

# Building Block Users Guide



2016 Apr ver 2.0

# History of “Building Block Users Guide”

Version 1.0	2013 Jun	
Version 1.1	2014 May	
Version 1.2	2014 Nov	
Version 1.3	2014 Dec	Harmony 4.0に対応
Version 1.4	2016 Mar	Define Resultsを追加
Version 2.0	2016 Apr	

---

# Contents | 目次

Building Blockの基本	P. 4
Input Image	P. 8
Find Nuclei	P. 9
Find Cell	P. 14
Find Cytoplasm	P. 20
Find Spot	P. 24
Find Image Region	P. 29
Find Micronuclei	P. 30
Find Neurites	P. 32
Calculate Intensity Properties	P. 36
Calculate Morphology Properties	P. 37
Calculate Properties	P. 42
Track Objects	P. 44
Calculate Kinetic Properties	P. 45
Calculate Track Properties	P. 46
Select Population	P. 48
Modify Population	P. 51
Calculate Image	P. 52
Filter Image	P. 54
Define Results	P. 60

# Building Blockの基本

画像解析は、見つける、測る、選ぶを繰り返すことで実行されます。パーキンエルマーのビルディングブロックをでは、それぞれをブロック単位でまとめる、理解しやすい画像解析を実現しました。

Find Nuclei



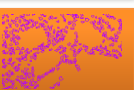
Find Cells



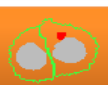
Find Cytoplasm



Find Spots



Find Micronuclei



Find Texture Regions



Find Image Regions



Find Neurites



## 見つける Find

Findでは、解析対象になるオブジェクトを検出します。

Calc. Intensity



Calc. Morphology



Calc. Texture



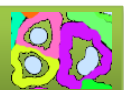
Calc. Properties

$a^2+b$

## 測る Calculate

Calculateでは、オブジェクトのパラメータを計算します。

Select Cell Region



Select Region



Select Population



Modify Population



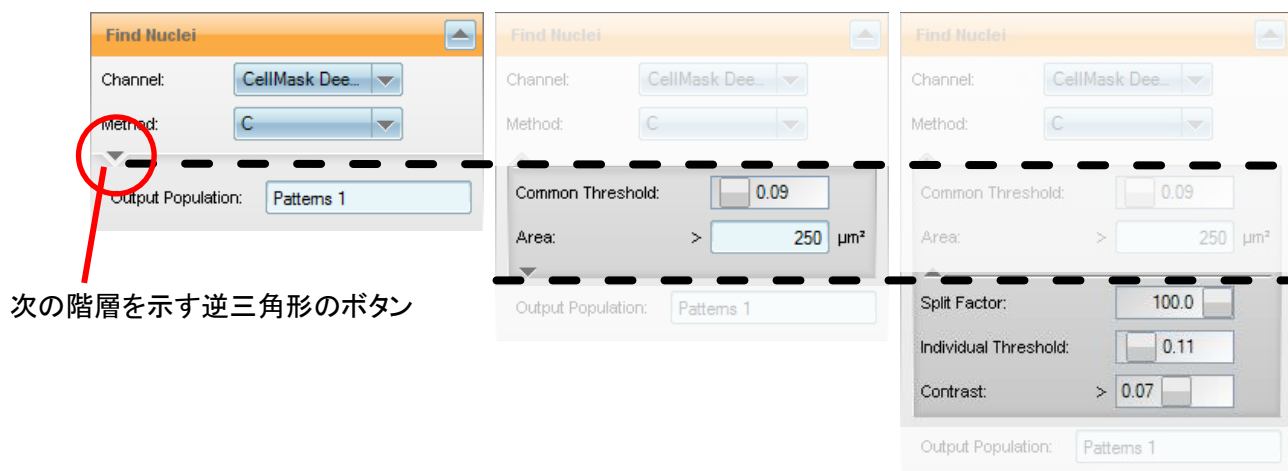
## 選ぶ Select

Selectでは、オブジェクトのパラメータを利用して、フィルタリング等を行います。

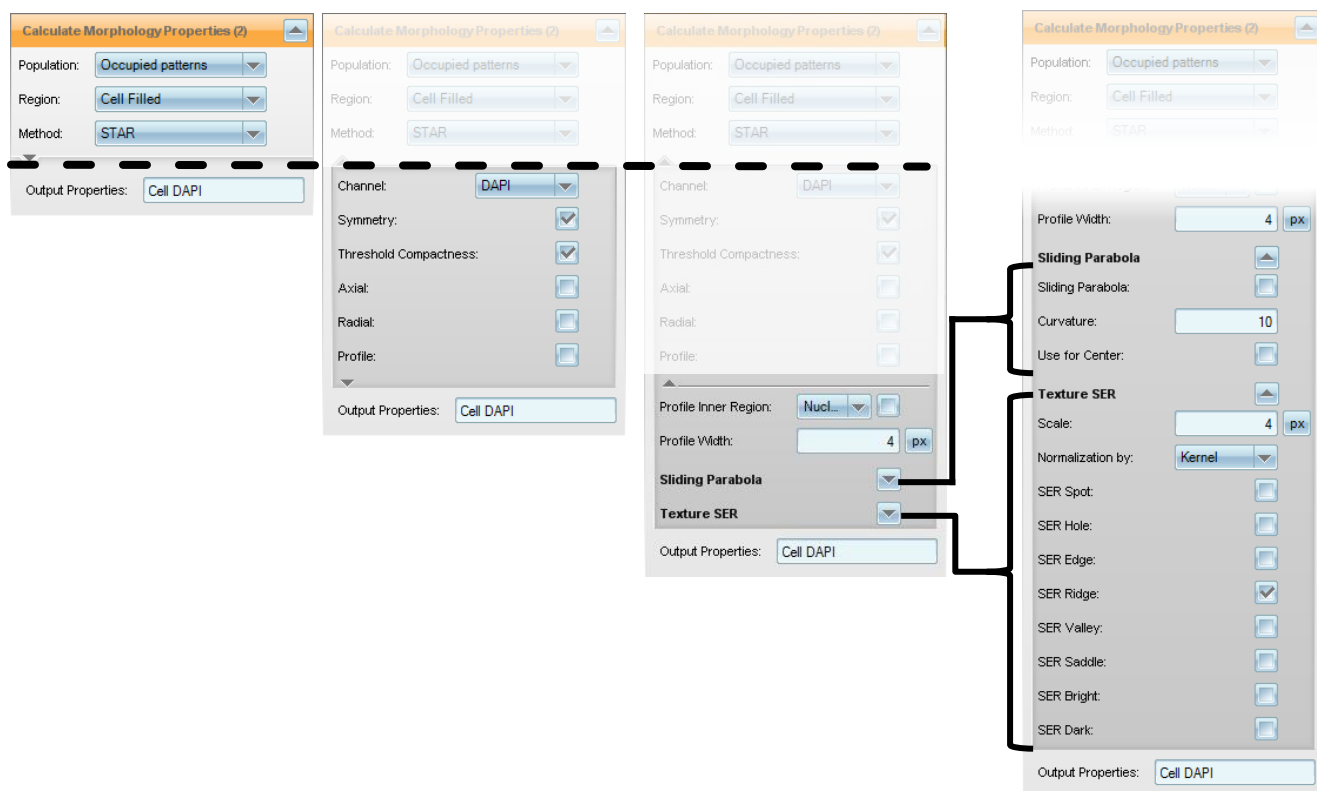
ビルディングブロックは、階層構造になっています。

深い階層では、より細かな設定が可能になります。

逆三角形のボタン(ディスクロージャーボタン)が、次の階層があることのサインになります。



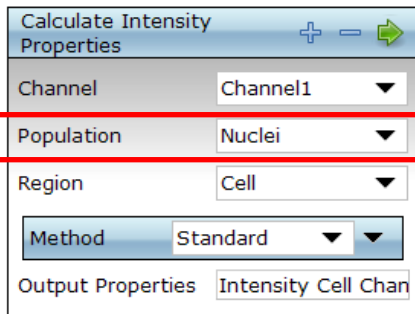
ブロックにより、階層の深さは異なります。たとえば、上記のFind Nucleiでは、階層が3つですが、Calculate Morphology PropertiesブロックでMethodをSTARにすると、階層が4つになります。



# Population(について (1)

Populationは、画像解析を理解する上で非常に重要になる考え方です。  
ここでは、Populationの概念と使い方を記載します。

Building Blockを組んでいくと、Populationを選択する必要に迫られることがあります。



Calculate Intensity Properties

Channel: Channel1


Population: Nuclei

Region: Cell

Method: Standard

Output Properties: Intensity Cell Chan

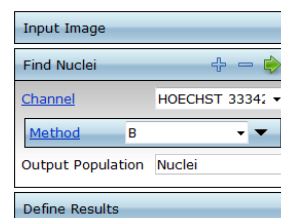
Populationは、画像解析の結果をまとめた表のことを指します。具体的には、画像の下に表示される数値データになります。



Summary Properties Nuclei				
<a href="#">Download</a>				
Object No	Area [μm <sup>2</sup> ]	Area [px <sup>2</sup> ]	Intensity HOECHST 33342	Contrast HOECHST 33342
1	86.31	350	2674.11	0.417765
2	237	961	2653.48	0.404973
3	73.24	297	12857.1	0.812572
4	97.16	394	3011.66	0.455927
5	185.21	751	3500.61	0.564282
6	209.38	849	3488.45	0.473948
7	226.4	918	3214.43	0.455708
8	109.5	444	4715.45	0.557962
9	70.04	284	5728.19	0.700361
10	215.05	872	3444.83	0.533475
11	79.41	322	7529.83	0.750074

## Population: Nuclei

たとえば、Find Nucleiを使うと作成される表は、Nucleiという名前の Populationとなり、これ以降のBuilding Blockで選択できるようになります。



Input Image

Find Nuclei

Channel: HOECHST 33342

Method: B

Output Population: Nuclei

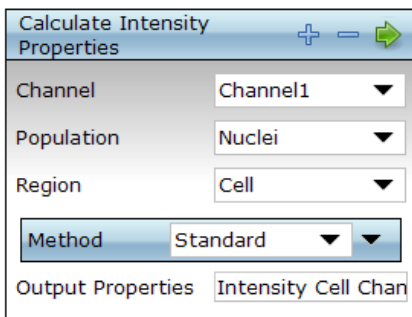
Define Results

Populationの名前は、任意に変更することができます。

# Populationについて (2)

## Populationの選択

Populationの選択によって、解析を実施するPopulationを選択することができます。



Calculate Intensity Properties

Channel: Channel1

Population: Nuclei

Region: Cell

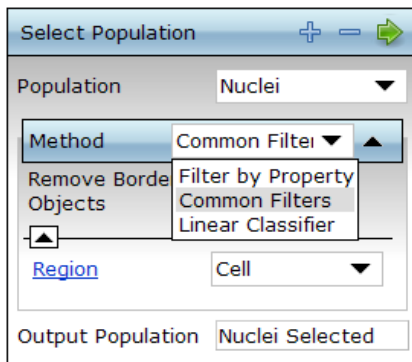
Method: Standard

Output Properties: Intensity Cell Chan

たとえば、左図では、NucleiというPopulationに対して、Calculate Intensity（蛍光強度の測定）を実施します。解析結果は、現在のPopulationに付け加えられます。

## Select Population — 閾値の設定

Select Populationは、Populationに閾値を適用し、その条件にあったオブジェクトだけの新しいPopulationを作成するBuilding Blockです。



Select Population

Population: Nuclei

Method: Common Filter

Remove Border Objects: [checked]

Filter by Property: [checked]

Common Filters: [checked]

Linear Classifier: [checked]

Region: Cell

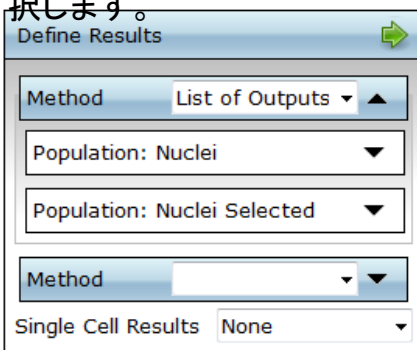
Output Population: Nuclei Selected

Select Populationでは、新しいPopulationが作成されます。このPopulationの名前は、Output Populationで設定できます。

## Define Results — 数値データのアウトプット

Building Blockの最後、Define Resultsではアウトプットする数値データを選択します。

各アウトプットは、Populationごとにまとめられているので、必要なデータを選択します。



Define Results

Method: List of Outputs

Population: Nuclei

Population: Nuclei Selected

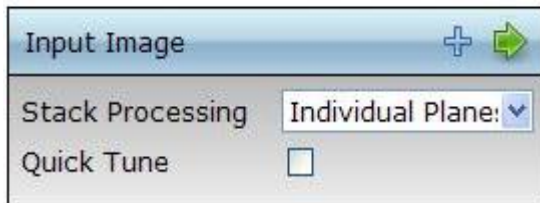
Method: [empty]

Single Cell Results: None

# Input Image

Input Imageは、各々の解析の最初にあるBuilding Blockです。

## Input Parameters



### ◆ Stack Processing ◆

#### Individual Planes:

取得した各々の画像に対し、画像解析を行います。通常の解析では、Individual Planeでの解析になります。

#### Maximum Projection:

Maximum Projection 画像で解析したいときに選択します。画像取得時にz-series画像を取得する必要があります。

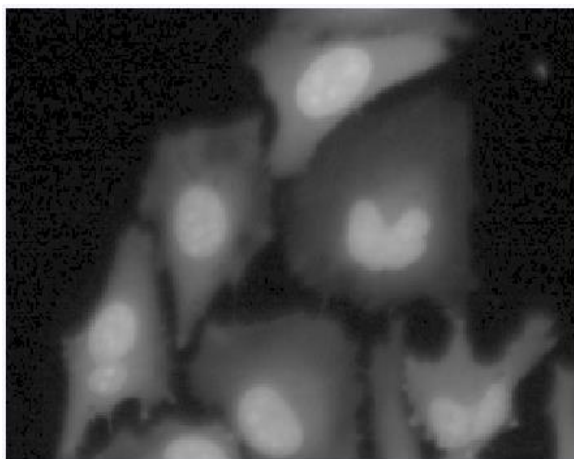
### ◆ Quick Tune ◆

解析プロトコール作成時に、画像解析速度を上げるために画像中央部分のみに対し、解析を行うようにします。

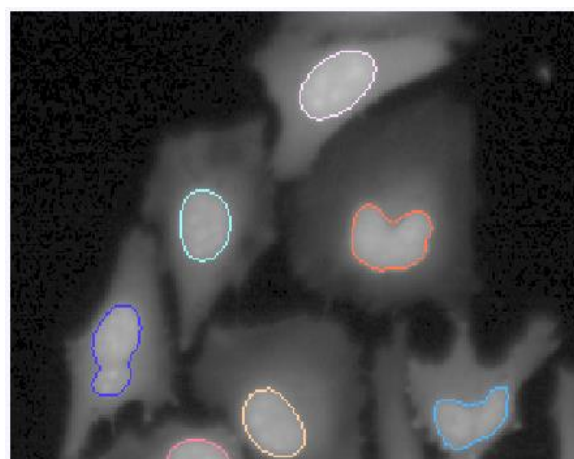


# Find Nuclei

Find Nucleiは、画像中にある周囲より強い蛍光強度をもつ領域を核として検出します。まず、ChannelとMethodを選択し、次に、それぞれのMethodがもつパラメーターを調整します。



**Input:** A nuclei stained image



**Visual Result:** Detected Nuclei as Overlay on the image

## Methods

Find NucleiのMethodは4種類あり、特徴は下記表のようになります。

Method	General robustness	High background	Low background	Intensity variations	Stuck nuclei	Calculation speed
A		+			+	+
B	++					+
C			+	+	+	+
M	++			+	++	

## Method A

バックグラウンドが高い画像や、細胞の密度が高いときに、有効な検出メソッドです。

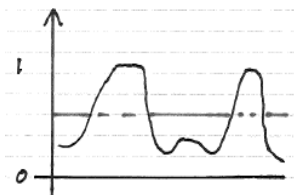


### Channel

核を染色している色素を選択します。

### Common Threshold

画像全体に対し、蛍光強度の弱いピクセルを除くパラメータです。数値を小さくすると、除かれるピクセルが減り、数値を大きくすると除かれるピクセルが大きくなります。



### Area

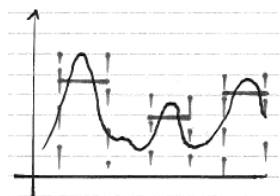
抽出する核の大きさを調整するパラメータです。入力値より小さい核が、除かれます。

### Split Factor

大きなObjectを2つ以上に分けるパラメーターです。

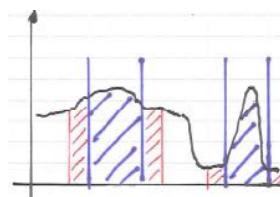
### Individual Threshold

各々のObjectの蛍光強度に対する閾値を設定します。



### Contrast

抽出された核のコントラストをもとに、閾値の設定を行い、コントラスト値よりも小さいObjectを除きます。Objectのコントラスト値はObjectとその周囲の蛍光強度との比をもとに設定されます。



### Output Population

Populationにつける名前を入力します。デフォルトは、"Nuclei"です。

## Method B

典型的な核染色画像に対し有効で、かつ、解析時間も短い一般的なメソッドです。

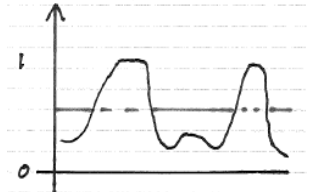


### Channel

核を染色している色素を選択します。

### Common Threshold

画像全体に対し、蛍光強度の弱いピクセルを除くパラメータです。数値を小さくすると、除かれるピクセルが減り、数値を大きくすると除かれるピクセルが大きくなります。



### Area

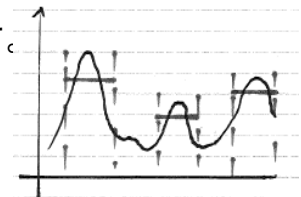
抽出する核の大きさを調整するパラメータです。

### Split Factor

大きなObjectを2つ以上に分けるパラメータです。

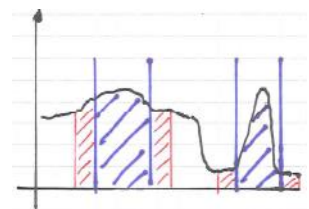
### Individual Threshold

各々のObjectの蛍光強度に対する閾値を設定します。



### Contrast

抽出された核のコントラストをもとに、閾値の設定を行い、コントラスト値よりも小さいObjectを除きます。Objectのコントラスト値はObjectとその周囲の蛍光強度との比をもとに設定されます。

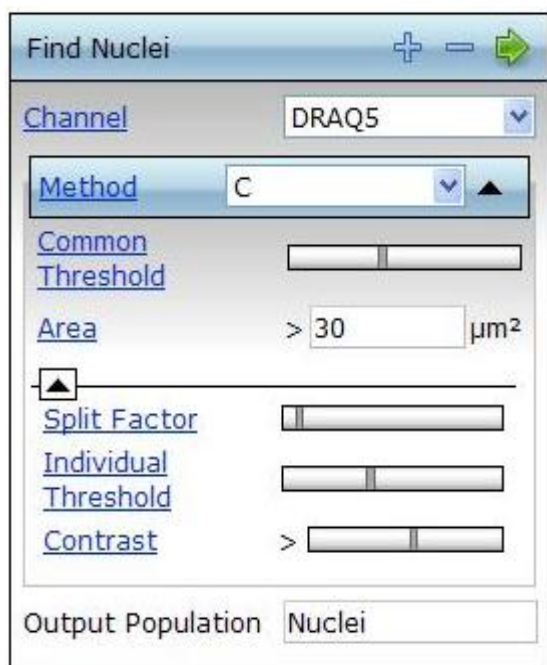


### Output Population

Populationにつける名前を入力します。デフォルトは、"Nuclei"です。

## Method C

様々な大きさの核があるときや核の蛍光強度やコントラストにバリエーションがあるときに有効なメソッドです。

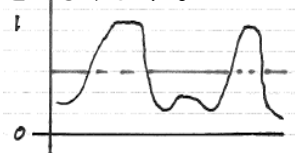


### Channel

核を染色している色素を選択します。

### Common Threshold

画像全体に対し、蛍光強度の弱いピクセルを除くパラメータです。数値を小さくすると、除かれるピクセルが減り、数値を大きくすると除かれるピクセルが大きくなります。



### Area

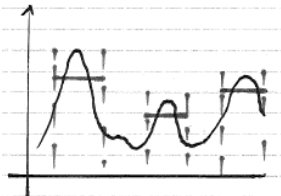
抽出する核の大きさを調整するパラメータです。

### Split Factor

大きなObjectを2つ以上に分けるパラメーターです。

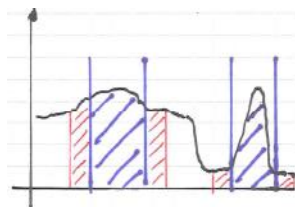
### Individual Threshold

各々のObjectの蛍光強度に対する閾値を設定します。



### Contrast

抽出された核のコントラストをもとに、閾値の設定を行い、コントラスト値よりも小さいObjectを除きます。Objectのコントラスト値はObjectとその周囲の蛍光強度との比をもとに設定されます。

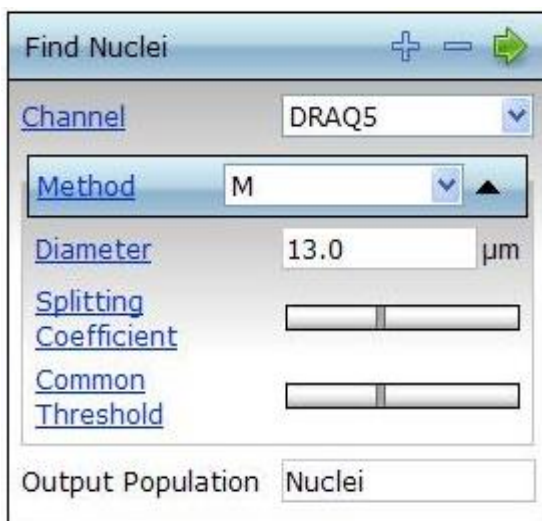


### Output Population

Populationにつける名前を入力します。デフォルトは、"Nuclei"です。

## Method M

細胞の密度が高いときに4つのMethod中で最も有効なメソッドです。

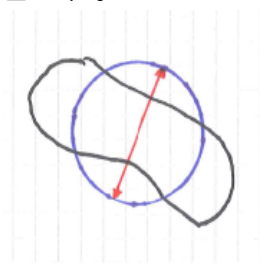


### Channel

核を染色している色素を選択します。

### Diameter

検出された核の大きさの下限を決めます。実際の核の大きさに近い数値を入れると、最適です。

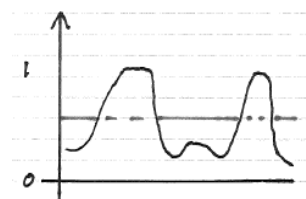


### Splitting Coefficient

検出された核が大きかった場合に、その核を2個以上に分離するかを決めます。Splitting Coefficient 値が"0.0"のとき、分離しなく、"1.0"のとき、Diameterに従い、Objectが小さくなるように分離します。

### Common Threshold

画像全体に対し、蛍光強度の弱いピクセルを除くパラメータです。数値を小さくすると、除かれるピクセルが減り、数値を大きくすると除かれるピクセルが大きくなります。

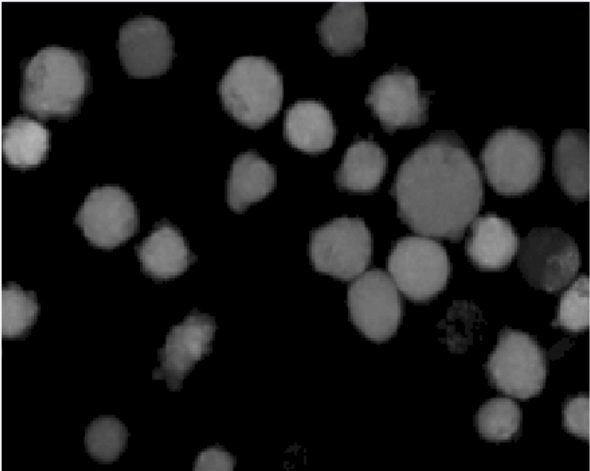


### Output Population

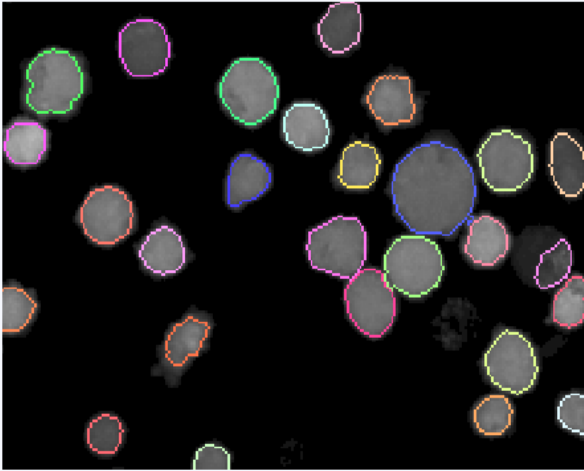
Populationにつける名前を入力します。デフォルトは、"Nuclei"です。

# Find Cell

Find Cellは、画像中にある周囲より強い蛍光強度をもつ領域を細胞として検出します。まず、ChannelとMethodを選択し、次に、それぞれのMethodがもつパラメータを調整します。



**Input:**A whole Cell stained image



**Visual Result:**Detected cell as Overlay on the image

## Methods

Find CelliのMethodは5種類あり、特徴は下記表のようになります。

Method	Designed for channel	General robustness	High backgr.	Low Backgr.	Intensity variations	Stuck Cells	Calc. speed
A	Fluorescence		+			+	+
B	Fluorescence	++					+
C	Fluorescence			+	+	+	+
M	Fluorescence	++			+	++	
P	DPC *				+	++	

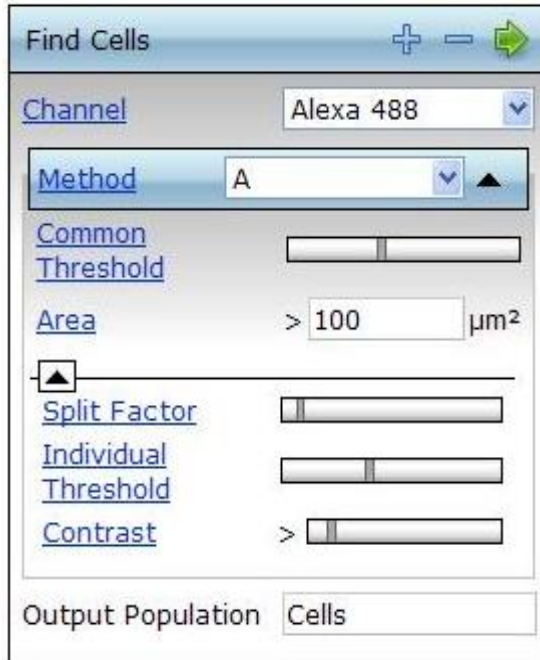
\* Digital Phase Image





## Method A

高バックグラウンド画像のときや細胞の密度が高いときに、有効なメソッドです。



### Channel

細胞を染色している色素を選択します。

### Common Threshold

画像全体に対し、蛍光強度の弱いピクセルを除くパラメータです。数値を小さくすると、除かれるピクセルが減り、数値を大きくすると除かれるピクセルが大きくなります。

### Area

抽出する核の大きさを調整するパラメータです。

### Split Factor

大きなObjectを2つ以上に分けるパラメーターです。

### Individual Threshold

各々のObjectの蛍光強度に対する閾値を設定します。

### Contrast

抽出された核のコントラストをもとに、閾値の設定を行い、コントラスト値よりも小さいObjectを除きます。Objectのコントラスト値はObjectとその周囲の蛍光強度との比をもとに設定されます。

### Output Population

Populationにつける名前を入力します。デフォルトは、"Cells"です。



## Method B

典型的な細胞染色画像に対し有効で、かつ、解析時間も短い一般的なメソッドです。



### Channel

細胞を染色している色素を選択します。

### Common Threshold

画像全体に対し、蛍光強度の弱いピクセルを除くパラメータです。数値を小さくすると、除かれるピクセルが減り、数値を大きくすると除かれるピクセルが大きくなります。

### Area

抽出する細胞の大きさを調整するパラメータです。

### Split Factor

大きなObjectを2つ以上に分けるパラメーターです。

### Individual Threshold

各々のObjectの蛍光強度に対する閾値を設定します。

### Contrast

抽出された核のコントラストをもとに、閾値の設定を行い、コントラスト値よりも小さいObjectを除きます。Objectのコントラスト値はObjectとその周囲の蛍光強度との比をもとに設定されます。

### Output Population

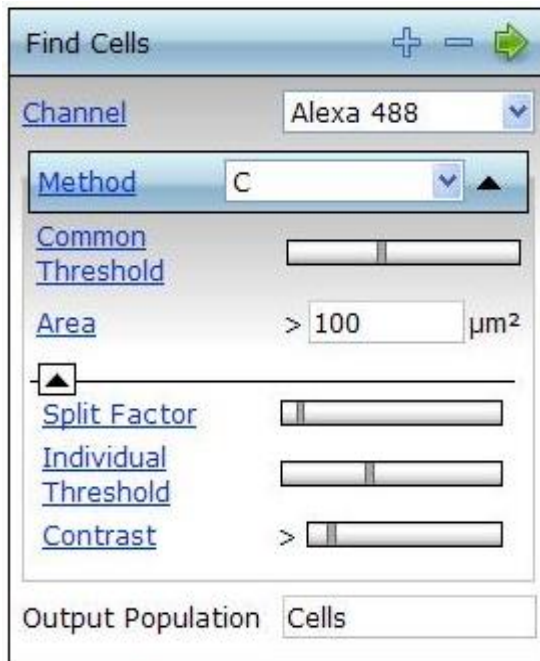
Populationにつける名前を入力します。デフォルトは、"Cells"です。





## Method C

様々な大きさの細胞があるときや細胞の蛍光強度やコントラストにバリエーションがあるときに有効なメソッドです。



### Channel

細胞を染色している色素を選択します。

### Common Threshold

画像全体に対し、蛍光強度の弱いピクセルを除くパラメータです。数値を小さくすると、除かれるピクセルが減り、数値を大きくすると除かれるピクセルが大きくなります。

### Area

抽出する細胞の大きさを調整するパラメータです。

### Split Factor

大きなObjectを2つ以上に分けるパラメーターです。

### Individual Threshold

各々のObjectの蛍光強度に対する閾値を設定します。

### Contrast

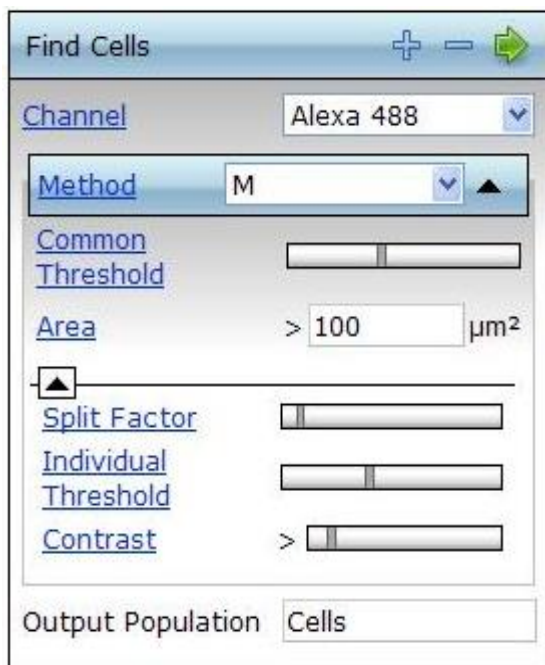
抽出された細胞のコントラストをもとに、閾値の設定を行い、コントラスト値よりも小さいObjectを除きます。Objectのコントラスト値はObjectとその周囲の蛍光強度との比をもとに設定されます。

### Output Population

Populationにつける名前を入力します。デフォルトは、"Cells"です。

## Method M

細胞の密度が高いときに4つのMethod中で最も有効なメソッドです。



### Channel

細胞を染色している色素を選択します。

### Diameter

検出された細胞の大きさの下限を決めます。実際の細胞の大きさに近い数値を入れると、最適です。

### Splitting Coefficient

検出された細胞が大きかった場合に、その核を2個以上に分離するかを決めます。Splitting Coefficient 値が"0.0"のとき、分離しなく、"1.0"のとき、Diameterに従い、Objectが小さくなるように分離します。

### Common Threshold

画像全体に対し、蛍光強度の弱いピクセルを除くパラメータです。数値を小さくすると、除かれるピクセルが減り、数値を大きくすると除かれるピクセルが大きくなります。

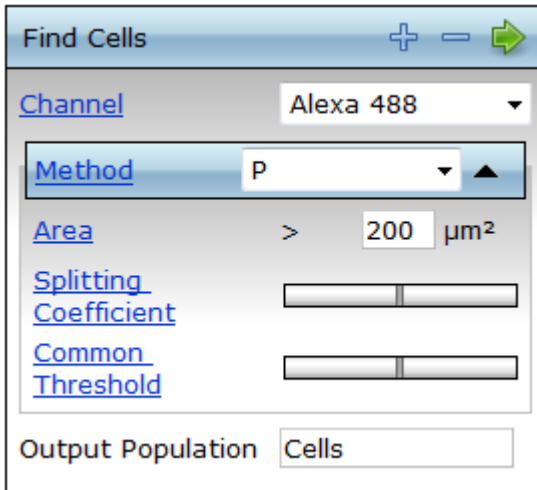
### Output Population

Populationにつける名前を入力します。デフォルトは、"Cells"です。



## Method P

Digital Phase Contrast (DPC)画像を使って、細胞を認識させたいときに使用します。



### Channel

DPCを選択します。

### Area

抽出する細胞の下限の大きさを調整するパラメータです。

### Split Coefficient

本来ひとつのObjectが2つ以上に認識されているときに使用するパラメータです。

### Common Threshold

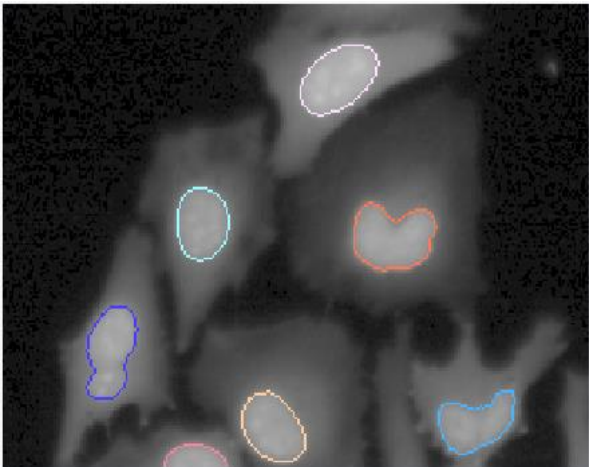
画像全体に対し、蛍光強度の弱いピクセルを除くパラメータです。数値を小さくすると、除かれるピクセルが減り、数値を大きくすると除かれるピクセルが大きくなります

### Output Population

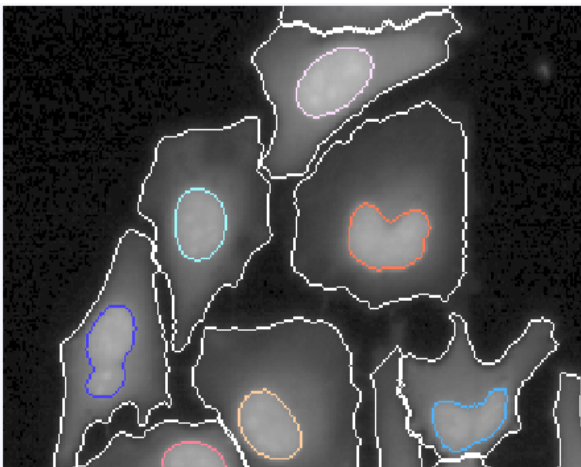
Populationにつける名前を入力します。デフォルトは、"Cells"です。

# Find Cytoplasm

Find Nucleiにより検出された領域の周囲にある領域のうち蛍光強度の強い領域を細胞質として検出します。まず、ChannelとMethodを選択し、次に、それぞれのMethodがもつパラメーターを調整します。



**Input:**A nuclei/Cytoplasm stained image with nucleus overlay



**Visual Result:**Detected cell as additional Overlay on the image

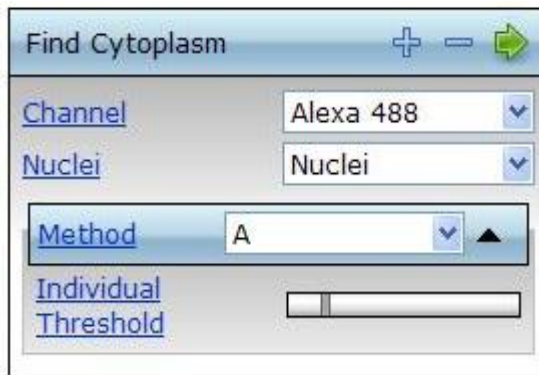
## Methods

Find CytoplasmのMethodは6種類あり、特徴は下記のようになります。

Method	Number of turning parameter	Nuclei - Stained image	Cytoplasm - stained image	Additional-Membreme Channel	Multiple nuclei
A	1	+	-	-	-
B	2	+	-	-	-
C	2	-	+	-	-
D	1	+	-	-	-
E	2	-	+	-	+
F	1	(+)	(+)	+	-

## Method A

蛍光強度が核からの距離で減少するときに、最も有効で、一般的な細胞質認識メソッドです。



### Channel

細胞質を染色している色素を選択します。

### Nuclei

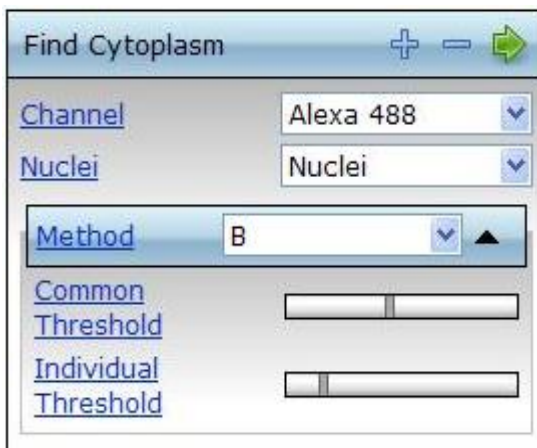
細胞質を検出するときに基準となる核のPopulationを選択します。

### Individual Threshold

各々のObjectの蛍光強度に対する閾値を設定します。

## Method B

典型的な核染色画像やバックグラウンドの高い画像に対し有効で、かつ、解析時間も短い一般的なメソッドです



### Channel

細胞質を染色している色素を選択します。

### Nuclei

細胞質を検出するときに基準となる核のPopulationを選択します。

### Common Threshold

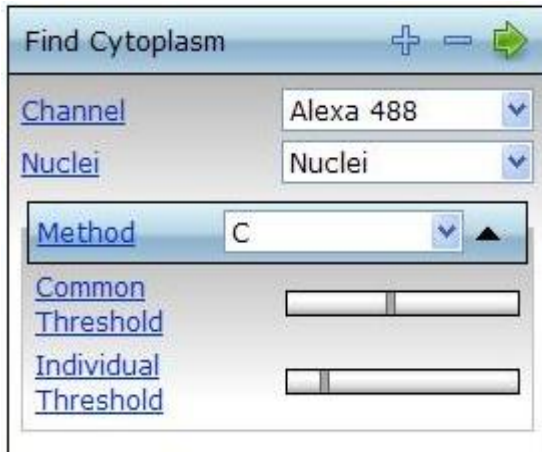
細胞質の最初の推測境界を決めるパラメーターです。

### Individual Threshold

各々のObjectの蛍光強度に対する閾値を設定します。

## Method C

隣接する細胞との境界はIntensity vallyよりもIntensity Stepsとしてみるメソッドです。



### Channel

細胞質を染色している色素を選択します。

### Nuclei

細胞質を検出するときに基準となる核のPopulationを選択します。

### Common Threshold

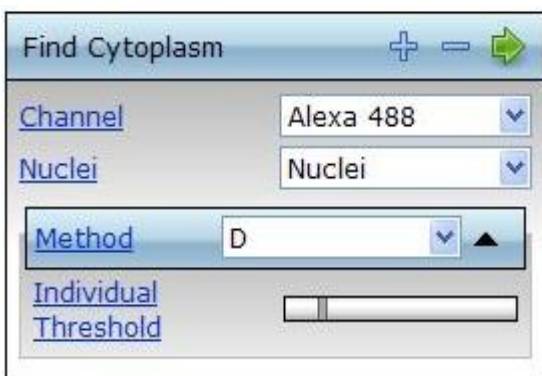
細胞質の最初の推測境界を決めるパラメーターです。

### Individual Threshold

各々のObjectの蛍光強度に対する閾値を設定します。

## Method D

蛍光強度が核からの距離依存的に減少するときに、有効なメソッドです。



### Channel

細胞質を染色している色素を選択します。

### Nuclei

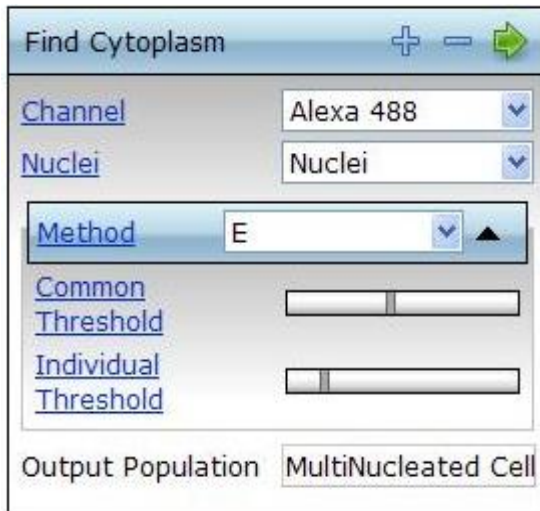
細胞質を検出するときに基準となる核のPopulationを選択します。

### Individual Threshold

各々のObjectの蛍光強度に対する閾値を設定します。

## Method E

多核細胞の細胞質の認識に有効なメソッドです。



### Channel

細胞質を染色している色素を選択します。

### Nuclei

細胞質を検出するときに基準となる核のPopulationを選択します。

### Common Threshold

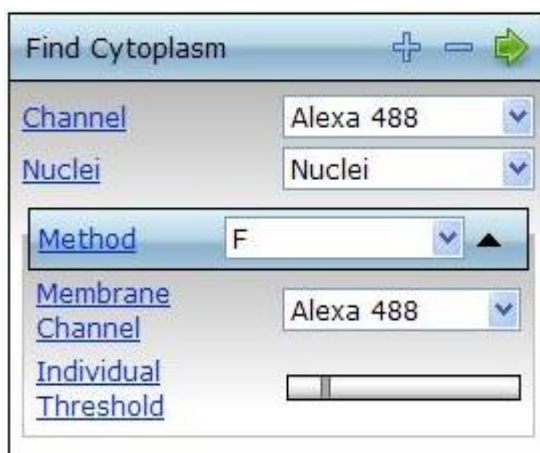
細胞質の最初の推測境界を決めるパラメーターです。

### Individual Threshold

各々のObjectの蛍光強度に対する閾値を設定します。

## Method F

細胞膜染色画像や細胞質や核染色画像にも有効です。



### Channel

細胞質を染色している色素を選択します。

### Nuclei

細胞質を検出するときに基準となる核のPopulationを選択します。

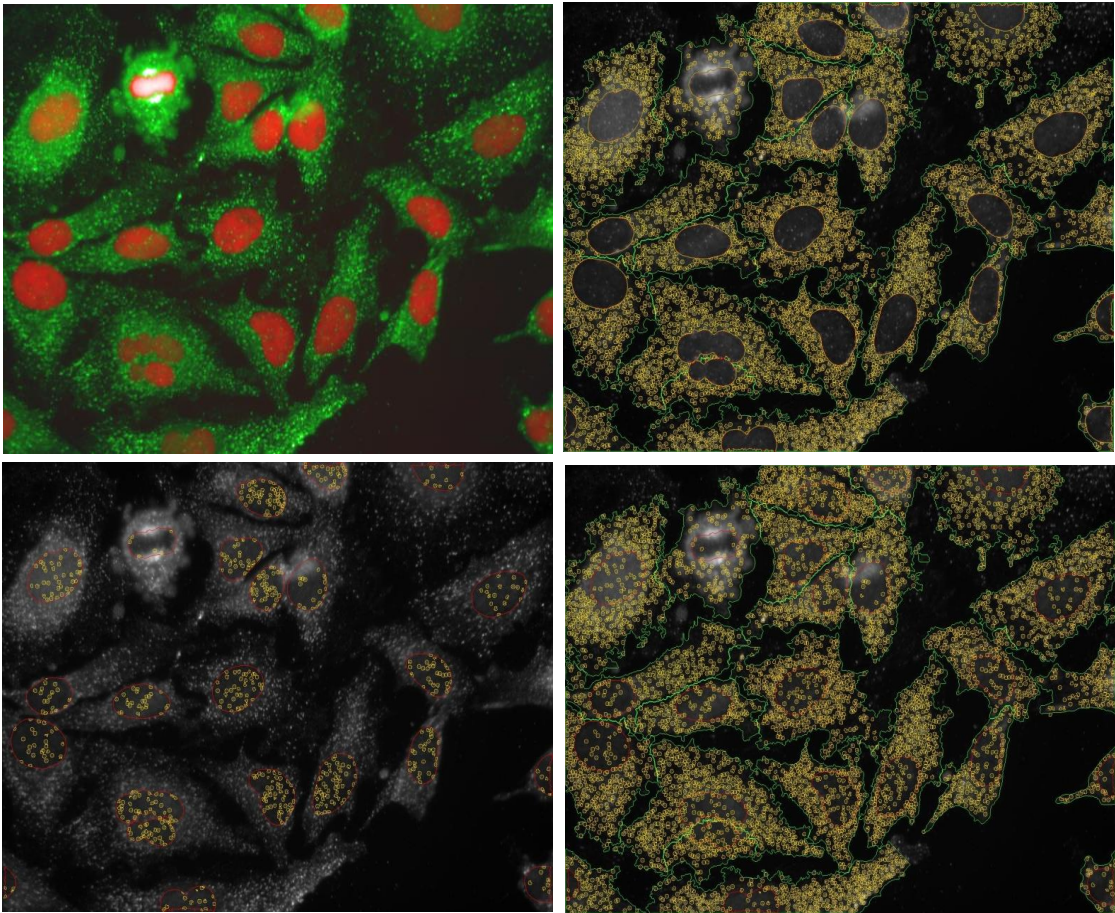
### Individual Threshold

各々のObjectの蛍光強度に対する閾値を設定します。



# Find Spot

Find Spotsはスポットの検出と定量を行います。周囲よりも蛍光強度の強い小さな領域を検出します。

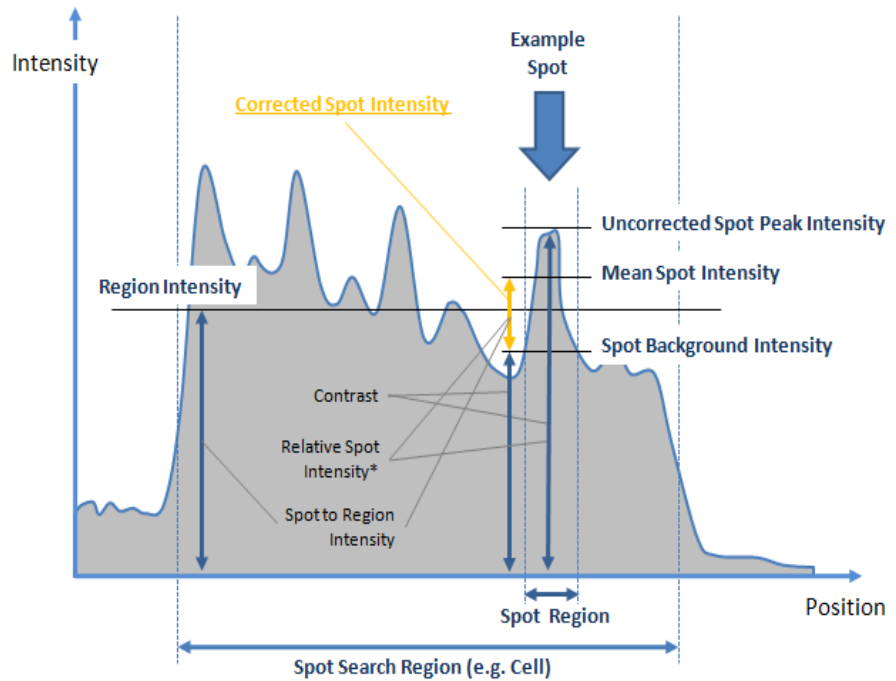


## Methods

Find CytoplasmのMethodは4種類あり、特徴は下記のようになります。

Metho d	The first basic step of the algorithm	Adaptation to spot size	Number of turning palameter	Number of calculated propaties
A	Detection of local intensity maxima	+	2	8
B	Estimation of background image	+	2	8
C	Detection of local intensity maxima	-	5	4
D	Estimation of background image	+	3	8 <sub>24</sub>





\*Method B uses the name „Relative Spot to Background Intensity“

## Method A

### Channel

細胞質を染色している色素を選択します。

### Population

Spot検出するときのObjectの集団を選択します。

### Region

Spot検出する領域(核、細胞質、細胞)の選択を行います。事前に領域を“Find Nuclei”などで指定する必要があります。

### Relative Spot Intensity

検出するSpotの蛍光強度を定義します。Relative Spot IntensityはSpot Peakの蛍光強度とSpot測定領域(Regionで定義した領域)の平均蛍光強度の比で定義します。

### Splitting Coefficient

どの程度までSpotを分離するかを定義します。

### Output Population

Populationにつける名前を入力します。デフォルトは、“Spots”です。

## Method B

The 'Find Spots' dialog box contains the following settings:

- Channel:** Alexa 488
- Population:** Nuclei
- Region:** Cell
- Method:** B
- Detection Sensitivity:** Slider set to approximately 0.5
- Splitting Coefficient:** Slider set to approximately 0.5
- Calculate Spot Properties:** ☒
- Output Population:** Spots

### Channel

細胞質を染色している色素を選択します。

### Population

Spot検出するときのObjectの集団を選択します。

### Region

Spot検出する領域(核、細胞質、細胞)の選択を行います。事前に領域を“Find Nuclei”などで指定する必要があります。

### Detection Sensitivity

検出するSpotの蛍光強度を定義します。“0.0”は、極端に蛍光強度の強いSpotのみを、“1.0”はかなり微弱なSpotまで検出します。

### Splitting Coefficient

どの程度までSpotを分離するかを定義します。

### Calculate Spot Properties

チェックを入れると、Spot Properties(蛍光強度や面積など)を計算します。

### Output Population

Populationにつける名前を入力します。デフォルトは、“Spots”です。



## Method C

### Channel

細胞質を染色している色素を選択します。

### Population

Spot検出するときのObjectの集団を選択します。

### Region

Spot検出する領域（核、細胞質、細胞）の選択を行います。事前に領域を“Find Nuclei”などで指定する必要があります。

### Rudius

Spot半径の上限を定義します。

### Contrast

コントラストの下限を定義します。Objectのコントラスト値はObjectとその周囲の蛍光強度との比をもとに設定されます。

### Spot to Reagion Intensity

SpotのReagion Intensityの下限を定義します。Relative Spot IntensityはSpot Peakの蛍光強度とSpot測定領域（Reagionで定義した領域）の平均蛍光強度の比で定義します。

### Distance

隣接するSpot間の距離を定義します。

### Spot Peak Radius

予想される半径パラメーターを定義します。

### Calculate Spot Properties

チェックを入れると、Spot Prperties（蛍光強度や面積など）を計算します。

### Output Population

Populationにつける名前を入力します。デフォルトは、“Spots”です。

## Method D

### Channel

細胞質を染色している色素を選択します。

### Population

Spot検出するときのObjectの集団を選択します。

### Region

Spot検出する領域(核、細胞質、細胞)の選択を行います。事前に領域を“Find Nuclei”などで指定する必要があります。

### Detection Sensitivity

検出するSpotの蛍光強度を定義します。“0.0”は、極端に蛍光強度の強いSpotのみを、“1.0”はかなり微弱なSpotまで検出します。

### Splitting Coefficient

どの程度までSpotを分離するかを定義します。

### Background Correction

バックグラウンドの最適化を行います。

### Calculate Spot Properties

チェックを入れると、Spot Properties(蛍光強度や面積など)を計算します。

### Output Population

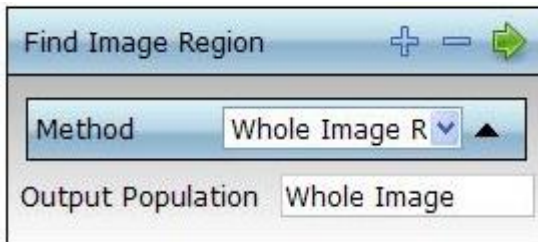
Populationにつける名前を入力します。デフォルトは、“Spots”です。

# Find Image Region

Find Image Regionは画像に対し、解析対象を選択します。

## Methods: Whole Image Region

画像すべてを解析対象として選択します。画像全体の蛍光強度などを測定するときなど有効です。



### Output Population

この条件によって、選択されたデータリストに名前をつけます

## Methods: Common Threshold

画像にある周囲よりも蛍光強度の強い領域を選択します。



### Channel

細胞質を染色している色素を選択します。

### Threshold

### Object Clustering

チェックを入れると、空間的に離れた領域を個々のObjectとして、定義します。

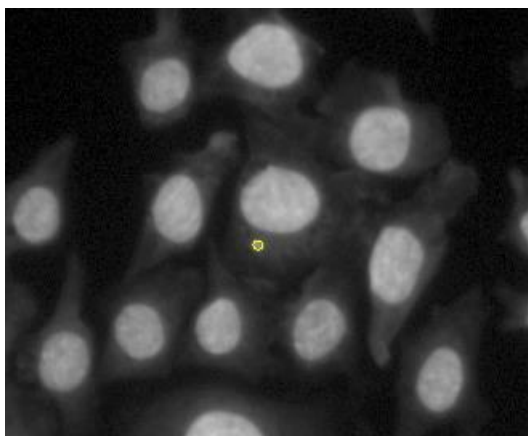
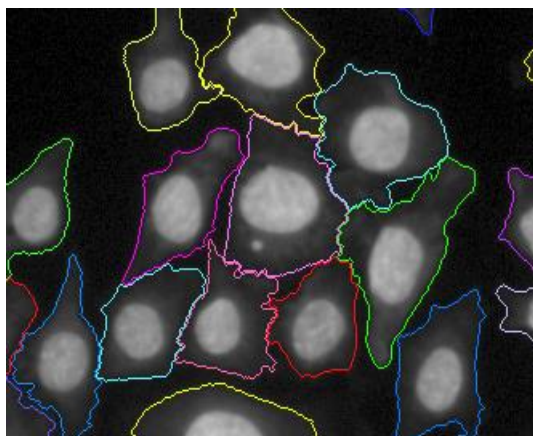
### Output Population

このPopulationにつける名前を入力します。デフォルトは、"Image Region"です。



# Find Micronuclei

Find Micronucleiは、小核を検出します。Find Micronucleiを使用する前に、Find NucleiやFind Cytoplasmで核や細胞質を認識させる必要があります。



## Methods

Find MicronucleiのMethodは2種類あります。

### Method A

Find Micronuclei

Channel

Alexa 488

Population

Nuclei

Cell Region

Nucleus

Method

A

Micronucleus to Cytoplasm Intensity

>

Calculate Micronuclei Properties

☒

Unit for Properties

px

Output Population

Micronuclei

#### Channel

細胞質を染色している色素を選択します。

#### Population

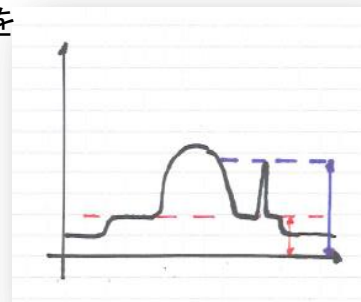
小核を検出するときのObjectのPopulationを選択します。

#### Cell Region

小核を検出する領域(核、細胞質、細胞)の選択を行います。事前に領域を“Find Nuclei”や“Find Cytoplasm”などで指定する必要があります。

#### Micronucleus to Cytoplasm Intensity

どの程度のシグナルのSpotを小核とするかを決めます。  
デフォルトは”0.2”







## Method B

### Channel

小核を染色している色素を選択します。

### Population

小核を検出するときのObjectの集団を選択します。

### Cell Region

小核を検出する領域(核、細胞質、細胞)の選択を行います。事前に領域を“Find Nuclei”や“Find Cytoplasm”などで指定する必要があります。

### Detection Sensitivity

検出する小核の蛍光強度を定義します。“0.0”は、極端に蛍光強度の強い小核のみを、“1.0”はかなり弱い小核まで検出します。

### Splitting Coefficient

どの程度まで小核を分離するかを定義します。

### Contrast

小核のコントラストを決めます

### Typical Micronucleus Diameter

典型的な小核の直径を入れます

### Micronucleus Nucleous Diameter

小核の大きさの上限を入力します。ここで上限を超えたものについては、核として計算されます

### Typical Nucleous Diameter

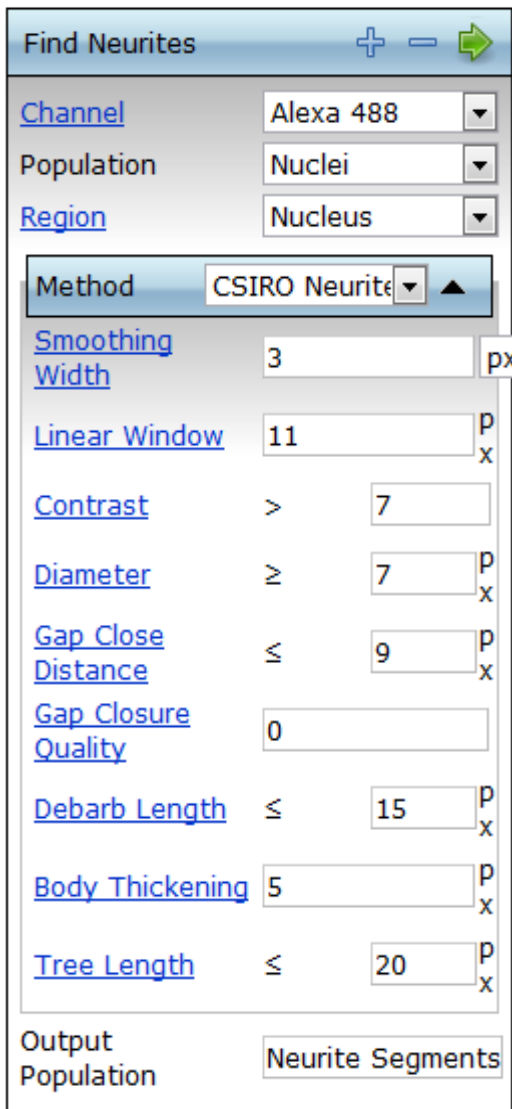
典型的な核の直径を入れます

### Output Population

このPopulationにつける名前を入力します。デフォルトは、“micronuclei”です。

# Find Neurites

Find Neuriteは、細胞体からの神経突起伸長を検出します。



The image shows a software dialog box titled "Find Neurites". It contains several settings for finding neurites. At the top, there are three icons: a plus sign, a minus sign, and a green arrow pointing right. Below these are three dropdown menus: "Channel" set to "Alexa 488", "Population" set to "Nuclei", and "Region" set to "Nucleus". There is a "Method" dropdown set to "CSIRO Neurite". Below these are several input fields with labels and units: "Smoothing Width" (3 px), "Linear Window" (11 px), "Contrast" (> 7), "Diameter" (≥ 7 px), "Gap Close Distance" (≤ 9 px), "Gap Closure Quality" (0), "Debarb Length" (≤ 15 px), "Body Thickening" (5 px), and "Tree Length" (≤ 20 px). At the bottom, there is an "Output Population" dropdown set to "Neurite Segments".

## Channel

神経突起を染色している色素を選択します。

## Population

神経突起を検出するときのObjectの集団を選択します。

## Region

神経突起を検出する領域(核、細胞質、細胞)の選択を行います。事前に領域を“Find Nuclei”や“Find Cytoplasm”などで指定する必要があります。

## Smoothing Width

ガウシアンフィルタのサイズ。ノイズを減少させ、検出感度をあげる。値が大きいほうが、フィルタサイズが大きくなります。

## Liner Window

蛍光強度の極大を算出するのに使われる領域のサイズ。大きな値ほど、計算の時間がかかり、オブジェクトが減る。大きな値ほど、疑わしいオブジェクトの認識を抑えます。

## Contrast

神経突起の検出感度を調整します。大きな値ほど、検出感度が低くなります。

## Diameter

オブジェクトの直径の閾値の設定。

## Gap Close Distance

神経突起と神経突起との間のギャップの距離を設定します。大きな数値ほど、離れた神経突起間をつなぎます。

## Gap Closure Quality

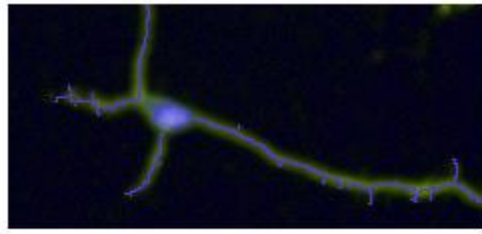
神経突起間のギャップの蛍光強度の最低値を設定します。大きな数値ほどギャップはつながりにくくなります。



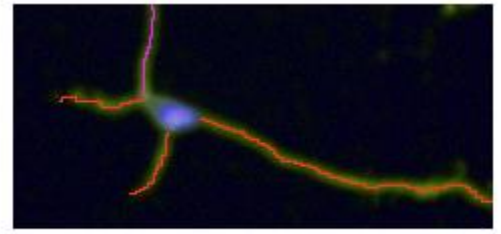


## Debarb Length

神経突起から出ている細かな神経突起を取り除くパラメータです。大きな数値ほど、より長い突起を除くことができます。



0 px



20 px

## Body Thickening

細胞体の大きさを決めます。この値を大きくすると、遠くの神経突起との関連付けができます。

## Tree Length

神経突起の長さの最小値

## Output Population

このPopulationにつける名前を入力します。デフォルトは、"Neurite Segments"です。

## パラメータ設定のガイドライン

Find Neuriteのパラメータは、表示順の上から設定していくことをお勧めします。

**神経突起の検出**: Gap Closure Qualityまで最初の6つのパラメータが該当します。

1. Smoothing Width: 画像をガウシアンフィルタでぼかし、強いシグナル(=神経突起の構造)を浮かび上がらせます。
2. Linear WindowとContrast: 神経突起の実際の検出を行います。
3. Diameter: 神経突起ではない小さい構造をここで除きます。
4. Gap Closure Distance, Gap Closure Quality: 検出した神経突起間のギャップを埋める処理ができます。

### 神経突起の解析

1. Debarb Small Neurite Branches: 神経突起から分岐する小さい突起を除きます。
2. Thicken Neuron Bodies: 細胞体と神経突起の関連付けをすることができます。
3. Remove Small Trees: 神経突起の最小の長さを決めます。

## アウトプットされるパラメータ

Find Neuriteブロックは、細胞レベルのデータに加えて、各神経突起ごとのデータを集めたポピュレーションを新しく作成します。このポピュレーションの名前は、“Neurite Segments”と呼ばれます。

## 細胞レベルのデータ

Maximum Neurite Length : 細胞の一番長い神経突起の長さ

Number of Extremities : 神経突起の末端の数。下図左のオレンジの数字が該当

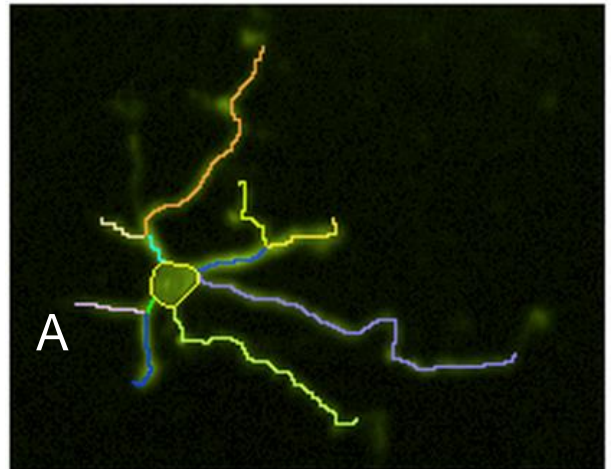
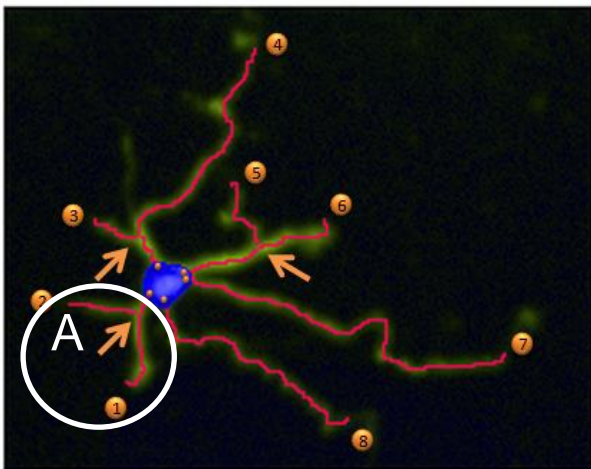
Number of Roots : 神経突起の“根”の数。下図左の核上にあるオレンジ色の丸の数が該当

Number of Segments : セグメントの数。下図右の色が違う箇所が個々のセグメントを指す。

Number of Nodes type 1 : 神経突起の分岐数。下図左の矢印の位置が分岐している。

Number of Nodes type 2 : セグメント数を神経根の数で割った値。

Total Neurite Length : 細胞ごとの神経突起の合計長



セグメントは、分岐点ごとに分割した神経突起のこと。例えば、細胞左側に出ている神経突起A(白丸)は、緑とピンク、青のセグメントに分離される。

## Neurite Segments (神経突起レベル:セグメント)のデータ

### Opera/Opera LX

Object No: 各セグメントの通し番号

Branch Level: 分岐レベル。分岐がない神経突起だと0

Parent Cell No: セグメントが属する細胞のID

Parent Segment No: セグメントが関連する親セグメントのID

Segment Length: セグメントの長さ

Number of Children: 子セグメントの数

Is Extremity: 神経末端があれば1、なければ0

Length to Cells: 細胞までの距離

Is Inner Segment: 末端がないセグメントであれば1

Neurite Tree No: 属する神経突起の番号

### Harmony, Columbus

Object No: 各セグメントの番号

Segment ID: セグメントのID。

Branch Level: 分岐レベル。分岐がない神経突起だと0

Parent Cell ID: セグメントが属する細胞のID

Parent Segment ID: セグメントが属する親セグメントのID

Segment Length: セグメントの長さ

Number of Children: 子セグメントの数

Is Extremity: 神経末端があれば1、なければ0

Length to Cells: 細胞までの距離

Is Inner Segment: 末端がないセグメントであれば1

Neurite Tree ID: 属する神経突起の番号

# Calc. Intensity Prop.

Calculate Intensity Propertiesは任意の領域のIntensityパラメータを計測します。

Calculate Intensity Properties

Channel

Alexa 488

Population

Cells

Region

Cell

Method

Standard

Mean

☒

Standard Deviation

☐

Coefficient of Variance

☐

Median

☐

Sum

☐

Maximum

☐

Minimum

☐

Quantile Fraction

☐

%

Contrast

☐

Output Properties

Intensity Cell Alex

## Channel

Intensity パラメーターを検出する色素を選択します。

## Population

Intensity パラメーターを検出するObjectの集団を選択します。

## Region

Intensity パラメーターを検出する領域（核、細胞質、細胞）の選択を行います。事前に領域を“Find Nuclei”などで指定する必要があります。

## Method

MethodはStandardのみになります。チェックを入れたパラメータを計算します

## Output Properties

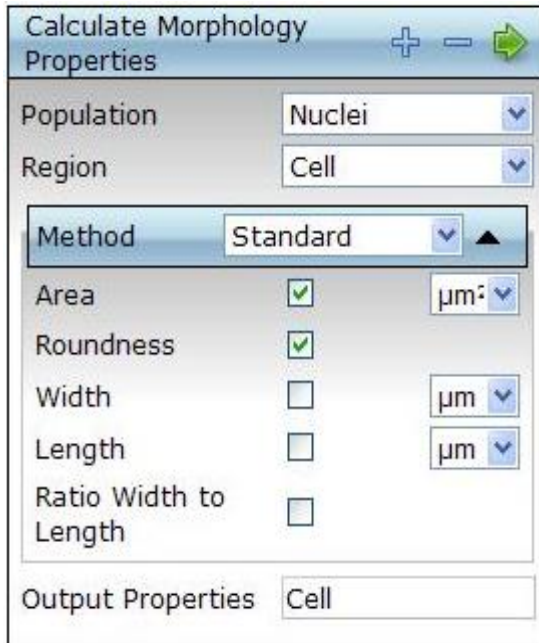
Propertiesにつける名前を入力します。



# Calc. Morphology Prop.

Calculate Morphology Propertiesは任意の領域の、形態に関するパラメータを計測します。

## Methods: Standard



### Population

Morphology パラメーターを検出するObjectの集団を選択します。

### Region

Morphology パラメーターを検出する領域（核、細胞質、細胞）の選択を行います。事前に領域を“Find Nuclei”などで指定する必要があります。

### Method

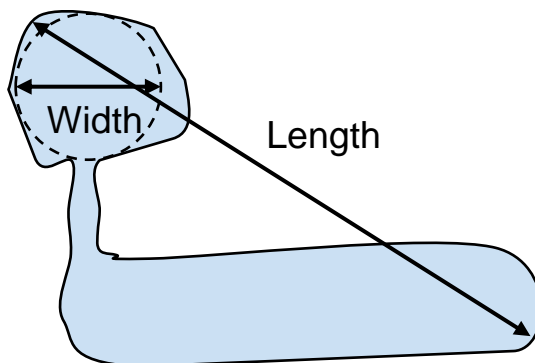
Method は Standard と STAR Morphologyの2種類があります。チェックを入れたパラメータを計算します

### Output Properties

このPropertiesにつける名前を入力します。

### WidthとLength

Widthは、オブジェクト内に描ける最大の円の直径の値です。一方、Lengthはオブジェクトで最も離れたピクセル間の距離の値です。

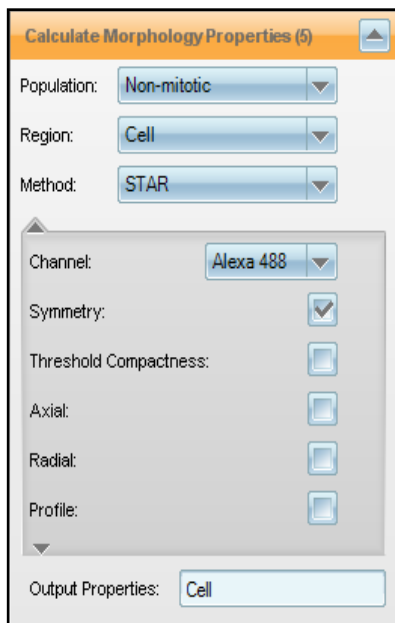


Classical morphology properties



## Methods: STAR

STAR形態解析は、画像中の対象物のシグナル分布を数学的に解析します。STARではSymmetry、Threshold Compactness、Axial、Radial、Profileの解析を行うことができます。



### Population

Morphology パラメーターを検出するObjectの集団を選択します。

### Region

Morphology パラメーターを検出する領域（核、細胞質、細胞）の選択を行います。事前に領域を“Find Nuclei”などで指定する必要があります。

### Method

STARを選択します。

### Channel

解析したいチャンネルを選択します

### Output Properties

このPropertiesにつける名前を入力します。



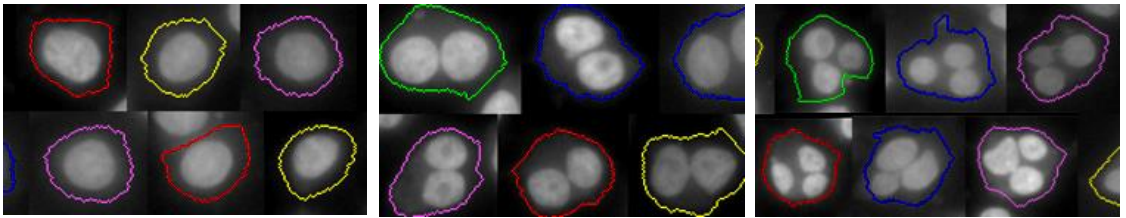


## Symmetry

各オブジェクト内の強度分布の対称性を測定します。  
 パラメータは「Symmetry XY」と名前が付き、8種類あります。  
 Xは、半径方向の強度減衰  
 Yは、対称軸の数を反映

アウトプットされるプロパティ

Symmetry 02	Symmetry 12
Symmetry 03	Symmetry 13
Symmetry 04	Symmetry 14
Symmetry 05	Symmetry 15



Symmetry 02  
Symmetry 12

Symmetry 03  
Symmetry 13

## Threshold Compactness

オブジェクト内の最も明るい領域がどのようにまとまっているかを数値化します。全画素の最も明るい30-60%を検討します。オブジェクト内に断片化した明るい領域があるところの値は小さくなります。

アウトプットされるプロパティ

Threshold Compactness 30%	Threshold Compactness 50%
Threshold Compactness 40%	Threshold Compactness 60%



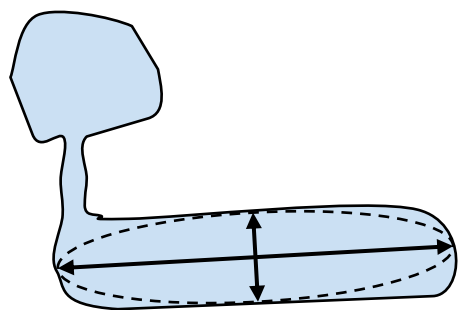
Threshold Compactness

## Axial

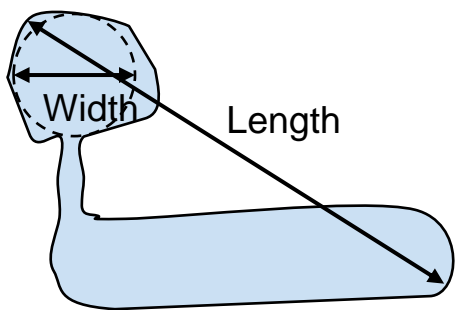
オブジェクト内に描ける最も大きな楕円の短軸長 (Axial Small Length) と、軸長の比 (Axial Length Ratio) を算出します。従来の長軸、短軸の値とは異なります。

アウトプットされるプロパティ

Axial Small Length	Axial Length Ratio
--------------------	--------------------



STAR Axialの測定箇所

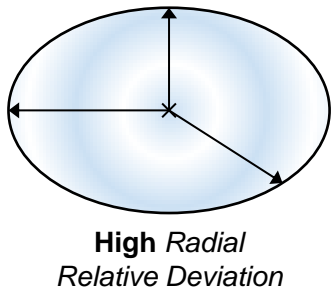
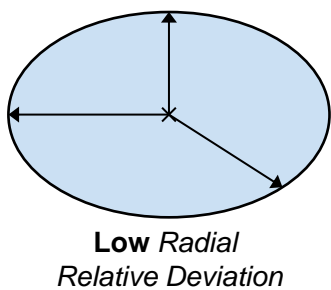
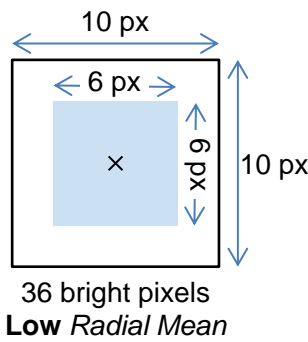
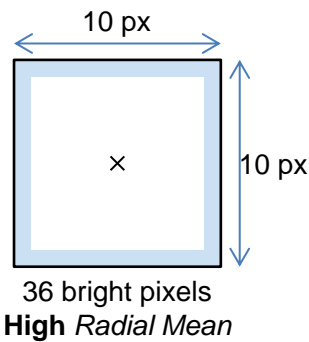


LengthとWidthの測定箇所

## Radial

オブジェクト内の半径方向における蛍光強度の分布を数値化します。  
Radial Mean: オブジェクト中心からの距離により重み付けされた蛍光強度の平均半径の値  
Radial Relative Deviation: オブジェクト内の蛍光シグナルの均一性の数値化  
アウトプットされるプロパティ

Radial Mean	Radial Relative Deviation
Radial Mean Ratio	





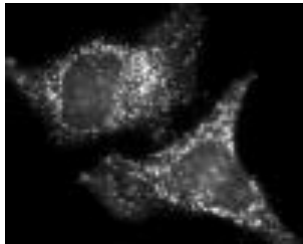


## Profile

オブジェクト内を2つ、または、5つの領域に分類した後、重み付けを行い、その領域内のシグナルを数値化します。

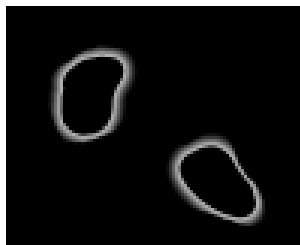
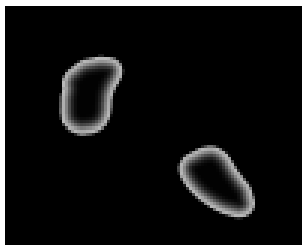
アウトプットされるプロパティ

Profile 1/5	Profile 2/5
Profile 3/5	Profile 4/5
Profile 5/5	



Profile 1/5

Profile 2/5



Profile 3/5

Profile 4/5

Profile 5/5



# Calc. Properties

Calculation Propertiesを使うと、計算や関連付けを行えます。

## Methods: By Formula

計算式を作り、新たな解析パラメータを作ります。

Calculate Properties

Population: Spots

Method: By Formula

Formula: a/b

Variable A: Relative Spot I

Variable B: Corrected Spot

Output Property: Formula

### Population

Calculation Properties で使用する Population を選択します。

### Formula

ユーザーによって Formula は自由に作成できます。A/B、(A-B)/(A+B)、A/(A+B+C) などの四則演算から、EXP や Cos など也可以使用できます。

### Variable

Formula の変数を選択します。このブロック以前に算出された蛍光強度や形態のプロパティが選択できます。

### Output Properties

この Properties に名前をつけます。デフォルトは "Formula" です。

## Methods: By Related Population

画像すべてを解析対象として選択します。画像全体の蛍光強度などを測定するときなど有効です。

Calculate Properties

Population: Spots

Method: By Related Pop

Related Population: Nuclei

Number of Nuclei: ☐

Relative Spot Signal on Cell: Mean ☐

Number of Spots on Cell: Mean ☐

Number of Spots per Area of Cell: Mean ☐

Output Properties: per Object

### Population

Calculation PropertiesのPopulationを選択します。

### Related Population

関連付けを行いたいPopulationを選択し、さらに、関連付けを行いたいデータを選択します。

### Output Properties

このPropertiesに名前をつけます。デフォルトは"Formula"です。

# Track Objects

Track Objectsは、タイムシリーズデータで動いているObjects（核や細胞）の軌跡をたどります。

Track Objects

Population

Nuclei

Region

Nucleus

Method

Standard

Track Object Division

☒

Correct Detection Errors

☒

Discard Single Timepoint Tracks

☒

Overlap

≥

1

%

Unit for Properties

μm

Output Population

Tracked Nuclei

## Population

トラッキングさせる Objects の Population を選択します。“Track Objects”を選択する前に“Find Nuclei”や“Find Cell”で核や細胞を定義させる必要があります。

## Region

トラッキングに使う領域（核、細胞質、細胞）の選択を行います。

## Method

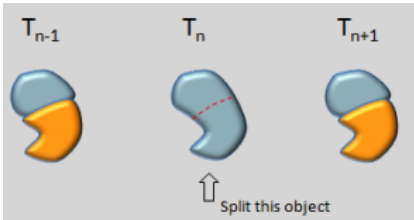
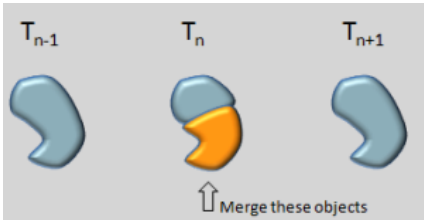
Standardのみになります。

## Track Object Division

チェックを外した場合、スプリットやマージしたObjectはトラッキングしないように定義します。

## Correct Detection Errors

単一の時間にしか存在しないObjectを認識誤差と考え、自動的に訂正します。



## Discard Single Timepoint Tracks

ひとつのタイムポイントでしか、認識されていないObjectを除きます。

## Overlap

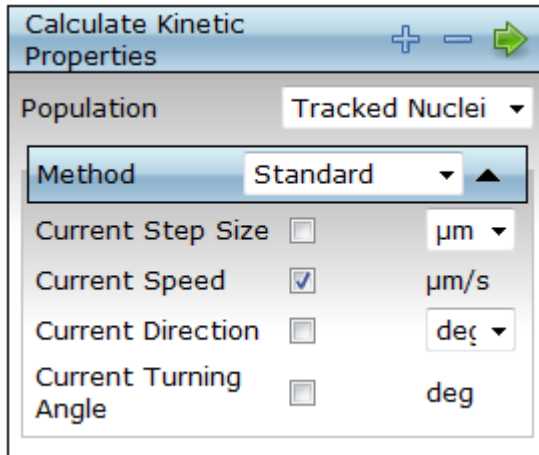
Objectが同じものと認識させるための2タイムポイント間でのObjectの最少の重なりを定義します。Defaultは“1%”になります。

## Unit for Properties

データの単位を定義します。Defaultは“μm”になります。

# Calc. Kinetic Properties

Calculation Kinetic Propertiesを使うと個々の細胞の動きを測定できます。Kineticsを測定するためには、2点以上のタイムポイントが必要です。



## Population

Kinetic Properties で使用する Populationを選択します。

## Method

Standardのみです。

## Current Step Size

Defaultは"Off"になります。タイムポイント間の移動距離を計算します。

## Current Speed

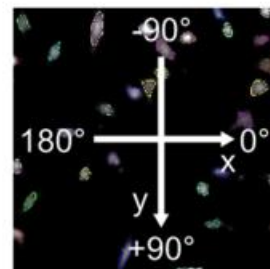
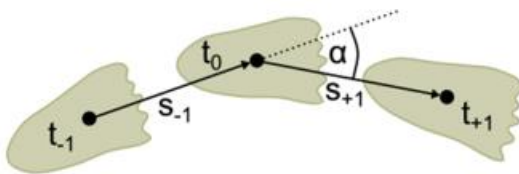
Defaultは"On"になります。タイムポイント間の速度を計算します。

## Current Direction

Defaultは"Off"になります。タイムポイント間の移動方向を計算します。

## Current Turning Angle

Defaultは"Off"になります。タイムポイント間の移動角度を計算します。



$$\text{Current Step Size} = (s_{-1} + s_{+1})/2$$

$$\text{Current Speed} = (s_{-1} + s_{+1})/(t_{+1} - t_{-1})$$

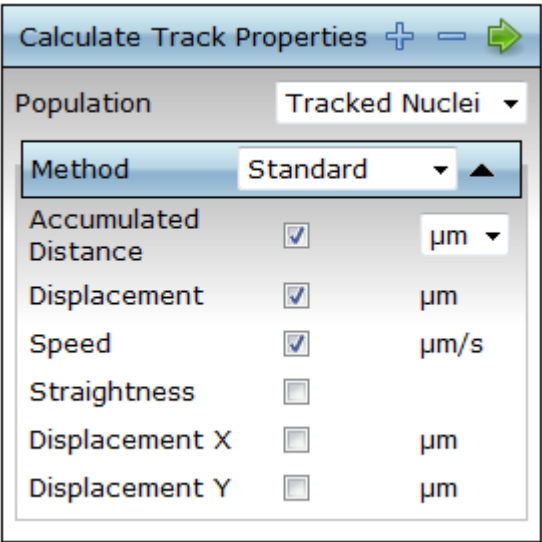
$$\text{Current Turning Angle} = \alpha$$

# Calc. Track Properties

Calculation Track Propertiesは動いているObjectのトラックを定義します。  
Track Objectによって定義されたKinetic Populationが必要になります。

## Methods: Standard

タイムシリーズで撮像したトラッキングデータ全体の共通のデータセット



### Population

Track ObjectしたPopulationを選択します。

### Accumulated Distance

始点から終点までの総移動距離

### Displacement

始点と終点の直線上の移動距離

### Speed

速度を計測します。Accumulated Distanceを時間で割った値になります。

### Straightness

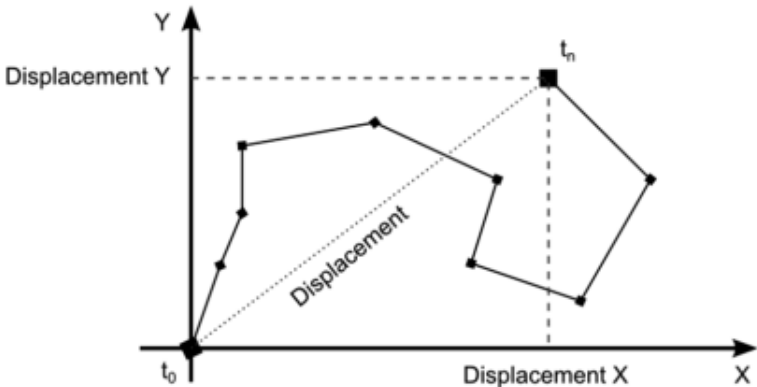
DisplacementをAccumulated Distanceで割った値。直線で移動したとき、"1.0"になる。

### Displacement X

X軸方向の移動距離

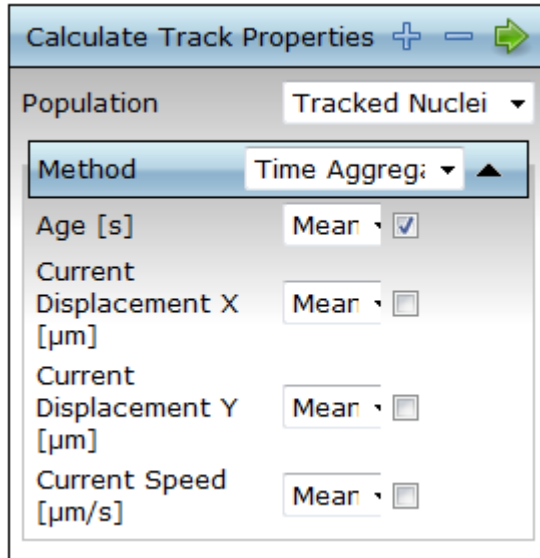
### Displacement Y

Y軸方向の移動距離



## Methods: Time Aggregation

全トラックを通しての値を求めます。



### Population

Track ObjectしたPopulationを選択します。

### Age[s]

時間

### Displacement X

始点と終点の直線上の移動距離

### Displacement Y

始点と終点の直線上の移動距離

### Current Speed

Defaultは”On”になります。タイムポイント間の速度を計算します。



## Select Population

Select Populationは、Filter By property、Common Filter、Liner Classifierの3種類から構成され、Populationをもとに、Subpopulationを作成するときに使用します。

### Methods: Filter by Property

あるPopulationから、特定の条件を満たすObjectを抽出し、Subpopulationを定義します。例えば、蛍光強度がある一定よりも強く発現している細胞を選択するときなどに使用します。

#### Population

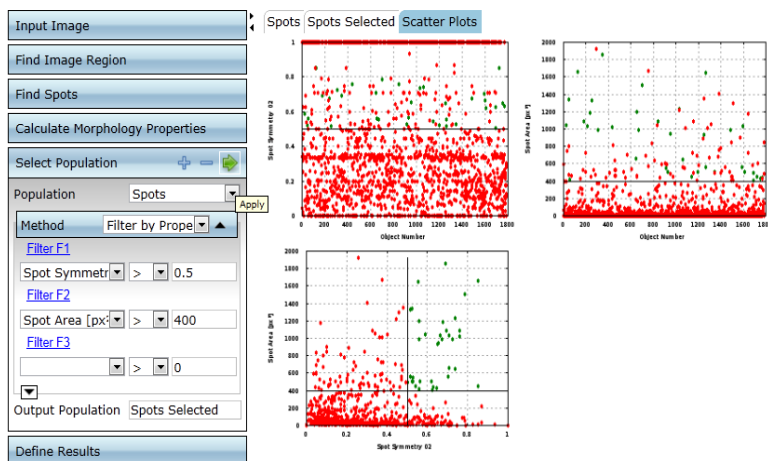
Calculation Propertiesで使用するPopulationを選択します。

#### Filter

Subpopulationを作成するための条件を入れます。

#### Output Population

このPopulationに名前をつけます。デフォルトは"Population名 Selected"です。

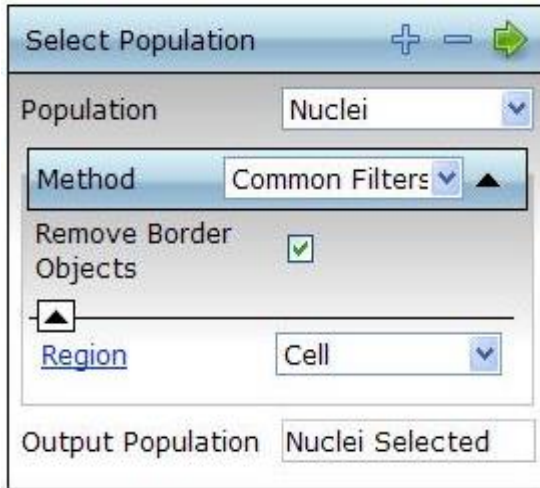


Filterを設定すると、スカッタープロットが表示できます。



## Methods: Common Filter

画像の端に、触れている核や、細胞を取り除き、解析の精度を上げるために使用します。



### Population

Common Filterで使用する集団を選択します。

### Remove Border Object

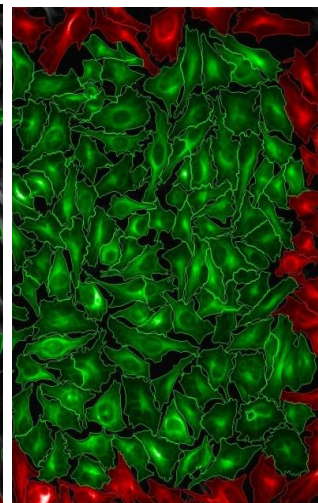
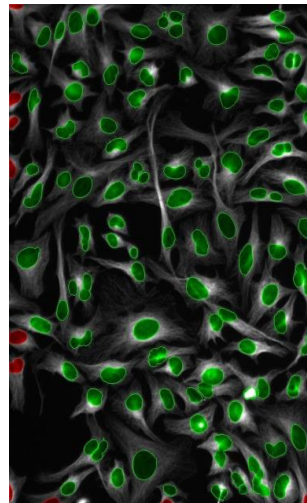
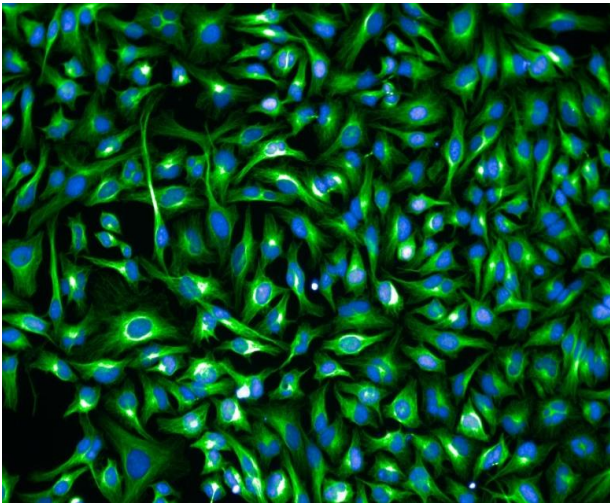
チェックをいれると、Filterがかかります。

### Region

Filterにより、取り除く領域（格、細胞）を選択します

### Output Population

このPropertiesに名前をつけます。デフォルトは "Population 名 Selected" です。



元画像：核を青で、チューブリンを緑で表現。RegionでNucleiを選択すると、画像の端に核が接した細胞のみが排除（赤で表現）されます。RegionでCellまたはCytoplasmを選択すると画像の端に細胞が接した細胞のみが排除（赤で表現）されます。

## Methods: Liner Classifier

複数のパラメータによるクラス分けをコンピュータで行います。このブロックを使用する前に、Calculate Intensity PropertyやCalculate Morphology Propertyなどで、Objectの情報を事前に計算しておく必要があります。

Input Image

Find Nuclei

Find Cytoplasm

Calculate Morphology Properties

Select Population + - →

Population Nuclei ▼

Method Liner Classifi ▼ ▲

[Train...](#)

Number of Classes 2 ▼

☐

Output Population A Class A

Output Population B Class B

①

②

③

④

Train

☒ Class A : green

☐ Class B : red

- ① 変更を適用するときには押すボタンで、Training Modeを継続します。
- ② 変更を適用し、Training Modeを終了するときには押すボタンです。
- ③ すべての変更を破棄し、Training Modeを終了するときには押すボタンです。
- ④ すべてのTraining情報を削除します。

### Population

Populationを選択します。

### Number of Classes

Liner Classifierでクラス分けする数を決めます。

### Output Population

クラス分け後のPopulationに名前をつけます。

## Initial Traning

1. Select populationを選択し、MethodからLiner Classifierを選択します
2. 適切なPopulationを選択します。
3. Number of Classesにクラス分けしたい数を入れます。
4. Output Populationに名前を入れます。
5. Train...をクリックし、Training画面にし、ClassAと考えられる画像をクリックで選択します。
6. ClassBを選択します。
7. をクリックし、クラス分けを確認します。
8. 納得がいくようにクラス分けができていたら、 をクリックし、Traning modeを終了します、

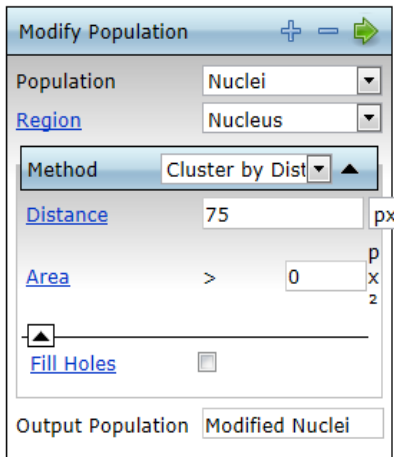
50



# Modify Population

Modify Populationをつかえば、オブジェクトを結合させたり分離できます。クラスタ解析等に応用できます。

## Methods: Cluster by Distance



### Population

変更するPopulationを選択します。

### Region

変更し、オブジェクトのどの領域を使うかを選択します。

### Distance

正の値: この値より近傍にあるオブジェクトが、ひとつのオブジェクトとして結合されます。

負の値: 細いくびれがあるオブジェクトを分離できることがあります。

ゼロ: 接しているオブジェクトを結合します。

### Area

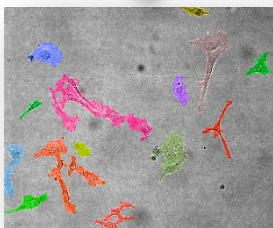
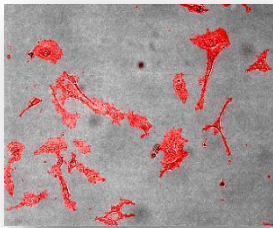
設定した数値以下のオブジェクトは除かれます。

### Fill Holes

オブジェクトにある「穴」を埋めることができます。

### Output Population

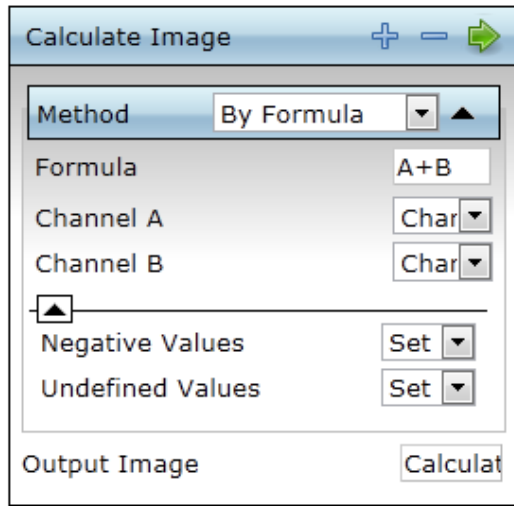
変更後のPopulationに名前をつけます。



# Calculate Image

Calculate Imageは、既存の画像間での四則演算などを行い、新しい画像を作成します。

## Methods: By Formula



### Formula

任意の計算式(例えば、 $A+B$ 、 $A/B$ など)を入力します。A、B、CなどはChannelを表します。

### Channel A

ドロップダウンリストから、既存のChannelを選択します。

## Negative Values

演算後に負の値があった時の定義を選択します。下記のビルディングブロックを使用した時に負の値が計算されます。

Set to Zero: 負の値を0に設定します。

Shift Intensities: 最低の蛍光強度値を0に設定します。 $\text{iif}(A.\text{min}<0, A+A.\text{min}, A)$ の演算式と同じになります。

Keep: 負の値があってもそのままにします。

## Undefined Values

演算後にNaN (= "Not a number")があった時の定義を選択します。NaNは画像を0で割った時などに定義されます。

Set to Zero: NaNを0にします。

Set to Local Average: 周囲のピクセルの平均値を使用します。NaNを0に設定するよりも、ギャップをスムーズに埋められます。平均値やTexture解析などではあまり影響されません。

## Output Image

新しく作成した画像の名前を付けます。



## Harmonyの演算子

演算子		例	意味
+	加算	$A + B$	AにBを加える
-	減算	$A - B$	AからBを引く
*	乗算	$A * B$	AにBをかける
/	除算	$A / B$	AをBで割る
<	小なり	$A < B$	AはBより小さい
>	大なり	$A > B$	AはBより大きい
==	イコール	$A == B$	AとBは等しい
<=	小なりイコール	$A <= B$	AはB以下
>=	大なりイコール	$A >= B$	AはB以上

## 演算子の応用例

演算式	意味
$A / A.mean$	蛍光強度の標準化。平均値を1として表すことができます。
$A > A.mean$	画像中のピクセルで蛍光強度が平均より大きいピクセルを"1"、それ以外を"0"にします。
$A > B$	画像Aのピクセルよりも画像Bのピクセルの蛍光強度が大きいピクセルを"1"に、それ以外を"0"にします。
$iif(A > 2500, A, 0)$	ピクセルの蛍光強度が2500より大きい時は、ピクセルの値のままを保持し、それ以下の時は、"0"にします。

### 上記以外の演算子について

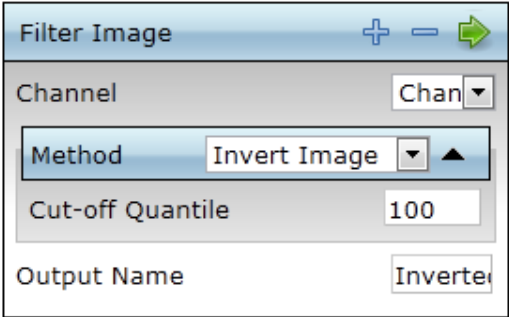
上記以外の演算子や演算方法に関しては、パーキンエルマージャパンへお問い合わせください。

e-mail: [Imaging.jp@perkinelmer.com](mailto:Imaging.jp@perkinelmer.com)

# Filter Image

選択画像にフィルター処理を行います。フィルター処理した画像は新しいチャンネルとして、解析を行うことができます。Invert、Texture SER、Smoothing、Sliding Parabolaの4種類のフィルターがあります。

## Methods: Invert Image



### Channel

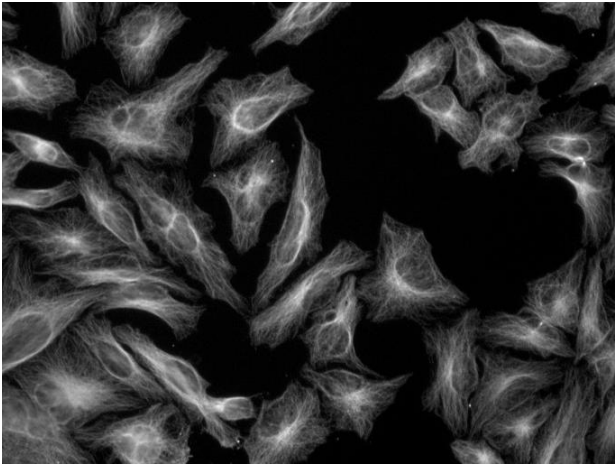
反転したい画像を選択します。

### Cut-off Quantile

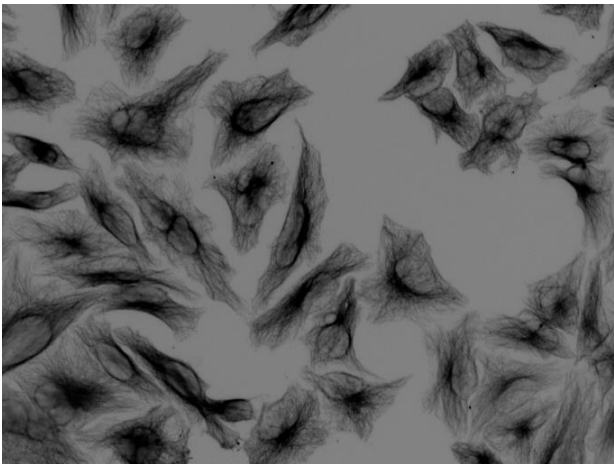
非常に蛍光強度が高いピクセルを除いた画像で反転画像作製したいときに設定を行います。蛍光強度の強いアーチファクトなどがあるときに使用します。デフォルト値は100で、標準値は98から100になります。

### Output Name

反転した画像にチャンネル名を付けます。



オリジナル画像

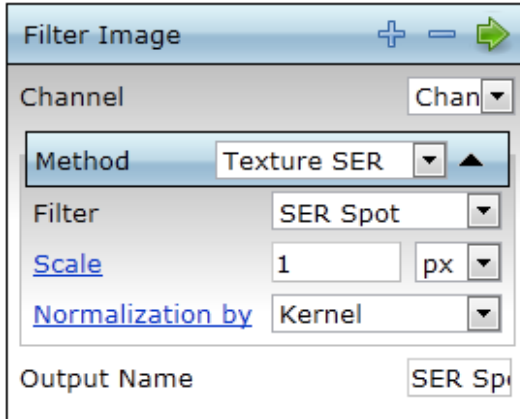


Inverted画像



## Methods: Texture SER

パターン認識した画像をビルディングブロックで認識させるために使用するフィルターです。Texture画像を作成後は、他のビルディングブロックにおいてもオブジェクトを認識できます。



### Channel

パターンに認識させる画像を選びます。

### Filter

パターン認識フィルターを選択します。パターンはSpot、Hole、Edge、Ridge Valley、Saddle、Bright、Darkの8種類になります。

### Scale

パターン認識の基準となるピクセルサイズになります。このScale値を変更することで、画像の最適化を行うことができます。

### Normalization by

Kernel: 画像はピクセル毎に平滑化画像で補正

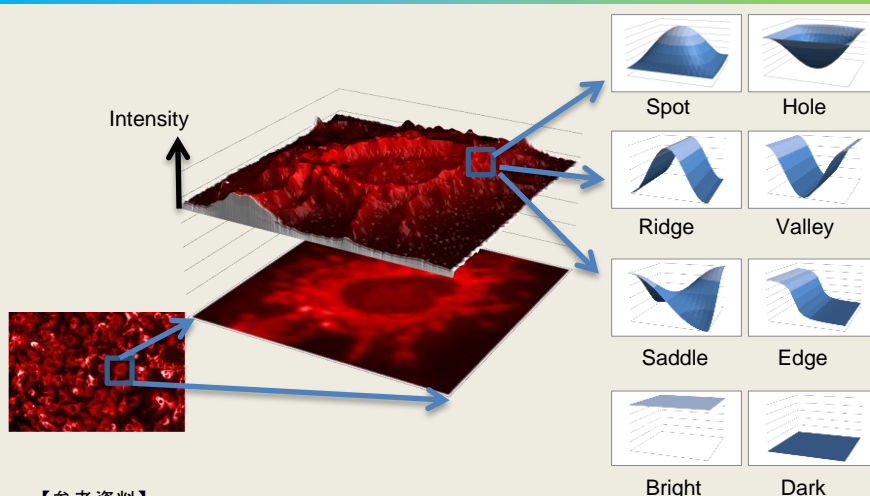
Region Intensity: 画像はピクセル毎に平均蛍光強度で補正

Unnormalized: 補正なし

### Output Name

パターン認識した画像にチャンネル名を付けます。

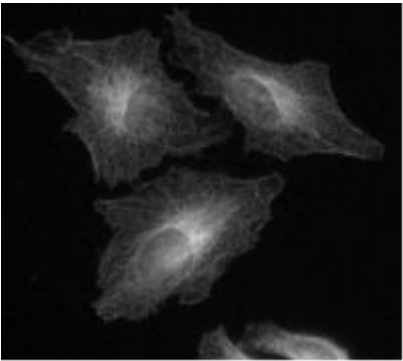
### Texture解析



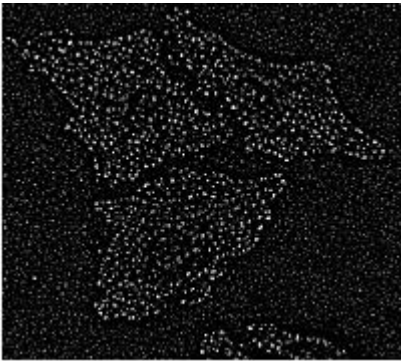
#### 【参考資料】

1. Tuceryan, M., Jain, A. K. (1998) "Texture Analysis"
2. Srinivasan, G. N., Shobha, G. (2008) "Statistical Texture Analysis"
3. Haralick, R.M., Shanmugan, K., Dinstein, I. (1973) "Texture feature classification"

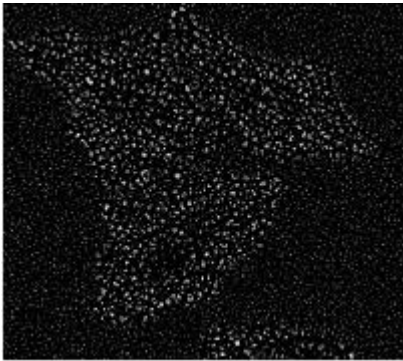
Texture SERのフィルターイメージ画像例。



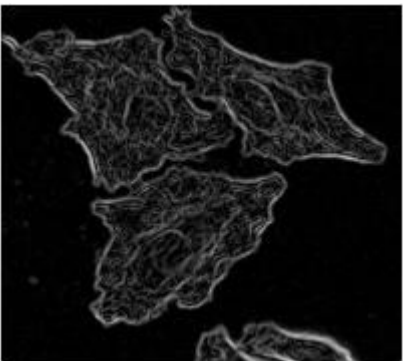
オリジナル画像



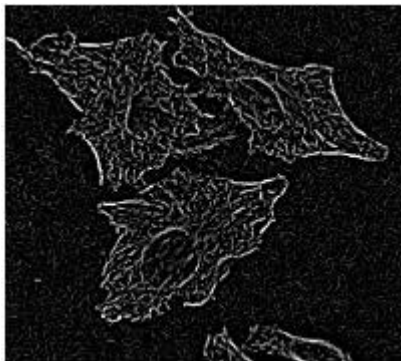
Filtered Image SER Spot



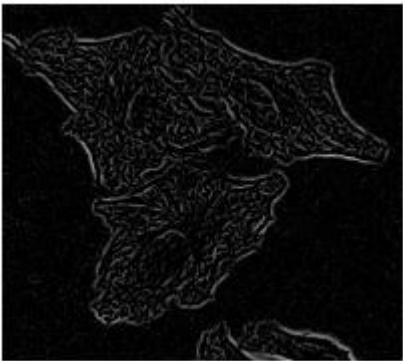
Filtered Image SER Hole



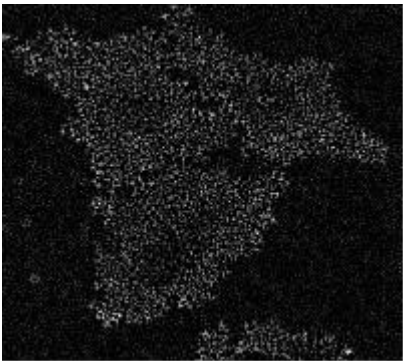
Filtered Image SER Edge



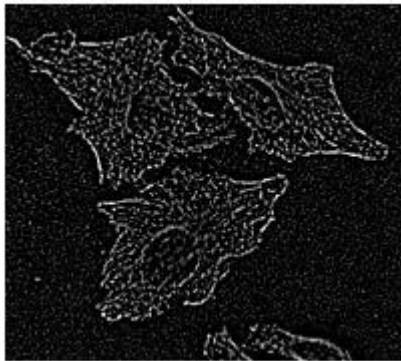
Filtered Image SER Ridge



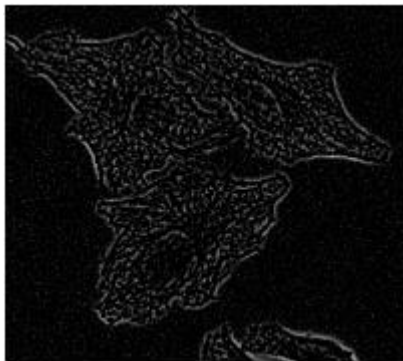
Filtered Image SER Valley



Filtered Image SER Saddle

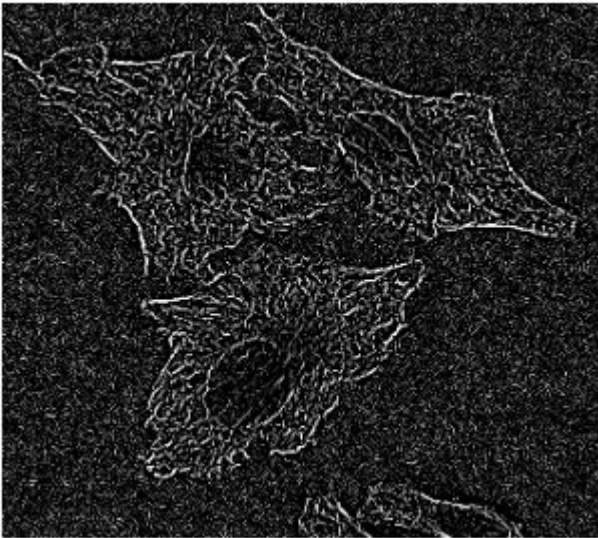


Filtered Image SER Bright

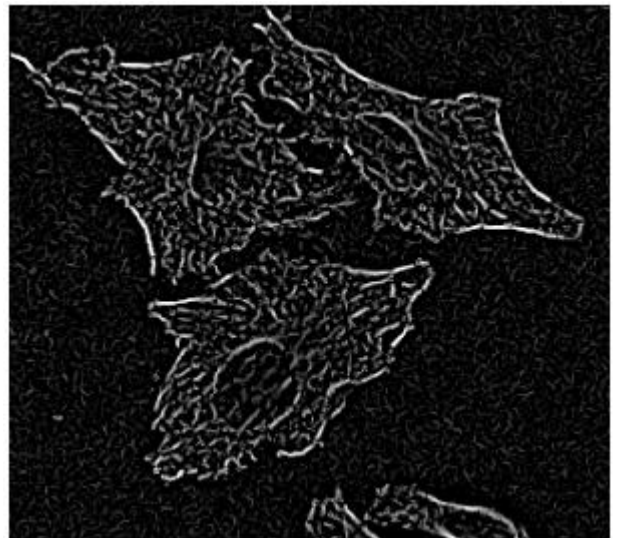


Filtered Image SER Dark

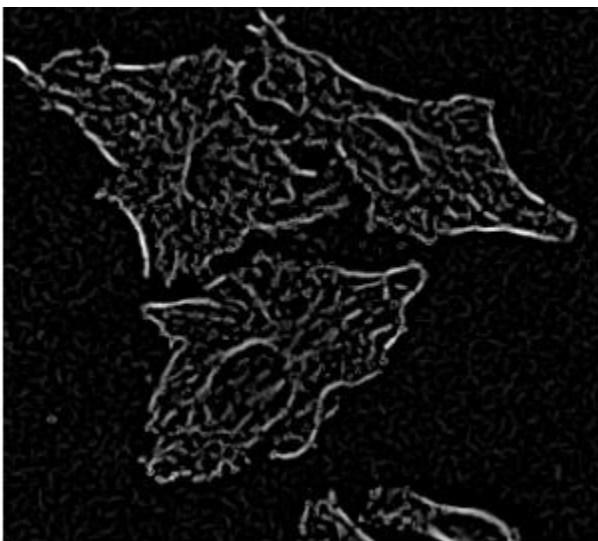
フィルターの基準になるScaleを変更した時の画像例。Scaleを変更すると、認識パターンが変わります。



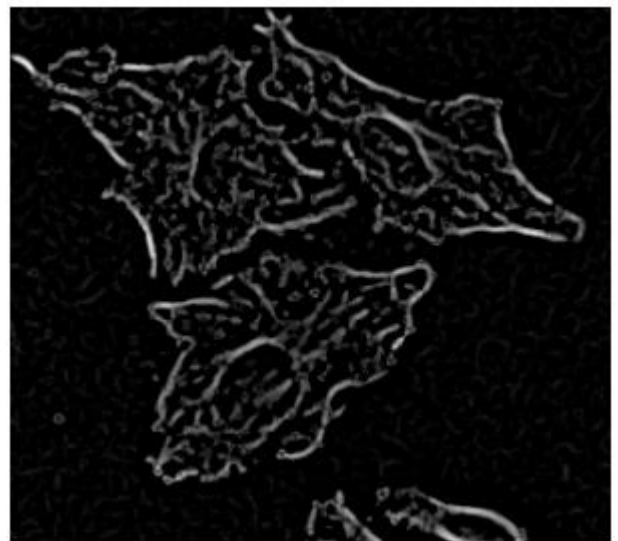
Scale 0.5px



Scale 1px



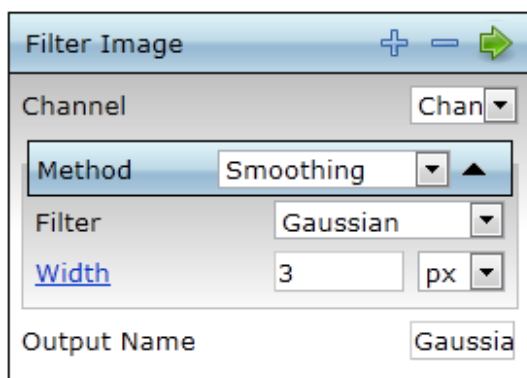
Scale 1.5px



Scale 2px



## Methods: Smoothing



### Channel

Smoothingしたい画像を選択します。

### Filter

フィルター（ Gaussian 、 Mean 、 Median）を選択します。

### Output Name

反転した画像にチャンネル名を付けます。

### Width

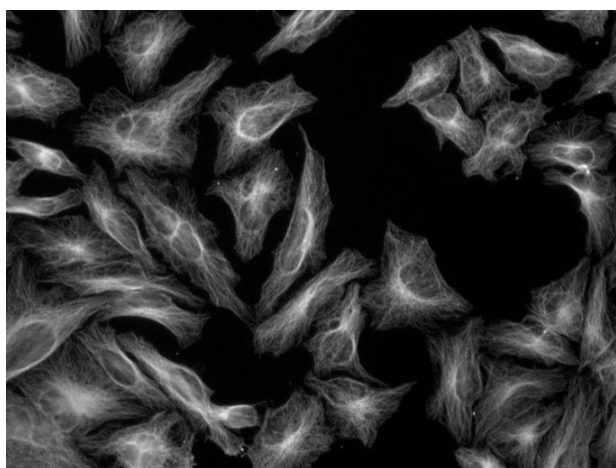
Gaussian フィルターの中心の大きさ。デフォルトは3px。

### Scale

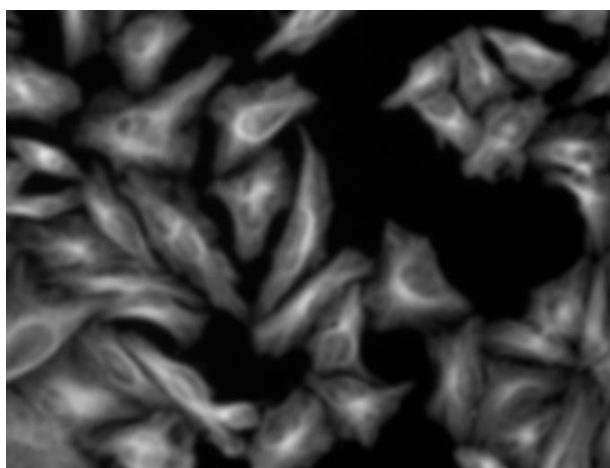
Mean、またはMedianフィルターの中心の大きさ。デフォルトは1px。

### Output Name

スムージングした画像にチャンネル名を付けます。



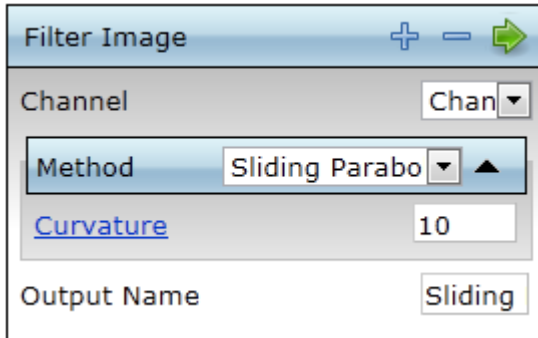
オリジナル画像



Smoothing Gaussian画像

## Methods: Sliding Parabola

画像中のバックグラウンドのシグナルを取り除くフィルターです。



### Channel

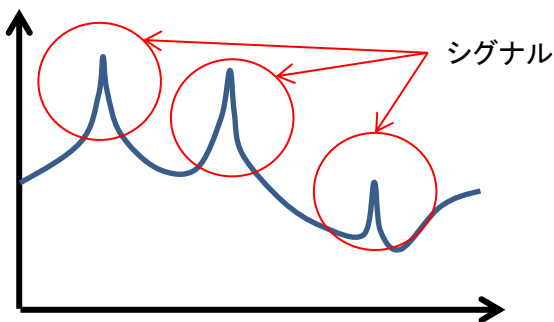
Sliding Parabola処理する画像を選びます。

### Curvature

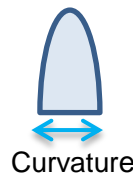
パラボラの幅を設定します。

### Output Name

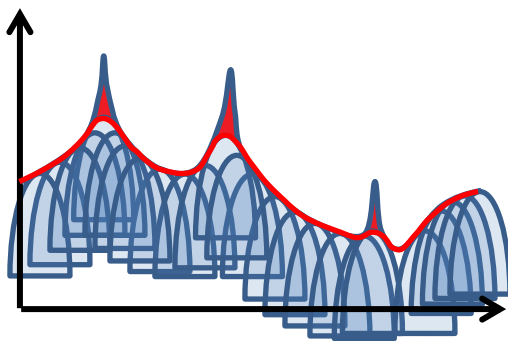
Sliding Parabolaした画像にチャンネル名を付けます。



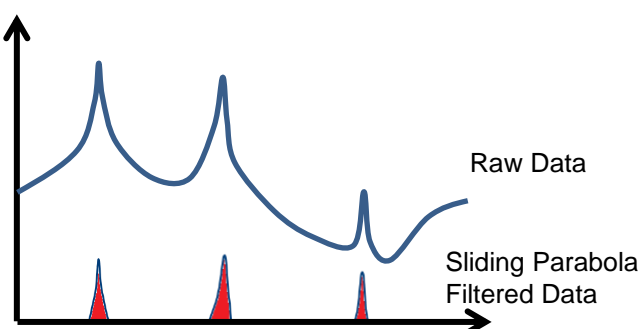
パラボラ



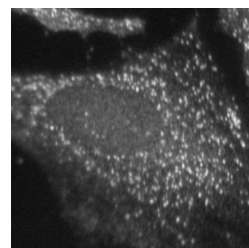
バックグラウンドを除くために、パラボラを用いて、補正します。



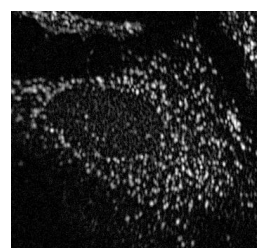
パラボラがフィットした部分をバックグラウンドとし、赤色部分が補正後のシグナルになります。



Raw Data



Sliding Parabola Filtered Data



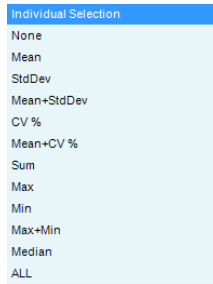
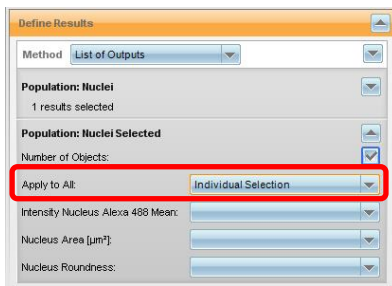
# Define Results

Define Resultsは、最後のビルディングブロックです。ここでは、これまで計算したさまざまなプロパティから、実際にエクスポートするものを選択します。

## Method: List of Outputs

ポピュレーションごとにアウトプットする解析項目を選択します。

“Apply to all”の項目でMeanを選択すると、ポピュレーション内の全ての解析項目がMeanとしてアウトプットされます。Individual Selectionでは、個々にアウトプットするデータを選択できません。Noneを選ぶと、すべての項目がアウトプットされません。



< Apply to all で選択できる項目の一覧

## Method: Standard Outputs

一つのプロパティを選択します。名前をつけることができます。

## Method: Formula Outputs

### Formula

ユーザーによってFormulaは自由に作成できます。A、Bは次のVariableで設定する変数です。

A/B、(A-B)/(A+B)、A/(A+B+C)などの四則演算から、EXPやCosなども使用できます。

### Variable

Formulaの変数を選択します。

### Output Name

このアウトプットにつける名前を指定します。

## Single Cell Results

---

Single Cell Results をアクティブにすると、ウェルレベルのデータに加えて、細胞レベルのデータを保存することが可能です。

### **None**

細胞レベルのデータは、保存されません。デフォルトの設定です。

### **ALL**

ビルディングブロックで計算されたすべてのプロパティが細胞ごとに保存されます。このオプションで保存されるデータテーブルは、非常に大きくなりますので、ご利用にはご注意ください。

### **Selected**

Define Resultsで選択されたプロパティが細胞レベルで保存されます。







## お問い合わせ先

### パーキンエルマー・ジャパンライフサイエンス事業部

〒240-0005

横浜市保土ヶ谷区神戸町134

横浜ビジネスパーク テクニカルセンター4F

TEL: 045-339-5862

e-mail: [imaging.jp@perkinelmer.com](mailto:imaging.jp@perkinelmer.com)

株式会社パーキンエルマー・ジャパン  
[www.perkinelmer.co.jp](http://www.perkinelmer.co.jp)

ライフサイエンス事業部

本 社 〒240-0005 横浜市保土ヶ谷区神戸町134

横浜ビジネスパーク テクニカルセンター4F

TEL. (045) 339-5862 FAX. (045) 339-5872

大阪支社 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町5-3

TEL. (06) 6386-1771 FAX. (06) 6386-6401

東京営業所 〒101-0024 東京都千代田区神田和泉町1-7-17 CTKビル5F

TEL. (03) 3866-2647 FAX. (03) 3866-2652

九州営業所 〒812-0013 福岡市博多区博多駅東1-12-6 花村ビル2F

TEL. (092) 474-2311 FAX. (092) 473-8353