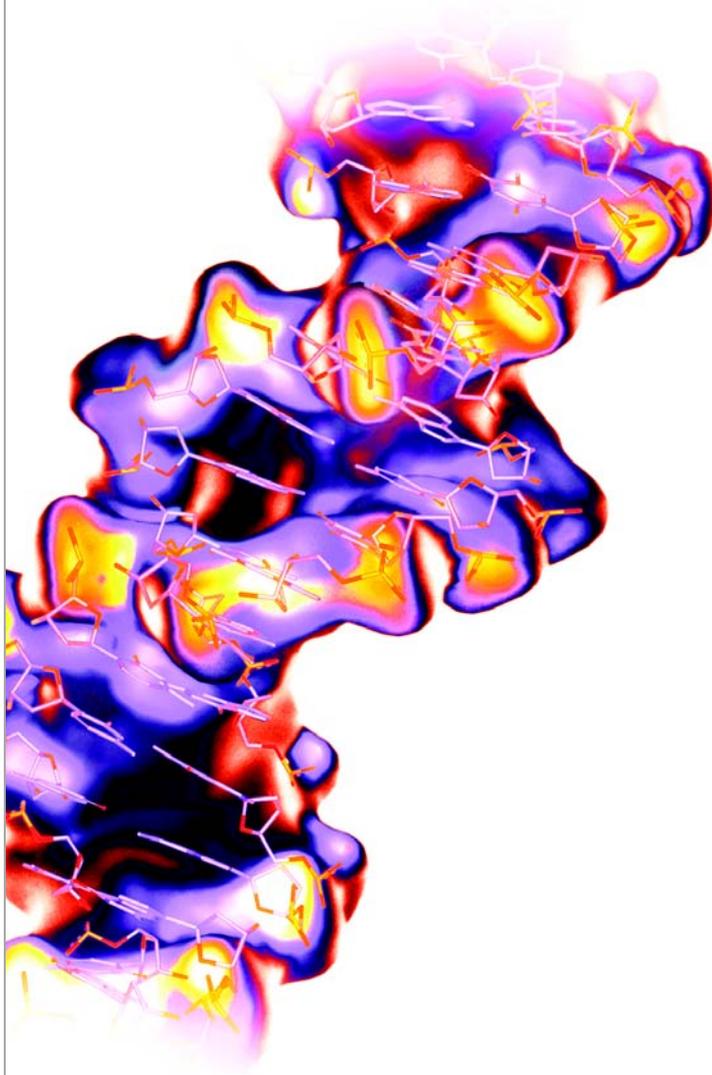


LOH 解析 Getting Started Guide



LOH 解析 Getting Started Guide

ご使用になる前に **1**

LOH
(Loss of Heterozygosity)
解析の設定 **2**

結果の解析と検証 **3**

データのソートと LOH
(Loss of Heterozygosity)
の評価 **4**

結果の印刷とエクスポート **5**

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.

本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、本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、構成物、試薬、キットの権利のいかなる権利（ライセンス）の取得も意味しません。

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開発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。

商標：

ABI Prism、Applied Biosystems、GeneMapper、GeneScan、SNaPshot は、登録商標です。AB Design、Applera、GeneMapper、GeneScan、SNPlex、ZipChute 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。

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>.

AFLP は、Keygene N.V. の登録商標です。

Microsoft および 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 4363081 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
LOH マイクロサテライト解析について	2
データ例について	3
LOH マイクロサテライト解析のワークフロー	4
GeneMapper® Software の用語	5
ソフトウェアの起動とログイン	5
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	5
GeneMapper ソフトウェア v3.7 を使う場合のこのガイドの使用	5
このガイドにおける手順のその他の方法	6
第 2 章 LOH (Loss of Heterozygosity) 解析の設定	7
概要	8
Kit、Panel、Marker の作成	9
新規プロジェクトの作成とサンプル ファイルの追加	12
プロジェクト用のアナリシス パラメータと Table Settings の設定	14
プロジェクトでのサイジングの実行	20
Auto Bin 機能を使用した Bin Set および Bin の作成	25
第 3 章 結果の解析と検証	31
Analysis Method の編集	32
プロジェクトの解析	34
結果の検証	34
第 4 章 データのソートと LOH (Loss of Heterozygosity) の評価	39
概要	40
LOH データのソート	42
レポートの作成と LOH の算出および評価	44
カスタム LOH Report Setting の編集または作成	45

第5章	結果の印刷とエクスポート	51
	結果の印刷	52
	結果のエクスポート	53
	索引	55

このガイドの使い方

このマニュアルの目的 GeneMapper® Software v4.0 LOH 解析 Getting Started Guide では、互換性のある任意の Applied Biosystems 社製シーケンサおよび Data Collection ソフトウェアを使用して作成された LOH マイクロサテライト データをサイジング、ジェノタイピング、評価する手順について、段階を追って簡潔に説明します。また、トラブルシューティング、データの印刷とエクスポート、レポート作成の方法についても記載しています。このマニュアルは、GeneMapper Software 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。

対象読者 このマニュアルは、GeneMapper Software の初級ユーザを対象としています。

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 v4.0 Quick Installation and Administration Guide』(PN 4363080) の説明に従って、GeneMapper Software v4.0 がインストールされていること。
- Microsoft® Windows® XP 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**で表記されている言葉は、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。
- **▶** 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 Runs」を選択します。

ユーザへの注意事項 Applied Biosystems の Getting Started Guide 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。

安全に関する 注意事項

このユーザ マニュアルには、安全に関する注意事項も記載されています。詳細については、『GeneMapper® Software v4.0 Installation and Administration Guide』(PN 4363080) を参照してください。

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 v4.0 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

すべての保証とライセンスに関する情報の詳細については、『GeneMapper® Software v 4.0 Installation and Administration Guide』(PN 4363080) を参照してください。

関連資料

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。

- **GeneMapper® Software v4.0 Installation and Administration Guide** – GeneMapper Software v4.0 のインストール、セキュリティ、メンテナンスする手順について記載しています。
- **GeneMapper® Software v4.0 Getting Started Guide** – GeneMapper Software 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を記載したガイド 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 Software 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 Software に関する説明と、一般的なタスクの手順を提供します。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、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 v4.0 Quick Reference Guide** – 解析のワークフローをタイプ別に記載すると共に、GeneMapper Software 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提供します。
- **GeneMapper® Software v4.0 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ます。

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 v4.0 Documentation CD に収録されています。

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。

オンライン ヘルプ からの情報の入手

GeneMapper Software 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、[F1] キーを押す、「Help」▶「Contents and Index」の順に選択する、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。

連絡先

Applied Biosystems では、弊社のユーザ 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

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

この章は、次の項目から構成されています。

- LOH マイクロサテライト解析について 2
- データ例について 3
- LOH マイクロサテライト解析のワークフロー 4
- GeneMapper® Software の用語 5
- ソフトウェアの起動とログイン 5
- 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 5
- GeneMapper ソフトウェア v3.7 を使う場合のこのガイドの使用 5
- このガイドにおける手順のその他の方法 6

第 2 章
LOH
(Loss of Heterozygosity)
解析の設定

第 3 章
結果の解析と検証

第 4 章
データのソートと LOH
(Loss of Heterozygosity)
の評価

第 5 章
結果の印刷と
エクスポート

LOH マイクロサテライト解析について

マイクロサテライト マーカ

マイクロサテライト マーカは、別名ショート タンデム リピート (STR) とも呼ばれ、ヌクレオチドの反復シーケンスで構成される多型 DNA 遺伝子座です。反復配列の 1 単位は、多くの場合 2～7 塩基対長です。また、反復単位の数はポピュレーション内で異なるため、1 つのマイクロサテライト 遺伝子座に対して複数のアレルが作成されます。

マイクロサテライト 解析

典型的なマイクロサテライト解析では、マイクロサテライト 遺伝子座 (ローカス) は、蛍光標識されたフォワード プライマーおよび蛍光標識されていないリバース プライマーを使用して PCR で増幅します。PCR 産物は、電気泳動を使用して分子量 (サイズ) ごとに分離されます。次に蛍光検出によって、蛍光標識された産物が検出されます。これで、GeneMapper ソフトウェアを使用して、アレルのサイジングおよびジェノタイピングを行うことができます。

LOH について

がん抑制遺伝子 (TSG) の不活性化を説明するのに使用される「two-hit」理論では、最初の変異 (「ヒット」) が、1 つの野生型アレルと 1 つの変異型アレルによる TSG のヘテロ接合状態を引き起します。その後、2 番目の「ヒット」が起こり、TSG の野生型アレルを含む染色体のすべてまたは一部が欠失すると、腫瘍形成の可能性が増大します。この現象を、LOH (Loss of Heterozygosity; ヘテロ接合性の消失) と呼びます。これは稀な例ですが、TSG アレルのうち 1 つの変異が遺伝する家族性癌の形成においては、比較的頻繁に発生します。

LOH マイクロ サテライト解析

LOH マイクロサテライト解析では、マイクロサテライト マーカを使用して、LOH の腫瘍サンプルをスクリーニングします。LOH は、TSG の野生型コピーを含むゲノム DNA 領域の欠失によって引き起こされる場合があるため、LOH 用サンプルのスクリーニングにマイクロサテライト マーカを使用することができます。

典型的な LOH アッセイは、同一の個人から採取した潜在的な腫瘍組織と正常な組織の両方に対して、増幅した同じマイクロサテライト マーカを比較します。正常な組織では、当該するヘテロ接合マイクロサテライト マーカに 2 つのアレルが認められます。腫瘍サンプルに LOH が発生している場合、2 つのアレルのうち 1 つのピーク高が低下 (正常なアレル ピーク高と比較して) するため、明確に判断できません (図 1-1)。腫瘍サンプルが、ピークの欠失ではなくピーク高の低下を示す理由は、単離プロセス中に、腫瘍サンプルが正常な細胞で汚染され、一部の野生型 DNA が腫瘍標本に入り込むためです。

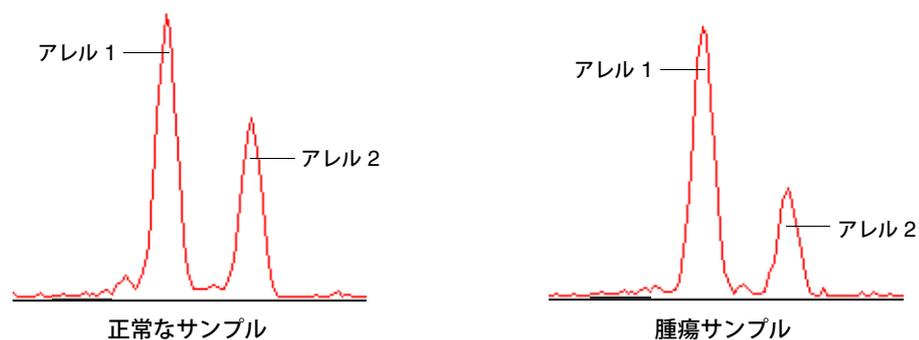


図 1-1 アレル 2 のピーク高に欠損を示す異常なサンプル

マイクロサテライト解析を実行後、GeneMapper® ソフトウェアの Report Manager を使用して、正常な組織と異常な組織間のマイクロサテライト アレルの Peak Height Ratio を算出して比較することができます。また、Peak-Height Ratio のしきい値設定に基づいて潜在的な LOH を発見し、フラグをたてることもできます。さらに、腫瘍サンプルで観察される野生型 DNA の汚染レベルに基づいて、このしきい値を変更することもできます。

カスタム プライマー

Applied Biosystems では、蛍光カスタム プライマー合成サービスを提供しています。詳細については、Applied Biosystems Web サイト (www.appliedbiosystems.co.jp) を参照してください。

互換性のある装置

LOH マイクロサテライト解析と互換性のある Applied Biosystems 社製のシーケンサの詳細については、『GeneMapper® Software v4.0 Quick Reference Guide』(PN 4362816)を参照してください。

データ例について

サンプル ファイルの命名規則

このガイドで使用されるサンプル ファイルの命名規則にしたがうことで、GeneMapper® ソフトウェアで提供される LOH Default の Report Setting を活用できるようになります。特に、同一個人から採取した正常なサンプルと腫瘍サンプルは、同じ文字または数で始まるため、サンプル ファイルまたはマーカごとにソートする際、連続して表示されます。

例：1_Healthy.fsa, 1_Tumor.fsa, 2_Healthy.fsa, 2_Tumor.fsa など

ユーザ独自の LOH データを解析する際に LOH Default の Report Setting を使用する場合、ユーザ独自のサンプルファイルは上記のように命名されている必要があります。

LOH データのサンプル ファイルが上記のように命名されていなくても、GeneMapper® ソフトウェアでソートおよび LOH レポート機能を使用することはできますが、45 ページの「カスタム LOH Report Setting の編集または作成」の説明に従って、Report Setting を編集する必要があります。次に示すのは、同一個人から採取した正常なサンプルと腫瘍サンプルを、サンプル ファイルおよびマーカごとにソートしても、連続してリスト表示されない命名規則の例です。

例：Healthy_1.fsa, Healthy_2.fsa, ..., Tumor_2.fsa, Tumor_1.fsa など

サンプル ファイルの場所

このマニュアルの演習を実行するには、ハード ディスク ドライブの次の場所に配置されている4つのサンプル ファイル (.fsa) を使用します。

<drive>:\AppliedBiosystems\GeneMapper\Example Data\LOH

注：上記のパスは、GeneMapper® 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。デフォルトでは、D ドライブにインストールされます。

装置とサイズスタンダード

サンプル ファイルは、PCR 増幅および蛍光標識された マイクロサテライトサンプルを GeneScan™ 500LIZ® サイズスタンダードとともに ABI PRISM® 3100 ジェネティックアナライザで泳動したものです。

マーカ情報

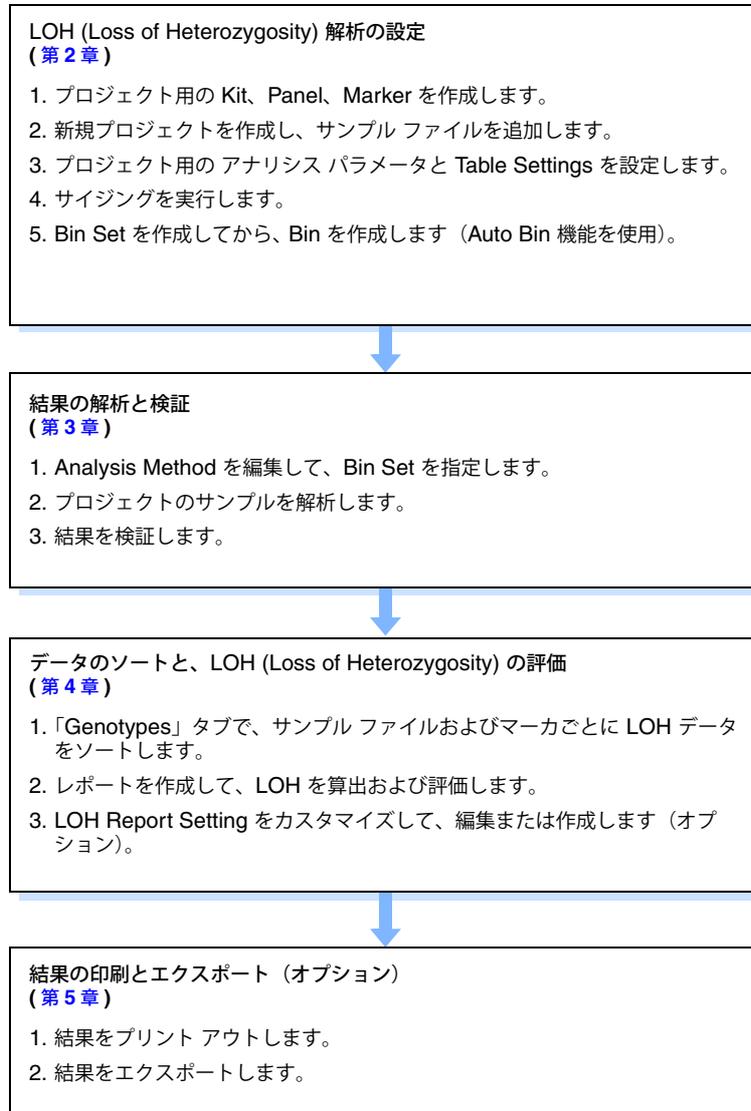
サンプル ファイルには、次の6つのマーカが含まれています。

マーカ	蛍光色素標識	アレル サイズ レンジ (bp)
R5	Blue	120 – 186
R26	Blue	193 – 295
R14	Blue	300 – 470
R21	Yellow	100 – 160
R24	Yellow	170 – 250
R2	Green	157 – 204

このマーカ情報は、第2章「LOH (Loss of Heterozygosity) 解析の設定」で Panel と Marker を作成する際に使用します。

LOH マイクロサテライト解析のワークフロー

次のフローチャートは、GeneMapper® ソフトウェアを使用して LOH 解析を実行する手順を要約したものです。



GeneMapper® Software の用語

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、Size Standard、Panel を含む)。プロジェクトに使用するすべてのサンプルの解析用に GeneMapper® ソフトウェアで使われるサイジング 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。
ビン Bin	Marker 内のアレルを定義するフラグメント サイズ (bp) と蛍光色素。Bin は、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。
ビン セット Bin Set	Bin の集合 (アレルの定義)。通常は、一連の実験条件に対して固有の Bin Set を作成します。
マーカ Marker	マイクロサテライト マーカは、名前 (ローカス名など)、フラグメント サイズ レンジ (bp)、蛍光色素色、反復長によって定義されます。
パネル Panel	Marker のグループ。GeneMapper® ソフトウェアでは、Panel を Bin Set と関連付けることにより、Marker の Bin 定義を設定します。
キット Kit	Panel のグループ。

ソフトウェアの起動とログイン

GeneMapper® ソフトウェアを起動してログインするには、次の手順を実行します。

1. 「Start」 ▶ 「All Programs」 ▶ 「Applied Biosystems」 ▶ 「GeneMapper」 ▶ 「GeneMapper 4.0」 の順に選択します。
2. 「Login to GeneMapper」 ダイアログ ボックスで、次の手順を実行します。
 - a. 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。
 - b. 「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の一般的な LOH マイクロサテライト解析のワークフローを段階的に実行できます。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は使用しないでください。ただし、ユーザ独自のサンプル ファイルを解析する際の LOH マイクロサテライト解析ワークフローにはこのガイドを使用できます。

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マイクロサテライト LOH 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います。これを利用すればマイクロサテライト LOH 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「[LOH \(Loss of Heterozygosity\) 解析の設定](#)」のほとんどが、マイクロサテライト LOH プロジェクトで使用する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マイクロサテライト LOH プロジェクトを設定する方法の詳細については、『GeneMapper® Software v4.0 Quick 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「[LOH \(Loss of Heterozygosity\) 解析の設定](#)」で説明されている多くのタスクを自動化できるため、マイクロサテライト LOH 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 v4.0 Quick Installation and Administration Guide』(PN 4363080)を参照してください。

2

LOH (Loss of Heterozygosity) 解析の設定



この章は、次の項目から構成されています。

- 概要..... 8
- Kit、Panel、Marker の作成..... 9
- 新規プロジェクトの作成とサンプル ファイルの追加..... 12
- プロジェクト用のアナリシス パラメータと Table Settings の設定 14
- プロジェクトでのサイジングの実行 20
- Auto Bin 機能を使用した Bin Set および Bin の作成..... 25

概要

章の構成

この章では、次の方法について説明します。

- Kit、Panel、Marker の作成
- 新規プロジェクトの作成とサンプル ファイルの追加
- プロジェクト用のアナリシス パラメータと Display Settings の設定
- プロジェクトでのサイジングの実行
- AutoBin 機能を使用した Bin Set および Bin の作成

詳細情報

この章では、基本的な手順を記載しています。GeneMapper ソフトウェアのすべての機能とパラメータについての詳細な説明はありません。この章に含まれる項目の詳細については、GeneMapper® Software Online Help の次の項目を参照してください。

- Creating a New Kit (新規 Kit の作成)
- Creating a Custom Panel (カスタム パネルの作成)
- Creating Markers (Marker の作成)
- Creating a Project (プロジェクトの作成)
- Adding Samples (サンプルの追加)
- Applying Analysis Settings (Analysis Settings の適用)
- Starting Analysis (解析の開始)
- Creating a New Bin Set (Bin Set の新規作成)
- Using the Auto Bin Function (Auto Bin 機能の使用)

「Help」メニューからオンライン ヘルプにアクセスするには、 をクリックするか、[F1] キーを押します。

Kit、Panel、Marker の作成

概要

Panel Manager 内に次の階層的オブジェクトを作成します。

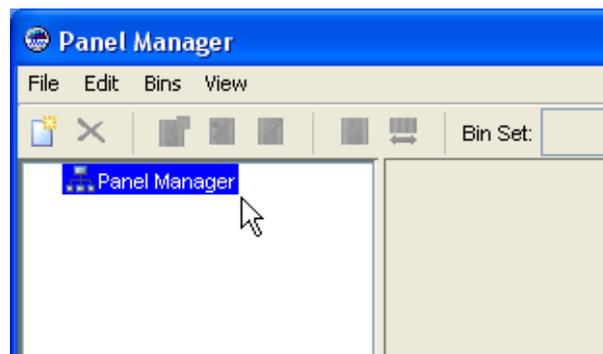
- Kit – Panel のグループ
- Panel – Marker のグループ
- Marker – フラグメント サイズ レンジ (bp)、蛍光色素色、反復長

注：このガイドでは、Panel と Marker の作成方法について説明します。ただし、Marker 情報を含む Panel (テキスト ファイル) をインポートすることもできます。たとえば、Applied Biosystems が提供している Linkage Mapping Set キットの一部に対しては、GeneMapper® ソフトウェアで Panel ファイルが利用できます。Panel のインポートに関する詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。

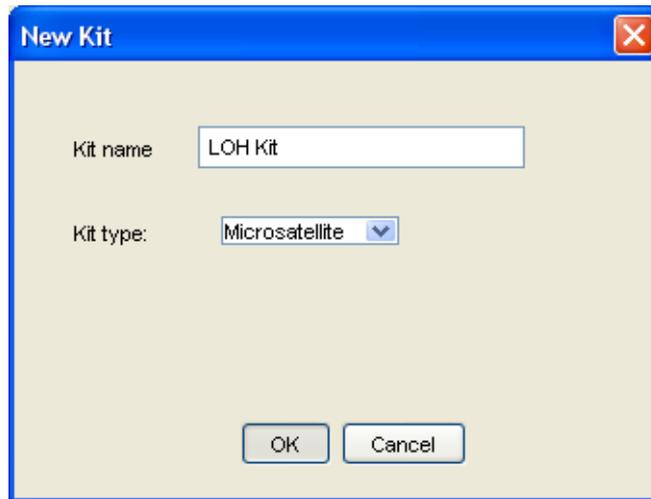
Kit、Panel、Marker の作成

Kit、Panel、Marker を作成するには、次の手順を実行します。

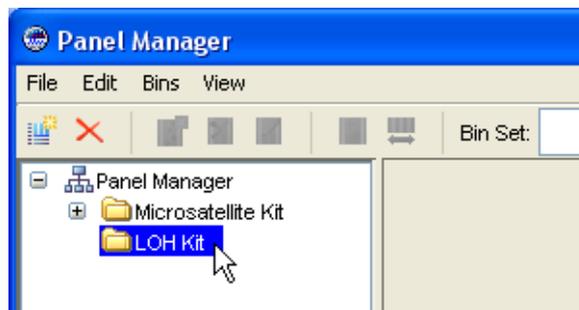
1.  をクリックして Panel Manager を開きます (「Tools」 ▶ 「Panel Manager」)。
2. 左側のナビゲーション ペイン最上部で Panel Manager を選択し、 をクリックします (「File」 ▶ 「New Kit」)。



3. 「New Kit」 ダイアログ ボックスで、Kit Name に LOH Kit と入力し、Kit Type では Microsatellite を選択して、「OK」をクリックします。



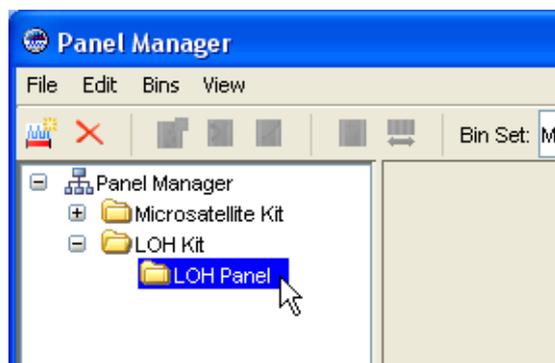
左側のナビゲーション ペインに LOH Kit が表示されます。



4. ナビゲーション ペインで LOH Kit を選択し、 をクリックします（「File」 ▶ 「New Panel」）。
5. Panel Manager の右側のペインで New Panel を選択し、Panel Name に LOH Panel と入力してから、[Enter] キーを押します。

	Panel Name	Comment
1	LOH Panel	none

左側のナビゲーション ペインで、LOH Kit の下に LOH Panel が表示されます。



6. ナビゲーション ペインで LOH Panel を選択し、 をクリックします（「File」 ▶ 「New Marker」）。

7. Panel Manager の右側ペインで、次の Marker 情報を入力します。

	Marker Name	Dye Color	Min Size	Max Size	Control Alleles	Marker Repeat
1	R5	blue	120.0	186.0		2

8. 手順6～7を繰り返し、次の Marker を作成します。

Marker	Dye Color	Minimum Size (bp)	Maximum Size (bp)	Marker Repeat
R26	Blue	193	295	2
R14	Blue	300	470	2
R21	Yellow	100	160	2
R24	Yellow	170	250	2
R2	Green	157	204	2

9. 変更を適用して、Panel Manager を閉じるには、「OK」をクリックします。

次の手順

12 ページの説明に従って、新規プロジェクトを作成し、サンプル ファイル (.fsa) を追加します。

新規プロジェクトの作成とサンプル ファイルの追加

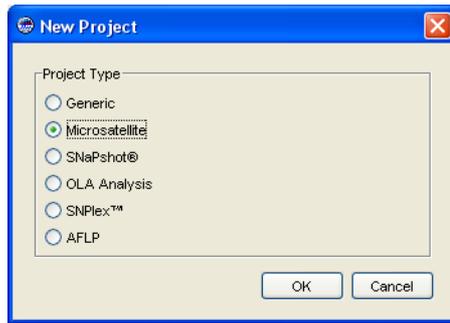
概要

「GeneMapper」ウィンドウ内で、プロジェクトを作成し、プロジェクトにサンプルを追加します。

Project の新規作成 とサンプル ファイルの追加

Project を新規作成してサンプル ファイルを追加するには、次の手順を実行します。

1.  をクリックします（「File」 ▶ 「New Project」）。

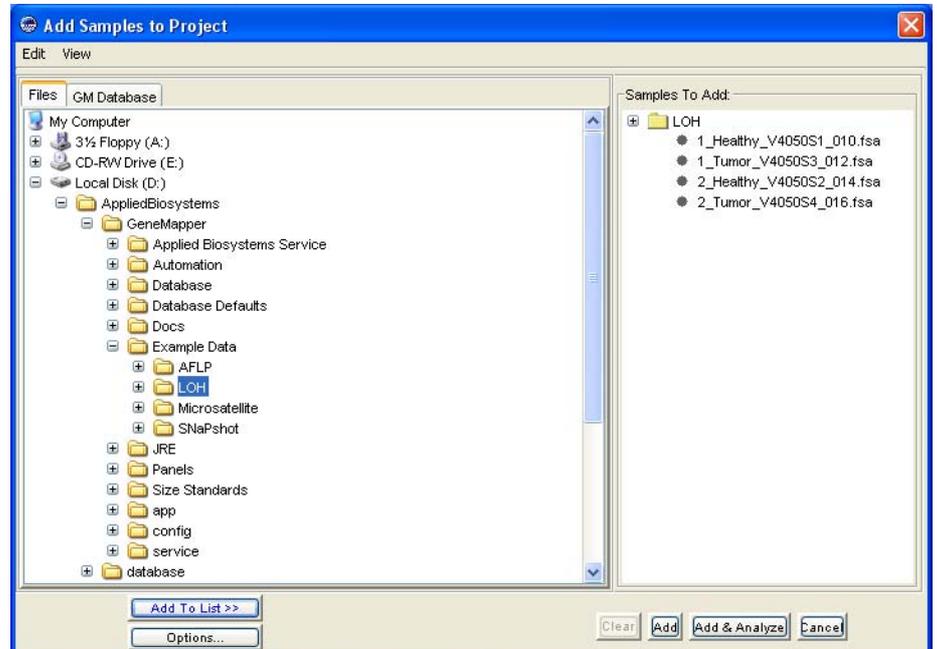


2. 「New Project」ダイアログ ボックスで、Microsatellite を選択し、「OK」をクリックします。GeneMapper v3.7 ではこのダイアログボックスは表示されません。そのままステップ 4 へ進みます。
3. 「GeneMapper」ウィンドウで、 をクリックします（「File」 ▶ 「Add Samples to Project」）。
4. 「Add Samples to Project」ダイアログ ボックスの「Files」タブで、次のパスを確認します。
<drive>:\AppliedBiosystems\GeneMapper\ExampleData

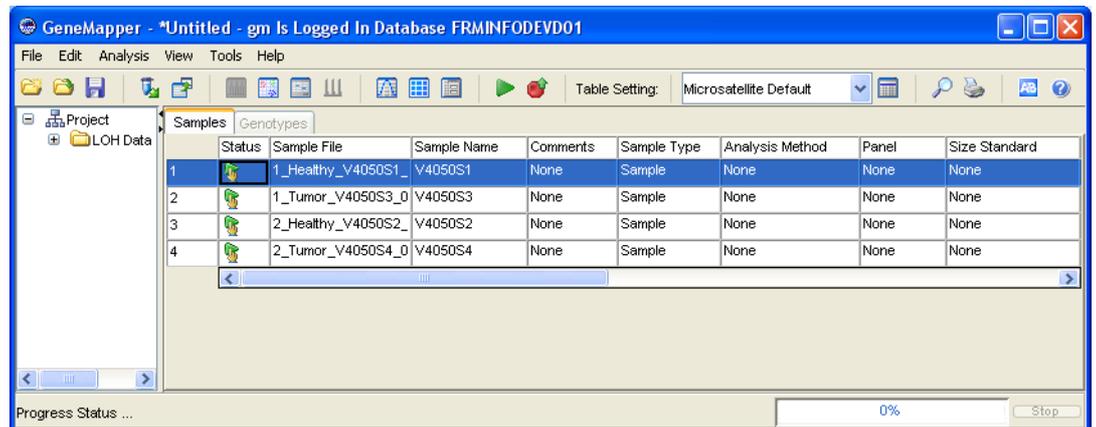
注： 上記のパスは、GeneMapper® ソフトウェアがインストールされているドライブによって異なります。デフォルトでは、D ドライブにインストールされます。

5. LOH フォルダを選択し、「Add to List」、「Add」の順にクリックします。

注：このガイドでは、LOH フォルダ内のサンプル ファイルをすべて追加しましたが、フォルダ内のファイルの一部（1 つまたは 2 つ）を追加することも可能です。これを行うには、左側のペインでフォルダを展開し、[Ctrl] キーを押したまま、ファイルを個々に選択して、「Add To List」をクリックします。



LOH Data フォルダ内の 4 つのサンプル ファイルが、互換性のある Applied Biosystems 社製のシーケンサの Data Collection ソフトウェアに入力した情報と共に、「Samples」タブ上のテーブルに表示されます。



次の手順

14 ページの説明に従って、プロジェクト用のアナリシス パラメータと表示設定を作成します。

プロジェクト用のアナリシス パラメータと Table Settings の設定

概要

「GeneMapper」ウィンドウ内で、プロジェクト用のアナリシス パラメータと 表示設定を確認します。

アナリシス パラメータには、次の項目が含まれます。

- Analysis Method (Bin Set を含む)
- Panel (Marker の集合)
- Size Standard

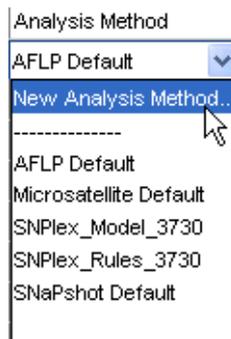
プロジェクトにおけるすべてのサンプル ファイルを解析するために GeneMapper® ソフトウェアが使用する、ピーク検出アルゴリズム、サイジング アルゴリズム、ジェノタイピング アルゴリズムを決定するアナリシス パラメータを設定します。

表示設定には、Table Settings と Plot Settings が含まれます。

アナリシス パラメータの設定

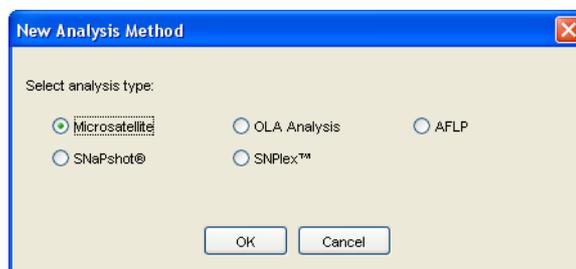
プロジェクト用のアナリシス パラメータを設定するには、次の手順を実行します。

1. 「GeneMapper」ウィンドウで「Samples」タブを選択します。
2. 「Analysis Method」カラムで最初の列をクリックし、ドロップダウン リストから **New Analysis Method** を選択します。



注： GeneMapper Manager の「Analysis Method」タブからアナリシス メソッドを新規作成することもできます。

3. 「New Analysis Method」ダイアログ ボックスで、Analysis Type に **Microsatellite** を選択し、「OK」をクリックします。



4. 「Analysis Method Editor」ダイアログ ボックスで、次の 5 つのタブを選択して編集します。
- **General** – このタブには、アナリシス メソッドに関する参照情報が表示されます。Name に **LOH Analysis Method** と入力します。オプションで、説明や、データを作成した装置名を入力できます。

Analysis Method Editor - Microsatellite

General | Allele | Peak Detector | Peak Quality | Quality Flags

Analysis Method Description

Name: LOH Analysis Method

Description:

Instrument:

Analysis Type: Microsatellite

OK Cancel

- **Allele** – このタブには、アレル コーリングを決定する設定が表示されます。Bin Set には **None** を選択し、その他の設定は、すべてデフォルト値のままにします。

Analysis Method Editor - Microsatellite

General | Allele | Peak Detector | Peak Quality | Quality Flags

Bin Set: None

Marker Repeat Type

Use marker-specific stutter ratio if available

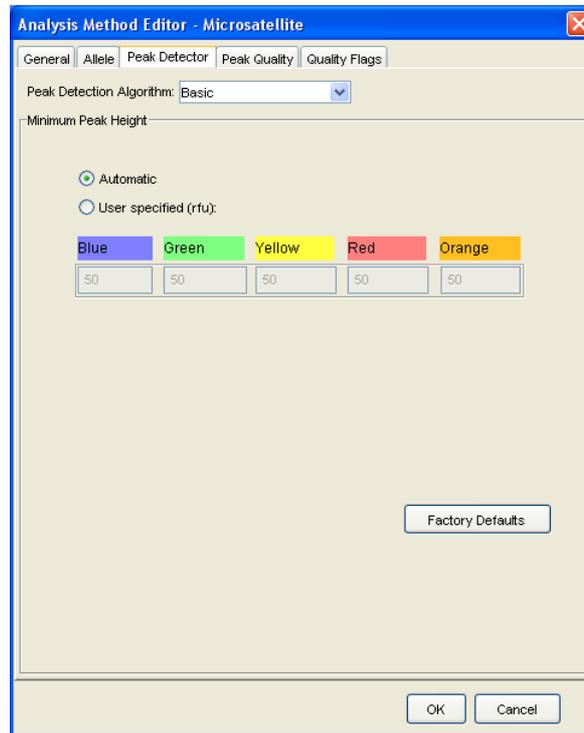
Values for dinucleotide repeats are calculated automatically.

	Mono	Tri	Tetra	Penta	Hexa
Cut-off value	0.25	0.2	0.25	0.25	0.25
PlusA ratio	0.0	0.95	0.95	0.95	0.95
PlusA distance	0.0	1.6	1.6	1.6	1.6
Stutter ratio	0.0	0.95	0.15	0.15	0.15
Stutter distance	From	0.0	0.0	0.0	0.0
	To	0.0	3.5	4.5	5.5

Range Filter... Factory Defaults

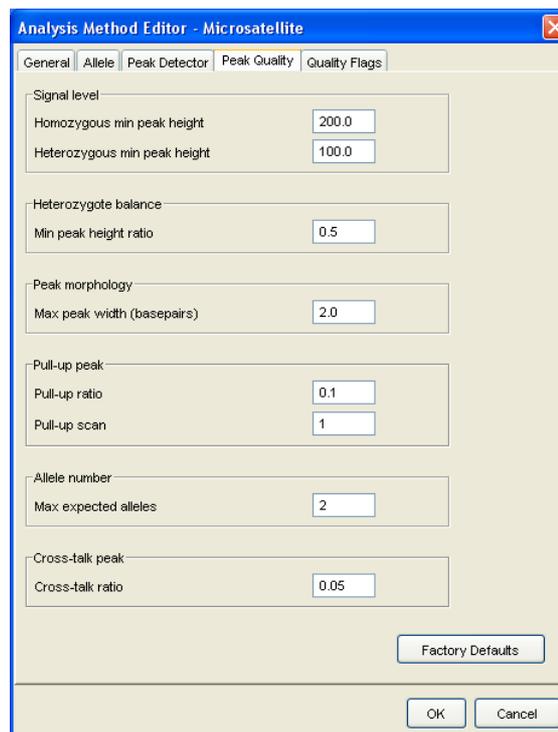
OK Cancel

- **Peak Detector** – このタブには、ピーク検出およびピークサイジングを決定する設定が表示されます。Peak Detection Algorithm に **Basic** を選択します。その他の設定は、すべてデフォルト値のままにします。



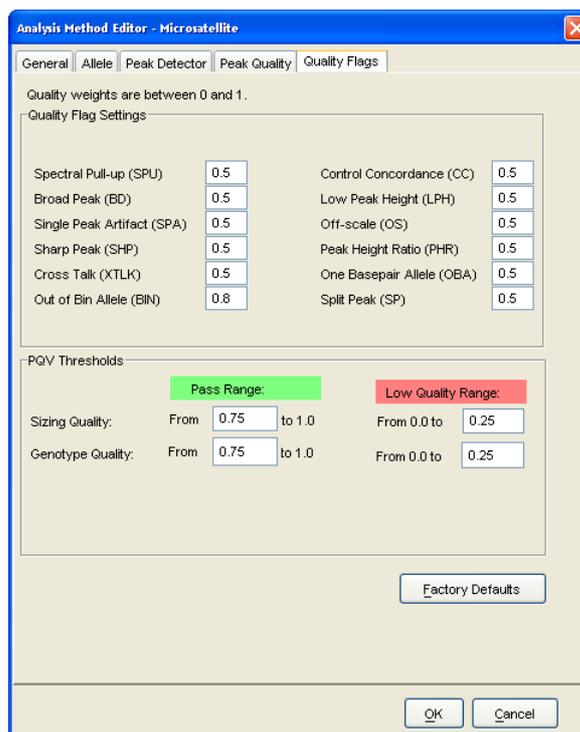
- **Peak Quality** – このタブには、どんな場合に特定の Process Quality Values (PQV) が緑 ■ (Pass) になるか、もしくは黄色のフラグ ▲ (Check) が示されるかを決定する設定が表示されます。

Max peak width (basepairs) に 2.0 と入力します。その他の設定は、すべてデフォルト値のままにします。



- **Quality Flags** – このタブには、次の設定が表示されます。
 - 個別にフラグが示される **Process Quality Values (PQV)** の、**Genotype Quality (GQ)** 全体に対する重要度を決定する設定。各 PQV は、0 ~ 1 まで重み付けできます。0 は最も重要度が低く、1 は最も重要度が高くなります。
 - **Sizing Quality (SQ)** および **GQ** に **Pass** ■、**Check** ▲、**Low Quality** ● の各フラグが示されるしきい値を決定する設定。**SQ** および **GQ** の初期スコアは 1 です。何らかのフラグが示された PQV の値を 1 から差し引き、最終的な **SQ** および **GQ** のスコアが生成されます。

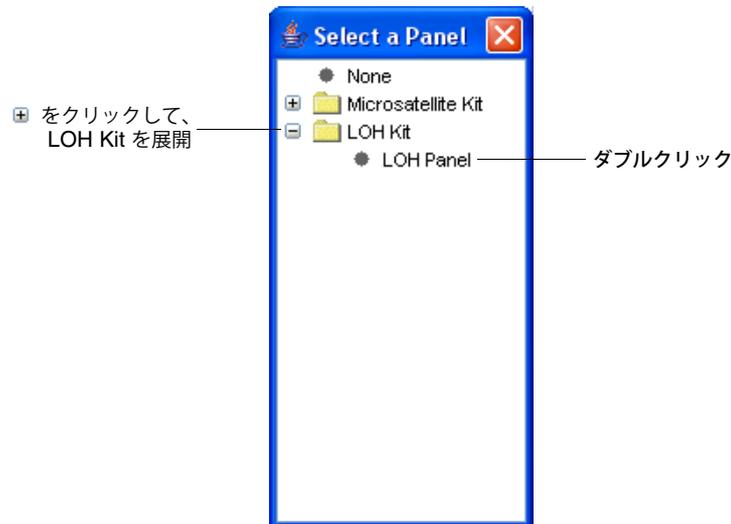
すべての設定をデフォルト値のままにします。



Analysis Method パラメータの詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。

5. 「OK」をクリックして Analysis Method を保存し、「Analysis Method Editor」ダイアログボックスを閉じます。

6. 「Panel」カラムの最初の列を選択します。「Select a Panel」ダイアログボックスで、LOH Kit を展開し、LOH Panel をダブルクリックします（これは、9 ページ で作成したパネルです）。



7. 「Size Standard」カラムで最初の列を選択し、ドロップダウン リストから GS500LIZ_3130 を選択します。

注： GeneMapper ソフトウェアでは、GeneScan™ 500 LIZ® サイズ スタンダードによるサンプル ラン用に次のサイズ スタンダードが使用できます。

- GS500LIZ – 実際の GeneScan™ 500 LIZ® サイズ スタンダードに存在するすべてのピークを含む
- GS500(-250)LIZ – 250-bp ピークを除く
- GS500LIZ_3730 – 35-、250-、340-bp ピークを除く
- GS500LIZ_3130 – 35-、250-、340-bp ピークを除く

使用する装置、ポリマーの種類、プライマーによっては、特定のピークを除外する他のサイズ スタンダードの 1 つを選択することが必要な場合もあります。具体的には、35-bp ピークが隣接するプライマー ピークによって隠れてしまう場合、または 250-bp および 340-bp ピークがキャピラリーシーケンサ上で異常に移動する場合などです。また、独自のカスタム サイズ スタンダードを作成することもできます。カスタム サイズ スタンダードの作成に関する詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。

8. 「Samples」タブのすべてのサンプル列に、次のとおり選択をフィル ダウンします。
- a. Analysis Method、Panel、Size Standard の各カラム ヘッダにまたがってクリックしてドラッグし、3つのカラムのすべての列をハイライト表示します。

Analysis Method	Panel	Size Standard
LOH Analysis Method	LOH Panel	GS500LIZ_3130
None	None	None
None	None	None
None	None	None

- b. 「Edit」 ▶ 「Fill Down」の順に選択します（または、[Ctrl] キーと [D] キーを同時に押します）。

Table Settings の 選択

「GeneMapper」ウィンドウの最上部で、「Table Settings」ドロップダウンリストから Microsatellite Default を選択します。

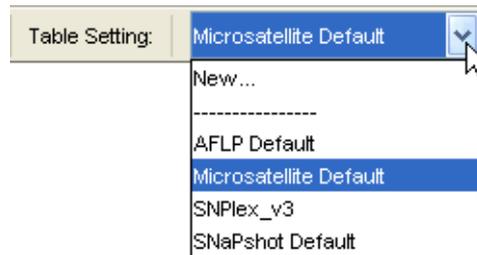


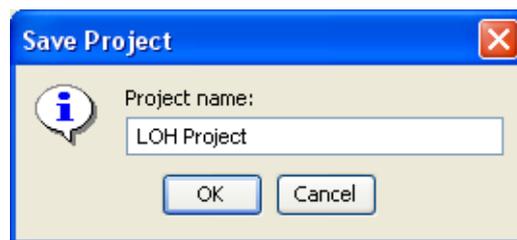
Table Settings は、解析後に「Samples」タブおよび「Genotypes」タブで表示される情報を制御します。Microsatellite Default は、GeneMapper ソフトウェアで提供されるデフォルトの Table Settings の 1 つです。

GeneMapper Manager でカスタマイズした Table Settings を編集および作成することもできます。詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。

プロジェクトの保存

プロジェクトを保存するには、次の手順を実行します。

1.  をクリックします（「File」 ▶ 「Save Project」）。
2. 「Save Project」ダイアログボックスで、LOH Project と入力し、「OK」をクリックします。



「GeneMapper」ウィンドウのタイトルバーに、LOH Project と表示されます。

次の手順

[20 ページ](#) の説明に従って、プロジェクトでのサイジングを実行します。

プロジェクトでのサイジングの実行

概要

プロジェクト用のサンプル ファイルの追加と、アナリシス パラメータの設定が完了したら、次にデータをサイジングします。これにより、サンプル ファイルをリファレンス データとして利用し、ビン (アレル定義) を作成できるようになります。

注： プロジェクトにおけるサンプル ファイル用の Panel が選択されているため、GeneMapper® ソフトウェアは、データをサイジングするだけでなく、データのジェノタイピングも行います。しかし、Analysis Method の Bin Set が指定されていないため、Genotype Quality (GQ) は失敗します。

最初の解析を実行するには、次の順序で行います。

- プロジェクトの解析
- SQ および関連する PQV の閲覧
- サイズ スタンダードの検証
- サンプル情報の確認 (Raw Data を含む)
- サンプル プロットの確認

プロジェクトの解析

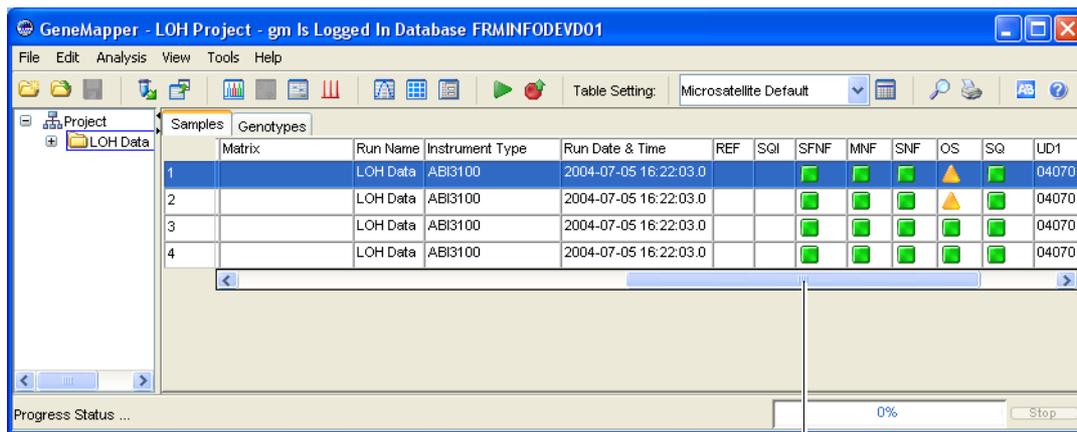
 をクリックします (「Analysis」 ▶ 「Analyze」)。

GeneMapper ソフトウェアは、プロジェクト内の各サンプルを解析し、「GeneMapper」ウィンドウの左下にあるステータス バーに進捗状況を表示します。

SQ と PQV の閲覧

Size Quality (SQ) および関連する Process Quality Value (PQV) を閲覧するには、次の手順を実行します。

1. 「GeneMapper」ウィンドウにあるステータス バーに、「Analysis Completed」と表示されていることを確認します。
2. 「Samples」タブで右方向へスクロールして、SQ を閲覧します。



スクロール バーを右方向へドラッグして「SQ」カラムを表示

手順に従ってこのガイドに示されるデータ例を使用した場合、各サンプルに対する SQ は ■ (Pass) になります。一方、SQ (SFNF、MNF、SNF、OS) の生成に関連する PQV もほとんど ■ になります。

黄色の ▲ と赤色の ● SQ の原因調査

重要! ユーザ独自のデータを解析する際、SQ が ▲ (Check) または ● (Low Quality) となり、関連付けられた PQV (SFNF、MNF、SNF、OS) が ▲ になることがあります。これは、サイズスタンダード、データ、または解析パラメータに問題があることを示しています。これらの問題の原因を調査して修正するには、21 ページの「サイズスタンダードの検証」を参照してください。

注: 🍎 をクリックすると、SQ スコアに基づいて、サンプルをソートすることができます。「Samples」タブの一番上に、● SQ の付いたサンプルがリスト表示されます。

サイズスタンダードの検証

サイズスタンダードを検証するには、次の手順を実行します。

1. 「Edit」 ▶ 「Select All」の順に選択して、「Samples」タブ内のすべてのサンプルを選択します。
2. 🏠 をクリックして、Size Match Editor を開きます（「Analysis」 ▶ 「Size Match Editor」）。



図 2-1 Size Match Editor – 「Size Matches」タブ

3. 「Size Matches」タブをクリックして、選択されたサンプルに対する次の項目を表示します。
 - Size Quality (SQ) スコア
 - サイズスタンダード ピーク
 - サイズスタンダード ピーク ラベル

4. サンプルの Sizing Quality スコア (図 2-1) を確認します。このスコアは、サイズスタンダードからのデータが、ソフトウェアで選択されたサイズスタンダードにどの程度適合しているかを示します。このスコアによって、SQ が 🟢 (Pass)、▲ (Check)、● (Low Quality) のいずれを表示するかが決まります。

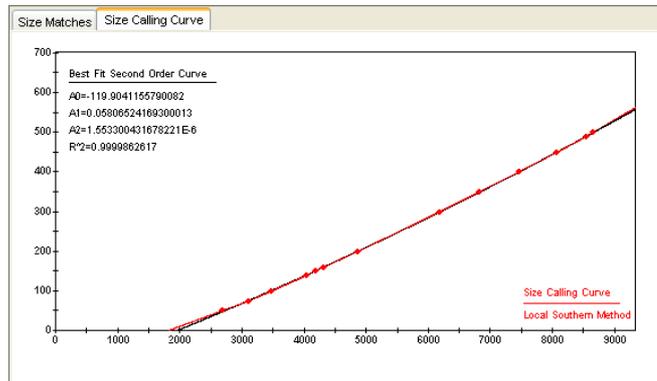
このガイドの指示に従った場合、Sizing Quality は > 0.75 となり、SQ は 🟢 (Pass) を表示します。

一方、独自のデータを解析すると、Sizing Quality は低下し、SQ は ▲ (Check)、または ● (Low Quality) を表示します。トラブルシューティングについては 22 ページの表 2-1 を参照してください。

5. サイズスタンダード内のすべてのピークが存在し、正確に標識されているかを判定します。このガイドの指示に従った場合、図 2-1 に示すとおり、すべてのピークが存在し、正確に標識されます。

一方、独自のデータを解析すると、一部のサイズスタンダード ピークは正確に標識されないか、失われてしまいます。トラブルシューティングについては 22 ページの表 2-1 を参照してください。

6. 「Size Calling Curve」タブをクリックして、選択したサンプルのサイズスタンダード曲線を表示します。サイズスタンダードのフラグメントを表す赤いデータポイントと、黒いベストフィット曲線が表示されます。



7. Size Match Editor の左側ペインで別のサンプルを選択し、手順 3～6 を繰り返します。
8. 「OK」をクリックして、Size Match Editor を閉じます。

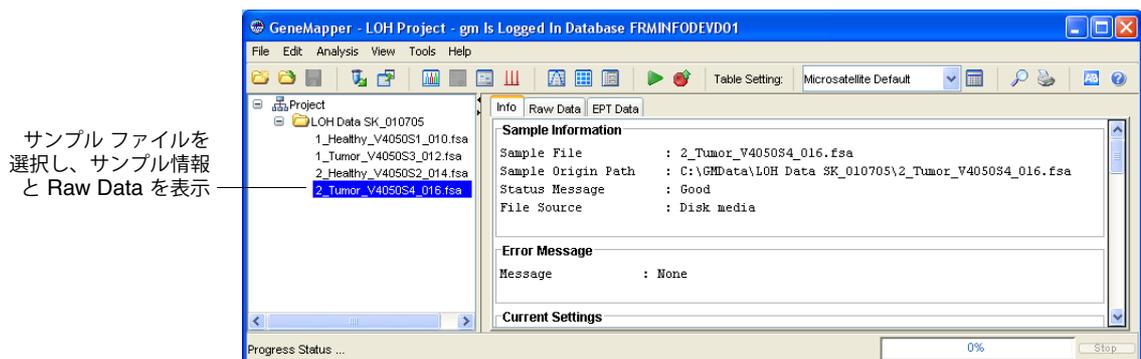
表 2-1 サイズスタンダードに関するトラブルシューティング

問題	操作
Sizing Quality スコアが低下し、SQ は (Check) または (Low Quality) を表示するが、すべてのサイズスタンダードピークが存在し、正確に標識されている。	「Size Matches」タブの最上部で「Override SQ」をクリックして、Sizing Quality を上書きします (図 2-1)。 Sizing Quality スコアの変更を 1.0 に上書きします。これは、ユーザがサイズスタンダードを確認したことを示します。
いくつかのサイズスタンダードピークが正確に標識されない。	「Size Matches」タブで、サイズラベルを編集、削除、追加します。次に「Apply」をクリックし、更新されたサイジング情報でデータを再解析します。詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。
いくつかのサイズスタンダードピークが存在しない。	ソフトウェアで、カスタムサイズスタンダードを作成します。詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。

サイジングに関するトラブルシューティングやその他の情報は、『GeneMapper® Software Reference and Troubleshooting Guide』を参照してください。

サンプル情報の表示

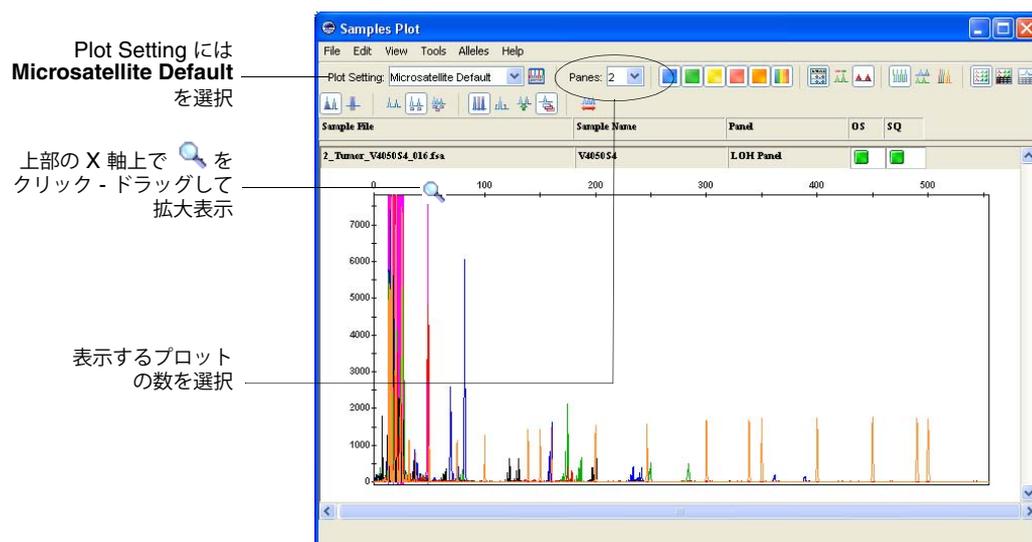
個々のサンプルファイルに関連付けられた情報や Raw Data を表示するには、左側のナビゲーションペインでサンプルファイルを選択してから、「Info」タブ、または「Raw Data」タブを選択します。



Sample Plot の表示 サンプルのプロットを表示するには、次の手順を実行します。

1. 「View」 ▶ 「Samples」 の順に選択し、「Samples」 タブを表示します。
2. 「Samples」 タブでサンプル (列) を選択します。複数のサンプルを選択するには、[Shift] または [Ctrl] キーを押したままにします。すべてのサンプルを選択するには、「Edit」 ▶ 「Select All」 の順に選択します。
3.  をクリックします (「Analysis」 ▶ 「Display Plots」)。

「Samples Plot」 ウィンドウに、選択された各サンプルに対するエレクトロフェログラムが表示されます。



4. Plot Setting には Microsatellite Default を選択します。

注：Plot Settings は、解析後、「Samples Plot」 ウィンドウに表示される情報を制御します。Microsatellite Default は、GeneMapper ソフトウェアで提供されるデフォルトの Plot Settings の 1 つです。GeneMapper Manager で Plot Settings をカスタマイズし、編集および作成も可能です。詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。

5. Samples Plot 内の X 軸および Y 軸上で拡大表示する方法は次のとおりです。

目的	操作 ...
X 軸の特定の領域を拡大表示	すべてのプロットを拡大するには、上部 X 軸上にカーソルを置き、  を左右へクリックしてドラッグします。選択したプロットのみを拡大するには、[Shift] キーを押したまま、クリックしてドラッグします。 または 上部 X 軸で右クリックし、「Zoom To」を選択して、範囲を入力し、「OK」をクリックします。
Y 軸の特定の領域を拡大表示	左側の Y 軸上にカーソルを置き、  を上下にクリックしてドラッグします。 または 左側の Y 軸を右クリックし、「Zoom To」を選択します。最大値を入力し、オプションで「Apply to all electropherograms」を選択して、「OK」をクリックします。
縮小表示	X 軸または Y 軸をダブルクリックします。 または X 軸または Y 軸を右クリックし、「Full View」を選択します。

「Samples Plot」
ウィンドウでの
データの検証

「Samples Plot」ウィンドウでは、その他にも次のようなタスクを実行できます。

- X 軸（塩基対またはデータポイント）のスケール調整
- Y 軸（個々のサンプルの最大値、すべてのサンプルの最大値、特定の値）のスケール調整
- 特定の蛍光色素色のピークの表示と非表示
- 個々のピークに対するステータスラインの表示
- 検出された各ピークに対するサイジング情報の列を表示する Sizing テーブルの表示
- 検出された各ピークに対するジェノタイプ情報の列を表示する Genotypes テーブルの表示
- ピークの選択と、それによる Sizing テーブル内での対応するデータ列のハイライト表示

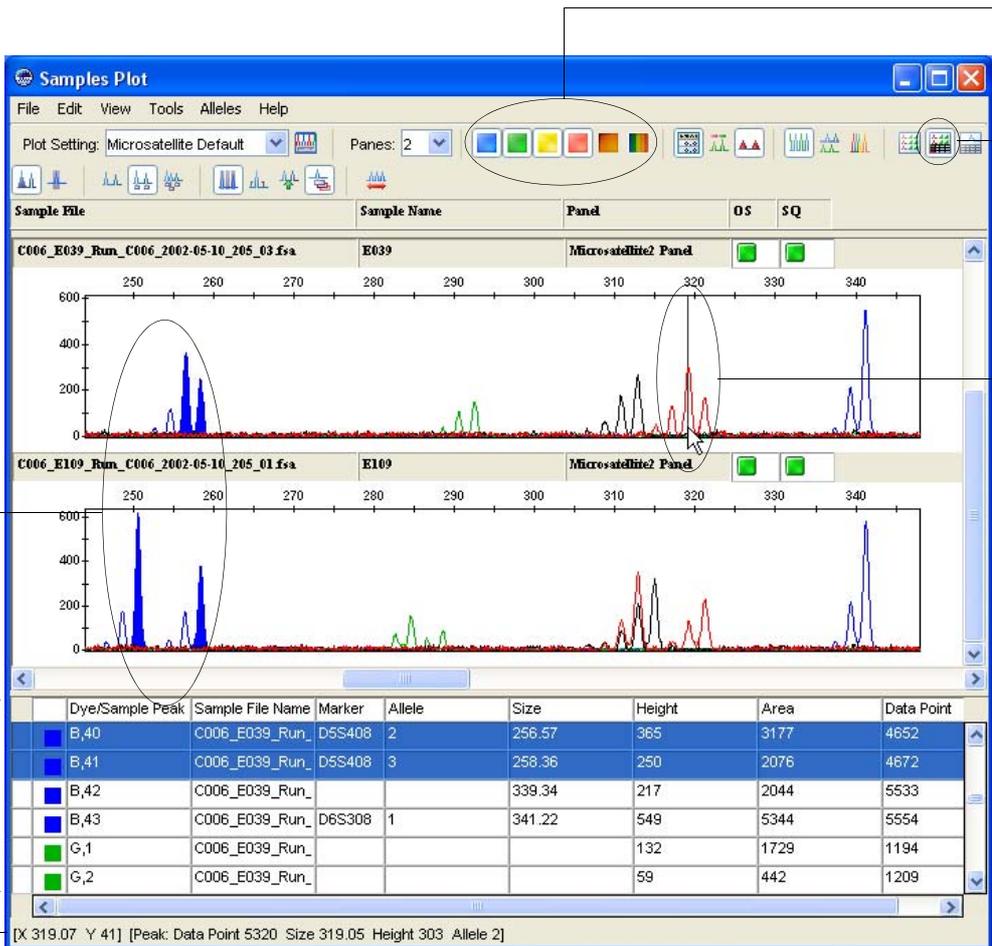
24 ページの図 2-2 では、上記の機能の一部を図解して示しています。

上記の機能の使用に関する詳細については、[F1] キーを押し、GeneMapper® Software Online Help から該当の項目を選択してください。

Samples Plot の表示を確認したら、 をクリックして、ウィンドウを閉じます。

次の手順

25 ページの説明に従い、Auto Bin 機能を使用して、Bin Set および Bin を作成します。



蛍光色素の表示または非表示を切り換えるには、ここをクリック

Sizing テーブルを下に表示するには、ここをクリック

ピークを選択し、下の Sizing テーブルで対応するデータ列をハイライト表示するには、ピークをクリック（または [Ctrl] キー、[Shift] キーを押しながらクリック）

ピーク上にカーソルを置くと、左下のステータスバーにステータスラインおよびデータが表示される

ヒント：Sizing テーブルをクリアするには、[Ctrl] キーと [G] キーを同時に押し、次に、個々のピークをクリックして、関連付けられた情報を Sizing テーブルに追加します。

Dye/Sample Peak	Sample File Name	Marker	Allele	Size	Height	Area	Data Point
B,40	C006_E039_Run_...	D5S408	2	256.57	365	3177	4652
B,41	C006_E039_Run_...	D5S408	3	258.36	250	2076	4672
B,42	C006_E039_Run_...			339.34	217	2044	5533
B,43	C006_E039_Run_...	D6S308	1	341.22	549	5344	5554
G,1	C006_E039_Run_...				132	1729	1194
G,2	C006_E039_Run_...				59	442	1209

Sizing テーブル

ステータスバー

[X 319.07 Y 41] [Peak: Data Point 5320 Size 319.05 Height 303 Allele 2]

図 2-2 Samples Plot 内の異なるサンプル ファイルからのデータの検証と比較

Auto Bin 機能を使用した Bin Set および Bin の作成

概要

Panel Manager を使用して、Bin Set および Bin (アレル定義) を作成します。

Bin Set を作成する前に、Kit を選択する必要があります。Kit を選択後、その Kit 内の任意の Panel と Bin Set を関連付けることができます。

Bin を作成する前に、Panel および Bin Set を選択する必要があります。リファレンス データとして選択した Panel に追加し、Bin 作成に利用できるのは、その Panel を使って解析されたプロジェクト内のサンプル ファイルのみです。Bin は、選択された Panel 内の Marker と関連付けられ、選択された Bin Set 内に保存されます。

注：このガイドでは、リファレンス データ、および Auto Bin 機能を使用して Bin を作成する方法について説明します。ただし、Bin 情報を含む Bin Set (テキスト ファイル) をインポートすることもできます。また、Bin を手動で作成することもできます。Bin Set のインポートと手動による Bin 作成の詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。

Bin Set の作成

Bin Set を作成するには、次の手順を実行します。

1.  をクリックして Panel Manager を開きます (「Tools」 ▶ 「Panel Manager」)。
2. 左側のナビゲーション ペインで、9 ページ で作成した LOH Kit を選択します。
3.  をクリックします (「Bins」 ▶ 「New Bin Set」)。
4. 「New Bin Set」ダイアログ ボックスで、Bin Set Name に LOH Bin Set と入力し、「OK」をクリックします。



Panel Manager 最上部の「Bin Set」ドロップダウン リストに、LOH Bin Set が追加されます。これで、LOH Bin Set を LOH Panel (または LOH Kit に追加された他の任意の Panel) と関連付けることができます。

Panel および Bin Set へのリファレンス データの追加

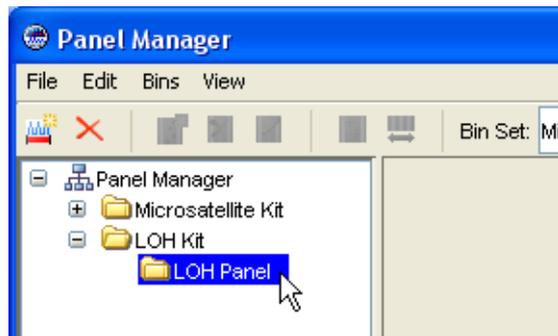
注：プロジェクト内のすべての、または一部のサンプル ファイルをリファレンス データとして追加できます。腫瘍サンプル ファイルには、正常なサンプル ファイルと同じアレルが含まれるため、すべてのサンプル ファイルを追加する必要はありません。このガイドでは、パネルおよびビンセット作成用のリファレンス データとして、正常なサンプル ファイルのみを使用します。

LOH Panel と LOH Bin Set にリファレンス データを追加するには、次の手順を実行します。

1. 「Bin Set」ドロップダウン リストで、LOH Bin Set が選択されていることを確認します。



2. 左側のナビゲーション ペインで、LOH Kit を展開し、9 ページ で作成した LOH Panel を選択します。



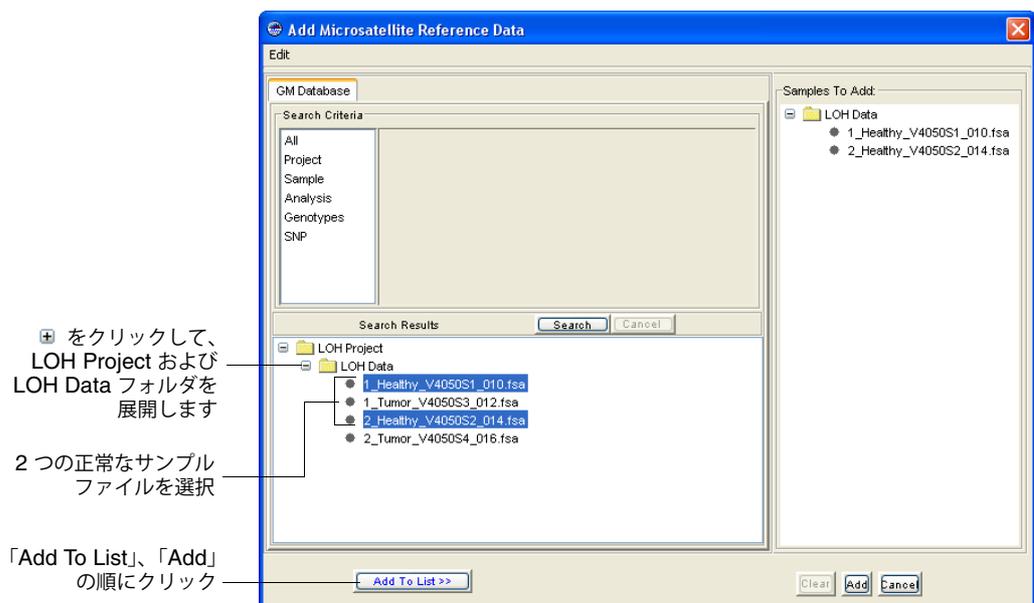
作成したすべての Marker が Panel Manager の右側のペインに表示されます (27 ページの図 2-3)。

3.  をクリックします (「Bins」 ▶ 「Add Reference Data」)。

「Add Microsatellite Reference Data」ダイアログ ボックスが開き、左下のペインに、作成した LOH Project が表示されます。

注： 左下のペインには常に、選択した Panel を使用して解析されたすべてのプロジェクトが表示されます。

4. 「Add Microsatellite Reference Data」ダイアログ ボックスで、次の操作を行います。
 - a. LOH Project を展開します。
 - b. LOH フォルダを展開します。
 - c. 正常なサンプル ファイルを両方選択するには、[Ctrl] キーを押したままにします。
 - d. 「Add to List」をクリックします。
 - e. 「Add」をクリックします。



選択されたサンプル ファイルが、リファレンス データとして LOH Panel に追加され、Panel Manager のナビゲーション ペインの下半分に表示されます (27 ページの図 2-3)。

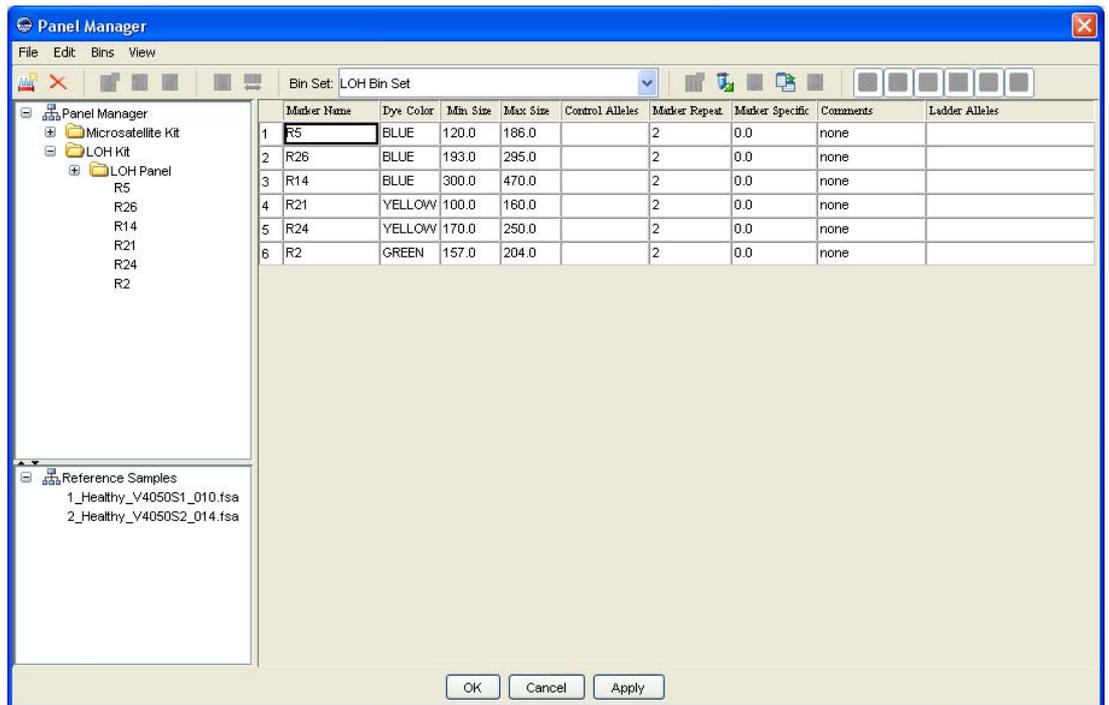
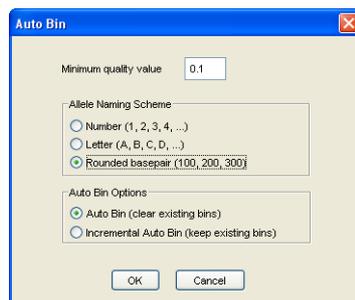


図 2-3 選択された Panel に対する Marker とリファレンス サンプル ファイルを表示する Panel Manager

Auto Bin を使用した Bin の作成

Auto Bin 機能を使用して Bin を作成するには、次の手順を実行します。

1. ナビゲーション ペインで LOH Panel が選択されており、「Bin Set」ドロップダウン リストで LOH Bin Set が選択されていることを確認したら、 をクリックします（「Bins」▶「Auto Bin」）。
2. 「Auto Bin」ダイアログ ボックスで、次のとおり選択します。
 - Minimum quality value の設定を 0.1 のままにします。
 - Allele Naming Scheme で Rounded basepair を選択します。
 - Auto Bin Options の Auto Bin (clear existing bins) を選択します。



3. 「OK」をクリックします。
4. 「Autobinning completed」と表示されたら、「OK」をクリックします。

Marker と Bin の
閲覧

リファレンス データから作成された Marker と Bin を閲覧するには、次の手順を実行します。

1.  をクリックして LOH Panel を展開し、次に、ナビゲーション ペインの上半分で Marker を選択します。

プロット (図 2-4) に次の項目が表示されます。

- Marker (ピンクの線)
- その Marker の Bin (灰色の垂直のバー)
- 各 Bin のリファレンス アレル (赤い + 印)

2. ナビゲーション ペインの上半分で Marker を選択し、ナビゲーション ペインの下半分でリファレンス サンプルを選択します。

プロットが更新され (図 2-5)、選択されたサンプルのエレクトロフェログラム ピークを示します。

注：Applied Biosystems では、各 Marker を選択して、Marker に対する Bin が作成されているか確認することをお勧めします。Bin が存在しない場合、原因を調査します。詳細については、『GeneMapper® Software Reference and Troubleshooting Guide』を参照してください。

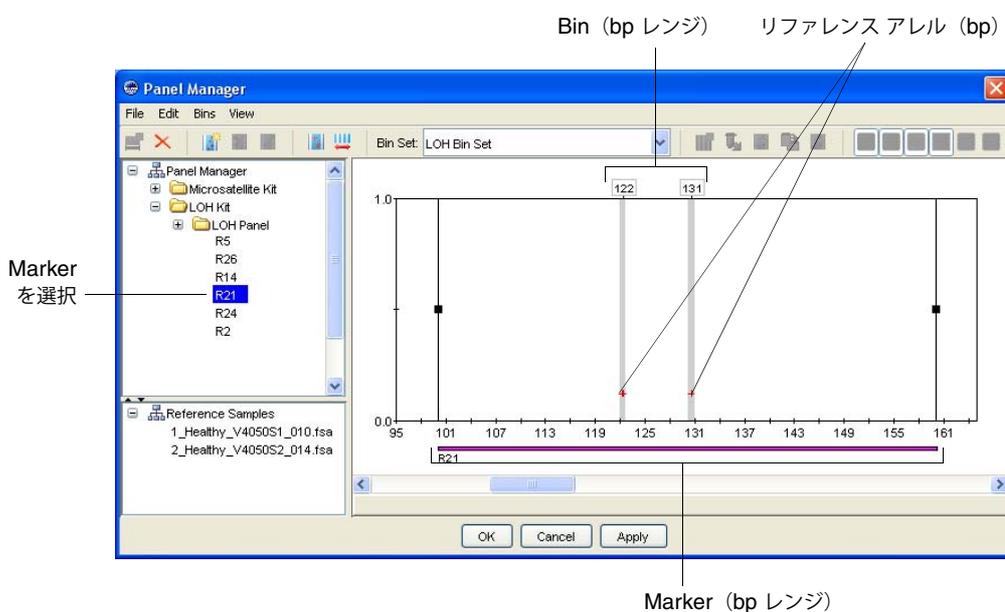


図 2-4 Marker の選択

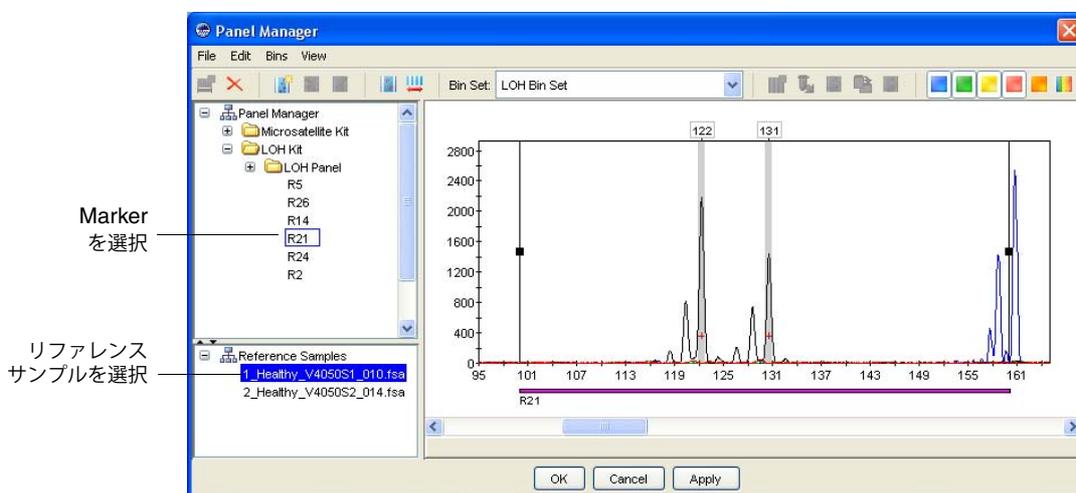


図 2-5 Marker およびリファレンス サンプルの選択

Bin Set の採用

新規 Bin Set を採用して、Panel Manager を閉じるには、「OK」をクリックします。

Bin と Marker の追加、編集、削除 (オプション)

このガイドの実験を完了するのに、Bin や Marker を追加、編集、削除する必要はありません。ただし、Panel Manager を開き、LOH Kit や LOH Panel を選択して、これらの機能をテストすることはできます。

重要! Bin や Marker を編集または削除した場合は必ず、PanelManager の下部にある「Cancel」をクリックしてください。「OK」または「Apply」をクリックすると、解析の結果に悪影響が出る場合があります。

Marker に Bin を追加するには

1. 上部のナビゲーション ペインで Marker を選択し、 をクリックします (「Bins」 ▶ 「Add Bin」)。
2. Bin を追加したい位置で、プロットをクリックします。
3. 「Add Bin」ダイアログ ボックスで、Bin の Name、Location、Offsets を入力し、「OK」をクリックします。

Bin を編集するには

1. Bin (灰色の垂直のバー) をクリックして、Bin を選択します。
2.  をクリックするか (「Bins」 ▶ 「Edit Bin」)、または Bin を右クリックして、「Edit Bin」を選択します。
3. 「Edit Bin」ダイアログ ボックスで、Bin の Name、Location、Offsets を編集し、「OK」をクリックします。

Bin を視覚的に編集するには

1. Bin (灰色の垂直のバー) をクリックして、Bin を選択します (図 2-6)。
2. 青いセンター ラインをクリックしてドラッグし、Bin の位置を決定します。
3. 右ハンドルの左側をクリックしてドラッグし、Bin のオフセット (レンジ) を決定します。

注: 変更した内容を直前の状態に戻すには、「Edit」 ▶ 「Undo」を選択します。

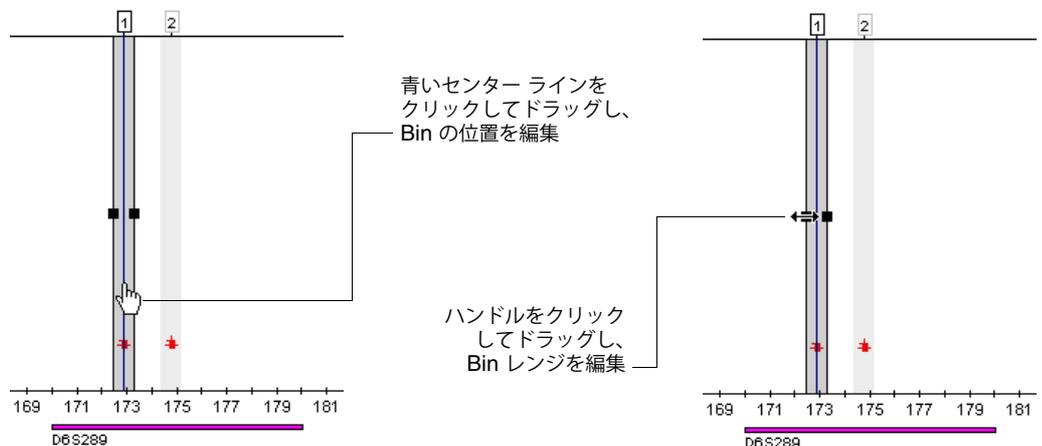


図 2-6 Bin の視覚的編集

Bin を削除するには

Bin を Marker から削除するには、次の手順を実行します。

- Bin を選択し、 をクリックします (「Bins」 ▶ 「Delete Bin」)。
または
- Bin を選択して、Bin 上で右クリックしてから、「Delete Bin」を選択します。

Marker を編集するには

1. 上部のナビゲーションペインで Marker を選択します (30 ページの図 2-7)。
2. 左右のハンドルをクリックしてドラッグし、Marker レンジを決定します。

注：変更した内容を直前の状態に戻すには、「Edit」 ▶ 「Undo」を選択します。

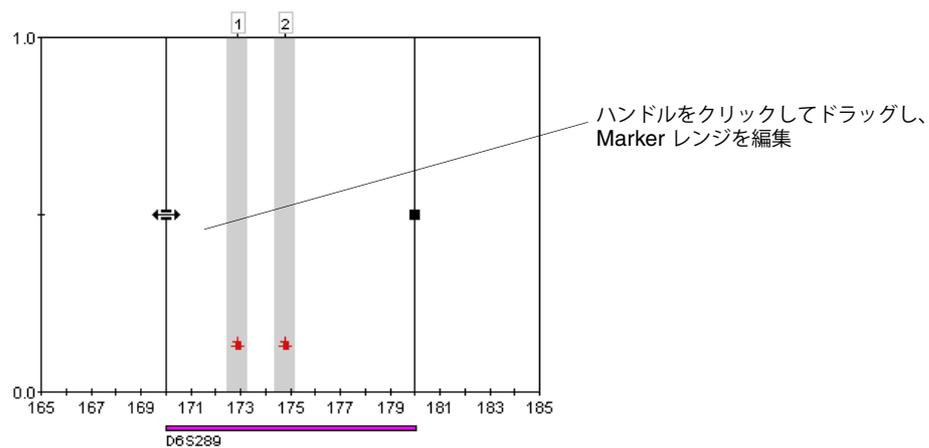


図 2-7 Marker の編集

Panel から Marker を削除するには

1. 上部のナビゲーションペインで Marker を選択します。
2.  をクリックします (「Edit」 ▶ 「Clear Marker」)。

次の手順

第3章の説明に従って、LOH プロジェクトのデータを検証します。

3

結果の解析と検証



この章は、次の項目から構成されています。

- Analysis Method の編集..... 32
- プロジェクトの解析..... 34
- 結果の検証 34

Analysis Method の編集

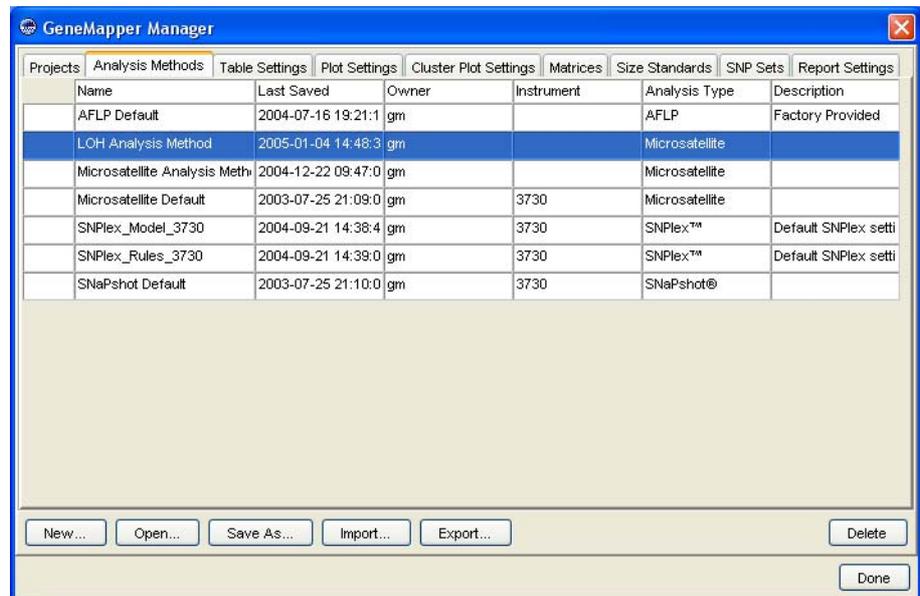
概要

14 ページ で、LOH Analysis Method を作成したとき、最初の解析では、メソッド内の Bin Set を選択しませんでした。Bin Set を作成したら次は、Analysis Method 内の Bin Set を選択して、データを解析します。Bin Set を使用すると、GeneMapper® ソフトウェアで、プロジェクトのサンプル ファイルを解析する際に、アレレ コールできるようになります。

Analysis Method の編集

LOH Analysis Method を編集するには、次の手順を実行します。

1.  をクリックして GeneMapper Manager を開きます（「Tools」 ▶ 「GeneMapper Manager」）。
2. 「Analysis Methods」 タブを選択します。



3. LOH Analysis Method を選択し、「Open」をクリックします。

- Analysis Method Editor で、「Allele」タブを選択し、Bin Set に LOH Bin Set を選択して、「OK」をクリックします。

	Mono	Tri	Tetra	Penta	Hexa
Cut-off value	0.25	0.2	0.25	0.25	0.25
PlusA ratio	0.0	0.95	0.95	0.95	0.95
PlusA distance	0.0	1.6	1.6	1.6	1.6
Stutter ratio	0.0	0.95	0.15	0.15	0.15
Stutter distance	From	0.0	0.0	0.0	0.0
	To	0.0	3.5	4.5	5.5

- 「Done」をクリックして GeneMapper Manager を閉じます。

注：「GeneMapper」ウィンドウの「Samples」タブにある「Analysis Method」コラムで任意の列をダブルクリックすることによっても、Analysis Method Editor にアクセスできます（14 ページを参照してください）。

次の手順

34 ページの説明に従って、プロジェクトを解析します。

プロジェクトの解析

概要

Analysis Method で Bin Set を指定後、サンプル ファイルを解析すると、GeneMapper® ソフトウェアは、データのサイジングおよびジェノタイピングを行います。

「GeneMapper」ウィンドウの「Samples」タブで、次を確認します。

- 「Status」カラムに  アイコンが表示されていること。これは、サンプルの解析準備はできているが、「Samples」タブで選択された現在の解析パラメータでまだ解析されていないことを示します。このアイコンは、LOH Analysis Method に変更が加えられたために表示されます。
- 「REF」カラムに  アイコンが表示されていること。これは、そのサンプルが、Bin Set 作成用のリファレンス データとして使用されたことを示します。Bin Set 作成に使用されていないサンプルには表示されません。

解析

 をクリックします（「Analysis」 ▶ 「Analyze」）。

GeneMapper ソフトウェアは、プロジェクト内の各サンプルを解析し、「GeneMapper」ウィンドウの左下にあるステータス バーに進捗状況を表示します。

次の手順

下記の説明に従って、結果を検証します。

結果の検証

概要

サイジングおよびジェノタイピング結果の検証は、次の順序で行います。

- SQ、関連する PQV、Size Standard、サンプル情報、サンプル プロットの閲覧 (20 ~ 24 ページ)
- GQ および関連する PQV の閲覧 (34 ページ)
- 各サンプルに対するアレル コールの閲覧 (35 ページ)
- Genotype Plot の表示 (36 ページ)
- 「Genotypes Plot」ウィンドウでのデータの検証 (37 ページ)
- プロジェクト アレルの表示 (37 ページ)

GQ と PQV の閲覧

データの Genotype Quality (GQ) を閲覧するには、「Genotypes」タブを選択し、テーブルを右へスクロールします。



手順に従ってこのガイドに示されるデータ例を使用した場合、ほとんどのサンプルに対する GQ は  (Pass) になります。GQ の算出に関連する Process Quality Values (PQV) (AN、BD、BIN、LPH、OBA、OS、PHR、SHP、SP、SPA、SPU、XTLK) も、ごくわずかのサンプルに対する  PHR (Peak Height Ratio) を除いて  になります。ただし、黄色の PHR は、LOH データに対するものと考えられます。

注： LOH データを解析する際 PHR がフラグされないように設定するには、Analysis Method を編集し、「Peak Quality」タブの「Heterozygote Balance」セクションで、Minimum Peak Height Ratio を小さくします (16 ページを参照してください)。

黄色の  と赤色の  GQ の原因調査

重要！ ユーザ独自のデータを解析する際、GQ が  (Check) または  (Low Quality) になり、GQ の作成に関連する PQV (AN、BD、BIN、LPH、OBA、OS、PHR、SHP、SP、SPA、SPU、XTLK) が  になることがあります。これは、データ、Marker、または Bin の定義、アナリシス パラメータに問題があることを示しています。これらの問題の原因を調査して修正するには、『GeneMapper® Software Reference and Troubleshooting Guide』を参照してください。

注：  をクリックすると、GQ スコアに基づいて、サンプルをソートすることができます。「Genotypes」タブの一番上に、赤い  GQ の付いたサンプルがリスト表示されます。

アレル コールの見覧

各サンプル内の各 Marker に対するアレル コールを見覧するには、「Genotypes」タブを選択して、「Allele 1」カラムと「Allele 2」カラムを表示します。

各 Marker に対するアレル コールを表示

Samples	Genotypes	Sample File	Sample Name	Panel	Marker	Dye	Allele		Size 1	Size 2	Height 1
							Allele 1	Allele 2			
15		Tumor1_V4050S3_012.fsa	V4050S3	LOH Panel	1Green	G	175	187	174.54	186.95	3014
16		Tumor2_V4050S4_016.fsa	V4050S4	LOH Panel	3Yellow	Y	197	201	196.97	200.96	399
17		Tumor2_V4050S4_016.fsa	V4050S4	LOH Panel	3Blue	B	236	245	236.61	244.89	409
18		Tumor2_V4050S4_016.fsa	V4050S4	LOH Panel	2Yellow	Y	122	131	122.44	130.62	649
19		Tumor2_V4050S4_016.fsa	V4050S4	LOH Panel	2Blue	B	161	161	160.64	160.64	1620
20		Tumor2_V4050S4_016.fsa	V4050S4	LOH Panel	1Yellow	Y	65	65	64.79	64.79	354
21		Healthy2_V4050S2_014.fsa	V4050S2	LOH Panel	3Blue	B	236	245	236.52	244.86	880
22		Healthy2_V4050S2_014.fsa	V4050S2	LOH Panel	4Blue	B	362	389	361.5	388.71	961
23		Healthy2_V4050S2_014.fsa	V4050S2	LOH Panel	1Green	G	175	187	174.69	187.01	2385
24		Healthy2_V4050S2_014.fsa	V4050S2	LOH Panel	2Yellow	Y	122	131	122.36	130.61	1770

Genotype Plot の
表示

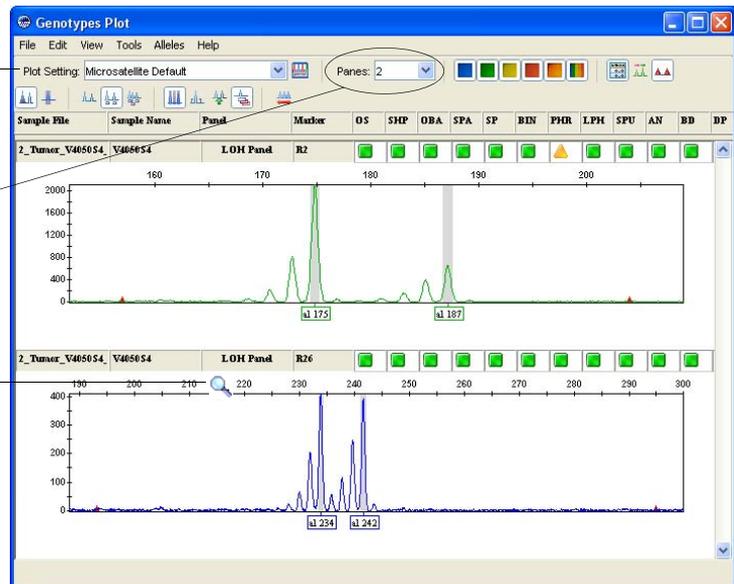
サンプルの Genotypes Plot を表示するには、次の手順を実行します。

1. 「Genotypes」タブでサンプルと Marker (列) を選択します。複数の Marker を選択するには、[Shift] キーまたは [Ctrl] キーを押したままにします。すべての Marker を選択するには、「Edit」 ▶ 「Select All」の順に選択します。
2.  をクリックします（「Analysis」 ▶ 「Display Plots」）。
「Genotypes Plot」ウィンドウに、選択された各 Marker に対するエレクトロフェログラムが表示されます。

Plot Setting には
Microsatellite Default を
選択

表示するプロット
の数を選択

上部 X 軸上の  を
クリック - ドラッグして
拡大表示



3. Plot Setting には Microsatellite Default を選択します。

注：Plot Settings は解析後、「Genotypes Plot」ウィンドウに表示される情報を制御します。Microsatellite Default は、GeneMapper ソフトウェアで提供されるデフォルトの Plot Settings の 1 つです。GeneMapper Manager で Plot Settings をカスタマイズし、編集および作成も可能です。詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。

4. Genotypes Plot 内の X 軸および Y 軸上で拡大表示する方法は次のとおりです。

目的	操作 ...
X 軸の特定の領域を 拡大表示	目的のプロットを拡大表示するには、上部 X 軸上にカーソルを置き、  を左右へクリックしてドラッグします。 または 上部 X 軸で右クリックし、「Zoom To」を選択して、範囲を入力し、「OK」をクリックします。
Y 軸の特定の領域を 拡大表示	左側の Y 軸上にカーソルを置き、  を上下にクリックしてドラッグします。 または 左側の Y 軸を右クリックし、「Zoom To」を選択します。最大値を入力し、オプションで「Apply to all electropherograms」を選択して、「OK」をクリックします。
縮小表示	X 軸または Y 軸をダブルクリックします。 または X 軸または Y 軸を右クリックし、「Full View」を選択します。

「Genotypes Plot」 ウィンドウでの データの検証

「Genotypes Plot」ウィンドウでは、その他にも次のようなタスクを実行できます。

- X 軸（塩基対またはデータ ポイント）のスケール調整
- Y 軸（個々のサンプルの最大値、すべてのサンプルの最大値、特定の値）のスケール調整
- 特定の蛍光色素色のピークの表示と非表示
- 個々のピークに対するステータス ラインの表示
- アレル コール の追加、名前変更、削除
- Marker および Bin の編集と削除

上記の機能の使用に関する詳細については、[F1] キーを押し、GeneMapper® Software Online Help から該当の項目を選択してください。

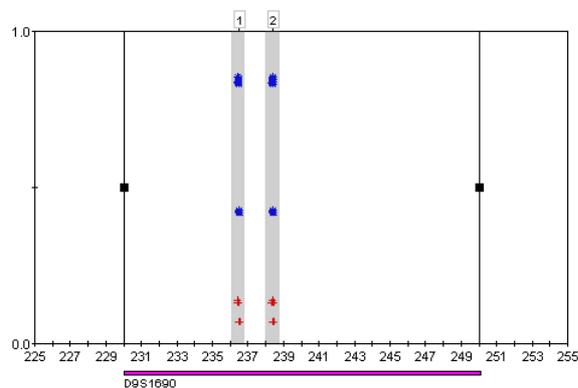
Genotypes Plot の表示を確認したら、 をクリックして、ウィンドウを閉じます。

すべてのプロジェク ト アレルの表示

各 Marker に対するサンプル データで検出されたすべてのアレルを表示するには、次の手順を実行します。

1.  をクリックして Panel Manager を開きます（「Tools」 ▶ 「Panel Manager」）。
2. ナビゲーション ペインで、LOH Kit、LOH Panel の順に展開し、左側のナビゲーション ペインで Marker を選択します。
3. 「Bins」 ▶ 「Show Project Alleles」の順に選択します。

各ビンで、プロジェクト アレル（サンプル データで検出されたアレル）が青いアスタリスク * で表示されます。* の Y 軸上での各位置は、その Marker とサンプルに対する GQ スコアを示します。

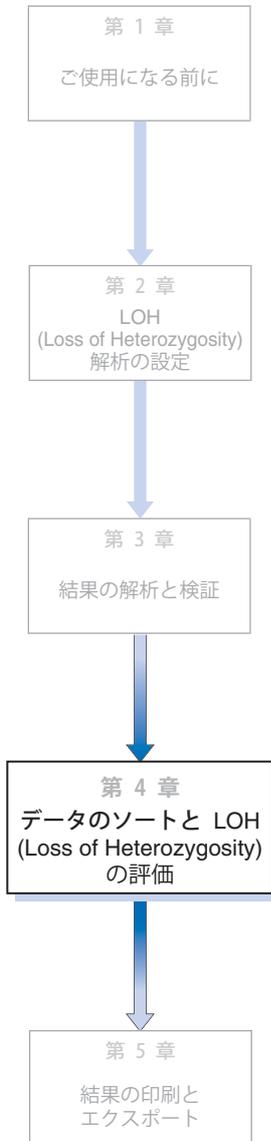


4

データのソートと LOH (Loss of Heterozygosity) の評価

この章は、次の項目から構成されています。

- 概要..... 40
- LOH データのソート..... 42
- レポートの作成と LOH の算出および評価..... 44
- カスタム LOH Report Setting の編集または作成..... 45



概要

LOH 解析では、同一の個人から採取した正常な組織と腫瘍が疑われる組織を調査して比較します。正常なサンプルと異常なサンプルは、両方とも、当該するヘテロ接合マイクロサテライトマーカに対して2つのアレルを示します。腫瘍組織に LOH が発生している場合、2つのアレルのうち、1つのピーク高が正常なアレルピーク高と比較して低下するため、明確に判断できます。腫瘍サンプルが、ピークの欠失ではなくピーク高の低下を示す理由は、単離プロセス中に、腫瘍サンプルに正常な細胞が混入し、一部の野生型 DNA が腫瘍標本から検出されるためです。

GeneMapper ソフトウェアの Report Manager では、LOH Default の Report Setting を設定して、正常な組織および腫瘍組織間のマイクロサテライトアレルの PHR (Peak Height Ratio) を算出および比較することができます (図 4-1)。Report Manager では、次に、Peak-Height Ratio のしきい値に基づいて、潜在的な LOH を呈するサンプルを評価し、フラグを付けます。これにより、該当のサンプルを詳細に調査することができます。さらに、腫瘍サンプルで観察される野生型 DNA の混入レベルに基づいて、このしきい値を変更することもできます。

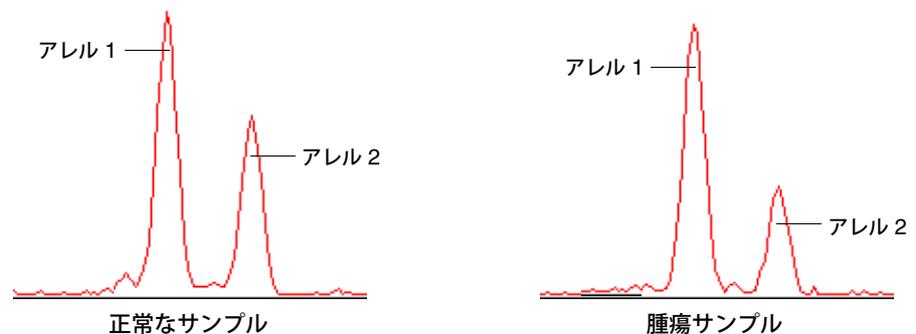


図 4-1 アレル 2 のピーク高に欠損を示す腫瘍サンプル

LOH Default の Report Setting で使用される算出方法および LOH 基準の要約を次に示します。

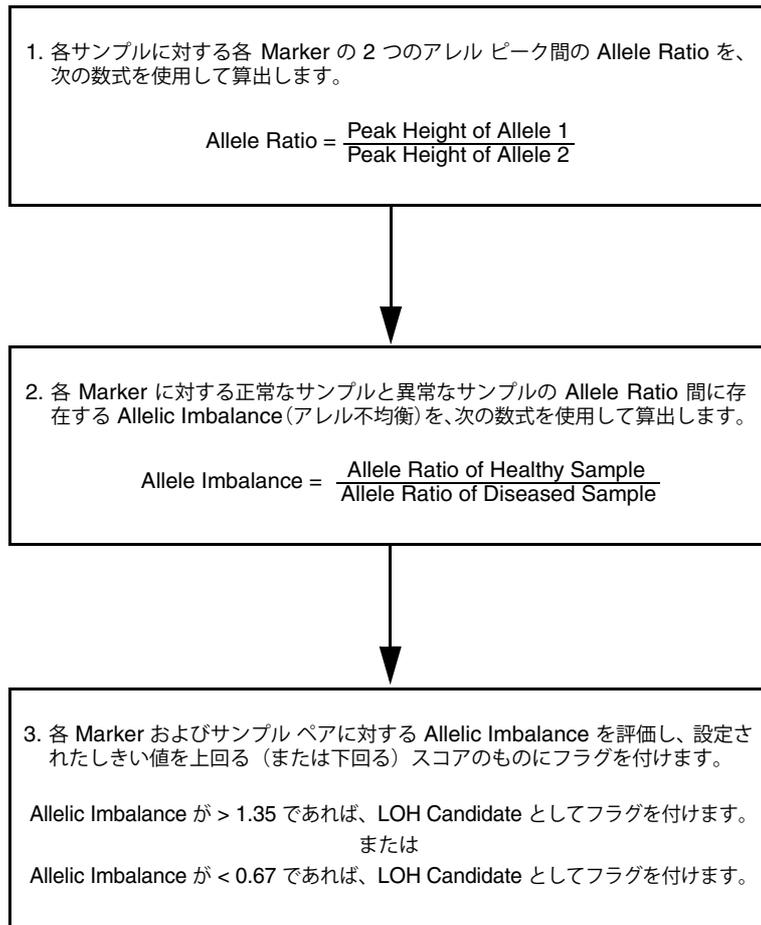


図 4-2 LOH Default Report Setting で使用される算出方法としきい値

重要！ LOH Default の Report Setting を編集するか、または、お使いのデータに合った独自の Report Setting を作成できます (45 ページ を参照してください)。

LOH データのソート

概要

LOH Default の Report Setting を適用して、LOH 指標を算出および評価する前に、データをソートして、各 Marker に対する正常なサンプルと腫瘍サンプルが連続して表示されるようにしておくことが重要です。

ソート

LOH データをソートするには、次の手順を実行します。

1. 「GeneMapper」 ウィンドウで、「Genotypes」 タブを選択します。
2. [Shift] キーを押したまま「Sample File」 カラム ヘッダをクリックして、サンプルファイルごとにソートします。

一番上に 1_Healthy サンプル ファイルのすべての Marker、その下に 1_Tumor サンプル ファイルのすべてのサンプル、といった順序でリスト表示されます。

	Sample File
1	1_Healthy_V4050S1_010.fsa
2	1_Healthy_V4050S1_010.fsa
3	1_Healthy_V4050S1_010.fsa
4	1_Healthy_V4050S1_010.fsa
5	1_Healthy_V4050S1_010.fsa
6	1_Healthy_V4050S1_010.fsa
7	1_Tumor_V4050S3_012.fsa
8	1_Tumor_V4050S3_012.fsa
9	1_Tumor_V4050S3_012.fsa
10	1_Tumor_V4050S3_012.fsa
11	1_Tumor_V4050S3_012.fsa
12	1_Tumor_V4050S3_012.fsa
13	2_Healthy_V4050S2_014.fsa
14	2_Healthy_V4050S2_014.fsa
15	2_Healthy_V4050S2_014.fsa
16	2_Healthy_V4050S2_014.fsa

[Shift] キーを押したまま
「Sample File」 カラム ヘッダ
をクリック

図 4-3 サンプル ファイルごとのソート

3. [Shift] キーを押したまま「Marker」カラム ヘッダをクリックして、Marker ごとにソートします。

これで結果がソートされ、同じ Marker に対する正常なサンプルと腫瘍サンプルが連続して表示されます。

	Sample File	Sample Name	Panel	Marker
1	1_Healthy_V4050S1_010.fsa	V4050S1	M2 LOH Panel	R14
2	1_Tumor_V4050S3_012.fsa	V4050S3	M2 LOH Panel	R14
3	2_Healthy_V4050S2_014.fsa	V4050S2	M2 LOH Panel	R14
4	2_Tumor_V4050S4_016.fsa	V4050S4	M2 LOH Panel	R14
5	1_Healthy_V4050S1_010.fsa	V4050S1	M2 LOH Panel	R2
6	1_Tumor_V4050S3_012.fsa	V4050S3	M2 LOH Panel	R2
7	2_Healthy_V4050S2_014.fsa	V4050S2	M2 LOH Panel	R2
8	2_Tumor_V4050S4_016.fsa	V4050S4	M2 LOH Panel	R2
9	1_Healthy_V4050S1_010.fsa	V4050S1	M2 LOH Panel	R21
10	1_Tumor_V4050S3_012.fsa	V4050S3	M2 LOH Panel	R21
11	2_Healthy_V4050S2_014.fsa	V4050S2	M2 LOH Panel	R21
12	2_Tumor_V4050S4_016.fsa	V4050S4	M2 LOH Panel	R21
13	1_Healthy_V4050S1_010.fsa	V4050S1	M2 LOH Panel	R24
14	1_Tumor_V4050S3_012.fsa	V4050S3	M2 LOH Panel	R24
15	2_Healthy_V4050S2_014.fsa	V4050S2	M2 LOH Panel	R24
16	2_Tumor_V4050S4_016.fsa	V4050S4	M2 LOH Panel	R24

[Shift] キーを押したまま「Marker」カラム ヘッダをクリック

図 4-4 サンプル ファイルおよび Marker ごとのソート

次の手順

44 ページの説明に従い、LOH を算出して評価します。

レポートの作成と LOH の算出および評価

レポートを作成して、LOH (Loss of Heterozygosity) を算出および評価するには、次の手順を実行します。

1. 42 ページの説明に従ってデータがソートされていることを確認します。
2. 「Edit」 ▶ 「Select All」の順に選択して、「Genotypes」タブ内のすべてのサンプルを選択します。
3. 「Analysis」 ▶ 「Report Manager」を選択します。
4. 「Report Manager」ダイアログボックスで、「Report Setting」ドロップダウンリストから LOH Default を選択します。

LOH Default
を選択

Sample File	Sample Name	Comments	Marker	Allele 1	Height 1	Allele 2	Height 2	Allele Ratio	Allelic Imbalance	LOH Assess...	
1	1_Healthy_V40...	S1...	V40S0S1	None	R14	362	1190	389	916	1.2991	
2	1_Tumor_V40S...	3_0...	V40S0S3	None	R14	362	456	389	494	0.9231	
3	1_Healthy_V40...	S2...	V40S0S2	None	R14	362	961	389	684	1.405	
4	2_Tumor_V40S...	0...	V40S0S4	None	R14	362	202	389	154	1.3117	
5	1_Healthy_V40...	S1...	V40S0S1	None	R2	175	3288	187	1976	1.664	
6	1_Tumor_V40...	S3_0...	V40S0S3	None	R2	175	3014	187	880	3.425	2.0583 LOH Candidate
7	2_Healthy_V40...	S2...	V40S0S2	None	R2	175	2385	187	1544	1.5447	
8	2_Tumor_V40...	0...	V40S0S4	None	R2	175	2108	187	651	3.2381	2.0963 LOH Candidate
9	1_Healthy_V40...	S1...	V40S0S1	None	R21	122	2190	131	1437	1.524	
10	1_Tumor_V40...	S3_0...	V40S0S3	None	R21	122	669	131	739	0.9053	0.594 LOH Candidate
11	2_Healthy_V40...	S2...	V40S0S2	None	R21	122	1770	131	1009	1.7542	
12	2_Tumor_V40...	0...	V40S0S4	None	R21	122	649	131	633	1.0253	0.5845 LOH Candidate
13	1_Healthy_V40...	S1...	V40S0S1	None	R24	197	2646	201	1982	1.335	
14	1_Tumor_V40...	S3_0...	V40S0S3	None	R24	197	1120	201	1735	0.6455	0.4635 LOH Candidate
15	2_Healthy_V40...	S2...	V40S0S2	None	R24	197	2035	201	1589	1.2807	
16	2_Tumor_V40...	0...	V40S0S4	None	R24	197	399	201	633	0.6303	0.4922 LOH Candidate
17	1_Healthy_V40...	S1...	V40S0S1	None	R26	234	1099	242	813	1.3518	
18	1_Tumor_V40...	S3_0...	V40S0S3	None	R26	234	598	242	641	0.9329	0.6901
19	2_Healthy_V40...	S2...	V40S0S2	None	R26	234	880	242	594	1.4815	
20	2_Tumor_V40...	0...	V40S0S4	None	R26	234	409	242	393	1.0407	0.7025
21	1_Healthy_V40...	S1...	V40S0S1	None	R5	161	2545	161	2545	1	
22	1_Tumor_V40...	S3_0...	V40S0S3	None	R5	161	2063	161	2063	1	1
23	2_Healthy_V40...	S2...	V40S0S2	None	R5	161	2251	161	2251	1	
24	2_Tumor_V40...	0...	V40S0S4	None	R5	161	1620	161	1620	1	1

LOH Default の Report Setting が LOH Project データに適用され、結果レポートには、各サンプルまたは一対のサンプルに対する Allele Ratio、Allelic Imbalance、LOH Assessment が表示されます。

5. 作成されたレポートを保存、印刷、エクスポートするには、「File」メニューから該当するコマンドを選択します。

重要！ ユーザ独自のデータのレポートを作成する際は、「Samples」タブで、サンプルの SQ スコアが Low Quality  でないことを確認してください。サンプルの SQ スコアが Low Quality である場合、サンプルおよび関連付けられた Marker が「Genotypes」タブに表示されていても、Report Setting によって使用されるデータはありません。

カスタム LOH Report Setting の編集または作成

概要

GeneMapper ソフトウェアで供給される LOH Default の Report Setting は、次を前提とします。

- Allelic Imbalance の列計算 – 2 つのサンプル間の Allelic Imbalance (Peak Height Ratio の率) を算出する際、Report Setting は、「Genotypes」タブの列を 2 列ごとに比較します。この計算では、独自のサンプル ファイルの命名により、同一個人から採取した正常なサンプルと腫瘍サンプルおよび Marker が、サンプル ファイルおよび Marker ごとにソートされ連続して (対で) リスト表示されていることを前提としています。
- LOH Assessment Thresholds – サンプルに LOH 候補としてフラグを付けるしきい値は、 > 1.35 および < 0.67 です。

ユーザ独自のサンプルや実験に合わせて、LOH Default の Report Setting において上記の設定を編集できます。

Allelic Imbalance の列計算の編集

サンプル ファイルを命名した方法によっては、同一個人の正常なファイルと腫瘍ファイルが、サンプル ファイルおよび Marker ごとにソートされていても、連続してリスト表示されない場合があります (図 4-5)。

1_Healthy.fsa	Healthy_1.fsa
1_Tumor.fsa	Healthy_2.fsa
2_Healthy.fsa	Healthy_3.fsa
2_Tumor.fsa	.
3_Healthy.fsa	.
3_Tumor.fsa	.
.	Healthy_n.fsa
.	Tumor_1.fsa
.	Tumor_2.fsa
n_Healthy.fsa	Tumor_3.fsa
n_Tumor.fsa	.
	.
	.
	Tumor_n.fsa

同一個人の正常なファイルと腫瘍ファイルを連続してリスト表示

すべての正常なファイルが一番上に、その下にすべての腫瘍ファイルをリスト表示

図 4-5 サンプル ファイルの命名規則により、サンプルおよび Marker ごとにソート後のファイルのリスト順序が異なる例

LOH Default の Report Setting で Allelic Imbalance の列計算を変更するには、次の手順を実行します。

1.  をクリックして GeneMapper Manager を開きます (「Tools」 ▶ 「GeneMapper Manager」)。
2. 「Report Settings」タブを選択します (図 4-6)。

3. LOH Default の Report Setting を選択し、「Open」をクリックします。

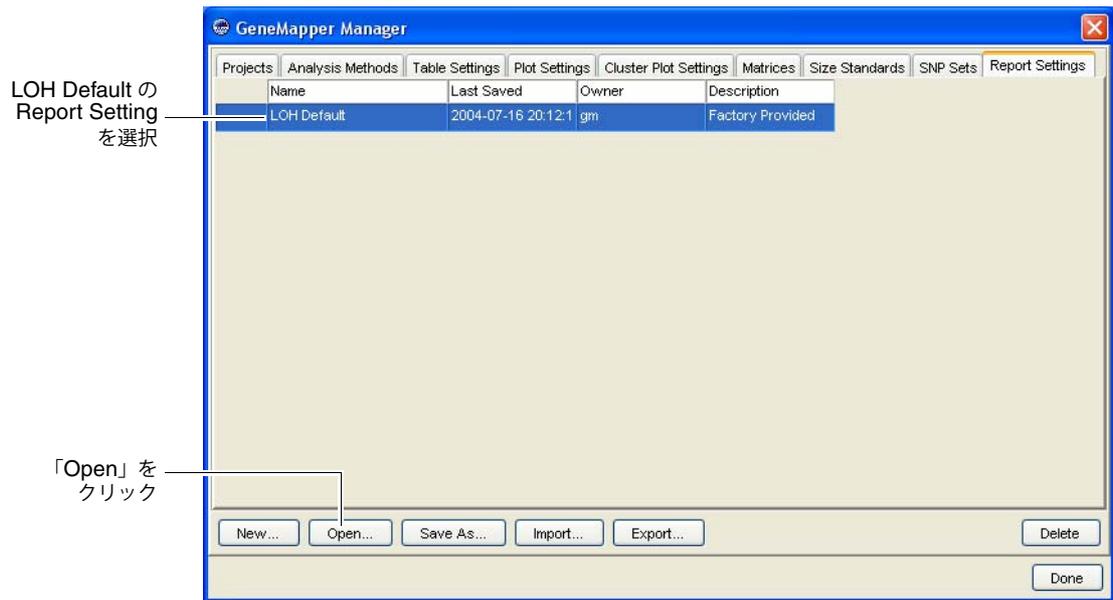


図 4-6 GeneMapper Manager の「Report Settings」タブ

4. Report Settings Editor (図 4-7) で、次を行います。

- 「Calculation」タブを選択します。
- 右側のペインの Selected Columns リストから Allelic Imbalance を選択します。
-  をクリックして、Allelic Imbalance を「Calculation」タブへ移動します。

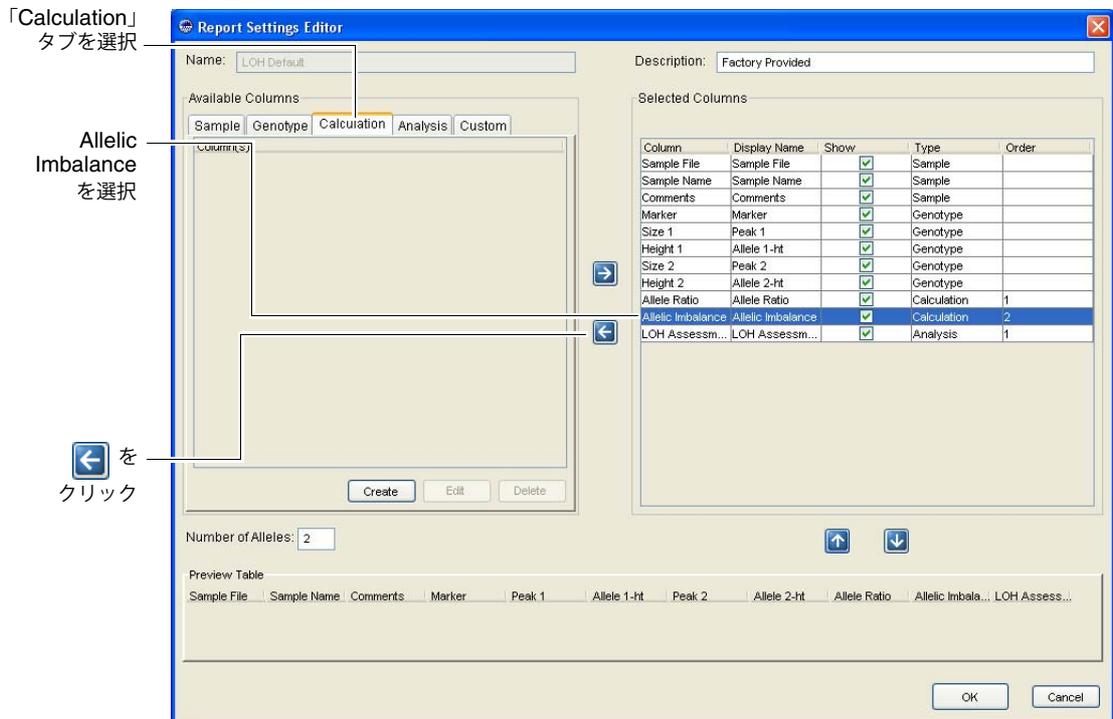


図 4-7 Report Settings Editor

5. 「Calculation」タブで、Allelic Imbalance を選択し、「Edit」をクリックします。

6. 「Edit Calculation」ダイアログボックスで、[図 4-8](#) に示されている 2 つのフィールドの 2 を $n + 1$ の値に書き換えます。

注：値 n は、サンプルセットの数で、正常なサンプルの数または腫瘍サンプルの数です ([45 ページの図 4-5](#) を参照してください)。たとえば、お使いのサンプルセットに 5 つの正常なサンプルと 5 つの腫瘍サンプルが含まれる場合、6 と入力します。

注：正常なサンプル数 1 と腫瘍サンプル数 m のサンプルデータを使用して 1 個体を解析する場合は $1+m$ の値に書き換えます。

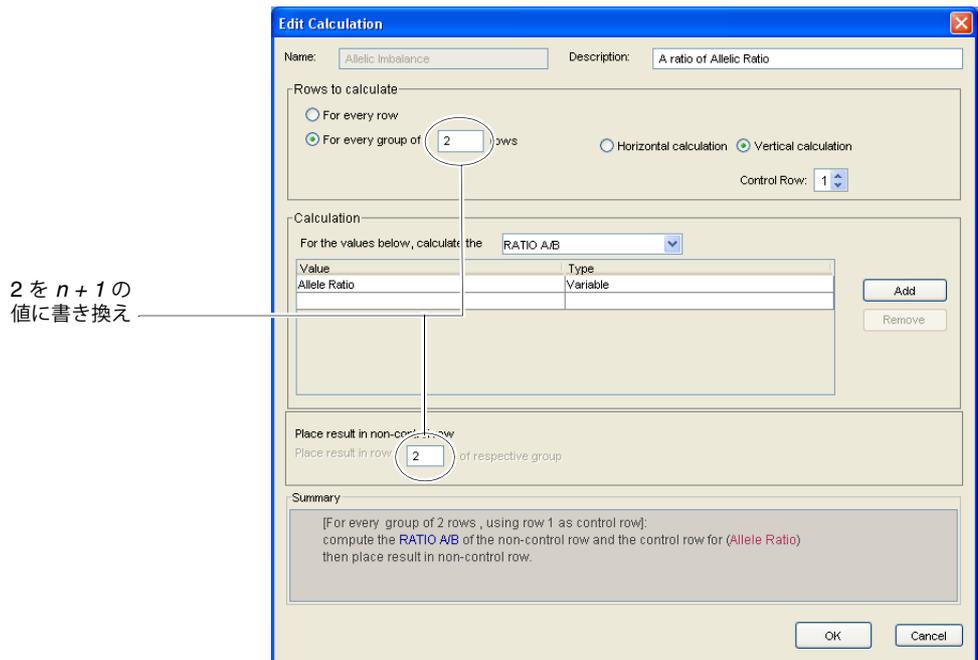


図 4-8 「Edit Calculation」ダイアログボックス

7. 「OK」をクリックして「Edit Calculation」ダイアログボックスを閉じます。
8. Report Settings Editor ([図 4-7](#)) で、[➡](#) をクリックし、「Calculation」タブの Allelic Imbalance を Selected Columns リストへ移動します。
9. Report Settings Editor ([図 4-7](#)) で、次を行います。
 - a. 「Analysis」タブを選択します。
 - b. 右側のペインの Selected Columns リストから LOH Assessment を選択します。
 - c. [⬅](#) をクリックして、LOH Assessment を「Analysis」タブへ移動します。
10. 「Analysis」タブで LOH Assessment を選択し、「Edit」をクリックします。

11. 「Edit Analysis」ダイアログ ボックスの「Analysis」セクションで、**For every group of** を選択し、[図 4-9](#) で示されている 2 つのフィールドに $n + 1$ の値を入力します。

注：値 n は、サンプルセットの数で、正常なサンプルの数または腫瘍サンプルの数です ([45 ページの図 4-5](#) を参照してください)。たとえば、お使いのサンプルセットに 5 つの正常なサンプルと 5 つの腫瘍サンプルが含まれる場合、6 と入力します。

注：正常なサンプル数 1 と腫瘍サンプル数 m のサンプルデータを使用して 1 個体を解析する場合は **For every row** を選択します。

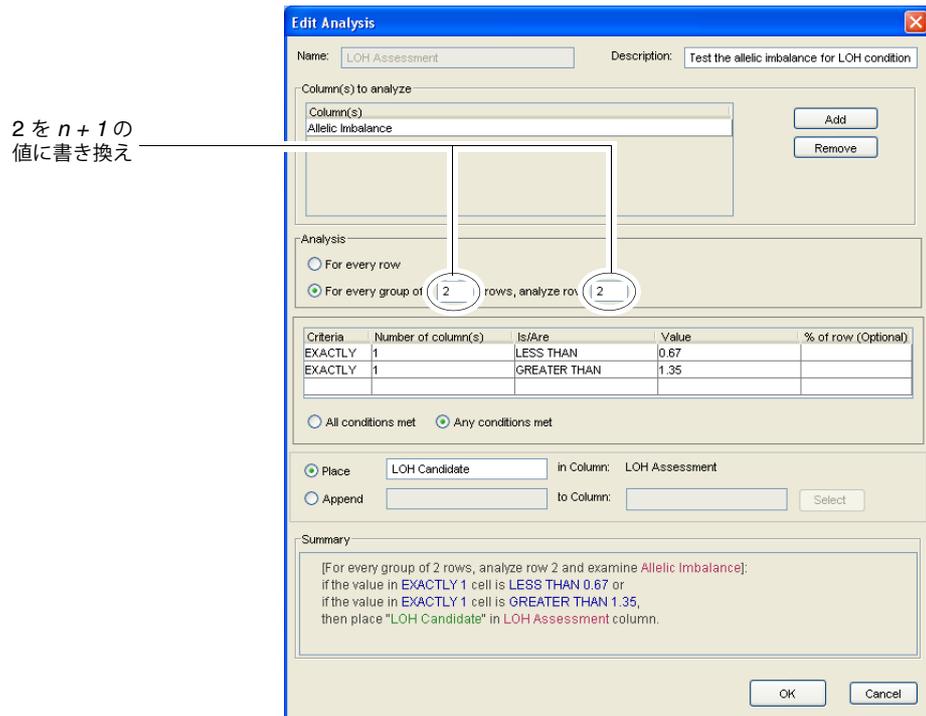


図 4-9 「Edit Analysis」ダイアログ ボックス

12. 「OK」をクリックして「Edit Analysis」ダイアログ ボックスを閉じます。
13. Report Settings Editor ([46 ページの図 4-7](#)) で、 をクリックし、「Analysis」タブの LOH Assessment を Selected Columns リストへ移動します。
14. 「OK」をクリックして、Report Settings Editor を閉じます。「Done」をクリックして GeneMapper Manager を閉じます。

LOH Assessment Thresholds の編集

腫瘍サンプルで観察される野生型 DNA の汚染レベルに適切な、LOH Assessment Thresholds を選択します。詳細については、[40 ページ](#)を参照してください。

LOH Default の Report Setting における LOH Assessment Thresholds を変更するには、次の手順を実行します。

- をクリックして GeneMapper Manager を開きます (「Tools」 ▶ 「GeneMapper Manager」)。
- 「Report Settings」タブを選択します ([46 ページの図 4-6](#))。
- LOH Default の Report Setting を選択し、「Open」をクリックします。
- Report Settings Editor ([46 ページの図 4-7](#)) で、次を行います。
 - 「Analysis」タブを選択します。
 - 右側のペインの Selected Columns リストから LOH Assessment を選択します。
 - をクリックして、LOH Assessment を「Analysis」タブへ移動します。

- 「Analysis」タブで LOH Assessment を選択し、「Edit」をクリックします。
- 「Edit Analysis」ダイアログボックスの「Value」カラムで、最小および最大のしきい値である 0.67 と 1.35 を、お使いのデータに適切なしきい値に置き換えます。

使用するデータに適切な値に変更

Criteria	Number of column(s)	Is/Are	Value	% of row (Optional)
EXACTLY	1	LESS THAN	0.67	
EXACTLY	1	GREATER THAN	1.35	

All conditions met
 Any conditions met

- 「OK」をクリックして「Edit Analysis」ダイアログボックスを閉じます。
- Report Settings Editor(図 4-7)で、 をクリックし、「Analysis」タブの LOH Assessment を Selected Columns リストへ移動します。
- 「OK」をクリックして、Report Settings Editor を閉じます。「Done」をクリックして GeneMapper Manager を閉じます。

5

結果の印刷とエクスポート

この章は、次の項目から構成されています。

- 結果の印刷 52
- 結果のエクスポート 53



結果の印刷

「File」 ▶ 「Print」の順に選択すると、次のウィンドウおよびタブでの結果を印刷することができます。

ウィンドウ/タブ	「GeneMapper Project」ウィンドウからのアクセス
「GeneMapper」ウィンドウ – 「Samples」タブ	「View」 ▶ 「Samples」
「GeneMapper」ウィンドウ – 「Genotypes」タブ	「View」 ▶ 「Genotypes」
「GeneMapper」ウィンドウ – 「Info」タブ	「View」 ▶ 「Sample Info」
「GeneMapper」ウィンドウ – 「Raw Data」タブ	「View」 ▶ 「Raw Data」
「GeneMapper」ウィンドウ – 「EPT Data」タブ	「View」 ▶ 「EPT Data」
「Samples Plot」ウィンドウ	「Samples」タブで、「Analysis」 ▶ 「Display Plots」
「Genotypes Plot」ウィンドウ	「Genotypes」タブで、「Analysis」 ▶ 「Display Plots」
「Report Manager」ウィンドウ	「Analysis」 ▶ 「Report Manager」

注：レポートを印刷することもできます。Report Settings の設定とレポート作成の詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。

結果のエクスポート

「Samples」タブおよび「Genotypes」タブのエクスポート

「GeneMapper」ウィンドウの「Samples」タブおよび「Genotypes」タブに表示された結果をエクスポートするには、次の手順を実行します。

1. エクスポートするデータの内容と形式を次のとおり準備します。
 - a. 「GeneMapper」ウィンドウ最上部のドロップダウンリストから、目的の **Table Setting** を選択します。Table Setting では、表示するカラムと、サンプルのソート順序を制御します。
 - b. 必要に応じてデータをソートし、サンプルを表示する順序を決定します。「Edit」▶「Sort」の順に選択するか、「Samples」タブまたは「Genotypes」タブで、[Shift] キーを押しながらカラムヘッダをクリックします。また、 をクリック（または「Analysis」▶「Low Quality on Top」を選択）すると、GQ スコアに基づいてサンプルをソートすることができます。

注：Table Settings の編集と作成、およびデータのソートに関する詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。

2. 次のコマンドの1つを選択します。
 - 「File」▶「Export Table」– 選択されたタブに表示された情報をエクスポートします。
 - 「File」▶「Export Combined Table」– 両方のタブに表示される情報をエクスポートします（このコマンドは、「Samples」タブが選択されている時のみ使用できます）。

Kit のエクスポート

Panel Manager のすべての Kit をエクスポートするには、次の手順を実行します。

1.  をクリックして Panel Manager を開きます（「Tools」▶「Panel Manager」）。
2. 「File」▶「Export All Kits」の順に選択します。

Panel のエクスポート

Kit 内のすべての Panel をエクスポートするには、次の手順を実行します。

1.  をクリックして Panel Manager を開きます（「Tools」▶「Panel Manager」）。
2. 左側のナビゲーションペインで Kit を選択します。
3. 「File」▶「Export Panels」を選択します。

Bin Set のエクスポート

Bin Set をエクスポートするには、次の手順を実行します。

1.  をクリックして Panel Manager を開きます（「Tools」▶「Panel Manager」）。
2. ナビゲーションペインで、Bin Set が関連付けられたキットを選択します。
3. 「Bin Set」ドロップダウンリストで、Bin Set を選択します。
4. 「File」▶「Export Bin Set」を選択します。

Project、メソッド、Settings、Size Standardのエクスポート

Project、Analysis Method、Table Settings、Plot Settings、Reports Settings、Size Standard をエクスポートするには、次の手順を実行します。

1.  をクリックして GeneMapper Manager を開きます（「Tools」 ▶ 「GeneMapper Manager」）。
2. 次のタブの1つを選択します。
 - Projects
 - Analysis Methods
 - Table Settings
 - Plot Settings
 - Report Settings
 - Size Standards
3. エクスポートするオブジェクトを選択します（複数可）。複数のオブジェクトを選択するには、[Shift] キーまたは [Ctrl] キーを押したままにします。
4. 「Export」をクリックします。

レポートのエクスポート

レポートをエクスポートすることもできます。Report Settings の設定とレポート作成の詳細については、GeneMapper® Software Online Help を参照してください。

A

Advanced ピーク検出アルゴリズム 16

Allele Ratio 41

Allelic Imbalance 41, 45

Analysis Method

Bin Set の選択 15, 33

エクスポート 54

作成 14

編集 32

保存 17

Analysis Method Editor

「Allele」タブ 33, 15

「General」タブ 15

「Peak Detector」タブ 16

「Peak Quality」タブ 16

「Quality Flags」タブ 17

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

Auto Bin 27

B

Bin 27

Auto Bin を使用した Bin の作成 27

Marker に追加 29

閲覧 28

削除 30

手動による作成 25

定義 5, 25

編集 29

Bin Set

Analysis Method での選択 15, 33

インポート 25

エクスポート 53

採用 29

作成 25

定義 5, 25

F

Fill Down 18

G

Genotype Quality

GQ を参照

「Genotypes Plot」ウィンドウ

印刷 52

エクスポート 53

拡大表示 36

データの検証 37

表示 36

「Genotypes」タブ 34

Genotypes テーブル 24

GQ

閲覧 34

原因調査 35

K

Kit

エクスポート 53

作成 9

種類 10

定義 5, 9

L

LOH

定義 2, 40

評価 39

LOH Assessment Thresholds 41, 45, 48

LOH Default の Report Setting 41, 45

LOH マイクロサテライト解析

LOH の評価 39

互換性のある装置 3

定義 2, 40

データのソート 42

フローチャート 4

M

Marker 28

Bin の追加 29

Panel からの削除 30

閲覧 28

作成 9

定義 2, 5, 9

データ例 3, 11

プロットの表示 36

編集 30

MSDS の入手 vii

P

Panel

インポート 9

エクスポート 53
 解析の選択 18
 作成 9
 定義 5, 9
 リファレンス データの追加 25

Panel Manager

開始 9

Plot Setting 23, 36, 54

「Plot」ウィンドウ

「Genotypes Plot」ウィンドウを参照

「Samples Plot」ウィンドウを参照

R

Report

LOH 用に作成 44
 印刷 44, 52
 エクスポート 44, 54
 作成 54
 保存 44

Report Manager 44

Report Setting

LOH Default 41, 45
 エクスポート 54
 編集 45

Report Settings Editor 46

S

Sample Plot

拡大表示 23, 36
 表示 23, 36

「Samples Plot」ウィンドウ

印刷 52
 エクスポート 53
 拡大表示 23
 データの検証 24

「Samples」タブ 14

Size Match Editor 21

Size Quality (SQ)

SQ を参照

Size Standard

エクスポート 54
 解析の選択 18
 カスタム 22
 検証 21
 データ例 3
 トラブルシューティング 22
 ラベルの削除 22
 ラベルの追加 22
 ラベルの編集 22

Sizing テーブル 24

SQ

上書き 22
 閲覧 20

原因調査 21

スコア 21

T

Table Settings 14, 19, 54

X

X 軸

拡大表示 23, 36
 スケール 24, 37

Y

Y 軸

拡大表示 23, 36
 スケール 24, 37

あ

アレル コールの閲覧 35

アレルのプロジェクト 37

い

印刷

「Genotypes Plot」ウィンドウ 52
 Report 44, 52
 「Samples Plot」ウィンドウ 52
 結果 52

インポート

Bin Set 25
 Panel 9

え

エクスポート

Analysis Method 54
 Bin Set 53
 「Genotypes Plot」ウィンドウ 53
 Kit 53
 Panel 53
 Plot Settings 54
 Project 54
 Report 44, 54
 Report Settings 54
 「Samples Plot」ウィンドウ 53
 Size Standard 54
 Table Settings 54
 結果 53

お

オンライン ヘルプへのアクセス vi, vii

か

解析

LOH マイクロサテライト解析を参照

解析の設定 7

解析パラメータ

設定 14

定義 5, 14

拡大表示 23, 36

「Genotypes Plot」ウィンドウ 36

「Samples Plot」ウィンドウ 23

X 軸 23, 36

Y 軸 23, 36

カスタムプライマー 2

関連資料 vi

け

蛍光色素ピークの表示と非表示 24, 37

結果

印刷 52

エクスポート 53

こ

ゴシック体での表記 v

さ

サイズ コーリング曲線 22

サイズ スタンダードに関するトラブルシューティング 22

削除

Bin 30

Marker 30

サイズ スタンダード ラベル 22

作成

Analysis Method 14

Bin 27

Bin Set 25

Kit 9

LOH 用に作成 44

Marker 9

Panel 9

Project 12

Report 54

Report Setting 54

サンプル

LOH 評価に基づくソート 42

拡大表示 23, 36

ソート 21, 35

サンプル ファイル

拡大表示 23, 36

情報の確認 22

ソート 21, 35, 42

場所 3

プロジェクトへの追加 12

プロットの表示 23, 36

命名規則 3, 45

し

しきい値

LOH Assessment Thresholds を参照

縮小表示 23, 36

す

ステータス バー 20

そ

装置

LOH マイクロサテライト解析との互換性 3

データ例 3

ソート

LOH サンプル 42

サンプル 21, 35

ソフトウェア

起動とログイン 5

用語の定義 5

つ

追加

Marker に Bin 29

サイズ スタンダード ラベル 22

プロジェクトへのサンプル ファイル 12

て

データ

サンプル ファイルを参照

データ例を参照

リファレンス データを参照

データ例

Size Standard 3

概要 3

使用した装置 3

マーカ情報 3, 11

テクニカルサポートの連絡先 vii

と

トレーニングの情報 vii

ひ

ピーク検出アルゴリズム 16

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

ふ

- ファイル
 - サンプル ファイルを参照
- 太字での表記 [v](#)
- プロジェクト
 - Table Settings の設定 [14](#)
 - エクスポート [54](#)
 - 解析 [20, 34](#)
 - 解析パラメータの設定 [14](#)
 - 作成 [12](#)
 - サンプル ファイルの追加 [12](#)
 - 保存 [19](#)
- プロジェクト アレル
 - 表示 [37](#)
- プロジェクトの解析 [20, 34](#)
- プロット
 - Sample Plot を参照

へ

- ヘルプへのアクセス [vi, vii](#)
- 編集
 - Allelic Imbalance [45](#)
 - Analysis Method [32](#)
 - Bin [29](#)
 - LOH Assessment Thresholds [48](#)
 - Marker [30](#)
 - Report Setting [45](#)
 - サイズ スタンダード ラベル [22](#)

ほ

- 保存
 - Analysis Method [17](#)
 - プロジェクト [19](#)
 - レポート [44](#)

ま

- マイクロサテライト解析
 - LOH マイクロサテライト解析を参照
 - 設定 [7](#)
 - 定義 [2](#)
 - マーカ [2](#)
- マニュアルの使用前提条件 [v](#)

め

- メソッド
 - Analysis Method を参照
- 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](#)

ら

- ライセンスの拒否 [ii](#)

り

- リファレンス データ
 - Panel への追加 [25](#)
 - アイコン [34](#)

れ

- レポート変数
 - Allele Ratio [41](#)
 - Allelic Imbalance [41, 45](#)
 - LOH Assessment [41, 45, 48](#)