



CFX Maestro Dx SEソフトウェア

ユーザーガイド
バージョン2.0

REF

12014330
12014334
12014335
12014348
12014349
12014350
12014351
12015544
12015564

マニュアル改訂: 2021年1月
ソフトウェアリビジョン: 2.0



BIO-RAD

CFX Maestro Dx SEソフトウェア

ユーザーガイド

バージョン2.0



Bio-Radテクニカルサポート

日本国内のBio-Radテクニカルサポート部門の営業時間は、月曜日から金曜日の午前9時から午後5時(営業日)までです。

電話: 03-6404-0331

Eメール: life_ps_jp@bio-rad.com(日本のみ)

通知

この文書のいかなる部分も、Bio-Rad Laboratories, Inc.による書面の許可がない限り、コピー、記録、情報の保存または検索システム等、電子的か機械的かを問わず、いかなる形式または手段によっても複製または送信することはできません。

Bio-Radは製品およびサービスをいつでも変更する権利を留保します。このガイドは予告なしに変更される場合があります。情報の正確性については万全を期しておりますが、この情報の適用または使用に起因する誤りまたは欠落、あるいはいかなる損害に対してもBio-Radは一切の責任を負いません。

BIO-RADはBio-Rad Laboratories, Inc.の商標です。

SYBRは、Thermo Fisher Scientific Inc.の商標です。

EvaGreenは、Biotium, Inc.の商標です。

この文書で使用されているすべての商標は、それぞれの所有者に帰属します。

Copyright © 2020 by Bio-Rad Laboratories, Inc. All rights reserved.

用途

CFX Opus 96 DxリアルタイムPCRシステムまたはCFX Opus 384 DxリアルタイムPCRシステム(CFX Maestro Dx SEソフトウェア搭載)は、核酸配列の検出および定量のために蛍光ベースのPCRを実行することを目的としています。システムとソフトウェアは、訓練を受けた検査技師による体外診断での使用を目的としています。本システムは、診断用として製造および分類されている、第三者の診断用核酸増幅検査での使用を目的としています。

マーク一覧

 メーカー	 ロット番号
 使用期限	 体外診断用
 温度制限	 カタログ番号
 取扱説明書を参照	 検査回数
 使用対象	 シリアルナンバー
Rx Only 規定された場合にのみ使用	 ラテックス含有

翻訳

製品ドキュメントは、電子メディアでその他の言語で提供される場合があります。

改訂履歴

資料	日付	変更の説明
CFX Maestro Dx SEソフトウェア ユーザーガイド 2.0 (ドキュメント ID# 10000135629)	2020年12月	Ver A、初期リリース

目次

用途	iii
マーク一覧	iii
翻訳	iv
改訂履歴	v
安全性と規制への準拠	17
安全警告ラベル	17
安全性と規制への準拠	19
安全性コンプライアンス	19
電磁両立性(EMC)	20
EMC警告および注意	21
危険性	22
バイオハザード	22
化学品の危険有害性	23
爆発または可燃の危険性	23
電氣的危険性	23
輸送	24
電池	24
処分	24
保証	24
第1章はじめに	25
CFX Maestro Dx SEソフトウェアの主な特徴	26
詳細について	26
第2章CFX Maestro Dx SEソフトウェアのインストール	27
System Requirements	28
CFX Maestro Dx SEソフトウェアのインストール	29
Detecting Connected Instruments	30
ソフトウェアファイル	31

第3章 CFX Maestro Dx SEソフトウェアユーザーアカウントの管理	33
CFX Maestro Dx SEソフトウェアの起動	34
CFX Maestro Dx SEソフトウェアコンピューターへのMicrosoft Windowsユーザーの追加	35
CFX Maestro Dx SEソフトウェアユーザーの追加と削除	37
CFX Maestro Dx SEソフトウェアユーザー役割の管理	38
役割と権限の表示	39
第4章 CFX Maestro Dx SEソフトウェアの使用	41
セキュアファイル	41
第5章 ワークスペース	51
[Home (ホーム)]ウィンドウ	52
スタートアップウィザード	53
[Protocol Editor (プロトコルエディター)]ウィンドウ	54
[Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウ	55
[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウ	56
第6章 [Home (ホーム)]ウィンドウ	57
[Home (ホーム)]ウィンドウ	58
[File (ファイル)]メニューのコマンド	59
[View (表示)]メニューのコマンド	59
[User (ユーザー)]メニューのコマンド	60
[Run (ラン)]メニューのコマンド	60
[Tools (ツール)]メニューのコマンド	61
[Help (ヘルプ)]メニューのコマンド	61
ツールバーのコマンド	62
スタートアップウィザード	64
ステータスバー	64
[Detected Instruments (検出された機器)]ペイン	65
機器のプロパティの表示	68
はじめる前に	70
現在インストールされているバージョンの確認	70
システムソフトウェアとファームウェアのアップグレード	71
リアクションマスターミックスの作成	72
新しい色素のキャリブレーション	74
ユーザー設定の設定	76

第7章 プロトコルの作成	91
[Protocol Editor (プロトコルエディター)]ウィンドウ	92
[File (ファイル)]メニューのコマンド	92
[Settings (設定)]メニューコマンド	93
[Tools (ツール)]メニューのコマンド	93
ツールバーのコマンド	93
プロトコル編集コントロール	94
プロトコルエディターでのプロトコルの作成	97
プロトコルエディターで新しいプロトコルファイルを開く	97
プロトコルエディターで既存のプロトコルを開く	99
新しいプロトコルの設定	100
プロトコルへのステップの追加	102
グラジエントステップの挿入	102
GOTOステップの挿入	103
融解曲線ステップの挿入	104
プレートリードステップの追加または削除	106
ステップオプションの変更	106
ステップの削除	107
プロトコルのコピー、エクスポート、または印刷	107
Protocol AutoWriterを使用したプロトコルの作成	108
Ta計算機の使用	110
Ta計算機の概要	110
第8章 プレートの準備	115
[Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウ	116
[File (ファイル)]メニューのコマンド	116
[Edit (編集)]メニューのコマンド	117
[Settings (設定)]メニューのコマンド	117
[Editing Tools (編集ツール)]メニューのコマンド	117
ツールバーのコマンド	118
プレートエディターを使用したプレートファイルの作成	119
プレートエディターで新しいプレートファイルを開く	119
プレートエディターで既存のプレートファイルを開く	121
新しいプレートファイルの設定	122
プレートファイルへのオプションパラメータの割り当て	129

ウェルへのターゲットの割り当て	129
ウェルへのサンプル名の割り当て	131
ウェルへの生物学的グループの割り当て	133
ウェルへの技術レプリケート番号の割り当て	135
標準 サンプルタイプへの希釈系列の割り当て	137
別のウェルへのウェルの内容のコピー	138
ウェルへのメモの追加	138
ウェルのすべての内容のクリア	139
実験設定の変更	141
ウェルグループの作成	144
トレーススタイルの変更	146
スプレッドシート形式でのプレートの表示	148
プレートセットアップウィザードを使用したプレートレイアウトの作成	150
プレートセットアップウィザードの使用	150
第9章 実験の実施	153
[Run Setup (ランの設定)]ウィンドウ	154
[Run Setup (ランの設定)]ウィンドウへのアクセス	155
[Protocol (プロトコル)]タブ	156
[Plate (プレート)]タブ	158
[Start Run (ランの開始)]タブ	161
実験の実施	162
[Run Details (ランの詳細)]ダイアログボックス	164
[Run Status (ランステータス)]タブ	164
[Real-time Status (リアルタイムステータス)]タブ	166
[Time Status (時間ステータス)]タブ	169
PrimePCR実験の実施	170
解析のためのスタンドアロンデータの転送	172
Eメールを介したデータの転送	172
CFX Opus DxリアルタイムPCRシステムからのデータの転送	172
USBドライブを使用したデータ転送	174
CFX Opus DxリアルタイムPCRシステムを使用した共有ネットワークドライブ経由のデータ転送	175
データファイルの作成	176
第10章 データ解析の概要	177
[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウ	177

[Data Analysis (データ解析)]ツールバー	178
データ解析メニューバー	179
タブの詳細	181
ステップ番号セレクター	182
データ解析でのウェルグループの表示	183
ラン後のウェルの内容の変更	183
データ解析設定	184
しきい値の調整	184
ベースライン設定	184
解析モード	185
解析するサイクル数	186
ウェルセレクター	187
ウェルセレクターの右クリックメニュー項目	188
解析からの一時的なウェルの除外	189
グラフ	190
グラフツール	190
グラフ内の領域の拡大	198
Microsoftファイルへのグラフのコピー	198
グラフの一般的な右クリックメニュー項目	198
スプレッドシート	200
スプレッドシートの一般的な右クリックメニュー項目	200
Export (エクスポート)	202
すべてのデータシートのエクスポート	202
RDMLファイルのエクスポート	202
カスタムエクスポートファイルの作成	204
LIMSフォルダへのエクスポート	206
Seegene形式のデータのエクスポート	206
第11章 データ解析の詳細	207
[Quantification (定量化)]タブ	208
蛍光色素オプション	208
[Trace Styles (トレーススタイル)]ダイアログボックス	208
対数スケールオプション	210
Standard Curve Chart (検量線グラフ)	211
[Amplification Chart (増幅グラフ)]メニューのオプション	212

[Quantification (定量化)]タブのスペッドシート	212
[Quantification Data (定量化データ)]タブ	214
結果スペッドシート	214
検量線結果スペッドシート	216
プレートスペッドシート	217
RFUスペッドシート	218
[Melt Curve (融解曲線)]タブ	219
融解曲線データの調整	221
[Melt Curve Data (融解曲線データ)]タブ	222
融解ピークスペッドシート	222
プレートスペッドシート	223
RFUスペッドシート	224
-d(RFU)/dTスペッドシート	225
[End Point (エンドポイント)]タブ	226
結果データ	227
エンドポイントデータ解析の調整	228
エンドポイント解析用のRFUスペッドシート	228
[Allelic Discrimination (対立遺伝子識別)]タブ	229
対立遺伝子識別に関するデータの調整	230
[Chart (グラフ)]メニューのオプション	231
対立遺伝子識別スペッドシート	231
[Custom Data View (カスタムデータビュー)]タブ	232
カスタムデータビューの作成	233
[QC]タブ	234
QC基準の変更	234
QCを満たしていないウェルの除外	235
[Run Information (ラン情報)]タブ	236
データ解析レポート	237
データ解析レポートのカテゴリ	238
データ解析レポートの作成	241
ウェルグループレポートの作成	243
第12章 遺伝子発現解析	245
遺伝子発現解析用プレートのセットアップ	245
プレート設定ガイド	246

遺伝子発現グラフ	247
グラフ	248
グラフビューの変更と注釈付け	250
遺伝子発現データの調整	255
実験設定	258
右クリックメニューオプション	259
データスプレッドシート	260
[Show Details (詳細の表示)]オプション	261
クラスターグラム	263
Settings (設定)	263
右クリックメニューオプション	263
データスプレッドシート	263
散布図	264
設定	264
右クリックメニューオプション	264
データスプレッドシート	264
結果スプレッドシート	265
Gene Study (遺伝子研究)	266
インターランキャリブレーション	266
[Gene Study (遺伝子研究)]ダイアログボックス	267
[Study Setup (研究設定)]タブ	267
遺伝子研究の準備	268
[Study Analysis (研究解析)]タブ	269
遺伝子研究レポートのカテゴリ	270
遺伝子研究レポートの作成	272
付録Aデータ解析の計算	273
反応効率	273
相対量	273
対照選択時の相対量	274
相対量の標準偏差	274
効率補正 Cq (CqE)	275
平均効率補正 Cq (MCqE)	275
正規化発現	276
生物学的グループの発現と相対量	277

対照選択時の正規化発現	277
正規化発現の標準偏差	278
最高発現レベルにスケーリングされた正規化発現	279
最低発現レベルにスケーリングされた正規化発現	279
平均発現レベルにスケーリングされた正規化発現	279
スケーリングされた正規化発現の標準偏差	280
標準偏差 (lg)と平均標準誤差 (lg)のエラーバー	281
倍率変化	282
補正值の計算式	283
生物学的グループ解析用の信頼区間の計算	284
箱ひげ図の計算	284
付録B 監査証跡	287
監査証跡の表示	287
監査可能なイベント	289
付録C LIMS統合	293
LIMS互換データファイルの作成	293
LIMSフォルダとデータエクスポートオプションの設定	293
LIMSプロトコルの作成	295
LIMSファイルの作成	295
LIMSランの開始	300
LIMSへのデータのエクスポート	301
付録D CFX Maestro Dx SEソフトウェアのトラブルシューティング	303
CFX Maestro Dx SEソフトウェアファイルとフォルダのホワイトリスト登録	303
アプリケーションログ	304
トラブルシューティング	305
Power Failure	305
CFX Maestro Dx SEコンピューターへのファイルの転送	305
CFX Maestro Dx SEソフトウェアの手動でのインストール	306
ドライバーの再インストール	306
付録E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products	307
Software Notices	308
ZedGraph	308
Standard Open License Text	308

LGPL-2.1	308
付録F参考文献	321

目次

安全性と規制への準拠

CFX Opus 96 DxおよびCFX Opus 384 Dx リアルタイムPCRシステム(このガイドではCFX Opus Dxシステムと呼ばれます)は、動作中に急速に加熱および冷却されます。リアルタイムPCRシステムの安全な動作のため、Bio-Radでは、このセクションおよびこのガイド全体に記載されている安全仕様に準拠することを強くお勧めします。

安全警告ラベル

CFX Opus Dxシステムおよびこのマニュアルに記載されている警告ラベルは、負傷や危害を引き起こす原因について警告するものです。表1で、各安全警告ラベルについて説明します。

表1. 一般的な安全警告








アイコン	意味
	このマニュアルを読まずにCFX Opus Dxシステムを操作すると、人身事故を引き起こす可能性があります。このマニュアルまたはBio-Radが定める方法以外の方法でこの機器を使用すると、機器の保護機能が損なわれたり、無効になったりする可能性があります。
	CFX Opus Dxシステム自体に関連するバイオハザードや放射性ハザードはありません。このようなハザードは、試験対象サンプルから本システムにもたらされた場合にのみ問題となります。生体有害サンプルまたは放射性サンプルを取り扱うときは、実験室や所在地に固有の推奨される予防措置とガイドラインを遵守してください。通常、これらのガイドラインには、使用している危険物の清掃、監視、および処分方法が指示されています。
	また、上記で示したように、爆発の危険、またはサンプルコンテナからの液体や蒸気の排出の危険がわずかにあります。危険物を扱う際、危険物が機器内や周囲に拡散される危険があります。そのため、放出された物質による怪我の危険が通常より高くなります。ユーザーは、このような状況に対して適切な予防措置を講じる必要があります。
	
	CFX Opus Dxシステムは、重度の火傷を引き起こすほどの高温で動作します。リッドを空けてサンプルを取り出す前に、必ずリアクションブロックを室温に戻してください。リアクションブロックの冷却後であっても、周囲やヒータープレートがかなりの時間高温のままになる可能性があります。機器を冷却できる十分な時間がない状況では、サーマルグローブやオープンミットなどの防護具を使用することをお勧めします。

表1. 一般的な安全警告、続き

アイコン	意味
	<p>CFX Opus Dxシステムが組み込まれたあらゆるシステムの安全性と性能の一切の責任は、そのシステムの組み立て担当者にあります。</p>
	<p>CFX Opus Dxシステムは通常の動作中にかなり高温になり、サンプルの液体が沸騰または気化し、サンプル容器を加圧する可能性があります。サンプルコンテナが損傷し、漏れ、液体の噴出、または爆発的な破損を引き起こし、機器の内部および周囲に蒸気または液体が排出される可能性があります。</p> <p>動作中は怪我を防ぐため、ユーザーは常にリッドを閉めた状態で機器を操作するか、または安全ゴーグル、サーマルグローブなどの個人防護具を着用してください。ランの中断後などサンプルがまだ熱いうちに機器を開くと、加圧された容器から液体が漏れたり、飛び散ったり、噴出したりする可能性があります。リッドを開ける前に必ずサンプルを冷却してください。</p> <p>リッドやシールが開いている、緩んでいる、穴が開いている、またはその他損傷している状態では、危険な破裂や爆発が発生する可能性が高くなるため、このような状態ではリアクションを実行しないでください。</p> <p>ユーザーは、危険な破裂や爆発を起こす可能性が高い揮発性試薬を使用したリアクションを実行しないでください。</p>

安全性と規制への準拠

CFX Opus Dxシステムは、表2に記載されている環境条件下で安全に動作するように設計されています。

表2. 安全な利用のための条件

項目	安全な利用のための条件
定格入力電力	100–240 VAC±10%、50/60 Hz、最大850 W
過電圧カテゴリ	II
ヒューズ	10 A、250 V、5 x 20 mm、速断ブロー(数量2)
環境	屋内使用のみ
動作温度	15–31°C(5°C–40°Cの範囲で動作している場合は安全性が保たれるものの、機器の性能仕様を満たさない可能性があります)
相対湿度	最大80%(結露なし)
高度	最大海拔2,000メートル
汚染度	2

安全性コンプライアンス

CFX Opus Dxシステムは試験済みであり、以下の安全規格および電磁規格の該当するすべての要求事項に準拠していることが確認されています。

- IEC 61010-1:2010 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項、第1部：一般要求事項
- IEC 61010-2-010:2019 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項 – 第2-010部：材料加熱用の試験所機器の特定要求事項
- IEC 61010-2-081:2019 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項 – 第2-081部：分析およびその他の用途の自動及び半自動試験所機器の特定要求事項
- IEC 61010-2-101:2018 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項、第2-101部：体外診断(IVD)用医療機器の特定要求事項

- CAN/CSA-C22.2 NO.61010-1-12:2018 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項、第1部：一般要求事項
- CAN/CSA-C22.2 NO.61010-2-010:19 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項、第2-010部：材料加熱用の試験所機器の特定要求事項

- CAN/CSA-C22.2 NO.61010-2-081:19 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項、第2-081部：分析およびその他の用途の自動および半自動試験所機器の特定要求事項
- CSA-C22.2 NO.61010-2-101:19 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項、第2-101部：体外診断(IVD)用医療機器の特定要求事項

- EN 61010-1:2010 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項、第1部：一般要求事項
- EN 61010-2-010:2014 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項、第2-010部：材料加熱用の試験所機器の特定要求事項
- EN 61010-2-081:2015 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項、第2-081部：分析およびその他の用途の自動および半自動試験所機器の特定要求事項
- EN 61010-2-101:2017 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項、第2-101部：体外診断(IVD)用医療機器の特定要求事項

- UL 61010-1:2012 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項、第1部：一般要求事項
- UL 61010-2-010:2019 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項、第2-010部：材料加熱用の試験所機器の特定要求事項
- UL 61010-2-081:2019 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項、第2-081部：分析およびその他の用途の自動および半自動試験所機器の特定要求事項
- UL 61010-2-101:19 計測、制御及び試験所用電気機器の安全要求事項、第2-101部：体外診断(IVD)用医療機器の特定要求事項

電磁両立性(EMC)

CFX Opus Dxシステムは試験済みであり、以下の電磁両立性規格の該当するすべての要求事項に準拠していることが確認されています。

- IEC 61326-1:2012 計測、制御及び試験所用の電気機器—EMC要求事項—第1部：一般要求事項。クラスAデバイスとして試験済み
- IEC 61326-2-6:2012 計測、制御及び試験所用の電気機器—EMC要求事項—第2-6部：特定要求事項—体外診断(IVD)用医療機器
- EN 61326-1:2013 計測、制御及び試験所用の電気機器—EMC要求事項—第1部：一般要求事項。クラスAデバイスとして試験済み
- EN 61326-2-6:2013 計測、制御及び試験所用の電気機器—EMC要求事項—第2-6部：特定要求事項—体外診断(IVD)用医療機器

- FCC第15部、サブパートB、セクション15.107および15.109。クラスAデジタル装置として試験済み
- CAN ICES-003v6:2019 カナダ障害原因装置規格、情報技術装置(デジタル装置を含む)—制限および測定手法。クラスA制限試験済み

EMC警告および注意

- **警告:** Bio-Radが明示的に承認していない変更または改造を行うと、ユーザーの本機器を操作する権限が無効になることがあります。
- **注:** この機器は試験済みであり、FCC規則第15部に準拠したクラスAデジタル装置の制限に準拠していることが確認されています。これらの制限は、本装置を商業地域で運用する場合に、有害な干渉に対する適切な保護措置が行われるように設計されています。この装置は無線周波数エネルギーを発生、使用、放射するため、取扱説明書に従って設置、使用しない場合は、無線通信に干渉する可能性があります。住宅地域でこの装置を運用すると、有害な干渉を引き起こす可能性があり、その場合には、ユーザーが自己負担で干渉に対する対策を講じる必要があります。
- **FCC準拠に関する注意:** この機器は試験済みであり、クラスAデジタル装置に関するFCC規則第15部サブパートBに準拠していることが確認されていますが、この機器は、製造時に有効であった前述のFCC規制に関して、47 CFR 15.103(c)の「例外デバイス」に該当するため、この準拠は自主的なものであることにご注意ください。
- **ケーブルに関する注意:** この機器は、付属の特別に設計されたUSBケーブルを使用してEMC準拠のテストが行われています。EMC排出制限への継続的な準拠を維持するため、この機器には付属のケーブルまたはBio-Rad認定交換品を使用する必要があります。

危険性

CFX Opus Dxシステムは、メーカーが規定する方法で使用する限り安全に動作するように設計されています。システムまたはその関連コンポーネントが、メーカーが規定する方法以外の方法で使用された場合、機器本来の保護機能が損なわれる可能性があります。規定以外の方法でこの機器を使用するか、Bio-Radまたは認定代理店が実施したものではありません。機器の改造が原因で発生した怪我または損傷について、Bio-Radは一切の責任を負わないものとします。CFX Opus Dxシステムの点検修理は、訓練を受けたBio-Rad担当者だけが実施します。

バイオハザード

CFX Opus Dxシステムは試験所向けの製品です。ただし、生体有害サンプルが存在する場合は、次のガイドラインを順守し、試験所と所在地に固有の地域のガイドラインに準拠してください。

注：この機器の通常運用中に、生体有害物質が排出されることはありません。

一般的な予防措置

- 実験着、実験用手袋、および安全メガネ(サイドシールド付き)またはゴーグルを常に着用してください。
- 口、鼻、目を手で触れないようにしてください。
- 潜在的な感染性物質を扱う前に、切り傷や擦り傷を完全に保護してください。
- 潜在的な感染性物質を扱った後は、試験所を退出する前に石鹸と水で手をよく洗ってください。
- 作業台で作業する前に、腕時計と装身具を取り外してください。
- すべての感染性物質または潜在的な感染性物質を、破損しにくい防漏型容器に保管してください。
- 試験所を退出する前に保護服を脱いでください。
- 手袋をはめた手でものを書くこと、電話をとること、電灯のスイッチを操作することはしないでください。また、他の人が手袋なしで触れる可能性のあるいかなるものにも触れないでください。
- 手袋は頻繁に交換してください。手袋が汚染されたことが明らかな場合はすぐに手袋を外してください。
- 適切に除染できない物質を、潜在的感染性物質にさらさないでください。
- 生体有害物質を使用する作業が完了したら、適切な消毒剤(1:10で希釈した家庭用漂白剤など)で作業エリアを除染します。

表面除染



警告！ 感電を防ぐため、除染を実施する前に必ず電源を切り、機器のプラグを抜いてください。

以下の部分は、医用殺菌剤、殺ウイルス剤、または防かび消毒剤で消毒できます。

- 外側リッドとシャーシ
- 内側のリアクションブロック表面とリアクションブロックウェル
- コントロールパネルとディスプレイ

消毒剤を準備して塗布するときには、製品のメーカーによる指示を確認してください。消毒剤を塗布した後は、必ずリアクションブロックとリアクションブロックウェルを水で数回すすいでください。水ですすいだ後、リアクションブロックとリアクションブロックウェルを完全に乾燥させます。

重要: 研磨性または腐食性の洗剤および強アルカリ性溶液は使用しないでください。これらの薬剤を使用すると、表面を傷つけ、リアクションブロックを損傷し、高精度熱制御を損なう可能性があります

生体有害物質の処分

汚染されている可能性がある以下の材料の処分は、試験所の当該地域、地方、および国の規制に従ってください。

- 臨床サンプル
- 試薬
- 使用済みの反応容器または汚染されている可能性のあるその他の消耗品

化学品の危険有害性

CFX Opus Dxシステムには危険性の高い化学物質は含まれていません。

爆発または可燃の危険性

CFX Opus Dxシステムには、Bio-Rad Laboratoriesが定める適切な手順に従って使用する限り、可燃性または爆発に関連する非一般的な危険性を及ぼすことはありません。

電氣的危険性

CFX Opus Dxシステムは、物理的な改造を行わずに適切に設置され動作しており、適切な仕様の電源に接続されている限り、操作員に対し非一般的な電氣的ハザードを及ぼすことはありません。

輸送

CFX Opus Dxシステムを移動または発送する前に、除染作業を行う必要があります。システムを移動または発送する際には常に、Bio-Radから提供される梱包材に含まれている個別のコンテナに入れてください。これによりシステムを破損から保護できます。

システムの輸送に関する情報と適切な梱包材の請求については、最寄りのBio-Radオフィスまでご連絡ください。

電池

モデルに応じて、CFX Opus Dxシステムは、1つまたは2つの3Vコイン型リチウム金属電池を使用して、AC電源が失われた場合に時間設定を維持します。ユニットの電源が切れた後に時間の設定が失われる場合は、電池が弱っている兆候である可能性があります。



警告！ 電池を交換しようとししないでください。ユーザーは電池を保守できません。代わりに、Bio-Radテクニカルサポートにお問い合わせください。

処分

CFX Opus Dxシステムには電気材料が含まれています。電気材料を処分する際には、未分別廃棄物として処分せず、電気電子機器廃棄物に関する欧州連合指令2012/19/EU (WEEE指令)に従って分別収集する必要があります。処分する前に、最寄りのBio-Rad担当者に当該国固有の指示をご確認ください。

保証

CFX Opus Dxシステムおよび関連アクセサリは、Bio-Radの標準保証の対象です。保証の詳細については、最寄りのBio-Radオフィスにお問い合わせください。

第1章 はじめに

Bio-Radの高性能PCR増幅システムは、最新の技術を利用し、ゲノム実験の核酸増幅の精度と再現性を高めます。

Bio-RadのCFX Maestro Dx SEソフトウェアは、以下の機器との互換性があり、Bio-RadのPrimePCRプライマーおよびプローブ分析用に最適化されたランファイルを特徴としています。

- CFX Opus 96 DxリアルタイムPCRシステム(本書ではCFX Opus 96 Dxと表記)
- CFX Opus 384 DxリアルタイムPCRシステム(本書ではCFX Opus 384 Dxと表記)

CFX Maestro Dx SEソフトウェア(本書ではCFX Maestro Dx SEと表記)を使用すれば、複雑なデータを解釈して遺伝子解析に関する強力な研究を行うことができます。t検定、一元配置ANOVA、PrimePCRコントロール解析、リファレンス遺伝子セレクターツールなどのツールでは、数回クリックするだけで、遺伝子発現研究を設定および解析できます。さらに、CFX Maestro Dx SEの高度にカスタマイズ可能なデータ可視化ツールと注釈ツールを使用して、解析結果を出版物やポスターへの掲載用に準備することができます。

CFX Maestro Dx SEソフトウェアの主な特徴

CFX Maestro Dx SEでは、以下の操作を行うことができます。

- 棒グラフ、クラスターグラム、または散布図を使用してデータを解析し、結果を素早く解釈して理解する。
- データの表現方法をカスタマイズし、出版物やレポートで使用する高解像度のグラフをエクスポートする。
- PrimePCR解析コントロールを使用して、RNAの品質を判定し、実験の問題を解決する
- 適切なリファレンス遺伝子を選択し、その安定性をリファレンス遺伝子選択ツールを使用して解析する。
- 遺伝子発現解析で一元配置ANOVAを含む統計的解析を行う。

このユーザーガイドでは、これらの機能とその使用方法について説明します。

詳細について

Bio-RadのCFX Opus DxシステムとCFX Maestro Dx SEをインストールすると、このガイドにアクセスできるようになります。また、任意のビューのヘルプメニューから詳細なCFX Maestro Dx SEのヘルプトピックにアクセスすることもできます。

ヒント: どのCFX Maestro Dx SEウィンドウでも右上隅にあるBio-Radのロゴをクリックすることで、バイオ・ラッド社のウェブサイトを開始できます。このサイトには、テクニカルノート、マニュアル、製品情報およびテクニカルサポートへのリンクが記載されています。また、PCR、リアルタイムPCR、および遺伝子発現に関するさまざまな手法と適用について参照できる、数多くの技術資料も提供されています。

第2章 CFX Maestro Dx SEソフトウェアのインストール

この章では、CFX Maestro Dx SEソフトウェアのインストール方法について説明します。パイオ・ラッドでサポートされているリアルタイムPCR機器のセットアップについては、該当するガイドを参照してください。

CFX Maestro Dx SEは、CFX Opus 96 DxおよびCFX Opus 384 DxリアルタイムPCRシステムからのリアルタイムPCRデータを分析するために必要です。このソフトウェアを使用して、これらのシステムをソフトウェア制御モードで制御することもできます。

CFX Opus 96 DxおよびCFX Opus 384 DxリアルタイムPCRシステムは、USBケーブルがアクセサリバッグに入った状態で出荷されます。USBケーブルを使用して、CFX Maestro Dx SEを実行中のコンピューターをCFX Opus Dxシステムに接続します。

梱包材を取り出し、後で使うために保管しておきます。不足または破損しているアイテムがある場合、最寄りのBio-Radオフィスにお問い合わせください。

System Requirements

表3 lists the minimum and recommended system requirements for the computer running the CFX Maestro Dx SE.

表3. Computer requirements for CFX Maestro Dx SE

System	Minimum	Recommended
Operating system	Microsoft Windows 10 (64-bit only) with the latest security updates	Microsoft Windows 10 (64-bit only) with the latest security updates
Ports	2 USB 2.0 High-speed ports	2 USB 2.0 High-speed ports
Hard disk space	128 GB	128 GB
Processor speed	2.4 GHz, Dual Core	2.4 GHz, Quad Core
RAM	4 GB RAM	8 GB RAM
Screen resolution	1024 x 768 with true-color mode	1280 x 1024 with true-color mode
PDF reader		Adobe PDF Reader or Windows PDF Reader from one of the supported Microsoft Office Suites: <ul style="list-style-type: none"> ■ 2016 ■ 2019
Localization	Supported Microsoft Windows 64-bit OS in English, Chinese, and Russian	Supported Microsoft Windows 64-bit OS in English, Chinese, and Russian

注: If you plan to run CFX Automation Control software on the same computer as CFX Maestro Dx SE, set the screen resolution to 1280 x 1024 with true-color mode.

CFX Maestro Dx SEソフトウェアのインストール

重要: ソフトウェアのインストールまたはアップグレードを行う前に、CFX Maestro Dx SEコンピューターから接続されている機器を取り外す必要があります。ソフトウェアのインストール中に機器の電源を切る必要はありません。すべてのランを保存し、実験が実行されていないことを確認してください。

注: インストール手順を開始する前に、セキュアブートが無効になっていることを確認してください。コンピューターが、ランの進行中にシステムまたはセキュリティの更新が行われても自動的に再起動しないように構成されていることを確認してください。サポートが必要な場合は、システム管理者に問い合わせてください。

CFX Maestro Dx SEソフトウェアをインストールするには

1. 必要に応じて、接続されている機器をコンピューターから取り外します。

CFX Maestro Dx SEコンピューターで機器のUSBケーブルを見つけて取り外します。CFX Opus Dxシステムに挿入されている端はそのままにしておくことができます。

2. 管理者権限でCFX Maestro Dx SEコンピューターにログインします。
3. CFX Maestro Dx SEソフトウェアUSBドライブをコンピューターのUSBポートに差し込みます。
4. Windows エクスプローラーで、CFX Maestro Dx SEソフトウェアUSBドライブに移動して開きます。

USBドライブには、リリースノートと次のフォルダが含まれています。

- CFX
- ドライバー
- ファームウェア
- クイックスタート

CFXフォルダには、CFX Maestro Dx SEソフトウェアインストーラー(CFXMaestroDxSetup.exe)が他のファイルとともに含まれています。

5. CFXフォルダを開いてCFXMaestroDxSetup.exeをダブルクリックします。インストーラーが開始します。
6. 画面上に表示されるインストール手順に従います。

完了すると、Bio-Rad CFX Maestro Dx SEソフトウェアスプラッシュ画面がコンピューターの画面に表示され、Bio-Rad CFX Maestro Dx SEソフトウェアアイコンがデスクトップに表示されます。

7. インストールが完了したら、ソフトウェアUSBドライブを安全に取り出すことができます。

Detecting Connected Instruments

During installation, the CFX Maestro Dx SE installer automatically installs the instrument drivers onto the CFX Maestro Dx SE computer. CFX Maestro Dx SE detects connected instruments when you start the software.

To detect connected instruments

1. If you have not yet done so, insert the square (male) end of the supplied USB Type B cable into the USB Type B port located on the back of the instrument's base.
2. Insert the other (port) end into a USB port on the CFX Maestro Dx SE computer.
3. If the instrument is not already running, press the power switch on the instrument to turn it on.
4. Start CFX Maestro Dx SE.

The software automatically detects the connected instrument and displays its name in the Detected Instruments pane on the Home window.

注: If the instrument does not appear in the Detected Instruments pane, verify that the USB cable is properly installed. To reinstall drivers, on the Home window in CFX Maestro Dx SE select Tools > Reinstall Instrument Drivers.

ソフトウェアファイル

表4に、CFX Maestro Dx SEのファイルタイプを示します。

表4. CFX Maestro Dx SEのファイルタイプ

ファイルタイプ	拡張子	詳細
プロトコル	.prcl	PCRランを実行するためのプロトコル設定の詳細が含まれています。
プレート	.pltd	PCRランを実行するためのプレート設定の詳細が含まれています。
データ	.pcrd	実験の実行とPCR分析の結果が含まれています。
PrimePCRラン	.csv	PrimePCRプレートのプロトコルとプレートレイアウトが含まれています。
遺伝子研究	.mgxd	複数のPCRランと遺伝子発現分析の結果が含まれています。
スタンドアロンの事前データファイル	.zpcr	データファイルに変換されるスタンドアロン操作からの蛍光測定値が含まれています。
LIMS	.plrn	LIMS互換のランの実行に必要なプレート設定とプロトコルの情報が含まれています。
JSON	.json	CFX Opus Dxシステムでのみ生成される読み取り専用ファイル。このファイルには、ランファイルを選択するとファイルブラウザの詳細ペインに表示されるランファイルデータが含まれています。このファイルは、ラン完了後に生成されます。このファイルは、保存場所がUSBドライブまたは共有ネットワークフォルダの場合には、.zpcrファイルとともにエクスポートされ、データファイルとともに保存されます。

第2章 CFX Maestro Dx SEソフトウェアのインストール

第3章 CFX Maestro Dx SEソフトウェアユーザーアカウントの管理

CFX Maestro Dx SEソフトウェアでは、ユーザーはWindowsのユーザー名とパスワードを使ってログインします。CFX Maestro Dx SEをインストールしたユーザーには管理者の役割が自動的に割り当てられ、このユーザーはユーザーアカウントと役割を作成、管理できます。ソフトウェアにログインして使用できるようにするため、他のすべてのユーザーにユーザーアカウントを割り当てる必要があります。

重要: ユーザーアカウントと役割を各ユーザーに割り当てる前に、CFX Maestro Dx SEコンピューターで各ユーザーのWindowsアカウントとパスワードが作成されている必要があります。ユーザーは、Windows UsersグループまたはWindows Administratorsグループのいずれかのメンバーになることができます。Windows Usersグループのメンバーは、各自のCFX Maestro Dx SEファイルとフォルダのみにアクセスできます。Windows Administratorsグループのメンバーは、コンピューター上のすべてのユーザーのファイルとフォルダにアクセスできます。

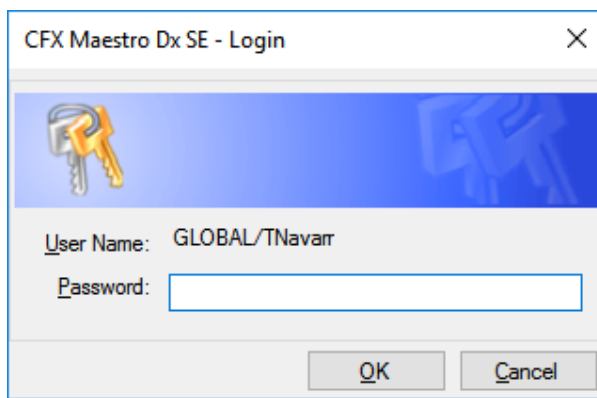
この章では、CFX Maestro Dx SEに追加するMicrosoft Windowsユーザーを作成する方法について説明します。このセクションではまた、CFX Maestro Dx SEユーザーを追加し、ユーザー役割と権限を管理する方法についても説明します。

CFX Maestro Dx SEソフトウェアの起動

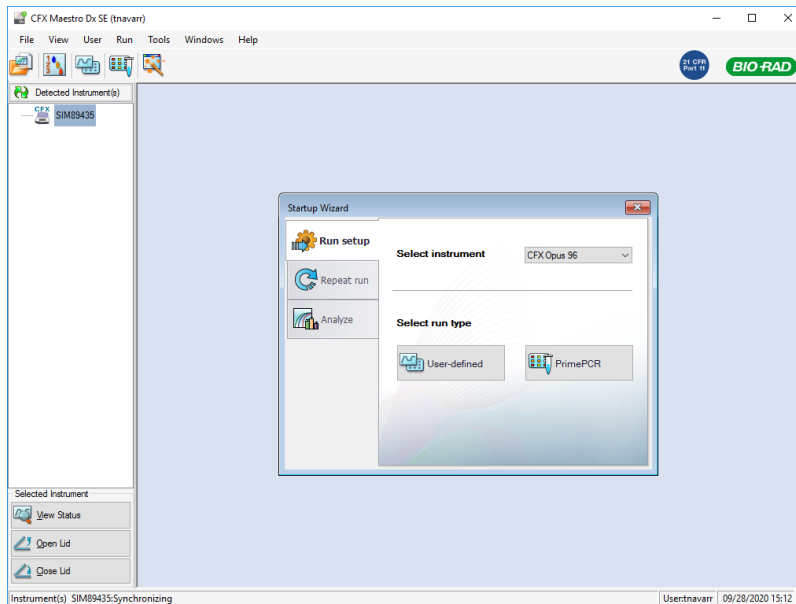
注: 各ユーザーはWindowsのユーザー名とパスワードを使ってログインする必要があります。

CFX Maestro Dx SEを起動するには

1. CFX Maestro Dx SEコンピューターのデスクトップで、CFX Maestro Dx SEのショートカットアイコンをダブルクリックしてアプリケーションを起動します。
2. [Login (ログイン)]ダイアログボックスで、Windowsパスワードを入力して[OK]をクリックします。



CFX Maestro Dx SEの[Home (ホーム)]ウィンドウが開きます。タイトルバーにはログインユーザーのWindowsユーザー名が表示され、メニューバーには、ソフトウェアが21 CFR Part 11に準拠していることを示す青いステッカーが表示されます。次に例を示します。



CFX Maestro Dx SEソフトウェアコンピュータへのMicrosoft Windowsユーザーの追加

すべてのユーザーは、Windowsユーザー名とパスワードを使ってCFX Maestro Dx SEコンピュータにログインする必要があります。監査追跡の正確性を確保するために、[Start] > [Settings] > [Accounts]ダイアログボックスからWindowsユーザーアカウントを追加することはできません。Windowsユーザーアカウントは、[Computer Management]コンソールから追加する必要があります。

重要: 関連するCFX Maestro Dx SEユーザーの作成後にWindowsユーザーのプロパティ(ユーザー名と氏名を含む)を変更すると、CFX Maestro Dx SEユーザーが無効になります。Windowsユーザーを保存して関連するCFX Maestro Dx SEユーザーを作成する前に、情報が正しいことを確認してください。

ヒント: Windowsアカウントを作成する前に、Microsoft Windowsの管理マニュアルを参照し、Windowsシステム管理者に詳細を確認してください。

WindowsユーザーアカウントをCFX Maestro Dx SEコンピュータに追加するには

1. Windows管理者のグループのメンバーとしてCFX Maestro Dx SEコンピュータにログインします。
2. デスクトップで[My Computer]を右クリックし、[Manage]を選択して[Computer Management]コンソールを開きます。
3. [Computer Management]コンソールで[Local Users and Groups]を展開します。
4. [Users]フォルダを右クリックし、[New User]を選択します。[New User]ダイアログボックスが開きます。

The image shows a 'New User' dialog box with the following fields and options:

- User name: [Text Input Field]
- Full name: [Text Input Field]
- Description: [Text Input Field]
- Password: [Text Input Field]
- Confirm password: [Text Input Field]
- User must change password at next logon
- User cannot change password
- Password never expires
- Account is disabled
- Buttons: Help, Create, Close

5. [New User]ダイアログボックスで次のフィールドに入力する必要があります。

- ユーザー名
- 氏名
- パスワード
- パスワードの確認入力

6. [Create]をクリックします。

CFX Maestro Dx SEソフトウェアユーザーの追加と削除

ヒント: CFX Maestro Dx SE [Administrator (管理者)]役割が割り当てられているユーザーだけが、CFX Maestro Dx SEユーザーアカウントを作成および削除できます。[Administrator (管理者)]役割は、CFX Maestro Dx SEをインストールしたユーザーに自動的に割り当てられます。そのユーザーは [Administrator (管理者)]役割を他のユーザーに割り当てることができます。

注: CFX Maestro Dx SEでは、少なくとも1人のユーザーに [Administrator (管理者)]役割を割り当てる必要があります。

CFX Maestro Dx SEユーザーアカウントを追加するには

1. 対象となる各ユーザーがWindows UsersグループまたはWindows Administratorsグループのメンバーであり、CFX Maestro Dx SEコンピューターでWindowsパスワードを設定していることを確認します。
2. CFX Maestro Dx SEを起動し、管理者としてログインします。
3. [Home (ホーム)]ウィンドウで、[User (ユーザー)] > [User Administration (ユーザー管理)]を選択します。

[User Administration (ユーザー管理)]ダイアログボックスが表示されます。

User Administration					
Manage Users					
	User Name	Full Name	Role	Domain	Remove
1	tnavarr	Theresa Navarro	Administrator	GLOBAL	<input type="checkbox"/>
2	vbala	Vivek Balaguru	Principal	USHERJ28KYF2	<input type="checkbox"/>
3	msnyder	Matthew Snyder	Principal	USHERJ28KYF2	<input type="checkbox"/>
4	bbrizel	Bradley Brizel	Operator	GLOBAL	<input type="checkbox"/>
5	Guest	Guest User	Guest	USHERJ28KYF2	<input type="checkbox"/>
6					<input type="checkbox"/>

Manage Rights (Managed by Administrator only)				
	Rights	Principal	Operator	Guest
1	Start, pause and abort runs	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2	Add repeats to a run	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3	Perform skip steps	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4	Perform instrument calibration	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5	Apply different calibrations to a data	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6	Edit or replace plate during run	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7	Edit or replace the plate after a run	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8	Allow instrument file management	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9	Rename instruments	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10	Save any file	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11	Change threshold and baselines	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12	Print reports	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13	Setup Email	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Restore Default Rights OK Cancel

4. [Manage Users (ユーザーの管理)]セクションで、ユーザーごとに次の情報を入力します。

- **User name (ユーザー名)** — CFX Maestro Dx SEでは、これはユーザーのWindowsログインユーザー名である必要があります。
 - **Full Name (氏名)** — ユーザーの氏名。
この名前は、監査証跡の [Full User (フルユーザー)] フィールドに表示されます。この名前は、Windowsユーザーの作成時に [Full Name (氏名)] フィールドに入力した名前と同じである必要があります。
 - **Role (役割)** — ユーザーに割り当てる役割。
注: ドロップダウンリストから選択できる役割は1つだけです。詳細については、[CFX Maestro Dx SEソフトウェアユーザー役割の管理](#)を参照してください。
 - **Domain (ドメイン)** — ユーザーがソフトウェアにアクセスするWindowsドメイン。
詳細については、Windowsシステム管理者にお問い合わせください。
5. [OK]をクリックし、[Yes (はい)]をクリックして変更を保存し、[User Administration (ユーザー管理)]ダイアログボックスを閉じます。

CFX Maestro Dx SEユーザーアカウントを削除するには

1. CFX Maestro Dx SEを起動し、管理者としてログインします。
2. [Home (ホーム)]ウィンドウで[User (ユーザー)] > [User Administration (ユーザー管理)]を選択して、[User Administration (ユーザー管理)]ダイアログボックスを開きます。
3. [Manage Users (ユーザーの管理)]ペインで、削除する各ユーザーの[Remove (削除)]を選択します。
4. [OK]をクリックし、[Yes (はい)]をクリックして変更を保存し、[User Administration (ユーザー管理)]ダイアログボックスを閉じます。

CFX Maestro Dx SEソフトウェアユーザー役割の管理

重要: CFX Maestro Dx SEでは、少なくとも1人のユーザーに[Administrator (管理者)]役割を割り当てる必要があります。この役割は複数のユーザーに割り当てることができます。

CFX Maestro Dx SEには4種類のユーザー役割があります。ソフトウェアにアクセスできるように、各ユーザーに役割を割り当てる必要があります。ユーザーに割り当てることができる役割は1つだけですが、ユーザーの役割はいつでも変更できます。

[Administrator (管理者)]役割以外の各役割では、割り当てられている権限を変更できます。役割が割り当てられているすべてのユーザーは、その役割の権限のみを継承します。

デフォルトの各役割の権限は次のとおりです。

- Administrator (管理者) — この役割にはすべての権限が含まれています。これらの権限は変更できません。
- Principal (プリンシパル) — この役割には、電子メールの設定を除くすべての権限が含まれています。
- Operator (オペレーター) — この役割には、サイクルのスキップと電子メールの設定を除くすべての権限が含まれています。
- Guest (ゲスト) — この役割で実行できる操作はファイル読み取りだけです。

CFX Maestro Dx SEで役割を割り当てるときには、各ユーザーの要件を慎重に決定してください。たとえば、[Guest (ゲスト)]役割が割り当てられているユーザーは、保存するための権限がないので、ファイルに署名できません。電子メールアカウントの設定の権限がない役割では、ラン完了時に電子メールを受信しません。

役割の権限を変更するには

1. CFX Maestro Dx SEを起動し、管理者としてログインします。
2. [Home (ホーム)]ウィンドウで[User (ユーザー)] > [User Administration (ユーザー管理)]を選択して、[User Administration (ユーザー管理)]ダイアログボックスを開きます。
3. [Manage Rights (権限の管理)]セクションで、役割ごとに必要に応じて特定の権限のチェックボックスをオフまたはオンにします。
4. [OK]をクリックし、[Yes (はい)]をクリックして変更を保存し、[User Administration (ユーザー管理)]ダイアログボックスを閉じます。

役割と権限の表示

ヒント: [Principal(プリンシパル)]、[Operator(オペレーター)]、または[Guest(ゲスト)]のユーザー役割が割り当てられているユーザーは、各自のユーザー設定、権限、および役割のみを表示できます。

[Administrator(管理者)]の役割が割り当てられているユーザーは、すべてのユーザー権限と役割を表示できます。

現在のユーザー役割と権限を表示するには

- ▶ [Home (ホーム)]ウィンドウで、[User (ユーザー)] > [User Administration (ユーザー管理)]を選択します。

[User Administration (ユーザー管理)]ウィンドウにリストされるユーザー設定、権限、および役割を変更するには、CFX Maestro Dx SE管理者に連絡してください。

第4章 CFX Maestro Dx SEソフトウェアの使用

重要: CFX Maestro Dx SEソフトウェアでは、Microsoft Windowsユーザー認証を使用して、セキュア CFXデータファイルへのアクセスを検証します。21 CFR Part 11の要件に準拠した環境を作成するには、Windows管理者にお問い合わせください。

ユーザーはCFX Maestro Dx SEを使用して次の操作を実行できます。

- データファイルとGene Studyファイルに署名する。
- データファイルをパスワードで保護する。
- 監査証跡を表示および印刷する。

このセクションでは、これらの機能について詳しく説明します。

セキュアファイル

デフォルトで、CFX Maestro Dx SEではログインユーザーの個人用フォルダにセキュアファイルが保存されます。これは、次の場所にあります。

C:\Users\[username]\Documents\Bio-Rad\CFX_MDX\My qPCR

CFX Maestro Dx SEによりこのフォルダが読み取り専用を設定されます。ただし、このフォルダとその内容をチームの他のメンバーと共有することはできます。

ヒント:あるいは、Windowsシステム管理者が共有フォルダを作成し、CFX Maestro Dx SE管理者が、そのフォルダにすべてのファイルを保存するようにソフトウェアをプログラムできます。

CFX Maestro Dx SEでは、プレートファイル、プロトコルファイル、データファイル、およびGene Studyファイルは、保存時にセキュアとしてマークされます。これらのファイルは、CFX MaestroソフトウェアまたはCFX Maestro Dx SEで作成できます。CFX Maestro Dx SEに保存されたこれらのファイルは、CFX Maestro Dx SEでのみ開くことができます。

CFX Maestro Dx SEでは、すべてのセキュアデータファイル(.prcdファイル)とGene Studyファイル(.mgxdファイル)の監査証跡が作成されます。ソフトウェアにより、すべての監査可能なアクティビティがファイルの監査証跡に記録されます。詳細については、[監査証跡\(287ページ\)](#)を参照してください。

セキュアファイルへの署名

CFX Maestro Dx SEでファイルを保存した後で、ユーザーは電子署名を追加できます。ファイルに署名するには、ユーザーの役割にファイルを保存するための権限が必要です。たとえば、デフォルトでは[Guest (ゲスト)]役

割にはファイルを保存するための権限がないため、この役割が割り当てられているユーザーはファイルに署名できません。

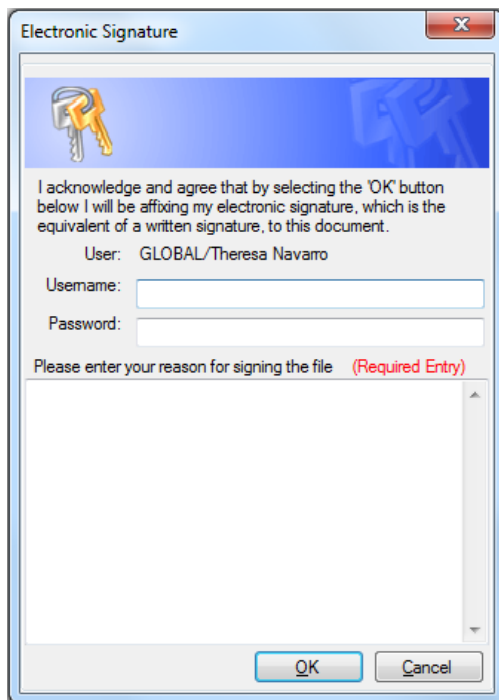
CFX Maestro Dx SEでは、署名されたファイルは読み取り専用で設定されません。署名されたファイルを繰り返しレビュー、変更、署名できます。すべての変更と署名は、ファイルの監査証跡で追跡されます。署名できるファイルのタイプを次に示します。

- データファイル(.pcrd)
- Gene Studyファイル(.mgxd)

注: 署名する前にファイルを保存する必要があります。CFX Maestro Dx SEで最近ランを実行した場合は、結果のデータファイルを最初に保存してください。

ファイルに署名するには

1. Windowsのログイン資格情報を使用してCFX Maestro Dx SEにログインします。
2. 署名するセキュアデータファイルまたはGene Studyファイルを開きます。
3. [File (ファイル)] > [Sign (署名)]を選択します。[Electric Signature (電子署名)]ダイアログボックスが表示されます。



4. Windowsユーザー名とパスワード、およびファイルの署名理由を入力します。

ユーザー名と署名の理由は監査証跡に記録されます (詳細については、[監査証跡\(287ページ\)](#)を参照してください)。

5. [OK]をクリックして署名を送信し、ダイアログボックスを閉じます。

セキュアファイルの変更

CFX Maestro Dx SEでは、ユーザーはセキュアファイル(署名付きデータおよび署名なしデータを含む)とGene Studyファイルを変更できます。変更されたセキュアデータファイルまたはGene Studyファイルを保存するときに、変更の理由を指定するように求められます。変更は、ファイルの監査証跡で追跡されます。

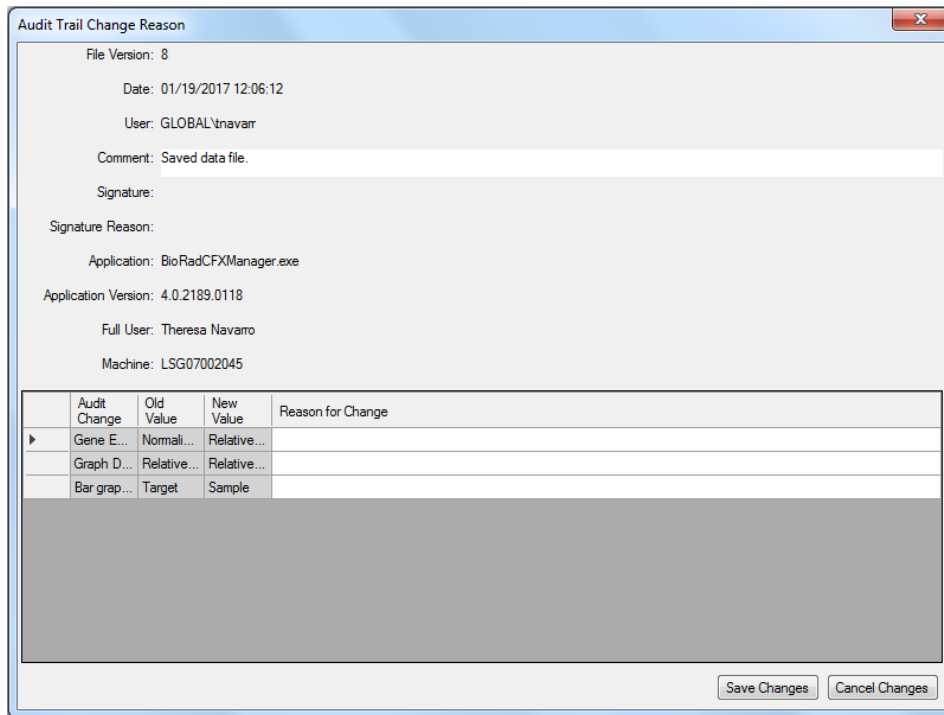
ヒント: ソフトウェアではプレートファイルまたはプロトコルファイルの監査証跡は作成されないため、これらのファイルへの変更を保存するときは理由の指定を求められることはありません。

変更されたデータファイルまたはGene Studyファイルを保存するには

1. Windowsのログイン資格情報を使用してCFX Maestro Dx SEにログインします。
2. セキュアデータファイルまたはGene Studyファイルを開いて変更します。

ヒント: 監査可能なアクティビティのリストについては、[監査可能なイベント\(289ページ\)](#)を参照してください。

3. [File (ファイル)] > [Save (保存)] を選択します。[Audit Trail Change Reason (監査証跡の変更理由)]ダイアログボックスが表示されます。



このダイアログボックスには、次の情報が表示されます。これらの情報は、ファイルの各変更イベントの監査証跡ヘッダーに記録されます。

- **Date (日付)** — 変更が発生した日付。
- **User (ユーザー)** — ログインユーザーのWindowsドメインとユーザー名。
- **Comment (コメント)** — 最後に保存されたコメント。
- **Signature (署名)** — ファイルに最後に署名したユーザーの電子署名。
- **Signature reason (署名の理由)** — 署名の理由。
- **Application (アプリケーション)** — CFX Maestro Dx SE (BioRadCFXManager.exeとして表示されます。これは正しい名前です)。
- **Application version (アプリケーションのバージョン)** — CFX Maestro Dx SEの現行バージョン。
- **Full user (フルユーザー)** — ログインしたユーザーの氏名。
注: この名前は監査証跡に表示されます。
- **Machine (マシン)** — インストールされているコンピューター。

変更テーブルには、変更の結果として発生した監査可能な変更が表示されます。変更の理由についての簡単な説明も表示されることがあります。

ヒント: [Reason for Change (変更の理由)]カラムで説明を追加または編集できます。

4. 変更のリストを確認します。必要に応じて詳しい理由を入力します。
5. 次のいずれかを実行します。
 - [Save Changes (変更を保存)]をクリックして、ファイルへの変更と、テーブルに加えた変更を保存し、ダイアログボックスを閉じます。

ファイルの変更内容と変更の理由は、ファイルの監査証跡に表示されます。
 - [Cancel Changes (変更の取り消し)]をクリックしてファイルを以前の状態に戻し、ダイアログボックスを閉じます。

変更はファイルに保存されず、監査証跡は更新されません。

ファイルのパスワード保護

セキュリティを強化するため、CFX Maestro Dx SEではユーザーがすべてのセキュアファイルにパスワードを設定できます。セキュアファイルにパスワードを設定するときは、次の条件を考慮してください。

条件	アクション
パスワードは必要ありません。	すべてのユーザーが、セキュアファイルを開き、変更し、保存できます。
ファイルに保存パスワードが必要です。	すべてのユーザーがセキュアファイルを開くことができますが、セキュアファイルを変更および保存できるのは、保存パスワードを知っているユーザーだけです。
ファイルにはオープンパスワードが必要です。	オープンパスワードを知っているユーザーだけが、セキュアファイルを開き、変更し、保存することができます。
ファイルにはオープンパスワードと保存パスワードの両方が必要です。	一部のユーザーはセキュアファイルを開くことができ、さらにこれらのユーザーの一部がファイルを変更して保存できます。

以下のいずれかの条件に該当する限り、ユーザーの役割に応じて、[Save As (名前を付けて保存)]を実行して新しいセキュアファイルを別の名前で作成するか、または別の場所にファイルを同名で保存することができます。

- セキュアファイルがパスワードで保護されていない。
- ユーザーにファイルを開くためのパスワードがある。

ヒント: 新しいファイルはパスワード保護なしで保存されます。元のファイルはそのパスワードを保持します。

次のいずれかに該当する限り、役割に応じてユーザーは元のファイルを変更して保存できます。

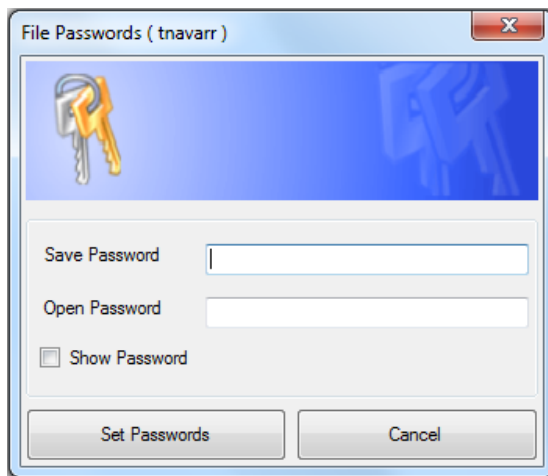
- ファイルがパスワードで保護されていない。
- ユーザーが、ファイルを開くためのパスワードとファイルを保存するためのパスワードを知っている。

注: ユーザーの役割には、パスワードを設定するためにファイルを保存する権限が含まれている必要があります。たとえば、[Guest (ゲスト)]役割が割り当てられているユーザーはファイルを保存できないため、ファイルにパスワードを設定できません。

重要: パスワードをリセットまたは削除できるのはCFX Maestro Dx SE管理者だけです。

ファイルをパスワードで保護するには

1. Windows資格情報を使用してCFX Maestro Dx SEにログインします。
2. セキュアファイルを開きます。
3. [File (ファイル)] > [File Passwords (ファイルパスワード)]を選択します。[File Passwords (ファイルパスワード)]ダイアログボックスが表示されます。



4. [Save Password (保存パスワード)]ボックスと[Open Password (オープンパスワード)]ボックスに、パスワードを入力します。

ヒント: デフォルトでは、入力するパスワードはアスタリスク文字として表示されます。入力時にパスワードを表示するには、[Show Password (パスワードを表示)]を選択します。

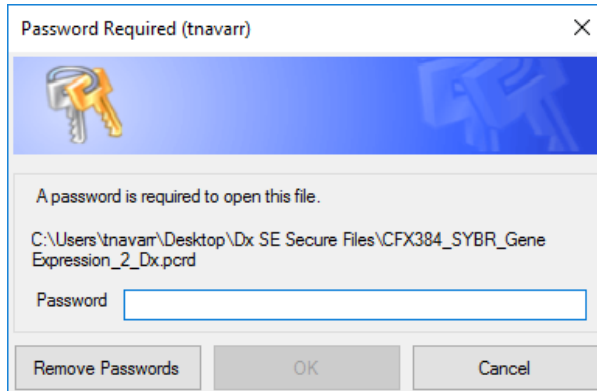
重要: パスワードでは大文字と小文字が区別されます。CFX Maestro Dx SEではパスワードに制限は設定されていません。ベストプラクティスとして、サイトのパスワード要件についてシステム管理者に問い合わせてください。

5. [Set Passwords (パスワードの設定)]をクリックしてパスワードを設定し、ダイアログボックスを閉じます。
6. [File (ファイル)] > [Save (保存)]を選択して、ファイルへの変更を保存します。

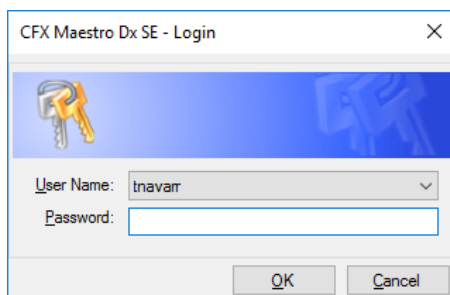
パスワードを削除するには

重要: パスワードを削除するには、CFX Maestro Dx SE管理者である必要があります。

1. [Password Required (必要なパスワード)]ダイアログボックスで、[Remove Passwords (パスワードの削除)]をクリックします。



[CFX Maestro Dx SE Login (CFX Maestro Dx SEログイン)]ダイアログボックスが表示されます。



2. CFX Maestro Dx SE管理者のWindowsユーザー名とパスワードを入力し、[OK]をクリックします。
元のデータファイルが表示されます。

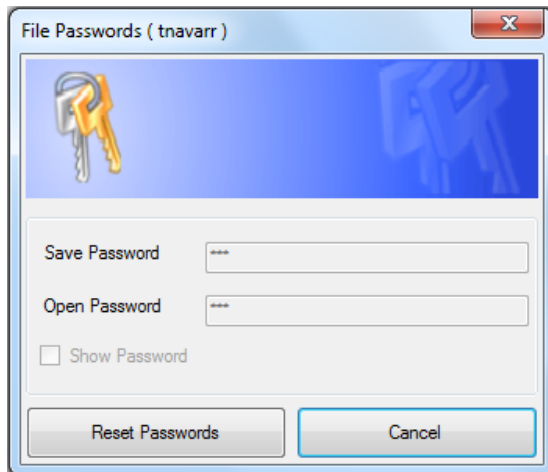
重要: パスワードを削除するには、ファイルを保存する必要があります。

3. [File (ファイル)] > [Save (保存)]を選択して、ファイルへの変更を保存します。

パスワードを変更するには

重要: パスワードを変更できるのはCFX Maestro Dx SE管理者だけです。

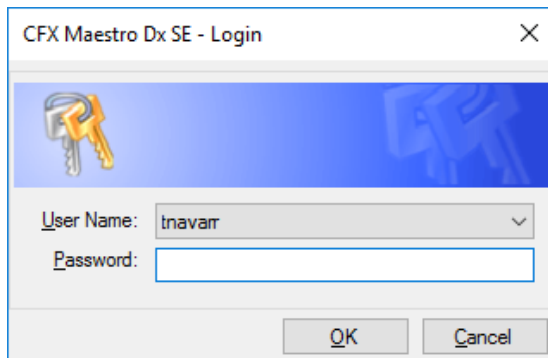
1. セキュアファイルを開きます。
2. [File (ファイル)] > [File Passwords (ファイルパスワード)]を選択します。[File Passwords (ファイルパスワード)]ダイアログボックスが表示されます。



ヒント: [Save Password (保存パスワード)], [Open Password (オープンパスワード)], および[Show Password (パスワードを表示)]は無効になっています。

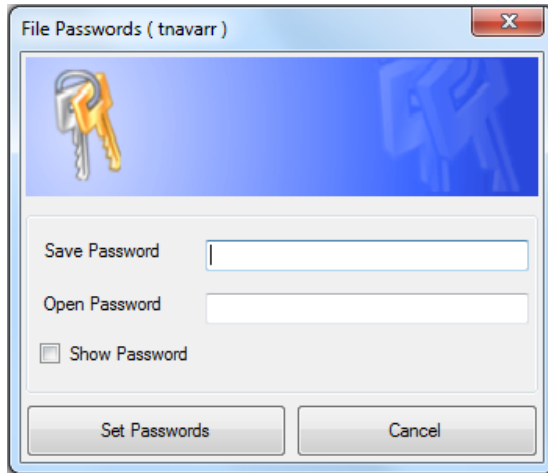
3. [Reset Passwords (パスワードのリセット)]をクリックします。

[CFX Maestro Dx SE Login (CFX Maestro Dx SEログイン)]ダイアログボックスが表示されます。



4. CFX Maestro Dx SE管理者のWindowsユーザー名とパスワードを入力し、[OK]をクリックします。

[File Passwords (ファイルパスワード)]ダイアログボックスが表示されます。



5. 次のいずれかを実行します。
 - パスワード保護をリセットするには、該当するパスワードボックスに新しいパスワードを入力します。
 - パスワード保護を解除するには、パスワードボックスをクリアします。
6. [Set Passwords (パスワードの設定)]をクリックしてパスワードの変更内容を保存し、ダイアログボックスを閉じます。

第5章 ワークスペース

CFX Maestro Dx SEソフトウェアは、プレートを設定し、PCRプロトコルを開発し、それらをCFX Opus Dx 機器でランし、PCRランのデータを解析するためのインターフェイスを備えています。

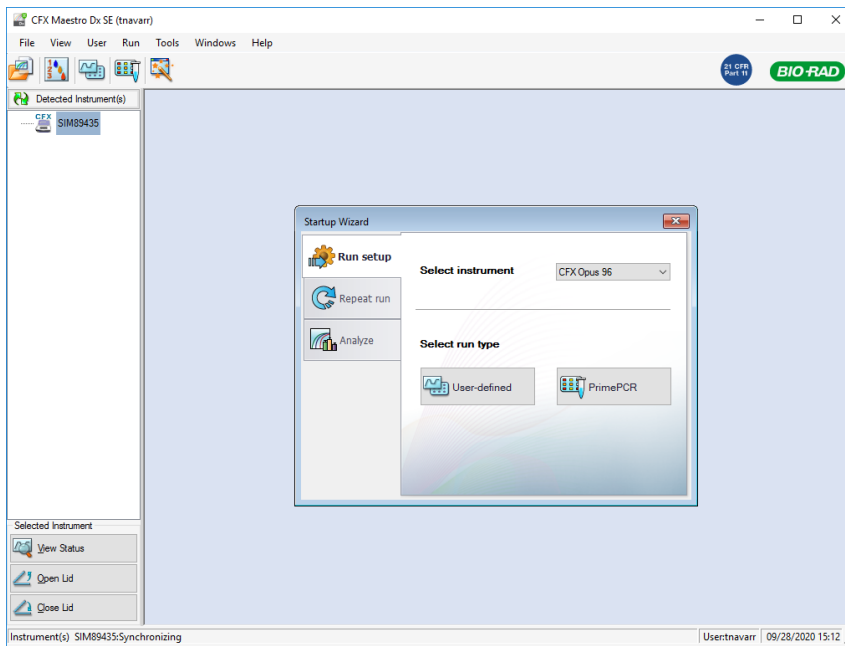
CFX Maestro Dx SEには5つの主なワークスペースがあります。

- [Home (ホーム)]ウィンドウ
- スタートアップウィザード
- [Protocol Editor (プロトコルエディター)]ウィンドウ
- [Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウ
- [Data Analysis (データ解析)]ウィンドウ

この章では、各ワークスペースについて簡単に説明します。

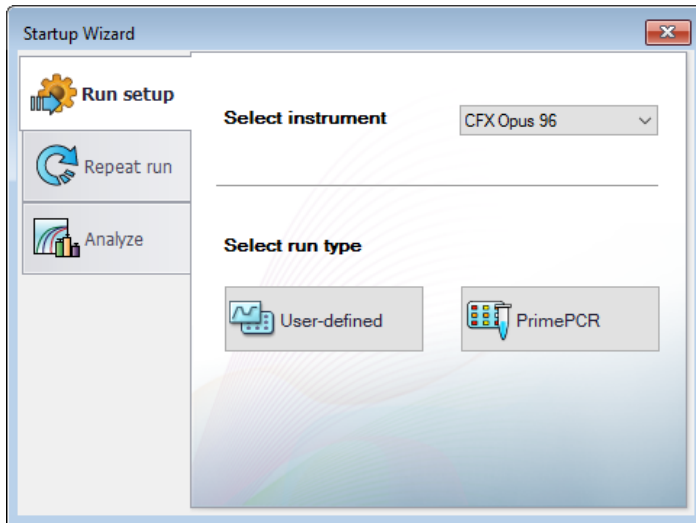
[Home (ホーム)]ウィンドウ

CFX Maestro Dx SEでは、[Home (ホーム)]ウィンドウが開き、スタートアップウィザードが表示されます。このウィザードでは、実験のセットアップ、ランの実行または繰り返し、または既存のランの解析を行うことができます。[Home (ホーム)]ウィンドウから、アプリケーションと機器のログを表示したり、ユーザーを作成および管理したり、複数の便利なツールにアクセスしたりすることもできます。詳細については、[第6章、\[Home \(ホーム\)\]ウィンドウ](#)を参照してください。



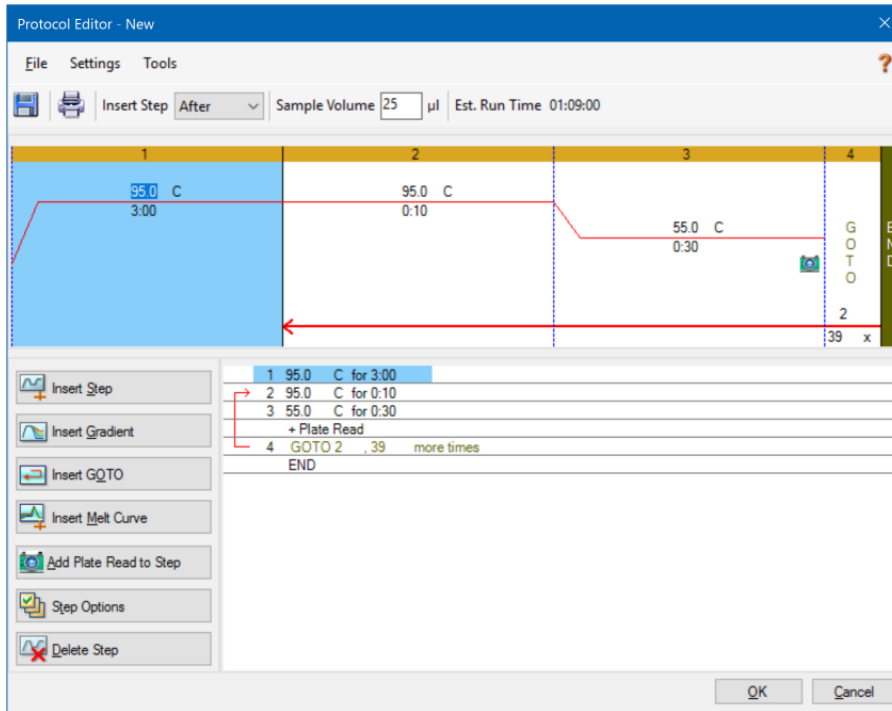
スタートアップウィザード

スタートアップウィザードでは、ユーザー定義の実験をすばやく設定して実行し、またPrimePCR実験を選択して実行できます。このウィザードを使用して、ランを繰り返したり、ランデータを分析したりすることもできます。



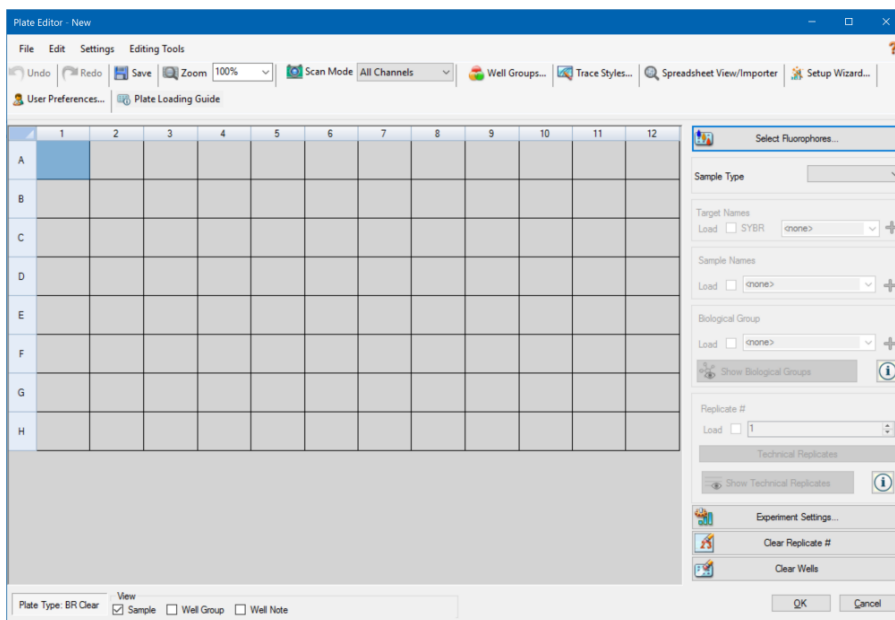
[Protocol Editor (プロトコルエディター)]ウィンドウ

プロトコルエディターでは、プロトコルの作成、オープン、確認、および編集を行うことができます。オープンプロトコルのリッド温度を変更することもできます。プロトコルエディターの機能については、[第7章、プロトコルの作成](#)で詳しく説明しています。



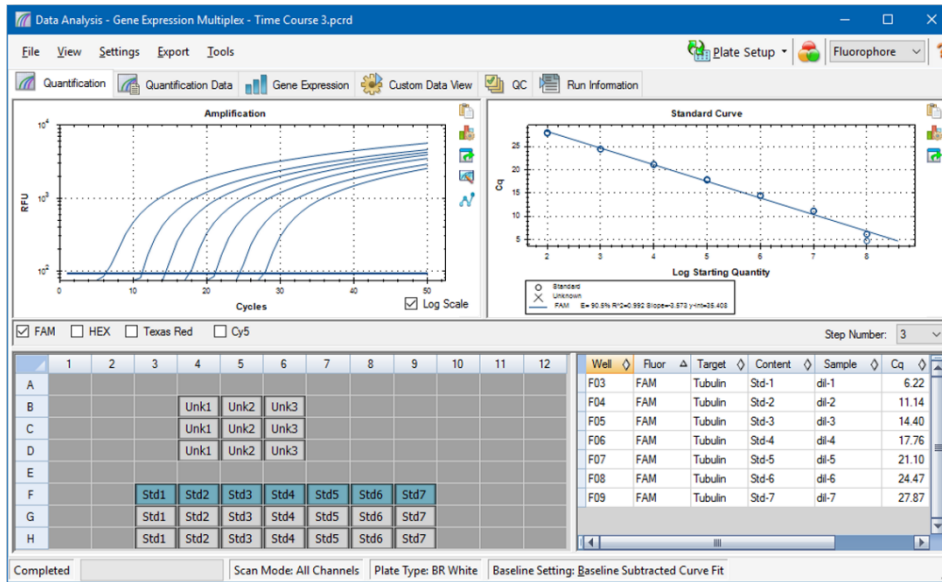
[Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウ

プレートエディターでは、プレートの作成、オープン、確認、および編集を行うことができます。プレートエディターの機能については、[第8章、プレートの準備](#)で詳しく説明しています。



[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウ

[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウでは、ランデータの表示と比較、統計分析の実行、データのエクスポート、および論文用に準備されたレポートの作成を行うことができます。データ解析機能の詳細については、[第10章、データ解析の概要](#)および[第11章、データ解析の詳細](#)。



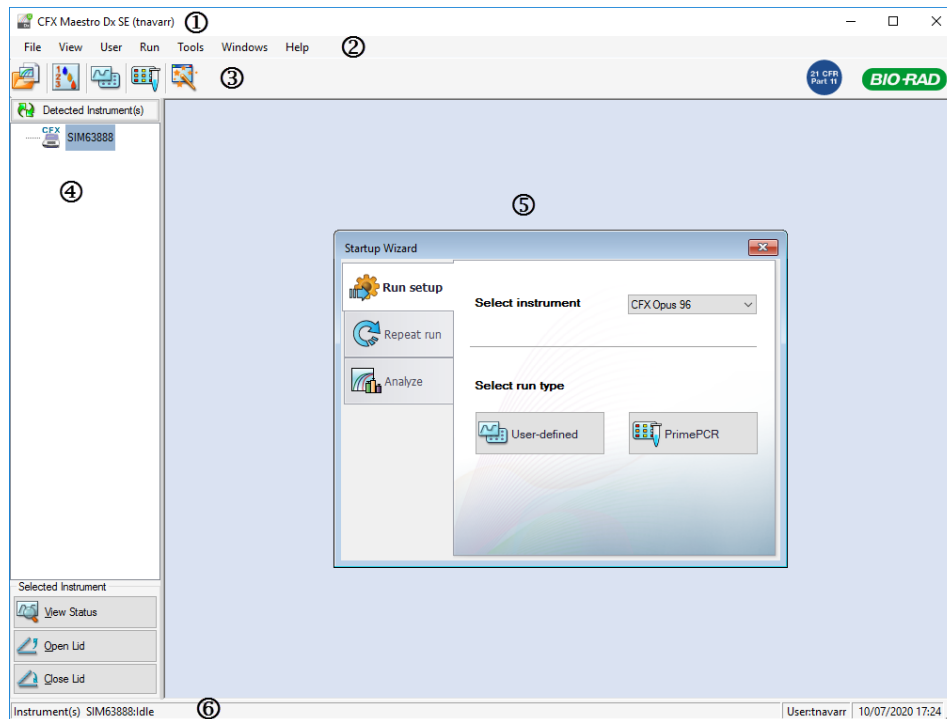
第6章 [Home (ホーム)]ウィンドウ

CFX Maestro Dx SEソフトウェアは、PCRプロトコルを開発し、それらをCFX Dxシステムでランし、PCRランデータを解析するためのインターフェイスを備えています。

この章では、CFX Maestro Dx SEを紹介し、[Home (ホーム)]ウィンドウからアクセス可能な機能について説明します。

[Home (ホーム)]ウィンドウ

CFX Maestro Dx SEでは、[Home (ホーム)]ウィンドウが開き、スタートアップウィザードが表示されます。このウィザードでは、ランのセットアップ、ランの実行または繰り返し、または既存のランの解析を行うことができます。[Home (ホーム)]ウィンドウから、アプリケーションと機器のログを表示したり、ユーザーを作成および管理したり、複数の便利なツールにアクセスしたりすることもできます。



凡例

1. ソフトウェアのタイトルバーには、ソフトウェアの名前とログインしているユーザーが表示されます。
2. メニューバーから、[File (ファイル)]、[View (表示)]、[Users (ユーザー)]、[Run (ラン)]、[Tools (ツール)]、[Window (ウィンドウ)]、および[Help (ヘルプ)]メニューコマンドにすばやくアクセスできます。
3. ツールバーコマンドを使用すると、メニューオプションにすばやくアクセスできます。
4. 左側のペインには、CFX Maestro Dx SEコンピューターに接続されている機器が表示され、リッドを操作したり、機器のステータスを確認したりするためのボタンが表示されます。
5. メインペインには、作業ウィンドウが表示されます。[Home (ホーム)]画面のデフォルトの作業ウィンドウは、スタートアップウィザードです。

6. ステータスバーには、接続されている機器の名前とログインしているユーザーが表示されます。

[File (ファイル)]メニューのコマンド

New (新規) — 新しいプロトコル、プレート、またはGene Studyの作成を選択可能なダイアログボックスが開きます。

Open (開く) — 既存のプロトコル、プレート、データファイル、Gene Study、LIMSファイル、スタンドアロン機器からのラン(スタンドアロンラン)、またはPrimePCRランファイルに移動して開くことが可能なダイアログボックスが開きます。

Recent Data Files (最近のデータファイル) — 最近開かれたPCRファイルのリストが表示されます。

Repeat a Run (ランの繰り返し) — Windowsエクスプローラーで、繰り返すランを見つけることができる保存されたPCRファイルの場所を開きます。

Exit (終了) — CFX Maestro Dx SEが閉じます。

[View (表示)]メニューのコマンド

Application Log (アプリケーションログ) — 初回インストールから今日までのソフトウェア使用ログを表示します。

Run Reports (ランレポート) — ランレポートのリストを表示します。

Startup Wizard (スタートアップウィザード) — メインペインでスタートアップウィザードを表示します。

Run Setup (ランのセットアップ) — メインペインで[Run Setup (ランのセットアップ)]ウィンドウを表示します。

Instrument Summary (機器の概要) — メインペインで[Instrument Summary (機器の概要)]ウィンドウを表示します。

Detected Instruments (検出された機器) — 左側のペインでの接続されている機器の表示と非表示を切り替えます。デフォルトでは、左側のペインに接続されている機器が表示されます。

Toolbar (ツールバー) — 画面上部でのツールバーの表示と非表示を切り替えます。デフォルトでは、ツールバーが表示されます。

Status Bar (ステータスバー) — 画面の下部でのステータスバーの表示と非表示を切り替えます。デフォルトでは、ステータスバーが表示されます。

Show (表示) — ダイアログボックスを開き、以下の操作を実行できます。

- ステータスログを表示またはブロックします。
- CFX Maestro Dx SEデータフォルダを開いて表示します。
- ユーザーのデータフォルダを開いて表示します。

- LIMSファイルフォルダを開いて表示します。
- PrimePCRフォルダを開いて表示します。
- ラン履歴を表示します。
- 接続されているすべての機器のプロパティを表示します。

[User (ユーザー)]メニューのコマンド

Select User (ユーザーの選択) — [Login (ログイン)]画面が開きます。ここから、[User Name (ユーザー名)]ド롭ダウンリストからユーザーを選択して、アプリケーションにログインできます。

Change Password (パスワードの変更) — [Change Password (パスワードの変更)]ダイアログボックスを開きます。ここでは、ユーザーがパスワードを変更できます。

注: CFX Maestro Dx SEでは、このオプションが無効になります。ユーザーがCFX Maestro Dx SEパスワードを変更するには、自分のWindowsパスワードを変更する必要があります。

User Preferences (ユーザー設定) — [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを開きます。ここでは、ユーザーが以下のデフォルト設定を変更できます。

- ラン完了時のEメール通知の送受信
- データファイルの保存
- Protocol EditorまたはProtocol AutoWriterを介したプロトコルの作成
- プレートの作成
- データの解析
- 遺伝子発現解析の実施
- データの品質の決定
- CFX機器データのエクスポート

User Administration (ユーザー管理) — [User Administration (ユーザー管理)]ダイアログボックスを開きます。ここでは、管理者がユーザーの作成、役割許可の変更、およびユーザーへの役割の割り当てを行うことができます。

Bio-Rad Service Login (Bio-Radサービスログイン) — Bio-Radテクニカルサービススタッフ専用。このコマンドは選択しないでください。

[Run (ラン)]メニューのコマンド

User-defined Run (ユーザー定義のラン) — [Run Setup (ランのセットアップ)]ウィンドウを開きます。このウィンドウでは、ユーザー定義のプロトコルとプレートをセットアップしてから、選択した機器でPCR実験をランできま

す。

PrimePCR Run (PrimePCRラン) — 選択した機器に基づいてデフォルトのPrimePCRプロトコルとプレートレイアウトがロードされた[Run Setup (ランのセットアップ)]ウィンドウの[Start Run (ランの開始)]タブを開きます。

End-Point Only Run (エンドポイント専用ラン) — 選択した機器に基づいてデフォルトのエンドポイントプロトコルとプレートレイアウトがロードされた[Run Setup (ランのセットアップ)]ウィンドウの[Start Run (ランの開始)]タブを開きます。

Qualification Run (適正ラン) — 選択した機器のデフォルトのBio-Rad適正プロトコルとプレートレイアウトがロードされた[Run Setup (ランのセットアップ)]ウィンドウの[Start Run (ランの開始)]タブを開きます。

[Tools (ツール)]メニューのコマンド

Master Mix Calculator — Master Mix Calculatorを開きます。ここでは、反応混合液を作成し、計算結果を印刷できます。

Protocol AutoWriter — [Protocol AutoWriter]ダイアログボックスを開きます。ここでは、新しいプロトコルを簡単に作成できます。

T_a Calculator - T_a Calculatorを開きます。ここでは、プライマーのアニーリング温度を簡単に計算できます。

Dye Calibration Wizard (色素キャリブレーションウィザード) — 色素キャリブレーションウィザードを開きます。ここでは、新しい色素用に機器をキャリブレーションできます。

Reinstall Instrument Drivers (機器ドライバーの再インストール) — Bio-RadのリアルタイムPCRシステムとの通信を制御するドライバーを再インストールします。

Zip Data and Log Files (データファイルとログファイルの圧縮) — ダイアログボックスが開き、ここで、保存のための圧縮ファイルにまとめて保存するファイル、またはEメールで送信するファイルを選択できます。

Batch Analysis (バッチ解析) — [Batch Analysis (バッチ解析)]ダイアログボックスを開きます。ここでは、一度に複数のデータファイルを解析するためのパラメータを設定できます。

Options (オプション) — ダイアログボックスが開き、以下の操作を実行できます。

- Eメールサーバーの設定を構成する
- LIMS、Seegene、およびその他のデータファイルのエクスポート設定を構成する

ヒント: データをSeegene形式でエクスポートする場合は、エクスポート時にSeegene Viewerを自動的に開始するオプションを選択することもできます。

[Help (ヘルプ)]メニューのコマンド

ヒント: [Help (ヘルプ)]メニューは、すべてのCFX Maestro Dx SEウィンドウのメニューバーで利用できます。

Contents (内容) — CFX Maestro Dx SE Helpシステムの[Contents (内容)]タブを表示します。

Index (索引) — CFX Maestro Dx SE Helpシステムの[Index (索引)]タブを表示します。

Search (検索) — CFX Maestro Dx SE Helpシステムの[Search (検索)]タブを表示します。

Open User Guide (ユーザーガイドを開く) — このガイドのPDFを開きます。

Additional Documentation (追加文書) — CFX OpusDxリアルタイムPCRシステム操作マニュアルへのアクセスを提供します。

Release Notes (リリースノート) — CFX Maestro Dx SEのインストールされているバージョンのリリースノート文書を開きます。

Video Resources (ビデオリソース) — 取扱説明ビデオなどのBio-Radビデオリソースがあるウェブサイトを開きます。

qPCR Applications and Technologies Web Site (qPCRアプリケーションと技術ウェブサイト) — Bio-RadのqPCR Applications & Technologiesウェブサイトを開きます。このサイトでは、リアルタイムPCR (qPCR) の詳細を確認できます。

PCR Reagents Web Site (PCR試薬ウェブサイト) — Bio-RadのPCRおよびqPCR試薬ウェブサイトを開きます。このサイトでは、PCR試薬、スーパーミックス、色素、およびキットを注文できます。

PCR Plastic Consumables Web Site (PCRプラスチック消耗品ウェブサイト) — Bio-RadのPCRプラスチックおよび消耗品ウェブサイトを開きます。このサイトでは、PCRプレート、プレートシール、チューブとキャップ、およびその他のプラスチックアクセサリを注文できます。

Software Web Site (ソフトウェアウェブサイト) — Bio-RadのPCR解析ソフトウェアウェブサイトを開きます。このサイトでは、Bio-RadのCFX Maestro Dx SEの更新バージョンを注文できます。

About (バージョン情報) — CFX Maestro Dx SEの著作権およびバージョン情報を表示します。

ツールバーのコマンド



— Windowsエクスプローラーを開きます。ここでは、データファイルまたはGene Studyファイルに移動して開くことができます。



— Master Mix Calculatorを開きます。



— [Run Setup (ランのセットアップ)]ウィンドウを開きます。



— 選択した機器に基づいてデフォルトのPrimePCRプロトコルとプレートレイアウトがロードされた[Run Setup (ランのセットアップ)]ウィンドウを開きます。

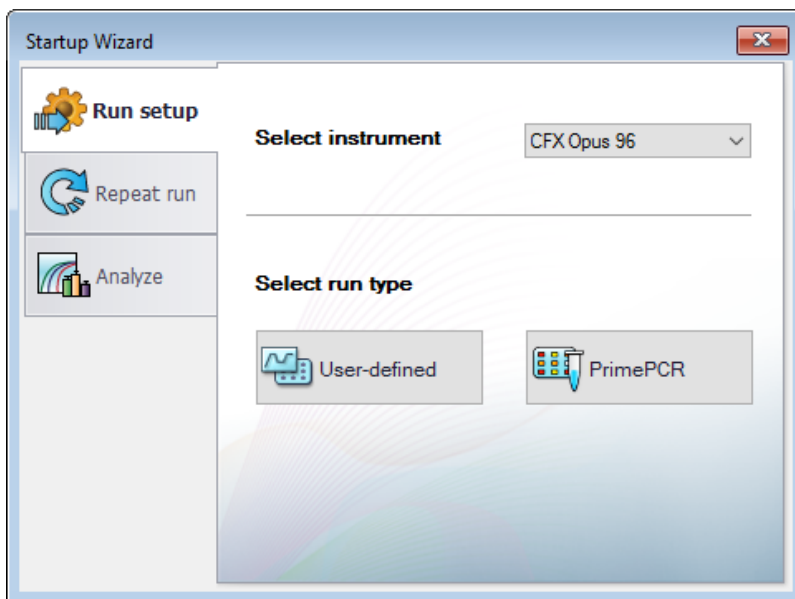


— スタートアップウィザードを開きます。

スタートアップウィザード

CFX Maestro Dx SEが開始すると、作業ペインにスタートアップウィザードが表示されます。スタートアップウィザードでは、次のことができます。

- 検出された機器からいずれかを選択し、ユーザー定義またはPrimePCRのランをセットアップする
- ランを開いて繰り返す
- データファイルを開いて1回のランの結果を解析するか、Gene Studyファイルを開いて複数の遺伝子発現のランの結果を解析する



これらのタスクについては、以降の章で詳しく説明します。

ステータスバー

メインソフトウェアウィンドウの下部にあるステータスバーの左側に、検出された機器の現在のステータスが表示されます。ステータスバーの右側に、現在のユーザーの名前と日時が表示されます。

[Detected Instruments (検出された機器)]ペイン

[Detected Instruments (検出された機器)]ペインには、CFX Maestro Dx SEコンピューターに接続されている各機器が表示されます。デフォルトで、各機器はアイコンとして表示され、シリアル番号がその名前として表示されます。

システムアップデートが必要な機器には、赤色のアラートが表示されます。システムがアップデートされるまで、機器を使用することはできません。システムアップデートの詳細については、[現在インストールされているバージョンの確認\(70ページ\)](#)を参照してください。

ヒント: この機器はアップデートが必要です。システムがアップデートされるまで、ユーザーはこの機器を使用できません。

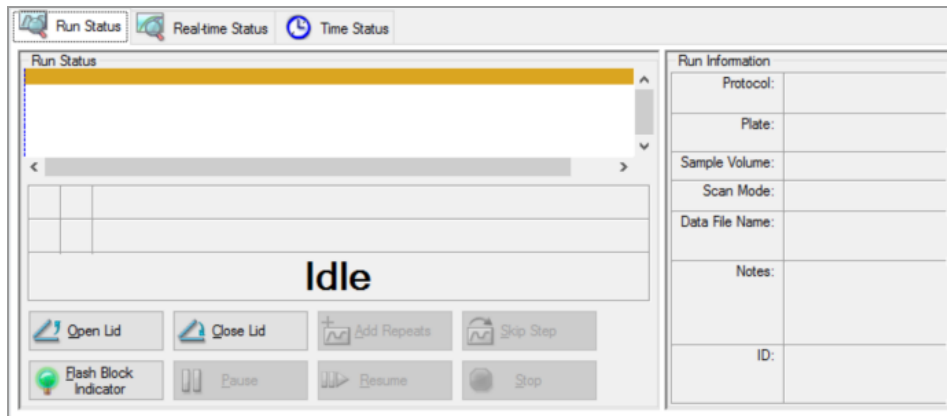
このペインから次のことができます。

- 選択されている機器のプロパティとキャリブレーションされた色素を表示する
機器のプロパティについては、[機器のプロパティの表示\(68ページ\)](#)を参照してください。
- 接続されている機器のステータスを表示する
- 選択されている機器の電動リッドを開く
- 選択されている機器の電動リッドを閉じる
- 接続されているすべての機器のステータスを表示する

接続されている機器のステータスを表示するには

- ▶ [Detected Instruments (検出された機器)]ペインで、ターゲット機器を選択し、次のいずれかを実行します。
 - [Selected Instrument (選択された機器)]セクションの[View Status (ステータスの表示)]をクリックします。
 - 右クリックして、表示されたメニューで[View Status (ステータスの表示)]を選択します。

[Run Details (ランの詳細)]ダイアログボックスが開いて、[Run Status (ランのステータス)]タブが表示されません。選択された機器のステータスは、次のように、ランのステータスペインの下に表示されます。



機器のリッドを開閉するには

- ▶ [Detected Instruments (検出された機器)]ペインで、ターゲット機器を選択し、次のいずれかを実行します。
 - [Selected Instrument (選択された機器)]セクションで、[Open Lid (リッドを開く)]または[Close Lid (リッドを閉じる)]をクリックします。
 - 右クリックして、表示されたメニューで適切なアクションを選択します。
 - [Run Details (ランの詳細)]ダイアログボックスを開いて、[Run Status (実行ステータス)]タブを選択し、[Open Lid (リッドを開く)]または[Close Lid (リッドを閉じる)]をクリックします。

検出されたすべての機器のステータスを表示するには

- ▶ 次のいずれかを実行します。
 - [Detected Instruments (検出された機器)]ペインの[All Instruments (すべての機器)]セクションで、[View Summary (概要の表示)]をクリックします。
 - メニューバーで、[View (表示)] > [Instrument Summary (機器の概要)]を選択します。


[Instrument Summary (機器の概要)]ダイアログボックスが表示されます。

ヒント: システムが接続されている機器を1つだけ検出した場合は、[All Instruments (すべての機器)]セクションが[Detected Instruments (検出された機器)]ペインに表示されません。単一の機器の概要を表示するには、[View (表示)] > [Instrument Summary (機器の概要)]を選択します。

[Instrument Summary (機器の概要)]ツールバーのコントロール

表5に、[Instrument Summary (機器の概要)]ツールバーのコントロールと機能を示します。

表5. [Instrument Summary (機器の概要)]ツールバーのコントロール

ボタン	ボタン名	機能
	Create a new Run (新しいランを作成)	[Run Setup (ランのセットアップ)]ウィンドウを開いて、選択したブロック上のランを作成します。
	Stop (停止)	選択されたブロック上の現在のランを停止します。
	Pause (一時停止)	選択されたブロック上の現在のランを一時停止します。
	Resume (再開)	選択されたブロック上のランを再開します。
	Flash Block Indicator	選択されたブロックのリッド上のインジケーターLEDを点滅させます。
	Open Lid (リッドを開く)	選択されたブロックの電動リッドを開きます。
	Close Lid (リッドを閉じる)	選択されたブロックの電動リッドを閉じます。
	Hide Selected Blocks (選択されたブロックを非表示)	[Instrument Summary (機器の概要)]リストで選択されたブロックを非表示にします。
	Show All Blocks (すべてのブロックを表示)	選択されたブロックが[Instrument Summary (機器の概要)]リストに表示されます。
	Show (表示)	リストに表示するブロックを選択します。検出されたすべてのブロック、すべての待機ブロック、現在のユーザーで実行中のすべてのブロック、または実行中のすべてのブロックから、表示するオプションを1つ選択します。

機器のプロパティの表示

[Detected Instruments (検出された機器)]ペインでは、プロパティ、配送用ネジのステータス、およびキャリブレーションされた色素(蛍光色素)のリストを含む、選択した機器に関する詳細を表示できます。

機器のプロパティを表示するには

- ▶ [Detected Instruments (検出された機器)]ペインで、ターゲット 機器を右クリックし、表示されたメニューで [Properties (プロパティ)]を選択します。

[Properties (プロパティ)]タブ

[Properties (プロパティ)]タブには、モデル、その構成要素のシリアル番号、およびファームウェアバージョンを含む、選択した機器に関する技術的な詳細が一覧表示されます。機器のデフォルト名(シリアル番号)は、[Detected Instruments (検出された機器)]ペインや[Instrument Properties (機器のプロパティ)]ダイアログボックスのヘッダーバーなどの多くの場所に表示されます。より簡単に識別できるように機器の名前を変更できます。

機器の名前を変更するには

- ▶ [Instrument Properties (機器のプロパティ)]タブで、[Properties (プロパティ)]タブの上部にある[Rename (名前の変更)]ボックスに名前を入力し、[Rename (名前の変更)]をクリックします。
新しい名前は、[Properties (プロパティ)]タブの[Nickname (ニックネーム)]行だけでなく、[Instrument Properties (機器のプロパティ)]ヘッダーバーと[Detected Instruments (検出された機器)]ペインにも表示されます。

[Shipping Screw (配送用ネジ)]タブ

[Shipping Screw (配送用ネジ)]タブには、選択した機器の配送用ネジの現在のステータス([Removed (取り外し済み)]または[Installed (取り付け済み)])が表示されます。このタブには、赤色の配送用ネジの取り付けまたは取り外しの手順も表示されます。

ヒント: 配送用ネジがCFX Opus Dxシステム以外の機器に挿入されていることをソフトウェアが検出すると、[Instrument Properties (機器のプロパティ)]ダイアログボックスに[Shipping Screw (配送用ネジ)]タブが自動的に表示されます。指示に従ってネジを外します。

(CFX Opus Dxシステムの場合のみ) 配送用ネジがCFX Opus Dxシステムに取り付けられていることが検出されると、システムの初回起動時に配送用ネジが挿入されていることを警告するメッセージが表示され、システム上のタッチスクリーン上の指示に従うように通知されます。

注: 機器を使用する前に、配送用ネジを取り外す必要があります。詳細については、CFX Opus DxリアルタイムPCRシステムの操作マニュアルを参照してください。

[Calibrated Dyes (キャリブレーションされた色素)]タブ

[Calibrated Dyes (キャリブレーションされた色素)]タブには、選択した機器のキャリブレーション済みの蛍光色素とプレートが表示されます。

	Fluorophore	Channel	Plate Type	Calibrated By	Date	Errors	Detail
1	Cal Gold 540	2	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
2	Cal Gold 540	2	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
3	Cal Orange 560	2	BR Clear	Factory	07/05/2013 14:	<input type="checkbox"/>	Info
4	Cal Orange 560	2	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
5	Cal Red 610	3	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
6	Cal Red 610	3	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
7	Cy5	4	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
8	Cy5	4	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
9	Cy5-5	4	BR Clear	Factory	07/05/2013 14:	<input type="checkbox"/>	Info
10	Cy5-5	4	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
11	FAM	1	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
12	FAM	1	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
13	HEX	2	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
14	HEX	2	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
15	Quasar 670	4	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
16	Quasar 670	4	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
17	Quasar 705	5	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
18	Quasar 705	5	BR White	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info
19	ROX	3	BR Clear	Factory	01/08/2008 10:	<input type="checkbox"/>	Info

キャリブレーションの詳細情報を表示するには、[Detail (詳細)]列の[Info (情報)]ボタンをクリックします。

はじめる前に

このセクションでは、CFX Maestro Dx SEを使用する前に実行する必要があるタスクについて説明します。これには以下が含まれます。

- CFX Opus Dxシステム上のソフトウェアとファームウェアのアップデート
- リアクションマスターミックスの作成
- 新しい色素のキャリブレーション

CFX Opus DxリアルタイムPCRシステムのソフトウェアとファームウェアのアップグレード

重要: CFX Opus Dxシステムでは管理者ユーザーのみがソフトウェアとファームウェアをアップグレードできます。

インターネットに接続している場合、CFX Opus Dxシステムで利用可能なソフトウェアとファームウェアのアップデートがCFX Maestro Dx SEIによって通知されます。Bio-RadのファームウェアおよびソフトウェアのアップデートWebサイトから、アップデートを入手できます。CFX Opus Dxシステムのインストーラーには、ソフトウェアとファームウェアの両方のアップデートが含まれることがあります。CFX Opus Dxシステムのファームウェアアップデートは、独立したパッケージでは配布されません。

システムをアップグレードする前に、CFX Opusシステムにインストールされている現在のバージョンを確認することをBio-Radではお勧めします。このセクションでは、インストールされているバージョンを確認する方法と、システムをアップグレードする方法について説明します。

注: アップグレードの種類によっては、このプロセスが完了するまでに数分かかる場合があります。

現在インストールされているバージョンの確認

CFX Opus Dxシステムソフトウェアの現在のバージョンを確認するには

1. CFX Opus Dxシステムのホーム画面で、[Tools]をタップしてツール画面を表示します。
2. 管理者としてログインしている場合は、画面下部のユーザーアイコンをタップして、すべてのユーザーが利用できるツールを表示します。
3. [About]をタップして、[About]画面で[Opus Version]を見つけます。
4. 現在インストールされているバージョンを書き留めます。
アップグレードするバージョンが現在インストールされているバージョンよりも新しいことを確認してください。
5. [Back]をタップしてから[Home]をタップして、ホーム画面に戻ります。

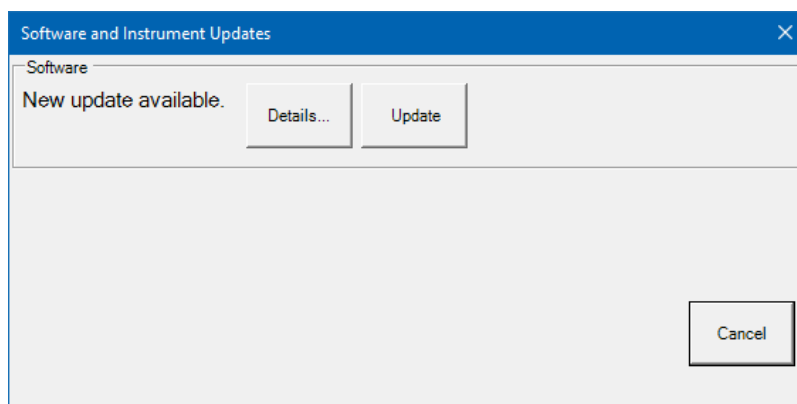
システムソフトウェアとファームウェアのアップグレード

注: アップグレードの種類によっては、このプロセスが完了するまでに数分かかる場合があります。

CFX Opus Dxシステムのソフトウェアとファームウェアをアップグレードするには

1. CFX Maestro Dx SEソフトウェアコンピューターからbio-rad.comにログインし、ファームウェアとソフトウェアのアップデートページに移動して、接続されているUSBドライブにインストーラーをダウンロードします。
2. USBドライブをCFX Opus DxシステムのUSBポートに挿入します。
3. ホーム画面で、管理者ユーザーとしてログインします。
4. ホーム画面で、[Tools]をタップして[Admin tools]画面を開きます。
5. [Admin tools]画面で、[System Update]をタップして、[Software and Instrument Updates]画面を開きます。

ソフトウェアと機器のアップデート画面が表示されます。



重要: アップグレードの進行中は、システムをシャットダウンしたり、USBドライブを取り外したりしないでください。

6. (オプション) アップデートの詳細を取得するには、[Details]をタップします。
7. 次のいずれかを実行します。
 - アップグレードをキャンセルするには、[Cancel]をタップします。
 - システムをアップグレードするには、[Update]をタップし、プロンプトに従います。

注: アップグレードが完了すると、システムは自動的に再起動します。

リアクションマスターミックスの作成

CFX Maestro Dx SEのMaster Mix Calculatorを使用すると、マスターミックス内の必要な各成分量を容易に計算することができます。マスターミックス計算表をデフォルトのプリンターで印刷し、後の使用のために各ターゲットの計算値を保存しておくことができます。

Master Mix Calculatorを使用してリアクションマスターミックスを作成するには

1. Master Mix Calculatorを開くには、次のいずれかを実行します。
 - [Tools (ツール)] > [Master Mix Calculator]を選択します。
 - ツールバーの[Master Mix Calculator]をクリックします。

Master Mix Calculatorが表示されます。

Component	Volume Per Reaction (µl)	Total Volume for 96 Reactions + (5)%
*		

2. [Reaction (反応)]セクションで、検出方法を選択します。
 - SYBR[®] Green/EvaGreen[®]
 - Probes (プローブ)

3. 新しいターゲットを作成するには、[Target (ターゲット)]セクションで[Create New (新規作成)]をクリックします。新しいターゲット名がターゲットドロップダウンリストに表示されます。
4. (オプション)デフォルトのターゲット名を変更するには以下を行います。
 - a. ドロップダウンターゲットリストでターゲットの名前を強調表示します。
 - b. [Target (ターゲット)]ボックスに、新しいターゲット名を入力します。
 - c. Enterキーを押します。
5. フォワードプライマー、リバースプライマー、およびプローブの初期濃度と最終濃度を調節します。
6. [Master Mix Setup (マスターミックスのセットアップ)]セクションで、次の値を調整します。
 - ランする反応の数
 - ウェルあたりの反応量
 - ウェルあたりのテンプレート量
 - ウェルあたりのスーパーミックス濃度
 - ウェルあたりの過剰反応量
7. (オプション)必要なターゲットの数だけステップ2～6を実行します。
8. [Choose Target to Calculate (計算するターゲットの選択)]セクションで、計算するターゲットを選択します。

ヒント: 同時に1つだけ、複数、またはすべてのターゲットを計算できます。

選択した各ターゲットに必要な成分の計算量がマスターミックス表に表示されます。
9. [Set as Default (デフォルトとして設定)]をクリックして、[Target (ターゲット)]セクションと[Master Mix Setup (マスターミックスのセットアップ)]セクションに入力された数量を新しいデフォルトとして設定します。
10. [OK]をクリックして、[Master Mix Calculator]ダイアログボックスの内容を保存します。

マスターミックス計算表を印刷するには

- ▶ マスターミックス計算表を印刷するには、[Print (印刷)]をクリックします。

計算表がデフォルトのプリンターに印刷されます。

マスターミックス計算表をPDFとして保存するには

- ▶ デフォルトのプリンターをPDFドライバーに変更し、Master Mix Calculatorで[Print (印刷)]をクリックします。

ターゲットを削除するには

- ▶ ドロップダウンターゲットリストを使用してターゲットを選択し、[Remove (削除)]をクリックします。

重要: ターゲットリストからターゲットを削除すると、そのターゲットが使用されているすべてのマスターミックス計算からも削除されます。ターゲットを削除するときは注意が必要です。

新しい色素のキャリブレーション

CFX Opus 96 Dx システムは、白色ウェルプレートと透明ウェルプレートでよく使用される蛍光色素用に工場キャリブレーションされています。CFX Opus 384 Dxシステムは、白色ウェルプレートでよく使用される蛍光色素用のみ工場キャリブレーションされています。表6に、それに合わせて各機器がキャリブレーションされている蛍光色素とチャンネルを記載します。

注: The CFX Opus 96 DxおよびCFX Opus 384 Dx システムには、FRETケミストリー専用のチャンネルも含まれています。このチャンネルでは、特定の色素用のキャリブレーションは不要です。

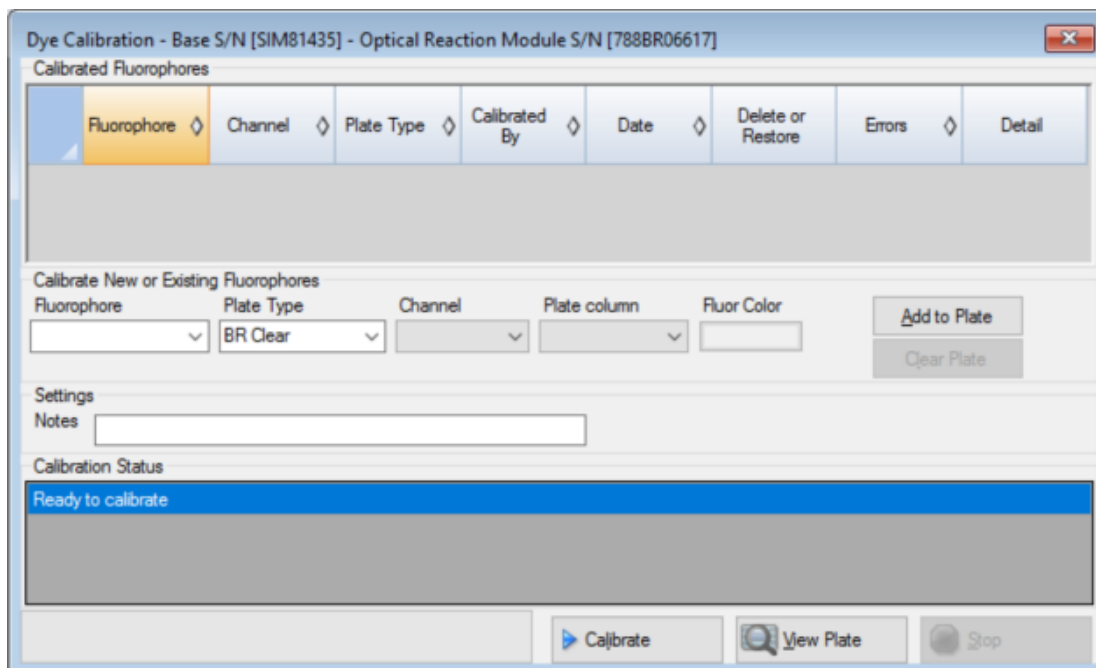
重要: 工場キャリブレーション済みの色素のユーザー定義キャリブレーションを行うと、機器では工場キャリブレーションの代わりにユーザー定義キャリブレーションが使用されます。

表6. 工場キャリブレーション済みの蛍光色素、チャンネル、および機器

蛍光色素	チャンネル	励起 (nm)	検出 (nm)	機器
FAM、SYBR®GreenI	1	450~490	515~530	CFX Opus 96DxおよびCFX Opus 384Dxシステム
VIC、HEX、CAL Fluor Gold 540、Cal Fluor Orange 560	2	515~535	560~580	CFX Opus 96DxおよびCFX Opus 384Dxシステム
ROX、Texas Red、CAL Fluor Red 610、TEX 615	3	560~590	610~650	CFX Opus 96DxおよびCFX Opus 384Dxシステム
Cy5、Quasar 670	4	620~650	675~690	CFX Opus 96DxおよびCFX Opus 384Dxシステム
Quasar 705、Cy5.5	5	672~684	705~730	CFX Opus 96 Dxシステムのみ

CFXシステム用の新しい色素をキャリブレーションするには

1. [Home (ホーム)]ウィンドウの[Detected Instruments (検出された機器)]ペインでターゲットの機器を選択します。
2. [Tools (ツール)] > [Calibration Wizard (キャリブレーションウィザード)]を選択して[Dye Calibration (色素キャリブレーション)]ウィザードを開きます。



ターゲット機器に対してすでにキャリブレーションされている蛍光色素が[Calibrated Fluorophores (キャリブレーション済みの蛍光色素)]表に表示されます。

3. [Calibrate New or Existing Fluorophores (新規または既存の蛍光色素のキャリブレーション)]セクションで、ドロップダウンリストからキャリブレーションする蛍光色素を選択します。

蛍光色素の名前がリストに含まれていない場合は、テキストボックスにその名前を入力して、リストに追加します。

重要: カスタムキャリブレーションされた蛍光色素に名前を付けるときは注意が必要です。工場でキャリブレーションされた蛍光色素と同じ名前で蛍光色素のカスタム色素キャリブレーションを作成すると、(工場でキャリブレーションされた蛍光色素ではなく)カスタム蛍光色素が機器の動作中に使用される色素になります。

4. 蛍光色素のプレートタイプを選択します。

プレートタイプがリストに含まれていない場合は、テキストボックスにその名前を入力して、リストに追加します。

5. 蛍光色素のチャンネルを選択します。
6. 蛍光色素のプレートカラムを選択します。
7. (オプション) 蛍光色素に関連付ける色を入力します。
8. [Add to Plate (プレートに追加)] をクリックして、蛍光色素を追加します。
9. (オプション) ステップ38を繰り返して、プレートに対してキャリブレーションする予定の各蛍光色素を追加します。
10. 蛍光色素の追加が終了したら、[View Plate (プレートの表示)] をクリックして、[Pure Dye Plate Display (純粋な色素プレートの表示)] ウィンドウを開きます。

このウィンドウは、プレートに色素をロードするためのガイドとして使用します。

11. 色素キャリブレーション用に96ウェルプレートまたは384ウェルプレートを準備します。
 - a. [Pure Dye Plate Display (純粋な色素プレートの表示)] に示されているパターンに従って、各ウェルに色素溶液を分注します。
 - b. 蛍光色素ごとに、4つのウェルに50 µl (96ウェルプレート) または30 µl (384ウェルプレート) の300 nM色素溶液を注入します。プレートの半分以上は空のウェルにしてください。
 - c. 実験に使用する方法でプレートをシーリングします。
12. ブロック内にキャリブレーションプレートを設置して、リッドを閉じます。
13. [Dye Calibration (色素キャリブレーション)] ウィザードで [Calibrate (キャリブレーション)] をクリックしてから、[OK] をクリックしてプレートがブロック内にあることを確認します。
14. CFX Maestro Dx SEソフトウェアによってキャリブレーションのランが完了すると、ダイアログボックスが表示されます。[Yes (はい)] をクリックすると、キャリブレーションが終了し、Dye Calibration Viewerが表示されます。
15. [OK] をクリックしてウィンドウを閉じます。

ユーザー設定の設定

ヒント: CFX Maestro Dx SEを使用するためにこれらのタスクを実行する必要はありません。このセクションはスキップしても問題ありません。また、これらのタスクはいつでも実行できます。

CFX Maestro Dx SEでは、各ユーザーが自分の作業環境をカスタマイズできます。

たとえば、[Users (ユーザー)] > [User Preferences (ユーザー設定)] メニューでは、次の操作を実行できます。

- ラン完了のEメール通知をセットアップします。

注: この機能は、この権限が付与されている役割を持つユーザーのみが使用できます。詳細については、[CFX Maestro Dx SEソフトウェアユーザー役割の管理\(38ページ\)](#)を参照してください。

- 次のデフォルト設定を変更します。
 - ファイルを保存する場所
 - ランセットアップファイル
 - ファイル命名接頭語
- 新しいプロトコルとプレートを作成するときに使用するデフォルトパラメータを設定します。
- デフォルトのデータ解析と遺伝子発現パラメータを設定します。
- デフォルトの品質管理パラメータをカスタマイズします。
- データエクスポートパラメータをカスタマイズします。

[Tools (ツール)]メニューでは、次の操作を実行できます。

- マスターミックスを作成します。
- 特定の機器の色素をキャリブレーションします。

注: マスターミックスと色素キャリブレーションは、CFX Maestro Dx SEにログインしているすべての人が利用できます。

このセクションでは、これらのタスクの実行方法について説明します。

Eメール通知のセットアップ

CFX Maestro Dx SEを送信Eメールサーバーに接続して、ラン完了のEメール通知をユーザーのリストに送信できます。データファイルと解析レポートをユーザーのリストに添付するように選択することもできます。

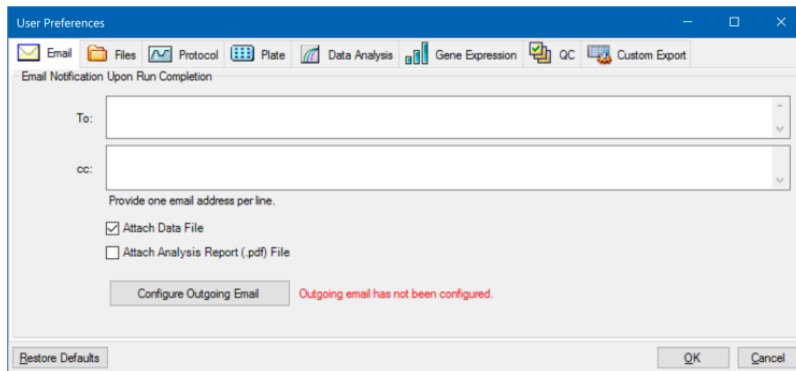
CFX Maestro Dx SEとSMTPサーバー間の接続をセットアップするには、[CFX Maestro Dx SEソフトウェアとSMTPサーバーの接続\(79ページ\)](#)を参照してください。

注: ユーザーがEメールセットアップ機能にアクセスできるかどうかは、管理者によって割り当てられたユーザーの役割と権限によって異なります。ユーザーとその役割の管理の詳細については、[CFX Maestro Dx SEソフトウェアユーザー役割の管理\(38ページ\)](#)を参照してください。

Eメール通知をセットアップするには

1. [Users (ユーザー)] > [User Preferences (ユーザー設定)]を選択して、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを開きます。

[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログが開いて、[Email (Eメール)]タブが表示されます。



注: CFX Maestro Dx SE用の有効なSMTPサーバーがセットアップされていないことをシステムが検出した場合は通知されます。[Configure Outgoing Email (送信Eメールの構成)]をクリックして[Options (オプション)]ダイアログボックスを開き、EメールSMTPサーバーを構成します。詳細については、[CFX Maestro Dx SEソフトウェアとSMTPサーバーの接続\(79ページ\)](#)を参照してください。

2. [To (宛先)]テキストボックスに、ラン完了を通知する予定の各ユーザーのEメールアドレスを入力します。ランが完了すると、すべての受信者にEメールが送信されます。

注: 各Eメールアドレスは別々の行に入力する必要があります。各アドレスの後ろでEnterキーまたはReturnキーを押します。

3. (オプション) [cc]テキストボックスに、各Eメール通知のコピーを送信する予定の受信者のEメールアドレスを入力します。
4. (オプション)デフォルトで、すべての受信者がデータファイルのコピーを添付ファイルとして受け取ります。データファイルのコピーを添付しない場合は、このチェックボックスをオフにします。
5. (オプション) [Attach Analysis Report (解析レポートの添付)]を選択して、解析レポートのPDFをEメールに添付します。
6. [OK]をクリックして変更を保存し、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを閉じます。

受信者のEメールアドレスを編集するには

- ▶ 必要に応じてEメールアドレスを変更し、[OK]をクリックします。

Eメール受信者を削除するには

1. Eメール受信者を選択し、Deleteキーを押します。
2. [OK]をクリックして変更を保存し、ダイアログボックスを閉じます。

重要: [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、[Restore Defaults (デフォルトに戻す)]をクリックすると、すべてのタブのすべての設定が工場出荷時設定にリセットされます。このボタンをクリックするときは注意が必要です。

CFX Maestro Dx SEソフトウェアとSMTPサーバーの接続

重要:一部の商用ウェブメールサービスプロバイダー(Yahoo!やGmailなど)では、Eメールのセキュリティが強化されています。これらのアカウントを使用する場合は、アカウント設定で**[Allow less secure apps (安全性の低いアプリを許可する)]**設定を有効にして、CFX Maestro Dx SEでEメールを送信できるようにします。詳細については、ご使用のウェブメールサービスプロバイダーのセキュリティ情報を参照してください。

ソフトウェアでEメール通知を送信する前に、CFX Maestro Dx SEからEメールサーバーへの接続を確立する必要があります。

CFX Maestro Dx SEとEメールサーバーを接続するには

1. 次のいずれかを実行します。

- [User (ユーザー)] > [User Preferences (ユーザー設定)]を選択し、[Email (Eメール)]タブで [Configure Outgoing Email (送信Eメールの構成)]をクリックします。
- [Tools (ツール)] > [Options (オプション)]を選択します。

[Options (オプション)]ダイアログボックスが開いて、[Email (Eメール)]タブが表示されます。

2. 会社に関する以下の情報を指定します。

- **SMTP Server Name (SMTPサーバー名)** — 会社の送信Eメールサーバーの名前。
- **Port (ポート)** — SMTPサーバーのポート番号。通常は25です。
- **Use SSL (SSLを使用)** — セキュアソケットレイヤー(SSL)オプション。一部のSMTPサーバーにはこの設定が必要です。会社でこの設定が必要ない場合は、このチェックボックスをオフにします。

- **Use Default “From” Address (デフォルトの「送信元」アドレスを使用)** — 会社のEメールサーバーの名前。一部のSMTPサーバーでは、送信されるすべてのEメールに、特定のドメイン (name@YourCompany.comなど)からの「送信元」アドレスを割り当てる必要があります。その場合は、このチェックボックスをオフにして、有効なEメールアドレスを入力してください。
 - **Authentication Required (認証が必要)** — サイトでアカウント認証が必要な場合は、このチェックボックスがオンになっていることを確認してください。
 - **User Name (ユーザー名)** — 認証されるアカウントの名前。これは、[Authentication Required (認証が必要)]がオンになっている場合にのみ必要です。
 - **Password (パスワード)** — 認証されるアカウントのパスワード。これは、[Authentication Required (認証が必要)]がオンになっている場合にのみ必要です。
3. SMTPサーバーの設定が正しいことを確認するには、[Test Email Address (Eメールアドレスのテスト)]テキストボックスに有効なEメールアドレスを入力し、[Test Email (Eメールのテスト)]をクリックします。
- 注:** SMTPサーバーによっては、添付ファイルが許可されない場合や、特定のサイズまでの添付ファイルのみが許可される場合があります。CFX Maestro Dx SEを使用してデータファイルおよび/またはレポートをEメールで送信する予定の場合は、[Test Attachment (添付ファイルのテスト)]を選択し、[Attachment Size in MB (添付ファイルサイズ(MB))]を5メガバイト(MB)以上に設定します。
4. [OK]をクリックして変更を保存し、ダイアログボックスを閉じます。

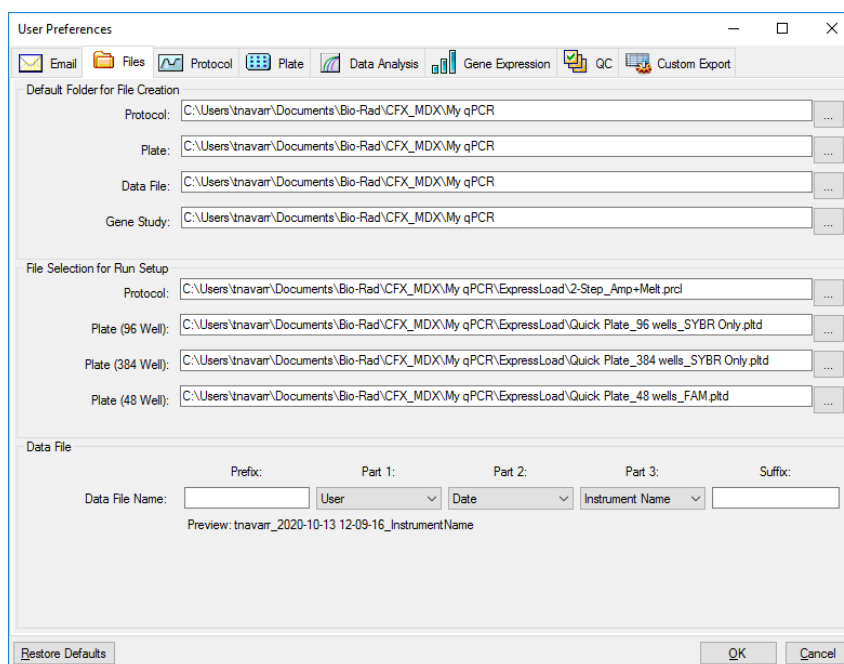
デフォルトのファイル設定の変更

[User Preference (ユーザー設定)]ダイアログボックスの[Files (ファイル)]タブで、以下を変更できます。

- CFX Maestro Dx SEファイルを保存するデフォルトの場所
- ランのセットアップ用のデフォルトのファイル
- デフォルトのファイル命名パラメータ

デフォルトのファイル設定を変更するには

1. [Users (ユーザー)] > [User Preferences (ユーザー設定)]を選択して、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを開きます。
2. [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、[Files (ファイル)]タブを選択します。



3. [Default Folder for File Creation (ファイル作成用のデフォルトのフォルダ)]セクションで、新しいファイルを保存する既定のフォルダに移動して選択します。ファイルタイプごとに異なる場所を選択できます。
 - プロトコル
 - プレート
 - データファイル
 - Gene Study
4. [File Selection for Run Setup (ランのセットアップ用のファイル選択)]セクションで、[Experiment Setup (実験セットアップ)]ウィンドウを開いたときに表示されるターゲットのプロトコルファイルとプレートファイルに移動して選択します。
5. [Data File (データファイル)]セクションで、データファイルの接頭語および/または接尾語を定義します。それぞれの部分で、そのドロップダウンリストから新しい値を選択します。[Prefix (接頭語)]および[Suffix (接尾語)]テキストボックスで、カスタムの接頭語と接尾語の値を指定することもできます。

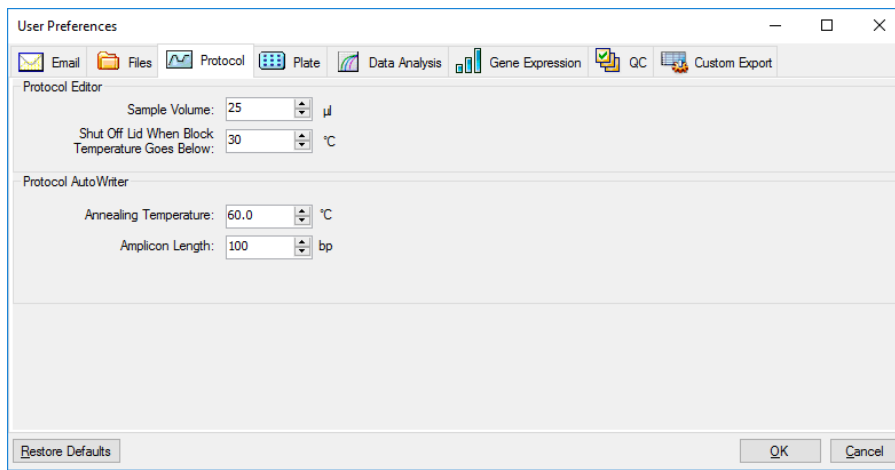
CFX Maestro Dx SEの選択ボックスの下にファイル名のプレビューが表示されます。
6. [OK]をクリックして変更を保存し、ダイアログボックスを閉じます。

重要: [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、[Restore Defaults (デフォルトに戻す)]をクリックすると、すべてのタブのすべての設定が工場出荷時設定にリセットされます。このボタンをクリックするときは注意が必要です。

デフォルトのプロトコルパラメータの設定

Protocol EditorとProtocol AutoWriterのデフォルトのプロトコルパラメータを設定するには

1. [Users (ユーザー)] > [User Preferences (ユーザー設定)]を選択して、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを開きます。
2. [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、[Protocol (プロトコル)]タブを選択します。



3. [Protocol Editor]セクションで、Protocol Editorに表示される次の設定の値を指定します。
 - **Sample volume (サンプル容量)** — ウェル内の各サンプルの容量(µl)。
 - **Lid Shutoff temperature (リッドシャットオフ温度)** — ランの最中にリッドヒーターがオフになる温度(°C)。
4. [Protocol AutoWriter]セクションで、Protocol AutoWriterに表示される次の設定の値を指定します。
 - **Annealing temperature (アニーリング温度)** — iProof DNAポリメラーゼ、iTaQ DNAポリメラーゼ、またはその他のポリメラーゼを使用する実験の温度(°C)。
 - **Amplicon length (アンプリコンの長さ)** — アンプリコンの長さ(bp)。
5. [OK]をクリックして変更を保存し、ダイアログボックスを閉じます。

重要: [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、[Restore Defaults (デフォルトに戻す)]をクリックすると、すべてのタブのすべての設定が工場出荷時設定にリセットされます。このボタンをクリックするときは注意が必要です。

デフォルトのプレートパラメータの設定

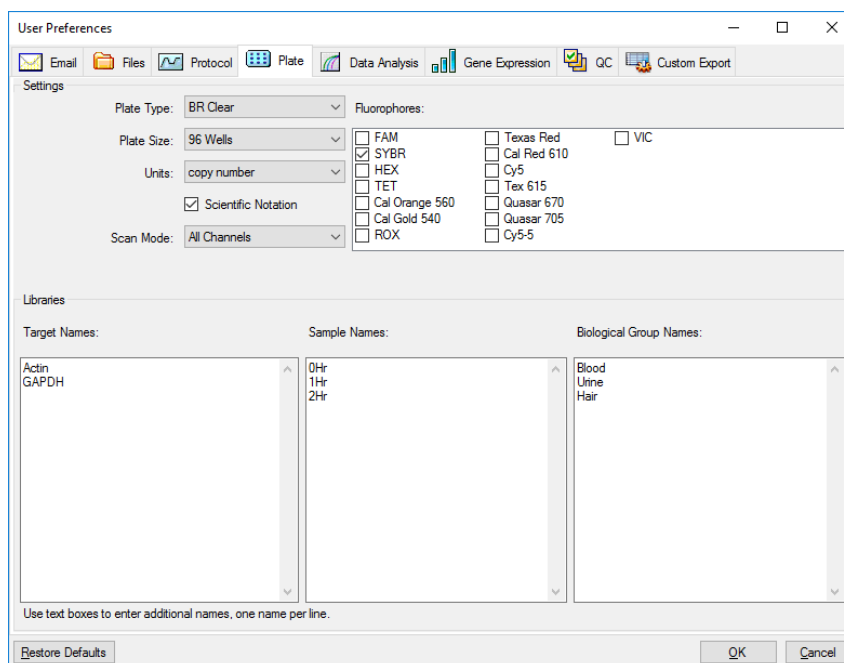
[Plate (プレート)]タブに加えた変更は、ソフトウェアのすべてのユーザーが利用できます。プレートのセットアップ中に行った変更は、プレートファイルを保存して閉じた後に、ユーザーが利用できます。

[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、次の操作を実行できます。

- デフォルトのプレートパラメータを設定します。
- 新しいターゲット、サンプル、および生物学的グループの名前をそれぞれのライブラリに追加します。
- それぞれのライブラリからターゲット、サンプル、および生物学的グループの名前を削除します。

デフォルトのプレートパラメータを設定するには

1. [Users (ユーザー)] > [User Preferences (ユーザー設定)]を選択して、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを開きます。
2. [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、[Plate (プレート)]タブを選択します。



3. 新しいプレートファイルの次の設定の値を指定します。これらの値は、[Plate Editor]ウィンドウに表示されます。

- **Plate type (プレートタイプ)**
- **Plate size (プレートサイズ)**
- **Units (単位)** — 標準を含むウェルの開始テンプレートの濃度。

CFX Maestro Dx SEでは、これらの単位を使用して、[Data Analysis Quantification (データ解析の定量化)]タブで標準曲線が作成されます。

- **Scientific notation (指数表記)** — オンにすると、CFX Maestro Dx SEに濃度単位が指数表記で表示されます。
- **Scan mode (スキャンモード)** — ランの最中にスキャンするチャンネルの数またはタイプ。
- **Fluorophores (蛍光色素)** — Plate Editorのウェルローディングコントロールに表示されるデフォルトの蛍光色素。
- **Libraries (ライブラリ)** — 実験で一般的に使用されるターゲット、サンプル、および生物学的グループの名前。
 - **Target names (ターゲット名)** — ターゲットの遺伝子と配列の名前。
 - **Sample names (サンプル名)** — 実験サンプルの名前またはサンプルの識別特性(Mouse1、Mouse2、Mouse3など)。
 - **Biological group names (生物学的グループ名)** — 同じ治療状態または条件(0Hr、1Hr、2Hrなど)を持つ類似サンプルのグループの名前。

4. [OK]をクリックして変更を保存し、ダイアログボックスを閉じます。

新しいターゲット、サンプル、または生物学的グループの名前を追加するには

- ▶ 適切なライブラリボックスに、ターゲット、サンプル、または生物学的グループの名前を入力し、[OK]をクリックします。

ターゲット、サンプル、または生物学的グループの名前を削除するには

- ▶ 適切なライブラリボックスで、名前を選択してDeleteキーを押し、[OK]をクリックします。

重要: ライブラリから削除した名前はソフトウェアから削除され、ユーザーは使用できなくなります。デフォルトのCFX Maestro Dx SE名に戻すには、[Restore Defaults (デフォルトに戻す)]をクリックします。[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、[Restore Defaults (デフォルトに戻す)]をクリックすると、すべてのタブのすべての設定が工場出荷時設定にリセットされます。デフォルトのCFX Maestro Dx SE名を削除するときやこのボタンをクリックするときは注意が必要です。

デフォルトのデータ解析パラメータの設定

デフォルトのデータ解析パラメータを設定するには

- [Users (ユーザー)] > [User Preferences (ユーザー設定)]を選択して、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを開きます。
- [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、[Data Analysis (データ解析)]タブを選択します。
- [Analysis Mode (解析モード)]セクションで、データを解析するモード([Fluorophore (蛍光色素)]または[Target (ターゲット)])を選択します。
- [PCR Quantitation (PCR定量化)]セクションで、次のオプションのデフォルトパラメータを設定します。
 - **Baseline Setting (ベースライン設定)** — 解析モードのベースライン手法。
 - **Cq Determination Mode (Cq計算モード)** - 各蛍光トレース(回帰法または単一しきい値)のC_q値が計算されるモード。
 - **Threshold Calc. Mode (しきい値計算モード)** — エンドポイントターゲット量。
デフォルトは[Auto (自動)]です。つまり、ソフトウェアはエンドポイントターゲットを自動的に計算します。特定のしきい値を設定するには、[Auto (自動)]チェックボックスをオフにして、相対蛍光単位(またはRFU)で計算されたエンドポイント量を入力します。最大値は65000.00 RFUです。後続のラン用のデータファイルでは、このしきい値設定が使用されます。
 - **Baseline Calc.Mode (ベースライン計算モード)** — すべてのトレースのベースライン値。
デフォルトは[Auto (自動)]です。つまり、ソフトウェアはすべてのトレースのベースラインを自動的に計算します。特定のベースライン値を設定するには、[Auto (自動)]チェックボックスをオフにして、サイクル範囲(1~9999)の最小値と最大値を入力します。後続のラン用のデータファイルでは、このサイクル範囲が使用されます。
 - **Log View (ログ表示)** — ソフトウェアによる増幅データの表示方法を決定します。
 - On (オン)** — 増幅データは片対数グラフで表示されます。
 - Off (オフ)** — (デフォルト)増幅データは線形グラフで表示されます。
- [End Point (エンドポイント)]セクションで、エンドポイント計算を実施するときに平均化するエンドサイクル数を選択します。
 - **PCR** — 定量化データとして平均化するエンドサイクル数(デフォルトは5)。
 - **End Point Only run (エンドポイントのみのラン)** — エンドポイントデータとして平均化するエンドサイクル数(デフォルトは2)。
- [Melt Curve (融解曲線)]セクションで、検出するピークタイプを選択します(正または負)。

7. [Well Selector (ウェルセレクター)]セクションで、ウェルラベルの表示方法を選択します(サンプルタイプ、ターゲット名、またはサンプル名で)。
8. [OK]をクリックして変更を保存し、ダイアログボックスを閉じます。

重要: [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、[Restore Defaults (デフォルトに戻す)]をクリックすると、すべてのタブのすべての設定が工場出荷時設定にリセットされます。このボタンをクリックするときは注意が必要です。

デフォルトの遺伝子発現データファイルパラメータの設定

新しい遺伝子発現データファイルのデフォルトパラメータを設定するには

1. [Users (ユーザー)] > [User Preferences (ユーザー設定)]を選択して、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを開きます。
2. [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、[Gene Expression (遺伝子発現)]タブを選択します。
3. 次の設定の値を指定します。
 - **Relative to (相対)** — 対照(1から始まる)または0を基準にした遺伝子発現データをグラフ化します。
 - **Zero (ゼロ)** — ソフトウェアは対照を無視します。これは、[Experiment Settings (実験設定)]ウィンドウで対照サンプルが割り当てられていない場合のデフォルトです。
 - **Control (対照)** — ソフトウェアは、[Experiment Setup (実験セットアップ)]ウィンドウで割り当てられた対照サンプルを基準にしたデータを計算します。
 - **X-axis (X軸)** — X軸上でサンプルまたはターゲットをグラフ化します。
 - **Y-axis (Y軸)** — Y軸上で線形、log2、またはlog10スケールをグラフ化します。
 - **Scaling (スケーリング)** — グラフのスケーリングオプション(デフォルトオプションはスケーリングされません)。
 - **Highest (最高)** — ソフトウェアはグラフを最高のデータ点にスケーリングします。
 - **Lowest (最低)** — ソフトウェアはグラフを最低のデータ点にスケーリングします。
 - **Unscaled (非基準化)** — ソフトウェアはグラフにスケーリングされていないデータを表示します。
 - **Mode (モード)** — 相対量(ΔC_q)または正規化発現($\Delta\Delta C_q$)の解析モード。
 - **Error Bar (エラーバー)** — 標準偏差(Std.Dev.)または平均の標準誤差(Std.Error Mean)としてデータの変動を示します。
 - **Error Bar Multiplier (エラーバー乗数)** — エラーバーのグラフ化に使用される標準偏差乗数(デフォルトは1)。
乗数を2または3に増やすことができます。

■ **Sample Types to Exclude (除外するサンプルタイプ)** — 解析から除外するサンプルタイプ。

解析から除外する1つ以上のサンプルを選択できます。すべてのサンプルタイプを除外するには、選択したサンプルタイプのチェックボックスをオフにします。

4. [OK]をクリックして変更を保存し、ダイアログボックスを閉じます。

重要: [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、[Restore Defaults (デフォルトに戻す)]をクリックすると、すべてのタブのすべての設定が工場出荷時設定にリセットされます。このボタンをクリックするときは注意が必要です。

品質管理ルールのカスタマイズ

CFX Maestro Dx SEで、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウのデータに適用される品質管理ルールを設定できます。ソフトウェアが、設定されたルールに対してデータを検証します。

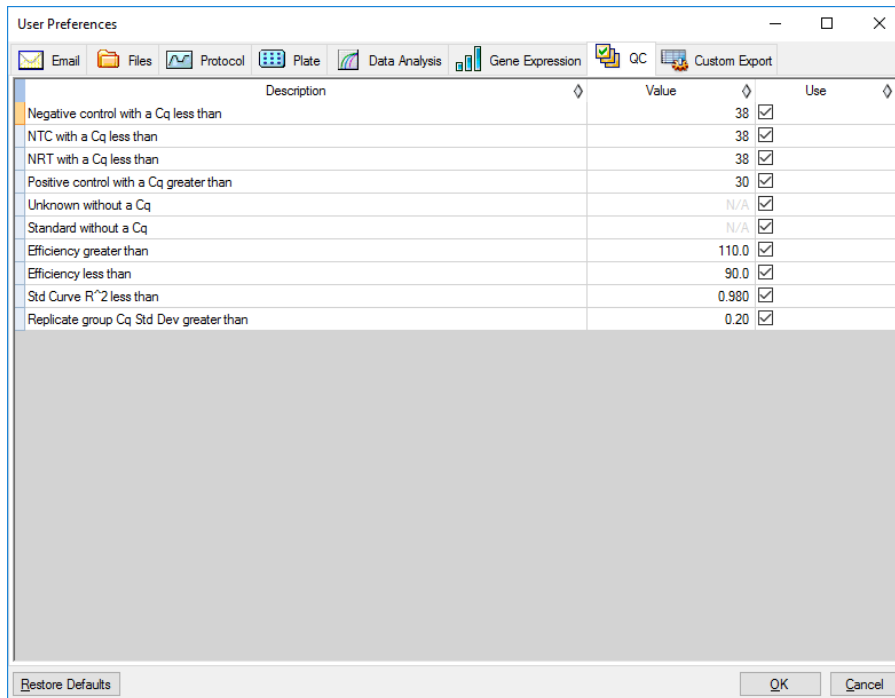
注: デフォルトで、すべての品質管理ルールが有効になっています。

ヒント: QCパラメータを満たさないウエルを、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウのQCモジュール内の解析から容易に除外できます。

品質管理ルールをカスタマイズするには

1. [Users (ユーザー)] > [User Preferences (ユーザー設定)]を選択して、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを開きます。
2. [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、[QC]タブを選択します。

第6章 [Home (ホーム)]ウィンドウ



説明:

- **NTC** — テンプレートコントロールなし
 - **NRT** — 逆転写酵素コントロールなし
 - **Efficiency (効率)** — 反応効率
 - **Std Curve R² (検量線R²)** — 検量線のR二乗値
 - **Replicate group Cq Std Dev (レプリケートグループCq標準偏差)** — レプリケートグループごとに計算された標準偏差
3. QCルールごとに、次のいずれかを実行します。
 - デフォルト値を使用するには、何もしません。
 - 値を変更するには、[Value (値)]テキストボックスをクリックして、新しい値を入力し、Enterキーを押します。
 - ルールを無効にするには、[Use (使用)]チェックボックスをオフにします。
 4. [OK]をクリックして変更を保存し、ダイアログボックスを閉じます。

重要: [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、[Restore Defaults (デフォルトに戻す)]をクリックすると、すべてのタブのすべての設定が工場出荷時設定にリセットされます。このボタンをクリックするときは注意が必要です。

データエクスポートパラメータのカスタマイズ

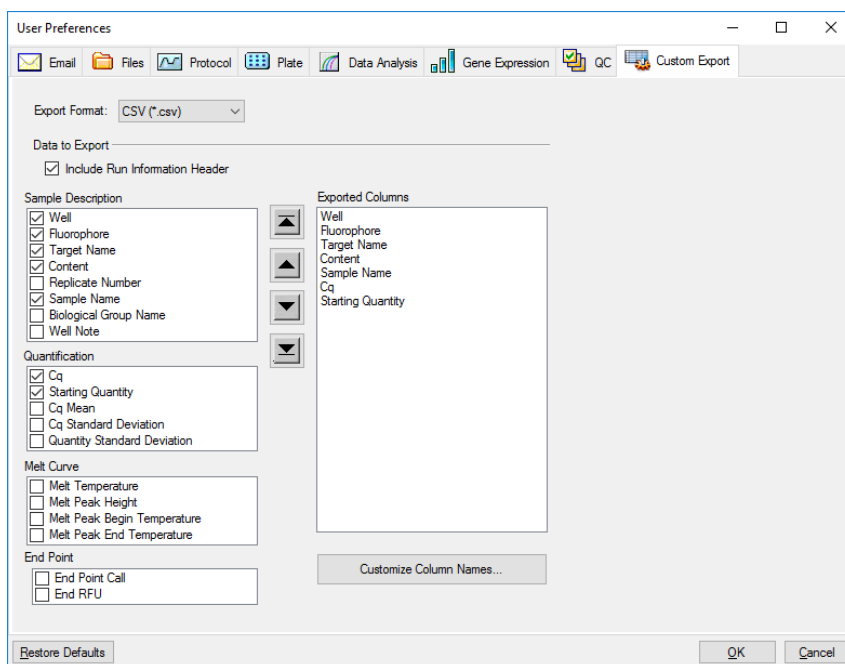
CFX Maestro Dx SEデータを以下の形式でエクスポートできます。

- テキスト(.txt)
- CSV (.csv)
- Excel (.xls、.xlsx)
- XML (.xml)
- HTML (.html)

エクスポートするデータのタイプを指定し、エクスポートされたデータの出力をカスタマイズできます。

データエクスポートパラメータをカスタマイズするには

1. [Users (ユーザー)] > [User Preferences (ユーザー設定)]を選択して、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを開きます。
2. [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、[Custom Export (カスタムエクスポート)]タブを選択します。



3. [Export Format (エクスポート形式)] ドロップダウンリストで、データをエクスポートする形式を選択します。
4. [Data to Export (エクスポートするデータ)] セクションで、エクスポートするデータのタイプのチェックボックスをオンまたはオフにします。選択した項目が [Exported Columns (エクスポートされた列)] リストボックスに表示されます。

注: デフォルトで、ラン情報はヘッダーに含まれます。ラン情報を含めない場合は、このチェックボックスをオフにします。

5. 選択した項目の出力表示順序を変更できます。

[Exported Columns (エクスポートされた列)] リストボックスで、項目を強調表示してから、リストの左側にある矢印ボタンをクリックして、項目を上下に移動します。

6. オプションで、選択した項目の出力列名を変更できます。

- a. [Customize Column Names (列名のカスタマイズ)] をクリックします。

[Column Name Customizer] ダイアログボックスが表示されます。

- b. 変更するデフォルトの列名ごとに、[Custom Name (カスタム名)] フィールドに新しい名前を入力します。

- c. 次のいずれかを実行します。

- [OK] をクリックして変更を保存し、[Custom Export (カスタムエクスポート)] タブに戻ります。新しい名前は、[Exported Columns (エクスポートされた列)] リストボックスのデフォルトの列名の横に括弧で囲まれて表示されます。

- [Cancel (キャンセル)] をクリックして変更をクリアし、[Custom Export (カスタムエクスポート)] タブに戻ります。

7. [OK] をクリックして変更を保存し、ダイアログボックスを閉じます。

重要: [User Preferences (ユーザー設定)] ダイアログボックスで、[Restore Defaults (デフォルトに戻す)] をクリックすると、すべてのタブのすべての設定が工場出荷時設定にリセットされます。このボタンをクリックするときは注意が必要です。

第7章 プロトコルの作成

プロトコルは、特定の順序で実行される一連のステップです。CFX Maestro Dx SEソフトウェアでは、すべてのステップが機器のオプションに関連付けられます。たとえば、ステップにより、機器に対してブロックとリッド温度の制御、ブロック間での温度差の適用、プレートリードや融解曲線解析の実施が指示されます。各オプションは、それぞれ異なるプレートおよびランタイプに対して指定されます。

CFX Maestro Dx SEには、プロトコルを作成するための2つのオプションが用意されています。これは、プロトコルエディターとProtocol AutoWriterです。

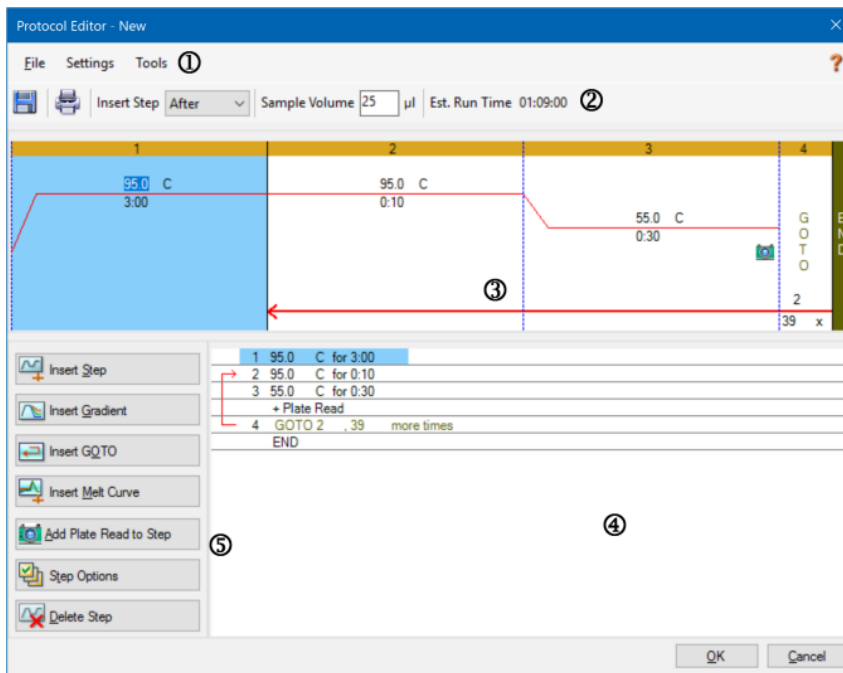
プロトコルエディターには次の機能が備わっています。

- プロトコルを迅速に作成するための標準プロトコルコントロール
- 選択した行数のグラジエントをすばやく計算する機能
- 選択したプレートタイプのラン時間をすばやく計算する機能
- プロトコルステップを編集する機能
- プロトコルを再利用できるように保存する機能
- プロトコルをデフォルトのプリンターに印刷する機能

Protocol AutoWriterは、指定されたパラメータを使用して、ホットスタート、初期変性、アニーリング、および伸長の各ステップを含むカスタマイズされたPCRプロトコルを自動的に生成します。生成された推奨プロトコルをグラフで表示して、プロトコルを編集、実行、または保存できます。

[Protocol Editor (プロトコルエディター)]ウィンドウ

プロトコルエディターを使用して、プロトコルを開いたり、作成、確認、編集したりします。デフォルトでは、プロトコルエディターには96ウェルプレート用の一般的なリアルタイム2ステッププロトコルが表示されます。



凡例

1. メニューバーから、[File (ファイル)]、[Settings (設定)]、および[Tools (ツール)]メニューコマンドにすばやくアクセスできます。

2. ツールバーを使用して、プロトコルの保存や印刷、ステップを挿入する場所の指定、サンプル容量の設定、およびプロトコルの推定ラン時間の表示などを簡単に行うことができます。

3. メインペインには、プロトコルのグラフィック表現が表示されます。

4. 下部のペインには、プロトコルのアウトラインが表示されます。

5. 左側のペインには、プロトコルをカスタマイズするために追加できるプロトコルコントロールが表示されます。

[File (ファイル)]メニューのコマンド

Save (保存) — 現在のプロトコルを保存します。

Save As (名前を付けて保存) — 現在のプロトコルを新しい名前で作成するか、新しい場所に保存します。

File Passwords (ファイルパスワード) — ファイルを保存する際および開く際に使用するパスワードを設定できます。

ヒント: 詳細については、[ファイルのパスワード保護\(46ページ\)](#)を参照してください。

Close (閉じる) — プロトコルエディターを閉じます。

[Settings (設定)]メニューコマンド

Lid Settings (リッドの設定) — [Lid Settings (リッドの設定)]ダイアログボックスが開きます。このダイアログボックスで、リッドの温度を変更または設定できます。

[Tools (ツール)]メニューのコマンド

Gradient Calculator (グラジエント計算機) — グラジエントステップのブロックタイプを選択するためのダイアログボックスが開きます。デフォルトは96ウェルです。

Run time Calculator (ラン時間計算機) — プレートタイプとスキャンモードを選択するためのダイアログボックスが開きます。これらの選択に基づいて[Run Setup (ランの設定)]ウィンドウで推定ラン時間が計算されます。デフォルトは96ウェルおよび全チャンネルです。

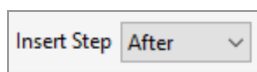
ツールバーのコマンド



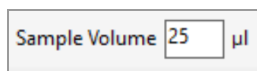
—現在のプロトコルファイルを保存します。



—選択したウィンドウを印刷します。

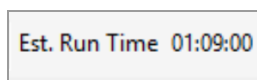


—このコマンドを使用して、現在選択されているステップを基準とした、ステップを挿入する相対位置を選択します。



—このコマンドを使用して、サンプル容量(µl)を入力します。サンプル容量は、ブロックのタイプによって異なります。

- 96ウェルブロックの場合は0～50 µlです。
- 384ウェルブロックの場合は0～30 µlです。



—プロトコルステップ、ランプレート、および選択されているブロックのタイプに基づいた推定ラン時間を表示します。

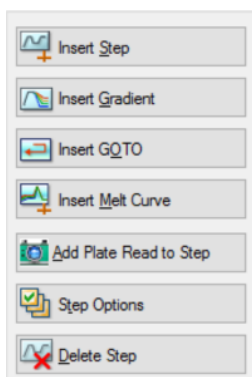


—プロトコルに関するヘルプ情報を表示します。

プロトコル編集コントロール

[Protocol Editor (プロトコルエディター)]ウィンドウの左側のペインには、プロトコルを作成する際に使用できるコントロールが含まれています。

各コントロールは、プロトコル内のステップを表す一連のパラメータで構成されています。各パラメータを変更し、それを追加または削除して、プロトコルをカスタマイズできます。このセクションでは、各コントロールで使用できるオプションについて説明します。



- **Insert Step (ステップの挿入)** — 選択したステップの前または後にステップを挿入します。プロトコルのグラフィック表示またはプロトコルアウトラインのいずれかで、温度と保持時間の値を編集できます。
- **Insert Gradient (グラジエントの挿入)** — グラジエント計算機で選択されたウェルブロックのタイプに基づいて、グラジエントステップを挿入します。グラジエントステップを挿入すると表示される[Gradient (グラジエント)]ペインで、グラジエント範囲を編集できます。
- **Insert GOTO (GOTOの挿入)** — サイクリング(ループ)ステップを挿入します。これにより、ソフトウェアは指定されたサイクル数だけ、指定のステップを順次繰り返します。繰り返しは、最初のサイクルが完了した後に開始されます。たとえば、ステップ2からステップ4を39回繰り返すように指定できます。この場

合、最後の繰り返しの後、ソフトウェアはステップ2からステップ4を合計40回実施したことになります。グラフィック表示またはプロトコルアウトランのいずれかで、戻り(GOTO)ステップとサイクル数を編集できます。

- **Insert Melt Curve (融解曲線の挿入)** - 融解曲線リードステップを挿入します。
- **Insert Plate Read to Step (ステップにプレートリードを挿入)** — 選択したステップにプレートリードコマンドを追加します。プレートリードにより、サイクルの終了時に蛍光色素の量が測定されます。通常、プレートリードステップはGOTOループの最後のステップになります。

ヒント: プレートリードコマンドをステップに追加した後は、ステップを選択する際のボタンが[Remove Plate Read (プレートリードの削除)]に変わります。

- **Remove Plate Read (プレートリードの削除)** — 選択したステップからプレートリードコマンドを削除します。

ヒント: プレートリードコマンドをステップから削除した後は、ステップを選択する際のボタンが[Add Plate Read to Step (プレートリードをステップに追加)]に変わります。

- **Step Options (ステップオプション)** — [Step Options (ステップオプション)]ダイアログボックスが開き、選択したステップで使用できるオプションが表示されます。ステップオプションの詳細については、[ステップオプション \(95ページ\)](#)を参照してください。

ヒント: グラフィック表示でステップを右クリックして、ステップオプションにアクセスすることもできます。

- **Delete Step (ステップの削除)** — 選択したステップをプロトコルから削除します。

ステップオプション

[Step Options (ステップオプション)]ダイアログボックスを開くと、追加、変更、または削除できるステップオプションが表示されます。

- **Plate Read (プレートリード)** — 選択すると、プレートリードがステップに追加されます。
- **Temperature (温度)** — 選択したステップのターゲット温度を設定します。
- **Gradient (グラジエント)** — ステップのグラジエント範囲を設定します。範囲は1～24°Cです。

注: グラジエントのランは、ブロックの前方(画像ではH行)では最低温度、ブロックの後方(画像ではA行)では最高温度で実行されます。

- **Increment (増分)** — 選択したステップの温度を増分(または減分)する量。サイクルごとに、この増分値がターゲット温度に追加されます。範囲は $\pm 0.1 \sim 10^{\circ}\text{C}$ です。
注: 温度を減分するには、数値の前にマイナス記号(-)を入力します(たとえば、 -5°C)。
- **Ramp Rate (ランプレート)** — 選択したステップのランプレート。範囲はブロックサイズによって異なります。
- **Time (時間)** — 選択したステップの保持時間。
- **Extend (延長)** — 選択したステップを延長または短縮する時間(秒単位)。このオプションは、各サイクルの保持時間に追加されます。範囲は $\pm 1 \sim 60$ 秒です。
- **Beep (ビープ音)** — 選択すると、ステップ中にビープ音が鳴ります。
ヒント: オプションの範囲外の数値を入力した場合は、範囲内で最も近い数値に変更されます。

プロトコルエディターでのプロトコルの作成

プロトコルエディターを使用して、カスタムプロトコルファイルを作成できます。以前に保存したプロトコルファイルまたはCFX Maestro Dx SEに付属のサンプルプロトコルファイルを編集して保存することもできます。

新しいプロトコルファイルを作成するには、次の手順に従います。

- プロトコルエディターでプロトコルファイルを開きます。
ヒント: プロトコルエディターで新規または既存のプロトコルを開くことができます。
- 新しいプロトコルを設定します。
- プロトコルコントロールペインで、プロトコルにステップを追加します。
- ステップのプロパティを編集します。
- プロトコルを保存します。

ヒント: 以前に保存したプロトコルファイルまたはサンプルプロトコルファイルから新しいプロトコルを作成するには、[プロトコルエディターで既存のプロトコルを開く\(99ページ\)](#)を参照してください。

プロトコルエディターで新しいプロトコルファイルを開く

CFX Maestro Dx SEには、新しいプロトコルファイルを開くための複数のオプションが用意されています。

- ホームウィンドウの[File (ファイル)]メニューを使用
- ホームウィンドウの[Run Setup (ランの設定)]ダイアログボックスを使用
- ホームウィンドウの[Startup Wizard (スタートアップウィザード)]ダイアログボックスを使用

[File (ファイル)]メニューから新しいプロトコルファイルを開くには

- ▶ ホームウィンドウで、[File (ファイル)] > [New (新規)] > [Protocol (プロトコル)]を選択します。
 [Protocol Editor (プロトコルエディター)]ウィンドウが開き、デフォルトのプロトコルファイルが表示されます。

ヒント: デフォルトのプロトコルファイルを設定する方法については、[デフォルトのファイル設定の変更\(80ページ\)](#)を参照してください。

[Run Setup (ランの設定)]ダイアログボックスから新しいプロトコルファイルを開くには

1. ホームウィンドウで、次のいずれかの操作を行って[Run Setup (ランの設定)]ダイアログボックスを開きます。
 - [Run (ラン)] > [User-defined Run (ユーザー定義ラン)]を選択します。
 - ツールバーの[User-defined Run Setup (ユーザー定義ランの設定)]をクリックします。

[Run Setup (ランの設定)]ダイアログボックスが開き、[Protocol (プロトコル)]タブにデフォルトのプロトコルファイルが表示されます。

2. [Create New (新規作成)]をクリックします。

[Protocol Editor (プロトコルエディター)]ウィンドウが開き、デフォルトのリアルタイムプロトコルが表示されます。

スタートアップウィザードから新しいプロトコルファイルを開くには

1. ホームウィンドウで、スタートアップウィザードが表示されていない場合は、次のいずれかの操作を行ってウィザードを開きます。

- [View (表示)] > [Startup Wizard (スタートアップウィザード)]を選択します。
- ツールバーの[Startup Wizard (スタートアップウィザード)]をクリックします。

デフォルトでは、スタートアップウィザードが開き、機器のタイプとしてCFX96機器が選択された状態の[Run setup (ランの設定)]タブが表示されます。

2. 必要に応じて、ドロップダウンリストから機器タイプを選択します。
3. ランタイプとして[User-defined (ユーザー定義)]をクリックします。

[Run Setup (ランの設定)]ダイアログボックスが開き、[Protocol (プロトコル)]タブにデフォルトのプロトコルファイルが表示されます。

4. [Create New (新規作成)]をクリックします。

[Protocol Editor (プロトコルエディター)]ウィンドウが開き、デフォルトのリアルタイムプロトコルが表示されます。

[Run (ラン)]メニューから新しいプロトコルを開くには

1. ホームウィンドウで、次のいずれかの操作を行って[Run Setup (ランの設定)]ダイアログボックスを開きます。

- [Run (ラン)] > [User-defined Run (ユーザー定義ラン)]を選択します。
- ツールバーの[User-defined Run Setup (ユーザー定義ランの設定)]をクリックします。

[Run Setup (ランの設定)]ダイアログボックスが開き、[Protocol (プロトコル)]タブにデフォルトのプロトコルファイルが表示されます。

2. [Create New (新規作成)]をクリックします。

[Protocol Editor (プロトコルエディター)]ウィンドウが開き、デフォルトのリアルタイムプロトコルが表示されます。

プロトコルエディターで既存のプロトコルを開く

CFX Maestro Dx SEに用意されているサンプルプロトコルファイルを編集して、新しいプロトコルとして保存できます。既存のカスタムプロトコルから新しいプロトコルを作成することもできます。

サンプルプロトコルファイルを開くには

1. ホームウィンドウで、[File (ファイル)] > [Open (開く)] > [Protocol (プロトコル)]を選択します。
デフォルトでは、WindowsエクスプローラーでCFX Maestro Dx SEサンプルファイルフォルダが開きます。
2. サンプルファイルフォルダを開きます。次のフォルダが表示されます。
 - **ConventionalProtocols** — 従来のPCR解析用のサンプルプロトコルファイルが格納されています。
 - **DataFiles** — CFX Maestro Dx SEの機能を探索するために使用できるサンプルデータファイルが格納されています。
 - **MeltCalibration** — Bio-RadのPrecision Melt Analysisソフトウェアで使用するサンプルプロトコルファイルが格納されています。
 - **Plates** — サンプルプレートファイルが格納されています。
 - **RealTimeProtocols** — リアルタイムPCR解析用のサンプルプロトコルファイルが格納されています。
3. 実行するランのタイプに対応するプロトコルフォルダ(ConventionalProtocolsまたはRealTimeProtocols)を開きます。
4. 任意のプロトコルを選択し、[Open (開く)]をクリックします。
[Protocol Editor (プロトコルエディター)]ウィンドウでサンプルプロトコルが開きます。
5. [File (ファイル)] > [Save As (名前を付けて保存)]を選択し、プロトコルを新しい名前で保存するか、新しいフォルダに保存します。

既存のプロトコルを開くには

1. ホームウィンドウで、次のいずれかの操作を行います。
 - [File (ファイル)] > [Open (開く)] > [Protocol (プロトコル)]を選択し、ターゲットプロトコルに移動してそのプロトコルを選択し、[Open (開く)]をクリックします。
 - スタートアップウィザードを開き、次のいずれかの操作を行います。
 - 表示されたプロトコルを編集するには、[Edit Selected (選択内容を編集)]をクリックします。
 - 別の既存のプロトコルを編集するには、[Select Existing (既存のものを選択)]をクリックし、ターゲットファイルに移動します。
- [Protocol Editor (プロトコルエディター)]ウィンドウでプロトコルが開きます。

2. [File (ファイル)] > [Save As (名前を付けて保存)]を選択し、プロトコルを新しい名前で保存するか、新しいフォルダに保存します。

新しいプロトコルの設定

ヒント: プロトコルファイルに必須パラメータが含まれている場合 (たとえば、既存のプロトコルファイルを編集している場合)、このセクションをスキップできます。[プロトコルへのステップの追加 \(102ページ\)](#)に進んでください。

新しいプロトコルファイルには、次のパラメータが必要です。

- ブロックタイプ
- 選択したブロックタイプのスキャンモード
- リッドの温度
- サンプル容量

ブロックタイプの設定

CFX Maestro Dx SEは、ブロックタイプに基づいて、グラジエントステップの温度増分値を自動的に計算します。

注: プロトコルエディターで設定するプレートタイプは、リアクションモジュール内のプレートと同じタイプでなければなりません。

ブロックタイプを設定するには

- ▶ [Protocol Editor (プロトコルエディター)]ウィンドウで、[Tools (ツール)] > [Gradient Calculator (グラジエント計算機)]を選択し、表示されるドロップダウンリストで該当するプレートタイプを選択します。

選択したブロックタイプのスキャンモードの選択

プロトコルのラン時間を決定するには、ターゲットのブロックタイプとスキャンモードを選択します。

ブロックタイプとスキャンモードを選択するには

- ▶ [Protocol Editor (プロトコルエディター)]ウィンドウで、[Tools (ツール)] > [Run time Calculator (ラン時間計算機)]を選択し、表示されるドロップダウンリストで該当するプレートタイプとスキャンモードを選択します。

リッド温度の調整

CFX Maestro Dx SEでは、デフォルトのリッド温度を次のように設定します。

- 96ウェル機器—105.0°C
- 384ウェル機器—95.0°C

必要に応じて、プロトコルのリッドヒーターのデフォルト設定を変更したり、リッドヒーターをオフにしたりできます。

リッド温度を調整するには

1. [Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウで、[Settings (設定)] > [Lid Settings (リッドの設定)]を選択します。

[Lid Settings (リッドの設定)]ダイアログボックスが表示されます。

2. 次のいずれかを実行します。
 - [User Defined (ユーザー定義)]を選択し、テキストボックスに温度値を入力します。
 - [Turn Off Lid Heater (リッドヒーターオフ)]を選択します。
3. [OK]をクリックして変更を受け入れ、ダイアログボックスを閉じます。

サンプル容量の設定

デフォルトでは、CFX Maestro Dx SEは各ウェルのサンプル容量を25 µlに設定します。サンプル容量は、ブロックのタイプによって異なります。次に例を示します。

- 96ウェルブロックの場合は0～50 µl
- 384ウェルブロックの場合は0～30 µl

機器は、2つの温度制御モードのいずれかを使用して、プロトコルでサンプルがターゲット温度に到達したタイミングを判断します。

- **計算モード** — サンプル容量がブロックに適したゼロ以外の容量に設定されている場合、機器はサンプル容量に基づいてサンプル温度を計算します。これが標準モードです。
- **ブロックモード** — サンプル容量がゼロ(0) µlに設定されている場合、機器は測定されたブロック温度をサンプル温度として記録します。

特定のブロックのサンプル容量を設定するには

- ▶ [Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウのツールバーで、[Sample Volume (サンプル容量)]テキストボックスに正しい値を入力します。

ヒント: デフォルトのサンプル容量は、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで変更できません。[デフォルトのファイル設定の変更\(80ページ\)](#)を参照してください。

プロトコルへのステップの追加

プロトコルにステップを追加するには

1. [Protocol Editor (プロトコルエディター)]ウィンドウでプロトコルを開きます。
2. 新しいステップを挿入する位置を決めます。ツールバーの[Step (ステップ)]ドロップダウンリストから[Before (前)]または[After (後)]を選択します。
3. グラフで、新しいステップを前または後に挿入するステップを選択します。
4. 左側のペインで、[Insert Step (ステップの挿入)]をクリックします。
5. 温度または保持時間を変更するには、グラフまたはプロトコルのアウトラインのデフォルト値をクリックし、新しい値を入力します。
6. (オプション)左側のペインで、[Step Options (ステップオプション)]をクリックして[Step Options (ステップオプション)]ダイアログボックスを表示し、選択したステップで使用可能なオプションを変更します。

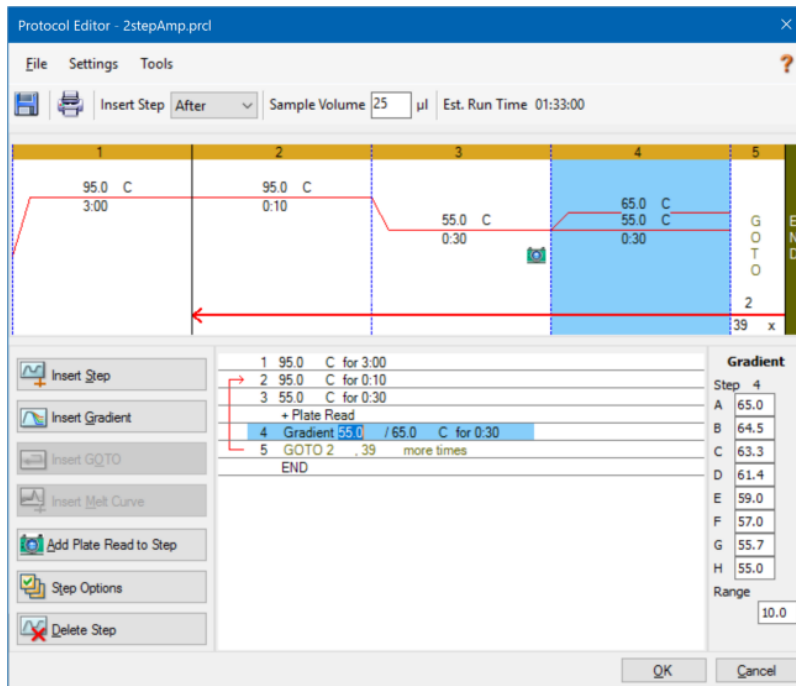
ヒント: グラフペインまたはプロトコルのアウトラインペインのいずれかを右クリックして表示されるメニューでも、[Step Options (ステップオプション)]ダイアログボックスにアクセスできます。

7. [OK]をクリックし、[Yes (はい)]をクリックしてプロトコルの変更を保存します。
[Save As (名前を付けて保存)]ダイアログボックスが表示されます。
8. [Save As (名前を付けて保存)]ダイアログボックスで、新しいプロトコルファイルの名前を入力し、[Save (保存)]をクリックします。

グラジエントステップの挿入

グラジエントステップを挿入するには

1. グラジエントのプレートサイズが機器のブロックタイプ(96ウェルまたは384ウェル)と同じであることを確認します。
2. グラジエントのプレートサイズを選択します(まだ選択していない場合)。
[Tools (ツール)] > [Gradient Calculator (グラジエント計算機)]を選択し、ドロップダウンリストから該当するウェルタイプを選択します。
3. ツールバーの[Insert Step (ステップの挿入)]ドロップダウンリストから[Before (前)]または[After (後)]を選択します。
4. グラフまたはアウトラインペインで、グラジエントステップを前または後に挿入するステップを選択します。
5. 左側のペインで、[Insert Gradient (グラジエントの挿入)]をクリックします。新しいグラジエントステップが、グラフとアウトラインペインで強調表示されます。次に例を示します。



右側のペインの[Gradient (グラジエント)]表に、グラジエントの各行の温度が表示されます。

6. グラジエント温度の範囲を編集するには、次のいずれかの操作を行います。
 - グラフまたはアウトラインペインでデフォルトの温度をクリックし、新しい温度を入力します。
 - [Step Options (ステップオプション)]をクリックし、[Step Options (ステップオプション)]ウィンドウにグラジエント範囲を入力します。
 - [Gradient (グラジエント)]表で[Range (範囲)]の値を変更します。
7. 保持時間を編集するには、グラフィックビューまたはテキストビューでデフォルトの時間をクリック、新しい時間を入力します。
8. [OK]、[Yes (はい)]の順にクリックして変更を保存します。

GOTOステップの挿入

注: GOTOセット内にGOTOステップを挿入することはできません。また、ネストされたGOTOループを作成することもできません。

GOTOステップを挿入するには

1. ツールバーの[Insert Step (ステップの挿入)]ド롭ダウンリストから[Before (前)]または[After (後)]を選択します。
2. グラフで、GOTOステップを前または後に挿入するステップを選択します。
3. 左側のペインで、[Insert GOTO (GOTOの挿入)]をクリックします。
4. GOTOステップ番号またはGOTOの繰り返し回数を編集するには、グラフまたはアウトラインペインでデフォルトの番号を選択し、新しい値を入力します。
5. [OK]、[Yes (はい)]の順にクリックして変更を保存します。

融解曲線ステップの挿入

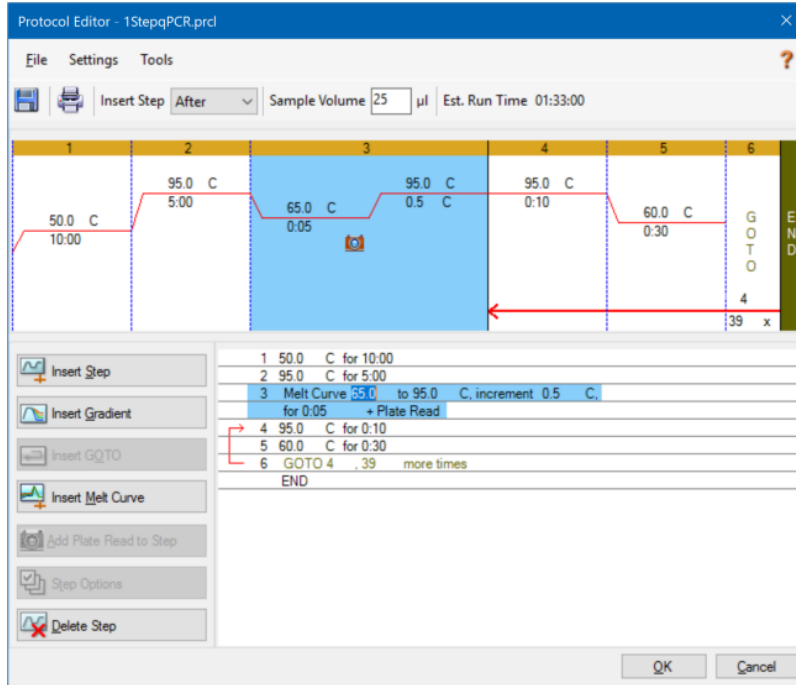
ヒント: GOTOループ内に融解曲線ステップを挿入することはできません。

注: 融解曲線ステップには、ステップの開始時に30秒の保持時間が含まれます。この時間はプロトコルには示されません。

融解曲線ステップを挿入するには

1. ツールバーの[Insert Step (ステップの挿入)]ド롭ダウンリストから[Before (前)]または[After (後)]を選択します。
2. グラフで、融解曲線ステップを前または後に挿入するステップを選択します。

3. 左側のペインで、[Insert Melt Curve (融解曲線の挿入)]をクリックします。新しい融解曲線ステップが、グラフとアウトラインペインで強調表示されます。次に例を示します。



4. 融解温度の範囲または増分時間を編集するには、グラフまたはアウトラインペインでデフォルトの数値を選択し、新しい値を入力します。
5. [OK]、[Yes (はい)]の順にクリックして変更を保存します。

プレートリードステップの追加または削除

ヒント: プレートリードコマンドをステップに追加した後は、ステップを選択する際のボタンが[Remove Plate Read (プレートリードの削除)]に変わります。

ステップにプレートリードを追加するには

1. ツールバーの[Insert Step (ステップの挿入)]ド롭ダウンリストから[Before (前)]または[After (後)]を選択します。
2. グラフで、プレートリードステップを前または後に挿入するステップを選択します。
3. 左側のペインで、[Add Plate Read to Step (プレートリードをステップに追加)]をクリックして、選択したステップにプレートリードを追加します。
4. [OK]、[Yes (はい)]の順にクリックして変更を保存します。

ステップからプレートリードを削除するには

- ▶ グラフで、プレートリードを削除するステップを選択し、左側のペインで[Remove Plate Read (プレートリードの削除)]をクリックします。

ステップオプションの変更

選択したステップのステップオプションを変更するには

1. グラフまたはアウトラインペインでターゲットステップを選択します。
2. 左側のペインで、[Step Options (ステップオプション)]をクリックして[Step Options (ステップオプション)]ダイアログボックスを開きます。

または、いずれかのペインでターゲットステップを右クリックし、表示されるメニューで[Step Options (ステップオプション)]を選択します。
3. オプションを追加、変更、または削除するには
 - 該当するテキストボックスに値を入力します。
 - 特定のテキストボックス内の値を編集します。
 - チェックボックスをオンまたはオフにします。
4. [OK]をクリックして変更を保存し、[Step Options (ステップオプション)]ダイアログボックスを閉じます。
5. [OK]、[Yes (はい)]の順にクリックして、プロトコルを保存します。

ステップの削除

重要: この機能を使用して行った操作を元に戻すことはできません。ステップを削除する際には注意が必要です。

プロトコルからステップを削除するには

1. グラフまたはアウトラインペインでステップを選択します。
2. 左側のペインで、[Delete Step (ステップの削除)]をクリックして、選択したステップを削除します。
3. [OK]、[Yes (はい)]の順にクリックして、プロトコルを保存します。

プロトコルのコピー、エクスポート、または印刷

プロトコルをコピーするには

- ▶ プロトコルのアウトラインを右クリックし、[Copy Protocol (プロトコルのコピー)]を選択します。
アウトラインを.txt、.xls、.doc、または.pptファイルに貼り付けることができます。

プロトコルをエクスポートするには

1. プロトコルのアウトラインを右クリックし、[Export Protocol (プロトコルのエクスポート)]を選択します。
[Save As (名前を付けて保存)]ダイアログボックスが表示されます。
2. (オプション) Windowsエクスプローラーで、プロトコルファイルを保存するフォルダに移動します。
3. [File name (ファイル名)]に、エクスポートするプロトコルファイルの名前を入力します。
4. [Save (保存)]をクリックします。

プロトコルを印刷するには

- ▶ プロトコルのアウトラインを右クリックし、[Print (印刷)]を選択します。
プロトコルのアウトラインをデフォルトのプリンターに印刷できます。

Protocol AutoWriterを使用したプロトコルの作成

重要: バイオ・ラッド社は、Protocol AutoWriterを使用して作成されたプロトコルを実行して常にPCR生成物が得られることを保証していません。

CFX Maestro Dx SEのProtocol AutoWriterは、次の入力パラメータに基づいてサイクルプロトコルを自動的に生成します。

■ **Amplicon length (アンプリコンの長さ)** — PCR生成物の予測される長さ

■ **Annealing temperature (アニーリング温度)** — 使用するプライマーの反応 T_a

T_a が不明な場合は、 T_a 計算機を使用して、プライマー配列に基づく値を自動的に計算できます。

注: T_a は、選択されている酵素およびプロトコル速度に基づくプライマーの融解温度(T_m)情報により調整されます。

■ **Enzyme type (酵素タイプ)** — DNAポリメラーゼ酵素 (iTaQ、iProof DNAポリメラーゼ、またはその他)

iTaQまたはiProofDNAポリメラーゼ以外の酵素を使用する場合、グラジエント範囲、ホットスタート活性化時間(秒単位)、最終伸長時間(秒単位)などの追加情報を入力できます。

■ **Run speed (ラン速度)** — 反応速度(標準、高速、または超高速)

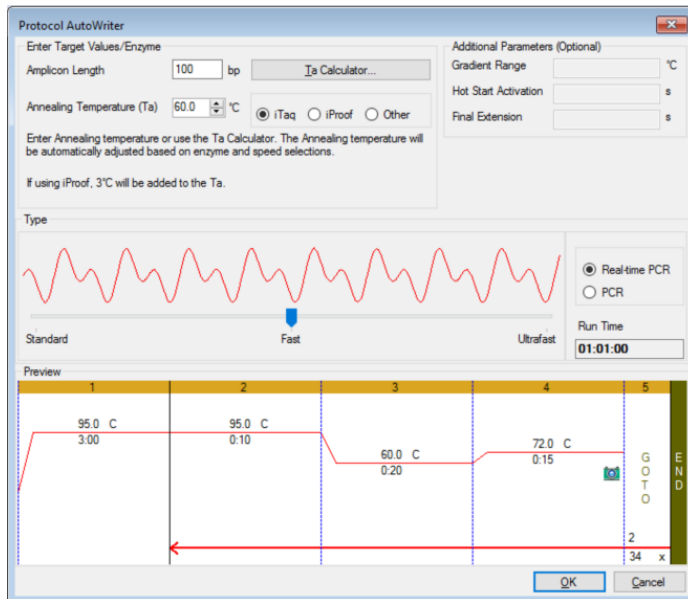
Protocol AutoWriterは、選択されている速度設定に応じてプロトコルを最適化します。合計ラン時間は、ステップやサイクルの数、各ステップでのインキュベーション時間、およびターゲット温度で一定になるまでの時間により決まります。

入力されたパラメータと標準PCRガイドラインに従って、Protocol AutoWriterは、ホットスタート、初期変性、アニーリング、および伸長の各ステップを含むカスタマイズされたPCRプロトコルを自動的に生成します。生成された推奨プロトコルをグラフで表示して、プロトコルを編集、実行、または保存できます。

CFX Maestro Dx SEのProtocol AutoWriterを使用して新しいプロトコルを作成するには

1. ホームウィンドウで、[Tools (ツール)] > [Protocol AutoWriter]を選択します。

[Protocol AutoWriter]ダイアログボックスが表示されます。



2. [Enter Target Values/Enzyme (ターゲット値/酵素の入力)]セクションで、次の操作を行います。

- プライマーのアニーリング温度 (T_a)を入力します(既知の場合)。

ヒント: 詳細については、[Ta計算機の使用\(110ページ\)](#)を参照してください。

注: T_a 計算機で使用される計算については、Breslauer et al.1986を参照してください。
- アンプリコンの長さを塩基対(bp)で入力します。
- オプションのリストから酵素タイプを選択します(iTaq DNAポリメラーゼ、iProof DNAポリメラーゼ、またはその他)。

ヒント: 酵素タイプとして[Other (その他)]を選択すると、[Additional Parameters (Optional) (追加パラメータ(オプション))]セクションのパラメータがアクティブになります。

3. 酵素タイプとして[Other (その他)]を選択した場合は、次のパラメータのいずれかまたはすべてをプロトコルに追加できます。

- Gradient range (グラジエント範囲)
- Hot start activation temperature (ホットスタート活性化温度)
- Final extension time (最終伸長時間)

4. [Type (タイプ)]セクションで、スライダーを動かしてプロトコル速度(標準、高速、または超高速)を選択します。CFX Maestro Dx SEが合計ラン時間を調整します。
5. 実施するPCRのタイプを選択します(デフォルトは[Real-time PCR (リアルタイムPCR)])。
リアルタイムPCRでは、CFX Maestro Dx SEが蛍光データを収集するためのプレートリードステップを追加します。
6. [Preview (プレビュー)]セクションで、プロトコルを確認します。必要に応じて変更を加えることができます。
7. 次のいずれかを実行します。
 - [OK]をクリックして、新しいプロトコルを保存します。保存すると、スタートアップウィザードでプロトコルが開きます。プロトコルに変更を加えるには、[Edit Selected (選択内容を編集)]をクリックします。たとえば、リード温度やサンプル容量を変更しなければならない場合があります。
 - プロトコルを保存せずにウィンドウを閉じるには、[Cancel (キャンセル)]をクリックします。

T_a計算機の使用

プライマーのアニーリング温度が不明な場合は、T_a計算機を使用して値を計算できます。計算された値を使用して、Protocol AutoWriterまたはプロトコルエディターでプロトコルを作成できます。

T_a計算機の概要

T_a計算機は、各プライマーのT_m値に加え、標準速度でのプロトコルのT_a値を計算します。

プロトコルのT_a値は、プライマーの平均T_m値に基づき、次のルールを適用して計算されます。

- プライマーのT_m値の差が4°Cよりも小さい場合、 $T_a = (2\text{つのプライマー}T_m\text{値の低いほう} + 2) - 4^\circ\text{C}$
- T_m値の差が $\leq 4^\circ\text{C}$ の場合、 $T_a = (\text{プライマーの平均}T_m\text{値}) - 4^\circ\text{C}$

塩基対のカウント方法

T_a計算機はプライマーごとに、14個以下の塩基対(bp)配列に対して次の塩基対カウント方法を適用します。

$$T_m = ((w*A + x*T) * 2) + ((y*G + z*C) * 4)$$

ここで、w、x、y、zはそれぞれ、配列内の塩基A、T、G、Cの数です。

最近傍法

14 bpより長い配列には、最近傍法が使用されます。最近傍法では、融解温度の計算は、エントロピー(オリゴヌクレオチドのランダム性のオーダーまたは尺度)、エンタルピー(オリゴヌクレオチドにより放出または吸収される熱量)、自由エネルギー、および温度の間の熱力学的関係に基づいています。

$$\Delta H = \Delta G + T \cdot \Delta S$$

説明:

- ΔH = エンタルピー値 (Cal/Mole*K)
- T = 温度 (ケルビン)
- ΔS = エントロピー値 (Cal/Mole*K)
- ΔG = ギブス自由エネルギー (Cal/Mole*K)

エントロピーとエンタルピーの変化は、表7に示すヌクレオチドペアの値を加算することで直接計算されます (Breslauer et al.1986)。

平衡状態の自由エネルギーと反応物および生成物の濃度の間の関係は、次の式によって計算されます。

$$\Delta G = R \cdot T \cdot \ln \left(\frac{(\text{DNA} \cdot \text{プライマー})}{(\text{DNA} + \text{プライマー})} \right)$$

ここで、Rは気体定数(1.986 Cal/Mole*K)です。

2つの式にGを代入し、Tを次の式で算出します。

$$T = \Delta H / (\Delta S + R \cdot \ln \left(\frac{(\text{DNA} \cdot \text{プライマー})}{(\text{DNA} + \text{プライマー})} \right))$$

ここでは、DNAの濃度とDNAプライマー複合体の濃度が等しいと仮定しています。

単鎖からB型構造DNAへの遷移時に、5 kcalの自由エネルギー(3.4 kcal) の変化があることが実験で判明しています (Sugimoto et al.1996) 。これは、ヘリックス開始エネルギーであると推定されます。最後に、塩の調整を追加して、T_a 計算機で次の式を使用します。

$$T = (\Delta H - 5(\text{KCal/K}^{\circ}\text{Mole})) / (\Delta S + (R \cdot \ln(1/(\text{プライマー})))) + 16.6 \log_{10}(\text{塩のモル濃度})$$

多様なパラメータが1 M NaClで決定されており、1のlog₁₀はゼロであることから、塩の濃度に調整用定数は必要ありません。

熱力学的計算では、アニーリングはpH 7.0で生じると仮定しています。T_mの計算では、配列は対称的ではなく、GまたはCの少なくとも一方を含むと仮定しています。

妥当なT_m値を得るためには、オリゴヌクレオチドの配列が少なくとも14個の塩基からなるものでなければなりません。塩基が14個未満の場合には、塩基ペアカウント方法を使用します(以下の表7を参照)。

表7. Breslauerの相互作用定数

相互作用		ΔH	ΔS	ΔG
AA	TT	9.1	24	1.5
AT	TA	8.6	23.9	1.5

表7. Breslauerの相互作用定数、続き

相互作用		ΔH	ΔS	ΔG
AC	TG	6.5	17.3	1.3
AG	TC	7.8	20.8	1.6
TA	AT	6	16.9	0.9
TT	AA	9.1	24	1.9
TC	AG	5.6	13.5	1.6
TG	AC	5.8	12.9	1.9
CA	GT	5.8	12.9	1.9
CT	GA	7.8	20.8	1.6
CC	GG	11	26.6	3.1
CG	GC	11.9	27.8	3.6
GA	CT	5.6	13.5	1.6
GT	CA	6.5	17.3	1.3
GC	CG	11.1	26.7	3.1
GG	CC	11	26.6	3.1

T_a計算機の使用

T_a計算機を使用するには

1. T_a計算機を開くには、次のいずれかの操作を行います。
 - 現在Protocol AutoWriterを開いている場合は、[T_a Calculator (Ta計算機)]をクリックします。
 - ホームウィンドウで、[Tools (ツール)] > [T_a Calculator (Ta計算機)]を選択します。

[T_a Calculator (Ta計算機)]ダイアログボックスが表示されます。

2. [Forward Primer (フォワードプライマー)]テキストボックスに、フォワードプライマーの配列を入力するか貼り付けます。
ヒント: ダイアログボックスの左側にある[A]、[T]、[G]、[C]の各ボタンを使用して配列を入力することもできます。
3. [Reverse Primer (リバースプライマー)]テキストボックスにリバースプライマーの配列を入力するか貼り付けます。
4. [Calculate (計算)]をクリックします。

T_a計算機により、各プライマーのT_m値および平均T_m値と平均T_a値が計算されて表示されます。以下に例を示します。

Field	Value	Unit
Forward T _m	59.7	°C
Reverse T _m	56.9	°C
Average of primer T _m 's	58.3	°C
T _a at Standard Speed (iTaQ)	54.3	°C

プライマーT_m値の差が4°Cを超えている場合、Protocol AutoWriterは低い方のプライマーT_m値 + 2°Cを基礎としてT_a値を計算します。この値はさらに、酵素と反応速度を変更することによって修正できます。

T_a計算機は、iTaQ DNAポリメラーゼでの標準速度を対象としたアニーリング温度を生成します。異なる酵素を使用する場合、速度設定によりT_a値が自動的に調整されます。

5. 次のいずれかを実行します。

- Protocol AutoWriterからT_a計算機を開いた場合は、[OK]をクリックします。Protocol AutoWriterが再表示されます。アニーリング温度は自動的に修正されます。
- [Tools (ツール)]メニューからT_a計算機を開いた場合は、計算結果を記録し、[Cancel (キャンセル)]をクリックして計算機を閉じます。

第8章 プレートの準備

プレートファイルには、ランパラメータに関する情報(スキャンモード、蛍光色素、ウェルの内容など)が含まれています。ランが完了すると、CFX Maestro Dx SEソフトウェアはラン実行中に収集された蛍光データにウェルの内容をリンクして、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウで該当する解析を適用します。たとえば、標準サンプルタイプがロードされたウェルは、検量線を生成するために使用されます。

CFX Maestro Dx SEには、プレートを作成するための2つのオプションがあります。これは、リアルタイムPCRラン用のプレートエディターと、正規化遺伝子発現解析用のセットアップウィザードです。

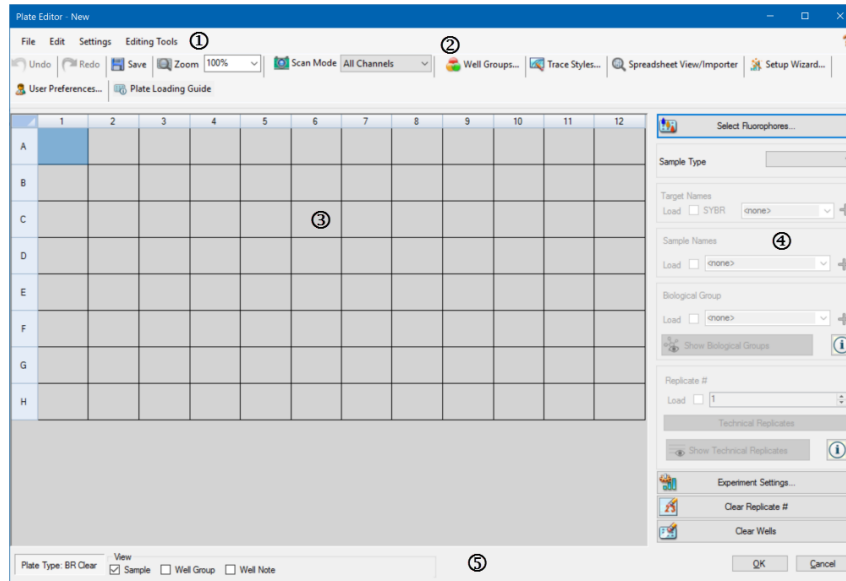
プレートエディターには、次の機能が備わっています。

- プレートのウェルに割り当てる標準の蛍光色素およびサンプルタイプ
- 遺伝子発現解析用のリファレンスターゲットと対照サンプルを設定する機能
- ランの実行前、実行中、または実行後にプレートの設定を編集する機能
- 再利用できるようにプレートファイルを保存する機能
- プレートファイルをデフォルトのプリンターで印刷する機能

セットアップウィザードでは、ガイドに従って正規化遺伝子発現解析用のプレートレイアウトを作成できます。セットアップウィザードは、ランの実行前、実行中、実行後でも使用できます。

[Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウ

プレートエディターを使用して、カスタムプレートを作成したり、既存のプレートを変更したりします。



凡例

1. メニューバーから、[File (ファイル)]および[Settings (設定)]メニューのコマンドや、プレート編集用ツールのオプションにすばやくアクセスできます。

2. ツールバーを使用すると、重要なプレートローディング機能にすばやくアクセスできます。

3. メインペインには、プレートアウトラインと、プレートに適用するオプションが表示されます。

4. 右側のペインには、プレートをカスタマイズするために使用するオプションが表示されます。

5. 下部のペインには、プレートタイプが表示されます。ここからすばやく表示オプションにアクセスできます。

[File (ファイル)]メニューのコマンド

Save (保存) — プレートデータファイルを、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスの[File (ファイル)]タブで指定した場所に保存します。詳細については、[デフォルトのファイル設定の変更\(80ページ\)](#)を参照してください。このメニュー項目は、新しいプレートファイルの作成時にのみ使用できます。

Save As (名前を付けて保存) — 開いているプレートデータファイルに新しい名前を指定して保存します。このメニュー項目は、新しいプレートファイルの作成時にのみ使用できます。

File Passwords (ファイルパスワード) — ファイルを保存する際および開く際に使用するパスワードを設定できます。

Extract Plate (プレートの抽出) — プレートファイル(.pltd)を抽出/保存するためのダイアログボックスを開きます。このメニュー項目を使用できるのは、既存のプレートファイルを表示または編集する場合のみです。

Print (印刷) — 開いているプレートデータファイルを印刷します。

Close (閉じる) — プレートエディターを閉じます。

[Edit (編集)]メニューのコマンド

Undo (元に戻す) — プレートファイルが保存されるまで、プレートファイルへの変更を元に戻します。

Redo (やり直し) — プレートファイルが保存されていない限り、最後の元に戻す操作を取り消します。

[Settings (設定)]メニューのコマンド

Plate Size (プレートサイズ) — ランに使用するプレートサイズを選択するためのダイアログボックスを開きます。

注: プレートサイズは、ランが実行される機器でのブロックサイズと同じでなければなりません。CFX Opus 384 Dxシステムの場合は384ウェルを選択します。
CFX Opus 96 Dxシステムの場合は96ウェルを選択します。

Plate Type (プレートタイプ) — サンプルを保持するプレート内のウェルのタイプを選択できます(BRホワイトまたはBRクリア)。正確なデータ解析を行うには、ランで使用したプレートと同じプレートタイプを選択する必要があります。

注: 新しいプレートタイプでは、キャリブレーションが必要となります詳細については、[新しい色素のキャリブレーション\(74ページ\)](#)を参照してください。

Number Convention (数値表記) — 単位を指数表記で表示するオプションを選択または選択解除できます。デフォルトでは、単位は指数表記で表示されます。

Units (単位) — 検量線から不明サンプルの定量を行う際にスプレッドシートに表記する単位を選択できます。

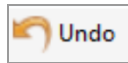
[Editing Tools (編集ツール)]メニューのコマンド

Setup Wizard (セットアップウィザード) — セットアップウィザードを開きます。このウィザードで、現在のプレートのレイアウトと解析パラメータを定義できます。セットアップウィザードは、ランの実行前、実行中、実行後でも使用できます。

Spreadsheet View / Importer (スプレッドシートビュー/インポーター) — [View (表示)]ダイアログボックスを開きます。このダイアログボックスには、プレートレイアウトがスプレッドシート形式のテンプレートとして表示されます。このダイアログボックスを使用して、プレートテンプレートデータを.csv形式でエクスポートまたはインポートできます。

Flip Plate (プレートの反転) — プレートの内容を180°反転します。

ツールバーのコマンド



Undo

プレートへの変更を元に戻します。CFX Maestro Dx SEでは、最大10個の元に戻す操作がサポートされます。



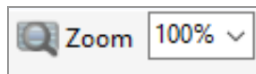
Redo

最後の元に戻すアクションを取り消します。CFX Maestro Dx SEでは、最大10個のやり直し操作がサポートされます。



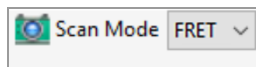
Save

現在のプレートファイルを保存します。



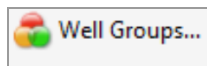
Zoom 100% ▾

プレートの表示倍率を増減するためのドロップダウンリストを表示します。



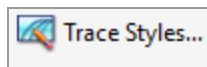
Scan Mode FRET ▾

スキャンモードを選択するためのドロップダウンリストを表示します。スキャンモードによって、ラン実行中にどのチャンネルから蛍光色素データを収集するかを機器に指示します。



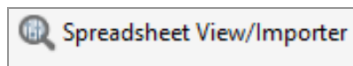
Well Groups...

ウェルグループマネージャーを開きます。これを使用して、現在のプレートのウェルグループを作成できます。



Trace Styles...

増幅トレースに使用する色と記号を選択するためのダイアログボックスを表示します。



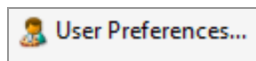
Spreadsheet View/Importer

[View (表示)]ダイアログボックスを開きます。このダイアログボックスには、プレートレイアウトがスプレッドシート形式のテンプレートとして表示されます。このダイアログボックスを使用して、プレートテンプレートデータを.csv形式でエクスポートまたはインポートできます。



Setup Wizard...

セットアップウィザードを開きます。このウィザードで、現在のプレートのレイアウトと解析パラメータを定義できます。セットアップウィザードは、ランの実行前、実行中、実行後でも使用できます。



User Preferences...

[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスの[Plate (プレート)]タブを開きます。このタブで、プレートレイアウトのパラメータを定義したり、ターゲット名、サンプル名、および生物学的グループ名を作成または削除したりできます。[Plate (プレート)]タブで行った変更は、次にプレートエディターを開くときに適用されます。

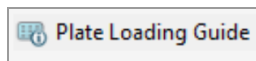


Plate Loading Guide

プレートの設定とウェルのロードに必要なステップを表示します。

プレートエディターを使用したプレートファイルの作成

プレートエディターを使用して、カスタムプレートファイルを作成できます。以前に保存したプレートファイルまたは CFX Opus Dxシステムに付属のサンプルプレートファイルを編集して保存することもできます。

新しいプレートファイルを作成するには、次の手順に従います。

- プレートエディターでプレートファイルを開きます。

- プレートタイプを選択します。

注: プレートファイルに設定するプレートタイプは、リアクションモジュール内のプレートと同じでなければなりません。

- プロトコルで使用するスキャンモードを選択します。
- プレートで使用する蛍光色素を選択します。
- サンプルタイプ、ターゲット、およびサンプルを選択します。
- 必要に応じて、技術レプリケートを選択します。
- プレートレイアウトを保存します。

ヒント: 以前に保存したプレートファイルまたはサンプルプレートファイルを使用して新しいプレートを作成するには、[プレートエディターで既存のプレートファイルを開く\(121ページ\)](#)を参照してください。

プレートエディターで新しいプレートファイルを開く

CFX Maestro Dx SEでは、次の方法で新しいプレートファイルを開くことができます。

- ホームウィンドウを使用
- [Startup Wizard (スタートアップウィザード)]ダイアログボックスを使用
- [Run Setup (ランの設定)]ダイアログボックスを使用

ホームウィンドウから新しいプレートファイルを開くには

- ▶ [File (ファイル)] > [New (新規)] > [Plate (プレート)]を選択します。

[Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウが開き、選択されている機器のデフォルトのプレートファイルが表示されます。

ヒント: デフォルトのプレートファイルを設定する方法については、[デフォルトのファイル設定の変更\(80ページ\)](#)を参照してください。

スタートアップウィザードから新しいプレートファイルを開くには

1. ホームウィンドウで、スタートアップウィザードが表示されていない場合は、次のいずれかの操作を行ってウィザードを開きます。

- [View (表示)] > [Startup Wizard (スタートアップウィザード)]を選択します。

- ツールバーの[Startup Wizard (スタートアップウィザード)]をクリックします。

デフォルトでは、スタートアップウィザードが開いて、CFX96機器が選択された状態の[Run setup (ランの設定)]タブが表示されます。

2. 必要に応じて、ドロップダウンリストから機器タイプを選択します。
3. 新しいプレートを作成するには、ランタイプとして[User-defined (ユーザー定義)]をクリックします。

[Run Setup (ランの設定)]ダイアログボックスが開き、[Protocol (プロトコル)]タブが表示されます。

4. [Plate (プレート)]タブをクリックし、[Create New (新規作成)]をクリックします。

[Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウが開き、選択されている機器のデフォルトのプレートレイアウトが表示されます。

[Run Setup (ランの設定)]ダイアログボックスから新しいプレートファイルを開くには

1. ホームウィンドウで、次のいずれかの操作を行って[Run Setup (ランの設定)]ダイアログボックスを開きます。

- [Run (ラン)] > [User-defined Run (ユーザー定義ラン)]を選択します。

- ツールバーの[User-defined Run Setup (ユーザー定義ランの設定)]をクリックします。

[Run Setup (ランの設定)]ダイアログボックスが開き、[Protocol (プロトコル)]タブが表示されます。

2. 新しいプレートを作成するには、[Plate (プレート)]タブをクリックし、[Create New (新規作成)]をクリックします。

[Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウが開き、選択されている機器のデフォルトのプレートレイアウトが表示されます。

プレートエディターで既存のプレートファイルを開く

CFX Maestro Dx SEIに用意されているサンプルプレートファイルを編集して、新しいプレートとして保存できます。また、以前に保存したプレートファイルから新しいプレートファイルを作成することもできます。

サンプルプレートファイルを開くには

1. ホームウィンドウで、[File (ファイル)] > [Open (開く)] > [Plate (プレート)]を選択します。
WindowsエクスプローラーでCFX Opus Dxシステムサンプルファイルフォルダが開きます。
2. サンプルファイルフォルダを開き、その中にある[Plates (プレート)]フォルダを開きます。
3. プレートファイルを選択し、[Open (開く)]をクリックします。
サンプルプレートファイルが[Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウで開きます。
4. [File (ファイル)] > [Save As (名前を付けて保存)]を選択し、プレートファイルを新しい名前で保存するか、新しいフォルダに保存します。

以前に保存したプレートファイルを開くには

1. ホームウィンドウで、次のいずれかの操作を行います。
 - [File (ファイル)] > [Open (開く)] > [Plate (プレート)]を選択し、ターゲットプレートに移動してそのプレートを選択し、[Open (開く)]をクリックします。
 - スタートアップウィザードを開き、次のいずれかの操作を行います。
 - 既存のプレートファイルを編集するには、[Select Existing (既存のものを選択)]をクリックし、ターゲットファイルに移動します。
 - 表示されたプレートファイルを編集するには、[Edit Selected (選択内容を編集)]をクリックします。ターゲットプレートが[Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウで開きます。
2. [File (ファイル)] > [Save As (名前を付けて保存)]を選択し、プレートファイルを新しい名前で保存するか、新しいフォルダに保存します。

新しいプレートファイルの設定

ヒント: プレートファイルに必須パラメータが含まれている場合(たとえば、サンプルプレートファイルまたは既存のプレートファイルを編集している場合)、このセクションをスキップできます。[プレートファイルへのオプションパラメータの割り当て \(129ページ\)](#)に進んでください。

新しいプレートファイルには、次のパラメータが必要です。

- Plate size (プレートサイズ)
- Plate type (プレートタイプ)
- スキャンモード
- 1つの蛍光色素(色素)
- 1つのサンプルタイプ

プレートのサイズとタイプの選択

重要: プレートの設定時にプレートサイズを選択する必要があります。ランの実行中や実行後にプレートサイズを変更することはできません。

ランの実行中に、ソフトウェアによってプレートサイズとタイプがすべてのウェルに適用されます。必ず、ランで使用するプレートと同じプレートサイズを選択してください。

Bio-RadのCFX Opus 96 DxおよびCFX Opus 384 Dxシステムは、工場出荷時にさまざまな蛍光色素とプレートの組み合わせに対してキャリブレーションされています。キャリブレーションは、機器、色素、およびプレートタイプに固有です。使用する予定の蛍光色素が、選択するプレートタイプに対してキャリブレーションされていることを確認してください。

ヒント: 機器上で色素とプレートタイプの新しい組み合わせをキャリブレーションするには、[Tools (ツール)] > [Dye Calibration Wizard (色素キャリブレーションウィザード)]を選択します。色素とプレートタイプをキャリブレーションする方法については、[新しい色素のキャリブレーション\(74ページ\)](#)を参照してください。

スキャンモードの選択

CFX Opus 96 DxシステムとCFX Opus 384 Dxシステムはそれぞれ6チャンネル、5チャンネルでの蛍光色素の励起、検出を行います。いずれのシステムでも、ランの実行中に蛍光データを収集するために複数のデータ取得スキャンモードを使用できるようになっています。

CFX Maestro Dx SEIには、次の3つのスキャンモードが用意されています。

- All Channels (全チャンネル)
 - CFX Opus 96 Dxシステム上でチャンネル1からチャンネル5をスキャンします。
 - CFX Opus 384 Dxシステム上でチャンネル1からチャンネル4をスキャンします。

- SYBR®/FAM
 - チャンネル1のみをスキャンします。
 - 高速スキャンを行います。
- FRET
 - FRETチャンネルのみをスキャンします。
 - 高速スキャンを行います。

蛍光色素の選択

重要: CFX Opus Dxシステムはランを開始する前に、プレートで指定されている蛍光色素がその機器上でキャリブレーション済みであることを確認します。プレートにその機器上でキャリブレーションされていない蛍光色素が含まれている場合、ランを実行することはできません。

ランを実行する前に、1つ以上の蛍光色素をプレートレイアウトにロードする必要があります。この時点で必要な数だけ蛍光色素を追加できますが、プレートには少なくとも1つの蛍光色素が含まれている必要があります。選択した蛍光色素は、[Target Names (ターゲット名)]にターゲットのオプションとして表示されます。

[Select Fluorophores (蛍光色素の選択)]ダイアログボックスを使用して、蛍光色素(またはプレート色素)をプレートエディターのウェルローディングコントロールにロードします。[Select Fluorophores (蛍光色素の選択)]ダイアログボックスに表示される蛍光色素は、選択するスキャンモードによって異なります。

■ All Channels (全チャンネル)

利用可能なすべての蛍光色素が表示されます。

ヒント: 必要な数だけ蛍光色素を追加できますが、各ウェルのチャンネルごとにロードできる蛍光色素は1つだけです。

■ SYBR®/FAM

チャンネル1の蛍光色素のみが表示されます。

■ FRET

チャンネル6の蛍光色素のみが表示されます。

ヒント: チャンネル6のFRET蛍光色素は、スキャンモードとして[FRET]が選択された場合にのみ表示されます。[All Channels (全チャンネル)]スキャンモードでは使用できません。

注: [Select Fluorophore (蛍光色素の選択)]ダイアログボックスで蛍光色素を直接追加または削除することはできません。色素キャリブレーションウィザードを使用して、機器上で新しい蛍光色素をキャリブレーションする必要があります。キャリブレーション後、新しい蛍光色素がこのダイアログボックスのリストに自動的に追加されます。詳細については、[新しい色素のキャリブレーション\(74ページ\)](#)を参照してください。

サンプルタイプの選択

重要: ランを実行する前に、プレートウェルに割り当てるサンプルタイプを少なくとも1つ選択する必要があります。

CFX Maestro Dx SEには、次の5つのサンプルタイプが用意されています。

- Unknown (不明)
- Standard (標準)
- NTC (テンプレートなし対照)
- Positive Control (陽性対照)
- Negative Control (陰性対照)
- NRT (逆転写なし)

サンプルタイプをプレートウェルに割り当てます。

新しいプレートの設定

新しいプレートを設定するには

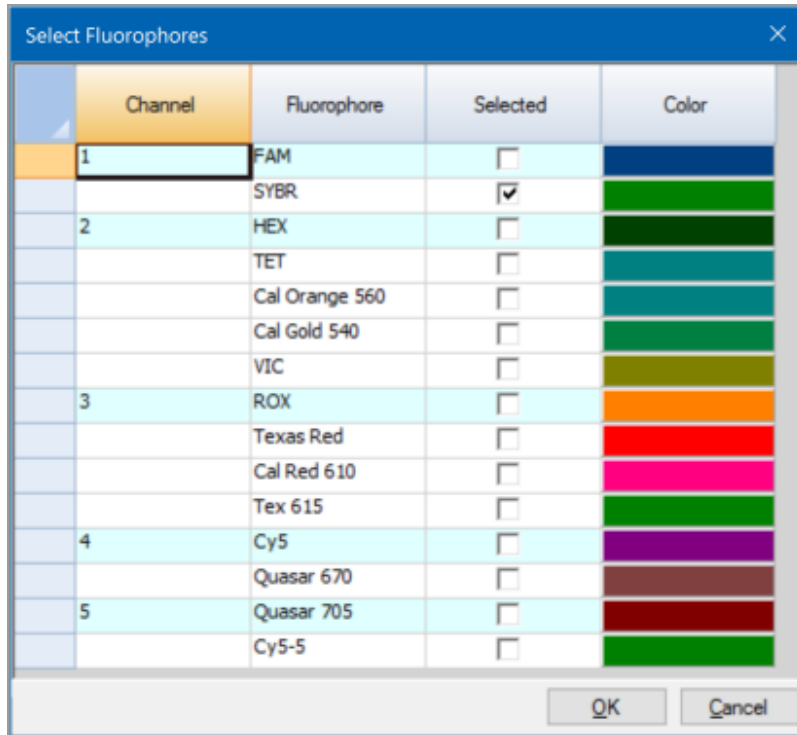
1. [Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウで新しいプレートを開きます。
2. プレートサイズを設定するには、[Settings (設定)] > [Plate Size (プレートサイズ)]を選択し、ドロップダウンメニューから適切なプレートサイズを選択します。
3. プレートタイプを設定するには、[Settings (設定)] > [Plate Type (プレートタイプ)]を選択し、ドロップダウンメニューから[BR White (BRホワイト)]または[BR Clear (BRクリア)]を選択します。
4. 必要に応じて、[Settings (設定)]メニューを使用して数値表記と表示単位を変更できます。
 - 数値表記を変更するには、[Settings (設定)] > [Number Convention (数値表記)]を選択し、[Scientific Notation (指数表記)]を選択します。

ヒント: デフォルトでは[Scientific Notation (指数表記)]が選択されています。この状態で[Scientific Notation (指数表記)]を選択すると、デフォルト設定がクリアされて、数値表記が標準形式に設定されます。
 - 表示単位を変更するには、[Settings (設定)] > [Units (単位)]を選択し、新しい単位の値を選択します。
5. スキャンモードを設定するには、[Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウのツールバーにある[Scan Mode (スキャンモード)]ドロップダウンリストから適切なスキャンモードを選択します。

6. プレートに必要な蛍光色素を選択します。

- a. 右側のペインで、[Select Fluorophores (蛍光色素の選択)]をクリックします。

[Select Fluorophores (蛍光色素の選択)]ダイアログボックスが表示されます。[ステップ5](#)で選択したスキャンモードのタイプで使用できる蛍光色素が表示されます。次に例を示します。



- b. 蛍光色素を選択するには、その蛍光色素の[Selected (選択済み)]チェックボックスをオンにします。

ヒント: リストから蛍光色素を削除するには、その蛍光色素の[Selected (選択済み)]チェックボックスをオフにします。

- c. 蛍光色素の表示色を変更するには、その蛍光色素の[Color (色)]ボックスをクリックします。

注: 選択した色は、[Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウと[Data Analysis (データ解析)]グラフの両方でその蛍光色素に適用されます。

- d. [Color (色)]ダイアログボックスで目的の色を選択するか、[Define Custom Colors (カスタム色の定義)]をクリックして、蛍光色素を表す新しい色を作成します。
- e. [OK]をクリックして変更を保存し、[Select Fluorophores (蛍光色素の選択)]ダイアログボックスを閉じます。

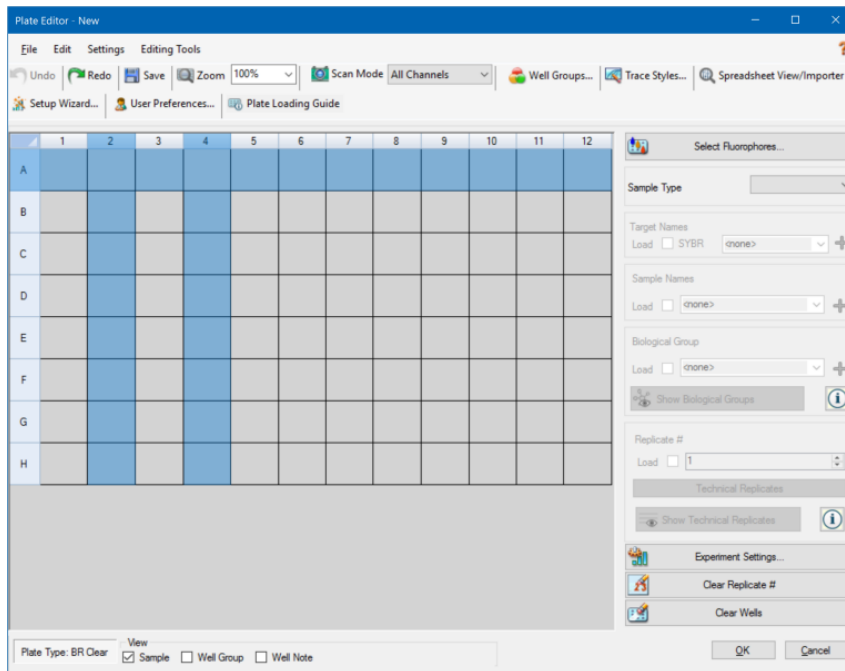
第8章 プレートの準備

7. サンプルタイプをロードするウェルを少なくとも1つ選択する必要があります。デフォルトでは、ウェルA1が選択されています。

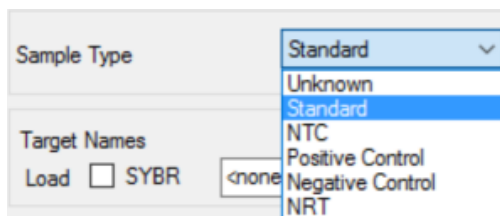
プレートペインで、次のいずれかの操作を行います。

- 隣接する複数のウェルをロードするには、1つのウェルをクリックしてターゲットのウェルまでドラッグします。
- 隣接していない複数のウェルをロードするには、Ctrlキーを押したまま各ウェルをクリックします。
- 同じサンプルタイプを含むカラム全体をロードするには、そのカラム番号をクリックします。
- 行全体をロードするには、その行番号をクリックします。
- プレート全体をロードするには、プレートの左上隅をクリックします。

例：



8. [Sample Type (サンプルタイプ)]ド ロップダウンメニューから、選択した1つ以上のウェルに割り当てるサンプルタイプを選択します。

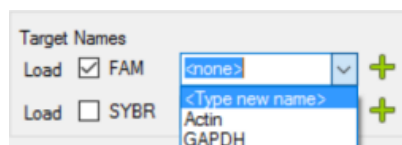


9. サンプルタイプを含むすべてのウェルに少なくとも1つの蛍光色素を割り当てます。ウェルまたはウェルのグループに複数の蛍光色素を割り当てることができます。

注: チャンネルごとに割り当てることができる蛍光色素は1つだけです。同じチャンネルから同じウェルに複数の蛍光色素を割り当ててはできません。

ヒント: ターゲットを蛍光色素に関連付けることも、この時点では蛍光色素のみをウェルに割り当てて、実験のラン実行後にターゲットを蛍光色素に関連付けることもできます。

- 選択したウェルに蛍光色素のみを割り当てするには、右側のペインの[Target Names (ターゲット名)]セクションで、割り当てる蛍光色素の[Load (ロード)]チェックボックスをオンにします。
- ターゲットを蛍光色素に関連付けるには、[Target Names (ターゲット名)]セクションで、対象の蛍光色素のド ロップダウンリストからターゲット名を選択します。対応する[Load (ロード)]チェックボックスが自動的にオンにされます。



10. 標準サンプルタイプを含むウェルについては、濃度をロードする必要があります。ウェルごとに濃度値を変更することができます。デフォルトでは、CFX Maestro Dx SEは標準サンプルタイプを含むすべてのウェルに、1.00E + 06の濃度をロードします。必要に応じて値を変更できます。
- a. プレートペインで、標準ウェルまたはウェルのグループを選択します。
 - b. [Concentration (濃度)]セクションで[Load (ロード)]をクリックして、選択した1つ以上のウェルに値をロードします。
 - c. (オプション)別の濃度をロードするには、[Concentration (濃度)]テキストボックスに新しい値を入力して、Enterキーを押します。
 - d. 標準サンプルタイプを含むすべてのウェルに対してこの手順を繰り返します。

第8章 プレートの準備

ヒント: すべての標準ウェルに同じ濃度をロードする場合は、ドロップダウンリストの [Concentration (濃度)] 値の下に [All (すべて)] と表示されていることを確認します。特定の蛍光色素を含むすべてのウェルに同じ濃度値をロードするには、ドロップダウンリストをクリックして蛍光色素を選択します。

11. [OK] をクリックして、新しいプレートを保存します。

プレートファイルへのオプションパラメータの割り当て

プレートファイルには、ラン用サンプルがロードされる各ウェルの内容に関する情報が含まれています。ランが完了すると、CFX Maestro Dx SEはウェルの内容を、プロトコル実行中に収集された蛍光データにリンクし、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウで該当する解析を適用します。

CFX Maestro Dx SEでは、実験のランの実行前、実行中、または実行後でも、プレート内の各ウェルにパラメータを割り当てることができます。パラメータは、既存のプレートファイルにも、新しいプレートファイルにも割り当てることができます。これらのパラメータは次のとおりです。

- **Target names (ターゲット名)** — ロードされた各ウェルの1つ以上の対象ターゲット(遺伝子または配列)。
- **Sample names (サンプル名)** — ロードされた各ウェルのサンプルに対応する識別子または条件(mouse1、mouse2、mouse3など)。
- **Biological groups (生物学的グループ)** — ウェルのグループに対応する識別子または条件(0Hr、1Hr、2Hrなど)。

ヒント: [Data Analysis (データ解析)]ウィンドウの[Gene Expression (遺伝子発現)]タブでデータを比較するには、ターゲット名、サンプル名、および生物学的グループがウェル間で同じである必要があります。各名前とも、同じ大文字、句読点、およびスペースが使用されていなければなりません。たとえば、「Actin」と「actin」、「2Hr」と「2 hr」、「Mouse 1」と「mouse 1」はそれぞれ別のものとして区別されます。名前の一貫性を確保するには、ホームウィンドウで[User (ユーザー)] > [User Preferences (ユーザー設定)] > [Plate (プレート)]に移動して、[Libraries (ライブラリ)]セクションで名前を入力してください。

- **Technical replicates (技術レプリケート)** — サンプルとターゲットの同じ組み合わせを解析するために使用される各ウェル。つまり、レプリケートqPCR反応です。
- **Dilution series (希釈系列)** — 解析用の検量線データを作成するために、レプリケートグループ内の標準サンプルタイプの濃度を変化させる量。

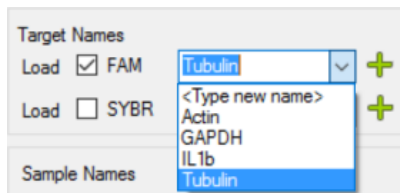
ウェルへのターゲットの割り当て

ヒント: 同じターゲット名を単一または複数のウェルに割り当てることができます。同じウェルに複数のターゲットを割り当てることもできます。

重要: ターゲットを割り当てた後に[OK]をクリックすると、変更が保存され、プレートエディターのツールバーで[Undo (元に戻す)]が無効になります。[OK]をクリックする際には注意が必要です。

ウェルまたはウェルのグループにターゲットを割り当てるには

1. プレートエディターで、ウェルまたはウェルのグループにサンプルタイプが割り当てられていることを確認します。
ウェルへのサンプルタイプの割り当てについては、[サンプルタイプの選択\(124ページ\)](#)を参照してください。
2. プレートペインで、ウェルまたはウェルのグループを選択します。
 - 単一のウェルを選択するには、そのウェルをクリックします。
 - 隣接する複数のウェルを選択するには、1つのウェルをクリックしてターゲットのウェルまでドラッグします。
 - 隣接していない複数のウェルを選択するには、Ctrlキーを押したままそれぞれのウェルをクリックします。
 - 同じサンプルタイプを含むカラム全体を選択するには、そのカラム番号をクリックします。
 - 行全体を選択するには、その行番号をクリックします。
3. 右側のペインで、[Target Name (ターゲット名)]ドロップダウンリストから、選択されている蛍光色素ごとにターゲット名を選択します。



4. ターゲットを割り当てる必要があるウェルまたはウェルのグループごとに、[ステップ3](#)を繰り返します。
ヒント: 選択されている各蛍光色素に同じターゲット名または異なるターゲット名を割り当てることができます。
5. [OK]をクリックして変更を受け入れ、プレートを保存します。
注: 誤ってプレートを変更した場合は、[OK]をクリックして変更を受け入れる前に、プレートエディターのツールバーで[Undo (元に戻す)]をクリックしてください。

ターゲット名を削除するには

- ▶ 選択したウェルまたはウェルのグループからターゲット名を削除するには、[Load (ロード)]チェックボックスをオフにします。
重要: ウェルからターゲット名を削除すると、関連付けられている蛍光色素も削除されます。ウェルからターゲット名を削除する際には注意が必要です。

リストにターゲット名を追加するには

- ▶ ドロップダウンリストにターゲット名を追加するには、次のいずれかの操作を行います。
 - [Target Name (ターゲット名)]ドロップダウンリストにターゲット名を入力して、Enterキーを押します。
 ヒント: 1つのリストに追加したターゲット名は、他のすべてのターゲットリストに表示されます。
 - ドロップダウンリストの右側にある緑色の+記号をクリックし、ターゲットの名前を入力します。
 - ツールバーの[User Preferences (ユーザー設定)]をクリックし、[Plate (プレート)]タブの[Target Names (ターゲット名)]ライブラリに名前を追加します。

重要: ドロップダウンリストに追加したターゲット名は、現在のプレートで、名前をウェルに割り当ててプレートレイアウトを保存した場合にのみ使用できます。ウェルに名前を割り当てずにプレートレイアウトを保存すると、名前は保存されず、将来使用できなくなります。ターゲット名を永続的に追加するには、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを使用して、[Target Names (ターゲット名)]ライブラリにも追加します。ライブラリに追加した名前は、プレートエディターを再度開いてから使用可能になります。詳細については、[デフォルトのプレートパラメータの設定 \(82ページ\)](#)を参照してください。

リストからターゲット名を削除するには

1. ツールバーの[User Preferences (ユーザー設定)]をクリックします。
 [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスが開き、[Plate (プレート)]タブが表示されます。
2. [Plate (プレート)]タブの[Target Names (ターゲット名)]ライブラリで、削除する名前を選択し、Deleteキーを押します。
3. [OK]をクリックして変更を保存し、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを閉じます。

重要: プレートファイルで保存したターゲット名を削除することはできません。[Target Names (ターゲット名)]ドロップダウンリストに追加し、プレートで使用および保存しなかったカスタム名は、リストから自動的に削除されます。[Target Names (ターゲット名)]ライブラリから削除した名前はソフトウェアから完全に削除され、ユーザーは使用できなくなります。ターゲット名を削除する際には注意が必要です。

ウェルへのサンプル名の割り当て

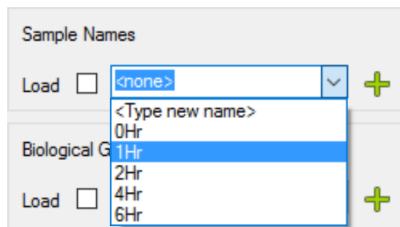
注: サンプル名を割り当てるには、選択しているウェルに少なくとも1つの蛍光色素を割り当てる必要があります。選択しているウェルに蛍光色素が割り当てられていない場合、[Sample Names (サンプル名)]ドロップダウンリストは無効になります。蛍光色素の割り当てについては、[ウェルへのターゲットの割り当て \(129ページ\)](#)を参照してください。

ヒント: 各ウェルまたはウェルのグループに割り当てることができるサンプル名は1つです。

ウェルまたはウェルのグループにサンプル名を割り当てるには

1. プレートエディターで、ウェルまたはウェルのグループに蛍光色素が割り当てられていることを確認します。
2. プレートペインで、ウェルまたはウェルのグループを選択します。
3. 右側のペインで、[Sample Names (サンプル名)]ドロップダウンリストから名前を選択します。

対応する[Load (ロード)]チェックボックスが自動的にオンにされます。



4. サンプル名を割り当てる必要があるウェルまたはウェルのグループごとに、[ステップ3](#)を繰り返します。
5. [OK]をクリックして変更を受け入れ、プレートを保存します。

注: 誤ってプレートを変更した場合は、[OK]をクリックして変更を受け入れる前に、プレートエディターのツールバーで[Undo (元に戻す)]をクリックしてください。

サンプル名を削除するには

- ▶ 選択したウェルまたはウェルのグループからサンプル名を削除するには、[Load (ロード)]チェックボックスをオフにします。

サンプル名をリストに追加するには

- ▶ ドロップダウンリストにサンプル名を追加するには、次のいずれかの操作を行います。
 - [Sample Names (サンプル名)]ドロップダウンリストにサンプル名を入力して、Enterキーを押します。
 - ドロップダウンリストの右側にある緑色の+記号をクリックし、サンプルの名前を入力します。
 - ツールバーの[User Preferences (ユーザー設定)]をクリックし、[Plate (プレート)]タブの[Sample Names (サンプル名)]ライブラリに名前を追加します。

重要: ドロップダウンリストに追加したサンプル名は、現在のプレートで、名前をウェルに割り当ててプレートレイアウトを保存した場合にのみ使用できます。ウェルに名前を割り当てずにプレートレイアウトを保存すると、名前は保存されず、将来使用できなくなります。サンプル名を永続的に追加するには、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを使用して、[Sample Names (サンプル名)]ライブラリにも追加します。ライブラリに追加した名前は、プレートエディターを再度開いてから使用可能になります。詳細については、[デフォルトのプレートパラメータの設定 \(82ページ\)](#)を参照してください。

リストからサンプル名を削除するには

1. ツールバーの[User Preferences (ユーザー設定)]をクリックします。
[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスが開き、[Plate (プレート)]タブが表示されます。
2. [Plate (プレート)]タブの[Sample Names (サンプル名)]ライブラリで、削除する名前を選択し、Deleteキーを押します。
3. [OK]をクリックして変更を保存し、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを閉じます。

重要: プレートファイルで保存したサンプル名を削除することはできません。[Sample Names (サンプル名)]ドロップダウンリストに追加し、プレートで使用および保存しなかったカスタム名は、ドロップダウンリストから自動的に削除されます。[Sample Names (サンプル名)]ライブラリから削除した名前はソフトウェアから削除され、ユーザーは使用できなくなります。サンプル名を削除するには注意が必要です。

ウェルへの生物学的グループの割り当て

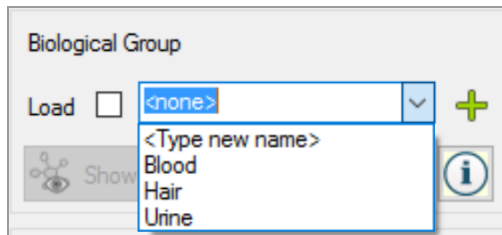
注: 生物学的グループを割り当てるには、選択しているウェルに少なくとも1つの蛍光色素を割り当てる必要があります。蛍光色素を割り当てると、[Biological Groups (生物学的グループ)]ドロップダウンリストが有効になります。蛍光色素の割り当てについては、[ウェルへのターゲットの割り当て\(129ページ\)](#)を参照してください。

ヒント: 各ウェルまたはウェルのグループに割り当てることができる生物学的グループは1つです。

ウェルまたはウェルのグループに生物学的グループを割り当てるには

1. プレートエディターで、ウェルまたはウェルのグループに蛍光色素が割り当てられていることを確認します。
2. プレートペインで、ウェルまたはウェルのグループを選択します。
3. 右側のペインで、[Biological Group (生物学的グループ)]ドロップダウンリストから生物学的グループを選択します。

CFX Maestro Dx SEIにより、対応する[Load (ロード)]チェックボックスが自動的にオンにされます。



4. 生物学的グループを割り当てる必要があるウェルまたはウェルのグループごとに、[ステップ3](#)を繰り返します。
5. [OK]をクリックして変更を受け入れ、プレートを保存します。

注: 誤ってプレートを変更した場合は、[OK]をクリックして変更を受け入れる前に、プレートエディターのツールバーで[Undo (元に戻す)]をクリックしてください。

生物学的グループを削除するには

- ▶ 選択したウェルまたはウェルのグループから生物学的グループを削除するには、[Load (ロード)]チェックボックスをオフにします。

リストに生物学的グループを追加するには

- ▶ ドロップダウンリストに生物学的グループを追加するには、次のいずれかの操作を行います。
 - [Biological Group (生物学的グループ)]ドロップダウンボックスに生物学的グループの名前を入力して、Enterキーを押します。
 - ドロップダウンリストの右側にある緑色の+記号をクリックし、生物学的グループの名前を入力します。
 - ツールバーの[User Preferences (ユーザー設定)]をクリックし、[Plate (プレート)]タブの[Biological Group Names (生物学的グループ名)]ライブラリに名前を追加します。

重要: ドロップダウンリストに追加した生物学的グループ名は、現在のプレートで、名前をウェルに割り当ててプレートレイアウトを保存した場合にのみ使用できます。ウェルに名前を割り当てずにプレートレイアウトを保存すると、名前は保存されず、将来使用できなくなります。生物学的グループ名を永続的に追加するには、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを使用して、[Biological Group Names (生物学的グループ名)]ライブラリにも追加します。ライブラリに追加した名前は、プレートエディターを再度開いてから使用可能になります。詳細については、[デフォルトのプレートパラメータの設定 \(82ページ\)](#)を参照してください。

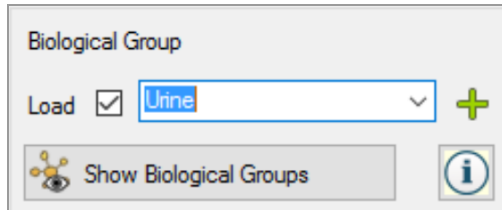
リストから生物学的グループ名を削除するには

1. ツールバーの[User Preferences (ユーザー設定)]をクリックします。
[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスが開き、[Plate (プレート)]タブが表示されます。
2. [Plate (プレート)]タブの[Biological Group Names (生物学的グループ名)]ライブラリで、削除する名前を選択し、Deleteキーを押します。
3. [OK]をクリックして変更を保存し、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスを閉じます。

重要: プレートファイルで保存した生物学的グループ名を削除することはできません。[Biological Group Names (生物学的グループ名)]ドロップダウンリストに追加し、プレートで使用および保存しなかったカスタム名は、リストから自動的に削除されます。[Biological Group Names (生物学的グループ名)]ライブラリから削除した名前は、ソフトウェアから完全に削除され、ユーザーは使用できなくなります。生物学的グループ名を削除する際には注意が必要です。

プレート上のすべての生物学的グループを表示するには

- ▶ プレート上のすべての生物学的グループを表示するには、[Show Biological Groups (生物学的グループの表示)]をクリックします。



各グループは特定の色で識別され、[Show Biological Groups (生物学的グループの表示)]ボタンが [Hide Biological Groups (生物学的グループの非表示)]に変わります。

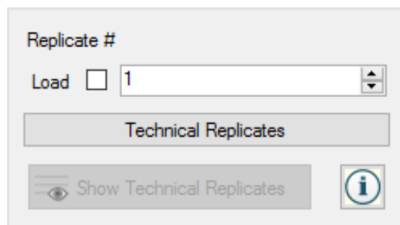
ウェルの色をクリアするには、[Hide Biological Groups (生物学的グループの非表示)]をクリックします。または、プレート内の任意のウェルをクリックして、生物学的グループを非表示にすることもできます。

ウェルへの技術レプリケート番号の割り当て

重要: 技術レプリケート番号を割り当てるには、選択されているウェルに同一の内容が含まれている必要があります。つまり、選択されているウェル内のサンプルタイプと蛍光色素が同じである必要があります。該当する場合は、同じターゲット名、同じサンプル名、および同じ生物学的グループも割り当てられている必要があります。同じでない場合、CFX Maestro Dx SEではこのオプションが無効になります。

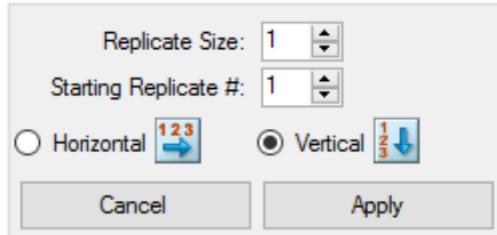
技術レプリケート番号をウェルのグループに割り当てるには

1. プレートエディターで、ウェルのグループの内容が同一であることを確認します。
2. プレートペインで、ウェルのターゲットグループを選択します。
3. 選択したすべてのウェルに同じレプリケート番号を割り当てるには、右側のペインの[Replicate # (レプリケート番号)]セクションで、ボックスにレプリケート番号を入力し、[Load (ロード)]を選択します。



4. (オプション)選択したウェルのセットにレプリケートシリーズを適用します。

- a. [Technical Replicates (技術レプリケート)]をクリックします。[Replicate # (レプリケート番号)]セクションが変更されて次のオプションが表示されます。



- **Replicate size (レプリケートサイズ)** — レプリケートの各グループに含まれるウェルの数を表す数値
- **Starting replicate # (開始レプリケート番号)** — 選択したレプリケートグループのレプリケートシリーズの最初の番号

注: デフォルトでは、CFX Maestro Dx SEはプレートに割り当てられている最後の技術レプリケート番号に1を足した開始レプリケート番号を表示します。たとえば、プレートの最後の技術レプリケート番号が5の場合、次の開始番号は6になります。開始番号は、まだ割り当てられていない任意の番号に変更できます。

- **Loading direction (ロード方向)** ([Horizontal (水平)]または[Vertical (垂直)])

- b. [Apply (適用)]をクリックしてパラメータをシリーズに適用し、[Replicate # (レプリケート番号)]画面に戻ります。
5. [OK]をクリックして変更を受け入れ、プレートを保存します。

注: 誤ってプレートを変更した場合は、[OK]をクリックして変更を受け入れる前に、プレートエディターのツールバーで[Undo (元に戻す)]をクリックしてください。

レプリケートシリーズからウェルを削除するには

- ▶ 削除するウェルまたはウェルのグループを選択し、[Replicate # (レプリケート番号)]の[Load (ロード)]チェックボックスをオフにします。
または、[Clear Replicate # (レプリケート番号のクリア)]をクリックして、選択したウェルまたはウェルのグループからレプリケート番号をクリアすることもできます。

プレート上のすべての技術レプリケートを表示するには

- ▶ プレート上のすべての技術レプリケートを表示するには、[Show Technical Replicates (技術レプリケートの表示)]をクリックします。
各グループは特定の色で識別され、[Show Technical Replicates (技術レプリケートの表示)]ボタンが[Hide Technical Replicates (技術レプリケートの非表示)]に変わります。

ウェルの色をクリアするには、[Hide Technical Replicates (技術レプリケートの非表示)]をクリックします。または、プレート内の任意のウェルをクリックして、技術レプリケートを非表示にすることもできます。

標準サンプルタイプへの希釈系列の割り当て

前述のように、標準サンプルタイプのすべてのウェルには濃度値を割り当てる必要があります。標準サンプルタイプの複数のウェルに希釈系列を割り当てることができます。

注: 希釈系列をウェルのグループに割り当てるには、ウェルを技術レプリケートシリーズに含める必要があります。レプリケートシリーズにウェルを追加する方法については、[ウェルへの技術レプリケート番号の割り当て \(135ページ\)](#)を参照してください。

標準サンプルウェルのグループに希釈系列を割り当てるには

1. プレートエディターで、次の要件が満たされていることを確認します。
 - ウェルのグループのサンプルタイプが標準であること。
 - グループ内のすべてのウェルに少なくとも1つの蛍光色素が割り当てられていて、すべてのウェルに共通する蛍光色素が含まれていること。
 - グループ内のすべてのウェルが同じ技術レプリケートシリーズに含まれていること。

注: CFX Maestro Dx SEで[Dilution Series (希釈系列)]オプションが有効になるのは、選択されているすべてのウェルが上記の基準を満たしている場合のみです。
2. プレートペインで、ウェルのターゲットグループを選択します。
3. 右側のペインの[Concentration (濃度)]セクションで、[Dilution Series (希釈系列)]をクリックします。[Concentration (濃度)]セクションが変更されて次のオプションが表示されます。

Starting Concentration: 1.00E+06
 Replicates from: 9
 to: 16
 Dilution Factor: 10.000
 Increasing Decreasing
 <All>
 Cancel Apply

- **Starting concentration (開始濃度)** — 希釈系列を開始する濃度値
- **Replicates from and to (レプリケート番号の範囲)** — 希釈係数が適用される希釈系列内のレプリケート。
- **Dilution factor (希釈係数)** — レプリケートグループごとの濃度の変化量。

4. オプションの値を設定するか、デフォルトを受け入れます。
5. デフォルトでは、希釈系列は希釈係数に基づいて減少します。[Increasing (増加)]を選択すると、希釈系列が増加します。
6. (オプション)デフォルトでは、希釈係数はレプリケートシリーズのすべての蛍光色素に適用されます。シリーズに複数の蛍光色素が含まれている場合、単一の蛍光色素に希釈を適用するには、その蛍光色素をドロップダウンリストから選択します。
7. [Apply (適用)]をクリックして、希釈系列をウェルのグループに適用し、[Concentration (濃度)]ビューに戻ります。
8. [OK]をクリックして変更を受け入れ、プレートを保存します。

別のウェルへのウェルの内容のコピー

ウェルの内容をコピーして、単一のウェルまたは複数のウェルに貼り付けることができます。ただし、内容をコピーできるのは1つのウェルのみです。複数のウェルを選択してその内容をコピーすることはできません。

ウェルの内容を別のウェルにコピーするには

1. プレートペインで、コピーするウェルを選択します。
2. ウェルを右クリックして、[Copy Well (ウェルのコピー)]を選択します。
3. 内容を貼り付ける1つ以上のウェルを選択します。
 - 単一のウェルを選択するには、そのウェルをクリックします。
 - 隣接する複数のウェルを選択するには、1つのウェルをクリックしてターゲットのウェルまでドラッグします。
 - 隣接していない複数のウェルを選択するには、Ctrlキーを押したままそれぞれのウェルをクリックします。
4. ターゲットウェルが選択されている状態で、右クリックして[Paste Well (ウェルの貼り付け)]を選択します。

CFX Maestro Dx SEIにより、最初のウェルの内容が選択されているウェルに貼り付けられます。

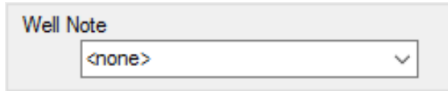
ウェルへのメモの追加

ウェルについて説明するメモを追加できます。ウェルに関するメモは、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウの[Quantification (定量化)]タブで確認できます。

ウェルにメモを追加するには

1. プレートペインで、メモを追加する1つ以上のウェルを選択します。
2. 下部のペインの[View (表示)]セクションで、[Well Note (ウェルに関するメモ)]を選択します。

右側のペインに「Well Note (ウェルに関するメモ)」領域が表示されます。



3. テキストボックスにメモの内容を入力して、Enterキーを押します。

選択したウェルの下部に、入力したテキストが表示されます。

ヒント: ウェルに関するメモを作成済みの場合は、ドロップダウンリストからそのメモを選択して、選択されているウェルに適用できます。

ウェルのすべての内容のクリア

個々のウェル、ウェルのグループ、またはプレート全体からすべての内容をクリアできます。ウェルをクリアしても、プレートリード中に収集された蛍光データが削除されることはありません。

重要: ウェルの内容をクリアすると、ウェルから内容が完全に削除されます。[OK]をクリックし、ウェルをクリアしてプレートを保存した後は、このクリア操作を元に戻すことはできません。ウェルをクリアするには注意が必要です。

ウェルのすべての設定をクリアするには

1. プレートエディターのプレートペインで、ウェルまたはウェルのグループを選択します。
 - 単一のウェルを選択するには、そのウェルをクリックします。
 - 隣接する複数のウェルを選択するには、1つのウェルをクリックしてターゲットのウェルまでドラッグします。
 - 隣接していない複数のウェルを選択するには、Ctrlキーを押したままそれぞれのウェルをクリックします。
 - 同じサンプルタイプを含むカラム全体を選択するには、そのカラム番号をクリックします。
 - 行全体を選択するには、その行番号をクリックします。
2. 右側のペインで、[Clear Wells(ウェルのクリア)]をクリックします。

CFX Maestro Dx SEIにより、選択されたウェルからすべての設定がクリアされます。
3. 次のいずれかを実行します。
 - 誤ってウェルをクリアした場合は、[OK]をクリックして変更を受け入れる前に、プレートエディターのツールバーで[Undo (元に戻す)]をクリックしてください。

重要: [Undo (元に戻す)]をクリックする前に[OK]をクリックすると、変更が保存され、プレートエディターのツールバーで[Undo (元に戻す)]が無効になります。

第8章 プレートの準備

- [OK]をクリックして変更を受け入れ、プレートを保存します。

実験設定の変更

[Experiment Settings (実験設定)]ダイアログボックスを使用して、ターゲット、サンプル、または生物学的グループのリストを表示し、変更することができます。または、プレート内のウェルに生物学的グループが割り当てられている場合は、解析対象の遺伝子発現解析サンプルグループを設定することもできます。

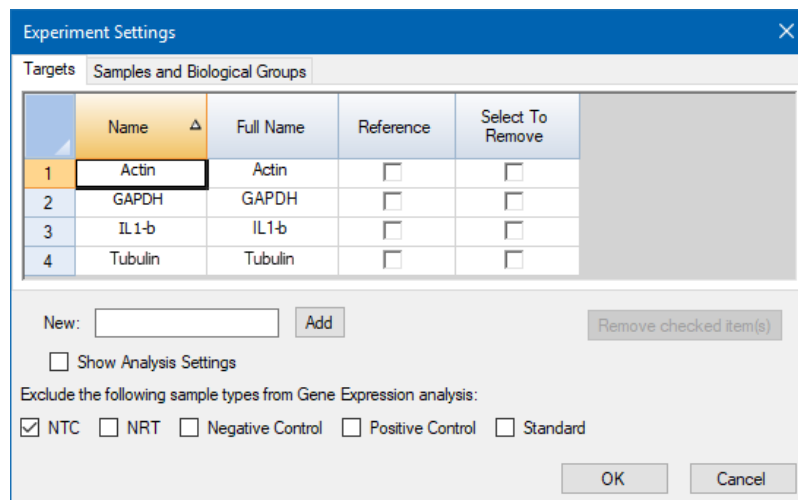
[Experiment Settings (実験設定)]ダイアログボックスの[Targets (ターゲット)]タブには、対象のターゲット 遺伝子や遺伝子配列など、PCR反応ごとのターゲット名のリストが表示されます。

[Samples and Biological Groups (サンプルと生物学的グループ)]タブには、サンプル名と生物学的グループ名のリストが表示されます。このリストで、1時間(1Hr)で得られるサンプルまたは特定の個体(mouse 1)より得られるサンプルなど、ターゲットのソースを確認できます。

[Experiment Settings (実験設定)]ダイアログボックスを使用してプレート設定を変更するには

- 次のいずれの操作を行って、[Experiment Settings (実験設定)]ダイアログボックスを開きます。
 - プレートエディターの右側のペインで、[Experiment Settings (実験設定)]をクリックします。
 - [Data Analysis (データ解析)]ウィンドウの[Gene Expression (遺伝子発現)]タブで、[Experiment Settings (実験設定)]をクリックします。

[Experiment Settings (実験設定)]ダイアログボックスが開き、[Targets (ターゲット)]タブの内容が表示されます。



- 新しいターゲット名、サンプル名、または生物学的グループ名を追加するには、対応するタブで[New (新規)]テキストボックスに名前を入力し、[Add (追加)]をクリックします。

3. リストから1つ以上のターゲット名、サンプル名、または生物学的グループ名を削除するには、対応するタブの[Select to Remove (削除対象の選択)]カラムで削除する項目のチェックボックスをオンにしてから、[Remove checked item(s) (チェックマーク付きの項目を削除)]をクリックします。
4. CFX Maestro Dx SEでは、NTC (テンプレートなしコントロール)サンプルタイプを遺伝子発現解析から除外します。

NTCサンプルタイプを解析に含めるには、[Exclude the following sample types (次のサンプルタイプを除外)]セクションでそのチェックボックスをオフにします。次のサンプルタイプについては、対応するチェックボックスをオンにすることで解析から除外できます。

- NRT (逆転写なし)
- Negative Control (陰性対照)
- Positive Control (陽性対照)
- Standard (標準)

5. [Targets (ターゲット)]タブで、次の操作を行います。
 - a. 遺伝子発現データ解析のリファレンスとしてターゲットを選択するには、[Reference (リファレンス)]カラムでそのターゲットを選択します。
 - b. [Analysis Settings (解析設定)]ウィンドウの[Gene Expression (遺伝子発現)]タブで適用される解析設定を非表示にするには、[Show Analysis Settings (解析設定を表示)]をオフにします。

この場合、次のカラムが非表示になります。

- Color (色)
 - Show Chart (チャートを表示)
 - Auto Efficiency (自動効率)
 - Efficiency (%) (効率(%))
- c. 遺伝子発現グラフに描かれるターゲットの色を変更するには、[Color (色)]カラム内のセルをクリックし、表示される[Color (色)]ダイアログボックスで新しい色を選択してから[OK]をクリックします。
 - d. 遺伝子発現グラフで選択した色でターゲットを表示するには、[Show Chart (グラフを表示)]カラムでそのターゲットのチェックボックスを選択します。
 - e. ターゲットのデータに検量線が含まれる場合、CFX Maestro Dx SEはデフォルトで、そのデータの相対効率を自動的に計算します。

以前に決定された効率値を使用するには、[Efficiency (%) (効率(%)))]カラム内の該当するセルに値を入力し、Enterキーを押します。CFX Maestro Dx SEによって[Auto Efficiency (自動効率)]チェックボックスがオフにされます。

6. [Samples and Biological Groups (サンプルと生物学的グループ)]タブで、次の操作を行います。
 - a. 遺伝子発現データ解析のコントロールサンプルとしてサンプルまたは生物学的グループを選択するには、[Control (コントロール)]カラムで該当するチェックボックスをオンにします。
 - b. ランのコントロール条件をサンプルまたは生物学的グループに割り当てる場合は、[Control (コントロール)]カラムで該当するチェックボックスをオンにします。
 - c. まだ選択されていない場合、[Show Analysis Settings (解析設定を表示)]をクリックして、[Gene Expression (遺伝子発現)]タブで適用される解析パラメータを表示または変更します。[Color (色)]カラムと[Show Chart (グラフを表示)]カラムを非表示にすることができます。
7. [Experiment Settings (実験設定)]ダイアログボックスで[OK]をクリックしてパラメータを保存し、[Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウに戻ります。

ウェルグループの作成

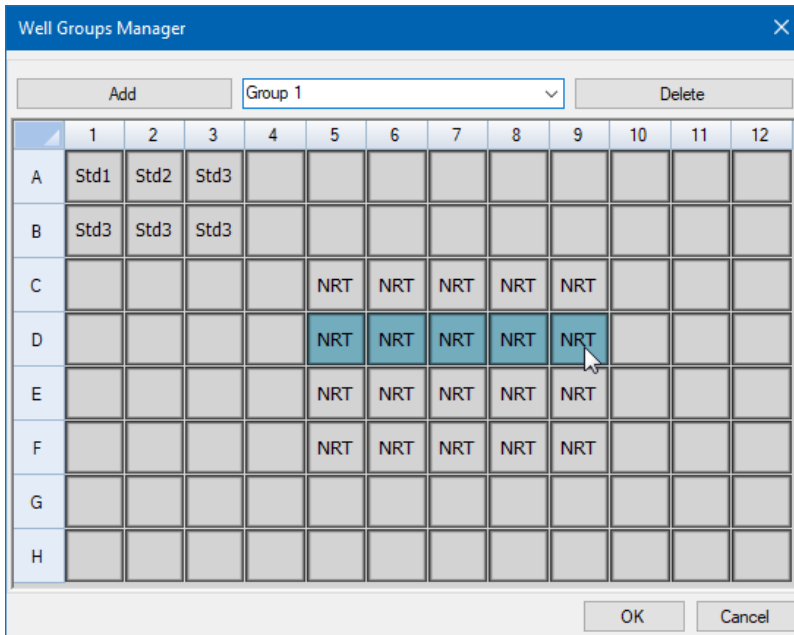
ウェルグループでは、単一のプレートをウェルのサブセットに分割して、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウでこれらのサブセットを個別に分析することができます。ウェルグループを設定した後、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウで個別のグループとしてデータを解析するグループを選択します。たとえば、1つのプレートで複数の実験ランを解析するため、または異なる検量線を含む各ウェルグループを解析するために、ウェルグループを設定します。

注: デフォルトのウェルグループは[All Wells (すべてのウェル)]です。

ウェルグループを作成するには

- 次のいずれかの操作を行って、ウェルグループマネージャーを開きます。
 - プレートエディターのツールバーで、[Well Groups (ウェルグループ)]をクリックします。
 - [Data Analysis (データ解析)]ウィンドウで、[Manage Well Groups (ウェルグループの管理)]をクリックします。

[Well Groups Manager (ウェルグループマネージャー)]ダイアログボックスが表示されます。



- [Add (追加)]をクリックして、新しいグループを作成します。ドロップダウンメニューには、最初のグループのグループ名が「Group 1(グループ1)」として表示されます。
- ウェルグループに含めるウェルを選択するために、プレートビューで複数のウェルをクリックしてドラッグします。選択したウェルは、マネージャー内で青色で表示されます。

4. (オプション)グループの名前を変更するには、ドロップダウンメニューからそのグループの名前を選択し、新しい名前を入力します。
5. (オプション)ウェルグループを削除するには、ドロップダウンリストでそのグループの名前を選択し、[Delete (削除)]をクリックします。
6. [OK]をクリックして確定し、ウィンドウを閉じるか、[Cancel (キャンセル)]をクリックして変更せずにウィンドウを閉じます。

[Well Groups Manager (ウェルグループマネージャー)]ダイアログボックスの右クリックメニュー項目

表8に、任意のウェルを右クリックしたときに[Well Groups Manager (ウェルグループマネージャー)]ダイアログボックスで使用できるメニュー項目を示します。

表8. プレートエディターの[Well Groups Manager (ウェルグループマネージャー)]ダイアログボックスの右クリックメニュー項目

項目	機能
Copy (コピー)	ウェルの内容をコピーして、1つ以上の別のウェルに貼り付けることができます。
Copy as Image (画像としてコピー)	ウェルセクタービューを画像としてコピーします。
Print (印刷)	ウェルセクタービューを印刷します。
Print Selection (選択項目の印刷)	選択されているセルのみを印刷します。
Export to Excel (Excelにエクスポート)	データをExcelスプレッドシートにエクスポートします。
Export to CSV (CSVにエクスポート)	データをカンマ区切り文書としてエクスポートします。
Export to Xml (Xmlにエクスポート)	データを.xml文書としてエクスポートします。
Export to Html (Htmlにエクスポート)	データを.html文書としてエクスポートします。

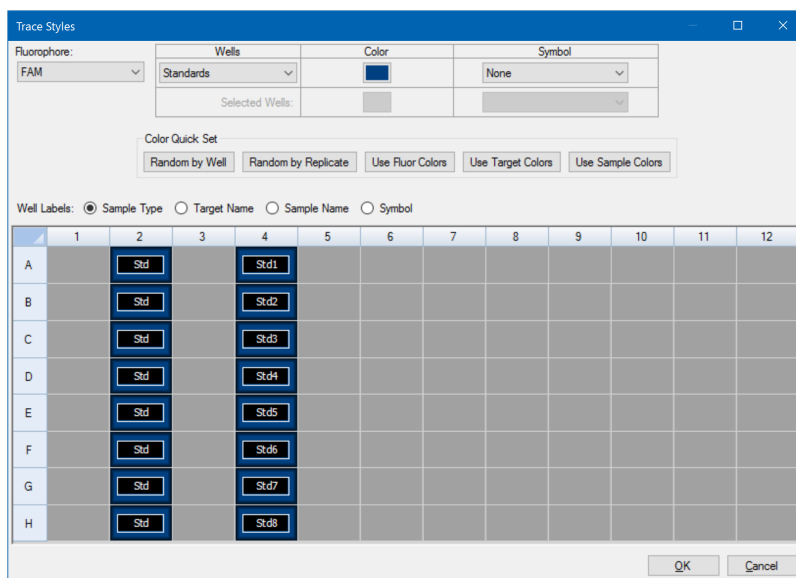
トレーススタイルの変更

プレートの設定中およびランの進行中に、増幅トレースの色とスタイルを変更できます。その後は、データの収集中に[Real-time Status (リアルタイムステータス)]ウィンドウで簡単にトレースを確認できます。

トレーススタイルを変更するには

1. プレートエディターのツールバーで[Trace Styles (トレーススタイル)]をクリックします。

開いているプレートの[Trace Styles (トレーススタイル)]ダイアログボックスが次のように表示されます。



2. 特定の蛍光色素でトレーススタイルを表示するには、[Fluorophores (蛍光色素)]ド롭ダウンから、その蛍光色素を選択します。
3. トレースの表示を変更するには:
 - a. [Wells (ウェル)]ド롭ダウンリストからトレースタイプを選択します。
 - b. [Color (色)]カラムでトレースの色をクリックします。
 - c. 表示される[Color (色)]ダイアログボックスで、トレースに使用する別の色を選択し、[OK]をクリックします。
CFX CFX Maestro Dx SEのグリッドに、ウェルタイプの色の変更が反映されます。
 - d. (オプション) [Symbols (シンボル)]ド롭ダウンリストから、トレースに使用する記号を選択します。
4. 色のセットをすばやく変更するには、[Color Quick Set (カラークイックセット)]セクションで目的の選択肢をクリックします。

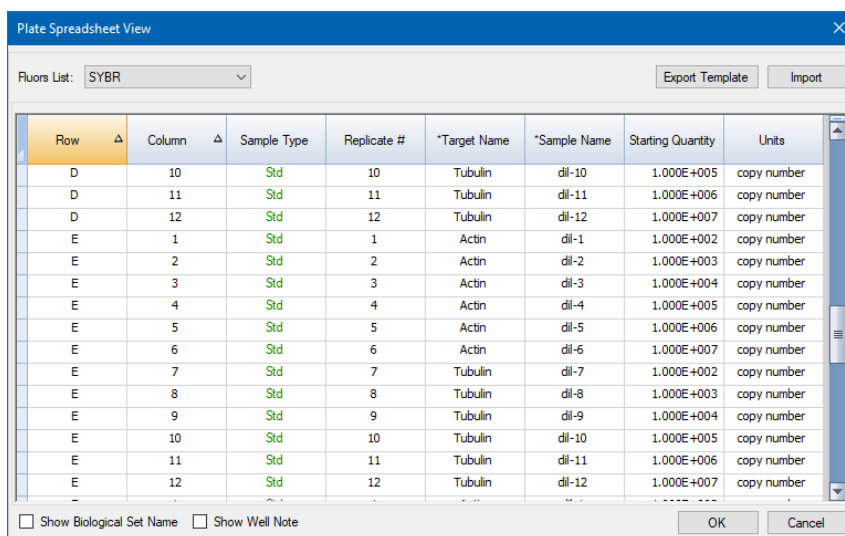
5. グリッド内にウエルラベルを表示するには、[Well Labels (ウエルラベル)]セクションでラベルタイプを選択します。
6. [OK]をクリックして変更を保存するか、[Cancel (キャンセル)]をクリックして変更をキャンセルします。

スプレッドシート形式でのプレートの表示

[Spreadsheet View / Importer (スプレッドシートビュー / インポーター)]ツールでは、スプレッドシート形式でプレートの内容を表示できます。[Spreadsheet View / Importer (スプレッドシートビュー / インポーター)]ツールを使用して、ウェルの内容をタブ区切り形式でMicrosoft Excelなどのアプリケーションにエクスポートできます。タブ区切りのアプリケーションからウェルの内容をインポートすることもできます。

[Spreadsheet View / Importer (スプレッドシートビュー / インポーター)]ツールを使用するには

1. プレートエディターのツールバーで[Spreadsheet View / Importer (スプレッドシートビュー / インポーター)]をクリックして、[Spreadsheet View (スプレッドシートビュー)]ダイアログボックスを開きます。



2. [Spreadsheet View (スプレッドシートビュー)]ダイアログボックスには、単一の蛍光色素に対して使用するプレートの内容が表示されます。別の蛍光色素に対して使用するプレートの内容を表示するには、[Fluors List (蛍光色素リスト)]ドロップダウンリストから目的の蛍光色素を選択します。
3. [Export Template (テンプレートのエクスポート)]をクリックして、プレートスプレッドシートのテンプレートをExcelファイル(.csv形式)にエクスポートします。このテンプレートを編集して、ウェルの内容に関する情報をインポートできます。
4. (オプション)カンマ区切りファイルからウェルの内容をインポートするには、[Import (インポート)]をクリックします。
5. 特定の列内のデータを基準にスプレッドシートを並べ替えるには、列名の横にある三角形をクリックします。

ヒント: 列名の横にアスタリスク(*)が付いている列では([*Target Name (*ターゲット名)]など)、任意のセルの内容を編集できます。

注: プレートエディターを開き、メニューバーで[Settings (設定)] > [Units (単位)]を選択して、[Quantity (数量)]カラム内の検量線データの単位を選択してください。プレートのラン完了後、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウの[Quantification (定量化)]タブにある[Standard Curve (検量線)]グラフに、選択した単位で検量線データが示されます。

[Plate Spreadsheet View / Importer (プレートスプレッドシートビュー/インポーター)]ツールの右クリックメニュー項目

表9に、[Plate Spreadsheet View / Importer (プレートスプレッドシートビュー/インポーター)]ツール内で任意のウェルを右クリックすると使用できるメニュー項目を記載します。

表9. [Plate Spreadsheet View / Importer (プレートスプレッドシートビュー/インポーター)]ツールの右クリックメニュー項目

項目	機能
Copy (コピー)	スプレッドシート全体をコピーします。
Copy as Image (画像としてコピー)	スプレッドシートを画像ファイルとしてコピーします。
Print (印刷)	スプレッドシートを印刷します。
Print Selection (選択項目の印刷)	選択されているセルのみを印刷します。
Export to Excel (Excelにエクスポート)	ファイルをExcelスプレッドシートにエクスポートします。
Export to CSV (CSVにエクスポート)	ファイルを.csvファイルとしてエクスポートします。
Export to Xml (Xmlにエクスポート)	ファイルを.xmlファイルとしてエクスポートします。
Export to Html (Htmlにエクスポート)	ファイルを.htmlファイルとしてエクスポートします。
Find (検索)	特定のテキストを検索します。
Sort (並べ替え)	[Sort (並べ替え)]ウィンドウで最大3カラムのデータを選択して、スプレッドシートを並べ替えます。

プレートセットアップウィザードを使用したプレートレイアウトの作成

セットアップウィザードを使用して、正規化された遺伝子発現の解析に必要な次のプレートレイアウト情報を入力できます。

- ターゲット名
- サンプル名
- プレート上のターゲットとサンプルの位置
- リファレンス遺伝子
- 対照サンプル

セットアップウィザードは、ランの実行前、実行中、実行後でも使用できます。

プレートセットアップウィザードの使用

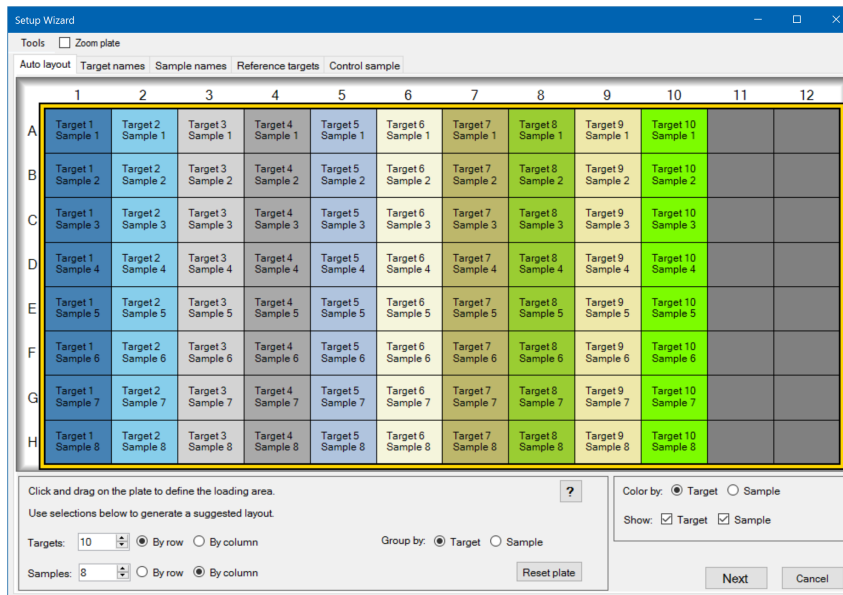
このセクションでは、プレートセットアップウィザードを使用してプレートレイアウトを作成する方法を説明します。セットアップウィザードの上部にある[Zoom plate (プレートのズーム)]をクリックすることで、プレート内の各ウェルの内容を簡単に表示できます。

重要: セットアップウィザードの他のタブから[Auto layout (自動レイアウト)]タブに戻ると、プレートレイアウトがリセットされます。このタブを選択する際には注意が必要です。

ヒント: セットアップウィザードで[Tools (ツール)] > [Clear Plate (プレートのクリア)]を選択すると、レイアウトをリセットできます。

プレートセットアップウィザードを使用するには

1. プレートエディターを開きます。
 2. 次のいずれかの操作を行って、セットアップウィザードを開きます。
 - [Editing Tools (編集ツール)] > [Setup Wizard (セットアップウィザード)]を選択します。
 - プレートエディターのツールバーで[Setup Wizard (セットアップウィザード)]をクリックします。
- セットアップウィザードが開き、[Auto layout (自動レイアウト)]タブが表示されます。



3. [Auto layout (自動レイアウト)]タブで、次の操作を行います。
 - a. グリッド内のウェルをクリックして左右および上下にドラッグし、サンプルをロードするプレート上の領域を指定します。
 - b. ロードするターゲットとサンプルの数を入力します。

ヒント: ターゲットとサンプルの数は、選択されているセルの数と同じでなければなりません。入力した数が選択した領域に収まらない場合は、数またはプレート上の選択領域を変更してください。プレート上のアイテムの方向やグループ化を指定できます。
 - c. (オプション)プレートの向きを変更します。たとえば、ターゲットをカラムに設定し、サンプルを行に設定したり、サンプルを基準にグループ化したりできます。
 - d. [Next (次へ)]をクリックして、[Target names (ターゲット名)]タブに進みます。

注: プレートレイアウトに一定のパターンがない場合は、[Target names (ターゲット名)]タブを使用して手動でターゲットを配置するか、[Sample names (サンプル名)]タブを使用して手動でサンプルをプレート上に配置します。クリックしてドラッグすることで、複数のウェルを選択できます。
4. [Target names (ターゲット名)]タブで、ターゲットグループのターゲット名を定義します。
 - a. 次のいずれかを実行します。
 - グループごとにターゲットの名前を変更するには、[Select by (選択基準)]を[Target (ターゲット)]に設定します。

- ウェルごとにターゲットの名前を変更するには、[Select by (選択基準)]を[Well (ウェル)]に設定します。
- b. グリッド内でターゲットグループまたはウェルを選択し、[Target name (ターゲット名)]ド롭ダウンリストに名前を入力します。

ヒント: 右側にある次のグループまたはウェルを選択するにはTabキーを押し、下にある次のグループまたはウェルを選択するにはEnterキーを押し、隣接していない複数のウェルを選択するには、[Target name (ターゲット名)]タブと[Sample name (サンプル名)]タブで、Ctrlキーを押したまま各ウェルをクリックします。
 - c. [Next (次へ)]をクリックして、[Sample names (サンプル名)]タブに進みます。
5. [Sample names (サンプル名)]タブで、サンプルグループのサンプル名を定義します。
 6. [Next (次へ)]をクリックして、[Reference targets (リファレンスターゲット)]タブに進みます。
 7. [Reference targets (リファレンスターゲット)]タブで、正規化された遺伝子発現のリファレンスとして使用する1つ以上のターゲットを選択し、[Next (次へ)]をクリックして[Control sample (対照サンプル)]タブに進みます。
 8. [Control sample (対照サンプル)]タブで、相対的な遺伝子発現計算のコントロールとして使用するサンプルを1つ選択します。
 9. [OK]をクリックしてプレートレイアウトを保存し、プレートエディターに戻ります。プレートエディターでプレートパラメータをさらに定義できます。詳細については、[プレートファイルへのオプションパラメータの割り当て \(129ページ\)](#)を参照してください。

または、[Previous (戻る)]をクリックして前のタブに戻り、変更を加えます。

注: [Auto layout (自動レイアウト)]タブに戻ると、プレートが自動的にリセットされます。[Previous (戻る)]をクリックする際には注意が必要です。

第9章 実験の実施

この章では、CFX Maestro Dx SEソフトウェアを使用してカスタム(ユーザー定義)またはPrimePCRアッセイ実験を実施する方法を説明します。

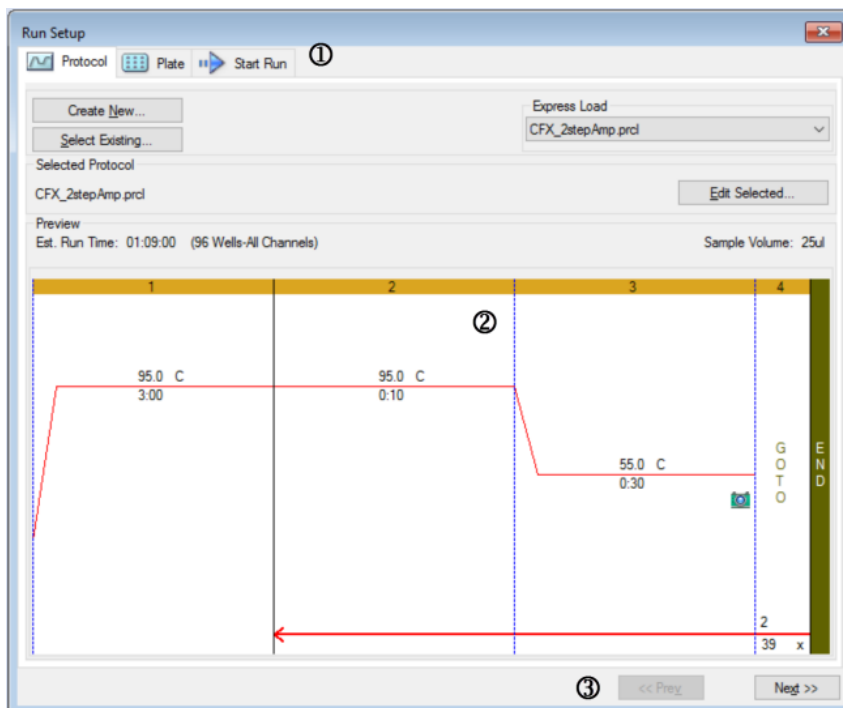
ランデータファイルには、その特定のランで使用するプロトコルとプレート情報が含まれています。このファイルには、ランの完了後にCFX Maestro Dx SEが行う解析から得られたデータも追加されます。

CFX Maestro Dx SEではユーザー定義またはPrimePCR実験を簡単に設定して実施できるようになっています。[Run Setup (ランの設定)]ウィンドウでの案内に従って実験に共通の設定手順を行います。[Start Run (ランの開始)]ダイアログボックスに到達した時点で、そこからランを開始できます。

[Run Setup (ランの設定)]ウィンドウ

[Run Setup (ランの設定)]ウィンドウでは、実験の設定とランを行うために必要なファイルおよび設定に迅速にアクセスできます。ユーザー定義の実験のランを選択すると、[Run Setup (ランの設定)]ウィンドウが開き、[Protocol (プロトコル)]タブが表示されます。PrimePCR実験のランを選択すると、[Run Setup (ランの設定)]ウィンドウが開き、[Start Run (ランの開始)]タブが表示されます。

ヒント: PrimePCRについては、[PrimePCR実験の実施\(170ページ\)](#)を参照してください。[Start Run (ランの開始)]タブについては、[\[Start Run \(ランの開始\)\]タブ\(161ページ\)](#)を参照してください。



凡例

1. タブの案内に従って実験の設定とランを行うことができます。
 - [Protocol (プロトコル)]タブ — ランを実行するか、編集する既存のプロトコルを選択するか、プロトコルエディターで新しいプロトコルを作成します。
 - [Plate (プレート)]タブ — ランを実行するか、編集する既存のプレートを選択するか、プレートエディターで新しいプレートを作成します。
 - [Start Run (ランの開始)]タブ — 実験の設定を確認し、1つ以上の機器ブロックを選択してランを開始します。

2. 各タブでオプションを適用すると、メインウィンドウにそれらのオプションが表示されます。

3. ナビゲーションボタンをクリックすると、[Start Run (ランの開始)]タブに移動します。

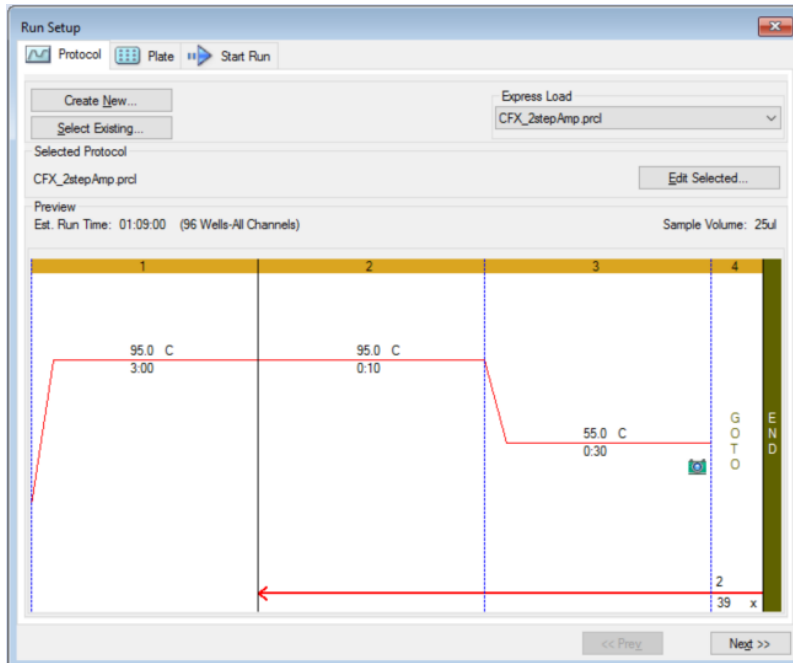
[Run Setup (ランの設定)]ウィンドウへのアクセス

[Run Setup (ランの設定)]ウィンドウにアクセスするには

- ▶ 次のいずれかを実行します。
 - スタートアップウィザードの[Run Setup (ランの設定)]タブで、[User-defined (ユーザー定義)]または[PrimePCR]をクリックします。
 - ホームウィンドウのツールバーで、[User-defined Run Setup (ユーザー定義ラン設定)]または[PrimePCR Run Setup (PrimePCRラン設定)]をクリックします。
 - ホームウィンドウで、[Run (ラン)] > [User-defined Run (ユーザー定義ラン)]または[Run (ラン)] > [PrimePCR Run (PrimePCRラン)]を選択します。

[Protocol (プロトコル)]タブ

[Protocol (プロトコル)]タブには、ランを実行するプロトコルファイルのプレビューが表示されます。プロトコルファイルには、機器の温度ステップに関する指示に加え、ランプレート、サンプル容量、およびリッド温度を制御する機器のオプションが含まれています。



デフォルトでは、[User (ユーザー)] > [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスの[Files (ファイル)]タブにある[Run Setup (ランの設定)]セクションの[File Selection (ファイル選択)]で定義されているプロトコルが表示されます。[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスでデフォルトのプロトコルを変更できます。詳細については、[デフォルトのファイル設定の変更\(80ページ\)](#)を参照してください。

[Protocol (プロトコル)]タブでは、次の操作を行うことができます

- ランを実行する新しいプロトコルを作成する
- 既存のプロトコルを選択してランを実行するか、編集する

プロトコルを作成および変更する方法については、[第7章、プロトコルの作成](#)を参照してください。

新しいプロトコルを作成するには

1. [Protocol (プロトコル)]タブで、[Create New (新規作成)]をクリックします。
プロトコルエディターが表示されます。
2. プロトコルエディターを使用して、新しいプロトコルを作成します。

3. [OK]をクリックしてプロトコルを保存し、[Run Setup (ランの設定)]の[Protocol (プロトコル)]タブに戻ります。
4. プロトコルの詳細を確認し、次のいずれかの操作を行います。
 - 詳細が正しい場合は、[Next (次へ)]をクリックして[Plate (プレート)]タブに進みます。
 - 詳細が正しくない場合は、[Edit Selected (選択内容を編集)]をクリックしてプロトコルエディターに戻ります。プロトコルを修正し、変更を保存してから、[Protocol (プロトコル)]タブの[Next (次へ)]をクリックして、[Plate (プレート)]タブに進みます。

既存のプロトコルを選択するには

1. [Protocol (プロトコル)]タブで、次のいずれかの操作を行います。
 - [Select Existing (既存のものを選択)]をクリックして、既存のプロトコルに移動します。
 - [Express Load]をクリックして、ドロップダウンリストからプロトコルを選択します。

ヒント: [Express Load]ドロップダウンリストに表示されるプロトコルを追加または削除することができます。詳細については、以下の[Express Loadプロトコルの追加と削除](#)を参照してください。
2. プロトコルの詳細を確認し、次のいずれかの操作を行います。
 - 詳細が正しい場合は、[Next (次へ)]をクリックして[Plate (プレート)]タブに進みます。
 - 詳細が正しくない場合は、[Edit Selected (選択内容を編集)]をクリックしてプロトコルエディターを開きます。プロトコルを修正し、変更を保存してから、[Protocol (プロトコル)]タブの[Next (次へ)]をクリックして、[Plate (プレート)]タブに進みます。

Express Loadプロトコルの追加と削除

プロトコルエディターに表示される[Express Load]ドロップダウンリストの内容を変更できます。このリストに表示されるプロトコルは、次のフォルダに保存されています。

c:\Users\Public\Public Documents\Bio-Rad\CFX_MDX\Users\[user_name]\ExpressLoad\

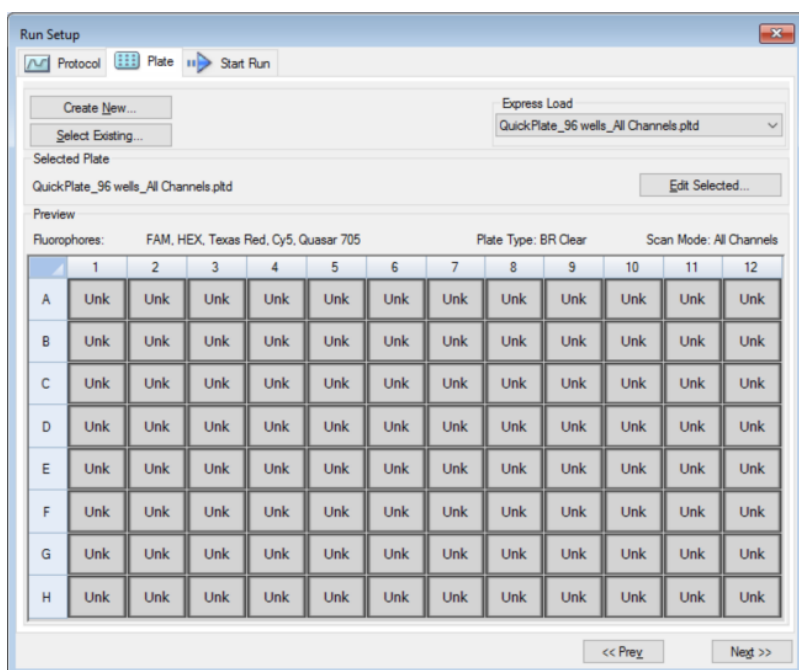
プロトコルの[Express Load]リストを変更するには

1. ExpressLoadフォルダに移動し、このフォルダを開きます。
2. フォルダ内のプロトコルファイル(.pctl)を確認します。
3. 次のいずれかの操作を行います。
 - プロトコルをドロップダウンリストから削除するには、そのプロトコルをフォルダから削除します。
 - プロトコルをドロップダウンリストに追加するには、そのプロトコルをフォルダ内にコピーします。

[Plate (プレート)]タブ

注: [Protocol (プロトコル)]タブで選択されているプロトコルにリアルタイムPCR解析用のプレートリードステップが含まれていない場合、[Plate (プレート)]タブは非表示になります。[Plate (プレート)]タブを表示するには、少なくとも1つのプレートリードをプロトコルに追加する必要があります。

[Plate (プレート)]タブには、ロードされるプレートファイルのプレビューが表示されます。リアルタイムPCRランでは、プレートファイルに各ウェルの内容の説明(蛍光色素、スキャンモード、およびプレートタイプなど)が含まれています。CFX Maestro Dx SEではこれらの説明を使用してデータの収集と解析を行います。



デフォルトでは、[User (ユーザー)] > [User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスの[Files (ファイル)]タブにある[Run Setup (ランの設定)]セクションの[File Selection (ファイル選択)]で定義されているプレートが表示されます。[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで、デフォルトのプレートを変更できます。詳細については、[デフォルトのファイル設定の変更\(80ページ\)](#)を参照してください。

[Plate (プレート)]タブでは、次の操作を行うことができます。

- ロードする新しいプレートを作成する
- ロードまたは編集する既存のプレートを選択する

プレートを作成および変更する方法については、[第8章、プレートの準備](#)を参照してください。

新しいプレートを作成するには

1. [Plate (プレート)]タブで、[Create New (新規作成)]をクリックします。
プレートエディターが表示されます。
2. プレートエディターを使用して、新しいプレートを作成します。
3. [OK]をクリックしてプレートを保存し、[Run Setup (ランの設定)]の[Plate (プレート)]タブに戻ります。
4. プレートの詳細を確認し、次のいずれかの操作を行います。
 - 詳細が正しい場合は、[Next (次へ)]をクリックして[Start Run (ランの開始)]タブに進みます。
 - 詳細が正しくない場合は、[Edit Selected (選択内容を編集)]をクリックしてプレートエディターに戻ります。プレートファイルを修正し、変更を保存してから、[Plate (プレート)]タブの[Next (次へ)]をクリックして、[Start Run (ランの開始)]タブに進みます。

既存のプレートファイルを選択するには

1. [Plate (プレート)]タブで、次のいずれかの操作を行います。
 - [Select Existing (既存のものを選択)]をクリックして、既存のプレートファイルに移動します。
 - [Express Load]をクリックして、ドロップダウンリストからプレートファイルを選択します。

ヒント: [Express Load]ドロップダウンリストに表示されるプレートを追加または削除することができます。詳細については、以下の[Express Loadプレートファイルの追加と削除](#)を参照してください。
2. プレートの詳細を確認し、次のいずれかの操作を行います。
 - 詳細が正しい場合は、[Next (次へ)]をクリックして[Start Run (ランの開始)]タブに進みます。
 - 詳細が正しくない場合は、[Edit Selected (選択内容を編集)]をクリックして[Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウを開きます。プレートファイルを修正し、変更を保存してから、[Next (次へ)]をクリックして、[Start Run (ランの開始)]タブに進みます。

Express Loadプレートファイルの追加と削除

プレートエディターに表示される[Express Load]ドロップダウンリストの内容を変更できます。このリストに表示されるプレートは、次のフォルダに保存されています。

c:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_MDx\Users\[user_name]\ExpressLoad\

プレートファイルの[Express Load]リストを変更するには

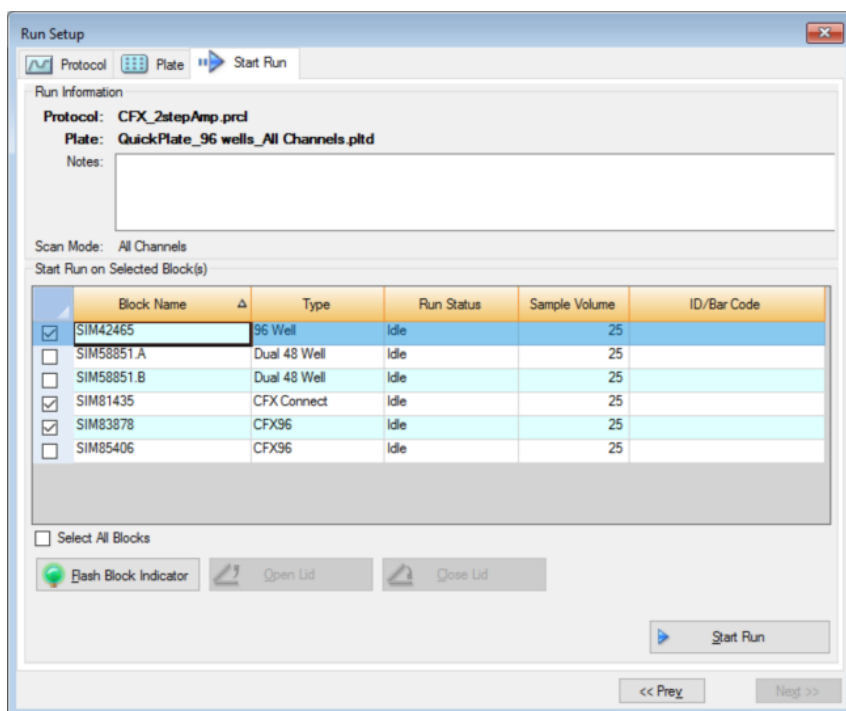
1. ExpressLoadフォルダに移動し、このフォルダを開きます。
2. フォルダ内のプレートファイル(.pltd)を確認します。
3. 次のいずれかを実行します。

第9章 実験の実施

- プレートファイルをドロップダウンリストから削除するには、そのファイルをフォルダから削除します。
- プレートファイルをドロップダウンリストに追加するには、そのファイルをフォルダ内にコピーします。

[Start Run (ランの開始)]タブ

[Start Run (ランの開始)]タブには、ランを行う実験に関する情報が表示されます。また、実験のランに使用できる、1つ以上の接続機器のブロックも表示されます。



[Start Run (ランの開始)]タブでは、次の操作を行うことができます。

- 選択されているプロトコルファイル、プレートファイル、スキャンモードなど、詳細なラン情報を表示する
- ランに関するメモを追加する
- ランステータス(実行中またはアイドル)、サンプル容量(μl)、リッド温度、エミュレーションモード、IDまたはバーコード(利用可能な場合)など、すべての接続機器に関する詳細を表示する

注: [Start Run on Selected Block(s) (選択済みブロックでランを開始)]表に表示されるカラムを変更できます。詳細については、[選択済みブロック表内の詳細の変更\(162ページ\)](#)を参照してください。

- ランを実施する1つ以上のブロックを選択する
- 選択されている各機器のリッドをリモートから開閉する
- ランを開始する

選択済みブロック表内の詳細の変更

[Start Run on Selected Block(s) (選択済みブロックでランを開始)]表に表示されるカラムを変更できます。この表のデフォルトのサンプル容量とリッド温度の値を変更することもできます。設定の変更は、以降に実施されるランに適用されます。

[Start Run on Selected Block(s) (選択済みブロックでランを開始)]表にカラムを追加するには

- ▶ 表を右クリックして、表示されるメニュー内で該当するオプションをオンにします。

[Start Run on Selected Block(s) (選択済みブロックでランを開始)]表からカラムを削除するには

- ▶ 表を右クリックして、表示されるメニュー内で該当するオプションをオフにします。

ブロックのサンプル容量またはリッド温度の値を編集するには

- ▶ ターゲットブロックのサンプル容量またはリッド温度のセルを選択し、セルに新しい値を入力します。

ブロックのランIDまたはバーコードを追加するには

- ▶ ターゲットブロックのID/バーコードのセルを選択し、セルにIDを入力するか、バーコードリーダーでブロックをスキャンします。

実験の実施

重要: 実験のランを実行する前に、コンピューターのウイルス対策ソフトウェアによるスキャンがラン実施中に開始されないことを確認してください。[CFX Maestro Dx SEソフトウェアのインストール\(29ページ\)](#)を参照してください。また、詳細についてはシステム管理者に問い合わせてください。

実験のランを実行するには

1. [Start Run (ランの開始)]タブで、[Run Information (ラン情報)]セクションに表示されているプレートとプロトコルの詳細を確認します。
2. (オプション) [Notes (メモ)]テキストボックスに、ランまたは実験に関するメモを追加します。
3. ランを実施する1つ以上のブロックのチェックボックスをオンにします。

ヒント: すべてのブロックで実験のランを実施するには、[Selected Blocks (選択済みブロック)]表の下にある[Select All Blocks (すべてのブロックを選択)]を選択します。

4. (オプション) [Flash Block Indicator (ブロックインジケータの点滅)]をクリックして、選択されている機器ブロックのインジケータLEDを点滅させます。
5. ブロックに実験プレートを挿入します。
 - a. [Open Lid (リッドを開く)]をクリックします。選択されている各ブロックの電動リッドが開きます。
 - b. 選択されている各ブロックに実験プレートを挿入します。

c. [Close Lid (リッドを閉じる)]をクリックします。

ヒント: CFX Opus Dxシステムでは、ホーム画面で[Open Lid (リッドを開く)]または[Close Lid (リッドを閉じる)]をタップします。

6. [Open Lid (リッドを開く)]または[Close Lid (リッドを閉じる)]をクリックして、選択されている各機器ブロックの電動リッドを開閉します。
7. ランの詳細を確認し、次のいずれかの操作を行います。
 - 詳細が正しい場合は、[Start Run (ランの開始)]をクリックします。
 - 詳細が正しくない場合:
 - [Selected Blocks (選択済みブロック)]表の詳細を修正してから、[Start Run (ランの開始)]をクリックします。
 - 該当するタブに戻って適切な変更を加え、変更を保存してから、[Next (次へ)]をクリックして[Start Run (ランの開始)]タブに戻り、ランを開始します。

以前のランから新しいランを開始するには

- ▶ 次のいずれかを実行します。
 - メインソフトウェアメニューバーで[File (ファイル)] > [Repeat a Run (ランの繰り返し)]を選択し、繰り返すランのランデータファイルに移動してダブルクリックします。
 - スタートアップウィザードで[Repeat Run (ランの繰り返し)]タブを選択し、繰り返すランのランデータファイルをダブルクリックします。
- 必要に応じて、[Repeat Run (ランの繰り返し)]タブで[Browse (参照)]をクリックし、繰り返すランデータファイルに移動してダブルクリックすることもできます。

[Run Details (ランの詳細)]ダイアログボックス

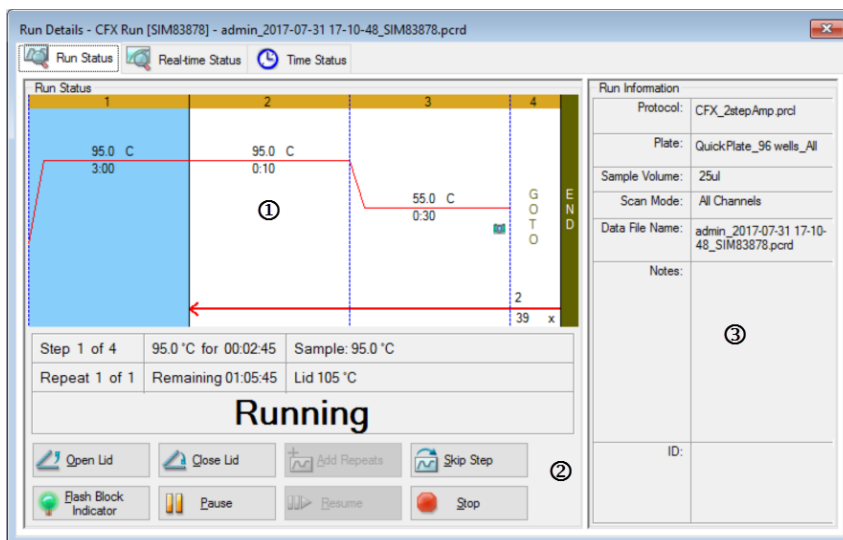
[Start Run (ランの開始)]をクリックすると、CFX Maestro Dx SEはデータファイル(.pcrd)を保存するよう促し、ランを開始して[Run Details (ランの詳細)]ダイアログボックスを開きます。[Run Details (ランの詳細)]ダイアログボックスには、次の3つのステータスタブがあります。

- **Run Status (ランステータス)** — このタブを使用して、プロトコルの現在のステータスの表示、リッドの開閉、ランの一時停止、繰り返しの追加、ステップのスキップ、ランの停止を行うことができます。
- **Real-time Status (リアルタイムステータス)** — このタブを使用して、収集されたリアルタイムPCR蛍光データを確認します。
- **Time Status (時間ステータス)** — このタブには、プロトコルのカウントダウンタイマーが全画面で表示されません。

これらのタブについて、以降のセクションで詳しく説明します。

[Run Status (ランステータス)]タブ

[Run Status (ランステータス)]タブには、進行中のランの現在のステータスが表示されます。このビューで、リッドを制御したり、進行中のランを変更したりすることもできます。



凡例

1. [Run Status (ランステータス)]ペイン — プロトコルの現在の進行状況が表示されます。
2. ランステータスのコントロール — 機器を操作したり、現在のプロトコルを中断したりできます。
3. [Run Information (ラン情報)]ペイン — ランの詳細が表示されます。

ランステータスのコマンド

[Run Status (ランステータス)]タブ内のコマンドを使用して、ソフトウェアから機器を操作したり、進行中のランを変更したりできます。

注: ラン実行中にプロトコルを変更しても(繰り返しの追加など)、ランに関連付けられているプロトコルファイルは変更されません。こうしたアクションは、ランログに記録されます。



— 選択されている機器の電動リッドを開きます。

重要: ラン実行中にリッドを開くと、現在のステップでランが一時停止されて、データが変更される可能性があります。



— 選択されている機器の電動リッドを閉じます。



— プロトコルの現在のGOTOステップにさらに繰り返しを追加します。このオプションは、GOTOステップの実行中にのみ使用できます。

注: プロトコルの進行中、GoToサイクルが行われている間に繰り返しを追加できます。ただし、CFX Maestro Dx SEが認識するのは、繰り返し回数の最新の変更です。たとえば、GoToサイクルが行われている間に10回の繰り返しを追加すると、ソフトウェアは繰り返しの合計回数を $n + 10$ に変更します。その後、同じサイクルでさらに5回の繰り返しを追加すると、CFX Maestroは繰り返しの合計回数を $n + 5$ に変更します。つまり、最初の変更(10回の繰り返し)は無視されます。ソフトウェアが目標の回数の繰り返しを行うようにするには、合計回数(この場合は15回の繰り返し)を入力します。



— プロトコルの現在のステップをスキップします。

注: GOTOステップ中にスキップを起動すると、システムはGOTOループの次のサイクルにスキップします。スキップする時点でGOTOステップの最後のサイクルが進行中である場合、システムは次のステップにスキップします。



— 選択されている機器のLEDを点滅させて、選択済みのブロックを識別します。

第9章 実験の実施



— プロトコルを一時停止します。

注: このアクションはランログに記録されます。



— 一時停止したプロトコルを再開します。

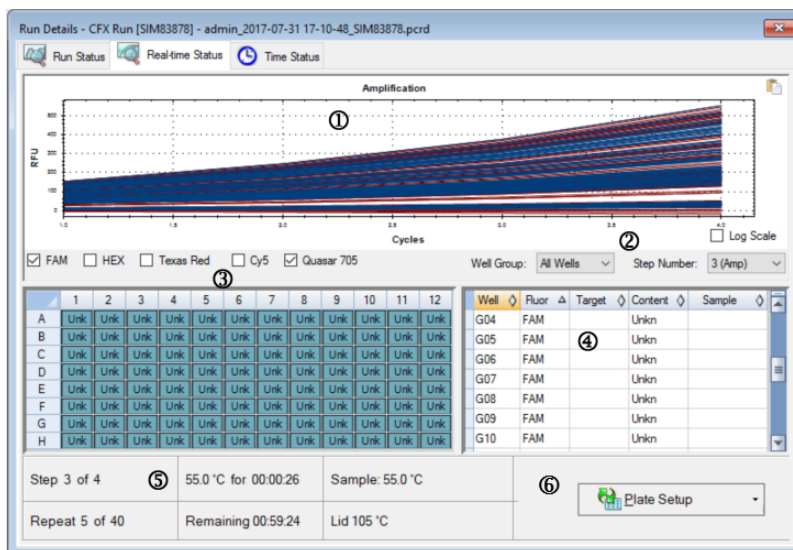


— プロトコルが終了する前にランを停止します。

注: プロトコルが終了する前にランを停止すると、データが変更される可能性があります。

[Real-time Status (リアルタイムステータス)]タブ

[Real-time Status (リアルタイムステータス)]タブには、ランでの最初の2回のプレート読み取り後に各サイクルで収集されたリアルタイムPCRデータが表示されます。



凡例

1. [Amplification (増幅)]トレースペイン — ラン実行中のリアルタイム増幅データが表示されます。

2. [Well Group (ウェルグループ)]識別子 — プレートセットアップでウェルグループが識別された場合、ユーザーは特定のウェルグループを選択して、そのトレース、ウェル、および表形式の情報を表示できます。
[Step Number (ステップ番号)]識別子 - プロトコルが複数のステップでデータを収集する場合(たとえば、増幅および融解曲線中)、ユーザーは特定のステップを選択して、そのステップで収集されたトレースを表示できます。

3. ウェルセレクターペイン — プレート内のアクティブウェル、非アクティブウェル、および空のウェルが表示されます。

4. プレート設定表ペイン — 表形式でプレート設定が表示されます。

5. ランの詳細ペイン — 以下を含むランのリアルタイムステータスが表示されます。
 - 現在のステップ
 - 現在のレポート数
 - 現在の温度
 - 残り時間
 - サンプル温度
 - リッド温度

6. Plate Setup (プレート設定) — [Plate Setup (プレート設定)]ダイアログボックスが開きます。ユーザーはこのダイアログボックスで、ラン実行中に現在のプレート設定を変更できます。

[Real-time Status (リアルタイムステータス)]タブでは、次の操作を行うことができます

- ウェルセレクターペインまたはプレート設定表でリアルタイムトレースを選択して、その表示または非表示を切り替える
- 単一のトレースまたはトレースのグループを表示するために、[Well Group (ウェルグループ)]ドロップダウンで目的のトレースを選択する
- プレートを編集する、またはプレートファイルを置き換える
- PrimePCRファイルをランに適用する

リアルタイムトレースの表示または非表示

デフォルトでは、充填されたすべてのウェルはアクティブであり、プレート設定表に表示されます。アクティブウェルは、ウェルセレクターペインに青色で表示されます。ウェルセレクターペインでは、非表示のウェルは薄いグレーで表示され、未使用のウェルは濃いグレーで表示されます。

ランの実行中にアクティブウェルからのトレースを非表示にすることができます。ウェルを非表示にしても、CFX Maestro Dx SEはすべてのウェルに関するデータを引き続き収集しますが、非表示にされたウェルのデータはプレート設定表に表示されません。

リアルタイムトレースを非表示にするには

- ▶ ウェルセレクターペインで、非表示にするアクティブウェル(青色)をクリックします。

リアルタイムトレースを表示するには

- ▶ ウェルセレクターペインで、表示する非表示ウェル(薄いグレー)をクリックします。

ウェルセレクターについて詳しくは、[ウェルセレクター\(187ページ\)](#)を参照してください。

プレート設定の編集

プレート設定を編集するには

- ▶ [Plate Setup (プレート設定)]をクリックして、[View/Edit Plate (プレートの表示/編集)]を選択します。

[Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウが表示されます。このウィンドウで、ランの進行中にプレートを編集できます。プレートの編集方法について詳しくは、[第8章、プレートの準備](#)を参照してください。

注: [Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウからトレーススタイルを編集することもできます。トレーススタイルに加えた変更は、[Real-time Status (リアルタイムステータス)]タブの増幅トレースプロットに反映されます。

プレートファイルの置換

ヒント: プレートファイルの置き換えは、ExpressLoadフォルダ内のクイックプレートファイルを使用してランを開始する場合に特に役立ちます。

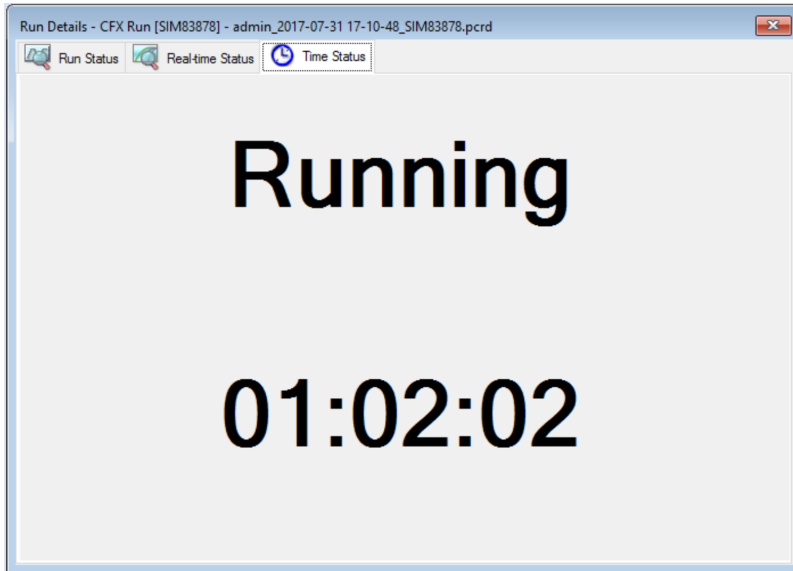
プレートファイルを置き換えるには

- ▶ [Plate Setup (プレート設定)]をクリックし、次のいずれかのオプションを選択します。
 - Replace Plate file (プレートファイルの置換) — ブラウザウィンドウに表示されるリストから新しいプレートファイルを選択します
 - Apply PrimePCR File (PrimePCRファイルの適用) — スマート検索を使用して取得したプレートレイアウトからランファイルを検索します。または、[Browse (参照)]をクリックして、PrimePCRフォルダ内にはない、バイオ・ラッド社のウェブサイトからダウンロードするファイルを見つけます。

注: CFX Maestro Dx SEにより、プレートファイルのスキャンモードとプレートサイズが確認されます。これらは、ランを開始するときに使用されたラン設定と同じである必要があります。

[Time Status (時間ステータス)]タブ

[Time Status (時間ステータス)]タブには、現在のランが完了するまでの残り時間が表示されます。



PrimePCR実験の実施

PrimePCR実験では、バイオ・ラッド社がウエットラボで検証して最適化済みのパスウェイまたは疾患に固有のアッセイが使用されます。これらのアッセイは次の形式で用意されています。

- プリプレートパネル—生物学的パスウェイまたは疾患に固有のアッセイを含むプレート。これらのプレートには、PrimePCRコントロールと対照遺伝子が含まれています。
- カスタム構成プレート—ユーザー決定レイアウトで対象のターゲット、コントロール、およびリファレンスのアッセイを選択して設定できるプレート。
- 個々のアッセイ—ユーザーリアルタイム反応で使用する個々のプライマーセットを含むチューブ。

全体的なラン時間を短縮するために、プロトコルの融解ステップを削除することもできます。これ以外の変更はPrimePCRランプロトコルに加えないことを強くお勧めします。デフォルトのプロトコルは、アッセイの検証で使用されたものです。デフォルトのプロトコルを逸脱すると、結果に影響が及ぶ可能性があります。プロトコルの変更は、結果として生成されるデータファイルの[Run Information (ラン情報)]タブおよび作成するすべてのレポートに記載されます。

PrimePCRランを開始するには

- ▶ PrimePCRランを開始するには、次のいずれかの操作を行います。
 - スタートアップウィザードの[Run setup (ランの設定)]タブでPrimePCRを選択し、該当するケミストリー (SYBR[®]またはプローブ)を選択します。
 - スタートアップウィザードの[Repeat run (ランの繰り返し)]タブで、[Recent Runs (最近のラン)]リストからPrimePCRランを選択します。
 - ホームウィンドウで[File (ファイル)] > [Open (開く)] > [PrimePCR Run File (PrimePCRランファイル)]を選択します。
 - PrimePCRランファイルをホームウィンドウにドラッグアンドドロップします。

PrimePCRランを選択すると[Run Setup (ランの設定)]ウィンドウが開き、[Start Run (ランの開始)]タブに、選択されている機器に基づいてデフォルトのPrimePCRプレートレイアウトがロードされます。

プロトコルの融解ステップを削除するには

- ▶ [Protocol (プロトコル)]タブで、[Include Melt Step (融解ステップを含める)]の横にあるボックスをオフにします。

PrimePCRプレートのターゲット情報をプレートレイアウトにインポートするには

1. 次のいずれかを実行します。
 - [Run Details (ランの詳細)]ダイアログボックスの[Real-time Status (リアルタイムステータス)]タブで、[Plate Setup (プレート設定)] > [Apply PrimePCR File (PrimePCRファイルの適用)]を選択します。
 - [Data Analysis (データ解析)]ウィンドウで、[Plate Setup (プレート設定)] > [Apply PrimePCR File (PrimePCRファイルの適用)]を選択します。
2. [PrimePCR run file (PrimePCRランファイル)]ダイアログボックスで[Browse (参照)]をクリックし、該当するPrimePCRファイル(.csv)に移動します。
3. ターゲットのPrimePCRファイルを選択し、[Open (開く)]をクリックします。

CFX Opus Dxシステムにより、ターゲット情報がプレートレイアウトにインポートされます。

解析のためのスタンドアロンデータの転送

重要: CFX Opus DxシステムからCFX Maestro Dx SEにデータファイルを転送するときは、システム上に保存されているすべてのファイルが転送されます。データを安全に転送するのに十分な空き容量がディスクにあることを確認してください。

ランが完了すると、CFX Maestro Dx SEが蛍光データを解析します。ランがスタンドアロンモードで実行されて、データがCFX Opus Dxシステム自体に保存される場合、そのデータを解析のためにCFX Maestro Dx SEコンピュータに転送する必要があります。

CFX Opus Dxシステムは最大5件までのリアルタイムPCRランを保存できます。ランが完了した後、スタンドアロンデータファイルをCFX Maestro Dx SEコンピュータに転送するには、Eメール、USBドライブを使用できます。

このセクションでは、スタンドアロンデータファイルをCFX Maestro Dx SEコンピュータに転送する方法を説明します。

Eメールを介したデータの転送

ラン終了時にデータファイルをEメールで送信するには

1. 機器でEメール通知を設定します。

[Eメール通知のセットアップ\(77ページ\)](#)またはCFX Opus DxリアルタイムPCRシステム操作マニュアルを参照してください。

2. Eメール通知を設定するときに、[Attach Data File (データファイルの添付)]が選択されていることを確認してください。

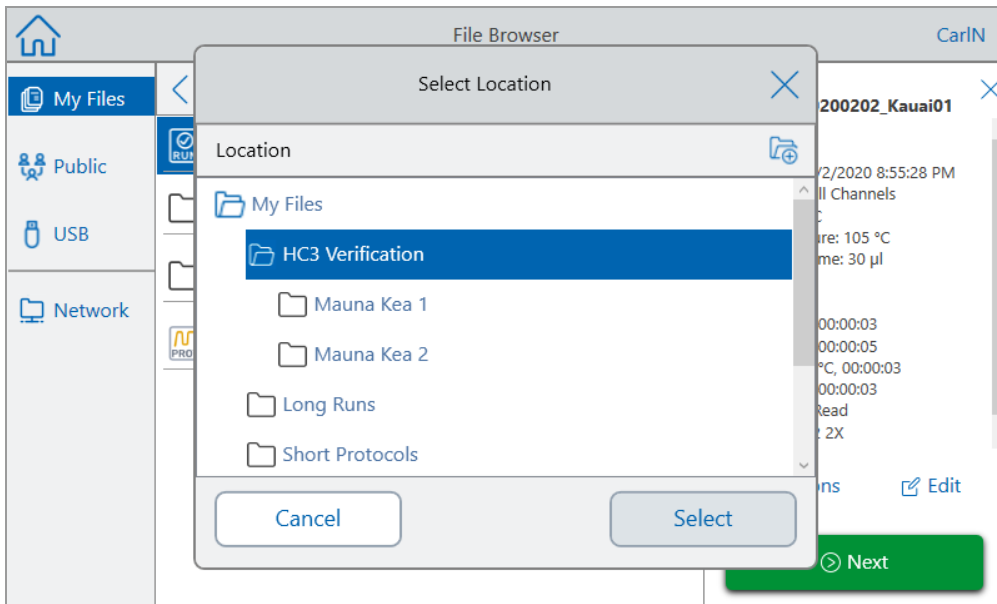
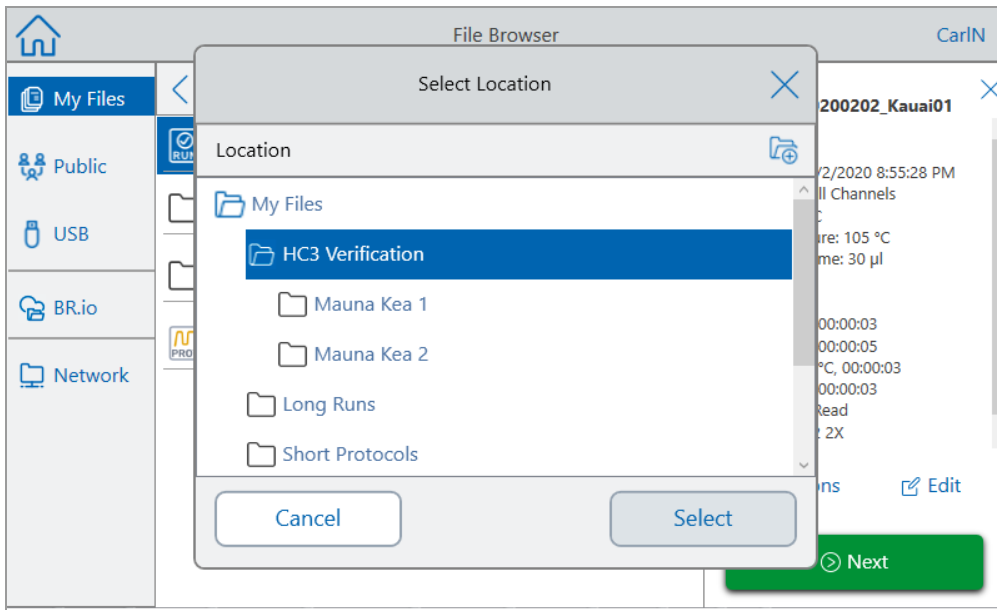
ランデータは、.pcrdファイルとしてEメールで送信されます。

CFX Opus DxリアルタイムPCRシステムからのデータの転送

CFX Opus Dxシステム上のファイルブラウザ機能を使用すると、接続されたUSBドライブまたは共有ネットワークフォルダにデータファイルを転送できます。CFX Maestro Dx SEのプロトコルファイルをUSBドライブまたは共有ドライブからCFX Opus Dxシステムのファイルブラウザシステム内のフォルダに転送し、CFX Opus機器で実行することもできます。

ヒント: このセクションでは、データの転送方法について説明します。イーサネットの設定については、CFX Opus DxリアルタイムPCRシステムの取扱説明書を参照してください。CFX Maestro Dx SEヘルプメニューのご覧いただけます。

1. CFX Opus Dxのホーム画面で、[Files]をタップしてファイルブラウザ画面を開きます。
2. ファイルブラウザ画面でコピーするファイルを探し、ファイルをタップしてファイルの詳細ペインを表示します。
3. ファイルの詳細ペインで[Options]をタップし、[Copy]をタップします。



[Select Location]ダイアログボックスが表示されます。

4. [Select Location]ダイアログボックスで、次のいずれかを実行します。
 - 既存のフォルダに移動します。

- ファイルを保存するフォルダを作成する場所へ移動し、[Create Folder] (📁) をタップしてその場所に新しいフォルダを作成します。

5. [Select]をタップして選択した場所にファイルをコピーするか、[Cancel]をタップしてファイルブラウザ画面に戻ります。

注: 選択した場所に同じ名前のファイルが存在する場合は、ダイアログが表示されます。[Yes]をタップして既存のファイルを上書きするか、[No]をタップしてファイルブラウザ画面に戻ります。

CFX Opusシステムでは、ファイルが正常にコピーされると確認メッセージが表示されます。

USBドライブを使用したデータ転送

機器のUSBポートにUSBドライブを挿入している場合、ランの完了時に、USBドライブのルートディレクトリに自動的にデータファイルが保存されます。保存済みのデータファイルを見つけて、接続されたUSBドライブに保存することもできます。

CFX Opus Dxシステム上のUSBドライブにデータファイルを転送するには

- ▶ [Select Location (場所の選択)]ダイアログボックスで、[USB]をタップし、ファイルのコピー先とするフォルダに移動するか、[Cancel (キャンセル)]をクリックしてファイルブラウザ画面に戻ります。

注: 選択した場所に同じ名前のファイルが存在する場合は、ダイアログが表示されます。[Yes (はい)]をタップして既存のファイルを上書きするか、[No (いいえ)]をタップしてファイルブラウザ画面に戻ります。

CFX Opus Dxシステムでは、ファイルが正常にコピーされると確認メッセージが表示されます。

CFX Opus DxリアルタイムPCRシステムを使用した共有ネットワークドライブ経由のデータ転送

ヒント: 共有ネットワークドライブとの間でデータを転送できるのは、CFX Opus Dxシステムを使用する場合のみです。

CFX Opus Dxシステムでは、イーサネットを使用して共有ネットワークドライブに接続できるようになっています。正常に接続されていれば、共有ネットワークドライブ上のフォルダとの間でデータファイルを転送できます。

共有ネットワークドライブとの間でデータを転送するには

- ▶ [Select Location (場所の選択)]ダイアログボックスで、[Network (ネットワーク)]をタップし、ファイルのコピー先とするフォルダに移動するか、[Cancel (キャンセル)]をクリックしてファイルブラウザ画面に戻ります。

注: 選択した場所に同じ名前のファイルが存在する場合は、ダイアログが表示されます。[Yes (はい)]をタップして既存のファイルを上書きするか、[No (いいえ)]をタップしてファイルブラウザ画面に戻ります。

CFX Opus Dxシステムでは、ファイルが正常にコピーされると確認メッセージが表示されます。

データファイルの作成

機器からCFX Maestro Dx SEコンピューターに転送されたデータを解析するには、圧縮データファイル(.zpcrファイル)をデータファイル(.pcrdファイル)に変換する必要があります。CFX Maestro Dx SEは.zpcrファイルを.pcrdファイルに変換してから、スキャンモードとプレートサイズが同じプレートファイルを選択し、そのプレートファイルを.pcrdファイルに適用します。

スタンドアロンデータファイルからデータファイルを作成するには

1. CFX Maestro Dx SEで、次のいずれかの操作を行います。
 - ターゲットの.zpcrファイルを見つけて、CFX Maestro Dx SEホームウィンドウにドラッグします。
 - [File (ファイル)] > [Open (開く)] > [Stand-alone Run (スタンドアロンラン)]を選択し、ターゲットファイルに移動して選択します。

CFX Maestro Dx SEにより、[Save As (名前を付けて保存)]ダイアログボックスが表示されます。
2. .pcrdファイルを保存するフォルダに移動し、[Save (保存)]をクリックします。

.pcrdファイルを保存した後、CFX Maestro Dx SEの[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウが開き、結果のデータが表示されます。

第10章 データ解析の概要

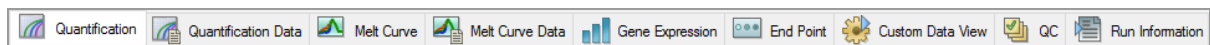
CFX Maestro Dx SEソフトウェアは、各ランの終了時にリアルタイムPCRデータを自動的に処理し、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウを開いて、これらのデータ(.pcrdファイル)を表示します。

CFX Maestro Dx SEは、データファイルを開いて表示するためのいくつかの方法を提供しています。以下の操作が可能です。

- データファイル(.pcrd拡張子)を[Home (ホーム)]ウィンドウにドラッグしてマウスを放す
- [Home (ホーム)]ウィンドウで、[File (ファイル)] > [Open (開く)] > [Data File (データファイル)]を選択し、ターゲットの.pcrdファイルを参照する
- [Home (ホーム)]ウィンドウで、[File (ファイル)] > [Recent Data Files (最近のデータファイル)]を選択し、最近開いた10個のデータファイルのリストから選択する
- スタートアップウィザードで[Analyze (解析)]タブを選択し、[Recent Files (最近のファイル)]から選択するか、[Browse (参照)]をクリックしてデータファイルを見つける

[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウ

[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウには複数のタブが表示され、各タブには特定の解析方法の解析済みデータまたはラン固有の情報が表示されます。タブは、ランで収集されたデータがそのタイプの解析に使用可能な場合にのみ表示されます。



ヒント: 表示するタブを選択するには、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウのドロップダウンメニュー [View (表示)]からタブを選択します。元のタブレイアウトに戻すには、[Settings (設定)] > [Restore Default Window Layout (デフォルトのウィンドウレイアウトに戻す)]を選択します。

[Data Analysis (データ解析)]ツールバー

[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウのツールバーから、重要なデータ解析機能にすばやくアクセスできます。

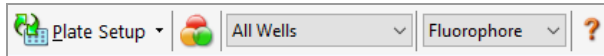


表 10 に、ツールバーのボタンの機能を示します。

表 10. [Data Analysis (データ解析)]ウィンドウのツールバー

ボタン	名前	機能
	Plate Setup (プレートのセットアップ)	<p>プレートの表示/編集 — Plate Editorを開いて、ウェルの内容を表示して編集します。</p> <p>プレートの置換 — プレートレイアウトを置き換えるプレートファイルを選択します。</p> <p>PrimePCRファイルの適用 — PrimePCRランのプレートレイアウトを置き換えるランファイルを選択します。</p>
	Manage Well Groups (ウェルグループの管理)	[Well Groups Manager]ウィンドウを開き、ウェルグループを作成、編集、および削除します。
	Well Group (ウェルグループ)	ドロップダウンメニューから既存のウェルグループ名を選択します。デフォルトの選択は[All Wells (すべてのウェル)]です。このボタンは、ウェルグループが作成された場合のみ表示されます。
	解析モード	蛍光色素またはターゲットモードでデータを解析します。
	Help (ヘルプ)	オンラインヘルプとこのマニュアルのAcrobatPDF形式のデジタルコピーを参照できるソフトウェアヘルプを開きます。

データ解析メニューバー

表 11 に、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウのメニューバー項目を示します。

表 11. [Data Analysis (データ解析)]ウィンドウのメニューバー項目

メニュー項目	コマンド	機能
File (ファイル)	Save (保存)	ファイルを保存します。
	Save As (名前を付けて保存)	ファイルを新しい名前で保存します。
	File Passwords (ファイルパスワード)	ユーザーがファイルの保存パスワードと開くためのパスワードを設定できるようにします。
	Sign (署名)	ユーザーがデータファイルに署名できるようにします。
	Repeat Run (繰り返しラン)	現在のランからプロトコルとプレート ファイルを抽出してリランします。
	Close (閉じる)	[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウを閉じます。
View (表示)	Run Log (ランログ)	[Run Log (ランログ)]ウィンドウを開いて、現在のデータファイルのランログを表示します。
	Audit Trail (監査証跡)	ファイルの監査証跡を開きます。
	Quantification, Melt Curve, Gene Expression, End Point, Custom Data View, QC, Run Information (定量化、融解曲線、遺伝子発現、エンドポイント、カスタムデータビュー、QC、ラン情報)	[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウの選択されたタブに解析されたデータを表示します。少なくとも1つのタブを選択する必要があります。

表 11. [Data Analysis (データ解析)]ウィンドウのメニューバー項目、続き

メニュー項目	コマンド	機能
Settings (設定)	C _q Determination Mode (C _q 決定モード)	回帰モードまたは単一しきい値モードのいずれかを選択して、各トレースのC _q 値の計算方法を決定できます。
	Baseline Setting (ベースライン設定)	選択したウェルグループのベースライン減算法を選択できます。
	Analysis Mode (解析モード)	蛍光色素またはターゲットごとにデータを解析できます。
	Cycles to Analyze (解析するサイクル数)	解析するサイクル数を選択できます。
	Baseline Threshold (ベースラインしきい値)	[Baseline Threshold (ベースラインしきい値)]ウィンドウを開いて、ベースラインまたはしきい値を調整します。
	Trace Styles (トレーススタイル)	[Trace Styles (トレーススタイル)]ウィンドウを開きます。
	Plate Setup (プレートのセットアップ)	Plate Editorを開き、プレートを表示して編集します。現在のプレートを、ユーザー定義のプレートファイルまたはPrimePCRランファイルのプレートに置き換えます。
	Include All Excluded Wells (除外されたすべてのウェルを含める)	除外されたすべてのウェルを解析に含めます。
	Mouse Highlighting (マウス強調表示)	マウスポインターによるデータの同時強調表示をオンまたはオフにします。 ヒント: [Mouse Highlighting (マウス強調表示)]がオフになっている場合は、Ctrlキーを押して一時的に強調表示をオンにします。
	Restore Default Window Layout (デフォルトのウィンドウレイアウトに戻す)	ウィンドウの配置をデフォルト設定に戻します。

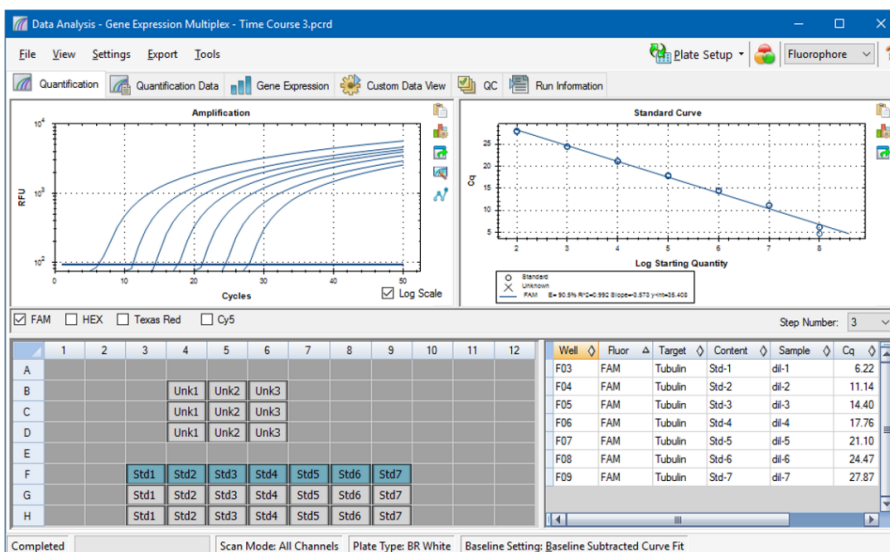
表 11. [Data Analysis (データ解析)]ウィンドウのメニューバー項目、続き

メニュー項目	コマンド	機能
Export (エクスポート)	Export All Data Sheets (すべてのデータシートのエクスポート)	すべてのタブのすべてのスプレッドシートビューを.csv、.txt、Excel、または.xmlファイルのどれにエクスポートするかを選択できます。
	Export RDML File (RDMLファイルのエクスポート)	ファイルをエクスポートするRDMLのバージョン1.1または1.0のどちらかを選択できます。
	Custom Export (カスタムエクスポート)	[Custom Export (カスタムエクスポート)]ウィンドウが開き、ここでエクスポートするフィールドとファイル形式を指定できます。
	Export to LIMS Folder (LIMSフォルダにエクスポート)	データを所定の形式でLIMSフォルダに保存するウィンドウが開きます。
	Seegene Export (Seegeneエクスポート)	ウィンドウが開き、すべてのスプレッドシートビューから、Seegene, Incによる専用の構造を持つExcelファイルにデータを保存する場所を指定できます。 ヒント: エクスポート時にSeegeneViewerを自動的に開始することもできます。詳細については、 [Tools (ツール)]メニューのコマンド (61ページ) を参照してください。
Tools (ツール)	Reports (レポート)	このデータファイルのレポートを開きます。
	Well Group Reports (ウェルグループレポート)	[Well Group Report (ウェルグループレポート)]ウィンドウを開き、指定したウェルグループのレポートを生成します。
	Import Fluorophore Calibration (蛍光色素キャリブレーションのインポート)	現在のデータファイルに適用するキャリブレーションファイルを選択します。
	qbase+	qbase+ v2.5がインストールされている場合は、それを現在の.pcrdファイルから直接起動します。
	Generate LIMS PLRN file (LIMS PLRNファイルの生成)	データファイルをLIMS形式の.plrnファイルとして保存します。

タブの詳細

[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウの各タブでは、特定の解析方法用のグラフおよびスプレッドシートにデータが表示され、表示するデータを選択するためのウェルセレクターが含まれています。[Data Analysis (デー

データ解析]]ウィンドウを開くと、デフォルトで[Quantification (定量化)]タブが表示されます。[Quantification (定量化)]タブの増幅グラフデータを使用して、ランに適切な解析設定を決定できます。



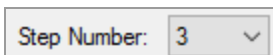
注: ソフトウェアは、各[Data Analysis (データ解析)]タブのペイン内のデータをリンクします。たとえば、ウェルセレクトビューでウェルの上にマウスポインターを置いてウェルを強調表示すると、他のすべてのペイン内のデータが強調表示されます。

ステップ番号セレクト

CFX Opus 96DxおよびCFX Opus 384 Dxシステムは、複数のプロトコルステップで蛍光データを取得できます。ソフトウェアでは、各ステップで取得したデータを個別に維持します。CFX Maestro Dx SEでは、[Quantification (定量化)]タブの検量線グラフの下にステップ番号セレクトが表示されます。プロトコルに少なくとも1つのデータ収集ステップが含まれている場合は、CFX Maestro Dx SEに最初の収集ステップからのデータが表示されます。

プロトコルに複数の収集ステップが含まれている場合は、ドロップダウンリストから別のステップを選択できます。

例:



ステップを選択すると、その選択が[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウに表示されているすべてのデータに適用されます。

データ解析でのウェルグループの表示

プレート内のウェルは、ウェルグループを使用した独立した解析のためにサブセットにグループ化できます。ウェルグループを作成すると、それらのグループ名が[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウとツールバーの[Well Groups (ウェルグループ)]ドロップダウンリストに表示されます。

ウェルグループを作成した場合は、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウを開いたときに、デフォルトのウェルグループ[All Wells (すべてのウェル)]が表示され、グラフとスプレッドシートの内容を含むすべてのウェルにデータが表示します。そのウェルグループ内のウェルのうち、内容がロードされたウェルのみがウェルセクターに表示され、それらのウェルのデータのみがデータ解析の計算に含まれます。

ヒント: ウェルグループを作成、編集、および削除するには、ツールバーの[Manage Well Groups (ウェルグループの管理)]をクリックします。

注: ウェルグループを作成しなかった場合は、[Well Groups (ウェルグループ)]ドロップダウンリストがツールバーに表示されません。

ラン後のウェルの内容の変更

データ解析中に、Plate Editorでウェルの内容を変更してデータの表示方法を変更しても、ラン中に各ウェルから収集された蛍光データは変更されません。モジュールが蛍光データを収集した後、それらのデータを削除することはできませんが、ビューと解析からデータを削除することはできます。

ラン後にウェルの内容を変更するには

- ▶ [Data Analysis (データ分析)]ウィンドウで、[Plate Setup (プレートのセットアップ)]をクリックし、次のいずれかのオプションを選択します。
 - **Edit/View Plate (プレートの編集/表示)** — Plate Editorを開きます。ここでは、レイアウトを手動で変更できます。
 - **Replace Plate File (プレートファイルの置換)** — [Select Plate (プレートの選択)]ブラウザが開きます。ここで、以前保存したプレートファイルにナビゲートし、そのファイルで現在のプレートレイアウトを置き換えることができます。
 - **Apply PrimePCR file (PrimePCRファイルの適用)** — [Select PrimePCR file (PrimePCRファイルの選択)]ダイアログボックスを開きます。ここで、PrimePCRランファイルにナビゲートして、そのファイルをプレートレイアウトに適用できます。

ヒント: ラン前、ラン中、またはPCRランの完了後に、ウェルの内容に関する情報を追加または編集できます。ラン前にスキャンモードとプレートサイズを割り当てる必要があります。これらのパラメータは、ラン後に変更することはできません。

データ解析設定

[Quantification (定量化)]タブの増幅グラフデータは、すべてのサイクルでの各ウェルの相対蛍光単位(RFU)を示します。グラフ内の各トレースは、1つのウェル内の単一の蛍光色素からのデータを表します。これらのデータは、蛍光色素ごとに各ウェルの C_q 値を決定するために使用されます。ソフトウェアでは、次の2つのモードのどちらかを使用して C_q 値を決定します。

- **regression (回帰)** — 多変数の非線形回帰モデルを個々のウェルトレースに適用してから、このモデルを使用して最適な C_q 値を計算します。
- **Single Threshold (単一しきい値)** — 単一しきい値を使用して、個々の蛍光トレースのしきい値交差点に基づいて C_q 値を計算します。

[Settings (設定)] > [C_q Determination Mode (C_q 決定モード)]を選択し、 C_q 決定モードを選択します。

しきい値の調整

単一しきい値モードでは、増幅グラフのしきい値線をクリックして、マウスポインターを縦方向に移動させることで、蛍光色素のしきい値を調整できます。または、選択した蛍光色素の正確な交差しきい値を指定できます。

ベースライン設定

ベースラインは、ウェルごとに自動的に設定されます。ベースライン設定によって、すべての蛍光トレースのベースライン減算法が決定されます。ソフトウェアは、次の3つのベースライン減算オプションを提供しています。

- **No Baseline Subtraction (ベースライン減算なし)** — データを相対蛍光トレースとして表示します。この解析モードでは一部の解析を行えないため、[Gene Expression (遺伝子発現)]、[End Point (エンドポイント)]、および[Allelic Discrimination (対立遺伝子識別)]タブが表示されません。
- **Baseline Subtracted (減算ベースライン)** — ウェル内の各蛍光色素のベースライン減算トレースとしてデータを表示します。ソフトウェアでは、データをベースライン減算して定量化サイクルを決定し、検量線を作成して、不明なサンプルの濃度を決定する必要があります。ベースライン減算トレースを生成するために、ソフトウェアは、ベースラインサイクル中に記録された各ウェルの蛍光を通して最適な直線を適合させ、各サイクルで背景減算データから最良適合データを減算します。
- **Baseline Subtracted Curve Fit (ベースライン減算曲線適合)** — データをベースライン減算トレースとして表示し、ソフトウェアは中心平均フィルターを使用してベースライン減算曲線を平滑化します。このプロセスは、各 C_q が不変のままになるように実行されます。

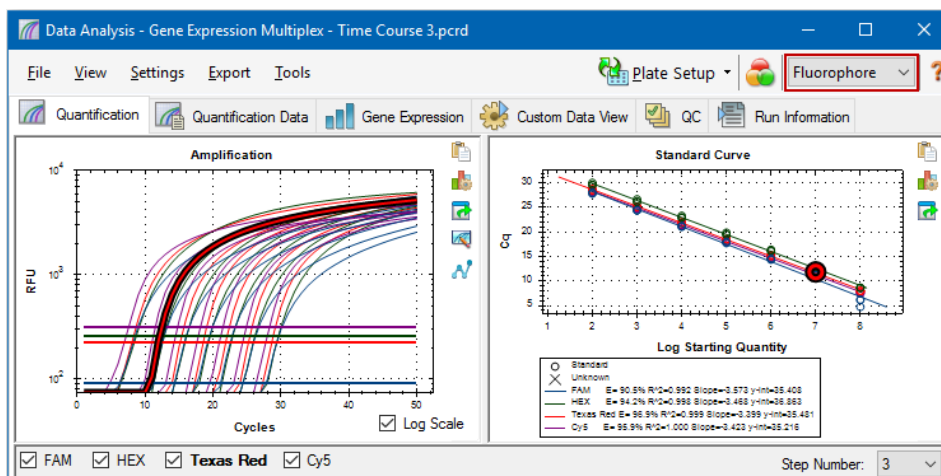
これらのオプションに加えて、[Apply Fluorescent Drift Correction (蛍光ドリフト補正の適用)]を選択することもできます。ランの最初の数サイクル中に異常にドリフトするRFU値を持つウェルの場合は、水平ベースラインが正常に生成された隣接ウェルから推定ベースラインが導出されます。

ベースライン減算設定を変更するには

- ▶ [Settings (設定)] > [Baseline Setting (ベースライン設定)]を選択します。

解析モード

データは、蛍光色素またはターゲット名のいずれかによってグループ化して解析できます。蛍光色素でグループ化すると、そのランのプレートセットアップに示されているように、データトレースが蛍光色素別に表示されます。増幅グラフの下にある該当する蛍光色素セレクターチェックボックスをオンにすると、個々の蛍光色素データが増幅グラフと検量線グラフ(利用可能な場合)に表示されます。



ターゲットでグループ化すると、データトレースがそのランのプレートセットアップで入力されたターゲット名別に表示されます。

データ分析モードを選択するには

- ▶ 次のいずれかを実行します。
 - [Settings (設定)] > [Analysis Mode (解析モード)]を選択します。
 - ツールバーの[Analysis Mode (解析モード)]ドロップダウンメニューからモードを選択します。

解析するサイクル数

解析するサイクル数を制限できます。特定のサイクルのセットからのデータを解析することもできます。解析できる最大サイクル数は50です。

注: ランの開始からサイクルを削除すると、ベースライン化に大きな影響を与える可能性があります。

データ解析を特定のサイクルの範囲に制限するには

1. [Settings (設定)] > [Cycles to Analyze (解析するサイクル数)]を選択します。

[Cycles to Analyze (解析するサイクル数)]ダイアログボックスが表示されます。

2. 開始サイクル値と終了サイクル値を入力し、[OK]をクリックします。

[Cycles to Analyze (解析するサイクル数)]ダイアログボックスの[Restore Defaults (デフォルトに戻す)]をクリックすると、最初に解析に使用されていたサイクルに戻ります。

ウェルセクター

ウェルセクターは、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウ上のグラフやスプレッドシートでウェルデータを表示または非表示にするために使用します。ウェルセクターで選択できるのは、サンプルがロードされたウェルのみです。ソフトウェアは、ウェルセクター内のウェルを色分けして表示します。

- **青色** — 選択されたウェルを示します。選択されたウェルのデータが[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウに表示されます。
- **薄い灰色** — 選択されていないウェルを示します。選択されていないウェルのデータは[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウに表示されません。
- **濃い灰色** — 空のウェルを示します。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B				Unk1	Unk2	Unk3						
C				Unk1	Unk2	Unk3						
D				Unk1	Unk2	Unk3						
E												
F			Std1	Std2	Std3	Std4	Std5	Std6	Std7			
G			Std1	Std2	Std3	Std4	Std5	Std6	Std7			
H			Std1	Std2	Std3	Std4	Std5	Std6	Std7			

ウェルデータを表示または非表示にするには

- ▶ ウェルセクターで、次のいずれかを実行します。
 - 1つのウェルを非表示にするには、そのウェルをクリックします。非表示にしたウェルを表示するには、もう一度クリックします。
 - 複数のウェルを非表示にするには、非表示にするウェル全体をドラッグします。非表示にしたウェルを表示するには、もう一度ドラッグします。
 - プレートの上左隅をクリックして、すべてのウェルを非表示にします。プレートの上左隅をもう一度クリックして、すべてのウェルを表示します。
 - 列または行の先頭をクリックして、それらのウェルを非表示にします。列または行をもう一度クリックして、ウェルを表示します。

ウェルセレクトターの右クリックメニュー項目

表 12に、ウェルセレクトタービューで使用可能な右クリックオプションを示します。

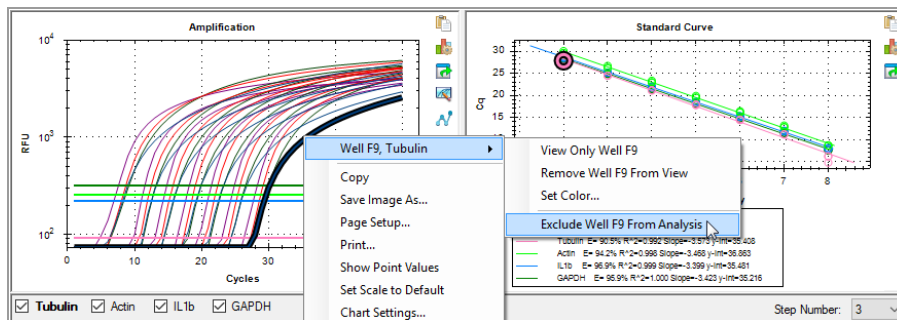
表 12. ウェルセレクトタービューの右クリックメニュー項目

項目	機能
Well XX (ウェルXX)	このウェルのみを表示する、このウェルをビューから削除する、このウェルの色を設定する、またはこのウェルを解析から除外します。
Selected Wells (right-click and drag) (選択されたウェル(右クリックしてドラッグ))	これらのウェルのみを表示する、これらのウェルをビューから削除する、これらのウェルの色を設定する、またはこれらのウェルを解析から除外します。
Copy (コピー)	サンプルタイプとオプションの複製番号を含む、ウェルの内容をクリップボードにコピーします。
Copy as Image (画像としてコピー)	ウェルセレクトタービューを画像としてコピーします。
Print (印刷)	ウェルセレクトタービューを印刷します。
Print Selection (選択項目の印刷)	現在の選択を印刷します。
Export to Excel (Excelにエクスポート)	データをExcelスプレッドシートにエクスポートします。
Export to CSV (CSVにエクスポート)	データを.csv文書としてエクスポートします。
Export to Xml (Xmlにエクスポート)	データを.xml文書としてエクスポートします。
Well Labels (ウェルラベル)	ウェルラベルをサンプルタイプ、ターゲット名、またはサンプル名に変更します。

解析からの一時的なウェルの除外

データ解析から一時的にウェルを除外するには

1. ウェルセクターで、蛍光トレースで、または検量線上にプロットされたポイントでウェルを右クリックします。複数のウェルを除外するには、複数のウェル、トレース、またはポイントを右クリックしてドラッグし、強調表示します。
2. 右クリックメニューから、該当するオプションを選択します。
 - [Well (ウェル)] > [Exclude Well (ウェルの除外)]
 - [Selected Wells (選択されたウェル)] > [Exclude from Analysis (解析からの除外)]
 - [Selected Traces (選択されたトレース)] > [Exclude these wells from Analysis (解析からのこれらのウェルの除外)]



または、解析からウェルを完全に削除するには、[Clear Wells (ウェルのクリア)]ボタンをクリックすることによって、Plate Editorでウェルから内容をクリアします。

重要: クリアされたウェルの内容は再入力する必要があります。

除外されたウェルを含めるには

- ▶ ウェルセクターで該当するウェルを右クリックし、[Well (ウェル)] > [Include Well in Analysis (解析にウェルを含める)]を選択します。

グラフ

[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウ内の各グラフには、データが異なるグラフで表示され、データまたはグラフのグラフィックを調整してエクスポートするためのオプションが含まれています。

グラフツール

表 13に、ほとんどのグラフで使用可能な右クリックオプションを示します。

表 13. ほとんどのグラフに共通の右クリックメニュー項目

項目	機能
Copy (コピー)	グラフをクリップボードにコピーします。
Save Image As... (画像に名前を付けて保存...)	グラフを画像ファイルとして保存します。画像の解像度と寸法を設定してから、ファイルタイプ(PNG、GIF、JPG、TIF、またはBMP)を選択します。
Page Setup... (ページのセットアップ...)	印刷用のページのセットアップを選択します。
Print... (印刷...)	グラフを印刷します。
Set Scale to Default (スケールをデフォルトに設定)	棒グラフ内のすべてのデータを表示します。データポイント/サンプルが多すぎてグラフフレームに表示しきれない場合は、スクロールバーが表示されます。
Chart Settings (グラフ設定)	[Chart Settings (グラフ設定)]ダイアログボックスが開き、ここで次のようなグラフの表示オプションを変更できます。

グラフツールは、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウの各グラフにも表示されます。すべてのグラフに、次のツールが表示されます。

Copy to Clipboard (クリップボードにコピー) — グラフビューの内容をクリップボードにコピーします。

Chart Settings (グラフ設定) — グラフの表示オプションを変更可能な[Chart Settings (グラフ設定)]ダイアログボックスを開きます。

Export (エクスポート) — [Export Options (エクスポートオプション)]ダイアログボックスを開きます。このダイアログボックスでは、グラフの解像度とサイズを変更し、指定した場所に以下のいずれかのファイルタイプで保存できます。

- .bmp
- .jpg
- .png

棒グラフツール

グラフツールに加えて、棒グラフには以下のツールが表示されます。

Sort — ターゲットとサンプルをアルファベット順または逆アルファベット順に並べ替えます。

Color Settings — [Color Settings]ダイアログボックスを開きます。このダイアログボックスでは、ターゲットとサンプルの色を変更できます。

これらのツールの詳細については、[グラフビューの変更と注釈付け\(250ページ\)](#)を参照してください。

増幅グラフツール

上記のツールに加えて、増幅グラフには以下のツールが表示されます。

Trace Styles — [Trace Styles]ダイアログボックスを開きます。このダイアログボックスで、増幅グラフ内のトレースの外観を変更できます。

Baseline Threshold — [Baseline Threshold]ダイアログボックスを開きます。このダイアログボックスでは、選択したウェルのデフォルトベースラインを変更したり、増幅グラフ内の各蛍光曲線のしきい値を変更したりできます。

クリップボードへのグラフデータのコピー

グラフビューの内容をコピーして、ビットマップ画像ファイルを受け入れる任意のアプリケーションに貼り付けることができます。

グラフデータをクリップボードにコピーするには

1. グラフツールから、[Copy to Clipboard (クリップボードにコピー)]アイコンを選択します。
2. Microsoft Wordなど、ビットマップ画像を受け入れるアプリケーションを開きます。
3. 右クリックして[Paste (貼り付け)]を選択し、ビットマップ画像をクリップボードからアプリケーションに貼り付けます。

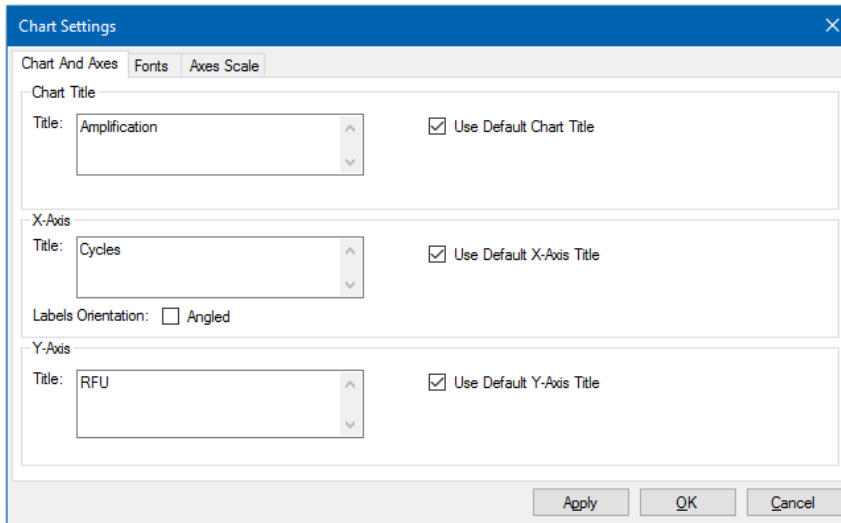
グラフ表示設定の変更

[Chart Settings (グラフ設定)]ダイアログボックスを使用して、表示されるグラフのタイトル、フォントとサイズ、軸の目盛り、および凡例の位置を変更します。行った変更は、表示されているグラフにのみ適用され、グラフとともに保存されます。

グラフ表示設定を変更するには

1. グラフツールから、[Chart Settings (グラフ設定)]をクリックします。

[Chart Settings (グラフ設定)]ダイアログボックスが表示されます。



2. [Chart And Axes (グラフと軸)]タブを選択して、次の操作を行います。
 - グラフのタイトルを入力します。
 - x軸の新しいタイトルを入力し、ラベルに角度を付けます。
 - y軸の新しいタイトルを入力します。
3. [Fonts (フォント)]タブを選択して、グラフのフォントとフォントサイズを変更します。

ヒント: デフォルトで、グラフサイズの変更に応じてフォントサイズが自動スケーリングされます。各ラベルタイプの静的フォントサイズを設定するには、[Change Font Size (フォントサイズの変更)]を選択します。
4. [Axes Scale (軸スケール)]タブを選択して、次の操作を行います。
 - x軸とy軸の自動スケーリングをクリアし、最小および最大のスケーリング値を指定します。
 - グラフ上にグリッド線または目盛りを表示するように選択します。
5. [Legend (凡例)]タブを選択して、次の操作を行います。
 - グラフの凡例を非表示にするように選択します。
 - グラフの凡例のデフォルト位置を変更します。

注: 凡例をグラフの左側または右側に配置すると、グラフ内の最初の10個の蛍光色素のみが表示されます。
6. [Apply (適用)]をクリックすれば、いつでも変更を保存せずにグラフ設定の変更を表示できます。
7. [OK]をクリックして変更を保存し、グラフに戻ります。

グラフのエクスポート

このダイアログボックスを使用して、グラフの幅、高さ、および解像度を変更し、次のいずれかのファイル形式でエクスポートします。

- .bmp
- .jpg
- .png

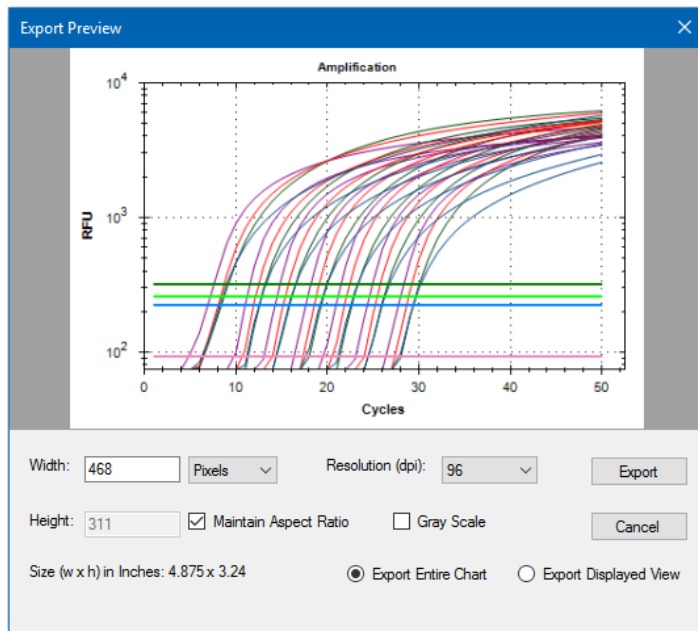
その後で、エクスポートしたグラフを使用して、ポスターセッション、Microsoft PowerPointプレゼンテーション、および専門誌に結果を表示できます。

注: 設定の変更時は、次の点に注意してください。

- 幅と高さの上限と下限
 - 72 dpi: 0.1～83インチ
 - 96 dpi: 0.1～62インチ
 - 150 dpi: 0.1～40インチ
 - 300 dpi: 0.1～20インチ
 - 600 dpi: 0.1～10インチ
 - すべての解像度: 2～6,000ピクセル
- アスペクト比は幅を基準とします。

グラフをエクスポートするには

1. グラフツールから、[Export (エクスポート)]をクリックします。
[Export Preview (エクスポートプレビュー)]ダイアログボックスが表示されます。



2. 必要に応じて、表示の設定を変更します。
3. [Export (エクスポート)]をクリックします。
4. [Export (エクスポート)]ダイアログボックスで、次の手順を実行します。
 - a. (オプション)グラフファイルを保存するフォルダに移動します。
 - b. ファイルの名前を入力し、ドロップダウンリストからファイルタイプを選択します。
5. [Save (保存)]をクリックして、グラフファイルを保存します。

ベースラインしきい値設定の変更

単一しきい値モードでは、増幅グラフのしきい値線をクリックして、マウスポインターを縦方向に移動させることで、蛍光色素のしきい値を調整できます。または、選択した蛍光色素の正確な交差しきい値を指定できます。

ヒント: サイクル範囲を指定して、[User (ユーザー)] > [User Preferences (ユーザー設定)]の[Data Analysis (データ解析)]タブですべてのデータファイルのベースラインを決定できます。

各ウェルの開始ベースラインサイクルと終了ベースラインサイクルを調整するには

1. [Quantification (定量化)]タブで、増幅グラフの下にある単一の蛍光色素を選択します。
2. グラフツールから、[Baseline Threshold (ベースラインしきい値)]を選択します。
[Baseline Threshold (ベースラインしきい値)]ダイアログボックスが表示されます。

3. [Baseline Cycles (ベースラインサイクル)]セクションで、次のいずれかを実行します。
 - 1つのウェルを選択するには、その行番号をクリックします。
 - 隣接する複数のウェルを選択するには、最初のウェルの行番号をクリックして、その列を最後のウェルまで下にドラッグします。
 - 隣接していない複数のウェルを選択するには、Controlキーを押しながら、各ターゲットウェルの行番号をクリックします。
 - すべてのウェルを選択するには、表の左上隅をクリックします。
4. 選択したすべてのウェルのベースライン開始サイクルとベースライン終了サイクルを調整するか、スプレッドシートの下部にある開始サイクル番号と終了サイクル番号を変更します。

ヒント: 設定を最後に保存した値に戻すには、[Reset All User Defined Values (すべてのユーザー定義値をリセット)]をクリックします。
5. [OK]をクリックして変更を保存し、グラフに戻ります。

すべてのデータファイルのサイクル範囲を指定するには

- ▶ [Home (ホーム)]または[Plate Editor]ウィンドウで、[User (ユーザー)] > [User Preferences (ユーザー設定)]を選択し、[Data Analysis (データ解析)]タブを選択します。

ターゲット、サンプル、および生物学的グループデータの並べ替え

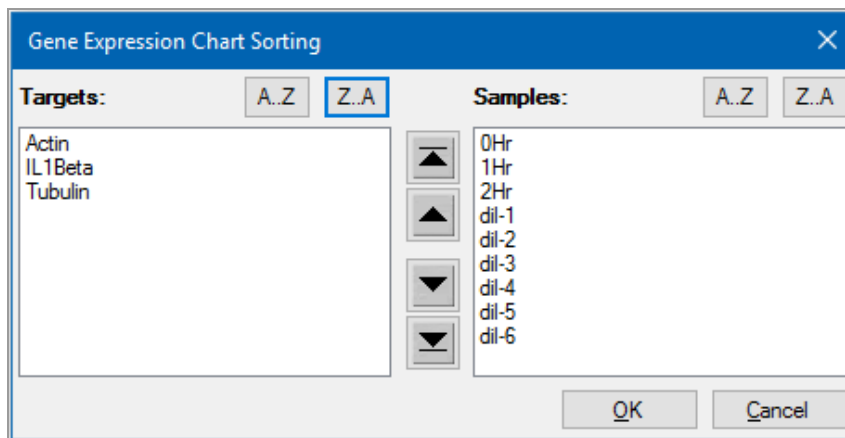
注: このオプションは、遺伝子発現グラフでのみ使用できます。

デフォルトで、[Targets (ターゲット)], [Samples (サンプル)], および[Biological Groups (生物学的グループ)]のリストはアルファベット順に表示されます。[Sort (並べ替え)]ダイアログボックスを使用して、表示を逆アルファベット順に並べ替えたり、項目をリスト内の別の場所に手動で移動したりします。

ターゲット、サンプル、および生物学的グループデータを並べ替えるには

1. グラフツールから、[Sort (並べ替え)]をクリックします。

[Gene Expression Chart Sorting (遺伝子発現グラフの並べ替え)]ダイアログボックスが表示されます。



2. ダイアログボックスで、[Z-A]をクリックして、リストを逆アルファベット順に並べ替えます。
3. 項目を手動で移動するには、項目を選択して、グラフの間の該当するボタンをクリックします。
 - 選択した項目を1つ移動するには、上矢印または下矢印をクリックします。
 - 選択した項目をリストの一番上または一番下に移動するには、上矢印または下矢印をクリックします。
4. [OK]をクリックして変更を保存し、[Gene Expression (遺伝子発現)]タブに戻ります。

ターゲットとサンプルの色設定の変更

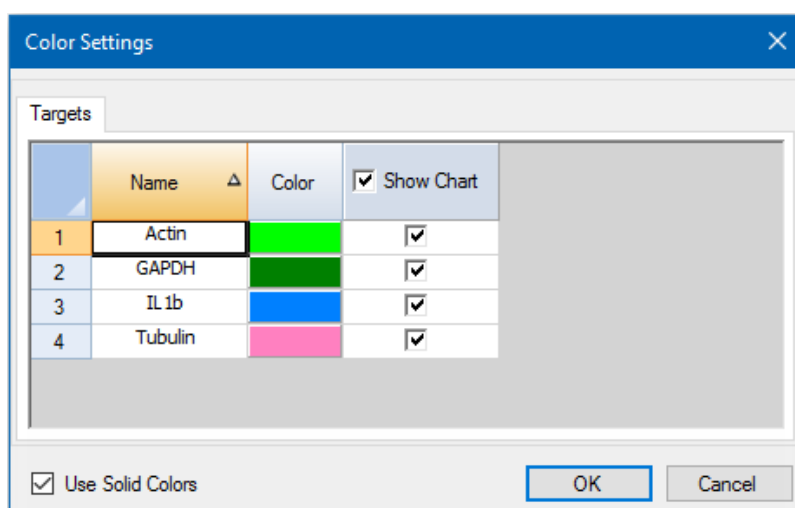
注: このオプションは、遺伝子発現グラフでのみ使用できます。

[Color Settings (色設定)]ダイアログボックスを使用して、ターゲットまたはサンプルの色を変更したり、グラフから項目を削除したりします。

色設定を変更するには

1. グラフツールから、[Color Settings (色設定)]を選択します。

[Color Settings (色設定)]ダイアログボックスが表示されます。



2. ターゲットまたはサンプルの表示色を変更するには、[Color (色)]列でその色をクリックします。
3. 表示された[Color (色)]ダイアログボックスで、新しい色を選択し、[OK]をクリックします。
4. 遺伝子発現グラフから項目を削除するには、[Show Chart (グラフの表示)]列のチェックボックスをオフにします。

ヒント: 遺伝子発現グラフからすべての項目をクリアするには、列見出しの[Show Chart (グラフの表示)]チェックボックスをオフにします。

5. (オプション)デフォルトで、棒グラフの色はグラデーションで表示されます。色を単色で表示するには、[Use Solid Colors (単色の使用)]を選択します。
6. [OK]をクリックして変更を保存し、[Gene Expression (遺伝子発現)]タブに戻ります。

グラフ内の領域の拡大

グラフの領域を拡大するには

- ▶ グラフをクリックしてドラッグしてから、[Zoom (ズーム)]をクリックします。グラフのサイズが変更され、選択された領域の中央に配置されます。

注：棒グラフでは、[Zoom (ズーム)]ポップアップコマンドをクリックする必要はありません。

グラフをフルビューにリセットするには

- ▶ グラフを右クリックして、[Set Scale to Default (スケールをデフォルトに設定)]を選択します。

Microsoftファイルへのグラフのコピー

データグラフをMicrosoft Word、Excel、またはPowerPoint文書にコピーできます。画像の解像度は、画像が取得された画面の解像度に対応します。

グラフをMicrosoftファイルにコピーするには

1. [Data Analysis (データ解析)]ウィンドウで、グラフのペインの右上隅にある[Copy To Clipboard (クリップボードにコピー)]をクリックします。
2. 空のMicrosoftファイルを開き、クリップボードからコピーした内容を貼り付けます。

グラフの一般的な右クリックメニュー項目

表 14に、グラフで使用可能な右クリックメニュー項目を示します。使用可能な項目の中にはすべてのグラフに存在するものがあります。これらの項目を使用して、データの表示方法を変更したり、グラフからデータを簡単にエクスポートしたりできます。

表 14. グラフの右クリックメニュー項目

項目	機能
Copy (コピー)	グラフをクリップボードにコピーします。
Save Image As (画像に名前を付けて保存)	指定したサイズ、解像度、およびファイルタイプ(PNG(デフォルト)、JPG、BMPなど)で画像を保存します。
Page Setup (ページのセットアップ)	印刷セット オプションを表示します。
Print (印刷)	グラフを印刷します。

項目	機能
Set Scale to Default (スケールをデフォルトに設定)	グラフを拡大後にデフォルトのビューに戻します。
Chart Options (グラフオプション)	[Chart Options (グラフオプション)]ウィンドウを開いてグラフを変更します。これには、タイトルの変更、x軸とy軸の制限の選択、グリッド線の表示、および軸の補助目盛りの表示が含まれます。

注：特定のグラフに適用されるメニュー項目については、[第11章、データ解析の詳細](#)を参照してください。

スプレッドシート

[Data Analysis (データ解析)]に表示されるスプレッドシートには、データを並べ替えて転送するためのオプションが含まれています。次のいずれかの方法で列を並べ替えます。

- 列をクリックして、選択した表の新しい場所にドラッグします。
- 列ヘッダーをクリックして、データを昇順または降順で並べ替えます。

[Sort (並べ替え)]ウィンドウで最大3列のデータを並べ替えるには

1. スプレッドシートを右クリックして、[Sort (並べ替え)]を選択します。
2. [Sort (並べ替え)]ダイアログボックスで、並べ替える最初の列のタイトルを選択します。データを昇順または降順で並べ替えます。
3. 並べ替える2つ目または3つ目の列を選択し、[Ascending (昇順)]または[Descending (降順)]を選択します。
4. [OK]をクリックしてデータを並べ替えるか、[Cancel (キャンセル)]をクリックして並べ替えを停止します。

ヒント: セルの上にマウスポインターを置いて、関連するグラフとウェルセレクター上のデータを強調表示します。セルをクリックして、その内容をコピーして別のソフトウェアプログラムに貼り付けます。

スプレッドシートの一般的な右クリックメニュー項目

表15に、スプレッドシートビューで使用可能な右クリックメニュー項目を示します。

表15. スプレッドシートの右クリックメニュー項目

項目	機能
Copy (コピー)	選択したウェルの内容をクリップボードにコピーしてから、Excelなどのスプレッドシートに貼り付けます。
Copy as Image (画像としてコピー)	スプレッドシートビューを画像ファイルとしてコピーし、テキスト、画像、スプレッドシートファイルなどの画像ファイルを受け入れるファイルに貼り付けます。
Print (印刷)	現在のビューを印刷します。
Print Selection (選択項目の印刷)	現在の選択を印刷します。
Export to Excel (Excelにエクスポート)	データをExcelスプレッドシートにエクスポートします。

表 15. スプレッドシートの右クリックメニュー項目、続き

項目	機能
Export to Text (テキストにエクスポート)	データをテキストエディターにエクスポートします。
Export to CSV (CSVにエクスポート)	データを.csvファイルにエクスポートします。
Export to Xml (Xmlにエクスポート)	データを.xmlファイルにエクスポートします。
Export to Html (Htmlにエクスポート)	データを.htmlファイルにエクスポートします。
Find (検索)	テキストを検索します。
Sort (並べ替え)	最大3列のデータを並べ替えます。
Select Columns (列の選択)	スプレッドシートに表示される列を選択します。

Export (エクスポート)

CFX Maestro Dx SEでは、[Export (エクスポート)]ドロップダウンメニューで複数のエクスポートオプションを利用できます。

- Export All Data Sheets (すべてのデータシートのエクスポート)
- Export RDML Files (RDMLファイルのエクスポート)
- Custom Export (カスタムエクスポート)
- Export to LIMS Folder (LIMSフォルダにエクスポート)
- Seegene Export (Seegeneエクスポート)

すべてのデータシートのエクスポート

CFX Maestro Dx SEのすべてのタブから個々のファイルにすべてのスプレッドシートビューをエクスポートできます。

すべてのデータシートをエクスポートするには

- ▶ [Export (エクスポート)] > [Export All Data Sheets (すべてのデータシートのエクスポート)]を選択してから、必要なファイルタイプを選択します。

- CSV (*.csv)
- テキスト (*.txt)
- Excelブック (*.xlsx)

エクスポートされた解析は、ファイルごとに1つの解析データワークシートタブを持つ複数のExcelブックファイルに保存されます。解析に複数の蛍光色素が含まれている場合は、各蛍光色素からのデータが個別のワークシートタブにエクスポートされます。

- Excelブック - 結合 (*.xlsx)

エクスポートされた解析は、解析データセットごとに1つずつ、複数のワークシートタブを含む単一のExcelブックファイルに保存されます。

- Excel 97～2003 (*.xls)
- Xml (*.xml)

RDMLファイルのエクスポート

RDMLは、定量PCR(qPCR)データを交換するための構造化された汎用データ標準です。このデータ標準は、拡張マークアップ言語(.xml)形式のテキストファイルです。RDMLデータ交換形式の詳細については、

International RDML Consortiumのウェブサイト(www.rdml.org)を参照してください。

注: qbase+ソフトウェアのバージョン2.3以降を使用している場合は、RDMLファイルをバージョン1.1として保存してください。

RDMLファイルをエクスポートするには

1. [Export (エクスポート)] > [Export RDML Files (RDMLファイルのエクスポート)]を選択し、表示されたリストから[RDMLv1.1]または[RDMLv1.0]を選択します。

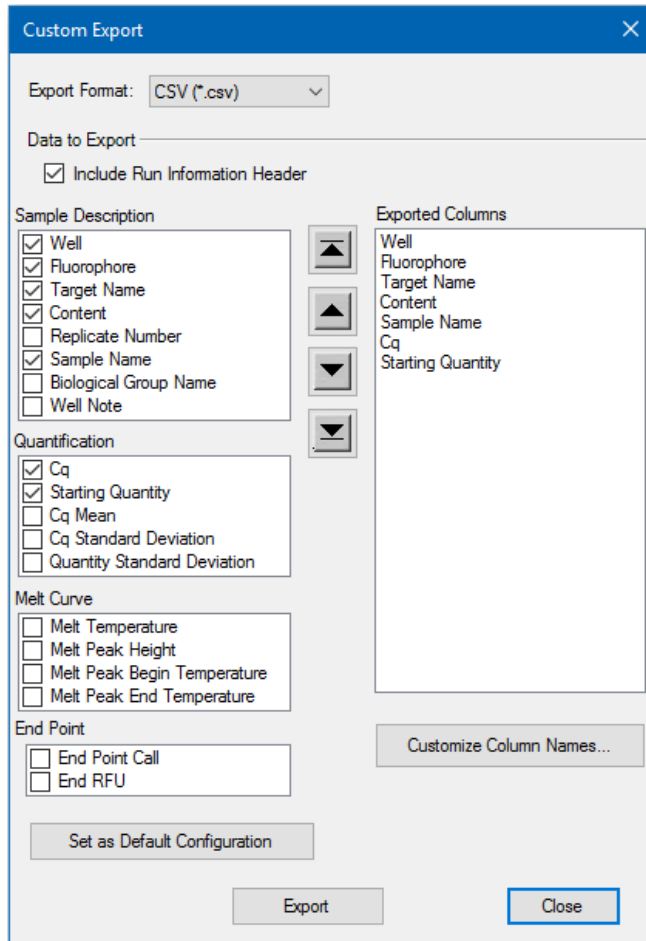
[Save As (名前を付けて保存)]ダイアログボックスが表示されます。

2. [Save As (名前を付けて保存)]ダイアログボックスで、RDMLファイルを保存するファイル名と場所を指定します。
3. [OK]をクリックして、エクスポートファイルを保存します。

カスタムエクスポートファイルの作成

カスタムエクスポートファイルを作成するには

1. [Export (エクスポート)] > [Custom Export (カスタムエクスポート)]を選択します。[Custom Export (カスタムエクスポート)]ダイアログボックスが表示されます。



2. 表示されたドロップダウンリストからエクスポート形式を選択します。
3. エクスポートする項目のチェックボックスをオンにします。
4. (オプション) [Customize Column Names (列名のカスタマイズ)]をクリックして、列名を変更します。
5. [Export (エクスポート)]をクリックします。[Save As (名前を付けて保存)]ダイアログボックスが表示されます。

6. [Save As (名前を付けて保存)]ダイアログボックスで、エクスポートされたファイルを保存するファイル名と場所を指定します。
7. [OK]をクリックして、エクスポートファイルを保存します。

LIMSフォルダへのエクスポート

データをLIMS互換のファイル形式にエクスポートできます。LIMSファイルの作成、管理、および使用の詳細については、[付録C、LIMS統合](#)を参照してください。

LIMS形式でデータをエクスポートするには

1. [Export (エクスポート)] > [Export to LIMS Folder (LIMSフォルダにエクスポート)]を選択します。
[Save As (名前を付けて保存)]ダイアログボックスが表示されます。
2. [Save As (名前を付けて保存)]ダイアログボックスで、エクスポートされたファイルを保存するファイル名と場所を指定します。
3. [OK]をクリックして、エクスポートファイルを保存します。

Seegene形式のデータのエクスポート

すべてのスプレッドシートビューからSeegene, Incによる専用の構造を持つExcelファイルにデータをエクスポートできます。

ヒント: エクスポートが完了したら、Seegene Viewerを自動的に開始することもできます。詳細については、[\[Tools \(ツール\)\]メニューのコマンド \(61ページ\)](#)を参照してください。

Seegene固有の形式でデータをエクスポートするには

1. [Export (エクスポート)] > [Seegene Export (Seegeneエクスポート)]を選択します。
[Browse For Folder (フォルダの参照)]ダイアログボックスが表示されます。
2. [Browse For Folder (フォルダの参照)]ダイアログボックスで、エクスポートされたSeegene形式のExcel (.xlsx)ファイルを保存するフォルダの場所を指定します。
解析は、ファイルごとに1つの解析データワークシートタブを持つ複数のExcelブックファイルにエクスポートされます。
3. [OK]をクリックして、エクスポートファイルを保存します。

第11章 データ解析の詳細

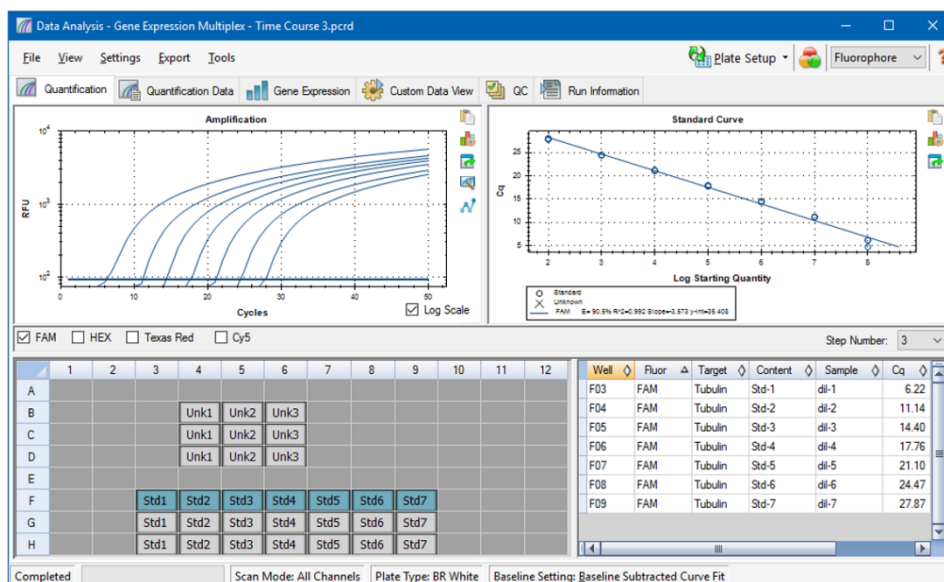
CFX Maestro Dx SEソフトウェアの[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウは、データを表示するための複数のタブで構成されています。この章では、これらのタブについて詳しく説明します。

ヒント: [View (表示)]メニューを使用して、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウに表示するタブを選択できます。カスタマイズされたレイアウトはデータファイルとともに保存されます。

[Quantification (定量化)]タブ

[Quantification (定量化)]タブのデータを使用して、個々のウェルのベースライン設定やしきい値設定などのデータ解析条件を設定します。[Quantification (定量化)]タブには、次の4つのビューにデータが表示されます。

- 増幅グラフ — 各サイクルでの各ウェルの相対蛍光単位(RFU)を表示します。グラフ内の各トレースは、1つのウェル内の単一の蛍光色素からのデータを表します。
- 検量線 — ランにサンプルタイプ標準(Std)として指定されたウェルが含まれている場合にのみ表示されます。検量線には、初期量の対数に対してプロットされたしきい値サイクルが表示されます。凡例には、標準サンプルタイプのウェル内の各蛍光色素の反応効率(E)が表示されます。
- ウェルセレクター — 表示する蛍光データを含むウェルを選択します。
- スプレッドシート — 選択したウェルで収集されたデータのスプレッドシートを表示します。



蛍光色素オプション

[Quantification (定量化)]タブのグラフとスプレッドシートに蛍光色素データを表示するには、増幅グラフの下にあるターゲット蛍光色素を選択します。データ解析ウィンドウで蛍光色素データを非表示にするには、チェックボックスをオフにします。

[Trace Styles (トレーススタイル)]ダイアログボックス

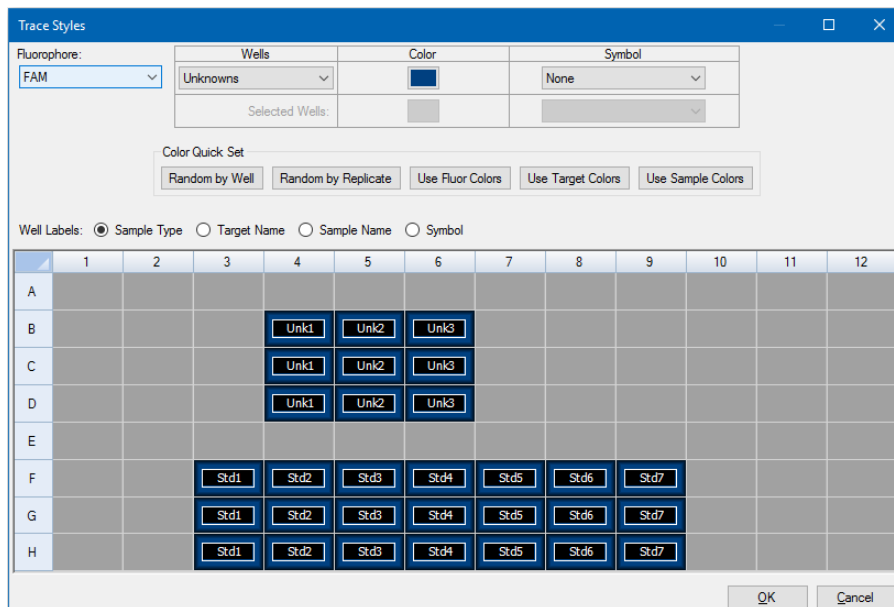
[Trace Styles (トレーススタイル)]ダイアログボックスを使用すると、[Quantification (定量化)]タブと[Melt Curve (融解曲線)]タブの増幅グラフと融解曲線グラフのトレースの外観を調整できます。その後で、[Trace Styles (ト

レーススタイル]ダイアログボックスに表示されるウェルセレクターで変更をプレビューできます。

トレーススタイルを調整するには

1. 増幅グラフで蛍光色素を1つだけ選択します。
2. [Trace Styles (トレーススタイル)]ダイアログボックスを開くには、次のいずれかを実行します。
 - 増幅グラフの[Trace Styles (トレーススタイル)]をクリックします。
 - [Data Analysis (データ解析)]メニューバーで、[Settings (設定)] > [Trace Styles (トレーススタイル)]を選択します。
 - トレースを右クリックして、[Trace Styles (トレーススタイル)]を選択します。

[Trace Styles (トレーススタイル)]ダイアログが表示されます。

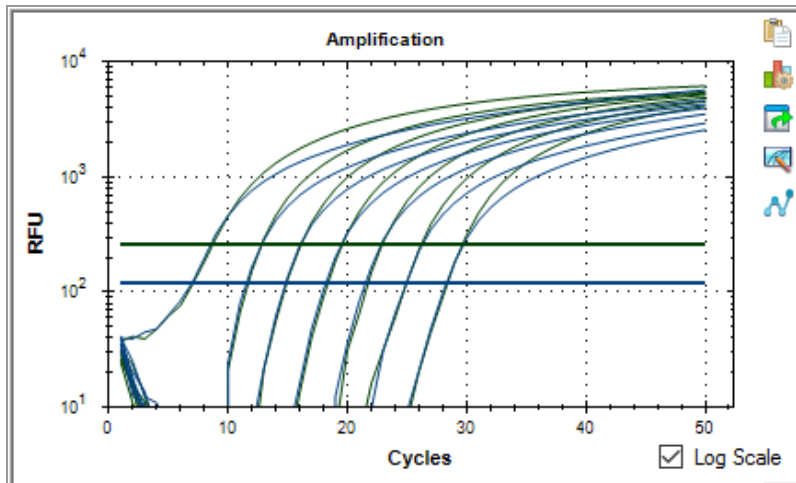


3. [Trace Styles (トレーススタイル)]ダイアログボックスで、下部ペインのウェルセレクターで特定のウェルのセットを選択します。または、[Wells (ウェル)]列のドロップダウンメニューで、1つのサンプルタイプを含むウェルを選択します。
4. 次のいずれかを実行します。
 - 選択したウェルの色を選択するには、[Color (色)]列内のボックスをクリックします。
 - 選択したウェルにシンボルを割り当てるには、[Symbol (シンボル)]ドロップダウンリストからシンボルを選択します。
 - ボタンラベルでウェルにすばやく色を付けるには、該当するクイックセットをクリックします。

- Random by Well (ウェルごとにランダム)
- Random by Replicate (複製ごとにランダム)
- Use Fluor Colors (蛍光色素ごと)
- Use Target Colors (ターゲットごと)
- Use Sample Colors (サンプルごと)
- ウェルにラベルを割り当てるには、サンプルタイプ、ターゲット名、サンプル名、シンボルのいずれかを選択します。

対数スケールオプション

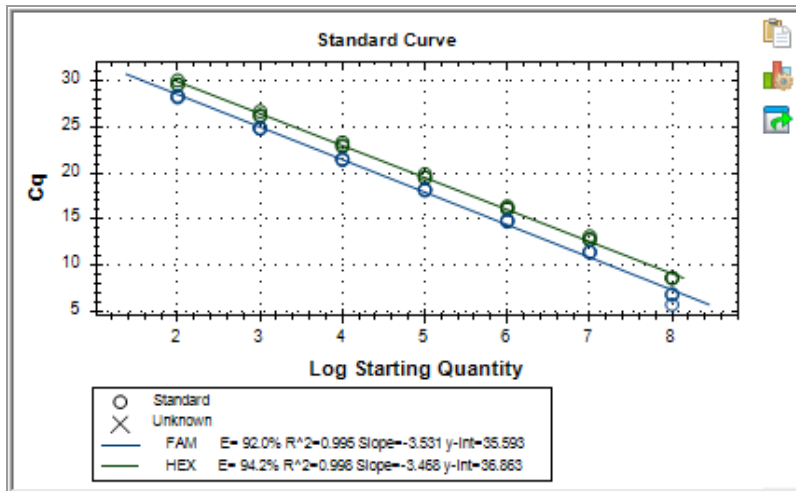
片対数スケールで蛍光トレースを表示するには、増幅グラフの下の[Log Scale (対数スケール)]を選択します。



ヒント: グラフの任意の領域を拡大するには、ターゲット領域をドラッグして広げます。フルビューに戻すには、グラフを右クリックして、[Set Scale to Default (スケールをデフォルトに設定)]を選択します。

Standard Curve Chart (検量線グラフ)

ランの少なくとも1つの蛍光色素の標準として定義されたサンプルタイプがデータに含まれている場合は、ソフトウェアが[Quantification (定量化)]タブに検量線グラフを作成します。



検量線グラフには、次の情報が表示されます。

- 各曲線の名前(蛍光色素またはターゲット)。
- 各蛍光色素またはターゲットの色。
- 反応効率(E)。この統計値は、マルチプレックス反応を最適化し、検量線のデータを均等化するために使用します。

注: 反応効率は、プロトコル内の各サイクルで生成されるターゲットの量を表します。100%の効率は、各サイクルでターゲットが2倍になることを示します。

- 決定係数、R²(R²と示されます)。この統計値は、線がデータをどの程度正確に表しているか(適合度)を判断するために使用します。
- Slope (勾配)
- Y-intercept (Y切片)

[Amplification Chart (増幅グラフ)]メニューのオプション

グラフの一般的な右クリックメニューオプション([グラフの一般的な右クリックメニュー項目 \(198ページ\)](#)を参照)に加えて、[表 16](#)に増幅グラフでのみ使用可能なメニューオプションを示します。

表 16. 増幅グラフの右クリックメニュー項目と左クリックメニュー項目

メニューオプション	機能
Well XX, Fluor Target (ウェルXX、蛍光色素ターゲット)	このウェルのみを表示する、このウェルをビューから削除する、このトレースの色を設定する、またはこのウェルを解析から除外します。
Selected Traces (選択されたトレース)	これらのウェルのみを表示する、これらのウェルをビューから削除する、これらのトレースの色を設定する、またはこれらのウェルを解析から除外します。
Show Threshold Values (しきい値の表示)	グラフ上の各増幅曲線のしきい値を表示します。
Trace Styles (トレーススタイル)	[Trace Styles (トレーススタイル)]ウィンドウを開いて、[Quantification (定量化)]タブと[Melt Curve (融解曲線)]タブに表示されるトレーススタイルを変更します。
Baseline Thresholds (ベースラインしきい値)	[Baseline Thresholds (ベースラインしきい値)]ウィンドウを開いて、各蛍光色素のベースラインまたはしきい値を変更します(変更は[Quantification (定量化)]タブの増幅グラフに表示されます)。

[Quantification (定量化)]タブのスプレッドシート

[表 17](#)は、[Quantification (定量化)]タブのスプレッドシートに表示されるデータを定義したものです。

表 17. [Quantification (定量化)]タブのスプレッドシートの内容

情報	説明
Well (ウェル)	プレート内のウェルの位置
Fluor (蛍光色素)	検出された蛍光色素
Target(ターゲット)	Plate Editorウェルにロードされたターゲット名
Content (内容)	Plate Editorにロードされたサンプルタイプ(必須)と複製番号(任意)の組み合わせ
Sample (サンプル)	Plate Editorウェルにロードされたサンプル名
C _q	各トレースの定量化サイクル

ターゲット、内容、またはサンプルデータの変更

実験を行った後でも、Plate Editorを使用してプレートファイルを編集することにより、[Target (ターゲット)]、[Content (内容)]、および[Sample (サンプル)]列のデータを変更できます。

[Content (内容)]、[Target (ターゲット)]、および[Sample (サンプル)]列のデータを変更するには

- ▶ [Plate Setup (プレートのセットアップ)]をクリックして、[View/Edit Plate (プレートの表示/編集)]を選択し、Plate Editorを開きます。

[Quantification Data (定量化データ)]タブ

[Quantification Data (定量化データ)]タブには、各ウェルで収集された定量化データが表示されます。CFX Maestro Dx SEでは、4種類のスプレッドシートビューにデータが表示されます。

- Results (結果) — データのスプレッドシートを表示します。これがデフォルトのビューです。
- Standard Curve Results (検量線結果) — 検量線データのスプレッドシートを表示します。
- Plate (プレート) — 各ウェル内のデータをプレートマップとして表示します。
- RFU — 各サイクルの各ウェル内のRFU量を表示します。

[Quantification Data (定量化データ)]タブの下に表示されるドロップダウンリストから各スプレッドシートを選択します。

結果スプレッドシート

結果スプレッドシートには、プレート内の各ウェルのデータが表示されます。

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev	Starting Quantity (SQ)	Log Starting Quantity
B04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.14	17.13	0.003	1.911E+05	5.281
B05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.07	17.09	0.024	1.993E+05	5.300
B06	Cy5	GAPDH	Unkn-3	8Hr	17.08	17.08	0.035	1.980E+05	5.297
C04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.13	17.13	0.003	1.917E+05	5.283
C05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.12	17.09	0.024	1.937E+05	5.287
C06	Cy5	GAPDH	Unkn-3	8Hr	17.12	17.08	0.035	1.930E+05	5.285
D04	Cy5	GAPDH	Unkn-1	6Hr	17.14	17.13	0.003	1.908E+05	5.281
D05	Cy5	GAPDH	Unkn-2	7Hr	17.08	17.09	0.024	1.988E+05	5.298

注: すべてのStd.Dev(標準偏差)の計算は、[Plate Editor]ウィンドウ内のウェルで割り当てられた複製グループに適用されます。この計算では、複製グループ内の各ウェルのC_q値が平均化されます。

表 18は、結果スプレッドシートに表示されるデータを定義したものです。

表 18. 結果スプレッドシートの内容

情報	説明
Well (ウェル)	プレート内のウェルの位置
Fluor (蛍光色素)	検出された蛍光色素

表 18. 結果スプレッドシートの内容、続き

情報	説明
Target(ターゲット)	増幅ターゲット名(遺伝子)
Content (内容)	サンプルタイプと複製番号
Sample (サンプル)	サンプルの説明
Biological Set Name (生物学的セット名)	生物学的セットの名前
C _q	定量化サイクル
C _q Mean (Cq平均)	複製グループの定量化サイクルの平均
C _q Std.Dev (Cq標準偏差)	複製グループの定量化サイクルの標準偏差
Starting Quantity (SQ) (初期量 (SQ))	ターゲットの予想初期量
Log Starting Quantity (対数初期量)	初期量の対数
SQ Mean (SQ平均)	初期量の平均
SQ Std.Dev (Cq標準偏差)	複製全体の初期量の標準偏差

検量線結果スプレッドシート

検量線結果スプレッドシートには、計算された検量線パラメータが表示されます。

Fluor	Efficiency %	Slope	Y-Intercept	R ²
Cy5	95.93	-3.423	35.216	1.000
FAM	91.97	-3.531	35.593	0.995
HEX	94.24	-3.468	36.863	0.998
Texas Red	96.86	-3.399	35.481	0.999

表 19は、検量線結果スプレッドシートに表示されるデータを定義したものです。

表 19. 検量線結果スプレッドシートの内容

情報	説明
Fluor (or Target) (蛍光色素(またはターゲット))	検出された蛍光色素(またはターゲット)
Efficiency % (効率%)	反応効率
Slope (勾配)	検量線の勾配
Y-intercept (Y切片)	曲線がy軸と交差するポイント
R ²	決定係数

プレートスプレッドシート

プレートスプレッドシートには、一度に1つの蛍光色素に関するデータのプレートマップが表示されます。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	Content								
	Sample								
	Cq								
	copy number								
B	Content			Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3			
	Sample			6Hr	7Hr	8Hr			
	Cq			27.36	22.11	19.07			
	copy number			2.14e+02	6.60e+03	4.78e+04			
C	Content			Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3			
	Sample			6Hr	7Hr	8Hr			
	Cq			30.38	22.11	19.24			
	copy number			3.00e+01	6.58e+03	4.27e+04			

特定の蛍光色素に関するデータを表示するには

- ▶ スプレッドシートの下部にあるタブをクリックします。

RFUスプレッドシート

RFUスプレッドシートには、ランの各サイクルで取得された各ウェルの相対蛍光単位(RFU)の測定値が表示されます。ウェル番号が各列の上部に表示され、サイクル番号が各行の左側に表示されます。

Cycle	B4	B5	B6	C4	C5	C6	D4	D5	D6	F3	F4	F5
1	45.6	11.6	15.0	5.48	7.14	23.6	1.35	-17.5	192	39.9	30.6	35.5
2	29.9	5.01	5.65	0.0416	-0.989	12.4	-0.689	-17.2	157	39.4	20.4	15.2
3	15.0	0.773	6.65	-2.41	-0.154	9.63	-3.27	-6.84	133	44.9	13.8	8.62
4	6.29	3.24	5.62	-0.119	-1.37	7.70	2.58	-3.87	112	47.9	6.28	4.95
5	5.02	2.66	3.65	1.75	3.86	4.31	-3.29	0.0588	92.1	63.4	1.48	3.60
6	-2.71	2.83	0.862	3.84	3.17	7.76	2.50	8.79	65.9	84.3	-4.18	1.53
7	-9.01	-0.350	1.51	-0.970	4.06	3.31	-0.340	5.18	45.7	121	-8.35	-4.28

[Melt Curve (融解曲線)]タブ

DNA結合色素と非分解ハイブリダイゼーションプローブの場合は、DNAの二本鎖のアニーリング時に最も強い蛍光発色が得られます。そのため、融解温度(T_m)に向けて温度が上昇すると、蛍光強度は一定の速度で減少します(一定の勾配)。 T_m では、蛍光強度が大幅に低下するため、勾配が顕著に変化します。この変化の速度は、負の蛍光強度の最初の回帰と温度をプロットすることにより求められます($-d(\text{RFU})/dT$)。蛍光強度の最大変化率は、グラフ上でピークとして表示され、二重鎖DNA複合体の T_m を表します。

CFX Maestro Dx SEは、融解曲線期間に収集されたRFUデータを温度の関数としてプロットします。融解ピークデータを分析するために、ソフトウェアはしきい値バーを移動することにより、各ピークに開始温度と終了温度を割り当てます。ピーク領域の下限は、融解しきい値バーの位置によって示されます。有効なピークは、しきい値バーと最大ピークの高さの間の距離に対して最小の高さである必要があります。

[Melt Curve (融解曲線)]タブでは、増幅されたPCR生成物の T_m (融解温度)が4つのビューに表示されます。

- 融解曲線 — 各ウェルの温度ごとのRFUとして各蛍光色素のリアルタイムデータを表示します。
- 融解ピーク — 各ウェルの温度ごとのRFUデータの負の回帰を表示します。
- ウェルセレクター — データを表示または非表示にするウェルを表示します。
- ピークスプレッドシート — 選択したウェルで収集されたデータを表示します。

注: このスプレッドシートには、トレースごとに最大2つのピークが表示されます。さらにピークを表示するには、[Melt Curve Data (融解曲線データ)]タブをクリックします。

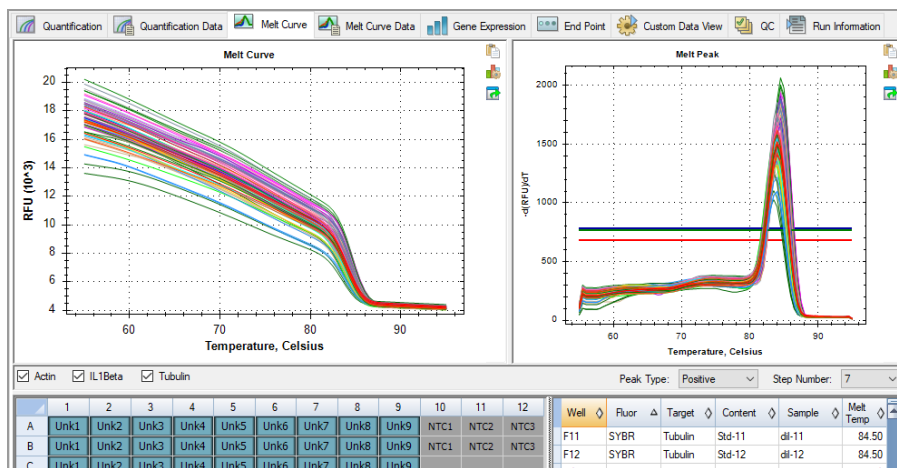


表20は、融解曲線スプレッドシートに表示されるデータを定義したものです。

表20. 融解曲線スプレッドシートの内容

情報	説明
Well (ウェル)	プレート内のウェルの位置
Fluor (蛍光色素)	検出された蛍光色素
Content (内容)	サンプルタイプと複製番号の組み合わせ
Sample (サンプル)	Plate Editorにロードされたサンプルの名前
Melt Temp (融解温度)	各ウェルの融解ピークの温度 注: このスプレッドシートには、最も高い2つのピークのみが表示されます。

融解曲線データの調整

融解曲線データを調整するには

- ▶ 次のいずれかを実行します。
 - 融解ピークグラフのしきい値バーをクリックしてドラッグし、データ解析に対してピークを含めたり除外したりします。
 - [Peaks (ピーク)]ドロップダウンメニューで[Positive (ポジティブ)]を選択して、融解しきい値線より上のピークのスプレッドシートデータを表示するか、[Negative (ネガティブ)]を選択して、融解しきい値線より下のピークのスプレッドシートデータを表示します。
 - [Trace Styles (トレーススタイル)]ウィンドウを開いて、融解曲線グラフと融解ピークグラフ内のトレースの色を変更します。
 - ステップ番号セクターで番号を選択し、プロトコル内の別のステップで融解曲線データを表示します。プロトコルの複数の融解曲線ステップにプレートリードが含まれている場合は、リストに複数のステップが表示されます。
 - ウェルセクターでウェルを選択して、データのサブセットに焦点を当てます。
 - ウェルグループを選択して、プレート内のウェルのサブセットを表示して解析します。ツールバーの[Well Group (ウェルグループ)]ドロップダウンメニューで、各ウェルグループを名前を選択します。

[Melt Curve Data (融解曲線データ)]タブ

[Melt Curve Data (融解曲線データ)]タブでは、[Melt Curve (融解曲線)]タブからのデータが、各トレースのすべての融解ピークを含む複数のスプレッドシートに表示されます。CFX Maestro Dx SEは、融解曲線データを表示するための4つのスプレッドシートオプションを提供しています。

- Melt Peaks (融解ピーク) — 各トレースのすべての融解ピークを含むすべてのデータを表示します。これがデフォルトのビューです。
- Plate (プレート) — プレート内の各ウェルのデータと内容のビューを表示します。
- RFU — 各ウェルの各温度でのRFU量を表示します。
- -d(RFU)/dT — 温度(T)の変化に伴うRFUの負の変化率を表示します。これは、プレート内の各ウェルの最初の回帰プロットです。

[Melt Curve Data (融解曲線データ)]タブの下に表示されるドロップダウンリストから各スプレッドシートを選択します。

融解ピークスプレッドシート

融解ピークスプレッドシートには、すべての融解曲線データが表示されます。

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Melt Temperature	Peak Height	Begin Temperature	End Temperature
A01	SYBR	Actin	Unkn-1	0Hr	84.00	1497.19	78.00	88.50
A02	SYBR	Actin	Unkn-2	1Hr	84.00	1426.57	78.50	94.00
A03	SYBR	Actin	Unkn-3	2Hr	84.00	1492.53	78.50	91.00
B01	SYBR	Actin	Unkn-1	0Hr	84.00	1408.73	78.50	92.50
B02	SYBR	Actin	Unkn-2	1Hr	84.00	1510.77	78.00	89.00
B03	SYBR	Actin	Unkn-3	2Hr	84.00	1493.25	78.00	88.50
C01	SYBR	Actin	Unkn-1	0Hr	84.00	1521.98	78.50	91.50
C02	SYBR	Actin	Unkn-2	1Hr	84.00	1618.79	78.00	90.00
C03	SYBR	Actin	Unkn-3	2Hr	84.00	1581.56	78.00	89.00
D01	SYBR	Actin	Std-1	di-1	84.00	1100.08	79.00	94.00

表21(223ページ)は、融解ピークスプレッドシートに表示されるデータを定義したものです。

表21. 融解ピークスプレッドシートの内容

情報	説明
Well (ウェル)	プレート内のウェルの位置
Fluor (蛍光色素)	検出された蛍光色素
Content (内容)	[Plate Editor]ウィンドウにリストされているサンプルタイプ
Target(ターゲット)	増幅ターゲット (遺伝子)
Sample (サンプル)	[Plate Editor]ウィンドウにリストされているサンプル名
Melt Temperature (融解温度)	各生成物の融解温度、スプレッドシートの行ごとに1つのピーク(最大)としてリストされる
Peak Height (ピーク高さ)	ピークの高さ
Begin Temperature (開始温度)	ピークの開始時点の温度
End Temperature (終了温度)	ピークの終了時点の温度

プレートスプレッドシート

プレートスプレッドシートには、融解曲線データがプレート形式で表示されます。

Plate	Step Number: 7	Peak Type: Positive									
Output:	<input checked="" type="checkbox"/> Content	<input checked="" type="checkbox"/> Sample	<input checked="" type="checkbox"/> Peak 1	<input checked="" type="checkbox"/> Peak 2							
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3							
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr							
	Peak 1	84.00	84.00	84.00							
	Peak 2	None	None	None							
B	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3							
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr							
	Peak 1	84.00	84.00	84.00							
	Peak 2	None	None	None							
C	Content	Unkn-1	Unkn-2	Unkn-3							
	Sample	0Hr	1Hr	2Hr							
	Peak 1	84.00	84.00	84.00							
	Peak 2	None	None	None							

注: ソフトウェアがコールするピークを調整するには、[Melt Curve (融解曲線)]タブの[Melt Peak (融解ピーク)]グラフのしきい値線を調整します。

表22(224ページ)は、プレートスプレッドシートに表示されるデータを定義したものです。

表22. プレートスプレッドシートの内容

情報	説明
Content (内容)	サンプルタイプ(必須)と複製番号(任意)の組み合わせ
Sample (サンプル)	サンプルの説明
Peak 1 (ピーク1)	1つ目の融解ピーク(最大)
Peak 2 (ピーク2)	2つ目の融解ピーク(次に多い)

RFUスプレッドシート

RFUスプレッドシートには、融解曲線期間に取得された各サイクルでの各ウェルの蛍光が表示されます。

Temperature	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	D4	D5
55.00	17243	16043	16541	16440	17362	17038	17387	18303	17813	14914	16441	16356	17906	17758
55.50	17138	15948	16440	16340	17243	16923	17280	18178	17693	14836	16337	16252	17784	17644
56.00	17033	15853	16339	16241	17124	16808	17173	18053	17574	14758	16233	16149	17663	17530
56.50	16929	15758	16238	16141	17005	16693	17067	17928	17454	14681	16130	16046	17542	17417
57.00	16824	15663	16136	16042	16885	16579	16960	17802	17334	14603	16026	15942	17420	17303
57.50	16719	15568	16035	15942	16766	16464	16853	17677	17214	14525	15922	15839	17299	17189
58.00	16614	15473	15934	15843	16647	16349	16746	17552	17094	14447	15819	15736	17178	17075
58.50	16505	15375	15831	15740	16524	16232	16637	17423	16971	14360	15707	15628	17054	16958
59.00	16393	15273	15724	15634	16400	16112	16525	17292	16845	14264	15591	15517	16928	16839

表23は、RFUスプレッドシートに表示されるデータを定義したものです。

表23. RFUスプレッドシートの内容

情報	説明
Well number (A1, A2, A3, A4, A5) (ウェル番号 (A1、A2、A3、A4、A5))	ロードされたウェルのプレート内の位置
Temperature (温度)	増幅されたターゲットの融解温度。行ごとに1つのウェルとしてプロットされ、同じウェル内の複数の生成物の場合は複数のウェルとしてプロットされません。

-d(RFU)/dTスプレッドシート

-d(RFU)/dTスプレッドシートには、温度(T)の変化に伴うRFUの負の変化率が表示されます。

Temperature	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	D4	D5
55.00	105	95.0	101	99.5	119	115	107	125	120	77.8	104	103	121	114
55.50	227	206	219	215	258	249	231	271	260	169	225	224	263	246
56.00	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
56.50	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
57.00	210	190	202	199	238	230	214	250	240	156	207	207	243	227
57.50	209	189	202	198	238	229	213	250	239	154	206	206	242	227
58.00	214	193	204	202	242	232	215	253	243	164	214	210	245	231
58.50	222	200	210	209	247	237	221	260	249	184	228	219	249	237

表24は、-d(RFU)/dTスプレッドシートに表示されるデータを定義したものです。

表24. -d(RFU)/dTスプレッドシートの内容

情報	説明
Well number (A1, A2, A3, A4, A5) (ウェル番号 (A1、A2、A3、A4、A5))	ロードされたウェルのプレート内の位置
Temperature -d(RFU)/dT (温度 -d(RFU)/dT)	温度(T)の変化に伴うRFUの負の変化率

[End Point (エンドポイント)]タブ

[End Point (エンドポイント)]タブを開いて、サンプルウェルの最終的な相対蛍光単位(RFU)を解析します。ソフトウェアは、不明なサンプルを含むウェルのRFUレベルを、ネガティブコントロールを含むウェルのRFUレベルと比較し、不明なポジティブまたはネガティブを「コール」します。ポジティブサンプルのRFU値は、ネガティブコントロールの平均RFU値にカットオフ値を加えた値より大きくなります。

Well	Fluor	Content	Sample	End RFU	Call
C03	HEX	Std-1		15271	(+) Positive
C04	HEX	Std-2		10788	(+) Positive
C05	HEX	Std-3		6245	(+) Positive
C06	HEX	Std-4		4035	(+) Positive
C07	HEX	Neg Ctrl		1887	
D03	HEX	Std-1		15193	(+) Positive
D04	HEX	Std-2		10781	(+) Positive
D05	HEX	Std-3		6294	(+) Positive
D06	HEX	Std-4		4013	(+) Positive
D07	HEX	Neg Ctrl		1882	
E03	HEX	Std-1		14530	(+) Positive
E04	HEX	Std-2		10240	(+) Positive
E05	HEX	Std-3		5838	(+) Positive
E06	HEX	Std-4		3896	(+) Positive
E07	HEX	Neg Ctrl		1882	
F03	HEX	Std-1		14055	(+) Positive
F04	HEX	Std-2		9932	(+) Positive
F05	HEX	Std-3		5826	(+) Positive
F06	HEX	Std-4		3964	(+) Positive
F07	HEX	Neg Ctrl		1883	

エンドポイントデータを解析するには、プレートにネガティブコントロールが含まれている必要があります。含まれていないと、ソフトウェアはコールを行うことができません。

- 定量化プロトコルのラン — 標準プロトコルをセットアップします。ランが完了したら、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウを開き、[Quantification (定量化)]タブでデータ解析設定を調整してから、[End Point (エンドポイント)]タブをクリックしてエンドポイントサイクルを選択します。
- エンドポイントのみのプロトコルのラン — [Run Setup (ランのセットアップ)]ウィンドウの[Plate (プレート)]タブにエンドポイントのみのプロトコルをロードし、プレートを選択または作成して、ランを開始します。

[End Point (エンドポイント)]タブに、ターゲットが最終(エンド)サイクルで増幅されたかどうかを判断するための平均RFU値が表示されます。これらのデータを使用して、特定のターゲットシーケンスがサンプル内に存在する(ポジティブ)かどうかを判断します。ポジティブターゲットのRFU値は、定義されたカットオフレベルより大きくなります。

ヒント: エンドポイントプロトコルを作成するには、[Protocol (プロトコル)]タブ([Run Setup (ランのセットアップ)]ウィンドウ)を開き、[Run (ラン)] > [End Point Only Run (エンドポイントのみのラン)]を選択します。

ランが完了すると、データファイルが[End Point (エンドポイント)]タブで開きます。これは、以下のセクションで構成されています。

- Settings (設定) — データ解析設定を調整します。
- Results (結果) — 設定が調整された直後に結果を表示します。
- ウェルセレクター — 表示するエンドポイントデータを含むウェルを選択します。
- RFUスプレッドシート — 選択したウェルで収集された最終RFUを表示します。

結果データ

[Results (結果)]セクションには、以下のデータが表示されます。

- 最小RFU値 — データ内の最小RFU値
- 最大RFU値 — データ内の最大RFU値
- ネガティブコントロール平均 — ネガティブコントロールを含むウェルの平均RFU
- カットオフ値 — 許容値(設定にリストされているRFUまたは範囲率)とネガティブコントロールの平均を加算して計算されます。カットオフ値よりも大きいRFUを持つサンプルは、「ポジティブ」と呼ばれます。カットオフ値を調整するには、RFUまたは範囲率を変更します。

カットオフ値は、次の式を使用して計算されます。

$$\text{カットオフ値} = \text{ネガティブコントロール平均} + \text{許容値}$$

次のいずれかの方法で許容値を選択します。

- RFU (デフォルト) — 許容値の絶対RFU値を使用する場合は、この方法を選択します。最小RFU許容値は2です。最大値は、最大RFU値の絶対値から最小RFU値の絶対値を引いたものです。デフォルトのRFU許容値は、RFU範囲全体の10%です。
- 範囲率 — 許容値のRFU範囲率を使用する場合は、この方法を選択します。最小範囲率は1%です。最大範囲率は99%です。デフォルトの範囲率は10%です。

エンドポイント データ解析の調整

[End Point (エンドポイント)]タブ内のデータを調整するには

- ▶ 次のいずれかを実行します。
 - ドロップダウンリストから蛍光色素を選択します。
 - [End Cycle to Average (平均化するエンドサイクル)]値を選択して、平均エンドポイントRFUを計算するためのサイクル数を設定します。
 - RFUを選択して、相対蛍光単位でデータを表示します。
 - [Percentage of Range (範囲のパーセンテージ)]を選択して、データをRFU範囲のパーセンテージとして表示します。
 - ウェルセレクターでウェルを選択して、データのサブセットに焦点を当てます。
 - ウェルグループを選択して、プレート内のウェルのサブセットを表示して解析します。ツールバーの[Well Group (ウェルグループ)]ドロップダウンメニューで、各ウェルグループを名前を選択します。

エンドポイント 解析用のRFUスプレッドシート

表25は、[End Point (エンドポイント)]タブのRFUスプレッドシートに表示されるデータを定義したものです。

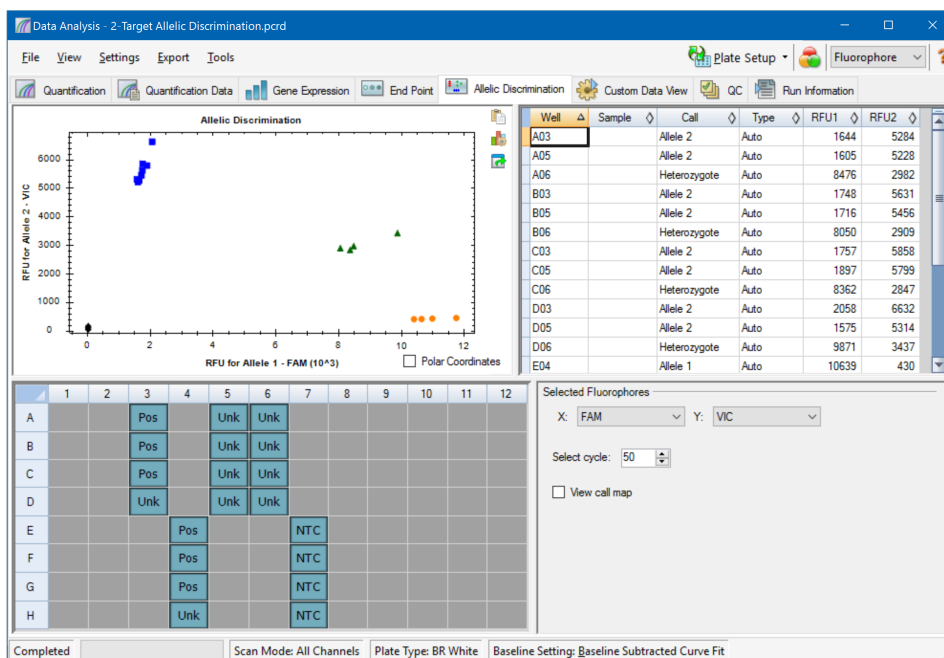
表25. RFUエンドポイントスプレッドシートの内容

情報	説明
Well (ウェル)	プレート内のウェルの位置
Fluor (蛍光色素)	検出された蛍光色素
Content (内容)	サンプルタイプと複製番号の組み合わせ
End RFU (エンドRFU)	エンドポイント サイクルでのRFU
Call (コール)	ポジティブまたはネガティブ。ポジティブサンプルのRFU値は、ネガティブコントロールの平均RFUにカット オフ値を足したものより大きくなります。
Sample (サンプル)	Plate Editorにロードされたサンプル名

[Allelic Discrimination (対立遺伝子識別)]タブ

[Allelic Discrimination (対立遺伝子識別)]タブは、不明なサンプルのあるウェルに遺伝子型を割り当てます。これらのデータは、対立遺伝子1、対立遺伝子2、ヘテロ接合体、ノーコール(増幅なし)、未確定などのさまざまな遺伝子型のサンプルを識別するために使用します。

注：対立遺伝子識別のデータは、少なくとも2つの蛍光色素を使用したマルチプレックスランから取得する必要があります。各蛍光色素は、すべてのサンプル内で1つの対立遺伝子を識別します。



対立遺伝子識別解析には、少なくとも以下のウェルの内容が必要です。

- ウェルごとに2つずつの蛍光色素
- 最適化されたデータ解析のためのNTC(テンプレートコントロールなし)サンプル

CFX Maestro Dx SEは、対立遺伝子識別データを表示するための4つのオプションを提供しています。

- 対立遺伝子識別グラフ — 対立遺伝子1/対立遺伝子2のRFUのグラフにデータを表示します。グラフの各ポイントは、1つのウェル内の両方の蛍光色素からのデータを表しています。[Polar Coordinates (極座標)]チェックボックスをオンまたはオフにすることで、デカルト座標と極座標を切り替えることができます。デカルト座標は、x軸上の対立遺伝子1のRFUとy軸上の対立遺伝子2のRFUを表します。極座標は、x軸上の角度と、原点とy軸上のRFU間の距離(すべてのNTCの中央値)を表します。
- ウェルスプレッドシート — プレートの各ウェルで収集された対立遺伝子識別データを表示します。
- ウェルセレクター — 表示する対立遺伝子データを含むウェルを選択します。

- [Selected Fluorophores (選択された蛍光色素)]パネル — 対立遺伝子識別グラフのx軸とy軸のラベル、解析するサイクル、およびコールマップを表示するかどうかを変更します。

対立遺伝子識別に関するデータの調整

ソフトウェアは、NTCの位置と、NTCからの不明なデータポイントの角度と距離に基づいて、不明なサンプルを含むウェルに遺伝子型を自動的に割り当てます。

対立遺伝子識別データを調整するには

- ▶ 次のいずれかを実行します。
 - 極座標を表示するには、対立遺伝子識別グラフ内のチェックボックスをオンにします。
 - 別の蛍光色素を表示するには、[Selected Fluorophores (選択された蛍光色素)]パネルのドロップダウンリストからその色素を選択します。
 - コールを変更するには、対立遺伝子識別グラフ内のデータポイントをドラッグして、[Selected Wells (選択されたウェル)]リスト内のオプションを選択します。
 - Allele 1 (対立遺伝子1)
 - Allele 2 (対立遺伝子2)
 - Heterozygote (ヘテロ接合体)
 - Undetermined (未定)
 - No Call (ノーコール)
 - Auto Call (自動コール)

ヒント: [Auto Call (自動コール)]を選択すると、デフォルトのコールに戻ります。

[Chart (グラフ)]メニューのオプション

グラフの一般的な右クリックメニューオプション([グラフの一般的な右クリックメニュー項目 \(198ページ\)](#)を参照)に加えて、[表26](#)に対立遺伝子識別グラフで使用可能なメニューオプションを示します。

表26. 対立遺伝子識別グラフの右メニューオプションと左メニューオプション

メニューオプション	機能
Zoom (ズーム)	<p>選択した領域にグラフビューをフォーカスします(グラフ内のカーソルをクリックしてドラッグします)。</p> <p>ヒント: すべてのデータポイントが表示されるようにズームを元に戻すには、右クリックして[Set Scale to Default (スケールをデフォルトに設定)]を選択します。</p>
Well (ウェル)	<p>選択したウェルのオプションは、このウェルのみを表示する、このウェルをビューから削除する、このトレースの色を設定する、またはこのウェルを解析から除外することです。</p>
Selected Wells (選択されたウェル)	<p>選択したウェル(グラフ内でカーソルをクリックしてドラッグすることで選択)のオプションは、これらのウェルのみを表示する、これらのウェルをビューから削除する、これらのトレースの色を設定する、またはこれらのウェルを解析から除外することです。</p>

対立遺伝子識別スプレッドシート

[表27](#)は、対立遺伝子識別スプレッドシートに表示されるデータを定義したものです。

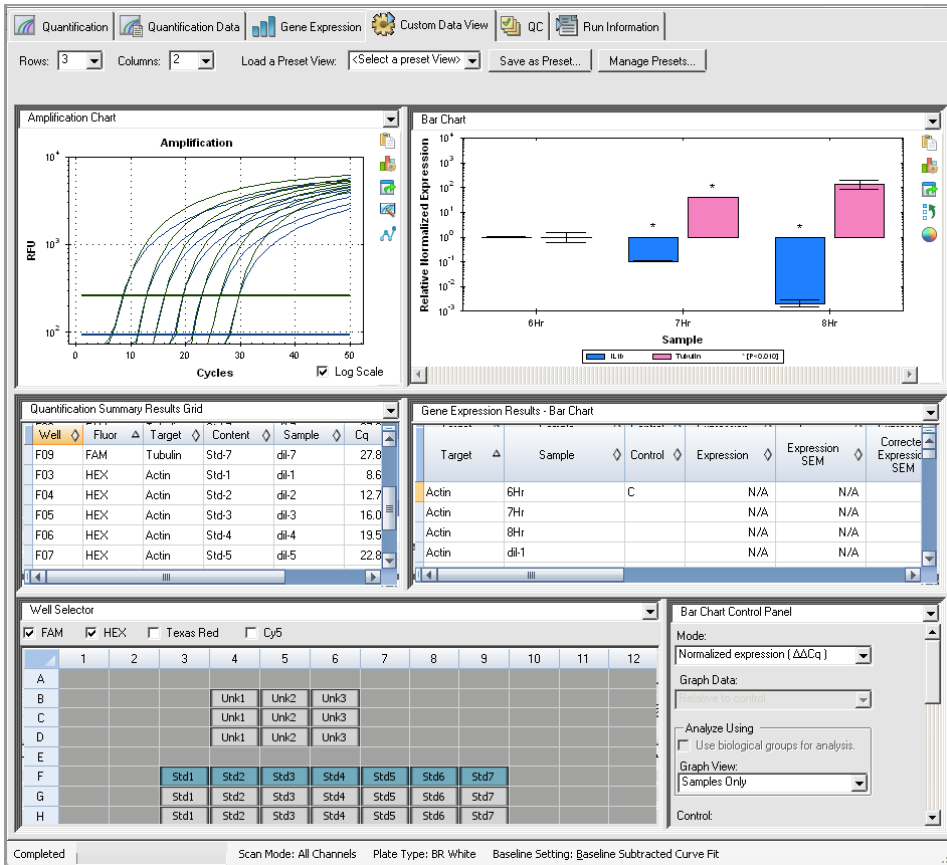
表27. 対立遺伝子識別スプレッドシートの内容

情報	説明
Well (ウェル)	プレート内のウェルの位置
Sample (サンプル)	サンプル名の説明
Call (コール)	自動対立遺伝子1、対立遺伝子2、ヘテロ接合体、ノーコール、または未定を含む対立遺伝子の識別
Type (タイプ)	[Auto (自動)]または[Manual (手動)]。コールがどのように行われたかを示します。[Auto (自動)]は、ソフトウェアがコールを選択したことを示します。[Manual (手動)]は、ユーザーがコールを選択したことを示します
RFU1	対立遺伝子1のRFU
RFU2	対立遺伝子2のRFU

[Custom Data View (カスタムデータビュー)]タブ

[Custom Data View (カスタムデータビュー)]タブには、カスタマイズ可能な形式で複数のペインが同時に表示されます。

[Load a Preset View (プリセットビューのロード)]ドロップダウンリストは、表示形式テンプレートの選択肢を提供します。表示されるデフォルトのビューは、解析対象のファイルによって異なります。たとえば、融解曲線データが存在する場合は、Amp+Meltのデフォルトビューが表示されます。



カスタムデータビューの作成

カスタムデータビューを作成するには

- ▶ 次のいずれかを実行します。
 - ドロップダウンリストから代替プリセットビューを選択します。
 - 個々のペインの上部にあるドロップダウンリストから別のグラフビューを選択します。
 - タブ内の行と列の数を変更します。
 - 個々のペインの寸法を変更します。各ペインの周囲にあるバーをドラッグします。

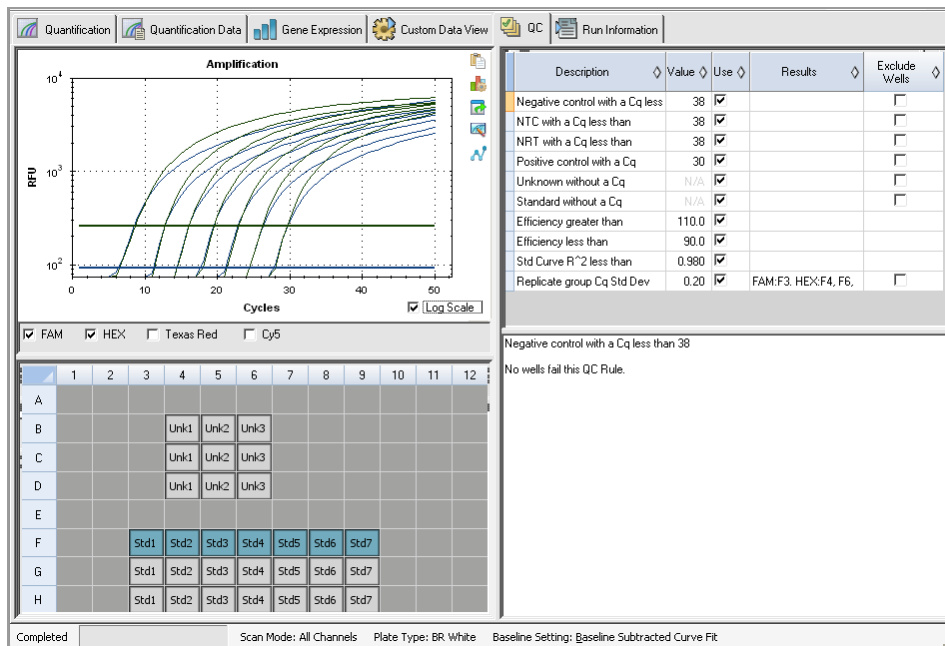
カスタマイズしたものをプリセットテンプレートとして保存するには、[Save as Preset (プリセットとして保存)]をクリックします。既存のプリセットビューを削除、名前変更、または復元するには、[Manage Presets (プリセットの管理)]をクリックします。

[QC]タブ

[QC]タブは、[User Preferences (ユーザー設定)]ウィンドウの[QC]タブで定義されたルールに基づいて、ランデータの品質をすばやく評価するために使用します。

CFX Maestro Dx SEは、QCデータを表示するための以下の4つのオプションを提供しています。

- **増幅グラフ** — すべてのサイクルで各ウェルのRFUを表示します。グラフ内の各トレースは、1つのウェル内の単一の蛍光色素からのデータを表します。
- **QCルール表** — 使用可能なQCルールと各ルールを定義する設定を表示します。適用されたQCルールはチェックマークで示されます。
- **ウェルセレクター** — 表示する蛍光データを含むウェルを選択します。
- **QCルールの概要ペイン** — 選択したQCルールを表示し、ルールを満たさないウェルを強調表示します。



QC基準の変更

QC基準を変更するには

- ▶ QCに含めるまたはQCから除外するルールの[Use (使用)]チェックボックスをオンまたはオフにします。

QCを満たしていないウェルの除外

CFX Maestro Dx SEは、QCルールテーブルの[Results (結果)]列と概要ペインに、QC基準を満たしていないウェルを表示します。

QC基準を満たしていないウェルを除外するには

- ▶ 除外するウェルごとに[Exclude Wells (ウェルの除外)]を選択します。

[Run Information (ラン情報)]タブ

[Run Information (ラン情報)]タブには、各ランに関するプロトコルおよびその他の情報が表示されます。このタブを使用して、以下を実行します。

- プロトコルを表示します。
- ランに関するメモを入力または編集します。
- ランのIDまたはバーコードを入力または編集します。
- ランの最中に発生した可能性のあるイベントを表示します。これらのメッセージを使用して、ランのトラブルシューティングに役立ててください。

ヒント: [Protocol (プロトコル)]を右クリックし、そのプロトコルをコピー、エクスポート、または印刷します。
 [Notes (メモ)]、[ID/Bar Code (ID/バーコード)]、または[Other (その他)]ペインを右クリックし、テキストを元に戻す、切り取り、コピー、貼り付け、削除、または選択の操作を行います。

Protocol: CFX_2stepAmp50 1 min.prl

Step	Temp	Time	Action
1	95.0 C	for 3:00	
2	95.0 C	for 0:10	
3	55.0 C	for 1:00	
4	GOTO 2	49 more times	

Notes:
 Multiplex Gene Expression Example
 Artificial Time course in which
 Hex (Actin) is constant at ~ 1e5 cps/run
 Cy5 (Gapdh) is constant at ~ 1e6 cps/run
 Fam (Tubulin) increases 4 fold with time
 Texas Red (Il1b) decreases 4 fold with time

ID/Bar Code:

Other:
 Run Started : 12/13/2007 12:31:47 PM
 User : admin
 Run Type : User-defined
 Plate File : Multi GE.pltd
 Sample Vol : 25
 Lid Temp : 105
 Optical Head Serial Number :
 Base Serial Number : CC001095
 CFX Manager Version : 1.0.956.1212

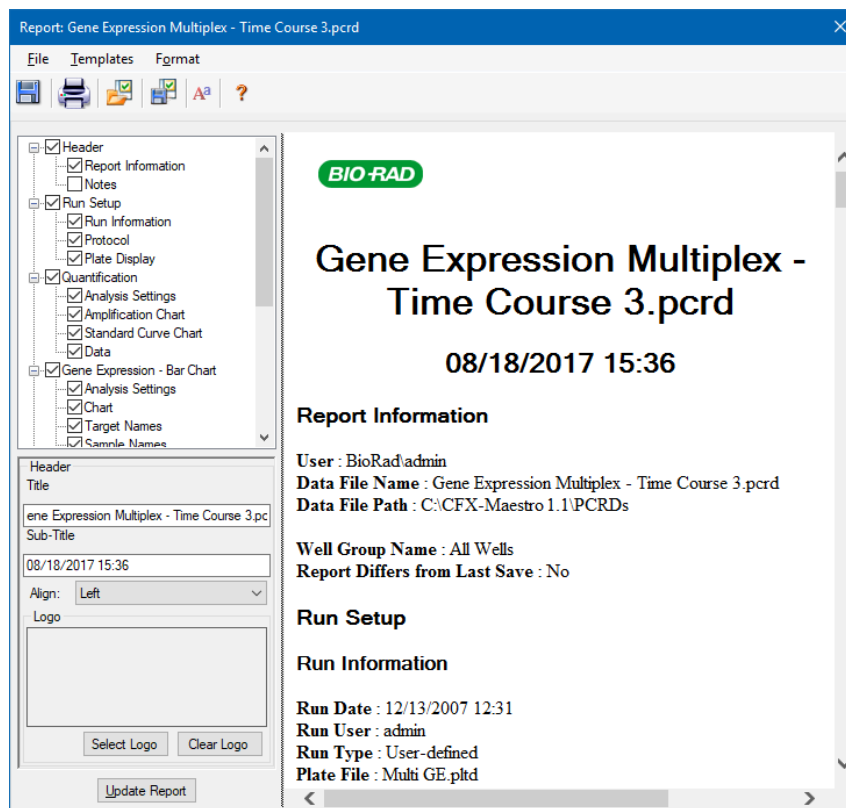
Completed | Scan Mode: All Channels | Plate Type: BR White | Baseline Setting: Baseline Subtracted Curve Fit

データ解析レポート

[Report (レポート)]ダイアログボックスでは、現在のデータファイルに関する情報が[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウに表示されます。レポートを開くには、[Tools (ツール)] > [Reports (レポート)]を選択するか、ツールバーの[Reports (レポート)]をクリックします。

[Report (レポート)]ダイアログには、以下のセクションがあります。

- メニューとツールバー — レポートまたはテンプレートをフォーマット、保存、および印刷するためのオプションを提供します。
- オプションリスト(ダイアログボックスの左上) — レポートに表示するオプションを提供します。
- オプションペイン(ダイアログボックスの左下) — 選択したオプションに関する情報を入力できるテキストボックスが表示されます。
- プレビューペイン(ダイアログボックスの右側) — 現在のレポートのプレビューが表示されます。



データ解析レポートのカテゴリ

表28に、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウのデータのタイプに応じて、データ解析レポートに使用可能なすべてのオプションを示します。

表28. オプションリスト内のデータ解析レポートのカテゴリ

カテゴリ	オプション	説明
ヘッダー		
		レポートのタイトル、サブタイトル、ロゴ
	Report Information (レポート情報)	ランの日付、ユーザー名、データファイル名、データファイルパス、および選択されたウェルグループ
	Audit Information (監査情報)	署名を含む、監査に必要な補足情報
	Notes (メモ)	データレポートに関するメモ
ランのセットアップ		
	Run Information (ラン情報)	ランの日付、ユーザー名、データファイル名、データファイルパス、および選択されたウェルグループ
	Protocol (プロトコル)	プロトコルのステップとオプションのテキストビュー
	Plate Display (プレート表示)	プレートの各ウェルの情報のプレートビュー
定量化		
	Analysis Settings (解析設定)	データ収集ステップ番号、解析モード、およびベースライン減算法
	Amplification Chart (増幅グラフ)	定量化データを含むランの増幅グラフ
	Standard Curve Chart (検量線グラフ)	検量線グラフ
	Data (データ)	各ウェル内のデータをリストしたスプレッドシート

表28. オプションリスト内のデータ解析レポートのカテゴリ、続き

カテゴリ	オプション	説明
遺伝子発現 — 棒グラフ		
	Analysis Settings (解析設定)	解析モード、グラフデータ、スケーリングオプション、およびグラフエラー
	Chart (グラフ)	棒グラフのコピー
	Target Names (ターゲット名)	ターゲット名のグラフ
	Sample Names (サンプル名)	サンプル名のグラフ
	Data (データ)	各ウェル内のデータをリストしたスプレッドシート
	Target Stability(ターゲットの安定性)	ターゲット安定性値のグラフ
	Box-and-Whisker Chart(箱ひげ図)	箱ひげ図
	Dot Plot Chart (ドットプロットグラフ)	ドットプロットグラフ
遺伝子発現 — クラスターグラム、および散布図		
	Analysis Settings (解析設定)	各グラフタイプの設定
	Chart (グラフ)	グラフのコピー
	Data (データ)	各ターゲットのデータをリストするスプレッドシート
遺伝子発現 — ANOVAデータ		
	ANOVA Settings (ANOVA設定)	解析で使用されるP値しきい値
	ANOVA Results(ANOVA結果)	ANOVAの結果、Tukey's HSD事後解析結果の表
融解曲線		
	Analysis Settings (解析設定)	溶融ステップ番号としきい値バー設定

表28. オプションリスト内のデータ解析レポートのカテゴリ、続き

カテゴリ	オプション	説明
	Melt Curve Chart (融解曲線グラフ)	融解曲線グラフ
	Melt Peak Chart (融解ピークグラフ)	融解ピークグラフ
	Data (データ)	各ウェル内のデータをリストしたスプレッドシート
対立遺伝子識別		
	Analysis Settings (解析設定)	蛍光色素、サイクル、およびコールマップの表示
	Allelic Discrimination Chart (対立遺伝子識別グラフ)	対立遺伝子識別グラフのコピー
	Data (データ)	各ウェル内のデータをリストしたスプレッドシート
エンドポイント		
	Analysis Settings (解析設定)	蛍光色素、平均までのエンドサイクル、モード、最低RFU値、最高RFU値、およびカットオフ値
	Data (データ)	各ウェル内のデータをリストしたスプレッドシート
QCパラメータ		
	Data (データ)	各QCルールのパラメータをリストしたスプレッドシート

データ解析レポートの作成

レポートレイアウトをテンプレートとして保存し、同様のレポートで再度使用できます。

データ解析レポートを作成するには

1. レポートを作成する前に、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウでウェルの内容、選択されたウェル、グラフ、およびスプレッドシートを最終調整します。
2. [Data Analysis (データ解析)]メニューバーで[Tools (ツール)] > [Reports (レポート)]を選択し、[Report (レポート)]ダイアログボックスを開きます。
3. レポートに含めるオプションを選択します。デフォルトのオプションが選択された状態でレポートが開きます。チェックボックスをオンまたはオフにすることによって、カテゴリ全体を変更するのか、カテゴリ内の個々のオプションを変更するのかを選択します。

[表 28\(238ページ\)](#)、表示可能なオプションを示します。

注: レポートに表示されるデータは、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウのタブ内で現在選択されている内容によって異なります。たとえば、定量化ランには検量線が含まれない可能性があるため、これらのデータは[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウまたはデータレポートに表示されません。

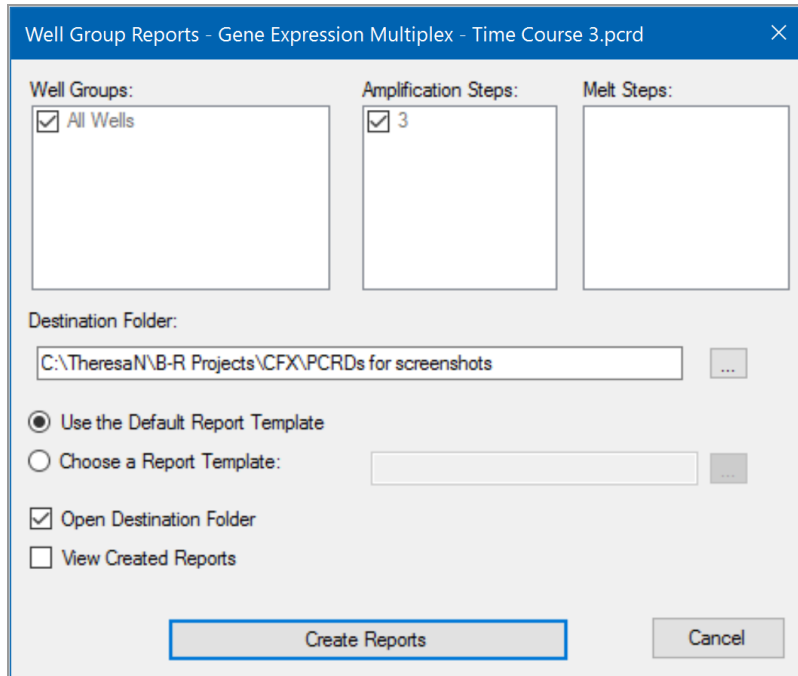
4. レポート内のカテゴリと項目の順序を変更します。オプションを相対位置にドラッグします。項目の順序は、その項目が属するカテゴリ内でのみ変更できます。
5. (オプション) [Report Options (レポートオプション)]ペインで、選択したオプションに関連する情報を入力します。
 - レポートに表示する情報のサブセットを選択します。
 - 選択したオプションに固有の設定を選択します。
 - 選択したオプションに表示するテキストを変更します。
6. [Update Report(レポートの更新)]をクリックして[Report Preview(レポートプレビュー)]を更新し、変更を反映させます。
7. レポートを印刷または保存します。
 - a. ツールバーの[Print Report(レポートの印刷)]ボタンをクリックすると、現在のレポートを印刷できます。
 - b. [File(ファイル)] > [Save(保存)]を選択して、レポートをPDF(Adobe Acrobat Readerファイル)、MHT(Microsoft文書)、またはMHTML(Microsoft文書)ファイル形式で保存します。
 - c. ファイルを保存する場所を選択します。
 - d. [File(ファイル)] > [Save As(名前を付けて保存)]を選択すると、レポートを新しい名前で保存したり、新しい場所に保存できます。

8. (オプション) 必要な情報を使用してレポートテンプレートを作成します。現在のレポート設定をテンプレートに保存するには、[Template(テンプレート)] > [Save(保存)]または[Save As(名前を付けて保存)]を選択します。次回新しいレポートを作成するときには、このレポートテンプレートをロードして使用できます。

ウェルグループレポートの作成

ウェルグループレポートを作成するには

1. [Data Analysis (データ解析)]ウィンドウで、[Tools (ツール)] > [Well Group Reports (ウェルグループレポート)]を選択します。



2. [Well Groups Reports (ウェルグループレポート)]ダイアログボックスで、レポートに含めるウェルグループ、増幅ステップ、および融解ステップを選択します。
3. パスを入力するか、レポートを保存する宛先フォルダに移動します。
4. (オプション) [Choose a Report Template (レポートテンプレートの選択)]を選択し、テンプレートファイルフォルダに移動します。
5. (オプション) [Open Destination Folder (宛先フォルダを開く)]を選択してフォルダを開き、生成後にレポートを表示します。
6. [Create Reports (レポートの作成)]をクリックします。

第12章 遺伝子発現解析

厳密な条件を満たしている対照物質を反応で使用することによって、CFX Maestro Dx SEソフトウェアを使用して遺伝子発現ランを実施し、サンプル間でのターゲット遺伝子濃度の相対差を正規化できます。通常は、対象の遺伝子の発現レベルを正規化するために、1つ以上のリファレンス遺伝子の発現レベルが使用されます。リファレンス遺伝子では、各サンプルで表わされる取り込み差やその他の変動が考慮されるため、その発現レベルは研究対象の生体系で影響を受けることはありません。

複数のウェルでのPCR反応の相対差を評価するには、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウの[Gene Expression (遺伝子発現)]タブを選択します。たとえば、PCR反応でのウイルスゲノムの相対数や導入配列の相対数を評価できます。遺伝子発現実験の最も一般的な応用例としては、定常状態のメッセンジャーRNAレベルを推定するために、複数の反応で得られたcDNA濃度を比較評価することが挙げられます。

ソフトウェアは、次のいずれかのシナリオでのターゲットの相対発現レベルを計算します。

- あるターゲット配列(遺伝子1)に対する別のターゲット配列(遺伝子2)の相対発現レベル。たとえば、同一のサンプル処理条件における、ある遺伝子に対する別の遺伝子の相対量。
- 異なるサンプル処理条件における、同一ターゲットに対する1サンプル内での1ターゲット配列の相対発現レベル。たとえば、異なる時間、場所、または発現条件下におけるある遺伝子の自身に対する相対量。

遺伝子発現解析用プレートのセットアップ

遺伝子発現解析を実施するには、ウェルに以下が含まれている必要があります。

- 2つ以上のターゲット—サンプル内で増幅遺伝子または増幅配列をそれぞれ表す2つのターゲット。
- 1つ以上のリファレンスターゲット—少なくとも1つのターゲットは、正規化発現のリファレンスターゲットである必要があります。[Experiment Settings (実験設定)]ウィンドウですべてのリファレンスターゲットを割り当て、正規化発現モード($\Delta\Delta C_q$)でデータを解析します。リファレンスを含まないランは、相対発現モード(ΔC_q)で解析する必要があります。
- 共通サンプル—[Gene Expression (遺伝子発現)]タブにプロットされたデータを表示するには、反応に共通サンプルが2つ以上含まれている必要があります。このようなサンプルは、ターゲット配列ごとの異なる処理または条件を表します。必要に応じて、[Experiment Settings (実験設定)]ウィンドウで対照サンプルを割り当てます。対照サンプルが選択されていない場合、ソフトウェアは最小 C_q を対照サンプルとして使用します。

プレートエディターでの遺伝子発現設定の要件は、反応内容が、1タイプの蛍光色素を用いるシングルプレックスPCRであるか、または2タイプ以上の蛍光色素を用いるマルチプレックスPCRであるかによって異なります。

プレート設定ガイド

データファイルのプレート設定に、解析に必要な情報が含まれていない場合、[Gene Expression (遺伝子発現)]タブを選択すると、通常棒グラフが表示される空間に情報入力のための指示が表示されます。正規化遺伝子発現解析を実施するには、以下の手順に従ってください。

1. 次のいずれかのオプションを使用して、ターゲット名とサンプル名を定義します。
 - Plate Setup (プレート設定) — [Plate Editor (プレートエディター)]ウィンドウを開きます。
 - Replace Plate File (プレートファイルの置換) — [Select Plate (プレートの選択)]ブラウザが開きます。ここで、以前保存したプレートファイルにナビゲートし、そのファイルで現在のプレートレイアウトを置き換えることができます。
 - Replace PrimePCR File (PrimePCRファイルの置換) — [Select PrimePCR file (PrimePCRファイルの選択)]ダイアログボックスを開きます。ここで、PrimePCRランファイルにナビゲートして、そのファイルをプレートレイアウトに適用できます。
2. [Experiment Settings (実験設定)]ダイアログボックスを使用して、1つ以上のリファレンスターゲットと対照サンプルを選択します。

プレートレイアウトにすでにターゲットとサンプルの情報が含まれている場合は、2番目のステップのみが必要です。この場合、このステップがオレンジ色で強調表示されます。このステップは、正規化遺伝子発現解析を実施する前に完了しておく必要があります。

注: 散布図クラスターグラムのデータが表示されるのは、「遺伝子発現解析用プレートの設定」に記載されている正規化遺伝子発現の要件がすべて満たされている場合のみです。

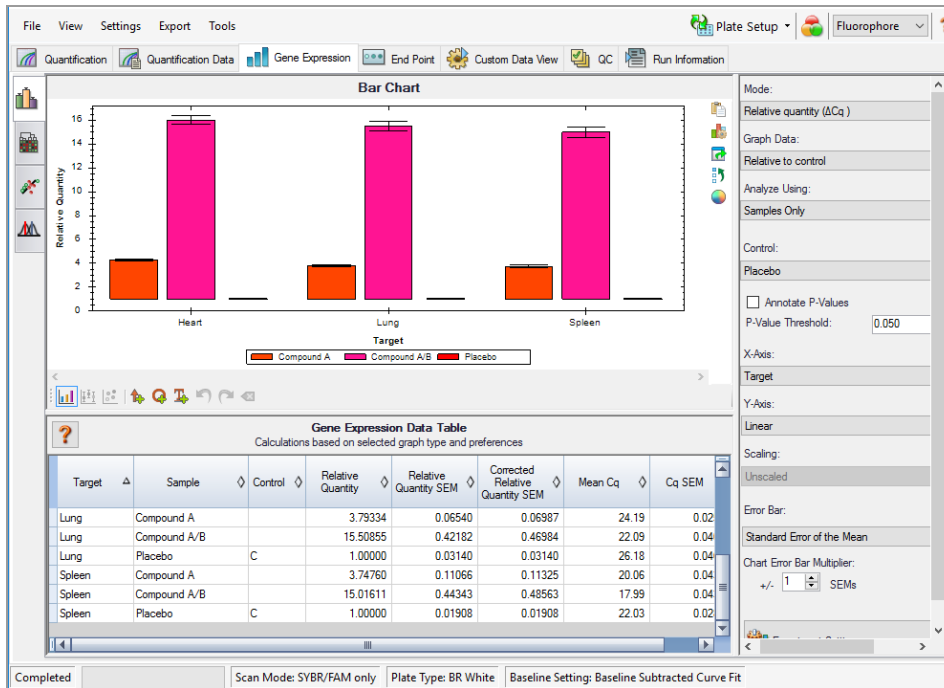
遺伝子発現グラフ

CFX Maestro Dx SEでは、遺伝子発現データを複数のビューで表示できます。表29に、このソフトウェアで使用可能なグラフオプションを示します。

表29. 遺伝子発現グラフオプション

ボタン	名前	機能
	グラフ	次のいずれかのビューで、正規化された遺伝子発現データを表示します。 <ul style="list-style-type: none"> ■ 棒グラフ(デフォルト) ■ 箱ひげ図 ■ ドットプロット グラフ
	クラスターグラム	異なるターゲット およびサンプルの発現の類似度に基づき、正規化発現データを階層構造で表示します。
	散布図	対照サンプルと実験サンプルとの対比でターゲットの正規化発現を表示します。
	ANOVA	次のRパッケージを使用して実行された、遺伝子発現データの一元配置分散分析(ANOVA)の結果を表示し、Tukey検定結果を判断します。 <ul style="list-style-type: none"> ■ 応用回帰の手引(car) ■ 最小二乗平均(lsmmeans)
	リファレンス遺伝子選択ツール	(([Gene Study (遺伝子研究)]ウィンドウの[Study Analysis (研究解析)]タブで利用可能)試験されたリファレンス遺伝子を識別し、それぞれの安定性に基づいて、良好、許容可能、または不安定に分類します。
	PrimePCRコントロール解析	(([Gene Study (遺伝子研究)]ウィンドウの[Study Analysis (研究解析)]タブで利用可能)試験されたサンプルの結果を表示します。

グラフ



ターゲットの相対発現は、次の2つのビューで示されます。

- 遺伝子発現グラフ — リアルタイムPCRデータを次のいずれかとして表示します。
 - $\Delta\Delta C_q$ — 対照サンプルとリファレンスターゲットを使用して計算された相対正規化発現。
 - ΔC_q — 対照サンプルを基準としたサンプル内のターゲット遺伝子の相対量。

3つのビューのいずれかで遺伝子発現グラフにデータを表示できます。詳細については、[グラフビューの変更と注釈付け\(250ページ\)](#)を参照してください。

- Spreadsheet (スプレッドシート) — 遺伝子発現データのスプレッドシートを表示します。

ヒント: オプションについては、グラフまたはスプレッドシートを右クリックしてください。[Plate Setup (プレートのセットアップ)]ドロップダウンメニューから[View/Edit Plate (プレートの表示/編集)]を選択して、Plate Editorを開き、プレート内のウェルの内容を変更します。

ヒント: 右クリックメニューから[Sort (並べ替え)]を選択して、グラフ内のターゲット名とサンプル名の順序を並べ替えます。

正規化遺伝子発現

データを正規化するには、1つ以上のリファレンス遺伝子の測定された発現レベルを正規化係数として使用します。リファレンス遺伝子は、*actin*、*GAPDH*、*tubulin*などの研究対象の生体系で調整されていないターゲットです。

正規化遺伝子発現($\Delta\Delta C_q$)解析をセットアップするには

1. データファイル(.pcrd拡張子)を開きます。
2. [Data Analysis (データ解析)]ウィンドウの[Quantification (定量化)]タブでデータを確認します。しきい値や解析モードの変更など、データに調整を加えます。
3. [Gene Expression (遺伝子発現)]タブを選択します。
4. [Gene Expression (遺伝子発現)]タブで、[Experiment Settings (実験設定)]をクリックします。
5. [Experiment Settings (実験設定)]ダイアログボックスで、次の手順を実行します。
 - a. [Samples (サンプル)]タブを選択し、対照を選択します。対照が割り当てられると、CFX Maestro Dx SEがすべての遺伝子の相対量を、1に設定された対照量に正規化します。
 - b. [Target (ターゲット)]タブを選択し、リファレンス遺伝子を選択します。遺伝子発現解析には、サンプル内のターゲット間に1つのリファレンスが必要です。
6. まだ選択されていない場合は正規化発現($\Delta\Delta C_q$)を選択してから、[Gene Expression (遺伝子発現)]タブで発現レベルを表示します。

注: セットアップウィザードを使用して、正規化遺伝子発現解析用のプレートレイアウトをセットアップすることもできます。

相対量

定義上、相対量(ΔC_q)データは、正規化されていません。この方法は、リファレンス遺伝子(ターゲット)を含まないサンプルを定量化するために使用されます。通常、研究者は、ランをセットアップするときに、次の考慮事項のいずれかが当てはまることを理解しています。

- 各サンプルには、各ウェル内に同量のRNAまたはcDNAが含まれています。
- ロードされる生物学的サンプルの量のばらつきは、ソフトウェア外のデータ解析による方法でランされた後に正規化されます。たとえば、研究者は、相対量の値を正規化係数で割る、場合によって各サンプルにロードされた核酸の質量で割る、または核酸が分離された細胞の数で割ることを選択できます。

相対量(ΔC_q)解析をランするには

- ▶ [Gene Expression (遺伝子発現)]タブで、右ペインの[Mode (モード)]ドロップダウンリストから、相対量(ΔC_q)を選択します。

ヒント: 結果を他の遺伝子発現ランのデータと比較するには、新しいGene Studyを開くか、既存のGene Studyにデータファイルを追加します。

グラフビューの変更と注釈付け

グラフツールバーメニューコマンドとデータ解析グラフツールを使用すると、グラフビューの変更、各グラフへの注釈付け、およびグラフ表示の変更を行うことができます。グラフツールバーは、グラフと画面下部のデータ解析スプレッドシートの間に表示されます。

グラフツールバーツール

ヒント: データ解析グラフの右側に表示されるグラフツールについては、[グラフ\(190ページ\)](#)を参照してください。

グラフの下のツールバーから、注釈ツールにすばやくアクセスできます。



表30に、グラフツールバーのボタンの機能を示します。

表30. グラフツールバー










ボタン	名前	機能
	棒グラフ	ターゲットの相対発現を表示します。
	箱ひげ図	データを四分位範囲として表示します(計算の詳細については、 箱ひげ図の計算(284ページ) を参照してください)。 <p>注: [Analyze Using (解析に使用)]が[Biological Groups Only (生物学的グループのみ)]に設定されている場合にのみ使用できます。</p>
	ドットプロットチャート	各ターゲットの個々のサンプルデータポイントを表示します。 <p>注意: [Analyze Using (解析に使用)]が[Biological Groups Only (生物学的グループのみ)]に設定されている場合にのみ使用できます。</p>
	矢印の追加	アクティブなグラフに矢印を描画します。
	円の追加	アクティブなグラフに円を描画します。

表 30. グラフツールバー、続き

ボタン	名前	機能
	テキストの追加	アクティブなグラフにテキストボックスを挿入します。このテキストボックスに、グラフ内の関心のある項目を識別するためのテキストを追加できます。
	元に戻す	アクティブなグラフで実行された最後の注釈を削除または元に戻します。
	やり直し	アクティブなグラフで実行された最後の元に戻すアクションを元に戻します。
	すべてクリア	アクティブなグラフ上のすべての注釈をクリアします。

ターゲット、サンプル、および生物学的グループデータの並べ替え

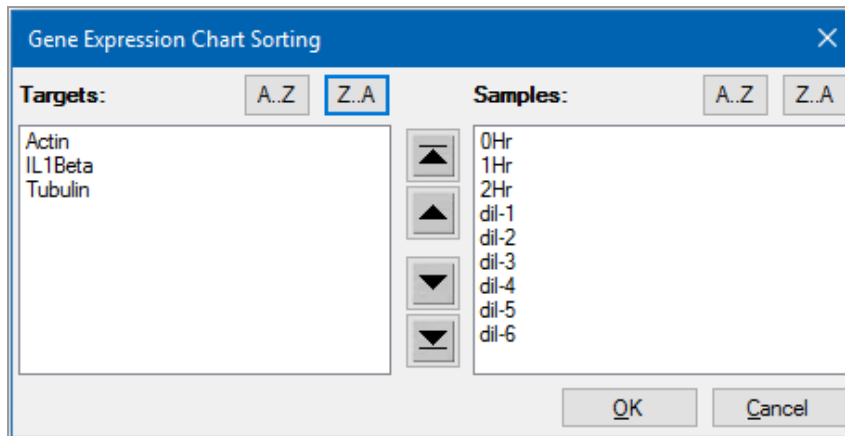
注: このオプションは、遺伝子発現グラフでのみ使用できます。

デフォルトで、[Targets (ターゲット)], [Samples (サンプル)], および[Biological Groups (生物学的グループ)]のリストはアルファベット順に表示されます。[Sort (並べ替え)]ダイアログボックスを使用して、表示を逆アルファベット順に並べ替えたり、項目をリスト内の別の場所に手動で移動したりします。

ターゲット、サンプル、および生物学的グループデータを並べ替えるには

1. グラフツールから、[Sort (並べ替え)]をクリックします。

[Gene Expression Chart Sorting (遺伝子発現グラフの並べ替え)]ダイアログボックスが表示されます。



2. ダイアログボックスで、[Z-A]をクリックして、リストを逆アルファベット順に並べ替えます。
3. 項目を手動で移動するには、項目を選択して、グラフの間の該当するボタンをクリックします。
 - 選択した項目を1つ移動するには、上矢印または下矢印をクリックします。
 - 選択した項目をリストの一番上または一番下に移動するには、上矢印または下矢印をクリックします。
4. [OK]をクリックして変更を保存し、[Gene Expression (遺伝子発現)]タブに戻ります。

ターゲット、サンプル、および生物学的グループの色設定の変更

[Color Settings (色設定)]ダイアログボックスを使用して、ターゲット、サンプル、または生物学的グループの色を変更したり、グラフから項目を削除したりします。

ターゲットの色設定を変更するには

1. [Gene Expression (遺伝子発現)]ダイアログボックスの右側のペインで、[X-Axis (X軸)]ドロップダウンリストにそのサンプルが表示されていることを確認します。
2. グラフツールで、[Color Settings (色設定)]を選択します。
[Color Settings (色設定)]ダイアログボックスが表示されます。
3. ターゲットの表示色を変更するには、[Color (色)]列でその色をクリックします。
4. 表示された[Color (色)]ダイアログボックスで、新しい色を選択し、[OK]をクリックします。
5. 遺伝子発現グラフからターゲットを削除するには、[Show Chart (グラフの表示)]列のチェックボックスをオフにします。

ヒント: すべてのターゲットをクリアするには、列見出しの[Show Chart (グラフの表示)]をオフにします。

6. (オプション)デフォルトで、バーは単色で表示されます。バーをグラデーション色で表示するには、[Use Solid Colors (単色の使用)]をオフにします。
7. [OK]をクリックして変更を保存し、[Gene Expression (遺伝子発現)]タブに戻ります。

サンプルまたは生物学的グループの色設定を変更するには

1. [Gene Expression (遺伝子発現)]ダイアログボックスの右側のペインで、そのターゲットが[X-Axis (X軸)]ドロップダウンリストに表示されていることを確認します。
2. [ターゲットの色設定を変更するには\(253ページ\)](#)の手順を実行します。

グラフビューの変更

現在のグラフビューを変更するには

- ▶ ターゲットビューのツールバーメニューコマンドを選択します。

注: [Gene Expression (遺伝子発現)]タブが常に開き、デフォルトの棒グラフビューにデータが表示されます。

はずれ値のデータポイントの除外

ドットプロットグラフでは、はずれ値を容易に表示したり、解析から除外したりできます。

はずれ値のデータポイントを除外するには

- ▶ ドットプロットグラフで、ターゲットのはずれ値を右クリックし、[Exclude Well from Analysis (解析からのウェルの除外)]を選択します。

データポイントがドットプロットグラフから削除され、[Quantification (定量化)]タブのウェルセクターでウェルが灰色に変化します。

除外されたはずれ値のデータポイントを含めるには

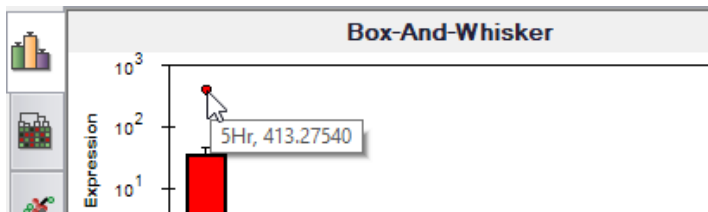
- ▶ [Quantification (定量化)]タブで、ウェルセクター内のウェルを右クリックし、[Well (ウェル)] > [Include in Analysis (解析に含める)]を選択します。

データポイントの詳細の表示

データポイントの詳細を表示するには

- ▶ 箱ひげ図またはドットプロットで、個々のデータポイントにカーソルを置きます。

ツールチップが表示され、サンプル名とその発現(選択したモードに応じて、相対量または正規化発現)が示されます。



グラフの注釈付け

各棒グラフビューに矢印、円、およびテキストを追加することによって、データをわかりやすく伝えることができます。注釈は棒グラフとともに保存され、エクスポートまたは印刷したファイルに表示されます。ただし、あるグラフビューに付けられた注釈は、他のグラフビューには追加されません。

グラフ上に矢印または円を描くには

1. 棒グラフツールバーで、特定のツールをクリックします。
2. 棒グラフをクリックし、必要に応じてグラフ上でカーソルをドラッグします。

グラフにテキストを追加するには

1. 棒グラフツールバーで、[Add Text (テキストの追加)]をクリックします。
2. 棒グラフをクリックします。その位置にテキストボックスが表示されます。
3. テキストボックスにテキストを追加します。
4. グラフの任意の場所をクリックすると、テキストボックスが終了します。

ヒント: テキストボックスに複数の行を追加するには、Enterキーを押します。

注釈を移動するには

1. 注釈の上にカーソルを置きます。アイコンが人差し指に変わり、注釈の境界線が強調表示されます。
2. 注釈をクリックして、別の位置にドラッグします。
3. 注釈をドロップして、その位置を確定します。

注釈を元に戻すには

- ▶ [Undo (元に戻す)]をクリックします。

最近追加された注釈が削除されます。

ヒント: 最新の10個の注釈を一度に1つずつ元に戻すことができます。

注釈をやり直すには

- ▶ [Redo (やり直し)]をクリックします。

最近削除された注釈が元に戻ります。

ヒント: 最新の10個の注釈を一度に1つずつやり直すことができます。

注釈を削除するには

- ▶ 注釈を右クリックして、[Delete (削除)]を選択します。

遺伝子発現データの調整

解析モード、正規化発現($\Delta\Delta Cq$)、または相対量(ΔCq)を選択したら、グラフの右側にある設定オプションを変更して、[Gene Expression (遺伝子発現)]タブに表示するデータを調整します。

ヒント: デフォルトの遺伝子発現データオプションは、[User Preferences (ユーザー設定)]ダイアログボックスで設定します(デフォルトの遺伝子発現データファイルパラメータの設定(86ページ)を参照)。

グラフデータ

y軸の値を線形目盛りを設定し、グラフデータオプションを有効にします。グラフデータオプションを使用すると、次のいずれかのオプションを使用してグラフでデータを表示できます。

- Relative to control (対照との相対) — 軸を0から1にスケールリングしてデータをグラフ化します。ラン中に対照を割り当てる場合は、このオプションを選択して、ターゲットのアップレギュレーションとダウンレギュレーションをすばやく視覚化します。
- Relative to zero (ゼロとの相対) — 原点をゼロにしてデータをグラフ化します。

解析に使用

ドロップダウンメニューを使用して、データの解析方法とプロット方法を選択します。オプションは次のとおりです。

- Samples Only (サンプルのみ) — データはサンプルごとに分析およびプロットされます。
- Biological Groups Only (生物学的グループのみ) — データは生物学的グループについて分析およびプロットされます。生物学的グループに表示される式は、そのグループ内のサンプルの幾何平均です。
- Sample Biological Group (サンプル生物学的グループ) — データは、サンプル名の後ろに生物学的グループを付加して、サンプルごとに分析およびプロットされます。表示されるP値は、生物学的グループに基づいて計算されます。
- Biological Group Sample (生物学的グループサンプル) — データは、サンプル名の前に生物学的グループを付加して、サンプルごとに分析およびプロットされます。表示されるP値は、生物学的グループに基づいて計算されます。

Control (対照)

[Control (対照)]のドロップダウンメニューを使用して、相対量の正規化に使用されるサンプルを選択します。

P値の注釈とP値しきい値

[Annotate P-Values (P値の注釈)]を選択すると、ターゲットのP値が選択されたしきい値を下回った場合に、ターゲットの上の棒グラフにアスタリスク(*)が表示されます。ソフトウェアは、標準のt検定を使用して、サンプルの発現レベルを選択されたコントロールサンプルの発現レベルと比較することにより、P値を自動的に計算します。P値しきい値の範囲は0.000~1.000です。

X軸オプション

x軸オプションを使用すると、遺伝子発現グラフのx軸データを選択できます。

- Target (ターゲット) — x軸にターゲット名をグラフ化します。
- Sample (サンプル) — x軸にサンプル名をグラフ化します。

Y軸オプション

y軸オプションを使用すると、次の3つのスケールのいずれかで遺伝子発現グラフを表示できます。

- Linear (線形) — このオプションは、線形目盛りを表示する場合に選択します。
ヒント: y軸を線形に設定すると、[Graph Data (グラフデータ)]ドロップダウンリストが有効になります。このリストから、対照またはゼロを基準にしてデータをグラフ化することを選択できます。
- Log 2 — このオプションは、広いダイナミックレンジにわたってサンプルを評価する場合に選択します。
- Log 10 — このオプションは、非常に広いダイナミックレンジにわたってサンプルを評価する場合に選択します。

スケーリングオプション

正規化遺伝子発現($\Delta\Delta C_q$)を選択して、[Control (対照)]を[None (なし)]に設定し、遺伝子発現グラフのスケーリングオプションを有効にします。次のスケーリングオプションのいずれかを選択して、ラン設計に最適な方法でデータを計算して表示します。

- Unscaled (非基準化) — 非基準化の正規化遺伝子発現を示します。
- Highest (最高) — 各サンプルの発現レベルをすべてのサンプルの最高の発現レベルで割ることにより、各ターゲットの正規化遺伝子発現をスケーリングします。
このスケーリングオプションでは、最高レベルにスケーリングされた式が使用されます。
- Lowest (最低) — 各サンプルの発現レベルをすべてのサンプルの最低の発現レベルで割ることにより、各ターゲットの正規化遺伝子発現をスケーリングします。
このスケーリングオプションでは、最低レベルにスケーリングされた式が使用されます。
- Average (平均) — 各サンプルの発現レベルをすべてのサンプルの発現レベルの幾何平均で割ることにより、各ターゲットの正規化遺伝子発現をスケーリングします。
このスケーリングオプションでは、平均レベルにスケーリングされた式が使用されます。

遺伝子発現グラフで誤差計算のタイプ(エラーバー)のオプションを選択します。

グラフのエラーバーの乗数

遺伝子発現グラフのエラーバーの乗数を選択します。整数(+/- 1 (デフォルト)、2、または3)のいずれかを選択します。エラーバーを選択すると、乗数のタイプが変化します。

- SEM (平均値の標準誤差)
- Std Devs (標準偏差)

実験設定

ヒント: このダイアログボックスは、Plate Editorでも使用できます。詳細については、[実験設定の変更\(141ページ\)](#)を参照してください。

[Experiment Settings (実験設定)]ダイアログボックスでは、ターゲット、サンプル、または生物学的グループのリストを表示または変更したり、リファレンス遺伝子を選択したり、対照を選択したり、生物学的グループがウェルに追加されている場合に解析する遺伝子発現解析グループを設定したりできます。

[Experiment Settings (実験設定)]ダイアログボックスを開くには

- ▶ [Graphing (グラフ)]タブで、右ペインの下部にある[Experiment Settings (実験設定)]をクリックします。
[Experiment Settings (実験設定)]ダイアログボックスが開いて、[Targets (ターゲット)]タブが表示されます。

ターゲット設定を調整するには

- ▶ [Targets (ターゲット)]タブで、次のいずれかを実行します。
 - 遺伝子発現データ解析のリファレンスとしてターゲットを選択するには、[Reference (リファレンス)]列でその名前を選択します。
 - ターゲットの色を変更するには、[Color (色)]列のセルをクリックし、表示された[Color (色)]ダイアログボックスで色を変更します。
色の変化が遺伝子発現グラフに反映されます。
 - 事前に決定された効率値を使用するには、[Auto Efficiency (自動効率)]列のターゲットのチェックボックスをオフにして、ターゲットの効率(%)の数値を入力します。
ターゲットのデータに検量線が含まれている場合は、自動効率を使用してターゲットの相対効率が計算されます。

サンプルの設定を調整するには

- ▶ [Samples (サンプル)]タブで、次のいずれかを実行します。
 - 遺伝子発現データ解析の対照としてサンプルを選択するには、[Control (対照)]列でその名前を選択します。
 - サンプルグループの色を変更するには、[Color (色)]列でそのセルをクリックし、表示された[Color (色)]ダイアログボックスで色を変更します。
色の変化が遺伝子発現グラフに反映されます。
 - 遺伝子発現グラフにサンプルを表示するには、[Show Chart (グラフの表示)]列でそれを選択します。

- 遺伝子発現グラフからサンプルを削除するには、[Show Chart (グラフの表示)]列でそれをクリアします。

ヒント: サンプルグループのデータは、[Results (結果)]表に残ります。

解析計算からサンプルタイプを除外するには

- ▶ [Experiment Settings (実験設定)]ダイアログボックスの下部にあるチェックボックスをオンにします。

注: これにより、遺伝子発現解析から対照およびまたは標準が除外されます。

右クリックメニューオプション

遺伝子発現グラフを右クリックして、表31に示す項目を選択します。

表31. 遺伝子発現の右クリックメニュー項目

項目	機能
Copy (コピー)	グラフをクリップボードにコピーします。
Save Image As (画像に名前を付けて保存)	グラフを画像ファイルとして保存します。画像の解像度と寸法を設定してから、ファイルタイプ(PNG、JPG、またはBMP)を選択します。
Page Setup (ページのセットアップ)	印刷用のページのセットアップを選択します。
Print (印刷)	グラフを印刷します。
Set Scale to Default (スケールをデフォルトに設定)	[Show All (すべて表示)]は、棒グラフにすべてのデータを表示します。 [Scroll Bar (スクロールバー)]は、最小バー幅を維持しながら、グラフフレームに表示するサンプルが多すぎる場合にスクロールバーを表示します。 ウィンドウを開いて、グラフを調整します。
Sort (並べ替え)	グラフのx軸に表示されるサンプルまたはターゲットの順序を入れ替えます。
Use Corrected Std Devs (補正されたStd Devsを使用する)	補正された標準偏差式を使用してエラーバーを計算します。
Use Solid Bar Colors (実線のバーの色を使用する)	グラフに実線のバーを表示します。
X-Axis Labels (X軸ラベル)	x軸ラベルを水平にまたは角度を付けて表示します。

データスプレッドシート

表32は、遺伝子発現データ表に表示されるデータを定義したものです。

注：表の値は、右側のペインで選択されたグラフのタイプと設定に基づいて計算されます。

表32. タブのスプレッドシート内の情報の説明

情報	説明
Target(ターゲット)	[Experiment Settings (実験設定)]ウィンドウで選択されたターゲット名(増幅遺伝子)。
Sample (サンプル)	[Experiment Settings (実験設定)]ウィンドウで選択されたサンプル名。 [Experiment Settings (実験設定)]ウィンドウで選択された対照名。
[Relative Quantity (相対量)] または[Expression (発現)]	選択されたモードに応じて、相対量(ΔC_q)または正規化遺伝子発現($\Delta\Delta C_q$)。
[Relative Quantity (相対量)]または [Expression SEM (or SD) (発現SEM (またはSD))]	選択されたオプションに応じて、相対量または正規化発現の平均標準誤差(SEM)または標準偏差(SD)。
[Corrected Relative Quantity (補正相対量)]または[Expression SEM (or SD) (発現SEM (またはSD))]	選択されたオプションに応じて、相対量または正規化発現のSEMまたはSDの補正值計算。
Mean C_q (平均 C_q)	定量化サイクルの平均。
C_q SEM (or SD) (C_q SEM (またはSD))	選択されたオプションに応じて、定量化サイクルのSEMまたはSD。

[Show Details (詳細の表示)]オプション

表33は、棒グラフスプレッドシートの右クリックメニューから[Show Details (詳細の表示)]を選択したときに表示されるデータを定義したものです。

表33. [Show Details (詳細の表示)]が選択された棒グラフスプレッドシート内の情報

情報	説明
Data Set (データセット)	データファイル内の1つの蛍光色素からの蛍光データ
Relative Quantity (相対量)	サンプルの計算された相対量
Relative Quantity SD (相対量 SD)	相対量計算の標準偏差
Corrected Relative Quantity SD (補正相対量SD)	補正相対量の計算された標準偏差
Relative Quantity SEM (相対量 SEM)	相対量計算の平均標準誤差
Corrected Relative Quantity SEM (補正相対量SEM)	補正相対量の計算された平均標準誤差
Relative Quantity(lg) (相対量 (lg))	統計解析に使用される相対量の \log_2
SD RQ(lg)	相対量の標準偏差(\log_2)
SEM Expression(lg) (SEM発現 (lg))	発現の平均標準誤差(\log_2)
Unscaled Expression (非基準化発現)	計算された非基準化発現
Unscaled Expression SD (非基準化発現SD)	非基準化発現の計算された標準偏差
Corrected Unscaled Expression SD (補正非基準化発現SD)	補正された非基準化発現の計算された標準偏差
Unscaled Expression SEM (非基準化発現SEM)	非基準化発現の計算された平均標準誤差
Corrected Unscaled Expression SEM (補正非基準化発現SEM)	補正された非基準化発現の計算された平均標準誤差

表 33. [Show Details (詳細の表示)]が選択された棒グラフスプレッドシート内の情報、続き

情報	説明
Unscaled Expression(Ig) (非基準化発現(Ig))	非基準化発現のlog ₂
SD Unscaled Expression(Ig) (SD非基準化発現(Ig))	非基準化発現の標準偏差(log ₂)
SEM Unscaled Expression(Ig) (SEM非基準化発現(Ig))	非基準化発現の平均標準誤差(log ₂)
Expression (発現)	正規化遺伝子発現
Corrected Expression SD (補正発現SD)	補正発現の計算された標準偏差
Expression SEM (発現SEM)	発現の平均標準誤差
Corrected Expression SEM (補正発現SEM)	補正発現の計算された平均標準誤差
Expression(Ig) (発現(Ig))	統計解析に使用される発現(正規化された発現)のlog ₂
SD Expression(Ig) (SD発現(Ig))	発現の標準偏差(log ₂)
SEM Expression(Ig) (SEM発現(Ig))	発現の平均標準誤差(log ₂)
Mean C _q (平均C _q)	定量化サイクルの平均
C _q SD	定量化サイクルの標準偏差
C _q SEM	定量化サイクルの平均標準誤差

クラスタグラム

クラスタグラムは、異なるターゲットおよびサンプルの発現の類似度に基づき、データを階層構造で表示します。

注: 棒グラフで相対発現以外のデータプロットを表示するには、リファレンスターゲットを選択する必要があります。

クラスタグラム画像は、サンプルまたはターゲットの相対発現を次のように示します。

- アップレギュレーション(赤) — 高発現
- ダウンレギュレーション(緑または青) — 低発現
- レギュレーションなし(黒)
- 算出値なし(黒地に白の×印)

色合いが明るいほど、相対発現の違いが大きくなります。正規化された C_q 値を算出できない場合は、四角部分が黒字に白の×印になります。

データプロットの外縁は、クラスタ階層を示す樹状図になります。発現パターンが似ているターゲットまたはサンプルは枝の位置が近いのに対して、似ていないパターンの場合は枝の位置が遠くなります。

Settings (設定)

次のオプションを設定できます。

- Cluster By (クラスタ方法) — ターゲット、サンプル、両方、またはなしから選択します。
- Size (サイズ) — 画像サイズを調整し、グラフの拡大率を変更してします。
- Split Out Replicates (レプリケート分割) — 個々のレプリケートの値を表示します。

ヒント: の配色を、これらのグラフの右クリックメニューからこのオプションを選択することで、デフォルトの [Red/Green (赤/緑)] から [Red/Blue (赤/青)] に変更できます。

右クリックメニューオプション

クラスタグラムの右クリックメニューオプションは、棒グラフの右クリックメニューオプションと同じです。使用可能なオプションについては、[表31\(259ページ\)](#)を参照してください。加えて、[Color Scheme (配色)]を選択して、ダウンレギュレーション発現をグラフでデフォルトの [Red/Green (赤/緑)] から [Red/Blue (赤/青)] に変更します。

データスプレッドシート

スプレッドシートには、ターゲット、サンプル、および正規化発現の値が表示されます。

散布図

散布図には、対照サンプルと実験サンプルとの対比でターゲットの正規化発現が表示されます。図中の線は、倍率変化のしきい値を示しています。線の間にあるデータポイントは、そのターゲット(遺伝子)の発現の差はサンプル間で無視できるほど小さいことを意味します。線の外側にあるデータポイントは倍率変化のしきい値を超えており、注目する必要がある可能性があります。

図の画像には、倍率変化のしきい値に基づくターゲット遺伝子発現の次の変化が示されます。

- アップレギュレーション(赤い円) — 相対的に高発現
- ダウンレギュレーション(緑または青の円) — 相対的に低発現
- 変化なし(黒い丸)

いずれかのしきい値線をクリックしてドラッグすることで、倍率変化のしきい値を調整できます。

設定

次のオプションを設定できます。

- Control Sample (対照サンプル)
- 実験サンプル
- 倍率変化しきい値。倍率変化しきい値を増減すると、それに応じてプロットのしきい値線が移動します。

右クリックメニューオプション

散布図の右クリックメニューオプションは、棒グラフの場合と同じです。使用可能なオプションについては、[表31 \(259ページ\)](#)を参照してください。さらに、[Symbol (記号)]を選択して、プロットで使用する記号をデフォルトの円から次のいずれかに変更することもできます。

- 三角形
- 十字
- 四角
- ひし形

データスプレッドシート

このスプレッドシートには、対照サンプルと実験サンプルのターゲットおよび正規化発現の値が表示されます。また、ターゲットのレギュレーションと比較してターゲットがアップレギュレーションされているかダウンレギュレーションされているかどうかも示します。

結果スプレッドシート

[Results (結果)]スプレッドシートには、すべてのグラフのデータが要約されます。表34に、[Results (結果)]スプレッドシートに表示されるデータを定義します。

表34. [Results (結果)]タブの情報

情報	説明
Target (ターゲット)	ターゲット名(増幅遺伝子)
Sample (サンプル)	サンプル名
Mean C _q (平均C _q)	定量化サイクルの平均
Mean Efficiency Corrected C _q (補正C _q 平均効率)	反応効率を調整した後の定量化サイクルの平均
Normalized Expression (正規化発現)	リファレンスターゲットに正規化されたターゲット発現($\Delta\Delta C_q$)
Relative Normalized Expression (相対正規化発現)	対照サンプルを基準とした相対正規化発現。倍率変化とも呼ばれます
Regulation (レギュレーション)	対照サンプルと比較した発現の変化
Compared to Regulation Threshold (レギュレーションしきい値との比較)	しきい値設定に基づく実験サンプルのアップレギュレーションまたはダウンレギュレーション

注: レプリケートのデータは、[Split Out Replicates (レプリケートの分割)]が選択されているデータ解析タブのスプレッドシート(つまり、クラスターグラム)にのみ表示されます。棒グラフで対照サンプルとして[none (無し)]を選択すると、遺伝子発現解析スプレッドシートの発現データ間に矛盾が生じる可能性があります。

Gene Study (遺伝子研究)

インターランキャリブレーターを使用して、1つ以上のリアルタイムPCR実験による遺伝子発現データを比較し、実験間の差異を正規化する遺伝子研究を作成します。遺伝子研究を作成するには、1つ以上のデータファイル(.pcrd拡張子)から遺伝子研究にデータを追加します。ソフトウェアはこれらのデータを1つのファイル(.mgxd拡張子)にまとめます。

注: 遺伝子研究で解析できるサンプルの最大数は、コンピューターのRAMおよび仮想メモリのサイズによって制限されます。

インターランキャリブレーション

個別のリアルタイムPCRラン(異なるプレートから生成された、異なる.pcrdファイル)で分析されたターゲット間のラン間変動を正規化するために、ターゲットごとのすべての遺伝子研究で自動的にインターランキャリブレーションが適用されます。

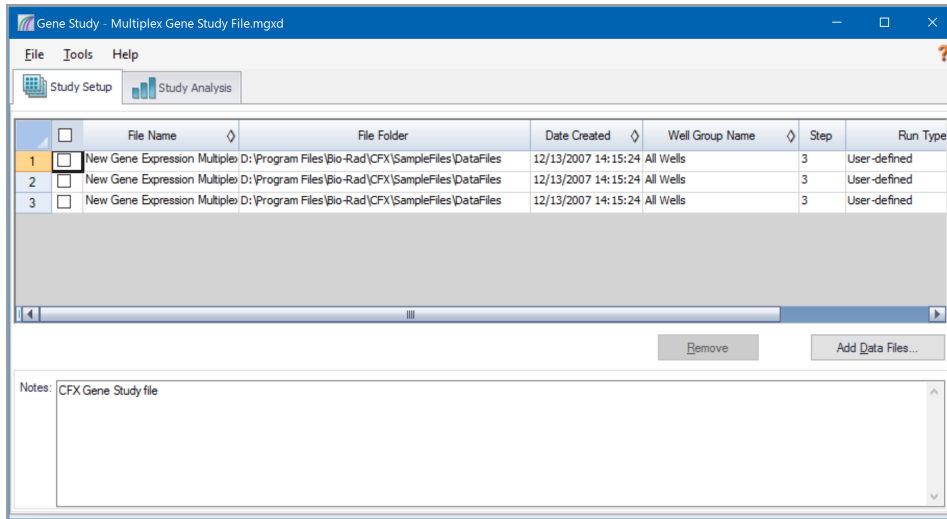
サンプルをインターランキャリブレーターとしてソフトウェアに認識させるためには、比較対象のすべてのプレートで同じターゲット名、サンプル名、(使用する場合は)生物学的セット名を共有する必要があります。

注: インターランキャリブレーションを行うには、遺伝子研究に少なくとも1つのインターランキャリブレーターサンプルが存在していなければなりません。適切なインターランキャリブレーターサンプルのないターゲットは、遺伝子研究で補正なしで処理されることとなります(非推奨)。

インターランキャリブレーターを適用するには、次の2つの方法があります。

- **ターゲットごと** — 効率が異なる複数のPCRプライマーを使用できます。デフォルトでは、インターランキャリブレーターは、同じプレート上で同じターゲット名が設定されたすべてのウェルに適用されます(同じ分析を使用して生成されたC_qなど)。
- **研究全体** — ユーザーが選択した1つのインターランキャリブレーターが遺伝子研究全体に適用されます。

[Gene Study (遺伝子研究)]ダイアログボックス



[Gene Study (遺伝子研究)]ダイアログボックスには、次の2つのタブがあります。

- [Study Setup (研究設定)]タブ — 遺伝子研究でのランを管理します。
重要: 遺伝子研究でデータファイルを追加または削除しても、元のファイルのデータは変更されません。
- [Study Analysis (研究解析)]タブ — 組み合わせランでの遺伝子発現データを表示します。

[Study Setup (研究設定)]タブ

表35に、[Study Setup (研究設定)]タブに表示されるデータの説明を示します。

表35. [Gene Study (遺伝子研究)]ダイアログボックスの[Study Setup (研究設定)]タブ

カラムのタイトル	説明
File Name (ファイル名)	ランデータファイルの名前(拡張子.pcrd)
File Folder (ファイルフォルダ)	遺伝子研究での各ランのデータファイルを格納するディレクトリ
Date Created (作成日)	実行データが収集された日付

表 35. [Gene Study (遺伝子研究)]ダイアログボックスの[Study Setup (研究設定)]タブ、続き

カラムのタイトル	説明
Well Group Name (ウェルグループ名)	ファイルが遺伝子研究に追加されたときに選択されたウェルグループの名前 ヒント: 遺伝子研究で1つのウェルグループを解析するには、データファイルを遺伝子研究にインポートする前に、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウでそのウェルグループを選択する必要があります。
Step (ステップ)	リアルタイムPCRデータを収集するためのプレートリードを含むプロトコルステップ
Run Type (ランタイプ)	ユーザー定義またはPrimePCRランのいずれか
Protocol Edited (プロトコル編集済み)	これが選択されている場合、PrimePCRランに使用されるプロトコルが編集されていることを意味します。
View Plate (プレートの表示)	プレートのプレートマップを開き、遺伝子研究に含まれるランごとのデータを表示します。

遺伝子研究の準備

遺伝子研究を準備するには

1. 遺伝子研究にデータをインポートする前に、[Data Analysis (データ解析)]ウィンドウで次の手順を行います。
 - 同じ内容を含むサンプルに同じ名前が付けられていることを確認します。ソフトウェアでは、遺伝子研究で同じターゲット名またはサンプル名を使用しているウェルには同じサンプルが含まれているものと見なします。
 - [Quantification (定量化)]タブでベースラインとしきい値(C_q)を調整して、各ランでのデータを最適化します。
 - 遺伝子研究に含めるウェルグループを選択します。
遺伝子研究で1つのウェルグループからのデータを表示するには、データファイルをインポートする前にそのグループを選択しておく必要があります。

[Study Setup (研究設定)]タブに、遺伝子研究でのすべてのランのリストが表示されます。

2. [Gene Study (遺伝子研究)]ダイアログボックスで、[Study Setup (研究設定)]タブを選択します。
3. [Add Data Files (データファイルの追加)]をクリックして、ブラウザウィンドウからファイルを選択します。

ヒント: 遺伝子研究に迅速にランを追加するには、データファイル(.pcrd拡張子)を[Study Setup (研究設定)]ダイアログボックスにドラッグします。

- データファイルを追加すると、CFX Maestro Dx SEにより遺伝子研究解析が自動的に行われます。解析結果を表示するには、[Study Analysis (研究解析)]タブを選択します。

遺伝子研究からランを削除するには

- ▶ リスト内の1つ以上のファイルを選択してから、[Remove (削除)]をクリックします。

遺伝子研究に関するメモを追加するには

- ▶ [Notes (メモ)]テキストボックスに、ファイルと分析に関するメモを入力します。

[Study Analysis (研究解析)]タブ

[Study Analysis (研究解析)]タブには、遺伝子研究でのすべてのランで得られたデータが表示されます。遺伝子発現データ解析オプションは、単一データファイルでの場合のオプションと同じですが、次の例外があります。

- 棒グラフの場合、[Inter-run Calibration (インターランキャリブレーション)]をクリックすると、インターランキャリブレーションの値が表示されます(計算されている場合)。

注: インターランキャリブレーターとして使用できるのは、次のサンプルタイプのみです。

- Unknown (不明)
- Standard (標準)
- Positive Control (陽性対照)

陰性対照、テンプレートコントロールなし(NTC)、逆転写酵素コントロールなし(NRT)のサンプルタイプは、インターランキャリブレーターとして使用できません。

- [Reference Gene Selection (リファレンス遺伝子選択)]ツールは、試験されたリファレンス遺伝子を識別し、それぞれの安定性に基づいて、良好、許容可能、または不安定に分類します。
 - 良好なリファレンス遺伝子は安定しており、試験されたサンプル全体での変動が最小限です。
 - 許容可能なリファレンス遺伝子の安定性は良好ではなく、試験されたサンプル全体での変動は中程度です。良好なリファレンス遺伝子がない場合は、これらのリファレンス遺伝子を解析で使用してください。
 - 不安定なリファレンス遺伝子は、試験されたサンプル全体にわたり過剰な変動が見られます。これらの遺伝子は解析から除外することをお勧めします。
- [PrimePCR Analysis Controls (PrimePCR解析コントロール)]ツールは、試験されたサンプルの結果を表形式で表示します。
 - [Summary (概要)]タブには、試験されたすべてのサンプルの概要が表示されます。すべてのコントロールアッセイに合格したサンプルは緑色で表示されます。1つ以上のコントロールアッセイで不合格だったサンプルは黄色で表示されます。

- [PCR]タブには、陰性PCRコントロールアッセイの結果が表示されます。このアッセイは、このアッセイは遺伝子発現に影響を及ぼす抑制問題または実験上の問題を検出します。
- [RT]タブには、逆転写コントロールアッセイの結果が表示されます。このアッセイは、RT性能を定性的に評価し、RT性能が遺伝子発現を損なう可能性のあるサンプルを特定します。
- [gDNA]タブには、DNA汚染コントロールアッセイの結果が表示されます。このアッセイは、サンプル内に、qPCRの結果に影響を与える可能性のあるレベルでゲノムDNA(gDNA) が存在するかどうかを判断します。
- [RQ]タブには、RNA品質アッセイ(RQ1およびRQ2)の結果が表示されます。このアッセイは、RNAの完全性が遺伝子発現に悪影響を及ぼす可能性があるかどうかを定性的に評価します。

遺伝子研究レポートのカテゴリ

[Gene Study Report (遺伝子研究レポート)]ダイアログボックスを使用して、遺伝子研究データをレポートに配置します。表36に、遺伝子研究レポートで利用できるすべてのオプションを示します。

表36. 遺伝子研究レポートのカテゴリ

カテゴリ	オプション	説明
ヘッダー		
		レポートのタイトル、サブタイトル、ロゴ
	Report Information(レポート情報)	日付、ユーザー名、データファイル名、データファイルパス、選択されているウェルグループ
	Gene Study File List (遺伝子研究ファイルリスト)	遺伝子研究のすべてのデータファイルのリスト
	Notes(メモ)	データレポートに関するメモ
研究分析: 棒グラフ		
	Analysis Settings (解析設定)	選択されている解析パラメータのリスト
	Chart (グラフ)	データを表示する遺伝子発現の棒グラフ
	Target Names (ターゲット名)	遺伝子研究のターゲットのリスト
	Sample Names (サンプル名)	遺伝子研究のサンプルのリスト
	Data (データ)	データを表示するスプレッドシート

表 36. 遺伝子研究レポートのカテゴリ、続き

カテゴリ	オプション	説明
	Target Stability(ターゲットの安定性)	ターゲットの安定性データ
	Inter-run Calibration (インターランキャリブレーション)	インターランキャリブレーションのデータ
	Box-and-Whisker Chart(箱ひげ図)	遺伝子発現の箱ひげ図
	Dot-Plot Chart (ドットプロットグラフ)	遺伝子発現のドットプロットグラフ
研究分析: クラスターグラム、および散布図		
	Analysis Settings (解析設定)	各グラフタイプの設定
	Chart (グラフ)	データを表示する遺伝子発現チャート
	Data (データ)	各ターゲットのデータをリストするスプレッドシート
研究分析: ANOVAデータ		
	ANOVA Settings (ANOVA設定)	解析で使用されるP値しきい値
	ANOVA Results (ANOVA結果)	ANOVAの結果、Tukey's HSD事後解析結果の表
	Shapiro-Wilk Normality Test(シャピロウィルク正規性検定)	生物学的グループ、カウント、P値、解析中に各ターゲットで発生したエラー
	ANOVA Errors (ANOVAエラー)	ANOVA計算中に特定されたエラー

遺伝子研究レポートの作成

遺伝子研究レポートを作成するには

1. レポートを作成する前に、必要に応じて遺伝子研究レポートのデータとグラフを調整します。
2. [Gene Study (遺伝子研究)]メニューで[Tools (ツール)] > [Reports (レポート)]を選択して[Reports (レポート)]ダイアログボックスを開きます。
3. レポートに含めるオプションを選択します。デフォルトのオプションが選択された状態でレポートが開きます。チェックボックスをオンまたはオフにすることによって、カテゴリ全体を変更するのか、カテゴリ内の個々のオプションを変更するのかを選択します。

[遺伝子研究レポートのカテゴリ\(270ページ\)](#)に、表示できるオプションがリストされます。

4. レポート内のカテゴリと項目の順序を変更します。それには、オプションを目的の位置にドラッグします。項目の順序は、その項目が属するカテゴリ内でのみ変更できます。
5. [Update Report(レポートの更新)]をクリックして[Report Preview(レポートプレビュー)]を更新し、変更を反映させます。
6. レポートを印刷または保存します。ツールバーの[Print Report(レポートの印刷)]ボタンをクリックすると、現在のレポートを印刷できます。[File (ファイル)] > [Save (保存)]を選択して、レポートを保存するファイル形式としてPDF (Adobe Acrobat Readerファイル)を選択し、ファイルを保存する場所を選択します。[File (ファイル)] > [Save As(名前を付けて保存)]を選択すると、レポートを新しい名前で保存したり、新しい場所に保存できます。
7. (オプション) 必要な情報を使用してレポートテンプレートを作成します。現在のレポート設定をテンプレートに保存するには、[Template(テンプレート)] > [Save(保存)]または[Save As(名前を付けて保存)]を選択します。次回新しいレポートを作成するときには、このレポートテンプレートをロードして使用できます。

付録A データ解析の計算

CFX Maestro Dx SEソフトウェアは数式を自動的に計算して、結果を[Data Analysis (データ解析)]タブに表示します。この付録では、CFX Maestro Dx SEによる数式の計算方法について説明します。

反応効率

各プライマーおよびプローブセットの効率の正確な測定値を使用すると、遺伝子発現データを解析するとき、より正確な結果が得られることを示唆する証拠があります。遺伝子発現計算で使用される効率のデフォルト値は100%です。反応効率を評価するには、関連するダイナミックレンジにわたる代表的なサンプルの系列希釈を使用して検量線を生成してから、その後の遺伝子発現解析のために効率を記録します。ランに検量線が含まれている場合は、[Experiment Settings (実験設定)]ウィンドウの[Targets (ターゲット)]タブで[Auto Efficiency (自動効率)]がオンになっていると、ソフトウェアが自動的に効率を計算し、[Quantification (定量化)]タブの[Standard Curve (検量線)]の下に表示します。

効率式内の効率(E)は、Pfaffl (2001)とVandesompele et al. (2002)に記載されているように、「efficiencies (効率)」を意味します。これらの文献では、2の効率(各サイクルにおいて正確に2倍)が本ソフトウェアの100%の効率と同等です。以下の数学的関係を使用すれば、効率計算をソフトウェアで使用される計算に変換することもできます。

- $E = (\% \text{ Efficiency} * 0.01) + 1$
- $\% \text{ Efficiency} = (E - 1) * 100$

相対量

サンプル(GOI)の相対量(ΔC_q)の計算式は次のとおりです。

$$\text{相対量}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}}^{(C_{q(\text{min})} - C_{q(\text{サンプル})})}$$

注: この式は、対照サンプルまたは生物学的グループが定義されていない場合に、相対量を計算するために使用されます。

説明:

- E = プライマーとプローブセットの効率。この効率は、式 $(\% \text{ Efficiency} * 0.01) + 1$ を使用して計算されます。ここで、100% efficiency = 2です。
- $C_{q(\text{min})}$ = GOIの平均 C_q が最低の平均 C_q

- C_q (サンプル) = サンプルの平均 C_q
- GOI = 対象の遺伝子(1つのターゲット)

対照選択時の相対量

対照サンプルまたは生物学的グループが割り当てられると、対象の遺伝子(GOI)を持つサンプルの相対量(RQ)が次の式で計算されます。

$$\text{相対量}_{\text{sample (GOI)}} = E_{\text{GOI}} \left(C_{q(\text{対照})} - C_{q(\text{サンプル})} \right)$$

説明:

- E = プライマーとプローブセットの効率。この効率は、式 $(\% \text{ Efficiency} * 0.01) + 1$ を使用して計算されます。ここで、100% efficiency = 2です。
- $C_{q(\text{対照})}$ = 対照サンプルの平均 C_q または生物学的グループの平均 C_q 平均
- $C_{q(\text{サンプル})}$ = GOIを含むサンプルの平均 C_q
- GOI = 対象の遺伝子(1つのターゲット)

相対量の標準偏差

重要: この計算は、[Analyze Using (解析に使用)]が[Samples Only (サンプルのみ)]、[Sample Biological Group (サンプル生物学的グループ)]、または[Biological Group Sample (生物学的グループサンプル)]に設定されている場合にのみ適用されます。

相対量の標準偏差の計算式は次のとおりです。

$$\text{SD}_{\text{相対量}} = \text{SD}_{C_{q\text{GOI}} \text{ サンプル}} \times \text{相対量}_{\text{sample (GOI)}} \times \text{Ln} (E_{\text{GOI}})$$

説明:

- $\text{SD}_{\text{相対量}}$ = 相対量の標準偏差
- $\text{SD}_{C_{q\text{GOI}} \text{ サンプル}}$ = サンプル(GOI)の C_q の標準偏差
- 相対量 = サンプルの相対量
- E = プライマーとプローブセットの効率。この効率は、式 $(\% \text{ Efficiency} * 0.01) + 1$ を使用して計算されます。ここで、100% efficiency = 2です。
- GOI = 対象の遺伝子(1つのターゲット)

効率補正 C_q (C_{qE})

効率補正 C_q の計算式は次のとおりです。

$$C_{qE} = C_q \times (\log(E)/\log(2))$$

説明:

- E = 効率

平均効率補正 C_q (MC_{qE})

平均効率補正 C_q の計算式は次のとおりです。

$$MC_{qE} = \frac{C_{qE (Rep 1)} + C_{qE (Rep 2)} + \dots + C_{qE (Rep n)}}{n}$$

説明:

- C_{qE} = 効率補正 C_q
- n = レプリケートの数

正規化発現

正規化発現($\Delta\Delta C_q$)は、生物学的システムのリファレンスターゲット(遺伝子または配列)の量に対して正規化されたターゲット(遺伝子)の相対量です。リファレンスターゲットを選択するには、[Experiment Settings (実験設定)]ウィンドウを開き、リファレンス遺伝子として機能する各ターゲットのリファレンス列をクリックします。

計算された相対量(RQ)の計算を使用する正規化発現の計算式は次のとおりです。

$$\text{正規化 Expression}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{RQ}_{\text{sample (GOI)}}}{(\text{RQ}_{\text{sample (Ref 1)}} \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref 2)}} \times \dots \times \text{RQ}_{\text{sample (Ref n)}})^{\frac{1}{n}}}$$

説明:

- RQ = サンプルの相対量
- Ref = 各サンプルに1つ以上のリファレンスターゲットを含むランのリファレンスターゲット
- GOI = 対象の遺伝子(1つのターゲット)

リファレンスターゲットによって生物学的システム内の発現レベルを変更されない場合、正規化発現の計算では、各サンプルで表される細胞数のロードの差異またはばらつきが考慮されます。

生物学的グループの発現と相対量

[Analyze Using (解析に使用)]が[Biological Groups Only (生物学的グループのみ)]に設定されている場合は、生物学的グループ内のサンプルの平均発現(モード選択に応じて、正規化された発現または相対量)が表示されます。発現は、通常、対数正規型に分布するため、幾何平均を使用して平均化されます。

$$\text{Expression biological group} = \sqrt[n]{\text{Exp}_1 \cdot \text{Exp}_2 \cdot \dots \cdot \text{Exp}_n}$$

説明:

- Exp_1 、 Exp_2 、 Exp_n = 生物学的グループ内のサンプルの相対量または正規化された発現
- n = 生物学的グループ内のサンプルの数

対照選択時の正規化発現

[Experiment Settings (実験設定)]ウィンドウで対照サンプルを選択すると、対照サンプルの発現レベルが1に設定されます。この状況で、ソフトウェアは、すべてのターゲット(遺伝子)発現の相対量を対照量(1の値)に正規化します。この正規化発現は、対照が選択された場合の非基準化正規化発現解析と同等です。

注: これは、相対正規化発現(RNE)と倍率変化としても知られています。

正規化発現の標準偏差

正規化発現値の再スケーリングは、正規化発現の標準偏差を、個々の発現レベルが最高または最低(選択されたスケーリングオプションに応じて)の正規化発現値で割ることによって行われます。正規化係数の標準偏差(SD)の計算式は次のとおりです。

$$SD\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SD\ RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SD\ RQ_{\text{sample (Ref n)}}}{n \times RQ_{\text{sample (Ref n)}}}\right)^2}$$

説明:

- RQ = サンプルの相対量
- SD = 標準偏差
- NF = 正規化係数
- Ref = リファレンスターゲット
- n = リファレンスターゲットの数

対照サンプルが割り当てられている場合は、次の式に示すように、標準偏差に対してこの再スケーリング機能を実行する必要はありません。

$$SD\ NE_{\text{sample (GOI)}} = NE_{\text{sample (GOI)}} \times \sqrt{\left(\frac{SD\ NF_{\text{sample}}}{NF_{\text{sample}}}\right)^2 + \left(\frac{SD\ RQ_{\text{sample (GOI)}}}{RQ_{\text{sample (GOI)}}}\right)^2}$$

説明:

- NE = 正規化発現
- RQ = サンプルの相対量
- SD = 標準偏差
- GOI = 対象の遺伝子(1つのターゲット)

最高発現レベルにスケールされた正規化発現

ランに対照が含まれていない場合は、各サンプルの発現レベルをすべてのサンプルの最高発現レベルで割ることにより、各ターゲット(遺伝子)の正規化発現(NE)をスケールします。ソフトウェアは、最高発現レベルを1の値に設定し、すべてのサンプル発現レベルを再スケールします。最高スケールの計算式は次のとおりです。

$$\text{スケールされた正規化 Expression}_{\text{sample}}(\text{GOI}) = \frac{\text{正規化 Expression}_{\text{sample}}(\text{GOI})}{\text{正規化 Expression}_{\text{最高 sample}}(\text{GOI})}$$

説明:

- GOI = 対象の遺伝子(ターゲット)

最低発現レベルにスケールされた正規化発現

ランに対照が含まれていない場合は、各サンプルの発現レベルをすべてのサンプルの最低発現レベルで割ることにより、各ターゲット(遺伝子)の正規化発現(NE)をスケールします。ソフトウェアは、最低発現レベルを1の値に設定し、すべてのサンプル発現レベルを再スケールします。最低スケールの計算式は次のとおりです。

$$\text{スケールされた正規化 Expression}_{\text{sample}}(\text{GOI}) = \frac{\text{正規化 Expression}_{\text{sample}}(\text{GOI})}{\text{正規化 Expression}_{\text{最低 sample}}(\text{GOI})}$$

説明:

- GOI = 対象の遺伝子(ターゲット)

平均発現レベルにスケールされた正規化発現

ランに対照が含まれていない場合は、各サンプルの発現レベルをすべてのサンプルの発現レベルの幾何平均で割ることにより、各ターゲット(遺伝子)の正規化発現(NE)をスケールします。ソフトウェアは、発現の平均レベルを1の値に設定し、すべてのサンプル発現レベルを再スケールします。平均スケールの計算式は次のとおりです。

$$\text{スケールされた正規化 Expression}_{\text{sample}}(\text{GOI}) = \frac{\text{正規化 Expression}_{\text{sample}}(\text{GOI})}{\text{正規化 Expression}_{\text{GM}}(\text{GOI})}$$

説明:

- GOI = 対象の遺伝子(ターゲット)
- GM = すべてのサンプルの正規化発現の幾何平均

スケーリングされた正規化発現の標準偏差

スケーリングされた正規化発現(NE)値の再スケーリングは、正規化発現の標準偏差(SD)を、発現レベルが最高(MAX)または最低(MIN) (選択されたスケーリングオプションに応じて)の正規化発現値で割ることによって行われます。

注: 対照サンプルが割り当てられている場合は、標準偏差に対してこの再スケーリング機能を実行する必要はありません。

この式の計算は次のとおりです。

$$\text{SD スケーリングされた NE}_{\text{sample (GOI)}} = \frac{\text{SD NE}_{\text{sample (GOI)}}}{\text{NE}_{\text{MAX または MIN (GOI)}}$$

説明:

- NE = 正規化発現
- SD = 標準偏差
- GOI = 対象の遺伝子(ターゲット)
- MAX = 最高発現レベル
- MIN = 最低発現レベル

標準偏差 (lg) と平均標準誤差 (lg) のエラーバー

信頼区間の使用に加えて、発現の \log_2 の標準偏差または平均標準誤差に基づいて、生物学的グループのエラーバーを表示することができます。エラーバーは次のように計算されます。

$$\text{RQ下部エラーバー} = 2^{\text{RQ(lg)} - \text{SD RQ(lg)}} \text{または} 2^{\text{RQ(lg)} - \text{SEM RQ(lg)}}$$

$$\text{RQ上部エラーバー} = 2^{\text{RQ(lg)} + \text{SD RQ(lg)}} \text{または} 2^{\text{RQ(lg)} + \text{SEM RQ(lg)}}$$

説明:

- RQ(lg) = 生物学的グループの相対量の \log_2
- SD RQ(lg) = 相対量の標準偏差 (\log_2)
- SEM RQ(lg) = 相対量の平均標準誤差 (\log_2)

$$\text{Exp.下部エラーバー} = 2^{\text{Exp.(lg)} - \text{SD Exp.(lg)}} \text{または} 2^{\text{Exp.(lg)} - \text{SEM Exp.(lg)}}$$

$$\text{Exp.上部エラーバー} = 2^{\text{Exp.(lg)} + \text{SD Exp.(lg)}} \text{または} 2^{\text{Exp.(lg)} + \text{SEM Exp.(lg)}}$$

説明:

- Exp.(lg) = 生物学的グループの発現 (正規化発現) の \log_2
- SD RQ(lg) = 発現の標準偏差 (\log_2)
- SEM RQ(lg) = 発現の平均標準誤差 (\log_2)

倍率変化

倍率変化は、実験サンプルと対照サンプルまたは生物学的グループのターゲットの発現の増加または減少の尺度であり、次のように決定されます。

発現(実験) > 発現(対照)の場合:

$$\text{倍率変化} = \frac{\text{Expression (実験)}}{\text{Expression (対照)}}$$

発現(実験) < 発現(対照)の場合:

$$\text{倍率変化} = -1 / \left(\frac{\text{Expression (実験)}}{\text{Expression (対照)}} \right)$$

注: グラフの場合は、発現が、選択されたモードに応じて、相対量または正規化発現に基づきます([グラフ \(248ページ\)](#)を参照)。ただし、散布図およびクラスターグラムの場合は、常に正規化表現から計算されます。

補正值の計算式

重要: これらの計算は、[Analyze Using (解析に使用)]が[Samples Only (サンプルのみ)]、[Sample Biological Group (サンプル生物学的グループ)]、または[Biological Group Sample (生物学的グループ サンプル)]に設定されている場合にのみ適用されます。

補正值と非補正值の違いは、リアルタイムPCRランの一部として検量線が作成された場合にのみ見られます。ソフトウェアは、3つの方程式を使用して誤差伝播を決定します。

- 標準誤差
- 正規化発現の標準誤差
- 対象の正規化遺伝子(ターゲット)の標準誤差

標準誤差の計算式は次のとおりです。

$$\text{標準誤差} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

説明:

- n = リファレンスターゲット(遺伝子)の数
- SD = 標準偏差

正規化表現式の正規化係数の標準誤差は次のとおりです。

$$SE\ NF_n = NF_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{sample (Ref 1)}}}\right)^2 + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{sample (Ref 2)}}}\right)^2 + \dots + \left(\frac{SE\ RQ_{\text{sample (Ref n)}}}{n \times SE\ RQ_{\text{sample (Ref n)}}}\right)^2}$$

説明:

- n = リファレンスターゲットの数
- SE = 標準誤差
- NF = 正規化係数
- RQ = 相対量

対象の正規化遺伝子(GOI)式の標準誤差は次のとおりです。

$$SE\ GOI_n = GOI_n \times \sqrt{\left(\frac{SE\ NF_n}{NF_n}\right)^2 + \left(\frac{SE\ GOI}{GOI}\right)^2}$$

説明:

- SE = 標準誤差
- GOI = 対象の遺伝子(1つのターゲット)

- NF = 正規化係数
- n = リファレンスターゲットの数

生物学的グループ解析用の信頼区間の計算

生物学的グループ解析を実施する([Analyze Using (解析に使用)]が[Biological Groups Only (生物学的グループのみ)])に設定されている場合は、信頼区間が相対量と相対正規化発現に対して計算されます。

信頼区間は、次の式を使用して、t分布に基づく対数スケールで計算されます。

$$CI = \bar{X} \pm t \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

説明:

- \bar{X} = 生物学的グループ内のサンプルの対数スケール発現レベルの平均発現
- SD = 生物学的グループ内のサンプルの対数スケール発現レベルの標準偏差
- n = 生物学的グループ内のサンプルの数
- t = 自由度と α レベルに基づくt分布から取得

注: α レベルは、[Graphing (グラフ)]タブの[P-value threshold (P値しきい値)]フィールドを使用して設定できます。

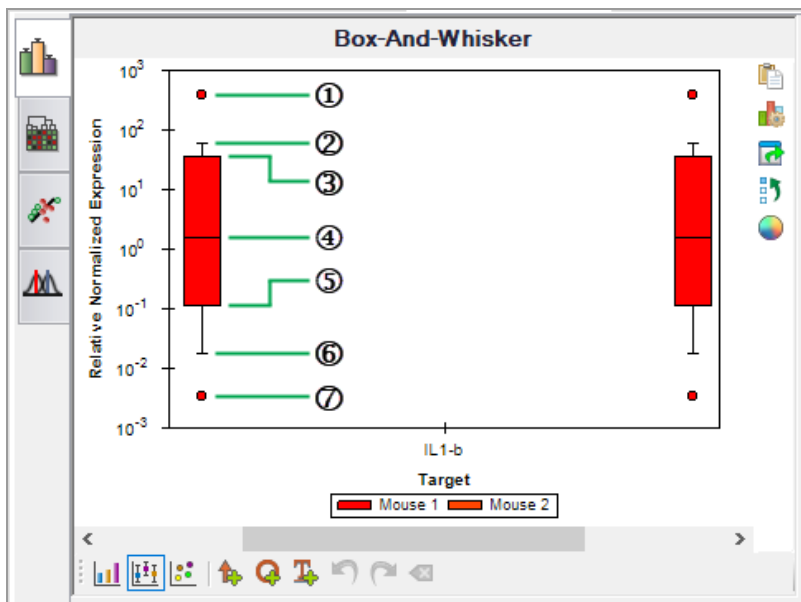
信頼区間の計算後は、それらが線形目盛りに変換され、遺伝子発現データ表と[Graphing (グラフ)]タブの棒グラフに表示されます。

箱ひげ図の計算

箱ひげ図は、データを四分位数としてプロットすることにより、生物学的グループ内の発現値の分布を表します。第1および第3四分位数は、それぞれ、箱の下限と上限によって表されます。中央値は、箱全体の実線として表されます。ひげは、データセット内のはずれ値以外の最小値と最大値を表します。はずれ値とは、四分位範囲の1.5倍を超えて、第1四分位数より小さいか、第3四分位数より大きい値のことです。

注: 生物学的グループ内にサンプルが1つしかない場合は、単一のデータポイントを示す単一の円として表示されます。

次の箱ひげ図は、これらのデータがどのように表示されるかを示しています。



凡例

1. はずれ値。このはずれ値は $Q3 + (1.5 \times [Q3 - Q1])$ より大きくなります。
注: 円の上にカーソルを置くと、選択されたモードに応じて、サンプル名と相対量または正規化発現情報を示すツールチップが表示されます。

2. はずれ値ではない値の最大境界

3. 上部/第3四分位数(Q3)。発現値の75%がQ3未満です。

4. ランク付けされた発現値の中央値

5. 下部/第1四分位数(Q1)。発現値の25%がQ1未満です。

6. はずれ値ではない値の最小境界

7. はずれ値。このはずれ値は $Q1 - (1.5 \times [Q3 - Q1])$ より小さくなります。

付録Aデータ解析の計算

付録B 監査証跡

CFX Maestro Dx SEソフトウェアでは、データファイル(.prcdファイル)とGene Studyファイル(.mgxdファイル)の監査証跡が作成されます。セキュアデータファイルとGene Studyファイルに対して行われた変更または実行されたアクションは、ファイルの保存時に監査証跡に記録されます。CFX Maestro Dx SEではファイルごとに個別の監査証跡が作成されます。

[File (ファイル)] > [Save As (名前を付けて保存)]を選択して、署名付きまたは署名なしのセキュアデータファイルと遺伝子究ファイルを別のフォルダに保存するか、または別の名前でも保存できます。新しいファイルは、元のファイルから監査証跡を継承します。新しいファイルの監査証跡には、[Save As (名前を付けて保存)]アクティビティも含まれます。新しいファイルに対して行われた変更または実行されたアクションは、そのファイル自体の監査証跡に記録されます。元のファイルの監査証跡が保持され、以降のアクティビティが記録されます。

[監査可能なイベント\(289ページ\)](#)には、ソフトウェアが記録できる監査可能なイベントがリストされています。

監査証跡の表示

監査証跡の表示

各監査証跡には次の情報が表示されます。

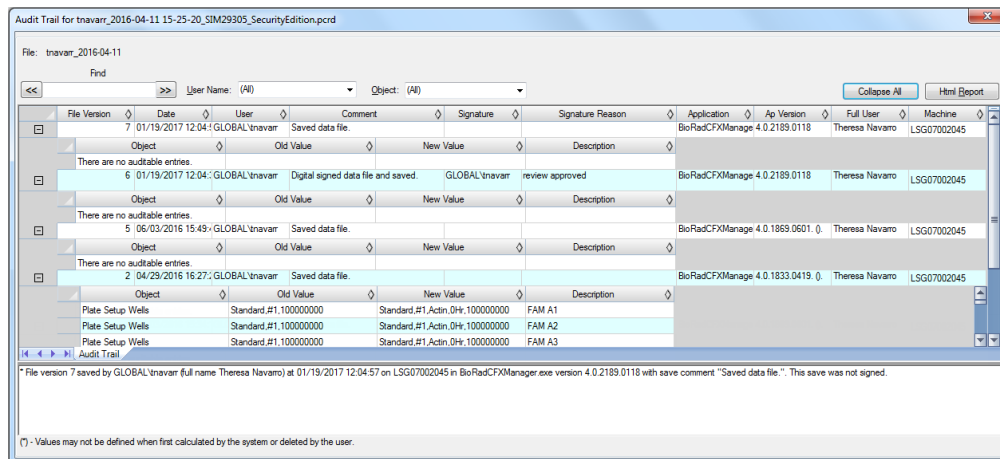
- 監査ヘッダーの詳細
 - File version (ファイルのバージョン) — ファイルの保存バージョン
 - Date (日付) — 現在の監査可能なイベントの日付
 - User (ユーザー) — ログインユーザーのWindowsドメインとユーザー名
 - Comment (コメント) — 最後に保存されたコメント
 - Signature (署名) — ファイルに最後に署名したユーザーの電子署名
 - Signature reason (署名の理由) — 署名の理由
 - Application (アプリケーション) — CFX Maestro Dx SE
 - Application version (アプリケーションのバージョン) — CFX Maestro Dx SEの現行バージョン。
 - Full user (フルユーザー) — ログインしたユーザーの氏名
 - Machine (マシン) — CFX Maestro Dx SEがインストールされているコンピューター

■ 監査変更の詳細

- Object (オブジェクト) — 変更されたアイテム(監査済みアイテム)
- Old value (古い値) — 以前の値
- New value (新しい値) — 新しい値
- Description (説明) — 変更の説明

監査証跡を表示するには

- ▶ 開いているデータファイルまたは遺伝子研究ファイルで、[View (表示)] > [Audit Trail (監査証跡)]を選択します。ファイルの監査証跡が表示されます。



デフォルトでは、データは日付と時刻で並べ替えられ、展開されたビューにすべてのイベントが表示されます。ユーザー名とオブジェクトを使用してビューを絞り込み、展開されたビューを折りたたむことで、任意のヘッダーフィールドに基づいて簡単に並べ替えることができます。監査証跡をHTMLレポートとして表示することもできます。

ユーザー名で並べ替えるには

- ▶ [User Name (ユーザー名)]ド ロップダウンリストからターゲットユーザーを選択します。

オブジェクトで並べ替えるには

- ▶ [Object (オブジェクト)]ド ロップダウンリストからターゲットを選択します。

イベントの詳細な説明を非表示にするには

- ▶ [Collapse All (すべて折りたたむ)]をクリックします。

変更詳細テーブルのデータを並べ替えるには

- ▶ データカラムヘッダーのひし形の記号をクリックして、昇順の並べ替えを実行します (AからZ、最小の数値から最大の数値、または最も古いものから最も新しいもの)。

監査証跡を印刷するには

1. [HTML Report (HTMLレポート)]をクリックして、Webブラウザに監査証跡を表示します。
2. ブラウザウィンドウで、次のいずれかを実行します。
 - [File (ファイル)] > [Print (印刷)]を選択します。
 - レポートを右クリックして、[Print (印刷)]を選択します。

監査可能なイベント

CFX Maestro Dx SEIは、以下の監査可能なイベントをデータファイルおよびGene Studyファイルに記録します。

ランの実行中に監査可能なイベント

- Run Start Time (ラン開始時刻)
- Run Time Plate edits (ランタイムプレートの編集)
- Run Time Protocol edits (ランタイムプロトコルの編集)
- Run End Time (ラン終了時刻)

データファイル作成時に監査可能なイベント

- Data file created (データファイルの作成)
- Interpolated Plate Reads added by the system (システムによって追加された補間プレート読み取り)

データファイル保存時に監査可能なイベント

- 一般
 - Name (名前付け)
 - Signing (署名)
 - Plate Setup (プレートのセットアップ)
 - Display Wells (ウェルの表示)
 - Analyzed fluorophores (解析された蛍光色素)
 - Plate edits (プレート編集)

- Analysis Mode (解析モード)
- PCR Active Well Group (PCRアクティブウェルグループ)
- [Quantification (定量化)]タブ
 - Active Step (アクティブステップ)
 - Settings (設定) — C_q Determination Mode (C_q決定モード)
 - Settings (設定) — Baseline Setting (ベースライン設定)
 - Drift correction applied (ドリフト補正の適用)
 - Settings (設定) — Cycles to Analyze (解析するサイクル数)
 - Settings (設定) — Analysis Mode (解析モード)
 - Settings (設定) — Baseline Threshold (ベースラインしきい値)
- [Melt Curve (融解曲線)]タブ
 - Active Step (アクティブステップ)
 - Peak type displayed (表示されるピークタイプ)
 - Peak analysis threshold (ピーク解析しきい値)
- [End Point (エンドポイント)]タブ
 - Active fluorophore/target (アクティブな蛍光色素/ターゲット)
 - End cycles to average (平均化するエンドサイクル数)
 - Tolerance calculation method (公差計算法)
 - Percentage of range (範囲率)
- [Allelic Discrimination (対立遺伝子識別)]タブ
 - X- and Y-axis fluorophore (X軸およびY軸の蛍光要素)
 - Select cycle number (サイクル番号の選択)
 - View call map (コールマップを表示)
- [Gene Expression (遺伝子発現)]タブ — All plots (すべてのプロット)
 - Experiment Settings (実験設定) — Target reference (ターゲットリファレンス)
 - Experiment Settings (実験設定) — Sample control (サンプルコントロール)
 - Experiment Settings (実験設定) — Auto Efficiency (自動効率)

- Experiment Settings (実験設定) — Efficiency (効率)
- [Gene Expression (遺伝子発現)]タブ — Graphing (グラフ)
 - Analysis Mode (解析モード)
 - Graph data (グラフデータ)
 - X-axis (X軸)
 - Y-axis (Y軸)
 - Scaling option (スケーリングオプション)
 - Error bar (エラーバー)
 - Error bar multiplier (エラーバー乗数)
 - P-Value Threshold(P値しきい値)
- [Gene Expression (遺伝子発現)]タブ — Clustergram (クラスターグラム)
 - Cluster By (クラスター方法)
 - Split out replicates (レプリケート分割)
- [Gene Expression (遺伝子発現)]タブ — Scatter Plot (散布図)
 - Control biological group (対照生物学的グループ)
 - Experimental biological group (実験生物学グループ)
 - Fold change threshold (倍率変化しきい値)
- [Gene Expression (遺伝子発現)]タブ — ANOVA
 - P-Value Threshold(P値しきい値)
- Plate Setup (プレートのセットアップ) — View/Edit Plate (プレートの表示/編集)
 - Settings (設定) — PlateType (プレートタイプ)
 - Settings (設定) — Units (単位)
 - Editing Tools (編集ツール) — Flip Plate (プレートの反転)
 - Well Group (ウェルグループ)
 - Plate fluorophores (プレートの蛍光色素)
- Plate Setup (プレートのセットアップ) — Replace Plate (プレートの置換) および Apply PrimePCR File (PrimePCRファイルの適用)
 - Plate Setup Import (プレートセットアップのインポート)

Gene Studyファイルの変更の監査

一般

- Name (名前)
- [Study Setup(研究設定)]タブ
 - Add/Remove data files (データファイルの追加/削除)
- [Study Analysis(研究解析)]タブ

付録CLIMS統合

CFX Maestro Dx SEソフトウェアは、実験室情報管理システム(LIMS)で使用するよう構成できます。LIMSの統合には、CFX Maestro Dx SEで、LIMSプラットフォームによって生成されたプレート設定情報(LIMSファイル、*.plrn)、CFX Maestro Dx SEを使用して作成されたプロトコルファイル(*.prcl)が必要となります。また、データのエクスポート先とエクスポート形式も定義する必要があります。

ランが完了すると、CFX Maestro Dx SEはデータ(.pcrd)ファイルを生成して、定義されたデータエクスポートフォルダに保存します。CFX Maestro Dx SEでは.csv形式のLIMS互換データファイルを作成して、同じ場所に保存することもできます。

LIMS互換データファイルの作成

この付録では、LIMS互換データファイルを作成、保存、エクスポートするようにCFX Maestro Dx SEを設定する方法を説明します。

LIMSフォルダとデータエクスポートオプションの設定

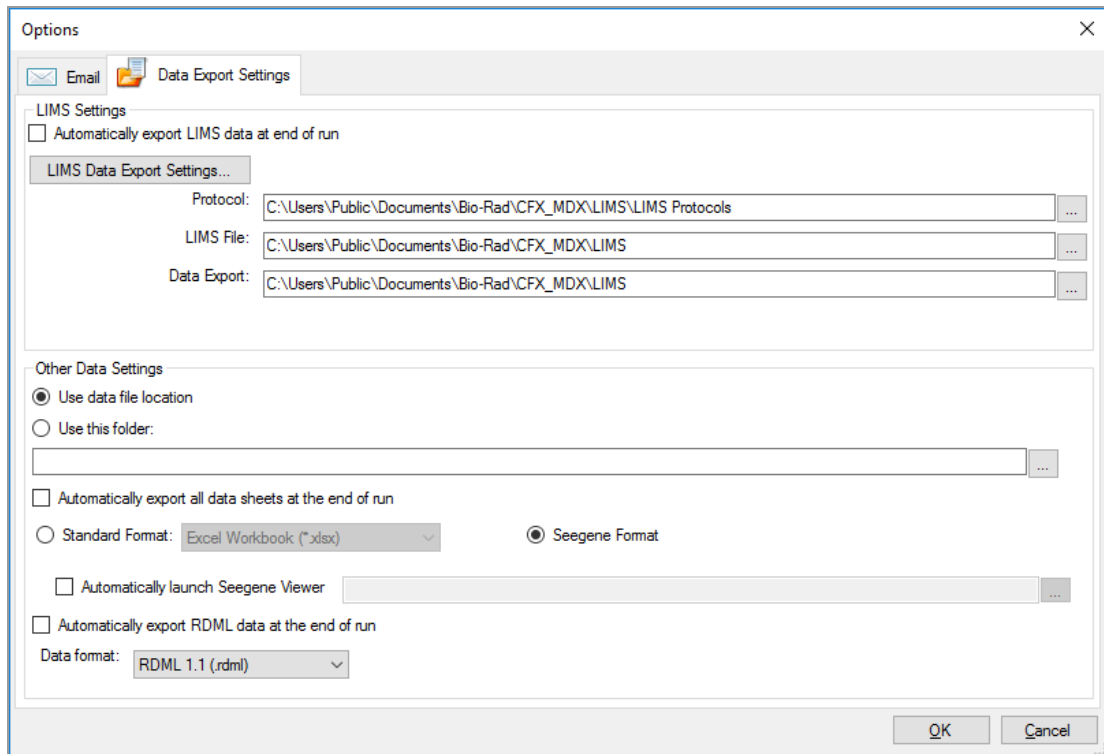
デフォルトでは、CFX Maestro Dx SEはLIMSプロトコル、ファイル、およびデータのエクスポートファイルを次のフォルダに保存します。

C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_Dx\LIMS

ファイルを別のフォルダに保存するようにCFX Maestro Dx SEを構成して、LIMSデータのエクスポートオプションを変更することもできます。

LIMSフォルダとデータエクスポートオプションを設定するには

1. ホームウィンドウで、[Tools (ツール)] > [Options (オプション)]を選択します。
2. [Options (オプション)]ダイアログボックスで、[Data Export Settings (データエクスポート設定)]を選択します。



3. (オプション) [Automatically export LIMS data at end of run (ラン後にLIMSデータを自動的にエクスポート)]を選択します。

これにより、ソフトウェアはランが完了するたびにLIMSデータを自動的にエクスポートして指定された場所に保存します。

4. LIMSデータのデフォルトのエクスポートオプションを変更するには、[LIMS Data Export Settings (LIMSデータエクスポート設定)]をクリックします。

重要: CFX Maestro Dx SEに再インポートできるのは、.csvファイルとしてエクスポートされたLIMSデータのみです。

5. [LIMS Data Export Format Settings (LIMSデータエクスポート形式の設定)]ダイアログボックスで、必要なエクスポートオプションを選択し、[OK]をクリックします。
6. [Options (オプション)]ダイアログボックスで、デフォルトでLIMSデータファイルを保存するフォルダに移動して選択します。ファイルタイプごとに異なる場所を選択できます。

- Protocol (プロトコル)
- LIMS File (LIMSファイル)
- Data Export (データエクスポート)

7. [OK]をクリックして変更を保存し、[Options (オプション)]ダイアログボックスを閉じます。

LIMSプロトコルの作成

LIMSランを開始するには、CFX Maestro Dx SEプロトコルファイル(*.prcl)を作成し、指定されたLIMSプロトコルフォルダに保存します。

詳細については、[第7章、プロトコルの作成](#)を参照してください。

LIMSファイルの作成

LIMSファイル(*.plrn)には、プレートの設定詳細とプロトコルファイル名が含まれています。このファイルは、組織内部LIMSによって生成されます。CFX Maestro Dx SEではLIMSファイルを使用して、プロトコルファイルで使用するプレートファイルを作成します。

CFX Maestro Dx SEには、プレートインポートテンプレートファイルが用意されており、これを編集してカスタムLIMSプレートファイルを作成できます。

ヒント: このタスクは、LIMS専門家が実施する必要があります。

LIMSファイルを作成するには

1. ホームウィンドウで、[View (表示)] > [Show (表示)] > [LIMS File Folder (LIMSファイルフォルダ)]を選択します。
2. [LIMS Templates (LIMSテンプレート)]フォルダを開き、内部LIMSにインポートする.csvファイルを選択します。
3. [表37](#)記載されている必須フィールドに値を入力して、テンプレートファイルを編集します。
4. 次のいずれかを実行します。
 - 後で使用するために変更を保存するには、ファイルを.csvファイルとして保存します。
 - 変更を保存してすぐにファイルを使用するには、拡張子.plrnを付けてファイルを保存します。
 - ファイル名に拡張子.plrnが付いたテンプレートを[LIMS File (LIMSファイル)]フォルダに保存します。

重要: CFX Maestro Dx SEでは.plrnファイルのみを開くことができます。LIMSランを開始するには、.csvファイルを.plrnとして保存する必要があります。

表 37. LIMS.csvファイルの内容の定義

カラム	行	説明	Content (内容)	目的
A	1	Plate Header (プレートヘッダー)	編集不可	事前定義済み
A、B、C	2	Field/Data/Instruction (フィールド/データ/指示)	編集不可	事前定義済み
B	3	Version (バージョン)	編集不可	事前定義済み
B	4	Plate Size (プレートサイズ)	編集不可	事前定義済み
B	5	Plate Type (プレートタイプ)	「BR White (BRホワイト)」、「BR Clear (BRクリア)」、またはその他のキャリブレーション済みプレートタイプを入力します。	必須
B	6	Scan Mode (スキャンモード)	「SYBR/FAM Only: (SYBR/FAMのみ:)」、「All Channels (全チャンネル)」、または「FRET」と入力します。	必須

表 37. LIMS.csvファイルの内容の定義、続き

カラム	行	説明	Content (内容)	目的
B	7	Units (単位)	「copy number (コピー数)」、「fold dilution (倍数希釈)」、「micromoles (マイクロモル)」、「nanomoles (ナノモル)」、「picomoles (ピコモル)」、「femtomoles (フェムトモル)」、「attomoles (アトモル)」、「milligrams (ミリグラム)」、「micrograms (マイクログラム)」、「nanograms (ナノグラム)」、「picograms (ピコグラム)」、「femtograms (フェムトグラム)」、「attograms (アトグラム)」、または「percent (パーセント)」のいずれかを入力します。	必須
B	8	Run ID (ランID)	このランを識別する簡単な説明またはバーコードを入力します(最大30文字。カンマは使用できません)。	任意
B	9	Run Notes (ランに関するメモ)	ランに関する説明を入力します。	任意
B	10	Run Protocol (ランプロトコル)	プロトコルファイル名をリストされているとおりに入力します。	必須
A	11	データファイル	データファイル名を入力します。	任意
A	12~15	TBD/Empty (未定/空)	編集不可	事前定義済み

表37. LIMS.csvファイルの内容の定義、続き

カラム	行	説明	Content (内容)	目的
A	16	Plate Data (プレートデータ)	編集不可	事前定義済み
A	17~113	Well Position (ウェルの位置)	編集不可	事前定義済み
B~G		Ch1 Dye (Ch1色素)、 Ch2 Dye (Ch2色素)、 Ch3 Dye (Ch3色素)、 Ch4 Dye (Ch4色素)、 Ch5 Dye (Ch5色素)、 FRET	使用するチャンネルごとに1つのキャリブレーション済み色素の名前(「FAM」など)を入力します。	必須
H		Sample Type (サンプルタイプ)	次のサンプルタイプとして「Unknown (不明)」、「Standard (標準)」、「Positive Control (陽性対照)」、「Negative Control (陰性対照)」、「NTC」、または「NRT」と入力します。	必須
I		Sample Name (サンプル名)	サンプル名を入力します。	任意

表 37. LIMS.csvファイルの内容の定義、続き

カラム	行	説明	Content (内容)	目的
J~O		CH1 Target (CH1ターゲット)、CH2 Target (CH2ターゲット)、CH3 Target (CH3ターゲット)、CH4 Target (CH4ターゲット)、CH5 Target (CH5ターゲット)、FRET Target (FRETターゲット)	使用するチャンネルごとにターゲット名を入力します。	任意
P		Collection Name (コレクション名)	生物学的セット名を入力します。	任意
Q		Replicate (レプリケート)	レプリケートのセットごとに正の整数を入力します。値をゼロにすることはできません。	任意
R~W		CH1 Quantity (CH1数量)、CH2 Quantity (CH2数量)、CH3 Quantity (CH3数量)、CH4 Quantity (CH4数量)、CH5 Quantity (CH5数量)、FRET Quantity (FRET数量)	標準の数量値を入力します。濃度を10進数で入力します。	すべての標準に必須

表37. LIMS.csvファイルの内容の定義、続き

カラム	行	説明	Content (内容)	目的
X		Well Note (ウェルに関するメモ)	ウェルに関するメモを入力します (最大20文字)。 注: CFX Maestro Dx SEではソフトウェアで[Well Note (ウェルに関するメモ)]を入力するときの字数を20文字に制限していますが、インポートされた.plrnファイルにそれよりも多い文字が含まれている場合は、[Well Note (ウェルに関するメモ)]に最大500文字を入力できます。ただし、CFX Maestro Dx SEでは最初の20文字のみが表示されます。エクスポートされる.pcrdファイルには、[Well Note (ウェルに関するメモ)]フィールドのすべての文字が含まれ、データが失われることはありません。	任意
Y~AD		Ch1 Well Color (Ch1ウェルカラー)、Ch2 Well Color (Ch2ウェルカラー)、Ch3 Well Color (Ch3ウェルカラー)、Ch4 Well Color (Ch4ウェルカラー)、Ch5 Well Color (Ch5ウェルカラー)、FRET Well Color (FRETウェルカラー)	ユーザー定義のトレーススタイルの色を32ビットの10進数整数(argb)で入力します。	任意

LIMSランの開始

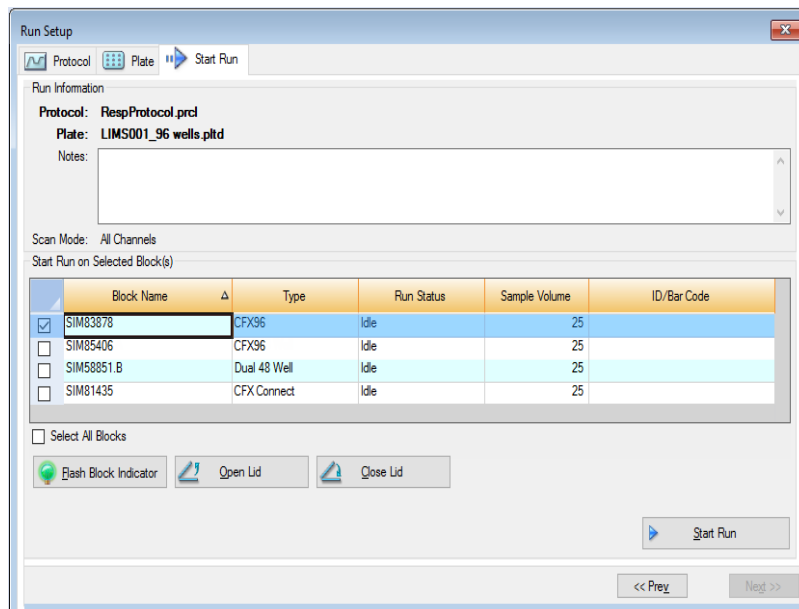
LIMSランを開始するには

- 次のいずれかの操作を行って、LIMS .plrnファイルを開きます。
 - ホームウィンドウで、[View (表示)] > [Show (表示)] > [LIMS File Folder (LIMSファイルフォルダ)]を選択し、ターゲット.plrnファイルを開きます。

- ホームウィンドウで、[File (ファイル)] > [Open (開く)] > [LIMS File (LIMSファイル)]を選択し、ターゲットの.plmファイルを開きます。

[Run Setup (ランの設定)]ウィザードの[Start Run (ランの開始)]タブにファイルが開きます。[Start Run (ランの開始)]タブには、ランを行う実験に関する情報が表示されます。また、実験のランに使用できる、1つ以上の接続機器のブロックも表示されます。

2. [Start Run (ランの開始)]タブで、機器を選択してから[Start Run (ランの開始)]をクリックします。



LIMSへのデータのエキスポート

ランが完了すると、CFX Maestro Dx SEはデータ(.pcrd)ファイルを生じて、定義されたデータエキスポートフォルダに保存します。

データファイルをLIMSにエキスポートするには

- ▶ .pcrdファイルを開き、[Export (エキスポート)] > [Export to LIMS Folder (LIMSフォルダにエキスポート)]を選択します。

ヒント: LIMSオプションで[Automatically Export Data after Run in LIMS (ラン後にデータを自動的にエキスポート)]オプションを選択すると、CFX Maestro Dx SEは.csv形式のLIMS互換データファイルを作成して、同じフォルダに保存します。

付録CLIMS統合

付録D CFX Maestro Dx SEソフトウェアのトラブルシューティング

この付録では、CFX Maestro Dx SEソフトウェアのアップグレードまたは実行時に発生する可能性のある問題のトラブルシューティングの推奨事項を示します。

CFX Maestro Dx SEソフトウェアファイルとフォルダのホワイトリスト登録

ウイルスやマルウェアから保護するために、IT部門が非常に厳格なソフトウェアセキュリティ対策を実施していることがあります。このような対策が、CFX Maestro Dx SEのアップグレードまたは実行に影響を及ぼす可能性があります。

CFX Maestro Dx SEのパフォーマンスを向上させるため、Bio-Radでは、CFX Maestro Dx SEコンピューターにインストールされているウイルス対策ソフトウェアのファイアウォール設定で、IT部門が次のファイルとフォルダをホワイトリストに登録することをお勧めします。

フォルダ

- C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX_MDx
- C:\ProgramData\Bio-Rad\CFX_MDx
- C:\Users\Public\Documents\Bio-Rad\CFX_MDx

ファイル

- C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX_MDxフォルダにあるすべての.exeファイル
- R.exeおよびRscript.exe (C:\Program Files (x86)\Bio-Rad\CFX_MDx\R\R-3.3.1\binフォルダにあります)

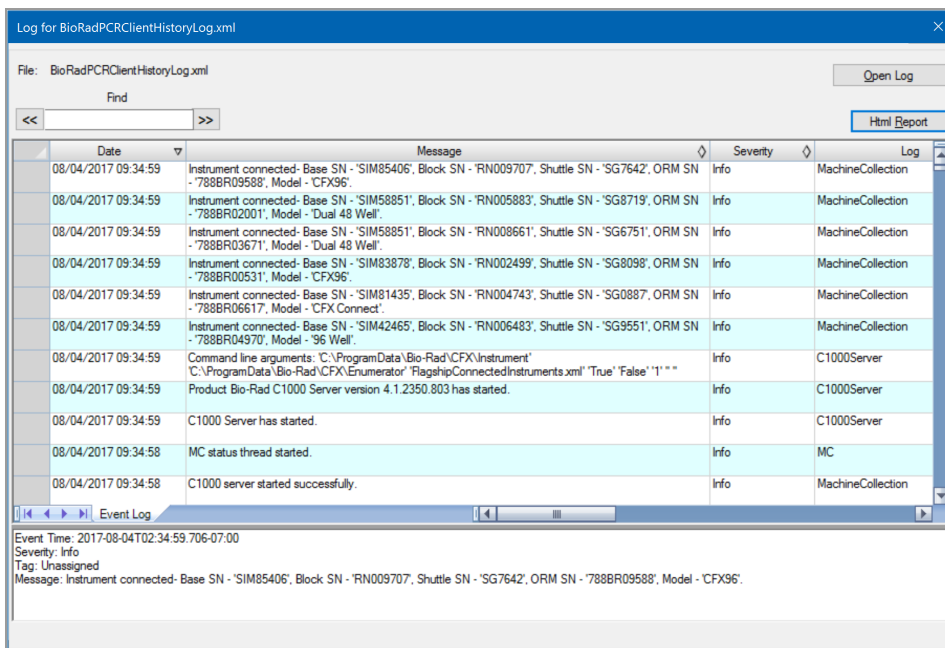
アプリケーションログ

新しいランを開始する前に、CFX Opus 96 DxまたはCFX Opus 384 Dxシステムは自己診断テストを開始して、仕様の範囲内で実行されていることを確認します。ソフトウェアは、このテストの結果をランログおよびアプリケーションログファイルに記録します。1つ以上の実験で問題が発生している場合は、ランログおよびアプリケーションログファイルを開いて、問題が始まった時点を確認してください。

CFX Maestro Dx SE は、ランの実行中の機器の状態に関する情報を、アプリケーションログで追跡します。これらのログを使用して、機器とソフトウェアで発生するイベントを追跡し、トラブルシューティングを行います。

アプリケーションログを開くには

- ▶ [Home (ホーム)]ウィンドウで、[View (表示)] > [Application Log (アプリケーションログ)]を選択します。



トラブルシューティング

通常、ソフトウェアと機器の通信の問題は、コンピューターとシステムを再起動することで解決できます。再起動する前に、進行中の作業を必ず保存してください。

注: コンピューターに十分なRAMと空きディスク容量があることを確認します。最小RAMは4 GB、最小ハードディスク容量は128 GBです。

Power Failure

In a power failure, the instrument and computer will shut down. If the power failure is short, the instrument will resume running a protocol but the Application Log will note the power failure. Depending on the computer settings and the length of time the power is off, the instrument and software attempt to continue running depending on the protocol step:

- If the protocol is in a step with no plate read, the protocol continues running as soon as the instrument regains power.
- If the protocol is in a step with a plate read, the instrument waits for the software to restart and resume communication to collect the data. In this situation, the protocol continues only if the software is not shut down by the computer. When the computer and software start up again, the protocol continues.

CFX Maestro Dx SEコンピューターへのファイルの転送

機器にあるデータやログファイルを、接続されているCFX Maestro Dx SEコンピューターのハードドライブに転送できます。

ヒント: 機器ベースのリアルタイムデータフォルダ内のすべてのファイルがコンピューターに転送されます。

注: CFX Opus Dx機器からはログファイルのみを転送できます。機器のすべてのログファイルがコンピューターに転送されます。

機器からファイルを取得するには

1. [Home (ホーム)]ウィンドウの[Detected Instruments (検出された機器)]ペインで、ターゲット機器を右クリックして[Retrieve Log Files (ログファイルの取得)]を選択します。
2. 取得したファイルを保存するフォルダの場所を選択します。
3. [OK]をクリックします。

CFX Maestro Dx SEソフトウェアの手動でのインストール

CFX Maestro Dx SEを手動でインストールするには

1. 必要に応じて、接続されている機器をコンピューターから取り外します。
CFX Maestro Dx SEコンピューターで機器のUSBケーブルを見つけて取り外します。機器に挿入されている端はそのままにしておくことができます。
2. 管理者権限でCFX Maestro Dx SEコンピューターにログインします。
3. CFX Maestro Dx SEUSBドライブをコンピューターのUSBポートに差し込みます。
4. Windows エクスプローラーで、CFX Maestro Dx SEUSBドライブに移動して開きます。
5. CFXフォルダを開いて、CFXMaestroDxSetup.exeをダブルクリックしてCFX Maestro Dx SEをインストールします。
6. 画面に表示される指示に従ってソフトウェアをインストールします。
完了すると、Bio-Rad CFX Maestro Dx SEソフトウェアスプラッシュ画面がコンピューターの画面に表示され、Bio-Rad CFX Maestro Dx SEソフトウェアアイコンがデスクトップに表示されます。
7. ソフトウェアUSBドライブを安全に取り出してCFX Maestro Dx SEを起動できます。

ドライバーの再インストール

機器のドライバーを再インストールするには

- ▶ [Home (ホーム)]ウィンドウで[Tools (ツール)] > [Reinstall Instrument Drivers (機器のドライバーの再インストール)]を選択します。

注: ドライバーを再インストールしてUSB接続を確認した後に、ソフトウェアとリアルタイムシステムの通信で問題が発生した場合は、Bio-Radテクニカルサポートにご連絡ください。

付録E Bio-Rad Free and Open-Source Notices for PCR Products

This document includes licensing information relating to free, open-source, and public-source software and data (together, the “MATERIALS”) included with or used to develop Bio-Rad products and services. The terms of the applicable free, open-source, and public-source licenses (each an “OPEN LICENSE”) govern Bio-Rad’s distribution and your use of the MATERIALS. Bio-Rad and the third-party authors, licensors, and distributors of the MATERIALS disclaim all warranties and liability arising from all use and distribution of the MATERIALS. To the extent the OSS is provided under an agreement with Bio-Rad that differs from the applicable OSS LICENSE, those terms are offered by Bio-Rad alone.

Bio-Rad has reproduced below copyright and other licensing notices appearing within the MATERIALS. While Bio-Rad seeks to provide complete and accurate copyright and licensing information for all MATERIALS, Bio-Rad does not represent or warrant that the following information is complete, correct, or error-free. MATERIALS recipients are encouraged to (a) investigate the identified MATERIALS to confirm the accuracy of the licensing information provided and (b) notify Bio-Rad of any inaccuracies or errors found in this document so that Bio-Rad may update this document accordingly.

Certain OPEN LICENSES (such as the Affero General Public Licenses, Common Development and Distribution Licenses, Common Public License, Creative Commons Share-Alike License, Eclipse Public License, Mozilla Public Licenses, GNU General Public Licenses, GNU Library/Lesser General Public Licenses, and Open Data Commons Open Database License) require that the source materials be made available to recipients or other requestors under the terms of the same OPEN LICENSE.

The corresponding open source software is available for download from the links in the section that follows.

Software Notices

ZedGraph

Project homepage/download site:

<https://sourceforge.net/projects/zedgraph/>

Bio-Rad source code site:

<https://github.com/bio-rad-lsg-open-source/ZedGraph-5.0.1>

External source code site:

<https://github.com/ZedGraph/ZedGraph>

Project licensing notices:

/LICENSE-LGPL.txt:

See **LGPL-2.1** in the **Standard OSS License Text** appendix to this document.

/sources/ZedGraph/LICENSE-LGPL.txt:

See **LGPL-2.1** in the **Standard OSS License Text** appendix to this document.

Standard Open License Text

LGPL-2.1

GNU LESSER GENERAL PUBLIC LICENSE

Version 2.1, February 1999

Copyright (C) 1991, 1999 Free Software Foundation, Inc. 59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA Everyone is permitted to copy and distribute verbatim copies of this license document, but changing it is not allowed.

[This is the first released version of the Lesser GPL. It also counts as the successor of the GNU Library Public License, version 2, hence the version number 2.1.]

Preamble

The licenses for most software are designed to take away your freedom to share and change it. By contrast, the GNU General Public Licenses are intended to guarantee your freedom to share and change free software--to make sure the software is free for all its users.

This license, the Lesser General Public License, applies to some specially designated software packages--typically libraries--of the Free Software Foundation and other authors who decide to use it. You can use it too, but we suggest you first think carefully about whether this license or the ordinary General Public License is the better strategy to use in any particular case, based on the explanations below.

When we speak of free software, we are referring to freedom of use, not price. Our General Public Licenses are designed to make sure that you have the freedom to distribute copies of free software (and charge for this service if you wish); that you receive source code or can get it if you want it; that you can change the software and use pieces of it in new free programs; and that you are informed that you can do these things.

To protect your rights, we need to make restrictions that forbid distributors to deny you these rights or to ask you to surrender these rights. These restrictions translate to certain responsibilities for you if you distribute copies of the library or if you modify it.

For example, if you distribute copies of the library, whether gratis or for a fee, you must give the recipients all the rights that we gave you. You must make sure that they, too, receive or can get the source code. If you link other code with the library, you must provide complete object files to the recipients, so that they can relink them with the library after making changes to the library and recompiling it. And you must show them these terms so they know their rights.

We protect your rights with a two-step method: (1) we copyright the library, and (2) we offer you this license, which gives you legal permission to copy, distribute and/or modify the library.

To protect each distributor, we want to make it very clear that there is no warranty for the free library. Also, if the library is modified by someone else and passed on, the recipients should know that what they have is not the original version, so that the original author's

reputation will not be affected by problems that might be introduced by others.

Finally, software patents pose a constant threat to the existence of any free program. We wish to make sure that a company cannot effectively restrict the users of a free program by obtaining a restrictive license from a patent holder. Therefore, we insist that any patent license obtained for a version of the library must be consistent with the full freedom of use specified in this license.

Most GNU software, including some libraries, is covered by the ordinary GNU General Public License. This license, the GNU Lesser General Public License, applies to certain designated libraries, and is quite different from the ordinary General Public License. We use this license for certain libraries in order to permit linking those libraries into non-free programs.

When a program is linked with a library, whether statically or using a shared library, the combination of the two is legally speaking a combined work, a derivative of the original library. The ordinary General Public License therefore permits such linking only if the entire combination fits its criteria of freedom. The Lesser General Public License permits more lax criteria for linking other code with the library.

We call this license the "Lesser" General Public License because it does Less to protect the user's freedom than the ordinary General Public License. It also provides other free software developers Less of an advantage over competing non-free programs. These disadvantages are the reason we use the ordinary General Public License for many libraries. However, the Lesser license provides advantages in certain special circumstances.

For example, on rare occasions, there may be a special need to encourage the widest possible use of a certain library, so that it becomes a de-facto standard. To achieve this, non-free programs must be allowed to use the library. A more frequent case is that a free library does the same job as widely used non-free libraries. In this case, there is little to gain by limiting the free library to free software only, so we use the Lesser General Public License.

In other cases, permission to use a particular library in non-free programs enables a greater number of people to use a large body of free software. For example, permission to use the GNU C Library in non-free programs enables many more people to use the whole GNU

operating system, as well as its variant, the GNU/Linux operating system.

Although the Lesser General Public License is Less protective of the users' freedom, it does ensure that the user of a program that is linked with the Library has the freedom and the wherewithal to run that program using a modified version of the Library.

The precise terms and conditions for copying, distribution and modification follow. Pay close attention to the difference between a "work based on the library" and a "work that uses the library". The former contains code derived from the library, whereas the latter must be combined with the library in order to run.

GNU LESSER GENERAL PUBLIC LICENSE

TERMS AND CONDITIONS FOR COPYING, DISTRIBUTION AND MODIFICATION

0. This License Agreement applies to any software library or other program which contains a notice placed by the copyright holder or other authorized party saying it may be distributed under the terms of this Lesser General Public License (also called "this License"). Each licensee is addressed as "you".

A "library" means a collection of software functions and/or data prepared so as to be conveniently linked with application programs (which use some of those functions and data) to form executables.

The "Library", below, refers to any such software library or work which has been distributed under these terms. A "work based on the Library" means either the Library or any derivative work under copyright law: that is to say, a work containing the Library or a portion of it, either verbatim or with modifications and/or translated straightforwardly into another language. (Hereinafter, translation is included without limitation in the term "modification".)

"Source code" for a work means the preferred form of the work for making modifications to it. For a library, complete source code means all the source code for all modules it contains, plus any associated interface definition files, plus the scripts used to control compilation and installation of the library.

Activities other than copying, distribution and modification are not covered by this License; they are outside its scope. The act of running a program using the Library is not restricted, and output

from such a program is covered only if its contents constitute a work based on the Library (independent of the use of the Library in a tool for writing it). Whether that is true depends on what the Library does and what the program that uses the Library does.

1. You may copy and distribute verbatim copies of the Library's complete source code as you receive it, in any medium, provided that you conspicuously and appropriately publish on each copy an appropriate copyright notice and disclaimer of warranty; keep intact all the notices that refer to this License and to the absence of any warranty; and distribute a copy of this License along with the Library. You may charge a fee for the physical act of transferring a copy, and you may at your option offer warranty protection in exchange for a fee.

2. You may modify your copy or copies of the Library or any portion of it, thus forming a work based on the Library, and copy and distribute such modifications or work under the terms of Section 1 above, provided that you also meet all of these conditions:

a) The modified work must itself be a software library.

b) You must cause the files modified to carry prominent notices stating that you changed the files and the date of any change.

c) You must cause the whole of the work to be licensed at no charge to all third parties under the terms of this License.

d) If a facility in the modified Library refers to a function or a table of data to be supplied by an application program that uses the facility, other than as an argument passed when the facility is invoked, then you must make a good faith effort to ensure that, in the event an application does not supply such function or table, the facility still operates, and performs whatever part of its purpose remains meaningful. (For example, a function in a library to compute square roots has a purpose that is entirely well-defined independent of the application. Therefore, Subsection 2d requires that any application-supplied function or table used by this function must be optional: if the application does not supply it, the squareroot function must still compute square roots.)

These requirements apply to the modified work as a whole. If identifiable sections of that work are not derived from the Library, and can be reasonably considered independent and separate works in themselves, then this License, and its terms, do not apply to those sections when you distribute them as separate works. But when you

distribute the same sections as part of a whole which is a work based on the Library, the distribution of the whole must be on the terms of this License, whose permissions for other licensees extend to the entire whole, and thus to each and every part regardless of who wrote it.

Thus, it is not the intent of this section to claim rights or contest your rights to work written entirely by you; rather, the intent is to exercise the right to control the distribution of derivative or collective works based on the Library.

In addition, mere aggregation of another work not based on the Library with the Library (or with a work based on the Library) on a volume of a storage or distribution medium does not bring the other work under the scope of this License.

3. You may opt to apply the terms of the ordinary GNU General Public License instead of this License to a given copy of the Library. To do this, you must alter all the notices that refer to this License, so that they refer to the ordinary GNU General Public License, version 2, instead of to this License. (If a newer version than version 2 of the ordinary GNU General Public License has appeared, then you can specify that version instead if you wish.) Do not make any other change in these notices. Once this change is made in a given copy, it is irreversible for that copy, so the ordinary GNU General Public License applies to all subsequent copies and derivative works made from that copy. This option is useful when you wish to copy part of the code of the Library into a program that is not a library.

4. You may copy and distribute the Library (or a portion or derivative of it, under Section 2) in object code or executable form under the terms of Sections 1 and 2 above provided that you accompany it with the complete corresponding machine-readable source code, which must be distributed under the terms of Sections 1 and 2 above on a medium customarily used for software interchange. If distribution of object code is made by offering access to copy from a designated place, then offering equivalent access to copy the source code from the same place satisfies the requirement to distribute the source code, even though third parties are not compelled to copy the source along with the object code.

5. A program that contains no derivative of any portion of the Library, but is designed to work with the Library by being compiled or linked with it, is called a "work that uses the Library". Such a work, in isolation, is not a derivative work of the Library, and

therefore falls outside the scope of this License. However, linking a "work that uses the Library" with the Library creates an executable that is a derivative of the Library (because it contains portions of the Library), rather than a "work that uses the library". The executable is therefore covered by this License. Section 6 states terms for distribution of such executables. When a "work that uses the Library" uses material from a header file that is part of the Library, the object code for the work may be a derivative work of the Library even though the source code is not. Whether this is true is especially significant if the work can be linked without the Library, or if the work is itself a library. The threshold for this to be true is not precisely defined by law. If such an object file uses only numerical parameters, data structure layouts and accessors, and small macros and small inline functions (ten lines or less in length), then the use of the object file is unrestricted, regardless of whether it is legally a derivative work. (Executables containing this object code plus portions of the Library will still fall under Section 6.) Otherwise, if the work is a derivative of the Library, you may distribute the object code for the work under the terms of Section 6. Any executables containing that work also fall under Section 6, whether or not they are linked directly with the Library itself.

6. As an exception to the Sections above, you may also combine or link a "work that uses the Library" with the Library to produce a work containing portions of the Library, and distribute that work under terms of your choice, provided that the terms permit modification of the work for the customer's own use and reverse engineering for debugging such modifications. You must give prominent notice with each copy of the work that the Library is used in it and that the Library and its use are covered by this License. You must supply a copy of this License. If the work during execution displays copyright notices, you must include the copyright notice for the Library among them, as well as a reference directing the user to the copy of this License. Also, you must do one of these things:

a) Accompany the work with the complete corresponding machine-readable source code for the Library including whatever changes were used in the work (which must be distributed under Sections 1 and 2 above); and, if the work is an executable linked with the Library, with the complete machine-readable "work that uses the Library", as object code and/or source code, so that the user can modify the Library and then relink to produce a modified executable containing the modified Library. (It is understood that the user who changes the

contents of definitions files in the Library will not necessarily be able to recompile the application to use the modified definitions.)

b) Use a suitable shared library mechanism for linking with the Library. A suitable mechanism is one that (1) uses at run time a copy of the library already present on the user's computer system, rather than copying library functions into the executable, and (2) will operate properly with a modified version of the library, if the user installs one, as long as the modified version is interface-compatible with the version that the work was made with.

c) Accompany the work with a written offer, valid for at least three years, to give the same user the materials specified in Subsection 6a, above, for a charge no more than the cost of performing this distribution.

d) If distribution of the work is made by offering access to copy from a designated place, offer equivalent access to copy the above specified materials from the same place.

e) Verify that the user has already received a copy of these materials or that you have already sent this user a copy.

For an executable, the required form of the "work that uses the Library" must include any data and utility programs needed for reproducing the executable from it. However, as a special exception, the materials to be distributed need not include anything that is normally distributed (in either source or binary form) with the major components (compiler, kernel, and so on) of the operating system on which the executable runs, unless that component itself accompanies the executable.

It may happen that this requirement contradicts the license restrictions of other proprietary libraries that do not normally accompany the operating system. Such a contradiction means you cannot use both them and the Library together in an executable that you distribute.

7. You may place library facilities that are a work based on the Library side-by-side in a single library together with other library facilities not covered by this License, and distribute such a combined library, provided that the separate distribution of the work based on the Library and of the other library facilities is otherwise permitted, and provided that you do these two things:

a) Accompany the combined library with a copy of the same work based on the Library, uncombined with any other library facilities. This must be distributed under the terms of the Sections above.

b) Give prominent notice with the combined library of the fact that part of it is a work based on the Library, and explaining where to find the accompanying uncombined form of the same work.

8. You may not copy, modify, sublicense, link with, or distribute the Library except as expressly provided under this License. Any attempt otherwise to copy, modify, sublicense, link with, or distribute the Library is void, and will automatically terminate your rights under this License. However, parties who have received copies, or rights, from you under this License will not have their licenses terminated so long as such parties remain in full compliance.

9. You are not required to accept this License, since you have not signed it. However, nothing else grants you permission to modify or distribute the Library or its derivative works. These actions are

prohibited by law if you do not accept this License. Therefore, by modifying or distributing the Library (or any work based on the Library), you indicate your acceptance of this License to do so, and all its terms and conditions for copying, distributing or modifying the Library or works based on it.

10. Each time you redistribute the Library (or any work based on the Library), the recipient automatically receives a license from the original licensor to copy, distribute, link with or modify the Library subject to these terms and conditions. You may not impose any further restrictions on the recipients' exercise of the rights granted herein. You are not responsible for enforcing compliance by third parties with this License.

11. If, as a consequence of a court judgment or allegation of patent infringement or for any other reason (not limited to patent issues), conditions are imposed on you (whether by court order, agreement or otherwise) that contradict the conditions of this License, they do not excuse you from the conditions of this License. If you cannot distribute so as to satisfy simultaneously your obligations under this License and any other pertinent obligations, then as a consequence you may not distribute the Library at all. For example, if a patent license would not permit royalty-free redistribution of the Library by all those who receive copies directly or indirectly through you, then the only way you could satisfy both it and this

License would be to refrain entirely from distribution of the Library.

If any portion of this section is held invalid or unenforceable under any particular circumstance, the balance of the section is intended to apply, and the section as a whole is intended to apply in other circumstances.

It is not the purpose of this section to induce you to infringe any patents or other property right claims or to contest validity of any such claims; this section has the sole purpose of protecting the integrity of the free software distribution system which is implemented by public license practices. Many people have made generous contributions to the wide range of software distributed through that system in reliance on consistent application of that system; it is up to the author/donor to decide if he or she is willing to distribute software through any other system and a licensee cannot impose that choice. This section is intended to make thoroughly clear what is believed to be a consequence of the rest of this License.

12. If the distribution and/or use of the Library is restricted in certain countries either by patents or by copyrighted interfaces, the original copyright holder who places the Library under this License may add an explicit geographical distribution limitation excluding those countries, so that distribution is permitted only in or among countries not thus excluded. In such case, this License incorporates the limitation as if written in the body of this License.

13. The Free Software Foundation may publish revised and/or new versions of the Lesser General Public License from time to time. Such new versions will be similar in spirit to the present version, but may differ in detail to address new problems or concerns.

Each version is given a distinguishing version number. If the Library specifies a version number of this License which applies to it and "any later version", you have the option of following the terms and conditions either of that version or of any later version published by the Free Software Foundation. If the Library does not specify a license version number, you may choose any version ever published by the Free Software Foundation.

14. If you wish to incorporate parts of the Library into other free programs whose distribution conditions are incompatible with these, write to the author to ask for permission. For software which is

copyrighted by the Free Software Foundation, write to the Free Software Foundation; we sometimes make exceptions for this. Our decision will be guided by the two goals of preserving the free status of all derivatives of our free software and of promoting the sharing and reuse of software generally.

NO WARRANTY

15. BECAUSE THE LIBRARY IS LICENSED FREE OF CHARGE, THERE IS NO WARRANTY FOR THE LIBRARY, TO THE EXTENT PERMITTED BY APPLICABLE LAW. EXCEPT WHEN OTHERWISE STATED IN WRITING THE COPYRIGHT HOLDERS AND/OR OTHER PARTIES PROVIDE THE LIBRARY "AS IS" WITHOUT WARRANTY OF ANY KIND, EITHER EXPRESSED OR IMPLIED, INCLUDING, BUT NOT LIMITED TO, THE IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. THE ENTIRE RISK AS TO THE QUALITY AND PERFORMANCE OF THE LIBRARY IS WITH YOU. SHOULD THE LIBRARY PROVE DEFECTIVE, YOU ASSUME THE COST OF ALL NECESSARY SERVICING, REPAIR OR CORRECTION.

16. IN NO EVENT UNLESS REQUIRED BY APPLICABLE LAW OR AGREED TO IN WRITING WILL ANY COPYRIGHT HOLDER, OR ANY OTHER PARTY WHO MAY MODIFY AND/OR REDISTRIBUTE THE LIBRARY AS PERMITTED ABOVE, BE LIABLE TO YOU FOR DAMAGES, INCLUDING ANY GENERAL, SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES ARISING OUT OF THE USE OR INABILITY TO USE THE LIBRARY (INCLUDING BUT NOT LIMITED TO LOSS OF DATA OR DATA BEING RENDERED INACCURATE OR LOSSES SUSTAINED BY YOU OR THIRD PARTIES OR A FAILURE OF THE LIBRARY TO OPERATE WITH ANY OTHER MATERIALS), EVEN IF SUCH HOLDER OR OTHER PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES.

END OF TERMS AND CONDITIONS

How to Apply These Terms to Your New Libraries

If you develop a new library, and you want it to be of the greatest possible use to the public, we recommend making it free software that everyone can redistribute and change. You can do so by permitting redistribution under these terms (or, alternatively, under the terms of the ordinary General Public License).

To apply these terms, attach the following notices to the library. It is safest to attach them to the start of each source file to most effectively convey the exclusion of warranty; and each file should have at least the "copyright" line and a pointer to where the full notice is found.

<one line to give the library's name and a brief idea of what it does.>

Copyright (C) <year> <name of author>

This library is free software; you can redistribute it and/or modify it under the terms of the GNU Lesser General Public License as published by the Free Software Foundation; either version 2.1 of the License, or (at your option) any later version. This library is distributed in the hope that it will be useful, but WITHOUT ANY WARRANTY; without even the implied warranty of MERCHANTABILITY or FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. See the GNU Lesser General Public License for more details.

You should have received a copy of the GNU Lesser General Public License along with this library; if not, write to the Free Software Foundation, Inc., 59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA

Also add information on how to contact you by electronic and paper mail. You should also get your employer (if you work as a programmer) or your school, if any, to sign a "copyright disclaimer" for the library, if necessary. Here is a sample; alter the names:

Yoyodyne, Inc., hereby disclaims all copyright interest in the library `Frob' (a library for tweaking knobs) written by James Random Hacker.

<signature of Ty Coon>, 1 April 1990

Ty Coon, President of Vice

That's all there is to it!

付録F参考文献

1. Sugimoto et al.(1996).Improved thermodynamic parameters and helix initiation factor to predict stability of DNA duplexes.Nucleic Acids Research 24, 4,501–4,505.
2. Breslauer KJ et al.(1986).Predicting DNA duplex stability from the base sequence.Proc Nat Acad Sci 83, 3,746–3,750.
3. Hellemans J et al.(2007). qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data.Genome Biol 8, R19.
4. Livak JL et al.(1995).Towards fully automated genome-wide polymorphism screening.Nature Genetics 9, 341–342.
5. Pfaffl MW (2001).A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR.Nucleic Acids Research 29, 2,002–2,007.
6. Vandesompele J et al.(2002)に記載されているように、「efficiencies (効率)」を意味します。Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes.Genome Biology 3, 1–12.
7. Fox J (2008).Applied Regression Analysis and Generalized Linear Models.2nd ed (New York:SAGE Publications, Inc.).

Minpack Copyright Notice (1999) University of Chicago.All rights reserved

改変の有無に関わらず、以下の条件を満たす場合には、ソースおよびバイナリの形式での再頒布および使用を許可します。

1. ソースコードの再頒布では、上記の著作権表示、本条件リスト、および下記の免責事項を含める必要があります。
2. バイナリ形式での再頒布では、上記の著作権表示、本条件リスト、および下記の免責事項を複製して、ドキュメントおよびまたはディストリビューションで提供される他の媒体に含める必要があります。
3. 再頒布に含めるエンドユーザードキュメントには、次の謝辞を含める必要があります。

「この製品には、アルゴンヌ国立研究所の運営機関であるシカゴ大学が開発したソフトウェアが含まれていません。」



Bio-Rad Laboratories, Inc.
4000 Alfred Nobel Drive
Hercules, CA 94547



Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette, France
電話: +33 (0)1 47 95 60 00
FAX: +33 (0)1 47 41 91 33
bio-rad.com



**Bio-Rad
Laboratories, Inc.**

Life Science
Group

Website bio-rad.com **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23 **Brazil** 4003 0399
Canada 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23 **Finland** 00 800 00 24 67 23
France 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300 **Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050
Italy 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000 **Korea** 82 2 3473 4460 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670
The Netherlands 00 800 00 24 67 23 **New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23
Russian Federation 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23 **Sweden** 00 800 00 24 67 23
Switzerland 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311 **United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

