

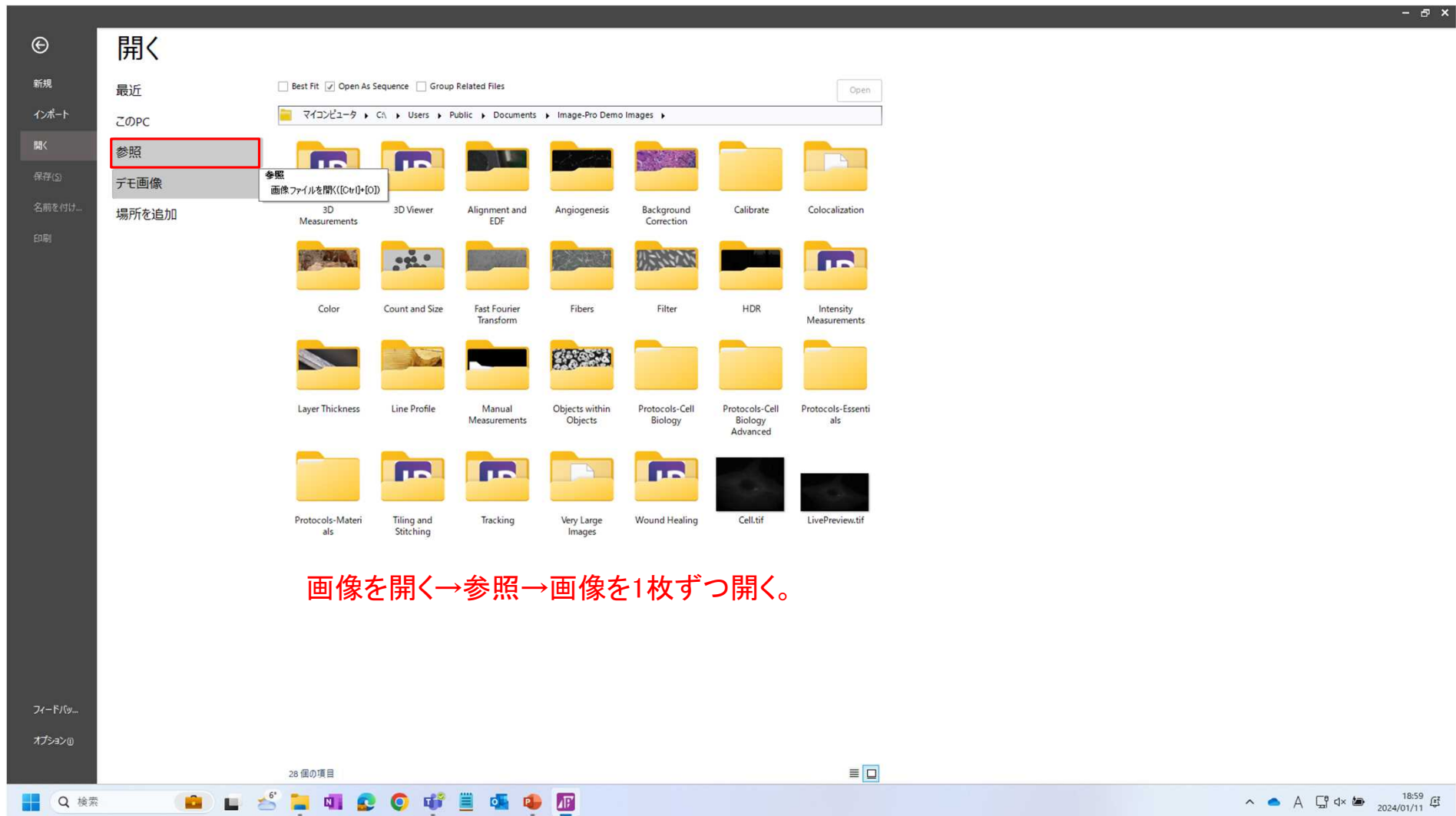


簡易操作マニュアル

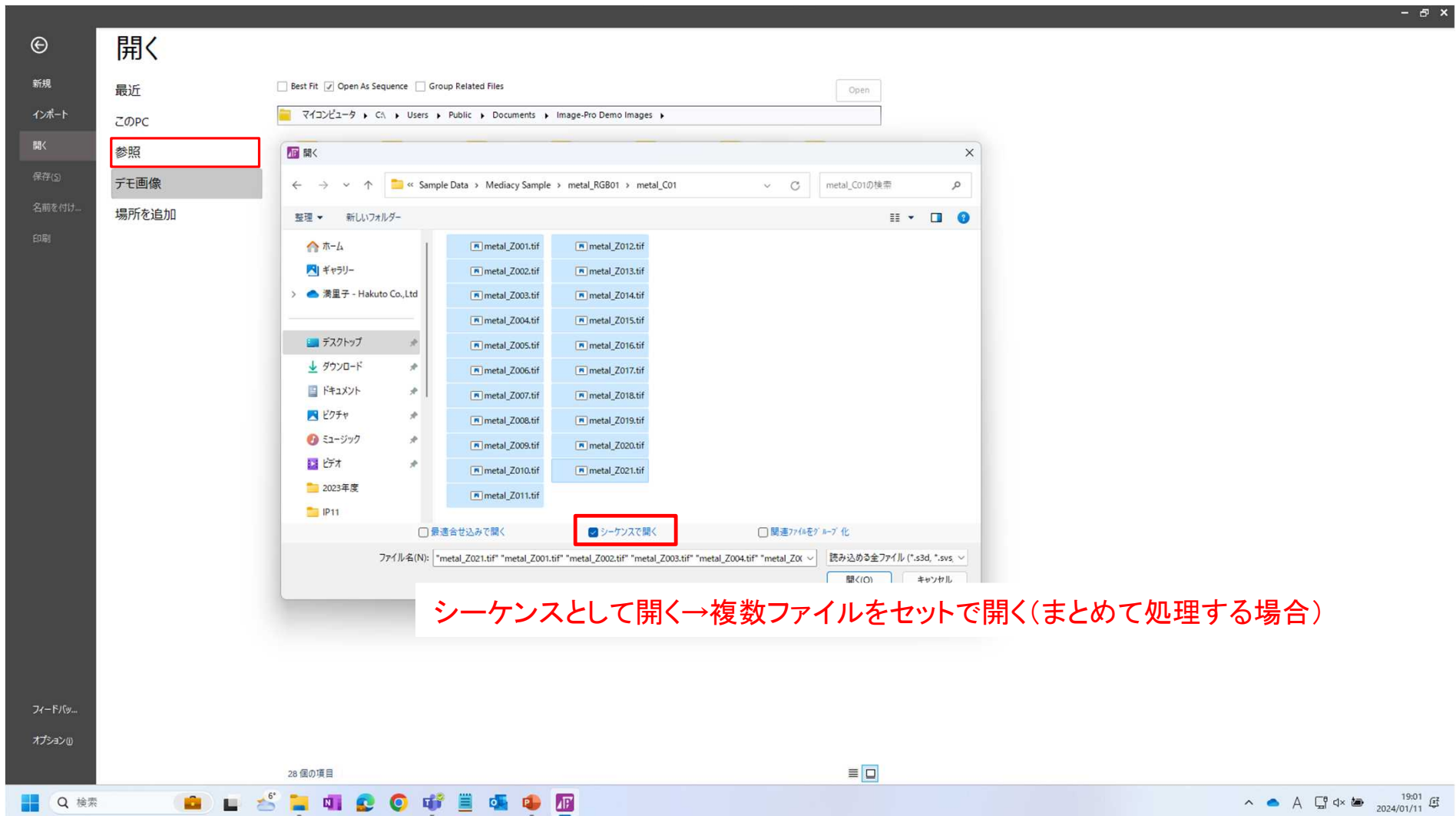
伯東株式会社 システムプロダクツンパニー
営業一部 営業第三グループ
2024.01.05

YouTube「伯東理化学チャンネル」に動画マニュアルも掲載しています。
https://www.youtube.com/@hakuto_spc/videos

① ファイルを開く～1枚の画像を開く～。



① ファイルを開く～複数画像をまとめて開く～。



2値化自動測定手順

A. スケールを較正する。

→ A-1 較正データ作成 ～スケールバーで較正～

→ A-2 較正データ作成 ～顕微鏡のスケールデータで較正～

B. 画像解析の前処理をする。

→ B-1 調整：サイズ変更

→ B-2 コントラスト調整

→ B-3 フィルタの利用（輝度均一化、ノイズ除去、輪郭強調等）

C. 測定範囲を指定する。

→ 選択：ROI

D. 2値化の閾値を設定し、カウントする。

→ カウント/サイズ：自動 or スマート

E. 測定結果を出力する。

→ カウント/サイズ→データ表（Excel）

A-1. スケールを校正する。～スケールバーで校正～

ホーム or 取込みメニュー
→校正データ作成
→クイック空間校正

輝度ヒストグラム

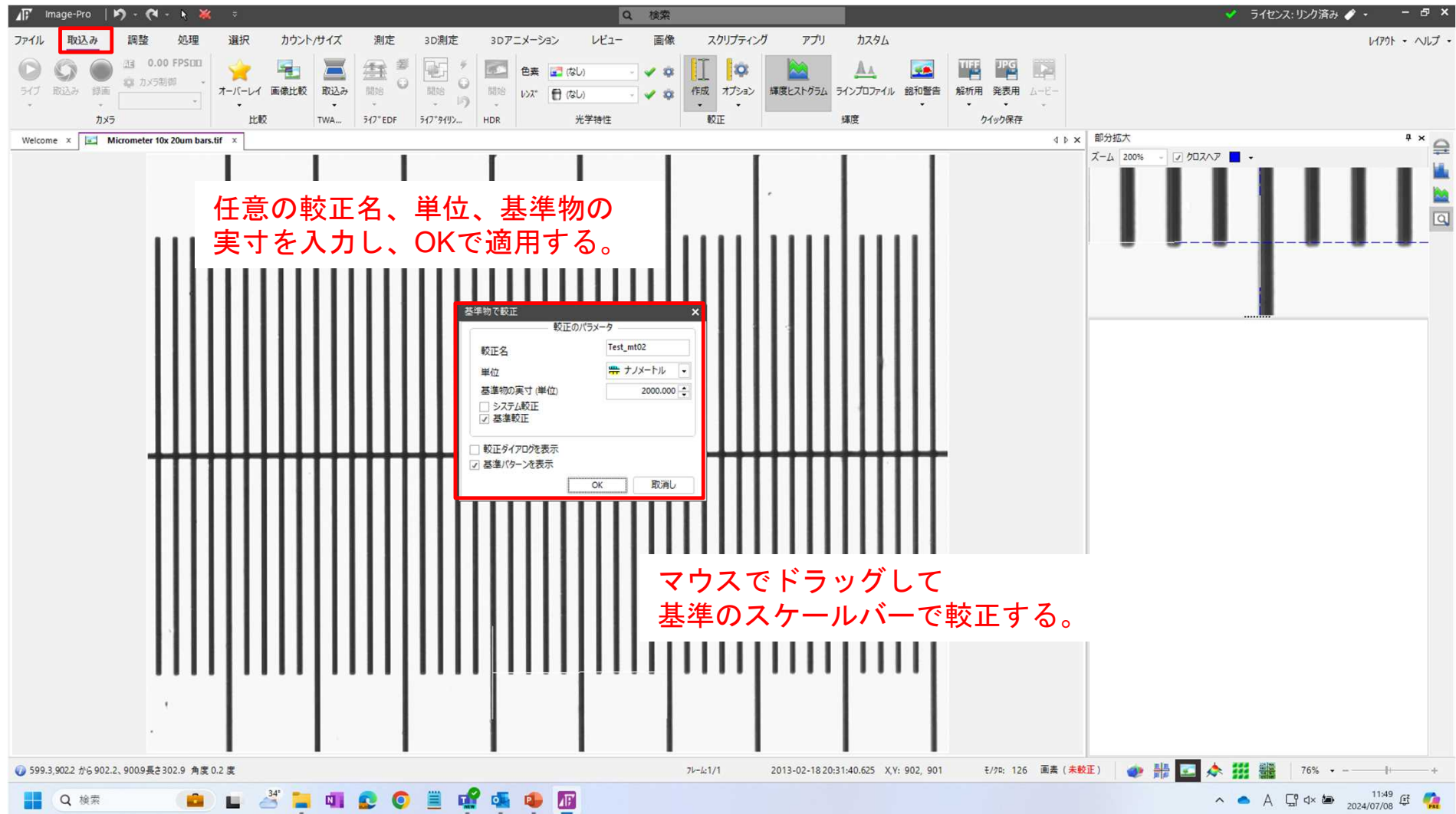
0 32 64 96 128 160 192 224 255

0 255

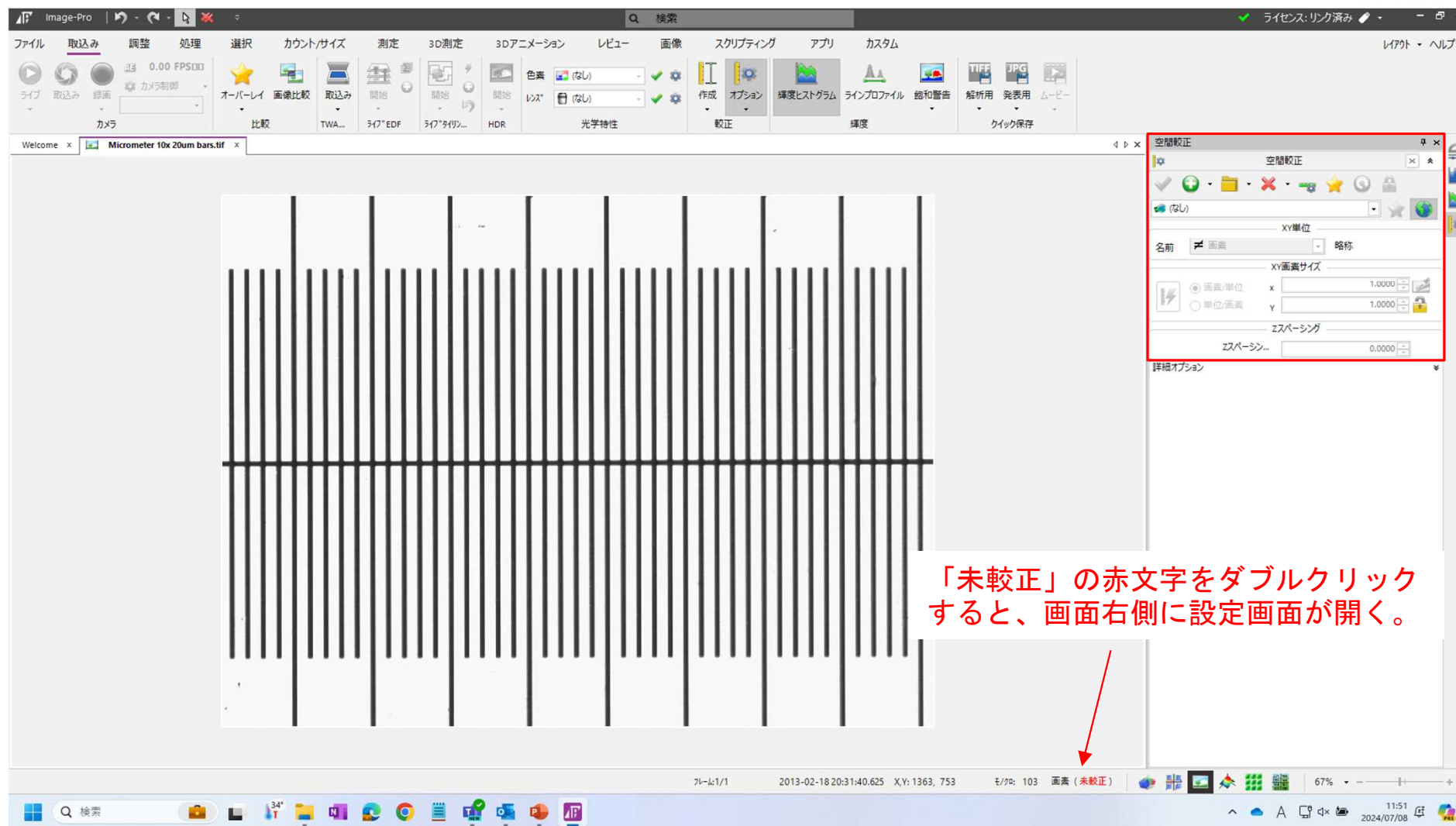
76%

11:47 2024/07/08

※スケール校正後は、校正データが保存されます。



A-2. スケールを校正する。～顕微鏡の校正データで校正～



A-2. スケールを校正する。～顕微鏡の校正データで校正～

① 新規作成＋アイコンをクリック。
② 校正データ名を入力。
③ 名前のプルダウンで単位を選択。
④ 画素/単位 or 単位/画素を入力。
⑤ 適用✓アイコンをクリック。

適用、新規アイコン

空間校正

XY単位
名前 ナノメートル 略称 nm

XY画素サイズ
画素/nm X 1.0000
nm/画素 Y 1.0000

Zスケーシング
Zスケーシング... 0.0000

詳細オプション

フレーム: 1/1 2013-02-18 20:31:40.625 X,Y: 1312, 802 モ/77: 247 画素 (未校正) 67% 2024/07/08 11:52

※ 保存した校正データを別の画像で使用方法。

The screenshot shows the Image-Pro software interface. The top menu bar includes 'ファイル' (File), '取込み' (Import), '調整' (Adjust), '処理' (Process), '選択' (Select), 'カウント/サイズ' (Count/Size), '測定' (Measure), '3D測定' (3D Measure), '3Dアニメーション' (3D Animation), 'レビュー' (Review), '画像' (Image), 'スクリプティング' (Scripting), 'アプリ' (App), and 'カスタム' (Custom). The '取込み' (Import) menu is highlighted with a red box. The main window displays a grayscale image of a sample. On the right side, a '空間校正' (Spatial Calibration) dialog box is open, showing a list of saved calibration files. The file 'test_2-2-2' is selected, and a red circle with a checkmark is placed over the '適用' (Apply) button. A red arrow points from the '適用' button to the '画像 (未校正)' (Image (Uncalibrated)) label in the bottom status bar.

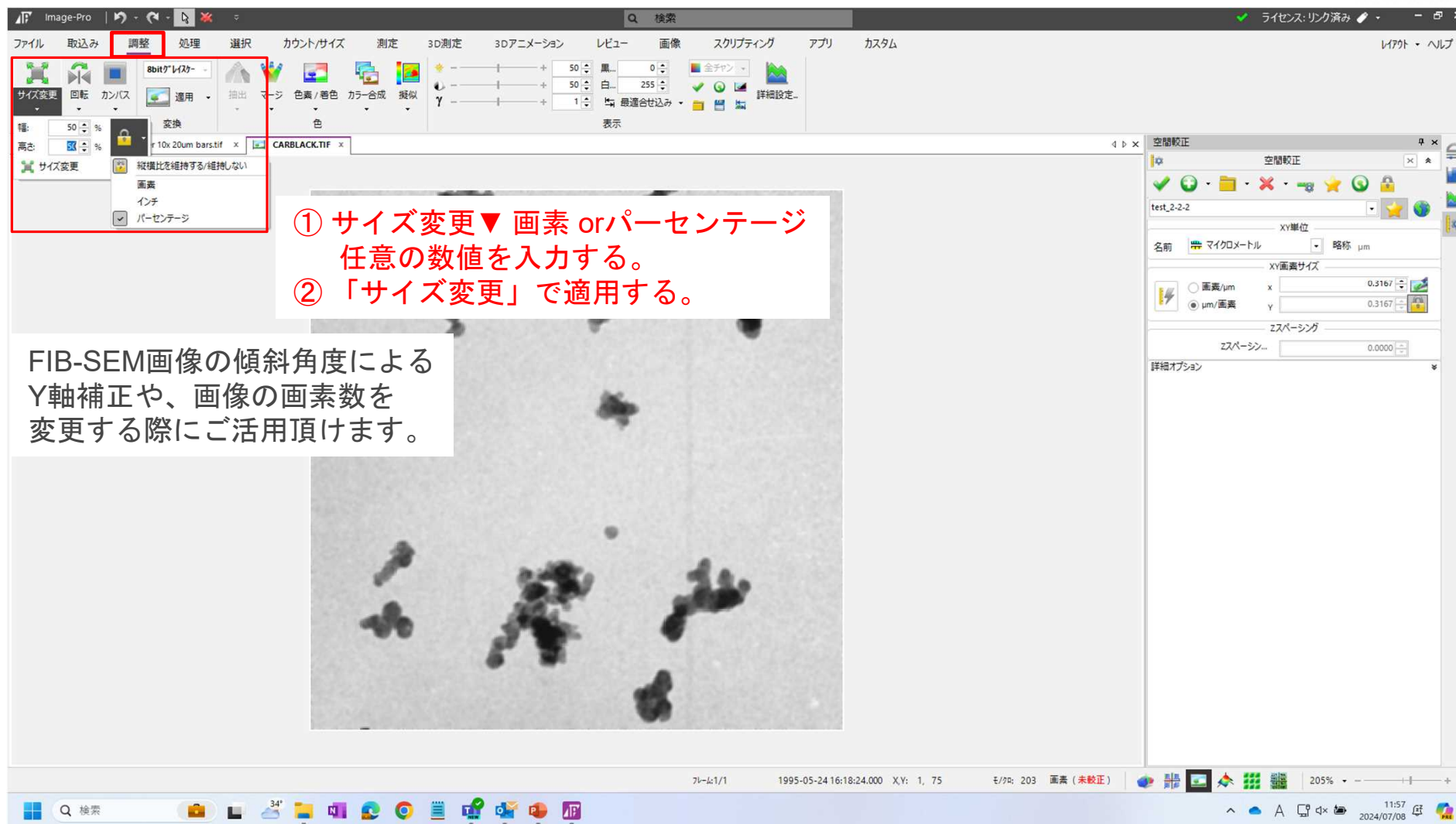
適用アイコン

保存した校正名を選択し
適用アイコン✓を押す。

別の画像を開いたときに
未校正をダブルクリック

画像 (未校正)

B-1.画像解析の前処理 / 画像サイズの変更



① サイズ変更▼ 画素 orパーセンテージ
任意の数値を入力する。

② 「サイズ変更」で適用する。

FIB-SEM画像の傾斜角度による
Y軸補正や、画像の画素数を
変更する際にご活用頂けます。

Image-Pro 検索

ファイル 取込み 調整 処理 選択 カウント/サイズ 測定 3D測定 3Dアニメーション レビュー 画像 スクリプティング アプリ カスタム

8bitグレースケール

サイズ変更 回転 キャンバス 適用 抽出 マージ 色画/着色 カラー合成 擬似

幅: 50 % 高さ: 50 % 変換

縦横比を維持する/維持しない

画素 インチ パーセンテージ

空間校正

空間校正

test_2-2-2

XY単位: マイクロメートル 略称: μm

XY画素サイズ

画素/ μm X: 0.3167 Y: 0.3167

μm /画素

Zスケーシング

Zスケーシング: 0.0000

詳細オプション

フレーム1/1 1995-05-24 16:18:24.000 X,Y: 1, 75 モ/画: 203 画素 (未校正) 205%

11:57 2024/07/08

B-2.画像解析の前処理 / コントラスト調整

The screenshot displays the Image-Pro software interface. The top menu bar includes 'ファイル', '取込み', '調整' (highlighted with a red box), '処理', '選択', 'カウント/サイズ', '測定', '3D測定', '3Dアニメーション', 'レビュー', '画像', 'スクリプティング', 'アプリ', and 'カスタム'. The '調整' (Adjust) menu is open, showing sliders for '黒' (Black) at 75, '白' (White) at 46, and 'γ' (Gamma) at 0.404. A red box highlights these sliders. A red arrow points to a '表示を反転' (Invert Display) icon in the toolbar, with a text box explaining that it inverts the LUT and displays the image in grayscale. Another red arrow points to the '適用' (Apply) button. A red text box on the left states: '顕微鏡と同様に明るさ、コントラスト、γ補正の調整可能。' (Adjustable brightness, contrast, and gamma correction like a microscope). A larger red text box in the center says: '注意：コントラスト調整後は必ず適用ボタンを押してください。 ※適用前は表示画面のみ変更しています。' (Note: After contrast adjustment, please press the apply button. ※Before applying, only the display screen is changed). The main window shows a microscopy image of dark, irregular shapes on a light background. The right sidebar contains '空間校正' (Spatial Calibration) settings, including 'XY単位' (XY Unit) set to 'マイクロメートル' (micrometers) and 'XY画像サイズ' (XY Image Size) with X and Y values of 0.3167. The bottom status bar shows '7フレーム/1', '1995-05-24 16:18:24.000', 'X,Y: 229, 2', 'モ/70: 149', '画像 (未校正)', and a zoom level of '209%'. The Windows taskbar at the bottom shows the date '2024/07/08' and time '11:59'.

調整

黒 75
白 46
γ 0.404

表示を反転
アクティブなチャンネルの LUT (ルックアップテーブル) を反転することで、画像の表示を白黒反転 (カラー反転) します。
【注意】
画像表示のみの反転ではなく、
画像データ自体を反転したいときは、
さらに「適用」ボタン (✓) を
クリックする必要があります。

白黒反転はこのアイコン

顕微鏡と同様に明るさ、
コントラスト、γ補正の調整可能。

注意：コントラスト調整後は必ず
適用ボタンを押してください。
※適用前は表示画面のみ変更しています。

空間校正

XY単位
名前 マイクロメートル 略称 μm

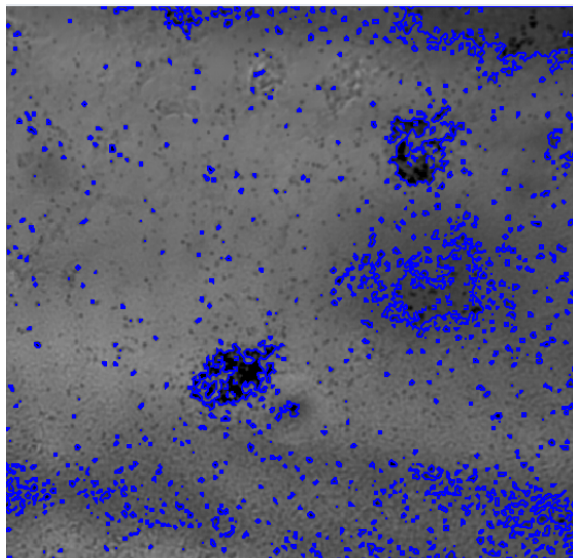
XY画像サイズ
x 0.3167
y 0.3167

Zスケーシング
Zスケーシング... 0.0000

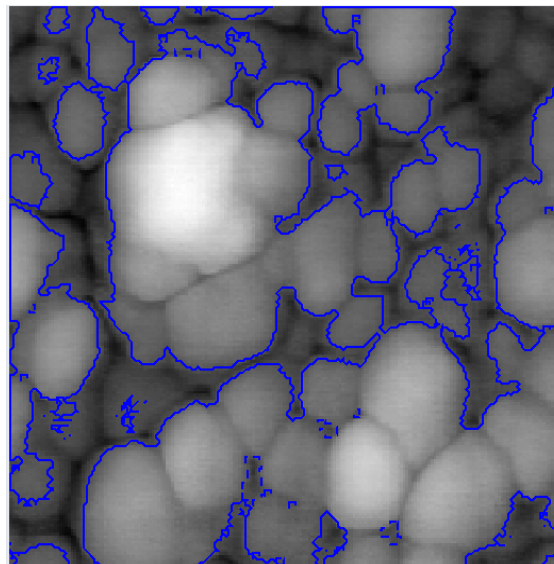
詳細オプション

7フレーム/1 1995-05-24 16:18:24.000 X,Y: 229, 2 モ/70: 149 画像 (未校正) 209% 2024/07/08 11:59

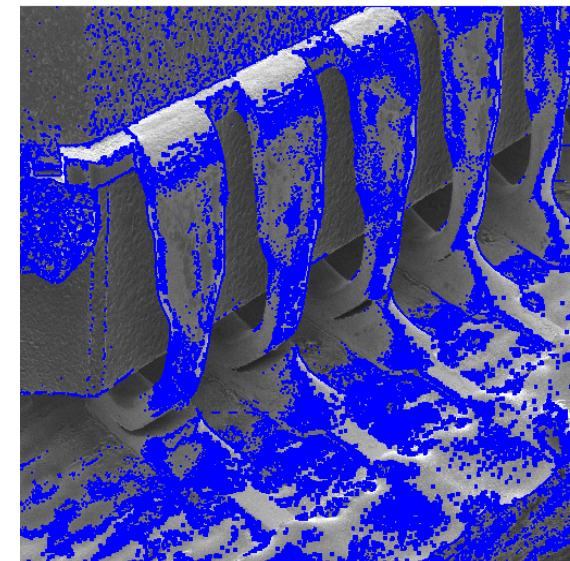
B-3. 画像フィルタを利用し、2値化カウントを容易にする。



背景の輝度ムラ



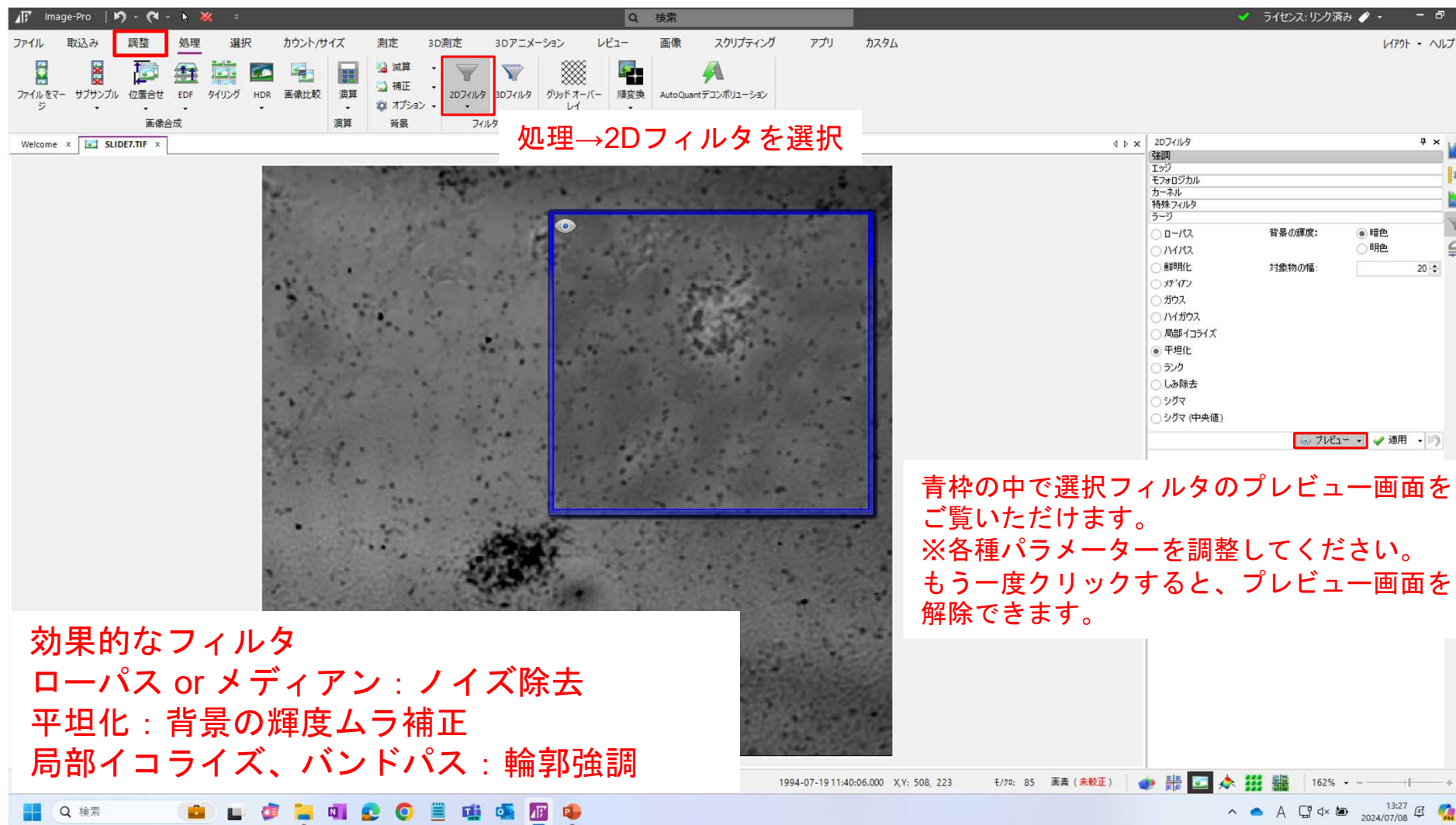
粒子の繋がり



ノイズ

2値化カウント時にこのような問題がある画像は、
画像フィルターの適用により改善できます。

B-3.画像解析の前処理 / フィルタの利用



処理→2Dフィルタを選択

効果的なフィルタ
ローパス or メディアン：ノイズ除去
平坦化：背景の輝度ムラ補正
局部イコライズ、バンドパス：輪郭強調

青枠の中で選択フィルタのプレビュー画面をご覧ください。
※各種パラメーターを調整してください。
もう一度クリックすると、プレビュー画面を解除できます。

B-3.画像解析の前処理 / フィルタの適用

例：平坦化：背景の輝度ムラ補正

適用前

適用後

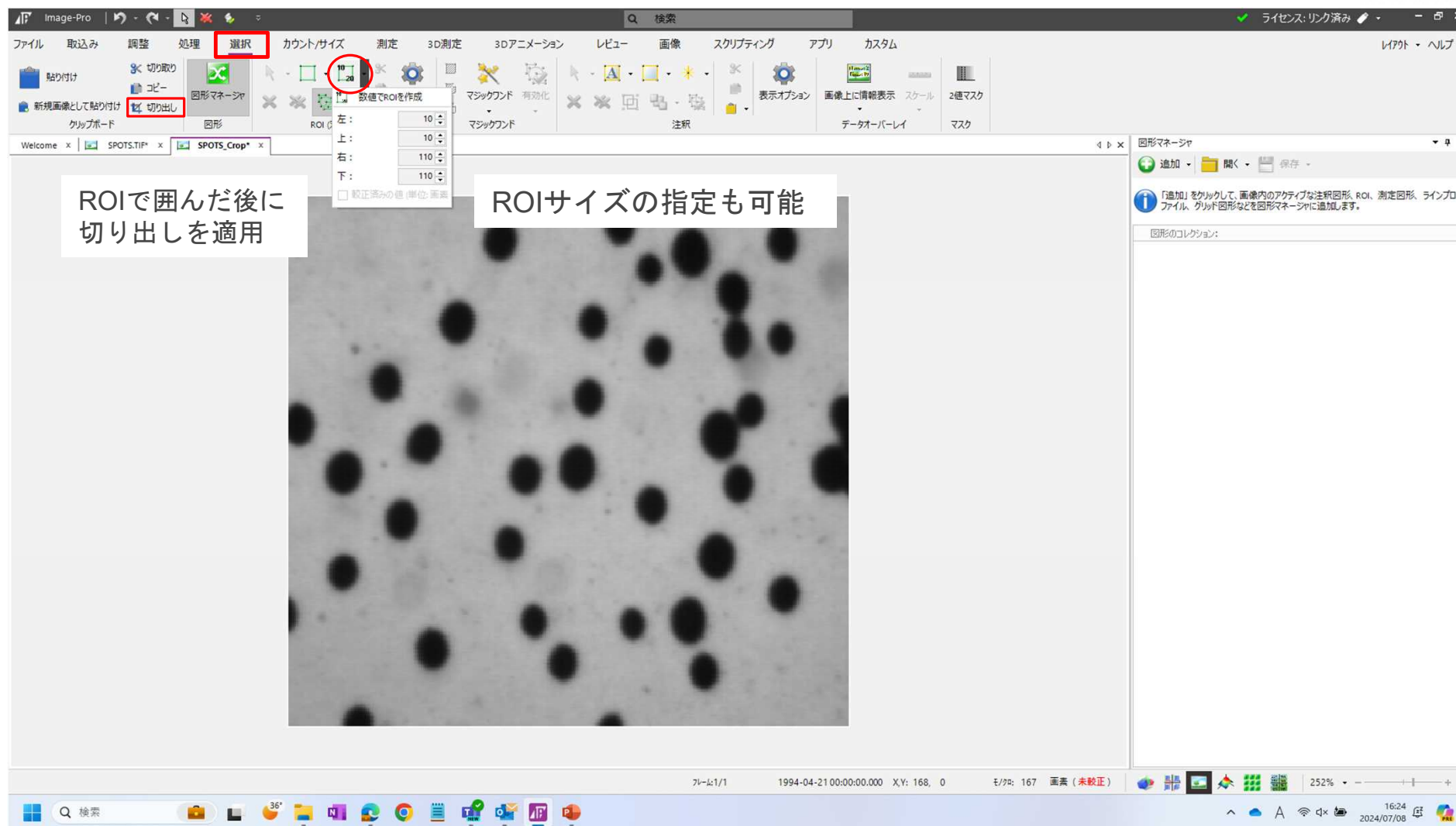
フィルタが決まったら、適用ボタンを押してください。

C. 測定範囲をROIで指定する（全体を測定する場合は不要）

選択→ROI（対象領域）
ROI枠内面積を
「100%」に指定されます。

The screenshot displays the Image-Pro software interface. The 'Select' menu is open, showing various selection tools. A red circle highlights the 'ROI' option. The main image shows a grayscale micrograph of cells with a green rectangular ROI box drawn around a central cluster. The right sidebar shows the 'Image Manager' panel. The bottom status bar displays coordinates and other parameters.

※ROI指定した領域を切り出す方法（クロップ）。



※複数ROIの保存方法。

The screenshot shows the Image-Pro software interface. The main window displays a grayscale image of a sample with several black circular spots. Three green rectangular ROIs are drawn over the image. The 'ROI Manager' window is open on the right, showing a list of saved ROIs. The 'Selection' menu is highlighted in the top toolbar, and the 'ROI Manager' icon is also highlighted. A red box highlights the 'ROI Manager' window and the list of saved ROIs.

事前にROIを作成

- ① 選択→図形マネージャーを起動
- ② +追加アイコン▼で全追加
- ③ 保存アイコンで保存。

※展開は隣のフォルダアイコン

図形のコレクション:	ROI
SPOTS.TIF	
ROI	
矩形 (16, 252 - 157, 394)	
円 (91, 21 - 275, 205)	
矩形 (206, 218 - 341, 345)	

※ 保存したROIの使用方法。

The screenshot shows the Image-Pro software interface. The top menu bar includes 'ファイル', '取込み', '調整', '処理', '選択', 'カウントサイズ', '測定', '3D測定', '3Dアニメーション', 'レビュー', '画像', 'スクリプティング', 'アプリ', and 'カスタム'. The '選択' (Select) menu is highlighted with a red box, and the '図形マネージャ' (ROI Manager) option is also highlighted with a red box. The main image displays a grayscale micrograph of cells with two green rectangular ROIs. The ROI Manager panel on the right shows a list of ROIs for 'SPOTS.TIF':

ROI	ROI	
矩形 (16, 252 - 157, 394)		
円 (91, 21 - 275, 205)		
矩形 (206, 218 - 341, 345)		

Below the list is a button labeled '図形を画像へコピー' (Copy shapes to image). A text box on the left says '① 図形マネージャを起動' (1. Start ROI Manager). A text box on the right says '保存したファイルを展開し、コピーアイコンで別の画像に貼り付け' (Expand saved files and paste into another image using the copy icon). The bottom status bar shows '1994-04-21 00:00:00.000 X,Y: 59, 1' and '183%'.

D-1 2値化の閾値を設定し、カウントする。

Image-Pro | 検索 | ライセンス: リンク済み

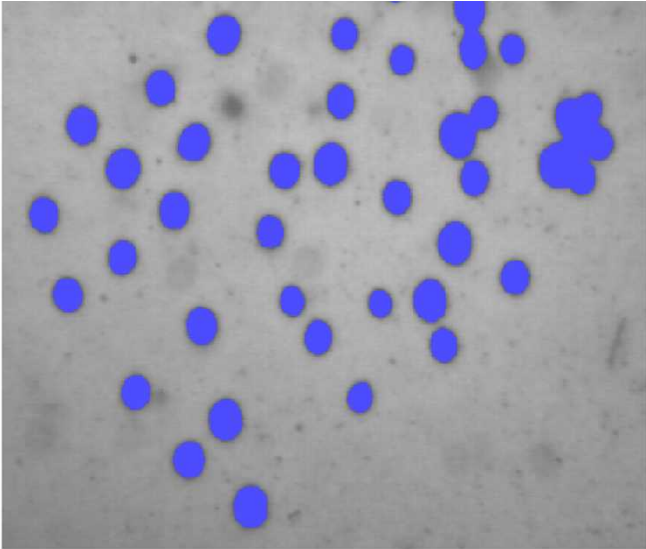
ファイル 取込み 調整 処理 **選択** カウント/サイズ 測定 3D測定 3Dアニメーション レビュー 画像 スクリプティング アプリ カスタム

多クラス 合計 0 明る 手動 123 カウント 分割 測定項目 選別設定 選別 オプション 適用 学習 単一 形状 クラス 分類

プロトコル 選択 カウント結果 対象抽出 対物抽出

Welcome x SPOTS.TIF x SPOTS_Crop x

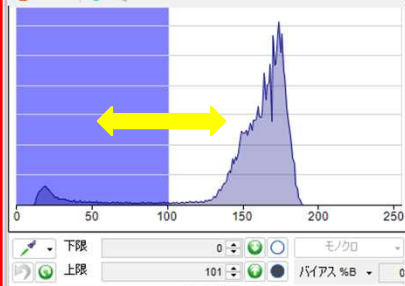
明る or 暗色 : 大津方式による自動2値化
※自動2値化の方式はオプションから変更可能。
手動 → 輝度差による2値化。
スマート → 輝度、背景等による自動認識による2値化。



測定 2値化ツール

クラス1 表示

カウント



下限 0 上限 101

モノクロ バイパス %B 0

閾値を調整

フレーム1/1 1994-04-21 00:00:00.000 X,Y: 308, 2 モノ: 143 画像 (未校正) 174% 16:30 2024/07/08

※カラー画像の場合は、スポイトで色塗りして抽出する。

The screenshot displays the Image-Pro software interface. The main window shows a histological image with several blue regions of interest. The 'Count/Size' menu is highlighted in the top toolbar. The 'Spot' icon is used to select the 'H' channel in the 'HSI' color mode. The '2D Histogram' window is open, showing a histogram of the selected regions. The 'Spot' icon is used to select the 'H' channel in the 'HSI' color mode.

スポイトアイコンで対象
エリアを塗りつぶす。

色モードを選択

※スマート（学習機能）での対象物抽出方法

スマート：微妙な輝度、背景の違いをソフトが自動的に分類する機能

2色以上測定する場合はクラスを追加していく。

④ カウント

① 対象物（1色目）を数ヶ所囲む。
② 対象物(2色目)を数ヶ所囲む。
③ 背景を数ヶ所囲む

スマート対象抽出
領域選択とカウント

1. 対象物を選択 クラス1
2. 背景 背景 クラスとして含める
3. カウント

保存
広域に設定 広域に適用
マスクとオーバーレイ
表示 マスク 画像を作成
レシドのオプション
色 背景 モフォロジ カスタム 自動重み付け 上位 3
モフォロジ 累積 サイズ 15
全て 消去 記録
リセット フィルタ
レシドの概要
ここにレシドの説明文を入力します
基準対象物 7
対象抽出のクラス 3
対象抽出のチャンネル (17)
ローパス (153.4[1], 161.6[1], 184.9[2], 179.8[2], 236.0[Bg], 228.3[Bg], 205.8[2])
0.769
ローパス収縮 (100.5[1], 108.6[1], 155.9[2], 151.5[2], 232.8[Bg], 175.1[Bg], 179.9[2]) 0.754
強い背景 (126.9[1], 138.2[1], 164.6[2], 165.8[2], 232.4[Bg], 168.0[Bg], 187.6[2])
0.717

2024-03-22 15:45:48.000 X,Y: 1594, 489 RGB: 254, 249, 255 画像 (未校正) 59%

D-2 測定項目を選択する。

The screenshot displays the Image-Pro software interface. The 'Count/Size' menu is highlighted in the top toolbar. The 'Add Measurement Item' dialog is open, showing a list of measurement items on the left and a table of selected items on the right. A red text box with the text '任意の測定項目を追加' (Add any measurement item) is overlaid on the dialog.

任意の測定項目を追加

測定	対象物クラス名	最小	最大
☒	領域面積		
☒	領域フェレ径, 平均	0	1E+308
☒	領域直径, 平均	0	1E+308
☒	領域面積比(%)	0	100

D-3 測定結果はデータ表に表示される。

The screenshot displays the Image-Pro software interface. The top menu bar includes options like 'ファイル', '取込み', '調整', '処理', '選択', 'カウント/サイズ', '測定', '3D測定', '3Dアニメーション', 'レビュー', '画像', 'スクリプティング', 'アプリ', and 'カスタム'. The 'カウント/サイズ' menu is highlighted, and the 'データ表' (Data Table) icon is circled in red. A red arrow points to the 'データ表' icon with the text 'このアイコンでデータ表が表示される' (The data table is displayed with this icon).

Below the main image window, there are two buttons: 'Excel転送' (Excel Transfer) and '統計データ' (Statistical Data). The '測定データ表' (Measurement Data Table) is visible, showing a table of measurement results.

図形名	クラス名	面積(画素 ²)	フェレ径, 平均(画素)	直径, 平均(画素)	面積比(%)	
P1R1	クラス 1	7.00	2.30	3.03	0.00	
P1R2	クラス 1	1673.00	58.52	41.28	0.09	
P1R3	クラス 1	2.00	0.64	1.50	0.00	
P1R4	クラス 1	2.00	0.64	1.50	0.00	
P1R5	クラス 1	2.00	0.64	1.50	0.00	
平均値		0.00	1799.66	10.15	8.59	0.09
標準偏差		0.00	36254.99	62.29	45.55	1.89
最小		0.00	1.00	0.00	1.00	0.00
最大		0.00	956872.00	1486.99	1077.48	49.84
レンジ		0.00	956871.00	1486.99	1076.48	49.84
合計		0.00	1398332.00	7883.76	6672.77	72.83
最小値の番号		0.00	12.00	12.00	12.00	12.00
最大値の番号		0.00	258.00	258.00	258.00	258.00

The bottom status bar shows the date and time: 2004-03-22 15:45:48.000, X,Y: 1582, 393, and RGB: 255, 248, 255. The software version is 59%.

※ 特定の範囲の対象物のみ測定する（選別機能）

① 選別項目を選択
測定項目で選択した項目が表示されます。

② 範囲を指定

③ OKをクリック

選別レンジを設定

ヒストグラム

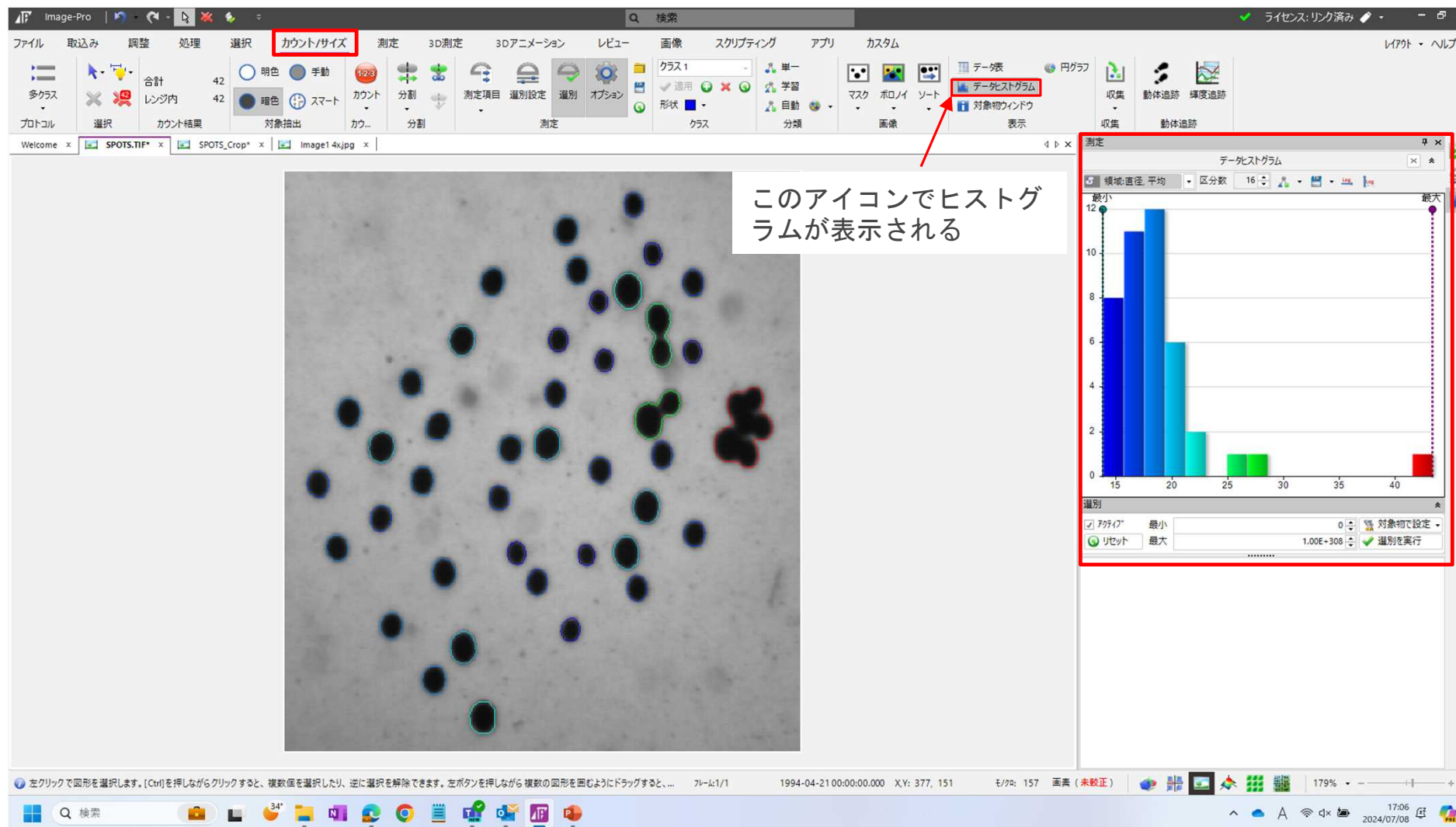
領域: 面積 区分数: 16

最小: 196.86 最大: 1.00E+308

レンジ内の対象物 37/42 (88.10%)

OKで選別実行

※ヒストグラム表示方法



※ 測定結果の学習分類方法

① 分類数分の追加をクリック

② 選別の基準となる測定項目を選択

③ →クリック、画像から対象を選択

④ 設定後、分類を実行

学習による分類

1. 学習させて保存ロード

2. 分類クラスを定義、基準対象物を追加

クラスを追加

クラス	数	色	追加	削除
クラス 1	3	青		
クラス 2	3	緑		

3. 分類用の測定項目を選択

全追加 リセット

測定	重み
☒ 領域面積	0.5164
☒ 領域フェレ径、平均	0.6300
☒ 領域直径、平均	0.5523
☒ 領域面積比(%)	0.5164
☒ 領域円形度	0.5861

4. 分類基準

☒ 分類基準の重み計算 ☒ 自動重み付け

分類

分類したクラス別の測定結果の表示方法

Σアイコン▼
グループ別の統計

分類アイコン

測定データ表

クラス名	図形名	親	クラス名	図形名	親	クラス名	図形名	親
クラス名: ● クラス 1	クラス名: ● クラス 1	クラス名: ● クラス 1	クラス名: ● クラス 1	クラス名: ● クラス 1	クラス名: ● クラス 1	クラス名: ● クラス 1	クラス名: ● クラス 1	クラス名: ● クラス 1
平均値	0.00	0.00	973.67	39.81	32.29	0.61	0.46	
標準偏差	0.00	0.00	453.47	7.90	7.81	0.28	0.09	
最小	0.00	0.00	623.00	33.37	26.69	0.39	0.34	
最大	0.00	0.00	1614.00	50.93	43.33	1.00	0.56	
レンジ	0.00	0.00	991.00	17.56	16.64	0.62	0.22	
合計	0.00	0.00	2921.00	119.43	96.86	1.82	1.39	
要素数	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	
クラス名: ● クラス 2	クラス名: ● クラス 2	クラス名: ● クラス 2	クラス名: ● クラス 2	クラス名: ● クラス 2	クラス名: ● クラス 2	クラス名: ● クラス 2	クラス名: ● クラス 2	クラス名: ● クラス 2
平均値	0.00	0.00	278.38	18.41	17.70	0.17	0.76	
標準偏差	0.00	0.00	65.07	2.22	2.17	0.04	0.03	
最小	0.00	0.00	172.00	14.37	13.80	0.11	0.69	
最大	0.00	0.00	442.00	23.57	22.64	0.28	0.81	
レンジ	0.00	0.00	270.00	9.20	8.84	0.17	0.12	
合計	0.00	0.00	10857.00	718.17	690.30	6.76	29.63	
要素数	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	

学習による分類

- 学習させて保存ロード
- 分類クラスを定義、基準対象物を追加

クラス	数	色	形状	サイズ
クラス 1	3	●	●	●
クラス 2	3	●	●	●
- 分類用の測定項目を選択

測定	重み
領域:面積	0.5164
領域:フェレ径, 平均	0.6300
領域:直径, 平均	0.5523
領域:面積比(%)	0.5164
領域:円形度	0.5861
- 分類基準
 - 分類基準の重み計算 ☒ 自動重み付け
- 分類実行

分類

1994-04-21 00:00:00.000 X,Y: 376, 63 モ/秒: 158 画像 (未校正) 107% 17:11 2024/07/08

ファイルの保存方法

A. 測定線と画像を一緒に保存する(Image-Pro用ファイル)。

Image-Pro

ファイル 取込み 調整 処理 選択 カウント/サイズ 測定 3D測定 3Dアニメーション レビュー 画像 スクリプティング アプリ カスタム

多クラス プロトコル 選択 カウント結果 対象抽出 カウ... 分割 測定項目 進捗設定 進捗 オプション クラス 適用 形状 学習 単一 自動 分類 マスク ホロノイ ソート 画像 データ表 データヒストグラム 対象物ウィンドウ 表示 円グラフ 収集 動体追跡 輝度追跡 収集 動体追跡

Welcome x SPOTS.TIF* x SPOTS_Crop* x Image1 4x.jpg x

名前を付けて保存

デスクトップ Demo Sample Images

整理 新しいフォルダー

漢皇子 - Hakuto Co.,Ltd

名前 更新日時 種類 サイズ

Demo 2024/07/08 10:58 ファイル フォルダー

Sample Data 2024/04/23 15:17 ファイル フォルダー

デスクトップ ダウンロード ドキュメント ピクチャ ミュージック ビデオ 腎糸球体、腎糸細管、気道

ファイル名(N): SPOTS.TIF

ファイルの種類(T): TIFF Image (*.tif, *.tiff, *.tbf)

フォルダーの非表示

保存(S) キャンセル

学習による分類

1. 学習させて保存モード

2. 分類クラスを定義、基準対象物を追加

クラスを追加

クラス 数

クラス 1 3

クラス 2 3

3. 分類用の測定項目を選択

全追加 リセット

測定 重み

領域面積 0.5164

領域フェレ径、平均 0.6300

領域直径、平均 0.5523

領域面積比(%) 0.5164

領域円形度 0.5861

4. 分類基準

分類基準の重み計算 自動重み付け

5. 分類実行

分類

左クリックで図形を選択します。[Ctrl]を押しながらクリックすると、複数個を選択したり、逆に選択を解除できます。左ボタンを押しながら複数の図形を囲むようにドラッグすると、...

ズーム: 1/1 1994-04-21 00:00:00.000 X/Y: 25, 13 モ/マ: 171 画像 (未校正) 164% 17:15 2024/07/08

B. 測定線と画像を一緒に保存する(任意のファイル形式)。

画面取込: 画像全体を保存 or 連続画像を動画として保存

① レビュー→画面取込で画像を変換。
② ファイル→名前を付けて保存
→任意のファイル形式で保存。

測定	重み
領域:面積	0.0000
領域:フェレ径, 平均	0.0000
領域:直径, 平均	0.0000
領域:面積比(%)	0.0000
領域:円形度	0.0000

4. 分類基準
分類基準の重み計算 ☒ 自動重み付け

5. 分類実行

17:16 2024/07/08

※ズーム画像を保存する場合

画面取込: 拡大縮小なしで保存
表示取込: 操作画面のズームで保存

学習による分類

- 学習させて保存ロード
- 分類クラスを定義、基準対象物を追加
- 分類用の測定項目を選択
- 分類基準
- 分類実行

測定	重み
☒ 領域面積	0.0000
☐ 領域フェレ径、平均	0.0000
☐ 領域直径、平均	0.0000
☐ 領域面積比(%)	0.0000
☐ 領域円形度	0.0000

7レム1/1 2024-07-08 17:18:45.883 X,Y: 194, 2 RGB: 166, 166, 166 画像 (未校正) 101%

C. 測定条件のみ保存する(別の画像に適用可能)。

Image-Pro設定ファイルで保存。
測定項目、選別設定、閾値などが
まとめて保存されます。
※展開は上のフォルダアイコン

測定	重み
領域面積	0.0000
領域フェレ径, 平均	0.0000
領域直径, 平均	0.0000
領域面積比(%)	0.0000
領域円形度	0.0000

4. 分類基準
分類基準の重み計算 ☒ 自動重み付け

5. 分類実行

分類