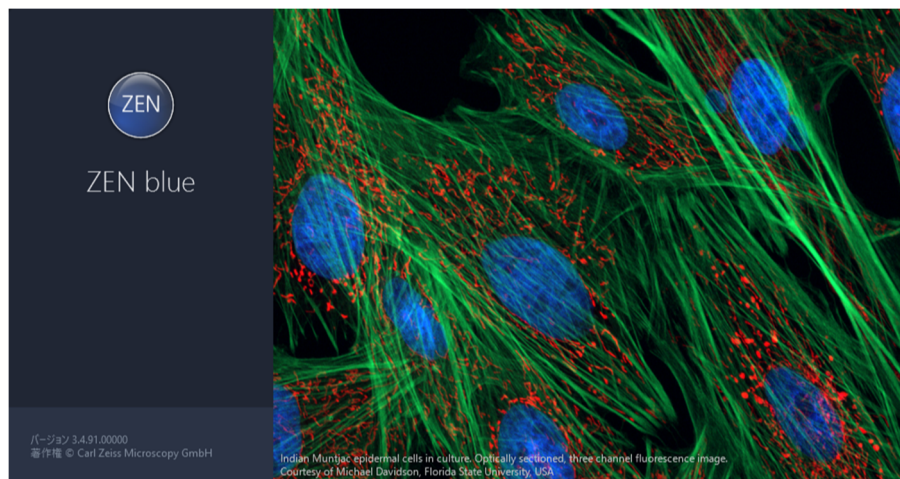




Seeing beyond

ZEN blue edition Quick Start Guide of Axioscan 7.



Axioscan 7 の使用方法の流れ

システムの起動方法 (P3)



スライドのセット (P11)



スライドスキャンの設定 (P15)



サンプル検出ウィザード (P16)

(プレビュー後のスキャンエリアの編集)



スライドスキャンの実行 (P15)



汎用フォーマットに画像を変換(エクスポート) (P20)



スキャンプロファイルの調整 (P23)

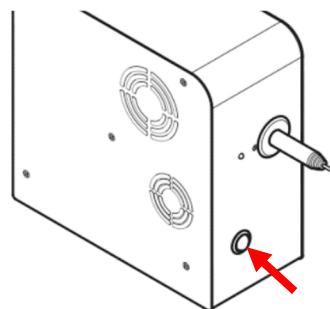
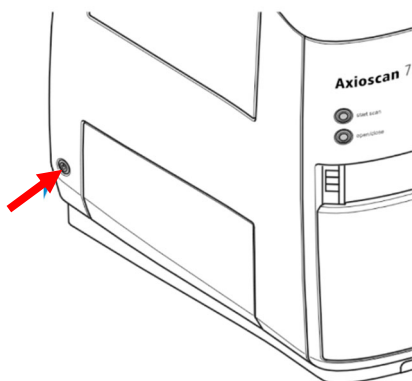
(アドバンススキャンプロファイルエディター)




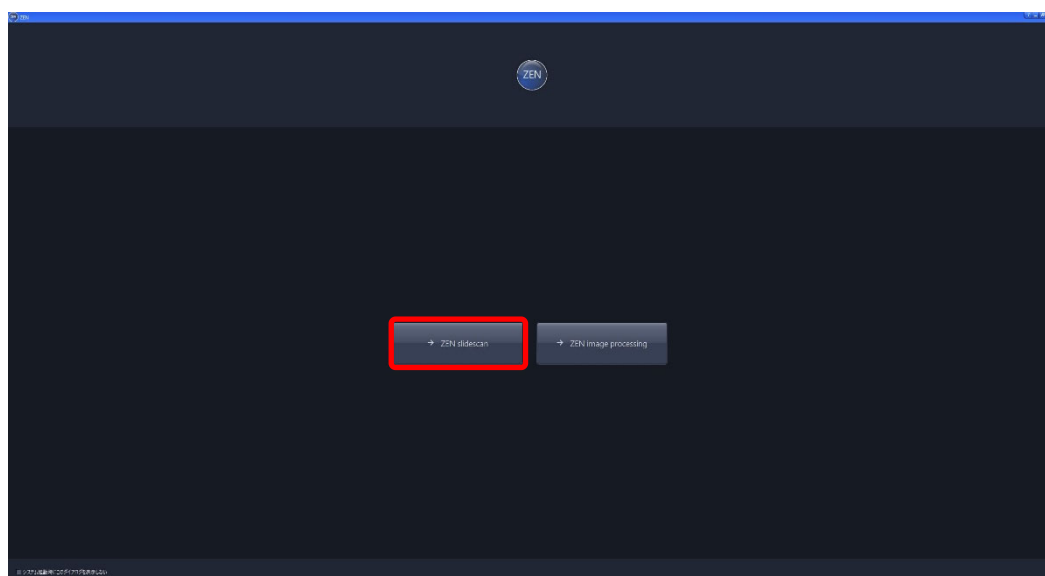
システムの終了方法 (P43)

1. システムの起動方法

- ① 集中電源タップの主電源を ON にします。
- ② Axioscan の前面左下の電源ボタンを押して ON にします。

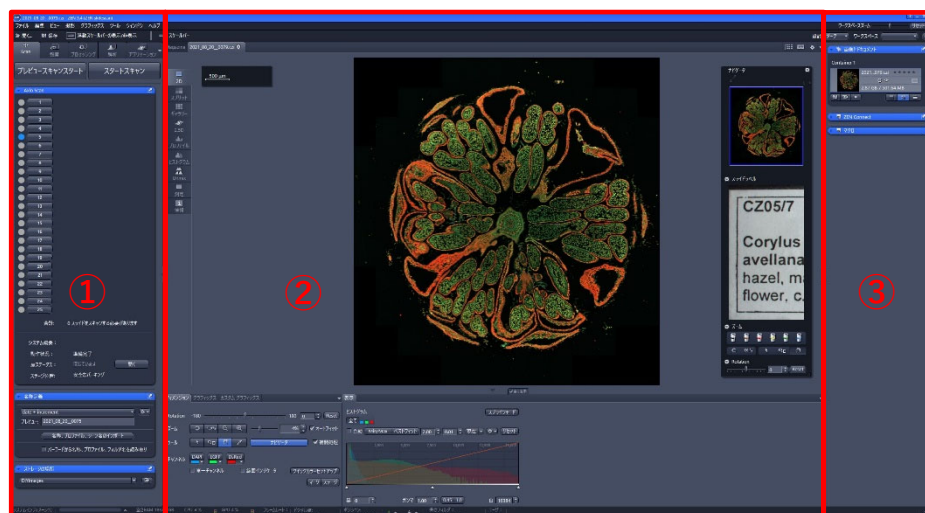


- ③ 蛍光を使用する場合は光源の電源を ON にします。※ Colibri 7 では不要です
- ④ PC を起動し Zeiss ユーザーでログインします。
- ⑤ デスクトップ上の  “ZEN”アイコンをダブルクリックします。
- ⑥ “アプリケーションの開始”ウィンドウが表示されたら、“ZEN slidescan”をクリックします。



2. ZEN 3.4 slidescan プログラムインターフェース

ZEN 3.4 slidescan のインターフェースは、①左ツールエリア、②センタースクリーンエリア、
③右ツールエリアの 3 つのワークエリアに区切られています。



① 左ツールエリア


顕微鏡の制御や画像取得のための操作を行います。Scan、観察、画像処理、解析等があります。

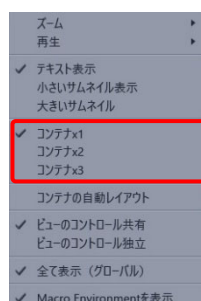
② センタースクリーンエリア

Magazine タブまたは取得した画像が表示されます。

Magazine タブではスキャンするスライド等の設定を表示することができます。

一度に 3 枚までの画像を同時に表示することができます。

センタースクリーンエリア右上の  をクリックし、“コンテナ x1”、“コンテナ x2”及び“コンテナ x3”より表示する画像数を選択できます。



③ 右ツールエリア

開いている画像をサムネイルで表示します。

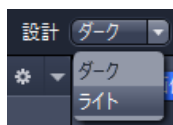
ワークスペースズーム

ウィンドウ右上のスライダを用いて、全体の表示ズーム比率を変えることができます。“リセット”ボタンで初期設定に戻すことができます。

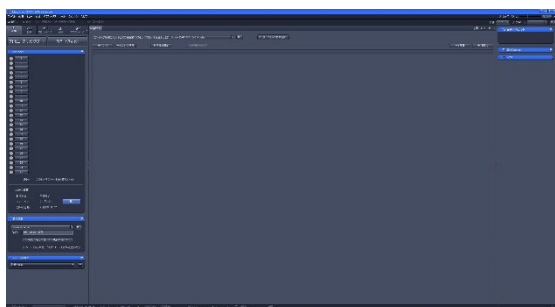


メニュー画面配色（ダーク/ライト）の選択

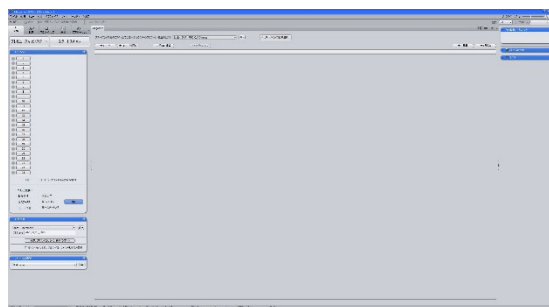
ウィンドウ右上のプルダウンメニューより“ダーク”か“ライト”のメニュー画面配色を選択できます。



メニュー画面：ダーク

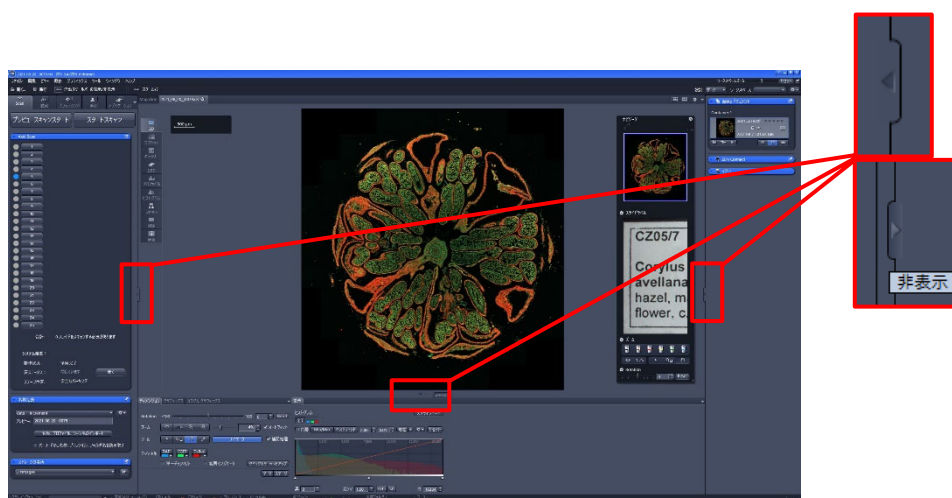


メニュー画面：ライト



ツールエリアの表示/非表示

矢印をクリックして、左ツールエリア、センターエリア下のビューコントローラ、右ツールエリアを表示/非表示の切替ができます。



全て表示モード

ツールで“☐全て表示”にチェックを入れると、設定できる項目が全て表示されます。これによりさらに詳細な設定が可能になります。(例はカメラツール)



※誤った設定変更によって撮影等が正しく行えなくなる場合もありますのでご注意ください！

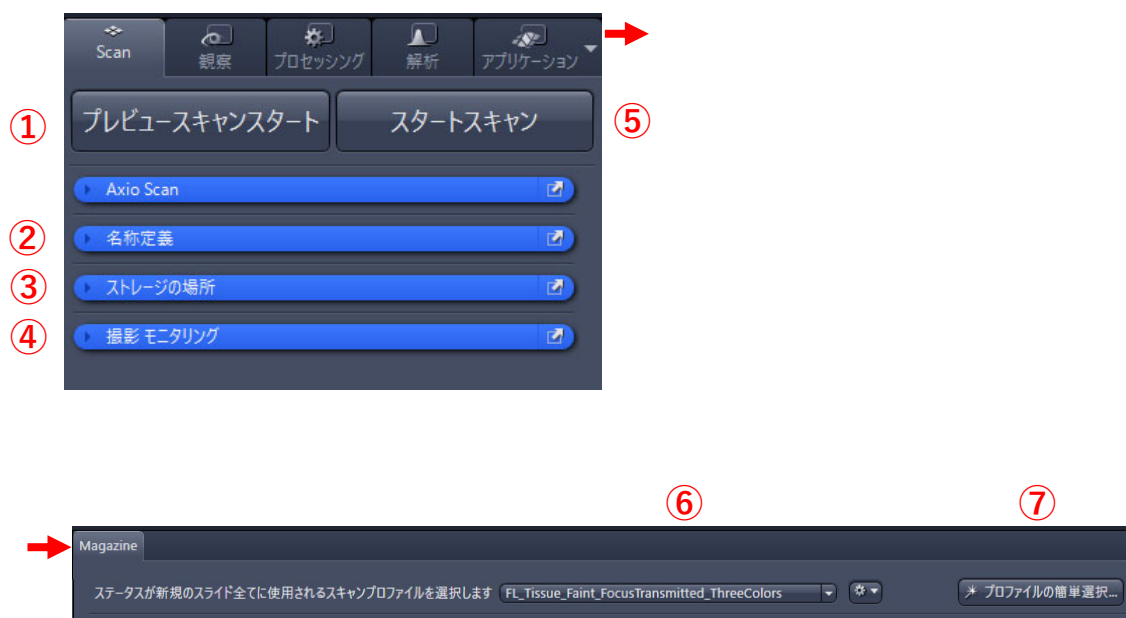
ワークスペースの設定

ウィンドウ右上のワークスペースの設定で、ワークスペースのレイアウトを自分だけのレイアウトとして保存することができます。



3. Scan コントロール

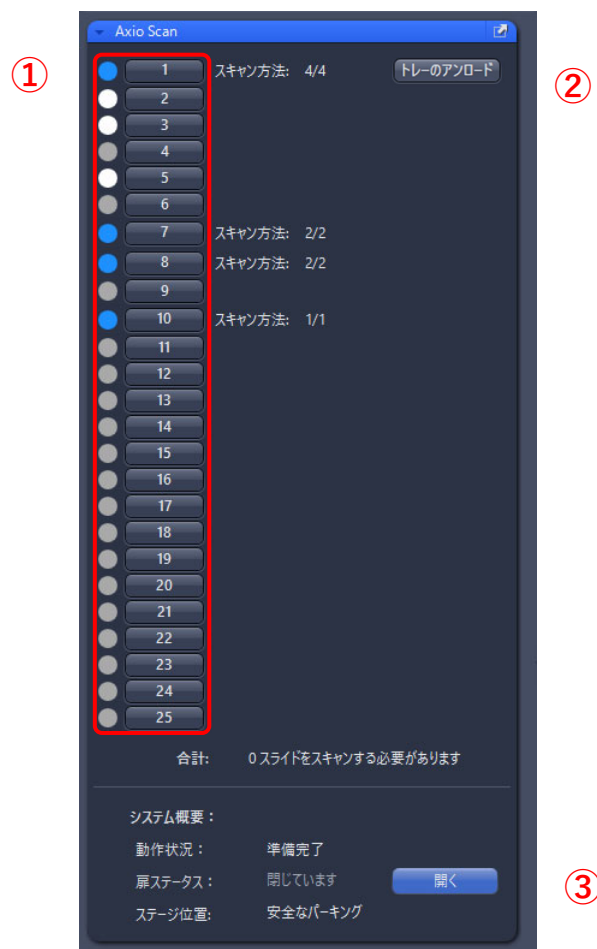
Scan タブでは Axioscan のコントロールができます。



- ① プレビュースキャンスタート
選択したスライドのプレビューをスタートします。
- ② 名称設定ツール
スキャンしたスライドの名称のフォーマットの選択と設定ができます。
- ③ ストレージの場所ツール
AxioScan でスキャンしたスライドの画像ファイルはここで設定した保存先に自動保存されます。
- ④ 撮影モニタリングツール
スキャン中の撮影状況のモニタリングに関する設定ができます。
- ⑤ スタートスキャン
選択したスライドのプレビューとスキャンをスタートします。
- ⑥ ステータスが新規のスライド全てに使用されるスキャンプロファイルを選択します。
挿入されたスライドはここで初期値として設定されたスキャンプロファイルが自動選択されます。
右側の [設定] をクリックすることで選択したプロファイルの編集をすることができます。
- ⑦ プロファイルの簡単選択...
ウィザード形式でのスキャンプロファイル設定の作成ができます。

AxioScan ツール

スライドマガジンやトレイ等の選択や移動ができます。



① トレー番号

トレイの番号とステータスを表示しています。

ダブルクリックすると現在ロードされているトレイを戻して選択したトレイがロードされます。

② トレーのアンロード

現在ロードされているフレームをトレイに戻します。

③ システム概要：

動作状況、扉ステータス及びステージ位置が表示されます。

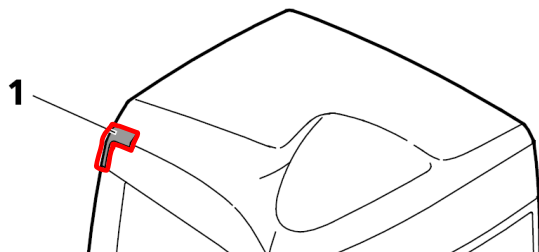
扉ステータスの開く/閉じるの状態でクリックをして制御できます。

ステータスランプの種類と意味

AxioScan ツールや本体で使用されるステータスランプの種類と意味は以下の通りです。

色	状態	システムの動作	表示の意味
ブルー	点灯	停止中	フレームがマガジンに挿入されている状態でスライドはまだ処理されていません
ブルー	点滅	停止中	フレームがステージ上にロードされていてスライドを処理している
ブルー	点滅	動作中	システムが動作している
グリーン	点灯	停止中	フレームがマガジンに挿入されていてスライドの処理が終了している
グリーン	点滅	停止中	フレームのスライドのプレビューが終了している
オレンジ	点灯	停止中	フレームが警告の状態であり、システムがまだスライドの処理している
オレンジ	点滅	停止中	マガジンに挿入したフレームのタイプが認識されていない
オレンジ	点滅	動作中	フレームがステージ上にロードされている
レッド	点滅	停止中	ステージにロードされているフレーム番号の位置に誤って新たにフレームを挿入した場合
レッド	点灯	停止中	エラーが起こっている。エラーが解消されるまでシステムは処理を停止中
グレー	点灯	停止中	フレームが未挿入な状態
ホワイト	点灯	停止中	フレームが挿入されているがスライドの存在が認識されていない
無し	オフ	停止中	スイッチが切られている

※AxioScan 本体のステータスランプの種類と意味は以下の通りです

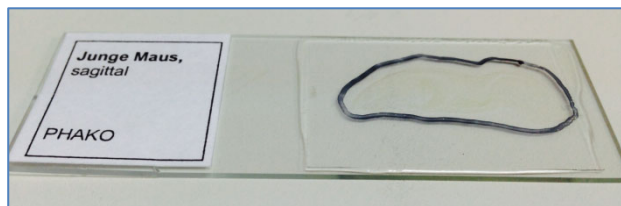


色	状態	表示の意味
ブルー	フラッシュ	デバイスを初期化またはシャットダウン動作中
グリーン	連続点灯	スタンバイ中
グリーン	脈動点滅	スライド処理作業実行中
グリーン	フラッシュ	一時停止中
オレンジ	脈動点滅	警告ステータスが発生しているがスライドでの処理中。 画面での警告表示を要確認
レッド	脈動点滅	エラー発生中。エラーを修正されるまで、デバイスは スライド処理作業が実行不可
ホワイト	無し	スイッチが切られているか、スタンバイモード

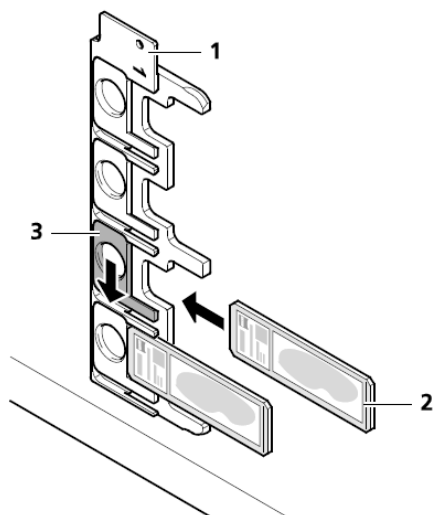
4. スライドのセット

スライドの事前準備

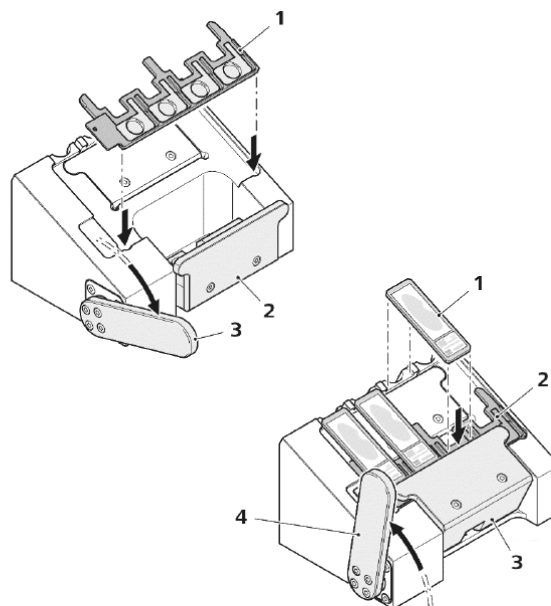
HE 染色サンプル等の明視野サンプル等で染色具合が一定な場合は組織の色味から自動認識させることも可能ですが、マジックペン等で囲っておくことで一定の濃さのラインによって明視野・蛍光サンプルを問わずサンプルエリアの自動認識が容易になります。



- ① マウンティングフレームにスライドをセットします。



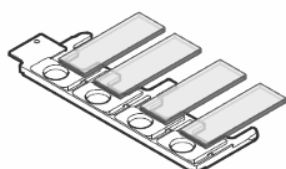
※マウンティングエイドを使用する場合



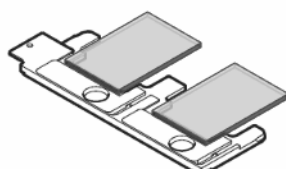
※対応するスライドに関して

AxioScan では数種類のスライドに対応しています。

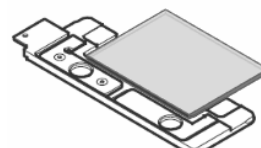
下記にマウンティングフレームの種類と対応しているスライドのサイズ及び厚みに関する情報を記しますので参考にして下さい



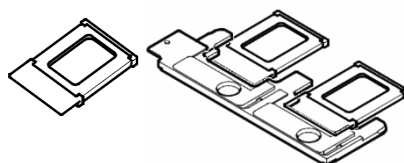
マウンティングフレーム
4スライド 76x26 mm
(432337-9020-000)



マウンティングフレーム
2スライド 76x52 mm
(432337-9030-000)



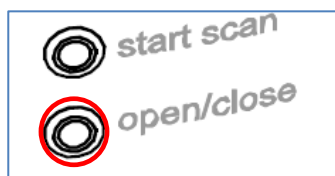
マウンティングフレーム
1スライド 102x76 mm
(432337-9080-000)



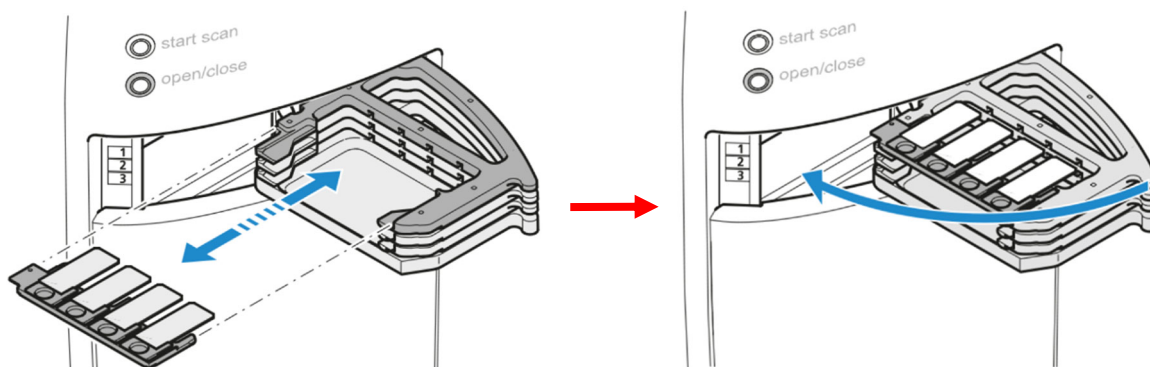
インサートスライド24x48 mm
マウンティングフレーム2スライド用 (432337-9090-000)

品番	スライドサイズ	長さ	幅	厚み
432337-9020-000	26mm x 76mm	73.5 mm - 76.5 mm	24.0 mm -26.25 mm	0.8 mm - 1.3 mm
432337-9030-000	52mm x 76mm	73.5 mm - 76.5 mm	50.0 mm -52.0 mm	0.8 mm - 1.3 mm
432337-9080-000	102mm x 76mm	99.0 mm - 106.0 mm	73.5 mm - 76.5 mm	0.8 mm - 1.3 mm
432337-9090-000	24mm x 48mm	46.0 mm - 48.2 mm	26.0 mm - 28.2 mm	1.0 mm - 1.5 mm

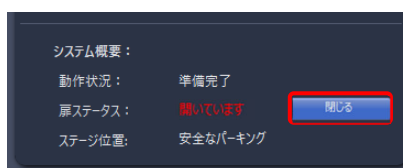
- ② Axioscan 本体の[open/close]ボタンを押すか、ZEN の Scan タブの Axioscan ツールでアイコンボタン[開く]をクリックします。



- ③ トレーを水平にゆっくり引き出してフレームをセットして、静かにトレーを戻します。



- ⑤ Axioscan 本体の[open/close]ボタンを押すか、ZEN の Scan タブの Axioscan ツールでアイコンボタン[閉じる]をクリックします。

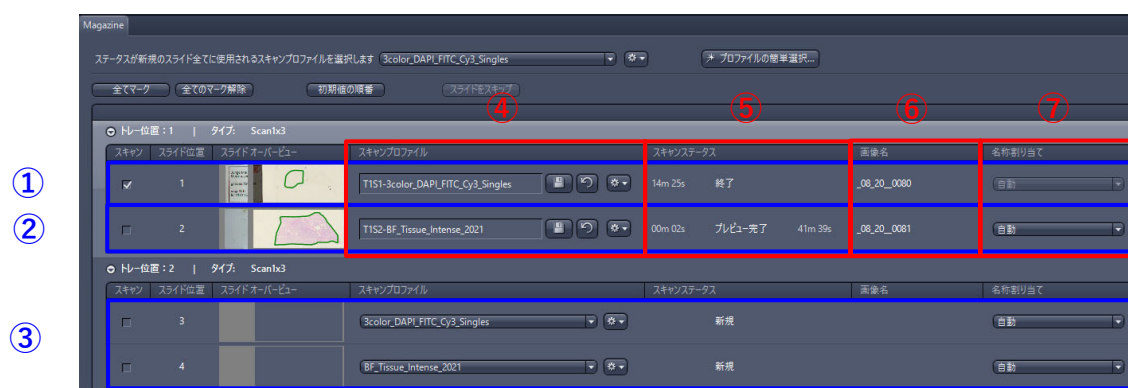


- ⑥ マガジン内のスライドポジションを自動認識し[Magazine]タブにスライド位置が表示されます。



※プレビューが完了している状態のスライドは扉を開けてトレーを引き出した瞬間にリセットされ
プレビュー画像は消去されます。(スキャン済みの画像は自動保存されます)

"Magazine"タブの概要

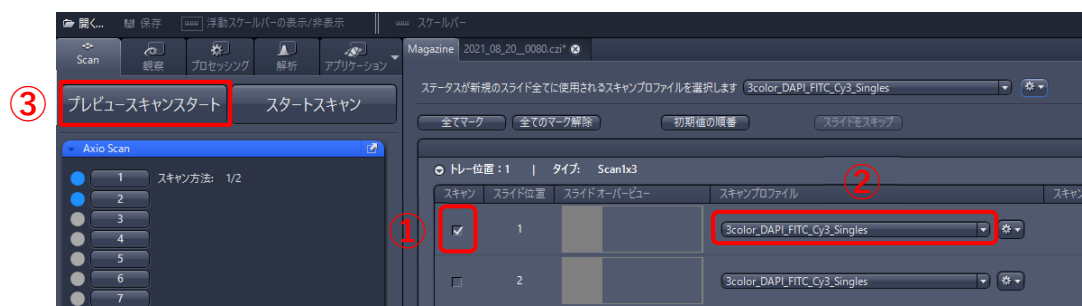


- ① スキャンが終了したスライド
スキャンプロファイルには保存及びリセットアイコン、スキャンステータスに終了、
名称割り当てがグレーアウトで表示
- ② プレビューが完了したスライド(未スキャン)
スキャンプロファイルには保存及びリセットアイコン、スキャンステータスが"プレビュー完了"の表示
- ③ 新規スライド(何も操作していない)
スキャンステータスが"新規"の表示
- ④ スキャンプロファイル名 (スライドをスキャンする設定パラメータのセット)
使用するプロファイル名が表示
- ⑤ スキャンステータス
現状の表示
- ⑥ 画像名
自動もしくは手動で設定された画像名(スライド)が表示
- ⑦ 名称割り当て
自動もしくは手動でのスライド名称割り当ての選択

5. スライドスキャンの設定 (既存のプロファイルを使用する場合)

- ① スキャンするスライドにチェックを入れます。
- ② “スキャンプロファイル”の項目で任意のプロファイルを選択します。
- ③ 必要に応じて“プレビュースキャンスタート”をクリックしてプレビューを作成します。

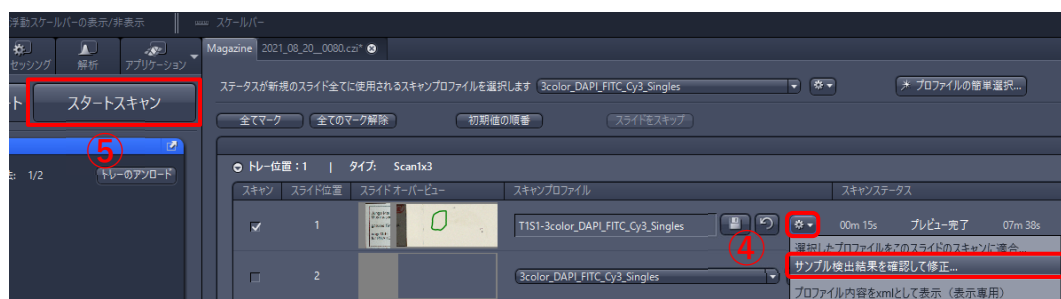
※スキャンエリアの自動認識が問題無い場合は⑤から進みます。



- ④ 必要に応じて“スキャンプロファイル”の項目の歯車アイコンのプルダウンメニューを開いて“サンプル検出結果を確認して修正...”をクリックしてスキャンエリアの編集を行うことができます。

※次ページの“サンプル検出ウィザード”をご参照下さい

- ⑤ “スタートスキャン”アイコンをクリックしてスキャンを開始します。



- ⑥ スキャンの終了後にダブルクリックして画像を開きます。

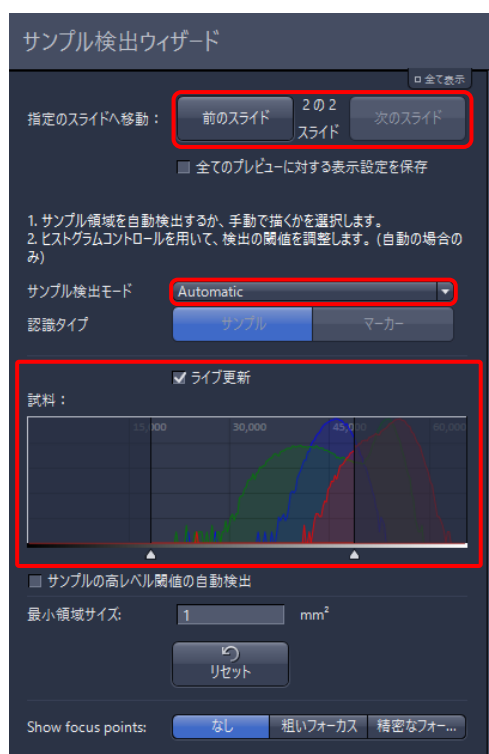


6. サンプル検出ウィザード (プレビュー後のスキャンエリアの編集)

マジックペン等のマーカを使用しない場合や、薄い染色の明視野サンプルや蛍光サンプル等の様に組織の自動認識が難しい場合、“Manually”での領域設定の方法で対応できます。

1) サンプル検出ウィザード基本画面

① サンプル検出モード(Automatic 及び Interactive)



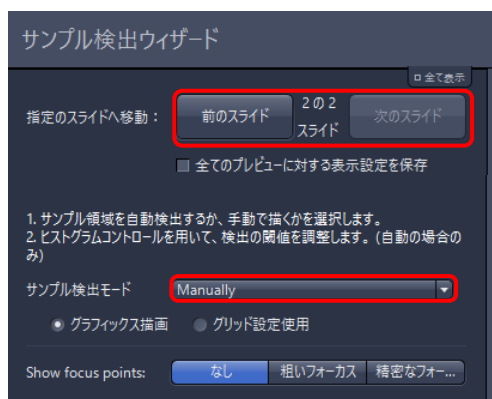
複数のスライドをプレビューした場合は次または前のスライドに移動します。

Automatic 及び Interactive

プレビュー画像のヒストグラムで閾値を設定してスキャンエリアを設定することができます。
【8.スキャンプロファイルの調整】の
【6)組織検出の設定】をご参照下さい。(P28)

② サンプル検出モード(Manually)

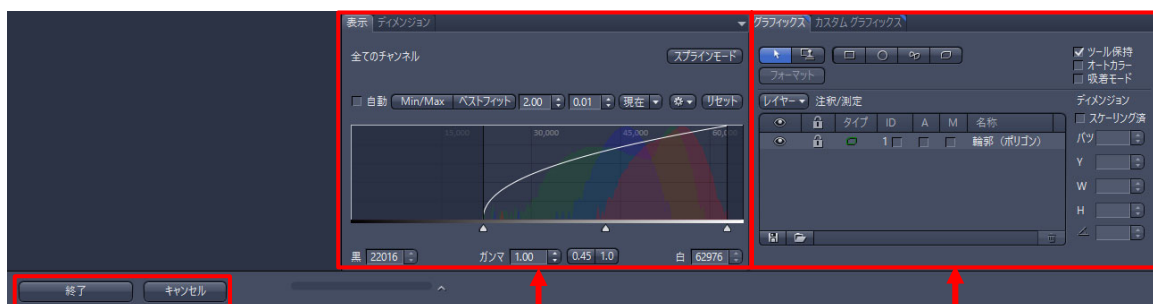
“Manually”では直接オーバービュー画像上で直接領域を設定する“グラフィックス描画”か“グリッド設定使用”の何れかを使用してスキャンする領域を設定します。



複数のスライドをプレビューした場合は次または前のスライドに移動します。

Manually

※ “グリッド設定使用”を選択した際は描画するオブジェクトの設定メニューが表示されますので数値等を入力後“作成”をクリックします



サンプル検出ウィザードの終了
(自動保存)またはキャンセルします。

注釈ツールを使ってスキャンエリアの編集が可能です。
※【7.取得画像の調整】の【2)注釈の追加】を参考に
(P19)

プレビュー画像のコントラストを調整することが可能です。

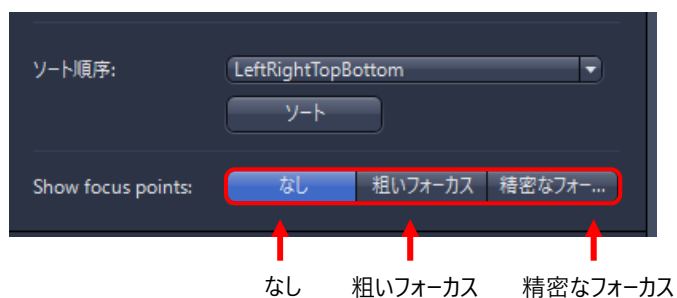
※【7.取得画像の調整】の【1)取得画像の明るさ・コントラスト・ガンマ調整】を参考に
(P19)

2) "Show focus points:"に関して

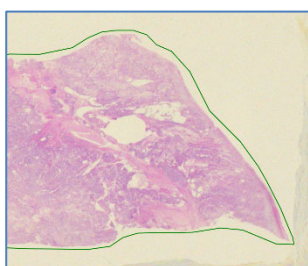
プレビュースキャンで認識されたスキャン領域ではプロファイルで設定されている "粗いフォーカスマップ"と "精密なフォーカスマップ" に基づいたフォーカスポイントが表示されます。

必要に応じて、ポイントの位置調整と増減が可能です。

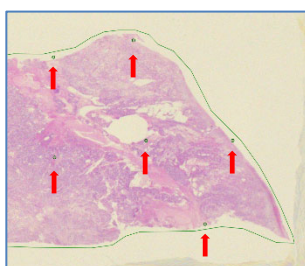
※初期に表示されるフォーカスポイント数は設定によって異なります



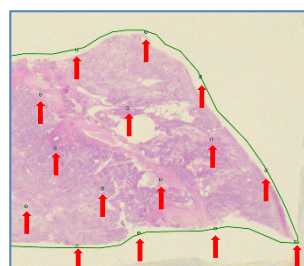
【なし】



【粗いフォーカス】



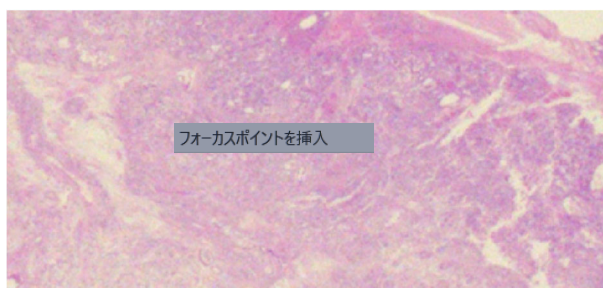
【精密なフォーカス】



※フォーカスポイントの位置調整は、目的のポイントをクリックして選択後任意の位置をクリックすることで可能です。

ポイントの減数は目的のポイントをクリック後、キーボードで"Delete"を押します。

ポイントの増数は画面上で右クリックして表示される "フォーカスポイントを挿入"を選択します。



7. 取得画像の調整

1) 取得画像の明るさ・コントラスト・ガンマ調整

画像下のディスプレイタブで取得画像の明るさ・コントラスト・ガンマの調整ができます。

チャンネル選択で“全て”を選択し、すべてのチャンネルを自動調整で同時に調整することもできます。

また、各チャンネルで個別に調整することもできます。

チャンネル選択 → 自動調整 →

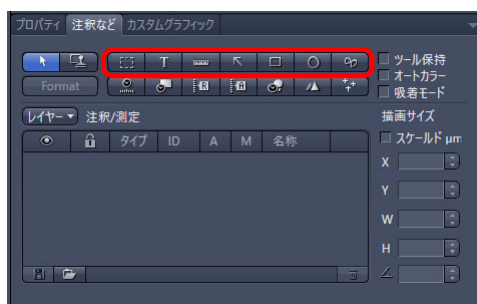
初期設定にリセット

コントラスト(黒) ガンマ 明るさ(白)

2) 注釈の追加

画像下の注釈等のタブより、スケールバー等の注釈を画像に追加することができます。

Axioscan ではサンプル検出ウィザードでプレビュー画像上でのスキャン領域描画に使用します。



	ROIを描画
	テキストを描画
	スケールバーを挿入
	矢印を描画
	四角形を描画
	円を描画
	ベジェ曲線を描画

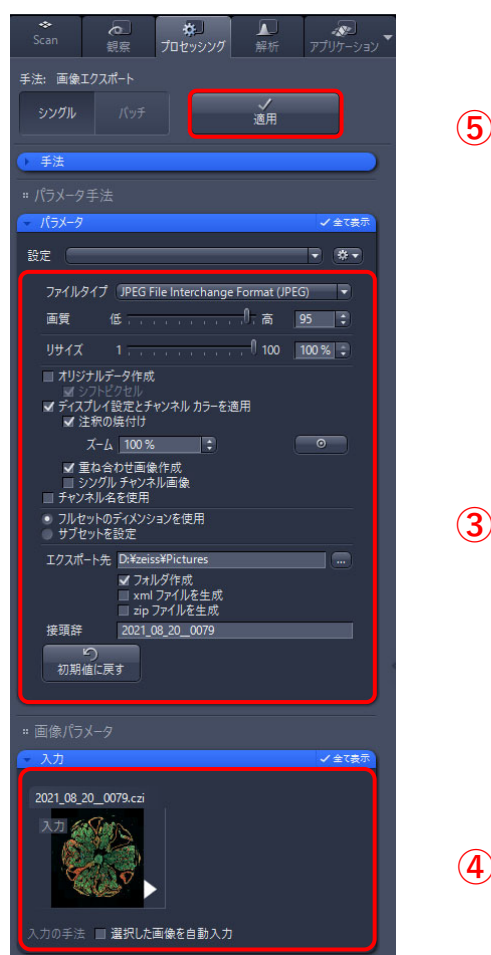
画像上の注釈を右クリックし、Format Graphical Elements を選択すると、注釈の色や線、線の太さを変更することができます。



8. 汎用フォーマットに画像を変換（エクスポート）

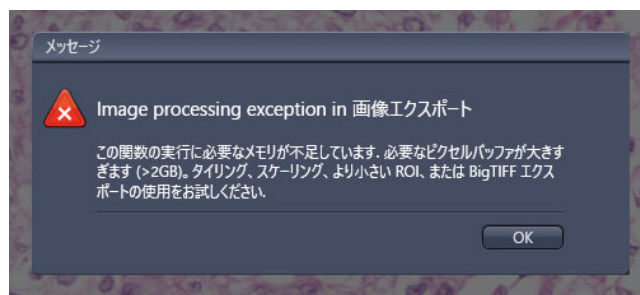
1) シングル画像を汎用フォーマットに変換

- ① 汎用フォーマットに変換したい画像を開きます。
- ② メニューでファイル - エクスポート/インポート - エクスポートを選択するか、“プロセッシング”タブで手法ツールより、エクスポート/インポートを選択し、さらに画像エクスポートを選択します。
- ③ パラメータより、ファイル形式、条件及びエクスポート先等を指定します。
- ④ 入力ツールより、汎用フォーマットに変換する画像を選択します。
※入力ツールにある“全て表示”をクリックし、“☒ 選択した画像を自動入力”とすることで
選択した画像が自動で入力されるようになります
- ⑤ [適用] ボタンをクリックし、画像を汎用フォーマットに変換します。



2) 適用後にエラーメッセージが表示された場合

特に Axioscan 7 では広いタイリングイメージングとなり、取得した画像(元画像が 30000 x 30000 ピクセル超)サイズが非常に大きいため、選択された画像フォーマットや御使用の PC 環境によって“適用”を実施後にメッセージが表示され、エクスポートが完了しないことがあります。



その様な場合は、

- ① リサイズを下げる(100%→30%)
- ② 画像の一部を ROI で切り出す
- ③ フォーマットを“BigTIFF”にする

等を試すことをお勧めします。

詳細なパラメータ設定

パラメータツールにある“全て表示”をクリックすると、より詳細なパラメータ設定が可能です。

画質	JPEG と WDP のみ。低い値に設定するとファイルサイズを小さくすることができますが、画質も低くなります。
リサイズ	画像サイズを設定します。
8 ビットに変換	TIFF、PNG、WDP のみ。画像を 8 ビットに変換します。
圧縮	TIFF と BigTiff のみ。圧縮方法を選択することができます。
オリジナルデータ作成	オリジナルデータを作成します。ディスプレイカーブとチャンネルカラーはオリジナルの表示になります。
ディスプレイ設定とチャンネルカラーを適用	ディスプレイ設定とチャンネルカラーを変更した場合、その変更を画像に反映させます。
注釈の焼付け	スケールバー等の注釈を画像に焼付けます。
重ね合わせ画像作成	マルチチャンネル画像のみ。重ね合わせ画像を作成します。
シングルチャンネル画像作成	マルチチャンネル画像のみ。チャンネルごとのカラー画像を作成します。
フルセットのディメンジョンを使用	多次元イメージの場合、全ての画像をエクスポートします。
サブセット	多次元イメージの場合、チャンネルやタイムポイント等エクスポートする画像サブセットを選択できます。
エクスポート先	エクスポート先を指定します。
フォルダ作成	フォルダを作成し、そのフォルダ内に画像を保存します。
xml ファイル作成	メタデータを含む xml ファイルを作成します。ZEN2011 で画像を開いた際、.czi フォーマットと同様に画像取得時の情報やスケールデータ等が表示されます。
zip ファイル作成	xml ファイルを含む zip ファイルを作成します。
接頭辞	ファイル名の接頭辞を編集することができます。
初期値に戻す	各パラメータを初期値に戻します。

9. スキャンプロファイルの作成及び調整に関して

新規にスキャンプロファイルを作成する場合は、初めに“プロファイルの簡単選択...”をクリックして開始される“スマートスキャンプロファイル選択ウィザード”を使用します。

既にあるスキャンプロファイルを変更する方法が簡単なので【13)プロファイルの変更方法等】を参考(P42)に“名前を付けて保存”で別名保存して“アドバンススキャンプロファイルエディター”で調整して下さい。

※実際のスライドがセットされた状態で作業をすることをお勧めします

1) プロファイルの簡単選択...

新規作成では明視野、蛍光及び偏光試料の設定を作成することが可能ですが

ハードウェアで対応する部品が組み込まれていない場合、エラーとなるためプロファイルは作成できないので御注意下さい。

また選択ウィザード中の“コントラスト手法(明視野・蛍光・偏光共通)”、“サンプルタイプ(明視野・蛍光・偏光共通)”、“染色特性(明視野)”、“光照射の安定性(蛍光)”、“対比染色による準備(蛍光)”、“偏光のタイプ(偏光)”及び“サンプルコントラスト(偏光)”に関しては、完成後に変更できません。

- ① “Magazine”タブの上部にある“プロファイルの簡単選択...”をクリックします。



- ② “スマートスキャンプロファイル選択ウィザード”が表示されるので、ウィザードに従って各項目の内容を選択して説明に従って、最初に“コントラスト手法を選択”で任意の手法を選択し次へ進みます。



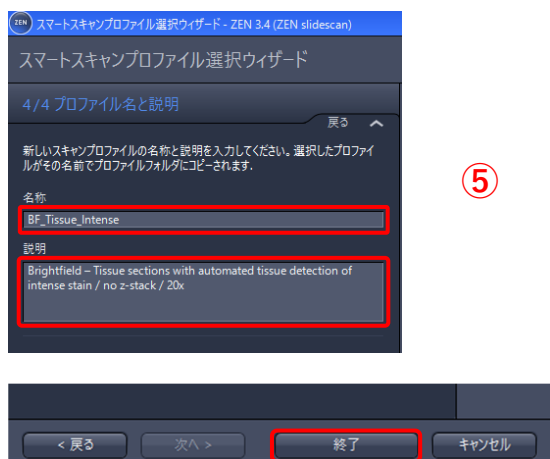
- ③ 次に“サンプルタイプを選択”で任意のタイプを選択し次へ進みます。



- ④ 次に“染色特性を選択”で任意の染色特性を選択し次へ進みます。



- ⑤ 最後に“プロフィール名と説明”で必要に応じて名称や説明を変更して下部にある“終了”をクリックします。
ウィザード終了後、引き続いて“アドバンススキャンプロフィールエディター”(P26 参照)が表示されます。



※スマートスキャンプロフィール選択ウィザード内での項目一覧

コントラスト手法	サンプルタイプ	染色特性		
明視野	チャンバースライド TMA 組織 染み(スメア) 細胞	濃厚な染色(H&E など) 中程度の染色(例:ポジティブ IHC) 淡い染色(例:ネガティブ IHC)		
コントラスト手法	サンプルタイプ	試料の表示/非表示	光照射の安定	対比染色による準備
蛍光	チャンバースライド TMA 組織 染み(スメア) 細胞	目に見えやすい 目に見えにくい	安定 高感度(不安定)	はい。対比染色を使用します。 いいえ。対比染色(または類似の方法)は使用しません。
コントラスト手法	サンプルタイプ	偏光のタイプ		サンプルコントラスト
偏光	生物細胞 地質学的マテリアル	xPol cPol		高コントラスト 中コントラスト 低コントラスト

2) アドバンススキャンプロファイルエディター

プロファイルの基本設定を行います。

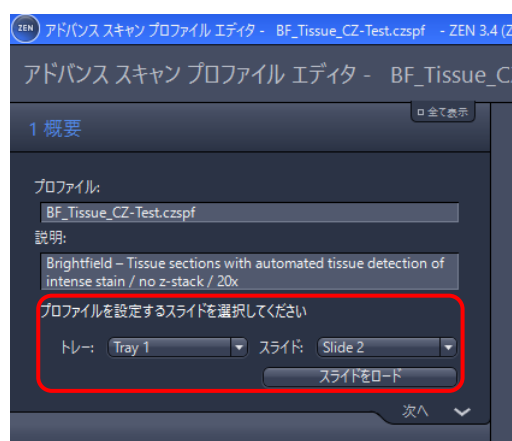
“プロファイルの簡単選択...” で新規にプロファイルを作成した場合や、既存のプロファイルを
“名前を付けて保存”で別名称にして保存した場合にプロファイル調整の為に、
アドバンススキャンプロファイルエディターが表示されます。

※1(概要)~7(スキャン)の数字をダブルクリックすることで直接設定メニューを開けます



3) 概要 (明視野・蛍光サンプル共通)

概要タブで条件設定に使用するスライドをロードします。ロード後に次へ進みます。

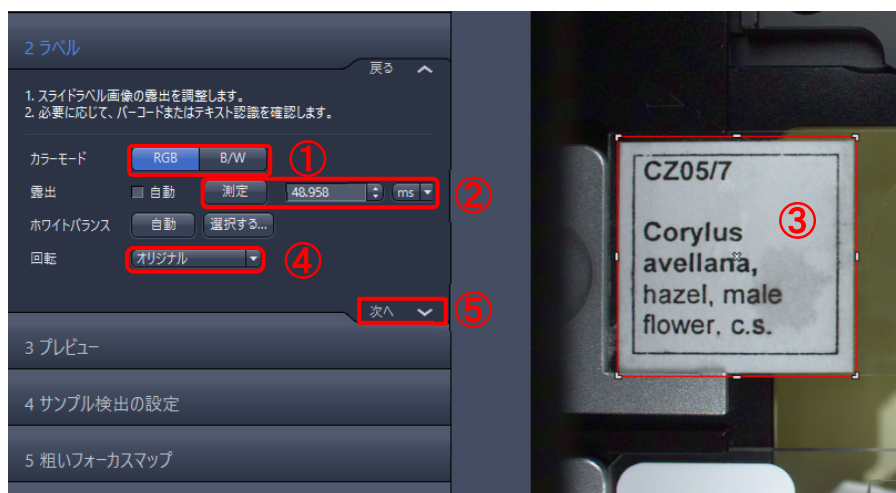


← 使用するスライドを“トレイ”と“スライド”で選択して
“スライドをロード”をクリック

4) ラベル (明視野・蛍光サンプル共通)

スキャン画像と共に保存するラベルの設定を行います。

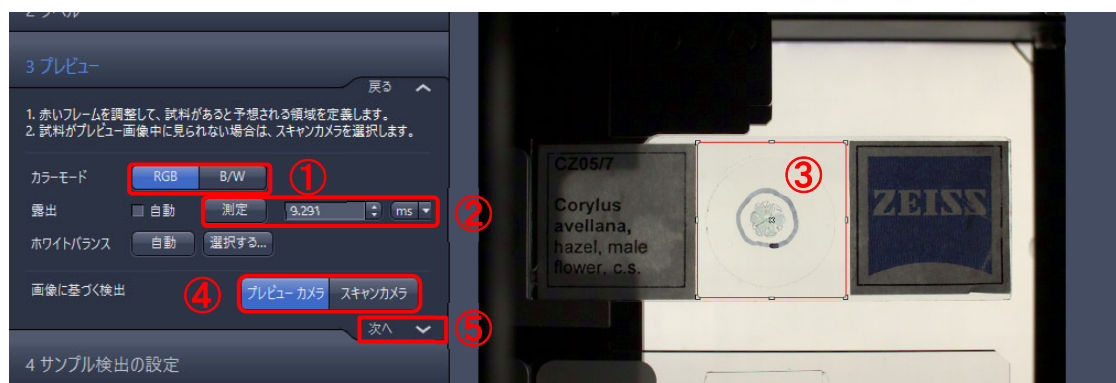
- ① カメラモードを設定します。(通常は RGB)
- ② 露出時間を調整します。
- ③ 赤枠でスライドのラベルの位置を設定します。
- ④ 必要に応じてラベルの向き等を調整します。
- ⑤ “次へ”をクリックします。



5) プレビュー (明視野・蛍光サンプル共通)

プレビュー画像取得の設定を行います。

- ① カメラモードを設定します。(通常は RGB)
- ② 露出時間を調整します。
- ③ 赤枠でスライドのプレビューする領域を設定します。
- ④ “プレビューカメラ”を選択します。
- ⑤ “次へ”をクリックします。



6) 組織検出の設定 (明視野・蛍光サンプル共通)

サンプル領域の検出方法の選択とそれぞれでの設定を行います。

※ HE 染色等のような明視野サンプルでは組織の色味から閾値を設定する場合も同様に
ヒストグラム内の閾値を調整してスキャンエリアを設定します

※※ 本書ではサンプルのある位置をマジックペン(黒)で囲っていることを前提となります

- ① “マーカー”が選択されていることを確認します。
- ② “☒ライブ更新”に✓を入れると画面上で自動的に設定値が反映されます。
- ③ プレビューのカラー画像のヒストグラムから閾値で設定する場合は“マーカー”内のラインを左右にゆっくり動かし調整します。
- ④ 良ければ“次へ”をクリックします。



7) 粗いフォーカスマップ (明視野サンプル)

※蛍光サンプルの場合は 10) フォーカスマップの設定 (蛍光サンプル)]から参照して下さい(P35)

- ① ライブ画面の下側にある“ナビゲーション”ウィンドウ内のサンプルエリアをクリックして青い十字(現在のステージ位置)を移動させます。



- ② “テンプレート設定”では“5x 0.25”のレンズを選択します。

- ③ “ライブ”をクリックして表示された画面にカーソルを合わせキーボードで“Ctrl”を押しながらホイールを動かすとフォーカスが移動するのでピント合わせます。

(凡そ 3800～4000μm の間)

※ライブ画面上でのフォーカス調整とステージ移動を参照して下さい(P31)

- ④ ライブの明暗に関しては“測定”を押すことで調整されます。

- ⑤ サンプリングは“初期値”を選択します。

- ⑥ ピントの合っている位置から、サーチ範囲の“開始点”と“終了点”に±200～500μm 程度の幅で入力し、全体で範囲が 400～1000μm になるように設定します。
(ステップサイズは自動計算)



設定後、[ナビゲーション]ウィンドウで別のサンプルエリアに移動して、②の“フォーカス検出”を実行してフォーカスが合うかを確認することをお勧めします。



- ⑦ 上部にある“□全て表示”に✓します。
- ⑧ “モード”は自動を選択します。
- ⑨ “画質”は初期値を選択します。
- ⑩ “検索”はスマートを選択します。
- ⑪ “サンプリング”は初期値を選択します。
- ⑫ “フォーカシングポイントの分布方法設定”の“フォーカシング方法の選択”では基本的に“Number of points”を選択します。
- ⑬ 他のフォーカシング方法が選択されている場合は“+”をクリックして表示されたダイアログのフォーカシング方法で“Fixed Number Of Point Focus Point Strategy”を選択し、ポイント数に 6 程度を入力して“追加”をクリックします。他のフォーカシング方法は“ゴミ箱”アイコンをクリックして消去します。
- ⑭ “シャープさ測定設定”はベストを選択します。



- ⑭ “シャープさ測定設定”はベストを選択します。
- ⑮ 一番下の“次へ”をクリックします。

※ アダプティブフォーカスポイント分布について

“☒ アダプティブフォーカスポイント分布を利用する”とすると[フォーカシング方式設定]から“アダプティブフォーカスポイント分布”に切り替わり、設定が選択できるようになります。
この方法では対象領域の面積に応じて、自動的にフォーカスポイント数が増減するようになります。



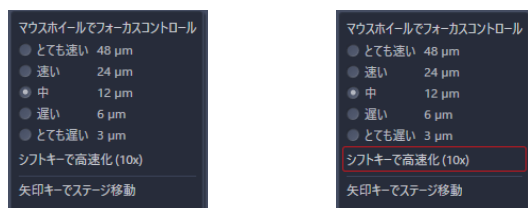
※ライブ画面上でのフォーカス調整とステージ移動

アドバンススキャンプロファイルエディターでの操作中、ライブ画面が表示された際に、下側に表示されているフォーカス及びステージのデバイスコントロールを使用することでフォーカス調整とステージ移動を行うことができます。また現在のフォーカス及び XY 位置も表示されます。

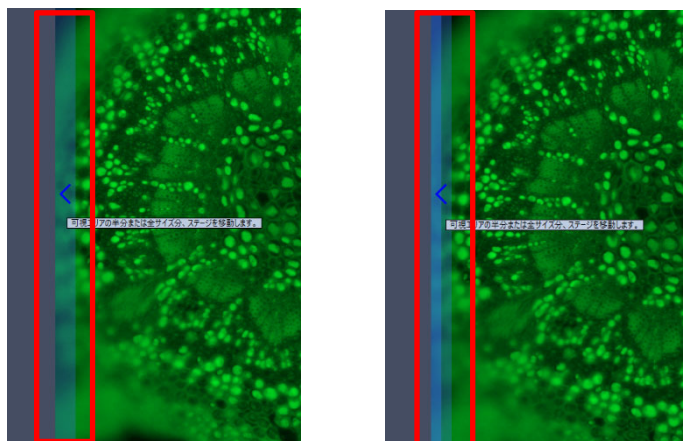


加えてライブ画面上でのマウス操作によってもフォーカス調整とステージ移動が可能です。

- ① マウスカーソルがライブ画面上にある状態でキーボードの「Ctrl」キーを押し続けると、ライブ画面左下にポップアップ画面が表示され、マウスのホイール操作でフォーカス位置を上下することが可能です。フォーカススピードは“とても速い”から“とても遅い”までをクリックで切り替え可能です。更に「Ctrl」キーと同時に「Shift」キーも押す事で、右図のように移動速度の高速化が可能です。



- ② ライブ画面の上下左右及び四隅にマウスカーソルを近づけると青いバーが表示され、クリックでその方向にステージが視野半分、更に近づけると一段濃い青いバーが表示され、クリックで一視野分移動します。また画面上の任意の位置でダブルクリックすることでそこが中心に移動します。



視野半分(左)と一視野分(右)のライブ画面でのステージ移動

8) 精密なフォーカスマップ (明視野サンプル)

※蛍光サンプルの場合は 11) フォーカスマップの設定 (蛍光サンプル)から参照して下さい(P38)



- ① “前の設定をコピー”をクリックしてチャンネル条件等を粗いフォーカスマップから移植します。
- ② “テンプレート設定”では実際のスキャンで使用するものと
同じ倍率のレンズを選択します。
- ③ “ライブ”をクリックして明暗を確認します。
先に④-⑥までを調整して、“フォーカス検出”を実行して
フォーカスが合うかを確認することをお勧めします。
- ④ ライブの明暗に関しては“測定”を押すことで調整されます。
- ⑤ サンプリングは“初期値”を選択します。
- ⑥ “粗いフォーカスマップ”で凡そピントが合っている位置を
中心としてフォーカス検出範囲を設定します。
基本的には 70～200μmの範囲内に設定します。
(ステップサイズは自動計算)



- ⑦ 上部にある“□全て表示”に✓します。
- ⑧ “モード”は自動を選択します。
- ⑨ “画質”は初期値を選択します。
- ⑩ “検索”はスマートを選択します。
- ⑪ “フォーカシングポイントの分布方法設定”の“フォーカシング方法の選択”では基本的に“Onion skin”を選択します。
- ⑫ 他のフォーカシング方法が選択されている場合は“+”をクリックして表示されたダイアログのフォーカシング方法で“Onion Skin Focus Point Strategy”を選択し、密度を 0.05 若しくは 0.1、最大ポイント数に 24 を入力して“追加”をクリックします。他のフォーカシング方法は“ゴミ箱”アイコンをクリックして消去します。
- ⑬ “シャープさ測定設定”は HG 2⁸ を選択します。



- ⑥ “シャープさ測定設定”は HG 2⁸ を選択します。

9) スキャンの設定 (明視野サンプル)

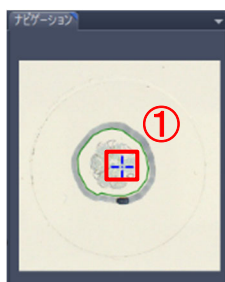
スキャン設定を行います



- ① 対物レンズを選択します。(ファインフォーカスで使用した対物レンズと同じにします)
- ② ライブ画面を見ながらピントを合わせます。
- ③ “フラッシュ輝度”で明るさを調整します。
- ④ ホワイトバランスはライブ画面で確認して、必要に応じて“自動”若しくは選択...で調整します。
実施時はライブ画面の下側にある“ナビゲーション”ウィンドウ内のサンプルが無いエリアに一旦移動させてライブ画面上で何も無いエリアで調整します。
- ⑤ Z スタックを行う際は“Z-スタック”にチェックを入れてスライス、間隔を入力して、優先項目を選択して設定して下さい。
- ⑥ EDF(拡張フォーカス)使用は基本的に外して下さい。
設定によっては画像ファイルが巨大になり演算に時間が掛かり過ぎる可能性があります。
一旦撮影後に ROI(関心領域)を作成してプロセッシングタブで EDF 処理をすることをお勧めします。
- ⑦ “終了”のクリックで、プロファイルが保存されアドバンススキャンプロファイルエディターが閉じます。

10) 粗いフォーカスマップ (蛍光サンプル)

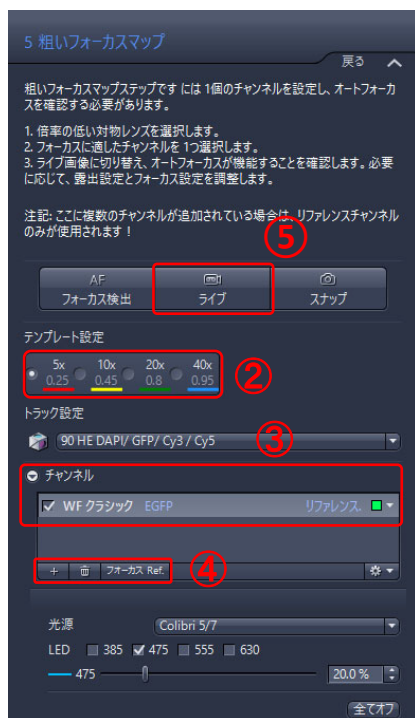
- ① ライブ画面の下側にある“ナビゲーション”ウィンドウ内のサンプルエリアをクリックして
青い十字(現在のステージ位置)を移動させます。



- ② “テンプレート設定”では“5x 0.25”を選択します。

- ③ “チャンネル”でオートフォーカスに使用する蛍光色素に
チェックを入れます。
※サンプル全体で光っている蛍光色素が望ましいです

- ④ 目的の蛍光色素が無ければ“+”をクリックして表示された
ダイアログで目的の蛍光色素を選択して“追加”します。
不要な蛍光色素は“ゴミ箱”アイコンをクリックして消去します。
(一種類のみ残す)



- ⑤ ライブ画面を起動します。

- ⑥ “ライブ画面上でのフォーカス調整とステージ移動”(P31 参照)
を参考にして、実サンプルのピント位置を探します。

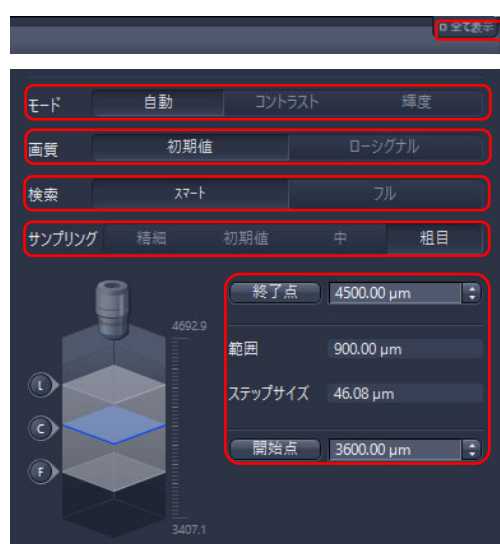
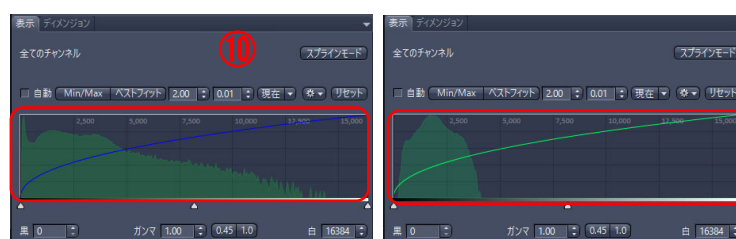


⑧ 光源の%はあまり強くない程度に調整します。

⑨ 一度“露出の設定”をクリックして、露出時間を調整します。

⑩ 画面下段左の“表示”タブでヒストグラムの広がりを確認します。
右図の様に20~30%になるように露出時間を短く調整します。
必要に応じて光源の%も調整します。

⑪ 退色防止の為、調整後は速やかに“停止”をクリックして
ライブを止めます。



⑪ 上部にある“□全て表示”に✓します。

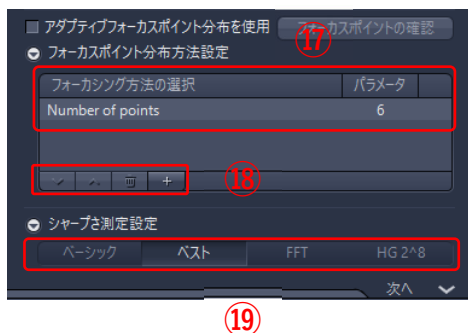
⑫ “モード”は自動を選択します。

⑬ “画質”は初期値を選択します。

⑭ “検索”はスマートを選択します。

⑮ “サンプリング”は粗目を選択します。

⑯ ピントの合っている位置から、サーチ範囲の“
開始点”と“終了点”に±200~500μm 程度の
幅で入力し、全体で範囲が 400~1000μm に
なるように設定します。
(ステップサイズは自動計算)



①⑦ “フォーカシングポイントの分布方法設定”の
“フォーカシング方法の選択”では基本的に
“Number of points”を選択します。

①⑧ 他のフォーカシング方法が選択されている場合は“+”を
クリックして表示されたダイアログのフォーカシング方法で
“Fixed Number Of Point Focus Point Strategy”を
選択し、ポイント数に 6 程度を入力して“追加”を
クリックします。他のフォーカシング方法は“ゴミ箱”
アイコンをクリックして消去します。



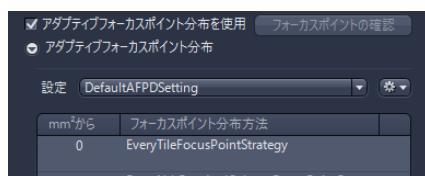
①⑨ “シャープさ測定設定”はベストを選択します。

②⑩ 一番下の“次へ”をクリックします。

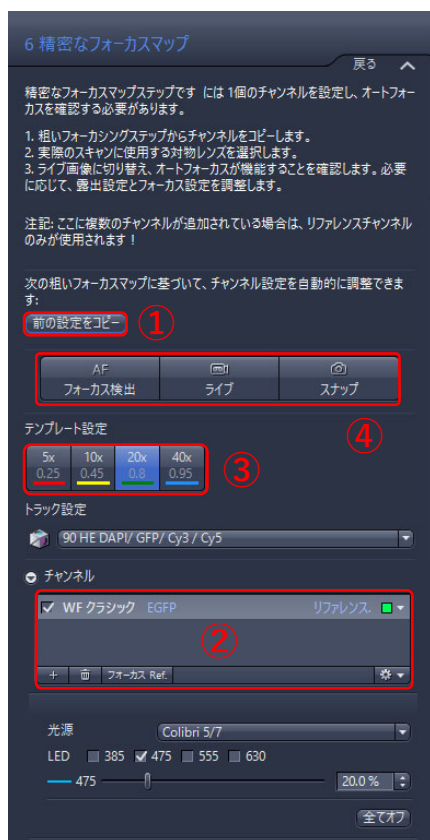
※ アダプティブフォーカスポイント分布について

“☒ アダプティブフォーカスポイント分布を利用する”とすると[フォーカシング方式設定]から“アダプティブ
フォーカスポイント分布”に切り替わり、設定が選択できるようになります。

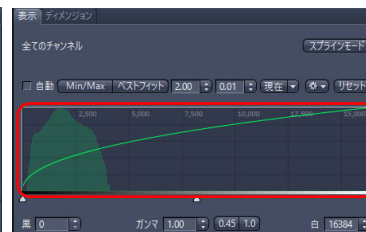
この方法では対象領域の面積に応じて、自動的にフォーカスポイント数に変動する様になります。



11) 精密なフォーカスマップ (蛍光サンプル)



- ① “前の設定をコピー”をクリックします。
- ② 粗いフォーカスマップで設定された蛍光チャンネルがコピーされます。不要な蛍光色素は“ゴミ箱”アイコンをクリックして消去します。(一種類のみ残す)
- ③ “テンプレート設定”では“20x 0.8”を選択します。
- ④ ライブ画面を起動します。
- ⑤ 光源の%はあまり強くない程度に調整します。
- ⑥ 一度“露出の設定”をクリックして、露出時間を調整します。
- ⑦ 画面下段左の[表示]タブでヒストグラムの広がりを確認します。右図の様に20~30%になるように露出時間を短く調整します。必要に応じて光源の%も調整します。
- ⑧ 退色防止の為、調整後は速やかに“停止”をクリックしてライブを止めます。





⑨ 上部にある“□全て表示”に✓します。

⑩ “モード”は自動を選択します。

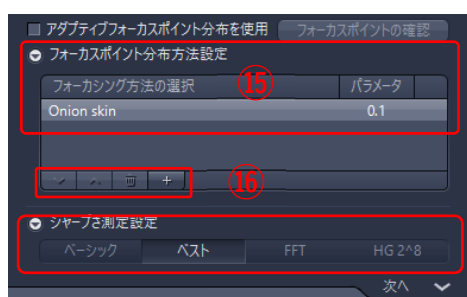
⑪ “画質”は初期値を選択します。

⑫ “検索”はスマートを選択します。

⑬ “サンプリング”は初期値を選択します。

⑭ “粗いフォーカスマップ”で凡そピントが合っている位置を中心としてフォーカス検出範囲を設定します。

基本的には 100～200μm の範囲内に設定します。(ステップサイズは自動計算)



⑮ “フォーカシングポイントの分布方法設定”の“フォーカシング方法の選択”では基本的に“Onion skin”を選択します。

⑯ 他のフォーカシング方法が選択されている場合は“+”をクリックして表示されたダイアログのフォーカシング方法で“Onion Skin Focus Point Strategy”を選択し、密度を 0.05 若しくは 0.1、最大ポイント数に 24 を入力して“追加”をクリックします。他のフォーカシング方法は“ゴミ箱”アイコンをクリックして消去します。

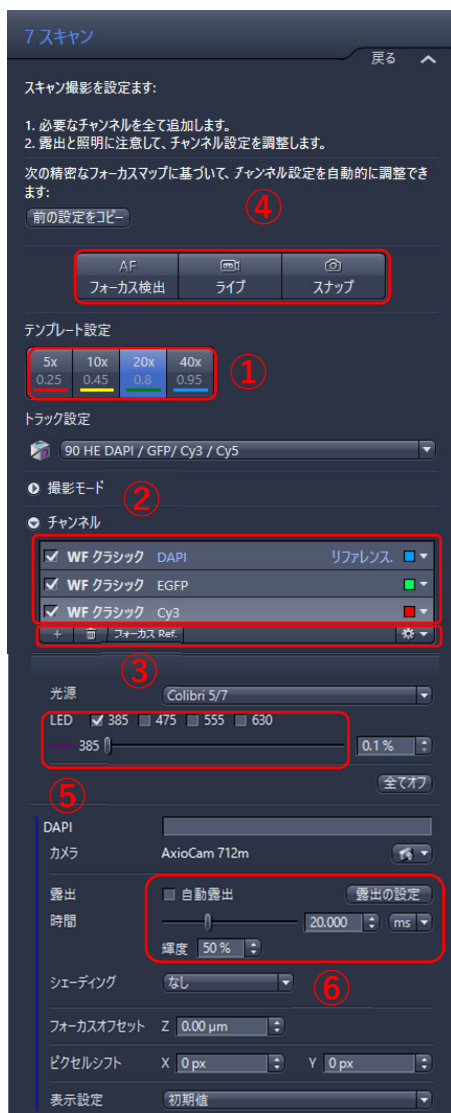



⑰ “シャープさ測定設定”はベストを選択します。

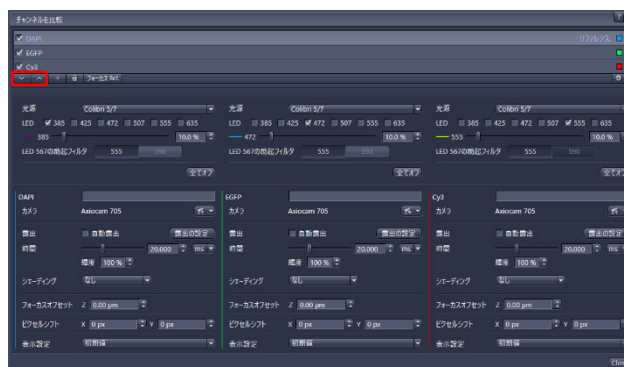
⑱ 一番下の“次へ”をクリックします。

12) スキャンの設定 (蛍光サンプル)

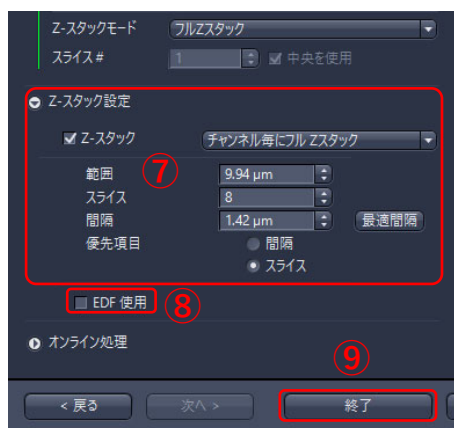
スキャン設定を行います



- ① 対物レンズを選択します。(ファインフォーカスで使った対物レンズと同じにします)
- ② “チャンネル”でスキャンする蛍光色素の□に✓を入れます。
- ③ 目的の蛍光色素が無ければ“+”をクリックして表示されたダイアログで目的の蛍光色素を選択して“追加”します。
(P35 参照)
蛍光色素の中でスティチングの基準とする蛍光色素を選択して **フォーカス Ref.** をクリックして割当ます。
 で右クリックして“チャンネルの比較”を選択、表示されたダイアログで、蛍光色素の取り込み順を変更できます。



- ④ ライブ画面を起動して、フォーカスを調整します。
- ⑤ 光源の%はあまり強くない程度に調整します。
- ⑥ 一度“露出の設定”をクリックして、露出時間を調整します。
P36 を参考にして適正な露出時間にします。
使用する蛍光各チャンネルで⑤⑥を調整します。
退色防止の為、調整後は速やかに“停止”をクリックしてライブを止めます。



- ⑦ Z スタックを行う際は[Z-スタック]にチェックを入れて
スライス、間隔を入力して、優先項目を選択して
設定して下さい。

※蛍光の場合、複数回の撮影は退色への影響が
強い為、設定にはご注意ください

- ⑧ EDF(拡張フォーカス)使用は基本的に外して下さい。

設定によっては画像ファイルが巨大になり演算に
時間が掛かり過ぎる可能性があります。

一旦撮影後に ROI(関心領域)を作成して

プロセッシングタブで EDF 処理をすることをお勧めします。

- ⑨ “終了”のクリックで、プロファイルが保存されアドバンススキャ
ンプロファイルエディターが閉じます。

13) プロファイルの変更方法等(明視野・蛍光共通)

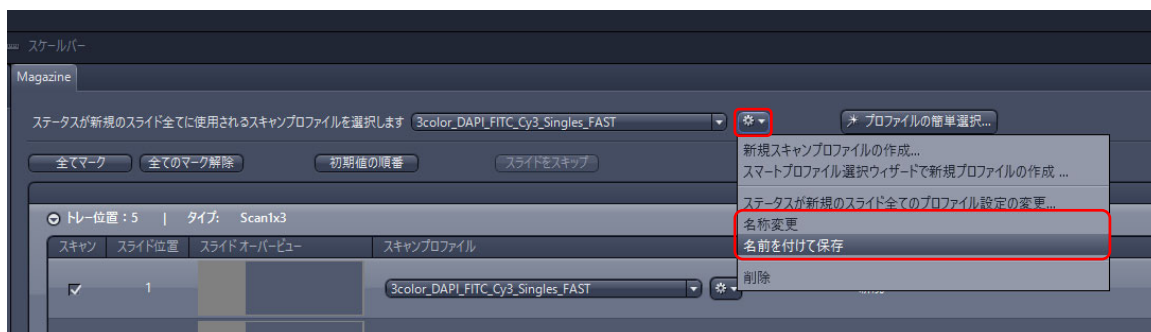
Scan タブでプロファイルの“名称変更”と“名前を付けて保存”が可能です。

メニュー上部の  でそれぞれを選択します。

“名称変更”は既存のプロファイルの名称を変更します。


“名前を付けて保存”は既存のプロファイルを基にして新たなプロファイルを作成する場合に使用します。

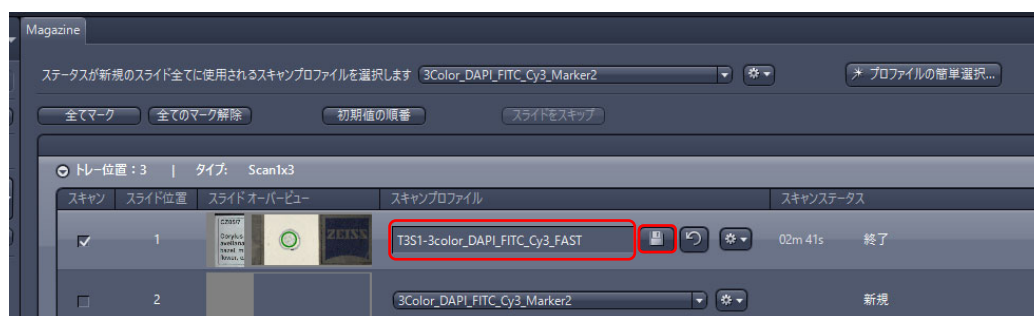
クリックすることでプロファイル名を変更すると保存されますが、自動的にアドバンススキャンプロファイルエディターが起動しますので、設定を調整して下さい。



プレビュースキャンを実行後に、サンプル検ウィザードで領域設定を変更した場合、使用しているプロファイルにスキャン領域設定を含んだ状態で保存可能です。

スキャン終了後、プロファイル名が自動的にトレイ番号とスライド位置を頭に付けた状態で表示されます。

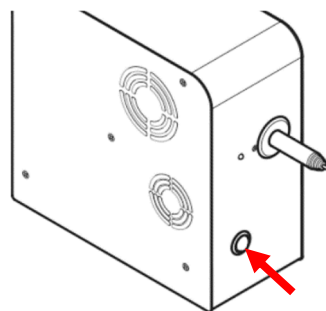
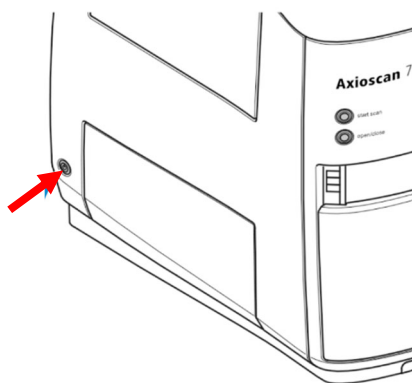
必要であれば、 でプロファイルを保存可能です。



T3S1- T(ray) Position3 S(lide) Position1

10. システムの終了方法

- ① ZEN を終了します。
- ② 蛍光光源を使用した場合は光源の電源を OFF にします。※ Colibri 7 では不要です
- ③ Windows を終了します。
- ④ Axioscan 本体前面左下の電源ボタンを押して OFF にします。



- ⑤ パソコンと Axioscan の電源が OFF になった後で集中電源タップの主電源を OFF にします

※一部のオプション蛍光専用カメラは集中電源タップに直接繋がっています。
使用後は必ず集中電源タップを OFF にして下さい。故障の原因になります。