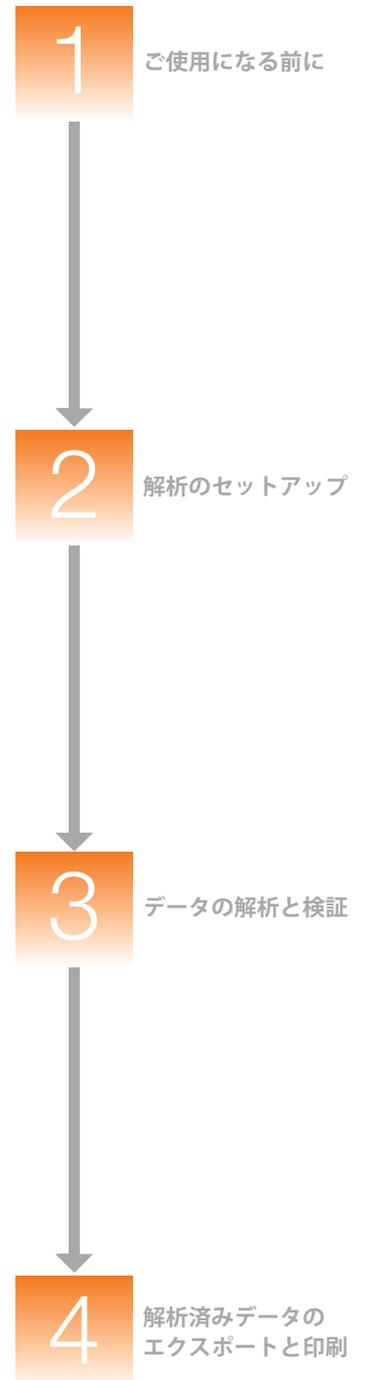
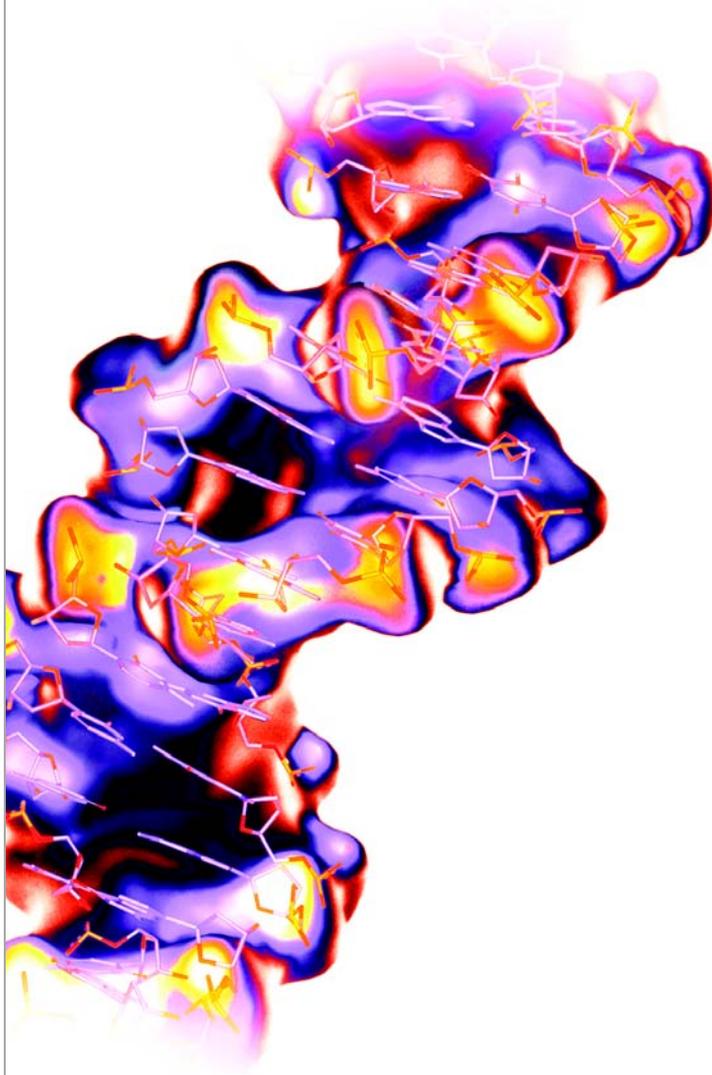


AFLP® 解析 Getting Started Guide



AFLP® 解析 Getting Started Guide

ご使用になる前に

1

解析のセットアップ

2

データの解析と検証

3

解析済みデータの
エクスポートと印刷

4

研究用のみ使用できます。診断目的およびその手続き上での使用はできません。

© 2005 Applied Biosystems Japan Ltd. All rights reserved.

このマニュアルに記載されている情報は予告なく変更されることがあります。Applied Biosystems は、このマニュアルのあらゆる誤謬に対して、一切の責任を負わないものとします。本マニュアルの情報は、発行の時点においては、完全かつ正確であるものとみなします。Applied Biosystems は、本マニュアルと関連、もしくは本マニュアルから生じる、偶発的、特別、複合的、派生的損害に対して、いかなる場合も責任を負わないものとします。

ご購入者への告知：ライセンス拒否

本ソフトウェアの製品のみ購入では、明示されているか否かに関わらず、または禁半言によるか否かに関わらず、Applera Corporation が所有または管理する特許権利に基づくあらゆるプロセス、機器またはその他の装置、システム、混合物、試薬、キットの権利のいかなる権利（ライセンス）の所有も意味しません。

GeneMapper ソフトウェアは、HID（ヒト個人識別）アプリケーションについて特定の検認を受けていません。単一ソースまたは親子サンプルを解析するためのデータ解析に GeneMapper ソフトウェアを使用する HID（ヒト個人識別）研究施設や機関は、開発検認研究を独自に実行する必要があります。

AFLP プロセスに関する特許は Keygene N.V 社が保有しています。

商標：

ABI PRISM、Applied Biosystems、GeneMapper、SNaPshot は、登録商標です。AB Design、Applera、FAM、GeneScan、ROX、SNPlex は、米国およびその他の国々における Applera Corporation またはその子会社の商標です。

AFLP は、Keygene N.V の登録商標です。

本ソフトウェアには、Apache Software Foundation (<http://www.apache.org/>) が開発したソフトウェアが含まれています。Copyright © 1999-2000 The Apache Software Foundation. All rights reserved.

本ソフトウェアには、ExoLab Project (<http://www.exolab.org/>) が開発したソフトウェアが含まれています。Copyright 2000 © Intalio Inc. All rights reserved.

JNIRegistry is Copyright © 1997 Timothy Gerard Endres, ICE Engineering, Inc., <http://www.trustice.com>.

Windows は、Microsoft Corporation の登録商標です。

Oracle は、Oracle Corporation の登録商標です。

その他すべての商標は、それぞれの会社に所有権があります。

Applera Corporation is committed to providing the world's leading technology and information for life scientists. Applera Corporation consists of the Applied Biosystems and Celera Genomics businesses.

Part Number 4363079 Rev. B
06/2005

目次

まえがき	v
このガイドの使い方	v
詳細情報の入手方法	vi
サポートの入手方法	vii
第 1 章 ご使用になる前に	1
サポートされる AFLP 試薬ケミストリについて	2
データ例について	5
AFLP システム解析のワークフロー	6
GeneMapper ソフトウェアの用語	7
ソフトウェアの起動とログイン	7
ユーザ独自のサンプル ファイルを使う場合のこのガイドの使用	7
GeneMapper ソフトウェア v3.7 を使う場合のこのガイドの使用	7
このガイドにおける手順のその他の方法	8
第 2 章 解析のセットアップ	9
概要	10
プロジェクトの作成	10
プロジェクトへのサンプルの追加	11
Analysis Method の作成	12
「Allele」タブ設定項目の設定	12
「Peak Detector」タブ設定項目の設定	17
「Peak Quality」タブ設定項目の設定	18
「Quality Flags」タブ設定項目の設定	19
アナリシス パラメータの適用	21
第 3 章 データの解析と検証	23
概要	24
プロジェクトの解析	25
オフスケール データの検証	27
Size Quality データの検証	29
サイジングの解決策 #1: Analysis Method の調整	30
サイジングの解決策 #2: 誤って読み取られたピークの手動による修正	32
サイジングの解決策 #3: サイズ スタンダード定義の変更	34
解析済みデータの検証	38

Genotypes テーブルでの解析済みデータの閲覧	38
Samples Plot 内でのピーク データの表示	39
サイズ スタンダードの検証	42
多型ピークの視覚化	44
結果の編集	46
Marker の変更	46
Bin の変更	47
ジェノタイプ読み取りの変更	48
作成した Panel と Bin Set の保存	51
解析の完了	55
第4章 解析済みデータのエクスポートと印刷	57
概要	58
結果とオブジェクトのエクスポート	59
「Samples」タブと「Genotypes」タブのエクスポート	60
プロットと図のエクスポート	60
スプレッドシートで使用するためのデータのエクスポート	61
プロジェクトとリファレンス データのエクスポート	63
プロジェクト データの印刷	64
索引	65

このガイドの使い方

このマニュアルの目的 このガイドでは、GeneMapper® ソフトウェアで提供される AFLP® (Amplified Fragment Length Polymorphisms) データを解析する方法について説明します。ソフトウェアを使用して、AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms) のバンドパターンをサイジング、ジェノタイピング、波形表示方法を短時間で理解できるよう設計されています。また、演習を通じて、基本的なトラブルシューティング技術に加え、解析済みデータをエクスポートしてさらに解析または表示する方法について説明しています。

対象読者 このガイドは、トレーニングを受けた研究員を対象読者としています。許可されていない、またはトレーニングを受けていない人がこのガイドを使用したことに起因する損害または傷害に対して、Applied Biosystems は責任を負いません。

前提条件 このマニュアルは、対象読者が次の条件を満たしていることを前提としています。

- 『GeneMapper® Software Version 4.0 Installation and Administration Guide』 (PN 4363080) の説明に従って、GeneMapper® ソフトウェア v4.0 がインストールされていること。
- Microsoft® Windows® オペレーティングシステムに関する実践的な知識を備えていること。

表記法 このマニュアルでは、次の表記法を使用しています。

- **太字**は、ユーザの行う操作を示します。たとえば、次のとおりです。
残りの各フィールドについて、**0**を入力し、**[Enter]** キーを押します。
- **ゴシック体**は、初出または重要な語を示し、強調しています。たとえば、次のとおりです。
解析の前に、**必ず**新しいマトリックスを調製してください。
- 右三角カッコ (**▶**) は、ドロップダウンメニューまたはショートカットメニューで連続して選択するコマンドを区切って示しています。たとえば、次のとおりです。
「File」▶「Open」▶「Spot Set」を選択します。
サンプル列を右クリックし、「View Filter」▶「View All」を選択します。

ユーザへの注意事項 Applied Biosystems のユーザ マニュアルには、2 種類の注意事項が記載されています。各注意事項は、次のような特定のレベルの注意と対応が必要なことを示しています。

注： 製品を使用する上で役に立ちますが、必須ではない情報を記述しています。

重要！ 装置の適切な操作、ケミストリ キットの正しい使用法、化学物質の安全な使用法に関する必要な情報を記述しています。

ユーザへの注意事項の例を次に示します。

注： カラムのサイズは、ランタイムに影響します。

注： キャリブレーション機能は、Control Console でも使用できます。

重要！ クライアントがデータベースに接続していることを確認するには、有効な Oracle ユーザ ID とパスワードが必要です。

重要！ 1 枚の 96 ウェルプレートに対して、それぞれ 1 つの Sample Entry スプレッドシートを作成する必要があります。

詳細情報の入手方法

安全に関する情報	安全に関する情報の詳細については、『GeneMapper® Software Version 4.0 Installation and Administration Guide』(PN 4363080) を参照してください。
ソフトウェアの保証とライセンス	保証とライセンスに関する情報の詳細については、『GeneMapper® Software Version 4.0 Installation and Administration Guide』(PN 4363080) を参照してください。
関連資料	<p>このソフトウェアには、次の関連資料が同梱されています。</p> <ul style="list-style-type: none">• GeneMapper® Software Version 4.0 Installation and Administration Guide — GeneMapper ソフトウェア v4.0 のインストール、セキュリティ、メンテナンスの手順について記載しています。• GeneMapper® Software Version 4.0 Getting Started Guides — GeneMapper ソフトウェアで提供されるアプリケーションに特化したデータ例を解析する方法について記載したガイド 5 冊。このガイドでは、互換性のある Applied Biosystems 社製のシーケンサおよび Data Collection ソフトウェアで作成されたマイクロサテライト、LOH、AFLP® システム、SNaPshot® キット、および SNPlex™ システム データを解析する手順について段階を追って簡潔に説明しています。このガイドは、GeneMapper ソフトウェアの基本機能が素早く理解できるような構成になっています。• GeneMapper® Software v4.0 Online Help — GeneMapper ソフトウェア、および一般的なタスクの手順について説明しています。オンラインヘルプにアクセスするには、[F1] キーを押す、「Help」▶「Contents and Index」の順に選択する、または、「GeneMapper」ウィンドウのツールバーで ? をクリックする、という 3 つの方法があります。• GeneMapper® Software Version 4.0 Quick Reference Guide — 特定の解析種類のワークフローを提供すると共に、GeneMapper ソフトウェアと互換性のある装置、ソフトウェア、解析アプリケーションのリストを記載しています。• GeneMapper® Software Version 4.0 Reference and Troubleshooting Guide — 動作理論などの参照情報とトラブルシューティング情報を提供しています。 <p>このマニュアルおよび前述の資料の PDF (ポータブルドキュメントフォーマット) 版は、GeneMapper® Software Version 4.0 Documentation CD に収録されています。</p>

注： 詳細については、vii ページの「サポートの入手方法」を参照してください。

連絡先 Applied Biosystems では、ユーザ マニュアルをより使いやすいものにするため、お客様からのご意見、ご要望をお待ちしております。次の電子メール アドレス宛にお送りください。

jptechsupport@appliedbiosystems.com

オンライン ヘルプ からの情報の入手

GeneMapper® ソフトウェアは、ユーザ インタフェースの各機能を使用する方法について説明したオンライン ヘルプ システムを備えています。オンライン ヘルプにアクセスするには、任意のウィンドウまたはダイアログ ボックスで  をクリックします（使用可能な場合は「Help」 ▶ 「Contents and Index」）。

サポートの入手方法

すべての地域における最新サービスおよびサポート情報を入手するには、<http://www.appliedbiosystems.co.jp> にアクセスし、「Customer Support」のリンクをクリックしてください。

「カスタマーサポート」ページでは、次のことが可能です。

- よくある質問（FAQ）を検索する
- テクニカル サポートに質問を直接送信する
- Applied Biosystems ユーザ マニュアル、MSDS、分析証明書（Certification of Analysis）、およびその他の関連資料を注文する
- PDF 文書をダウンロードする
- カスタマー トレーニングに関する情報を入手する
- ソフトウェア アップデートおよびパッチをダウンロードする

さらに、「テクニカルサポート」ページには、世界各地の Applied Biosystems テクニカル サービスおよびサポート機関の連絡先の電話番号やファックス番号も掲載されています。

1

ご使用になる前に

第 1 章
ご使用になる前に

この章では、次の項目について説明します。

- サポートされる AFLP 試薬ケミストリについて..... 2
- データ例について..... 5
- AFLP システム解析のワークフロー 6
- GeneMapper ソフトウェアの用語 7
- ソフトウェアの起動とログイン..... 7
- ユーザ独自のサンプル ファイルを使う場合のこのガイドの使用..... 7
- GeneMapper ソフトウェア v3.7 を使う場合のこのガイドの使用 7
- このガイドにおける手順のその他の方法..... 8

第 2 章
解析のセットアップ

第 3 章
データの解析と検証

第 4 章
解析済みデータの
エクスポートと印刷

サポートされる AFLP 試薬ケミストリについて

AFLP システムについて

AFLP® (Amplified Fragment Length Polymorphism) は、ゲノム DNA の多型 (ポリモルフィズム) の客観的判定に使用されるマッピング技術です。AFLP システムは、よく知られている RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism; 制限酵素断片長多型) 技術と、PCR (Polymerase Chain Reaction; ポリメラーゼ連鎖反応) を組み合わせることにより、調製されたゲノム DNA から制限酵素フラグメントを選択的増幅するものです。サンプルを電気泳動で分離すると、独自のバンドパターンが生じます。このパターンを、サザンプロット法や蛍光色素標識のフラグメント解析によって波形として表示され、高解像度のジェノタイプング、多型検出、分岐学に利用することができます。‡

このガイドのワークフローを適用可能なアプリケーション

AFLP システムは柔軟かつ堅牢であるため、科学技術的手法の多くのアプリケーションをサポートします。このガイドでは、サンプル/系統の同定、およびバッククロス解析によるマッピングという最も一般的な2つのアプリケーションを紹介し、一般的な解析ワークフローを記載しています。手順では、サンプルの同定解析を中心にしていますが、その多くは、他のアプリケーションにも適用可能です。

互換性のある AFLP 解析

GeneMapper ソフトウェアでは、次のようなサンプルを解析することができます。

- Applied Biosystems の蛍光色素標識および検出技術が組み込まれた AFLP ケミストリを使用して調製されたサンプル
- 互換性のある Applied Biosystems 社製シーケンサでランされたサンプル

Applied Biosystems は、AFLP 技術に手を加えて、蛍光色素標識して検出できるよう、適合させています。変更後のシステムでは、増幅の最終手順で使用されるセレクトティブプライマーの1つを、5' 蛍光色素標識プライマーに置き換えます。次の節では、Applied Biosystems ケミストリについて説明します。

テンプレートの調製とアダプタのライゲーション

単離されたゲノム DNA は、2つの制限酵素 (例中の EcoRI と MseI) で消化され、制限酵素フラグメントを生成します。次に、このサンプルに、消化されたフラグメントの末端を補完するシーケンスを含む2本鎖のオリゴヌクレオチドアダプタをライゲーションします (図 1-1 を参照)。

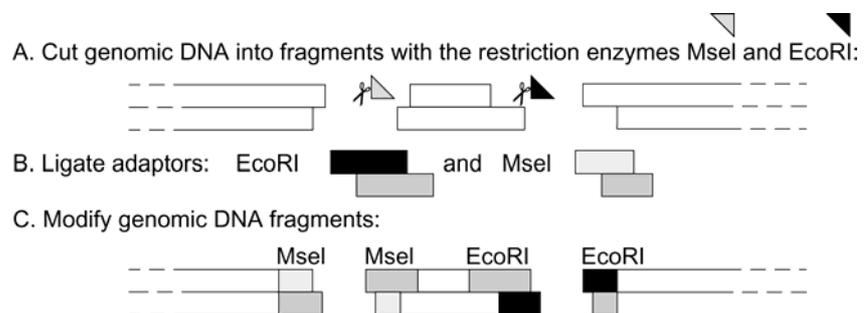


図 1-1 テンプレートの調製とアダプタのライゲーションの例

‡ Savelkoul, P. H. M., Aarts, H. J. M., de Haas, J., Dijkshoorn, L., Duim, B., Otsen, M., Rademaker, J. L. W., Schouls, L., and Lenstra, J. A., *J Clin Microbio*, 1999, 37(10), 3083–3091.

Preselective Amplification (オプション)

ライゲーションに続いて、フォワードおよびリバース プライマーのセットを使用して、アダプタと制限酵素サイトのシーケンスを組合せたフラグメントを増幅します。この Preselective PCR の一次産物は、両方の末端でアダプタをライゲーションした制限酵素フラグメントから生成された産物です (図 1-2 を参照)。

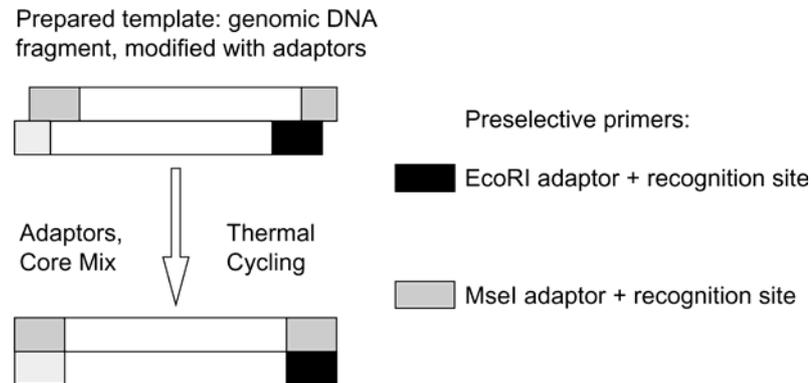


図 1-2 プレ増幅

Selective Amplification

Preselective Amplification の次に、数種類の「セレクトティブ」プライマー (5' 蛍光色素で標識したプライマーを含む) を使用してフラグメントを再び増幅します。図 1-3 は、EcoRI および MseI 制限酵素で消化されたフラグメントの Selective Amplification を図解して示しています。PCR の一次産物は、EcoRI/MseI で末端したフラグメントから作成されたものです。このように、セレクトティブ プライマーを組み合わせることで、サンプルのバンド パターンがより単純になります。

注： ランの際、互換性のある Applied Biosystems 社製のシーケンサは、EcoRI で処理したフラグメントの産物のみを検出します。MseI-MseI フラグメントは、蛍光標識されていないため、波形として検出されません。

A. Choose selective AFLP primers:

★ ■ +0, +X, +AX one of nine different fluorescent dye-labeled AFLP EcoRI selective amplification primers

■ +0, +X, +CX one of nine different AFLP MseI selective amplification primers

B. Run selective amplification:

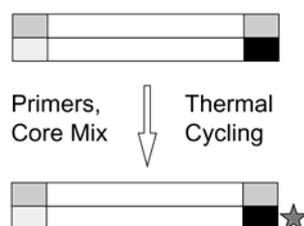


図 1-3 5' 蛍光色素標識プライマーによる Selective Amplification

電気泳動と Data Collection

増幅したサンプルにサイズ スタンダードを追加すると、これらは、互換性のある Applied Biosystems 社製のシーケンサにロードされ、電気泳動分離および蛍光検出が行われます。電気泳動中に、装置は、フラグメントがレーザー光線を通して移動する際に出す光の変動を検出することで、ポリマー中の 5' 蛍光色素標識フラグメントをモニタリングします。完了後、装置は、各サンプルに対するスペクトル データを組み合わせて (図 1-4 を参照)、サンプル ファイルとして保存するか、アプリケーション データベースに保存します。

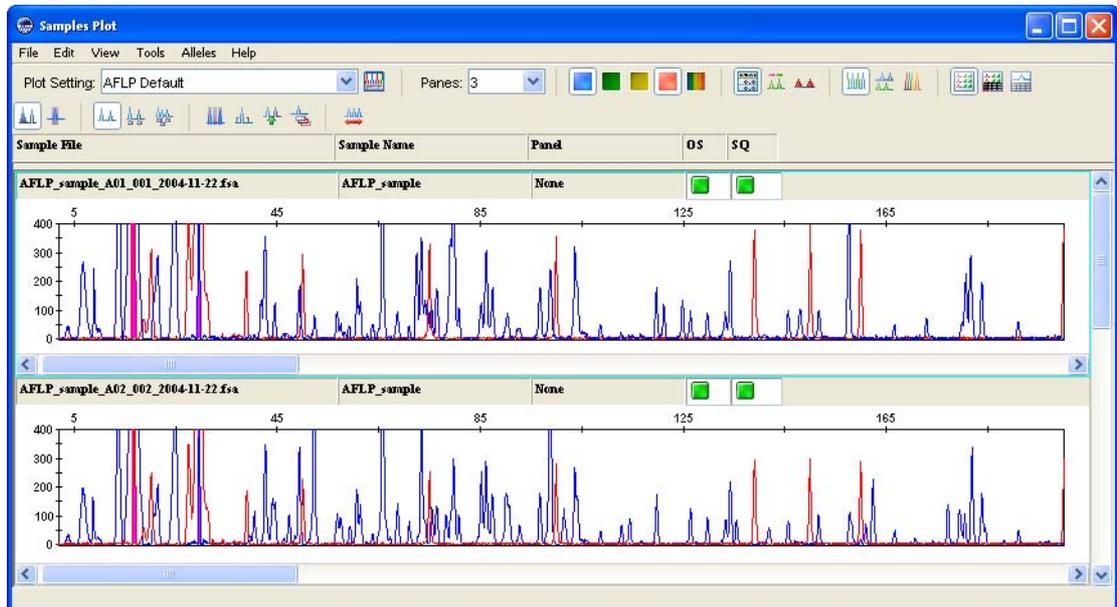


図 1-4 このガイドで提供されるサンプル ファイルのシグナル データ (エレクトロフェログラム) (5 ページの「データ例について」を参照)

互換性のある装置

互換性のある Applied Biosystems 社製のシーケンサおよびケミストリのリストは、『GeneMapper® Software Version 4.0 Quick Reference Guide』(PN 4362816) を参照してください。

使用可能な AFLP ケミストリ キット

GeneMapper ソフトウェアは、数種類の AFLP フラグメント解析ケミストリ キットを使用して作成されたデータを解析できます。Applied Biosystems から入手可能な AFLP ケミストリ キットの完全なリストは、Applied Biosystems の Web サイト (www.appliedbiosystems.co.jp) を参照してください。

データ例について

サンプル ファイル の場所と機能

このガイドでは、AFLP 実験におけるデータ セット例の解析を段階的に示すことで、AFLP サンプル データの解析方法を説明します。このガイドの演習で参照されるサンプル ファイル例は、GeneMapper ソフトウェアと共に自動的にインストールされ、次の場所に配置されます。

```
<drive>:\AppliedBiosystems\GeneMapper\Example Data\AFLP Data
```

注： 上記の場所は、ソフトウェアがインストールされているドライブによって異なります。

実験について

GeneMapper ソフトウェアで提供される AFLP サンプル ファイル例は、サンプル同定演習の一環として作成されています。サンプルは、5' FAM™ 標識セレクトティブ プライマーを含む Applied Biosystems AFLP® Plat Mapping Kit を使用して調製されています。サンプルは、Applied Biosystems が提供する GeneScan™-500 (ROX™) サイズ スタンダードを使用して、Applied Biosystems 3100 ジェネティック アナライザでランされています。

Panel と Bin Set の例

AFLP データ セット例の解析に使用される Panel と Bin Set は、GeneMapper ソフトウェアで自動的に作成されます。詳細については、[14 ページの「Automatic Panel Generation」](#)を参照してください。

AFLP システム解析のワークフロー

解析ワークフロー 図 1-5 は、AFLP サンプルで同時に示されるバンド パターンを研究するためのプロセスを要約したものです。

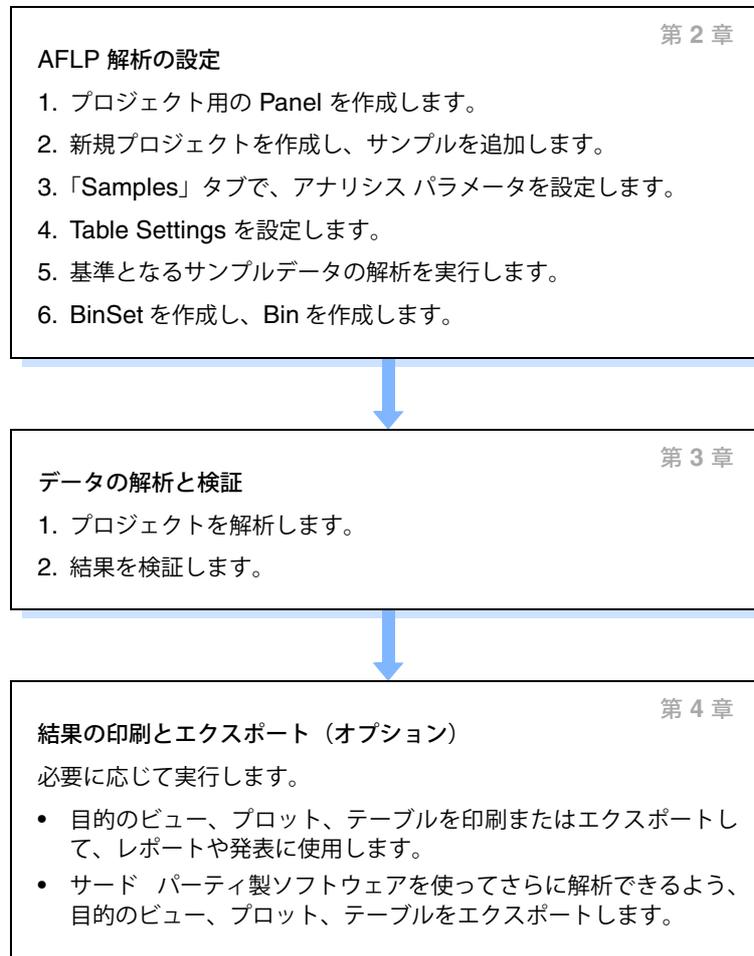


図 1-5 AFLP システム データの解析

GeneMapper ソフトウェアの用語

表 1-1 このガイドで使用される一般的用語

用語	定義
アナリシス パラメータ	ユーザが定義する設定の集合 (Analysis Method など)。プロジェクトに含まれるすべてのサンプルを解析するために GeneMapper ソフトウェアで使用されるサイジング アルゴリズムとジェノタイピング アルゴリズムを決定します。
Bin/ ビン	アレルを定義するためのフラグメント サイズと蛍光色素の色。Bin は、通常、Marker と関連付けられる可能性のある各アレルに対して作成します。
Bin Set/ ビン セット	Bin の集合 (すなわちアレル定義)。通常は、一連の実験条件に対して固有です。
Kit/ キット	Panel のグループ。
Marker / マーカ	2 つ以上のアレル形態を有する既知の DNA セグメント。Marker は既知の染色体の遺伝子座に存在し、遺伝子と非遺伝子があります。Marker は、名前、フラグメント サイズ レンジ (bp)、蛍光色素、反復長によって定義されます。AFLP 解析の場合は、各セレクトティブ プライマーに対する名前、蛍光色素、解析対象のフラグメント サイズ レンジ (bp) を定義します。
Panel/ パネル	Marker のグループ。通常は、一連の実験条件に対して固有です。
RFU	Relative Fluorescent Units の略語。検出された蛍光色素のシグナル強度。

ソフトウェアの起動とログイン

GeneMapper ソフトウェアの起動

1. デスクトップで、 GeneMapper v4.0 をダブルクリックします (「Start」 ▶ 「Programs」 ▶ 「Applied Biosystems」 ▶ 「GeneMapper」 ▶ 「GeneMapper v4.0」)。
2. 「Login to GeneMapper」 ダイアログ ボックスで User Name と Password にシステム管理者によって割り当てられたユーザ名とパスワードを入力します。
3. 「OK」 をクリックします。

ユーザ独自のサンプル ファイルを使う場合のこのガイドの使用

このガイドを使用して、ソフトウェアで供給されるデータ例を解析するだけでなく、ユーザ独自のサンプル ファイルを解析する際に、一般的な AFLP 解析のワークフロー全体を実行することができます。ソフトウェアの高度な機能に関する詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。

GeneMapper ソフトウェア v3.7 を使う場合のこのガイドの使用

このガイドに記載されているワークフローおよび手順は、GeneMapper ソフトウェア v3.7 でも有効です。

重要! GeneMapper ソフトウェア v3.7 には、このガイドの演習で使用する正確なデータ例が含まれていません。このため、GeneMapper ソフトウェア v3.7 を使用する場合、参照されるデータ例の解析に、このガイドを使用しないでください。ただし、独自のサンプル ファイルを解析する際の AFLP 解析ワークフローに、このガイドを使用することは可能です。

このガイドにおける手順のその他の方法

概要

このガイドでは、GeneMapper ソフトウェアを使用して AFLP データを解析できるいくつかの解決策を記載しています。このガイドの演習を完了後、ご自身の研究室の要件に特化してプロセスをカスタマイズする場合に備え、この節では、いくつかの代替方法の要約と詳細情報の参照先を提供します。

自動解析を使用したプロジェクトの設定

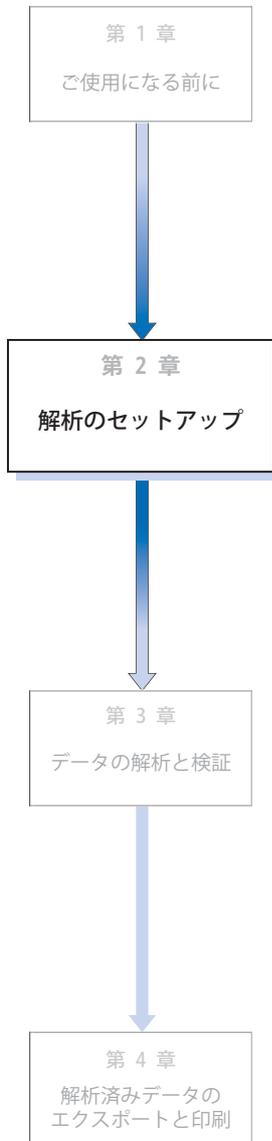
GeneMapper ソフトウェアには自動解析機能が備わっており、これを利用すれば AFLP 解析プロジェクトに関連するタスクの大部分を排除できます。第2章「解析のセットアップ」の大部分は、プロジェクトを手動で作成し、サンプルを追加し、解析する方法の説明です。自動解析を設定すると、GeneMapper ソフトウェアは、Data Collection ソフトウェアと連携して、自動的に該当のタスクを実行します。自動解析機能を使用して AFLP プロジェクトを設定する方法の詳細については、『GeneMapper® Software Version 4.0 Installation and Administration Guide』(PN 4363080)を参照してください。

コマンドライン インタフェースを使用したプロジェクトの設定

GeneMapper ソフトウェアでは、コマンドライン インタフェースを介して、ソフトウェアの主要機能を大部分実行することができます。コマンドライン インタフェースは、第2章「解析のセットアップ」で説明されている多くのタスクを自動化できるため、AFLP プロジェクトを解析する際非常に便利なツールです。コマンドライン インタフェース、およびこれを使用して GeneMapper ソフトウェアの機能を自動化する方法の詳細については、『GeneMapper® Software Version 4.0 Installation and Administration Guide』(PN 4363080)を参照してください。

2

解析のセットアップ



この章では、次の項目について説明します。

- 概要..... 10
- プロジェクトの作成..... 10
- プロジェクトへのサンプルの追加..... 11
- Analysis Method の作成..... 12
- アナリシス パラメータの適用..... 21

概要

章の構成

この章では、次の項目について説明します。

- プロジェクトの作成
- サンプル ファイルからプロジェクトへのサンプルの追加
- Analysis Method の作成と、解析のためのカスタマイズ
- 解析の準備におけるプロジェクト用アナリシス パラメータの設定

詳細情報

この章では、AFLP® システムのデータセットの解析に関するソフトウェア機能の一部を説明します。ユーザ インタフェースの全機能に関する詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。オンライン ヘルプへのアクセス方法については、vii ページの「オンライン ヘルプからの情報の入手」を参照してください。

プロジェクトの作成

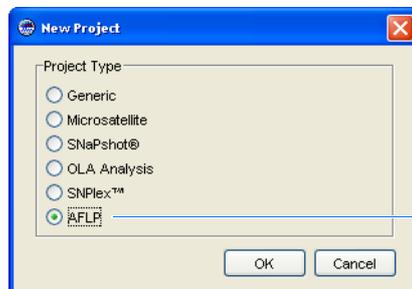
概要

GeneMapper ソフトウェアで提供される AFLP データ セット例の解析に使用するプロジェクトの作成方法を説明します。ソフトウェアでは、解析用のサンプル データとアナリシス パラメータを編成するためにプロジェクトを使用しますが、これらのプロジェクトをロックまたは変更するわけではありません。従って、同じサンプル データ、Analysis Method、サイズスタンダード定義、Panel および Bin Set を、複数のプロジェクトで共有できます。

注： GeneMapper ソフトウェアの自動解析機能をインストールすると、プロジェクトを自動的に作成するよう設定できます。自動解析機能の詳細については、『GeneMapper® Software Installation and Administration Guide』(PN 4363080) を参照してください。

プロジェクトの作成

1. GeneMapper ソフトウェアを起動してログインします (7 ページの「ソフトウェアの起動とログイン」を参照)。
2. 「GeneMapper」ウィンドウで、 をクリックします (「File」 ▶ 「New Project」)。
3. 「New Project」ダイアログボックスで、AFLP を選択し、「OK」をクリックします。GeneMapper v3.7 ではこのダイアログボックスは表示されません。そのままステップ 4 へ進みます。



AFLP プロジェクト
設定

4. 11 ページの説明に従って、サンプル ファイルをプロジェクトに追加します。

プロジェクトへのサンプルの追加

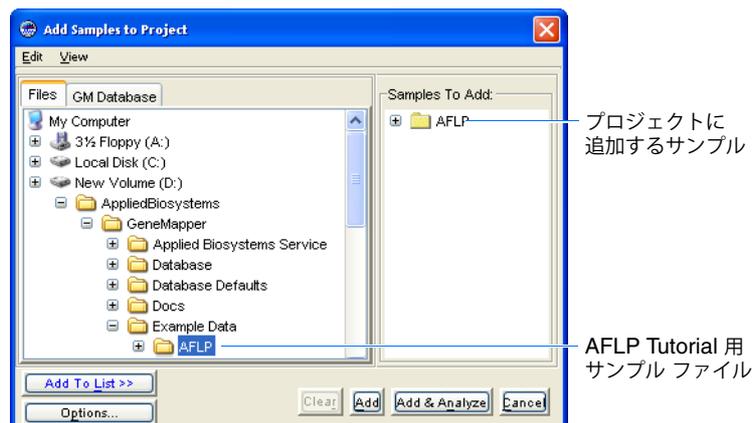
概要

この手順では、GeneMapper ソフトウェアで提供される AFLP データ セット例を、サンプル ファイル (*.fsa) からプロジェクトに追加します。サンプル ファイルをプロジェクトに追加すると、ソフトウェアは、データベースにデータを保存し、「GeneMapper」ウィンドウの「Samples」タブに関連するサンプル情報を表示します。

注： GeneMapper ソフトウェアの自動解析機能をインストールすると、プロジェクトにサンプル データが自動的に追加されます。自動解析機能の詳細については、『GeneMapper® Software Installation and Administration Guide』(PN 4363080) を参照してください。

サンプルの追加

1.  をクリックします（「File」 ▶ 「Add Samples to Project」）。
2. 「Add Samples to Project」ダイアログ ボックスで、「Files」タブを選択します。
3. Example Data フォルダに次のとおり移動します。
<drive>:\AppliedBiosystems\GeneMapper\Example Data\
4. AFLP フォルダを選択します。
5. 「Add to List >>」をクリックします。



6. 選択したフォルダ内のすべてのファイルをプロジェクトに追加するには、「Add」をクリックします。
7. 12 ページの説明に従って、Analysis Method を作成します。

Analysis Method の作成

概要

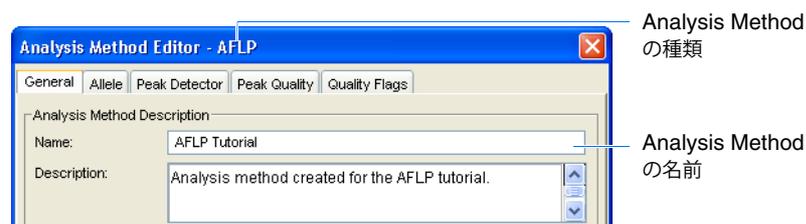
この手順では、データセット例をサイジングし、プロジェクト用の Panel と Bin Set を自動的に作成する Analysis Method を作成します。

Analysis Method について

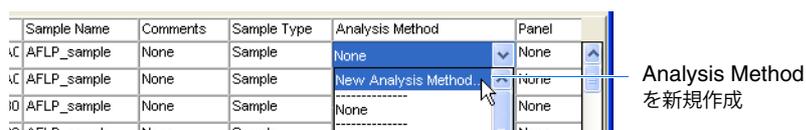
Analysis Method は、GeneMapper ソフトウェアが実行する解析方法を多くの側面（ピーク検出、アレル コーリング、Peak Quality 評価、Process Quality 決定）で制御する設定の集合です。Analysis Method の設定は、アプリケーション固有です。たとえば、この節で説明されている Panel および Bin の自動作成機能は、AFLP Analysis Method でのみ使用することができます。また、Analysis Method は、プロジェクトやサンプル データに依存していないため、複数のプロジェクトに同時に適用して使用することができます。

Analysis Method の作成

1. 「GeneMapper」 ウィンドウで、 をクリックします（「Tools」 ▶ 「GeneMapper Manager」）。
2. GeneMapper Manager で、「Analysis Methods」 タブを選択します。
3. 「Analysis Methods」 タブで、「New」 をクリックします。
4. 「New Analysis Method」 ダイアログ ボックスで、AFLP を選択し、「OK」 をクリックします。
5. 「Analysis Method Editor」 ダイアログ ボックスの「General」 タブで、Analysis Method の名前として AFLP Tutorial と入力します。



注：「Analysis Method」 カラムの最初のセルをクリックし、「New Analysis Method」を選択することで、Analysis Method を作成することもできます。



「Allele」 タブ設定項目の設定

設定について

「Allele」 タブでの設定は、GeneMapper ソフトウェアが、解析のピーク検出段階の後でサンプル データからアレル コールする方法を定義します。この設定には、Automatic Panel Generation（14 ページを参照）と、アレル コーリングの標準化（16 ページを参照）という AFLP データの解析に固有の 2 つの機能が含まれます。

設定項目の設定

注：14 ページの図 2-6 に、この手順において「Allele」タブで行う変更を示します。

1. 「Analysis Method Editor」 ダイアログ ボックスで、「Allele」 タブを選択します。
2. Analyze Dyes 設定で、Blue を選択します。

Analyze Dyes 設定は、アレル コールに使用される蛍光シグナル データを定義します。この手順で Blue を選択する理由は、データセット例のサンプルが、FAM™ で標識されたセレクトティブ プライマーを使用して増幅されているためです。

3. Analysis Range 設定で、ソフトウェアが指定するデフォルトの塩基対の範囲が 50 ~ 500 bp であることを確認します。

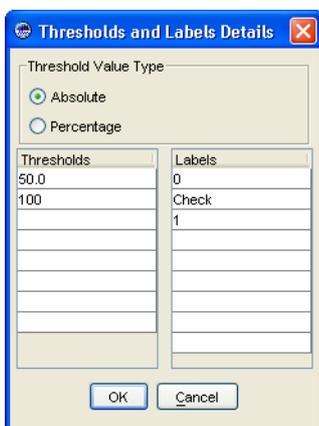
Analysis Range 設定では、アレル コーリング解析の実行に使用される範囲の制限を指定します。この手順ではデフォルトの範囲を使用するため、50 bp 未満または 500 bp を上回るピークは読み取られません。

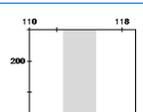
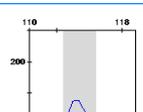
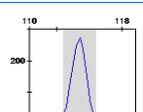
重要! Analysis Range 設定では、ピーク サイジングおよびピーク検出機能の範囲は制限されません。

4. Panel 設定で、Generate panel using samples を選択し、Panel の自動作成を設定します。詳細については、14 ページの「Automatic Panel Generation」を参照してください。
5. Allele Calling 設定では、AFLP アレルのバイナリ スコアリングを実行するようソフトウェアを設定します。
- 「Edit Labels」をクリックします。
 - 「Thresholds and Labels Details」ダイアログ ボックスの「Thresholds」カラムで、最初の列に 50、2 番目の列に 100 と入力します。
 - 「Labels」カラムで、最初の列に 0、2 番目の列に Check、3 番目の列に 1 と入力します（下の図を参照）。
 - 「OK」をクリックしてダイアログ ボックスを閉じます。

注：または、Name alleles using bin names を選択することにより、関連付けられた Bin のおおよその位置（単位：bp）を使用して各アレルをラベルするようソフトウェアを設定できます。

次の図は、「Thresholds and Labels Details」ダイアログ ボックスの設定がどのように適用されるかを示しています。



ピーク高 (h)	例	コール												
$h < 50 \text{ RFU}$		<table border="1" style="font-size: small;"> <tr><td>Allele 27</td><td>Allele 28</td><td>Allele 29</td></tr> <tr><td>0</td><td>0</td><td>Check</td></tr> <tr><td>1</td><td>0</td><td>1</td></tr> <tr><td>0</td><td>Check</td><td>1</td></tr> </table>	Allele 27	Allele 28	Allele 29	0	0	Check	1	0	1	0	Check	1
Allele 27	Allele 28	Allele 29												
0	0	Check												
1	0	1												
0	Check	1												
$50 \text{ RFU} \leq h < 100 \text{ RFU}$		<table border="1" style="font-size: small;"> <tr><td>Allele 27</td><td>Allele 28</td><td>Allele 29</td></tr> <tr><td>1</td><td>0</td><td>1</td></tr> <tr><td>0</td><td>Check</td><td>1</td></tr> <tr><td>0</td><td>0</td><td>1</td></tr> </table>	Allele 27	Allele 28	Allele 29	1	0	1	0	Check	1	0	0	1
Allele 27	Allele 28	Allele 29												
1	0	1												
0	Check	1												
0	0	1												
$h \geq 100 \text{ RFU}$		<table border="1" style="font-size: small;"> <tr><td>Allele 27</td><td>Allele 28</td><td>Allele 29</td></tr> <tr><td>0</td><td>0</td><td>1</td></tr> <tr><td>0</td><td>1</td><td>Check</td></tr> <tr><td>0</td><td>0</td><td>1</td></tr> </table>	Allele 27	Allele 28	Allele 29	0	0	1	0	1	Check	0	0	1
Allele 27	Allele 28	Allele 29												
0	0	1												
0	1	Check												
0	0	1												

6. Allele Calling 設定で Delete common alleles を選択すると、プロジェクト内のすべてのサンプルに存在するピークのジェノタイプコーリングが、解析済みデータ セットから削除されます。機能の詳細については、15 ページの「Delete Common Alleles 機能について」を参照してください。

注：Delete common alleles オプションを選択したが、特定の Peak Height Ratio を上回るピークを読み取らせたい場合、Do not delete if Peak Height Ratio exceeds を選択し、閾値とする値を入力します。

7. Normalization (標準化) 設定を次のとおり設定します。

- a. Normalization Scope 設定で、Project を選択します (オプション)。
- b. Normalization Method 設定で、Sum of Signal を選択します (オプション)。

標準化機能の詳細については、16 ページの「アレル コーリングの標準化」を参照してください。

注： Normalization 設定をよく理解するには、手順 7a と 7b のオプションを変更しながら、このガイドで説明されている解析を繰り返してください。異なる Normalization Method 設定の結果は、作成される Genotypes テーブルのアレル コールを比較すると、明確になります。

8. 17 ページの説明に従って、Peak Detector 設定を設定します。

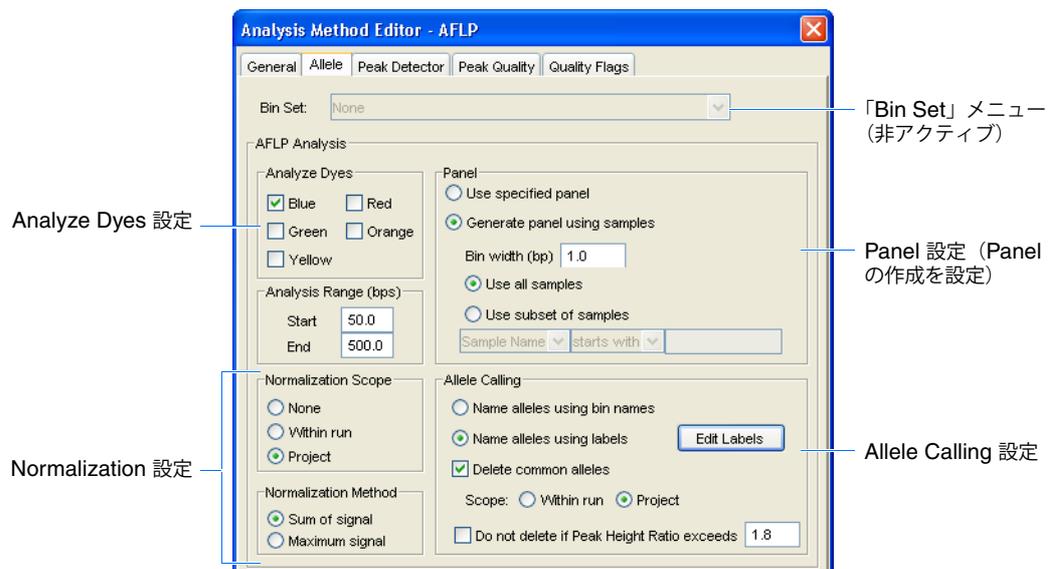


図 2-6 AFLP Analysis Method の Allele Calling 設定

Automatic Panel Generation

Automatic Panel Generation 機能では、AFLP プロジェクトのサンプル内に存在するピークに基づいて、Panel と Bin を自動的に作成できます。通常、AFLP 実験にはゲノムのシーケンス情報を使用できないため、多くの場合、作成されるフラグメント サイズと分布は予測できません。AFLP データは数百ものピークから構成される場合があるため、Panel および Bin Set を手動により作成すると非常に時間がかかり、非現実的です。Automatic Panel Generation 機能では、「Allele」タブで定義したルール セットに基づき、プロジェクト用に Panel と Bin Set を自動的に作成するよう設定して、この問題を解決します。

注： 各 AFLP 解析について、Panel および Bin Set の再作成を繰り返す必要はありません。このガイドで説明するとおり、作成した Panel と Bin Set は保存し、必要に応じて他のプロジェクトで使用したり、編集したりすることができます。

バッククロス解析のための Panel Generation 設定の変更

AFLP データのバッククロス比較を実行している場合、Panel 設定により、プロジェクトの親サンプルのみを使用して Panel が作成されるようにソフトウェアを設定できます。ただし、プロジェクト データの一部から Panel を作成するには、他のサンプルと区別可能な表記法に従って親サンプルを命名する必要があります。たとえば、15 ページの図 2-7 の A のように Panel を設定すると、すべての親サンプルの接頭辞に P が付く (例: P1-Dermis20051105) プロジェクトから Panel を作成できます。

または、「Samples」タブ（テーブル右側）の「user defined (UD)」カラムの 1 つにラベルを入力することにより、親サンプルを特定して Panel を作成することができます。たとえば、15 ページの図 2-7 の (B) のように Panel を設定すると、「Samples」タブの「UD1」カラムで、親サンプルの列にラベル「P1」または「P2」が含まれるプロジェクト用のパネルを作成できます。

注：親サンプルの名前がプロジェクトの他のサンプルと区別できないものである場合、親サンプルのみの基礎解析を実行することにより、Panel を作成できます。親サンプルを基準とした解析から作成された Panel は、サンプルセット全体の解析に使用することができます。

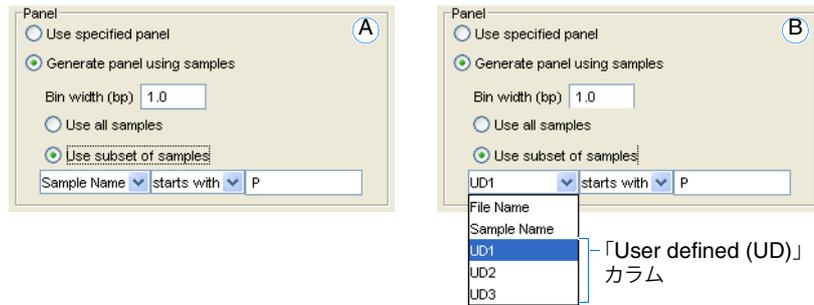


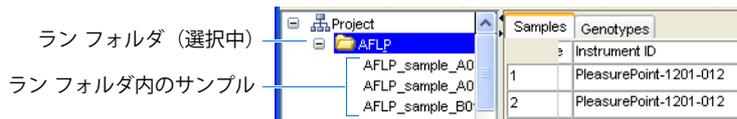
図 2-7 バッククロス解析用の Panel 設定の例。(A) は接頭辞「P」を含む親サンプル、(B) は「UD」カラムのラベルが「P1」または「P2」の親サンプル

Delete Common Alleles 機能について

Allele Calling 設定（15 ページの図 2-8 を参照）の Delete common alleles 機能を使用して、AFLP プロジェクト用に作成されたアレル コールを単純化することができます。サンプルが示すバンドパターンの複雑さによっては、AFLP プロジェクトの Bin Set を構成するアレルの数が 100 を超えることもあります。Delete common alleles オプションを使用すると、サンプルを区別するピークのみを読み取るようにソフトウェアを設定することにより、Bin の数を管理しやすい数にまで減らすことができます。

Delete common alleles 機能は、次の Scope 設定に基づいて適用されます。

- Within run — 同じランフォルダ内の他のサンプルと共通のアレルを削除します。



- Project — プロジェクトのすべてのサンプルに共通のアレルを削除します。

Peak Height Ratio 設定の使用

Peak Height Ratio 設定により、共通のピークの Peak Height Ratio により定義されるしきい値（最大 / 最小）に基づいて、共通アレルの削除を制限します。たとえば、特定の Bin に対して共通のピークを持つ 10 個のサンプルを含むプロジェクトは、15 ページの図 2-8 に示される Allele Calling 設定を備えた Analysis Method を使用して解析されます。解析中、10 個のピークの最小ピーク高に対する最大ピーク高の比率が算出されます。算出された比率が 1.8（Analysis Method での設定）を上回る場合、すべてのピークは潜在的多型（ポリモルフィズム）として保持されます。1.8 以下の場合、共通のピークは解析から削除されます。



図 2-8 Allele Calling 設定の Peak Height Ratio 機能

アレル コーリング
の標準化

AFLP Analysis Method の標準化機能により、解析でアレル コーリングを行う前に、AFLP サンプル間のシグナル強度の差による影響を最小化します。ケミストリの違い（最初のプレート濃度や増幅効果の違いなど）および泳動状況により、AFLP サンプルから取り込まれる蛍光シグナルの強度に影響が出る場合があります。解析中に生じるサンプル間のピーク高の差は、ソフトウェアでこれらを法則性をもって補正しない限り、アレル コーリングに影響を与えます。

標準化を設定すると、GeneMapper ソフトウェアは、解析におけるピーク検出の後、アレル コーリングの直前に、各蛍光シグナルについて次の操作を独立して実行します。

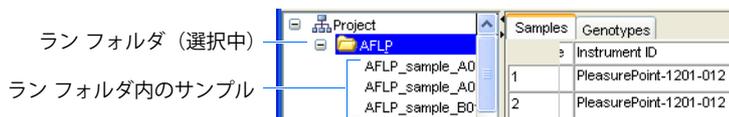
1. Normalization Method 設定（Sum of Signal または Maximum Signal）に基づいて、Normalization Scope 設定（Within Run または Within Project）で定義した集合の各サンプルについて、標準化因子を算出します。
2. Normalization Scope 設定で定義されたサンプル集合について、平均した標準化因子を作成します。
3. ソフトウェアは、各サンプルについて次を行います。
 - a. 集合内の平均標準化因子に対するサンプルの標準化因子の比率を算出します。
 - b. サンプルのシグナルに、算出された標準化因子の比率を乗じます。

注：GeneMapper ソフトウェア v4.0 では、個々の、または平均した標準化因子を表示することはできません。

Normalization Scope

Normalization Scope 設定では、標準化操作に含まれるサンプルの母集合を定義します。

- **None** — データの標準化は行われません。
- **Within Run** — 同じランフォルダ内に存在する他のサンプルに対して、各サンプルの蛍光シグナルを標準化します。



- **Project** — プロジェクトにあるすべてのサンプルの集合に対して、各サンプルの蛍光シグナルを標準化します。

Normalization Method

Normalization Method 設定では、Normalization Scope 設定で定義されるサンプルの母集合に対する標準化因子を算出する方法を定義します。

- **Sum of Signal** — 各サンプルの解析範囲内のシグナルを合計し、Normalization Scope 設定で定義されたすべてのサンプルの平均を算出します。次に、各サンプルの標準化因子を、平均に対するサンプルの合計の比率として算出します。

- **Maximum Signal** – 各サンプルの解析範囲内の最大シグナルを特定し、Normalization Scope 設定で定義されたすべてのサンプルの平均を算出します。次に、各サンプルの標準化因子を、平均に対するサンプルの最大シグナルの比率として算出します。

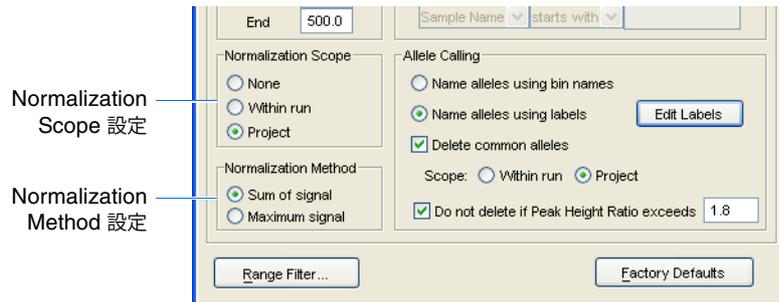


図 2-9 アレル コーリングの標準化設定

「Peak Detector」タブ設定項目の設定

設定について

「Peak Detector」タブの設定では、ピーク データの検出およびサイジングに GeneMapper ソフトウェアが使用する方式を定義します。

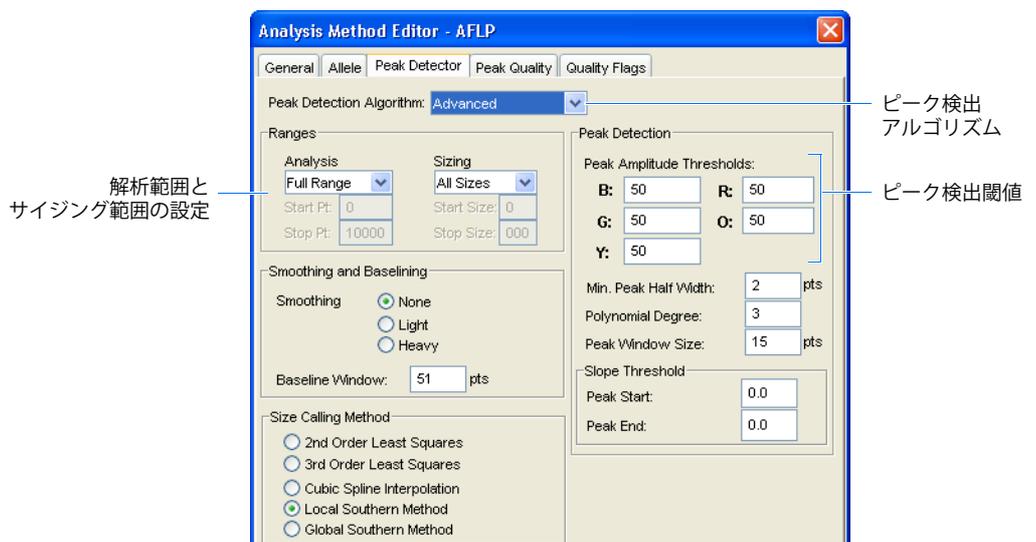
設定項目の設定

1. 「Peak Detector」タブを選択します。
2. 「Peak Detector」タブの最上部で、「Peak Detection Algorithm」 ▶ 「Advanced」を選択します。
3. デフォルトのピーク検出設定を確認して、そのまま受け入れます。

Peak Detection Algorithm のデフォルト設定である Advanced は、データ セット例の解析に適しています（このガイドの後半では変更します）。ユーザ独自のプロジェクトにあわせて設定を編集するための参照情報を下記に示します。

注： Peak Detection 設定の詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。

4. 18 ページ の説明に従って、Peak Quality 設定を設定します。



AFLP 解析に重要な設定

Peak Detection 設定は、GeneMapper ソフトウェアによって実行されるすべての解析に共通ですが、Range および Peak Amplitude の設定は、AFLP 解析にとって特に重要です。

Ranges 設定

Ranges 設定では、プロジェクト用サンプル ファイルの Raw Data のピークを検出する際に使用されるデータ ポイント範囲を定義します。この設定は、2 組の制限値で構成されており、ピーク検出解析のまったく異なる 2 つの側面で範囲を制御します。

- **Analysis Range** – ソフトウェアが Raw Data 内のピークを検出するデータ ポイント範囲を定義します。Partial Range オプションを選択すると、「Start Pt」および「Stop Pt」フィールドで指定した範囲内のデータ ポイントのみを解析します。
- **Sizing Range** – 処理データ内でソフトウェアがピークを検出するフラグメントサイズの範囲を定義します。Partial Range オプションを選択すると、「Start Size」および「Stop Size」フィールドで指定した範囲内のピークのみを解析します。

重要！ サイズ スタンダード ピークを解析から除外しないよう、Analysis Range の限度を設定してください。「Peak Detector」タブの Sizing Range 設定は、サイズ スタンダード定義で指定される範囲と一致している必要があります。一致していないと、1 つまたは複数のスタンダード ピークが解析から除外され、関連するサンプルが正確にサイジングされません。

Peak Amplitude Thresholds

Peak Amplitude Threshold 設定では、Raw Data 内の各蛍光色素色のピークを特定するために使用される最小のシグナル強度を定義します。ピーク検出過程として、ソフトウェアは、各サンプルのシグナル データを、関連付けられた蛍光色素色の閾値設定と比較します。シグナル強度が閾値以上になると、そのシグナルは、ピークである可能性があるとして、その位置で評価されます。

AFLP データのピーク高には大幅な変動があるため、Peak Amplitude Threshold 設定は AFLP サンプルの解析において特に重要です。AFLP フラグメントの作成に使用されるケミストリによっては、AFLP サンプル データのピーク高は大きく変動します。ソフトウェアは、シグナル変動をある程度修正しますが、最適なパフォーマンスを得るには Peak Amplitude Threshold 設定を調整する必要があります。それぞれの色に対する閾値設定は、最も弱いピークでも検出できるよう十分低く、かつノイズを排除するためバックグラウンドを上回る十分な高さが必要です。

「Peak Quality」タブ設定項目の設定

設定について

「Peak Quality」タブでは、「Genotypes」タブに表示されるそれぞれの PQV テストをどのように実行するかを制御する設定を行います。

設定項目の設定

1. 「Peak Quality」タブを選択します。
2. デフォルトの Peak Quality 設定を確認して、そのまま受け入れます。
デフォルト設定は、データ セット例の解析に適しています。下記に示すのは、ユーザ独自のプロジェクトの設定を編集するための参照情報です。
3. [19 ページ](#) の説明に従って、Quality Flags 設定を設定します。

Peak Morphology 設定

Max Peak Width 設定では、Broad Peak PQV テストの実行に使用される上限を定義します。ピーク基底部の領域が指定した値よりも広い場合、関連するサンプルに対して ▲ (Check) が「Genotypes」タブの「BD PQV」カラムに表示されます。

ピーク設定

Pull-Up Ratio 設定では、プルアップ ピークの検出に使用される比率の閾値を定義します。それぞれのピークの位置において、解析された蛍光シグナルの比率が算出されます。あるピークにおいて蛍光シグナルの比率が Pull-Up Ratio 値を上回る場合、関連するサンプルに対して、「Genotypes」タブの「SPU PQV」カラムに ▲ (Check) が表示され、プルアップ ピークの可能性を示します。

Pull-Up Scan 設定では、隣接する蛍光色素によるプルアップピークが検出されたピークからの距離をデータポイントで定義します。たとえば、データ ポイント 3760 で特定のピークが発生し、Pull-Up Scan 設定が 1 の場合、ソフトウェアは、隣接する蛍光シグナルでデータ ポイント 3759 ~ 3761 をテストし、プルアップ ピークをスキャンします。

「Quality Flags」 タブ設定項目の設定

設定について

「Quality Settings」タブでは、PQV の加重および閾値を設定します。

設定項目の設定

1. 「Quality Flags」タブを選択します。
2. デフォルトの Quality Flags 設定を確認して、そのまま受け入れます。
デフォルトの Quality 設定は、データ セット例の解析に適しています。下記に示すのは、ユーザ独自のプロジェクトの設定を編集するための参照情報です。
3. 設定の確認が完了したら、「OK」をクリックして、AFLP Tutorial Analysis Method を保存します。
4. 「Done」をクリックして GeneMapper Manager を閉じます。
5. [21 ページ](#) の説明に従って、アナリシス パラメータをプロジェクトに適用します。

Quality Flag Settings

Quality Flag Settings では、関連付けられた PQV がプロジェクトの Genotype Quality (GQ) 値に影響する範囲を定義します。各設定は、0 と 1 の間の値（加重）で構成され、次の数式に基づいて、関連付けられた PQV の影響を定義します。

$$GQ = MQ \times (1 - SPU) \times (1 - BD) \times (1 - OS)$$

ここで、

- BD – Broad Peak PQV テストの Quality Flag Setting
- GQ – 設定のジェノタイプの Genotype Quality PQV
- MQ – 設定のジェノタイプの Marker Quality 値
- OS – Off-Scale PQV テストの Quality Flag Setting
- SPU – Spectral Pull-Up PQV テストの Quality Flag Setting

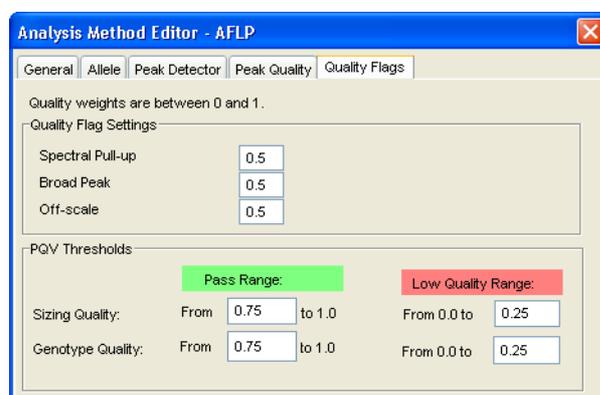
注：BD、GQ、MQ、OS、SPU の各 PQV に関する詳細については、『GeneMapper® Software Version 4.0 Reference and Troubleshooting Guide』(PN 4366831) を参照してください。

たとえば、Max Peak Width 閾値を上回るピークが含まれるためにサンプルが BD (Broad Peak) テストに失敗すると、GQ 値の作成に使用される数式には BD Quality Flag 設定が適用されます。次の表は、BD PQV の加重として割り当てられる各値が与える影響を要約して示しています。

BD Quality Flag Setting	GQ PQV への影響
0	影響なし
0.5	GQ 値を 2 分の 1 に削減
1	GQ 値を 0 に削減

PQV Thresholds

PQV Thresholds では、「SQ (Sizing Quality)」カラムおよび「GQ (Genotype Quality)」カラムで、■ (Pass)、▲ (Check)、● (Low Quality) が表示されるかを決定する範囲を定義します。ソフトウェアが実行する SQ および GQ 評価によって、0 ~ 1 の値が算出されます。Analysis Method の「Peak Quality」タブの PQV Threshold 設定に基づいて、各値が適切なアイコンに変換されて表示されます。



上の図に示すデフォルトの PQV Threshold 設定に基づいて、SQ および GQ の各アイコンは次のように適用されます。

SQ/GQ 値 (v)	「SQ」および「GQ」カラムに表示されるアイコン
$0.75 \leq v$	■ (Pass)
$0.25 < v < 0.75$	▲ (Check)
$v \leq 0.5$	● (Low Quality)

アナリシス パラメータの適用

概要

この手順では、AFLP Tutorial プロジェクトのサンプルに、Analysis Method とサイズスタンダードを適用します。

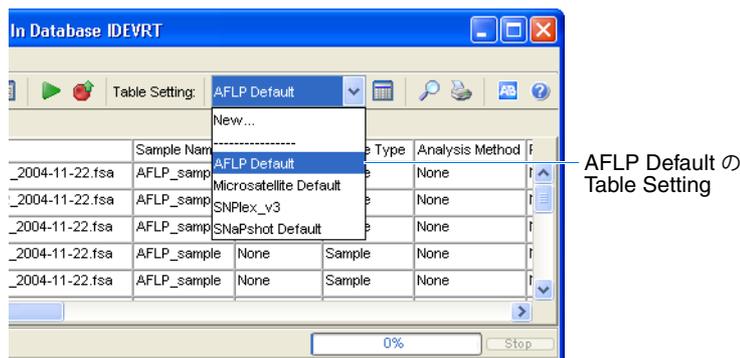
注： GeneMapper ソフトウェアの自動解析機能を使用して電気泳動すると、アナリシス パラメータを自動的に適用するよう設定できます。自動解析機能の詳細については、『GeneMapper® Software Installation and Administration Guide』(PN 4363080) を参照してください。

Table Setting の適用

AFLP Default の Table Setting は、「Samples」タブと「Genotypes」タブを設定して、AFLP データの解析に関連するカラムのみを表示するようにします。カスタムの Table Settings の作成に関する詳細については、[vi ページの「関連資料」](#)の説明に従って、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。

AFLP Default の Table Setting を適用するには、次の手順を実行します。

ツールバーで、「Table Setting」▶「AFLP Default」の順に選択して、デフォルトの AFLP Table Setting を新規プロジェクトに適用します。



アナリシス パラメータの適用

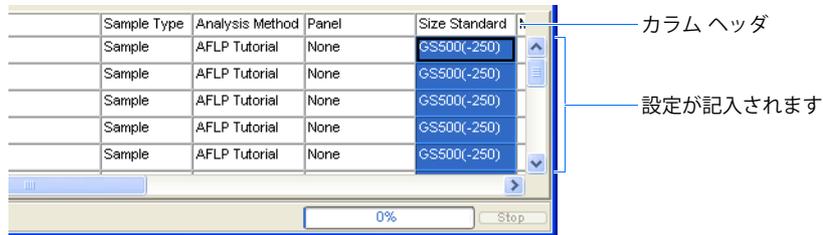
- 「GeneMapper」ウィンドウの「Samples」タブで、プロジェクトの最初のサンプルに対する設定を次のとおり設定します。
 - 「Analysis Method」カラムで最初のセルをクリックし、AFLP Tutorial (12 ページで作成) を選択します。
 - 「Size Standard」カラムで最初のセルをクリックし、GS500(-250) を選択します。

重要！ AFLP Tutorial の Analysis Method が Panel を自動的に作成するように設定されているため、「Panel」カラムのセルは None に設定されている必要があります。

- [Ctrl] キーを押しながら、「Analysis Method」、「Panel」、「Size Standard」カラムのヘッダを選択します。

- 「Edit」 ▶ 「Fill Down」を選択し（[Ctrl] + [D] キー）、最初のサンプル（列）の設定を残りのサンプルに適用します。

重要！ Analysis Method、Panel、Size Standard の設定は、すべてのサンプルについて同一である必要があります。



- 第3章の説明に従って解析を実行します。

アナリシス パラメータの一致の検証

アナリシス パラメータの矛盾は、プロジェクト解析の際に発生する問題の多くの原因です。設定が一致していない場合、ソフトウェアはサンプルのサイジングやジェノタイピングができず、解析を開始することさえできない場合があります。従って、何らかの解析を開始する前に、問題を発生させる可能性のある次の領域で、矛盾がないかチェックしてください。

- **アナリシス パラメータの一致** – Analysis Method、Panel、Size Standard の設定は、すべてのサンプルについて同一である必要があります。
- **解析範囲/サイジング範囲の一致** – プロジェクト内のサンプルに適用される Analysis Method の Analysis Range および Sizing Range で、最大値と最小値が一致している必要があります。
- **Analysis Method/Size Standard の一致** – プロジェクト内のサンプルに適用されるサイズスタンダード定義には、Analysis Method の Analysis Ranges または Sizing Ranges の範囲を逸脱するフラグメント サイズが含まれてはなりません。
- **Panel および Bin Set の一致** – Analysis Method で指定された、サンプルで使用される Bin Set は、「Samples」タブの「Panel」カラムに表示される Panel でも使用する必要があります。

注：アナリシス パラメータまたは Panel/Bin Set の矛盾が発見されると、図 2-10 に示すようなメッセージが表示されます。解析範囲またはサイジング範囲の矛盾が発見された場合、警告メッセージは表示されませんが、他の現象（プロジェクト全体での PQV の失敗など）により問題の発生が明らかとなります。

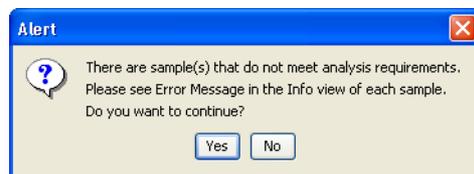


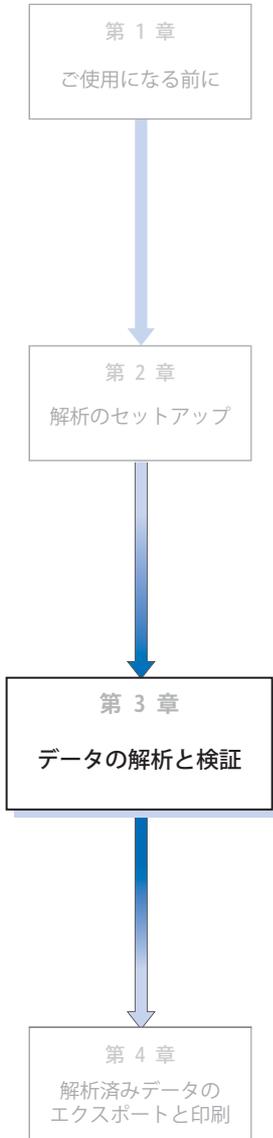
図 2-10 データ入力のエラーに対して表示される「Alert」ダイアログ ボックス

特定のサンプルのエラー メッセージ情報を表示するには、次の手順を実行します。

1. 「GeneMapper」ウィンドウで、「Samples」タブを選択します。
2. 「GeneMapper」ウィンドウのナビゲーション ペインで、 をクリックし、プロジェクトフォルダを展開して、目的のサンプルを選択します。
3. 「Info」タブを選択して、関連するサンプル ファイルに関するすべての情報の要約を表示します。
4. 「Info」タブで、テキストをスクロールして「Error Message」ヘッダを表示し、問題の原因を確認します。
5. 「Info」タブの表示を確認したら、プロジェクト フォルダを選択し、「Samples/Genotypes」タブを表示します。

3

データの解析と検証



この章では、次の項目について説明します。

- 概要..... 24
- プロジェクトの解析..... 25
- オフスケールデータの検証..... 27
- Size Quality データの検証..... 29
- 解析済みデータの検証..... 38
- 結果の編集..... 46
- 作成した Panel と Bin Set の保存..... 51
- 解析の完了..... 55

概要

章の構成

この章では、次の項目について説明します。

- プロジェクトの解析
- サイズスタンダード定義のカスタマイズ
- 結果の編集
 - Samples Plot または Genotypes Plot を使用した、Bin とアレルの追加、移動、削除
 - Panel Manager を使用した、Bin の追加、移動、削除
- 解析済みデータの検証
 - 「Samples」および「Genotypes」テーブルで PQV を閲覧
 - Raw Data Plot を使用して、個々のサンプルのオフスケールピークを検証
 - Size Match Editor を使用して、個々のサンプルのサイジングデータを検証
 - Samples Plot を使用して、サイズスタンダードデータ（およびレプリケート）のサイズ値を検証
 - Genotypes テーブルで、解析済みデータを閲覧
- 作成した Panel と Bin Set の保存と適用
- よくあるサイジングエラーのトラブルシューティングおよび修正

このステップでは

前の章で、AFLP® プロジェクト解析の準備に必要なタスクはすべて実行しました。データ例用に構築したプロジェクトは解析の準備が整っており、この章で実行します。

詳細情報

この章では、AFLP データセットの解析に関するソフトウェア機能の一部を説明します。ユーザインタフェースの全機能に関する詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。オンラインヘルプへのアクセス方法については、[vii ページの「オンラインヘルプからの情報の入手」](#)を参照してください。

プロジェクトの解析

概要

プロジェクトを解析し、「Samples」および「Genotypes」タブで PQV を暫定的に閲覧する手順を説明します。

Automatic Panel Generation について

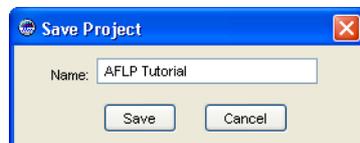
Analysis Method は、Panel を自動的に作成するよう設定されているため（13 ページの手順 4 を参照）、ソフトウェアは、ピークの読み取りおよびサイジングに続いて、サンプルから Panel と Bin Set を作成します。データセットのフィルタリング後、Analysis Method の「Alleles」タブで定義した解析範囲にある 1 つの Marker を含む Panel が作成されます。次に、フィルタリングされたデータセット内の各ピークについて、関連付けられたピークの頂点を中心とする 0.8-bp 幅の Bin が作成されます。解析後、作成された Panel と関連付けられた Bin Set をエクスポートして、他のプロジェクトで使用することもできます。

重要！ AFLP データの Bin 作成には、Panel Manager の AutoBin 機能を使用しないでください。AutoBin 機能の使用目的は、マイクロサテライト データの解析であり、AFLP プロジェクト用の Bin は作成できません。

注： Analysis Method は、共通のアレルを削除するよう設定されているため（13 ページの手順 6 を参照）、すべてのサンプルに共通のピークの Bin は作成されません。

プロジェクトの解析

1.  をクリックして（「Analyze」 ▶ 「Analyze」）、解析を開始します。
2. 保存について尋ねるメッセージが表示されたら、AFLP Tutorial と入力し、「OK」をクリックします。

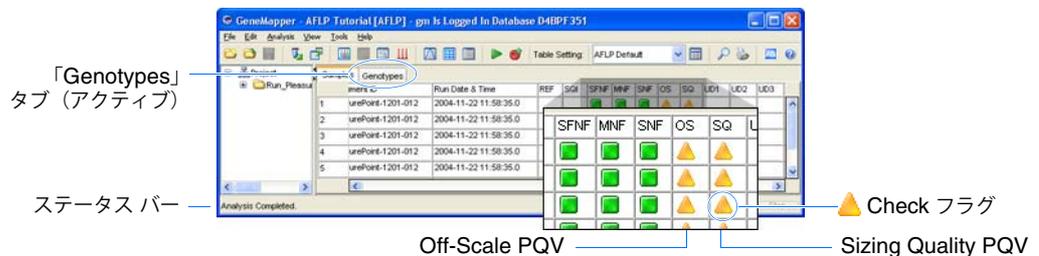


解析中は、現在解析されているサンプルの列が緑色にハイライト表示されます。サンプルの解析に失敗すると、失敗したサンプルの列が赤にハイライト表示されます。

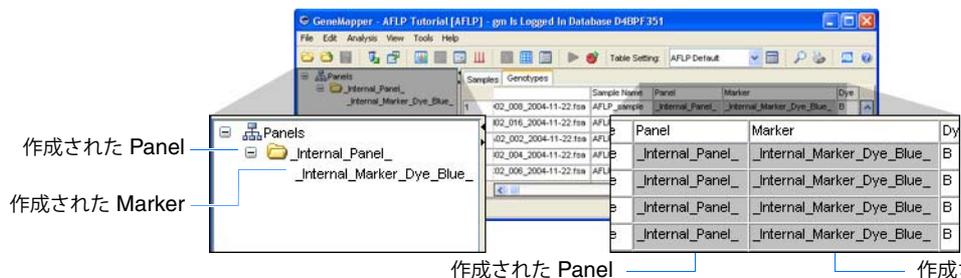
3. 解析が完了したら、次の項目を確認します。
 - ステータス バー — 「Analysis Completed」が表示されていること。これは、プロジェクトの解析が完了したことを示します。
 - 「Status」カラムのセル — 空白であること。これは、各サンプルの処理が成功したことを示します。
 - 「Genotypes」タブ — 使用可能状態であること。これは、解析が完了したことを示します。
4.  をクリックして（「Analysis」 ▶ 「Low Quality to Top」）データをソートすると、「Samples」タブのテーブルの一番上から順に、PQV スコアの低いサンプルが表示されます。

5. 「Samples」タブを水平にスクロールして、次の項目を確認します。

- 「OS」カラム — ほぼすべてのセルが ▲ (Check) を表示していること。これは、関連付けられたサンプルがオフスケール (OS) Process Quality Value (PQV) テストに失敗したことを示します。
- 「SQ」カラム — すべてのセルが ▲ (Check) を表示していること。これは、解析は完了したが、サンプルのサイジングに 1 つまたは複数の問題があることを示しています。



6. 「Genotypes」タブを選択し、ナビゲーションペインと「Panel」および「Marker」カラムに、作成された Panel と Marker (`_Internal_Panel_` と `_Internal_Marker_Dye_Blue_`) が表示されていることを確認します。



注：データ例が正常に解析され、「OS」カラムと「SQ」カラムに ■ (Pass) が表示されたら、38 ページの「解析済みデータの検証」の説明に従い、ジェノタイプの閲覧を開始します。

7. 27 ページの説明に従って、オフスケールデータのトラブルシューティングを行います。

オフスケール データの検証

概要

この手順では、「Samples」タブの「Off-Scale (OS) PQV」カラムに ▲ (Check) が表示されているサンプルの Raw Data で、オフスケール ピークの存在を確認します。

注：この手順で使用する「Raw Data」タブと Raw Data Plot (および隣接する「Info」タブと「EPT Data」タブ) は、1つまたは複数の PQV で ■ (Pass) が表示されないサンプルをトラブルシューティングする際に非常に役立ちます。

OS PQV について

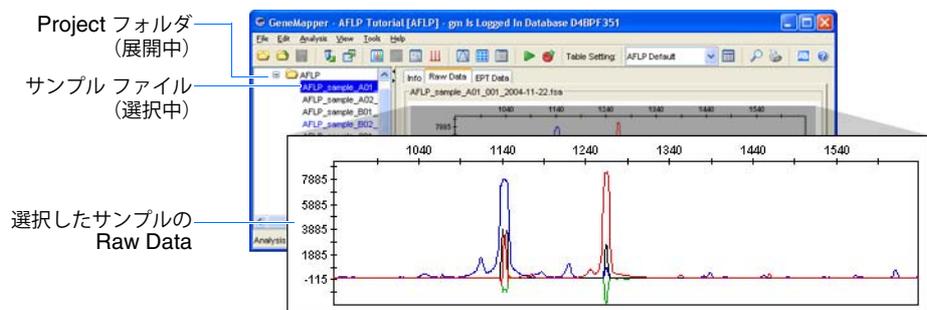
OS PQV は、各サンプルの蛍光シグナルで、オフスケール データ (最大検出範囲を逸脱するピーク) を評価する指標です。OS PQV は、「GeneMapper」ウィンドウの両方のタブで表示されますが、PQV の機能はそれぞれのタブで異なります。

- 「Samples」タブの OS PQV – サイズ スタンダードの蛍光シグナルで、オフスケール データを評価します。
- 「Genotypes」タブの OS PQV – 解析済みの蛍光シグナルで、オフスケール データを評価します。

サンプルの蛍光シグナルでオフスケール データが検出されると、該当するタブの「OS」カラムに ▲ (Check) が表示されます。

Raw Data の オフスケール ピーク の確認

1. 「GeneMapper」ウィンドウで、「Samples」タブを選択します。
2. 「GeneMapper」ウィンドウのナビゲーション ペインで [+] をクリックして、AFLP ランフォルダの中身を展開し、「OS」カラムで ▲ (Check) が表示されているサンプルを選択します。
3. 「Raw Data」タブを選択して、サンプル ランで取り込まれた蛍光波形の Raw Data に対するエレクトロフェログラムを表示します。



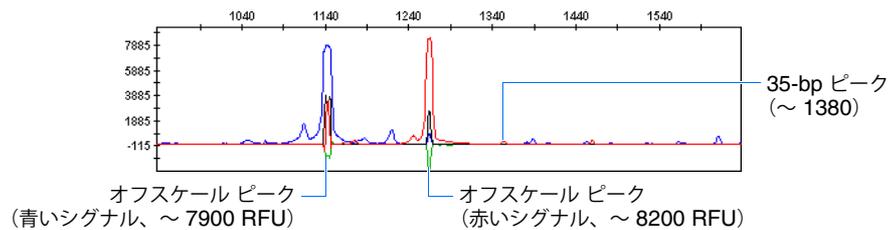
4. Raw Data Plot のプロット内で、X 軸上の 1000 ~ 2000 データ ポイント領域でマウス カーソル (🔍) をドラッグします。

5. Raw Data Plot で次のオフスケール データを確認します。

- FAM™ 標識 AFLP フラグメントに対する蛍光シグナル (青) のオフスケール ピーク (~ 1140)
- GeneScan™-50 (ROX™) サイズ スタンダードに対する蛍光シグナル (赤) のオフスケール ピーク (~ 1265)

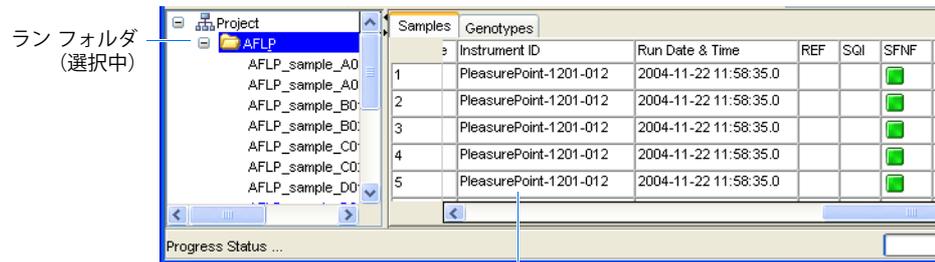
データ セット例のサンプルに存在するオフスケール ピークは、**Selective Amplification** (青いピーク) で使用されなかった、およびサイズ スタンダードの製造プロセス (赤いピーク) で残った蛍光色素標識プライマーで主に構成される「プライマー」ピークです。

注：赤いオフスケール ピークは、35-bp ピークのサイジングに干渉します。この問題は、後の 34 ページの「サイジングの解決策 #3: サイズ スタンダード定義の変更」で修正します。



6. ナビゲーション ペインで別のサンプルを選択し、オフスケール データを確認します (オプション)。

7. 確認後、ナビゲーション ペインの **AFLP** ラン フォルダを選択し、「Samples」タブを表示します。



表示中の「Samples」タブと「Genotypes」タブ

8. 29 ページの説明に従って、Size Quality データのトラブルシューティングを行います。

Size Quality データの検証

概要

この手順では、プロジェクト用のサイジング データを検証して、正確にサイジングできなかつたサンプルのトラブルシューティングを行います。通常では、各解析の後にサイジング データを確認するのが適切です。高いバックグラウンド シグナルまたは低いシグナル強度を持つサンプルを解析する際、サイズ コーリング アルゴリズムによってピークが誤って読み取られる場合があります。

この節で扱うトラブルシューティング技術

この節には、サイジング エラーを解決するための3つの一般的な対策が記載されています。サイジングに関する問題は、フラグメント解析アプリケーションにとって共通であり、通常、このガイドに記載されている技術を使用して修正できます。

- サイジングの解決策 #1: Analysis Method の調整..... 30
- サイジングの解決策 #2: 誤って読み取られたピークの手動による修正..... 32
- サイジングの解決策 #3: サイズ スタンダード定義の変更..... 34

注：サイジング エラーおよびその他の問題に関するトラブルシューティングの詳細については、『GeneMapper® Software Version 4.0 Reference and Troubleshooting Guide』(PN 4366831)を参照してください。

SQ PQV について

「GeneMapper」ウィンドウの「Samples」タブに表示される SQ PQV は、各サンプルの Sizing Quality 計測の結果を示します。Sizing Quality 計測は、サンプルに割り当てられたサイズ スタンダード定義によって定義されるフラグメント パターンと、サンプル データ内のサイズ スタンダード ピークに見られる実際の分布パターンとの近似性を評価します。Sizing Quality は、1 と 0 の間の値で算出され、解析の実行に使用されるサイズ コーリング メソッドの統計的指標との連動性を表します。「Quality Flags」タブの PQV Threshold 設定に基づいて (20 ページを参照)、Sizing Quality 算出の結果を示す  (Pass)、 (Check)、 (Low Quality) が表示されます。

注：Classic サイジング メソッドを使用してサイズ コーリングを実行する場合、ソフトウェアは Sizing Quality を判断しないため、SQ は常に  (Check) になります。

注：GeneMapper ソフトウェアは、Sizing Quality テストに失敗したサンプル () が表示されるサンプル) の解析を完了しません。

サイジング データの検証

1. 「GeneMapper」ウィンドウで、「Edit」▶「Select All」の順に選択します。

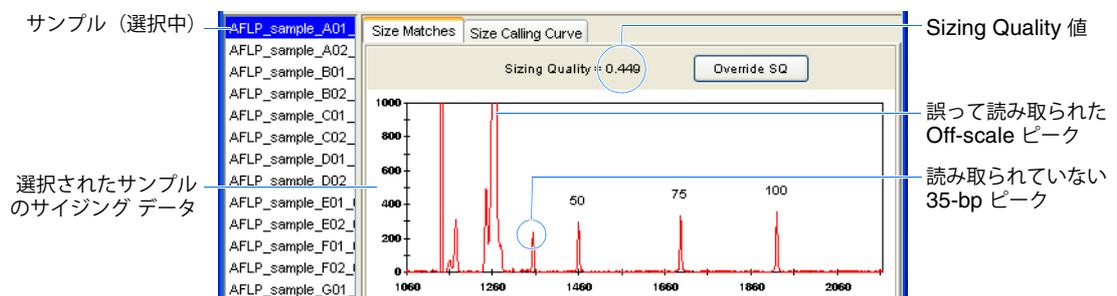
注：または、[Ctrl] キーか [Select] キーを押したままサンプル ファイルをクリックすると、個々のサンプルを選択できます。

2.  をクリックして (「Analysis」▶「Size Match Editor」)、選択したサンプルのサイジング情報を表示します。
3. 「Size Match Editor」ダイアログ ボックスで、ナビゲーション ペインの最初のサンプルを選択し、関連付けられたサイジング データを表示します。
4. 「Size Matches」タブで、X 軸上の 1000 ~ 2000 データ ポイント領域でマウス カーソル () をドラッグし、プロットを拡大します。

5. 次のとおりプロットの Y 軸を拡大し、1000 RFU を下回るデータを表示します。
 - a. 「View」 ▶ 「Y-Axis Scale」 ▶ 「Scale to」の順に選択します。
 - b. 「Enter Maximum Y-Axis Value」ダイアログボックスで 1000 と入力し、「OK」をクリックします。

注：または、X 軸を調整したのと同じく目的の領域でマウスカーソルをドラッグすることで、プロットの Y 軸を拡大することもできます。

6. プロットを水平にスクロールして、次の項目を確認します。
 - 読み取られていない 35-bp ピーク – オフスケールのピークが、サイズスタンダードの 35-bp ピークとして、誤って認識されています。
 - Sizing Quality 値 – ≤ 0.45 を表示。これは、サイズコーリング曲線の作成に使用されるサイズコーリングメソッド(ローカルサザン法)の測定基準が十分にフィットしていないことを示します。



7. 30 ページの説明に従って Analysis Method を調整し、誤って読み取られたピークを修正します。

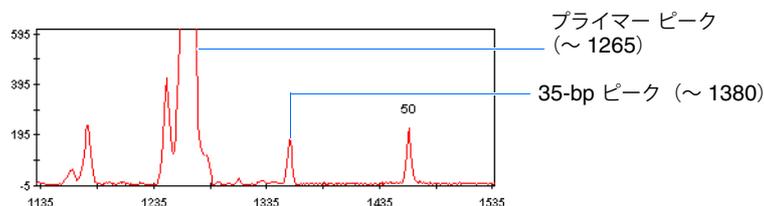
サイジングの解決策 #1: Analysis Method の調整

概要

この手順では、Analysis Method の Analysis Range 設定を変更することにより、データセット例のサイジングに干渉するプライマーピークを除外します。この手法では、サイジングエラーを修正しますが、Start Point 設定の前に行われる解析のすべてのフラグメントデータが除外されます(手順6を参照)。

Analysis Method の変更

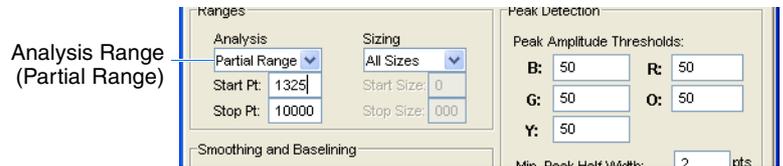
1. 「Size Match Editor」ダイアログボックスのナビゲーションペインで、AFLP_sample_A01_001_2004-11-22.fsa を選択します。
2. プロットを拡大し、プライマーピークと 35-bp ピークの位置(データポイント)を確認します。



3. 「OK」をクリックして、Size Match Editor を閉じます。
4. AFLP Tutorial Analysis Method を編集するために、「Samples」タブで「Analysis」カラム内の任意のセルをダブルクリックします。
5. Analysis Method Editor で、「Peak Detector」タブを選択します。

6. 「Peak Detector」タブの Ranges 設定で、次の操作を行います。
 - a. 「Analysis」 ▶ 「Partial Range」を選択します。
 - b. 「Start Pt.」フィールドに、1325 と入力します。

その他の設定はすべて同じままにします。



注： Analysis Range を設定する目的は、Start Pt 設定を調整して、プライマー ピークの直後、35-bp ピークの前に解析を開始できるようにすることです。

7. 「OK」をクリックして、Analysis Method を保存します。

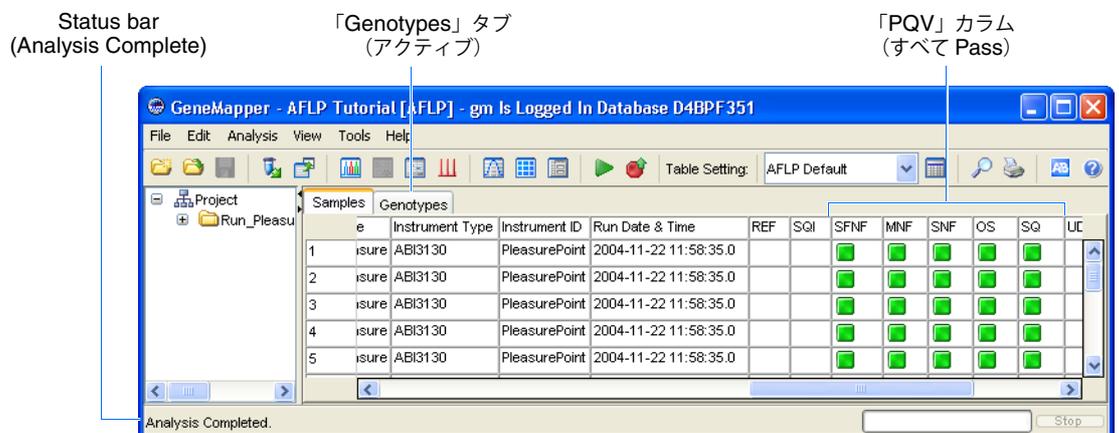
注： Analysis Method を変更すると、メソッドに割り当てられたすべてのサンプル（他のプロジェクトのサンプルを含む）に影響します。影響を受けるすべてのサンプルについて、「Status」カラムに 🚩 が表示されます。これは、サンプルに再解析が必要なことを示します。

8. ▶ をクリックして（「Analyze」 ▶ 「Analyze」）、データを再解析します。
9. 🍎 をクリックして（「Analysis」 ▶ 「Low Quality to Top」）、データをソートします。
10. 「Samples」タブを水平にスクロールして、すべてのサンプルについて SQ 値に 🟢 (Pass) が表示されていることを確認します。これは、サンプルが正確にサイジングされたことを示します。

データ ポイント 1325 で解析を開始すると、サイジング プロセスからプライマー ピークが除外されます。このため、外見上は、35-bp ピークが正確に認識され、サンプルのサイジングが成功したように見えます。

重要！ すべてのサンプルについて 🟢 (Pass) が表示されても、サイジング データを手動で再調査し、誤って読み取られたピークがすべて正確に読み取られたかを検証する必要があります。

11. 32 ページ の説明に従って、誤って読み取られたピークが正確にサイジングされたかを検証します。



サイジングの解決策 #2: 誤って読み取られたピークの手動による修正

概要

この手順では、AFLP_sample_H02_016_2004-11-22.fsa の誤って読み取られた 35-bp ピークを修正し、サンプルを正確にサイジングします。この手法は、個々のサンプルのサイジングエラーを修正するには効果的ですが、サイジングの問題が繰り返し発生し複数のサンプルに影響する場合には非現実的です。

修正されたサイジングデータの閲覧

1. 「GeneMapper」ウィンドウで、「Edit」 ▶ 「Select All」を選択し、すべてのサンプルを選択します。
2.  をクリックして（「Analysis」 ▶ 「Size Match Editor」）、選択したサンプルのサイジング情報を表示します。
3. 「Size Match Editor」ダイアログボックスのナビゲーションペインで、AFLP_sample_H01_015_2004-11-22.fsa を選択し、プロットを拡大して、誤って読み取られた 35-bp ピークを確認します（[図 3-11](#) を参照）。

誤って読み取られたピークについて

AFLP_sample_H01_015_2004-11-22.fsa サンプルでは、各解析後に AFLP プロジェクトのサイジングデータを手動で閲覧する重要性を重視しています。Samples テーブルの「SQ」カラムで、サンプルに対して  (Pass) が表示されていても、Size Match Editor のプロットは、プライマー ピークの肩にラベルを適用することで、35-bp ピークが誤って読み取られたことを示します。

この例では、Analysis Range Start Point 設定の値を高くすることで、問題を修正できます（[31 ページの手順 6](#) を参照）。ただし、プロジェクトのサンプルのうち 1 つか 2 つにのみ誤って読み取られたピークが含まれる場合、この手順の説明に従ってラベルを手動で修正するほうが効果的です。

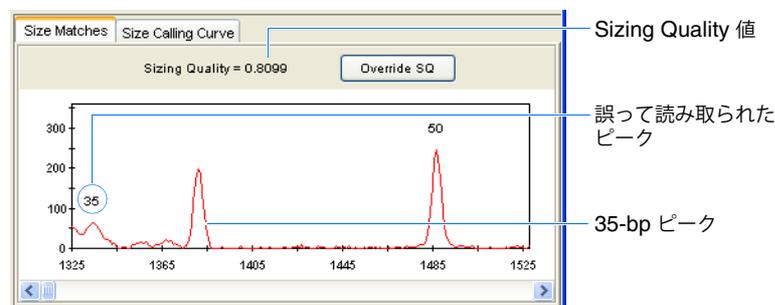
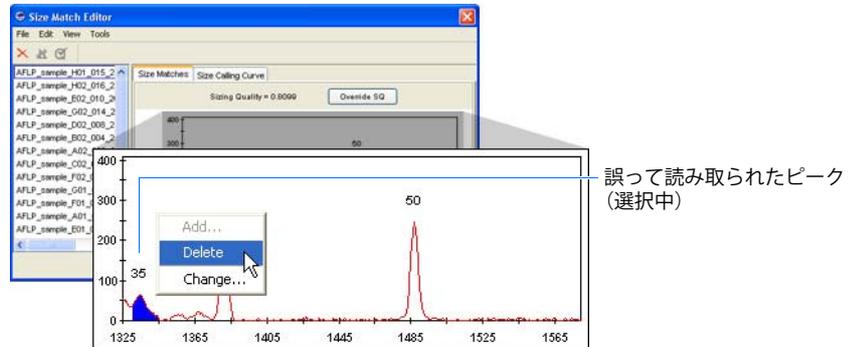


図 3-11 AFLP_sample_H01_015_2004-11-22.fsa の誤って読み取られたピーク

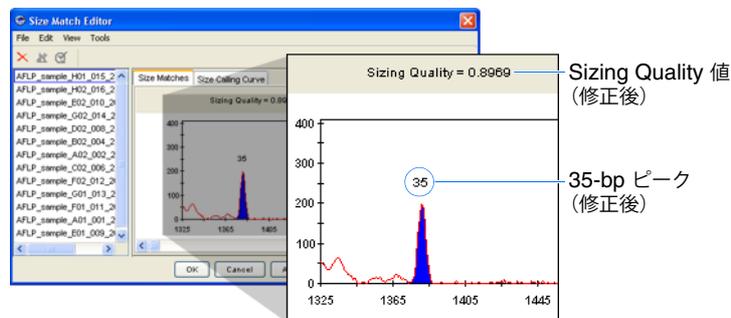
注：誤って読み取られたピークが 35-bp ピークに近接しているため、サンプルの Sizing Quality 値は 0.8099 となります。Sizing Quality 値が、Analysis Method の Sizing Quality PQV に対する Pass Range 閾値設定よりも大きい場合、「SQ」カラムには  (Pass) が表示されます（[20 ページの「PQV Thresholds」](#) を参照）。

誤って読み取られた
ピークの修正

1. 「Size Match Editor」ダイアログボックスのナビゲーションペインで、AFLP_sample_H01_015_2004-11-22.fsa を選択し、関連付けられたサイジングデータを表示します。
2. 誤って読み取られた 35-bp ピークのラベルを次のように削除します。
 - a. ピーク本体をクリックして、35-bp ラベルの付いたピークを選択します。
 - b. ピークを右クリックし、「Delete」を選択します（「Edit」 ▶ 「Delete Size Label」）。



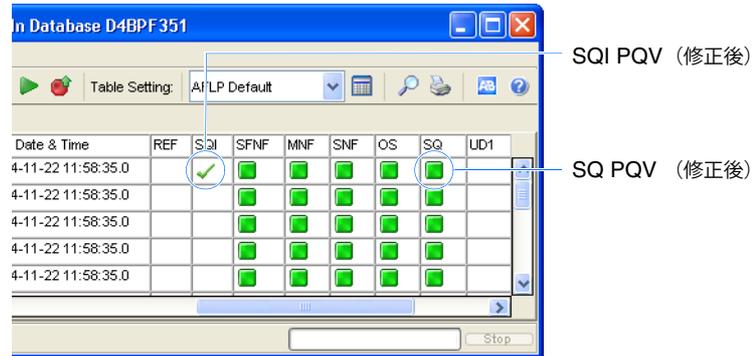
3. 正しいピークに 35-bp ラベルを次のとおり適用します。
 - a. 正しい 35-bp ピークを選択します。
 - b. 「Edit」 ▶ 「Add Size Label」を選択します（または、ピークを右クリックし、「Add」を選択）。
 - c. 「Select Size」ダイアログボックスで、35.0 をダブルクリックすると、選択したピークに 35-bp ラベルが適用されます。
4.  をクリックして（「Tools」 ▶ 「Check Sizing Quality」）、サンプルが正しくサイジングされていることを確認します。サンプルの Sizing Quality 値が 0.8969 になっていることを確認します。



5. 「Apply」をクリックして変更を保存し、「OK」をクリックします。

重要！ 「Apply」をクリックして、サンプルを再解析する必要があります。

6. 「Samples」タブで、AFLP_sample_H02_016_2004-11-22.fsa サンプルの列に次のように表示されていることを確認します。
- 「Status」カラム（下の図には示されていません）－ 🔄 (Reanalyze) を表示。これは、変更を有効にするには、サンプルを再解析する必要があることを示します。
 - 「SQI」カラム － ✓ を表示。これは、サンプルのサイジング設定が手動で変更されたことを示します。
 - 「SQ」カラム － 🟢 (Pass) を表示。サンプルが正しくサイジングされたことを示します。



7. ▶ をクリックします（「Analyze」 ▶ 「Analyze」）。
8. 34 ページの説明に従って、サイズスタンダード定義を変更し、サイジングの問題を解決します。

サイジングの解決策 #3: サイズスタンダード定義の変更

概要

この手順では、データセット例にあるすべてのサンプルのサイジングに干渉する、誤って読み取られた 35-bp ピークに合わせ、サイズスタンダード定義をカスタマイズします。この手法は、30 ページの「サイジングの解決策 #1: Analysis Method の調整」の代替方法にもなります。解析からフラグメントデータを除外する解決策 #1 と異なり、解決策 #3 では、解析範囲全体をそのまま保持します。ただし、この手法は 35-bp ピークの除外、さらにはサイズコーリング曲線のデータポイントの除外を必要とするため、サイズコーリングの精度に影響する場合があります。

カスタムサイズスタンダードについて

GeneMapper ソフトウェアは、フラグメント解析データをサイジングする際、関連付けられたサンプルでランされたサイズスタンダードに関する情報を必要とします。ソフトウェアによって使用されるサイズスタンダード定義は、2つの重要な情報を提供します。すなわち、サイズスタンダードと関連付けられた蛍光色素の色、およびサイズスタンダードを含むフラグメントのサイズ（単位：bp）です。すべての Applied Biosystems サイズスタンダードに対する定義は、GeneMapper ソフトウェアと共に自動的にインストールされます。サードパーティ製のサイズスタンダードを使用しているか、1つまたは複数のピークで恒常的にサイジングの問題が発生する場合、この節の説明に従って、独自にサイズスタンダード定義を作成する必要があります。

ユーザが作成するサイズスタンダード定義には、GS500(-250) 定義に存在する 35-bp ピークは含まれません。これは、データセット例では、35-bp ピークは隣接するプライマー ピークによって隠れてしまうためです。

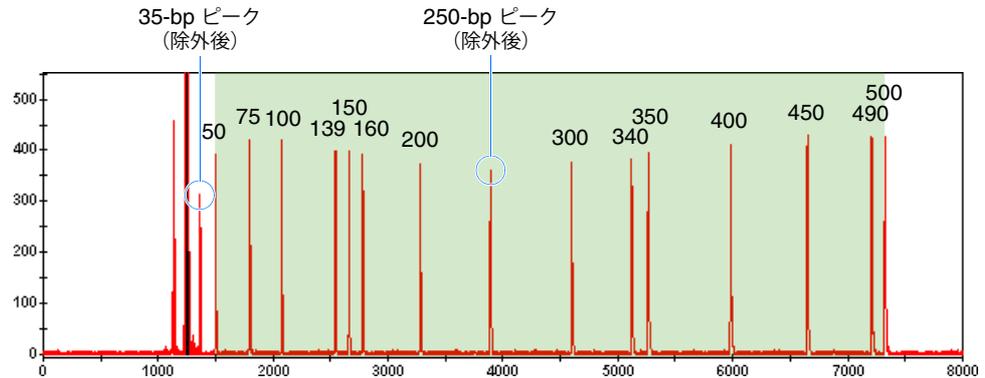
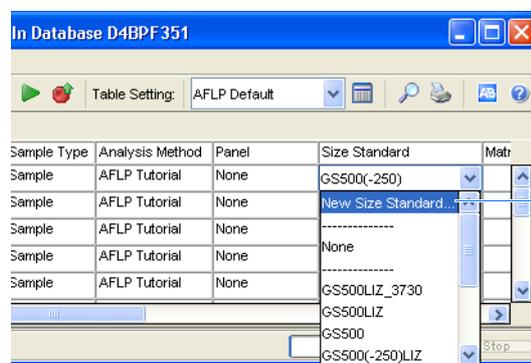


図 3-12 データ例でランされた 500-bp サイズスタンダード (影付き部分は、50 ~ 500-bp 解析範囲 / サイジング範囲を示す)

カスタム サイズスタンダードの作成

1. 「GeneMapper」ウィンドウで、 をクリックします (「Tools」 ▶ 「GeneMapper Manager」)。
2. GeneMapper Manager で、「Size Standards」タブを選択します。
3. 「New」をクリックします。

注：または、「Samples」タブの「Size Standard」カラムで最初のサンプルのプルダウンメニューから **New Size Standard** を選択し、サイズスタンダードを作成することもできます。

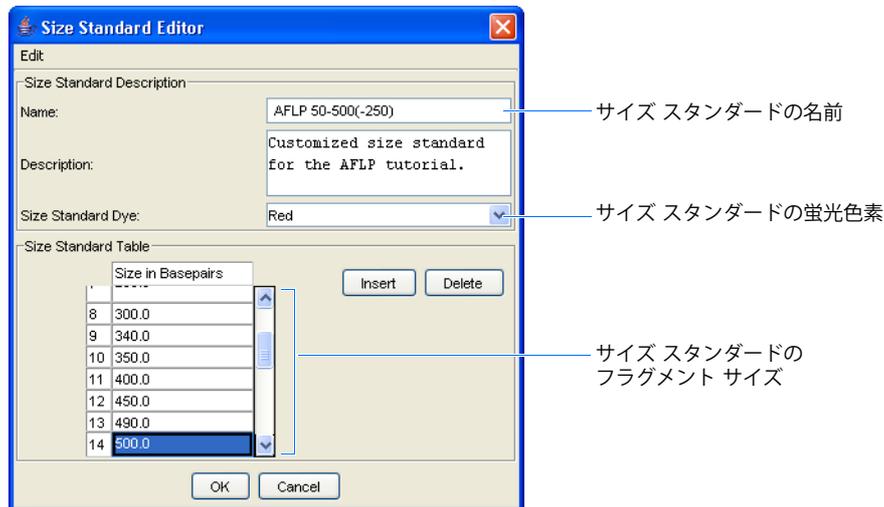


4. 「Select Dye and Analysis Method」ダイアログボックスで、「Basic or Advanced」を選択し、「OK」をクリックします。
5. 「Size Standard Editor」ダイアログボックスで、次の操作を行います。
 - a. 「Name」フィールドに、AFLP50-500(-250) と入力します。
 - b. 「Size Standard Dye」 ▶ 「Red」を選択します。
 - c. Size Standard テーブルで、サイズの値を次のとおり入力します。50、75、100、139、150、160、200、300、340、350、400、450、490、500 (最後の値を入力後、[Enter] キーを押します)。

重要！ 最終的な値を確実に定義に含めるには、最後の値である 500 を入力後、[Enter] キーを押す必要があります。

重要！ Analysis Method の「Allele」タブおよび「Peak Detector」タブで定義した Analysis Range および Sizing Range の値は、関連付けられたサイズ スタンダードによって定義されたピーク範囲と一致している必要があります。

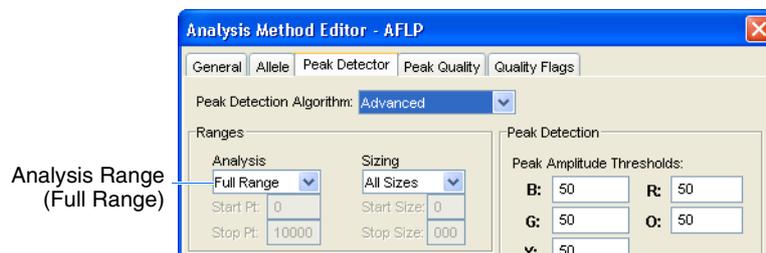
注： 35- ピークおよび 250- ピークは、サイズ スタンダード定義から意図的に除外されています（35 ページの「カスタム サイズ スタンダードの作成」を参照）。



6. 「OK」をクリックして、サイズ スタンダード定義を保存します。
7. 「Done」をクリックして GeneMapper Manager を閉じます。

カスタム サイズ スタンダードの適用

1. Analysis Method の解析範囲を次のとおりリセットします。
 - a. 「Samples」タブで、「Analysis」カラム内の任意のセルをダブルクリックし、AFLP Tutorial Analysis Method を編集します。
 - b. Analysis Method Editor で、「Peak Detector」タブを選択します。
 - c. Ranges 設定で、「Analysis」▶「Full Range」を選択します。
 - d. 「OK」をクリックして Analysis Method を保存し、Analysis Method Editor を閉じます。



2. 「GeneMapper」ウィンドウで、「Samples」タブを選択します。
3. 「Size Standard」カラムでセルをクリックし、AFLP50-500(-250) (35 ページ で作成) を選択します。

4. 他のサンプルに次のとおり選択を適用します。
 - a. 「Size Standard」 カラムのカラム ヘッダを選択します。
 - b. 「Edit」 ▶ 「Fill Down」 をクリックして（または [Ctrl] + [D] キー）、すべてのサンプルに選択を適用します。

Sample Type	Analysis Method	Panel	Size Standard
Sample	AFLP Tutorial	None	AFLP50-500(-250)
Sample	AFLP Tutorial	None	AFLP50-500(-250)
Sample	AFLP Tutorial	None	AFLP50-500(-250)
Sample	AFLP Tutorial	None	AFLP50-500(-250)
Sample	AFLP Tutorial	None	AFLP50-500(-250)

5. ▶ をクリックして（「Analyze」 ▶ 「Analyze」）、解析を開始します。
6. Samples テーブルを水平にスクロールし、「PQV」カラム（SFNF、MNF、SNF、OS、SQ）に ■ (Pass) が表示されていることを確認します。GeneMapper ソフトウェアは、データ例のサイジングに成功しています。
7. Size Match Editor で、サイジング コールを閲覧します（オプション）。
8. 38 ページ の説明に従って、解析済みデータを検証します。

解析済みデータの検証

概要

GeneMapper ソフトウェアの機能とツールを使用して、解析済みデータの検証の手順を説明します。解析済みデータの検証プロセスは、各ケース固有であり、タスクの順序は、各ユーザの個別のニーズにより異なります。従って、このマニュアルに記載されている順序は、一例にすぎません。

解析済みデータの閲覧に関する主なタスクは、次のとおりです。

1. 「Genotypes」タブで、解析済みデータと PQV を閲覧する（38 ページを参照）
2. Samples Plot に、解析済みデータを表示する（39 ページを参照）
3. Samples Plot で、サイズスタンダード（およびレプリケート）ピークデータのサイズ値を閲覧する（42 ページを参照）

この節では、ソフトウェアが読み取るジェノタイプを正式に閲覧する方法について説明します。GeneMapper ソフトウェアのツールを使用して、作成されたバイナリ データを確認し、コールと Bin に修正を加えます。解析の後、ソフトウェアによって作成された Panel と Bin Set を編集およびエクスポートして、他のプロジェクトで使用する方法も説明します。

このステップでは

前の手順では、Size Match Editor を使用して、ソフトウェアによって行われたサイジング コールを予備的に閲覧しました。サイジング エラーを修正したので、GeneMapper ソフトウェアにより行われたピークサイジングとバイナリスコアにおいて、ある程度自信をもって Genotypes テーブルを表示することができます。

Genotypes テーブルでの解析済みデータの閲覧

概要

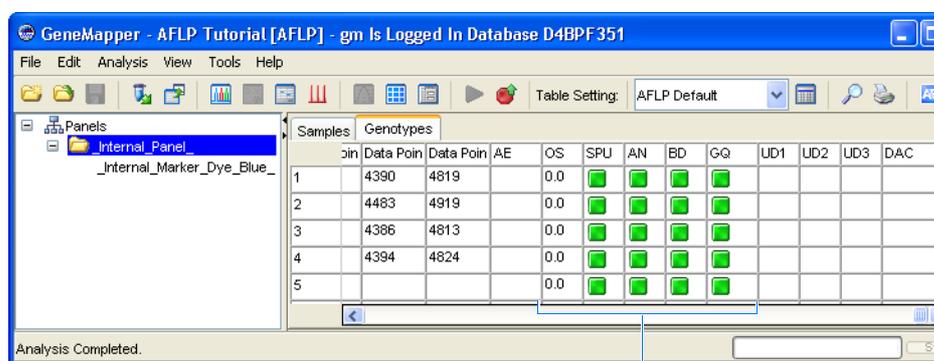
この手順では、「Genotypes」タブで、テーブルのコンテンツを閲覧します。解析が完了すると、「Genotypes」タブがアクティブとなり、ジェノタイプデータおよび PQV テストの結果を表示します。

「Genotypes」タブの作成されたカラムと PQV の閲覧

1. 「GeneMapper」ウィンドウで、「Genotypes」タブを選択し、ナビゲーションペインと「Panel」および「Marker」カラムに、作成された Panel（_Internal_Panel_）と Marker（_Internal_Marker_Dye_Blue_）が表示されていることを確認します。
2. Genotypes テーブルを水平にスクロールして、Bin Set 用のカラムが作成されていることを確認します。すべての Bin に対し、次に示す種類についてそれぞれ 1 つずつカラムが表示されます。

カラムの種類	関連付けられた Bin 内で発生するピークがサンプルに含まれる場合、セルで表示される内容 ...	例						
Allele	Analysis Method の Label 設定に従って、アレルのラベルを表示します（12 ページの「Allele」タブ設定項目の設定を参照）。	<table border="1"> <thead> <tr> <th>e 1</th> <th>Allele 2</th> <th>Allele</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td></td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table>	e 1	Allele 2	Allele	1		0
e 1	Allele 2	Allele						
1		0						
Size	認識されたピークに対して算出されたサイズ（単位：bp）を表示します。	<table border="1"> <thead> <tr> <th>1</th> <th>Size 2</th> <th>Size 3</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>51.98</td> <td>56.78</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	1	Size 2	Size 3	51.98	56.78	
1	Size 2	Size 3						
51.98	56.78							
Height	認識されたピークの高さ（単位：RFU）を表示します。	<table border="1"> <thead> <tr> <th>rt 1</th> <th>Height 2</th> <th>Height 3</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>111</td> <td>74</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	rt 1	Height 2	Height 3	111	74	
rt 1	Height 2	Height 3						
111	74							
Peak Area	認識されたピークの下領域の面積を表示します。	<table border="1"> <thead> <tr> <th>1</th> <th>Peak Area 2</th> <th>Peak Area 3</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>975.45</td> <td>388</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	1	Peak Area 2	Peak Area 3	975.45	388	
1	Peak Area 2	Peak Area 3						
975.45	388							
Data Point	サンプルデータ内の認識されたピークの中心を決定するデータポイントを表示します。	<table border="1"> <thead> <tr> <th>1</th> <th>Data Point 2</th> <th>Data Point 3</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1520</td> <td>158</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	1	Data Point 2	Data Point 3	1520	158	
1	Data Point 2	Data Point 3						
1520	158							

3. 🍎 をクリックして (「Analysis」 ▶ 「Low Quality to Top」)、データをソートします。
4. Genotypes テーブルを右へスクロールし、「Genotypes」タブの「PQV」カラム (AE、OS、SPU、AN、BD、GC) を確認します。「Samples」タブの「PQV」カラムと同様、各列には、🟢 (Pass)、🟡 (Check)、🔴 (Low Quality) が表示され、関連付けられたサンプルに対して PQV で定義された操作が成功したかどうかを示します。
 - 「OS」カラム – すべてのサンプルについて 🟢 (Pass) が表示されます。これは、解析済みデータにオフスケール ピークが検出されなかったことを示します。
データセット例のサンプルにオフスケール プライマー ピークが含まれていても、すべてのサンプルについて 🟢 (Pass) が表示されます。この理由は、Analysis Method の Analysis Range 設定で定義された範囲外でピークが発生しているためです。
 - 「GQ」カラム – すべてのサンプルについて 🟢 (Pass) が表示されます。これは、サンプルが PQV テストに成功し、Analysis Method で定義された Pass Range の値を上回る Genotype PQV を獲得したことを示します (20 ページの「PQV Thresholds」を参照)。



cin	Data Poin	Data Poin	AE	OS	SPU	AN	BD	GQ	UD1	UD2	UD3	DAC
1	4390	4819		0.0	🟢	🟢	🟢	🟢				
2	4483	4919		0.0	🟢	🟢	🟢	🟢				
3	4386	4813		0.0	🟢	🟢	🟢	🟢				
4	4394	4824		0.0	🟢	🟢	🟢	🟢				
5				0.0	🟢	🟢	🟢	🟢				

「PQV」カラム

5. 39 ページの説明に従って、Samples Plot 内のデータを検証します。

注：「Samples」タブまたは「Genotypes」タブの各カラムの詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください (vii ページの「オンラインヘルプからの情報の入手」を参照)。

注：「Genotype」タブの PQV テストに失敗した場合の詳細については、『GeneMapper® Software Version 4.0 Reference and Troubleshooting Guide』(PN 4366831) を参照してください。

Samples Plot 内でのピーク データの表示

概要

Samples Plot 内の解析済みプロジェクトのサンプルを表示する手順を説明します。Samples Plot にはいくつかの便利な機能があり、次のことが可能になります。

- サンプルのサイズ スタンダード ピークのサイズ値の検証
- GeneMapper ソフトウェアによって読み取られたジェノタイプを検証および編集
- 解析の実行に使用される Panel と Bin Set の変更

Samples Plot と Genotypes Plot の比較

Genotypes ソフトウェアは、解析済みプロジェクトのピーク データを表示するために、Samples Plot と Genotypes Plot を備えています。AFLP 解析に関しては、両方の Plot で、ほぼ同様の情報が表示されます。Genotypes Plot は一部の機能を備えていないため、このガイドでは、Samples Plot を使用して解析済みの AFLP サンプルを閲覧する方法について説明します。

注： Samples Plot または Genotypes Plot の詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください ([vii ページの「オンライン ヘルプからの情報の入手」](#)を参照)。

Plot Settings のカスタマイズ

独自の Plot Settings を作成して、Samples Plot および Genotypes Plot のビューをカスタマイズできます。このガイドでは、デフォルトの AFLP プロジェクト用 Plot Settings (AFLP Default) を使用します。AFLP Default は、ソフトウェアと共にインストールされています。ユーザ独自のデータを検証する際、プロット情報をカスタマイズするために、独自の Plot Settings を作成する必要があるかもしれません。

注： Plot Settings の作成に関する詳細については、 をクリックして (「Help」 ▶ 「Contents and Index」)、GeneMapper® Software Online Help を開きます。

Samples Plot の表示

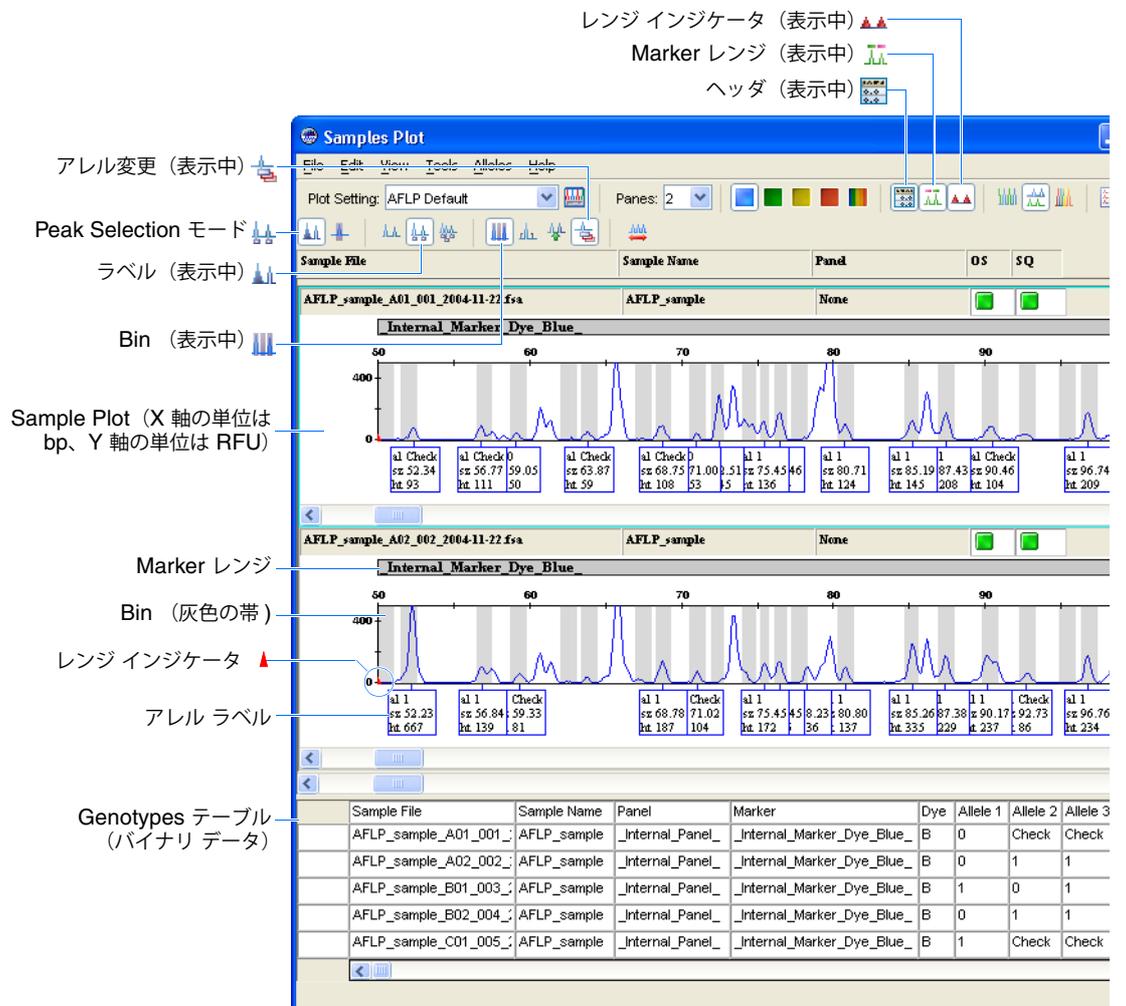
重要！ Samples Plot を開くには、「Samples」タブを表示する必要があります。どちらのプロット (Genotypes または Samples) が開かれるかは、「GeneMapper」ウィンドウ内で、どちらのタブが前面にあるかによって決まります。

1. 「GeneMapper」ウィンドウで、「Samples」タブを選択します。
2. 「Samples」タブで、「Edit」 ▶ 「Select All」を選択し、テーブルに表示されているすべてのサンプルを選択します。
3.  をクリックして (「Analysis」 ▶ 「Display Plots」)、サンプルのエレクトロフェログラムを表示します。
4. AFLP データの Samples Plot 設定を次のとおり設定します。
 - a. 「Plot Setting」 ▶ 「AFLP Default」の順に選択し、AFLP データの解析に関連するプロット機能のみを表示するようプロットを設定します。
 - b. 「Panels」 ▶ 「2」の順に選択し、2つのサンプルのエレクトロフェログラム データを同時に表示するよう設定します。
 - c.  をクリックして (「View」 ▶ 「Tables」 ▶ 「Genotypes Table」)、Samples Plot の下半分に Genotypes テーブルを表示します。
5. 両方のプロットを拡大して、50 ~ 100 bp のデータを表示します。
 - a. 上のプロットの X 軸を右クリックし、「Zoom to」を選択します。
 - b. 「X-Axis Zooming」ダイアログ ボックスで、「minimum」および「maximum」フィールドにそれぞれ 50 と 100 を入力し、「OK」をクリックします。
 - c. 下のプロットを 50 ~ 100 bp まで拡大します。
6. 次のとおりプロットを拡大して、500 RFU を下回るデータを表示します。
 - a. 上のプロットの Y 軸を右クリックし、「Zoom to」を選択します。
 - b. 「Y-Axis Zooming」ダイアログ ボックスで、「Zoom To」フィールドに 500 と入力します。次に、「Apply to all electropherograms」を選択し、「OK」をクリックします。

7. プロットを水平にスクロールして、次の項目を確認します。

- **Bin** – プロット中の灰色の領域は、データ例で作成されたBinを表します。Delete common alleles 機能が有効になっているため、すべてのピークに対する Bin が表示されるわけではありません（13 ページの手順 6 を参照）。
- **アレル ラベル** – Bin内で発生する各ピークについて、ピークの下にラベルが表示されます。このラベルには、アレル名、算出されたフラグメント サイズ (単位: bp)、算出されたピーク高 (単位: RFU) が含まれます。
- **Marker レンジ/レンジ インジケータ** – プロット上部のバーは、「Alleles」タブの Analysis Method で指定した Marker レンジを示します。プロットのどちらかの側で、Marker の最大上限値と最小下限値を示す一組のインジケータ (▲) が表示されます。
- **Peak Selection モード** – デフォルトでは、Samples Plot は、Peak Selection モードで開きます (▲)。このため、ピークを選択すると、ピークがハイライト表示され、操作オプションが表示されます。

注： または、▲ をクリックして Binning モードに移行し、Samples Plot の Bin を変更することもできます。



Samples Plot の Bin およびジェノタイプの読み取りについて

エレクトロフェログラム データを表示中に、次の項目を確認します。

- **読み取られたピーク** – 検出された各ピークの高さに従って、3つの読み取り (0、Check、1) のうち1つが適用されます (13 ページの手順 5 で設定)。
- **作成された Bin** – ソフトウェアは、次を除くすべてのピークに対して Bin を作成します。
 - Analysis Method の Analysis Range 設定で定義された範囲を逸脱するピーク
 - プロジェクト内のすべてのサンプルに共通のピーク (図 3-13 の A を参照)。Delete common alleles オプションが選択されているため (13 ページの手順 6 を参照)、すべてのサンプルに存在するピークについては、Bin が作成されていません。
- **Marker レンジの長さ** – 各エレクトロフェログラムの最上部に表示される Marker 長は、Analysis Method の Analysis Range 設定で定義されています。デフォルトの Marker レンジは 50 ~ 500 bp であるため、作成された Marker は 50 bp で始まり、500 bp で終わります。
- **読み取られないピーク** – ソフトウェアは、次を除くすべてのサンプルをジェノタイプピンゲしています。
 - Analysis Method の Analysis Range 設定で定義された範囲を逸脱するピーク
 - プロジェクト内のすべてのサンプルに共通のピーク
 - Analysis Method の B(lue) Peak Amplitude Threshold 設定を下回るピーク

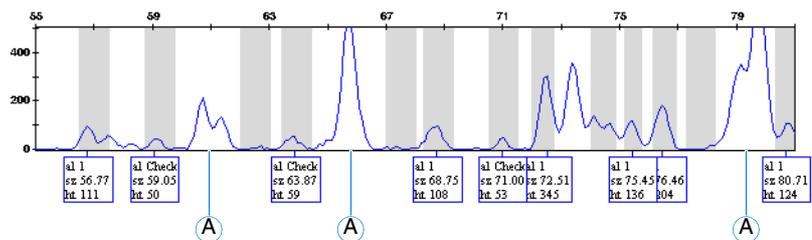


図 3-13 Samples Plot の読み取られたピークと読み取られないピーク

サイズ スタンダードの検証

概要

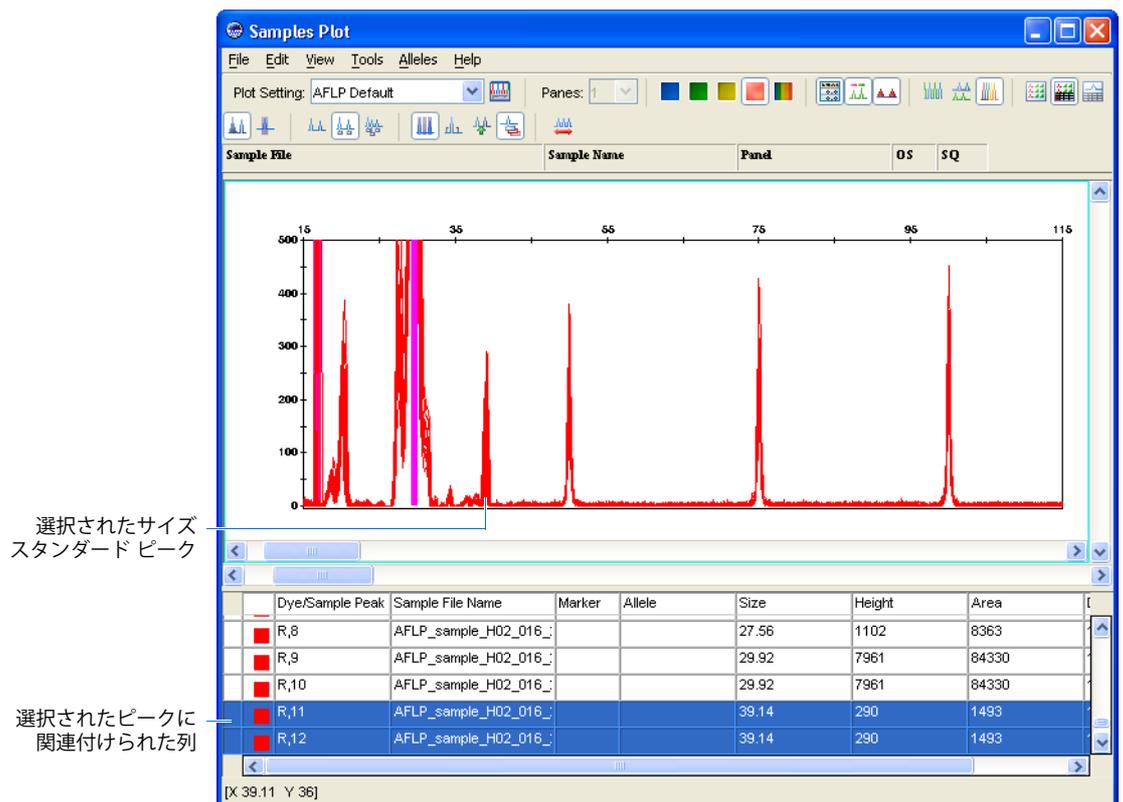
プロジェクト例のサンプルに対するサイズ スタンダード ピーク データの一致を検証する方法を説明します。この手順はオプションですが、プロジェクト内のサイズ スタンダードとレプリケート サンプルについて、ピーク位置のずれを視覚化できるため、実行することをお勧めします。

注：レプリケートを実行する場合、次の手順の説明に従って (手順 2 を除く)、レプリケート サンプルのデータを選択およびオーバーレイすることで、サンプル間の精度を評価することができます。

サイズスタンダード
データのオーバーレイ

1. Samples Plot で、「Panels」 ▶ 「1」を選択します。
2. 蛍光色素の設定を次のとおり設定して、赤い蛍光シグナルのデータが Samples Plot に表示されるようにします。
 - a. ■ (Red signal) を選択します (「View」 ▶ 「Dyes」 ▶ 「Red Dye」)。
 - b. ■ (Blue signal) を非選択にします (「View」 ▶ 「Dyes」 ▶ 「Blue Dye」)。
3.  をクリックして (「View」 ▶ 「Tables」 ▶ 「Sizing Table」)、Samples Plot の下半分に Sizing テーブルを表示します。

4.  をクリックして（「View」 ▶ 「Plots」 ▶ 「Overlay All」）、プロジェクトのすべてのサンプルに対する赤い蛍光シグナルをオーバーレイします。
5. 次のとおりプロットを拡大して、25 ~ 125 bp 間のデータを表示します。
 - a. プロットの X 軸を右クリックし、「Zoom to」を選択します。
 - b. 「X-Axis Zooming」ダイアログボックスで、「minimum」および「maximum」フィールドにそれぞれ 25 と 125 を入力し、「OK」をクリックします。
6. 次のとおりプロットを拡大して、500 RFU を下回るデータを表示します。
 - a. プロットの Y 軸を右クリックし、「Zoom to」を選択します。
 - b. 「Y-Axis Zooming」ダイアログボックスで、「Zoom To」フィールドに 500 と入力し、「OK」をクリックします。
7. プロットを水平にスクロールして、サイズ スタンダード ピークの均一性を確認します。すべてのサンプルが正しくサイジングされると、Samples Plot は、各サイズ スタンダードフラグメントに対してオーバーレイされたピークのタイトなクラスタを表示します。1 つまたは複数のサンプルに対するサイズ スタンダードが誤って読み取られた場合、Sample Plot のオーバーレイされたサイジング データに顕著な影響が出ます。
8. 「File」 ▶ 「Close Plot Window」を選択して（または [Esc] キーを押して）プロットを閉じ、44 ページの説明に従って、多型（ポリモルフィズム）を波形として閲覧します。



多型ピークの視覚化

概要

この手順では、AFLP サンプル データのオーバーレイを検証して、多型ピークを波形として表示し、ソフトウェアによって行われたジェノタイプ読み取りを視覚的に確認します。

サイズスタンダード データのオーバーレイ

1. 「Samples」タブで、「Edit」▶「Select All」を選択し、テーブルに表示されているすべてのサンプルを選択します。

注：実際には、プロットの散乱を避けるため、すべてのサンプルを一度に検証するのではなく、サンプルのバッチを選択して検証するほうがよいでしょう。

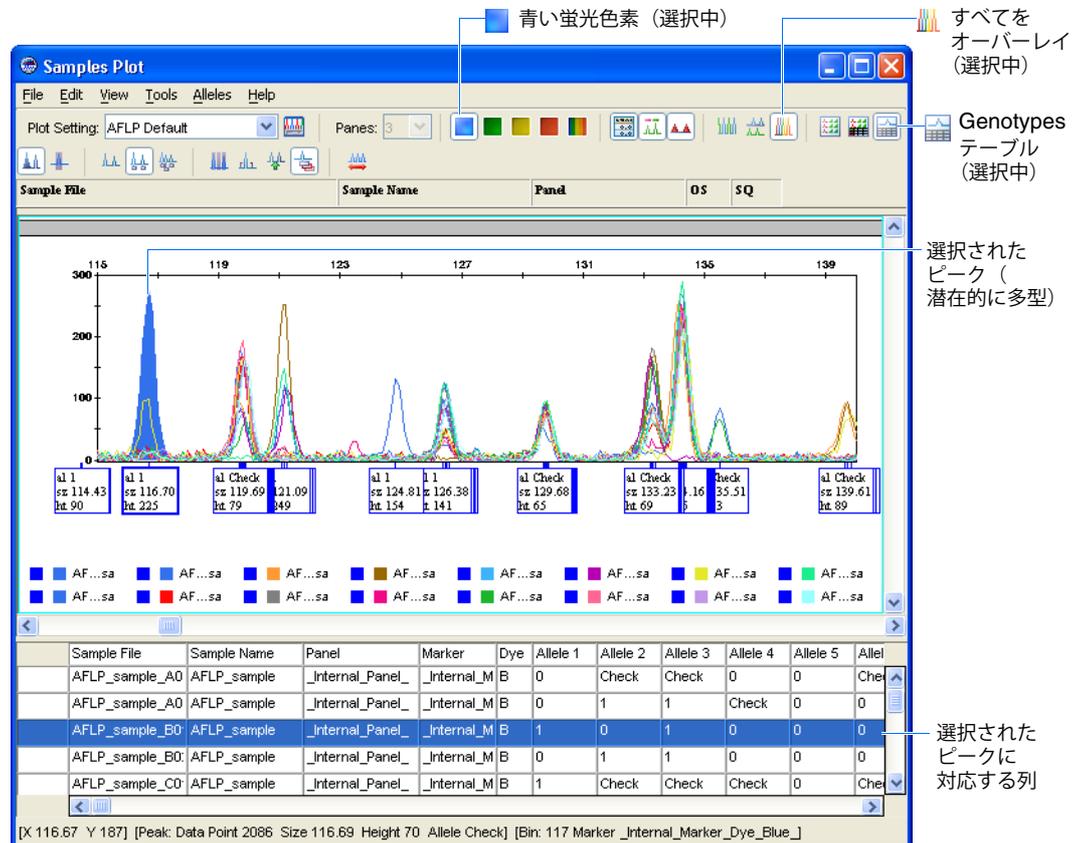
2.  をクリックします（「Analysis」▶「Display Plots」）。
3. AFLP データの Samples Plot 設定を次のとおり設定します。
 - a.  をクリックして（「View」▶「Tables」▶「Genotypes Table」）、Genotypes テーブルを表示します。
 - b.  をクリックして（「View」▶「Plots」▶「Overlay All」）、プロジェクトの選択したサンプルに対する青の蛍光シグナルをオーバーレイします。
 - c.  をクリックして（「View」▶「Bins」）、Bin を非表示にします。
4. 次のとおりプロットを拡大して、50～75 bp 間のデータを表示します。
 - a. プロットの X 軸を右クリックし、「Zoom to」を選択します。
 - b. 「X-Axis Zooming」ダイアログボックスで、「minimum」および「maximum」フィールドにそれぞれ 50 と 75 を入力し、「OK」をクリックします。
5. 次のとおりプロットを拡大して、800 RFU を下回るデータを表示します。
 - a. プロットの Y 軸を右クリックし、「Zoom to」を選択します。
 - b. 「Y-Axis Zooming」ダイアログボックスで、「Zoom To」フィールドに 800 と入力し、「OK」をクリックします。
6. より区別しやすくするため、サンプルのエレクトロフェログラムを次のとおり設定して、複数の色で表示するようにします。
 - a. 「View」▶「Plot Colors」▶「Custom」の順に選択して、サンプルのエレクトロフェログラムをカスタマイズした複数の色で表示します。
 - b. 「View」▶「Legends」を選択して凡例を表示し、カスタムの色を割り当てます。

注：対応するカラー ボックスをダブルクリックして目的の色を選択することにより、すべてのサンプルの色をカスタマイズすることができます。

7. プロットを水平にスクロールし、エレクトロフェログラムで多型ピークをスキャンします。

8. プロットを閉じずに 46 ページの「結果の編集」のアレル コール、Bin Set、Panel の各設定を変更する方法を参照します。

注：1つまたは複数のカスタムの色を変更するには、 をクリックして（「Tools」 ▶ 「Plot Settings」）、Plot Settings Editor の「Display Settings」タブを選択し、 (Custom Colors) をクリックします。



結果の編集

概要

この手順では、Samples Plot の機能を使用して、プロジェクト用の Panel と Bin Set を変更し、読み取られたジェノタイプを編集します。目的のピークまたはピンを特定できるまでデータを閲覧し、次の適切なページを参照してください。

- Marker の変更 46
- Bin の変更 47
- ジェノタイプ読み取りの変更 48

Samples Plot のピーク、Bin、Marker の変更が完了したら、51 ページの「作成した Panel と Bin Set の保存」を参照し、解析を完了します。

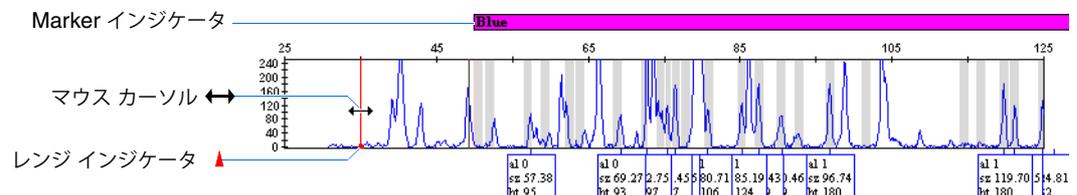
注：Samples Plot と Genotypes Plot は同じように制御できるため、この節での手順は、Genotypes Plot を使用した場合も実行できます。

Marker の変更

Marker レンジの変更

重要！ Marker を変更するには、Samples Plot を Binning モード () にする必要があります。

1.  をクリックして (「View」 ▶ 「Plots」 ▶ 「Separate Dyes」)、個別のプロット内の各サンプルに対応する蛍光シグナルの組合せを表示します。
2. 「Panels」 ▶ 「2」の順に選択し、2つのサンプルのピークデータを同時に表示するようプロットを設定します。
3. Samples Plot のツールバーで  をクリックし (「Alleles」 ▶ 「Editing Mode」 ▶ 「Binning」)、ソフトウェアを Binning モードにします。
4. プロットの上部で、_Internal_Marker_Dye_Blue_ Marker インジケータをクリックして選択します。
5. 必要に応じて、プロットを水平 (左) にスクロールして、Marker の終端を表示します。
6. プロットの下部で、Marker インジケータ () をクリックします。
7. プロットで、Marker インジケータ () の上に赤い線が表示されたら、インジケータを目的の位置までドラッグします。



8. 次のように Panel への変更を保存します。
 - a. 「File」 ▶ 「Save Panel」を選択します。
 - b. 「Save Panel」ダイアログボックスで「Save Panel」を選択し、「OK」をクリックします。
 - c. 「Save Panel」メッセージボックスで、「OK」をクリックします。
9.  をクリックすると (「View」 ▶ 「Plots」 ▶ 「Overlay All」)、プロットがオーバーレイ表示に戻ります。

Bin の変更

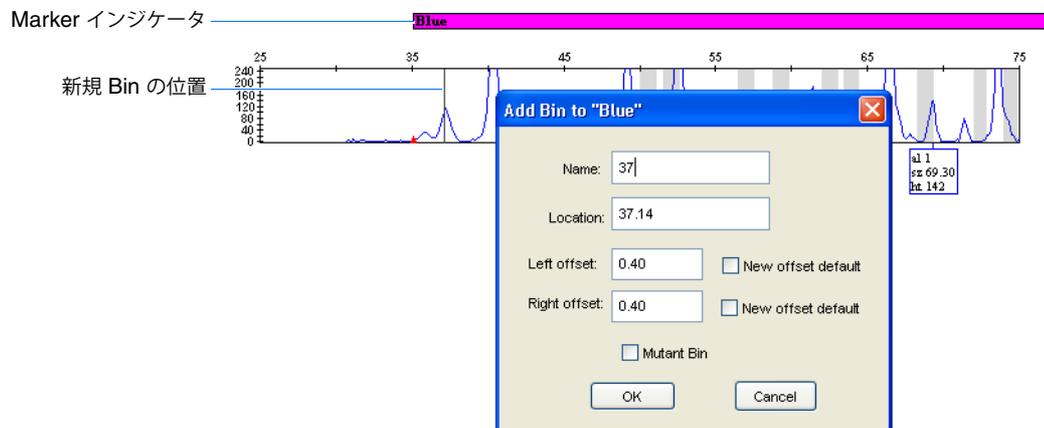
Bin Set への Bin の
追加

重要! Bin を変更するには、Samples Plot を Binning モード (↓) にする必要があります。

1. Samples Plot の領域を決めて、Bin を追加します。必要に応じてプロットをスクロールして拡大し、領域を表示します。
2.  をクリックして (「View」▶「Plots」▶「Separate Dyes」)、個別のプロット内の各サンプルに対応する蛍光シグナルの組合せを表示します。
3. 「Panels」▶「2」の順に選択し、2つのサンプルのピークデータを同時に表示するようプロットを設定します。
4. Samples Plot のツールバーで  をクリックし (「Alleles」▶「Editing Mode」▶「Binning」)、ソフトウェアを Binning モードにします。
5. 必要に応じて Sample Plot を垂直にスクロールし、目的のサンプルを表示します。

注: Bin を追加するために、特定のプロットを選択する必要はありません。

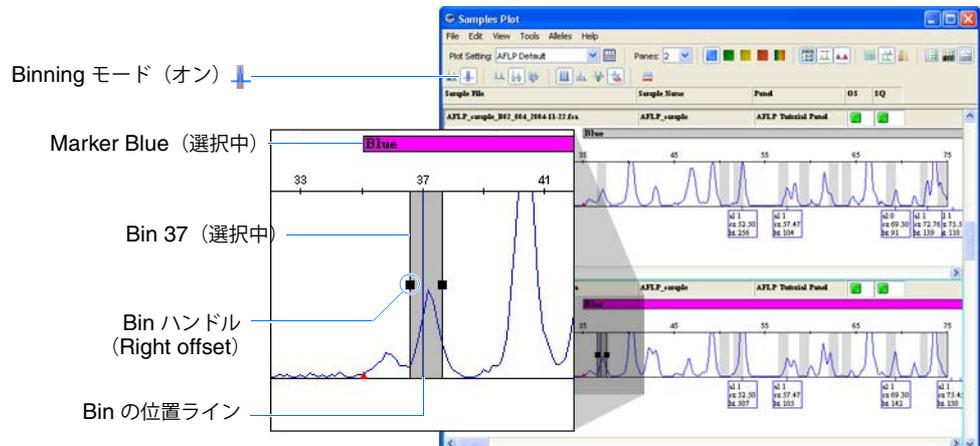
6. 目的のサンプルプロットで、_Internal_Marker_Dye_Blue_Marker インジケータをクリックして選択します。
7. 次のとおり Bin を作成します。
 - a. プロットを右クリックし、「Add Bin」を選択します。
 - b. マウスを使用して、縦の線を目的の位置近辺まで移動し、プロットをクリックします。
 - c. 「Add Bin」ダイアログボックスで、新規 Bin の名前、位置 (単位: bp)、左右のオフセット (単位: bp) を入力します。



- d. 「OK」をクリックすると、Bin が作成されます。

注: Bin をダブルクリックして (または選択した Bin を右クリックして「Edit Bin」を選択)、編集することもできます。

8. 必要な場合、Bin のオフセットを次のとおり手で調整します。
 - a. Bin をクリックして選択します。
 - b. Bin ハンドルを目的の位置までドラッグします。



注： 選択した Bin を右クリックしてから「Delete Bin」を選択しても、Bin を削除できません。

9. 次のように Panel への変更を保存します。
 - a. 「File」 ▶ 「Save Panel」を選択します。
 - b. 「Save Panel」ダイアログボックスで「Save Panel」を選択し、「OK」をクリックします。
 - c. 「Save Panel」メッセージボックスで、「OK」をクリックします。
10.  をクリックすると（「View」 ▶ 「Plots」 ▶ 「Overlay All」）、プロットがオーバーレイ表示に戻ります。

ジェノタイプ読み取りの変更

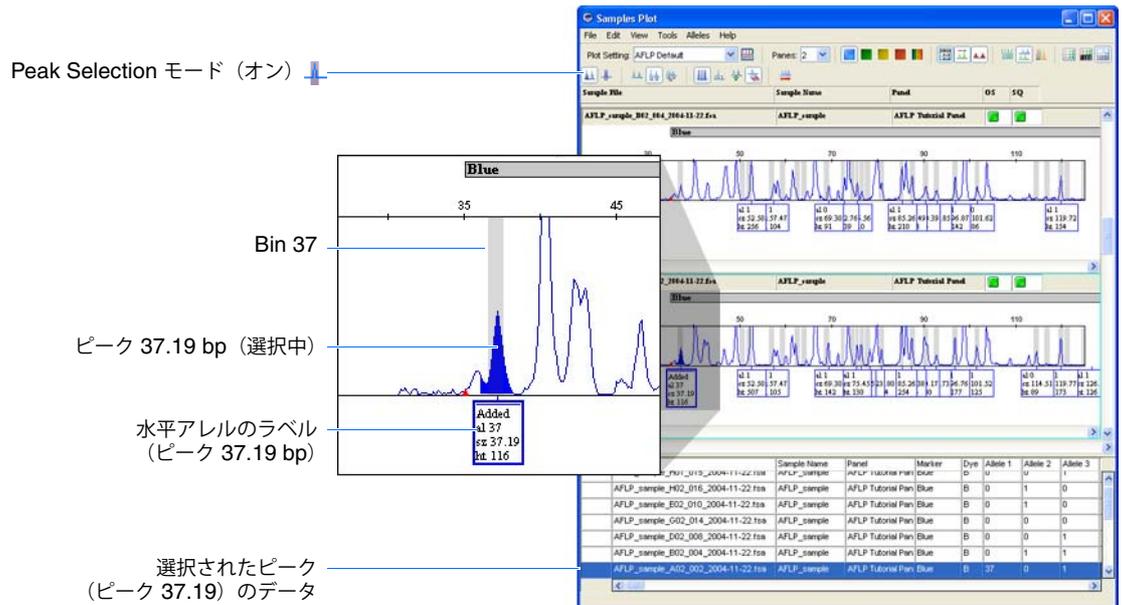
ピークを選択と変更

1. 目的のピークを次のとおり特定します。
 - a.  をクリックして（「View」 ▶ 「Bins」）、Bin を非表示にします。
 - b. Samples Plot でオーバーレイされたデータを表示中に、プロットをスクロールして拡大し、目的のピークを表示します。
 - c. 目的のピークをクリックして選択します。
2.  をクリックして（「View」 ▶ 「Plots」 ▶ 「Separate Dyes」）、個別のプロット内の各サンプルに対応する蛍光シグナルの組合せを表示します。
3. 「Panels」 ▶ 「2」を選択します。
4. Samples Plot で、 をクリックし（「Alleles」 ▶ 「Editing Mode」 ▶ 「Peak Selection」）、ソフトウェアを Peak Selection モードにします。
5. 必要に応じて、プロットを拡大します。
6. 必要な場合は Sample Plot を垂直にスクロールして、手順 1 で特定されたサンプルのプロットを表示します。

7. 次の中から、目的に合うページを選択します。
 - アレル コールを追加する場合、49 ページを参照
 - アレル コールを変更する場合、49 ページを参照
 - アレル コールの履歴を表示する場合、50 ページを参照

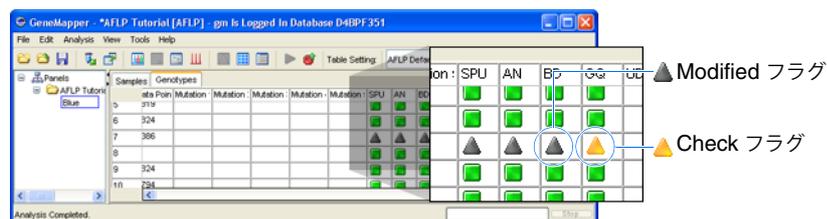
アレル コールの追加

1. 目的のピーク内でクリックして選択します。
2. 選択したピークを右クリックして、「Add Allele Call」を選択します。
3. 「Add Allele Comment」ダイアログ ボックスで、変更内容を入力し、「OK」をクリックします。



4. をクリックすると (「View」 ▶ 「Plots」 ▶ 「Overlay All」)、プロットがオーバーレイ表示に戻ります。

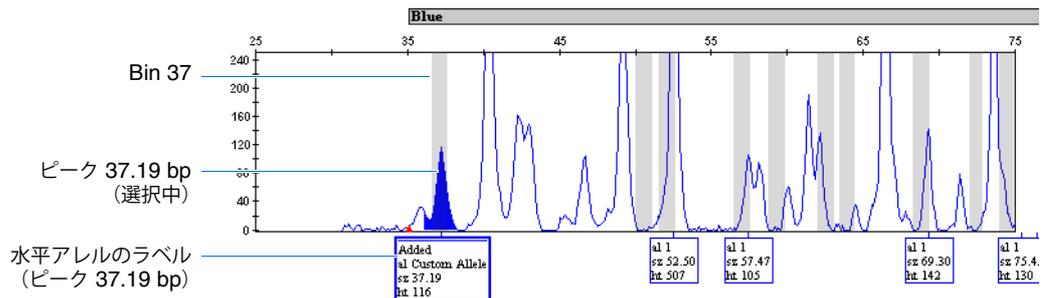
注：アレル コールが手動で変更されているため、編集されたアレルに関連付けられたサンプルに対して、灰色のPQV フラグが表示されます。



アレル コールの変更

1. 目的のピーク内でクリックして選択します。
2. ピークを右クリックして、「Rename Allele」 ▶ 「Custom」を選択します。
3. 「Create Custom Allele Name」ダイアログ ボックスで、アレルの新しい名前を入力し、「OK」をクリックします。

4. 「Edit Allele Comment」ダイアログボックスで、簡単なコメントを入力し、「OK」をクリックします。



5.  をクリックすると（「View」 ▶ 「Plots」 ▶ 「Overlay All」）、プロットがオーバーレイ表示に戻ります。

アレル履歴の表示

1. 目的のピーク内でクリックして選択します。
2.  をクリックして（「View」 ▶ 「Plots」 ▶ 「Separate Dyes」）、個別のプロット内の各サンプルに対応する蛍光シグナルの組合せを表示します。
3. 選択したピークを右クリックして、「History」を選択します。
4. Allele History を確認してから、「OK」をクリックします。

Basepair	Allele Name	User Name	Modification Date	Action	Comments
37.19	Custom Allele	gm	2005-02-10 00:26:07.437	Edited	Changed name

Export OK

5.  をクリックすると（「View」 ▶ 「Plots」 ▶ 「Overlay All」）、プロットがオーバーレイ表示に戻ります。

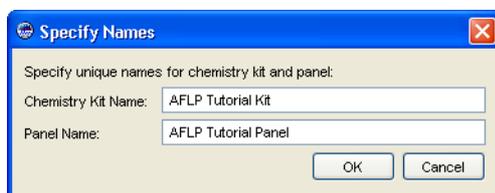
作成した Panel と Bin Set の保存

概要

この手順では、GeneMapper ソフトウェアで作成された Panel と Bin Set を保存して、変更を加え（オプション）、AFLP Tutorial プロジェクトにこの Panel と Bin Set を適用して、解析します。GeneMapper ソフトウェアで作成された Panel と Bin Set を再利用する場合、この節の手順を実行して Panel と Bin Set を保存すれば、他のプロジェクトに適用して使用できます。

作成された Panel の保存

1. 「File」 ▶ 「Close Plot Window」を選択して（または [Esc] キーを押して）、Samples Plot を閉じます。
2. 「GeneMapper」 ウィンドウで、「File」 ▶ 「Export Project Panel」を選択します。
3. 「Specify Names」 ダイアログ ボックスで、次のとおり入力します。
 - a. 「Chemistry Kit Name」 フィールドに、AFLP Tutorial Kit と入力します。
 - b. 「Panel Name」 フィールドに、AFLP Tutorial Panel と入力します。
 - c. 「OK」 をクリックします。



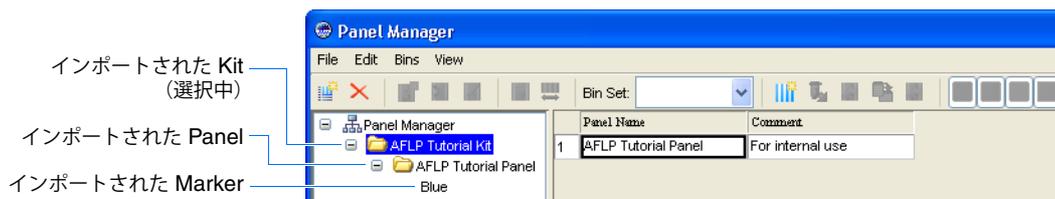
4. 「Select Export Folder」 ダイアログ ボックスで、「Export」 をクリックし、Panel ファイルをデフォルトで決められた場所に保存します。

注： デフォルトでは、すべての Panel ファイルは、Panels フォルダ (<drive>:\AppliedBiosystems\GeneMapper\Panels) に保存されます。

注： エクスポートされたファイルは、自動的に命名されます。

5. 「GeneMapper」 ウィンドウで、 をクリックします（「Tools」 ▶ 「Panel Manager」）。
6. Panel ファイル (AFLP Tutorial Kit_Panel.txt) を次のとおりインポートします。
 - a. Panel Manager のナビゲーション ペインで、 Panel Manager を選択します。
 - b. 「File」 ▶ 「Import Panels」 を選択します。
 - c. 「Import Panels」 ダイアログ ボックスで、AFLP Tutorial Kit_Panel.txt を選択し、「Import」 をクリックします。

ナビゲーション ペインに、AFLP Tutorial Kit、AFLP Tutorial Panel、_Internal_Marker_Dye_Blue_ marker が表示されます。

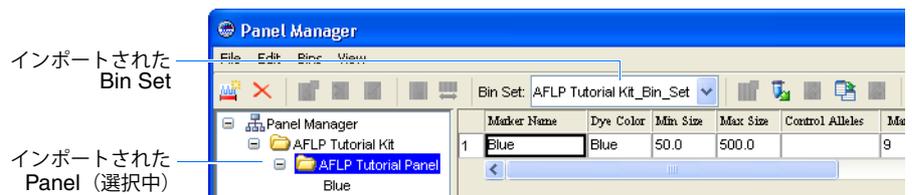


7. Bin Set ファイル (AFLP Tutorial Kit_Bin.txt) を次のとおりインポートします
 - a. ナビゲーション ペインで、 AFLP Tutorial Kit を選択します。
 - b. 「File」 ▶ 「Import Bin Set」 を選択します。
 - c. 「Import Panels」 ダイアログ ボックスで、AFLP Tutorial Kit_Bin.txt を選択し、「Import」 をクリックします。
8. 「Apply」 をクリックして、AFLP Tutorial Panel および Bin Set に加えられた変更を保存します。

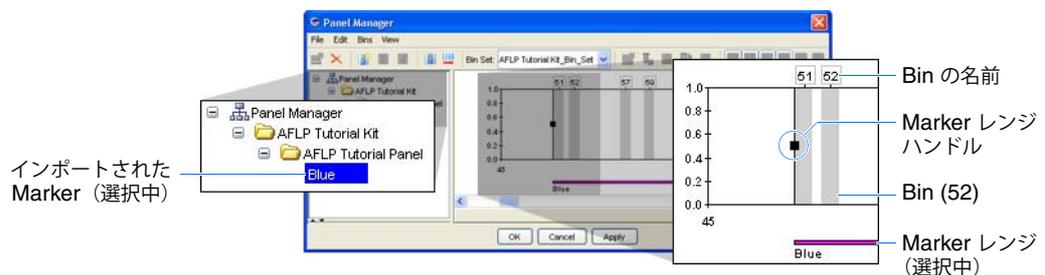
注：エクスポートされた Panel ファイルや Makrer ファイルを他のコンピュータにコピーして、GeneMapper ソフトウェアで使用することができます。

Bin Set の表示

1. Panel Manager のナビゲーション ペインで、次を行います。
 - a.  AFLP Tutorial Kit (インポートされた Kit) を展開します
 - b.  AFLP Tutorial Panel (インポートされた Panel) を選択し、次を確認します。
 - Bin Set メニュー — インポートされた Bin Set の名前が表示されていること。
 - Panel Manager テーブル — 選択された Panel の情報が表示されていること。



2. Panel に対する、45 ~ 75 塩基対の Bin を次のとおり表示します。
 - a. 上のナビゲーション ペインで、 AFLP Tutorial Panel を展開し、「Blue」(インポートされた Marker) を選択します。
プロットに、インポートされた Panel の「Blue」Marker に対する Bin Set が表示されます。
 - b. プロットの X 軸を右クリックし、「Scale to」を選択します。
 - c. 「X-Axis Scale」ダイアログ ボックスで、「Minimum」および「Maximum」フィールドにそれぞれ 45 と 75 を入力し、「OK」をクリックします。



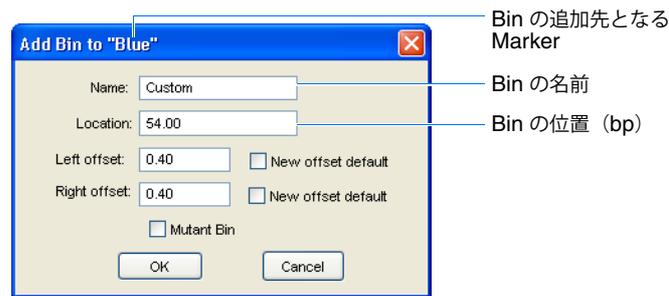
3. プロットを水平にスクロールして、次の項目を確認します。
 - Bin — プロット中の灰色の領域。データ例で作成された Bin を表します。
 - Marker レンジ / レンジ ハンドル — プロットの最下部にある色付きバー。データ例で作成された Marker を表します。プロットのどちらかの側で、Marker の最大上限値と最小下限値を示す一組のハンドル (縦の線) が表示されます。

注：Marker の幅は、作成した Analysis Method において定義される Analysis Range の値と等しくなります (17 ページの「[Peak Detector](#)」タブ設定項目の設定) を参照)。

Bin Set の変更 (オプション)

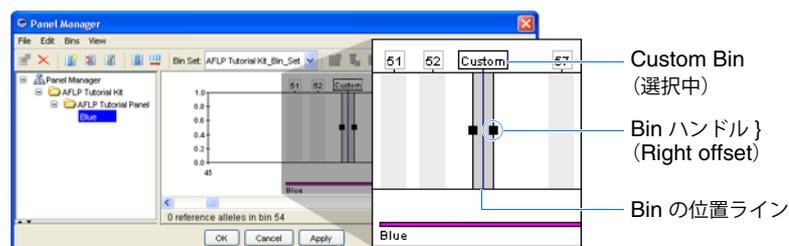
注：この手順は、Bin を変更するための代替方法にもなります。Samples Plot ではなく、Panel Manager を使用する点のみが異なります。

1. 54 bp で、次のとおり Bin を作成します。
 - a. Panel Manager Plot を右クリックし、「New Bin」を選択します。
 - b. 54 bp 近辺で、プロットをクリックします。
 - c. 「Add Bin to "Blue"」ダイアログ ボックスで、次の手順を実行します。
 - 「Name」フィールドに、Custom と入力します。
 - 「Location」フィールドに、54 と入力します。



- d. 「OK」をクリックすると、Bin が作成されます。
2. Custom Bin を次のとおり変更して、1 bp に広げます。
 - a. Bin をダブルクリックします（または、Bin を右クリックし、「Edit Bin」を選択します）。
 - b. 「Edit Bin」ダイアログ ボックスの「Left offset」フィールドと「Right offset」フィールドに 0.5 と入力し、「OK」をクリックして設定を適用します。

注：または、Bin を選択して、Bin ハンドルを目的の位置までドラッグしても、Bin サイズを調整できます。



3. Custom Bin を右クリックし、「Delete Bin」を選択して、Bin を削除します。
4. 変更を適用して Panel Manager を閉じるには、「OK」をクリックします。

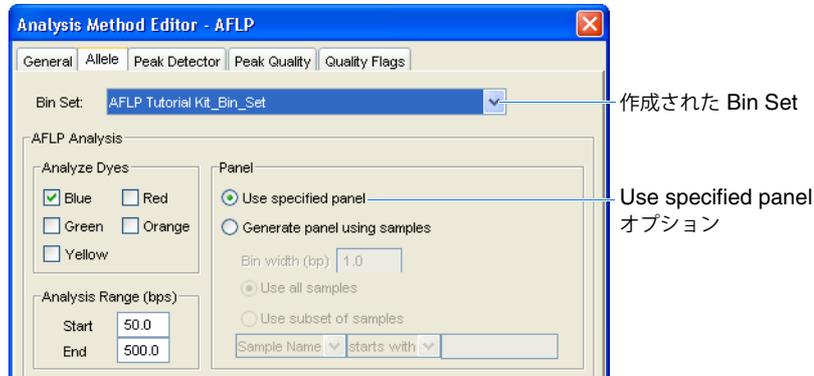
Analysis Method の編集と、作成した Panel での使用

作成された Panel を使用してプロジェクトを解析するには、Analysis Method を変更して作成された Bin Set を使用できるようにする必要があります。この手順では、データの再作成を行う代わりに AFLP Tutorial Analysis Method を設定して、インポートしたばかりの Bin Set を使用します。

Analysis Method を変更して作成された Bin Set を使用するには、次の手順を実行します。

1. 「GeneMapper」ウィンドウで、 をクリックします（「Tools」 ▶ 「GeneMapper Manager」）。
2. GeneMapper Manager で、「Analysis Methods」タブを選択します。
3. AFLP Tutorial を選択し、「Open」をクリックします。

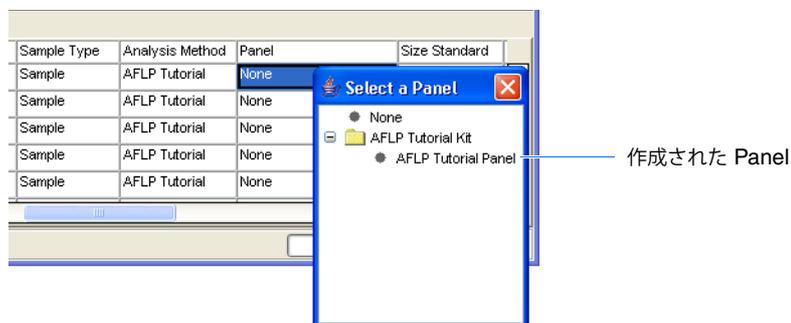
4. 「Allele」タブを選択し、次のとおり設定を変更します。
 - a. Panel 設定で、Use specified panel を選択すると、「Bin Set」メニューに表示されている Bin Set がソフトウェアで使用されます。
 - b. 「Bin Set ▶」「AFLP Tutorial Kit_Bin_Set」を選択すると、前の節で作成した Bin Set がソフトウェアで使用されます。



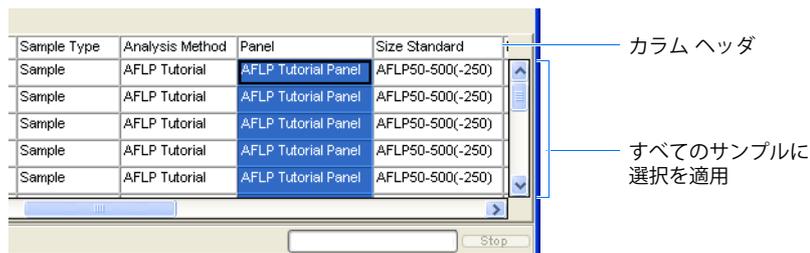
5. 「OK」をクリックして、AFLP Tutorial Analysis Method を保存します。
6. 「Done」をクリックして GeneMapper Manager を閉じます。

作成された Panel のプロジェクトへの 適用

1. 「GeneMapper」ウィンドウで、「Samples」タブを選択します。
2. テーブルの最初の列に表示されているサンプルに、次のとおり Panel を適用します。
 - a. 「Panel」カラムの最初のセルをクリックします。
 - b. 「Select a Panel」ダイアログボックスで、AFLP Tutorial Kit を展開します。
 - c. AFLP Tutorial Panel をダブルクリックします。



3. 次のとおり他のサンプルに選択を適用します。
 - a. 「Panel」カラムのカラムヘッダを選択します。
 - b. 「Edit」▶「Fill Down」をクリックして（または [Ctrl] + [D] キー）、すべてのサンプルに選択を適用します。



4. ▶ をクリックすると（「Analyze」▶「Analyze」）、AFLP Tutorial Panel を使用して、プロジェクトの解析が行われます。

解析の完了

解析後

ジェノタイプデータ結果を確認したら、第4章の説明に従って、解析済みデータを印刷またはエクスポートすることができます。このガイドの残りの部分では、GeneMapper ソフトウェアから解析済みデータを抽出し、後で再利用するための様々な操作方法について説明します。ただし、続行する前に下記の説明に従って、データ例の解析を繰り返すことを考慮してください。

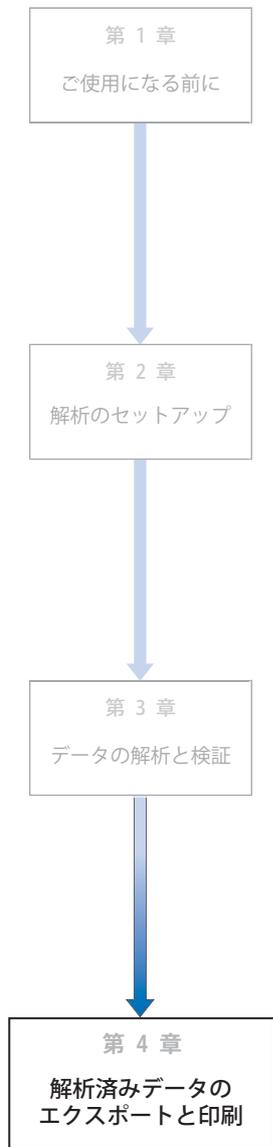
異なるアナリシス パラメータを使用し た解析の繰り返し

GeneMapper ソフトウェアで実行される解析をよりよく理解するには、このガイドで説明しているプロジェクト例のアナリシス パラメータを変更して解析を繰り返すことを検討してください。たとえば、Analysis Method の設定変更や再解析を行うことで、「Allele」タブの設定により作成されるジェノタイプが受ける影響を詳細に理解することができます。

重要！ デフォルトの Analysis Method、サイズ スタンダード、その他のアナリシス パラメータは変更しないでください。

4

解析済みデータのエクспортと印刷



この章では、次の項目について説明します。

- 概要..... 58
- 結果とオブジェクトのエクспорт 59
- 「Samples」タブと「Genotypes」タブのエクспорт..... 60
- プロットと図のエクспорт..... 60
- スプレッドシートで使用するためのデータのエクспорт 61
- プロジェクトとリファレンス データのエクспорт 63
- プロジェクト データの印刷 64

概要

章の構成

この章では、次の項目について説明します。

- 解析結果とデータ オブジェクトのエクスポート
 - 「Samples」タブと「Genotypes」タブの内容のエクスポート
 - プロットと図のエクスポート
 - Report Manager を使用したデータのエクスポート
 - プロジェクトとリファレンス データのエクスポート
- プロジェクト データの印刷

GeneMapper[®] ソフトウェアのほぼすべてのビュー、プロット、テーブルは、印刷またはエクスポートして、後で使用することができます。この章では、エクスポートの実行方法について説明します。

詳細情報

この章では、AFLP[®] データセットの解析に関するソフトウェア機能の一部を説明します。ユーザ インタフェースの全機能に関する詳細については、GeneMapper[®] Software Online Help を参照してください。オンライン ヘルプへのアクセス方法については、[vii ページの「オンライン ヘルプからの情報の入手」](#)を参照してください。

結果とオブジェクトのエクスポート

概要

GeneMapper ソフトウェアでは、「GeneMapper」ウィンドウのタブで表示されるデータを、タブ区切りまたはカンマ区切りのテキストとしてエクスポートできます。エクスポートしたファイルは、大部分の一般的なデータベースや表計算ソフトにインポートして、さらに解析や操作を加えることができます。

表 4-2 GeneMapper ソフトウェアのエクスポート可能な要素

ユーザ インタフェース	エクスポートされる データ/オブジェクト	エクスポートの方法 ...	参照 ページ
「GeneMapper」 ウィンドウ	<ul style="list-style-type: none"> 「Samples」テーブルおよび「Genotypes」テーブル 	基本のエクスポート機能	60
	<ul style="list-style-type: none"> 「Samples」テーブルおよび「Genotypes」テーブルの特定のカラム 	Report Manager	61
Samples Plot	<ul style="list-style-type: none"> エレクトロフェログラム 	スクリーンキャプチャ	60
	<ul style="list-style-type: none"> 「Sizing」テーブルまたは「Genotypes」テーブル 	基本のエクスポート機能	60
Genotypes Plot	<ul style="list-style-type: none"> エレクトロフェログラム 	スクリーンキャプチャ	60
GeneMapper Manager	<ul style="list-style-type: none"> プロジェクト Analysis Methods サイズスタンダードの定義 Table Settings、Plot Settings、Report Settings 	GeneMapper Manager のエクスポート機能	60

表計算ソフトで使用 するための Genotypes テーブルの エクスポート

GeneMapper ソフトウェアでは、Report Manager を利用して、表計算ソフトのカラム制限に対応できます。サンプルセットに対する AFLP バンドパターンの複雑さによっては、エクスポートされた AFLP プロジェクトの Genotypes テーブルに含まれるカラムの数が、一部の表計算ソフトの対応カラム数を超えることがあります。たとえば、Microsoft® Excel は、1 シートでは 256 カラムまでしかサポートしません。このため、Genotypes テーブルをインポートする際、カラム数が制限を超えると、エラーが生じます。詳細については、61 ページの「スプレッドシートで使用するためのデータのエクスポート」を参照してください。

「Samples」タブと「Genotypes」タブのエキスポート

概要

ソフトウェアは、「Samples」および「Genotypes」タブ内のすべてのカラムについて、タブ区切りまたはカンマ区切りのファイルに簡単にエキスポートできます。

重要！ Export Table 機能で作成されたテキスト ファイルは、テーブル全体（または結合された複数のテーブル）を格納することから、表計算ソフトに直接インポートするには容量が大きすぎることがあります。表計算ソフトで使用するためテーブルのデータをエキスポートする場合は、61 ページの「[スプレッドシートで使用するためのデータのエキスポート](#)」の説明に従ってデータのエキスポートを行ってください。

「Samples」テーブル および「Genotypes」 テーブルのエキス ポート

1. 「GeneMapper」ウィンドウで、エキスポートするデータを含む「Samples」タブまたは「Genotypes」タブを選択します。
2. 次のコマンドを選択して、テーブル データをエキスポートします。
 - 「File」 ▶ 「Export Table」 – 選択されたタブに表示される情報をエキスポートします。
 - 「File」 ▶ 「Export Combined Table」 – 両方のタブに表示される情報をエキスポートします。

注：「Export Combined Table」オプションは、「Samples」タブを表示している時のみ使用できます。

プロットと図のエキスポート

概要

GeneMapper ソフトウェアでプロットをエキスポートする最良の方法は、サードパーティ製のスクリーンキャプチャユーティリティ、または Windows® OS の Ctrl-Print Screen 機能を使用することです。Alt-Print Screen 機能を使用する手順について、次に説明します。

Alt-Print Screen 機能を使用した スクリーンショット の撮り方

1. プロット表示中に設定を調整し、必要に応じてその表示方法を変更します。
2. [Alt] キーと [Print Screen] キーを押し、アクティブ ウィンドウのビットマップ イメージを、Windows OS のクリップボードにコピーします。
3. 目的のソフト（Microsoft® Word や Excel など）に、ビットマップ イメージを直接貼り付けます。

スプレッドシートで使用するためのデータのエクスポート

概要

Report Manager では、「Samples」テーブルや「Genotypes」テーブルを構成するカラムを任意に組み合わせて、レポートを作成することができます。完成したレポートは、タブ区切りまたはカンマ区切りのテキストとして、保存、印刷、エクスポートすることができます。Report Manager では、「Samples」テーブルおよび「Genotypes」テーブルの内容をピボットすることができます。これにより、カラムをスプレッドシート内で垂直にフィットさせ、表計算ソフトのカラム制限に対応します。

注： Report Manager では、「Calculation」、「Analysis」、「Custom」の各カラムでレポートを設定することにより、レポートデータの基本的な比較計算作業を実行することができます。また、レポートの作成に使用された設定を保存して、他のプロジェクトで同じレポートを作成する際に再利用することも可能です。

Report Setting の作成

1. プロジェクト用に作成されるアレルの数を次のとおり特定します。
 - a. 「GeneMapper」ウィンドウで、「Genotype」タブを選択し、テーブルを水平にスクロールして、最後の「Allele」カラムを表示します。
 - b. 最後のアレルの番号を記録します。
2.  をクリックします（「Tools」 ▶ 「GeneMapper Manager」）。
3. GeneMapper Manager で「Report Settings」タブを選択し、「New」をクリックして Report Settings Editor を開きます。
4. 「Name」フィールドに、AFLP Tutorial と入力します。
5. 「Number of Alleles」フィールドに、手順 1 で特定したアレルの数を入力します。
6. Genotypes テーブルのカラムを、Report Setting に次のとおり追加します。
 - a. Available Columns 設定で、「Genotype」タブを選択します。
 - b. [Ctrl] キーと [Shift] キーを使用して、「Sample File」、「Sample Name」、「Sample ID」、および「Allele 1」～「Allele 59」列を選択します。
 - c.  をクリックして、レポートにカラムを追加します。
 - d. 「OK」をクリックして Report Setting を保存します。
7. 「Done」をクリックして GeneMapper Manager を閉じます。

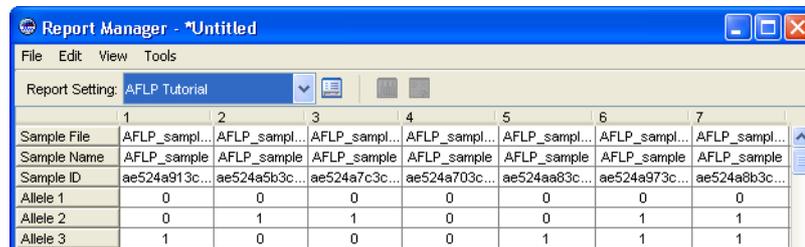
レポートの作成

1. 「GeneMapper」ウィンドウで、「Edit」 ▶ 「Select All」を選択し、プロジェクトのすべてのサンプルを選択します。
2.  をクリックします（「Analysis」 ▶ 「Report Manager」）。
3. Report Manager で、「Report Setting」 ▶ 「AFLP Tutorial」を選択し、レポートに Report Setting を適用します。

レポートのコンテンツが、AFLP プロジェクトのバイナリ データで置き換えられていることを確認します。データが水平に表示されているため、使用する前にピボットする必要があります。

4. 「Edit」 ▶ 「Flip Table」を選択して、テーブル データをピボットします（カラムが列に、列がカラムになります）。

レポートのコンテンツが垂直に表示されていることを確認します。これで、データを表計算ソフトに正しくインポートすることができます。



	1	2	3	4	5	6	7
Sample File	AFLP_sampl...						
Sample Name	AFLP_sample						
Sample ID	ae524a913c...	ae524a5b3c...	ae524a7c3c...	ae524a703c...	ae524aa83c...	ae524a973c...	ae524a8b3c...
Allele 1	0	0	0	0	0	0	0
Allele 2	0	1	1	0	0	1	1
Allele 3	1	0	0	0	1	1	1

5. レポートのエクスポート

- Report Manager で、「File」 ▶ 「Export Table」を選択します。
- 「Export Report」ダイアログ ボックスの左ペインで、 Desktop をクリックし、エクスポートされたファイルをデスクトップに保存します。
- 「File name」フィールドに、AFLP Tutorial と入力します。
- 「Export File As」設定で、エクスポート形式として、Tab-delimited text (.txt) または Comma-separated values (.csv) のどちらかを選択します。
- 「Export」をクリックします。

6. Report Manager で、次のとおりレポートを保存します（オプション）。

- 「File」 ▶ 「Save」を選択します。
- 「Save」ダイアログ ボックスで AFLP Tutorial と入力し、「OK」をクリックします。

7. Report Manager で、「File」 ▶ 「Exit」を選択します。

プロジェクトとリファレンス データのエキスポート

概要

GeneMapper Manager と Panel Manager では、GeneMapper ソフトウェアによって保存および使用されるほぼすべてのオブジェクトをエキスポートすることができます。エキスポートされたオブジェクトを保存してデータをバックアップしたり、GeneMapper ソフトウェアのコピーが格納されている別のコンピュータとの間で移動（転送）することができます。

リファレンス データのエキスポート

GeneMapper Manager と Panel Manager では、AFLP プロジェクトの解析で使ったリファレンス データをエキスポートおよびインポートすることができます。

Kit、Panel、Bin Set をエキスポートするには、次の手順を実行します。

1. 「GeneMapper」ウィンドウで  をクリックして（「Tools」 ▶ 「Panel Manager」）、Panel Manager を開きます。
2. Panel Manager のナビゲーション ペインで、目的のリファレンス データ（Kit、Panel、または Bin Set）を選択し、「File」 ▶ 「Export Panels」、「Bin Set」、または「All Kits」を選択します。

Analysis Method、サイズ スタンダード定義、各種設定をエキスポートするには、次の手順を実行します。

1. 「GeneMapper」ウィンドウで、 をクリックし（「Tools」 ▶ 「GeneMapper Manager」）、GeneMapper Manager を開きます。
2. GeneMapper Manager でエキスポートしたいメソッドや設定のタブを選択して、エキスポートするメソッドや設定を選択し、「Export」をクリックします。

プロジェクトのエキスポート

プロジェクトをエキスポートして、データのストレージ、バックアップ、または GeneMapper ソフトウェアのコピー間で、移動することができます。

重要！ エクスポートされるプロジェクトには、解析済みデータのみが含まれます。解析に使用されたリファレンス データ（Analysis Method、Panel など）は、別途エキスポートする必要があります。

プロジェクトをエキスポートするには、次の手順を実行します。

1. 「GeneMapper」ウィンドウで  をクリックし（「Tools」 ▶ 「GeneMapper Manager」）、GeneMapper Manager を開きます。
2. GeneMapper Manager で「Projects」タブを選択して、エキスポートするプロジェクト（複数可）を選択し、「Export」をクリックします。

プロジェクトデータの印刷

概要

表 4-3 は、GeneMapper ソフトウェアの印刷可能なすべてのビュー、プロット、テーブルの一覧です。

表 4-3 印刷可能なユーザ インタフェース要素

インタフェース	印刷の方法 ...
「GeneMapper」 ウィンドウ <ul style="list-style-type: none"> 「Samples」タブ 「Genotypes」タブ 	<ol style="list-style-type: none"> 「GeneMapper」ウィンドウでプロジェクトを表示中に、印刷するデータを含むタブを選択します。 選択したタブに表示される情報を印刷するには、 をクリックします（「File」 ▶ 「Print」）。
Sample File データ <ul style="list-style-type: none"> 「Info」タブ 「Raw Data」タブ 「EPT Data」タブ 	<ol style="list-style-type: none"> 「GeneMapper」ウィンドウでプロジェクトを表示中に、ナビゲーションペインでプロジェクト フォルダを展開し、サンプル ファイルを選択します。 印刷するデータを含むタブを選択します。 選択したタブに表示される情報を印刷するには、 をクリックします（「File」 ▶ 「Print」）。
Samples Plot	<ol style="list-style-type: none"> 「GeneMapper」ウィンドウでプロジェクトを表示中に、「Samples」タブを選択します。 「Samples」タブで、Samples Plot に表示するサンプルを選択します。  をクリックします（「Analysis」 ▶ 「Display Plots」）。 必要に応じてプロットを設定します。 選択したタブに表示される情報を印刷するには、 をクリックします（「File」 ▶ 「Print」）。
Genotypes Plot	<ol style="list-style-type: none"> 「GeneMapper」ウィンドウでプロジェクトを表示中に、「Genotypes」タブを選択します。 「Genotypes」タブで、Genotypes Plot に表示するジェノタイプを選択します。  をクリックします（「Analysis」 ▶ 「Display Plots」）。 必要に応じてプロットを設定します。 選択したタブに表示される情報を印刷するには、 をクリックします（「File」 ▶ 「Print」）。

記号

_Internal_Marker_Dye_Blue_ 26

_Internal_Panel_ 26

A

Allele Calling 設定 13

「Allele」カラム 38

「Allele」タブの設定 12

amplified fragment length polymorphism (AFLP) 2

Analysis Method 12

「Allele」タブの設定 12

「Peak Detector」タブの設定 17

「Peak Quality」タブの設定 18

「Quality Flags」タブの設定 19

エクスポートされた Panel で使用するための変更 53
作成 12
調整 30

Analysis Range 設定 13, 18

Analyze Dyes 設定 12

Applied Biosystems

テクニカル サポート vii

ユーザ マニュアルに関する顧客フィードバック vii

連絡先 vii

Automatic Panel Generation 14, 25

B

Bin 7, 41, 42, 52

変更 47, 53

Bin Set 7, 52

D

Data Collection 4

「Data Point」カラム 38

Delete common alleles 13, 15

G

GeneScan-500 (ROX) サイズ スタンダード 5

Genotype Quality (GQ) 値 19

「Genotypes」タブ 38

「GQ」カラム 39

H

「Height」カラム 38

K

Kit 7

M

Marker 7

Marker の変更 46

「Max Peak Width」フィールド 18

MSDS の入手 vii

N

Name alleles using bin names 13

Normalization Method 設定 14, 16

Normalization Scope 設定 14, 16

O

OS PQV 27

「OS」カラム 26, 39

P

Panel 7

インポート 51

エクスポート 51

作成 14, 25

「Panel」カラムと「Marker」カラム 26

Panel のインポート 51

Peak Amplitude Thresholds 18

「Peak Area」カラム 38

「Peak Detector」タブの設定 17

Peak Height Ratio 設定 15

「Peak Quality」タブの設定 18

Peak Selection モード 41

Plot Settings 40

PQV Thresholds 20

Preselective Amplification 3

「Pull-Up Ratio」フィールド 19

Q

Quality Flag Settings 19

R

Ranges 設定 18

変更 31

Raw Data の表示 27

S

Sample Plot 39

Selective Amplification 3

Size Match Editor 29

「Size」カラム 38

Sizing Quality 値 30

Sizing Range 設定 18

「SQI」カラム 34

SQ PQV 29

「SQ」カラム 26, 31, 34

「Status」カラム 34

T

Table Setting 21

Thresholds and Labels Details

ラベル 13

あ

アダプタのライゲーション 2

アナリシスパラメータ 7

誤って読み取られたピーク 32

アレル コーリングの標準化 16

アレルの履歴の表示 48

お

オフスケール データ 27

か

解析のワークフロー 6

カスタムのプロットの色 44

関連資料 vi

こ

互換性のある

AFLP 解析 2

装置 4

ゴシック体での表記 v

コマンドライン インタフェース 8

さ

サイジングデータの検証 29

サイズスタンダード

検証 42

サンプル間の比較閲覧 42

定義 34

作成

Analysis Method 12

サイズスタンダード定義 35

プロジェクト 10

サポートされるケミストリ 2

サンプル/系統の同定 2

サンプルの追加 11

サンプル ファイルの場所 5

サンプルを使用した Panel 作成 13

し

ジェノタイプ読み取りの変更 48

自動解析 8

使用可能なケミストリ キット 4

た

多型ピーク 44

つ

追加

サンプル 11

ジェノタイプ読み取り 48

て

テクニカルサポートの連絡先 vii

電気泳動分離 4

テンプレートの調製 2

と

トレーニングの情報 vii

な

ナビゲーション ペイン 26

は

バッククロス解析 2

Panel Generation 設定 14

ひ

ピーク

誤って読み取られた 32

多型 44

読み取られた 42

読み取られない 42

ピーク検出アルゴリズム 17

ピーク データの表示 39

表記法 v

ゴシック体 v

重要! v

注意 v

太字 v

マニュアル v

メニュー コマンドの説明 v

ユーザへの注意事項 v

表示

Panel と Bin Set 51

Raw Data 27

アレルの履歴 48

多型ピーク 44

ピーク データ 39

標準化、アレル コーリング 16

ふ

太字での表記 v

プロジェクト

印刷 64

エクスポート 59

作成 10

プロジェクトの解析 25

ま

マニュアルの使用前提条件 v

め

メニュー コマンドの表記法 v

ゆ

ユーザへの注意事項 v

ユーザ マニュアルに関する顧客フィードバック vii

よ

読み取られたピーク 42

読み取られないピーク 42

ら

ライゲーション、アダプタ 2

ライセンス拒否 ii

