

Densitograph Software Library

# CS Analyzer 3

1-No	1-No2	1-No3	1-No4	1-No5	1-No6	1-No7	1-No8	1-No9	1-No10	1-No11	
1	4770	6350	7380	7470	7470	1	3750	1	1470	1	3000
2	4400	3820	6720	6720	6720	2	1280	2	8950	2	1190
3	4150	4100	5750	5750	5750	3	1170	3	4780	3	5770
4	3920	3280	4880	4880	4880	4	930	4	3830	4	1770
5	3780	5180	5670	5670	5670	5	1550	5	1350	5	1730
6	3800	1980	1120	1120	1120	6	9970	6	6950	6	2240
7	1550	3070	1350	1350	1350	7	470	7	1710	7	7080
8	3070	3070	3070	3070	3070	8	5090	8	5090	8	4270
9	750	750	750	750	750	9	6750	9	3570	9	7570
10						10	3000	10	1300	10	4500
11						11	740	11	1580	11	1500
12						12	3300	12	2200	12	3300
13						13	1120	13	3000	13	2670
14						14	1500	14	3670	14	1870
15						15	1300	15	3000	15	3000
16						16	1500	16	3100	16	3100
17						17	1500	17	3100	17	3100
18						18	1500	18	3100	18	3100
19						19	1500	19	3100	19	3100
20						20	1500	20	3100	20	3100
21						21	1500	21	3100	21	3100
22						22	1500	22	3100	22	3100
23						23	1500	23	3100	23	3100
24						24	1500	24	3100	24	3100
25						25	1500	25	3100	25	3100
26						26	1500	26	3100	26	3100
27						27	1500	27	3100	27	3100
28						28	1500	28	3100	28	3100
29						29	1500	29	3100	29	3100
30						30	1500	30	3100	30	3100
合計	28000	24750	24000	24000	24000	合計	21000	合計	21000	合計	21000

ATTO Densitograph Software Library

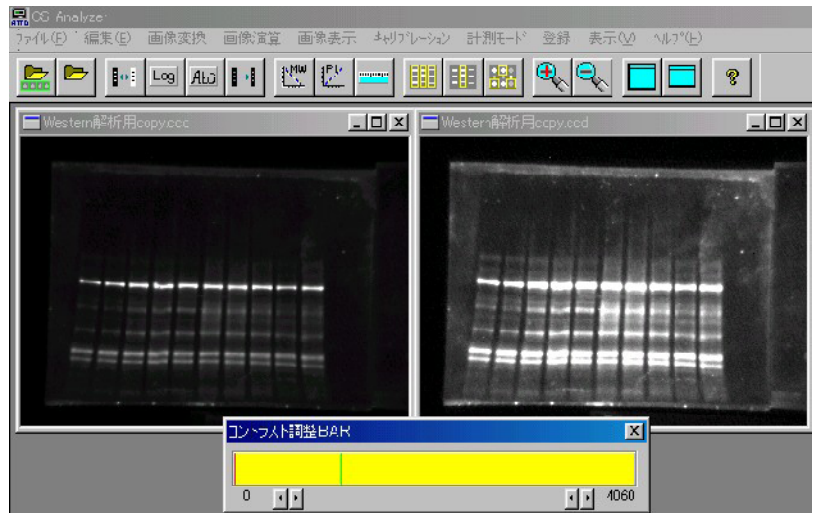
# CS Analyzer 3 for Windows 7/Vista/XP



# CS Analyzerの画像変換機能

## 表示画像のコントラスト調整機能

CS Analyzerは10～16bit画像という通常の8bitファイル(BMPやTIFF、JPEGなど)よりもコントラスト階調数が多い画像を扱うことができます。10～16bit画像はモニター上ではバンドが確認しにくいことが多いため、表示コントラスト調整機能を使って、バンドを見やすくすることが可能です。コントラスト調整は画像の輝度値を変更しないため、調整の有無に関係なく、同じ計測結果が得られます。また、コントラスト調整を反映させた画像をTIFFやBMP、JPEGといった8bitファイルに変換保存することも可能です。



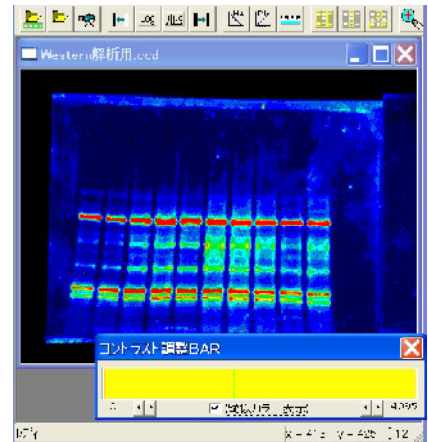
### 表示画像のコントラスト調整

見た目のコントラストが変化します。画像の輝度データは変化しないので調整後の画像を解析しても適正な計測結果が得られます。

## 擬似カラー表示

CS Analyzerで表示画像のコントラスト調整を行った場合、モノクロ画像ではバックとバンドが見分けにくい場合があります。このような時擬似カラー化をすることでモノクロ画像のときよりもバンドが確認しやすくなります。擬似カラー化も表示上の変更のため計測用の輝度値に変更がないため、擬似カラー化の有無に関係なく、同じ計測結果が得られます。

擬似カラー化した画像はTIFFやBMP、JPEGといった8bitファイルに変換保存することも可能です。



## 画像階調数 (bit 数) の変更

CS Analyzerは8～16bitの画像に対応しています。これらの画像を下位ビット(または上位ビット)に非可逆的に変更可能です(画像モード変換機能)。変更後保存も可能です。現画像は別途保存しておくことをお勧めします。

## 画像解像度の変更

CS Analyzerは、画像の解像度を2倍(または1/2)に非可逆的に変更可能です。解像度の変更は、画像の印刷時によりなめらかなイメージとして印刷したいときに効果的です。変更した画像を保存する場合、解像度を2倍にした画像は保存容量が4倍に増加します。

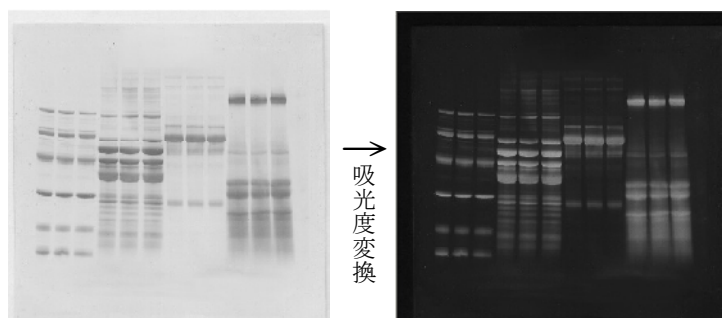


## 階調の反転

CBB染色ゲルなどは、計測に適した画像に変換するために、吸光度変換を行ってから画像解析を行います。吸光度変換を行うことで定量性を保ったまま解析に適した画像に変換することが可能です。

吸光度変換を行うと、画像は白黒反転したようになります。さらにコントラスト調整でバンドを見やすくすることが可能です。

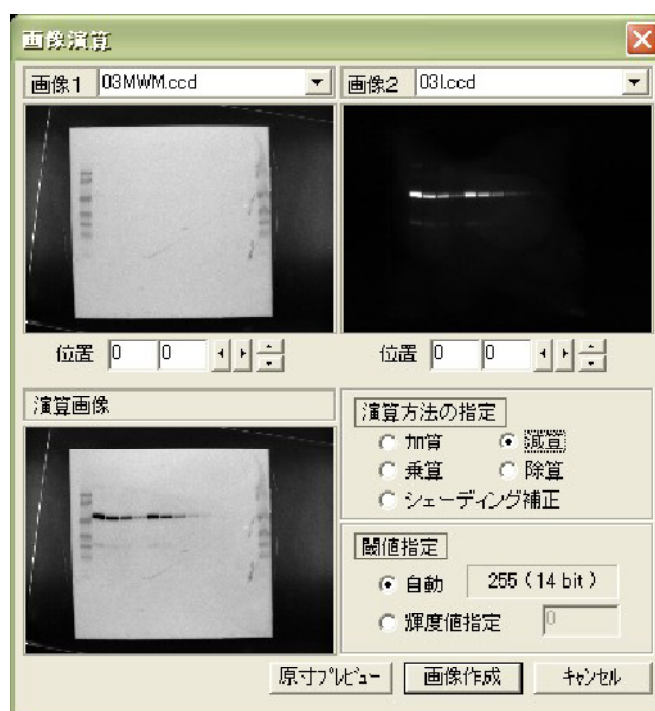
画像取り込み時にシェーディング補正をしておくと、バックグラウンドが均一になります。



## 画像演算機能

### ■例1: 発光パターンと有色マーカー像の合成

化学発光メンブレンの撮影では、通常発光パターンを見ることはできませんが、発光していない分子量マーカーは検出されません。しかしCS Analyzerなら、(有色マーカーを使っている場合)メンブレンを白色光源を使って撮影した画像と、続けて発光パターンを撮影した画像とを合成(画像減算)することが可能です。この画像を使えば化学発光パターンの分子量測定が行えます。



### ■例2: シェーディング補正

CBB染色ゲルなどの取り込みには白色透過光源を使用します。この光源にはムラがあるため、そのままでは解析時にバックグラウンドのムラが問題となります。

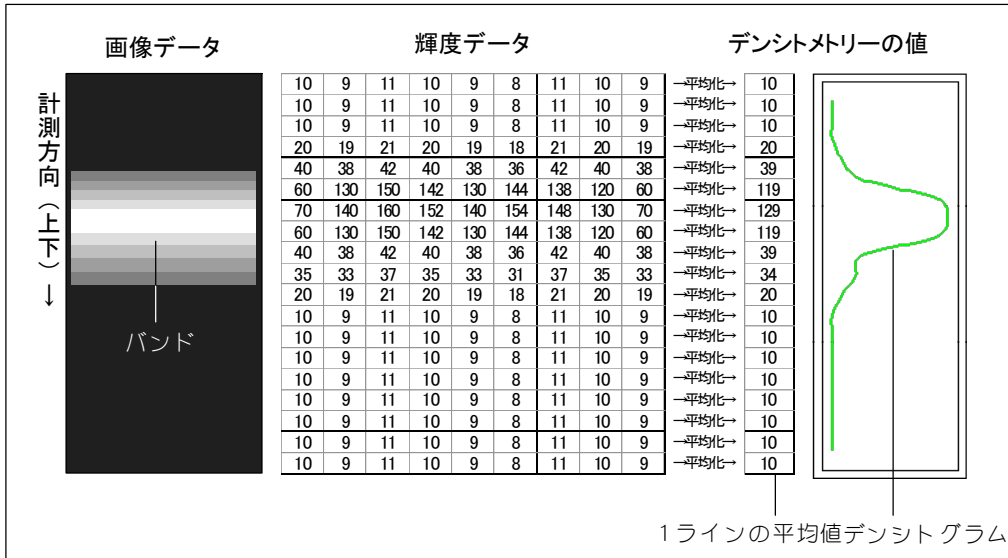
シェーディング補正機能を用いると、光源のムラを補正し、バックを均一にすることができます(極端にムラの大きい光源では適正な補正が行えない場合があります。)



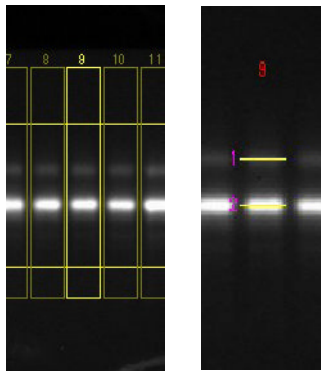
# CS Analyzerの解析機能

## 画像解析の原理（ゾーンデンストメリー法）

まず、画像上に計測領域（長方形または矩形）を設定します。計測領域設定時に計測方向（上下方向 / 左右方向）を選択します。ゾーンデンストメリー法では、計測方向に対して幅方向、1ライン分のピクセルの輝度の平均値を用いてデンストグラム（プロファイル）を得ます。計測結果の積算値はこのデンストグラムから計算します。



※注：実際の計測では、左図の輝度データ、1ラインの平均値は表示されません。1ラインの平均値は計測後の保存メニューの「テキストセーブ」で保存可能です。

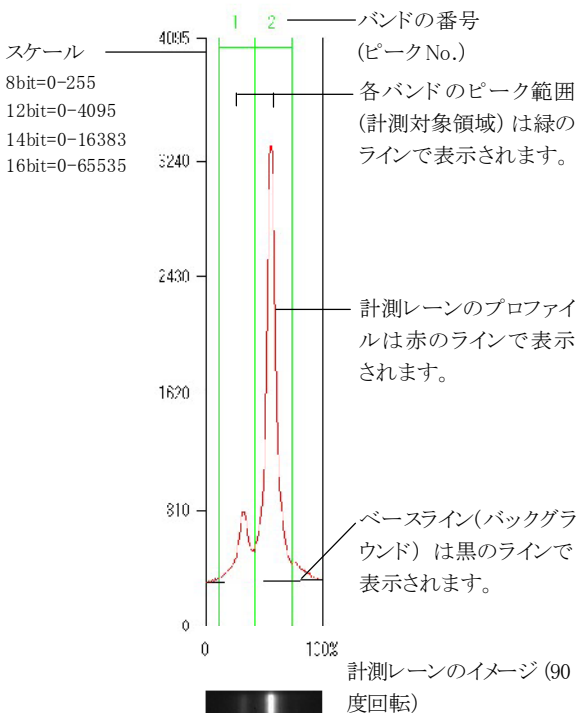


### ①レーン設定・バンド検出

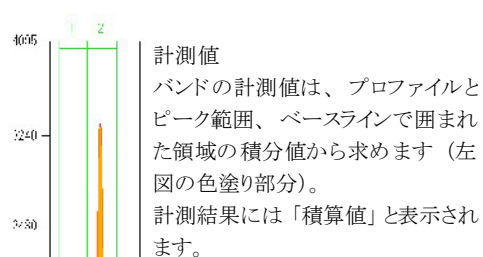
計測レーンの設定後、検出を行うとバンドが自動検出されます。計測のためのプロファイルは下図のように表示されます。

レーン No.9 ——— 計測レーンの番号

### ②プロファイルの表示



レーン No.1



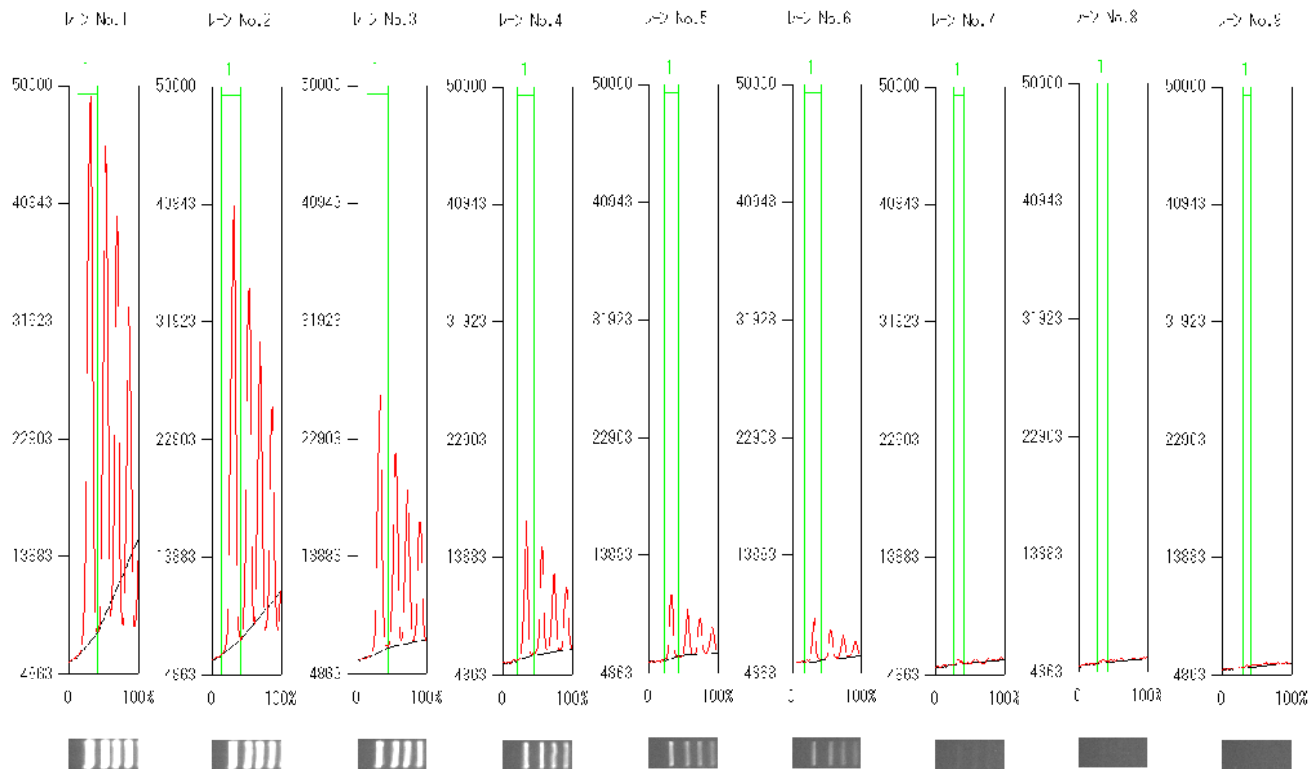
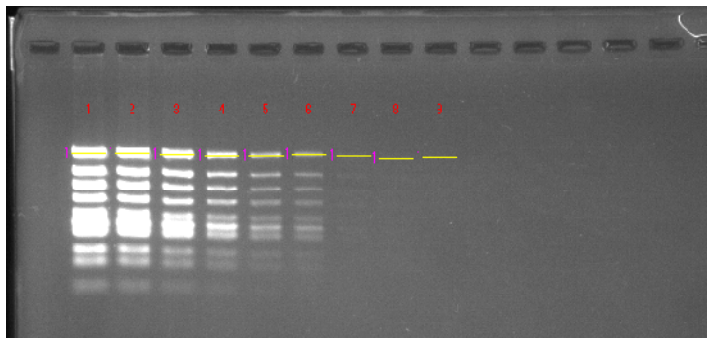
サザン解析用計測結果		
ピークNo.	積算値	割合
レーンNo9		
1	201152	16.143
2	1044572	83.852
総和	1245664	100.000

## 撮影画像の解析例 DNAの希釈系列

プリントグラフでDNAの希釈系列を電気泳動し、エチジウムブロマイド染色したゲルを撮影・TIFF(10bit)で保存した画像を、CS Analyzerで計測しました。

下は、計測した各レーンのプロフィールです。プロフィールから、バンドの濃さを「積算値」として算出します。添加量は各レーンの総DNA量で、1057bpのバンドは質量で全体の約20%となります。

レーン⑨に比べて、レーン①では約240倍の濃度になります。



4170000361.tifの計測結果

レーンNo.	積算値
レーンNo1	
1	7736550
総和	7736550
レーンNo2	
1	5788470
総和	5700470
レーンNo3	
1	2968110
総和	2968110
レーンNo4	
1	1298000
総和	1298000
レーンNo5	
1	576870
総和	576870
レーンNo6	
1	376110
総和	376110
レーンNo7	
1	47790
総和	47790
レーンNo8	
1	28830
総和	28830
レーンNo9	
1	10530
総和	10530

	添加量/lane	対象バンド	検出	倍率
①	1500ng	1057bp	◎	240
②	1000ng	1057bp	◎	160
③	500ng	1057bp	◎	80
④	250ng	1057bp	◎	40
⑤	100ng	1057bp	◎	16
⑥	500ng	1057bp	◎	8
⑦	25ng	1057bp	◎	4
⑧	12.5ng	1057bp	○	2
⑨	6.25ng	1057bp	△	1
⑩	3.13ng	1057bp	×	0.5
⑪	1.61ng	1057bp	×	0.25

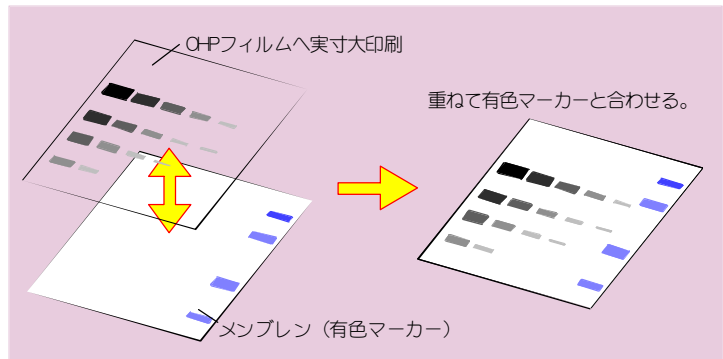
# CS Analyzerの解析機能

## 発光パターンの分子量計測

抗体を反応させ、発光検出したサンプルのバンドの位置を確認したい場合、どのようにすれば確認が出来るでしょうか？

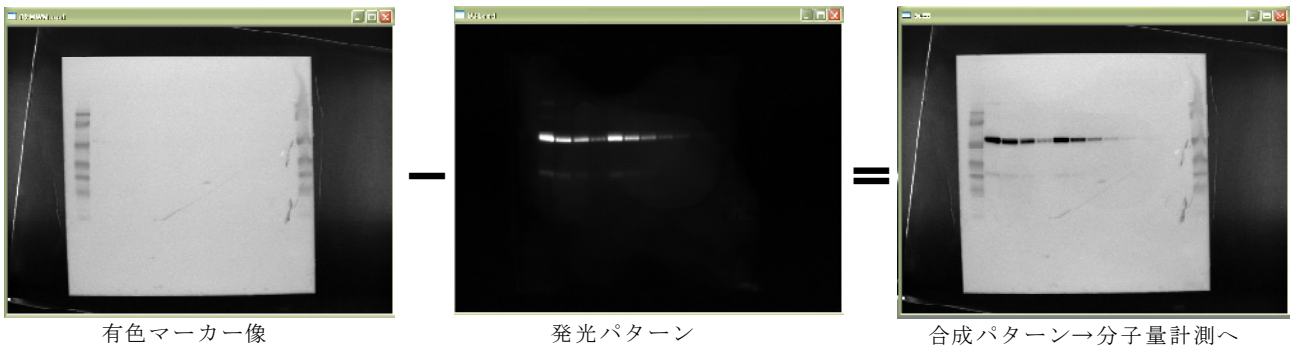
### ■方法1：実寸大印刷を行う

取り込んだ画像をスケールキャリブレーションし、実寸大印刷を行います。このときOHPフィルムなどに印刷するとメンブレンと重ね合わせ て、X線フィルムと同様に有色マーカーと照らし合わせる事が可能です。

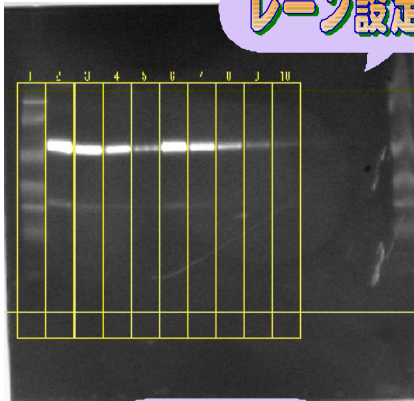


### ■方法2：画像合成を使用して分子量計測

有色マーカーのイメージと発光パターンを画像合成し(減算)、解析ソフトウェアで分子量計測が出来ます。



## レーン設定



### ●解析機能

CS Analyzerでは、電気泳動パターンから、バンドの濃さ、分子量などが計測可能です。主な使用手順は以下の通りです。

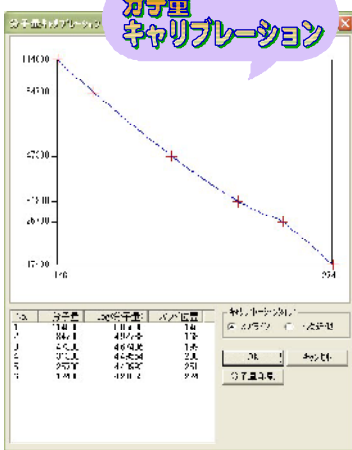
分子量計測の手順

- ①画像を反転
- ②レーンの設定→分子量キャリブレーション
- ③バンド検出・・・計測結果

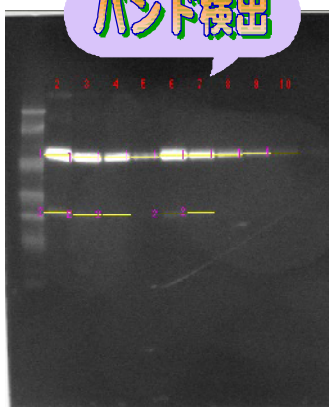
CS Analyzerは分子量マーカーの移動度と各バンドの分子量を基にして、計測対象バンドの分子量推定を行います。

## 計測結果

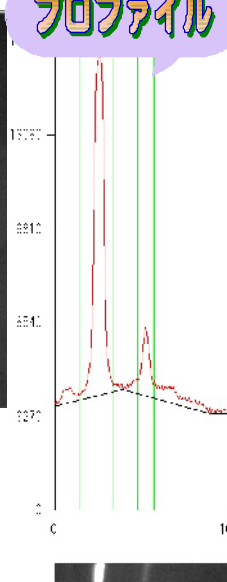
### 分子量キャリブレーション



### バンド検出



### プロファイル

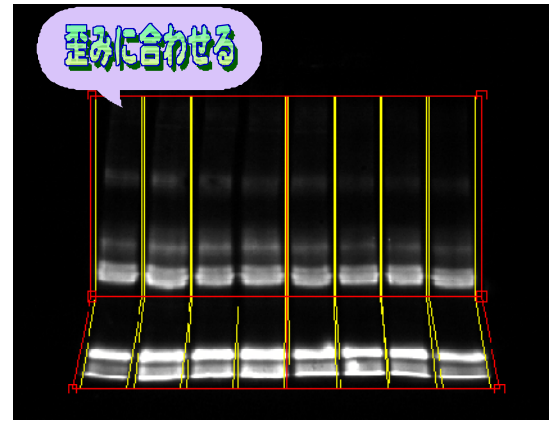


レーンNo.	検出値	分子量
レーンNo.2		
1	4977502	54713
2	771319	26683
総平均	5798890	81203
レーンNo.3		
1	7049576	52123
2	765218	25942
総平均	4814794	70055
レーンNo.4		
1	5910551	52123
2	379030	25942
総平均	565581	78065
レーンNo.5		
1	1999724	52974
総平均	1999724	52974
レーンNo.6		
1	7480089	53883
2	561014	26187
総平均	8070983	80025
レーンNo.7		
1	5655875	53883
2	479180	26683
総平均	4045065	80551
レーンNo.8		
1	5717740	54713
総平均	5717740	54713
レーンNo.9		
1	982430	55803
総平均	982430	55803
レーンNo.10		
1	982432	56513
総平均	982432	56513

## 曲がったパターンへの対応

### ■歪み正機能

PAGEのような末広がりになったパターンも、歪み補正機能を使えば図のようにレーンの曲がりにぴったりフィットします。

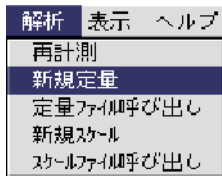


PAGEで末広がりのパターン

## 計測結果の定量機能

### ■新規定量機能

既知濃度または標準となるバンドを使った比較定量が可能です。あるバンドを「100」とした場合は他のバンドの比が計測結果に追加されます。



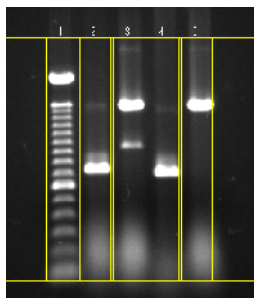
バンド指定、濃度入力を行います。

バンドNo.	積算値	分子量
1	5304	1471
2	103768	732
3	123328	173
標準	232300	2373
バンド3		
1	3042	2533
2	92446	1503
3	29342	953
4	15730	171
標準	202340	5163
バンド4		
1	5330	1423

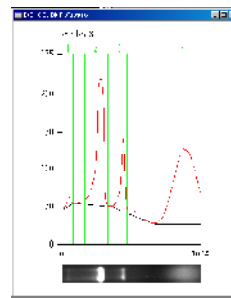
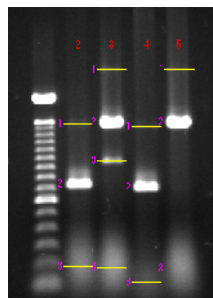
## 再解析データの保存機能

計測結果は、画像、プロファイルなどと一緒に保存可能なため、計測結果の再解析を行う場合には前回の条件と同じ（画像変換・領域設定・計測条件など）状態で再解析を行うことが可能です。

また、プロファイル・計測結果は個別にテキストデータとして保存が可能です。保存したテキストデータはEXCELなど表計算ソフトウェアで読み込むことが可能です。



計測条件と画像(画像変換も含む)



プロファイル

バンドNo.	積算値	分子量
1	5304	1471
2	103768	732
3	123328	173
標準	232300	2373
バンド3		
1	3342	2538
2	92446	1500
3	29342	959
4	157318	171
標準	202348	5168
バンド4		
1	5338	1428

計測結果

解析結果としてまとめて保存

保存したデータを再解析

解析結果(テキストデータ)は他のソフトへ

## ソフトウェアの仕様

ATTO CS Analyzer 3		
対応OS	Windows 7/Vista/XP	
機能		
画像入力	ライトキャプチャー制御	アトーライトキャプチャーの撮影制御機能 自動露出機能 (AutoExposure) / 連続撮影時は保存枚数制限なし (設定は必要)
	ビデオ入力	ビデオインターフェース搭載PCでグレー画像/カラー画像取り込み可能 シェーディング補正で白色透過光源のムラ軽減可能
	スキャナ入力	Twainドライバ対応スキャナをプラグインで使用可能 (16/48bit入力対応)
	NetWork入力	プリントグラフのAE-6905CFイメージセーバー内のイメージを転送可能
オープン	8bit (256階調)	BMP/JPEG/TIFF/IS (プリントグラフ: HighResolution)
	10bit (1024階調)	TIFF (プリントグラフ: 10bit)
	12bit (4096階調)	CSファイル (ライトキャプチャー: .ccd) / TIFF (プリントグラフ: 12bit) / Chainファイル (ライトキャプチャー: .cha)
	14bit (16384階調)	CSファイル (ライトキャプチャー: .ccd) / Chainファイル (ライトキャプチャー: .cha)
	16bit (65536階調)	TIFF (16bit) / CSファイル (ライトキャプチャー: .ccd) / Chainファイル (ライトキャプチャー: .cha)
	再解析オープン	CSアナライザーで保存した再解析用データ (拡張子: .cna)
計測機能	分子量推定	分子量マーカークバンドの移動度と分子量から検量線を作成
	バンド計測	バンドの輝度値からの数値化・ピーク位置 (ゾーンデンストメトリー時) 検出・移動度など
	定量機能	分子量推定を利用した分子量定量 数値化されたバンドの計測値より相対的な濃度定量
	計測方法	ゾーンデンストメトリー・指定領域デンストメトリー・スポット計測 (レーン歪み補正・バックグラウンド補正・ピーク範囲補正)
	スケール設定	画像中に線分でスケールを設定可能 (実寸大印刷のスケールとして使用)
保存機能	画像保存	8bit画像保存 (形式: BMP/JPEG/TIFF) 変換画像・計測画像・プロフィール画像など 12~16bit画像保存 (形式: CCD) CSファイル専用形式 16bit画像保存 (形式: TIFF) 16bit TIFF画像保存 12~16bit Chainファイル (形式: .cha) ライトキャプチャー取り込み画像保存
	テキスト保存	計測結果およびプロフィールデータのテキスト保存可能
	再解析用データ保存	計測終了時に、画像変換・計測領域設定・計測結果などをまとめて保存可能 再解析オープンにより、計測終了時の条件で再表示可能
画像変換	擬似カラー化	モノクロ画像の輝度分布を擬似カラー表示可能
	コントラスト表示調整	輝度データの変更なしで、モニター表示上のコントラストを自由に変更可能
	吸光度変換	CBB染色ゲル等の吸光度が濃度の指標となる画像の計測用変換機能
	解像度変更	画像のピクセル数を2倍 (水平・垂直両方向) に拡大し印刷解像度を向上 同一画像について複数回適用可能 (1回ごとにファイル容量は4倍になります)
	画像合成	発光パターンとプレステインマーカーク像の合成 (画像演算・減算機能) RGB合成機能 シェーディング補正 (白色透過光源のムラ軽減機能) 他
	実寸大印刷	設定したスケールが実寸となるよう印刷倍率を自動調節し印刷可能
パソコン環境	CPU: Pentium IV以降 メモリ: 1GB以上推奨 HD空き容量: 1GB以上推奨	

- ◆ソフトウェアの仕様は2006年9月現在のものです。
- ◆CS Analyzer 3はWindows7/Vista/XP用ソフトウェアです。
- ◆Macintosh PC用OSには対応していません。
- ◆バンド計測・分子量推定などの解析は、バックグラウンドよりも高い輝度のバンド等を計測するためのものです。  
色素染色パターンなどは、吸光度変換を実行後解析を行います。