

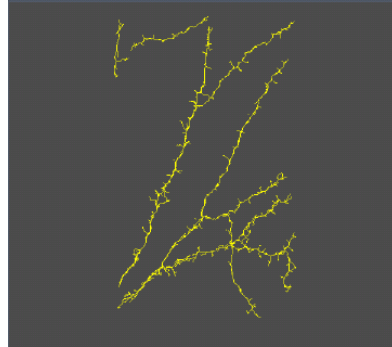
# 共同実験室版NeuronTracerマニュアル

## NeuronTracerとは

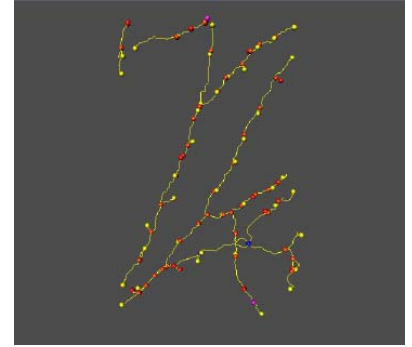
NeuronTracerはレーザー顕微鏡で得られた画像から神経の立体構築像を作り、その立体構築像から神経モデルを作ります。  
また、神経モデルの構造を自動追跡して分岐点同士のつながり方や任意の神経の長さを測ることもできます。



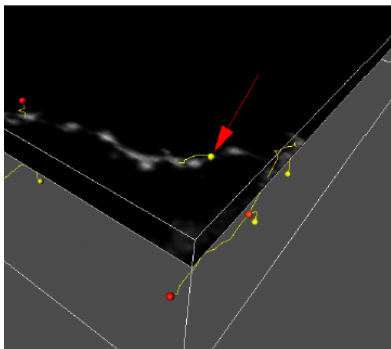
レーザー顕微鏡  
スタック像



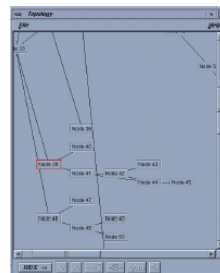
ニューロングラフ  
(スタック像から自動構築したモデル)



ニューロングラフ  
(モデル+分岐点)



ニューロングラフ  
(モデル+分岐点+スライス像)



トポロジー  
(分岐点同士のつながり)

Id	Length	From	To
35	16.7652	( 24.3182 15.4546 7.9500)	( 9.7727 18.9891 6.9088)
77	12.1256	( 14.7727 42.5888 5.7800)	( 17.8455 53.4892 5.3568)
100	8.9148	( 3.1818 51.8182 12.5888)	( 18.9818 54.3182 11.5568)
48	8.8653	( 24.3182 15.4546 7.9500)	( 28.1818 21.3637 7.6568)
34	8.2317	( 24.3182 15.4546 7.9500)	( 38.9891 14.7727 10.6568)
54	7.3618	( 17.7273 25.4546 4.3588)	( 21.5989 31.1364 4.3568)
57	7.2598	( 27.8455 42.5888 3.4588)	( 38.2273 48.4891 3.8088)
8	7.8546	( 7.9500 18.2273 6.7588)	( 18.9891 15.8818 5.8568)
69	7.8310	( 7.7273 22.9546 7.6588)	( 18.2273 28.6984 7.9888)
28	7.8010	( 22.8455 12.8455 3.4588)	( 23.8637 5.8818 3.7588)
55	6.8883	( 21.5989 11.1364 4.3588)	( 23.8637 37.8455 3.8088)
92	6.8141	( 23.8637 37.8455 3.6588)	( 27.8455 42.9888 3.4568)
58	6.8858	( 38.2273 48.4891 3.8888)	( 33.1818 52.8455 5.7088)
33	6.9501	( 24.3182 15.4546 7.9500)	( 22.8455 16.8182 4.8568)
18	6.3228	( 18.9891 18.6818 5.6588)	( 14.5455 18.8637 4.9888)
67	6.1991	( 5.4546 17.7273 7.9588)	( 7.2727 22.9546 7.6588)
64	6.1429	( 8.2273 7.7273 9.8888)	( 3.1818 12.7273 8.1888)
99	6.1418	( 8.2273 52.5881 10.3888)	( 1.1364 57.7273 9.0888)
66	6.1235	( 3.1818 12.7273 8.1888)	( 5.4546 17.7273 7.9588)
53	6.8224	( 18.3637 28.8818 4.9588)	( 17.7273 25.4546 4.3568)
88	5.9478	( 29.3182 55.8881 9.1888)	( 32.5888 58.1364 11.4888)
41	5.9319	( 38.9891 14.7727 10.6588)	( 33.4891 17.7273 12.3088)
92	5.8287	( 17.8455 53.4892 5.8588)	( 17.2727 57.7273 8.2568)
73	5.7891	( 12.9888 34.5455 7.2888)	( 13.6364 39.7729 7.8568)
76	5.9425	( 14.7727 42.2728 8.1588)	( 15.4891 45.2273 6.9888)
68	5.8612	( 7.7273 22.9546 7.6588)	( 9.5455 24.9889 4.8568)
46	5.8382	( 32.8455 18.9891 11.4888)	( 31.8182 7.9888 11.1888)
25	4.9884	( 21.1364 11.1364 4.5888)	( 22.8455 16.8182 4.9568)

長さ一覧  
(認識されている全ての神経の長さ)

## おおまかな流れ

1. レーザー顕微鏡の画像を読み込む
2. ノイズを消し、検出範囲を決める。
3. 出来上がったグラフを見ながらいらぬ部分を消す。
4. 必要な部分を選択し、長さを測る。

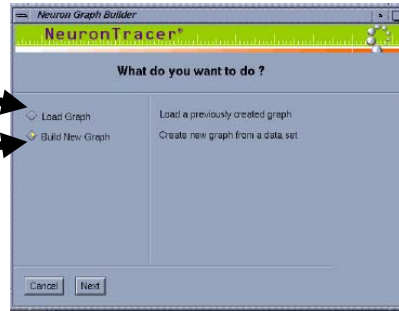
# 共同実験室版NeuronTracerマニュアル

## 実際の使い方

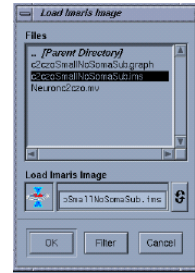
### 1. 作業の選択

以前作ったグラフを読み込む

新規にスタック像から作る



### 2. ファイルの選択

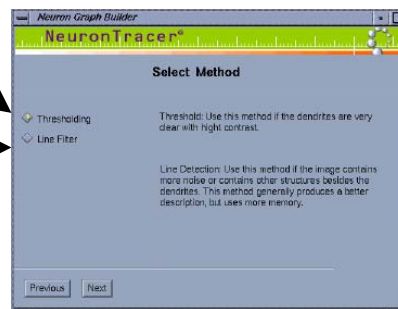


リストからファイルを選ぶか  
ボックスにファイルをドロップする  
(グラフ読み込みの場合は  
グラフファイルを、新規作成の場合は  
イマリス又はLSMファイルを選択)

### 3. 画像状態の選択

ノイズがなくコントラストのはっきりしているもの

ノイズが多くコントラストのないもの



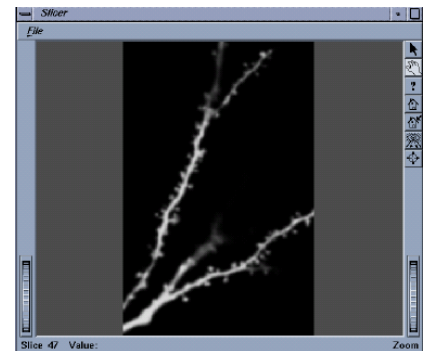
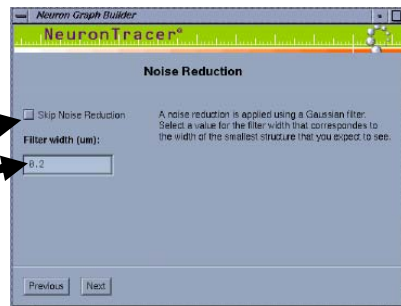
### 4. フィルターの大きさの入力

(画像をぼかして細かいノイズを  
計算しないようにします)

スパイクノイズがない場合はチェック

フィルターをかける幅

(大きくするとボケかたがひどくなる)



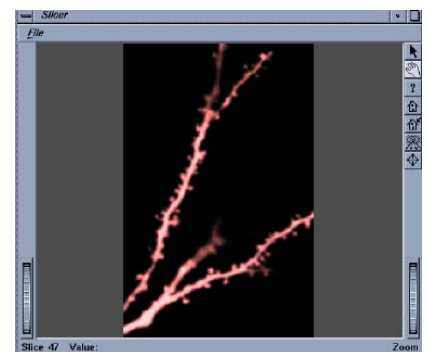
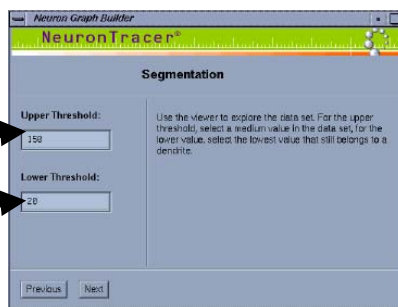
ノイズがボケる程度に  
フィルターをかける

### 5. 抽出範囲の入力

(スライス画像のvalueを見ながら決めます)

抽出したい輝度の最小値

バックグラウンド輝度の最大値



抽出したい場所が赤くなって、  
スライスを動かすと連続しているか確認

計算終了まで30秒~30分程度かかります  
終了するとウィンドウがNeuron Graph Builderから  
Neuron Viewerに変わります

# 共同実験室版NeuronTracerマニュアル

## 6. ニューロンビューワー(選択されているエレメントの情報を表示。ジオメトリビューワーなどと一緒を使う)

ノード... 神経の分岐点

セグメント... 分岐点どうしをつなぐライン(神経)

エレメント... セグメントとその両端のノード

ノードの数

セグメントの数

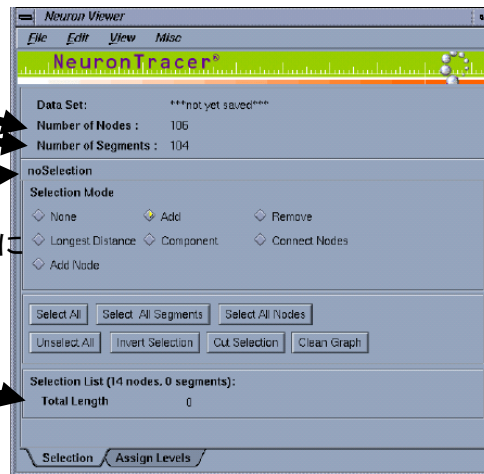
選択したセグメントの長さ

(単位はイマリスの

Edit - Image Properties - Geometryに  
表示されるもの)

選択したセグメントの

トータル長さ



### 通常行う操作

ジオメトリビューワーを表示する

... View - Geometry viewer

短いセグメントを消す

... Clean Graphでカットしたい長さ指定

長さを測る

... Selection ModeをNoneで

Geometry viewer上のセグメントを  
クリック

不要な場所を消す

... Selection ModeをAddで

Geometry viewer上のセグメントと  
その周りのノードを選んでCut Selection

### Selection Mode

**None** 通常の実験モード(単体のノード、セグメントを選択)

**Add** 追加選択モード(複数のノードやセグメントを選択する。  
選択されたら赤く表示される。)

**Remove** ???

**Longest Distance** 選択したセグメントから  
一番長くつながっている神経のラインを表示

**Component** 選択したセグメントからつながっている全ての  
ものを赤で表示

**Connect Nodes** 選択した2つのノードを直線セグメントでつなぐ

**Add Node** セグメント上にノードを追加する

### ボタン

**Select All** 全てのノードとセグメントを選択

**Select All Segments** 全てのセグメントを選択

**Select All Nodes** 全てのノードを選択

**Unselect All** 全ての選択を解除

**Invert Selection** 選択範囲の反転

**Cut Selection** 選択している範囲を消去

**Clean Graph** 指定の長さ以下をカット  
(連続したセグメントの間がカットされた場合は  
1本の長いセグメントになっている?)

### メニュー

File - **Save as** ... グラフファイルを保存(savelは上書き)。次回、Load Graphでこの作業から始められる。

**Open Image** ... スライス像を読み込む(グラフ読み込みから始めた場合イメージを読まないでスライスが表示されない)

**Merge Graph** ... 他のグラフを重ね合わせる

**Build new graph** ... 使用不可

Edit - **Undo** ... 処理の取り消し

**Drawing editor** ... 自由曲線でのエレメントの追加

View - **Geometry Viewer** ... グラフの表示

**Topology Viewer** ... ノードどうしをつなぐをグラフィカルに表示

**Statistics Viewer** ... 全セグメントの長さを一覧表示

**Image(Slice)** ... グラフとスライスの重ね合わせ

Misc - **Pick ID** ... ???

**Interpolate points** ... グラフのラインを滑らかにする

**Translate graph** ... グラフをX軸方向にずらす

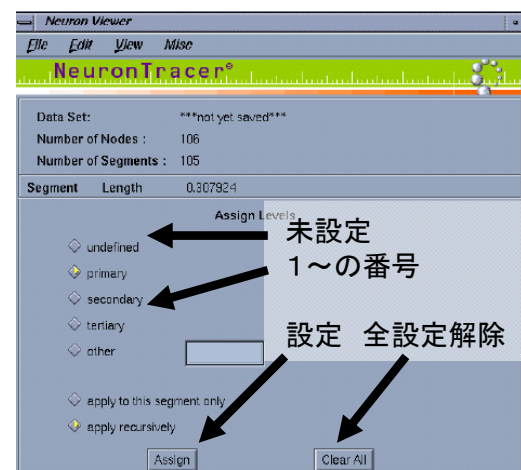
**Assign Levels** (セグメントの分岐が何段目かを表示、設定する。  
ループしていると正しく表示されないの注意すること。  
ジオメトリビューワーのDisplay Levelsと一緒に使う)

ジオメトリビューワーのDisplay Levelsでセグメントをクリックすると  
現在設定されている値がAssign Levelsに表示される。

(Primary=1,Secondary=2,Tertiary=3,それ以外はOtherの横に数字が表示。)

設定するときはジオメトリビューワーのDisplay Levelsでセグメント又はノードを  
クリックしてAssign Levelsで設定したい項目か数字を入力してAssignを押す。

(設定されるとDisplay Levelsの色が変わる。すでに設定されているものに対して  
Assignすると部分的に変更されるので注意すること。)

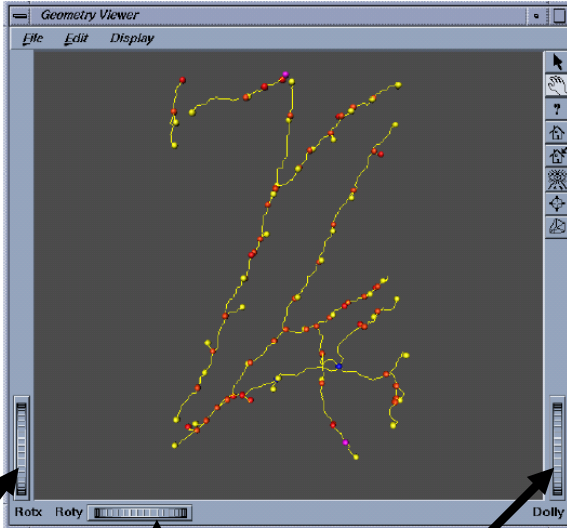


色分けされている  
(下側がPrimary)  
セグメントをクリックすると  
何番目の分岐か  
ニューロンビューワーに表示される



# 共同実験室版NeuronTracerマニュアル

## 7. ジオメトリビューワー(スライス像から作ったグラフを表示。情報はすべてニューロンビューワーに表示。)



縦回転  
横回転

ズーム

### ボタンの説明(上から順に)

- ピッキングモード(エレメントやスライスを選んで情報を表示する)
- ナビゲーションモード(グラフを動かし、視点を変える)
- ヘルプ(使用不可)
- ホームポジションに移動
- 現在位置をホームポジションに設定
- ???
- クリックした場所をズームアップ
- グラフ表示に遠近感をつけるかどうか

### ノードの色

- 黄... 終点
- オレンジ... Y字分岐(1つ入力、2つ出力)
- 青... 4分岐(1つ入力、3つ出力のイレギュラーなもの)
- 紫... 無効ノード(セグメント上にあるだけで分岐していないもの)
- 赤... ???

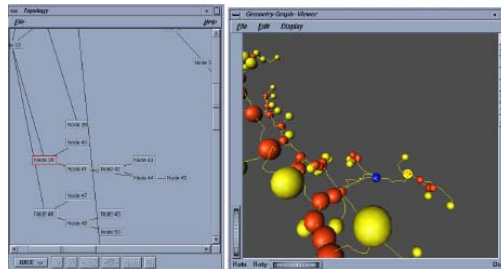
ナビゲーションモード時マウス中ドラッグでグラフをスライドさせられる  
スライスを動かしたいときはピッキングモードでスライスをドラッグ。  
(動かないときはスライスが画面の外に出ているのでズームを下げて探す。)

### メニュー

- File
  - Add Geometry ... ???
  - Save Geometry ... グラフを保存する(ビューワー専用形式、編集不可)
- Display
  - Nodes
    - Display Nodes ... ノードの表示、非表示切り替え(処理重くなる)
    - Node Color ... ノードを色分けするかどうか
    - Set Radius ... ノードの球の大きさ
  - Segment- Display as
    - Lines ... セグメントを線で表示
    - Cylinders ... セグメントをパイプのように表示(処理重くなる)
  - Set Line Width ... セグメントの線幅を設定
  - Set Cylinder Width ... セグメントのシリンダー幅を設定
  - Display Levels ... 枝分かれのレベルによってセグメントを色分け
  - Image Slicer- Display Slicer ... スライスとグラフの重ね合わせ(処理重くなる)
  - Set Render Quality ... 画面表示の質

## 8. トポロジービューワー(ノード同士のつながりを表示。コネクトの確認用)

トポロジーのNode xxをクリックすると、それに対応するノードがジオメトリで選択される。





# 共同実験室版NeuronTracerマニュアル

## 9. スタティスティクスビューワー(セグメントの長さの一覧表示)

一覧表の中の見たいものをクリックすると、ジオメトリビューワーでそれに対応するセグメントが選択される。一覧表は長さ順とID順に並び替えができる。テキストファイルでの書き出しが可能。

Id	Length	From	To
35	15.7652	( 24.3182	15.4546 7.9500) ( 9.7727 10.5291 6.9000)
77	12.1256	( 14.7727	42.5000 5.7000) ( 17.0455 53.4892 5.8500)
100	8.9140	( 3.1818	51.6102 12.6000) ( 10.6810 54.3162 11.5500)
40	8.6603	( 24.3182	15.4546 7.9500) ( 20.1019 21.3637 7.6500)
34	8.2317	( 24.3182	15.4546 7.9500) ( 30.9091 14.7727 10.6500)
54	7.3618	( 17.7273	25.4546 4.3500) ( 21.5809 31.1364 4.3500)
57	7.2598	( 27.8455	42.5000 3.4500) ( 30.2273 40.4891 3.9000)
8	7.0546	( 7.5000	10.2273 6.7500) ( 10.9091 15.6010 5.8500)
69	7.0378	( 7.2727	22.5546 7.6500) ( 10.2273 20.6364 7.0000)
28	7.0018	( 22.8455	12.8455 3.4500) ( 23.3637 5.8510 3.7500)
55	5.8893	( 21.5909	31.1364 4.3500) ( 23.3637 37.0455 3.6000)
56	5.8141	( 23.8637	37.0455 3.6000) ( 27.0455 42.5000 3.4500)
58	5.5858	( 30.2273	40.4891 3.9000) ( 33.1019 52.0455 5.7000)
33	6.5581	( 24.3182	15.4546 7.9500) ( 22.8455 16.9162 4.8500)
10	6.3228	( 10.9091	15.6818 5.8500) ( 14.5455 18.8637 4.5000)
67	6.1991	( 5.4546	17.7273 7.9500) ( 7.2727 22.9546 7.6500)
64	6.1429	( 0.2273	7.7273 9.0000) ( 3.1010 12.2727 0.1000)
99	6.1418	( 0.2273	52.5001 10.0000) ( 1.1364 57.7273 9.0000)
66	6.1235	( 3.1818	12.2727 8.1000) ( 5.4546 17.7273 7.9500)
53	6.0224	( 16.3637	20.6818 4.9500) ( 17.7273 25.4546 4.3500)
89	5.9478	( 29.3182	55.2001 9.1500) ( 32.5000 56.1364 11.4000)
41	5.9319	( 30.9091	14.7727 10.6500) ( 33.4091 17.7273 12.3000)
92	5.8297	( 17.8455	53.4092 5.6500) ( 17.2727 57.7273 0.2500)
73	5.7831	( 12.5000	34.5455 7.2000) ( 13.6364 39.7728 7.8500)
78	5.3425	( 14.7727	42.2728 6.1500) ( 18.4091 45.2273 6.6000)
68	5.0612	( 7.2727	22.9546 7.6500) ( 9.5455 24.0809 4.8500)
45	5.0302	( 32.8455	10.9091 11.4000) ( 31.0102 7.5000 11.1000)
4	4.9194	( 21.1364	21.1364 4.5000) ( 22.0455 16.9162 4.8500)

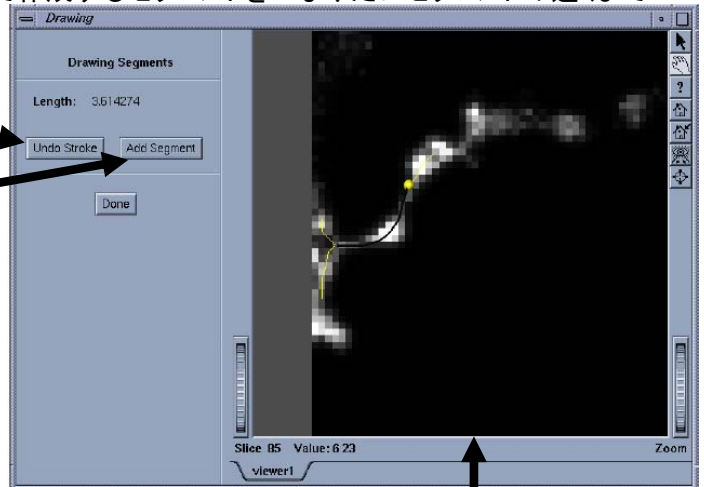
番号 ↑ 長さ(単位はイマリスで確認する) ↑ 始点と終点の座標 ↑

## 10. ドローイングエディター(マウス操作によるセグメントの追加)

セグメントを追加したい部分をマウスでなぞって独立したセグメントを作ります。ここで作成したセグメントは他のセグメントとつながってないので、この後Connect Nodesで結合する。(ここで作成するセグメントをつなげたいセグメントの近くまで近づけすぎるとConnect Nodesしにくくなるので注意すること)

途中まで書いているものをキャンセルする。

書き込んだものを確定する。  
確定したものはUndoでも消えない。  
これを押すまでは途中まで書いた線の終点と次に画像内でクリックした点とがつながるので注意すること。



フリーハンドでセグメントを書く

確定すると両端にノードがつく

確定しないまま他をクリックすると  
それまで書いていたところとつながってしまう

ここでドラッグするとフリーハンドでセグメントを書くことができる。途中で修正できないので失敗した場合書き直しになる。