

# BZ-X Analyzer ハイブリッドセルカウントの使い方

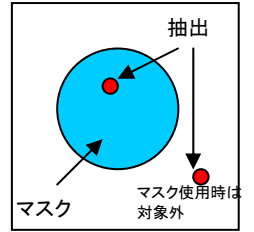
## 用語説明

抽出領域...最終的に測定したい部分(マスク部分が無い場合は「領域」と表示)

マスク領域...抽出領域に明らかに不要な部分を除いた領域

例えば右図で赤色を抽出する場合、マスクなしで抽出すると2個の領域を検出するが、青色でマスクを作って赤色を抽出すると青色の内側1個だけを抽出する。

比率を出すときに分母になる部分がマスク領域、分子になる部分が抽出領域



## できること

抽出領域...単離された部分の**カウント**、**面積**、**周囲長**、**積算輝度**等の表示

マスク領域...**マスク領域**の単離された部分の**カウント**、**面積**および

マスク領域内に含まれる**抽出領域**の**カウント**、**面積**等の表示

抽出領域、マスク領域共に**総カウント数**、**総面積**の表示が可能



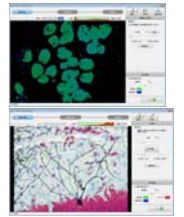
例) 核を抽出すれば細胞の数がカウントできます  
組織全体をマスク、染色域を抽出すれば染色域の面積比が計算できます

## 抽出、マスク領域を指定するときを使う基本的なパラメータ

蛍光画像...輝度値で領域を指定(多重染色の場合、RGB単色の輝度で指定)

明視野画像...輝度値または色相で指定

位相差画像...詳細不明(輪郭抽出?コントラスト差のある部分の内側を選択?)



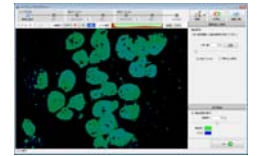
## おおまかな処理の流れ

画像の種類と抽出方法の選択 → [マスク領域の指定] → [マスク領域の修正] →

抽出領域の指定 → 抽出領域の修正 → 計測結果の表示

※マスク無の場合、マスク領域に関する部分はありません。

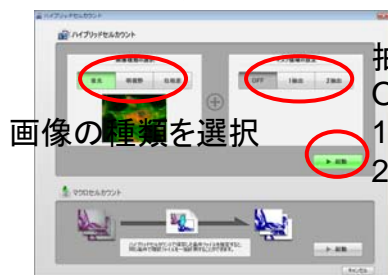
※2抽出の場合、抽出領域に関する部分を繰り返します。



## 実際の操作

注意! ハイブリッドアクションをかけた画像は輝度計算用途には使用してはいけません

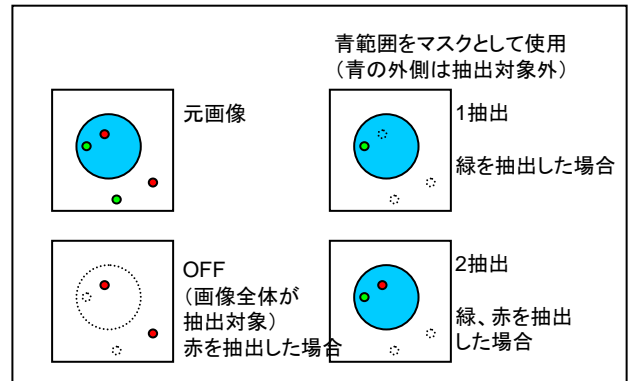
### 1. 画像の種類と抽出方法の選択



抽出方法の選択

OFF=マスク無1色抽出  
1抽出=マスク有1色抽出  
2抽出=マスク有2色抽出

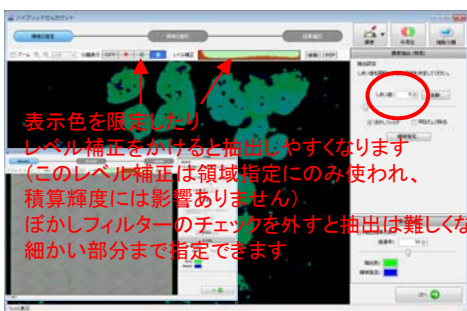
画像の種類とマスクを選択して起動する



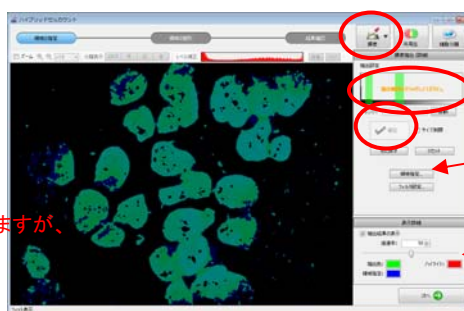
### 2. 領域の指定(マスク、抽出共に同様の方法です)

マスク無の場合、抽出領域指定  
マスク有の場合、マスク領域指定になります

輝度で選択する場合(位相差もほぼ同様)



表示色を限定したり  
レベル補正をかけると抽出しやすくなります  
(このレベル補正は領域指定にのみ使われ、  
積算輝度には影響ありません)  
ぼかしフィルターのチェックを外すと抽出は難しくなりますが、  
細かい部分まで指定できます



不要な部分は後で除去しますので  
必要な部分が含まれるよう設定してください

マスク無の場合、抽出対象範囲を  
絞り込むことができます

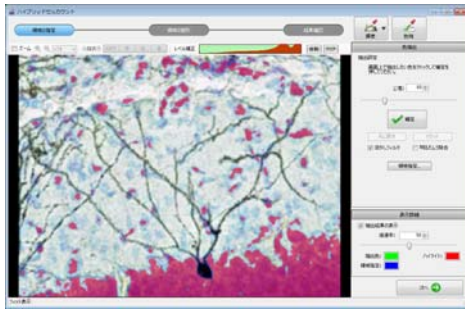
それぞれ見やすい色に変更してください  
抽出色...確定済みの場所  
ハイライト...現在の設定で確定される場所  
領域指定...領域指定で囲った場所

画面を見ながら閾値を設定する

詳細モードにするとレンジで指定可能

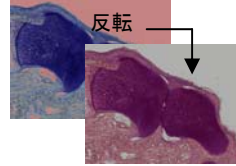
(レンジ指定→確定を繰り返すと複数レンジ指定も可能)

## 色相で選択する場合



画像内でクリックすると同じような色相部分が選択されます  
公差を大きくすると色相判定があまくなります  
画面クリック→確定を繰り返して複数回指定可能(MAX20回)

必要な部分が選びにくい場合は、  
不要部分を選択しておいて、  
修正ステップで反転することもできます

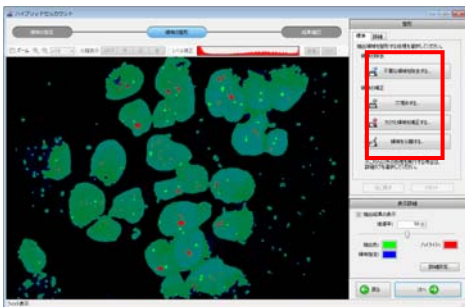


抽出ファイルの読み込み

必要な領域が指定できたら **次へ** をクリック

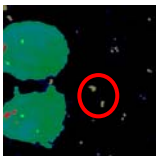
1抽出,2抽出の抽出作業時には別のファイルを使うこともできます  
例)位相差像でマスク範囲を作り、蛍光像を読み込み抽出に使う

## 3. 領域の修正(マスク、抽出共に同様の方法)



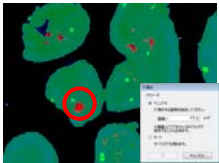
標準タブ内によく使う機能があります  
詳細タブに全ての機能があります  
標準タブと詳細タブに似た機能がありますが、  
若干挙動が違うのでご注意ください  
これらの機能を使って領域を修正、編集します

詳細タブの画面指定はクリックしたものが除去されます



### 不要な領域の除去

画面内をクリックするとクリックしたものより小さいものが除去されます  
[画面端の粒子を除去する] 画面端にかかっているものが全て除去されます



### 穴埋めする

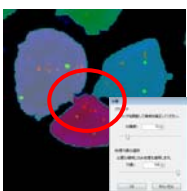
ドーナツ状に抜けた部分を選択範囲に含めます  
[マニュアル] 画面内の穴部分をクリックすると同じくらいの穴を選択し、穴埋めします  
[オート] にすると穴と判断される部分全てを穴埋めします



### 欠けた領域を補正する

窪んだ部分を検出して穴埋めします  
窪んだ部分であれば領域の外周、内周問わず検出します  
スライダを動かして検出感度を調整します

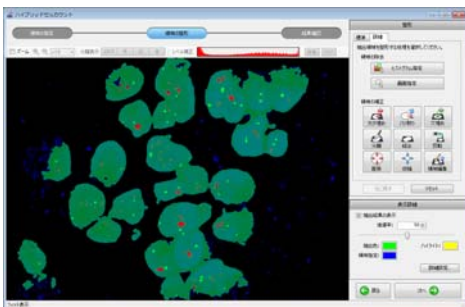
詳細タブの欠け埋め、分離は個別指定が可能です



### 領域を分離する

窪んだ部分を検出して領域を分離します  
スライダを動かして検出感度を調整します

**注意!** 次頁の条件保存では、  
領域編集や個別指定の情報は記録されません



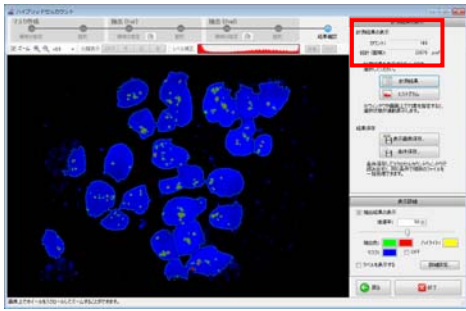
### その他の編集機能

バリ取り...出っ張りを検出して除去します  
結合...欠け埋めに近い機能  
**反転...選択領域を反転します**  
膨張...領域の淵を一回り広げます  
縮小...領域の淵を一回り小さくします  
領域編集...フリーハンドによる領域の分離、結合(最終手段)

修正が完了したら **次へ** をクリック

マスク有の場合、次へをクリックすると抽出領域の指定の作業に入ります  
抽出領域指定操作はマスク領域指定時と同じです  
2抽出の場合は、1色目の領域修正後、2色目の領域指定に入ります

#### 4. 計測結果の表示



抽出された領域の数と総面積が表示されます  
(2抽出の場合、2色の合算値)

**計測結果** や **ヒストグラム** をクリックすると詳細情報が見られます  
**表示画像保存** で表示状態を保存できます

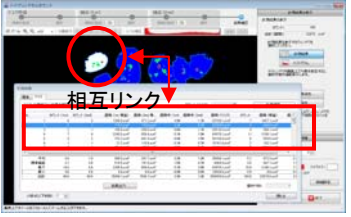
**条件保存**で**マクロセルカウント用のファイルを作成**できます  
(**パラメータで指定した情報しか保存されません**)

実機附属PCはマクロセルカウントのライセンスがないため、  
条件保存、およびマクロセルカウントは使用できません

**抽出領域1+2の総面積**

No.	抽出領域	抽出領域名	抽出面積	抽出体積	抽出質量	抽出重量	抽出長さ	抽出幅	抽出高さ	抽出厚み	抽出密度	抽出形状	抽出位置
1	1	1st	2.2μm²	8.6μm	6.6μm	6.6μm	88	66	66	88			
2	2	2nd	2.2μm²	8.6μm	6.6μm	6.6μm	88	66	66	88			
3	1	1st	10.17μm²	38.6μm	31.6μm	31.6μm	402	316	316	402			
4	2	2nd	10.17μm²	38.6μm	31.6μm	31.6μm	402	316	316	402			
5	1	1st	18.3μm²	66.6μm	54.6μm	54.6μm	696	546	546	696			
6	2	2nd	18.3μm²	66.6μm	54.6μm	54.6μm	696	546	546	696			
7	1	1st	43.5μm²	166.6μm	136.6μm	136.6μm	1746	1366	1366	1746			
8	2	2nd	43.5μm²	166.6μm	136.6μm	136.6μm	1746	1366	1366	1746			
9	1	1st	132.0μm²	486.6μm	396.6μm	396.6μm	5046	3966	3966	5046			
10	2	2nd	132.0μm²	486.6μm	396.6μm	396.6μm	5046	3966	3966	5046			

計測結果の標準タブに**抽出領域**に関するデータが集まります  
マスクタブには**マスク領域**のデータが集まります  
画像とテーブルはリンクされていてどちらかをクリックすると  
対応するものがハイライト表示されます



##### 標準テーブルの項目説明

No.は単離された抽出領域に振られた番号です  
No.(マスク)は抽出領域がどのマスク内にあるかを示すマスク領域の番号です  
抽出は抽出されたものが1色目か2色目を表します  
以降は各領域の情報です  
表示を1stだけ、2ndだけに切り替えられます  
**結果出力**をクリックするとテーブルを**csv形式(Excel)**で保存できます

**抽出領域1,2の総面積**

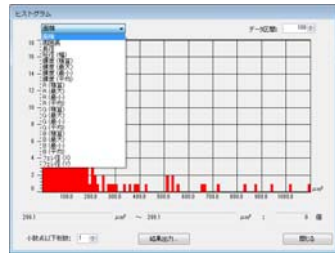
No.	抽出領域	抽出領域名	抽出面積	抽出体積	抽出質量	抽出重量	抽出長さ	抽出幅	抽出高さ	抽出厚み	抽出密度	抽出形状	抽出位置
1	1	1st	2.2μm²	8.6μm	6.6μm	6.6μm	88	66	66	88			
2	2	2nd	2.2μm²	8.6μm	6.6μm	6.6μm	88	66	66	88			
3	1	1st	10.17μm²	38.6μm	31.6μm	31.6μm	402	316	316	402			
4	2	2nd	10.17μm²	38.6μm	31.6μm	31.6μm	402	316	316	402			
5	1	1st	18.3μm²	66.6μm	54.6μm	54.6μm	696	546	546	696			
6	2	2nd	18.3μm²	66.6μm	54.6μm	54.6μm	696	546	546	696			
7	1	1st	43.5μm²	166.6μm	136.6μm	136.6μm	1746	1366	1366	1746			
8	2	2nd	43.5μm²	166.6μm	136.6μm	136.6μm	1746	1366	1366	1746			
9	1	1st	132.0μm²	486.6μm	396.6μm	396.6μm	5046	3966	3966	5046			
10	2	2nd	132.0μm²	486.6μm	396.6μm	396.6μm	5046	3966	3966	5046			

面積比を出す用途の場合、マスクテーブルが分母、  
標準テーブルが分子になる情報です

マスク(全体)の総面積

##### マスクテーブルの項目説明

No.は単離されたマスク領域に振られた番号です  
カウント(1st),(2nd)はマスク内に含まれる抽出領域の数です  
面積(1st積算),(2nd積算)はマスク内に含まれる抽出領域の面積です  
面積率(1st),(2nd)は抽出領域とマスク領域の比率です(抽出領域面積/マスク領域面積)  
以降のカウント、面積、面積率は1st+2ndです  
**結果出力**をクリックするとテーブルを**csv形式(Excel)**で保存できます



ヒストグラム表示  
抽出領域(1st,2nd分離不可)に関するグラフです  
ヒストグラムをドラッグすると  
対応する領域がハイライト表示されます



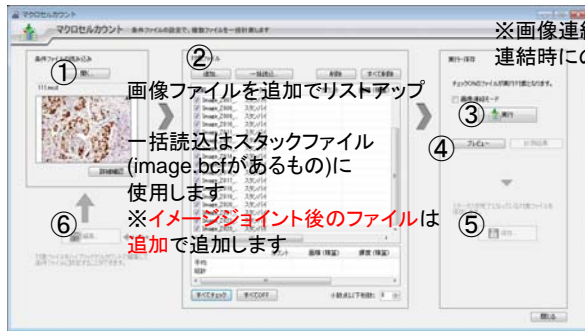
※イメージジョイント用の条件を元画像に適用しても正しい計算をしません  
元画像に適用する場合は元画像で条件を作って画像連結モードで使用してください

## マクロセルカウント

ハイブリッドセルカウントで保存した条件と同じ条件で  
他のファイルをセルカウントします  
複数ファイルを選択でき、一括処理できます  
**事前に条件ファイルを用意しておく必要があります**



使い方 ハイブリッドセルカウント起動画面で  
下部のマクロセルカウントの起動を選びます



※画像連結モードにチェックを入れると、  
連結時にのりしろになる部分を除去して計算します。(連結前画像による面積計算用)

- ①条件ファイルを開きます
- ②対象ファイルをリストアップします
- ③実行をクリックするとセルカウントを一括実行します
- ④実行後、**ファイル名を選択してプレビュー**、  
または**計測結果**をクリックすると結果を確認できます
- ⑤保存をクリックすると**全結果を保存**できます  
保存したいフォルダを指定し、保存したい結果に  
チェックを入れます(通常全部チェックでいい)
- ⑥編集をクリックすると選択中のファイルを使って  
条件の再編集ができます

保存した時にフォルダ内に保存される内容  
MacroStatistics.csv...マクロセルカウントした**全てのファイルの概要結果一覧**  
画像1枚につき以下の3つが保存されます。  
画像1.csv...画像1をセルカウントした時の**標準タブの内容**  
画像1.tif...画像1をセルカウントした時の**結果画像**  
画像1Mask.csv...画像1をセルカウントした時の**マスクタブの内容**  
(マスク無の時は作成されない)