

# ProSize データ解析ソフトウェア簡易マニュアル

ProteoAnalyzer (v5.0.1.6 以降) 対応

Ver 2025\_04

データの表示・閲覧	2
解析ファイルを開く	2
メイン画面	
操作アイコン	
プレートマップ	4
デジタルゲルイメージ	5
エレクトロフェログラム	6
ピークテーブル	7
データ出力	8
PDF レポート	8
CSV·画像出力	
Batch 出力	9
生データ出力	9
データ解析	10
ピーク編集	10
解析パラメーター (Configuration) の変更	
スメア解析	14
フラグ解析	15
グラフの重ね合わせ (Overlay Samples / Project Mode)	16
Ladder の設定	17
標品による絶対定量	19

データの表示・閲覧

### 解析ファイルを開く

- 1. Prosize data analysis software ( Dアイコン) を起動します。
- 2. File > Open File あるいは 📴 をクリックします。
- 3. .raw ファイルを選択し、 \_\_\_\_\_ をクリックします。

ファイル保存先: C:¥Agilent Technologies¥Data¥(日付ごとのフォルダ)¥(分析開始時間のフォルダ)



メイン画面 (ファイル未選択時)



データ選択画面

### メイン画面



操作アイコン	機能ショートカット。下表を参照ください。
プレートマップ	サンプル情報・分析メソッドの確認・編集ができます。
デジタルゲルイメージ	マーカーで泳動度が補正されたゲル画像が表示されます。
エレクトロフェログラム	選択サンプルのエレクトロフェログラムが表示されます。
Peak Table	選択サンプルの解析結果が表示されます。設定により表示されるタブが追加されます。

### 操作アイコン

Ð	データを開きます。	PDF	PDF レポートを作成します。 (8 ページ)
North Sec	Ladder 設定画面を開きます。 (17 ページ)	csv	CSV データを出力します。 (8 ページ)
	グラフの重ね合わせを行います。 (16 ページ)	8	ソフトウェアを終了します。

## プレートマップ

	Sample Names         Sample Names           C1         BSA_PBS_2000           C2         BSA_PBS_1000           C3         BSA_PBS_200           C4         BSA_PBS_200           C5         BSA_PBS_200           C6         BSA_PBS_200           C6         BSA_PBS_200           C8         CA_PBS_200           C8         CA_PBS_200           C9         CA_2_PBS_1000           C9         CA_2_PBS_200           C10         CA_2_PBS_200           C11         CA_2_PBS_20           C12         Ladder_PBS	じる
プレートマップ	サンプル名	

をクリックするサンプル名が表示されます。サンプル名の編集、Import (右クリック) ができます。
 をクリックすると分析メソッドの内容を確認できます。

	ST91-66400M_LM *ProteoAnalyzer broad Range Kit LM and OM.minds
	Full Conditioning Gel Prime to Buffer Gel Selection Gel 1 Gel Prime
	Perform Prerun Voltage: 5 kV Time: 30 Sec.
	Rinse Tray: Buffer Row: A # Dips 1
	Marker Marker Row: A
各パラメーター設定	O Voltage Injection Voltage: 0 kV Time: 20 Sec.
	Vacuum Injection Pressure: -1 PSI
	Rinse Tray: Buffer Row: B # Dips 2
	Sample Injection
	Voltage Injection Voltage: 7 kV Time: 10 Sec.
	OVacuum Injection Pressure: -1 PSI
	Separation Voltage: 9 kV Time: 20 Min.
	Tray Name Tray-3
使用したメソッドファイル	Separation Method 5191-6640UM_LM •ProteoAnalyzer Broad Range Kit LM and
	Capillary Serial # 043023-07USPA Effective Length (cm) 22
	Capillary Usage count 99 Instrument Type ProteoAnalyzer
装直・キャヒフリー情報	Device Serial # MY2303AG03 Contoller Software Version Number 1.0.0.11
	Notes: Dilution series of BSA and CAll
Note	

### デジタルゲルイメージ

画面右側のコントラストバーおよび上部のツールバーを用いて表示を変更します。



#### ツールバーの機能

アイコン	内容
<u> </u>	Copy Full Gel Image:ゲルイメージ全体をコピーします。
1	Copy Selected Gel Lane Image:選択したゲルレーンをコピーします。
	Show Cursor : カーソルを追加します。
	Hide Cursor : カーソルを削除します。
	Create Annotation:矢印とラベルを描写します。
1	Edit Annotation : Annotation を編集・削除します。
а	Zoom:選択範囲を拡大表示します。
÷	AutoFit: Zoom を解除します。
	Auto Intensity:コントラストを実際のシグナル値で表示します。
	Normalize Intensity to Lower Marker: Lower Marker シグナルでコントラストを揃えます。
	Normalize Intensity to Upper Marker: Upper Marker シグナルでコントラストを揃えます。
	Enhanced Contrast : 選択しているレーンのコントラストを変更します。
<i>?</i>	Gel Image Color:ゲルイメージの疑似色を変更します。
1	1:1 Gel Image : 縦横比が 1:1 のゲルイメージを表示します。
ш	Hide / Show Marker Peaks: Marker のバンドを表示/非表示にします。
.ht.	Hide / Show non-integrated peaks:ピーク外のバンドを表示/非表示にします。
A	Gaussian Fit:ガウシアンフィッティング処理を行います。

### グラフの重ね合わせ

ゲルイメージを右クリックすることで、エレクトロフェログラムの重ね合わせができます。

### エレクトロフェログラム



アイコン	内容
<b></b>	Zoom:選択範囲を拡大します。
(4)	Drag:エレクトロフェログラム表示範囲を移動します。
÷	Autofit: Zoom・Dragを解除します。
μī.	Copy:エレクトロフェログラムをコピーします。
	Peak Label : ピークトップの表示を変更します。
	None / Peak ID / Migration Time (min/sec) / Peak Height / Corrected Peak Area / Size (bp) /
	Concentration (ng/uL) / nmole/L
<b>2</b> 0	Create Annotation:矢印とラベルを描写します。
1	Edit Annotation: Annotation を編集・削除します。
111	Show / Hide Baseline : ベースラインの表示/非表示を切り替えます。
<u>d</u>	Show / Hide Peak Start / End Point: ピーク始点/終点の表示/非表示を切り替えます。

### 横軸表示の設定

横軸上で右クリックすることで表示を変更できます。

**横軸:**Time と Size から選択できます。Set Display Starting Time より、表示されるエレクトロフェログラムの開始点を変更できます。

## ピークテーブル

ソフトウェアが認識したピークの解析結果が表示されます。

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 11 12 13 14 15	Size (kDa) 6 (LM) 9.9 13.2 14.7 19.4 22.6 24.8 28.0 35.4 39.0	ng/uL 120.0000 3.1096 1.6426 3.7073 3.5007 4.2190 2.2435 9.5169 8.1319 5.2443	% (Conc.) 0.2 0.1 0.3 0.2 0.3 0.2 0.3 0.2 0.6 0.6	
1 2 3 4 5 6 7 7 8 9 10 11 11 12 13 14 15	6 (LM) 9,9 13,2 14,7 19,4 22,6 24,8 28,0 35,4 39,0	120.0000 3.1096 1.6426 3.7073 3.5007 4.2190 2.2435 9.5169 8.1319 5.2443	0.2 0.1 0.3 0.2 0.3 0.2 0.6 0.6	
2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15	9.9 13.2 14.7 19.4 22.6 24.8 28.0 35.4 39.0	3.1096 1.6426 3.7073 3.5007 4.2190 2.2435 9.5169 8.1319 5.2443	0.2 0.1 0.3 0.2 0.3 0.2 0.6 0.6	
3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15	13.2         14.7         19.4         22.6         24.8         28.0         35.4         39.0	1.6426 3.7073 3.5007 4.2190 2.2435 9.5169 8.1319 5.2443	0.1 0.3 0.2 0.3 0.2 0.6 0.6	
4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15	14.7         19.4         22.6         24.8         28.0         35.4         39.0	3.7073 3.5007 4.2190 2.2435 9.5169 8.1319 5.2443	0.3 0.2 0.3 0.2 0.6 0.6	
5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15	19.4         22.6         24.8         28.0         35.4         39.0	3.5007 4.2190 2.2435 9.5169 8.1319 5.2443	0.2 0.3 0.2 0.6 0.6	
6 7 8 9 10 11 12 13 14 15	22.6 24.8 28.0 35.4 39.0	4.2190 2.2435 9.5169 8.1319 5.2443	0.3 0.2 0.6 0.6	
7 8 9 10 11 12 13 14 15	24.8 28.0 35.4 39.0	2.2435 9.5169 8.1319 5.2443	0.2 0.6 0.6	
8 9 10 11 12 13 14 15	28.0 35.4 39.0	9.5169 8.1319 5.2443	0.6 0.6	
9 10 11 12 13 14 15	35.4 39.0	8.1319 5.2443	0.6	
10 11 12 13 14 15	39.0	5.2443		
11 12 13 14 15		512115	0.4	
12 13 14 15	45.1	6.2444	0.4	
13 14 15	50.2	5.0675	0.3	
14 15	50.8	14.5039	1.0	
15	64.0	1150.7830	77.9	
	110.0	9.2854	0.6	
16	143.3	250.7825	17.0	
17	240 (UM)	78.1858		
	TIC:	1477.9823	ng/uL	
	Total concer	1473.9885	ng/uL	
				-

項目	内容
Size (kDa)	ピークトップのサイズ。 マーカーピークには LM (Lower Marker)、UM (Upper Marker) が表記されます。
ng/uL	ピーク濃度
TIC	ピーク濃度の合計
Total Conc.	サンプルの総濃度

# データ出力

### PDF レポート

- 1. File > Generate Report または 📴 をクリックします。
- 2. 出力項目をカスタマイズします。
- 3. Menerate PDF Report をクリックし、PDF ファイルを保存します。

Run Summary	🔍 Peak Table	Electropherograms
O Method Detail		🔾 Gel Image 🛛 🖉 Sample Name
⊖ Flag Analysis	Traces Summary     X-Axis Siz	r OCalibration Curve ze Scale
	⊖ Smear Analysis	
Sample Option		
All Samples	O Selected Samples	
- Par sumpres		
Show Integration	Parameters Information	ihow Appotation
• Show Integration	Parameters Information O Si	ihow Annotation
Show Integration	Parameters Information O Si	ihow Annotation

### CSV·画像出力

File > Export Data または 空をクリックし、CSV データおよび画像データを出力できます。

		Sa	imple Option				
		A	II Samples	Selected Samples			
Export All							
Peak Ta	able @	Standard	Alternate ()		Quality Table	¢	
Smear A	Analysis Table						
○ Flag Cri	iteria Analysis Table	Standard	Alternate				
() Advanc	ed Flag Criteria Tabl	e.					
Electrop	pherogram - Exports	as csv File					
Electrop     File Export     Single File	pherogram - Exports t Option for electropi e	as csv File herogram Separate	d Files	X Axis Scale Option Size Scale	Time Scale		
<ul> <li>Electrop</li> <li>File Export</li> <li>Single File</li> <li>Single File</li> </ul>	pherogram - Exports t Option for electropi e	as csv File herogram Separate	d Files	X Axis Scale Option Size Scale (************************************	Time Scale		
<ul> <li>Electrop</li> <li>File Export</li> <li>Single File</li> <li>Size Cal</li> </ul>	pherogram - Exports t Option for electropi e libration Data	as csv File herogram Separate	d Files	X Auis Scale Option Size Scale (*)	Time Scale		
Electrop     File Export     Single File     Size Cal     Gel	pherogram - Exports t Option for electropi e libration Data	as csv File herogram Separate	d Files ∑Sa	X Axis Scale Option Size Scale ©	Time Scale		
Electrop     File Export     Single File     Size Cal     Gel     Image Forr	pherogram - Exports t Option for electropi e libration Data mat For Electrophere	as csv File herogram Separate O	d Files ∑Sa	X Auis Scale Option Size Scale structure structure	Time Scale		
Electrop     File Export     Single File     Size Cal     Gel     Image Forr     BMP	pherogram - Exports t Option for electropi e libration Data mat For Electrophere JPEG P	as csv File herogram Separate	d Files Sa iel ow Annotation	X Asis Scale Option Size Scale mple Name Export File Path [C1PVeast Ettra	Time Scale	12102 17-27-23	

### Batch 出力

複数解析ファイルのデータ・レポート出力を一括して行うことができます。

### メニューバー Batch Processing > Batch Data Process

orde selection	export Path (if empty, uses data path)	
C:\PROSize 3.0\Demo\Femto Pulse	el <u>s</u>	2
elected Data		
C:\PROSize 3.0\Demo\Femto Pulse\FP-1201 US RNA\FP-1201 Univeral Mouse Ref Total RNA Dilution Series\2017 05 01 17H 16M.rav C:\PROSize 3.0\Demo\Femto Pulse\FP-1201 US RNA\FP-1201 Mouse mRNA Dilution Series\2017 01 05 16H 18M.raw		
C:\PROSize 3.0\Demo\Femto Pulse\FP-1101 US NGS\Smear dilution 15-49-01\2017 01 21 15H 49M.raw	PDF	^
Cr\PROSize 3.0\Demo\Femto Pulse\FP-1101 US NGS\300 bp dilution series 21-30-31\2016 10 13 21H 30M.raw Cr\PROSize 3.0\Demo\Femto Pulse\FP-1003 55 Kb BAC\17-54-18\2018 10 05 17H 54M.raw	Peak Table (Standard Format)	
C:\PROSize 3.0\Demo\Fernto Pulse\FP-1002 gDNA 165 kb\Yeast Extractions 165kb Fast F12102 17-27-23\2018 08 04 17H 27M.raw	Peak Table (Alternate Format)	
C:\PROSize 3.0\Demo\Femto Pulse\FP-1002 gDNA 165 kb\Yeast Extractions 165Kb EXT F12102 12-41-55\2018 08 04 12H 41M.raw	Flan Criteria Analysis Table (Standard Format)	
	Flag Criteria Analysis Table (Alternate Format)	
	Advanced Flag Criteria Table	
	Quality Table	
	Electropherogram	
		~

### 生データ出力

Help > zip opened data file より、生データの zip ファイルを作成できます。

# データ解析

### ProSize では変更内容が自動保存されます。必要に応じてデータをフォルダごとバックアップ

した後に操作を行ってください。

### ピーク編集

エレクトロフェログラム上の編集したい位置にカーソルを合わせ 右クリックし、ピーク編集コマンドを開きます。 Accept Change Cancel Undo Set As Lower Marker Set As Upper Marker Add Peak Split Peak Merge Peaks Delete Peak Move Peak Start/End Points Copy Image to Clipboard Export Data to Clipboard Export Data to Excel



ピークの分割

① Split Peak をクリック	② 分割位置を指定	③ Accept Change をクリック
8 25 25	8 24 24	50 123 123 123
Siz	-001 2001	100-



### 解析パラメーター (Configuration) の変更

1. Peak Table 右の Set Individual Parameters 🏂 をクリックします。

Peak Table		Set Individual Parameters	<b>%</b>
Size (kDa)	ng/uL % (Conc.) 🔺		

- 2. 各タブを選択し、設定を変更します。表示されるタブはアッセイによって異なります。
- 3. Show Results III をクリックすると、Peak Table 画面に戻ります。

Advanced Settin	gs Marker Analysis	Smoor An	abusis	Elan	Inclusion Peo	Show Result
		Smear An	лузіз	riag		
Peak Ana	lysis	An	alysis Regio	on		
Min. Pe # Ex Valley to	Peak Width (sec) 1 eak Height (RFU) 10 tra Valley Points 3 Valley Baseline?	<ul> <li>↓</li> <li>↓</li></ul>	art (min)	End (min) 18		
Filter S # of P	election Filter Binomial oints 3	Ma	nual Baseli art (min) 🚖	End (min)	ts	
Apply to	All		Apply t	to Selected		
🐟 Loa	d Configuration			Save Config	uration	

項目	内容
Peak Analysis	ピーク検出の設定
Marker Analysis	マーカーピーク検出の設定
Smear Analysis	Smear Analysis の設定
Flag	Flag Analysis の設定
Inclusion Region	自動解析を行うサイズ範囲の設定
Advanced Settings	解析モードの設定
Apply to All	すべてのサンプルに変更を適用します。
Apply to Selected	選択したサンプルに変更を適用します。
😒 Load Configuration	Configuration 設定を読み込みます。
Save Configuration	Configuration 設定を保存します。

### 解析データの初期化

Load Configuration から、分析メソッドファイルと同名の Configuration ファイル (.ini)を選択し、適用することで、解析

データを初回に開いた状態に戻すことができます。

Configuration ファイルの保存先: C¥Prosize data analysis software¥Configurations

Prosize データ解析ソフトウェア

### スメア解析

Smear Analysis では指定したサイズ範囲のシグナル解析を行うことができます。

- 1. ※をクリックし、Smear Analysis タブを選択します。
- 2. Start Size、End Size を入力します。

Peak Analysis	Marker Analys	sis	Smear Analys	is	Flag	Inclusion Region	1
	Start Size (kDa)	End	Size (kDa)	Disp	olay Smear	Range	
	40	100	)		0	00005709	
	0	0					
	0	0					
	0	0					
	0	0					
	0	0					
	0	0					
	0	0					
	Apply to All				pply to Sel	ected	

- 3. E をクリックし、Peak Table に戻ります。
- 4. Peak Table タブの隣に Smear Analysis タブが表示され、設定したサイズ範囲での解析結果が表示されます。

Peak Table Smear	r Analysis					X
ID	Range	ng/uL	% Total	Avg. Size	%CV	
C1: BSA_PBS_2000	40 kDa to 100 kDa	1181.576	80.2	64	6.34	
						-11
C2: BSA_PBS_1000	40 kDa to 100 kDa	403.5111	79.7	68	6.60	-11
C2. DC4. DDC. 500		101 0115	70.0			-11
C3: B2A_PB5_500	40 KDa to 100 KDa	191.8115	79.3	68	6.40	-11
C4: BSA_PBS_200	40 kDa to 100 kDa	87.3015	78.6	68	6.16	



### フラグ解析

Flag Analysis では指定したサイズ・濃度条件を満たすピークが検出できているかを 1・0 で表示し、 簡単に判別することができます。

- 1. ※をクリックし、Flag タブを選択します。
- 2. フラグの条件入力を行います。
  - Tag にフラグ名を入力してください。
  - ・ Value、Unit、Range を設定します。
  - Flag1項目につき条件は2つまで設定できます。
     2 つ目の条件を設定する場合、AND / OR / AND NOT / NOR のいずれかを選択します。
- 3. セクリックします。

Peak Ar	alysis	Marke	r Analysis	Smear A	nalysis	Flag	Inclusion Regio
Tag pr	otein1				1		
Value	Unit		Range		Value	Unit	Range
65	kDa	v ± v	20	AND 💌	0	RFU	> ~ 0
Tag Value	Unit	✓ ± > <	ange	AND OR AND NOT	Value	kDa ng/uL ✓ RFU	Range
0	kDa	=		NOR	0	KDa 🗸	0
Tag							
Value	Unit		Range		Value	Unit	Range
0	kDa	7	0	~	0	kDa 🗸	7 ~ 0

- **4.** Peak Table の隣に Flag Analysis タブが表示されます。サンプルが条件を満たす場合「1」、満たさない場合「0」が各カラムに出力されます。
- 5. Flag Analysis の設定は Save Flag Parameters から保存することができます。 Load Flag Parameters から過去に保存 した Flag Analysis の設定を読み込めます。

	Sample ID	63kDa +/- 12% (7. 63 +/- 8 kDa	240 kDa +/-15% (2 240 +/- 36 kDa
F1	SampF1	1	0
F2	SampF2	1	0
F3	SampF3	1	0
F4	SampF4	1	0
F5	SampF5	1	0
F6	SampF6	1	0
F7	SampF7	1	0
F8	SampF8	1	0
F9	SampF9	1	0
F10	SampF10	1	0
F11	SampF11	1	0
F12	SampF12		
	_		
	1		

### グラフの重ね合わせ (Overlay Samples / Project Mode)

- 1. 🜐 または Analysis > Overlay Samples あるいは Project > Create Project をクリックします。
- 2. 🔤 をクリックし、重ね合わせをしたい分析データを開きます。
- 3. 重ね合わせを行うサンプル Well をクリックします。
- 4. Project > Save as より比較データを保存します。



項目	内容
	画面表示を変更します。
▲ 5	レポート・データ出力を行います。比較データ保存後のみ使用できます。
۵	Project モードを終了します。

### Ladder の設定



🤹 または Analysis > Show Size Calibration から Ladder の設定を確認・修正できます。

Curve Fitting	Calibration Curve のフィッティンク 方法
Use Imported Ladder Profile	Imported Ladder の使用
Ladder Profile	Imported Ladder の選択 🛛 📂 をクリックしてファイルを選択します。
Peak Analysis	Ladderピーク検出の設定

### Import Ladder を用いた解析

ProSize では過去の Ladder の分析データを用いて解析を行うことができます。

Ladder の出力: Export をクリックし、Ladder データを保存します。

Ladder の適用: Use Imported Ladder Profile にチェックを入れ、Ladder Profile から解析に使用する Ladder データを選択し、 <br/>
<br/>
・をクリックします。

### Ladder のエラーメッセージ

Ladder が正しく認識していない場合、データを初めてロードした際にポップアップメッセージが表示されます。あるいは、画面下部に 赤色の点滅で "Warning: Mis-match between detected peaks and ladder assignment! No sizing calibration curve is established"が表示されます。その場合は、Ladder 設定を確認し、修正を行います (p. 17 参照)。



症状	対応
Ladder をデフォルトの Well 以外に調製した	Default Ladder Well の位置を変更します。
Ladder Peak 本数が不足している	Peak Analysis のピーク認識閾値の変更、あるいはマニュアル操作により ピークを追加します。
Ladder Peak を過剰に認識している	Peak Analysis のピーク認識閾値の変更、あるいはマニュアル操作により 余分なピーク認識を削除します。

# 標品による絶対定量

ProteoAnalyzer では目的のタンパク質の精製標品の希釈系列のデータを使用した検量線による定量が可能です。

### 検量線の設定

- **1.** 希釈系列を泳動したデータを開き、メニューバーの Analysis > Protein Calibration から Protein Calibration Screen を 開きます。
- 2. 検量線に使用するウェルの Use for Calibration にチェックをいれ選択します
- 3. 左上の Sample Overlay のエレクトロフェログラム上の赤線を使用するピークに合わせます。
- 4. Nominal Concentration に濃度を入力し、Apply をクリックします。



Prosize データ解析ソフトウェア

### 定量値の表示

検量線による濃度は Calibrated Peak Table に表示されます。

	Size (kDa)	ng/uL	% (Conc.)		
1	6 (LM)	333.2219			
2	9.9	132.7774	0.2		
3	13.2	130.2618	0.1		
4	14.7	133.8025	0.3		
5	19.4	133.4481	0.2		
6	22.6	134.6800	0.3		
7	24.8	131.2922	0.2		
в	28.0	143.7647	0.6		
9	35.4	141.3897	0.6		
10	39.0	136.4380	0.4		
11	45.1	138.1530	0.4		
	Slope equation	y = 0.5832x + -74.3204			
	Rí	R1 = 0.974484			
	Calibration data file	CalibrationCurve.protein			

### 検量線の出力および適用

過去の検量線を用いて解析を行うことができます。

検量線の出力:検量線を設定後、Protein Calibra	tion Screen 上の	Export	をクリックし、検量線データを保存します。
検量線の適用: Protein Calibration Screen 上の	📔 Import をクリッ	クし、使用す	する検量線データを選択し、
Apply をクリックします。			

製品に関するお問い合わせ Tel: 0120-477-111 Mail: email\_japan@agilent.com 電話・メール受付時間 (土、日、祝祭日、5/1を除く) 9:00~12:00、13:00~17:00