

GE Healthcare

ImageQuant TL Analysis Toolbox

簡易マニュアル

Rev. 2010.02



GE imagination at work

目次

イントロダクション (p.3)

ImageQuant TL ソフトウェアのインターフェイスと操作
(p.5)

コントラスト調整 (p.8)

Analysis toolbox の使用方法 (p.9)

付録

A. 撮影条件の確認 (p.13)

B. FluorSep でのイメージの重ねあわせ (p.14)

C. 富士フィルム標準フォーマット .img ファイルを
ImageQuant TL で開く (p.18)

D. Data Fields (p.19)

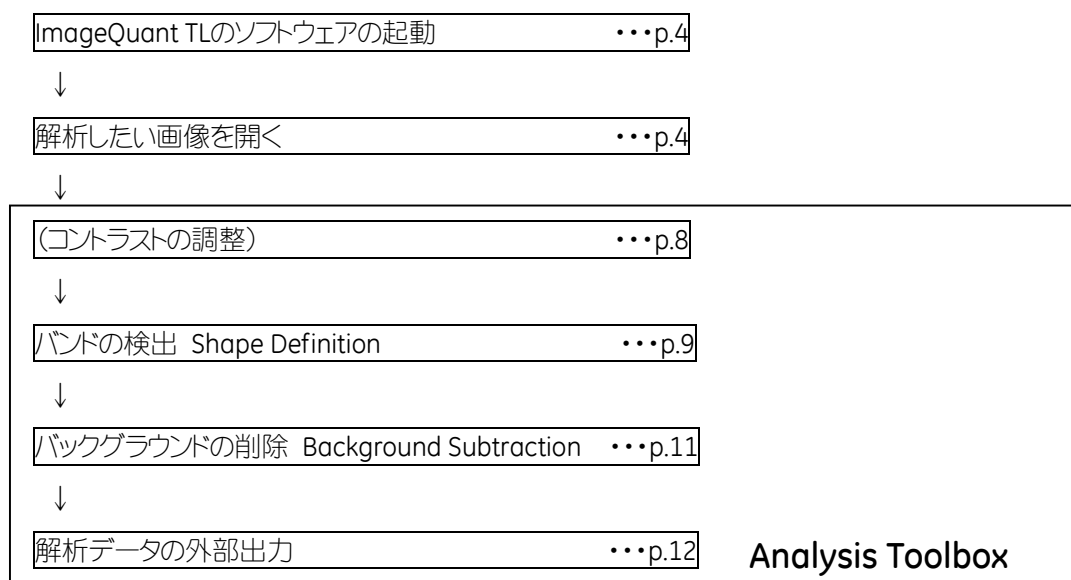


イントロダクション

1. ImageQuant TL の概要

ImageQuant™ TLソフトウェアは、画像解析に必要な基本的な機能を兼ね備えています。このソフトウェアは、一次元電気泳動やプロットイング、簡単なアレイ、コロニーカウンティング、その他様々な形態の数値化などの画像解析機能を含み、これらはImageQuant TLコントロールセンターの各モジュールとして解析をスタートします。これらのモジュールはそれぞれ、1D gel analysis、Analysis Toolbox、Colony Counting、Array analysisに分かれています。このマニュアルは簡単かつフレキシブルに画像解析を行うことが可能なAnalysis Toolboxについて説明します。使用前にこのマニュアルをご一読ください。

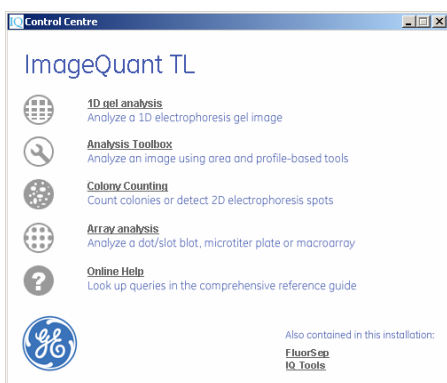
2. ImageQuant TL Analysis Toolbox 操作の流れ



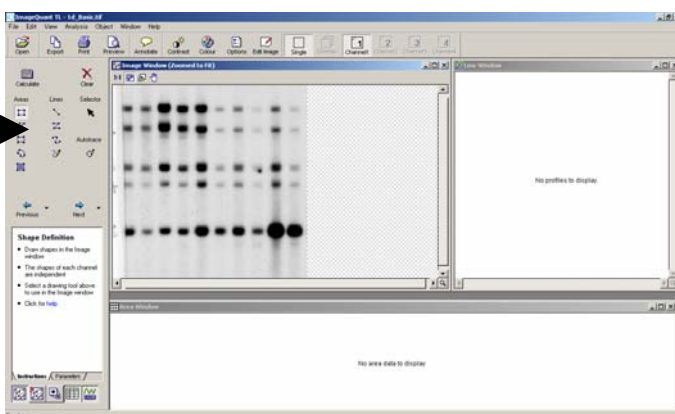
3. ソフトウェアの起動



ImageQuant TLソフトウェアのアイコンをダブルクリックし、起動します。コントロールセンターの画面が表示されます。



使用する解析モジュールをクリックすると、画像を呼び出す画面が表示されます。



解析する画像ファイルを開きます。解析可能なファイルの拡張子は、.tif、.tiff、.gel、.ds、.imgです。.imgファイルの開き方に関する詳細はp.18をご覧ください。

Note>> .gel ファイルに関して

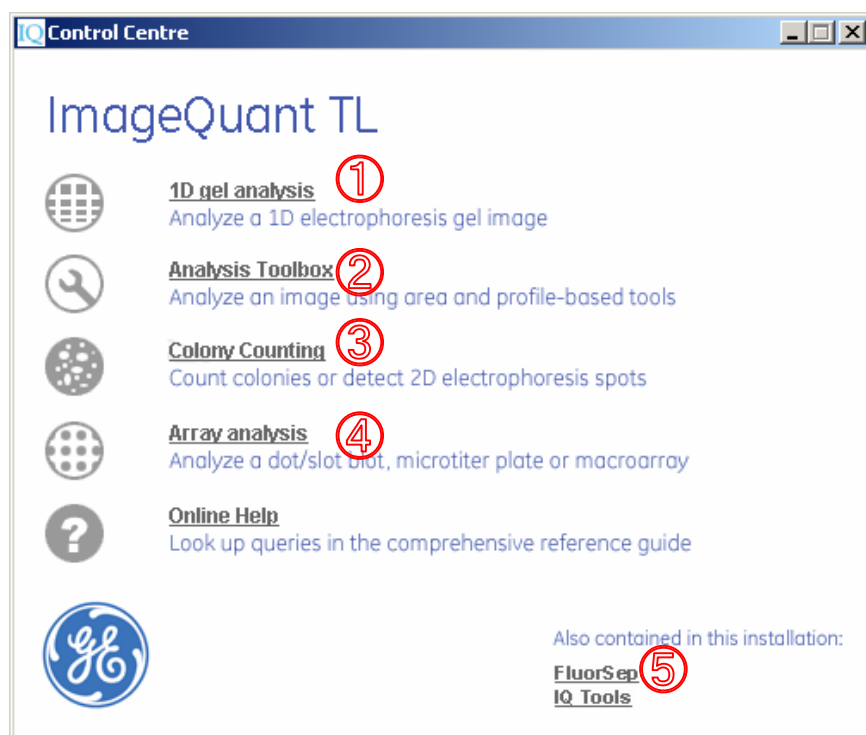
.gel ファイルは定量性が保持された解析に適したフォーマットです。FluoroSep での重ね合わせ (p.14) や、撮影条件の確認 (p.13) を行うことができます。.gel ファイルは、拡張子を.gel から.tif に書き換えることで、16bit TIFF ファイルに変換が可能です。



ImageQuant TL ソフトウェアのインターフェイスと操作

1. コントロールセンターウィンドウ

ImageQuant TLソフトウェアのアイコンを起動すると、コントロールセンターウィンドウが表示されます。このウィンドウから1D gel analysis、Analysis Toolbox、Colony Counting、Array analysisの各解析モジュールにアクセスすることができます。また、画像の重ねあわせを行うFluorSepソフトウェアもこのウィンドウからアクセス可能です。

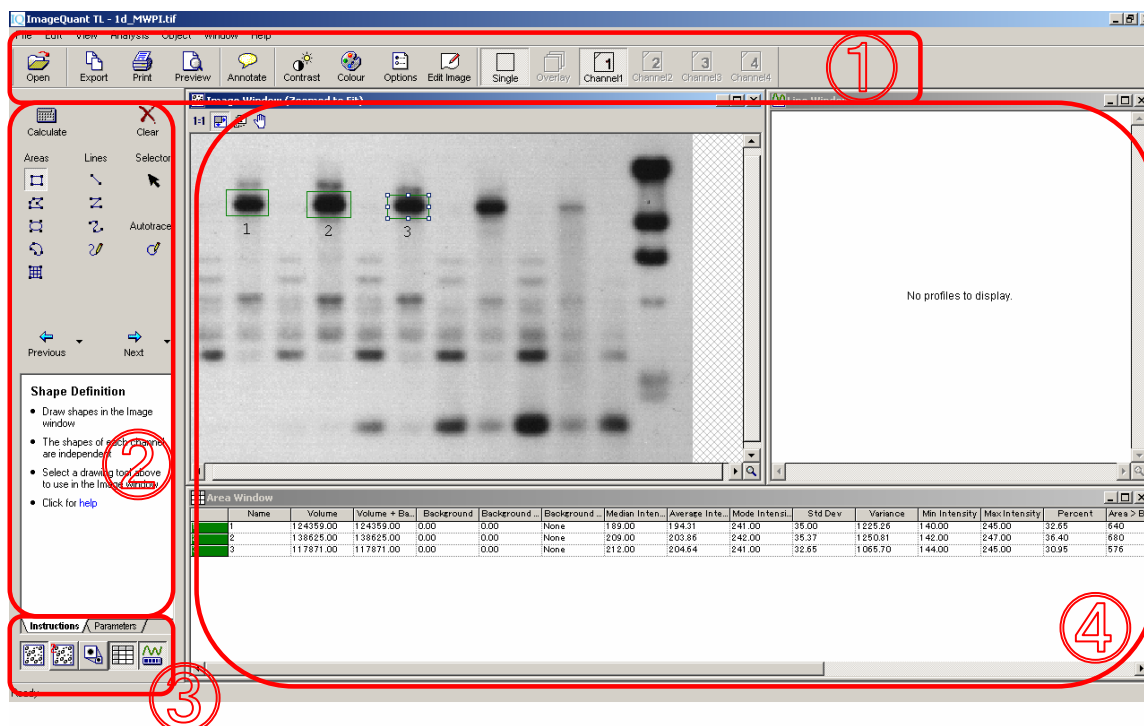


- ① 1D gel analysis・・・1次元電気泳動の画像に対し、自動でバンドやレーンの認識・バックグラウンドの削除を行い、分子量概算やノーマライズを行います。
- ② Analysis Toolbox・・・バンドの認識・バックグラウンドの削除により、正確なバンド間の比較解析を行います。
- ③ Colony Counting・・・大腸菌のコロニーや二次元電気泳動サンプルのスポット数を検出・定量します。
- ④ Array analysis・・・同じ大きさのサンプルが等間隔で並んでいるようなサンプル(マイクロタイタープレートやスロットプロット、マクロアレイ等)に対し、定量解析を行います。
- ⑤ FluorSep・・・画像の重ね合わせを行います。



2. メインウィンドウ


画像の選択を行いOpenボタンをクリックすると、選択した解析モジュールのメインウィンドウが表示されます。メインウィンドウには、メインメニューバー、ツールバー、ナビゲーターや解析に必要なウィンドウが含まれます。

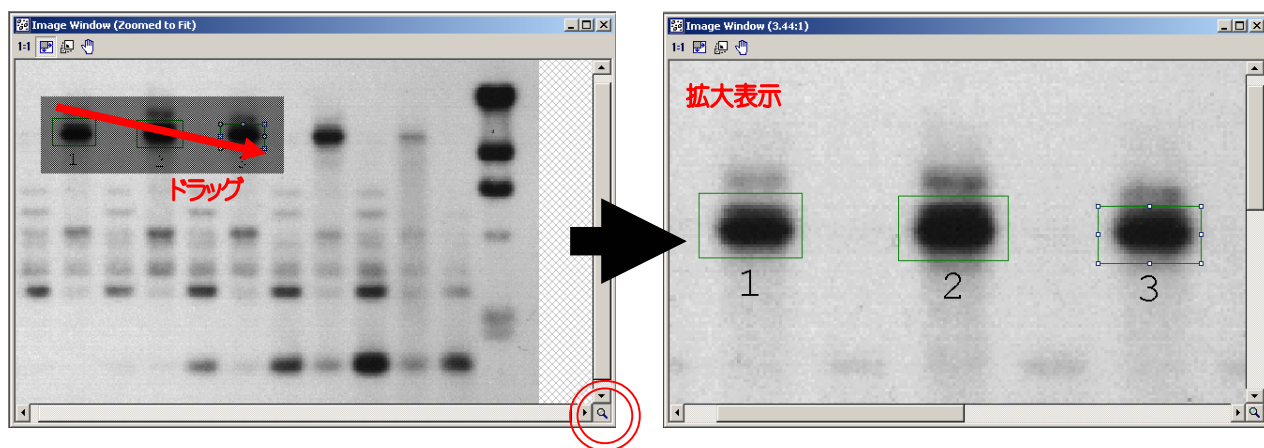



- ① ツールバー…ファイルを開く、画像や数値データをexportする、コントラスト調整を行う、擬似カラーをつける等のコマンドが使用できます。
- ② ナビゲーター…解析ステップを Instructions で紹介し、Parameter をステップごとにまとめています。Next ボタンを押して、ステップごとに解析を進めることができます。
- ③ 小ウィンドウ…各解析ウィンドウに対応したアイコンで、解析ウィンドウの表示を切替えます。
- ④ 解析ウィンドウ…解析中の画像や結果が表示されます。各ウィンドウは最大化・最小化表示が可能です。

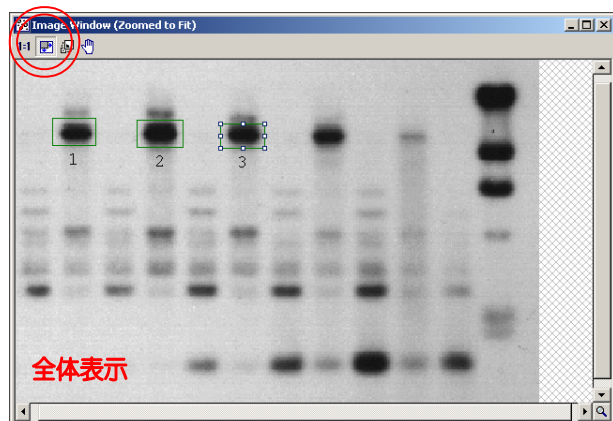


3. 解析画像の拡大・縮小表示

画像を開くと、Image Window のサイズにあわせて画像全体が表示されます。Image Window で任意の領域を拡大する時には、Image Window 右下の虫眼鏡アイコンをクリックし、領域をドラッグで囲みます。




元のサイズに戻すには、Image Window 左上の Zoom to fit アイコンをクリックすると、Image Window のサイズに合わせた全体表示になります。

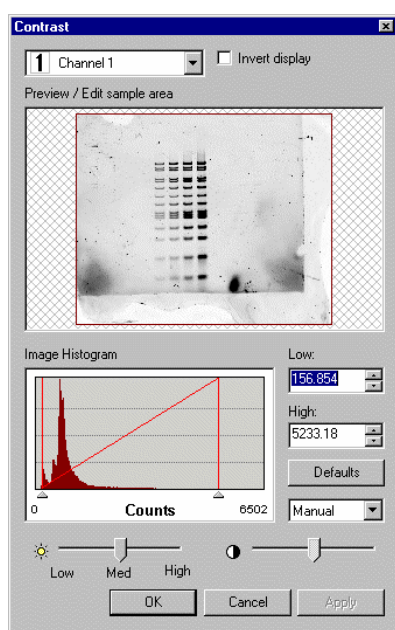


コントラスト調整

ImageQuant TL では画像を開く(p.4)と自動コントラスト調整して表示します。マニュアルでコントラスト調整を行うことも可能です。

コントラスト調整はディスプレイ上で見た目のみ反映され、解析の数値には影響を与えません。

ツールバーのコントラストアイコン  Contrast、あるいはメニューバーのViewからContrast を選択します。コントラストダイアログボックスが開きます。



画像の反転

Invert display にチェックを入れると白黒反転します。見た目のみを変更され、数値は変わりません。

コントラスト調整

Image Histogram は、縦軸がピクセル数、横軸が 1 ピクセル当りのシグナル強度を示します。横軸にある左右の△ボタンをクリック&ドラッグすることでコントラストを調整します。また、Low と High のボックスに数値を入力し、表示範囲を決定することもできます。



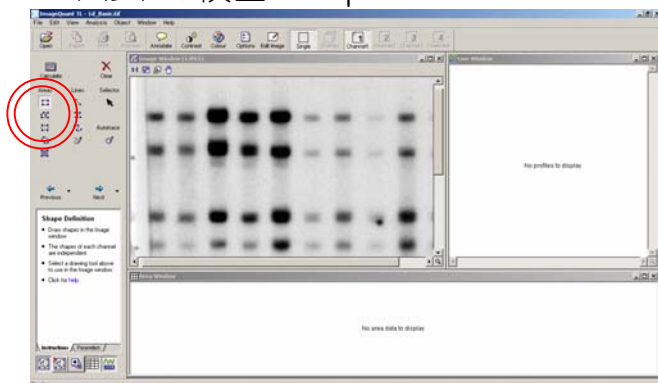
適当なコントラストに調整したら、OK ボタンを押してダイアログボックスを閉じます。





Analysis Toolbox の使用方法

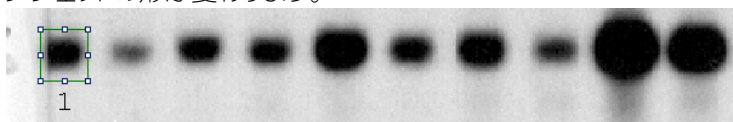
Analysis Toolboxはバンド間のシグナル強度の比較定量が可能です。解析のステップは、【バンドの検出】と【バックグラウンドの削除】のわずか2ステップです。

1. バンドの検出 Shape Definition

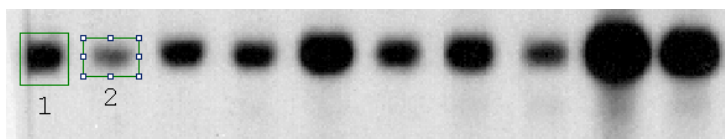


Shape Definition のステップでは、任意のバンドを囲い、検出枠(オブジェクト)を作ります。オブジェクトは、Rectangle  を用います。

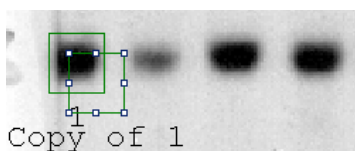
1-1. ナビゲーター左上の Rectangle  を選択して、クリック&ドラッグでバンドを囲います。オブジェクトは緑色で表示されます。アクティブなオブジェクトにはハンドルが表示されます。、ハンドルをうごかすと、オブジェクトの形が変わります。



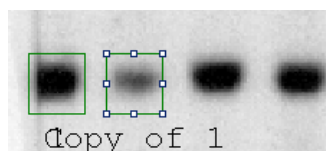
1-2. 比較したいバンドを新しいオブジェクトで囲います。



オブジェクトをコピー (Ctrl + C のコマンド)してペースト (Ctrl + V のコマンド)した後、移動することもできます。



1のオブジェクトをコピー&ペースト

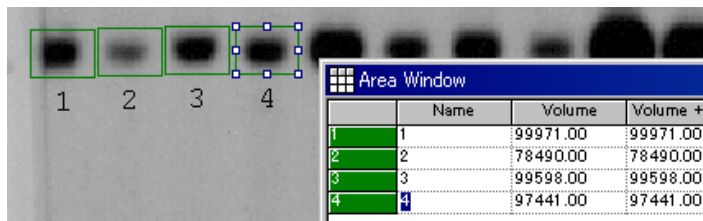


ペーストされたオブジェクトを移動

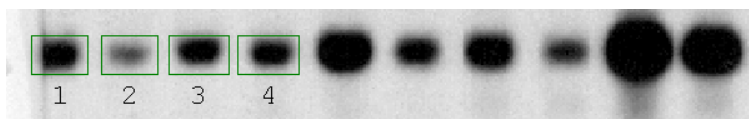


Note>>


Area WindowのNameのカラムをダブルクリックして編集すると、オブジェクトにも同様の名前をつけることができます。




1-3. この作業を繰り返し、比較したいバンドすべてをオブジェクトで囲みます。

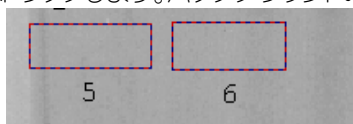


2. バックグラウンドの削除 Background Subtraction

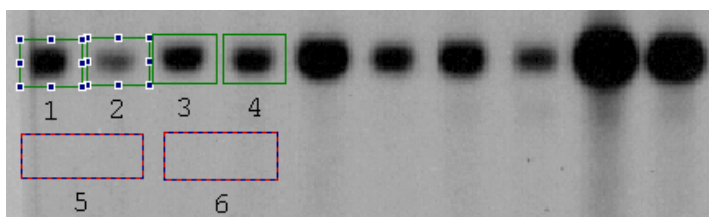
ナビゲーターの Next ボタン  をクリックして、Background Subtraction のステップに進みます。バックグラウンド削除は、画像の一部から測定したバックグラウンド強度を差し引くことです。ここでは Image Rectangle/Ellipse について記述します。Image Rectangle/Ellipse では、画像上に特定の四角形や楕円形のエリアを設定し、その エリアの平均ピクセル強度をバックグラウンドの強度として使用します。

2-1. ナビゲーターのタブを Instruction から Parameters に切り換えます。

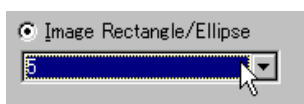
2-2. ナビゲーターの Rectangle  のボタンをクリックします。バックグラウンドとして指定するエリアをクリック&ドラッグします。バックグラウンドのエリアは赤い点線のオブジェクトで示されます。



2-3. バックグラウンド削除の対象となるバンドのオブジェクト)をクリックして選択します。Ctrl キーを押しながらオブジェクトをクリックすると、複数選択が可能です。



2-4. ナビゲーターの Image Rectangle/Ellipse のラジオボタンを押し、選択されたバンドに用いるバックグラウンドのオブジェクト番号をプルダウンから選択します。



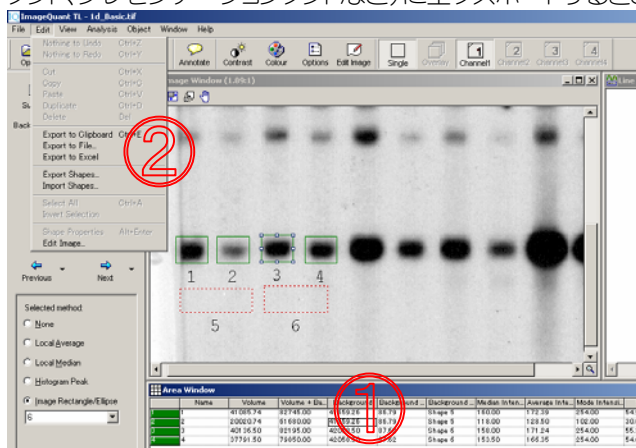
2-5. Volume 欄にバックグラウンド (バックグラウンド強度 × オブジェクト面積) が差し引かれた値が表示されます。Volume とは、バックグラウンド削除後の、オブジェクト内のシグナルの積算値です。

Area Window				
	Name	Volume	Volume + Ba...	Background
1	1	43227.26	105608.00	62380.74
2	2	21521.26	83902.00	62380.74
3	3	105098.00	105098.00	0.00
4	4	102977.00	102977.00	0.00



3. 解析した画像や解析結果の外部出力

ImageQuant TL では、解析結果や、コントラスト調整や解析を行なった画像を外部のソフトウェア(表計算ソフト、プレゼンテーションソフトなど)にエクスポートすることが可能です。




3-1. ImageQuant TL で、エクスポートしたいウィンドウをクリックし、アクティブな状態にします(①)。

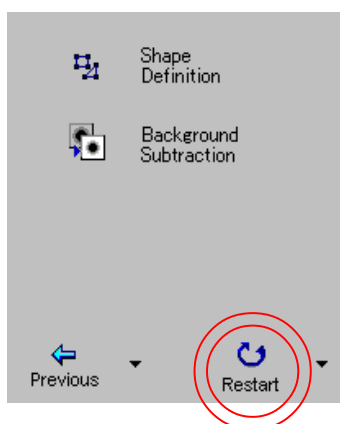
3-2. メニューバーの Edit から Export to File を選択します(②)。

3-3. 保存する際の拡張子を選択します。

- 表(Analysis window、Measurement window など)の場合・・・txt (テキストタブ区切り)または csv (カンマ区切り)形式で保存できます。
- イメージ (解析中の画像、検量線など)・・・bmp (ビットマップ)形式で保存できます。

4. エクスperiment・オーバービュー

バックグラウンド削除後、Next ボタン  をクリックしてナビゲーターを Experiment Overview モードに進めます。



解析が全て終了すると、ナビゲーター内に、Experiment Overview ページが表示されます。

Shape Definition や Background Subtraction のアイコンをクリックすると、そのモードの解析をやり直すことができます。

バンドの検出やバックグラウンドのオブジェクトや解析の結果は自動保存されます。

解析結果を初期化したい場合には、ナビゲーター最後のステップにある Restart ボタンをクリックしてください。



A. 撮影条件の確認

ImageQuant TL では、.gel ファイルの撮影条件を確認することができます。
画像を任意の解析モジュールで開き、メニューバーの File から Image Properties を選択します。

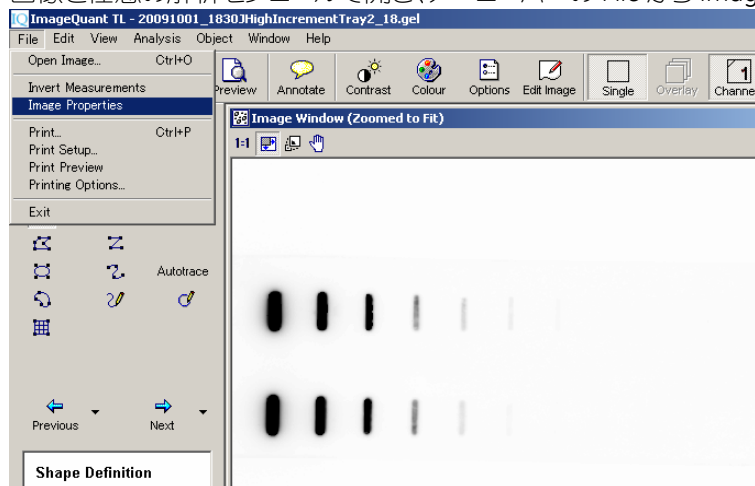
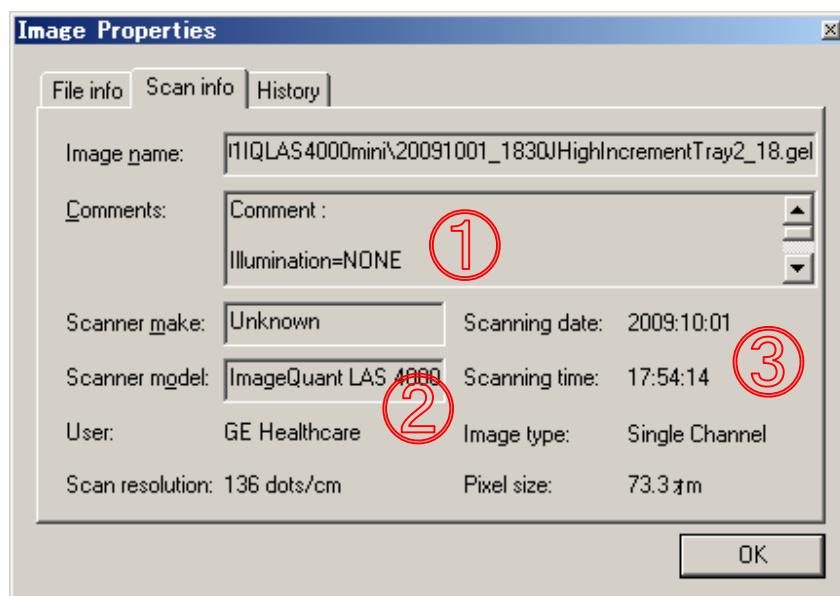


Image Properties の Scan info のタブをクリックします。撮影日時や、撮影条件を確認できます。



- ① comments・・・感度設定、露光時間、絞り、トレイポジションの等の撮影条件
- ② Scanner model・・・撮影したシステム名
- ③ Scanning date/time・・・撮影日時/時刻



B. FluorSep でのイメージの重ね合わせ

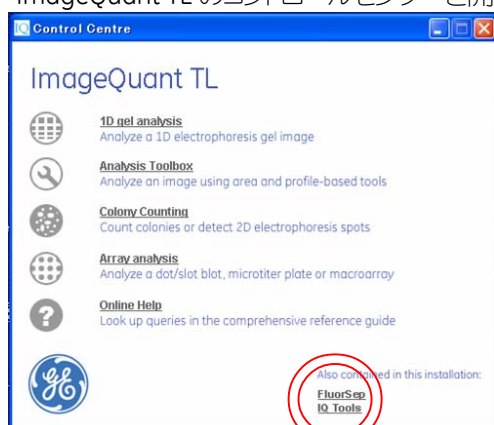
FluorSep で同じサイズの「.gel」イメージを重ね合わせ、新しくデータセット(DS)を作成します。最大 4 枚の「.gel」イメージを重ね合わせられます。

Note>>重ね合わせできるイメージの条件

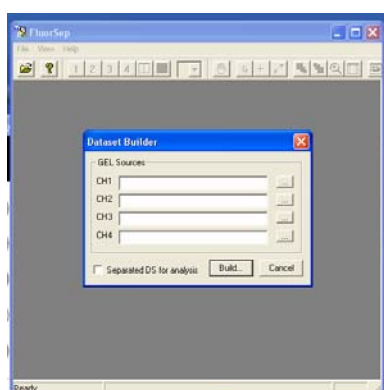
- 同じ解像度で撮影されていること。
- サンプルの大きさ(ImageQuant LAS の場合はレイポジション)が変わらないこと。できれば位置が変わらないこと。位置が異なる場合は付録の「イメージの準備-同じサイズに切り出す-」でイメージを切り出します。

イメージの重ね合わせ

1. ImageQuant TL のコントロールセンターを開き、FluorSep をクリックし、開きます。



2. メニューの File で、Build Dataset を選びます。
3. CH1、CH2...に重ね合わせしたい「.gel」イメージをロードします。
4. Build ボタンで、保存先、.ds ファイルの名前を設定し、Save します。

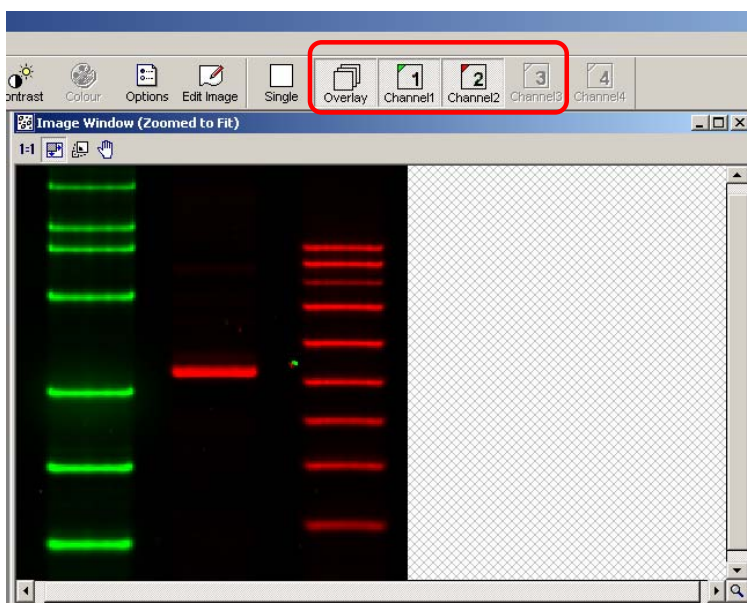


保存すると、4. でつけた名前の.ds ファイル*、dir ホルダが作成され、dir ホルダの中には、もうひとつ同じ ds ファイル、UNSEP1.gel (Channel1 にロードしたイメージ)、UNSEP2.gel (Channel2 にロードしたイメージ)...が入っています。UNSEPx.gel の名前を変更すると、イメージの関連付けが失われます。

Note>>

*ds ファイルとは、データセットのファイルで、重ね合わせしている「.gel」イメージの関連付けを記録しており、ImageQuant TL でのみ機能するファイルです。dir ホルダ内外の ds ファイルは同じものです。

5. 重ねあわせたイメージを開くには、ImageQuant TL の各モジュールで ds ファイルを開きます。




6. ツールボタンの Overview で重ね合わせたイメージの擬似カラー着色イメージを、Single ボタンで元のグレースケールイメージを表示します。Single チャンネルイメージに切り替えることで、オブジェクトの作成やバックグラウンドの削除を行うことができます。

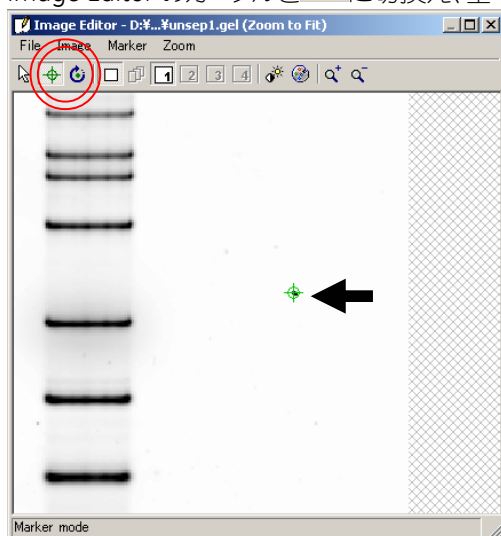


補足: イメージの準備-同じサイズに切り出す-

1. ImageQuant TL の各モジュールで1枚目のイメージを開きます。

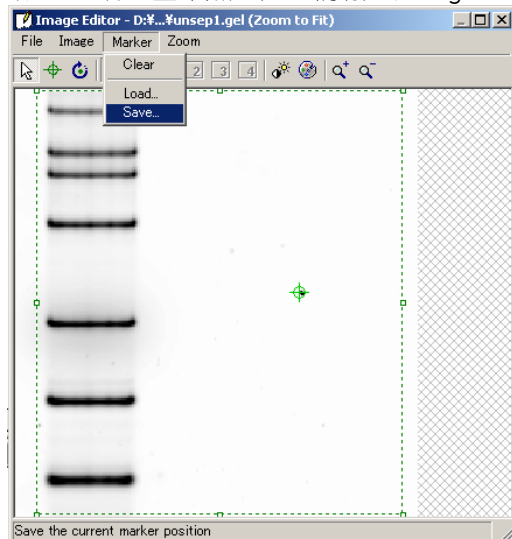
2. ツールバーの Edit Image をクリックします。

3. Image Editor のカーソルを  に切換え、基準点となる部分にマーカーを設定します。



4. カーソルを矢印に戻し、ドラッグで切り出しの枠を設定します。

5. 切り出し枠と基準点の位置情報を、ImageEditor メニューの Marker から save します。



6. Image Editor メニューの Image で、Crop to area で画像を切り出します。

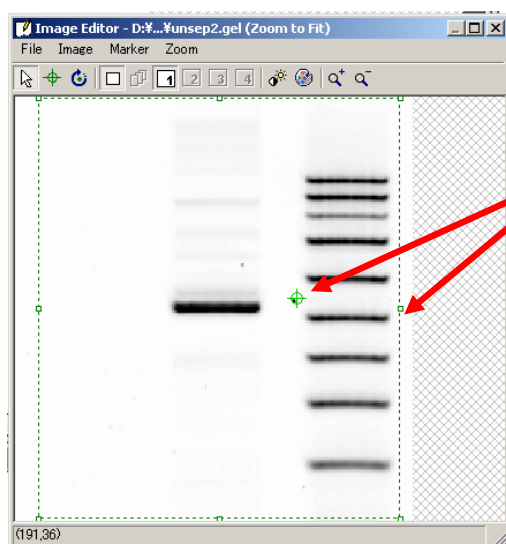
7. 切り出した画像をメニューの File から、Save as で「.gel」ファイルで保存します。



8. ImageQuant TL の各モジュールで重ねあわせたい 2 枚目のイメージを開きます。



9. ツールバーの Edit Image をクリックします。
 10. Image Editor メニューの Marker から、先ほど作った.mrk ファイルを Load します。



ロードされた基準点と切り出しの枠

11. ロードされた基準点を 2 枚目の基準点にあわせて、切り出しの枠を動かします。
 12. Image Editor メニューの Image から Crop to area で 2 枚目の画像を切り出します。
 13. 切り出した画像をメニューの File から、Save as で「.gel」ファイルで保存します。

基準点を元に、同じサイズに画像を切り出すことができたので、これら 2 枚の.gel ファイルを FluoroSep 上で重ねあわせします。



C. 富士フィルム標準フォーマット【.img】ファイルを ImageQuant TL で開く

ImageQuant TL では、富士フィルム社の LAS、FLA、BAS で撮影した画像も開くことができます。【.img】ファイルと【.inf】ファイルを同じ階層にコピーしてください。

LAS、FLA、BAS の操作 PC の OS および解析ソフトにより注意点が異なりますので、ご参照ください。

- LAS、BAS、FLA の PC の OS が Windows、UNIX (BAS2500) の場合
→.img ファイル、.inf ファイルがそろっているのでそのまま開きます。
- LAS、BAS、FLA の PC の OS が Macintosh で、解析ソフトが MultiGauge の場合
→.img ファイル、.inf ファイルがそろっているのでそのまま開きます。
- LAS、BAS、FLA の PC の OS が Macintosh で、解析ソフトが ImageGauge の場合
→.inf ファイルは.img ファイルの中に隠しファイルとして格納されているため、そのままでは開くことができません。
.inf ファイルの作り方は下記の通りです。
作成法 1 ImageGauge の File メニューから Export File→Fuji Exchange Format
作成法 2 ImageGauge の File メニューから File info→File Information の Delimiter Option で LF(Sun)を選んで Export して「ファイル名.inf」作成。その後、File メニューから Export File→RAW と操作し、「ファイル名.img」作成する。

Note>>

ImageQuant TL で開くファイル名やパス名はすべて半角英数字である必要があります。ファイル名に 2 バイトフォント(漢字、ひらがな、αなど)が含まれていると、ImageQuant TL では開きません。この場合は MultiGauge や ImageGauge でファイルを開いた後、ファイル名を半角英数字で付け換えて下さい。この時同名の.inf ファイルも作られます。



D. Data Fields

ここでは、各解析モジュールで表示できる算出データを表で示します。

Data Field 名:	項目説明	1D gel Analysis	Analysis Toolbox	Colony Counting	Array Analysis
Area	バンドやスポット、コロニーやその他画像中の解析を行うために設定したエリアのピクセル数を表します。	Y	Y	Y	Y
Area > Background	バックグラウンドの数値よりも大きいエリアを示します。	N	Y	N	N
Average Intensity	目的値の Volume を Area で割ったピクセルの数値を表します。	N	Y	Y	N
Background	バンドやスポット、コロニーやその他画像中のバックグラウンドの総量を示します。	N	Y	Y	Y
Background Level	Toolbox モジュールで、指定したバックグラウンドの平均値を示します。	N	Y	N	N
Background Type	バックグラウンドの取り方のタイプを示します。	N	Y	N	N
Band Index	各レーン中のバンドの番号です。	Y	N	N	N
Band Percentage	各レーン中のバンド総量に対する 1 バンドのパーセンテージを示します。	Y	N	N	N
Band Percentage (Calib/Norm)	標準化や公正化した数値の各レーン中のバンド総量に対する 1 バンドのパーセンテージを示します。	Y	N	N	N
Calib/Norm Volume	標準化や公正化した数値を示します。	Y	N	N	N
Centre	画像の X, Y 軸の始点を示します。(position 0,0)は、画像の左上です。	N	Y	N	N
Circularity	Colony Counter モジュールでは、丸さを 0 から 1.0 の数値で示します。1.0 は真円を示しています。	N	N	Y	N



Colony Number	Colony Counter モジュールでは左上から右に順番に下に向かってコロンニーに番号をふります。	N	N	Y	N
Comment	コメント欄に必要な情報を入力することができます。	N	Y	N	N
Coordinates	全体の中央の座標を整数で示します。	Y	N	Y	Y
Height	サンプル位置の枠の縦の長さを示します。	N	Y	N	N
Lane Percentage	全レーンのバンド総量の中の各レーンのパーセンテージを示します。	Y	N	N	N
Max Intensity	サンプル位置の枠中のピクセルの最大値を示します。	N	Y	N	N
Median Intensity	サンプル位置の枠中のピクセルの中央値を示します。	N	Y	N	N
Min Intensity	サンプル位置の枠中のピクセルの最小値を示します。	N	Y	N	N
Mode Intensity	サンプル位置の枠中のピクセルの出現頻度の最大値を示します。	N	Y	N	N
Molecular Size	カラムヘッダーに示された単位での分子量を示します。	Y	N	N	N
Name	サンプル枠名を示します。 Note: カラム内をダブルクリックして名前を書き換えることが可能です。名前を変更すると、Image Window のサンプル枠名も変更されます。	N	Y	N	N
Normalised Volume	スポットの標準化した数値を示します。	N	N	Y	N
Peak + Background	バックグラウンドを含むバンド総量を示します。	Y	N	N	N
Peak Height	Analysis window に示されたバンドの一番高い位置の数値を示します。	Y	N	N	N
Percent	全てのサンプル枠中のバックグラウンドを引いた数値に対する各サンプル枠のパーセンテージを示します。	N	Y	N	N
Position	レーンの最初の位置からの距離を示します。	Y	N	N	N



Presence / Absence	Array モジュールで Flag の設定で 閾値を決定し、閾値以上は 1、以下 は 0 で示します。	N	N	N	Y
Rf	Rf (Retardation Factor)はレーン内 の距離の相対値を示します。0 は始 点を 1 は終点を示します。	Y	N	N	N
Std Dev	サンプル枠内のピクセルの数値の 標準偏差を示します。	N	Y	N	N
Spot Label	Array モジュールで Spot Label を入 力することが可能です。	N	N	N	Y
Spot Quality	Array モジュールではスパイクやノイ ズが含まれるものを表示します。	N	N	N	Y
Spot Radius	スポットの半径を示します。	N	N	N	Y
Variance	サンプル枠中のピクセルの分散を 示します。	N	Y	N	N
Volume	バックグラウンドを引いた後のサン プル値を示します。	Y	Y	Y	Y
Volume + Background	バックグラウンドを引く前のサン プル値を示します。	Y	Y	Y	Y
Width	サンプル枠の幅を示します。	N	Y	N	N



■機器メンテナンス・保守契約・修理のお問合せ

● 東日本技術サービス部

TEL : 03-5331-9315

FAX : 03-5331-9349

● 西日本技術サービス部

TEL : 06-6305-4707

FAX : 06-6305-3599

■テクニカルのお問合せ (バイオダイレクトライン)

● TEL : 03-5331-9336

応答メッセージが聞こえましたら、下記の番号を押してください。

クロマトグラフィー関連製品 : ①

ピアコア関連製品 : ②

イメージャー・電気泳動関連製品 : ③

その他製品 : ④

● FAX : 03-5331-9370

● e-mail : Tech-JP@ge.com

www.gelifesciences.co.jp

e-mail で最新情報をお届けしています。お申込みは上記 Web サイト右上の「メール会員登録」から

©2009 GE ヘルスケア・ジャパン株式会社 本書の全部または一部を無断で複製することは、著作権法上の例外を除き、禁じられています。
掲載されている製品は試験研究用以外には使用しないでください。掲載されている内容は予告なく変更される場合がありますのであらかじめご了承ください。
掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。

GEヘルスケア・ジャパン株式会社

ライフサイエンス統括本部

〒169-0073

東京都新宿区百人町 3-25-1 サンケンビルヂング

お問合せ：バイオダイレクトライン

TEL : 03-5331-9336 FAX : 03-5331-9370

e-mail : Tech-JP@ge.com



ISO 9001:2000認証取得

取扱店