Living up to Life



# TCS SP8

Navigator LASX

20200312\_JP



# 目次

I. Navigator について		1
II. Pre Scan		2
III. タイリング取得		5
IV. Mosaic Merge	9	
IV. 応用編		
1) Focus Map (傾き補正)		10
2)視野間で異なる高さを取得する方法		12
3) Carrier の設定		13
4) Align Image		17



## I. Navigator

サンプルのオーバービューイメージから多点 Tile 画像の取得、Focus Map の設定などが行えます

Navigatorの起動



メニュー画面左上 Acquisition Modeのアイコンをクリック すると下記画面がに置換わります

#### ※SP8立ち上げ時にStageのイニシャライズを行ってくださいNavigatorがアクティブになります



- ① 画像表示ウインドウ:マウスで画像の移動・ステージの移動なども行えます
- ② Tool Bar: 各アイコンをクリックすると画像所得パラメーターなどの設定ウインドウが開きます
- ③ Image display:画像のコントラスト調整やチャンル選択などが行いえます
- ④ :タイリング・多点設定 Focus Mapの設定が行えます
- ⑤ コントロールパネル:Gainの設定選択がおこなえます
- ⑥ Image acquisition:画像取得を行えます
- ⑦ :ライブ画像やスパイラル取得した画像のリストが表示されます
- ⑧ Task List:タイリングのROIや多点取得のポジションが表示されます



#### II. Pre Scan

#### 

① Live: 通常の Live Scan を行います

Scan Spened の変更と Bidirectonal 設定などは アイコンをクリックすると Scanmode のウインドウが開きます

② Fast Live:設定したピクセルサイズや Scan Speed などに関わらず、512x512 pixel、Bidirectional ON、600 Hz 以上の条件で Live Scan を行います

\*Live では設定した設定したピクセルサイズや Scan Speed などで Scan されます

\* Scan Mode を変更することなく、Scan Speed の速い設定になるので、ステージの移動やフォーカス調整を簡 単に行うことができます

Run Auto-Focus

Fast Scan Settings ...

Fast Live のアイコンを右クリックすると、右図が表示されます

Run Auto-Focus コントラストの良い Focus 面を探しながら Spiral Scan を行います



- ③ Capture Image:現在位置で画像を Capture します
- ④ Spiral: 右図のように Spairal 状に位置を変えながら画像を Fast Scan します
- \*最大 361 画像(PreScan なので多少の画像間のずれは生じます)





Fast Scan 右クリックすると右図が表示されます

	Run Smart Spiral
	Run Find Object Outline Scan
	Run Fast Spiral
	Run Precise Spiral
	Run Auto-Focus
$\checkmark$	Button starts Fast Spiral
	Fast Scan Settings

Run Smart Spiral	右周りでコントラストの良いフォーカスを探しながら、 Spiral Scan を
	行います(最大 361 画像)
Run Find Object Outline Scan	サンプルの辺縁部を自動で探し全体画像を作成します
	コントラストの良いフォーカスを探しながら縁に沿って取得を行い、
	取り終わると内側を取得して全体を Scan します
Run Fast Spiral	Fast Scan で Spiral Scan を行います(最大 361 画像)
Run Precise Spairal	設定したフォーマット、Scan Speed などで Spiral Scan を行います
	(最大 361 画像)
Run Auto Focus	現ポジションでコントラストの良いフォーカスを探し、Scan します
Button starts Fast Spiral	Spiral を押すだけで Fast Spiral を行う設定に切り替わります
	チェックが入って無ければ、選択した条件で Spiral を行います
Fast Scan Setting	Fast Scan の設定ができます

#### II-2. Pre Scan 画像の保存

Live、Spiral などの Pre Scan 画像を保存することができます Navigator 上で取得した画像はすべて画面右のリストに一時保存されます \*Navigator 上で撮影していない場合、表示されません

\*Navigatorを閉じてもリストは消えませんが、システムを落とすと消えます

①保存したい画像をリストから選択します(複数選択可)

②リストの下の Save Overview Save Ov



④下図のように Project 内に③でつけた名前のサブフォルダーができ、画像はその下に Image~で保存されます



\* Capture や Start で取得した画像は今までと同様に Project に一時保存されます

\*Save Overview で複数の画像を選択・保存した場合、Mosaic Merge(8 ページ参照)でそれらの相対位置の確認 を行うことができます





## 

\* Clear Overview on Start of Acquisition が ON の場合、Start

で画像取得を行うと Navigator 上の画像が消えてしまいます(Capture や Start で取得した Raw データ自身は消去されません)

## III-2. ROI

1) ROI の指定

下図の ROI ツールを使って画像取得範囲指定します



①Polygon(フリー描写)、②Rectangle(四角形)、③Ellips(楕円)、④Cercle(円)を使い取得範囲を行います
 下図のように ROI に合わせて取得範囲が設定されます





Stage Tile Overlap ON Acquire Separate Images per Region ON 📃 OFF ew on Start of Acquisiti n Shapes on Start of Acqu OFF lerge Images during Acquisition OFF age Analysis after Acquisiti OFF Fast Scan Settings ... For Synapse II (developers only) OFF Close

Merge Images during Acquisition	ON
Keep Raw Data	ON
3D	OFF
Blend	Smooth 🗘

6

ROI を指定すると右図のようにメニュー右下の Task List に表示されます \*ドラッグにより順番を変えることができます

\*チェックが ON になっているものから、上から順番に画像取得されます

#### 2) ROI の合成

ROI を重ねると下図のように合成して範囲を設定できます

3) ROI のカット ROIを2重に指定すると、内側をカットすることもできます

Task List から内側にある(カットしたい範囲を指定した)ROI を選択し、 右クリックすると左図プルダウンメニューが開きます メニューリストの Subtract を選択すると Task List 中のタイル数がマイ ナス表示になります









X

X

X

J O 3 Tiles

12 Tiles

9 Tiles



4) ROI の移動・変形

指定した ROI の移動・変形は下図の矢印選択時に行えます ROI の頂点をドラッグすると変形、線をドラッグすると移動できます



## 5)ROIの回転

Rectangle(四角形)、Ellips(楕円)の2種類のROI でのみ行えます



## Ⅲ-3.タイリング画像の取得

メニュー右下の Start アイコンをクリックすると取得がはじましります Task List でチェックが入っているすべての ROI を上から順に取得します \*ドラッグで順番を変えることができます

#### Ⅲ-4. 取得ファイルの確認と保存

メニュー左上の Projects のアイコンをクリックすると Capture または Start で取得した画像および Save Overview で保存した画像が表示されます

Project 内に TileScan~というサブフォルダが自動的に作成 され、Region(ROI)の RawData や Merge 画像などが表示さ れます

保存は通常の使用時と同様に右クリックで save を 選択して保存してください(通常のガメでもこれまでと同様 に保存できます)









## III-5. Mosaic Merge

Acquisition で取得した Tilescan 画像の再 Merge と Pre Scan で保存した Spiral 画像の Merge がおこなえます ここでは Process の Mozaic Merge の Basic 機能が使えます(Advance 機能は Process で使用できます)



①Mosaic Merge タブをクリックすると、上記 Mosaic Merge 画面に切替わります



③選択した画像が表示され、画面右下のアイコンがアクティブになります

Merge をクリックすると、Project のリスト中にファイル名の後ろに Mergerd とついたファイルが作成されます





## IV. 応用編

## IV-1. Focus Map(傾き補正)

サンプルの傾き補正を行いながら Tile Scan を行います

\*Focus Map が反映されるのは Start で画像取得を行う場合だけで、Spiral や Preview では反映されません

ß



(2) 各 Focus Point の設定

Focus Point を設定すると Focus Map のボタンが表示されます

クリックすると設定ウインドウが表示され、各 Focus Point を設定で きます

手動設定の場合

①Focus Map 設定ウインドウの各 Point 赤枠内をクリックするとその 位置へ自動的に移動し、Fast Live Scan 画像が表示されます

②Z 位置を合わせ、Set Z をクリックすると、次の Point へ自動的に移 動します

③すべての Point に対して②を終えたら、Start で画像取得を行います 自動設定の場合

 ③Set by Autofocus をクリックすると、自動的に各 Point へ移動し、 Fas Live Scan を行い Z 位置を探します

②Start で画像取得を行います

\*Set by Autofocus の右隣にある から Scan する範囲を設定できます(Range と Fast/Prec を設定します)

\*画像取得前に各 Point の高さがあっているか確認することをお勧め します

+ 🗘 🗆 C	O -	ß 🗊	Hide Fo	ocus Map
X ✓ -0.25 mm ✓ 0.01 mm ✓ 0.05 mm Remove All	Y -0.02 mm 0.17 mm -0.09 mm Clear Z	Z Previous	AFC	x x x Next
	Ø	Set Z Find all by Shift focus	Set by Autof Autofocus	ocus – nt Z
O Fo	ecus Map - Aut	to Focus Setting	15	×
F Precision Widefield Precision Confocal	ast 0		P 0	rec
<ul> <li>Higher Scanner</li> <li>Lower Zoom</li> <li>Smaller Format</li> </ul>	Frequency 100 O 64 x	<b>*</b> 64 <b>*</b>	< 1,0 >	
No Average/Acc	ournulation OK	Cancel		



## IV-2. 多点撮影の際、異なる範囲のZ位置を設定する方法

通常すべての位置で同じ Z 範囲が適用されますが、この方法を用いることで位置ごとに異なる範囲の Z 位置を 設定することができます



①Same Stack Size for all Regions を OFF にします(デフォルトは ON)

②ポイント毎に Z-Stack の設定を行い、Redefine
 Stack を押します Z-Stack の登録がされたポイントには が付きます

③Start で画像取得を行います





## IV-3. Dish や Well Plate などの Carrier を用いた Scan

#### Carrier の設定(オプション)

Carrier

Dish や Well Plate などのテンプレートの呼び出しおよび作成することができます Well Plate の場合 Well の部分を自動認識し、そこだけを Scan することができます ①Cariier の呼び出し

Carrier を選択すると下図が表示されます

None Slide ‡ Dish ‡ Chamber Slide ‡ Multi Slide ‡ Well Plate ‡ ...

None:ステージの最大可動範囲が表示されます(デフォルト)

Slide:2x4などメーカーとサイズが表示されます

**Dish**:  $\phi$  35 mmなどメーカーと種類が表示されます

Chanber Slide: 2x4などメーカーと種類が表示されます

**Multi Slide:**Chanber Slide などを組み合わせることができます(…からテンプレートの作成後、使用できます) **Well Plate:**2 x 3 などメーカーと種類が表示されます

...: Slide、Dish、Chanber Slide、Multi Slide、Well Plate に任意のテンプレートを作成・登録できます

メーカーによって、外枠から Well の位置、Well の間隔などが異なる場合があります登録されていない、仕様の ものを設定・保存できます

②Carrier の Alignment

\*登録されているテンプレートを使用する場合でも、位置補正は必要です



96 Well Plate の場合



Options をクリックすると、右図が表示され、Alignment 方法を選択できます Align from Chamber Edges: チャンバーの端を参照します Align from Chamber Center: チャンバーの中心を参照します Calibrate Chamber Distance: チャンバー間の距離の補正を行います Calibrate Chamber Size: チャンバーのサイズの補正を行います



Align from Chamber Edges の場合 Align を押すと、 A1、A12、H1の各 Wellの黄色で示されている上下左右の位置に移動し、Next を押します最後まできたら、Done Caution ! を押して Alignment 終了です \*ステージが大きく動く際、右図のような警告が出て、手動ま たは電動での移動を選択することができます

Caution Large o	n! listanc	e movem	ent					
The stage 35 mm to 4 mm to t This move	will move the left a he back. ment cou	e to the next a nd uld damage ye	alignment p our sample	point or parts	of the m	icroscope!		
		Move man	nually		I unde	rstand the	Risk - Cor	ntinue

③Scan 位置および範囲の指定

(1) Scan する Well を指定



Scan したい範囲を Control 押しながらクリック、またはドラッグすると選 択されます

\*撮影を行うと Well の位置(A1、A2)が画像ファイル名となります

Well 内のスキャン範囲を指定

Setup Chamber Acquisition Regions X	Setup Chamber Acquisition Regions	•O Setup Chamber Acquisition Regions
Mosaic Positions	Mosaic Positions	Mosaic Positions
Rows and Columns     Fill Factor       Rows     3 >       Columns     3 >	Rows and Columns Fill Factor	Number 20 Random Can Overlap Same Pattern Bias Center None Edge
OK Cancel	OK Cancel	OK Cancel

**Rows and Columns:**指定した値のマスを Scan します(Row と Columns が 3 の場合、3 x 3 マスの範囲を Scan) Fill Factor:指定した割合の範囲を Scan します

**Number**: Scan するエリアの数

Random: Scan するエリアの位置を重ならないように撮影するか、ランダムで撮影するか設定できます

Can Overlap: 右図矢印部分のように撮影箇所が重なってもいい

Same Pattern: 撮影箇所が重ならないようにする

Bias: Scan する位置に偏りを持たせるか設定できます

**Center**: 中心に寄ります

None: 偏りはありません

**Edge:**端に寄ります





## IV-4. 画像をテンプレートとして呼び出す

## Load and Align Image

画像を Navigator 上にテンプレートとして呼び出すことができます



Navigator 上の Scan されていない場所で右クリックし、Load and align image(左上図)を選択すると、上中央図 が表示されます

呼び出す画像を選択すると、右上図が表示されます

右上図②左側に現在の画像、右側に呼び出される画像が表示されます

Target Points

ence Points

Reset Align

上記① (三) で並列表示と重ね合わせ表示を切替えながら、画像が重なるように下図の機能を使い角度と位置 調整を行います



調整を終えたら、現在の画像と呼び出す画像の同じ位置に相当する場所を 2 か所選び、 Select を押した後クリックし Align を押すと、画像が背景として呼び出されます









## ライカマイクロシステムズ株式会社

本	社	〒169-0075 東京都新宿区高田馬場1-29-9		
		Tel.03-6758-5640 Fax.03-5155-4336		
大	阪セールスオフィス	〒531-0072 大阪府大阪市北区豊崎5-4-9 商業第2ビル		
		Tel.06-6374-9771 Fax.06-6374-9772		
名古	屋セールスオフィス	〒460-0003 愛知県名古屋市中区錦2-15-20 三永伏見ビル2F		
		Tel.052-222-3939 Fax.052-222-3784		
福	岡セールスオフィス	〒812-0025 福岡県福岡市博多区店屋町8-30 博多フコク生命ビル12F		
		Tel.092-282-9771 Fax.092-282-9772		
•ht	http://www.leica-microsystems.co.jp E-mail: Imc@leica-microsystems.co.jp			

※この製品のデザインおよび仕様は改良などのために予告なく変更する場合があります