

**OLYMPUS®**

---

**FLUOVIEW**

**FV1000**

**画像解析**

**Viewer**

**&**

**Review Station**

**簡易操作説明書**

# 目次

## 【Viewer】

Viewerのインストール	4
<b>【2D画像の解析】</b>	
画像の保存	5
連続断層像の重ねあわせ / Tile表示	6
スケールバーを入れる	7
画像の色・コントラスト編集	8
XY方向のZ断面画像	9
各Z軸断面による Intensity Profile	10

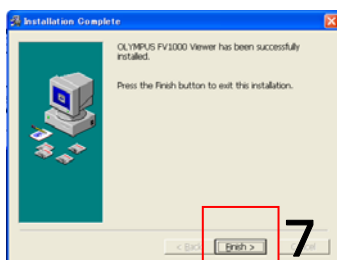
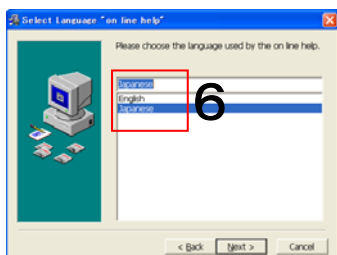
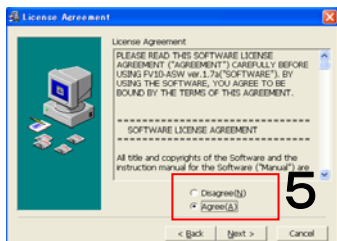
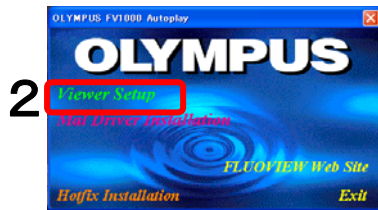
## 【Review Station】


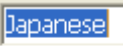
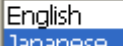



Measure	12
Intensity Profile	13
Histogram	14
Line Series Analysis	15
Co-localization	16
Series Analysis	17
Ratio	18-19
Unmixing	20-22
・各蛍光Dyeの場所がわかっている場合 の分離	
・登録済みスペクトル情報からの分離	
・蛍光dyeの種類がわからない場合の分離	
Edit experiment	23

<b>【3D画像の構築】</b> (立体画像再構築/3D立体画像のファイル作成)	24-25
--	-------

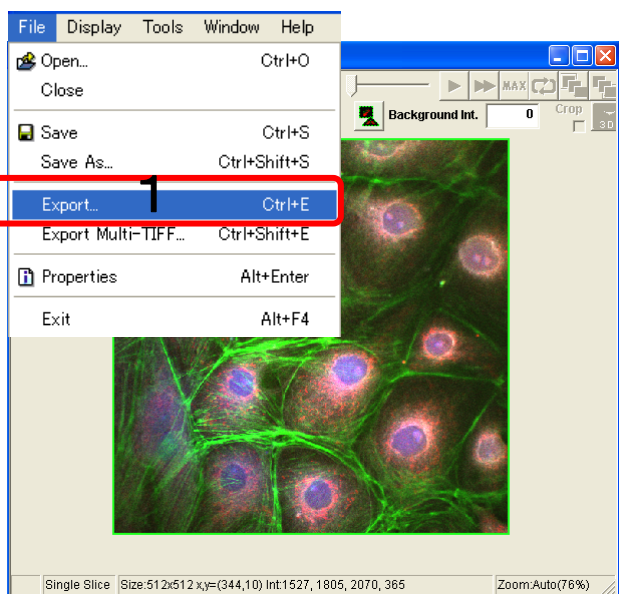
# Viewer

# Viewerのインストール

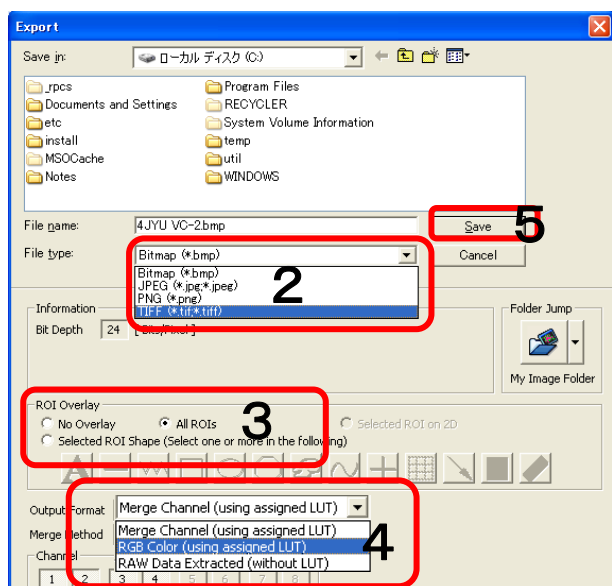


1. Viewerインストール用CDをセットします。
2. インストール画面が現れ、  
"Viewer Setup,, を選択します。
3. "FV1000 Viewer Installation,,  
を選択します。
4.  をクリックします。
5.  Disagree(N)   
 Agree(A) "Agree,, を選択します。
6.  オンラインヘルプの言語を  
  
 選択します。
7.  で進み、最後に   
をクリックしてインストールを完了します。

# 画像の保存 (TIFF、BMP、JPEG Fileの保存方法)



1. Menu barよりFileからExportを選択します。



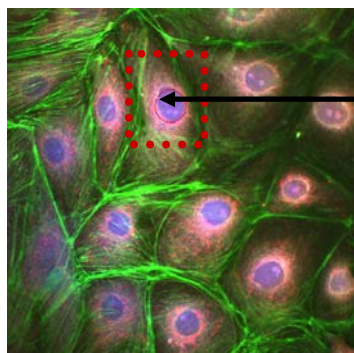
2. 保存するフィル形式を選択します。

3. ROI Overlay で "All ROI" を選択するとROI情報がそのまま画像上に反映されます。  
※No Overlayを選択するとROI情報は画像には反映されません。

4. Merge Channel (using assigned LUT) を選択するとMerge画像だけが作成されます。

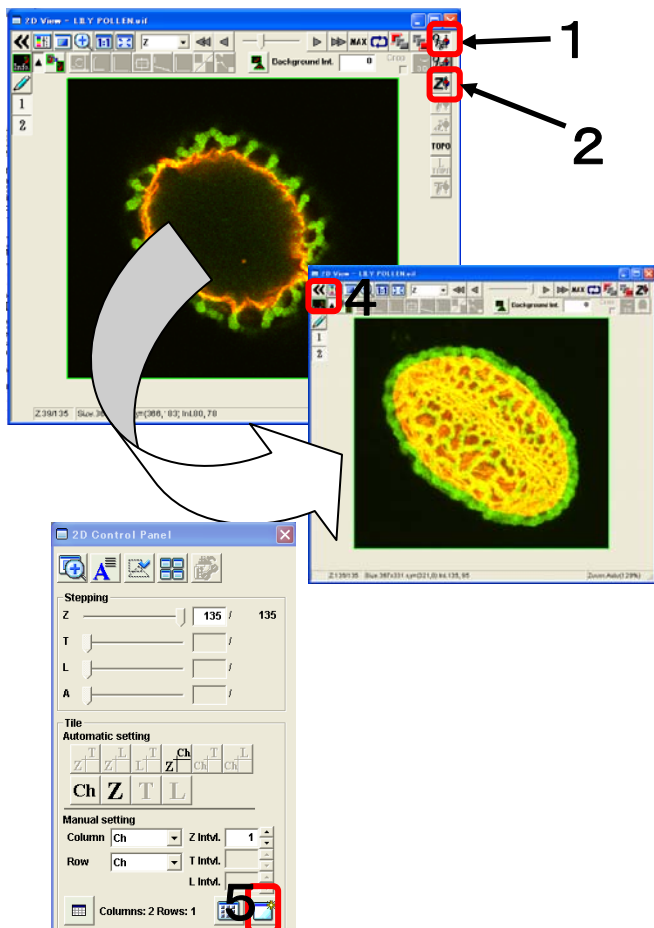
RGB Color (using assigned LUT) を選択すると各Chごとの画像が作成されます。  
※Merge画像は作成されません。

5. Save をクリックして画像を作成します。



取得後の画像



## 2D画像の解析(連続断層像の重ね合わせ)



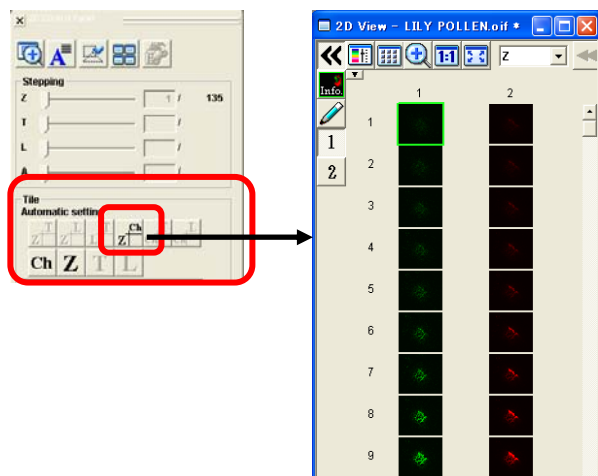
1.  をクリックします。
2.  を選択します。
3. Projection画像が作成されます。

### MEMO


New Tile 機能よりProjection画像の作成

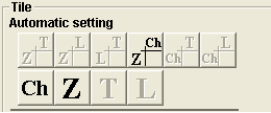
4.  をクリックして "2D Control Panel," を表示させます。
5.  " New Tile," をクリックすること  
新規でProjection画像ファイルを作成することができます。

## 2D画像の解析(Tile表示)

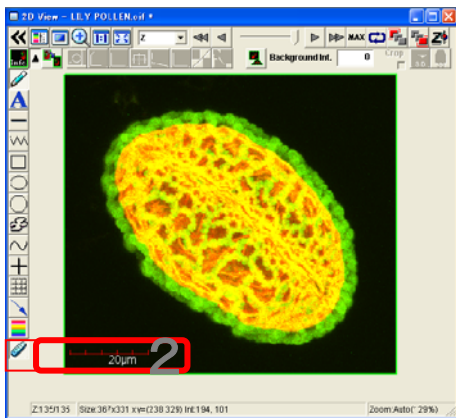


各Chごとに全てのZ画像を表示


1.  をクリックして "2DControlPanel," を表示させます。

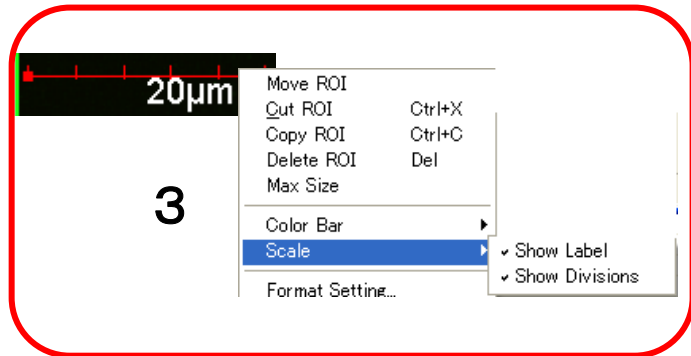
2.  TileAutomaticSetting  
よりタイリング表示を行います。

## 2D画像の解析(スケールバーを入れる)

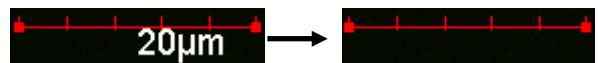


1

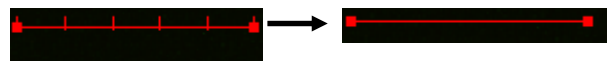
1.  ボタンをクリックします。
2. 画像上で左クリックしたまま引っ張り、適当なところで離します
3. Scale Barを選択して右クリックし、“Scale” を選択することでフォーマットの変更を行うことができます。



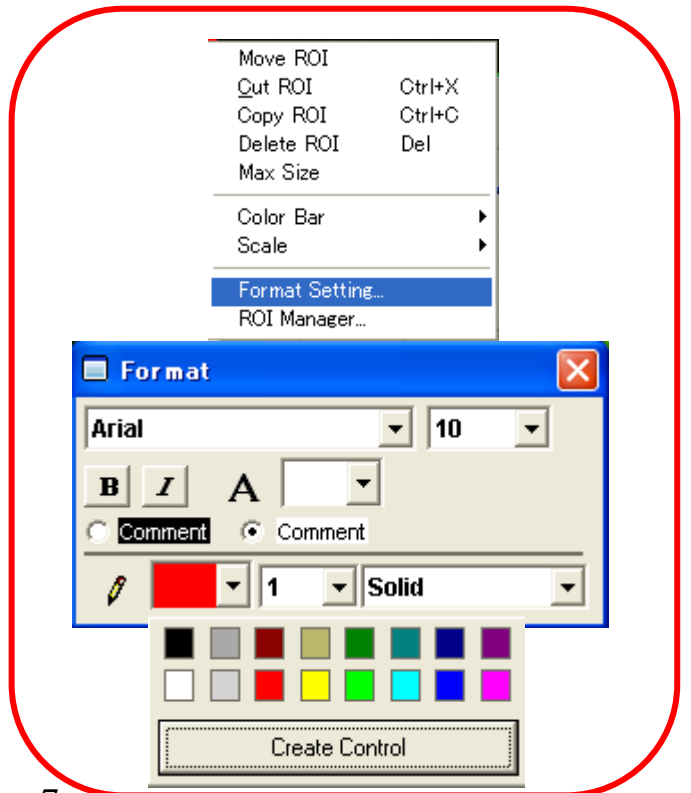
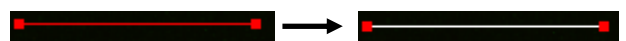
✓ Show Label チェックを外すとスケールバーのスケールラベルが表示されません。



✓ Show Divisions のチェックを外すとスケールバーの目盛が表示されません。



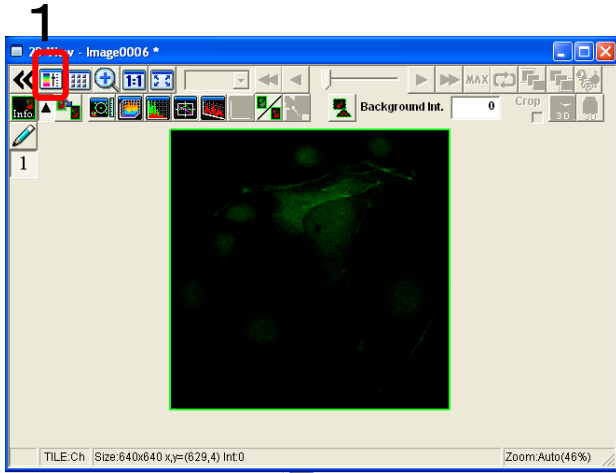
4. “Format Setting” を選択することでスケールバーのColor等のフォーマット変更ができます。




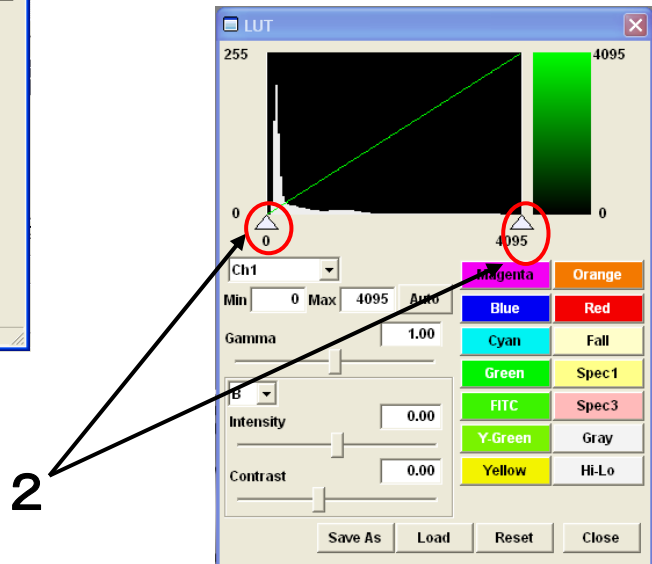
7


7

## 2D画像の解析(画像の色、コントラスト編集)

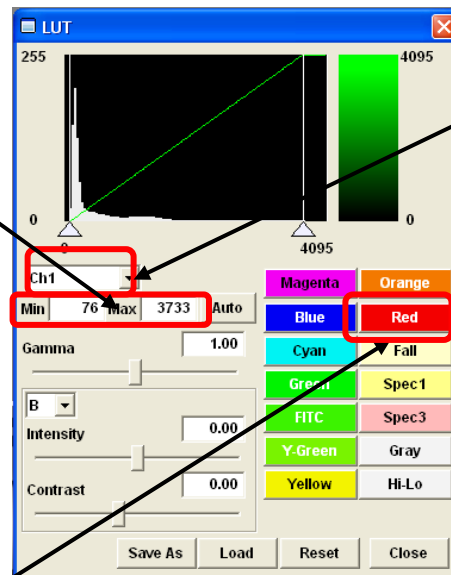
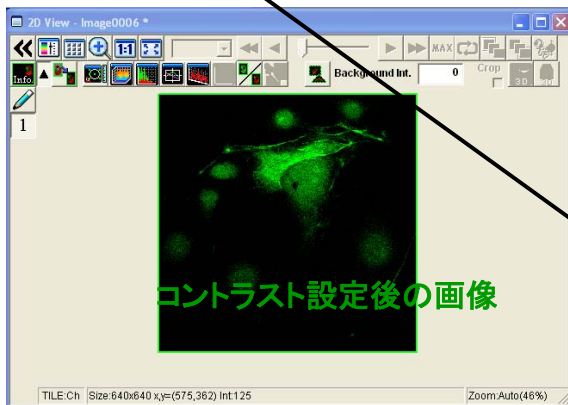


1.  "LUT" をクリックして、下の LUT tableを表示させます。

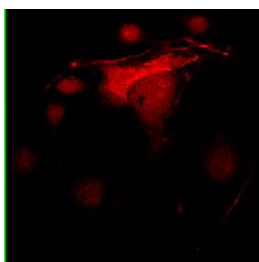


2.  のカーソル左右に動かすもしくは MinとMaxに数値を入力してコントラストを自由に設定することができます。(Max4095、Min0)

3. Min、Maxの値が設定され画像のコントラストが変更されます。  
 ※Min値を上げることによって画像のバックグラウンドを除去することができます。



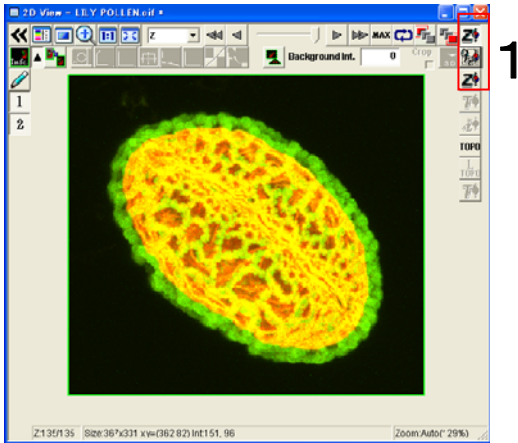
各Chごとに設定できます。




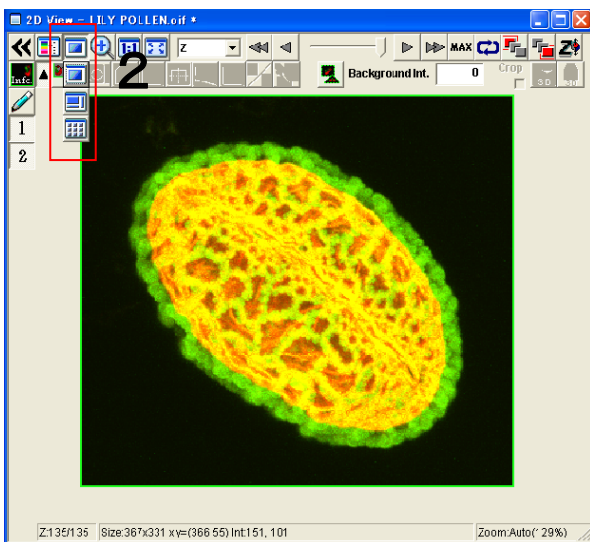
4. **Red**をクリックすることで擬似カラーを**緑色**から**赤色**またはその他のカラー変更することが可能です。



## 2D画像の解析(XY軸方向のZ断面画像)

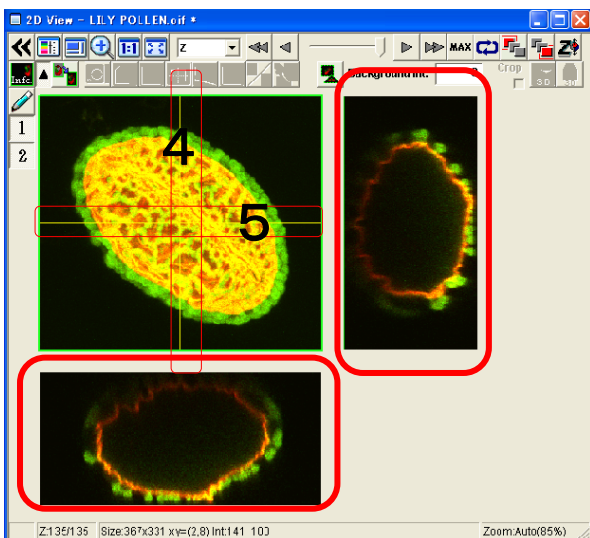


1. XYZ画像取得後、2D Viewにて  を選択してProjection画像を表示させます。



2.  をクリックし  を選択します。

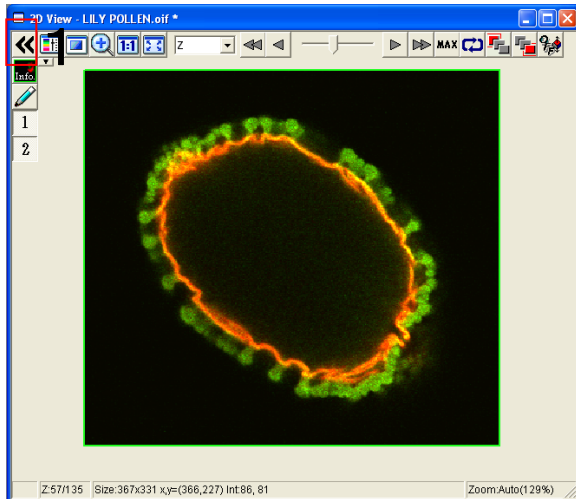
3. X、YそれぞれのZ軸方向の縦断面が現れます。  
X方向に上下、Y方向に左右動かすことで各ポジションのZ軸縦断面を観察することができます。



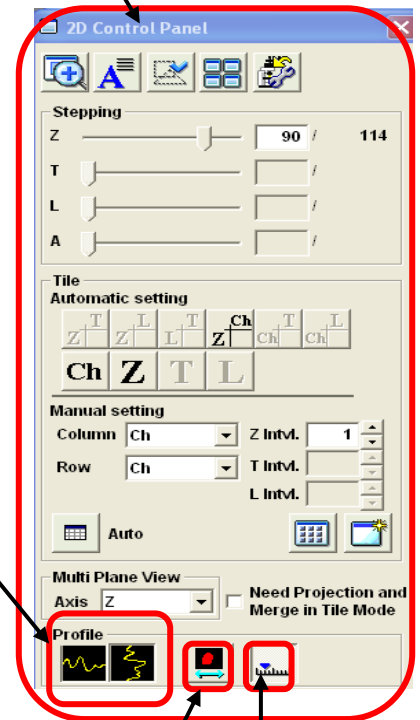
4. Y軸方向のZ軸縦断面になります。

5. X軸方向のZ軸重断面になります。

## 2D画像の解析(各Z断面におけるIntensity Profile)

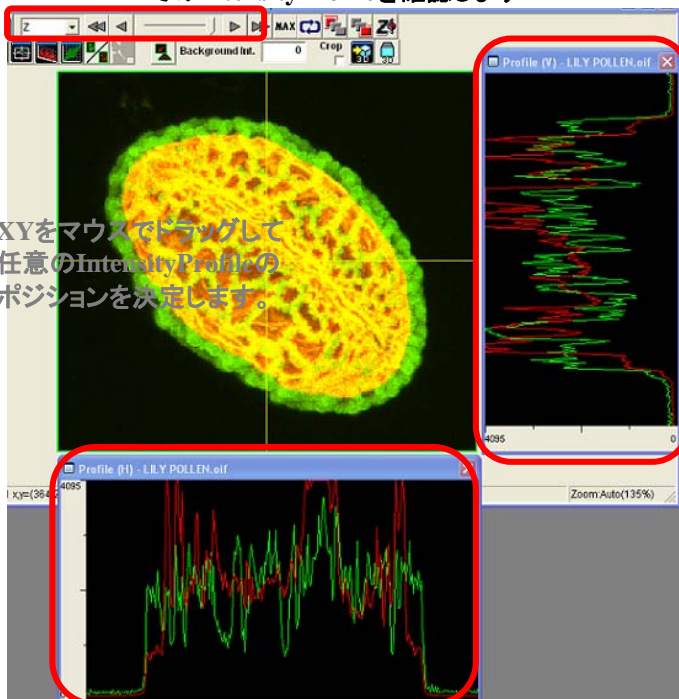


1.  をクリックして、以下の **2D Control Panel** を表示させます。








2. Profile  をクリックして以下のような任意ZポジションにおけるXY方向のIntensityのProfileを表示することができます。

Z軸方向を移動させて各Z位置でのIntensity Profileを確認します

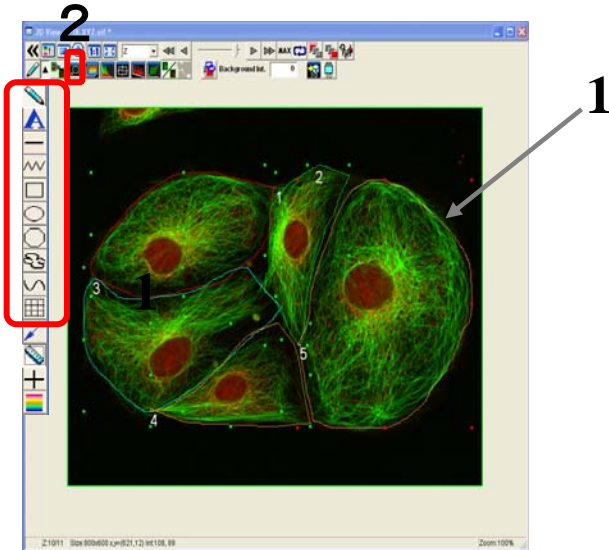





XYをマウスでドラッグして任意のIntensity Profileのポジションを決定します。

- 2   
3.  をクリックすることでProfileにIntensity Scaleを表示させることができます。
4.  をクリックすることで画像のSIZEに対して1:1表示でProfileをwindowを表示させます。

# Review Station

## 2D画像の解析(計測 (Measure))



1.  を選択して画面上で関心領域を囲んでROI指定を行います。  
 を選択して画像上で関心領域を直線として引き、ROI指定を行います。
2.  measureのアイコンをクリックします。
3. 画像のROI指定された領域の計測結果および統計結果が計算されます。

4. "Measure All ROIs" をクリックすると画面上に指定した全てのROI ROI情報が計算されます。

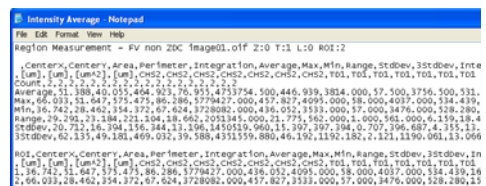
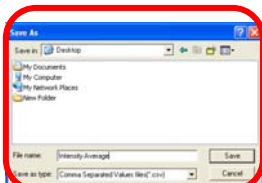
Measure	ROI No. 5	Statistics	CHS1	CHS2
CenterX	150.780	Average	1244.509	559.277
CenterY	79.732	Max	4095.000	3227.000
Area	6120.813	Min	96.000	41.000
Perimeter	313.258	Range	3999.000	3186.000
		StdDev	725.103	439.334
		3StdDev	2175.309	1318.002

5. 全ての指定したROI情報が計算されます。

ROI	CenterX [um]	CenterY [um]	Area [um^2]	Perimeter [um]	Integration CHS1	Average CHS1	Max CHS1	Min CHS1	Range CHS1	StdDev CHS1	3StdDev CHS1	Integration CHS2	Average CHS2	Max CHS2	Min CHS2	Range CHS2	StdDev CHS2	3StdDev CHS2
1	117.1	49.438	3129.625	241.490	5478264.000	1107.926	4095.000	95.000	4000.000	710.261	2130.783	2952481.000	658.076	3590.000	28.000	3562.000	522.510	1567.554
2	122	53.402	1470.188	194.764	0620457.000	1301.724	4095.000	97.000	3998.000	883.602	2650.807	7837013.000	758.280	3468.000	28.000	3440.000	561.877	1685.630
3	51.000	87.103	3274.688	273.215	2573667.000	1003.410	4095.000	94.000	4001.000	700.397	2101.192	9839166.000	569.504	3415.000	53.000	3362.000	443.623	1330.869
4	80.180	111.524	1732.438	211.246	4386227.000	879.766	3836.000	83.000	3753.000	657.656	1972.967	7880740.000	645.072	3300.000	25.000	3355.000	523.061	1568.183
5	150.780	79.732	6120.813	313.258	1878548.000	1244.509	4095.000	96.000	3999.000	725.103	2175.309	4771708.000	559.277	3227.000	41.000	3186.000	439.334	1318.002

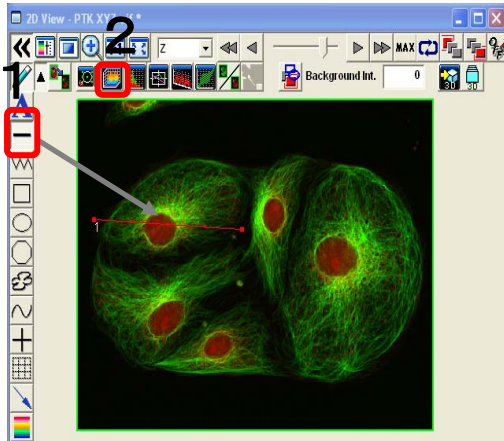
6. Save をクリックします。


6. **ROI情報の保存** Save をクリックします。
7. CSVファイルとして保存します。



ROI情報をテキスト形式で開くことができます。

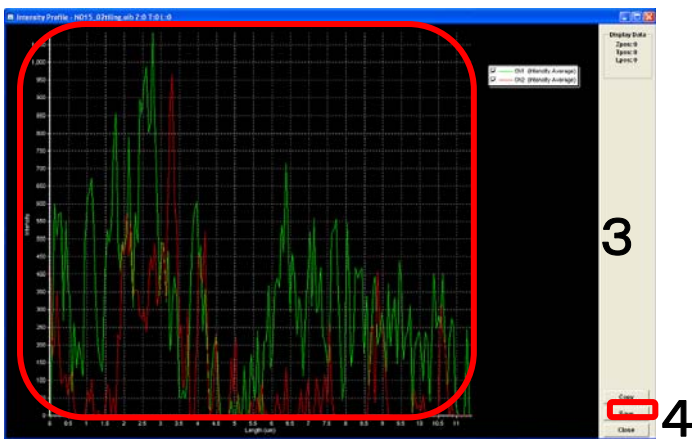
## 2D画像の解析 (Intensity Profile)



1. 計測したい対象に対して  を選択して直線を描きます

2.  "Intensity Profile,, をクリックします。

3. 左の "Intensity Profile,, が表示され指定されたLine上の輝度がY軸を蛍光強度としてグラフ化されます。

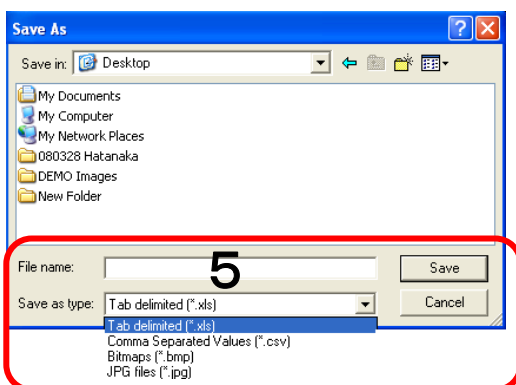


### ■■ Intensity Profileの保存 ■■

4.  をクリックします。

5. 保存形式を選択します。

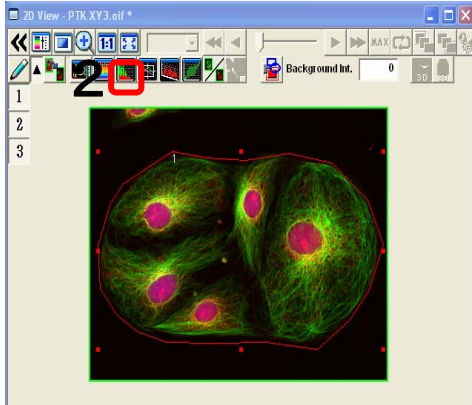
**Tab delimited (\*.xls)**  
Comma Separated Values (\*.csv)  
Bitmaps (\*.bmp)  
JPG files (\*.jpg)



6. 例: CSVファイルで保存したデータ



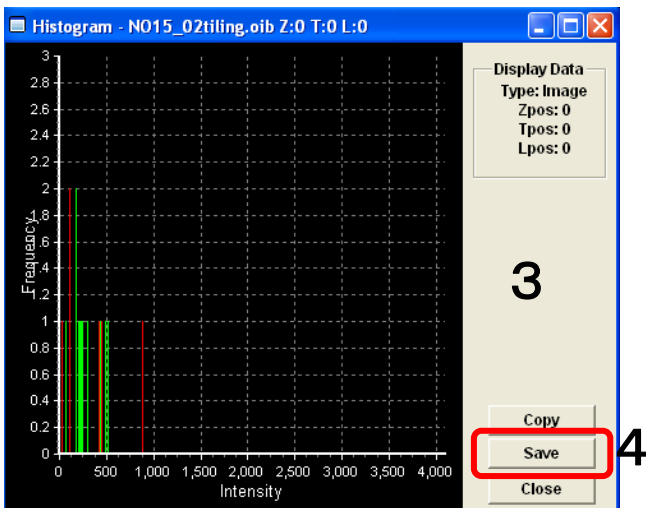
## 2D画像の解析 (Histogram)




1. 計測したい対象をROI指定します。

2.  "Histogram" のアイコンをクリックします

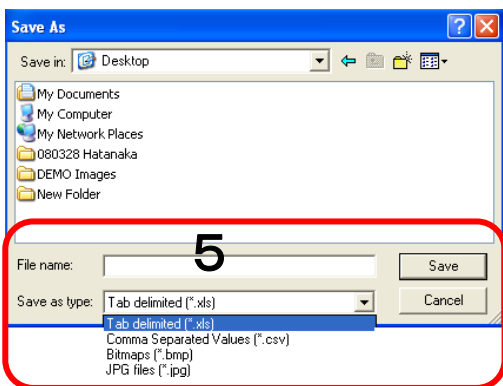
3. "Histogram" windowが現われ、ROIで指定された領域内のピクセルの輝度の頻度分布がプロットされます。



### ■■ Histogramの保存 ■■

4.  をクリックします。

5. 保存形式を選択します。



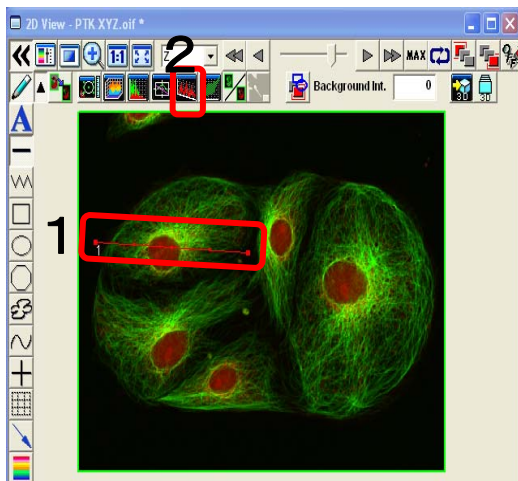
Tab delimited (\*.xls)  
Comma Separated Values (\*.csv)  
Bitmaps (\*.bmp)  
JPG files (\*.jpg)

6. 例: CSVファイルで保存したデータ


```

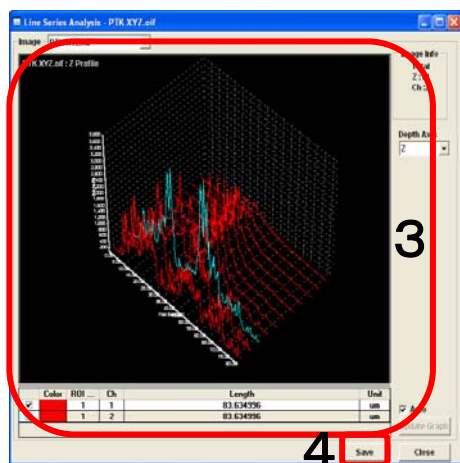
File Edit Format View Help
No1_02.tifimg.oib histogram
Intensity,Range: 0.000 to 4095.000
Ch1 - Frequency,range: 0.000 to 21.000
Ch2 - Frequency,Range: 0.000 to 92.000
Display Data,Total_Pos
2,0,0
Lambda,0.0
Ch,2,1 | 2
No.,Intensity,Ch1 - Frequency,Ch2 - Frequency
0,0,0.000,0.000
1,1,0.000,1.000
2,2,0.000,0.000
3,3,0.000,1.000
4,4,0.000,0.000
5,5,0.000,0.000
6,6,0.000,0.000
7,7,0.000,0.000
8,8,0.000,0.000
9,9,0.000,1.000
10,10,0.000,0.000
11,11,0.000,0.000
12,12,0.000,0.000
13,13,0.000,2.000
14,14,0.000,0.000
15,15,0.000,0.000
16,16,0.000,0.000
17,17,0.000,0.000
    
```

## 2D画像の解析 (Line Series Analysis)



1. 計測したい対象に対して直線を描きます

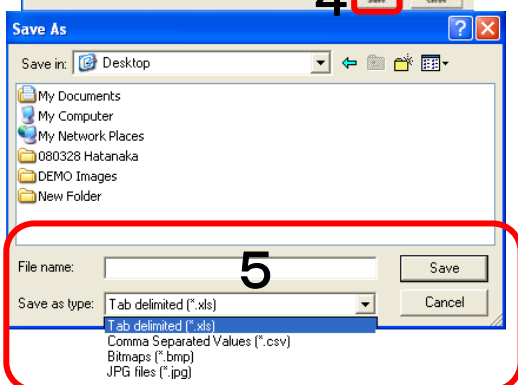
2.  Line Series Analysis をクリックします



3. ROI指定されたLine上の輝度のZ軸/時間に沿ったintensity変化を解析します。

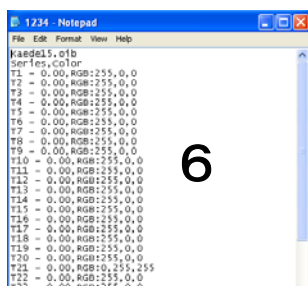
### ■■ Line Series Analysis の保存 ■■

4.  をクリックします。



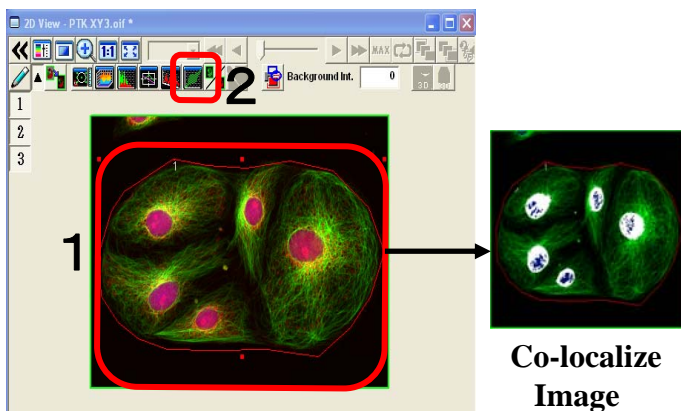
5. 保存形式を選択します。

Tab delimited (\*.xls)  
Comma Separated Values (\*.csv)  
Bitmaps (\*.bmp)  
JPG files (\*.jpg)



6. 例: CSVファイルで保存したデータ

# 2D画像の解析 (Co-localization)



1. 計測したい対象を左の画像のように ROI で囲みます

2. "Co-Localization" をクリックします。

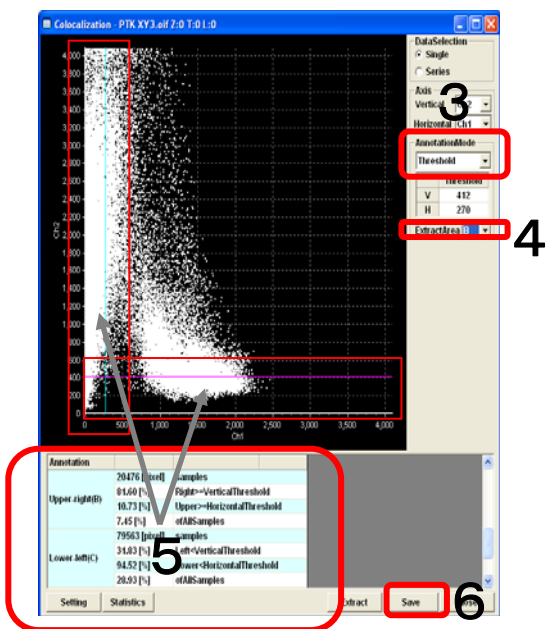
3. の **Annotation Mode** の **Threshold** を選択

4. "Extract Area" B を選択します。

5. プロット上で各Chの閾値 (赤で囲んだ 縦軸、横軸)、を動かすことによって設定 します。

コロライズされたピクセルが白色のプロットでオーバーレイ表示されます。

またコロライズされたピクセル数、全体のピクセル数に対する%が計測されます。



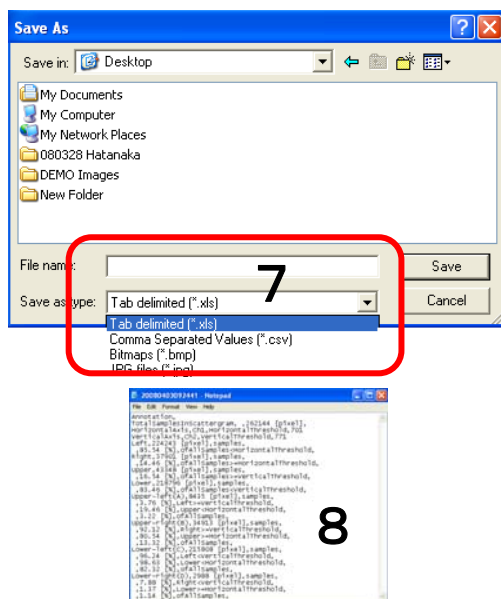
### ■■ Co-localization の保存 ■■

6. をクリックします。

7. 保存形式を選択します。

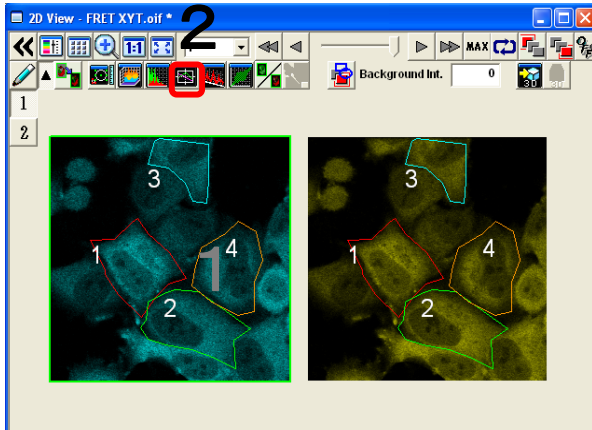
- 
- Comma Separated Values (\*.csv)
- Bitmaps (\*.bmp)
- JPG files (\*.jpg)

8. 例: CSVファイルで保存したデータ



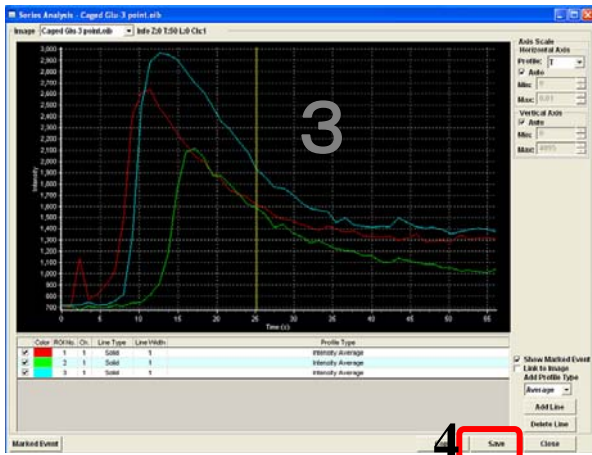


## 2D画像の解析 (Series Analysis)



1. 計測したい対象のIntensityの範囲をROIで設定します

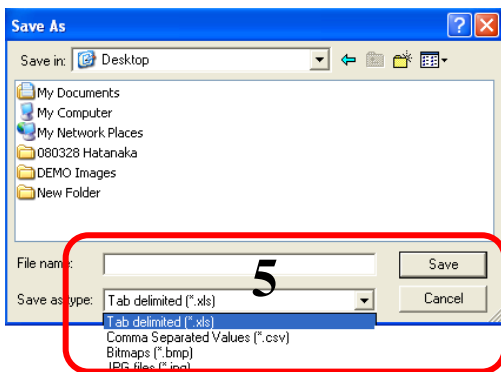
2.  "Series Analysis" をクリックします



3. "Series Analysis" のwindowが現れ、ROI指定された領域の時間軸(横軸)に沿ったintensity変化をグラフにプロットされます。

### ■■ Series Analysis の保存 ■■

4.  をクリックします。



5. 保存形式を選択します。

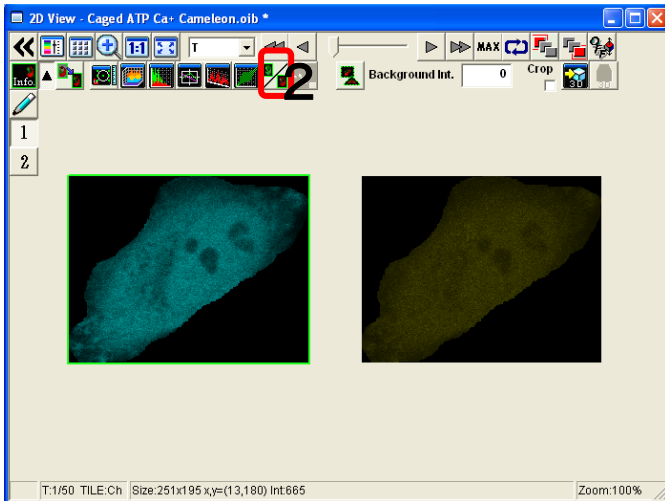
Tab delimited (\*.xls)  
Comma Separated Values (\*.csv)  
Bitmaps (\*.bmp)  
JPG files (\*.jpg)

6. 例: CSVファイルで保存したデータ


6

## 2D画像の解析(Ratio解析)

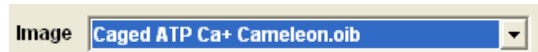
※ここではTimeSeries画像のRatio解析を行います



1. Ratio解析を行いたい画像を開きます。

2.  "Ratio/Concentration,, をクリックします。

3. Ratio解析する画像ファイルを選択します。



4. Ratio解析した画像の各Chの分子/分母を選択します。



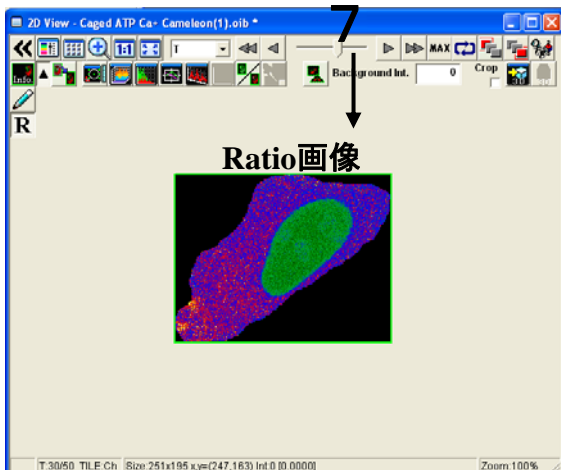
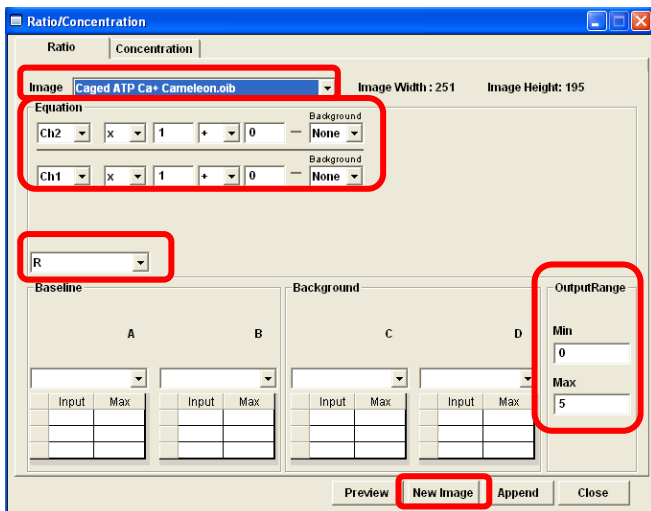
5. R (Ratio) を選択します。



6. Ratioの最大値、最小値を入力します。

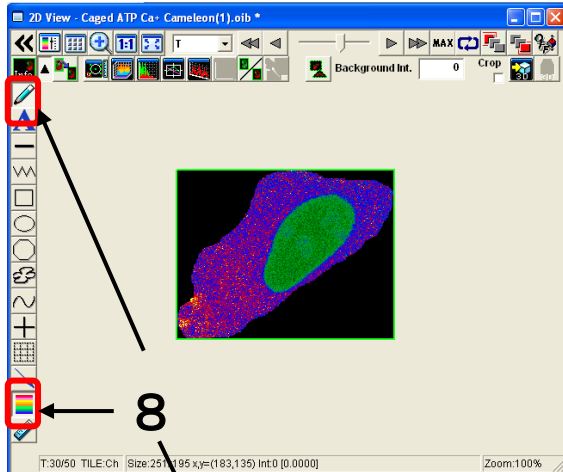


7.  "New Image,, をクリックしてRatio画像を作成します。



## 2D画像の解析 (Ratio解析)

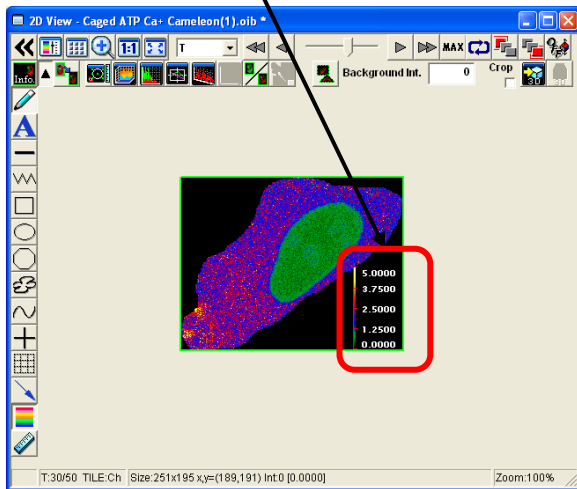
※ここではTimeSeries画像のRatio解析を行います



### 8. Ratio ColorBarの表示

 をクリックして  "ColorBar," を選択します。

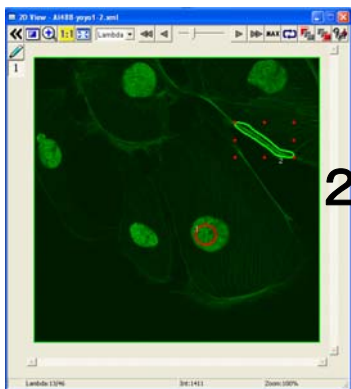
画面上に左クリックしながら任意のサイズのColorBarを表示させます。



## 2D画像の解析(蛍光分離 Unmixing) 各蛍光Dyeの場所がわかっている場合

近似した蛍光スペクトルをもつ蛍光Dyeが複数共存するXYL画像の中から、各蛍光Dyeの蛍光スペクトルを導き出し、その蛍光スペクトルをリファレンスにして蛍光分離画像を得る方法

サンプル例: 緑色蛍光(AlexaFluor488) + 緑色蛍光(YOYO-1)の二重染色



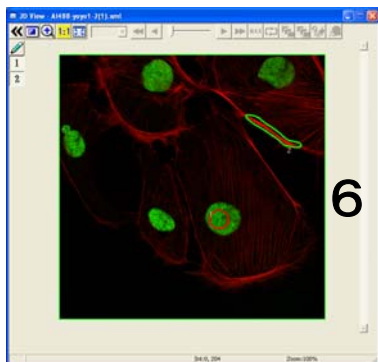
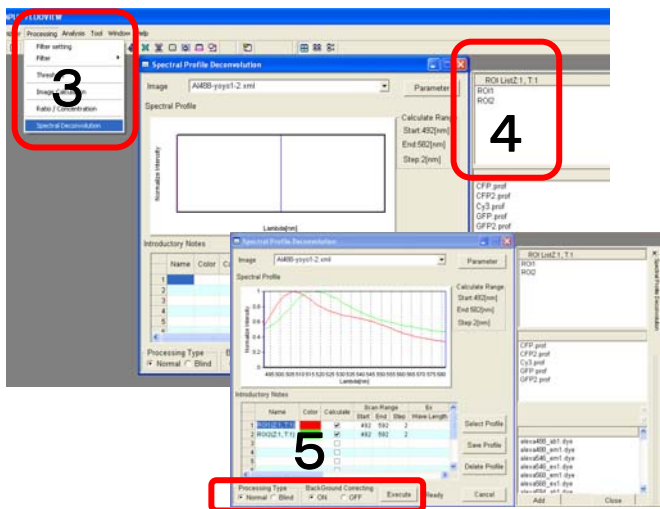
1. AlexaFluor488 + YOYO1の二重染色のXYL画像ファイルを開きます。
2. AlexaFluor488だけの部分と、YOYO1だけの部分をROIで囲います。

3. メニューバーのProcessingからSpectral Deconvolutionを選択します。

4. ROI1とROI2を各々ダブルクリックします。

5. Processing Typeが「Normal」になっていることを確認し、New Image をクリックします。

6. 蛍光分離された画像が得られます。



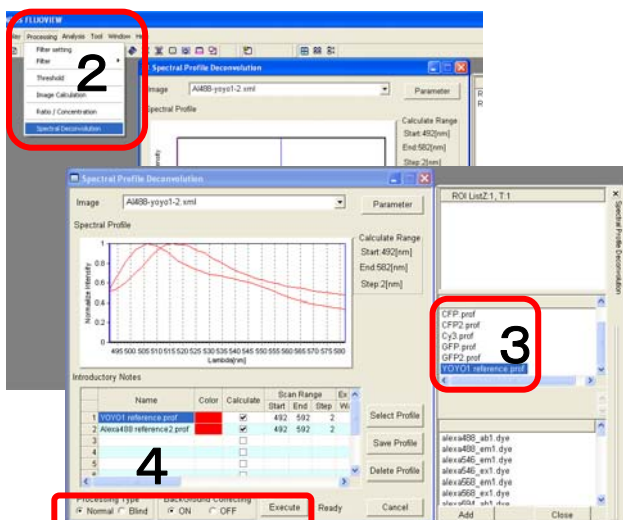
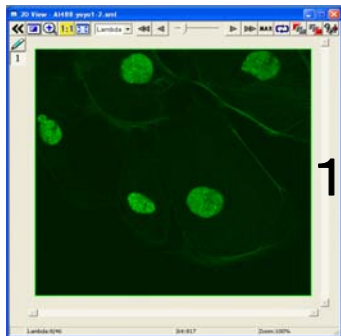
蛍光分離(Unmixing)した画像

蛍光分離 (Unmixing)後の画像の割り付けを示します。

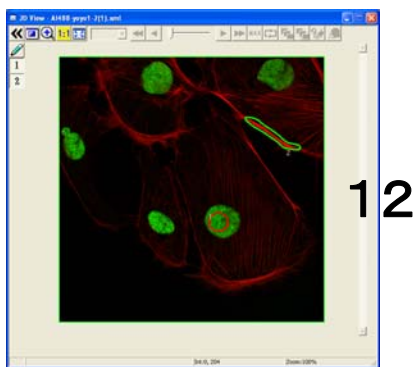
Introductory Notes				
	Name	Color	Calculate	S
1	ROI1(Z1, T:1)	Red	<input checked="" type="checkbox"/>	
2	ROI2(Z1, T:1)	Green	<input checked="" type="checkbox"/>	
3			<input type="checkbox"/>	
4			<input type="checkbox"/>	

# 画像の解析(蛍光分離 Unmixing)

## 登録済み蛍光スペクトルからの分離の場合



1. AlexaFluor488 +YOYO1の二重染色のXYL画像ファイルを開きます。
2. メニューバーのProcessingからSpectralDeconvolutionを選択します。
3. 蛍光スペクトルのデータベースから、AlexaFluor488とYOYO1(先に登録したもの)をダブルクリックします。
4. ProcessingTypeが「Normal」になっていることを確認し、**New Image** をクリックします。
5. 蛍光分離された画像が得られます。



蛍光分離(Unmixing)した後の画像

蛍光分離 (Unmixing)後の画像のChの割り付けを示します。

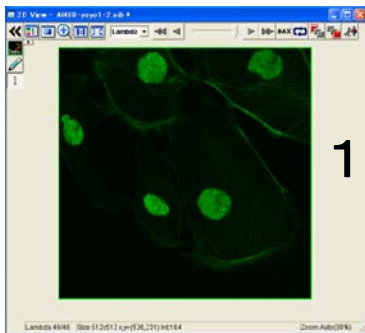
Introductory Notes				
	Name	Color	Calculate	S
1	ROI1(Z:1, T:1)	Red	<input checked="" type="checkbox"/>	
2	ROI2(Z:1, T:1)	Green	<input checked="" type="checkbox"/>	
3			<input type="checkbox"/>	
4			<input type="checkbox"/>	

# 2D画像の解析(蛍光分離 Unmixing)

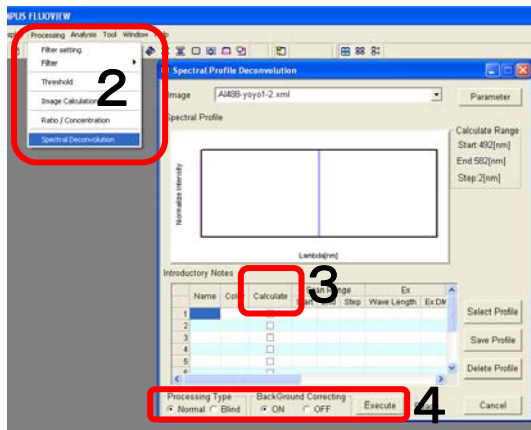
## 蛍光Dyeの種類の数しかわからない場合(Blind Unmixing)

近似した蛍光スペクトルをもつ蛍光Dyeが複数共存するXYL画像の中から、蛍光Dyeの種類の数だけをヒントに蛍光分離画像を得る方法

サンプル例: 不明な二種類の蛍光をもつサンプル



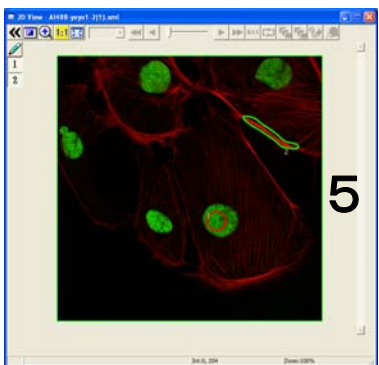
1. 不明な二種類の蛍光をもつサンプルのXYL画像ファイルを開きます。



2. メニューバーのProcessingからSpectralDeconvolutionを選択します。

3. Calculateのチェックボックスを2ヶ所クリックします。  
(3種類の蛍光Dyeがある場合は、3ヶ所クリックします)

4. ProcessingTypeが「Blind」になっていることを確認し、**New Image** をクリックします。



蛍光分離(Unmixing)した後の画像

5. 蛍光分離された画像が得られます。

蛍光分離(Unmixing)後の画像のChの割り付けを示します。

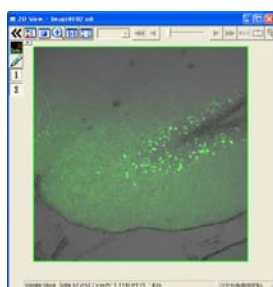
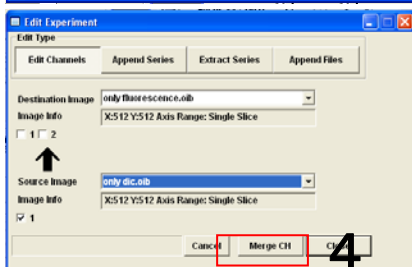
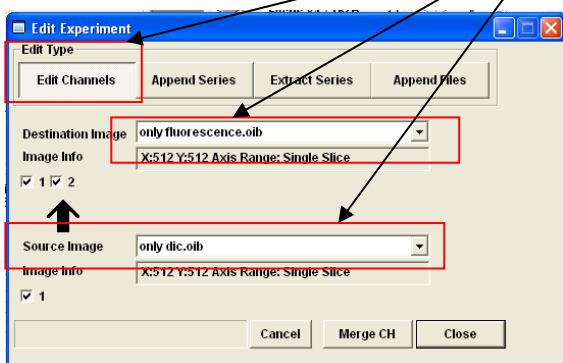
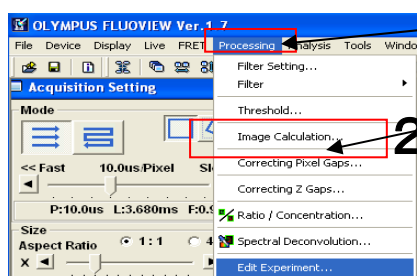
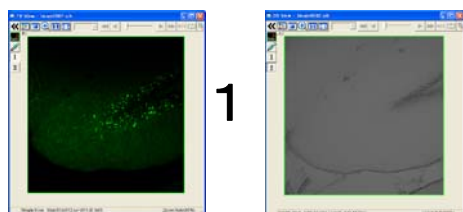
Introductory Notes				
	Name	Color	Calculate	S
1	R01(Z:1, T:1)	Red	<input checked="" type="checkbox"/>	
2	R02(Z:1, T:1)	Green	<input checked="" type="checkbox"/>	
3			<input type="checkbox"/>	
4			<input type="checkbox"/>	



## 2D画像の解析 (Edit experiment)

異なるファイル同士を1つのファイルとして編集することができます。

例: ここでは別々に撮影をした蛍光画像、微分干渉画像1つのファイルとして編集します。



1. 蛍光画像、DIC画像それぞれを別ファイルとして画像の取得を行い、ファイルを開いた状態にします。

2. **Processing** の **Edit experiment** を選択

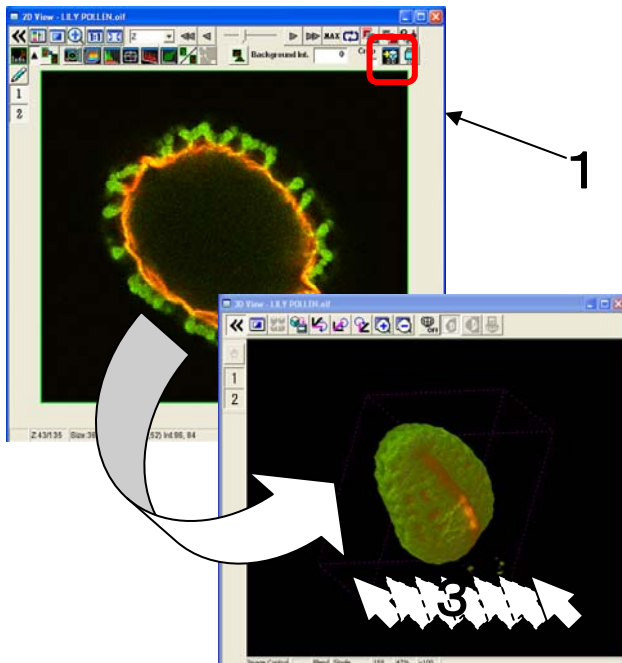
3. **Edit Channels** を選択し、**Destination Image**、**Source Image** に重ねあわせたいファイル(蛍光、DIC)を選択します。

※各Image Infoに  1  2 重ね合わせたいチャンネルにチェックをいれます。全てのチャンネルにチェックを入れると全てのmerge画像を1つのファイルで作成することができます。


4. **Merge CH** をクリックすると蛍光画像、DIC画像それぞれが1つのファイルとして編集された画像が作成されます。

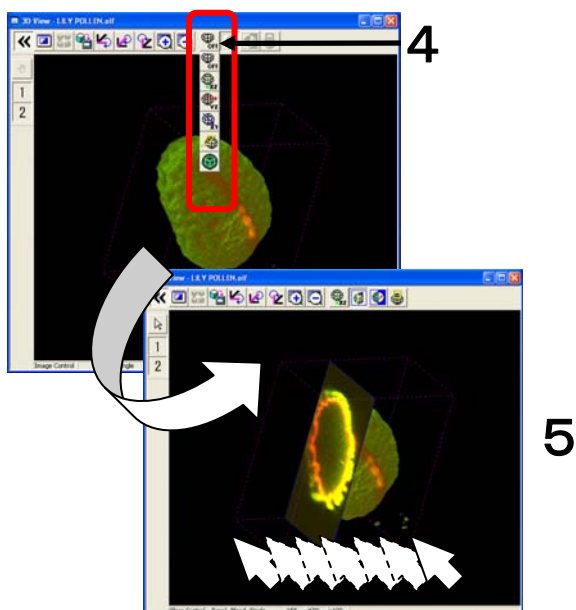
5. DICと蛍光をMergeした画像の一例です。

## 3D画像の構築(立体画像の再構築)






### 画像を任意の角度から観察します

1. 2D View-(ファイル名)画像の  をクリックします。
2. 3D Viewが構築されます。
3. 画像上でマウスをドラッグしながら動かし、任意の角度から観察します。

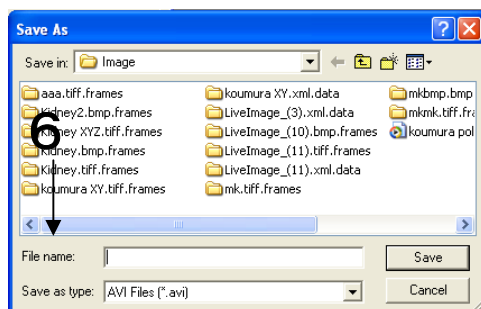
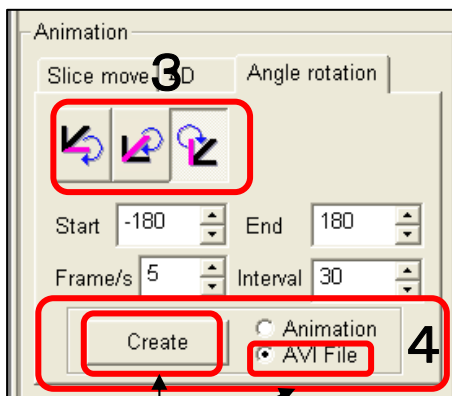
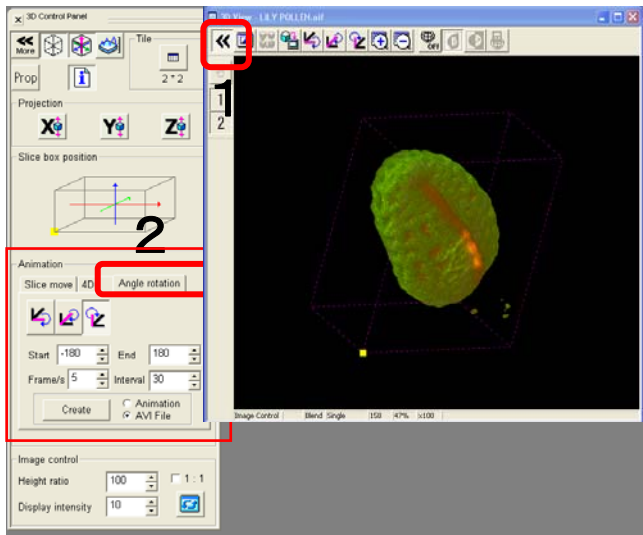


### 画像の任意の断面を観察します

4.  をクリックし、  
 を選択します。
5. 画像上で、マウスをドラッグしながら左右に動かして、任意の縦断面を観察します。
6.  をクリックして2D画像を作成することができます。

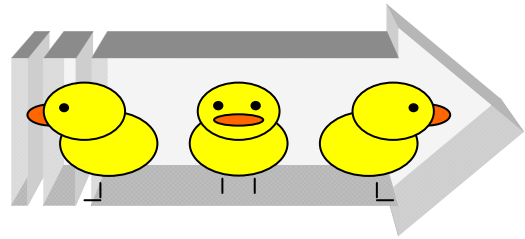



## 3D画像の解析(3D立体画像のファイル作成)



回転ファイルを動画像として保存する場合は、以下の方法で3D構築を行います。

例として、画像を180°回転させてみましょう。



1.  ボタンをクリックします。

2. Angle Rotationタブをクリックします。

3. 回転軸を選択します。

4. 回転角度を入力します。

Start = 何度から / End = 何度まで  
Frame/s = 回転速度 / Interval = 何度ずつ

5. AVI Fileを選択し、  
Createをクリックします。

6. ファイル名を入力し、  
Saveをクリックします