

## 10 Review レビュー

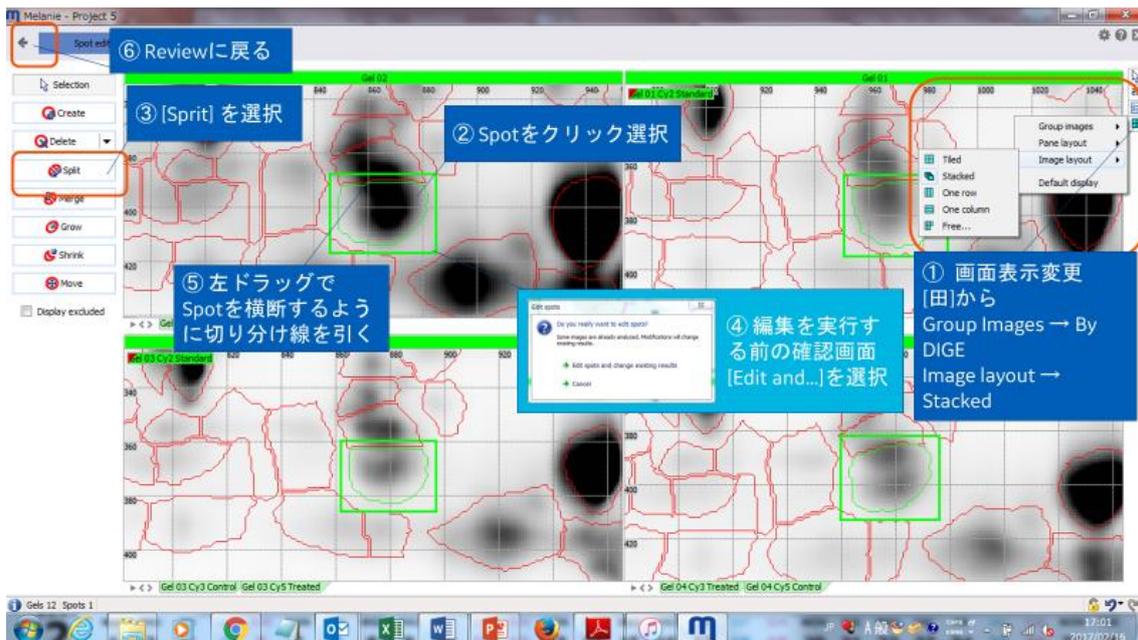
Review ステップでは、アラインメントと検出結果を検証するためのさまざまなツールが用意されています。このようにして、データセットが統計分析のために準備されていることを確認できます。スポットフィルタの高度な選択基準に基づいて、スポット編集およびノーマライズの設定を確認します。



## 10.1 スポット編集

Melanie は、スポット形状を編集することができます。しかし、再現性のある定量を保証するためには、できるだけ手作業による編集を避けることが推奨されます。一貫性のないスポットシェイプに気付いたら、そのエリアのアラインメントを最初に確認することをお勧めします。

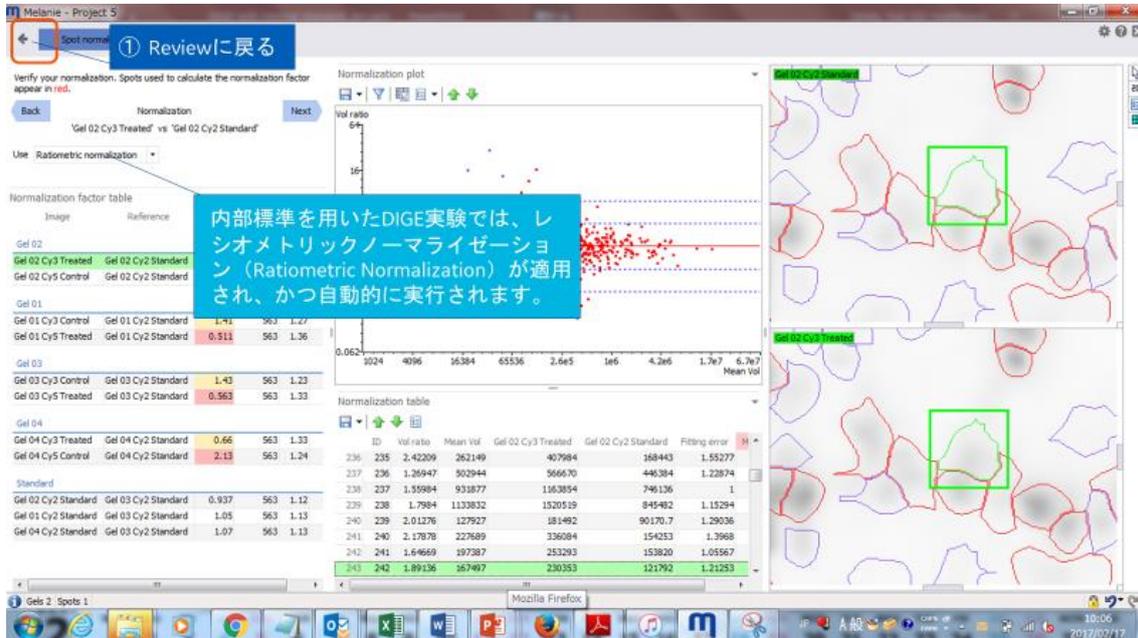
**Spot edition** ボタンをクリックし、スポット編集モードに入ります。以下の操作ができます。



-  **スポットを作成** クリックしてドラッグすると、新しいスポットの輪郭（楕円）を描画できます。
-  **スポットを削除** クリックして削除します。クリックしてドラッグすると、すべてのスポットが削除される領域を定義します。
-  **スポットを分割** 分割する位置にスポットを通して線を描きます。スポット輪郭の外から外に線を描きます。
-  **スポットの結合** いくつかのスポットを通して軌跡を描きます。
-  **スポットを拡大** 追加したい領域の輪郭を描きます。
-  **スポットの縮小** 縮小したい領域の輪郭を描きます。
-  **スポットの移動** この特定の画像だけで移動するスポットをクリックしてドラッグします。

## 10.2 スポットノーマライゼーション Spot normalization

内部標準を用いた DIGE 実験（DIGE experiments with an internal standard）では、レシオメトリックノーマライゼーションが適用され、かつ自動的に実行されます。



次のステップ Result をクリックし、移動します。

## 11 Results 結果

Result のステップでは、専用のツールと統計テストを使用して結果を調べることができます。デフォルト画面は、最良のあなたの実験計画に適合されている統計解析の結果が表示されます。

このチュートリアルでは Control、Treated サンプル間で顕著なタンパク質発現の差異があるスポット「ANOVA 検定値が 0.05 未満であり、かつボリューム比の平均が 2 以上または 0.5 以下」を見つけます。

### 11.1 2D/3D 表示の操作

	2D view	3D view
イメージの移動	スクロールホイールを押しながらドラッグ スクロールホイールをダブルクリックし選択域の中央を表示	Ctrl + スクロールホイールを押しながらドラッグ
イメージのズーム	スクロールホイールを回転	スクロールホイールを回転
イメージの回転	-	スクロールホイールを押しながらドラッグ
ピーク高の変化	-	Ctrl + スクロールホイールを回転

## 11.2 ANOVA 検定値が 0.05 以下のスポットを見つける

① [Filter by values] をクリックし、ウィンドウを開く。  
 ② [Add new filter] をクリックし、「Anova (p)」を選択する。  
 ③ 上限値 (<=) をダブルクリックし、「0.05」を入力し、[OK]をクリック。

Anova Table

ID	Max	Bars	Fold	Anova (p)	Control	Treated	Analysis-1	Anova <= 0.05
393	1124	1.05306	1.32492	0.00471732	1.05306	0.793303	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
392	698	1.29209	1.31934	0.00476047	1.29209	0.979349	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
394	711	1.06936	1.48267	0.0048525	1.06936	0.721238	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
394	174	1.64676	1.27086	0.00500132	1.29578	1.64676	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
395	475	1.20446	1.18942	0.00505118	1.20446	1.01265	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
396	966	0.986898	1.43565	0.00505834	0.986898	0.687424	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Anova (p) 1.5e-8 = 0.0000000015

## 11.3 ANOVA 検定値が 0.05 以下のスポットセットを作る

① [Annotate]の隣の▼をクリックし、Spot Set > Createをクリックし、ウィンドウを開く。  
 ② [New name]に「Anova<=0.05」と入力し、[OK]をクリック。  
 ③ Resultテーブルに「Anova<=0.05」チェックボックスカラムができる。

Anova Table

ID	Max	Bars	Fold	Anova (p)	Control	Treated	Analysis-1	Anova <= 0.05
393	1124	1.05306	1.32492	0.00471732	1.05306	0.793303	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
392	698	1.29209	1.31934	0.00476047	1.29209	0.979349	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
394	711	1.06936	1.48267	0.0048525	1.06936	0.721238	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
394	174	1.64676	1.27086	0.00500132	1.29578	1.64676	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
395	475	1.20446	1.18942	0.00505118	1.20446	1.01265	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
396	966	0.986898	1.43565	0.00505834	0.986898	0.687424	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

## 11.4 処理サンプル「Treated」の発現量が「Control」2倍以上のスポットを見つける

④ [Filter by values] をクリックし、ウィンドウを開く。

⑤ [Add new filter] をクリックし、「Treated」を選択する。  
⑥ 下限値 ( $\geq$ ) をダブルクリックし、「2」を入力し、[OK] をクリック。

① [Tables] アイコンをクリックし、「Expression ratio table」をクリックする  
② 発現比較のリファレンス「Control」をクリックし、[OK] をクリックする

③ Expression ratio table が開き、Control の平均ボリュームを「1」としたときの Treated の発現量が表示される

Control	Treated	Ratio
1116	1116	1.22036
1117	1117	1.52632
1118	1118	1.06372
1119	1119	2.19228

## 11.5 Treated の値が 2 以上のスポットセットを作る

① [Annotate] の隣の ▼ をクリックし、Spot Set > Create をクリックし、ウィンドウを開く。

② [New name] に「Treated  $\geq$  2」と入力し、[OK] をクリック。

③ Result テーブルに「Treated  $\geq$  2」チェックボックスが出来る。

Control	Treated	Ratio	Treated $\geq$ 2
1116	1116	1.22036	<input type="checkbox"/>
1117	1117	1.52632	<input type="checkbox"/>
1118	1118	1.06372	<input type="checkbox"/>
1119	1119	2.19228	<input checked="" type="checkbox"/>

## 11.6 Anova Table に「Treated>=2」のスポットセットを表示する

① Result table下部のタグ「Anova Table」をクリックし、Anova tableに戻る

② Settingsアイコンをクリックし、「Treated>=2」にチェックを入れ、[OK]をクリック

③ Resultテーブルに「Treated>=2」チェックボックスカラムができる

ID	Max	Bars	Fold	Anova (p)	Control	Treated	Analysis-1	Anova <= 0.05	Treated >= 2	Interesting Spots
9	115	2.11637	4.66047	1.88713e-7	0.45411	2.11637		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
10	570	1.5684	2.40932	2.16332e-7	0.65097	1.5684		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
11	543	1.63872	2.08033	2.20024e-7	0.78723	1.63872		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
12	1059	1.90227	2.75087	2.301e-7	0.69167	1.90227		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

## 11.7 「Anova<=0.05」かつ「Treated>=2」のスポットセットをつくる

① [Annotate]の隣の▼をクリックし、Spot Set > Combineをクリックし、ウィンドウを開く

② [Inputs]に「Anova<=0.05」と「Treated>=2」を選択  
Operatorに「And」を選択

③ [Output]に「New spot set」を選択し、[OK]をクリック

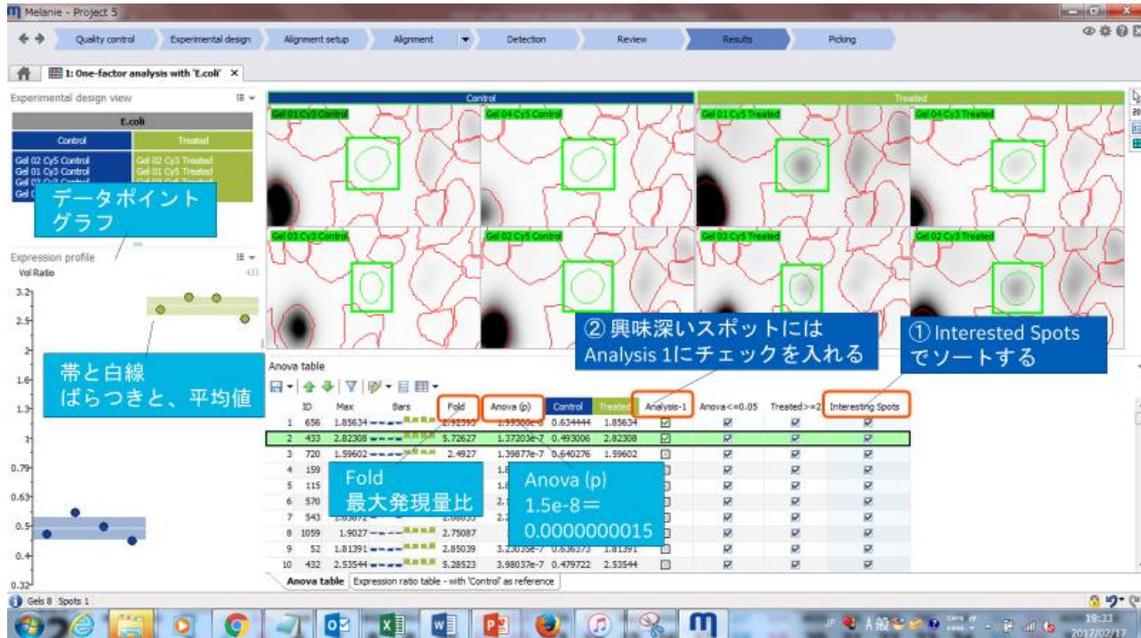
④ Create spot set ウィンドウのnew nameに「Interesting Spots」と入力し、[OK]をクリック

⑤ Resultテーブルに「Interesting Spots」チェックボックスカラムができる

ID	Max	Bars	Fold	Anova (p)	Control	Treated	Analysis-1	Anova <= 0.05	Treated >= 2	Interesting Spots
9	115	2.11637	4.66047	1.88713e-7	0.45411	2.11637		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
10	570	1.5684	2.40932	2.16332e-7	0.65097	1.5684		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
11	543	1.63872	2.08033	2.20024e-7	0.78723	1.63872		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
12	1059	1.90227	2.75087	2.301e-7	0.69167	1.90227		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

## 11.8 抽出されたスポットの評価

このチュートリアルでは 4 枚のゲルを使用していますので、1 マッチングスポットあたり、コントロール（青）と処理サンプル（黄緑）で各 4 スポットずつ存在することになります。縦軸は発現量比（volume Ratio）で表示されており、内部標準ボリュームはすべて 1 です（表示なし）。サンプルスポットを横切る帯と白線で表示されており、内部標準ボリュームはすべて 1 です（表示なし）。サンプルスポットを横切る帯と白線はばらつきと、平均値を示しています。



各スポットを検証したら、Analysis1 チェックボックスカラムにチェックを入れます。

- - 関心のあるスポットとして確認
- - 関心ないスポットと確認
- - まだレビュー、検証していないスポット

Etan Spot Picker（スポット回収ロボット）を使用するならば、次のステップ Picking をクリックし、移動します。

## 12 Picking ピッキング

[ピッキング]ステップでは、スポットをスポットピッカーロボットが読み取れるピックファイルにエクスポートできます。

Note : Ettan Spot Picker ではリファレンスマーカーを含むピッキングゲルを使用します。

The screenshot shows the Melanie software interface in the 'Picking' step. The interface includes a menu bar (Quality control, Experimental design, Alignment setup, Alignment, Detection, Review, Results, Picking) and a main workspace. The workspace is divided into several panels: '1. Choose images', '2. Define spots to pick', '3. Export pick list to file', and a 'Pick' panel. The 'Pick' panel shows two gel images with spots marked. A table of 'Ettan markers' is visible at the bottom right. A blue box with Japanese text is overlaid on the interface, and a warning dialog box is also present.

① [Choose from disk] Pick.gel を選択する

② [Align] スポットマッチング。左右の画像で共通するスポットを設定

③ [Align]アライメントの実施

④ [Use validated spots] Analysis 1にチェックを入れたスポットを呼び出す

⑤ [Ettan (Text)] を選択する

⑥ [Ettan Marker] をクリック

⑦ 左の Reference Markerをダブルクリック [IR1]

⑧ 同じく右のもダブルクリック [IR2]

⑨ [Generate file] をクリック

ワーブをはずすメッセージが出たら[OK]を押す

Ettan marker	Pixel X	Pixel Y	Con X	Con Y
IR1	130	905	1.3	9.05

3	1091	83	379	3001
4	1096	88	1306	978
5	1056	115	1019	911
6	1024	146	163	858
7	1010	159	378	848
8	916	290	1207	708
9	854	312	1158	625

## 13 pi / MW setting

等電点、分子量マーカーを基に、スポットに pi / MW 情報を付加することができます。

### 13.1 pi / MW setting

Quality control ステップの Edit ボタンから「Edit pi/MW...」を押す。

The screenshot shows the Melanie software interface in the 'Spot edition' step. The 'Edit pi/MW...' dialog box is open, showing options for 'Image', 'Display', and 'Validate'. The 'Display' dropdown is set to 'Images/Table'. The dialog box also shows a preview of the spot data.

## 13.2 pI / MW setting

Image for pI/MW: Blot1 HCPAntigen Cy5 (5 markers)

Blot1 HCPAntigen Cy5 (5 markers)

Pixel X	Pixel Y	pI
1020	362	5.970
1016	304	5.970
1031	606	5.970
1017	204	7.320
129	139	5.320

Create pI/MW marker

pI

MW

① マーカーをクリックし、pI MW (Da)入力

## 13.3 pI / MW 表示

Review status: Unqualified

Coverage: 91%

Blot1 HCPAntigen Cy5: 412 spots (39 + 373)

Blot1 antiHCPAb Cy3: 394 spots (373 + 21)

Coverage table

ID	Status	P-State	S-State	P-Intensity	S-Intensity	P-MW	S-MW	pI	MW
1	6			636	424	122660	14700	7.57207	2703
2	9			3376	456	760376	42500	6.28829	2721
3	15			692	496	373744	44676	5.57207	2739
4	16			3284	484	854108	89968	5.85586	2769
5	19			1176	484	481460	86584	7.56306	2831

Column settings

ID

Status

P-State

S-State

P-Intensity

S-Intensity

P-MW

S-MW

All images

pI

MW

Ac

Comment

① Optionsをクリックし、Column settingsを選択

② pI, MWにチェックを入れる

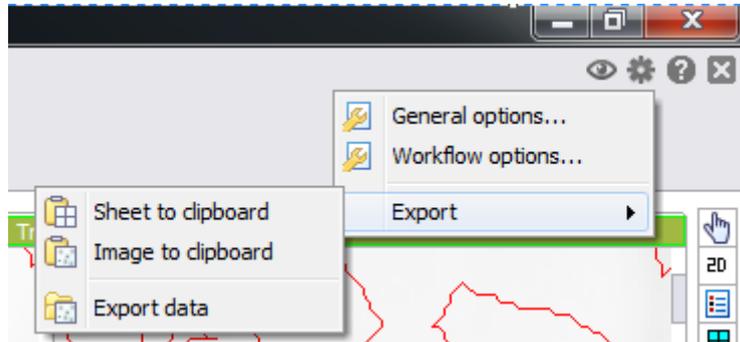
## 14 画面のエクスポート

### 14.1 イメージウインドウのエクスポート

Options (歯車) をクリックします。

Export > Sheet to clipboard  
表示しているすべてのイメージ

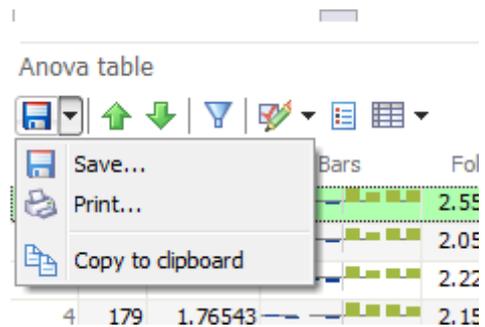
Export > Image to clipboard  
選択 (左上の名タグが緑) イメージ



### 14.2 表 (Table) のエクスポート

Save アイコンをクリックします)。

Save > テキストファイルで保存。Selected row もしくは all rows



### 14.3 Experiment Design view のエクスポート

Settings をクリックします。

Save > html ファイルで  
画像保存。

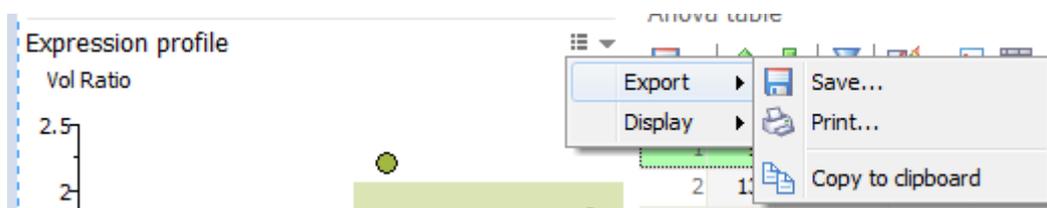
A screenshot of the 'Experimental design view' window. It shows a table with columns for 'Control' and 'Treated' under the heading 'E.coli'. A context menu is open over the table, showing 'Save...', 'Print...', and 'Copy to clipboard' options.

E.coli	
Control	Treated
Gel 01 Cy3 Control	Gel 01 Cy5 Treated

## 14.4 Expression Profile のエクスポート

Settings をクリックします。

Save > png、bmp、tiff ファイルで画像保存。



# Melanie 9 操作ガイド\_Single Stain

## Single Stain

この章では、Melanie Single stain を用いて処理サンプルとコントロールを比較して統計学的に有意な発現差異を示すタンパク質を検出する方法について説明します。

Single stain は各ゲルにはサンプルがひとつずつ泳動され、サイプロルビー染色で染色されています。

ここで使用する 2D ゲルには下表で示すように 4 群に分けられます。細胞を 2 つの異なる環境下（培地 A および培地 B）で培養し、2 種類の処理（処理 1 および処理 2）を行いました。

クラス	環境	処理
A_T1	培地 A	処理 1
A_T2	培地 A	処理 2
B_T1	培地 B	処理 1
B_T2	培地 B	処理 2

このチュートリアルでは、C:\Program Files\GE Healthcare\Melanie 8\Tutorialsにある12枚のゲルファイルを使用します。

## 1 ソフトウェアの起動、終了

### 1.1 ソフトウェアの起動



Melanie は、Microsoft Windows のメニューで Start > Programs > Melanie を選択することにより起動します。デスクトップ上の Melanie のアイコンをダブルクリックして起動することもできます。

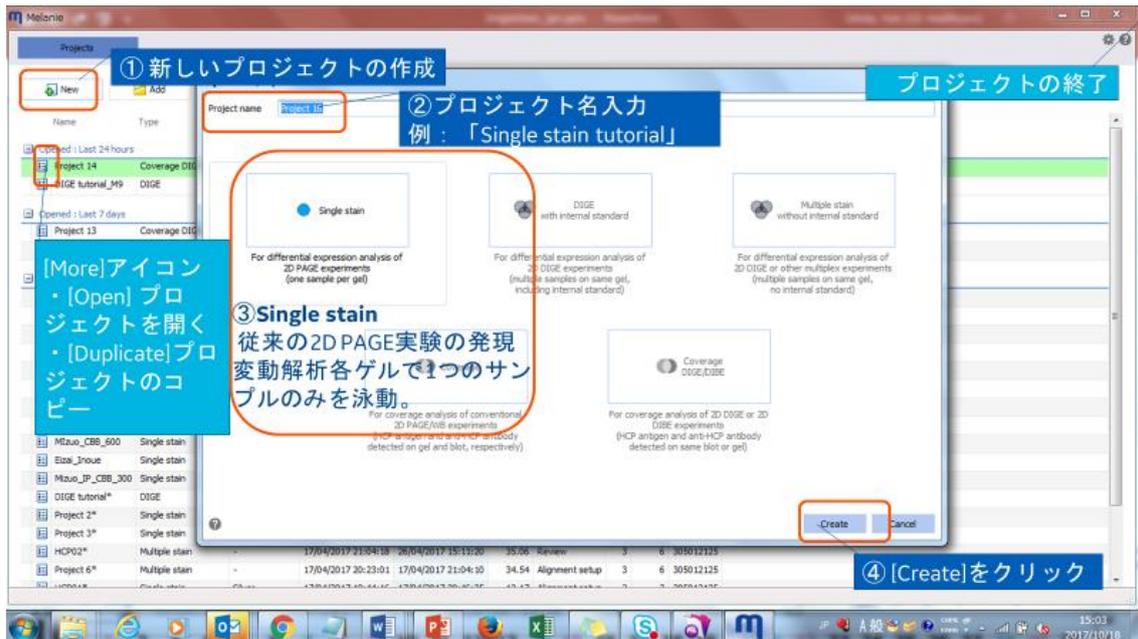
### 1.2 ソフトウェアの終了

Melanie のプログラムを閉じるには、メニューの File > Exit を選択します。プログラムウィンドウの右上端の Close ボタンをクリックすることもできます。Melanie は、終了する前にゲルイメージやそれらとマッチングするデータに対する修正を保存するかどうかを確認するダイアログボックスが現れます。開いているワークスペースは自動的に保存されます。

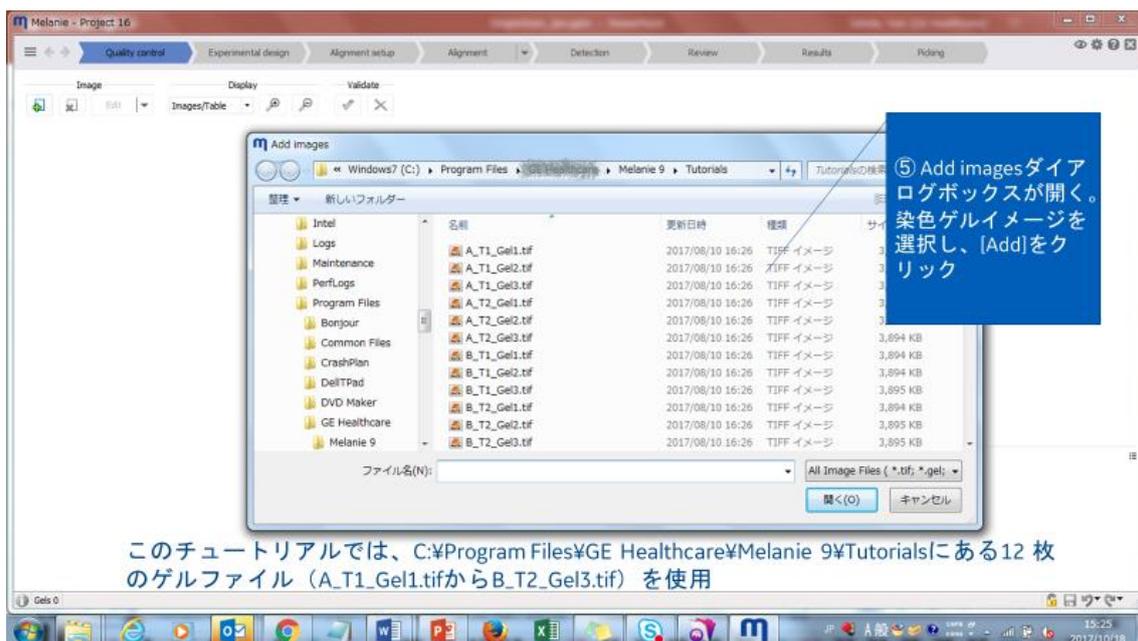
## 2 Projects

解析の最初のステップは、プロジェクトを作成し、ゲル画像をインポートすることです。プロジェクトは、「Project」ウィンドウで管理されます。

### 2.1 新しいプロジェクトを作成する

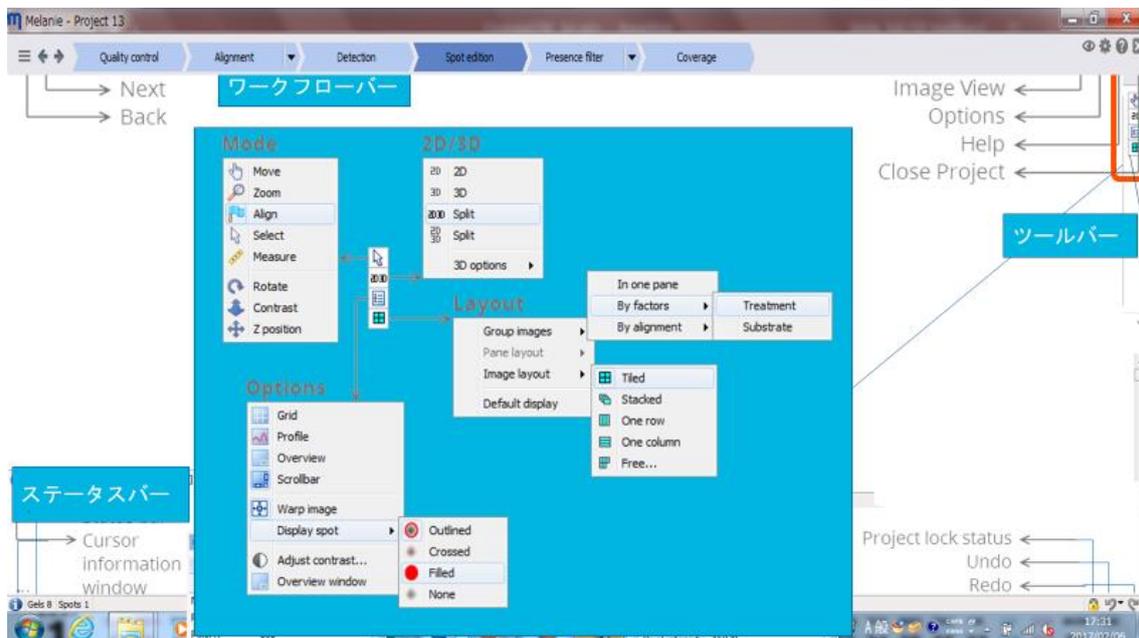


### 2.2 イメージを選択する



### 3 表示領域

表示領域には、画像ビューが表示されます。ツールバーのさまざまなオプションを使用して、これらのビューを操作およびカスタマイズできます。



#### 3.1 2D/3D 表示の操作

	2D view	3D view
イメージの移動	スクロールホイールを押しながらドラッグ スクロールホイールをダブルクリックし選択域の中央を表示	Ctrl + スクロールホイールを押しながらドラッグ
イメージのズーム	スクロールホイールを回転	スクロールホイールを回転
イメージの回転	-	スクロールホイールを押しながらドラッグ
ピーク高の変化	-	Ctrl + スクロールホイールを回転

## 4 解析のステップを以下に要約します

<b>Quality control</b>	画像の品質と整合性の確認 Melanie は、画像キャプチャ手順を最適化するために必要なフィードバックを提供します。必要に応じて、ゲルの再スキャンや画像の編集を行います。
<b>Experimental design</b>	解析の設計の定義 Experimental デザインウィザードを使用して、共通のデザイン、ファクター名、ファクターレベルのいずれかを作成し、イメージを割り当てます。
<b>Alignment setup</b>	アライメント（スポットの位置あわせ）方法の指定 アライメントの効率を高め、マッチの編集作業を最小限に抑えるには、最初に類似した画像のグループ内で画像を補正することができます。
<b>Alignment</b>	画像の補正と、ゲル同士の位置変化の修正 アライメント階層内の画像を補正し、ツールを使用して各アライメントペアを体系的に見直し、必要に応じてマッチを編集します。
<b>Detection</b>	すべての画像のスポットの検出と定量化 自動的に計算された検出パラメータを微調整し、典型的なスポットパターンの生成に考慮する画像を選択します。
<b>Review</b>	スポットの確認と標準化（ノーマライズ） スポットパターンを確認し、スポットを編集したり、アラインメントを修正したりすることもできます。
<b>Results</b>	結果の検証 Melanie は解析デザインに合わせた専用のツールと統計テストを自動的に提案します。スポットをフィルタリングし、スポットセットを使用してタグ付けし、さまざまなプロットとオプションを使用してスポットを検証します。
<b>Picking</b>	切り出し（ピッキング）するスポットの選択とエクスポート ピッキングのスポットを選択しピッキングリストを作成します。

## 5 Quality control

Quality Control ステップでは、これらの画像とそのプロパティを表示し、品質と整合性をチェックし、必要に応じて編集し、さらに解析するイメージを検証することができます。画像の追加、削除、名前の変更も可能です。

Note : イメージ (Image) とゲル (Gel) の違いに注意してください。ゲルは、1 つまたは複数のイメージが含まれます。DIGE および他のマルチ染色実験の場合、2 つ以上のイメージが同じゲルに属します。

① [Edit Image]  
DIGEゲルの編集(オプション)  
切り出し、回転など

複数の画像を選択するには、CtrlキーまたはShiftキーを押しながら

パス - 緑 - すべての外観が正しいとすれば、自信を持って分析を進めることができる

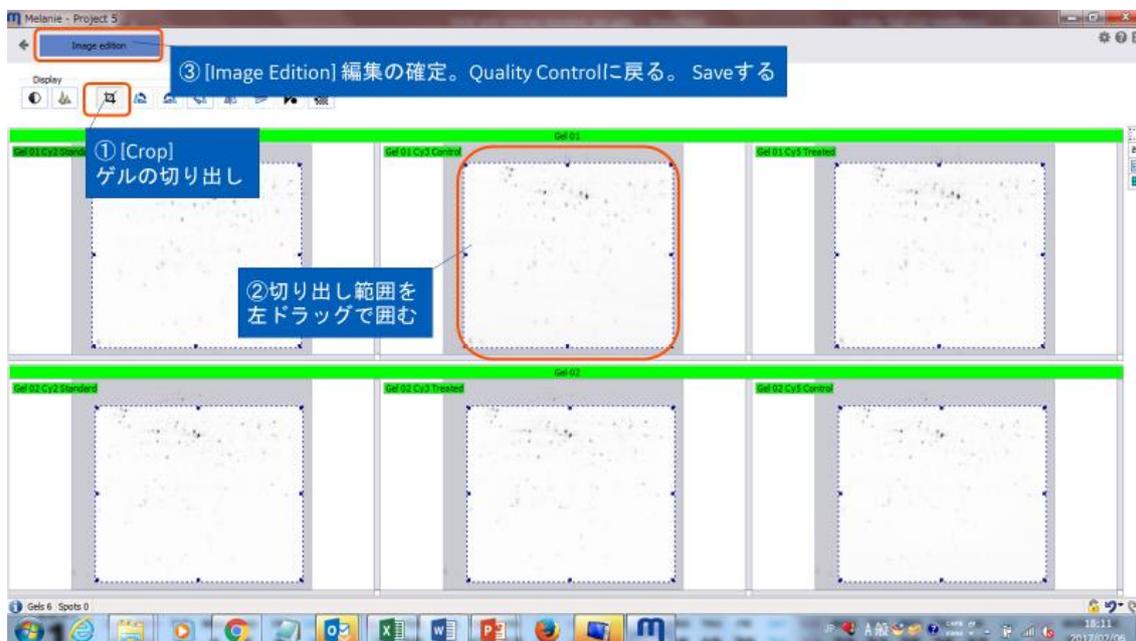
注意 - 黄色 - 受け入れられるが、注意。Melanieは分析の質を低下させる可能性のある問題を発見

警告 - 赤 - 異常が確認され、Melanieは分析の品質に悪影響を与える問題を検出

Image	Resolution	Bit Depth	Intensity Levels	Estimated bit depth	Gray levels %	Dynamic range %	Saturated area %	Background doping %	Min value
Gel 01 Cy2 Standard	254 dpi	16	24	42	0	0	53.44	0	53.44
Gel 01 Cy3 Control	254 dpi	16	21	38	0	0	23.63	0	23.63
Gel 01 Cy3 Treated	254 dpi	16	31	58	0	0	29.90	0	29.90
Gel 02	254 dpi	16	36	40	0	0	82.74	0	82.74

## 5.1 イメージの編集

Edit > Edit images ボタンをクリックすると、画像編集モードに移行します。



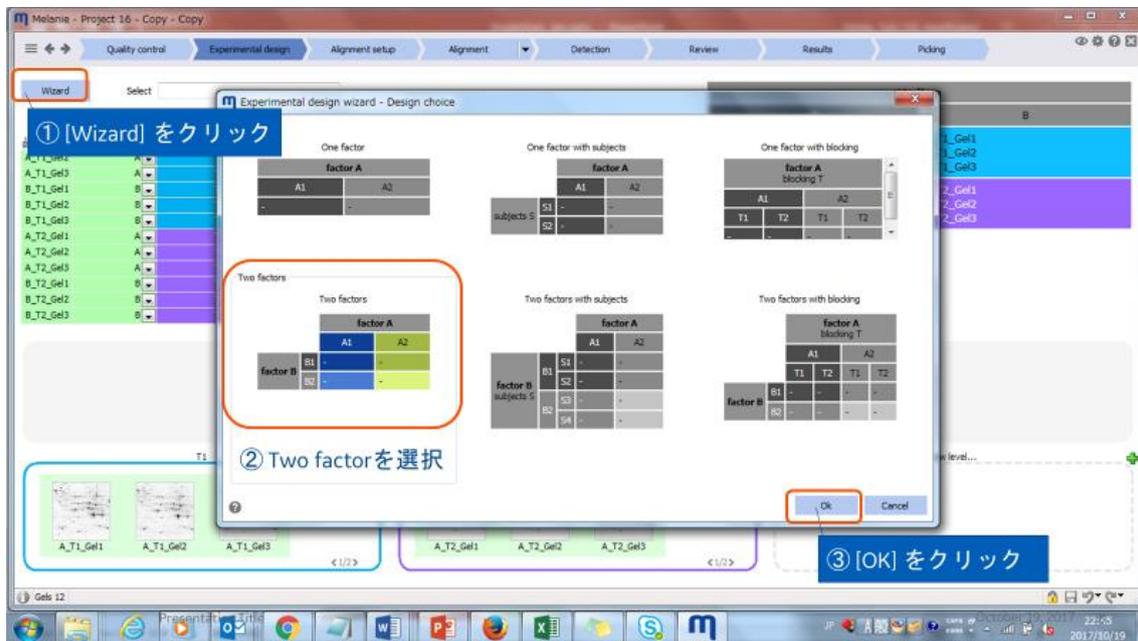
次のステップ Experimental Design をクリックし、変更を保存（Save modifications）して移動します。

## 6 Experimental Design - 解析デザイン

Experimental Design ステップでは、実験的デザインに関する情報を指定または編集できます。実験のメインファクター、サブジェクト、ブロック、その他の変数など。この情報は、ワークフロー全体でアライメント設定、画像表示レイアウト、適切な統計テスト、データ解析ツールを提案するために使用されます。

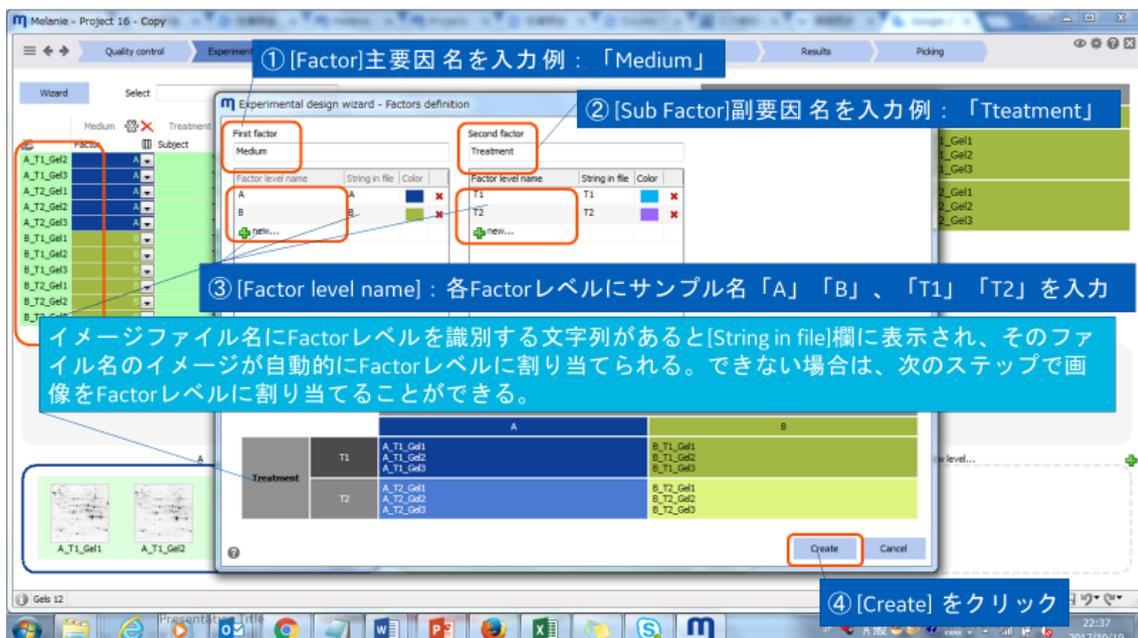
子のチュートリアルでは細胞を 2 つの異なる環境下（培地 A および培地 B）で培養し、2 種類の処理（処理 1 および処理 2）を行ったので 2-Factor を選びます。

## 6.1 実験デザインを選択する



## 6.2 要因 (Factor) と Factor レベルの名前をつける

ウィザードの 2 番目の画面で Factor と Factor レベルの名前を変更します。



## Wizard でファクター、レベル振り分けができなかった場合

Wizard でファクター、レベル振り分けができなかった場合

Warning note: The number of samples per treatment combination is not constant/balanced. The statistical test will apply a correction. However, it is generally better to have the same (or very similar) number of samples per treatment.

Factor	Level
Gel 02 Cy3 Treated	
Gel 03 Cy5 Treated	
Gel 04 Cy3 Treated	
Gel 01 Cy3 Control	Control
Gel 02 Cy5 Control	Control
Gel 03 Cy3 Control	Control
Gel 04 Cy5 Control	Control
Gel 01 Cy5 Treated	Treated

E.coli

Control	Treated
Gel 01 Cy3 Control	
Gel 02 Cy5 Control	
Gel 03 Cy3 Control	Gel 01 Cy5 Treated
Gel 04 Cy5 Control	

3 gels not used:  
Gel 02 Cy3 Treated  
Gel 03 Cy5 Treated  
Gel 04 Cy3 Treated

① 振り分けるイメージを [New level] エリアにドラッグ

② [level] 名を入力 例: 「Treated」

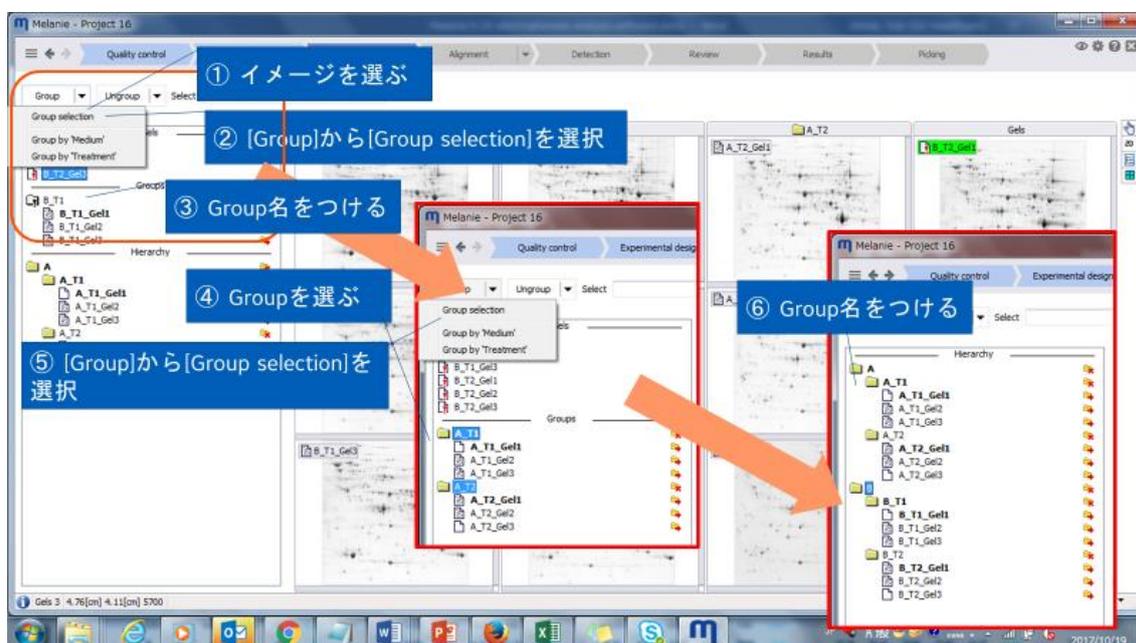
次のステップ[Aliment setup]をクリックし、変更を保存（Save modifications）して移動します。

## 7 Alignment setup アライメントセットアップ

アライメントは実験中のイメージのスポット位置をリファレンスイメージに合わせます。アライメントは、画像解析プロセスにおいて非常に重要です。アライメントが不十分な場合、その結果生じるスポット検出および定量は根拠が薄くなります。

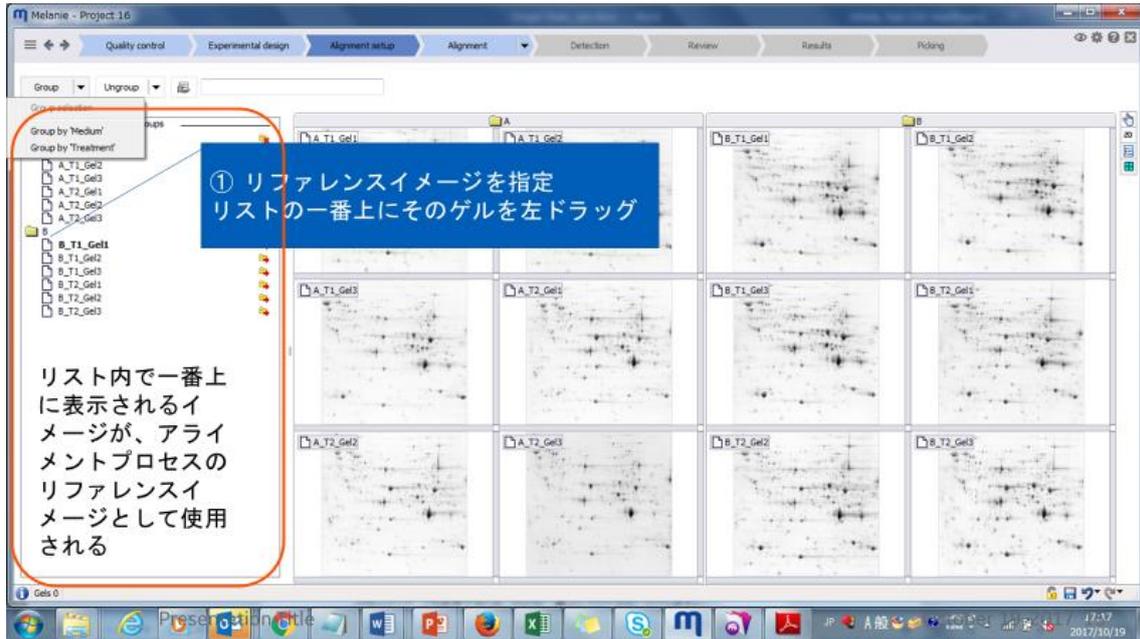
アライメントセットアップはリファレンスイメージを設定します。Single stain 実験では、Factor(今回は Medium A と B)ごとにグループを作り、リファレンスイメージを設定します。

### 7.1 アライメントグループ(階層)を作る



### 7.2 リファレンスイメージを指定する

リスト内で一番上に表示されるイメージが、アライメントプロセスのリファレンスイメージとして使用されます。リファレンスイメージを変更するには、リストの一番上にそのゲルをドラッグします。



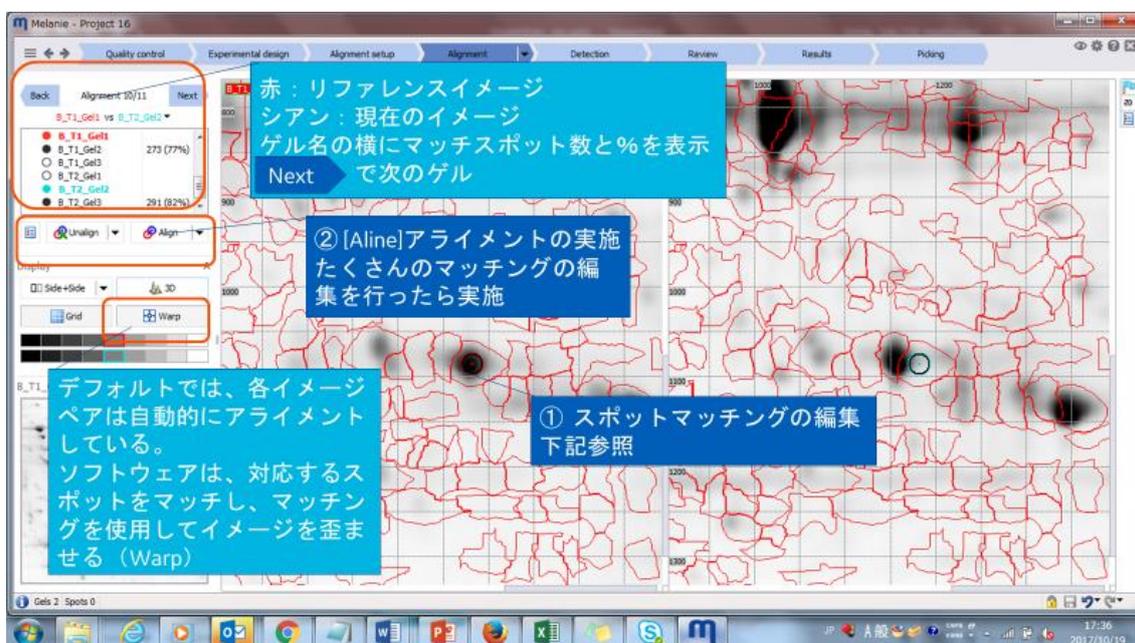
次のステップ Aliment をクリックし、変更を保存（Save modifications）して移動します。

## 8 Alignment アライメント

アライメントは、実験中の各イメージとそのリファレンスイメージとの間のスポットマッチングを見つけ、各イメージを Warp してリファレンスイメージと重ね合わせて行います。アライメントは、イメージ解析プロセスにおいて非常に重要です。アライメントが不十分な場合、その結果生じるスポット検出および定量化は根拠が薄くなります。

Single stain 解析では、アライメントセットアップで分けたそれぞれの **Subject 内**(Tutorial では A T1\_Gel1-Gel3)でアライメントし、**Subject 間**(Tutorial では A T1 と A T2)、B も同様に、次に **Factor 間** (Tutorial では A と B) のリファレンスイメージでアライメントします。

### 8.1 アライメントをするには



イメージでのマッチングスポットは以下のように表示されます。

	自動マッチ	ユーザーマッチ
非選択時		
選択時		

**マッチングの削除**：右マウスボタン

マッチスポットを右クリック、マッチを削除する確認ウィンドウで[Yes]をクリック

**マッチングの追加**：左マウスボタン

片方の画像でスポットの最も濃い部分を左クリック。両方の画像にシンボルが表示される。

もうひとつのイメージのマッチ位置をダブルクリックするか、マッチシンボルを正しい位置にドラッグ

**既存マッチングの位置編集**：左マウスボタン

マッチしているスポットをクリック。シンボルを正しい位置にドラッグ。

## 8.2 アライメントの実施



Current images（現在のイメージペア）、All images（ツリービューにあるすべてのイメージ）、Choose images（イメージを選択）、Non-aligned images（アライメントされていないイメージ）でアライメントを実施でき、それぞれ以下の実施方法が選択できます。

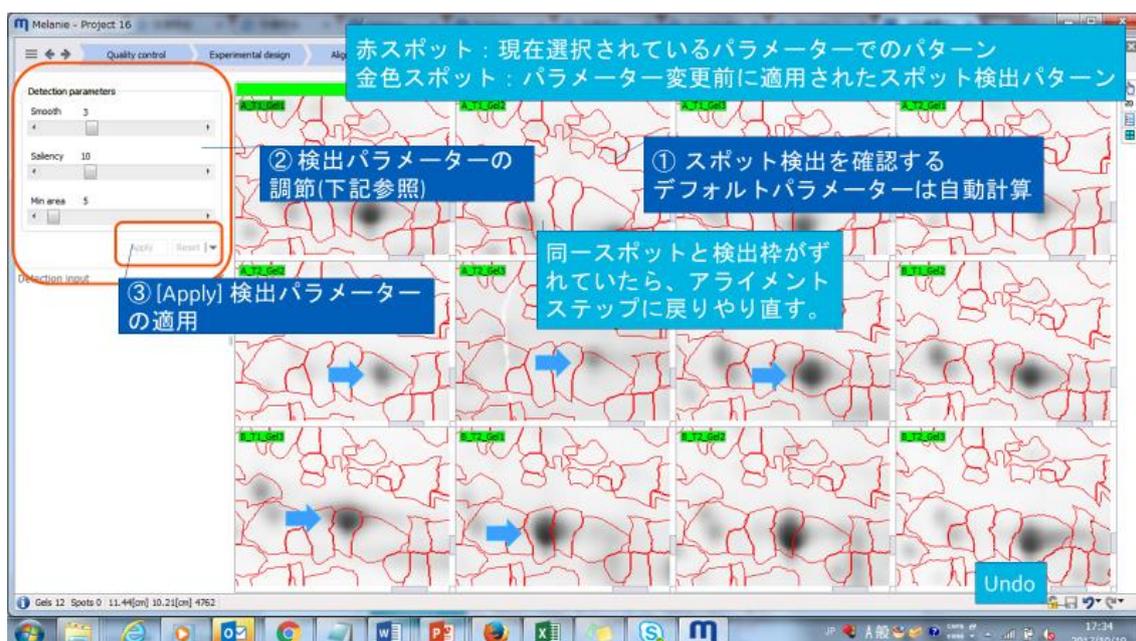
**Based on user matches**：ユーザーマッチングのみを用い、新しくアライメントを実行します。

**Based on all matches**：ユーザーと自動マッチを保ちながら、新しくアライメントを実行します。

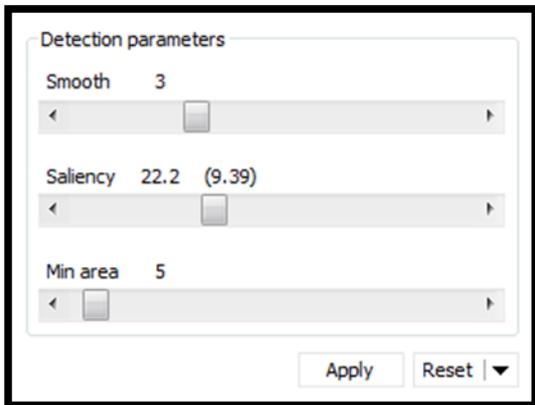
次のステップ Detection をクリックし、変更を保存（Save modifications）して移動します。

## 9 Detection スポット検出

スポット検出ステップの目的は、解析中のすべてのイメージを表す固有のスポットパターンを生成することです。最初に、すべてのイメージの融合イメージを作成します。次いで、自動的に計算された、または微調整された検出パラメータを使用して、融合イメージ上にスポットを検出します。最後に、スポットパターンをすべての個々のイメージに伝播させ、スポットを定量化します。



## 9.1 検出パラメータを設定する



自動的に計算されたパラメータを使用すると、適用されるスポットパターンの即時プレビューが表示されます。検出パラメータは微調整することができます：

**Smooth**：スポットの分割。数値が小さいほど細かく分割。

**Saliency**：スポットの突出度。数値が大きいほど濃いスポットを検出。

**Min area**：スポットとして考慮しない面積。ツブツブごみを除く。

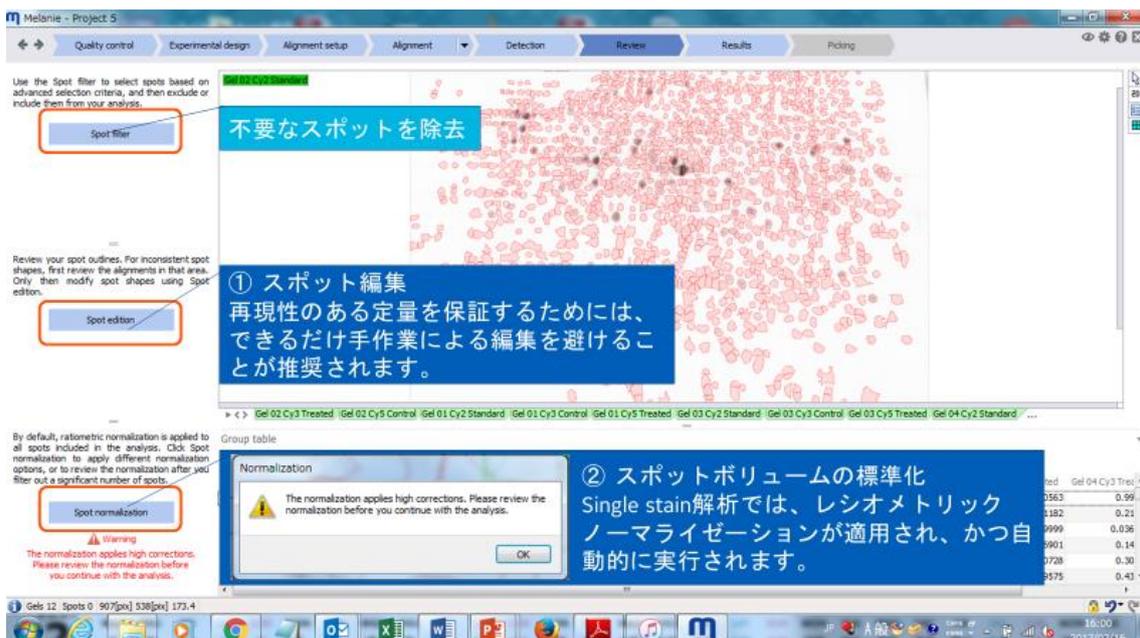
現在選択されているパラメータの値は各スライドの

上にあり、赤いスポットのパターンに対応しています。

パラメータを変更すると以前に適用されたスポット検出パラメータは、カッコ内に記載され、金色のスポットで表示しています。

## 10 Review レビュー

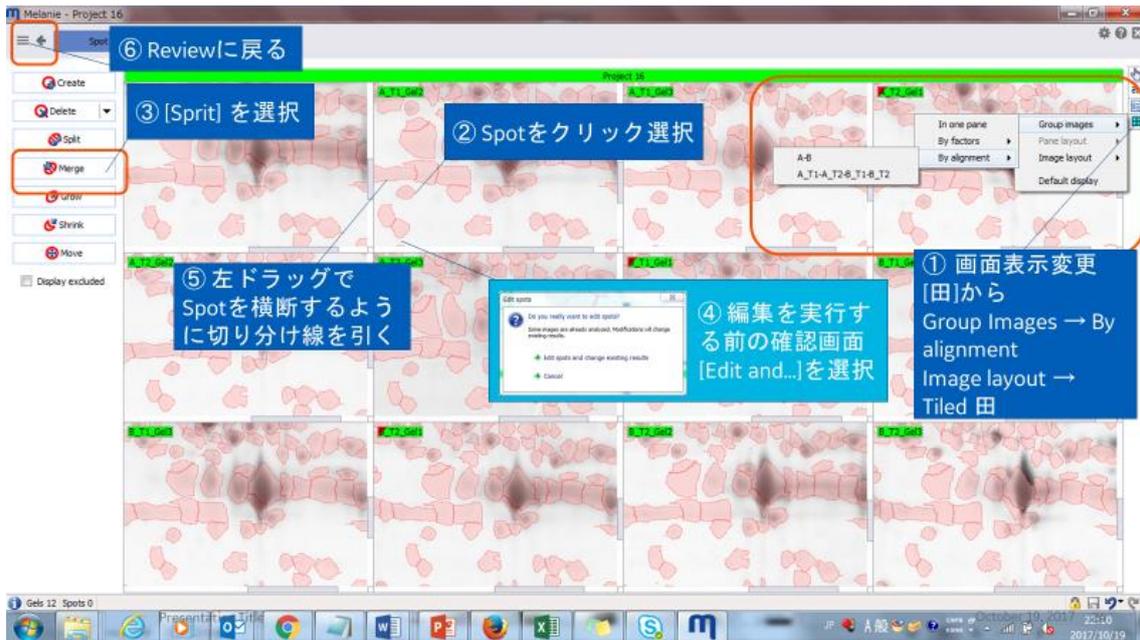
Review ステップでは、アラインメントと検出結果を検証するためのさまざまなツールが用意されています。このようにして、データセットが統計分析のために準備されていることを確認できます。スポットフィルタの高度な選択基準に基づいて、スポット編集およびノーマライズの設定を確認します。



## 10.1 スポット編集

Melanie は、スポット形状を編集することができます。しかし、再現性のある定量を保証するためには、できるだけ手作業による編集を避けることが推奨されます。一貫性のないスポットシェイプに気付いたら、そのエリアのアラインメントを最初に確認することをお勧めします。

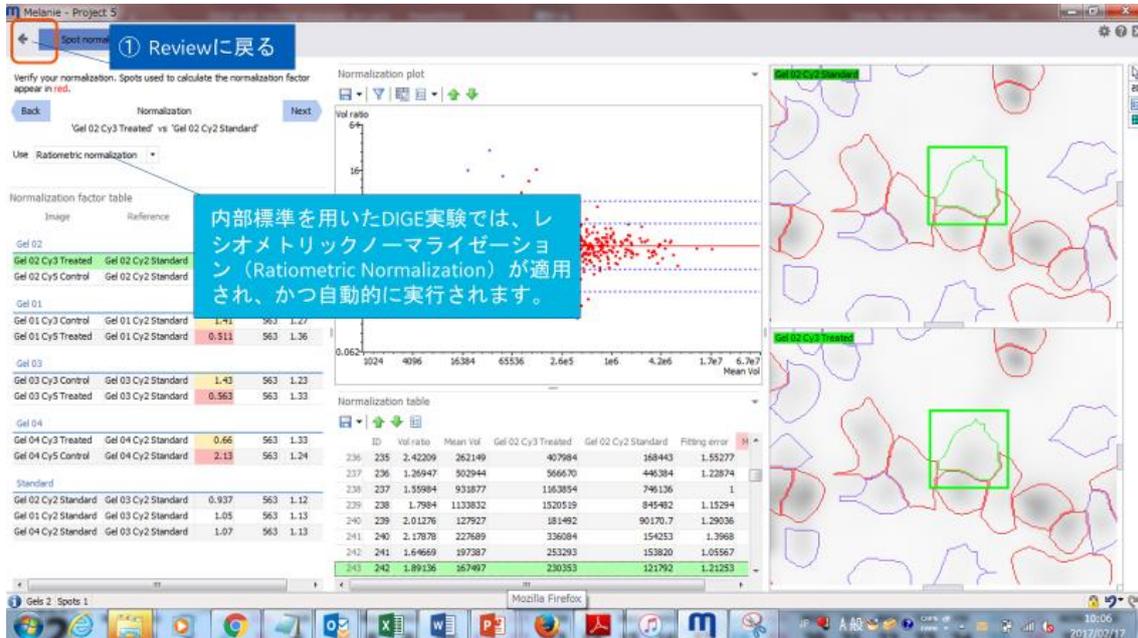
Spot edition ボタンをクリックし、スポット編集モードに入ります。以下の操作ができます。



-  **スポットを作成** クリックしてドラッグすると、新しいスポットの輪郭（楕円）を描画できます。
-  **スポットを削除** クリックして削除します。クリックしてドラッグすると、すべてのスポットが削除される領域を定義します。
-  **スポットを分割** 分割する位置にスポットを通して線を描きます。スポット輪郭の外から外に線を描きます。
-  **スポットの結合** いくつかのスポットを通して軌跡を描きます。
-  **スポットを拡大** 追加したい領域の輪郭を描きます。
-  **スポットの縮小** 縮小したい領域の輪郭を描きます。
-  **スポットの移動** この特定の画像だけで移動するスポットをクリックしてドラッグします。

## 10.2 スポットノーマライゼーション Spot normalization

内部標準を用いた DIGE 実験（DIGE experiments with an internal standard）では、レシオメトリックノーマライゼーションが適用され、かつ自動的に実行されます。



次のステップ Result をクリックし、移動します。

## 11 Results 結果

Result のステップでは、専用のツールと統計テストを使用して結果を調べることができます。デフォルト画面は、最良のあなたの実験計画に適合されている統計解析の結果が表示されます。

このチュートリアルでは One-way ANOVA(一元分散分析) を用い、Medium A、B 間で顕著なタンパク質発現の差異があるスポット「ANOVA 検定値が 0.05 未満であり、かつボリューム比の平均が 2 以上または 0.5 以下」を見つけます。

### 11.1 2D/3D 表示の操作

	2D view	3D view
イメージの移動	スクロールホイールを押しながらドラッグ スクロールホイールをダブルクリックし選択域の中央を表示	Ctrl + スクロールホイールを押しながらドラッグ
イメージのズーム	スクロールホイールを回転	スクロールホイールを回転
イメージの回転	-	スクロールホイールを押しながらドラッグ

ピーク高の変化	-	Ctrl + スクロールホイールを回転
---------	---	---------------------

### 11.2 ANOVA 検定値が 0.05 以下、Fold(発現量比)が 2 以上のスポットを見つけ、「ANOVA=<0.05, Fold=>2」のスポットセットを作る

① [Filter by values] をクリックし、ウィンドウを開く。

② [Add new filter] をクリックし、「Anova (p)」を選択する。上限値 (<=) をダブルクリックし、「0.05」を入力する。

③ 2行目の [Add new filter] をクリックし、「Fold」を選択する。下限値 (>=) をダブルクリックし、「2.0」を入力する。

④ Output を New spot set を選び、[OK] をクリック。

⑤ 「ANOVA=<0.05, Fold=>2」を入力し、[OK] をクリック。

Anova Table

ID	Max	Fold	Anova (p)	A	B	Validation	Analysis-1
72	301	905029	1.933022	0.0323408	905029	494464	
73	81	2864282	2.54638	0.0323982	1124845	2864282	
74	344	2771366	1.46035	0.0325057	1897735	2771366	
75	235	927208	1.33925	0.0330641	692709	927208	
83722			-0.034498	140057	537501		
64371			0.0354436	4853255	2052629		

Anova (p)  $1.5e-8 = 0.0000000015$

### 11.3 Medium「B」の発現量が「A」の 2 倍以上のスポットを見つけ、「B=>2」のスポットセットを作る

② [Filter by values] をクリックし、ウィンドウを開く。

③ [Add new filter] をクリックし、「Fold」を選択する。下限値 (>=) をダブルクリックし、「2.0」を入力する。

④ ④ Output を New spot set を選び、[OK] をクリック。

Expression ratio table

ID	Control	Treated	Analysis-1	Treat
1116	1116	1	1.21036	
1117	1117	1	1.52632	
1118	1118	1	1.06372	
1119	1119	1	2.19228	
1120	1120	1	0.99887	

① Expression ratio table が開き、「A」の平均ボリュームを「1」としたときの「B」の発現量比が表示される

## 11.4 Anova Table に「B=>2」のスポットセットを表示し、「ANOVA=<0.05, Fold=>2」かつ「B=>2」の「Interest Spots」スポットセットをつくる

① [Annotate]の隣の▼をクリックし、Spot Set > Combineをクリックし、ウィンドウを開く  
 ② [Inputs]に「ANOVA=<0.05, Fold=>2」と「B=>2」を選択 Operatorに「And」を選択  
 ③ [Output]に「New spot set」を選択し、[OK]をクリック  
 ④ Create spot setウィンドウのnew nameに「Interesting Spots」と入力し、[OK]をクリック

② Settingsアイコンをクリックし、「B=>2」にチェックを入れ、[OK]をクリック

① Result table下部のタグ「Anova Table」をクリックし、Anova tableに戻る

③ Resultテーブルに「B=>2」チェックボックスが出来る

## 11.5 抽出されたスポットの評価

このチュートリアルでは 12 枚のゲルを使用していますので、1 マッチングスポットあたり、Medium A（青）と B（黄緑）で各 6 スポットずつ存在することになります。縦軸は発現量（volume）で表示されます。サンプルスポットを横切る帯と白線はばらつきと、平均値を示しています。

データポイントグラフ

帯と白線ばらつきと、平均値

② 興味深いスポットにはAnalysis 1にチェックを入れる

① Interested Spotsでソートする

Fold 最大発現量比

Anova (p)

各スポットを検証したら、Analysis1 チェックボックスカラムにチェックを入れます。

- - 関心のあるスポットとして確認
- - 関心ないスポットと確認
- - まだレビュー、検証していないスポット

Ettan Spot Picker（スポット回収ロボット）を使用するならば、次のステップ Picking をクリックし、移動します。

## 11.7 複数の統計結果を表示

ホームボタンを押すと、複数の統計結果の表示ができます。



- Gel analysis
- One-factor analysis (One-way ANOVA) 一元分散分析
- Two-factor analysis (Two-way ANOVA) 二元分散分析
- PCA (主成分分析)

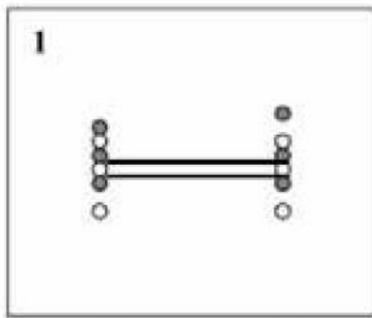
## 11.8 Two-factor analysis (Two-way ANOVA)

### ■ 概要

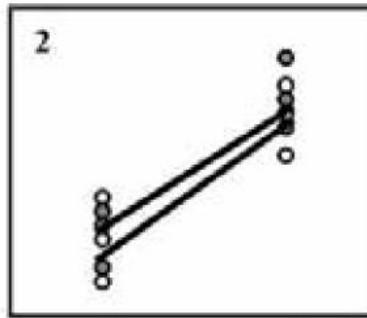
Two-Way ANOVA は、【Condition 2】が同じで【Condition 1】値が異なる群間や（Two-Way ANOVA Condition 1）、その逆（Two-Way ANOVA Condition 2）の群間の有意差を計算します。Two-Way ANOVA 解析は、2 つの因子による作用の有意性の差も計算します（Two-Way ANOVA Interaction）。したがって、Two-Way ANOVA には 3 つの仮説があります。各セットの帰無仮説は以下の通りです。

- ・ 第一条件の母集団平均は等しい。これは【Condition 1】のみの One-Way ANOVA と似ています。
- ・ 第二条件の母集団平均は等しい。これは【Condition 2】のみの One-Way ANOVA と似ています。
- ・ 2 つの因子の間に相互作用がない。有意な ANOVA Interaction 値は、相互作用あるいは干渉により、2 つの因子が互いに影響しあっていることを示しています。

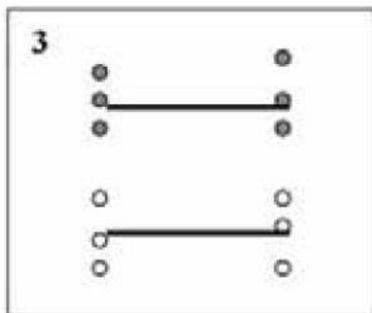
この種の影響の例を以下に示します。



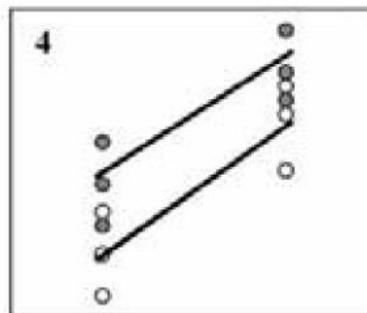
A B  
No significant variation



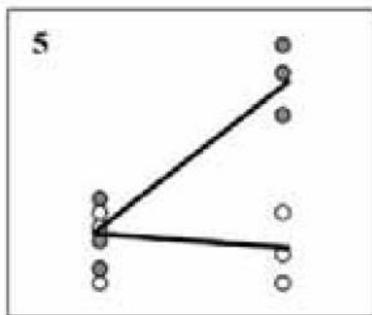
A B  
 $P_1 < 0.001, P_2$  not significant



A B  
 $P_1$  not significant,  $P_2 < 0.001$



A B  
 $P_1 < 0.001, P_2 < 0.001$   
 $P_{12}$  not significant



A B  
 $P_1 < 0.001, P_2 < 0.001$   
 $P_{12} < 0.001$



### Two-Way ANOVA 解析のグラフ例

各グラフは、2 つの異なる実験条件におけるタンパク質発現量（縦軸）の変化を示しています。【Condition 1】（横軸）は、2 つの温度 A と B を、【Condition 2】は薬剤処理（図中●）とコントロール（図中○）を示しています。各条件で 3 回の泳動が行われているため、4 つの実験群それぞれに 3 サンプルがあります。【Condition 1】と【Condition 2】は、条件の一方を固定し他方を変えるというように使用されており、群 1 と群 2 は【Condition 1】値が等しく（どちらも温度 A）、【Condition 2】値（薬物処理またはコントロール）が異なります。群 3 と群 4 は、別の【Condition 1】値（どちらも温度 B）と、異なる【Condition 2】（薬物処理またはコントロール）値を持つこととなります。

<実験 1> 温度 A と B、または処理済みと未処理のサンプルのタンパク質発現量に変動はありません。

<実験 2 > 温度 B でタンパク質発現が増加していますが、薬物処理は効果がありません。

<実験 3 > 薬物処理でタンパク質発現が増加していますが、温度変化は効果がありません。

<実験 4 > 薬物処理と温度上昇の両方の作用でタンパク質発現が増加しています。すなわち 2 条件は独立しており、P12 は有意ではありません。

<実験 5 > 薬物処理のみが温度変化と関連しており、タンパク質発現量が増加しています。すなわち 2 つの条件は相互作用しており、結果として P12 < 0.001 となります。

## 12 Picking ピッキング

[ピッキング]ステップでは、スポットをスポットピッカーロボットが読み取れるピックファイルにエクスポートできます。

Note : Ettan Spot Picker ではリファレンスマーカーを含むピッキングゲルを使用します。

The screenshot shows the 'Picking' step in the software. The interface includes a 'Picking' tab with various options and a 'Generate file' button. A table of spots is visible at the bottom.

Ettan marker	Pixel X	Pixel Y	Clm X	Clm Y
IR1	130	905	1.3	9.05

## 13 pI / MW setting

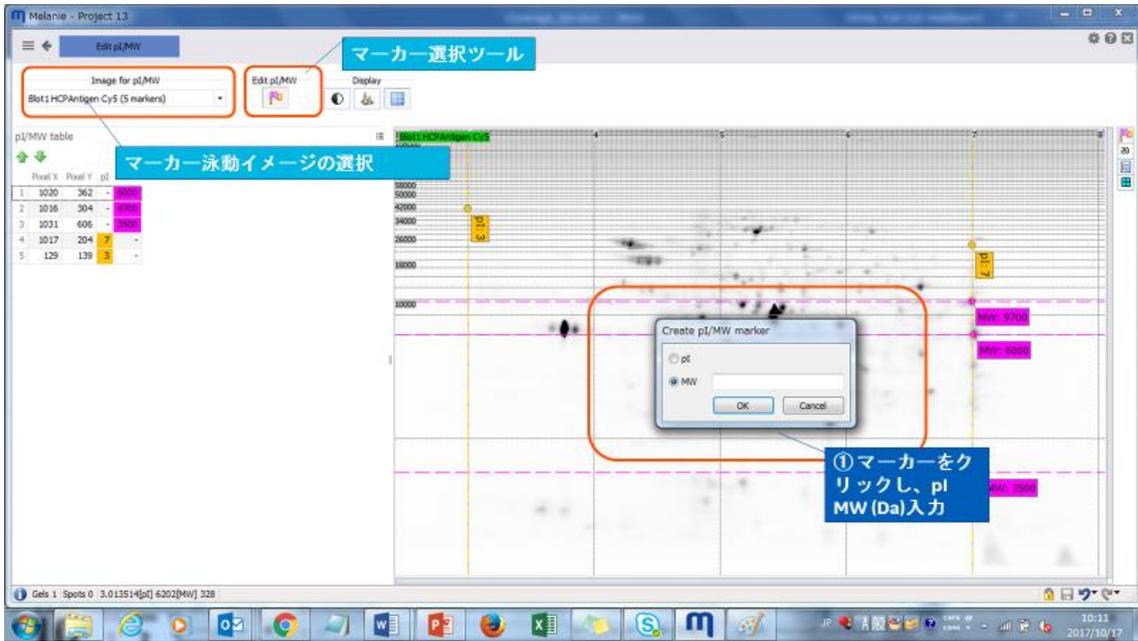
等電点、分子量マーカーを基に、スポットに pI / MW 情報を付加することができます。

### 13.1 pI / MW setting

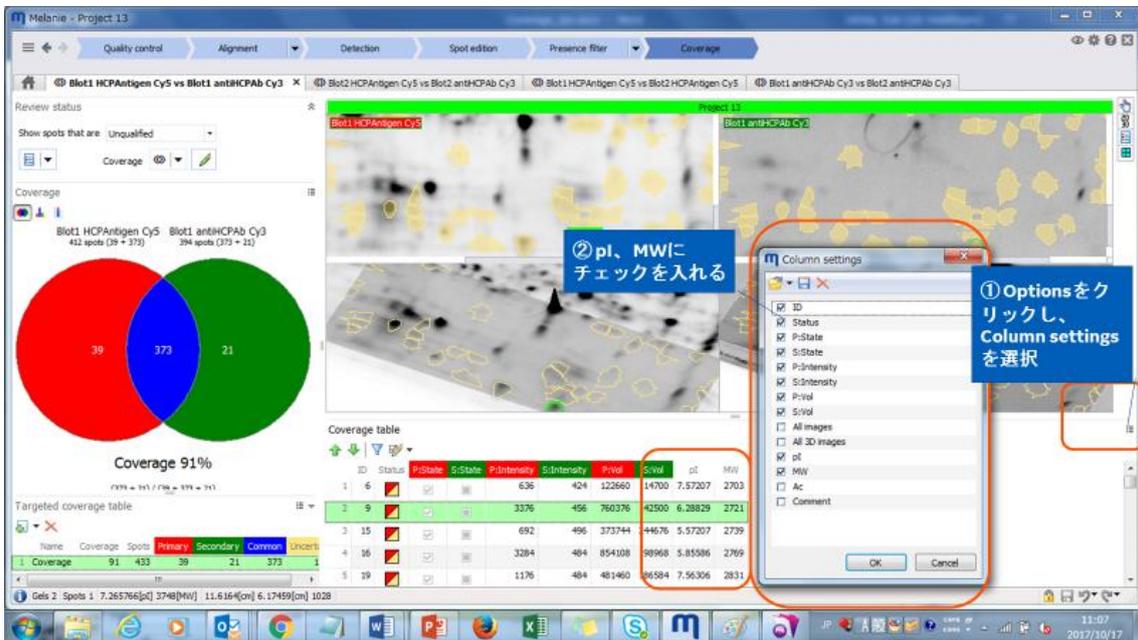
Quality control ステップの Edit ボタンから「Edit pI/MW...」を押す。

The screenshot shows the 'Edit pI/MW...' dialog box in the software. The dialog box has fields for 'Image', 'Display', and 'Validate'.

### 13.2 pI / MW setting



### 13.3 pI / MW 表示



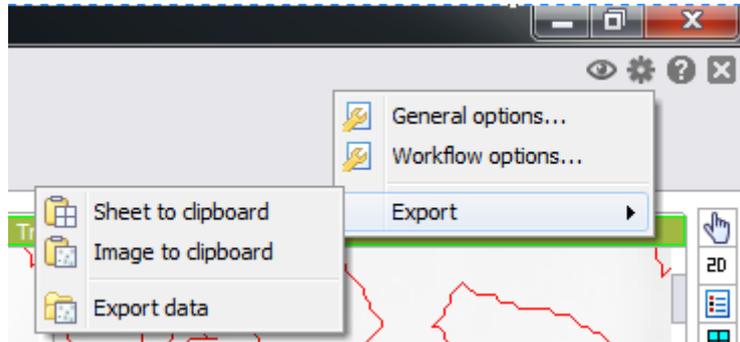
## 14 画面のエクスポート

### 14.1 イメージウィンドウのエクスポート

Options（歯車）をクリックします。

Export > Sheet to clipboard  
表示しているすべてのイメージ

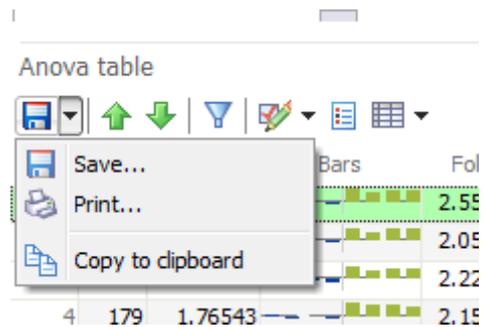
Export > Image to clipboard  
選択（左上の名タグが緑）イメージ



### 14.2 表 (Table) のエクスポート

Save アイコンをクリックします。

Save > テキストファイルで保存。Selected row もしくは all rows



### 14.3 Experiment Design view のエクスポート

Settings をクリックします。

Save > html ファイルで  
画像保存。

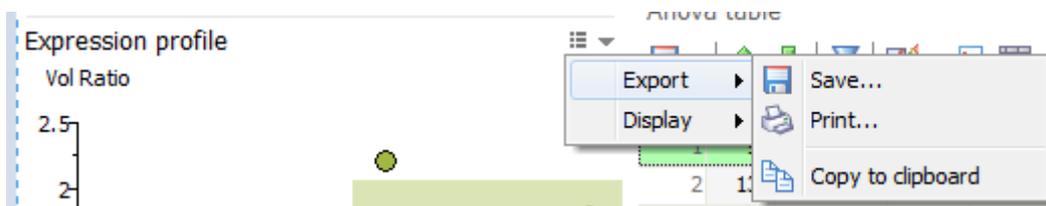
A screenshot of the 'Experimental design view' window. It shows a table with columns 'Control' and 'Treated'. The first row is highlighted in green. A context menu is open over the table, showing options: 'Save...', 'Print...', and 'Copy to clipboard'. The table data is as follows:

E.coli	
Control	Treated
Gel 01 Cy3 Control	Gel 01 Cy5 Treated

## 14.4 Expression Profile のエクスポート

Settings をクリックします。

Save > png、bmp、tiff ファイルで画像保存。



## お問い合わせ先

### 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 : [tech-jp@cytiva.com](mailto:tech-jp@cytiva.com)

[www.cytivalifesciences.co.jp](http://www.cytivalifesciences.co.jp)