

# BD Cytometric Bead Array

## ソフトウェア ユーザーズガイド

Part No. : 341775 Rev. A  
2001年1月



輸入販売元

日本ベクトン・ディッキンソン株式会社  
東京都港区赤坂8-5-26 赤坂DSビル 〒107-0052

ホームページアドレス : <http://www.bdj.co.jp>

製造元

BD Biosciences

お問い合わせは下記までご連絡ください。

製品関連・資料請求 ☎ : 0120-8555-90  
(お客様情報センター)

機器・メンテナンス ☎ : 0120-7752-77  
(Life Science Support)

アプリケーション ☎ : 03-5805-9960  
(技術研修室ホットライン)

## BD Biosciences • 2350 Qume Drive • San Jose, California • 95131-1807

1999-2001 Becton Dickinson and Company著作権所有。本ユーザーズガイドは、形式または手段( 電子的、機械的、電磁的、光学的、科学的方法、または手書きなど )の如何を問わず、BD Biosciences( アメリカ合衆国、カリフォルニア州サンノゼ市、Qume Drive 2350 郵便番号95131 )の書面による事前の許可なく、そのいかなる部分も複写、転送、検索可能なシステムへの保存、または他言語への翻訳、コンピュータ言語への翻訳を行うことを禁ずる。

BD Cytometric Bead Array software © 1999-2001 Becton Dickinson and Company.

本ソフトウェアの所有権を有するのは、Becton Dickinson and Companyです。本ソフトウェアの保存ユニットの販売1件について、購入者1人にライセンスが与えられますが、これは移転不能で非独占的なものです。本ソフトウェアについては、法律によって認められる以外、形式と手段を問わず複写や複製を禁じます。

BD Biosciencesは、最新の技術開発を取り入れるために随時製品やサービスを変更する権利を有します。本書は通告なしに変更される場合があります。本書に関する訂正やご意見がございましたらお知らせください。今後の参考といたします。

本書は正確を記するために細心の注意を持って作成されていますが、誤記などにより生じ得る、または本書の情報を適用、使用することによって生じ得る、いかなる損傷についてもBD Biosciencesは一切責任を負いません。

CELLQuest、FACSCComp、FACSCConvert、FACSCCount、FACStationはBecton Dickinson and Companyの登録商標です。

MacintoshとMacはアップルコンピュータ社の登録商標です。

PowerPCはInternational Business Machines Corporationの登録商標です。

MicrosoftおよびWindowsは、マイクロソフト社の登録商標です。

本ソフトウェアは研究目的専用です。診断用ではありません。

## History

Revision	Date	Change made
11-11031-00	12/99	Initial release
341775 Rev A	01/01	Added installation instructions for all users and application-specific information for Excel 2000 ( PC ) and 2001 ( Mac )

# 目次

本ガイドについて	v
表記のきまり	v
テクニカルサポート	vi
<b>第1章: はじめに</b>	<b>7</b>
BD Cytometric Bead Array	8
定量分析	8
定性分析	9
システムに必要なもの	10
ハードウェア	10
ソフトウェア	10
インストール	10
Solver Add-Inのインストール	11
BD CBA ソフトウェアのインストール	12
Add-Inの立ち上げ	13
割り当てメモリーの増加	14
BD CBAソフトウェアの使用	15
<b>第2章: 定量分析</b>	<b>17</b>
BD CBA ソフトウェアの立ち上げ	18
分析の開始	20
キャリブレーションの設定	22
キャリブレーション情報入力	22
キャリブレーション ファイルの確認	25
成分ラベルの入力と濃度値の入力	28
Enter Concentration Values ダイアログボックスの使用	29
RawData ワークシートの使用	32

キャリアレーション カーブの計算 .....	33
MFIの計算 .....	33
スタンダードカーブの作成 .....	35
キャリアレーション チャート .....	36
サンプルファイルの分析 .....	40
定量結果のレポート .....	42
印刷オプションの設定 .....	42
レポートの保存 .....	45
<b>第3章: 定性分析</b> .....	<b>49</b>
BD CBA ソフトウェアの立ち上げ .....	50
ファイルの分析 .....	51
Display Optionの変更 .....	55
定性結果のレポート .....	56
印刷オプションの設定 .....	56
結果の保存 .....	59
<b>第4章: トラブルシューティング</b> .....	<b>61</b>
インストールおよび始動エラー .....	62
ソフトウェアの一般的問題 .....	63
Microsoft Excel 98 に特有のエラー .....	65
ゲーティングの問題 .....	67
曲線適合上の問題 .....	71
曲線の再適合 .....	72
<b>索引</b> .....	<b>75</b>

# 本ガイドについて

---

本ユーザーズガイドは、BD Cytometric Bead Array( BD CBA )分析用ソフトウェアのインストール方法と使用方法について解説します。ビーズおよびデータ取り込み方法に関しては、適切なデータシートを参照してください。

本ソフトウェアを初めてお使いになるユーザーは、第1章を読み、ソフトウェアの機能、およびソフトウェアのインストールと立ち上げの方法についての情報を得てください。日常のご利用になっているユーザー向けの解説は、第2章および第3章に記載しています。トラブルシューティングに関しては、第4章をご覧ください。

## 表記のきまり

---

下表に、本ユーザーズガイドを通して使用される表記のきまりを示します。

表1 注意アイコン

アイコン	注意の種類	内容
	留意	重要な機能あるいは指示の説明
	注意	データが消失したり、アプリケーション、システムまたは機器が損傷する可能性 があることへの注意
	警告	人身事故の可能性のあることを警告

**留意** 本書中のスクリーン表示画面は、Macintoshコンピュータ上でMicrosoft® Excel 98を使ってBD CBAソフトウェア・バージョン1.1を実行しているものです。スクリーンの表示が、BD CBAソフトウェアやExcelの他のバージョンと異なる場合がありますが、機能的には同じです。

## テクニカルサポート

---

技術的疑問が生じたとき、または問題解決上の技術的アドバイスが必要なときには：

現在行なっている操作に関して、ユーザーズガイドの該当する項を再読してください。

4章のトラブルシューティングを参照してください。

問題解決が不可能な場合には、BDバイオサイエンス アプリケーション ホットラインにお問い合わせください。

アプリケーション ホットラインにお問い合わせの際には、次の情報をお手元にご用意ください。

ソフトウェアのバージョンナンバー

すべてのエラーメッセージの内容

ソフトウェアの詳細な最近の動作状態

最新の連絡先情報については、弊社のウェブサイト：[www.bdbiosciences.com](http://www.bdbiosciences.com)を参照してください。

技術研修室ホットライン：03-5805-9960、Fax番号：03-5805-9955、

E-mailアドレス：[tech\\_cell@bdj.co.jp](mailto:tech_cell@bdj.co.jp)にご連絡ください。

受付時間：9:00AM - 5:00PM(月-金曜日、ただし祝祭日を除きます。)

# 1

## はじめに

---

### 概要

BD CBA ソフトウェアのインストール

BD CBA ソフトウェアの立上げ

テクニカルサポート

## BD Cytometric Bead Array

---

BD CBA システムは、Multiplex Assayを行うための使いやすいプラットフォームを提供するために作成されました。本システムは、試薬、ハードウェア、およびソフトウェアによって構成されています。

Multiplex Assayとは、1つのサンプル中の複数の成分の測定を、ビーズを使用したフローサイトメトリーによる免疫測定法で行うものです。ビーズには、様々なサイズがあり、また様々なレベルの蛍光色素が標識されています。これらのビーズと結合した分析対象成分の検出をフローサイトメトリーを使って行います。サンプルは、CellQuest™ のような汎用フローサイトメトリー ソフトウェアを使って取り込まれます。

データファイルは、BD CBAキャリブレーションおよび分析ソフトウェアを使って分析されます。これらは、Microsoft® Excel Visual Basic for Applications( VBA )プログラム言語によって書かれています。Excel 5、Excel 98およびExcel 2001( Mac® )またはExcel 2000( Windows® )では、Add-insおよびHelp textの取り扱いが異なりますので、BD CBAアプリケーション ソフトは、Excelの各バージョン用にそれぞれ2種類存在します。

BD CBAアプリケーション ソフトは、Excelワークブック形式になっており、ワークシート、ダイアログシート、ワークブック専用コード、およびBD CBA Add-insファイル( コンパイルされたVBAコードを含みます )によって構成されています。

選択した分析法により、BD CBAアプリケーション ソフトは、定量分析または定性分析を行います。定量分析では8ビーズ以下のアッセイで成分濃度を推定するものです。定性分析では、マウスのアイソタイプング アッセイにおいて、ユーザー定義のカットオフ値に基づき陽性が陰性かを判断します。

### 定量分析

定量分析は、キャリブレーション ファイルの既知の濃度を基準にしてサンプル ファイルの成分濃度を定量分析するために使用するものです。BD CBAソフトウェアを使用すれば、最大8ビーズまでの定量分析が可能です。最大5重測定、また最大20キャリブレーションレベル( 濃度 )の分析が可能です。ただしキャリブレーションの多重測定回数はすべての濃度で同じでなければなりません。

定量分析を行うには、各成分ごとに、元の濃度からの段階希釈により調製された既知濃度の標準液のデータを取り込まねばなりません。( 例えばCellQuestで )

BD CBAソフトウェアは、FCSファイルの結果を読み取り、前方散乱光および側方散乱光( FSCおよびSSC )の集団をゲートし、次にFL3ヒストグラムを描きます。FL3ヒストグラムではピークが確認されます。それぞれの分析対象成分とピーズの複合体に対するピークが1つあることになります。ピークには、その蛍光強度の中央値、または平均値( MFI )が割り当てられます。

BD CBAソフトウェアは、データのLog変換を行い、次に4-Parameter LogisticモデルまたはLog-Logモデルを使って、曲線を各点に合わせます。ユーザーは、どちらのモデルを使うかを選択できます。キャリブレーション曲線から、サンプルファイルの推定される濃度を算出します。

## 定性分析

定性分析は、サンプル中のマウスのイムノグロブリン サブクラスの特異型を決定するために使用します。データは、CellQuest ソフトウェアを使って取り込まれます。Experimentドキュメントも供給されます。FCSデータファイルは、BD CBAソフトウェアにより分析され、FL1( lambda )とFL2( kappa ) MFI値と、定性結果( 陽性または陰性 )をレポートします。

陽性または陰性の結果は、テスト サンプルがカットオフ値の上か下かを決定することによってレポートされます。カットオフ値は、ブランク ピーズのMFIに、ユーザーが指定した陰性threshold値( 初期設定値は3 )とを掛けた値です。BD CBAソフトウェアを使えば、7ピーズの定性分析が可能です。

## システムに必要なもの

---

### ハードウェア

PowerMacintosh™、G3またはG4コンピュータまたは、Windows 98かWindows NT 4.0が動作しているPC

64 MB以上の RAM

2.5MB以上のハードディスクの空きスペース

16インチ以上のモニター

### ソフトウェア

Mac OS Version 7.6.1、8.1、8.6、9、Windows 98またはWindows NT( 32ビット )バージョン 4.0

Solver Add-In付属Microsoft Excel: Macintosh用Excel 98、またはExcel 2001、またはWindows用Excel 2000

**△ 注意** Solver Add-InをMicrosoft ExcelインストールCDまたはディスクから必ずカスタムインストールしてください。Solver Add-Inは、標準インストールした場合はインストールされません。詳細については、Excelユーザーズガイドを参照してください。

BD FACSCComp™ ソフトウェア

## インストール

---

インストールを開始する前に、次のものを用意してください。

Microsoft Officeインストール用CDまたはディスク

FACStation™ CD

ソフトウェア登録番号( ユーザーズガイドの製品登録カードに記載されています。)

## Solver Add-Inのインストール

BD CBAソフトウェアを使用するには、Solver Add-inの入ったMicrosoft Excelの完全バージョンが必要です。これらのファイルは、Microsoft Excelインストール用CDまたはディスクからインストールできます。

- 1 Microsoft Office CDをCD-ROMドライブに挿入します。
- 2 Excel Add-inをインストールする場所を決めます。

インストーラの種類はお使いのExcelのバージョンにより異なります。例えばExcel 98では、バリューパックインストーラを用いてオプションを追加してください(図1-1)。

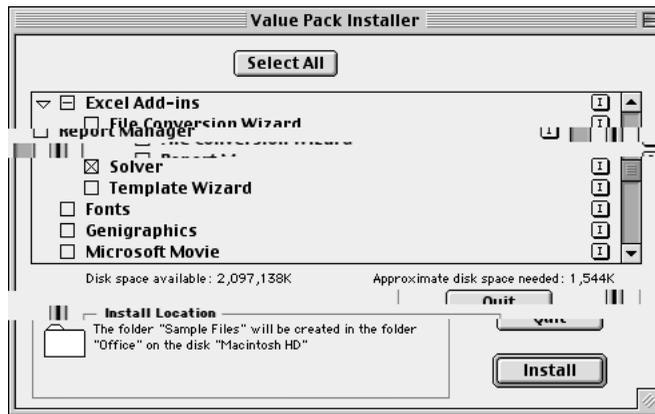


図1-1 バリューパックインストーラ(Excel 98)からSolver Add-inをインストール

- 3 Solver Add-inを選択し、インストールします。

Add-inを該当する場所にインストールします。

Excel 98 - Microsoft Office 98: Office: Excel Add-ins

Excel 2001 - Microsoft Office 2001: Office: Add-ins

Excel 2000 (Windows) - Microsoft Office: Office: Library

## BD CBAソフトウェアのインストール

**△ 注意** BD CBAインストーラが、いくつかのファイルをコンピュータにインストールします。ファイル名を変えないでください。アプリケーションが機能しなくなります。

- 1 FACStation CDをCD-ROMドライブに挿入します。
- 2 BD CBAインストーラのアイコンをダブルクリックします。
- 3 スクリーン上の指示に従ってください。
- 4 プロンプトが出たら、製品登録カードのパスワードを入力します。

BD CBAインストーラにより、BDアプリケーションフォルダおよびMicrosoft Officeフォルダに適切なファイルが追加されます( 図1-2 )。

**△ 注意** ソフトウェアを実行するためには、BDアプリケーションフォルダおよびMicrosoft Officeフォルダが、ハードディスクの同じディスクパーティションになければなりません。

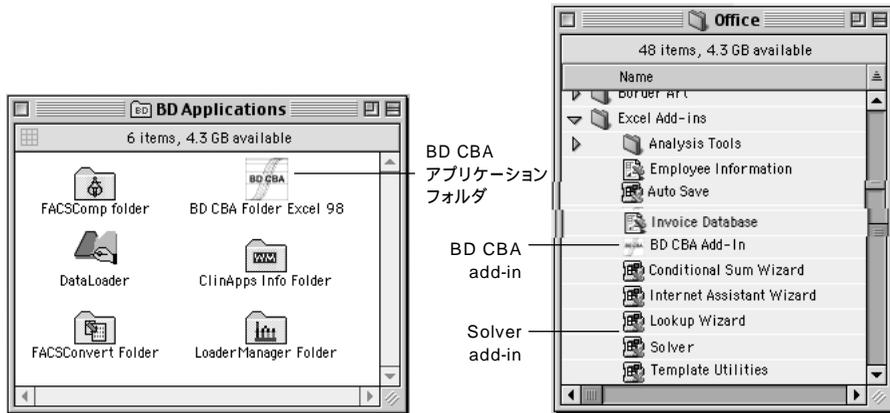


図 1-2 BDアプリケーションフォルダおよびOfficeフォルダ内容

## Add-Inの立ち上げ

BD CBAソフトウェアをご使用になる前に、今インストールしたAdd-inを立ち上げる必要があります。

- 1 Microsoft Excelを立ち上げます。
- 2 ツールメニューからAdd-Insを選択します。  
利用可能なAdd-Insが一覧表示されます。
- 3 BD CBA Add-Inを選択します。

留意 Solver Add-inがインストールされると、Solverはツールメニューの下に表示されます。

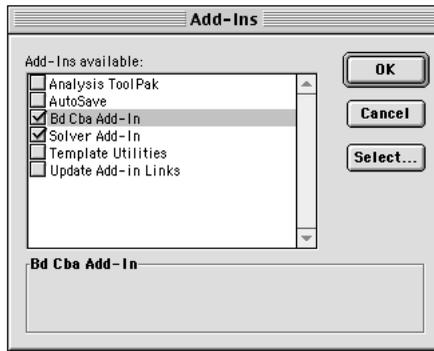


図 1-3 Add-Inの立ち上げ(Excel 5)

- 4 OKをクリックします。

## 割り当てメモリーの増加

インストールが完了したら、少なくとも12MBのRAM容量をMicrosoft Excel アプリケーションに割り当てます。

留意 PCを使用中であれば、これは必要ありません。

- 1 必要に応じてMicrosoft Excelを終了します。

Microsoft Excelが開いている間は、終了できません。

- 2 Microsoft Excelアプリケーション アイコンを選択します。
- 3 ファイルメニューから“ 情報を見る ”を選択(  $\mathcal{Z}$  -I )します。

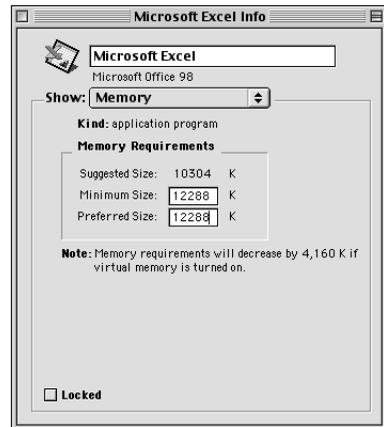
“ 情報を見る ”ウィンドウが現われます。

- 4 最小サイズおよび使用サイズをそれぞれ12288Kに変更します。

MacOS 7.6.1および8.1の場合、最小サイズおよび使用サイズフィールドは “情報を見る” ボックスの右下部のメモリー必要条件のところにあります。

MacOS 8.6および9の場合、表示からメモリーを選択して、メモリー必要条件のところの最小サイズおよび使用サイズフィールドの数字を増やします。

- 5 “ 情報を見る ”ダイアログボックスを閉じます。



## BD CBAソフトウェアの使用

---

BD CBAアプリケーションフォルダには、定量分析および定性分析のためのワークブックが入っています。

BD CBA 4 Bead Analysisワークブック、BD CBA 6 Bead Analysisワークブック、およびBD CBA 8 Bead Analysisワークブックを定量分析用に使用します。

定量分析については、第2章で述べています。

BD CBA Isotype Analysisワークブックを定性分析用に使用します。

定性分析については、第3章で述べています。



BD CBA 4Bead Analysis



BD CBA 6Bead Analysis



BD CBA 8Bead Analysis



BD CBA Isotype Analysis



# 2

## 定量分析

---

キャリブレーションの設定

濃度の入力

MFIおよびキャリブレーション カーブの計算

チャートを使つての作業

サンプル ファイルの分析

レポートの印刷と保存

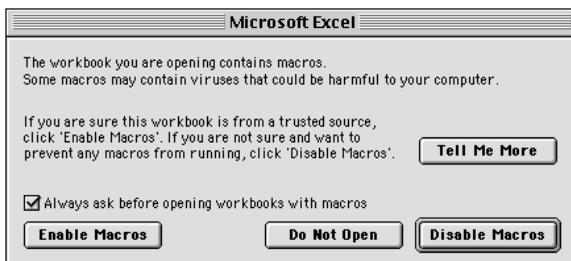
## BD CBA ソフトウェアの立上げ

BD CBA 4 Bead Analysisワークブック、BD CBA 6 Bead Analysisワークブック、およびBD CBA 8 Bead Analysisワークブックを、定量分析用に使用します。

ビーズ数	使用するワークブック	アイコン
1-4	BD CBA 4Bead Analysis	 BD CBA 4Bead Analysis
5または6	BD CBA 6Bead Analysis	 BD CBA 6Bead Analysis
7または8	BD CBA 8Bead Analysis	 BD CBA 8Bead Analysis

- 1 Microsoft Excel Workbookアイコンをダブルクリックします。

Microsoft Excelソフトウェアが起動します。ダイアログボックスが現われ、ドキュメントにマクロが含まれていることを知らせます。



- 2 ダイアログボックスが現われたら、“マクロを有効にする”ボタンをクリックします。

BD CBAソフトウェアが起動し、選択したワークブックのホームスクリーンが現われます。(19ページの図2-1)

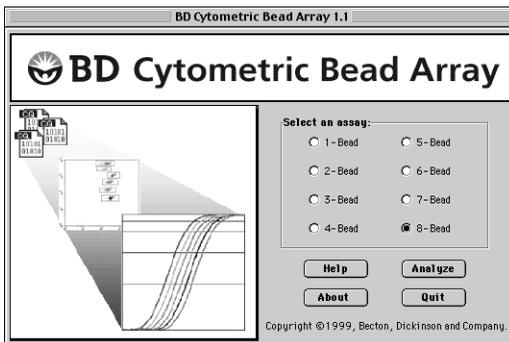
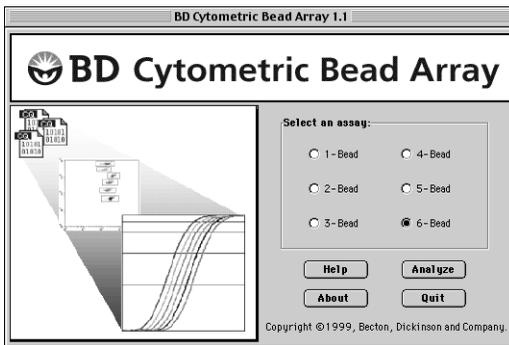
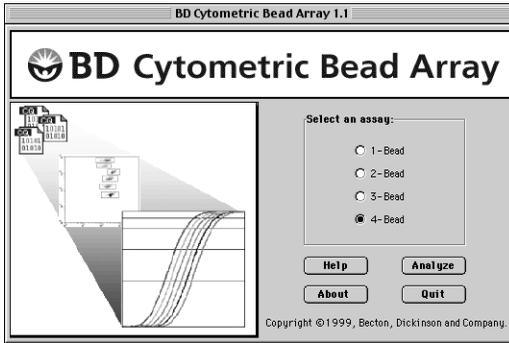


図2-1 4 Beads、6 Beads、8 Beads Analysisホームスクリーン

## 分析の開始

- 1 BD CBAホームスクリーンで、適切なビーズ数を選択します。
- 2 Analyzeをクリックします。

Quantitativeツールバーおよび空白のRawDataワークシートが現われます(図2-2)。

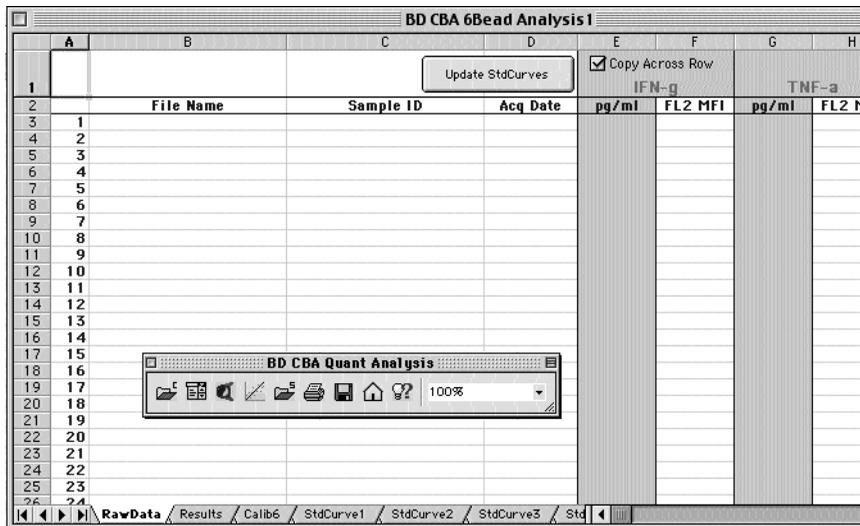


図2-2 QuantitativeツールバーおよびRawDataワークシート

留意 Microsoft Excelソフトウェアでは、アクティブ ワークシートの名前がウィンドウ下部にタブとして表示されます。

ツールバーポジションは自由に移動することができます。ワークシートの上方にあるツールバー領域にドラッグし移動することができます。21ページの図2-3および表2-1はツールバーにあるボタンの機能説明です。

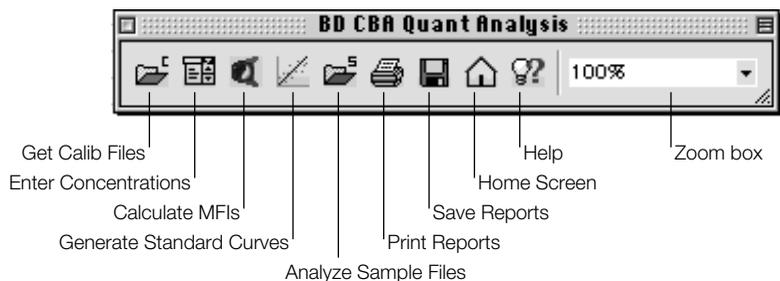


図2-3 BD CBA Quant Analysis ツールバー

表2-1 Quantitative ツールバーボタン

	Get Calib Files - Calibration Setup ダイアログを表示します。続いてユーザーがキャリブレーションファイルを確認し、ファイル名をワークブックにコピーするように促します。
	Enter Concentrations - 濃度値および成分ラベルを入力するダイアログボックスを表示します。
	Calculate MFIs - 全ファイルの各成分の平均蛍光強度 (MFI) を自動的に計算します。
	Generate Standard Curves - ユーザーに曲線適合モデルを選択するように促し、スタンダードカーブを作成します。
	Analyze Sample Files - ユーザーにサンプル ファイルを確認させ、MFIs および濃度を計算します。
	Print Reports - 印刷するレポートを選択するダイアログボックスを表示します。
	Save Reports - 保存するレポートを選択するダイアログボックスを表示します。

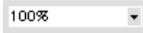
表2-1 Quantitative ツールバーボタン( 続き )



Home Screen - ホームスクリーンに戻ります。



Help - 定量分析のためのオンラインヘルプを表示します。



Zoom Box - ワークシートを選択した大きさまで拡大または縮小します。

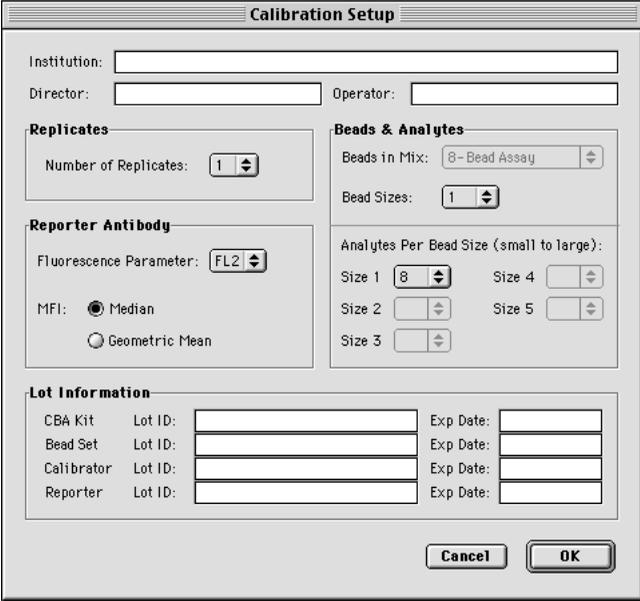
## キャリブレーションの設定

---

### キャリブレーション情報入力

- 1 QuantitativeツールバーのGet Calib Filesボタン(  )をクリックします。

Calibration Setupダイアログボックスが現われます。



The Calibration Setup dialog box contains the following fields and controls:

- Institution:** Text input field.
- Director:** Text input field.
- Operator:** Text input field.
- Replicates:** Number of Replicates: 1 (spin button).
- Reporter Antibody:** Fluorescence Parameter: FL2 (spin button). MFI:  Median,  Geometric Mean.
- Beads & Analytes:** Beads in Mix: 8-Bead Assay (spin button). Bead Sizes: 1 (spin button). Analytes Per Bead Size (small to large): Size 1: 8 (spin button), Size 2: (spin button), Size 3: (spin button), Size 4: (spin button), Size 5: (spin button).
- Lot Information:** CBA Kit, Bead Set, Calibrator, Reporter. Each has Lot ID and Exp Date input fields.
- Buttons:** Cancel, OK.

2 次の項に述べている情報を使って必要な情報を入力します。

#### ユーザー情報

Institution 施設名

Director 施設の責任者名

Operator フローサイトメトリーのオペレータ名

#### 多重測定の数およびレポーター抗体

Number of Replicates - スタンダードカーブを作成するための多重測定の数。最大5回まで設定できます。各キャリブレーションレベル(濃度)はこの数と同じ回数だけ測定されていなければなりません。

Fluorescence Parameter - 検出抗体に標識された蛍光を検出するパラメータ。MFIはこの蛍光パラメータを使って計算されます。FL1またはFL2を選択します。

MFI - MFIを計算するために使用する手法。分析に最も適切な方法を選択します。詳細については、CellQuestユーザーズガイドを参照してください。

#### ビーズおよび分析成分

Beads in Mix - 混合物中の分析対象成分の種類数。この数値はホーム スクリーンで選択されたアッセイと一致します。すなわち、予め設定されており編集することはできません。

Beads Sizes - ビーズサイズの数。この数と同数のAnalytes Per Bead Size ポップアップメニューがアクティブになっています。

留意 BD Biosciences からリリースされる初期の製品は、1つのビーズサイズで作られています。今後の製品は、複数のビーズサイズで作られる可能性があります。

Analytes per Bead Size - 各ビーズサイズにおける分析対象成分の数。Size 1は最も小さいビーズを表し、Size 5は最も大きいビーズを表します。選択したアッセイにより、5つのビーズサイズを使って、合計8成分の分析が可能です。

例えば、3つのビーズサイズを使って4ビーズアッセイをすれば、以下のようなAnalytes Per Bead Size構成が可能です。

Example 1	Example 2	Example 3
Size 1:2	Size 1:1	Size 1:1
Size 2:2	Size 2:2	Size 2:1
Size 3:1	Size 3:1	Size 3:2

4つのビーズサイズを使って6ビーズアッセイをすれば、以下のようなAnalytes Per Bead Size構成が可能です。

留意 全ての構成が示されているわけではありません。

Example 1	Example 2	Example 3	Example 4
Size 1:1	Size 1:1	Size 1:2	Size 1:2
Size 2:1	Size 2:2	Size 2:1	Size 2:2
Size 3:2	Size 3:2	Size 3:1	Size 3:1
Size 4:2	Size 4:1	Size 4:2	Size 4:1

## ロット情報

ロットIDおよび有効期限日付については、試薬ラベルまたはキットボックスを参照してください。

留意 ワークブックをテンプレートとして保存しなければ、ワークブックを使用するたびに、これらの値を入力する必要があります(47ページ参照)。

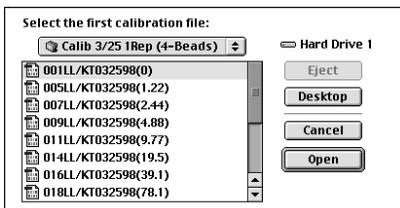
## キャリブレーションファイルの確認

BD CBA ソフトウェア を実行するたびに、Raw Dataワークシートは空白になっています。分析を始めるには、一組のキャリブレーションファイルの場所を指定しなければなりません。ファイルはRawDataワークシートに名前の順に記載されます。BD CBA ソフトウェアは、MFIを計算するとき、ファイルを英数字順に並べ替えます。

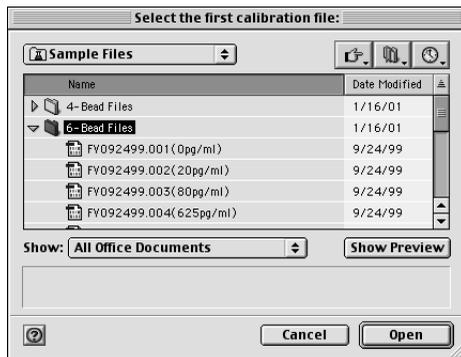
留意 濃度値が常に最低濃度から最高濃度の順に並べ替えられるようにファイルに名前を付けてください。データシートに記載されているネーミング法に従ってください。またはファイルを整理するために各ファイルの頭に数字を付け加えてください。番号は1、10、2、3、...、8、9または01、02、03、...、09、10のような順で並べ替えられます。図2-4では、各ファイル名の頭に数字が付いているため、確実に最低濃度から最高濃度の順になっています。

- 1 Calibration SetupダイアログボックスのOKをクリックします。

ダイアログボックスが現れます( 図2-4および26ページの図2-5 )



( Mac OS 8.5.1 )



( Mac OS 9.0 )

図2-4 ファイル表示順序の例( Mac )

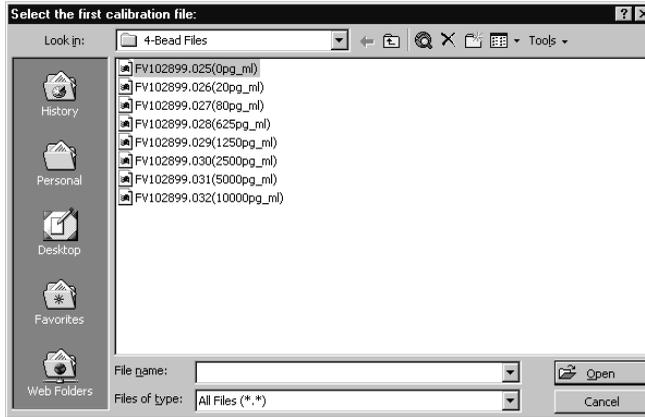


図2-5 ファイル表示順序の例( Windows )

## 2 キャリブレーションファイルが入ったフォルダの場所を探します。

フォルダ内のすべてのファイルを分析します。フォルダ内には次のものが入ってなければなりません。

### ゼロキャリブレーター

Flow Cytometry Standard( FCS )バージョン2.0キャリブレーションファイルのみ

各ファイル名に少なくともアルファベット1文字が入っている名前のファイル

繰り返し測定されていれば、その全てのファイル

留意 BD CBA v1.1をExcel 2001( Macintosh )で使用する場合、ディスクロージャートライアングルを使ってフォルダを開くのではなく、フォルダアイコンをダブルクリックしてフォルダを開いてください。そうしないと、適切なファイルがRawDataワークシートにコピーされません。

留意 Macintoshでファイル进行分析する場合、FACSCConvert™ソフトウェアを用いて、FACSCCount™装置または他社製フローサイトメーターによって作成されたデータファイルを、Macintosh互換のFCS 2.0データファイルに変換してください。

3 最初のキャリブレーションファイルを選択し、Open をクリックします。

BD CBAソフトウェアが、選択したフォルダ内のファイル名すべてを、ワークブック内のRawDataワークシートにコピーします。

ファイル名および一般的な成分ラベルの付いたRawDataワークシートが現れます(図2-6)。

留意 新たにキャリブレーションファイルが入力されると、以前のサンプル計算結果は、消去されます。

留意 ファイル名は、ワークシートにコピーされた後は名前の変更ができません。

1	A	B	C	D	E	F	G
2							
3		File Name	Sample ID	Acq Date	pg/ml	FL2 MFI	TNF-
3	1	FY092499.001(0pg/ml)					
4	2	FY092499.002(20pg/ml)					
5	3	FY092499.003(80pg/ml)					
6	4	FY092499.004(625pg/ml)					
7	5	FY092499.005(1250pg/ml)					
8	6	FY092499.006(2500pg/ml)					
9	7	FY092499.007(5000pg/ml)					
10	8	FY092499.008(10000pg/ml)					
11	9	FY092499.009(0pg/ml)					
12	10	FY092499.010(20pg/ml)					
13	11	FY092499.011(80pg/ml)					
14	12	FY092499.012(625pg/ml)					
15	13	FY092499.013(1250pg/ml)					
16	14	FY092499.014(2500pg/ml)					
17	15	FY092499.015(5000pg/ml)					
18	16	FY092499.016(10000pg/ml)					
19	17						
20	18						
21	19						
22	20						
23	21						
24	22						
25	23						
26	24						
27	25						
28	26						
29	27						
30	28						
31	29						
32	30						

図2-6 濃度値およびMFI値のないRawDataワークシートの例

## 成分ラベルの入力と濃度の入力

---

### データ入力

アッセイは、最大20キャリブレーションレベル(濃度値)および8種類の分析成分用に、最高それぞれ5重測定が可能です。次の2つの入力方法のうち、どちらの方法でも入力できます。

Enter Concentration Valuesダイアログボックスを使用します(29ページ参照)

RawDataワークシートを直接使用します(32ページ参照)

### ゼロ キャリブレーター

本ソフトウェアは、ゼロ キャリブレーターのファイルが曲線近似ワークシートに組み込まれるという仮定のもとで動作します。ゼロ キャリブレーターが無かった場合、最低の濃度値のサンプルがゼロ キャリブレーターに置き換わり、ユーザーの予想に反した結果を生じる可能性があります。

**△ 注意** ゼロ キャリブレーターが存在しない場合、Log-Logモデルにおいて回帰線の計算から最低濃度値のサンプルが除外されてしまいます。

### 濃度の予測範囲

表示の都合上、全Logistic曲線は、入力したデータの範囲にかかわらず、全濃度範囲(0-10000)におよびます。しかし、予測される濃度は、キャリブレーターの強度の範囲内、またはキャリブレーター濃度の計算された蛍光強度の範囲内のサンプルの蛍光強度からしか得られません。これは以下のように数学的に表現されます：

$$\text{Min}(FL_{\text{zero calibrator}}, \text{fitted } FL_0) < FL_{\text{sample}} < \text{Min}(FL_{\text{highest calibrator}}, \text{fitted } FL_{\text{highest calibrator}})$$

fitted FL = 所定の濃度において計算された曲線の高さ

したがって、logisticモデルは準拠しているデータ範囲を越えたデータには、適用されません。

## Enter Concentration Values ダイアログボックスの使用

- 1 QuantitativeツールバーのEnter Concentrationボタン(  )をクリックします。

Enter Concentration Valuesダイアログボックスが現れます( 図2-7 )。

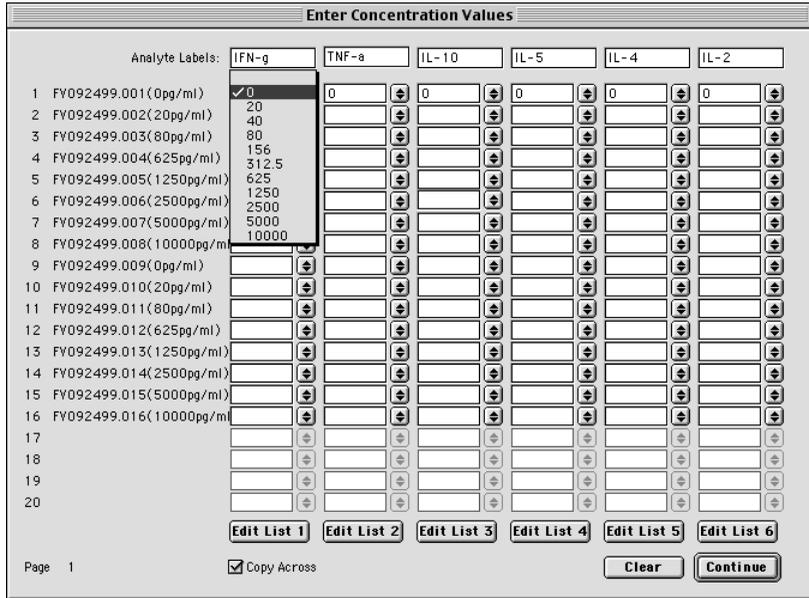


図2-7 Enter Concentration Values ダイアログボックス

特定の分析対象成分ラベルを入力し、各成分の濃度範囲を定義することができます。各キャリブレーションファイル用に入力された数値は、ワークブック内の全ワークシートにコピーされます。

Copy Across - チェックを入れると、第一列に選択または入力した数値が、その行のすべての列にコピーされます。

Clear - 分析対象成分ラベルを含むダイアログボックス内の全ての欄が消去されます。

Edit List - 各成分の濃度値を編集できるダイアログボックスが表示されます(30ページの分析物濃度の編集の項をご参照ください)。

- 2 一列目に分析対象成分ラベルを入力します。

分析対象成分ラベルはビーズ蛍光の暗いものから明るいものの順に並べてください。

- 3 プルダウン メニューから、濃度値を選択します。

フィールドに濃度値を直接入力することもできます。

- 4 Continue をクリックします。

キャリブレーションファイルが20個以上ある場合は、Enter Concentration Values ダイアログボックスには、まず20個のファイルが1グループとして表示されます。Continue をクリックすると、次のグループのファイルが表示されます。

たとえば、繰り返し測定数が5で、5段階のキャリブレーションレベルがある場合、ファイル数は25となります。最初に現われるEnter Concentration Values ダイアログボックスに、最初の20ファイルが表示されます。

Enter Concentration Valueダイアログボックスの最後の画面で、Continueをクリックすると、ボックスが閉じ、濃度値はRawDataワークシートにコピーされます。

#### 成分濃度の編集

各成分のプルダウンメニューに現われる濃度範囲を変更することができます。各ファイルの濃度値を選択する前に、これらのリストを編集した方が良いでしょう。

- 1 Enter Concentration Values ダイアログボックスの中で、編集したい分析対象成分の下方にあるEdit Listボタンをクリックします。

Edit Listダイアログボックスが現われます(31ページの図2-8)。

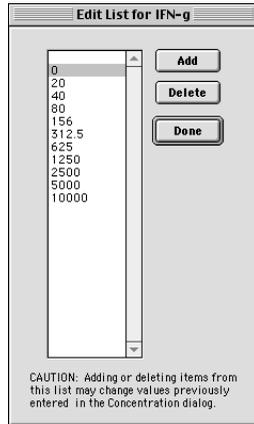
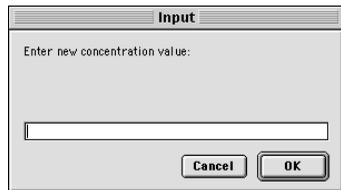


図2-8 Edit List ダイアログボックス

- 2 数値を入力するために、Add をクリックします。



- 3 新たな数値を入力し、OKをクリックします。
- 4 手順2および手順3を繰り返し、希望する数値全てを追加します。
- 5 数値を削除するには、その数値を選択し、Deleteをクリックした後、OKをクリックします。

**⚠ 注意** 空白数値を削除しないでください。空白数値はBD CBAソフトウェアによって使用されます。

- 6 手順5を繰り返し、希望する数値全てを削除します。

- Done をクリックします。

Edit Listダイアログボックスが閉じ、Enter Concentration Valuesダイアログボックスに戻ります(29ページの図2-7)。

## RawDataワークシートの使用

情報を入力できるのは、ワークシートの灰色の背景の列だけです。

- 必要に応じて、第一行の成分ラベルを変更します。

BD CBA 6Bead Analysis2							
	A	B	C	D	E	F	G
1				Update StdCurves	<input checked="" type="checkbox"/> Copy Across Row		
2		<b>File Name</b>	<b>Sample ID</b>	<b>Acq Date</b>	<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	<b>FL2 MFI</b>	<b>TNF-<math>\alpha</math></b>
3	1	FV092499.001(0pg/ml)			pg/ml		
4	2	FV092499.002(20pg/ml)					
5	3	FV092499.003(80pg/ml)					
6	4	FV092499.004(625pg/ml)					
7	5	FV092499.005(1250pg/ml)					
8	6	FV092499.006(2500pg/ml)					
9	7	FV092499.007(5000pg/ml)					
10	8	FV092499.008(10000pg/ml)					
11	9	FV092499.009(0pg/ml)					

ワークシートに一般的な分析対象成分名( IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 等)が一覧表示されます。成分名を変更する場合、灰色のセルをどれかクリックします。特定の成分名を、最も蛍光強度が弱いビーズから最も強いビーズの順に入力します(20文字以内で)。

- 必要に応じて、新たな濃度単位を第二行に入力します。

留意 初期設定単位はpg/mLです。

新しい単位の標識が、すべての適切な箇所でも自動的に更新されます。

- 濃度を入力します。

Copy Across Rawチェックボックスを選択すると、E列に入力した数値が各行にコピーされるので、入力が速く行なえます。

Update StdCurvesを選択し、濃度値の変更をCalibワークシートおよびStdCurvesワークシートにコピーします。このボタンは入力誤りを修正するときのみ使用します。

濃度を間違えて入力してMFIが計算された場合には、RawDataワークシートに戻り、このボタンをクリックします。ソフトウェアは、MFIを再計算することなく自動的に曲線を更新します。

## キャリブレーション カーブの計算

---

キャリブレーション カーブの計算は3段階で行われます。

Median または Mean Fluorescence Intensity (MFI) が計算されます。

ユーザーが選択したモデルを基準にして、曲線が計算されます。

曲線がキャリブレーションチャート上に描かれます。

留意 先に進む前に、濃度値を入力済みであることを確認してください。

### MFIの計算

- 1 QuantitativeツールバーのCalculate MFIs ボタン(  )をクリックします。

この処理には数分かかるという注意が表示されます。

- 2 OKをクリックします。

各ファイルのMFIが計算されます。エラーが生じた場合、ワークシート上に通知され、リストにある次のファイルの計算が続行されます。

MFIを計算するために、BD CBAソフトウェアは次のことを行います。

ファイルを濃度順に並べ替えます。

FSCとSSCで、各ビーズサイズのビーズ集団をゲートします。

FL3で各分析対象成分のビーズ集団をゲートします。

レポーター(FL1またはFL2)のGeometric Mean またはMedianを計算します。

結果をスタンダードカーブレポートにコピーします。

処理が完了すると、ユーザーに通知する表示がでます。

3 OKをクリックしてファイルを先に進めます。

すべてのファイルの計算を終了した場合、Calib Xワークシートが現われます(Xは分析対象成分の数を示します。)(図2-9)

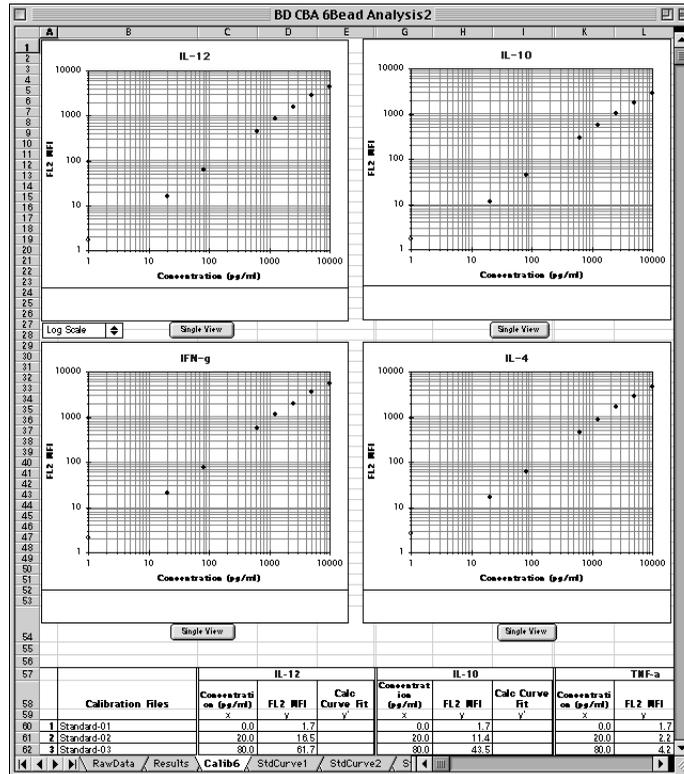
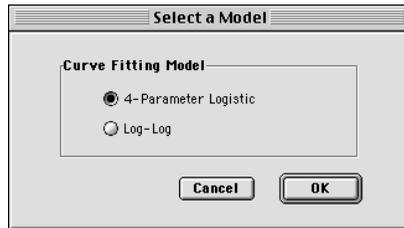


図2-9 適合するスタンダードカーブが計算される前のCalib6ワークシート

## スタンダードカーブの作成

- 1 QuantitativeツールバーのGenerate Standard Curvesボタン(  )をクリックします。

Select a Modelダイアログボックスが現われます。



- 2 4-Parameter Logistic またはLog-Logのどちらかを選択します。

4-Parameter Logisticsモデル - 最良の非線形曲線をデータポイントに合わせます。

Log-Logモデル - 最良直線を対数目盛上のデータポイントに合わせます。

- 3 OKをクリックします。

曲線が各分析対象成分ごとにプロットされます。スタンダードカーブ付のCalib Xワークシートが表示されます( 36ページの図2-10 )

## キャリブレーション チャート

Calib Xワークシートに、各分析物のチャートが、1つのグループとして見られるように表示されます。スクロールダウンして、ロット情報および他のパラメータを見ることができます。

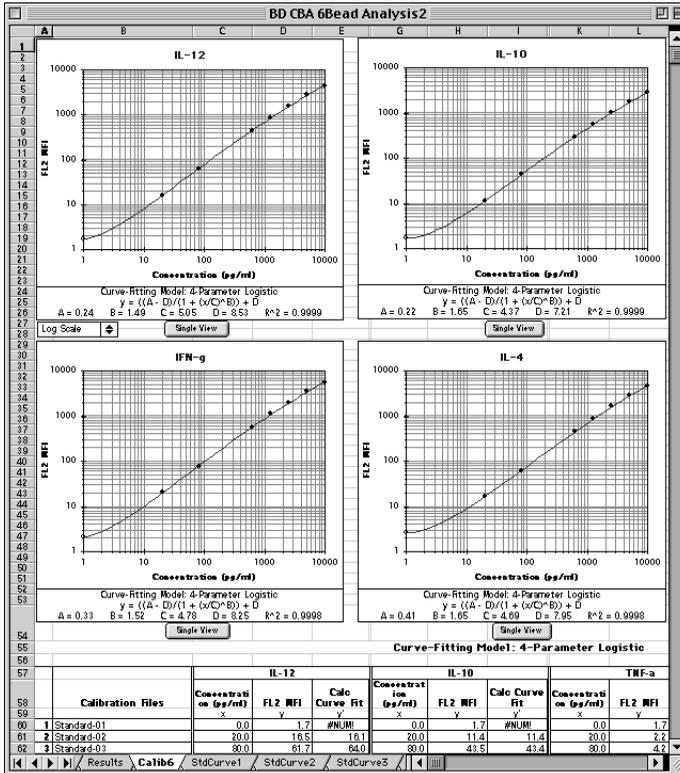


図2-10 適合するスタンダードカーブが計算された後のCalib6ワークシート

チャートを対数目盛、半対数目盛、または直線目盛で見ることができます。ポップアップメニューから希望する目盛法を選択します( 37 ページの図2-11 )

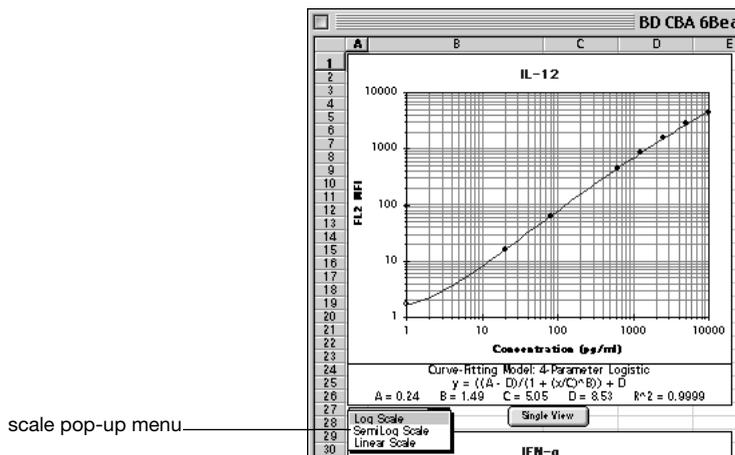


図2-11 Scaling Methodの選択

各グラフの方程式はグラフの下に表示されます。各モデルの方程式および使用される変数を表2-2に示します。

表2-2 曲線 近似方程式および変数定義

Model	Log-Log	4-Parameter Logistic
equation	$\log y = a \cdot \log x + b$	$y = \frac{a - d}{1 + (x/c)^b} + d$
Variables	<p>x = concentration</p> <p>y = MFI</p> <p>a = slope</p> <p>b = y-intercept</p>	<p>x = concentration</p> <p>y = MFI</p> <p>a = y-value at the asymptote at low values of x</p> <p>b = slope</p> <p>c = midpoint between a and d</p> <p>d = y-value at the asymptote at high values of x</p>

スクロールバーを使用して、各サンプルの計算値、つまり濃度、MFI、およびCalc Curve Fitを見ることができます。スクロールを続けると、Calibration Setup ウィンドウからの情報およびゲーティングパラメータを見ることができます。

Single Viewボタンをクリックするか、ワークシートの下部にある各StdCurveタブをクリックすれば、各チャートをより詳細に見ることができます( 図2-12 )

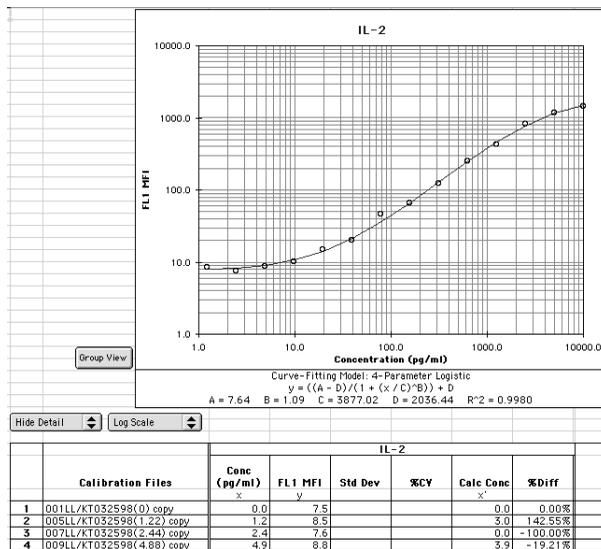


図2-12 4-Parameter Logistic モデルのStdCurveワークシート( Single View )

Single Viewには、計算された濃度( Calc Conc )および各キャリブレーション曲線における実測値からの差異率( %Diff )が表示されます。繰り返し測定をした場合は、標準偏差( Std Dev )および変動係数%( %CV )も表示されます。Show Detailポップアップメニューを使えば、サンプルに関する詳細を表示することも、隠すこともできます( 39ページの図2-13 )

34	Show Detail		Log Scale					
35								
36								
37	<b>Analyte4</b>							
38		<b>Calibration Files</b>	<b>Conc (pg/ml)</b>	<b>FL2 MFI</b>	<b>Std Dev</b>	<b>%CV</b>	<b>Calc Conc</b>	<b>%Diff</b>
39			x	y			x'	
40	1	Standard-01	0.0	3.2	0.0	0.6	23.4	2339.2%
41	1-1	001LL/KT032598(0)	0.0	3.2			27.3	
42	1-2	001LL/KT032598(0) copy	0.0	3.2			19.3	
46	2	Standard-02	1.2	3.2	0.0	1.2	28.7	2248.9%
47	2-1	005LL/KT032598(1.22) copy	1.2	3.3			36.0	
48	2-2	006LL/KT032598(1.22)	1.2	3.2			20.6	
52	3	Standard-03	2.4	3.1	0.1	2.1	0.0	-100.0%
53	3-1	007LL/KT032598(2.44) copy	2.4	3.1			0.0	
54	3-2	008LL/KT032598(2.44)	2.4	3.2			15.0	
58	4	Standard-04	4.9	3.2	0.0	1.2	17.4	257.6%
59	4-1	009LL/KT032598(4.88) copy	4.9	3.2			26.0	
60	4-2	010LL/KT032598(4.88)	4.9	3.2			7.3	
64	5	Standard-05	9.8	3.2	0.1	2.1	29.9	206.4%
65	5-1	011LL/KT032598(9.77) copy	9.8	3.2			15.6	
66	5-2	013LL/KT032598(9.77)	9.8	3.3			42.4	

図2-13 StdCurvex ワークシートの詳細

繰り返し測定の各点は、シングルチャート上(StdCurvexワークシート、図2-14)に表示されますが、グループチャート上(Calib Xワークシート、36ページの図2-10)には表示されません。

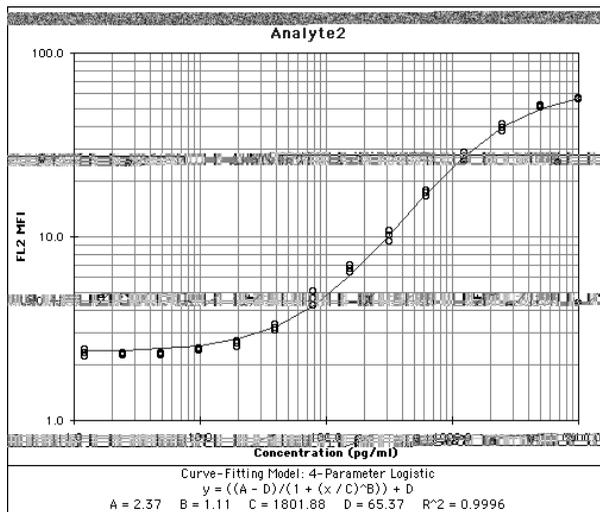


図2-14 繰り返し測定の結果を表示したStdCurvexワークシート(Singl View)

Show Detailを選択した場合、シングルチャート上には、繰り返し測定の各点およびその平均がプロットされます。グループチャート上にプロットされた数値は、繰り返し測定の平均です。

グループチャートを再度見るには、Group Viewボタンをクリックします。

## サンプルファイルの分析

---

キャリブレーション カーブを作成した後、サンプルファイルを分析します。新規のキャリブレーション ファイルを入力すると、既存のサンプル結果は消去されます。

留意 キャリブレーション カーブ適合手順を完了する前に結果の分析を行おうとすると、サンプル結果(濃度)は表示されません。

- 1 QuantitativeツールバーのAnalyze Sample Filesボタン(  )をクリックします。

この処理には数分必要ですという注意が現われます。

- 2 OKをクリックします。
- 3 サンプルファイルの中で最初のファイルを探して選択し、Openをクリックします。

BD CBA ソフトウェアが次のことを行います。

ファイル名をResultsワークシートにコピーします。

各ファイルを分析します。

各分析対象成分のMFIをレポートします。

チューブ濃度およびサンプル濃度を計算します。

処理が完了したという注意が表示されます。

- 4 OKをクリックします。

Resultsワークシート( 41ページの図2-15 )に各分析対象成分のMFI、Tube濃度、およびSample濃度、ならびに各サンプルの希釈係数が表示されます。

BD Cytometric Bead Array								
A	B	C	D	E	F	G	H	
1				<input checked="" type="checkbox"/> Copy Down	IL-2			
2		<b>Filename</b>	<b>SampleID</b>	<b>Acq Date</b>	<b>Dilut Factor</b>	<b>FL1 MFI</b>	<b>Tube pg/ml</b>	<b>Sample pg/ml</b>
3	1	001LL/KT032598(0) copy	Std Curve for Accu. Wash	25-Mar-98	1	7.5	0.0	0.0
4	2	005LL/KT032598(1.22) c	Std Curve for Accu. Wash	25-Mar-98	1	8.5	3.0	3.0
5	3	007LL/KT032598(2.44) c	Std Curve for Accu. Wash	25-Mar-98	1	7.6	0.0	0.0
6	4	009LL/KT032598(4.88) c	Std Curve for Accu. Wash	25-Mar-98	1	8.8	3.9	3.9
7	5	011LL/KT032598(9.77) c	Std Curve for Accu. Wash	25-Mar-98	1	10.2	8.5	8.5
8	6	014LL/KT032598(19.5) c	Std Curve for Accu. Wash	25-Mar-98	1	14.8	22.0	22.0
9	7	016LL/KT032598(39.1) c	Std Curve for Accu. Wash	25-Mar-98	1	20.1	36.5	36.5
10	8	018LL/KT032598(78.1) c	Std Curve for Accu. Wash	25-Mar-98	1	45.7	103.1	103.1
11	9	020LL/KT032598(156) c	Std Curve for Accu. Wash	25-Mar-98	1	65.5	152.8	152.8
12	10	022LL/KT032598(313) c	Std Curve for Accu. Wash	25-Mar-98	1	123.9	297.7	297.7
13	11	024LL/KT032598(625) c	Std Curve for Accu. Wash	25-Mar-98	1	254.9	634.5	634.5
14	12	026LL/KT032598(1250) c	Std Curve for Accu. Wash	25-Mar-98	1	428.9	1136.1	1136.1
15	13	028LL/KT032598(2500) c	Std Curve for Accu. Wash	25-Mar-98	1	823.7	2696.5	2696.5
16	14	030LL/KT032598(5K) copy	Std Curve for Accu. Wash	25-Mar-98	1	1189.8	5264.7	5264.7
17	15	032LL/KT032598(10K) c	Std Curve for Accu. Wash	25-Mar-98	1	1454.1	8927.0	8927.0

図 2-15 Resultsワークシート

## 5 必要であれば、E列に新しい希釈係数を入力します。

初期設定では、希釈係数は1に設定されています。希釈係数を変更し、変更後の希釈係数を全サンプルの列にコピーしたい場合には、Copy Downボックスにチェックを入れます。新しい希釈係数を入力すると、サンプル濃度の列の数値はそれに応じて計算されます。つまり、チューブ濃度の値に希釈係数が掛けられます。

サンプルのMFI結果が、分析対象成分のスタンダードカーブの範囲を外れる場合には、BD CBAソフトウェアがResultsワークシートのコメント欄にその事を記入します(28ページの予測される濃度範囲を参照してください)。この場合は、希釈率を変えて再試行してください。

MFI結果がスタンダードカーブの範囲より低い場合には、希釈率が高すぎます。

MFI結果がスタンダードカーブの範囲より高い場合には、サンプルの希釈が十分ではありません。

## 定量結果のレポート

---

BD CBAソフトウェアは、分析結果をレポートし保存するための様々な方法を提供します。ユーザーはレポートのヘッダーおよびフッターをカスタマイズし、ユーザーに必要なレポートを印刷できます。単独または複数のワークシートを別々に保存したり、ワークブック全体を保存したりできます。

### 印刷オプションの設定

ユーザーは、レポートのヘッダーおよびフッターをカスタマイズし、施設名、施設の責任者名、およびその他の施設に特有の付加情報を印刷することが可能です。用紙サイズのデフォルト設定を、例えばUSレターサイズからA4サイズに変更することも可能です。

レポートをカスタマイズするためには、2つの方法があります。

FileメニューのPage Setupダイアログボックス - 表示されているワークシートのみプリント オプションを設定します。

QuantitativeツールバーのPrint Reportsボタン - すべてのワークシートにプリント オプションを設定します。

**留意** 変更がソフトウェアの初期設定になるようにするため、47ページに書かれているようにワークブックをテンプレートとして保存してください。

### ワークシートのカスタマイズ

- 1 FileメニューからPage Setupを選択します。
- 2 Header/Footerタブをクリックして、設定オプションを表示します(43ページの図2-16)。

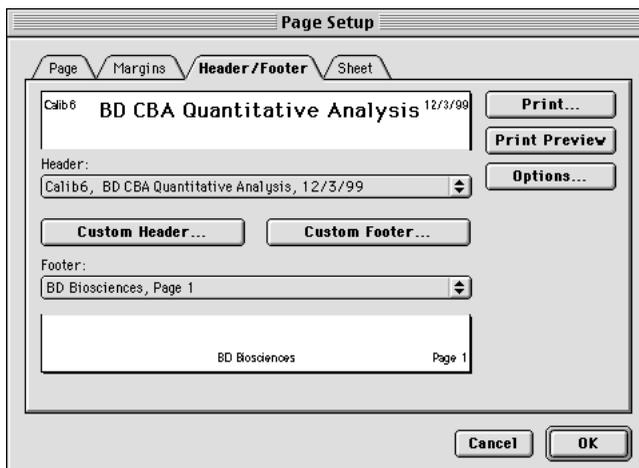


図2-16 Page Setup ダイアログボックス

**3** 必要であれば、ヘッダーを変更します。

Headerプルダウンメニューから希望するヘッダーを選択するか、Custom Headerを選択し、自分で作成します。

OKをクリックします。

**4** 必要であれば、フッターを変更します。

Footerプルダウンメニューから希望するフッターを選択するか、Custom Footerを選択し、自分で作成します。

OKをクリックします。

**5** オプションを選択し、用紙サイズを変更します。

プリンター設定ダイアログボックスが現われ、用紙サイズの選択ができます。

留意 Windowsでは、Page SetupダイアログボックスのPageタブをクリックし、用紙サイズドロップダウンメニューから希望するオプションを選択します。

6 Page SetupダイアログボックスのOKをクリックします。

7 ファイルメニューからSaveを選択 (z -S) します。

8 ワークシートの名前を入力して、Saveをクリックします。

変更は現在のワークブックでのみ保存されます。ワークブック内の全シートに対し変更を行なってください。次の項をご覧ください。

### ワークブックのカスタマイズ

Print Reportボタンを使って、選択された全レポートに同時に実験名を入れることができます。ここで行なわれた変更はPage Setupダイアログボックスにも反映されます。

留意 ワークブック内の全ワークシートの設定用紙サイズを変更することはできません。

1 QuantitativeツールバーのPrint Reportボタン(  )をクリックします。

Print Report ダイアログボックスが現われます( 図2-17 )。

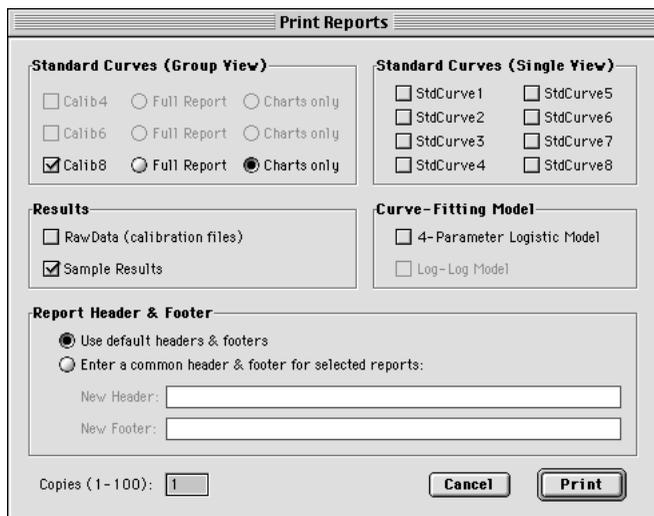


図2-17 QuantitativeレポートのPrintダイアログ

## 2 適用できるオプションすべてを選択します。

Standard Curves( Group View ) - 適切なキャリブレーションチャート( Calib4, Calib6, またはCalib8 )を選択します。次にFull Report( レポートすべて - チャートおよび付加情報 )を印刷するか、Charts only( チャートのみ - 36ページの図2-10 )印刷するかを選択します。

Standard Curves( Single View ) - 各分析対象成分のスタンダードカーブのキャリブレーションチャートのSingle View( 38ページの図2-12 )を印刷するかどうかを選択します。チャートおよび付加情報の両方が印刷されます。

Curve-Fitting Model - ユーザーが分析中に選択したモデル、つまり4-Parameter Logistic またはLog-Logのワークシートを印刷するかどうかを選択します。

Results - RawDataワークシート( 27ページの図2-6 )およびResultsワークシート( 41ページの図2-15 )を印刷するかどうかを選択します。

Report Header & Footer - 選択したレポート全部のヘッダーおよびフッターを変更するには、Enter a common header & footer...ラジオボタンをクリックします。該当欄を変更します。ここで加えた変更はすべて、Page Setupダイアログボックス( 43ページの図2-16 )に反映します。

## 3 印刷部数を入力し、Printをクリックします。

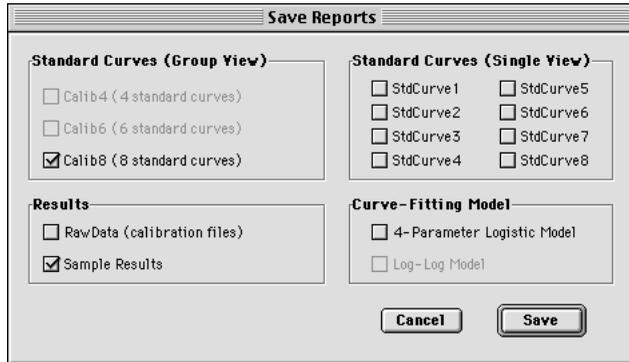
### レポートの保存

重要な使用するレポートだけを保存すると、ワークブック全体を保存するより、ディスクスペースの節約になります。

留意 データをこの形式で保存すると、再度分析することはできません。相互作用機能は多少失われます。

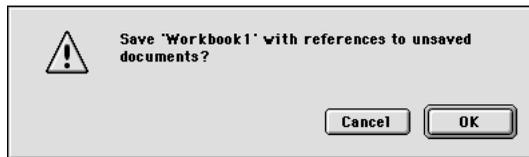
#### 1 Quantitative ツールバーのSave Reportボタン( )をクリックします。

Save Reportダイアログボックスが現われます。



- 2 保存したいレポートを選択して、Saveをクリックします。

質問メッセージが現われます。Saveをクリックします。別の質問メッセージが現われたらOKをクリックします。



留意 キャンセルをクリックすると、エラーメッセージが表示されExcelはResultsワークシートに戻ります。

- 3 ファイル名を入力し、新規ワークブックのフォルダの場所を指定します。Saveをクリックします。
- 4 OKをクリックして起動中のワークシートに戻ります。

#### ワークブック全体の保存

ワークブックには全てのワークシートが含まれています。ワークブック全体を保存すると、特定のレポートだけを保存するより多くのディスクスペースをとりますが、この形式で保存するとデータを再度分析することができます。

- 1 FileメニューからSave Asを選択します。
- 2 新規のワークブックのファイル名を入力して、Saveをクリックします。

#### テンプレートとして保存

ワークブックとワークシートを、同様の実験用(例えば、同一ロット番号の付いたビーズ用)のマスターとして繰り返し使用できる「ひな形」に、変換することができます。ユーザーが「ひな形」を開くと、ドキュメントのコピーが作成されて開き、オリジナルは変更されません。この機能についてのより詳細な情報については、Macintosh User's Guideを参照してください。

- 1 ワークブックまたはワークシートが保存されているフォルダを見つけます。
- 2 ファイルのアイコンを一回クリックします。

アイコンがハイライト表示されます。

- 3 Fileメニューから「情報を見る」を選択( $\mathcal{Z}$ -I)します。
- 4 現われた「情報を見る」ウィンドウの右下角の「ひな形」チェックボックスにチェックを入れます。
- 5 「情報を見る」ウィンドウを閉じます。

ワークブックのアイコンがひな形用アイコンに変わります。

#### Windowsでテンプレートを作成する

- 1 ワークブックまたはワークシートが保存されているフォルダを見つけます。
- 2 ファイル名を一度クリックします。

そのファイル名の編集が行なえます。

**3** ファイルの拡張子を.xlsから.xltに変更します。

ファイルのアイコンがテンプレートのアイコンに変わります。

# 3

## 定性分析

---

ファイルの分析

表示オプションの変更

レポートの印刷と保存

## BD CBAソフトウェアの立上げ

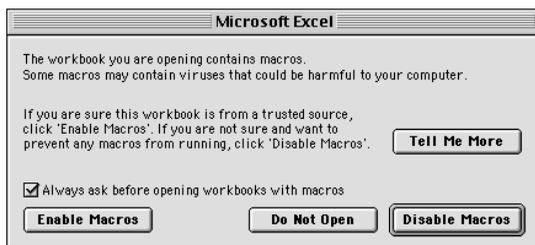
定性分析にはBD CBA Isotype Analysisワークブックを使用します。



BD CBA Isotype Analysis

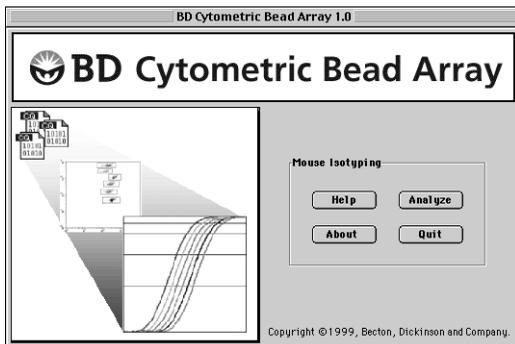
- 1 BD CBA Isotype Analysisワークブックアイコンをダブルクリックします。

Microsoft Excelソフトウェアが起動します。ダイアログボックスが現われ、ドキュメントにマクロが含まれていることを知らせます。



- 2 ダイアログボックスが現われたら、“マクロを有効にする”ボタンをクリックします。

BD CBAソフトウェアが起動し、Mouse Isotypingホーム画面が現われます。



## ファイルの分析

- 1 Mouse Isotyping ホームスクリーン上のAnalyzeをクリックします。

Qualitativeツールバーおよび空白のResultsワークシートが現われます( 図3-1 )

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U
1			Negative Threshold (>= 3):		3	IgE		IgM		IgA											
2		Sample ID	Filename	Acq Date	Dilut Factor	FL1 MFI X	FL2 MFI X	FL1 MFI X	FL2 MFI X	FL1 MFI X	FL2 MFI X										
3		0																			
4		1																			
5		2																			
6		3																			
7		4																			
8		5																			
9		6																			
10		7																			
11		8																			
12		9																			
13		10																			
14		11																			
15		12																			
16		13																			
17		14																			
18		15																			

図3-1 QualitativeツールバーおよびResultsワークシート

留意 Microsoft Excelソフトウェアでは、アクティブ状態になっているワークシートの名前がウィンドウの下部にタブとして表示されます。

ツールバーポジションは自由に移動することができます。ツールバーをワークシートの上のツールバー領域にドラッグし移動することができます。52ページの図3-2および表3-1は、ツールバー上のボタンの機能説明です。

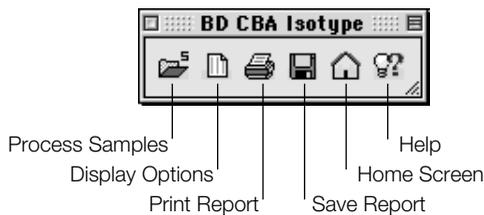


図3-2 BD CBA Isotype ツールバー

表3-1 Qualitative ツールバーボタン



Process Samples - フォルダにFCSデータファイルが含まれていることを確認するようユーザーに促します。続いて、BD CBAソフトウェアがFL1およびFL2のMFIを計算します。陽性結果は赤の太字で表示されます。



Display Options - 任意の書式を画面上で選択でき、印刷できるダイアログボックスが表示されます。



Print Report - 印刷するレポートの枚数を選択し、ヘッダーおよびフッターを入力するダイアログボックスが表示されます。



Save Report - レポートのコピーを保存します。



Home Screen - ホーム スクリーンに戻ります。



Help - 定性分析に関するオンラインヘルプを表示します。

- 2 QualitativeツールバーのProcess Sampleボタン(  )をクリックします。

この処理には数分かかるという注意が表示されます。

- 3 OKをクリックします。

4 サンプルファイルの中で最初のファイルを探し、選択します。

フォルダ内のファイルで、名前によるアルファベット順で最初のファイルは、ブランク、すなわち染色されていない試料(分析対象成分が含まれず、ビーズ試薬と検出試薬を含む)でなければなりません。このフォルダ内の全ファイルが分析されます。

5 Openをクリックします。

ファイル名がC列に一覧表示されます。BD CBAソフトウェアは次のことを行います。

FSC、SSCおよびFL3パラメータでゲートします。

FL1およびFL2のMFIを計算します。

(FL1)の列および(FL2)の列のMFIをレポートします。

カットオフ値に基づいて陽性結果を調べます。

全結果を表示し、陽性結果は赤の太字で表示します。

処理が終了するとピープ音がして、Resultsワークシートが表示されます(図3-3)。

BD CBA Isotype Analysis 1											
1	A	B	C	D	E	F	G	I	J		
			Negative Threshold (>= 3):		3	IgE					
2		Sample ID	Filename	Acq Date	Dilut Factor	FL1 MFI λ	λ	FL2 MFI κ	κ	FL	
3	0	2nd step	052499QS/B.002	05/24/99	1	3.11		3.31			
4	1	IgG1	052499QS/B.003	05/24/99	1	3.37	NEG	3.16	NEG		
5	2	IgGa	052499QS/B.004	05/24/99	1	3.16	NEG	3.43	NEG		
6	3	IgG2b	052499QS/B.005	05/24/99	1	3.28	NEG	3.34	NEG		
7	4	IgG3	052499QS/B.006	05/24/99	1	3.25	NEG	3.46	NEG		
8	5	IgA	052499QS/B.007	05/24/99	1	3.37	NEG	3.25	NEG		
9	6	IgM	052499QS/B.008	05/24/99	1	3.22	NEG	3.55	NEG	2	
10	7	IgE	052499QS/B.009	05/24/99	1	3.01	NEG	<b>930.57</b>	<b>POS</b>		
11	8	IgE	052499QS/B.010	05/24/99	1	3.31	NEG	<b>969.01</b>	<b>POS</b>		

図3-3 Resultsワークシート

ブランクビーズの情報は、一行目にあり、黄色でハイライト表示されています。特定の分析対象成分のMFI用カットオフ値は、結果が陽性であるか陰性であるかを決定するものですが、ブランクビーズのMFIにNegative Thresholdを掛けて算出されます。陰性結果は赤の太字で表示されます。

留意 データがリニアモードで収集された場合には、FSCおよびSSCのthresholdレベルを調整しなければなりません。より詳細な情報については、67ページのゲーティングの問題を参照してください。

#### 結果ワークシートの修正

ユーザーは、ワークシートを制限付きで修正できます。

Negative Threshold Value - この値は、セルE1に表示され、初期設定では3です。

Negative Threshold Valueを変更するには、セルをハイライト表示して新しい数値を入力します。BD CBAソフトウェアが、公式を変更し、定性結果を再計算し、陽性結果を調べ、陽性結果を赤の太字で表示します。

留意 最良の結果を得るために、Negative Threshold Valueを3以上にすることを推奨します。これにより、陽性結果を信頼できるだけの解像度が得られます。殆どの場合、陽性結果のMFIは、Negative Threshold Valueを3にした場合のカットオフ値よりかなり高くなります。陽性サンプルのMFI値を基準として、適切なthreshold値を設定することを推奨します。

Dilution Factor - 希釈係数は初期設定では1です。希釈係数を変更し、全サンプルの列にコピーする場合は、Display Optionダイアログボックスを使用します( 55ページのDisplay Optionsの変更を参照してください )

希釈係数を列にコピーするには、Enterキー、ReturnキーまたはTabキーを押さなくてはなりません。

Comments - レポートのコメント列(AW)にテキストコメントを入力します。

## Display Optionの変更

- 1 QualitativeツールバーのDisplay Optionボタン(  )をクリックします。

Display Optionダイアログボックスが現われます。

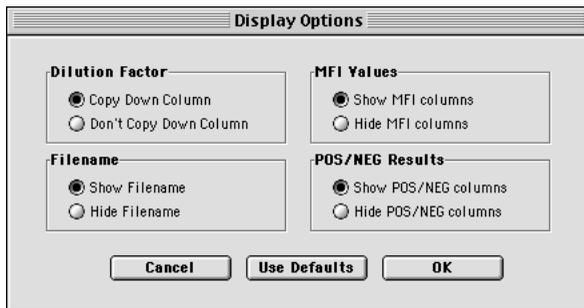


図3-4 Display Optionダイアログボックス

- 2 希望する項目を選択します。

Dilution Factor - ワークシート上の希釈係数を変更し、全サンプルの列にコピーしたい場合、Copy Down Columnラジオボタンを選択します。全サンプルの列にコピーしたくない場合は、Don't Copy Down Columnラジオボタンを選択します。

Filename( C列 )、MFI Values( F列、I列、L列、O列... )およびPOS/NEG Results( G列、J列、M列、P列... )を表示するか、表示しないかを選択します。

インストール時に設定されていたオプション設定通りにするには、Use Defaultsボタンをクリックします。

- 3 OKをクリックします。

## 定性分析のレポート

---

BD CBAソフトウェアは、分析結果をレポートし、保存するための様々な方法を提供します。ユーザーは、レポートのヘッダーおよびフッターをカスタマイズし、いくつかの異なる書式で印刷することができます。単独または複数のワークシートを別々に保存したり、ワークブック全体を保存することができます。

### 印刷オプションの設定

ユーザーは、レポートのヘッダーおよびフッターをカスタマイズし、施設名、施設責任者、および施設に特有の情報等の付加情報を印刷することができます。また、用紙サイズのデフォルト設定を、例えばUSレターサイズからA4サイズに変更することができます。

レポートをカスタマイズするには2つの方法があります。

FileメニューのPage Setup ダイアログボックス - 用紙サイズを含む一般的な印刷オプションを設定します。

QualitativeツールバーのPrint Reportsボタン - カスタムヘッダーおよびフッターのみを設定します。

留意 ソフトウェアの設置オプションの変更を行なうには、47ページに書かれているようにワークブックをテンプレートとして保存してください。

- 1 FileメニューからPage Setupを選択します。
- 2 Header/Footerタブをクリックして、設定オプションを表示します( 57ページの図3-5 )

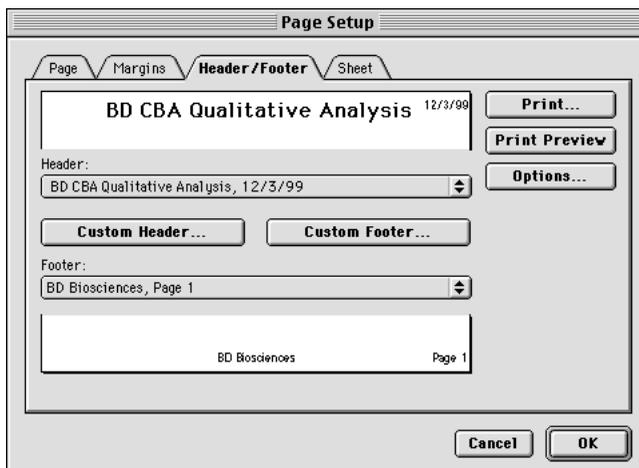


図3-5 Page Setupダイアログボックス

**3** 必要であれば、ヘッダーを変更します。

Headerプルダウンメニューからヘッダーを選択するか、Custom Headerを選択し自分で作成します。

OKをクリックします。

**4** 必要であれば、フッターを変更します。

Footerプルダウンメニューからフッターを選択するか、Custom Footerを選択し自分で作成します。

OKをクリックします。

**5** Optionを選択し用紙サイズを変更します。

プリンタ設定ダイアログボックスが現われるので、用紙サイズの選択を行いません。

留意 Windowsでは、Page SetupダイアログボックスのPageタブをクリックし、用紙サイズドロップダウンメニューから必要なオプションを選択します。

6 Page SetupダイアログボックスのOKをクリックします。

7 FileメニューからSaveを選択( z -S )します。

8 ワークシートの名前を入力し、Saveをクリックします。

変更は、表示されているワークシートに保存されます。ワークシートをテンプレートにするには、47ページを参照してください。

### ヘッダーとフッターのカスタマイズ

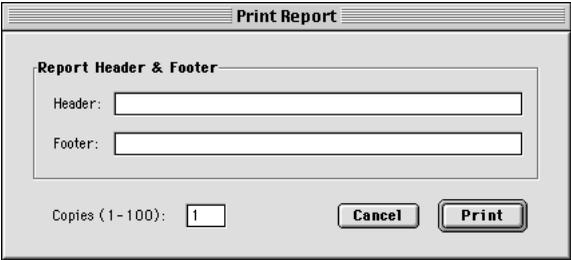
Print Reportsボタンを使ってカスタムヘッダーとフッターの入力を簡単に行ないます。ここで加えられた変更はPage Setupダイアログボックスにも反映されます。

1 Display Optionsダイアログボックス内で列の数を設定します( 55ページの図3-4 )

表示されている列だけが印刷されます。

2 QualitativeツールバーのPrint Reportボタン(  )をクリックします。

Print Reportダイアログボックスが現われます。



The image shows a dialog box titled "Print Report". It has a section titled "Report Header & Footer" containing two text input fields: "Header:" and "Footer:". Below these fields is a "Copies (1-100):" label followed by a small input field containing the number "1". At the bottom right of the dialog are two buttons: "Cancel" and "Print".

3 ヘッダーおよびフッターを入力します。

Resultsワークシートのヘッダーおよびフッターを変更するには、このダイアログボックス内の該当する欄を変更します。ここで加えられた変更は、Page Setupダイアログボックスに反映されます( 57ページ図3-5 )。

- 4 コピーの枚数を入力し、Printをクリックします。

## 結果の保存

結果だけを保存すると、ワークブック全体を保存するよりディスクスペースの節約になります。

留意 この形式で保存すると、データの再度分析はできません。

- 1 QualitativeツールバーのSave Reportボタン(  )をクリックします。
- 2 新しいワークブックのファイル名を入力して、Saveをクリックします。  
結果が保存された場所を知らせる通知が表示されます。
- 3 OKをクリックします。

## ワークブック全体の保存

ワークブックには、全てのワークシートが含まれています。ワークブック全体を保存すれば、特定の結果だけを保存するより多くのディスクスペースを取りますが、この形式で保存されたデータは再度分析することができます。

- 1 FileメニューからSave Asを選択します。
- 2 新しいワークブックのファイル名を入力して、Saveをクリックします。
- 3 OKをクリックします。  
新しいワークブックが保存されました。



# 4

## トラブルシューティング

---

インストール上の問題

ソフトウェアの一般的问题

ゲーティングの問題

曲線適合上の問題

本トラブルシューティングには、一般的な所見と解決法を記載しています。本リストを、ユーザー自身で問題を解決する時のガイドとして利用してください。問題解決が不可能な場合には、BD バイオサイエンス アプリケーション ホットラインにお問い合わせください。

## インストールおよび始動エラー

---

BD CBAソフトウェアのほとんどのインストールエラーは、Microsoft Excel Solver Add-In、BD CBA Add-In、または両方が正しくインストールされていないために生じます。

ソフトウェアの始動に問題がある場合は、次の点を確認してください。

BD CBA Add-InおよびSolver Add-Inが正しい場所にインストールされているかどうか。

Excel 98の場合、Add-InはMicrosoft Office 98:Office:Excel Add-Insフォルダにあります。

Excel 2001の場合、Add-InはMicrosoft Office 2001:Office:Add-Insフォルダにあります。

Excel 2000 (Windows) の場合、Add-InはMicrosoft Office:Office:Libraryフォルダにあります。63ページの図4-1を参照してください。

BD CBA Add-InおよびSolver Add-InがMicrosoft ExcelのAdd-Inダイアログボックスで起動しているかどうか。

13ページのAdd-Inの起動を参照してください。

BD CBAソフトウェア フォルダおよびMicrosoft Officeフォルダが、ハードディスクの同じディスクパーティションにあるかどうか。

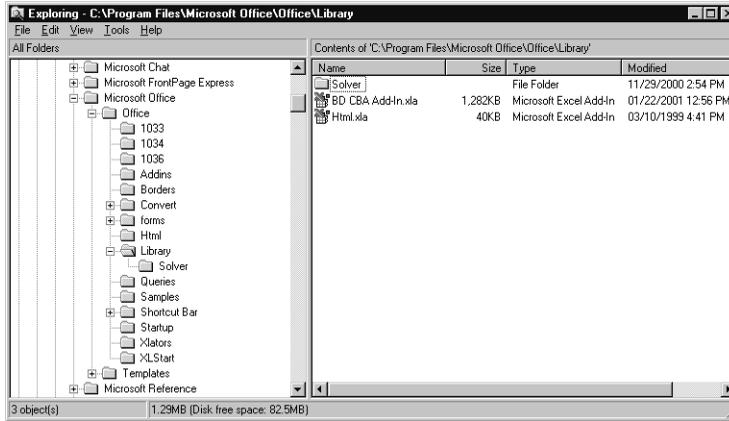


図4-1 Excel 2000(Windows)のAdd-inの場所

## ソフトウェアの一般的問題

問題	考えられる原因	推奨される対応法
<p>BD CBAワークブックを開いた時のエラーメッセージ: The Workbook you opened contains automatic links to information in another workbook. Do you want to update this workbook with changes made to the other workbook?</p>	<p>BD CBA Add-Inが正しくインストールされていません。</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 Noをクリックします。 Yesをクリックすると、約30件のエラーメッセージが連続して表示されます。</li> <li>2 BD CBAソフトウェアを再インストールします。</li> </ol>

問題（続き）	考えられる原因	推奨される対応法
BD CBAソフトウェアを開いた時に表示されるメモリーまたはシステムの故障に関連するエラーメッセージ	Microsoft Excelに割り当てられているメモリーが十分でない。	14ページに書かれているようにメモリーの割り当てを増やします。
MFIを計算した後のエラーメッセージ: Not an FCS file.	数字だけの正しくないファイル名	ファイル名に少なくとも1文字はアルファベットが含まれるようにファイル名の変更をしてください。
	FCSファイルではないファイルが選択された。	FCSファイルだけが指定フォルダにあることを確認してください。25ページのキャリブレーションファイルの確認を参照してください。
BD CBAホームスクリーンからExcel 5を終了する時に表示されるタイプ2エラーメッセージ	ソフトウェアの欠陥	BD CBAホームスクリーンのQuitボタンを使わないでください。Analyzeボタンをクリックし、FileメニューからQuitを選択します。
ツールバーに問題がある場合 (例: ツールの選択時に、標識が不正確である。または間違った手順が実行される。)	ソフトウェアが壊れている。	次の手順でツールバーを削除してから、BD CBAソフトウェアを再度インストールします。 <ol style="list-style-type: none"> <li>1 Microsoft Excelを立ち上げます。</li> <li>2 ViewメニューからToolbarを選択します。</li> <li>3 BD CBA Quantitative Analysis あるいはBD CBA Qualitative Analysisを選択してから、Deleteをクリックします。</li> <li>4 OKをクリックします。</li> <li>5 Microsoft Excelを終了します。</li> <li>6 BD CBAソフトウェアを再度インストールします。</li> </ol>

## Microsoft Excel 98に特有のエラー

問題	考えられる原因	推奨される対応法
エラーメッセージ: The Visual Basic Editor could not be loaded.	ファイルが見つからない。	Applicationファイル用Visual Basicを見つけ、Microsoft Office: Office内に存在することを確認します。見つけることができなければ、Microsoft Excelを再度インストールします。
エラーメッセージ: Error in loading DLL.	ソフトウェア エラー	Microsoft Excelを再度インストールします。
Compile errors	Solver Add-Inが見つからない。	11ページに書かれているように、Add-Inをインストールします。
	ファイルが見つからない。	VBA Object Libraryを見つけ、Microsoft Office: Office内に存在することを確認します。見つけることができなければ、Microsoft Excelを再度インストールします。
	プロジェクトまたはライブラリーを見つけない。	BD CBA Add-Inファイルを見つけ、Microsoft Office: Office: Excel Add-ins内に存在することを確認します。見つけることができなければ、BD CBAソフトウェアを再度インストールします。

問題 ( 続き )	考えられる原因	推奨される対応法
エラーメッセージ: The language DLL 'VBA Localization Library ( 1 )' could not be found.	ファイルが見つからない。	VBA Localization Library( 1 )ファイルを見つけ、Microsoft Office: Office内に存在することを確認します。 見つけることができなければ、Microsoft Excelを再度インストールします。
	ファイルが削除されてしまったか、本来インストールされた場所から移動している。	Visual Basic for Application, VBA Localization Library,およびVBA Object Libraryファイルが、Microsoft Office: Office内に存在することを確認します。 見つけることができなければ、Microsoft Excelを再度インストールします。
	ライブラリーをロードするには、空きメモリーが不十分です。	Microsoft Excel アプリケーションに、より多くのメモリーを割り当てます。14ページのインストラクションを参照してください。
エラーメッセージ: An error occurred initializing the VBA libraries( 8 )	ファイルが削除されてしまったか、本来インストールされた場所から移動している。	Visual Basic for Application, VBA Localization Library,およびVBA Object Libraryファイルを見つけ、Microsoft Office: Office内に存在することを確認します。 見つけることができなければ、Microsoft Excelを再度インストールします。
	ライブラリーをロードするには、空きメモリーが不十分です。	Microsoft Excel アプリケーションに、より多くのメモリーを割り当てます。14ページのインストラクションを参照してください。

## ゲーティングの問題

ゲーティングアルゴリズムが、ファイル中の凝集していないビーズ集団全てを見付けられない場合があります。一度に1つのファイルのみをゲートすることは、単一ファイルがゲーティングアルゴリズムでエラーとなる理由を調べることに役立ちます。Set Gating Parameterオプションを使ってゲーティングパラメータを調整し、次にデータセットにより適合したパラメータを見出すために、そのファイルを再度処理します。



- 1 BD CBAメニューから、Gate One Fileを選択します。

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1	MFI1	1-Count	1-MFI	2-Count	2-MFI	3-Count	3-MFI	4-Count	4-MFI	5-Count	5-MFI	Total Events	File Name:	
2	Bead 1											Singlets	Sample ID:	Phar_Don
3	Bead 2												Acq Date:	25
4	Bead 3												Comments:	
5	Bead 4													
6	Bead 5													
7	Bead 6													
8	Bead 7													
9	Bead 8													
10	Totals:	0		0		0		0		0		0		
11	Gates:	Left1	Right1	Left2	Right2	Left3	Right3	Left4	Right4	Left5	Right5			
12	FSC													
13	SSC													
14	Bead 1													
15	Bead 2													
16	Bead 3													
17	Bead 4													
18	Bead 5													
19	Bead 6													
20	Bead 7													
21	Bead 8													
22														
23	Histograms (64 channels)						Histograms (file resolution 256 or 1024)						Threshold	
24	Channel	FSC	SSC	FL3	FL1	FL1	FL1	FL1	FL1	FL1	FL1	FL1	FSC	SSC
25	FACSCount	FL3	FL3	FL2	Bead1	Bead2	Bead3	Bead4	Bead5	Bead6	Bead7	Bead8		
26														
27		0												
28		1											0	
29		2											0	

Calcワークシートが表示されます。

このワークシートを使って、Set Gating Parameterダイアログボックスで選択したゲーティングパラメータをテストするために、一度に1ファイルをゲートします。ワークシートは、以下の情報を表示します。

ゲート設定

ゲート内イベント

FSC, SSC, FL3のヒストグラム、およびFL1またはFL2の1～8のレポーター  
イベント数および各ビーズサイズのMFI

FSC, SSC、および各分析対象成分のゲートマーカー

**2** 必要であれば、Reporter Antibody情報を変更します。

M	N	O	P	Q	R
File Name:					
Sample ID: Std Curve for Accu. Wash					
Acq Date: 25-Mar-98					
Comments:					
Do one...			Reporter Antibody		
Clear			Fluorescence Parameter: FL2		
Print...			MFI: <input checked="" type="radio"/> Geometric Mean <input type="radio"/> Median		

**3** Calcワークシート上のDo oneをクリックし、次に設定を調整したいファイルを選択します。

**4** 選択したファイルのデータおよび作成されたプロットを吟味します。

**5** BD CBAメニューからSet Gating Parametersを選択します。

Set Gating Parametersダイアログボックスを( 69ページの図4-2 )使って、データにより適した設定を見出すためにGating Parametersを変更できます。これらの設定を変更し、分析できなかったファイルを再度分析することができます。

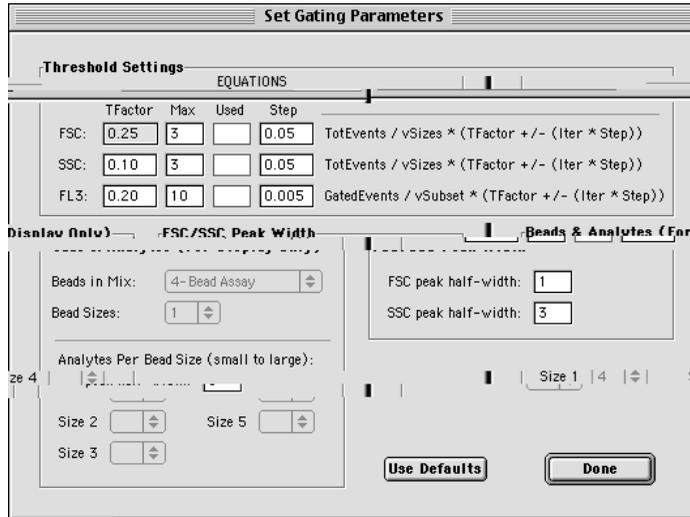


図4-2 Set Gating Parameters dialog box

T Factor - イベントのパーセンテージ(小数で表示されます。)

Max - thresholdを見出すために実行される最大反復数

Used - thresholdを見出すために使用される実反復数

Step - 各反復におけるthresholdレベルを上げたり下げたりする量

TotEvents - 全イベント数

vSizes - 混合物中のビーズサイズ数

GatedEvents - FSC/SSC(シングレット)ゲート内のイベント数

vSubset - 本ビーズサイズ用分析対象成分の数

Iter - 1から始まる、表示されている反復数

FSC/SSC Peak Width - FSCおよびSSCピークの左右のチャンネル数(シングレットゲートを設定するために使用されます。)

6 一つまたは複数の設定を変更します(70ページの表4-1を参照してください。)

表4-1 ゲーティング エラー

Error Message	Possible Solutions
Expected n FSC peaks; found n+1.	Raise the FSC threshold factor (TFactor)を上げます。
Expected n FSC peaks; found n-1.	FSC TFactorを下げます。
Expected n SSC peaks; found n+1.	SSC TFactorを上げます。
Expected n SSC peaks; found n-1.	SSC TFactorを下げます。
Expected n FL3 peaks; found n+1.	FL3 TFactorを上げます the FL3 TFactorを下げます。 FL3のMaxの数値を増やします。
Expected n FL3 peaks; found n-1.	FL3 TFactorを下げます。 FL3 TFactorを上げます。 Maxを増やします。
Left/right FSC gate markers are not evenly paired.	FSC TFactorを上げます。 FSC TFactorを下げます。
Left/right SSC gate markers are not evenly paired.	SSC TFactorを上げます。 SSC TFactorを下げます。
Left/right FL3 gate markers are not evenly paired.	FL3 TFactorを上げます。 FL3 TFactorを下げます。
Unable to set gating threshold on FSC.	Thresholdが1になっています。FSCのTFactorを上げます。
Unable to set gating threshold on SSC.	Thresholdが1になっています。SSCのTFactorを上げます。
Unable to set gating threshold on FL3.	Thresholdが1になっています。FL3のTFactorを上げます。
Wrong number of bead sizes. Please check calibration settings.	ビーズサイズの数正しいことと各サイズの分析対象成分が正しいことをCalibration Setupダイアログボックスで確認してください。

- 7 Do Oneボタンを再度クリックして、変更処理が適切に作用しているか調べます。
- 8 必要に応じて、手順6および手順7を繰り返します。
- 9 ファイルに作用している設定に問題があると分れば、調整済みの設定を使用して全データファイルを再度分析してください。

RawDataワークシートに戻り、Update StdCurvesボタンをクリックすれば、曲線が再計算されます。

## 曲線適合上の問題

---

4-Parameter Logistic 曲線近似モデルは、ユーザーのデータにふさわしい曲線として自動的にはあてはまらない場合があります。または曲線に全くあてはまらないことがあります。以下の項目はより良く適合させる為に有効です。

4-Parameter Logistic モデルを使用するとき、少なくとも4つのデータポイントおよびゼロキャリブレーション値(最低5ポイント)があることを確認してください。

本モデルには、ゼロキャリブレーション値に加えて少なくとも4つのデータポイントが必要です。データポイントが5未満であることが検知されると、エラーメッセージが表示されますが、BD CBAは曲線をデータに合わせることを試み続けます。

100回の反復後、解決しなければ、エラーメッセージが現われます。その場合、Stopをクリックします。

別の重み係数を選択します。

キャリブレーションカーブ内のほとんどのデータポイントが1000以下となる場合は、違った重み係数を用いればより良く適合することもあります。72ページのRefitting Curvesの指示を参照してください。

データセットを修正します。

一つのデータポイントが明らかに外れている場合(他のポイントに比べて明らかに曲線外にある)は、そのキャリブレーションファイルは使用しないでください。再度分析を行い、曲線適合手順をとります。

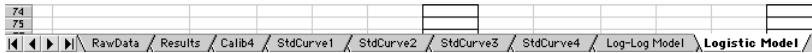
Log-Logモデルを使用します。

実行を繰り返します。

## 曲線の再適合

ほとんどのキャリブレーションポイントが曲線の最低位置または最高位置にある場合には、4-Parameter Logistic モデルが曲線をそのデータに適合できないのかもしれませんが。つまり、曲線の適合が条件に合っていない可能性があります。BD CBAソフトウェアには、この状態を調整するための3種類の加重機能があります。

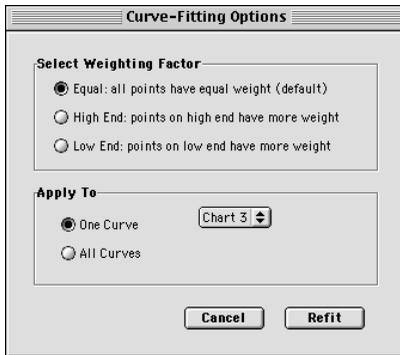
- 1 Microsoft Excelワークシートウィンドウの下部にあるLogistic Modelタブをクリックします。



そのタブを見つけるのに、右にスクロールすることが必要な場合もあります。

- 2 Refit Curveボタンをクリックします。

Curve-Fitting Optionsダイアログボックスが現れます。



- 3 加重係数を選択します。

4 全曲線を再適合するのか、1曲線だけを再適合するのかを選択します。

今見ている曲線が、初期設定の曲線です。必要であれば、プルダウンメニューから別の曲線を選択することができます。

5 Refitをクリックします。

これで、新加重係数を使用した曲線適合方程式に変更され、選択した曲線が再適合処理されます。



# 索引

## A

Add-Ins

アドイン

activating

立ち上げ ..... 13

installing

インストール ..... 11-12, 62

adjusting gates

ゲートの調整 ..... 67-71

analysis

分析

qualitative

定性分析 ..... 9, 50

quantitative

定量分析 ..... 8-9, 18

analytes

分析対象成分

changing labels

成分ラベルの変更 ..... 30, 32

per bead size

ビーズサイズごとの分析対象成分 ..... 23

analyzing sample files

サンプルファイルの分析 ..... 40

assays, Multiplex

マルチプレックスアッセイ ..... 8

assistance, technical

テクニカルサポート ..... vi

## B

BD CBA software

BD CBAソフトウェア

Add-In

アドイン ..... 8

installing

インストール ..... 12

overview

概要 ..... 8-9

registering

登録 ..... 12

starting

立ち上げ ..... 18, 50

beads

ビーズ ..... 23

## C

Calc worksheet

Calcワークシート ..... 67-69

calculations

計算値

concentrations

濃度 ..... 37-38

MFIs

平均蛍光強度 ..... 33-34

Calib worksheet

Calibワークシート ..... 34, 36

calibration

キャリブレーション

curves

曲線 ..... 36-38

files

ファイル ..... 8, 25, 26

setting up

設定 ..... 22-24

calibrator, zero

ゼロキャリブレーター ..... 26, 28

compile errors

コンパイルエラー ..... 65

concentration values	
濃度値	
adding	
濃度値の追加.....	31
calculating	
計算.....	37-38, 40
deleting	
削除.....	31
editing	
編集.....	30-32
entering	
入力.....	29-30
range	
範囲.....	28, 41
conventions	
表記のきまり.....	v
copy	
コピー	
across	
行の全ての列.....	29, 32
down	
全サンプルの列.....	41, 55
curve fitting	
曲線適合	
adjusting	
調整.....	71-72
equations	
近似方程式.....	37
models	
曲線適合モデル	
choosing	
選択.....	35
printing	
印刷.....	45
saving	
保存.....	46
refitting	
曲線の再適合.....	72-73
D	
data	
データ	
entering	
入力.....	28
files	
ファイル.....	26, 53
dilution factor	
希釈係数.....	41, 54
display options	
表示オプション.....	55
DLL	
.....	65, 66
E	
editing concentration values	
成分濃度の編集.....	30-32
entering	
入力	
concentration values	
濃度値.....	29-30
data	
データ.....	28
errors	
エラー	
curve fitting	
曲線適合.....	71-72
gating	
ゲーティング.....	70
installation	
インストール.....	62-63
software	
ソフトウェア.....	64-66
Excel	
エクセル	
compatibility with BD CBA	
BD CBAとの互換性.....	10
installing Add-Ins	
Add-inのインストール.....	11-12, 62
F	
FCS file (error message)	
FCSファイル( エラーメッセージ ).....	64
files	
ファイル	
calibration	
キャリブレーション.....	8, 25, 26
compatible	
Macintosh互換.....	26
identifying	
確認.....	25, 53



toolbar		setting gating parameters	
ツールバー	51-52	ゲーティングパラメータの設定	68-71
workbook		software	
ワークブック	50	ソフトウェア	
quantitative analysis		See also BD CBA software	
定量分析		BD CBAソフトウェアも参照	
overview		crash	
概要	8-9	クラッシュ	64
toolbar		error messages	
ツールバー	20-22	エラーメッセージ	63, 64-66
workbooks		installation issues	
ワークブック	18	インストールエラー	62-63
R		registering	
range, range, concentration		登録	12
濃度の範囲	28, 41	requirements	
RawData worksheet		(システムの)必要なもの	10
未処理データ・ワークシート	20, 27, 32	starting up	
registering software		立ち上げ	18, 50
ソフトウェアの製品登録	12	Solver Add-In	
replicates		Solverアドイン	
多重測定	8, 23	activating	
reporter antibody		立ち上げ	13
レポーター抗体	23, 68	installing	
reports		インストール	10, 11, 62
レポート		standard curves	
customizing		スタンダードカーブ	
カスタマイズ	42	generating	
printing		スタンダードカーブの作成	35
印刷	44-45	printing	
saving		印刷	45
保存	45-47	saving	
requirements		保存	46
(システムに)必要なもの	10	starting software	
Results worksheet		ソフトウェアの立ち上げ	18, 50
結果ワークシート	40-41, 53	system	
S		システム	
sample files, analyzing		BD CBA (overview)	
サンプルファイルの分析	40	BD CBA(概要)	8-9
saving reports		crash	
レポートの保存	45-47, 58	クラッシュ	64
scale, calibration		T	
キャリブレーションチャートの目盛	37	technical assistance	
selecting models		テクニカルサポート	vi
モデルの選択	35		

templates, creating		
テンプレートの作成	.....	47
toolbars		
ツールバー		
problems with		
問題	.....	64
qualitative		
定性	.....	51-52
quantitative		
定量	.....	20-22
troubleshooting		
トラブルシューティング		
curve fitting issues		
曲線適合問題	.....	71-73
gating issues		
ゲーティング問題	.....	67-71
installation issues		
インストール問題	.....	62-63
software issues		
ソフトウェアの問題	.....	63-66
type 2 error		
タイプ2エラー	.....	64
<b>U</b>		
Update StdCurves		
スタンダードカーブの更新	.....	33
<b>V</b>		
values		
値		
concentration		
濃度値	.....	29-30
median		
中央値	.....	9
MFI		
蛍光強度の平均値	.....	9
<i>See also</i> mean fluorescence intensity		
平均蛍光強度も参照		
visual basic errors		
ビジュアルベーシックのエラー	.....	65-66
Visual Basic for Applications (VBA)		
VBAプログラム言語	.....	8
<b>W</b>		
workbooks		
ワークブック		
customizing		
カスタマイズ	.....	44-45
qualitative analysis		
定性分析	.....	50
quantitative analysis		
定量分析	.....	18
saving		
保存	.....	46, 59
worksheets		
ワークシート		
Calc		
計算	.....	67-69
Calib		
キャリブレーション	.....	34, 36
customizing		
カスタマイズ	.....	42-44
RawData		
未処理データ	.....	20, 27, 32
Results		
結果	.....	40-41, 53
saving as templates		
テンプレートとして保存	.....	47
<b>Z</b>		
zero calibrator		
ゼロキャリブレーター	.....	26, 28

64-030-00

R1-0303-000.2-635