

证明书

CERTIFICATE



中国国际贸易促进委员会暨中国国际商会

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ · International Trade is China Chamber of International Commerce

中国国际贸易促进委员会



China Council for the Promotion of International Trade
China Chamber of International Commerce

证明书

CERTIFICATE

号码 No. 173205B0/00108

兹证明：在所附文件上的蔡司科技（苏州）有限公司的印章属实。

THIS IS TO CERTIFY THAT: the seal of CARL ZEISS
SUZHOU CO., LTD. on the annexed DOCUMENT is
genuine.



China Council for the Promotion
of International Trade



授权签字：

王梦瑶

Authorized Signature: Wang Mengyao

日期：2017年11月13日

(Date: Nov. 13, 2017)

蔡司科技（苏州）有限公司
Carl Zeiss Suzhou Co., Ltd.



To Roszdravnadzor
From Carl Zeiss Suzhou Co., Ltd., China

We send you the next document medical device registration in Russian Federation:

Instruction for use for medical device Stereo microscope for laboratory studies Stemi 305 with accessories in Russian.

2017-11-08



蔡司科技（苏州）有限公司
苏州工业园区兴浦路 333 号
现代工业坊 3-B 单元，邮编 215126

Carl Zeiss Suzhou Co., Ltd.
Modern Industrial Square 3-B,
No. 333 Xingpu Road SIP, 215126 Suzhou, China

Tel: +86 (0) 512 6287 1388
Fax: +86 (0) 512 6287 1360
Internet: www.zeiss.com

Микроскоп стереоскопический для лабораторных исследований Stemi 305

Руководство по эксплуатации

We make it visible



Вы приобрели прибор производства компании ZEISS. Перед началом эксплуатации вашего прибора и для оценки его качества внимательно прочитайте данное руководство по эксплуатации, выполнение которого обеспечит его надежную и длительную эксплуатацию.

Для эксплуатации данного прибора необходимо изучить настоящее руководство. Поэтому ознакомьтесь с содержанием данного руководства и обратите особое внимание на указания по безопасной эксплуатации прибора.

Мы сохраняем за собой право на внесение изменений с целью технического совершенствования; данное руководство не подлежит пересмотру.

© Передача или копирование данного документа, а также использование и передача его содержания без соответствующего разрешения запрещены. В случае нарушения виновные будут обязаны выплатить компенсацию.

Все права, относящиеся к выдаче патентов и регистрации полезных моделей, защищены.

Выпущено: Carl Zeiss Suzhou Co.,Ltd
Modern Industrial Square 3-
B, No. 333, Xing Pu Road,
SIP 215126, Suzhou, China

microscopy@zeiss.com
www.zeiss.com/microscopy



Carl Zeiss Suzhou Co.,Ltd
Modern Industrial Square 3-
B, No. 333, Xing Pu Road,
SIP 215126, Suzhou, China

SAP №: 435063-7044-001

Дата издания (редакция 6): 28.01.2015 г.

1 ВВЕДЕНИЕ

1.1 Общая информация

Микроскоп стереоскопический для лабораторных исследований серии Stemi 305 разработан, изготовлен и испытан в соответствии с требованиями стандартов безопасности DIN EN 61010-1 (IEC 61010-1) и IEC 61010-2-101 «Требования безопасности электрического оборудования для измерения, управления и лабораторного использования».

Данный прибор отвечает требованиям Директивы ЕС 98/79/ЕС, Приложение 1 (медицинское оборудование для диагностики в лабораторных условиях), Директивы 2011/65/ЕС (об ограничении использования некоторых вредных веществ в электрическом и электронном оборудовании) и имеют маркировку **CE**.

В настоящем руководстве приведены сведения и предупреждения, которые должны соблюдаться оператором.

Утилизация приборов должна выполняться в соответствии с Директивой ЕС 2012/19/ЕС (утилизация отходов производства электрического и электронного оборудования).

В руководстве используются следующие предупреждающие и уведомляющие символы:



ОСТОРОЖНО!

Данный символ является предупреждением, указывающим на потенциальную опасность для пользователя.



ОСТОРОЖНО!

Светодиод группы риска 2 согласно DIN EN 62471:2009. Световое излучение. Избегайте прямого воздействия светового излучения на органы зрения. Это может привести к повреждению глаз.



ОСТОРОЖНО! Ультрафиолетовое излучение большой мощности!

Опасность повреждения глаз и кожного покрова!



ОСТОРОЖНО!

Горячая поверхность!



ОСТОРОЖНО!

Перед любым вмешательством в работу прибора отключите кабель питания!



ВНИМАНИЕ!

Данный символ обозначает потенциальную опасность повреждения прибора или системы.



ВНИМАНИЕ!

Данный символ обозначает информацию, которая требует особого внимания.

1.2 Указания по технике безопасности



При невозможности соблюдения какой-либо меры предосторожности эксплуатация прибора должна быть прекращена, а прибор должен быть защищен от случайного срабатывания. При необходимости ремонта прибора обращайтесь в отдел обслуживания компании Zeiss или Carl Zeiss Microscopy.

Необходимо соблюдать указания по технике безопасности и установке микроскопа Stemi 305 (4350636044-008), указания по эксплуатации Stemi 305 (435063-8044-000), а также указания по эксплуатации источников света.



Не допускается использование прибора и его принадлежностей, включенных в комплект поставки, в потенциально взрывоопасной среде, а также при наличии паровоздушных анестетиков или воспламеняемых растворителей (например, спирт, бензол и другие химические вещества).



Эксплуатация прибора осуществляется только теми лицами, которые ознакомлены с потенциальными опасностями в связи с использованием микроскопов и сферами их применения. Микроскоп представляет собой высокоточный прибор, неправильное обращение с которым может привести к ухудшению его характеристик или выходу из строя.



Перед вводом прибора в эксплуатацию убедитесь, что имеющийся источник питания подходит для прибора.



Перед открытием прибора убедитесь, что сетевая вилка отсоединена от розетки.



Микроскоп не оснащен специальными устройствами для защиты от коррозии, потенциально инфекционных, токсичных, радиоактивных и других веществ, которые могут быть опасны для здоровья человека. При обращении с данными веществами необходимо соблюдать все законодательные требования, в частности соответствующие национальные правила техники безопасности по предупреждению несчастных случаев.



Светодиодные осветители отраженного и проходящего света классифицируются в соответствии с группой риска 2 для светодиодов и согласно европейскому стандарту DIN EN 62471:2009. Избегайте прямого воздействия светодиодного излучения на органы зрения.



При эксплуатации прибора с внешним источником люминесцентного излучения (большой мощности) старайтесь не заглядывать в оптоволоконный выход источника люминесцентного излучения. Это может привести к ослеплению и слепоте.



Никогда не накрывайте открытое гнездо световода или оптоволоконный выход. Это может привести к возникновению пожара!

Во всех случаях избегайте накрытия открытого гнезда световода или оптоволоконного выхода рукой или любой другой частью тела. Это может привести к ожогам!



Безопасное отключение от сети питания обеспечивается только за счет отключения сетевой вилки. Выключатель на микроскопе осуществляет переключение только в режим ожидания.



Запрещается осуществлять замену съемных кабелей питания кабелями с несоответствующими характеристиками. Необходимо использовать только указанные кабели питания.



Микроскоп и светодиодный контроллер К оснащены настольным блоком питания с диапазоном напряжения от 100 до 240 В $\pm 10\%$ и частотой 50 / 60 Гц без необходимости изменения установки напряжения в приборе.



Настольный блок питания отвечает требованиям класса защиты II (с защитной изоляцией). В случае повреждения корпуса дальнейшая эксплуатация блока питания запрещается. Эксплуатация микроскопа допускается только с настольным блоком питания, входящим в комплект поставки.



Замена ламп на источнике люминесцентного излучения осуществляется только в соответствии с руководством по эксплуатации от производителя. В случае несоблюдения соответствующих указаний существует опасность получения ожогов и воспламенения при замене ламп.



Утилизация неисправных приборов вместе с бытовыми отходами не допускается; необходимо руководствоваться положениями соответствующих законодательных актов.



Утилизация образцов осуществляется также согласно положениям соответствующих законодательных актов и внутренних правил эксплуатации.



Микроскоп стереоскопический Stemi 305 и принадлежности к нему допускается применять только по методикам, изложенным в настоящем руководстве. Производитель не несет ответственности в случае применения прибора, его модулей или отдельных деталей в иных целях. Внесение изменений и техническое обслуживание микроскопа и других приборов, сопряженных с ним, осуществляется только обслуживающим персоналом нашей компании или уполномоченными специалистами. Производитель прибора не несет никакой ответственности за его повреждение по причине вмешательства неуполномоченных лиц. Более того, подобные вмешательства приведут к аннулированию всех гарантийных обязательств.



Грязь и пыль могут ухудшить характеристики прибора. Поэтому прибор должен быть максимально защищен от подобного воздействия, а неиспользуемый микроскоп должен накрываться пылезащитным чехлом. Перед закрытием прибора убедитесь, что он действительно выключен. Существенные колебания температуры, прямое воздействие солнечного света и вибрации должны быть исключены.



Блокировка или закрытие вентиляционных отверстий может привести к теплообразованию, которое может вызвать повреждение прибора и даже возникновение пожара. Вентиляционные отверстия должны всегда оставаться открытыми. Не допускайте попадания в них посторонних предметов. Все электрические компоненты и блоки должны быть расположены на удалении не менее 15 см от источников нагрева.



При эксплуатации Stemi 305 соблюдайте соответствующие указания, включая меры предосторожности перед вводом прибора в эксплуатацию.



При необходимости эксплуатации Stemi 305 с внешним оптоволоконным источником люминесцентного излучения соблюдайте соответствующие указания, включая меры предосторожности перед вводом данного источника прибора.



Не допускайте контакта настольного блока питания с влагой.



Для транспортировки на большие расстояния прибор должен быть частично разобран и перевозиться в оригинальной упаковке.



Для транспортировки на большие расстояния используйте оригинальную упаковку или транспортировочный кейс для Stemi 305/508 и для Stemi 305



Для подключения светодиодных осветителей для системы Stemi 305 используются шестиштыревые модульные соединители, предназначенные для телекоммуникаций (тип: RJ 12).

К гнездам RJ 12 на корпусе микроскопа и штативах подключаются только подходящие светодиодные осветители. Необходимо использовать только соединительные кабели, поставляемые вместе с прибором.

Не допускается использование коммерчески доступных кабелей с соединителями RJ 12 или подключение к гнездам RJ 12 Stemi 305 факсов, модемов или другого телекоммуникационного оборудования.

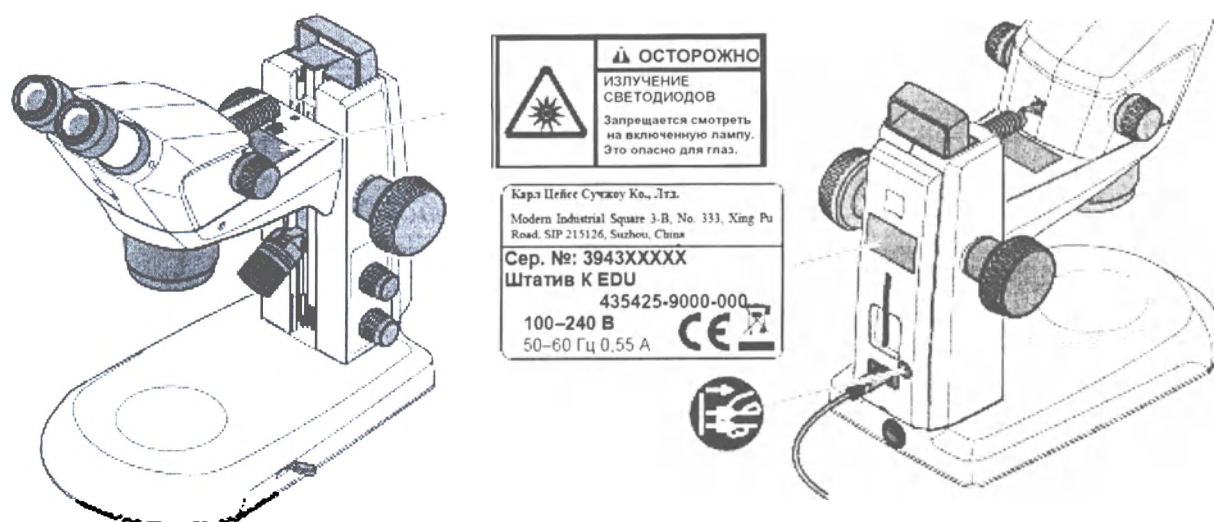
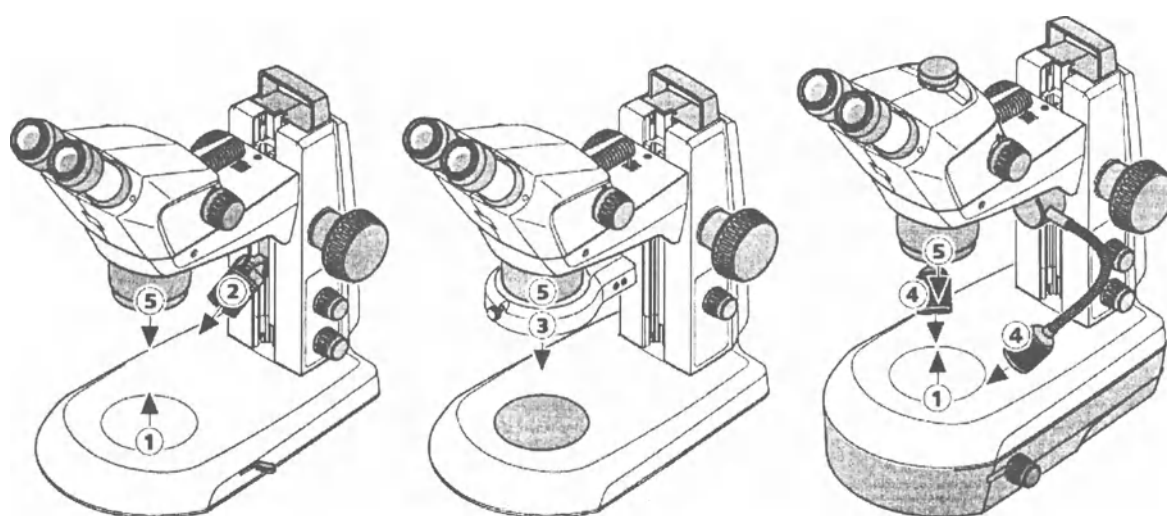


Рис. 1. Предупредительные и информационные надписи на приборе



- 1 Светодиодные осветители проходящего света.
- 2 Светодиодный точечный осветитель.
- 3 Светодиодный кольцевой осветитель.
- 4 Светодиодный точечный двойной осветитель.
- 5 Светодиодный встроенный вертикальный осветитель.

Рис. 2. Предупредительные надписи для светодиодного излучения

1.3 Условия гарантии

Производитель гарантирует отсутствие дефектов материалов или изготовления на момент поставки прибора. При обнаружении какого-либо дефекта немедленно сообщите нам о нем и примите меры для минимизации повреждения. После получения уведомления о дефекте производитель обязуется устранить его за свой счет путем ремонта прибора или его замены на новый. Гарантия не распространяется на дефекты, вызванные естественным износом (в частности, на изнашиваемые детали), а также на случаи ненадлежащей эксплуатации прибора.

Производитель прибора не несет ответственности за повреждение, возникшее в результате ненадлежащей эксплуатации, халатности или вмешательства в конструкцию прибора, в частности, в результате демонтажа или замены его узлов или использования принадлежностей, выпущенных другими производителями. Подобные действия приведут к аннулированию всех гарантийных обязательств.

Не допускается выполнять работы по техническому обслуживанию или ремонту микроскопа, которые не определены в настоящем руководстве по эксплуатации. Ремонт выполняется только обслуживающим персоналом компании ZEISS или специально уполномоченными специалистами. В случае возникновения какой-либо неисправности прибора обратитесь в отдел обслуживания Carl Zeiss или в представительство компании на территории вашей страны.

Гарантийный срок - 1 год.

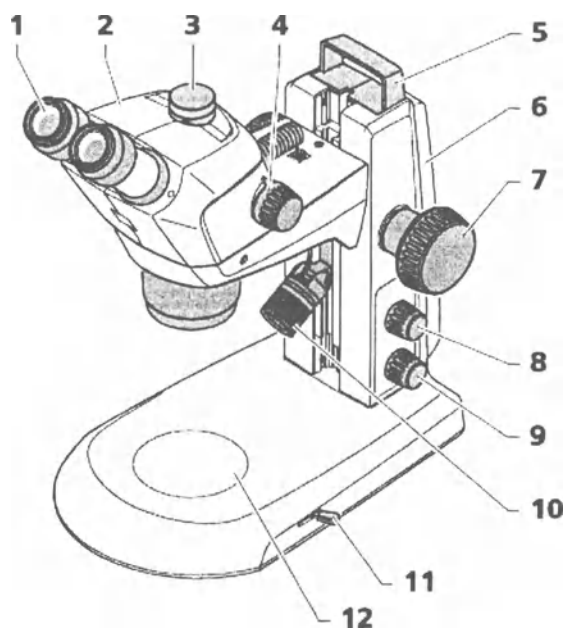
2 ОПИСАНИЕ

2.1 Область применения

Указанное медицинское изделие предназначено для применения в медицинских исследованиях с целью анализа крови и/или образцов тканей человеческого тела. Применяется в медицинских лабораториях.

Состав микроскопа см. в Приложение 2.

2.2 Система микроскопа



- | | | | |
|---|--|----|--|
| 1 | Окуляр (окуляр 10х/23). | 8 | Регулятор/ кнопка для включения и выключения осветителей или дополнительного освещения отраженным светом, а также для регулировки интенсивности освещения. |
| 2 | Корпус микроскопа (тринокуляр) со встроенным вертикальным осветителем. | 9 | Регулятор/ кнопка для включения и выключения осветителей проходящего света, а также для регулировки интенсивности освещения. |
| 3 | Интерфейс для камер. | 10 | Освещение отраженным светом (точечный светодиодный осветитель). |
| 4 | Трансфокатор для регулировки увеличения (Zoom). | 11 | Рычаг для регулировки осветителя проходящего света - светлое или темное поле на штативе K EDU. |
| 5 | Ручка. | 12 | Съемная пластина для размещения образца. |
| 6 | Штатив (модель K EDU). | | |
| 7 | Привод для фокусировки образца. | | |

Рис. 3. Система микроскопа Stemi 305



На рисунке показан лишь вариант конфигурации оборудования, который может отличаться от фактического!

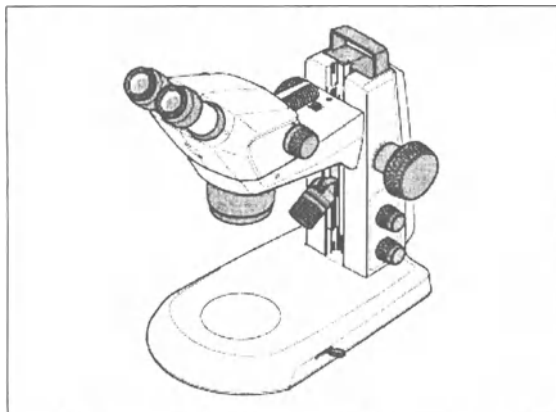


Рис. 4. Микроскоп типа Stemi 305 на штативе K EDU

2.3 Типы микроскопов

Stemi 305 на штативе K EDU

- корпус Stemi 305 на штативе K EDU;
- встроенный регулируемый вертикальный осветитель;
- точечный осветитель отраженного света с регулировкой высоты и угла, масштабируемый;
- компактный блок проходящего света для светлого и темного поля;
- для применения в лабораторных условиях.

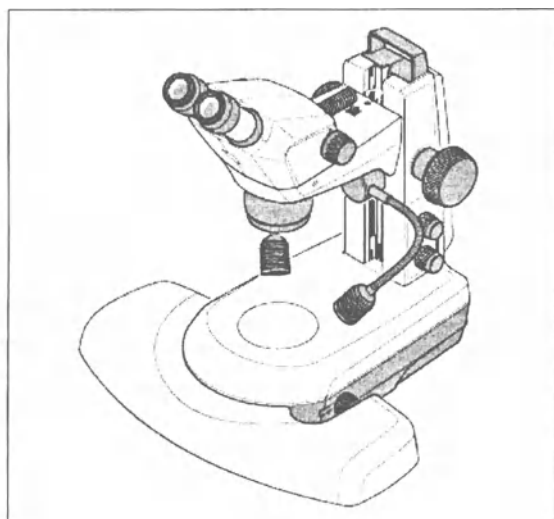


Рис. 5. Микроскоп типа Stemi 305 на штативе K LAB

Stemi 305 на штативе K LAB:

- корпус Stemi 305 на штативе K LAB;
- встроенный регулируемый вертикальный осветитель;
- точечный двойной осветитель с регулировкой высоты и угла;
- модуль отраженного света для светлого и темного поля и рельефного контраста;
- подставка для рук (по заказу);
- для применения в лабораторных условиях.

Полный перечень штативов представлен в приложении 1.

2.4 Механические интерфейсы на корпусе микроскопа Stemi 305

- 1 Дополнительное крепление для окулярных вставок диаметром 26 мм.
- 2 Тубус для съемных окуляров.
- 3 Переходник цифровой камеры с диагональю до 2/3 дюйма (только для Stemi 305 trino).
- 4 Внутренняя резьба M52x1,0 для крепления фронтальной линзы и других приспособлений.
- 5 Крепление диаметром 66 мм для кольцевого осветителя.
- 6 Крепление диаметром 76 мм для корпуса микроскопа.
- 7 Крепление диаметром 84 мм для предметных столов и съемных пластин.
- 8 Направляющая для крепления точечного осветителя отраженного света.
- 9 Резьба M8 для крепления внешних осветительных устройств (только штатив K).

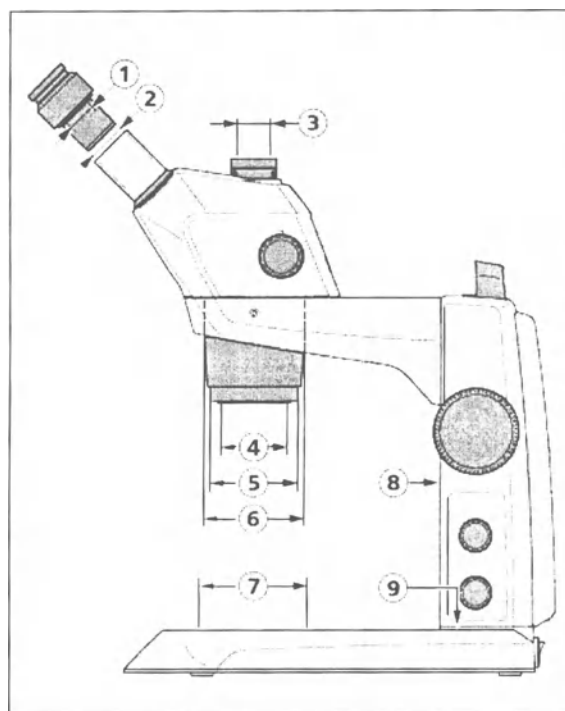


Рис. 7. Механические интерфейсы на микроскопе Stemi 305 со штативом K LED (схематическое изображение)

При помощи интерфейса диаметром 76 мм Stemi 305 может также применяться в сочетании с другими штативами из модульного комплекта системы стереомикроскопа; на штатив K также могут устанавливаться и другие микроскопы ZEISS (например, Stemi 508).

Фронтальные линзы, Stemi 305

- Наружная резьба M52x1,0 для крепления в корпусе Stemi 305.
- Внутренняя резьба M49x0,75 для крепления оптических фильтров и анализатора для работы в поляризованном свете.

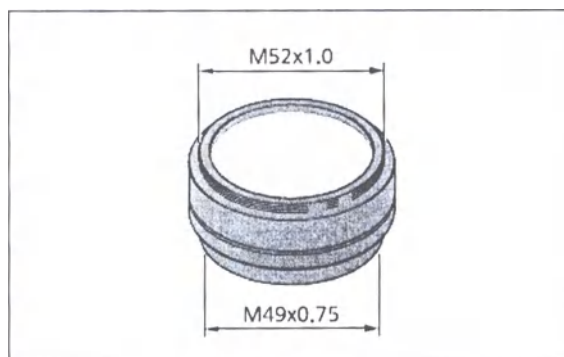


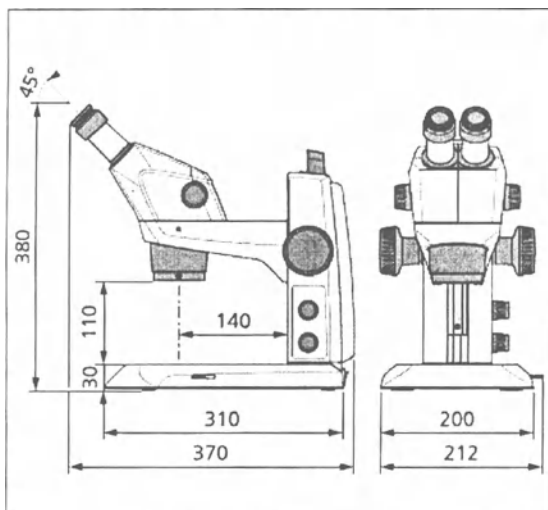
Рис. 8. Фронтальная линза, Stemi 305 (пример)

2.5 Обзор системы

Обзор системы см. в Приложение 1.

Характеристики комплектующих и принадлежностей см. в Приложении 3 и Приложении 4.

2.6 Технические данные Система микроскопа Stemi 305 на штативе K EDU. Размеры:

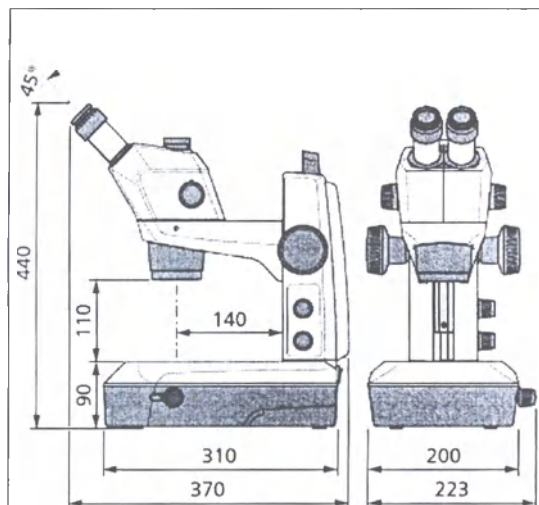


Допустимая погрешность +/- 5%.

Масса

Stemi 305 на штативе K EDU не более..... 4,6 кг

Система микроскопа Stemi 305 на штативе K LAB. Размеры:



Допустимая погрешность +/- 5%.

Масса

Stemi 305 на штативе K LAB не более..... 6,2 кг

Условия окружающей среды

При хранении (в упаковке)

Допустимая температура окружающей среды..... от 10 до 40 °C

Допустимая влажность воздуха..... не более 75 % при температуре 35 °C
(без конденсации)

При транспортировке (в упаковке)

Допустимая температура окружающей среды..... от – 40 до + 70 °C

При эксплуатации

Допустимая температура окружающей среды..... от + 10 до + 40 °C

Допустимая влажность воздуха..... не более 75 %

Атмосферное давлениеот 800 до 1060 гПа

Степень загрязнения2

Область применения..... закрытые помещения

Высота области примененияне более 2000 м

Эксплуатационные данные: настольные блоки питания, микроскоп и светодиодный контроллер К

Класс безопасностиII

Исполнение IP 20

Электробезопасность..... соответствие стандарту DIN EN 61010-1 (IEC 61010-1)
с учетом правил CSA и UL

Степень загрязнения2

Категория перенапряжения.....2

Напряжение сети питания..... от 100 до 240 В ± 10 %

В связи с тем, что прибор оснащен блоком питания с возможностью работы при различных напряжениях, регулировка напряжения не требуется!

Частота напряжения сети питания от 50 до 60 Гц

Энергопотребление: настольный блок питания с подключенным микроскопом не более 40 ВА

На выходе настольного блока питания для микроскопа

и светодиодного контроллера К 12 В постоянного тока, не более 2 А

На входе настольного блока питания для микроскопа

и светодиодного контроллера К 100–240 В, 50–60 Гц, не более 0,55 А

Классификация оптических приборов по группе риска согласно DIN EN 62471:2009

Прибор в сборе	группа риска 2 согласно DIN EN 62471:2009
Встроенный вертикальный осветитель	группа риска 2 согласно DIN EN 62471:2009
Точечный осветитель K LED (освещение отраженным светом)	группа риска 2 согласно DIN EN 62471:2009
Точечный двойной осветитель K LED (освещение отраженным светом)	группа риска 2 согласно DIN EN 62471:2009
Блок проходящего света на штативе K LAB.....	группа риска 2 согласно DIN EN 62471:2009
Блок проходящего света на штативе K EDU.....	группа риска 2 согласно DIN EN 62471:2009
Светодиодный осветитель отраженного света, макс. при 460 нм	группа риска 2 согласно DIN EN 62471:2009
Светодиодный осветитель проходящего света, макс. при 465 нм	группа риска 2 согласно DIN EN 62471:2009

Дополнительные характеристики см. в Приложении 5.

3 УСТАНОВКА

3.1 Общая информация



Перед установкой и ввода прибора в эксплуатацию внимательно прочитайте **указания по технике безопасности** (см. раздел 1.2, стр. 8).

Микроскоп Stemi 305 вместе с необходимыми инструментами и дополнительным оборудованием поставляется в нескольких стандартных упаковках.

- Достаньте все блоки из упаковки и проверьте их наличие в соответствии с накладной.



Для установки и (или) транспортировки микроскопа или штатива пользуйтесь специальной ручкой (рис. 3/5).

- Удалите крепежные приспособления для транспортировки (клеякую ленту и т. д.)
- Сохраните оригинальную упаковку на случай длительного хранения прибора, его возврата производителю или надлежащей утилизации.

3.2 Установка микроскопа

- Установите штатив на ровную и надежную опору.
- Если корпус Stemi 305 (рис. 10/2) еще не установлен, вставьте его в опору Stemi (рис. 10/4), выполните его выравнивание и закрепите при помощи зажимного винта (рис. 10/6).

Необходимый торцевой ключ (рис. 10/9) находится в основании в задней части прибора.

- Если два окуляра (рис. 10/1) еще не установлены, вставьте их до упора в тубус окуляра.
- Снимите две защитные крышки с окуляров (рис. 9/1) и защитную крышку (рис. 9/2) с объектива при помощи вращения.

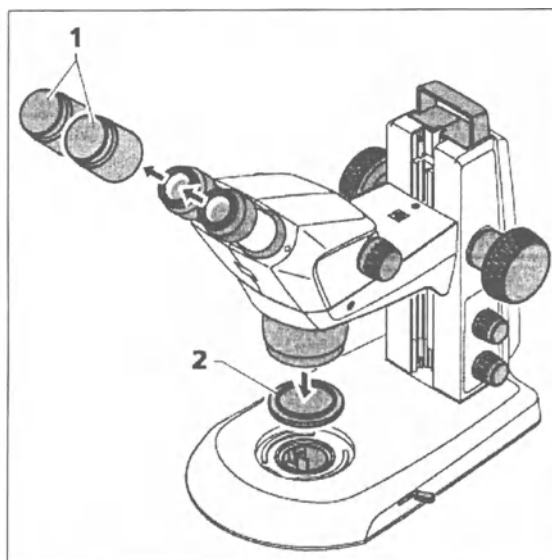


Рис. 9. Демонтаж крышек

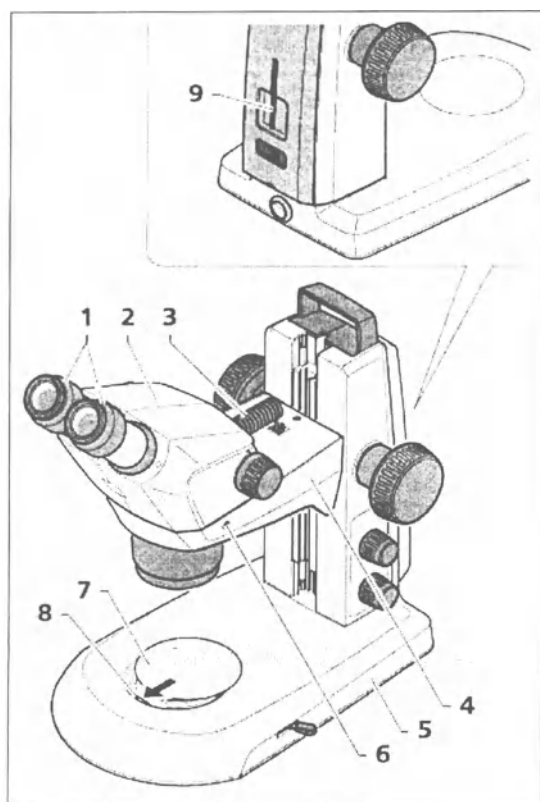


Рис. 10. Установка микроскопа

- Вставьте соединительный кабель (рис. 10/3), поставляемый вместе с прибором, в гнездо на корпусе Stemi и в гнездо на опоре Stemi.
- Вставьте стеклянную вставку или черно-белую пластиковую вставку (рис. 10/7) в опору на основании штатива.

Для этого надавите на стеклянную вставку или черно-белую пластиковую вставку до пружины (рис. 10/8) и зафиксируйте ее.



Установка дополнительного осветителя описана в разделе 3.3.1 на стр. 23.

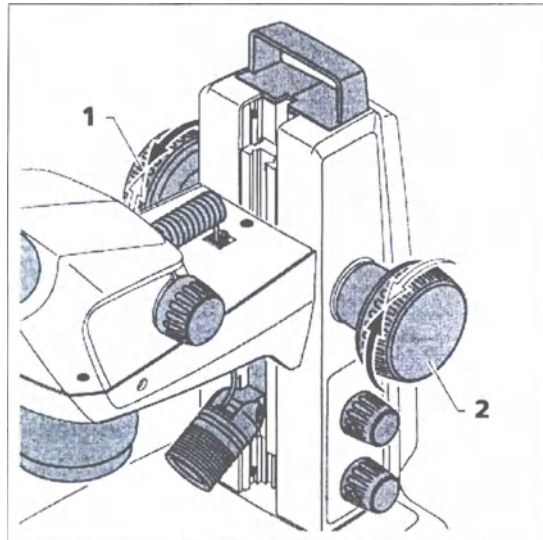


Рис. 11. Настройка плавности перемещения привода фокусировки



При необходимости плавность перемещения привода фокусировки можно настраивать в зависимости от конкретного случая за счет регулировки двух регуляторов фокусировки (рис. 11/1 и 2) в обратном направлении.



Плавность хода (усилие вращения) не должна быть слишком легкой, чтобы привод не перемещался вниз под собственной тяжестью. Это может привести к повреждению микроскопа или образца.

3.3 Установка дополнительных компонентов

3.3.1 Установка дополнительного осветителя отраженного света

В зависимости от области применения могут быть использованы различные осветители. Для крепления на микроскопе имеются определенные интерфейсы.

3.3.1.1 Установка точечного или точечного двойного осветителя

- Переместите корпус микроскопа (рис. 12/1) в крайнее верхнее положение при помощи регулятора фокусировки (рис. 12/2).
- Установите точечный осветитель (рис. 12/7) на штатив, устанавливая держатель (рис. 12/5) в направляющую штатива (рис. 12/4) снизу вверх до нужного положения.
- Вставьте соединительный кабель (рис. 12/6) точечного осветителя в нижнее гнездо опоры Stemi (рис. 12/3).



Установка точечного двойного осветителя осуществляется аналогично.

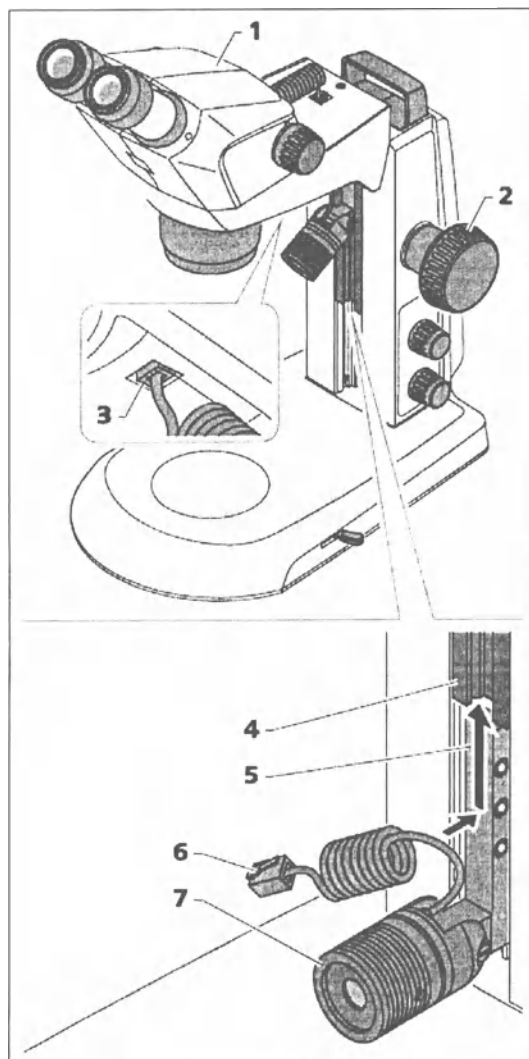


Рис. 12. Установка точечного осветителя

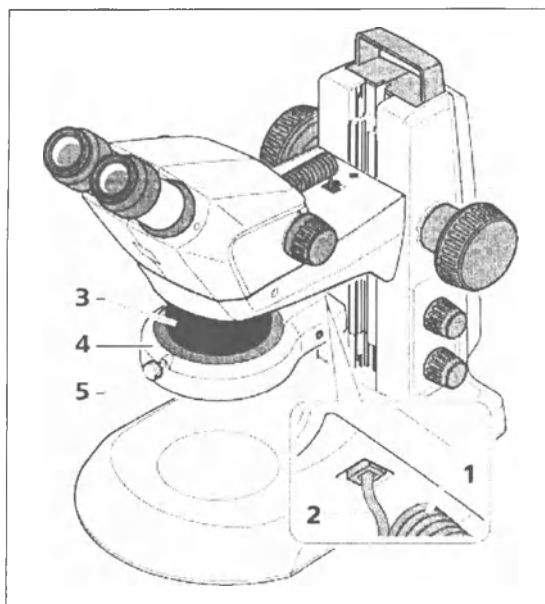


Рис. 13. Установка кольцевого осветителя на корпусе микроскопа

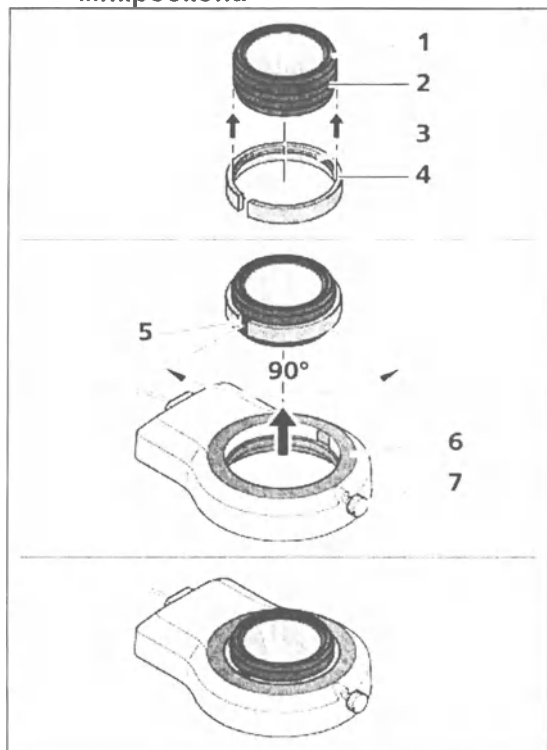


Рис. 14. Установка кольцевого осветителя на фронтальную линзу 3

3.3.1.2 Установка светодиодного кольцевого осветителя К (сегментируемого)

Установка кольцевого осветителя на корпусе микроскопа

- Вставьте соединительный кабель (рис. 13/1) кольцевого осветителя (рис. 13/4) в нижнее гнездо (рис. 13/2) опоры Stemi и в гнездо кольцевого осветителя.
- Вставьте кольцевой осветитель снизу в корпус микроскопа (рис. 13/3) и закрепите его при помощи винта с накатанной головкой (рис. 13/5).

Установка кольцевого осветителя на фронтальную линзу 3

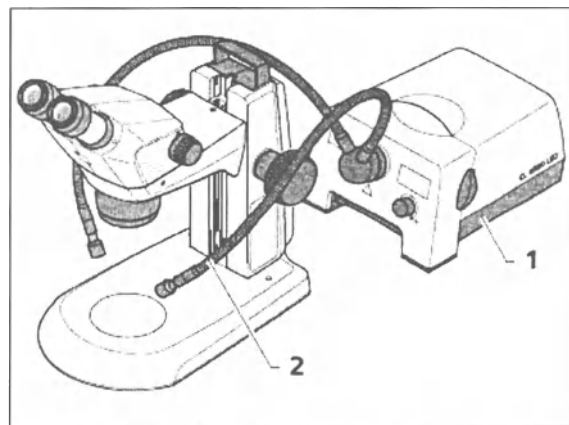
- Установите переходник с прорезью (рис. 14/4), поставляемый вместе с прибором (наружный диаметр 66 мм, внутренний диаметр 58 мм), на фронтальную линзу (рис. 14/1) снизу. Установочное кольцо (рис. 14/3) внутри переходника необходимо зафиксировать на наружной канавке (рис. 14/2) линзы.
- Установите кольцевой осветитель (рис. 14/6) на переходник и закрепите его при помощи зажимного винта (рис. 14/7).



Наилучшая фиксация достигается, когда прорезь (рис. 14/5) переходника и зажимной винт (рис. 14/7) осветителя поворачиваются в горизонтальной плоскости относительно друг друга на 90°.

3.3.1.3 Внешний источник света

- Включите внешний источник света (рис. 15/1), отрегулируйте интенсивность освещения и установите освещение при помощи двух S-образных гибких световодов (рис. 15/2) таким образом, чтобы обеспечивалась оптимальная освещенность образца.



Для этого также см. отдельные инструкции по эксплуатации, касающиеся источника холодного света.

Рис. 15. Установка внешнего источника света

3.3.1.4 Установка насадок на окуляры

Окуляры оснащены резиновыми насадками, защищающими очки пользователя от царапин. При желании данные насадки для очков могут быть заменены антибликовыми насадками для окуляров (рис. 16/1).

- Для этого снимите защитные кольца для очков (рис. 16/2) с окуляров и установите антибликовые насадки (рис. 16/1).

3.3.1.5 Дополнительные вставки в окуляр

Регулируемые окуляры могут использоваться вместе с дополнительными вставками (окуляр-микрометры, сетчатые микрометры и др.).

- Отвинтите упор (рис. 16/6) от окуляра (рис. 16/3).
- Извлеките стопорное кольцо (рис. 16/4).
- Вставьте дополнительную вставку в окуляр (рис. 16/5).
- Вставьте стопорное кольцо обратно и привинтите упор.



Если вставка окуляр-микрометра осуществляется пользователем, то установкой необходимо убедиться в наличии перевернутого изображения, а после вставки – в наличии конгруэнтного изображения.



Для вставки или замены пластин окуляров необходимо надевать чистые хлопчатобумажные перчатки.

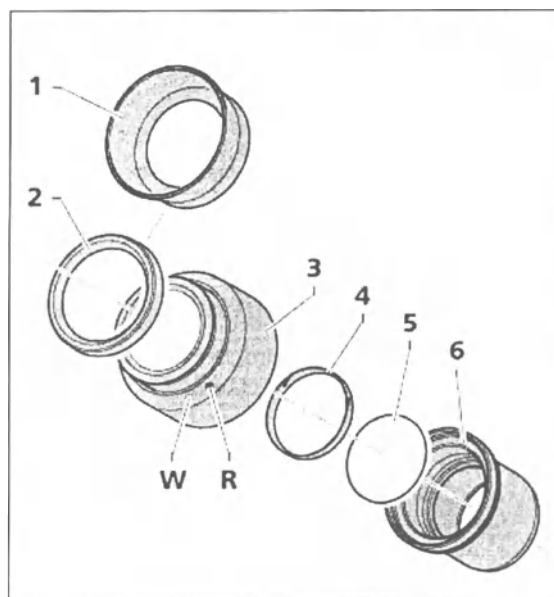


Рис. 16. Установка дополнительной вставки в окуляр

Небольшое смещение изображения из-за толщины дополнительного стекла, которое учитывается на диоптрийной шкале по исходному положению, отображается не белой (рис. 16/W), а красной точкой (рис. 16/R).

Окуляры с заранее вставленными дополнительными вставками можно заказать непосредственно у компании ZEISS.

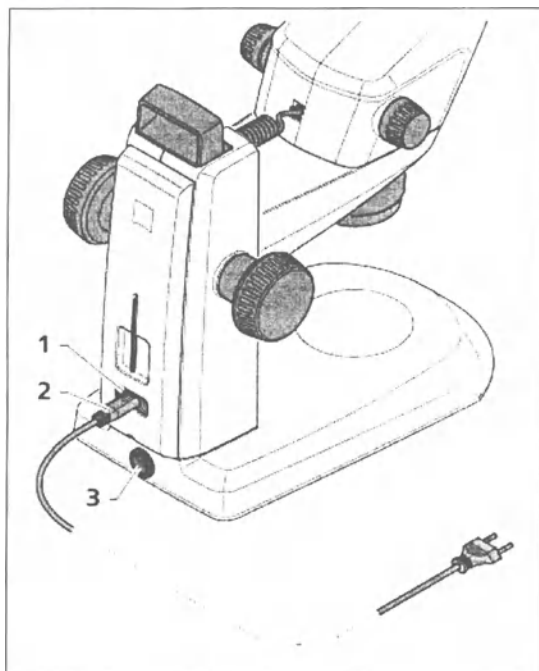


Рис. 17. Подключение микроскопа



Безопасное отключение от сети питания обеспечивается только за счет отключения сетевой вилки. Выключатель на микроскопе осуществляет переключение только в режим ожидания.



Запрещается осуществлять замену съемных кабелей питания кабелями с несоответствующими характеристиками. Необходимо использовать только указанные сети питания.

3.4 Подключение микроскопа к сети питания

- Вставьте кабель питания (рис. 17/2) в гнездо питания (рис. 17/1) на штативе.
- Подключите кабель питания (рис. 17/2) к розетке сети питания.

3.5 Включение и выключение микроскопа

- Для включения и выключения стереомикроскопа используйте переключатель питания (рис. 17/3).

4 ЭКСПЛУАТАЦИЯ

4.1 Регулировка стереомикроскопа

Итак, микроскоп уже подключен и включен.

1. Расположите образец (рис. 18/7) по центру на стеклянной или пластиковой вставке (рис. 18/6) и осветите его (рис. 18/5).



Функциональные возможности регулятора для осветителя отраженного света описаны в разделе 4.2 на стр. 28.

2. Установите компенсацию диоптрий на регулируемых окулярах (рис. 18/1) на «0».



«0» на белой точке (без дополнительной вставки в окуляр). «0» на красной точке (со вставкой), см. рис. 19.



Проверьте, чтобы окуляры были вставлены в тубус до упора.

3. Установите межзрачковое расстояние за счет перемещения окуляров в стороны (рис. 18/2) до тех пор, пока через оба окуляра не будет видно только **одно** полное световое пятно (поле образца).



Для этого между глазами и окулярами должно удерживаться расстояние около 2 см.

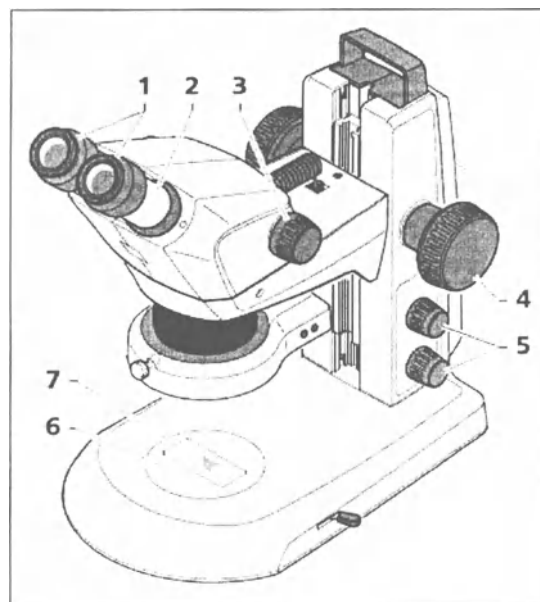


Рис. 18. Регулировка стереомикроскопа

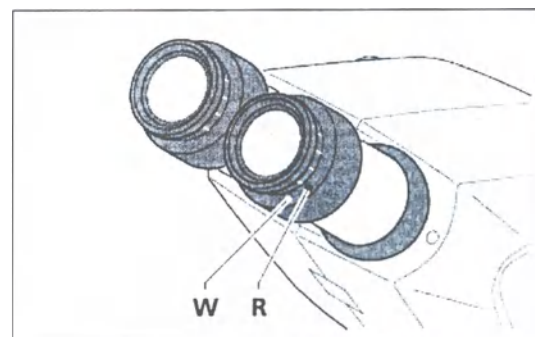


Рис. 19. Регулировка окуляров

4. Сначала установите масштабирование (рис. 18/3) на минимальное увеличение.
5. Сфокусируйтесь на какой-либо конкретной точке в центре образца (рис. 18/4).
6. Установите максимальное значение масштабирования (рис. 18/3). Возможно, увеличение сделает данную точку расплывчатой, и она уже не будет располагаться в центре изображения.
7. Увеличьте резкость изображения образца за счет фокусировки, затем переместите образец, найдите эту же точку и выполните точную фокусировку (рис. 18/4).
8. После этого установите масштабирование на минимальное значение и устраните расплывчатость изображения для каждого глаза отдельно за счет компенсации диоптрий **на регулируемых окулярах** (не при помощи регулятора фокусировки, рис. 18/4) (компенсация аметропии).
9. После регулировки стереомикроскопа фокус остается без изменения на протяжении всего диапазона масштабирования.



При смене наблюдателя необходимо повторить указанные выше пункты 3–8.

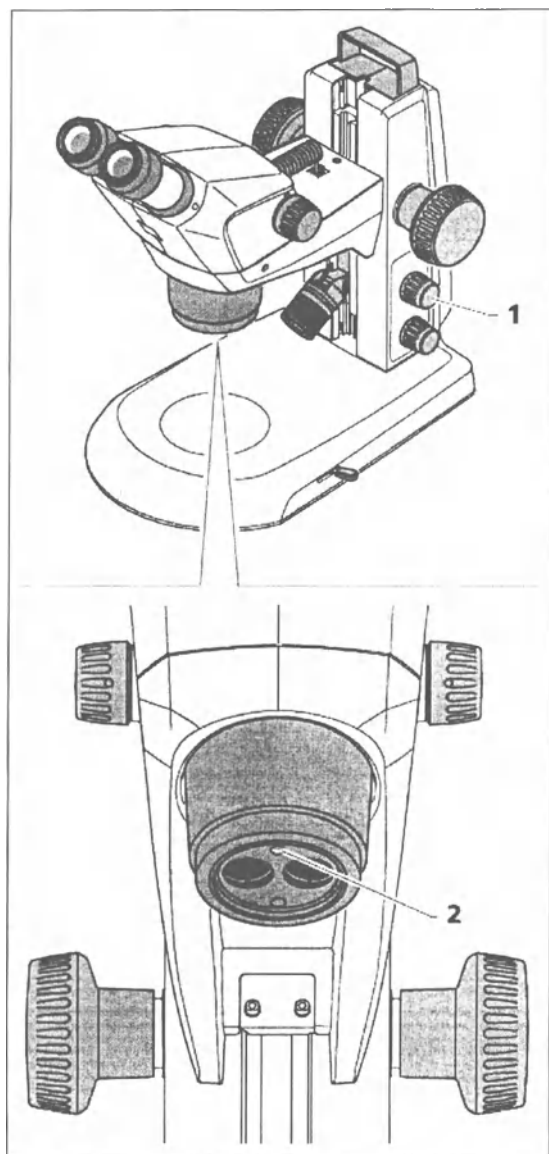


Рис. 20. Настройка вертикального осветителя

4.2 Настройка освещения отраженным светом

4.2.1 Встроенный вертикальный осветитель

Корпус каждого микроскопа Stemi 305 оснащен своим вертикальным осветителем.

При отсутствии второго осветителя отраженного света эксплуатация вертикального осветителя осуществляется следующим образом:

- Однократно нажмите регулятор (рис. 20/1) для включения или выключения вертикального осветителя (рис. 20/2).
- Функция вращения регулятора предназначена для регулировки интенсивности освещения.

При отсутствии второго осветителя отраженного света эксплуатация осветителя отраженного света осуществляется следующим образом:

- Последовательно нажимайте регулятор для установки четырех режимов освещения:
 1. Нажатие: включение вертикального освещения.
 2. Нажатие: включение второго осветителя отраженного света (выключение вертикального освещения).
 3. Нажатие: включение обоих осветителей отраженного света.
 4. Нажатие: выключение обоих осветителей отраженного света.
- При помощи вращения регулятора осуществляется регулировка интенсивности освещения включенного осветителя отраженного света.



При смешении обоих осветителей отраженного света принимается интенсивность дополнительного осветителя отраженного света (точечный, точечный двойной, кольцевой осветитель и т. д.). В данном случае вращением регулятора осуществляется регулировка только вертикального освещения. Теперь необходимая интенсивность вертикального освещения смешивается с осветителем отраженного света.

4.2.2 Точечный осветитель

- Установите точечный осветитель на нужную высоту на направляющей (рис. 21/2).

 В нижних положениях возникает эффект наклонного освещения, что создает отбрасывание тени для улучшения структуры поверхности.

- Установите угол (рис. 21/1) при помощи оси вращения точечного осветителя для обеспечения оптимального освещения объекта.
- Установите размер и яркость точки за счет осевого сдвига блока фокусировки (рис. 21/3) (масштабирование освещения).

 Для включения/выключения и регулировки интенсивности освещения см. раздел 4.2.1, стр. 28.

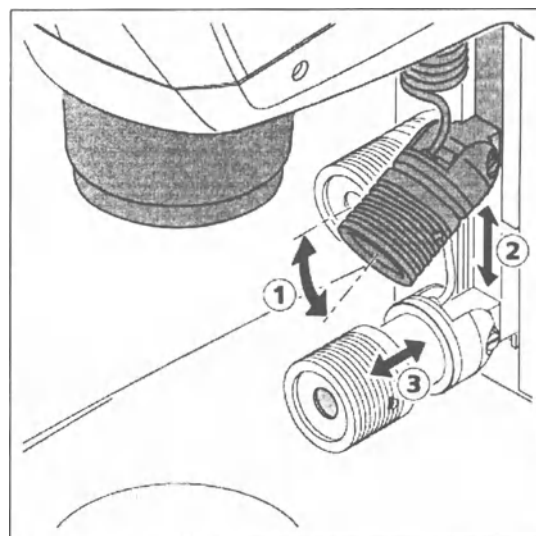


Рис. 21. Настройка точечного осветителя

4.2.3 Точечный двойной осветитель

- Переместите корпус микроскопа в крайнее верхнее положение при помощи регулятора фокусировки (рис. 22/1). Установите точечный двойной осветитель (рис. 22/2) на нужную высоту на направляющей.
- Используйте два S-образных световода (рис. 22/3) для регулировки точек таким образом, чтобы обеспечить оптимальное освещение образца.

 Для включения/выключения и регулировки интенсивности освещения см. раздел 4.2.1, стр. 28.

 И в данном случае в нижних положениях может возникнуть эффект наклонного освещения при горизонтальной установке S-образных световодов.

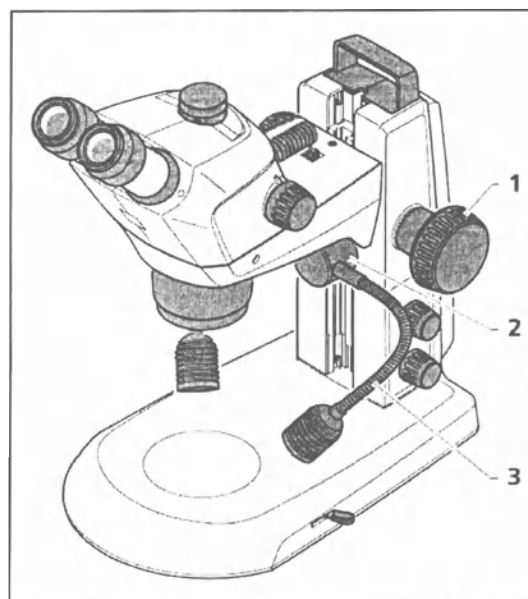


Рис. 22. Точечный двойной осветитель

 Точечный и точечный двойной осветители имеют резьбу M24 для установки поляризационных фильтров. На резьбу M52 x 1,0 на корпусе микроскопа навинчен соответствующий анализатор (рис. 7/4).

Перезэкспонирование фотокамеры можно уменьшить за счет вращения точечных поляризаторов.

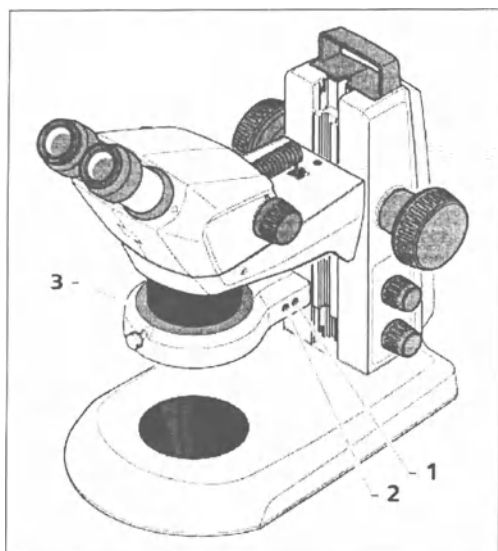


Рис. 23. Кольцевой осветитель

4.2.4 Кольцевой осветитель

- Последовательным нажатием кнопки (рис. 23/2) пользователь может выбрать один из четырех режимов освещения кольцевого осветителя (рис. 23/3):
 1. Нажатие: полный круг.
 2. Нажатие: полукруг.
 3. Нажатие: сектор.
 4. Нажатие: два сектора (противоположные друг другу).
- При включении режима освещения полукругом или сектором освещение образца начинается со стороны стойки штатива.
- Однократным нажатием кнопки (рис. 23/1) регулируемый сегмент поворачивается по часовой стрелке на четверть оборота при каждом нажатии.
- Нажатием и удержанием кнопки (рис. 23/1) в течение более 2 секунд регулируемый сегмент устанавливается в режим непрерывного вращения (шаг вращения 1/8 круга, 1 секунда на оборот при каждом нажатии).
- Повторным нажатием кнопки (рис. 23/1) вращение останавливается, и образец снова освещается сзади.



Для включения/выключения и регулировки интенсивности освещения см. раздел 4.2.1, стр. 28.

4.2.5 Светодиодный контроллер К

Контроллер К (рис. 24/4) используется для активации вертикального освещения корпуса Stemi 305 или кольцевого осветителя в случае применения с телескопическими штативами U или дополнительными штативами.

- Установка штативов U, включая крепление корпуса Stemi 305 к опоре Stemi, описана в инструкциях по эксплуатации телескопических штативов.
- Привинтите систему фронтальных линз 0,5x/185 мм (рис. 24/9) к корпусу микроскопа.
- При использовании кольцевого осветителя присоедините его к системе фронтальных линз (рис. 24/9) при помощи переходника, поставляемого вместе с прибором (внутренний диаметр 58 мм, наружный диаметр 66 мм).
- Прикрепите клейкую сторону магнитной пластины (рис. 24/7) к подвижному штативу.
- Вставьте соединительный кабель, поставляемый вместе с прибором (длина 1 м) (рис. 24/2), в гнездо (рис. 24/8) на корпусе микроскопа или кольцевого осветителя и в гнездо (рис. 24/3) на задней стороне контроллера К (рис. 24/4).
- Расположите контроллер К (рис. 24/4) рядом с магнитной пластиной (рис. 24/7).
- Подключите контроллер К к блоку питания (рис. 24/1).
- Выполните выравнивание подвижного штатива с (рис. 24/6) для обеспечения эргономичного рабочего положения.
- Вращайте регулятор (рис. 24/5) на контроллере К для включения вертикального (или кольцевого) осветителя и регулировки интенсивности освещения.
- Расположите образец в освещенном поле.
- Установите начальные настройки стереомикроскопа (см. раздел 4.1 на стр. 27).

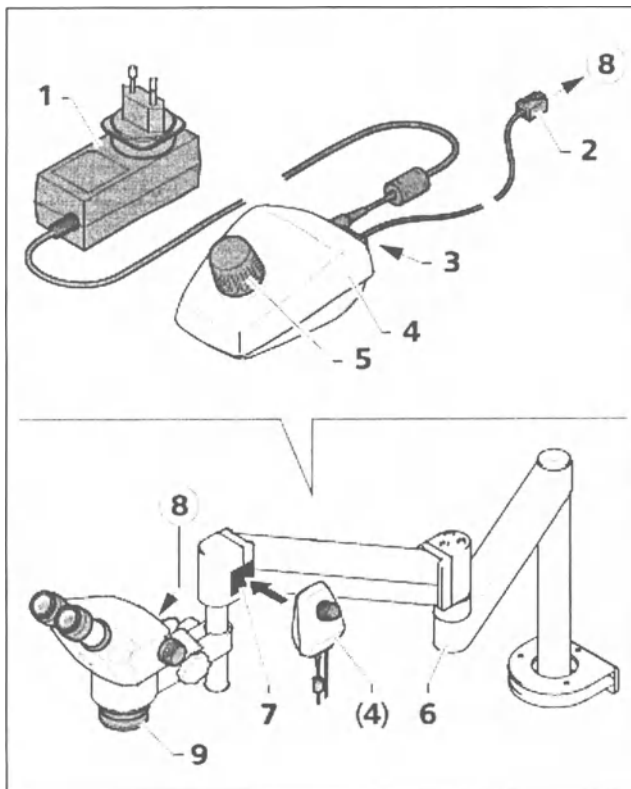


Рис. 24. Светодиодный контроллер К

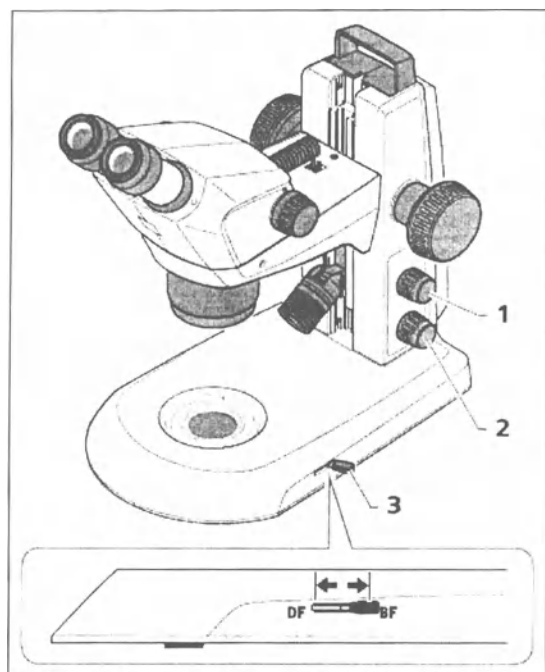


Рис. 25. Модуль проходящего света на штативе K EDU

4.3 Осветители проходящего света

4.3.1 Модуль проходящего света на штативе K EDU

- Включите освещение проходящим светом нижним регулятором (рис. 25/2).
- При включенном проходящем свете вращайте данный регулятор для регулировки интенсивности освещения.
- При помощи рычага (рис. 25/3) осуществляется переключение освещения по методам светлого и темного поля.
 - Переднее положение: темное поле (DF).
 - Заднее положение: светлое поле (BF).



Нажмите верхний регулятор (рис. 25/1) для совмещения с отраженным светом (см. раздел 4.2 на стр. 28).

4.3.2 Модуль проходящего света на штативе K LAB

- Включите освещение проходящим светом нижним регулятором (рис. 26/1).
- При включенном проходящем свете вращайте данный регулятор для регулировки интенсивности освещения.
- Регулировка светлого поля (BF) осуществляется путем установки скользящего регулятора (рис. 26/2) в заднее положение (BF).
- Используйте скользящий регулятор (рис. 26/2) для установки положения зеркала четкого или рассеянного освещения или регулировки угла наклона.



Зеркало четкого освещения используется для высококонтрастного светлого поля, а зеркало рассеянного освещения - для однородного светлого поля.

- Переключение на освещение методом темного поля (DF) осуществляется путем установки скользящего регулятора (рис. 26/2) в переднее положение.
- Вращайте зеркало до тех пор, пока структуры образца не будут ярко освещены на темном фоне.



При установке скользящего регулятора (рис. 26/2) в центральное положение и при наклоне зеркала возникает эффект наклонного освещения (RC), который хорошо подходит для отображения бесцветных образцов.

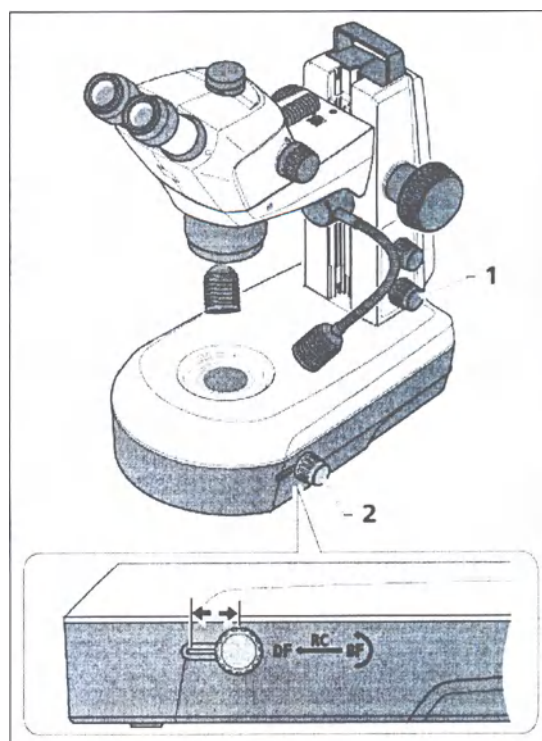


Рис. 26. Блок проходящего света на штативе K LAB

5 УХОД ЗА ПРИБОРОМ, ТЕХНИЧЕСКОЕ И СЕРВИСНОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

5.1 Уход за прибором



Уход за прибором ограничивается выполнением следующих действий:



Микроскоп не оснащен специальными устройствами для защиты от коррозии, потенциально инфекционных, токсичных, радиоактивных и других веществ, которые могут быть опасными для здоровья человека. При обращении с данными веществами необходимо соблюдать все законодательные требования, в частности, соответствующие национальные правила техники безопасности по предупреждению несчастных случаев.

- Удаление загрязнения осуществляется в соответствии с правилами техники безопасности по предупреждению несчастных случаев.
- После использования отключите прибор от сети питания. Защита прибора от пыли и влаги обеспечивается при помощи соответствующего защитного чехла.
- Не подвергайте прибор воздействию недопустимых климатических условий (высокая влажность и температура).



Перед очисткой отключите прибор от сети питания. Убедитесь в том, что чистящая жидкость не попала внутри прибора.

Вязкие загрязнения на стеклянных поверхностях (например, отпечатки пальцев и следы смазки) лучше удалять при помощи ватной палочки с использованием небольшого количества дистиллированной воды или растворителя мягкого действия:

- Дистиллированная вода: очищайте стеклянные поверхности круговыми движениями при помощи слегка смоченной ватной палочки по направлению от центра к краю.
- Чистящий раствор для оптики в составе 15 % изопропанола и 85 % медицинского спирта: очищайте стеклянные поверхности круговыми движениями при помощи слегка смоченной ватной палочки по направлению от центра к краю.
- Удаление пыли с оптических поверхностей осуществляется при помощи щетки с натуральной щетиной или сдуванием при помощи воздуходувки.
- Очистка пластиковых частей осуществляется при помощи коммерчески доступных чистящих средств (без растворителей!). Вязкие загрязнения также могут быть осторожно удалены при помощи бензина или уайт-спирита.
- Очистка всех надписей на компонентах и настольном блоке питания осуществляется только сухой хлопчатобумажной тканью.

5.2 Техническое обслуживание

5.2.1 Замена блока питания

Необходимо использовать только блок питания, определенный производителем.



Перед открытием прибора убедитесь, что сетевая вилка отсоединена от розетки.

- Отключите сетевую вилку кабеля питания от розетки.
- Отсоедините кабель питания в задней части прибора.
- Используйте торцовый ключ для снятия винта (рис. 27/1) в нижней части крышки кожуха.
- Слегка отодвиньте крышку кожуха (рис. 27/2) снизу, а затем протолкните ее вверх.
- Отключите вилку (рис. 27/3), а затем и неисправный настольный блок питания (рис. 27/4).
- Вставьте новый настольный блок питания и подключите вилку.
- Установите верхнюю часть крышки кожуха на место, а затем протолкните ее вниз.
- Закрепите крышку кожуха при помощи винта.
- Вставьте кабель питания в задней части прибора.
- Подключите сетевую вилку к розетке.

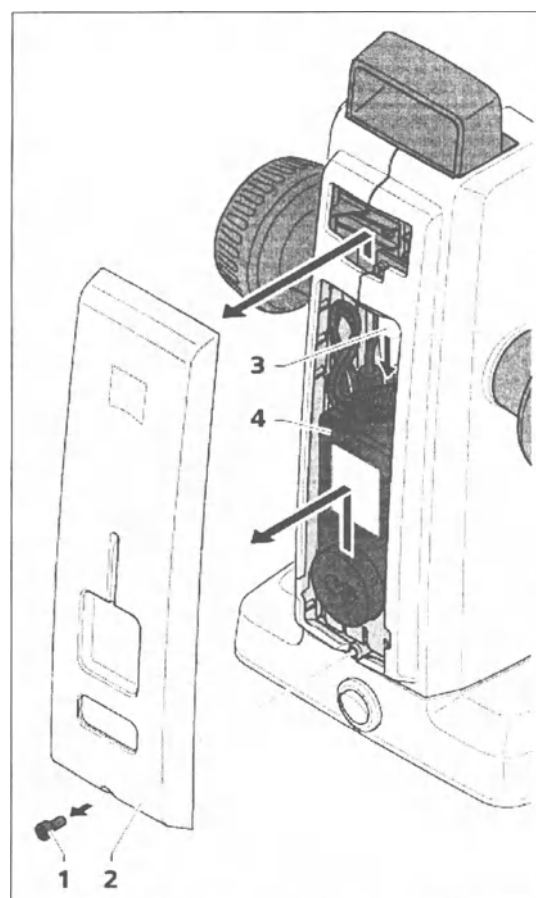


Рис. 27. Замена блока питания

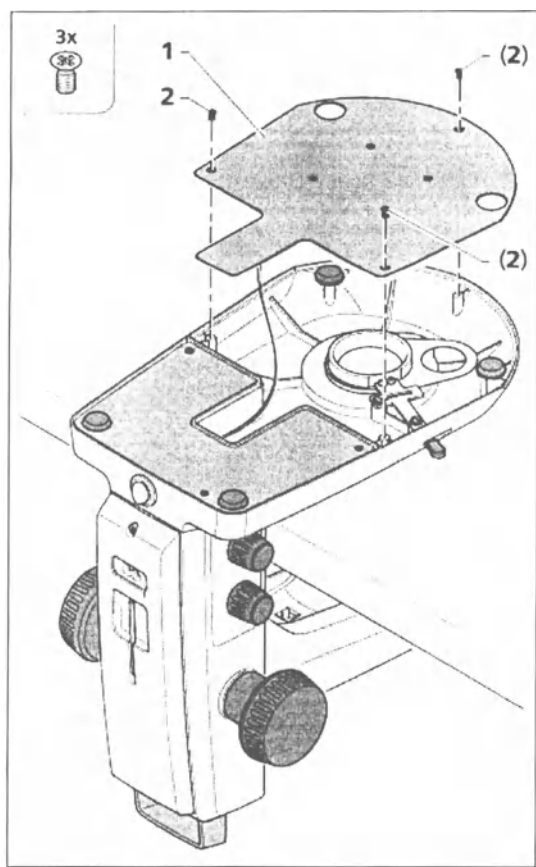


Рис. 28. Снятие крышки штатива K EDU

5.2.2 Демонтаж крышки штатива K EDU

Демонтаж крышки (рис. 28/1) осуществляется для очистки или удаления случайных посторонних веществ.

- Для этого снимите три винта с крестообразным шлицем (рис. 28/2), осторожно поднимите крышку штатива (рис. 28/1) и отложите ее в сторону.
- Убедитесь в том, что кабель не отключен от крышки штатива (рис. 28/1).



Для очистки светодиода используйте мягкую неволокнистую ткань, ватную палочку или щетку с натуральной щетиной (можно слегка смочить дистиллированной водой).

5.2.3 Демонтаж крышки штатива K LAB

Снятие крышки с основания штатива проходящего света (рис. 29/1) (рис. 29/3) осуществляется для очистки или удаления случайных посторонних веществ.

- Для этого снимите три винта (рис. 29/2) с крышки штатива (рис. 29/1) при помощи торцевого ключа и отложите их в сторону.
- Осторожно поднимите крышку штатива (рис. 29/3) над основанием проходящего света (рис. 29/1) и отложите штатив в сторону.

 Убедитесь в том, что кабель (рис. 29/4) не отключен от основания проходящего света (рис. 29/1).

 Для очистки светодиода, оптических элементов и зеркала используйте мягкую неволокнистую ткань, ватную палочку или щетку с натуральной щетиной (можно слегка смочить дистиллированной водой).

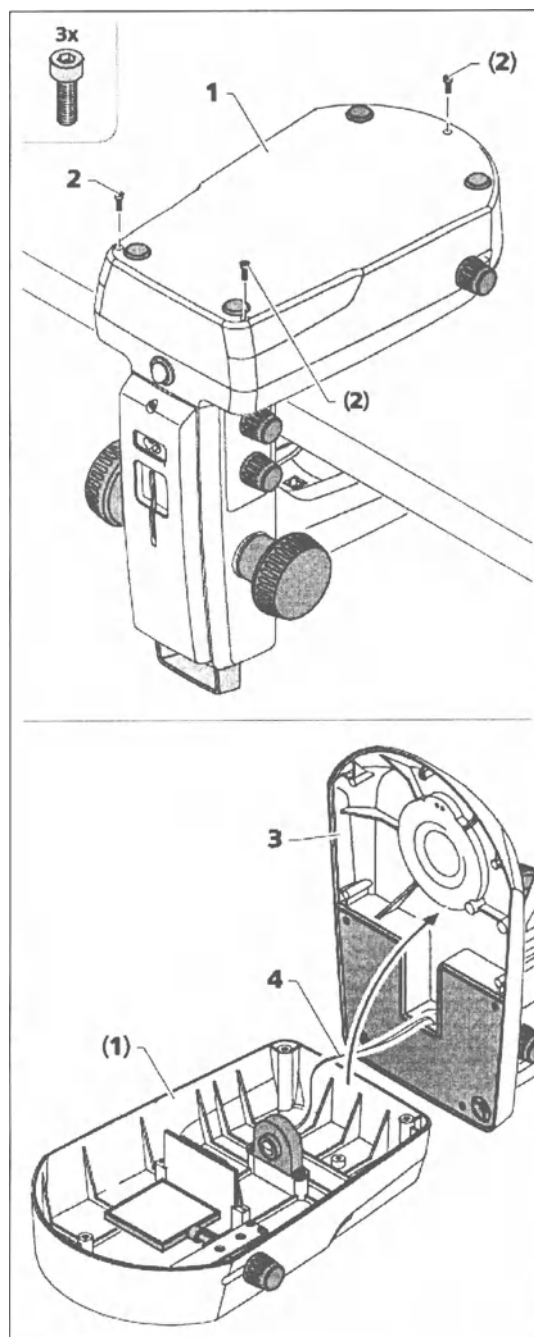


Рис. 29. Демонтаж крышки штатива K LAB

5.2.4 Дополнительные компоненты

Непосредственно у компании ZEISS можно заказать следующие дополнительные компоненты:

См. Приложение 2.

5.3 Сервисное обслуживание

Любое вмешательство в какой-либо механический, оптический или электронный внутренний компонент стереомикроскопа осуществляется только представителями сервисной службы компании Carl Zeiss или специально **уполномоченными** квалифицированными специалистами.

Для обеспечения оптимальной настройки стереомикроскопа и надежной эксплуатации в течение длительного срока мы рекомендуем вам заключить договор о сервисном/техническом обслуживании с компанией ZEISS.

Для повторного заказа или в случае необходимости сервисного обслуживания обратитесь в ближайшее региональное представительство компании ZEISS.

Срок годности изделия 8 лет

Адрес обращения на территории РФ

Адрес для направления вопросов, связанных с качеством Микроскоп стереоскопический для лабораторных исследований серии Stemi с принадлежностями, производства «Карл Цейсс Медитек АГ» (Carl Zeiss Meditec AG), Германия:

Компания: ООО ОПТЭК,

Адрес: 105005, Денисовский пер., 26, г. Москва, Российская Федерация.

Тел: 8 (495) 933-51-51,

Факс: 8 (495) 933-51-55

e-mail: office@optecgroup.com

5.4 Утилизация прибора

Данный прибор разработан, испытан и произведен в соответствии с действующими законами по охране окружающей среды Европейского союза.

Данный прибор и его принадлежности соответствуют директивам ЕС 2011/65/ЕС (ограничения на использование опасных материалов в производстве электрического и электронного оборудования), 2012/19/ЕС (Директива ЕС об утилизации электрического и электронного оборудования), а также немецкому закону об электрическом и электронном оборудовании (ElektroG).

Прибор включает в себя электронные компоненты, утилизация которых осуществляется согласно требованиям Директивы 2002/19/ЕС (WEEE). Утилизация вместе с бытовыми отходами не допускается. Также необходимо строго соблюдать соответствующие требования национального законодательства.

Для получения более подробной информации об утилизации и повторном использовании обратитесь в ваше представительство компании ZEISS или сервисную организацию.

Утилизация в соответствии с санитарными правилами и нормами Российской Федерации СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Класс опасности медицинских отходов – А.

6 ПРИЛОЖЕНИЕ

6.1 Перечень сокращений

BF	светлое поле.
CL	холодный свет.
DIN	немецкий промышленный стандарт.
DF	темное поле.
EN	европейский стандарт.
IEC	Международная электротехническая комиссия.
IP	внутренняя защита (исполнение).
IvD	диагностика в лабораторных условиях.
LED	светоизлучающий диод.
RC	рельефный контраст (наклонное освещение).
SW	черно-белый.
UV	ультрафиолетовое излучение.

6.2 Поиск и устранение неисправностей

Описание неисправности	Возможная причина	Способ устранения
Не включается освещение стереомикроскопа.	Перебой в электропитании. Переключатель не включен.	Проверьте подключение к источнику питания. Включите переключатель на задней стороне стереомикроскопа.
	Неисправность блока питания.	Замените блок питания (см. раздел 5.2 на стр. 35).
Не горит вертикальное освещение отраженным светом.	Не подключен кабель питания RJ 12.	Правильно подключите вилку RJ (см. раздел 3.2 или 3.3 на стр. 21 и 23).
Не горят дополнительные осветители отраженного света.	Не подключен кабель питания RJ 12.	Правильно подключите вилку RJ (см. раздел 3.2 или 3.3 на стр. 21 и 23).
	Не включен или приглушен отраженный свет	Нажмите и поверните регулятор (рис. 20/1) несколько раз для включения отраженного света и увеличения его интенсивности (см. раздел 4.2 на стр. 28).
Не горит осветитель проходящего света.	Не включен или приглушен проходящий свет.	Нажмите и поверните регулятор/кнопку (рис. 25/2) для включения освещения и увеличения его интенсивности (см. раздел 4.3 на стр. 32).
	Не подключен проходящий свет.	Откройте штатив K EDU или K LAB и выполните действия, указанные в разделе 5.2.3 на стр. 37. Подключите штекерные соединители для светодиодного освещения.
Осветитель проходящего света загрязнен или рычаг управления не работает.	Наличие жидкости или посторонних веществ в блоке проходящего света.	Откройте штатив K EDU / K LAB и выполните его чистку, удалите посторонние вещества согласно разделу 5.2.3 на стр. 37.
Опора микроскопа перемещается вниз под собственной тяжестью.	Регулировка привода фокусировки слишком слабая.	Установите нужную плавность перемещения привода фокусировки (см. раздел 3.2 на стр. 21).

В случае возникновения каких-либо других неисправностей и необходимости их устранения обращайтесь в ваше региональное представительство компании ZEISS.

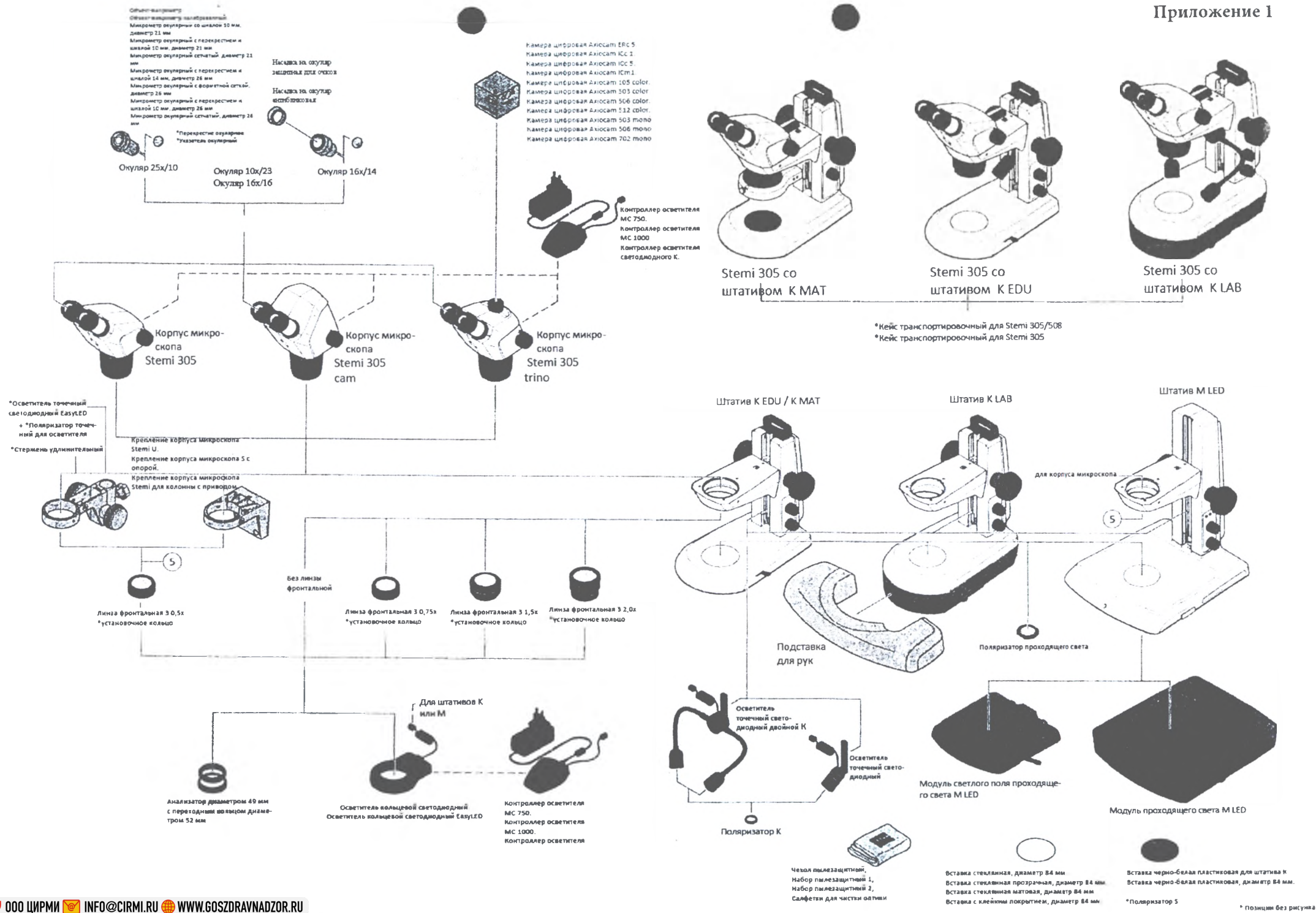


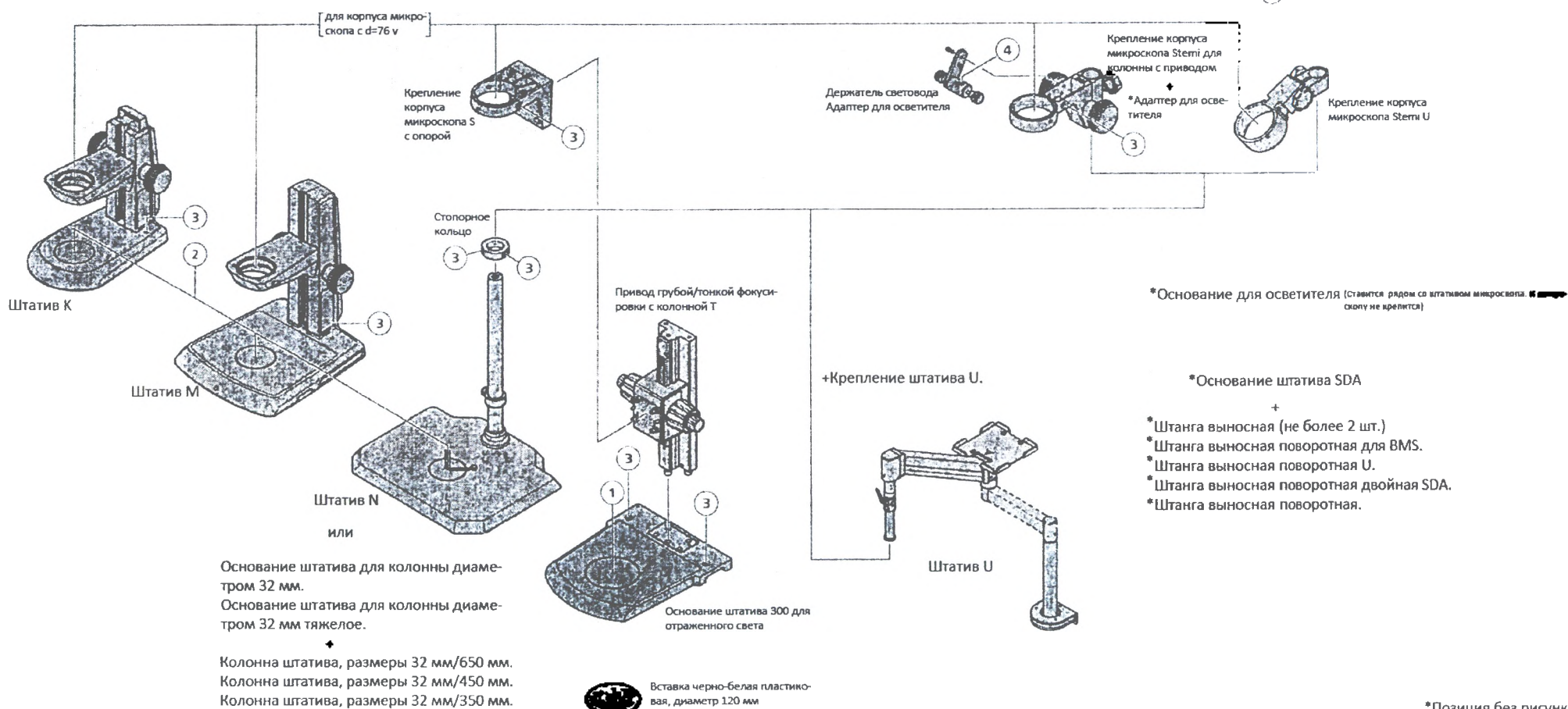
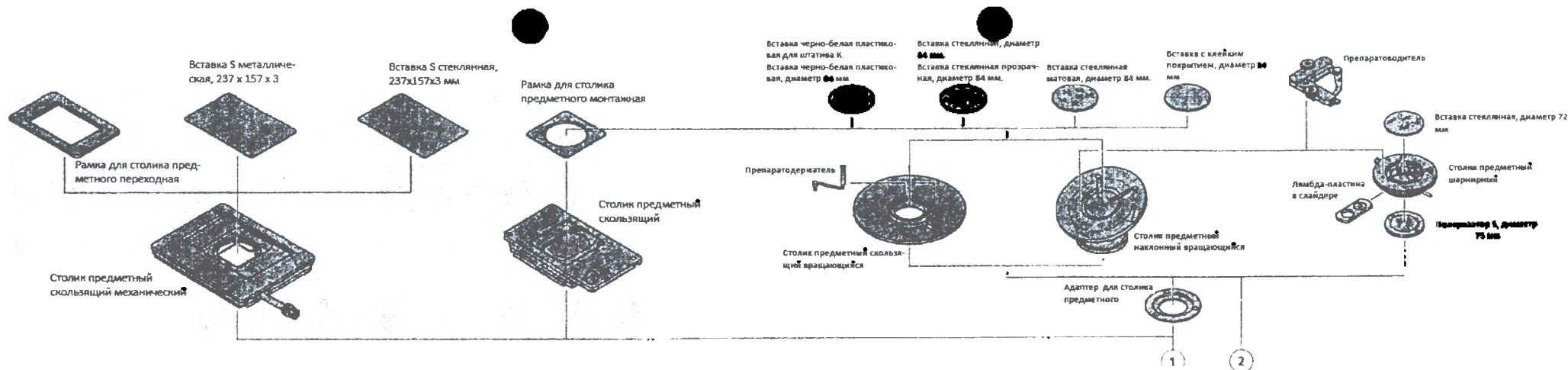
ООО «ОПТЭК»

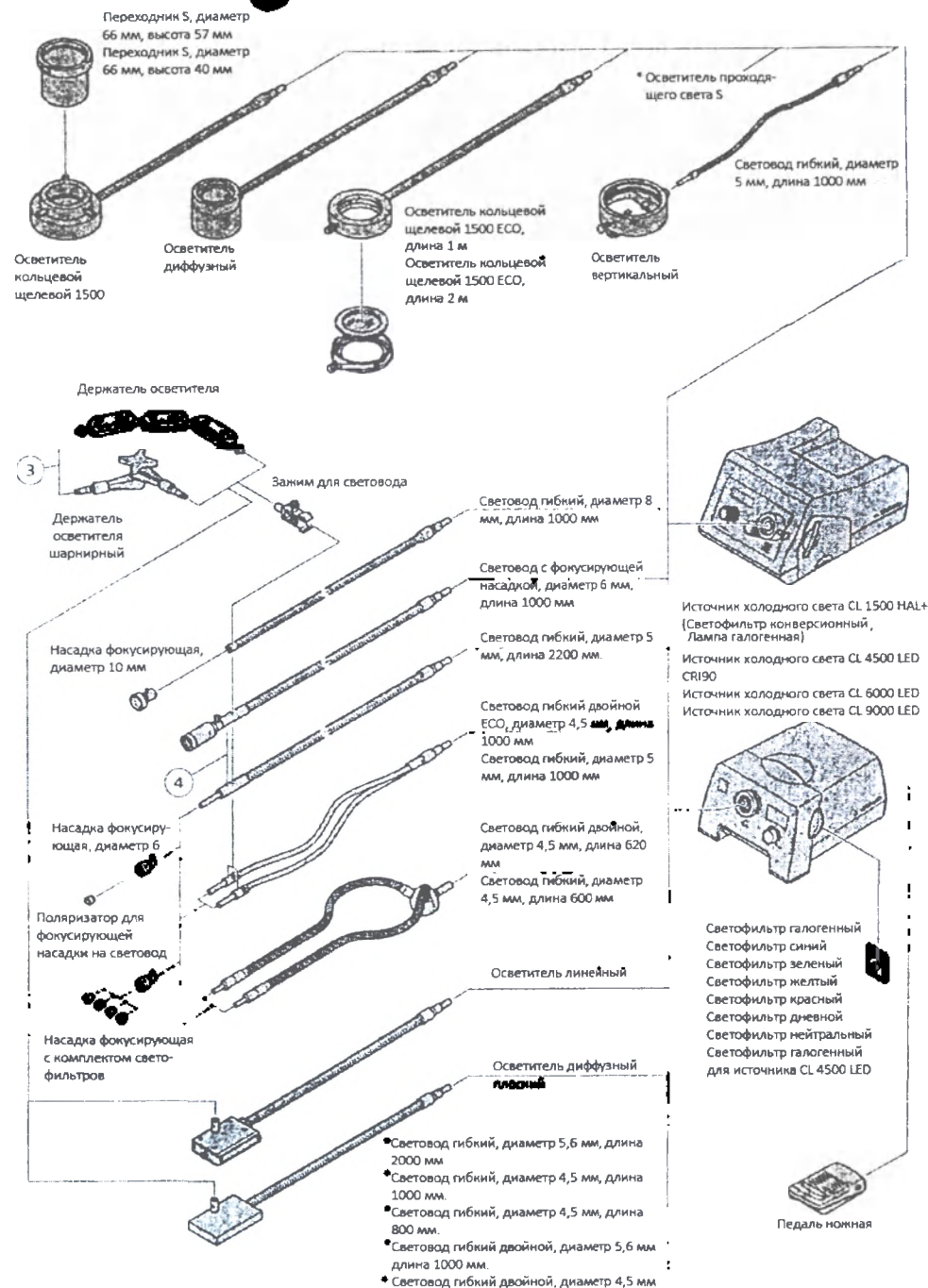
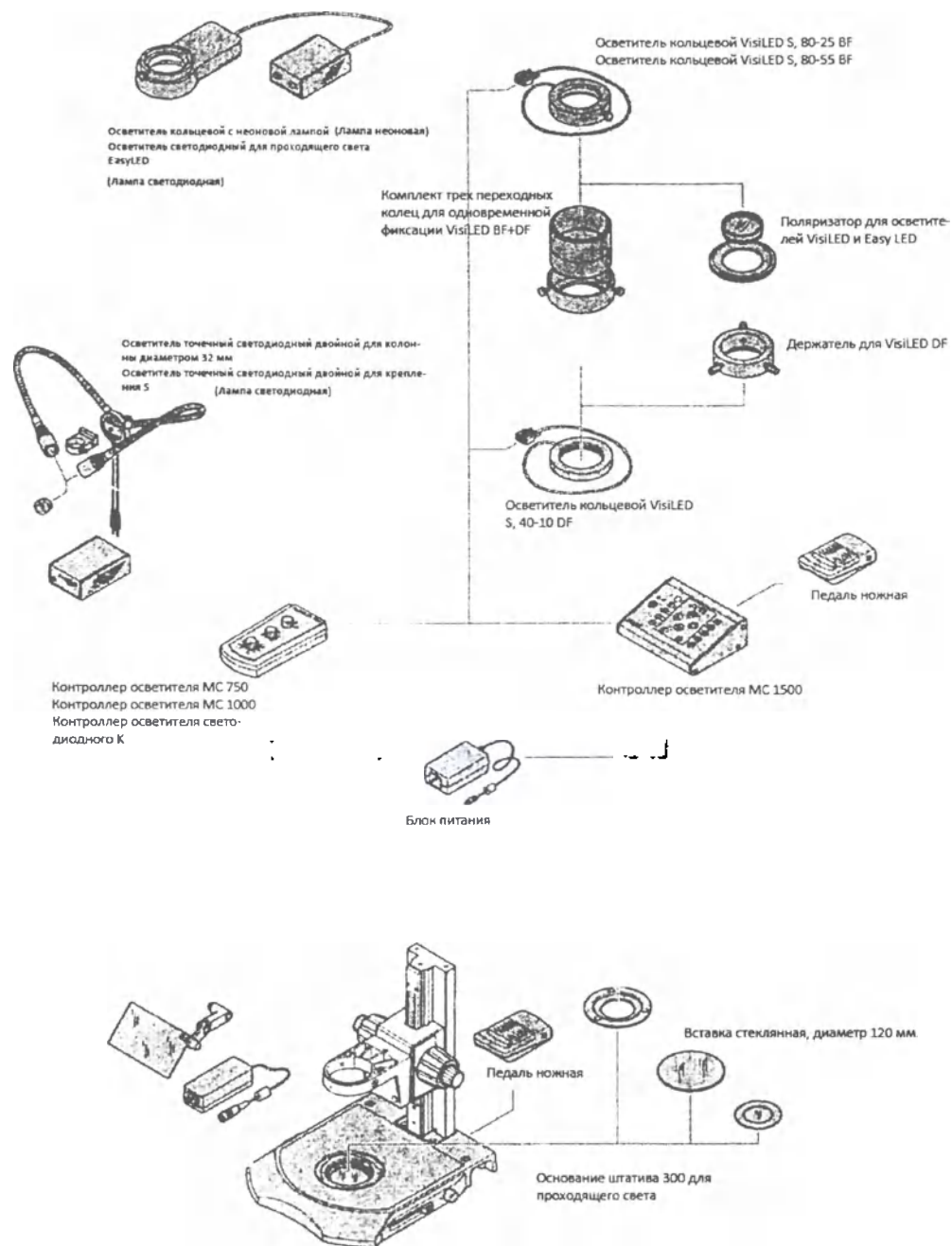
Телефон: 8-800-2000-567
(звонок по России
бесплатный)

Факс: (495) 933-51-55

Электронная почта:
servicedesk@optecgroup.com







*Позиции без рисунка

Микроскоп стереоскопический для лабораторных исследований Stemi 305 с принадлежностями

I. Состав:

1. Корпус микроскопа, варианты исполнения: Stemi 305 / Stemi 305 trino / Stemi 305 cam.
2. Штатив, варианты исполнения: K EDU / K MAT / K LAB / K / M / M LED / N / U.
3. Кабель соединительный для штатива K EDU / K MAT / K LAB / K / M / M LED (не более 5 шт., по требованию)
4. Окуляр 10х/23 (2 шт.).
5. Крышка окуляра (2 шт.).
6. Кабель электропитания (по требованию).
7. Блок питания (по требованию).
8. Съёмный носитель со специальным программным обеспечением (не более 4 шт. - по требованию).
9. Линза фронтальная 3 0,5х / 3 0,75х / 3 1,5х / 3 2,0х, с установочным кольцом (не более 4 шт. – по требованию).
10. Крышка для корпуса микроскопа.
11. Крышка для фотопорта.
12. Насадка на окуляр защитная для очков (не более 4 шт.)

II. Принадлежности:

1. Крепление корпуса микроскопа Stemi U.
2. Крепление корпуса микроскопа S с опорой.
3. Крепление корпуса микроскопа Stemi для колонны с приводом.
4. Крепление штатива U.
5. Колонна штатива, размеры 32 мм/650 мм.
6. Колонна штатива, размеры 32 мм/450 мм.
7. Колонна штатива, размеры 32 мм/350 мм.
8. Привод грубой/тонкой фокусировки с колонной T.
9. Основание штатива SDA.
10. Основание штатива 300 для отраженного света.
11. Основание штатива 300 для проходящего света.
12. Основание штатива для колонны диаметром 32 мм.
13. Основание штатива для колонны диаметром 32 мм тяжелое.
14. Модуль проходящего света M LED.
15. Модуль светлого поля проходящего света M LED.
16. Штанга выносная (не более 2 шт.)
17. Штанга выносная поворотная для BMS.
18. Штанга выносная поворотная U.
19. Штанга выносная поворотная двойная SDA.
20. Штанга выносная поворотная.
21. Осветитель вертикальный (не более 2 шт.).
22. Осветитель диффузный.
23. Осветитель диффузный плоский.
24. Осветитель кольцевой с неоновой лампой, в составе:
 - корпус с двумя установочными винтами
 - неоновая кольцевая трубка за проволочной сеткой
 - блок управления
 - блок питания с кабелем сетевым и комплектом из четырех адаптеров.

25. Осветитель кольцевой щелевой 1500.
26. Осветитель кольцевой VisiLED S, 80-25 BF.
27. Осветитель кольцевой VisiLED S, 80-55 BF.
28. Осветитель кольцевой VisiLED S, 40-10 DF.
29. Осветитель кольцевой светодиодный.
30. Осветитель кольцевой щелевой 1500 ECO, длина 1 м.
31. Осветитель кольцевой щелевой 1500 ECO, длина 2 м.
32. Осветитель кольцевой светодиодный EasyLED.
33. Осветитель светодиодный для проходящего света EasyLED.
34. Осветитель линейный (не более 2 шт.).
35. Осветитель точечный светодиодный (не более 2 шт.).
36. Осветитель точечный светодиодный EasyLED.
37. Осветитель точечный светодиодный двойной для колонны диаметром 32 мм, в составе:
 - осветитель точечный светодиодный двойной
 - крепление для колонны диаметром 32 мм с зажимным кольцом
 - блок управления
 - блок питания с кабелем сетевым и комплектом из четырех адаптеров.
38. Осветитель точечный светодиодный двойной для крепления S в составе:
 - осветитель точечный светодиодный двойной
 - держатель ветвей
 - блок управления
 - блок питания с кабелем сетевым и комплектом из четырех адаптеров.
39. Осветитель точечный светодиодный двойной К.
40. Осветитель проходящего света S.
41. Стержень удлинительный (не более 6 шт.).
42. Держатель осветителя (не более 2 шт.).
43. Держатель осветителя шарнирный (не более 2 шт.).
44. Зажим для световода (не более 3 шт.).
45. Стопорное кольцо (не более 2 шт.).
46. Основание для осветителя (не более 2 шт.).
47. Адаптер для осветителя (не более 2 шт.).
48. Комплект из трех переходных колец для одновременной фиксации VisiLED BF+DF
49. Держатель для VisiLED DF.
50. Переходник S, диаметр 66 мм, высота 57 мм.
51. Переходник S, диаметр 66 мм, высота 40 мм.
52. Контроллер осветителя MC 750.
53. Контроллер осветителя MC 1000.
54. Контроллер осветителя светодиодного К.
55. Контроллер осветителя MC 1500.
56. Источник холодного света CL 9000 LED (не более 2 шт.).
57. Источник холодного света CL 6000 LED (не более 2 шт.).
58. Источник холодного света CL 4500 LED CRI90 (не более 2 шт.).
59. Источник холодного света CL 1500 HAL (не более 2 шт.).
60. Окуляр 16х/14 (не более 2 шт.).
61. Окуляр 16х/16 (не более 2 шт.).
62. Окуляр 25х/10 (не более 2 шт.).
63. Объект-микрометр.
64. Объект-микрометр калиброванный.
65. Микрометр окулярный со шкалой 10 мм, диаметр 21 мм (не более 2 шт.).

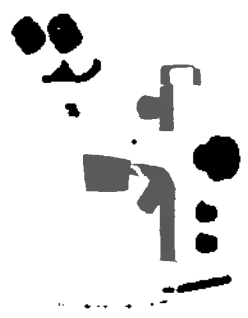
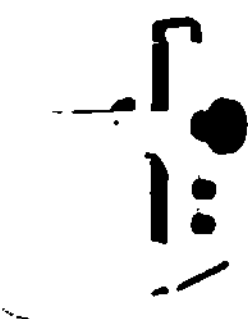
66. Микрометр окулярный с перекрестием и шкалой 10 мм, диаметр 21 мм (не более 2 шт.).
67. Микрометр окулярный сетчатый, диаметр 21 мм (не более 2 шт.).
68. Микрометр окулярный с перекрестием и шкалой 14 мм, диаметр 26 мм (не более 2 шт.).
69. Микрометр окулярный с форматной сеткой, диаметр 26 мм (не более 2 шт.).
70. Микрометр окулярный с перекрестием и шкалой 10 мм, диаметр 26 мм (не более 2 шт.).
71. Микрометр окулярный сетчатый, диаметр 26 мм (не более 2 шт.).
72. Вставка стеклянная, диаметр 84 мм.
73. Вставка стеклянная, диаметр 72 мм.
74. Вставка стеклянная, диаметр 120 мм.
75. Вставка S стеклянная, 237x157x3 мм.
76. Вставка стеклянная прозрачная, диаметр 84 мм.
77. Вставка стеклянная матовая, диаметр 84 мм.
78. Вставка черно-белая пластиковая для штатива К.
79. Вставка черно-белая пластиковая, диаметр 84 мм.
80. Вставка черно-белая пластиковая, диаметр 120 мм.
81. Вставка S металлическая, 237 x 157 x 3 мм.
82. Вставка с клейким покрытием, диаметр 84 мм.
83. Поляризатор проходящего света.
84. Поляризатор S, диаметр 84 мм.
85. Поляризатор S, диаметр 75 мм.
86. Поляризатор для осветителей VisiLED и Easy LED.
87. Поляризатор для фокусирующей насадки на световод (не более 4 шт.).
88. Поляризатор точечный для осветителя EasyLED (не более 2 шт.).
89. Поляризатор К.
90. Световод гибкий, диаметр 4,5 мм, длина 600 мм.
91. Световод гибкий, диаметр 8 мм, длина 1000 мм.
92. Световод гибкий, диаметр 5,6 мм, длина 2000 мм.
93. Световод гибкий, диаметр 5 мм, длина 1000 мм.
94. Световод гибкий, диаметр 4,5 мм, длина 1000 мм.
95. Световод гибкий, диаметр 4,5 мм, длина 800 мм.
96. Световод гибкий, диаметр 5 мм, длина 2200 мм.
97. Световод гибкий с фокусирующей насадкой, диаметр 6 мм, длина 1000 мм.
98. Световод гибкий двойной, диаметр 5,6 мм, длина 1000 мм.
99. Световод гибкий двойной, диаметр 4,5 мм, длина 560 мм.
100. Световод гибкий двойной, диаметр 4,5 мм, длина 620 мм.
101. Световод гибкий двойной ЕСО, диаметр 4,5 мм, длина 1000 мм.
102. Световод гибкий двойной с креплением для колонны, диаметром 4,5 мм, длина 200 мм.
103. Светофильтр конверсионный (не более 2 шт.).
104. Светофильтр галогенный (не более 2 шт.).
105. Светофильтр дневной (не более 2 шт.).
106. Светофильтр синий (не более 2 шт.).
107. Светофильтр зеленый (не более 2 шт.).
108. Светофильтр желтый (не более 2 шт.).
109. Светофильтр красный (не более 2 шт.).
110. Светофильтр нейтральный (не более 2 шт.).
111. Светофильтр галогенный для источника CL 4500 LED.

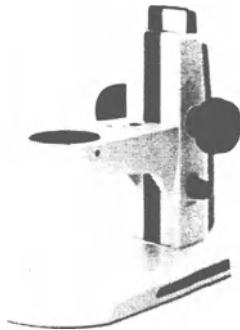
112. Насадка фокусирующая с комплектом светофильтров (не более 8 шт.), в составе: светофильтр красный, светофильтр зеленый, светофильтр синий, светофильтр желтый.
113. Адаптер для столика предметного.
114. Анализатор диаметром 49 мм с переходным кольцом диаметром 52 мм.
115. Лямбда-пластина в слайдере.
116. Системный блок управления, обработки изображения и архивации данных (не более 2 шт.).
117. Препаратодержатель (не более 8 шт.).
118. Держатель световода (не более 16 шт.).
119. Кабели сетевые (не более 25 шт.).
120. Кабели соединительные (не более 25 шт.).
121. Камера цифровая Axioscam ERc 5s.
122. Камера цифровая Axioscam ICc 1.
123. Камера цифровая Axioscam ICc 5.
124. Камера цифровая Axioscam ICm1.
125. Камера цифровая Axioscam 105 color.
126. Камера цифровая Axioscam 503 color.
127. Камера цифровая Axioscam 506 color.
128. Камера цифровая Axioscam 512 color.
129. Камера цифровая Axioscam 503 mono.
130. Камера цифровая Axioscam 506 mono.
131. Камера цифровая Axioscam 702 mono.
132. Кейс транспортировочный для Stemi 305/508.
133. Кейс транспортировочный для Stemi 305.
134. Комплект принадлежностей к камере цифровой, в составе:
 - Блок питания камеры с кабелем;
 - Кабель соединительный;
 - Карта памяти;
 - Картридер;
 - Пульт дистанционного управления;
 - Комплект из четырех адаптеров.
135. Лампа галогенная (не более 5 шт.).
136. Лампа неоновая (не более 5 шт.).
137. Лампа светодиодная (не более 5 шт.).
138. Модуль памяти оперативной (не более 4 шт.).
139. Монитор (не более 2 шт.).
140. Набор электрических адаптеров
141. Насадка на окуляр антибликовая (не более 4 шт.).
142. Насадка фокусирующая, диаметр 10 мм (не более 8 шт.).
143. Насадка фокусирующая, диаметр 6 мм (не более 8 шт.).
144. Клавиатура (не более 2 шт.).
145. Мышь (не более 2 шт.).
146. Педаль ножная (не более 2 шт.).
147. Перекрестие окулярное (не более 3 шт.).
148. Подставка для рук.
149. Препаратоводитель (не более 2 шт.).
150. Рамка для столика предметного монтажная
151. Рамка для столика предметного переходная.
152. Стекло защитное (не более 2 шт.).
153. Столик предметный скользящий.
154. Столик предметный скользящий механический.

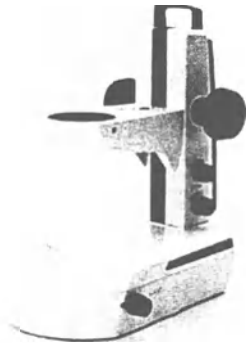
- 155. Столик предметный скользящий вращающийся
- 156. Столик предметный наклонный вращающийся.
- 157. Столик предметный шарнирный.
- 158. Указатель окулярный (не более 4 шт.).
- 159. Чехлы для окуляров двойные (не более 2 шт.)
- 160. Чехлы для окуляров одинарные (не более 4 шт.)
- 161. Чехол пылезащитный (не более 10 шт.):
 - Чехол пылезащитный, размер 450х150х500 мм
 - Чехол пылезащитный, размер 650х270х500 мм
 - Чехол пылезащитный, размер 300х190х400 мм
 - Чехол пылезащитный, размер 570х135х650 мм
 - Чехол пылезащитный, размер 650х200х570 мм
 - Чехол пылезащитный, размер 520х240х470 мм
 - Чехол пылезащитный, размер 300х190х500 мм.
- 162. Набор пылезащитный 1, в составе: чехол пылезащитный 650х200х570 мм, чехол для окуляров двойной или 2 чехла для окуляров одинарных, заглушка защитная,
- 163. Набор пылезащитный 2, в составе: чехол для окуляров двойной или 2 чехла для окуляров одинарных, заглушка защитная.
- 164. Салфетки для чистки оптики (не более 5 уп.).
- 165. Плата видеозахвата (не более 2 шт.).
- 166. Разветвитель (не более 2 шт.).
- 167. Жесткий диск (не более 2 шт.).
- 168. Отвертка сервисная SW1.5 (не более 2 шт.).
- 169. Отвертка сервисная SW2.0 (не более 2 шт.).
- 170. Отвертка сервисная SW3.0 (не более 2 шт.).
- 171. Отвертка сервисная SW5.0 (не более 2 шт.).
- 172. Ключ шестигранный сервисный (не более 4 шт.).

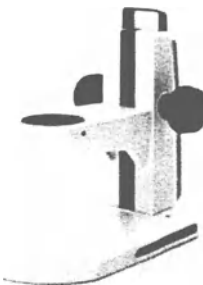
Техническая характеристика комплектующих

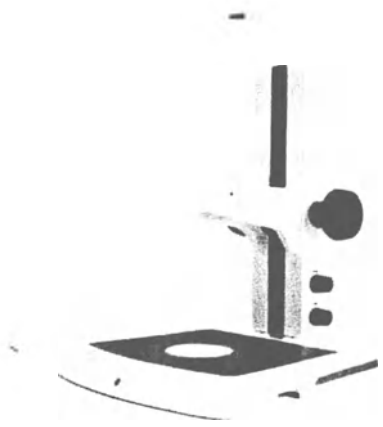
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг	Размер	Внешний вид
1.	Корпус микроскопа Stemi 305	435063-9000-000	Предназначен для получения стереоскопического увеличенного изображения объекта. Оптическая схема Грену. Содержит систему переменного увеличения с коэффициентом 5:1. Угол наклона окулярных трубок 45°. Окуляры кратностью 10х, поле зрения 23 мм. Соединительные кабели.	1,24	180x120x150	
2.	Корпус микроскопа Stemi 305 trino	35063-9010-000	Предназначен для получения стереоскопического увеличенного изображения объекта и фотографирования объектов. Оптическая схема Грену. Содержит систему переменного увеличения с коэффициентом 5:1. Угол наклона окулярных трубок 45°. Окуляры кратностью 10х, поле зрения 23 мм. Соединительные кабели.	1,32	180x120x150	

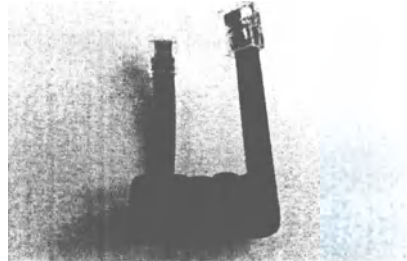
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг	Размер	Внешний вид
3.	Корпус микроскопа Stemi 305 cam	35063-9020-000	Предназначен для получения стереоскопического увеличенного изображения объекта и фотографирования объектов на встроенную фотокамеру. Оптическая схема Грену. Содержит систему переменного увеличения с коэффициентом 5:1 Угол наклона окулярных трубок 45° Окуляры кратностью 10х, поле зрения 23 мм Соединительные кабели	1,68	180x120x150	
4.	Штатив K EDU	435425-9000-000	(включая стеклянную пластину и пылезащитный чехол) Интерфейс: диаметр 84 мм для ступени, колонна диаметром 250 мм с приводом и ручкой, диапазон подъема 145 мм, диаметр крепления 76 мм. Допустимая нагрузка 5кг Регулируемое крепление: 2 гнезда для IVI (что это?) и осветителя K LED RL (что означает?) контроль для вкл/выкл/регулирования яркости Встроенный блок питания 12V DC 24W/100...240V AC/50...60Hz Включает стеклянную и	4,1	Размер основания: 310мм x 200мм x 35 мм Рабочая поверхность 195x160 мм	

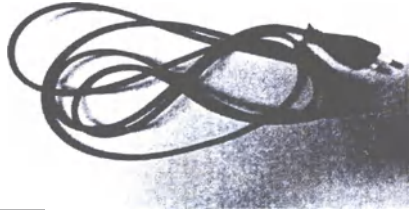
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг	Размер	Внешний вид
			черно-белый пластиковую пластину размером			
5.	Штатив К МАТ	435425-9020-000	Интерфейс: диаметр 84 мм для ступени, колонна диаметром 250 мм с приводом и ручкой, диапазон подъема 145 мм, диаметр крепления 76 мм. Допустимая нагрузка 5кг Регулируемое крепление: 2 гнезда для IVI (что это?) и осветителя К LED RL (что означает?) контроль для вкл/выкл/регулирования яркости Включает черно-белый пластиковую пластину размером 84×5 мм Функция ESD защиты: антистатическая поверхности (для чего пластина? как выглядит?) и пылезащитный чехол	4,1	Размер основания: 310мм х 200мм х 35 мм Рабочая поверхность : 195х160 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг	Размер	Внешний вид
6.	Штатив K LAB	435425-9010-000	(включая стеклянную пластину и пылезащитный чехол) Рабочая поверхность 195x160 мм - Интерфейсы D = 84 мм для ступеней и d = 45 мм для TL поляризатора - Колонна 250 мм с приводом и ручкой, диапазон подъема 145 мм - Stemi крепление d = 76 мм, (что это?) Допустимая нагрузка 5 кг, регулируемое трение - Встроенный светодиодный (LED) блок просвечивания с возможностью вращения и скользящим зеркалом для светлого поля, темного поля и наклонного просвечивания - 2 гнезда для IVI (что это?) и осветителя K LED (что это?) - Отдельные элементы управления RL / TL (что это?) для включения / выключения / затемнения - Встроенный блок питания блок 12V DC 24W / 100 ... 240V AC / 50	4,7	310мм x 200мм x 90 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг	Размер	Внешний вид
			... 60 Гц Дополнительно включает: - стеклянную и черно-белую пластиковую пластину D = 84x5 мм (что это?) - для конкретной страны кабель питания EURO C8 - пылезащитный чехол			
7.	Штатив К	435424-9000-000	Интерфейс: диаметр 84 мм для ступени, колонна диаметром 250 мм с приводом и ручкой, диапазон подъема 145 мм, диаметр крепления 76 мм. Допустимая нагрузка 5кг Резьба 2х М8 для крепления принадлежностей Включает черно-белый пластиковую пластину размером 84×5 мм и пылезащитный чехол	3,22	Размер основания: 310x200x35 мм, Размер рабочей поверхности : 195x160 мм	
8.	Штатив М	435424-9100-000	Размеры рабочей поверхности 255x215 мм • Интерфейс d=84 мм	3,5	340 мм x300 мм x35 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг	Размер	Внешний вид
9.	Штатив M LED	435425-9100-000	Колонна 360 мм (высота подъема 190 мм). Встроенная светодиодная электроника и источник питания. Включает: стеклянную вставку and черно-белую вставку D=84x5 мм, силовой кабель для конкретной страны, крышку от пыли	3,5	340 мм x300 мм x35мм	
10.	Штатив N	455107-0000-000	- подставка штатива 370x440мм - черно-белая пластиковая контрастная пластина D=84мм - 2 клеммы столика микроскопа и безопасное кольцо	4,2	370 ммx440 мм x 350 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг	Размер	Внешний вид
11.	Штатив U	000000-1222-199	Stand U with articulated suspension arm (D) Штатив U с шарнирным подвесным кронштейном - настольное крепление изделия U 210 мм - настольный зажим U (для стола толщиной 5...75мм) - шарнирный подвесной кронштейн U 580мм (высота подъема 500мм, грузоподъемность 2...4.8кг) - головка штатива U 32/100мм - крепление U для источника холодного света KL 300 LED - консоль U для источников холодного света 1500/2500/4500/6000/9000	8	650мм х 300мм х 150мм	
12.	Кабель соединительный для штатива K EDU / K MAT / K LAB / K / M / M LED			0,01	Длина 300 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг	Размер	Внешний вид
13.	Окуляр 10х/23	444036-9000-000	Окуляр 10х/23	0,1	d= 40мм x 50мм	
14.	Крышка окуляра			0,01	Диаметр 35 мм, толщина 10 мм	
15.	Кабель электропитания			0,15	длина 1500 мм	

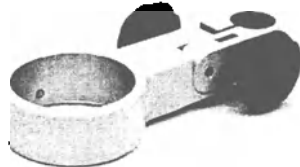
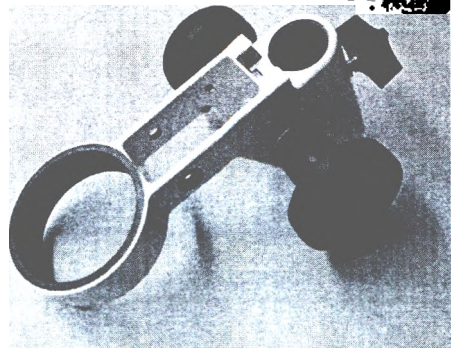
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг	Размер	Внешний вид
16.	Блок питания	417095-9050-000	Блок питания 100...240V, 50...60Hz (D) для VisiLED	0,5	150мм x 60мм x 60мм	
17.	Съемный носитель со специальным программным обеспечением	410373-0100-000	Наименование ПО: ZEN 2.3 blue Версия 2.3	0,02	45 мм x 20 мм x 7 мм	
18.	Установочное кольцо		Установочное кольцо поставляется вместе с линзами фронтальными	0,015	диаметр 66 мм, высота 10 мм	
19.	Линза фронтальная	435263-	Фронтальная оптика 3	0,108	d=55мм x	

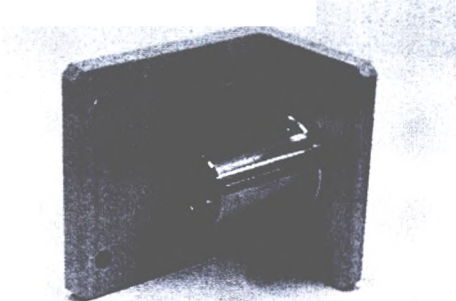
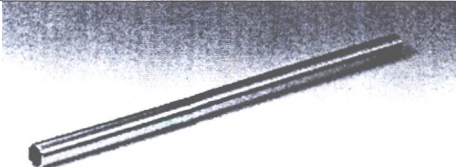
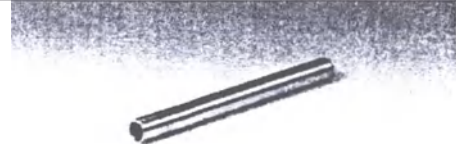
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг	Размер	Внешний вид
	3 0,5x	9050-000	0.5x FWD 185 mm -Наружная резьба M52x1,0 для крепления в корпусе Stemi 305. - Внутренняя резьба M49x0,75 для крепления оптических фильтров и анализатора для работы в поляризованном свете.		15мм	
20.	Линза фронтальная 3 0,75x	435263-9070-000	-Наружная резьба M52x1,0 для крепления в корпусе Stemi 305. - Внутренняя резьба M49x0,75 для крепления оптических фильтров и анализатора для работы в поляризованном свете.	0,083	диаметр 70 мм, высота 10 мм	
21.	Линза фронтальная 3 1,5x	435263-9150-000	Фронтальная оптика 3 1.5x FWD 56 mm -Наружная резьба M52x1,0 для крепления в корпусе Stemi 305. - Внутренняя резьба M49x0,75 для крепления оптических фильтров и анализатора для работы в поляризованном свете.	0,149	d=55мм x30мм	

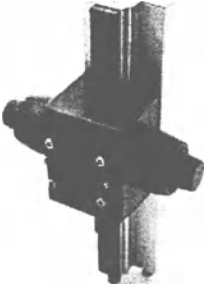
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг	Размер	Внешний вид
22.	Линза фронтальная 3 2,0х	435263- 9200-000	Фронтальная оптика 3 2.0х FWD 43 mm -Наружная резьба M52x1,0 для крепления в корпусе Stemi 305. - Внутренняя резьба M49x0,75 для крепления оптических фильтров и анализатора для работы в поляризованном свете.	0,306	d=55мм x 45мм	
23.	Крышка для корпуса микроскопа			0,04	Диаметр 80 мм, толщина 5 мм	
24.	Крышка для фотопорта			0,01	Диаметр 45 мм, толщина 10 мм.	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг	Размер	Внешний вид
25.	Кольцо защитное для очков			0,003	Диаметр 30 мм, толщина 3 мм	

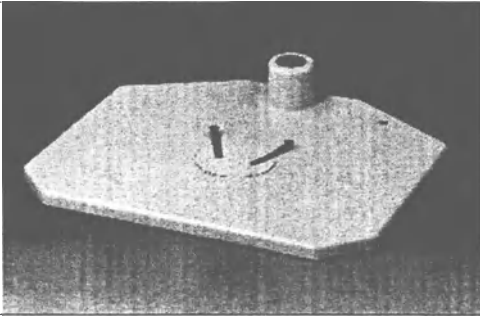
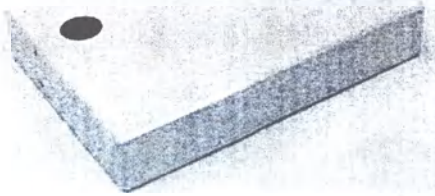
Техническая характеристика принадлежностей

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
1.	Крепление корпуса микроскопа Stemi U	000000-1222-247	Угол наклона: 0-90°, без привода	0,5	230мм x 90мм x 50 мм	
2.	Крепление корпуса микроскопа S с опорой	435402-0000-000	Диаметр опоры 76 мм	0.589	130 мм x100 мм x80 мм	
3.	Крепление корпуса микроскопа Stemi для колонны с приводом	435424-9301-000	Для колонны диаметром 32 мм, с приводом Диаметр опоры 76 мм Допустимая нагрузка: 5 кг, Резьба 2х М8 для крепления принадлежностей	0,8	270мм x 180мм x 100мм	

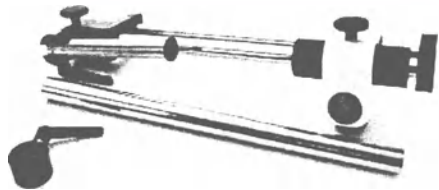
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
4.	Крепление штатива U	000000-1222-243	Предназначено для крепления микроскопа к стене	2,4	140мм x 105мм x 80мм	
5.	Колонна штатива, размеры 32 мм/650 мм	475119-0000-000	Колонна 32x650	1,439	d=32мм x 650 мм	
6.	Колонна штатива, размеры 32 мм/450 мм	475120-0000-000	Колонна 32x450	0,987	d=32мм x 450 мм	
7.	Колонна штатива, размеры 32 мм/350 мм	475123-0000-000	Колонна 32x350	0,734	d=32мм x 350 мм	

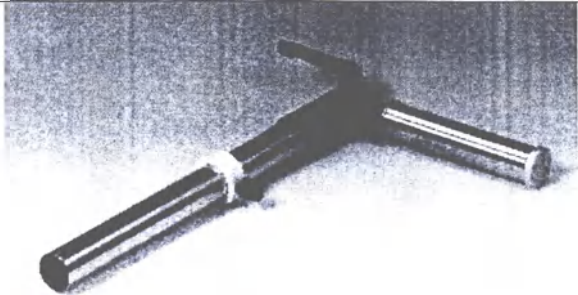
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
8.	Привод грубой/тонкой фокусировки с колонной Т	435433-9000-000	Привод грубой/ тонкой фокусировки с колонной Т 350 мм - диапазон подъема 220 мм, - грузоподъемность 10 кг - для резервных баз 300/450 - основание подставки 450 с версией -9902, только без наконечника	0,734	360мм х 250мм х 110мм	
9.	Основание штатива SDA	435412-0000-000	Основание штатива SDA 350х350х50мм, с центральным отверстием для вкручивания штанги.	31,6	350 мм х 350 мм х 50 мм	
10.	Основание штатива 300 для отраженного света	435433-9400-000	Основание штатива 300 для осветителя отражённого света 290х353х25мм с резьбовым отверстием 2х М8 и черно-белой плитой D = 120мм; совместимо с Т колонной 350мм и центральной профильной колонной 490мм; VisiLED для проходящего света (417095-9400) монтируется снизу, в дополнение стеклянной	5,2	290мм х 353мм х 25мм	

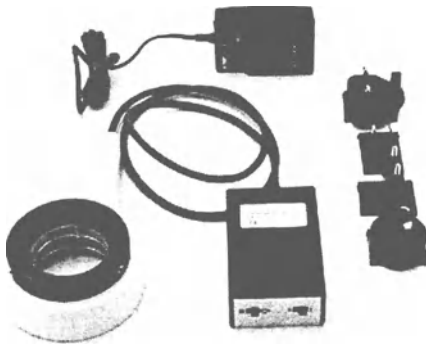
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			пластины D = 120 мм (435501-0002); для подставки d = 84мм необходим адаптер 84/120 (435430-9010) дополнительно			
11.	Основание штатива 300 для проходящего света	435533-9500-000	Основание штатива 300 для проходящего света 322х373х42мм Подставка с резьбовым отверстием 2х М8, 90 LED белого света проходящего света, регулятор яркости, разъем для педального переключателя S, прямолинейно передвигающаяся диафрагма и 3 позиционных револьверных головки для: 1. Светлое поле плюс и косой контрастный свет, с возможностью сдвига диафрагмы 2. однородное светлое поле с диаметром 67мм 3. все стороны темного поля, а также односторонне движимой диафрагмой; Включительно: стеклянная пластина D = 120 мм, DF вставка диафрагмы 28/84, настольный источник питания 24В 60Вт и	5,53	32мм х 373мм х 42мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			принятый в стране сетевой шнур; совместимо с Т колонной 350мм и центральной колонной профиля 490мм; стадия d = 84мм или d = 120 мм необходим дополнительно адаптер 84 + 120 (435533-9510), кроме скользящей ступени S 110x110			
12.	Основание штатива для колонны диаметром 32 мм	455101-0000-000	Основание штатива для колонны диаметром 32 мм	4,785	330мм x380 мм x 20 мм	
13.	Основание штатива для колонны диаметром 32 мм тяжелое	455113-0000-000	Основание штатива для колонны диаметром 32 мм тяжелое - выбирается высота колонны (350, 450 или 650 мм) - массивная пластина стойки 330x380 мм - ч / б пластиковая контрастная пластина D = 84 мм - 2 ступени зажимов и кольца безопасности	21,5	200мм x 280мм x 50мм	

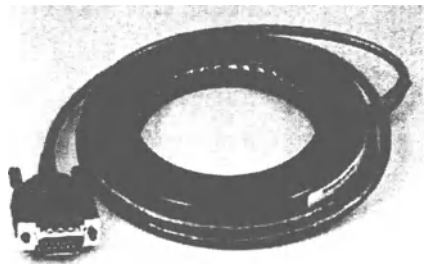
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
14.	Модуль проходящего света M LED	435525-9100-000	Возможность вращения и скольжения зеркала для светлого поля, темного поля и косого освещения. Полностью беспроводная.	3	340мм x300мм x58 мм	
15.	Модуль светлого поля проходящего света M LED	435525-9130-000	С рычагом для светлого и всестороннего темного поля, Полностью беспроводная.	1,5	300 мм x280мм x35 мм	
16.	Штанга выносная	000000-1046-525	Штанга выносная Ø35 x 260мм	0,75	Ø35 x 260мм	

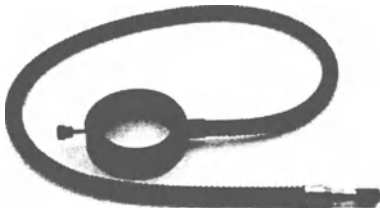
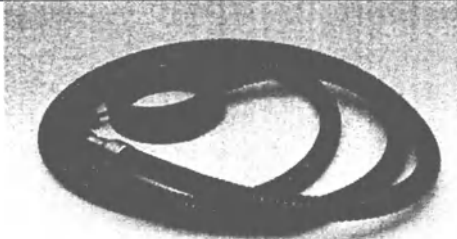
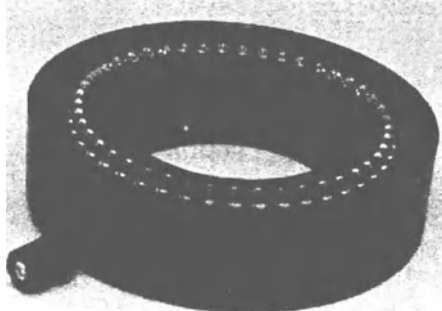
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
17.	Штанга выносная поворотная для BMS	000000-1046-524	Штанга выносная поворотная для BMS Ø32 x 200 мм	1,1	Ø32 x 200 мм	
18.	Штанга выносная поворотная U	000000-1222-246	Штанга выносная поворотная U Ø35 x 320 мм	2,5	Ø35 x 320 мм	
19.	Штанга выносная поворотная двойная SDA	435411-0000-000	Штанга выносная поворотная двойная SDA 670 мм x 200 мм x 170 мм. Длина штанги 360-690мм (включая крепление Stemi). Угол вращения 360°, бесступенчатая нагрузка 8кг; Наклон/вращение головки с колонной 32/200 и вертикальной колонны SDA 40/610 с крепежным винтом M16 и кольца для фиксации высоты	22,2	670 мм x 200 мм x 170 мм	

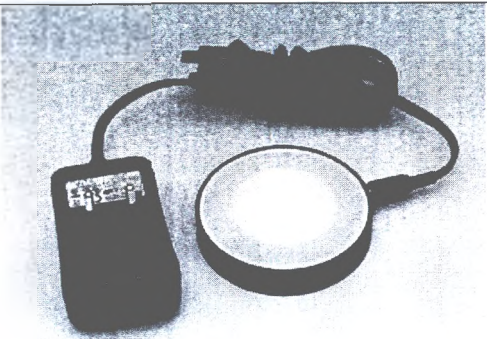
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
20.	Штанга выносная поворотная	455117-0000-000	Штанга выносная поворотная Ø40мм x 600мм	1,566	Ø40мм x 600мм	
21.	Осветитель вертикальный	435505-9000-000	Осветитель вертикальный S, d=66мм, регулировка рекомендуется для освещения углублений образца и собирания на 0,63х или 1,0х Discovery объектив, FWD уменьшается на 20мм, кроме того, требуется гибкий световод 1500, 5 / 1000мм	0,11	Ø90мм x 30мм	
22.	Осветитель диффузный	435507-0000-000	Осветитель диффузный S, телескопический, d=66 мм/M8 Включительно световод 8/1000мм; 88мм внешний диаметр позволяет устанавливать револьверную головку микроскопа; 45...84мм длина регулируемого стола для среднего размера FWD или в случае длинного FWD	0,9	280мм x 200мм x 70мм	

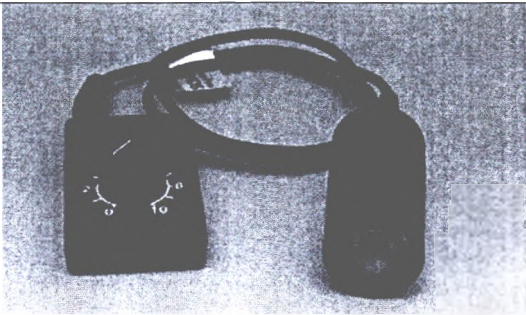
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
23.	Осветитель диффузный плоский	435508-0000-000	монтируется с помощью М8-М8 близко к образцу Осветитель диффузный плоский М8 с световодом (D) с излучающей поверхностью 78х30мм, внешние размеры 140х58х22мм, включительно: световод 8/1000мм и М6/М8 винтовым адаптером	0,63	250мм х 170мм х 45мм	
24.	Осветитель кольцевой с неоновой лампой в составе: – корпус с двумя установочными винтами – неоновая кольцевая трубка за проволоочной сеткой – блок управления – блок питания с кабелем сетевым и набором адаптеров.	417040-9100-000	Осветитель кольцевой с неоновой лампой 5500K, d=58/66мм (D) для гомогенной и низкотеневого отраженного света - корпус с 2-мя установочными винтами для крепления на объективе или удерживающем кольце - неоновая кольцевая трубка 5500K за проволоочной сеткой – блок управления с переключателем 2 степенями яркости - блок питания	0,15 0,10 0,15 0,30	170х98х37 Ø70х20 96х64х29 60х30х40	

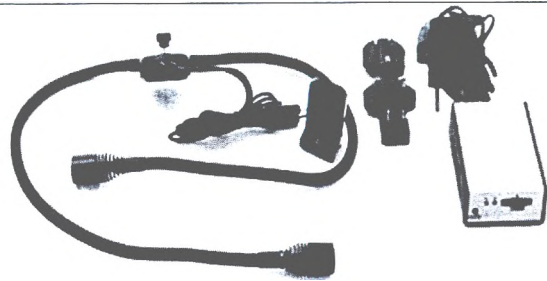
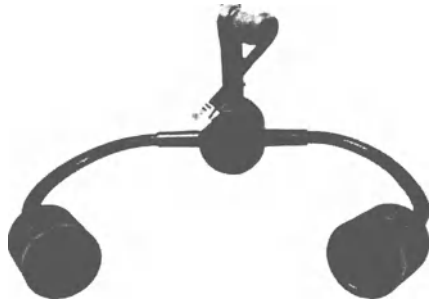
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			100-240 50-60Гц 15ВА сетевой кабель комплект адаптеров (4 шт.)		5x1500 30x30x30	
25.	Осветитель кольцевой щелевой 1500	417075- 9011-000	Щелевой световой осветитель 1500 для темного поля падающего света, d=66 мм, - гибкий световод 1500, 9/1000 мм - свободное рабочее расстояние 5 ... 15 мм	0,735	230мм x 170мм x 50мм	
26.	Осветитель кольцевой VisiLED S, 80-25 BF	417095- 9225-000	Кольцевой осветитель VisiLED S, 80-25 BF, d=66 мм, свободное рабочее расстояние 25...50 мм	0,25	Ø120мм x 30мм	
27.	Осветитель кольцевой VisiLED S, 80-55 BF	417095- 9255-000	Кольцевой осветитель VisiLED S, 80-55 BF, d=66 мм, свободное рабочее расстояние 45...95 мм	0,25	2100мм x 190мм x 55мм	

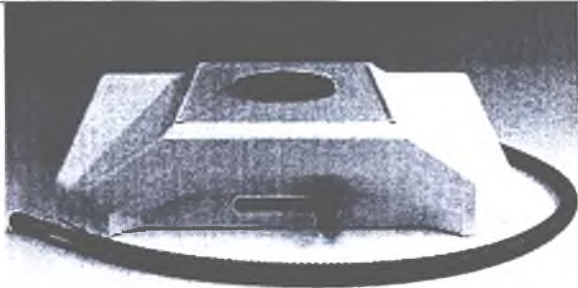
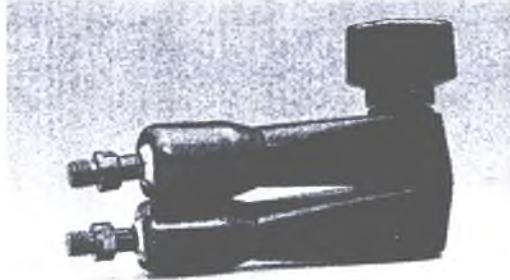
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
28.	Осветитель кольцевой VisiLED S, 40-10 DF	417095-9300-000	Осветитель кольцевой VisiLED S 40-10 DF (D), свободное рабочее расстояние 5...15 мм	0,2	Ø190мм x 30мм	
29.	Осветитель кольцевой светодиодный	435525-9050-000	Осветитель кольцевой К светодиодный сегментируемый - 48 светодиодов в 2 ряда, наклоненные - FWD 50 ... 300 мм, крепление d = 66 мм - отдельные средства управления для сегментации и вращения - 4 режимах: полный, половина, четверть круга, 2 четверти окружности - Ручной поворот на 90° или непрерывное вращение - Для стендов К EDU / LAB / MAT или контроллер К LED	0,25	14ммx 100мм x 20мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
30.	Осветитель кольцевой щелевой 1500 ECO, длина 1 м	435540-9005-000	Щелевой кольцевой осветитель 1500 ECO, Ø66 мм, 9/1000 мм	0,51	Ø66 x 1000 мм	
31.	Осветитель кольцевой щелевой 1500 ECO, длина 2 м	435540-9006-000	Осветитель кольцевой щелевой 1500 ECO Ø66 мм, 9/2000 мм	1	Ø66 x 2000 мм	
32.	Осветитель кольцевой светодиодный EasyLED	417096-9200-000	Осветитель кольцевой светодиодный EasyLED - рабочее расстояние 65 ... 115 мм - 45 светодиодов, интегрированные в затемнитель и переключатель включения/выключения - съемный блок питания 12 В постоянного тока вкл. входной сетевой штекер ЕС, GB, US / JP, AU	0,390	Ø66 x 30 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
33.	Осветитель светодиодный для проходящего света EasyLED	417096-9400-000	Осветитель светодиодный для проходящего света EasyLED H, D = 84 мм (D) - светлое поле с D = 50 мм - затемнитель и переключатель включения / выключения интегрированы - съемный блок питания 12 В постоянного тока вкл. входной сетевой штекер EC, GB, US / JP, AU	0,3	Ø84 мм x 2000 мм	
34.	Осветитель линейный	000000-1063-307	Осветитель линейный S, l=50 мм (D)	0,5	270мм x 190мм x 45мм	
35.	Осветитель точечный светодиодный	435525-9010-000	Светодиодный точечный осветитель К - одно место для светлого поля и темного поля отраженного света - Резьба M24x0.5 для поляризатора - Регулировка по высоте, наклону, масштабу - Для штативов K EDU / LAB / MAT	0,13	250мм x 200мм x 150мм	

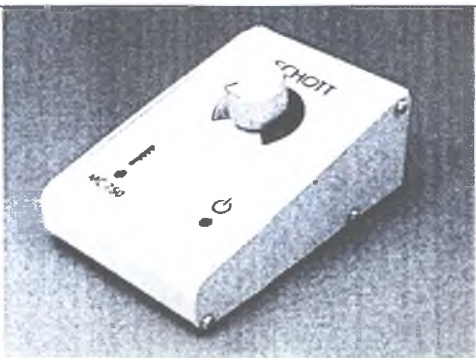
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
36.	Осветитель точечный светодиодный EasyLED	417096-9100-000	EasyLED spot M6 (D)	0,25	Ø15 мм x 60 мм	
37.	Осветитель точечный светодиодный двойной для колонны диаметром 32 мм в составе: - Осветитель точечный светодиодный двойной - крепление для колонны диаметром 32 мм с зажимным кольцом - блок управления - блок питания с кабелем сетевым и набором адаптеров.	417040-9450-000	-Осветитель точечный светодиодный двойной для колонны диаметром 32 мм (светодиод Hi-Power двойное пятно5500K, S-образные ветви, 2х 570мм) - крепление для колонны диаметром 32 мм с зажимным кольцом - Блок управления 2-х канальный - Блок питания настольный 100-250В кабель сетевой и набор адаптеров (4 шт.)	0,35 0,05 0,15 0,3 0,02	Ø32x 570 мм 50 x 20 x40 мм 40x50x90 мм 60x40x30 мм Ø5x1500 мм 30x30x30 мм	

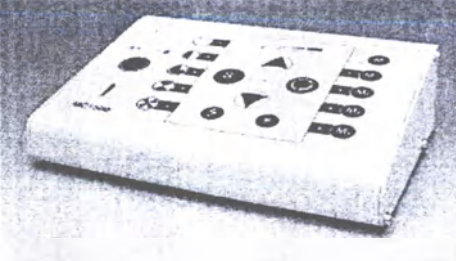
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
38.	Осветитель точечный светодиодный двойной для крепления S в составе: - осветитель точечный светодиодный двойной - держатель ветвей - блок управления - блок питания с сетевым кабелем и набором адаптеров.	417040-9560-000	Осветитель точечный светодиодный двойной (светодиод Hi-Power двойное пятно 5500K, S-образные ветви, 2х 570мм) - держатель ветвей - Блок управления 2-х канальный - Блок питания 100-250В сетевой кабель и набор адаптеров	0,35 0,05 0,15 0,3 0,02	Ø15 x 570 мм 50x20x40 мм 40x50x90 мм 60x30x40 мм Ø5 x 1500 мм 30x30x30 мм	
39.	Осветитель точечный светодиодный двойной K	435525-9020-000	Осветитель точечный светодиодный двойной K - S-образные ветви, 2х 160мм для переменного отраженного света - 2 нити M24x0.5 для поляризатора - Регулировка по высоте - Для штативов K EDU / LAB / MAT	0,48	200мм x 150мм x 40мм	

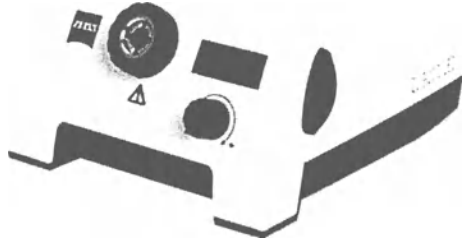
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
40.	Осветитель проходящего света S	000000-1003-877	Осветитель проходящего света S со световодом - Эргономичная панель с 210х160 мм рабочей поверхностью - 2 раздвижных отражателя для переменного светлого поля и темного поля - Для использования с подставкой N или подставкой штатива 32	3,500	240х350х75 мм	
41.	Стержень удлинительный	435440-0000-000	Стержень удлинительный	0,026	90мм x 20мм x 20мм	
42.	Держатель осветителя	435441-0000-000	Держатель осветителя S, M8-M8 (D)	0,13	210мм x 20мм x 20мм	
43.	Держатель осветителя шарнирный	435443-0000-000	Держатель осветителя шарнирный S M8-M8 (D)	0,6	130мм x 75мм x 45мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
44.	Зажим для световода	435442-0000-000	Зажим S для световода (D)	0,023	65ммх 35мм х 20мм	
45.	Стопорное кольцо	435444-0000-000	Стопорное кольцо 2х М8 для колонны 32	0,042	Ø60мм х 20мм	
46.	Основание для осветителя	435446-9020-000	Основание для осветителя М8+М6, 100 мм	1,2	Ø100мм х 20мм	
47.	Адаптер для осветителя	455149-0000-000	Адаптер для встроенного осветителя	0,027	75мм х 30мм х 10мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
48.	Комплект трех переходных колец для одновременной фиксации VisiLED BF+DF	417095-9500-000	Для одновременной фиксации (D) для VisiLED BF + DF к цели S с FWD	0,1, 0,05, 0,15	Диаметры (слева на право): 66 мм, 66 мм, 70 мм Высота (слева на право): 50 мм, 20 мм, 50 мм	
49.	Держатель для VisiLED DF	417095-9510-000	Держатель для VisiLED DF Ø66 мм	0,14	Ø110мм x 35мм	
50.	Переходник S, диаметр 66 мм, высота 57 мм	435448-0000-000	Переходник S, Ø66 мм x 57 мм вытягивает диаметр 66 мм цилиндр объектива на 57 мм, например, для монтажа темного поля кольцевого осветителя на Discovery объективе Plan 1x или Plan Apo 0.63x или дважды используется на Achromat 0.5x	0,112	Ø66мм x 57мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
51.	Переходник S, диаметр 66 мм, высота 40 мм	435449-0000-000	Переходник S, диаметр 66 мм, высота 40 мм вытягивает диаметр 66 мм цилиндр объектива на 40 мм, например, для монтажа темного поля кольцевого осветителя на объективе Discovery Achromat 1x или 1.25x или Plan Apo 1x или дважды используется на Achromat 0.63x	0,093	Ø66мм x 40 мм	
52.	Контроллер осветителя MC 750	417095-9010-000	Контроллер MC 750 для VisiLED (D) с непрерывным затемнением и встроенной функцией регулирования температуры светодиода для одного VisiLED осветителя	0,25	120мм x 80мм x 70мм	
53.	Контроллер осветителя MC 1000	417095-9040-000	Контроллер осветителя MC 1000 for VisiLED (D) с 3-мя вращающимися ручками для регулировки яркости, сегментация (4 режима) и его вращения, для управления одним из осветителей VisiLED	0,15	200мм x 120мм x 30мм	

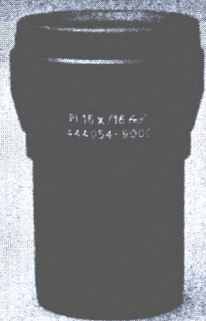
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
54.	Контроллер осветителя светодиодного К	435525-9200-000	Контроллер осветителя светодиодного К - Для включения / выключения переключатель и для изменения яркости осветителя К LED - Магнитная пластина для монтажа на штативах - Съёмный блок питания 12V DC 24W / 100 ... 240 В переменного тока / 50 ... 60 Гц, вкл. Вход сети EU вилка, GB, US / JP, AU и силовой кабель конкретной страны EURO C8 для других стран - RJ12 кабель 1 м для осветителя К LED	0,11	230мм x 140мм x 100мм	
55.	Контроллер осветителя MC 1500	417095-9000-000	Контроллер осветителя MC 1500 для VisiLED (D) Для 2 VisiLED осветителей, ножной переключатель и адаптер RS232, с 5 режимами сегмента, 4 клавиши памяти, непрерывное затемнение и встроенным светодиодным контролем температуры	0,4	180мм x 120мм x 50мм	

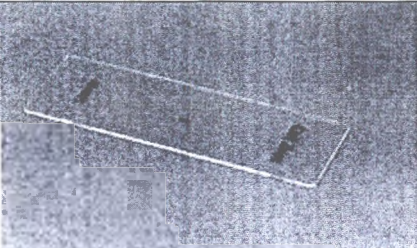
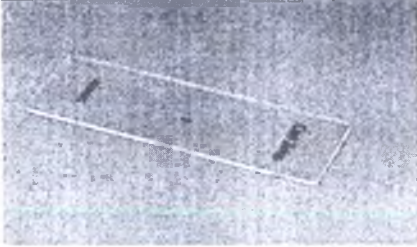
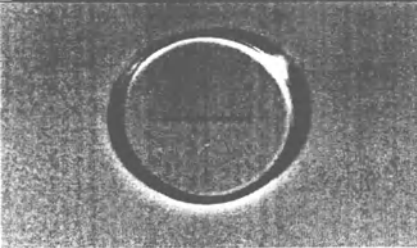
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
56.	Источник холодного света CL 9000 LED	435700-9000-000	Источник холодного света CL 9000 LED CAN (D) - До 900 лм светового потока при 9 мм диаметре выходного волокна. - Цветовая температура 6500K - Мин. 50000 часов работы до спада интенсивности до 70% - Контроль интенсивности и 6 запоминающих ячеек с помощью роторной нажимной ручки и светодиода - 10 мм зажимной патрон с датчиком на 1500 световодах - Слайдер фильтр для 2-х установленных фильтров 35 x 26 x 4 мм и со свободным отверстием - Макс. 80Вт питания с широким диапазоном для немерцающая света, бесшумный вентилятор - 2,5 мм гнездо втулки для включения / выключения с помощью опциональной ножной кнопки S - BNC разъем для триггера входа - 2 CAN разъема RJ45 для управления освещением по	3,1	241x192x118 мм	

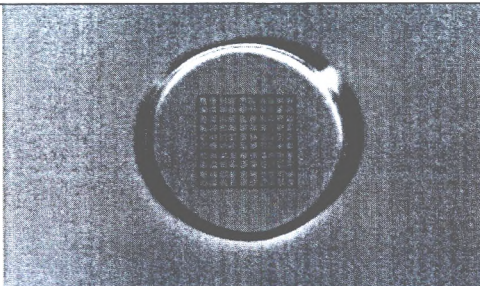
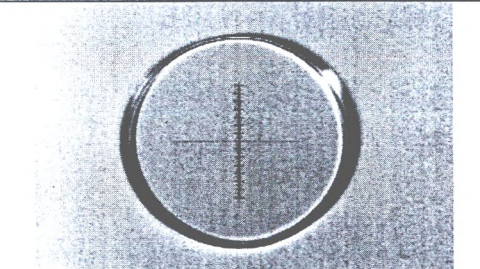
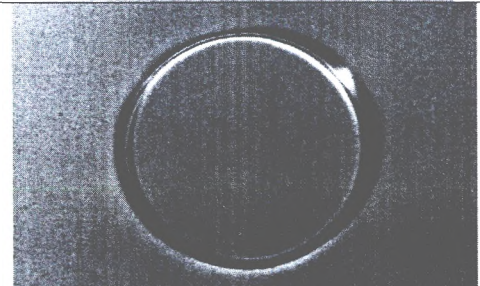
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			EMS 3 - CAN кабель RJ45 1 м, кабель питания конкретной страны			
57.	Источник холодного света CL 6000 LED	435700-9101-000	Источник холодного света CL 6000 LED (D) - До 900 лм светового потока при 9 мм диаметре выходного волокна. Мин. 6200K цветовая температура. 50000 рабочих часов до спада интенсивности до 70% - контроль интенсивности и 6 запоминающих ячеек с помощью роторной нажимной ручки и светодиода - 10 мм зажимной патрон с датчиком на 1500 световодах - фильтр слайдер для 2 установлены фильтры 35x26x4 мм и со свободным отверстием - макс. 70Вт питания с широким диапазоном для немерцающая света, бесшумный вентилятор - 2,5 мм разъем втулка для включения / выключения с помощью опциональной кнопки лапка S, розетка	3,1	241x192x118 мм	

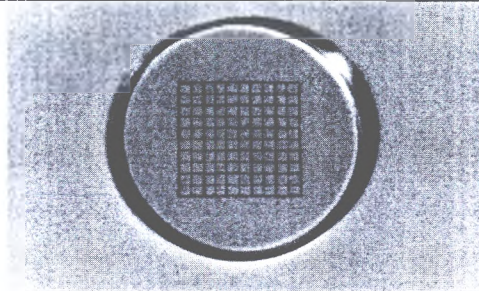
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			USB - сетевой шнур конкретной страны			
58.	Источник холодного света CL 4500 LED CRI90	435700-9200-000	Источник холодного света CL 4500 LED CRI90 - До 450 лм светового потока при 9 мм диаметре выходного волокна. - непрерывное затемнение - 5400K цветовая температура и 90 Индекс цветопередачи - мин. 50000 часов наработки до падения на 70% начальной яркости - 10 мм цанговый патрон с датчиком для 200/1500 световодов - слайдер фильтра для 2 фильтров CL LED и со свободным отверстием - 2 наращиваемых образец, 2 М4 втулки в нижней части - макс , 50Вт питания с широким диапазоном для немерцающая света, бесшумный осевой вентилятор - 2,5 мм разъем втулка для включения / выключения с помощью опциональной кнопки лапка S, розетка	3,1	241x192x118 мм,	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			USB - сетевой шнур конкретной страны			
59.	Источник холодного света CL 1500 HAL	435710-9000-000	Источник холодного света CL 1500 HAL - До 600 лм светового потока при 9 мм диаметре выходного волокна, непрерывный в электронном виде затемнением, - ЖК-дисплей для яркости в % или цветовой температуры в К или включения питания часов, - Вкл. лампа 15B 150Вт галогенные лампы с отражателем, срок службы ок 150ч при 80% = 450лм, - 10мм зажимной гайки с датчиком для световода 1500, - Слайдер фильтр для одного фильтра d = 28мм и со свободным отверстием, - Макс. питания с широким диапазоном 180Вт для немерцающего света, бесшумный осевой вентилятор, - сетевой шнур конкретной страны	4,2	250мм x 200мм x 170мм	

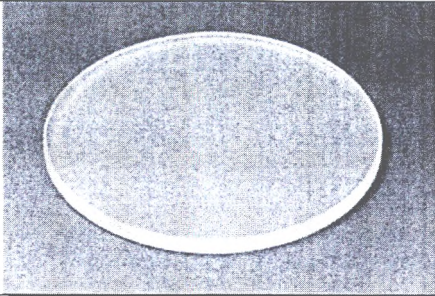
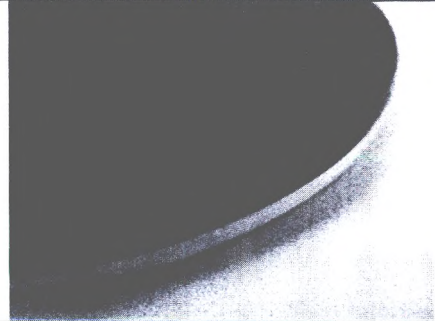
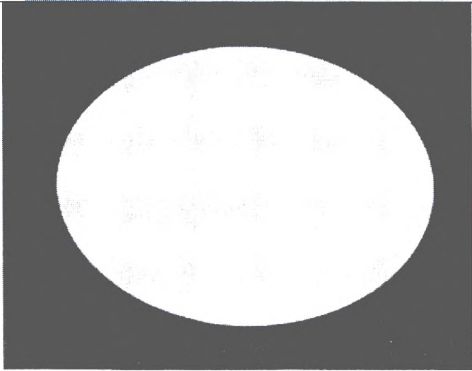
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
60.	Окуляр 16х/14	435063-9160-000	Окуляр 16х/14	0,08	Ø40мм x 50мм	
61.	Окуляр 16х/16	444054-9000-000	Окуляр 16х/16	0,1	Ø40мм x 50мм	
62.	Окуляр 25х/10	455046-9901-000	Окуляр 25х/10	0,076	Ø40мм x 50мм	

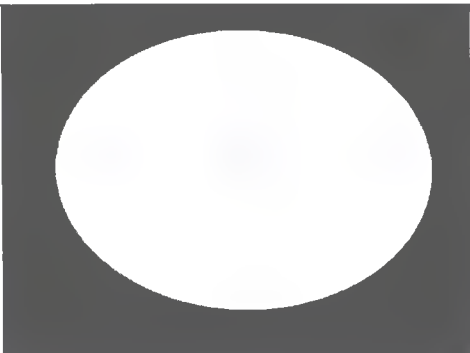
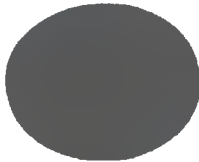
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
63.	Объект-микрометр	474025-0000-000	Объект-микрометр 25 + 50/10 мм - 25 линий с интервалом в 1 мм в направлении оси x - 50 линий с 1 / 10мм интервалами в направлении оси y	0,027	76мм x 26мм x 1мм	
64.	Объект-микрометр калиброванный	474025-9800-000	Объект-микрометр калиброванный 25 + 50/10 мм; - 25 линий с интервалом в 1 мм в направлении оси x - 50 линий с 1 / 10мм интервалами в направлении x	0,027	76мм x 26мм x 1мм	
65.	Микрометр окулярный со шкалой 10 мм, диаметр 21 мм	434011-0000-000	Микрометр окулярный со шкалой 10 мм, диаметр 21 мм	0,002	Ø21мм x 1мм	
66.	Микрометр окулярный с перекрестием и шкалой 10 мм, диаметр 21 мм	434013-0000-000	Микрометр окулярный с перекрестием и шкалой 10 мм, диаметр 21 мм	0,002	Ø21мм x 1мм	

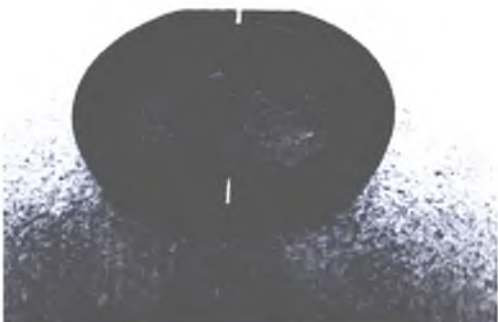
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
67.	Микрометр окулярный сетчатый, диаметр 21 мм	454020-0000-000	Микрометр окулярный сетчатый, диаметр 21 мм	0,006	Ø21мм x 1мм	
68.	Микрометр окулярный с перекрестием и шкалой 14 мм, диаметр 26 мм	454060-0000-000	Микрометр окулярный с перекрестием и шкалой 14 мм, диаметр 26 мм	0,003	Ø26мм X 1мм	
69.	Микрометр окулярный с форматной сеткой, диаметр 26 мм	454075-0000-000	Микрометр окулярный с форматной сеткой, диаметр 26 мм	0,003	Ø26 мм x 1мм	
70.	Микрометр окулярный с перекрестием и шкалой 10 мм, диаметр 26 мм	474066-9901-000	Микрометр окулярный с перекрестием и шкалой 10 мм, диаметр 26 мм	0,003	Ø26мм X 1мм	

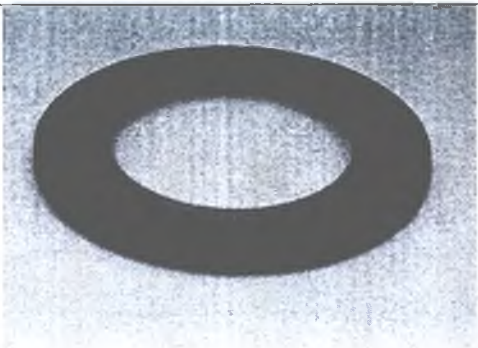
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
71.	Микрометр окулярный сетчатый, диаметр 26 мм	474068-0000-000	Микрометр окулярный сетчатый 12,5х12,5/5;10, диаметр 26 мм	0,004	d=26мм X 1мм	
72.	Вставка стеклянная, диаметр 84 мм	435425-9310-000	Вставка стеклянная, 84х5 мм - для штатива К/М	0,041	Ø84мм x 5 мм	
73.	Вставка стеклянная, диаметр 72 мм	473378-0000-000	Вставка стеклянная d=72 мм для предметного столика	0,026	Ø75мм x 5мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
74.	Вставка стеклянная, диаметр 120 мм		Вставка стеклянная Ø120 мм для предметного столика	0,067	Ø120мм x 5мм	
75.	Вставка S стеклянная, 237x157x3 мм	435465-9053-000	Вставка стеклянная 237x157x3 мм для предметного столика	0,134	237x157x3 мм	
76.	Вставка стеклянная прозрачная, диаметр 84 мм	475265-0001-000	Вставка стеклянная прозрачная	0,066	d=84мм x 5мм	

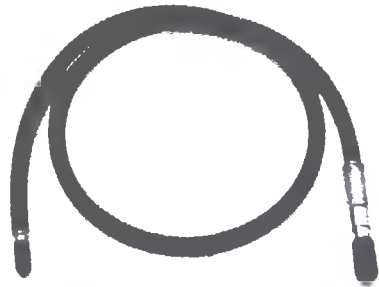
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
77.	Вставка стеклянная матовая, диаметр 84 мм	475291-0000-000	Вставка стеклянная матовая, диаметр 84 мм	0,06	d=84мм x 5мм	
78.	Вставка черно-белая пластиковая для штатива К	435425-9320-000	Вставка черно-белая пластиковая для штатива К/М	0,056	Ø84мм x 5 мм	
79.	Вставка черно-белая пластиковая, диаметр 84 мм	475290-9901-000	Вставка черно-белая пластиковая, диаметр 84 мм	0,031	Ø84 x 5 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
80.	Вставка черно-белая пластиковая, диаметр 120 мм	435430-0120-010	Черно-белая пластиковая вставка, Ø120 мм	0,063	Ø120 x 5 мм	
81.	Вставка S металлическая, 237 x 157 x 3	435465-9052-000	Металлическая прямоугольная вставка 237 x 157 x 3 мм	0,3	237 мм x 157 мм x 3 мм	
82.	Вставка с клейким покрытием, диаметр 84 мм	475288-0000-000	Вставка с клейким покрытием, диаметр 84 мм	0,05	Ø84 x 5 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
83.	Поляризатор проходящего света	435526-9020-000	Поляризатор проходящего света К/М	0,09	Ø50мм x 5мм	
84.	Поляризатор S, диаметр 84 мм	435531-0000-000	Поляризатор S D=84 мм	0,056	Ø90мм x 10мм	
85.	Поляризатор S, диаметр 75 мм	455174-0000-000	Поляризатор S	0,036	Ø75мм x 5мм	

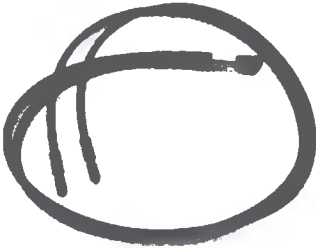
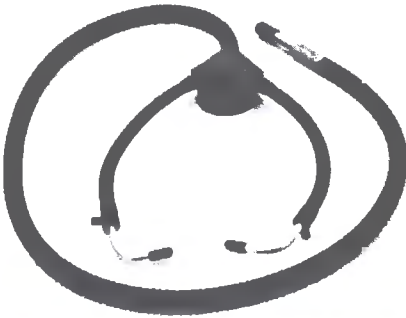
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
86.	Поляризатор для осветителей VisiLED и EasyLED	417095-9550-000	Поляризационный фильтр для осветителей VisiLED/EasyLED (D) соответственно 417095-9255 или 417096-9200/-9300	0,1	Ø130мм x 25мм	
87.	Поляризатор для фокусирующей насадки на световод	417065-0000-000	Поляризатор для фокусирующей насадки на световод d=6 мм (D) для 417060-9901 или 417059-9901	0,007	Ø25мм x 10мм	
88.	Поляризатор точечный для осветителя EasyLED	417096-9600-00	Поляризатор точечный для осветителя EasyLED	0,01	Ø30мм x 10мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
89.	Поляризатор К	435526-9010-000	Поляризатор К LED	0,08	Ø30мм x 10мм	
90.	Световод гибкий, диаметр 4,5 мм, длина 600 мм	417052-9901-000	Световод гибкий 1500, 4.5/600 мм (D)	0,582	Ø4,5 мм x 600мм	
91.	Световод гибкий, диаметр 8 мм, длина 1000 мм	417063-9901-000	Световод гибкий 1500, 8/1000 мм (D)	0,368	Ø8мм x 1000 мм	

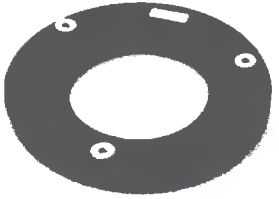
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
92.	Световод гибкий, диаметр 5,6 мм, длина 2000 мм	417069-9001-000	Световод гибкий 1500, 5.6/2000 мм (D)	0,293	Ø5,6мм x 2000 мм	
93.	Световод гибкий, диаметр 5 мм, длина 1000 мм	417075-9100-000	Световод гибкий 1500, 5/1000мм (D)	0,3	Ø5мм x 1000 мм	
94.	Световод гибкий, диаметр 4,5 мм, длина 1000 мм			0,2	Ø4,5мм x 1000 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
95.	Световод гибкий, диаметр 4,5 мм, длина 800 мм	435540-9001-000	ЕСО, 4.5/800 мм (D) Световод гибкий 1500 ЕСО, 4.5/800 мм (D)	0,1	Ø4,5мм x 800мм	
96.	Световод гибкий, диаметр 5 мм, длина 2200 мм.	417075-9220-000		0,9	Ø5мм x 2200мм	
97.	Световод с фокусирующей насадкой, диаметр 6 мм, длина 1000 мм	455145-0000-000	Встроенный световод 1500 с упором крепления (D) - Гибкий светопроводящей 6/1000 мм с фокусировкой крепления - Прочный металлический шланг из ПВХ Диапазон регулировки 45 мм для размещения мест в держателе светопроводящей	0,272	Ø20мм x 1000 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
98.	Световод двойной, диаметр 4,5 мм, длина 560 мм	417040-9210-000	Гибкий двойной световод 1500-90°, 2х 4.5/560мм (D)	0,7	2 ветви Ø4,5мм x 560 мм	
99.	Световод гибкий двойной, диаметр 5,6 мм, длина 1000 мм	417072-0000-000	Световод гибкий двойной 1500, 2х 5.6/1000 мм (D)	0,39	2 ветви Ø5,6 мм x 1000 мм	
100.	Световод гибкий двойной, диаметр 4,5 мм, длина 620 мм.	417075-9040-000		0,71	2 ветви диаметр 4,5 мм, длина 620 мм	

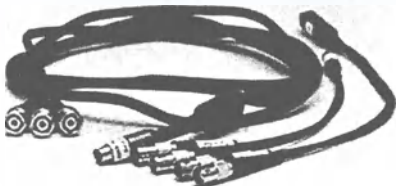
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
101.	Световод гибкий двойной ЕСО, диаметр 4,5 мм, длина 1000 мм	435540-9002-000	Световод гибкий двойной 1500 ЕСО, 2х 4.5/1000 мм (D)	0,17	2 ветви Ø4,5 ммх 1000 мм	
102.	Световод гибкий двойной с креплением для колонны, диаметром 4,5 мм, длина 200 мм	455146-0000-000	Универсальный падающий луч осветительной системы колонны 32 (D) гибкий световод 1500, 6.5/1000 мм гибкий световод 2 х 4,5 / 200 мм с 90 ° согнутыми выходами	0,830	2 ветви Ø6,5 мм х 1000 мм	
103.	Светофильтр конверсионный	000000-1063-317	Светофильтр конверсионный d=28мм (D)	0,01	Ø28мм х 2мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
104.	Светофильтр галогенный	435700-9020-000	Светофильтр галогенный CL LED (D)	0,006	Ø35мм х 26мм х 4мм	
105.	Светофильтр синий	435700-9022-000	для CL LED (D)	0,006	диаметр 32мм толщина 2 мм	
106.	Светофильтр зеленый	435700-9023-000	для CL LED (D)	0,006	диаметр 32мм толщина 2 мм	
107.	Светофильтр желтый	435700-9024-000	для CL LED (D)	0,006	диаметр 32мм толщина 2 мм	
108.	Светофильтр красный	435700-9025-000	для CL LED (D)	0,006	диаметр 32мм толщина 2 мм	
109.	Светофильтр дневной	435700-9021-000	для CL LED (D)	0,006	диаметр 32мм толщина 2 мм	
110.	Светофильтр нейтральный	435700-9026-000	для 0.25 CL LED (D)	0,006	диаметр 32мм толщина 2 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
111.	Светофильтр галогенный для источника CL 4500 LED	435700-9219-000	для CL 4500 LED (D)	0,006	диаметр 32мм толщина 2 мм	
112.	Насадка фокусирующая с комплектом светофильтров, в составе: светофильтр красный, светофильтр зеленый, светофильтр синий, светофильтр желтый	417060-9901-000	Насадка фокусирующая с комплектом светофильтров	0,07	85мм x 60мм x 35мм	
113.	Адаптер для столика предметного	435430-9010-000	Адаптер Stage 84/120 63 мм freedia, 3 невыпадающие винты. для монтажа блока D = 84мм на интерфейс d = 120 мм	0,15	Ø120мм x 5мм	
114.	Анализатор диаметром 49 мм с переходным кольцом диаметром 52 мм	435526-9000-000	Анализатор диаметром 49 мм с переходным кольцом диаметром 52 мм	0,12	Ø55мм x 10мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
115.	Лямбда-пластина в слайдере	455172-0000-000	Лямбда-пластина в слайдере	0,03	150ммх 60мм х 5мм	
116.	Системный блок управления, обработки изображения и архивации данных	410201-9908-000	Hewlett-Packard, модель P920, параметры: CPU Intel Core i5, жесткий диск 2 Тб, USB 3.0	11	500 мм х 600 мм х 250 мм	
117.	Блок питания	417095-9050-000	Блок питания 100...240V, 50...60Гц (D) для VisiLED	0,5	150мм х 60мм х 60мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
118.	Препаратодержатель	473371-9902-000	Препаратодержатель	0,02	60мм х 10ммх15мм	
119.	Держатель световода	417085-9002-000	Держатель световода для крепления (D)	0,05	D=25ммх 90мм	
120.	Кабели сетевые			0,1	Ø5 x 1500 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
121.	Кабели соединительные			0,15	Ø5 x 3000 мм	
122.	Камера цифровая AxioCam ERc 5	426540-9901-000	Микроскопия Камеры AxioCam ERC 5s Rev.2 с программным обеспечением драйвера 64-битной и подключения USB 2.0 Y-кабель, 2 м. Датчик: Micron MT9P031, 5 Мегапикселей, цвет, CMOS Базовая разрешение: 2560 (H) x 1920 (V) = 5.0 Мегапикселей Размер пикселя: 2,2 мкм x 2,2 мкм Размер матрицы: 5,7 мм x 4,28 мм, что эквивалентно 1 / 2.5 "(диагональ экрана 7,1 мм) Живая частота смены кадров (в зависимости от аппаратной и программной конфигурации): Н частота смены кадров V x 800 x 600 20 Живая автономный частота кадров через-D DVI (HDMI): Н частота кадров V x 1280 x 720 60 1920 x 1080 30 Оцифровка:	0,5	68мм x 68мм x 66мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			3 x 8 бит / пиксель время интегрирования: 10 мкс до 2 сек Интерфейсы: слот 1x SD (SD и SDHC карт), 1x мини USB 2.0 (соединительный кабель входит в комплект), 1x DVI-D (HDMI), 1x Ethernet RJ45 100 Мбит, диапазон 1x ИК-датчик Спектральный:.. Приблизительно 400 нм-700 нм, ИК-фильтр Считывание режима: прогрессивный оптический интерфейс: C-Mount Регистрация: условия СЕ окружающей среды: + 5 ° ... 45 ° по Цельсию, макс. 80% относительной влажности воздуха, без конденсации, свободная циркуляция воздуха требуется подключение питания: через 2x USB 2.0 (Y-кабель) или внешнего источника питания (опционально) кнопки управления: захват изображения, баланс белого Список поддерживаемых операционных систем: Windows 7 x32 Prof./			

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			Окончательный SP1 (ZEN 2012 облегченный), Windows 7 x64 SP1 Prof./Ultimate (ZEN 2 стартера / облегченная / ядро / Pro / система) камера сети с поддержкой и может быть использован с ZEISS Ipad App, Labscope или Matscope. В приложения доступны в качестве бесплатной загрузки с Apple App Store. Если не указано иное дистрибьютором. Ipad и WLAN маршрутизатор не поставляются компанией ZEISS.			
123.	Камера цифровая AxioCam ICc 5	426554-0000-000	Цифровая микроскопия камеры AxioCam ICc 5 (D) Микроскопия камеры вкл. Программный драйвер 64bit, FireWire IEEE1394b интерфейс PCIe x1 и FireWire IEEE1394b 9pin-9pin интерфейсный кабель, 5 м Количество пикселей: 2452 (H) x 2056 (V) = 5,0 мега пикселя размер цветной ПЗС пикселей: 3,45 мкм размер х Чип 3,45 мкм: 8,5 мм x 7,1 мм, что эквивалентно 2/3 "(диагональ 11 мм) живут	0,585	45мм x 45мм x 53мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			частотой кадров (в зависимости от конфигурации аппаратного и программного обеспечения): Н x V Частота кадров @ 1мс 2452 x 2056 9 кадров в секунду Измеряемая величина датчика субрегионов ("ROI"): Регулируемая Оцифровка: 12 бит / пиксель Время интегрирования: от 1 мс до 4 с интерфейсом (камеры): интерфейс интерфейса IEEE1394b (PC / платы): интерфейс IEEE1394b Оптический интерфейс: C-Mount Размер / Вес: пр. 4.5 см x 4,5 см x 5,3 см / 150 г Корпус: Синий лакированный алюминий Регистрация: CE, FCC Class B, RoHS Электропитание: через FireWire интерфейса условия окружающей среды: от + 5 ° ... + 45 ° по Цельсию, не более 80% относительной влажности воздуха, нет. конденсации, необходимые свободная циркуляция воздуха Поддерживаемые			

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			операционные системы: Windows 7 x32 SP1 Prof./Ultimate (ZEN 2012 облегченный, AxioVision 4.8.2), Windows 7 x64 SP1 Prof./Ultimate (ZEN 2 стартера / облегченная / ядро / Pro / система, AxioVision SE64)			
124.	Камера цифровая AxioCam ICc 1	426552- 9905-000	Микроскопия камеры AxioCam Icc 1 Rev.4 FireWire (O) Микроскопия камеры вкл. Программный драйвер 64bit, FireWire IEEE1394b интерфейс PCle x1 и FireWire IEEE1394b 9pin-9pin интерфейсный кабель, 5 м Количество пикселей: 1388 (H) x 1038 (V) = 1,4 мега пикселя цвет Размер пикселя: 4,65 мкм x размер чипа 4.65 мкм: 1 / 2 "Текущие частоты кадров (в зависимости от конфигурации аппаратного и программного обеспечения): H x V Частота кадров @ 1мс 1388 x 1038 15 кадров в секунду Измеряемая величина датчика субрегионов (" ROI "): Регулируемая Оцифровка: 8 бит / пиксель интегрирования по	0,5	45мм x 45мм x 53мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			времени: 1 мс до примерно 4 сек интерфейс (камера):. интерфейс IEEE1394b (800 Мбит / с) интерфейс (PC / платы): интерфейс IEEE1394b (800 Мбит / с) Оптический интерфейс: C-Mount Размер / Вес: пр. 4,5 см x 4,5 см x 5,3 см / 500 г Корпус: Синий лакированный алюминий Регистрация: CE Источник питания: через FireWire интерфейса условия окружающей среды: от + 5 ° ... + 45 ° по Цельсию Поддерживаемые операционные системы: Windows 7 x32 SP1 Prof./Ultimate (ZEN 2012 облегченный , AxioVision 4.8.2), Windows 7 x64 SP1 Prof./Ultimate (ZEN 2 стартера / облегченная / ядро / Pro / система, AxioVision SE64)			

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
125.	Камера цифровая AxioCam ICm1	426553-9902-000	Микроскопия камеры AxioCam IBM 1 Rev.1 FireWire (D) Микроскопия камеры вкл. Программный драйвер 64bit, FireWire IEEE1394b интерфейс PCIe x1 и FireWire IEEE1394b 9pin-9pin интерфейсный кабель, 5 м Количество пикселей: 1388 (H) x 1038 (V) = 1,4 мега пикселя цвет Размер пикселя: 4,65 мкм x размер чипа 4.65 мкм: 1 / 2 "Текущие частоты кадров (в зависимости от конфигурации аппаратного и программного обеспечения): H x V Частота кадров @ 1мс 1388 x 1038 15 кадров в секунду Измеряемая величина датчика субрегионов ("ROI"): Регулируемая Оцифровка: 8 бит / пиксель интегрирования по времени: 1 мс до примерно 4 сек интерфейс (камера):. интерфейс IEEE1394b (800 Мбит / с) интерфейс (PC / платы): интерфейс IEEE1394b (800 Мбит / с) Оптический интерфейс: C-Mount Размер / Вес: пр. 4,5 см x 4,5 см x 5,3 см / 500 г	0,5	45 мм x 45мм x 53 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			Корпус: Синий лакированный алюминий Регистрация: CE Источник питания: через FireWire интерфейса условия окружающей среды: от + 5 ° ... + 45 ° по Цельсию Поддерживаемые операционные системы: Windows 7 x32 SP1 Prof./Ultimate (ZEN 2012 облегченный , AxioVision 4.8.2), Windows 7 x64 SP1 Prof./Ultimate (ZEN 2 стартера / облегченная / ядро / Pro / система, AxioVision SE64)			
126.	Камера цифровая Axiocam 105 color	426555-0000-000	Камера для микроскопа AxioCam 105 цвет с программным обеспечением драйвера 64 бит, USB 3.0 PCIe x1 интерфейс, USB 3.0 соединительный кабель 3.0 м, SATA кабель питания и Molex кабель питания датчика: Aptina CMOS датчик цвета Базовая разрешение: 2560 (H) x 1920 (V) = 5.0 размер Megapixel пикселей: 2,2 мкм размер x Чип 2,2 мкм: 5,70 мм x 4,28 мм, что эквивалентно 1 / 2.5	0,5	29мм x 2 мм x 48мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			"(диагональ 7,1 мм) живут частотой кадров (в зависимости от аппаратной и программной конфигурации): Н x V Биннинг фактор Частота кадров @ 1 мс 2560 x 1920 1 15 1280 x 960 2 37 640 x 480 Частота кадров 4 47 для временных рядов записи (в зависимости от аппаратной и программной конфигурации): Н x V Биннинг фактор Частота кадров @ 1мс 2560 x 1920 1 8 1280 x 960 2 16 640 x 480 4 19 Показание датчика субрегионов ("ROI"): Регулируемая Оцифровка: 3 x 8 бит / пиксель Время интегрирования: 100 мкс до 2 с интерфейсом (камеры): USB 3.0 Micro-B интерфейс (PC / плата) .: диапазон USB 3.0 Стандартный Спектральная: приблизительно 400 нм - 650 нм, ИК-фильтр режим Считывание: Прогрессивное Оптический интерфейс: C-Mount (адаптер 0.5x рекомендуется) Размер /			

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			Вес: прибл. 2,9 см х 2,9 см х 4,76 см / 50 г Корпус: алюминий, магний, нержавеющая сталь Регистрация: CE, FCC Class B, RoHS Электропитание: через интерфейс USB 3.0, макс. 1,7 Вт (5 В, 0,34 А) Условия окружающей среды: 0 ° ... + 50 ° по Цельсию, макс. 80% относительной влажности воздуха, без конденсации, необходимых свободная циркуляция воздуха Поддерживаемые операционные системы: Windows 7 x64 SP1 Prof./Ultimate (ZEN 2 стартера / облегченная / ядро / Pro / система, AxioVision SE64)			

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
127.	Камера цифровая Axioscam 503 color	426558-0000-000	Камера для микроскопа Axioscam 503 color (D) высокого разрешения. Вкл. Программный драйвер 64 бит, - USB 3.0 PCIe x1 интерфейс, двойной USB 3.0 / USB 2.0 - ИК барьер фильтра BG 40 (с покрытием) - Количество пикселей: 1936 (H) x 1460 (V) = 2,8 мега пикселей - Размер пикселя: 4,54 мкм x размер 4.54 мкм чипа: 8,8 мм x 6,6 мм, что эквивалентно 2/3 "(11 мм по диагонали) - Спектральный диапазон: с ИК-барьер фильтра приложение 400 нм до 720 нм - Выбор разрешения: H Factor Биннинг x V 1936 x 1460 1x1 Базовая - Разрешение 968 x 728 2x2 Монохромный 640 x 484 3x3 цвет / Монохромный 480 x 364 4x4 Monochrome 384 x 292 5x5 цвет / Монохром - Оцифровка: 14 бит / 39 МГц или 13 МГц частота тактового сигнала - пикселей Динамический	2	108 мм x 78 мм x 43 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			диапазон: Типичный> 2500: 1 (> 68 дБ) при станд. <6.5 е шум считывания - Макс. размер файла на изображение: приложение. 17 МБ в 1936 x 1460 пикселей при 3 x 14 бит / пиксель размер / вес: ок. 10,8 см x 7,8 см x 4,3 см (2,3 "X3.2" X1.7 ") / 500 г Корпус: синий анодированный алюминий, с охлаждающими ребрами - Потребляемая мощность: 7 Вт (5V, 1.4A) условия окружающей среды: 5 ° ... + 35 ° по Цельсию, не более 80% относительной влажности воздуха, без конденсации, свободная циркуляция воздуха требуется Операционная система: Windows 7 x64 SP1 Prof./Ultimate (ZEN 2 стартера / облегченная / ядро / Pro / системы, AxioVision SE64 4.9.1 от SP2)			

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
128.	Камера цифровая Axioscam 506 color	426556-0000-000	Камера для микроскопа Axioscam 506 цветная Вкл. Программный драйвер 64 бит, - USB 3.0 PCIe x1 интерфейс, двойной USB 3.0 / USB 2.0 - Количество пикселей: 2752 (H) x 2208 (V) = 6 мегапикселей - Размер пикселя: 4,54 мкм x 4,54 мкм - чипа размер: 12 мм x 10 мм, что эквивалентно 1 "(16 мм по диагонали) - Разрешение: H x V Биннинг Factor 2752 x 2208 1x1 Базовая Разрешение 1376 x 1104 2x2 Монохромный 912 x 736 3x3 цвет / Монохромный 688 x 552 4x4 Монохромный 554 x 440 5x5 цвет / Monochrome - Макс. размер файла на изображение: приложение. 36.5 MB в 2752 x 2208 пикселей при 3 x 14 бит / пиксель размер / вес: ок. 10,8 см x 7,8 см x 4,3 см (2,3 "X3.2" X1.7 ") / 500 г - Корпус: синий анодированный алюминий, с охлаждающими ребрами, 1/4" фото резьба для	2	108 мм x 78 мм x 43 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			крепления штатива - питание питания обеспечивается USB 3.0 для шины камеры электроники и USB 2.0 для термоэлектрического охлаждения, - Потребляемая мощность: 7 Вт (5V, 1.4A) условия окружающей среды: 5 ° ... + 35 ° по Цельсию, не более 80% относительной влажности воздуха, без конденсации, свободная циркуляция воздуха требуется - Операционная система: Windows 7 x64 SP1 Prof./Ultimate (ZEN 2 стартера / облегченная / ядро / Pro / системы, AxioVision SE64 4.9.1 от SP2)			
129.	Камера цифровая AxioCam 512 color	426560-9000-000	Камера для микроскопа AxioCam 512 цветная Вкл. Программный драйвер 64 бит - USB 3.0 PCIe x1 интерфейс, двойной USB 3.0 / USB 2.0 - Количество пикселей: 4250 (H) x 2838 (V) = 12 мегапикселей Размер пикселя: 3,1 мкм x размер	2	108 мм x 78 мм x 43 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			3,1 мкм чипа: 13,2 мм x 8,8 мм, что эквивалентно 1" (16 мм по диагонали) - Разрешение: H x V Биннинг Factor 4248 x 2832 1x1 Основные разрешением 2120 x 1416 2x2 Monochrome 1416 x 944 3x3 цвет / Monochrome 1056 x 708 4x4 Монохромный 848 x 564 5x5 цвет / Monochrome - Оцифровка: 14 бит / 39 МГц или 13 МГц частота тактового сигнала пикселей Динамический диапазон: Типичный> 1380: 1 (> 62 дБ) при станд. <6.5 е шум считывания Темновой ток: ок 0,1 е / п / с Время интегрирования: 0,25 мс до 60 сек - Оптический интерфейс: C-Mount, с тефлоновым покрытием резьбы глубина резьбы для целей: макс. 5 мм - Макс. размер файла на изображение: приложение. 72 МБ на 4248 x 2832 пикселей при 3 x 14 бит / пиксель размер / вес: ок. 10,8 см x 7,8 см x 4,3 см (2,3 "X3.2" X1.7 ") / 500 г			

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			- Корпус: синий анодированный алюминий, с охлаждающими ребрами, 1/4" фото резьба для крепления штатива - Потребляемая мощность: 7 Вт (5V, 1.4A) - условия окружающей среды: 5 ° ... + 35 ° по Цельсию, не более 80% относительной влажности воздуха, без конденсации, свободная циркуляция воздуха требуется - Операционная система: Windows 7 x64 SP1 Prof./Ultimate (ZEN 2 Lite / Pro / система)			
130.	Камера цифровая Axiocam 503 mono	426559-0000-000	Камера для микроскопа Axiocam 503 монохроматическая Вкл. Программный драйвер - USB 3.0 PCIe x1 интерфейс, двойной USB 3.0 / USB 2.0 - Количество пикселей: 1936 (H) x 1460 (V) = 2,8 мега пикселей - Размер пикселя: 4,54 мкм x 4,54 мкм - чипа размер: 8,8 мм x 6,6 мм, что эквивалентно 2/3 "(11 мм по диагонали) - Оцифровка: 14 бит / 39 МГц или 13 МГц частота	2	108 мм x 78 мм x 43 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			тактового сигнала пикселей - Динамический диапазон: Типичный > 2500: 1 (> 68 дБ) при станд. <6.5 е шум считывания - Темновой ток: ок 0.06 е / р / с - Время интегрирования: 1 мс до 60 сек - Макс. размер файла на изображение: приложение. 5.6 MB в 1936 x 1460 пикселей при 14 бит / пиксель размер / вес: ок. 10.8 см x 7.8 см x 4,3 см (2,3 "X3.2" X1.7 ") / 500 г - Корпус: синий анодированный алюминий, с охлаждающими ребрами, 1/4" фото резьба для крепления штатива - Потребляемая мощность: 7 Вт (5V, 1.4A) - условия окружающей среды: 5 ° ... + 35 ° по Цельсию, не более 80% относительной влажности воздуха, без конденсации, свободная циркуляция воздуха требуется - Операционная система: Windows 7 x64 SP1 Prof./Ultimate (ZEN 2			

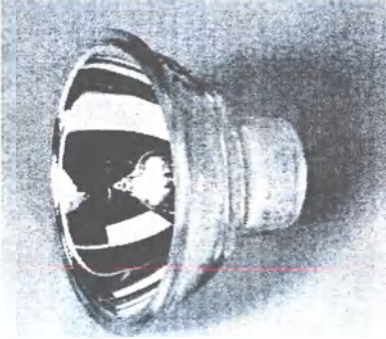
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			стартера / облегченная / ядро / Pro / системы, AxioVision SE64 4.9.1 от SP2)			
131.	Камера цифровая AxioCam 506 mono	426557-0000-000	Камера для микроскопа AxioCam 506 монохроматическая Вкл. Программный драйвер - USB 3.0 PCIe x1 интерфейс, двойной USB 3.0 / USB 2.0 - количество пикселей: 2752 (H) x 2208 (V) = 6 мегапикселей - Размер пикселя: 4,54 мкм x 4,54 мкм - размер мкм чипа: 12 мм x 10 мм, что эквивалентно 1 "(16 мм по диагонали) - Выбор разрешения: H x V Биннинг Factor 2752 x 2208 1x1 Базовая Разрешение 1376 x 1104 2x2 912 x 736 3x3 688 x 552 4x4 554 x 440 5x5 - Оцифровка: 14 бит / 39 МГц или 13 МГц частота тактового сигнала пикселей - Динамический диапазон: Типичный > 2500: 1 (> 68 дБ) при станд. <6.5 е шум считывания - Темновой ток: ок 0,06 е / р / с - Время	2	108 мм x 78 мм x 43 мм	

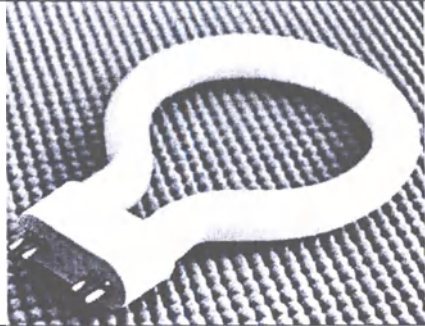
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			интегрирования: 1 мс до 60 сек - Макс. размер файла на изображение: приложение. 12.1 МВ в 2752 x 2208 пикселей при 14 бит / пиксель размер / вес: ок. 10,8 см x 7,8 см x 4,3 см (2,3 "X3.2" X1.7 ") / 500 г - Корпус: синий анодированный алюминий, с охлаждающими ребрами, 1/4" фото резьба для крепления штатива - Потребляемая мощность: 7 Вт (5V, 1.4A) - условия окружающей среды: 5 ° ... + 35 ° по Цельсию, не более 80% относительной влажности воздуха, без конденсации, свободная циркуляция воздуха требуется - Операционная система: Windows 7 x64 SP1 Prof./Ultimate (ZEN 2 стартера / облегченная / ядро / Pro / системы, AxioVision SE64 4.9.1 от SP2)			

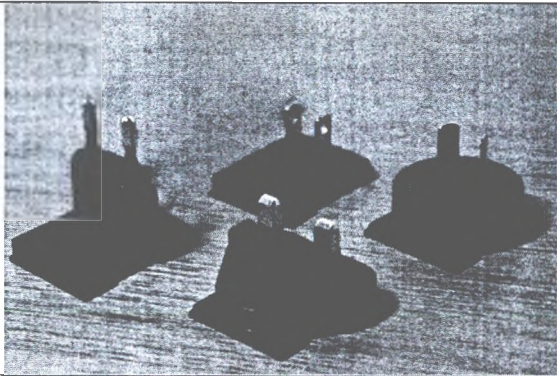
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
132.	Камера цифровая AxioCam 702 mono	426560-9010-000	Камера для микроскопа AxioCam 702 монокроматическая Вкл. Программный драйвер - USB 3.0 PCIe x1 интерфейс, двойной USB 3.0 / USB 2.0 - Количество пикселей: 1920 (H) x 1216 (V) = 2,3 мега пикселей - Размер пикселя: 5,86 мкм x 5,86 мкм чипа размер: 11,3 мм x 7,1 мм, что эквивалентно 1 / 1.2 "(13,3 мм по диагонали) - Разрешение: H x V Биннинг Faktor (цифровой) 1920 x 1216 кол 1x1 базовый пикселей 960 x 608 2x2 640 x 404 3x3 480 x 304 4x4 384 x 240 5x5 - Оцифровка: 14 бит (внутренний 12-битный АЦП, 14 Bit обработкой данных) - Динамический диапазон: Типичный > 5000: 1 (74 дБ) при станд. <6.е шум считывания Темновой ток: ок 1.1 е / p / с - Время интегрирования: 0,1 мс до 60 сек - Макс. размер файла на изображение: приложение.	2	108 мм x 78 мм x 43 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
			4.7 МВ в 1936 x 1460 пикселей при 14 бит / пиксель размер / вес: ок. 10,8 см x 7,8 см x 4,3 см (2,3 "X3.2" X1.7 ") / 500 г - Корпус: синий анодированный алюминий, с охлаждающими ребрами, 1/4" фото резьба для крепления штатива - Потребляемая мощность: 7 Вт (5В, 1.4А) - условия окружающей среды: 5 ° ... + 35 ° по Цельсию, не более 80% относительной влажности воздуха, без конденсации, свободная циркуляция воздуха требуется - Операционная система: Windows 7 x64 SP1 Prof./Ultimate (ZEN 2 Lite / Pro / система)			

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
133.	Кейс транспортiroвочный для Stemi 305/508	435065-9000-000	Транспортировочная сумка Stemi 305/508 (D) - чемодан на колесиках для транспортировки и хранения для Stemi 305/508, стенд К, передняя оптика и осветители К - Боковые ручки, закрывается и пыленепроницаемый - Подходит для пересылки только с дополнительной упаковкой	8	615мм x 540мм x 325мм	
134.	Кейс транспортiroвочный для Stemi 305	435065-9010-000	Кейс Stemi 305 (D) Set-Top чехол для транспортировки и хранения Stemi 305 Trino и Stemi 305 камера, передняя оптика, окуляр, AxioCam ERs 5s и iPad - удобоукладываемый / с фиксацией сверху кейса Stemi 305/508 - Боковые ручки, закрывается и пыленепроницаемый - Подходит для пересылки только с дополнительной упаковкой	6	540мм x 435мм x 325 мм	

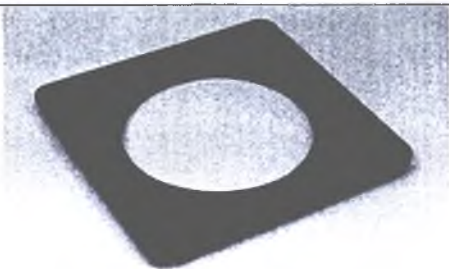
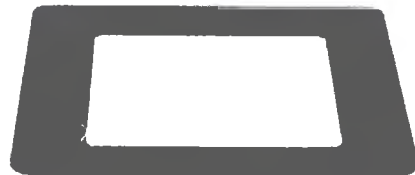
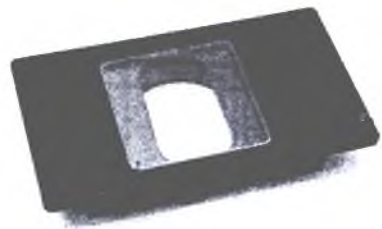
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
135.	Комплект принадлежностей к камере цифровой, в составе: - Блок питания камеры с кабелем; - Кабель соединительный; - Карта памяти; - Картридер; - Пульт дистанционного управления; - Комплект из четырех адаптеров.	426540-0003-000	Рабочее напряжение 100-240В - Блок питания камеры - Кабель камеры - Кабель соединительный - Карта памяти, объемом 4 Гб - Картридер - Пульт дистанционного управления	0,2 0,1 0,01 0,05 0,1 0,02 (для каждого адаптера)	50x20x30 мм Ø4x2000 мм Ø5x3000 мм 20x15x1 мм 60x15x0,8 80x25x30 мм 30x30x30 мм (для каждого адаптера)	
136.	Лампа галогенная	417053-0000-000	Лампа 15В 150Вт Галогеновая отражатель (D)	0,027	40мм x 40мм x 40мм	

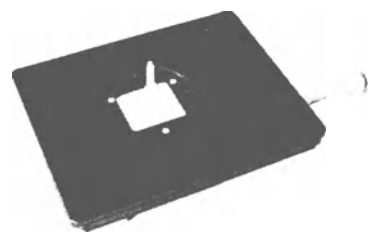
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
137.	Лампа неоновая	417040-9120-000	Лампа неоновая 5500К, запасная. Запасная трубка для 417040-9100-000	0,1	110мм х 80мм х 15мм	
138.	Лампа светодиодная	000000-0552-377	Лампа светодиодная 3x2Вт, дневного света 6000К, GU5.3	0,053	50 мм х 50 мм х 50 мм	
139.	Модуль памяти оперативной	410201-0802-000	Память 8 Гб (2x4) DDR3-1600 МГц без ECC RAM небуферизован (О), состоящий из 2 х 4 Гб модулей	0,1	150 мм х 50 мм х 5 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
140.	Монитор	410350-2404-000	Монитор TFT 24" HP Z24i (диагональ 61 см) (O) производитель: Hewlett-Packard	9,2	580мм х 380мм х 80мм	
141.	Набор электрических адаптеров		Для конкретной страны (4 шт.)	0,02 (для каждого адаптера)	30х30х30 мм (для каждого адаптера)	
142.	Насадка на окуляр антибликовая	444801-0000-000		0,004	Диаметр 35 мм, толщина 10 мм.	

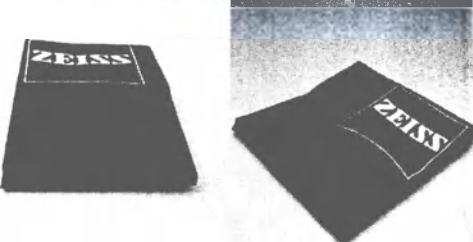
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
143.	Насадка фокусирующая, диаметр 10 мм	417089-0000-000	Насадка фокусирующая, диаметр 10 мм	0,03	Ø20 x 30 мм	
144.	Насадка фокусирующая, диаметр 6 мм	435540-9003-000	Насадка фокусирующая, диаметр 6 мм без фильтра	0,02	40мм x 30мм x 25мм	
145.	Клавиатура		Производства Hewlett-Packard	1	400 мм x 150 мм x 50мм	
146.	Мышь		Производства Hewlett-Packard	0,3	80 мм x 80 мм x 50 мм	

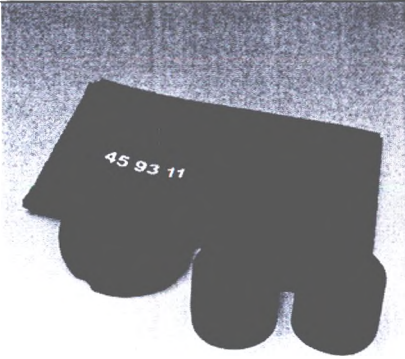
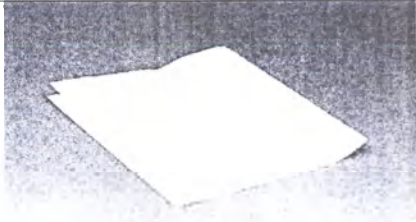
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
147.	Педаля ножная	435602-9010-000	Педаля ножная S (D) 100x70x28мм пластмассовое покрытие, 1.9m кабель и 2,5 мм с контактным разъемом	0,08	100мм x 70мм x 28мм	
148.	Перекрестие окулярное	474064-0000-000	Перекрестие окулярное d=26 мм	0,003	Ø26мм X 1мм	
149.	Подставка для рук	435425-9010-010	Подставка для рук для штатива K LAB - Для повышения операционной эргономики	1,21	400мм x 170мм x 60мм	
150.	Препаратоводитель	413455-0000-000	Препаратоводитель 75x25 для предметного стекла	0,245	100мм x 100 мм x 15мм	

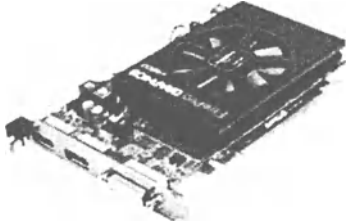
№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
151.	Рамка для столика предметного монтажная	435461-9001-000	Рамка для столика предметного монтажная 116x116 / 84 мм (Ø)	0,1	116мм x 116мм x 5мм	
152.	Рамка для столика предметного переходная	435465-9050-000	Рамка для столика предметного переходная 160x116 отраженного света Стапели и пластины 160x116 из Axio Imager адаптированы к штативу S 150x100, используя вместе с просвечивания сверху 450 Mot (435500-9000) не допускается	0,35	160мм x 116мм x 5мм	
153.	Стекло защитное	455052-9004-000	Стекло защитное M50 с M49x0.75	0,03	Ø55мм x 5мм	
154.	Столик предметный скользящий	435461-0000-000	Столик предметный скользящий S 110x110. d = 120 мм (D) 3 плиты ступени 267x152x32мм с x-y шариковых дорожки и стеклянная пластина 116x116мм; пригодна для работы с	1,7	267мм x 152мм x 32мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
155.	Столик предметный скользящий механический	435465-9010-000	просвечиванием Столик предметный скользящий механический S 150x100 R (D) 3 плиты стадии механической 322x251x28 мм для макс. нагрузка 3 кг; с горизонтальным коаксиальным приводом 115 мм справа, Интерфейс d = 120 мм и поддержка 237x157 мм для вставки пластины S; используется с просвечивания	4,6	322мм x 251мм x 28 мм	
156.	Столик предметный скользящий вращающийся	455122-0000-000	Столик предметный скользящий вращающийся +/-20мм, d=84мм	1,529	Ø200 мм x 35мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
157.	Столик предметный наклонный вращающийся	455120-9901-000	Столик предметный скользящий вращающийся с поляризатором с 2 зажимами, стеклянная пластина 72 мм и опора для поляризатор 455174 и Lambda пластина 455172	0,336	Ø120мм х 35мм	
158.	Столик предметный шарнирный	455123-9901-000	Столик предметный шарнирный +/- 30 ° - штатив пластины D = 158 мм с интерфейсом d = 84мм - Сцепленный с покрытием пластины D = 84 мм - 2 клипсы	0,58	Ø160мм х 55мм	
159.	Указатель окулярный	000000-1095-418	Фиксированный указатель окулярный 26мм	0,011	Ø26мм X 1мм	
160.	Чехлы для очков двойные			0,06	100x40x40 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
161.	Чехлы для окуляров одинарные			0,03	Ø40x40 мм	
162.	Чехол пылезащитный, размер 450x150x500 мм, или Чехол пылезащитный, размер 650x270x500 мм, или Чехол пылезащитный, размер 300x190x400 мм, или Чехол пылезащитный, размер 570x135x650 мм, или Чехол пылезащитный, размер 650x200x570 мм, или Чехол пылезащитный, размер	415500-1800-000 415510-1901-000 459300-0000-000 459306-0000-000 459311-0000-000 459315-0000-000		0,08 0,05 0,037 0,069 0,095 0,07	450мм x 150мм x 500 мм 650мм x 270мм x 500мм 300мм x 190 мм x 400мм 300мм x 190 мм x 400мм 650мм x 200мм x 570мм 520мм x 240мм x	  

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
	520x240x470 мм, или Чехол пылезащитный, размер 300x190x500 мм	459325-0000-000		0,042	470мм 300мм x 190мм x 500мм	
163.	Набор пылезащитный 1, в составе: чехол пылезащитный 650x200x570 мм, чехол для окуляров, заглушка защитная, или Набор пылезащитный 2, в составе: чехол для окуляров, заглушка защитная	434303-0000-000 434302-0000-000	Защита от пыли Набор 1 Набор 2	0,2 0,1	650мм x 200мм x 570мм 120мм x 40мм x 20мм	
164.	Салфетки для чистки оптики	462975-0000-000	Для чистки линз	0,1	120 мм x 120 мм x 40 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
165.	Плата видеозахвата	410331-1300-000	Графическая плата FTS AMD FirePro V4900 1GB DisplayPort / DVI (O) Профессиональная графическая плата для компактных рабочих станций 1 GB GDDR5 (Double Data Rate) памяти PCI Express 2.1 x16 интерфейсом Аппаратное ускорение DirectX 11 и OpenGL 4.2 расширенные возможности Поддержка двух дисплеев (DH) Показать результаты: - 2 x DisplayPort - 1 x Dual Link DVI + 1x DisplayPort на DVI-I Dual Link DVI 1x поддержки для 30 "поддержка дисплеев DisplayPort 2x для 30" дисплеев	1,5	150 мм x 300 мм x 40 мм	
166.	Разветвитель	410361-1000-000	USB-адаптер - 4x RS232 EX-1334V (O) с питанием через USB-шину. Интерфейсы: 1x USB, 4x USB RS232 Inclusive соединительный кабель, 2м	0,5	200 мм x 120 мм x 50 мм	

№	Наименование	Каталожный номер	Описание	Масса, кг ±5%	Размер ±5%	Внешний вид
167.	Жесткий диск	410323-2000-000	Жесткий диск 2TB 7200 RPM SATA, дополнительный	0,5	150 мм x 100 мм x 40 мм	
168.	Отвертка сервисная SW1.5			0,05 кг	170 мм x20 мм x20 мм	
169.	Отвертка сервисная SW2.0			0,05 кг	230 мм x20 мм x20 мм	
170.	Отвертка сервисная SW3.0			0,05 кг	300 мм x20 мм x20 мм	
171.	Отвертка сервисная SW5.0			0,05 кг	350 мм x20 мм x20 мм	
172.	Ключ шестигранный сервисный			0,05 кг	150 мм x50 мм x10 мм	

Эксплуатационные данные

Stemi 508	
Оптическая схема	Грену
Базовый коэффициент трансфокации	8х
Базовое увеличение	6,3х...50х
Рабочее расстояние при базовом увеличении	92 мм
Максимальный диапазон общего увеличения	2х...250х
Максимальное рабочее расстояние	286 мм
Фокусировочный привод	Ручной
Предметный столик	Механический координатный предметный столик Поворотный предметный столик Столик на шаровой шарнирной основе Скользкий предметный столик
Осветительная система проходящего света	Наличие
Окуляры	10х, 16х, 25х
Методы исследования в падающем свете	Светлое поле Темное поле Поляризационный контраст
Методы исследования в проходящем свете	Светлое поле Темное поле Поляризационный контраст
Программное обеспечение	Axio Vision / ZEN
Система регистрации изображения	Цветная или монохромная цифровая камера, фотоаппарат

Технические характеристики

Тип микроскопа	Стереоскопический микроскоп, схема Грену
Конструкция	Две зум системы, сходящиеся под стерео углом
Стереоскопическое наблюдение	Объемное через окуляры
Апохроматически скорректированная оптика	Изображение без цветовых искажений во всем диапазоне увеличений
Оптические характеристики базовой системы (окуляры 10х, без фронтальных линз)	
Диапазон увеличений	6.3х-50х
Рабочее расстояние	92 мм
Максимальное разрешение	225 пл/мм – 2.2 мкм
Максимальное поле зрения на предмете	37 мм
Оптические характеристики системы (окуляры, фронтальные линзы)	
Диапазон увеличений	1.9х-250х
Рабочее расстояние	35-287 мм
Максимальное разрешение	450 пл/мм – 1.1 мкм
Максимальное поле зрения на предмете	123 мм
Корпус микроскопа	
Диапазон увеличений	8:1 (0.63х - 5.0х)
Качество зуммирующей системы	Апохроматически скорректированная,

	высококонтрастная, без дисторсии
Парфокальность	Объект остается в фокусе при смене увеличения
Эргономичный наклон окулярных трубок	35°
Межзрачковое расстояние	55 – 75 мм
Отсечки в диапазоне зуммирования	10 отсечек: 0.63x, 0.8x, 1x, 1.25x, 1.6x, 2x, 2.5x, 3.2x, 4x, 5x активируются по выбору
Поле зрения в пространстве изображений	23 мм
Документирование на Stemi 508 doc	Фотопорт с полным переводом светового потока из правого канала, включает встроенный C-mount адаптер кратностью 0.5x
Интерфейсы	
Фронтальные линзы и анализатор	d = 30 мм
Держатель корпуса	d = 76 мм
Осветительные устройства	d = 53мм, d = 66 мм (с переходным кольцом 53/66)
Каждый микроскоп включает окуляры 10x/23 Вг. фоc и соединительный кабель RJ12	
Системы на штативах К	
Основание	W200 × D310 × H35 мм (K LAB: H90 мм)
Рабочая поверхность	W160 × D195 mm
Колонна с держателем корпуса, приводом фокусировки, рукояткой для переноса	
Высота	250 мм
Диапазон подъема	145 мм
Крепление для микроскопа	d = 76 мм
Крепление для столов	d = 84 мм
Крепление для поляризатора	d = 45 мм
Разъем для осветителей К	В держателе корпуса
Включает стеклянную вставку или черно-белую вставку D = 84*5 мм, пылезащитный чехол	
Штативы К	
Штатив К без разъемов электропитания, с резьбовыми отверстиями 2*M8 для крепления осветительных устройств	
Штатив К МАТ с отраженным поле)освещением и антистатической поверхностью	
Штатив К EDU с отраженным и проходящим LED освещением (светлое и темное поле)	
Штатив К LAB с отраженным и проходящим LED освещением (светлое и темное поле, наклонное освещение)	
Отдельные кнопки управления для отраженным / проходящим света (включение / выключение / затемнение)	
Встроенный блок питания, сменный	12 В постоянного тока 24 Вт / 100...240 В переменного тока / 50...60 Гц
Оптические характеристики LED осветителей для штативов К	
Цветовая температура	около 5600 К
Срок службы	Около 25000 часов (до снижения интенсивности до 70%)
Встроенный вертикальный LED осветитель (IVI)	Освещенность макс. около 20000 лк
Точечный осветитель К, регулируется по высоте и фокусу	Освещенность макс. около 30000 лк (центр поля зрения)
Осветитель точечный светодиодный двойной К	Освещенность макс. около 90000 лк (центр поля зрения)
Осветитель кольцевой светодиодный	Освещенность макс. около 55000 лк
	Рабочее расстояние 50...300 мм

	(применим с дополнительной линзой 2х)
Встроенный осветитель проходящего света	
Плоский осветительный модуль (штатив К EDU)	Освещенность макс. около 20000 лк (светлое поле)
Осветительный модуль с подвижным зеркалом (штатив К LAB)	Освещенность макс. около 25000 лк, переменный угол наклона лучей
Штатив N	
Габариты основания	W440xD370 мм
Высота/диаметр колонны	350 или 450 мм /в = 32 мм
Разъем для предметных столов	Ø84 мм
Включает черно-белую вставку с основание D= 84 и предохранительное зажимное кольцо	
Дополнительно необходим держатель корпуса микроскопа	
Предметные столы для разъема 84 мм	
Скользкий стол +/- 20 мм, поворотный, d= 84 мм	
Столик предметный наклонный +/- 30 град. , вращающийся, d= 84 мм	
Поворотный стол для поляризационных исследований	
Штатив U	
Дина штанги\Высота подъема\Максимальная нагрузка	580 мм / 500 мм / 2 – 4,8 кг
Длина выносной штанги	735 мм, 1060 мм
Крепление штатива на стол	Допустимая толщина крышки стола 5 – 75 мм
Штанга Длина/Диаметр	100 мм / Ø 32 мм
Дополнительно необходим Держатель корпуса микроскопа	
Волоконно-оптические осветители	
Источник холодного света CL 4500 LED CRI90	
Лампа	Светодиодная
Световой поток в диаметре 9 мм	Около 450 лм
Цветовая температура	Около 5400 К
Индекс цветопередачи	>90
Срок службы источника	Средняя продолжительность
Детектор световода	Автоматическое отключение
Держатель светофильтров	На 2 светофильтра
Блок питания	Макс. 50 Вт
Источник холодного света CL 1500 HAL	
Источник света	150 Вт галогеновая лампа
Световой поток в диаметре 9 мм	Макс. 600 лм
ЖК дисплей	Отображение яркости, цветовой температуры, отсчет времени работы лампы
Средний срок службы галогенной лампы мощностью 150 Вт	Около 150 ч
Держатель светофильтров	На один светофильтр d = 28 мм
Световоды	
Гибкие световоды одно- и двуплечевые	Наклонный свет, повышение объемности изображения
Дополнительно требуются держатели	
Гибкие световоды одно- и двуплечевые	Наклонный свет, повышение объемности изображения, самоподдерживающиеся
Кольцевой осветитель для светлого поля	Бестеневое освещение
Кольцевой осветитель для темного поля	Бестеневое освещение
Линейный свет 50 мм	Гомогенное поверхностное освещение
Вертикальный осветитель	Для освещения отверстий

Диффузор S	Бестеновой мягкий свет
Диффузный плоскостной осветитель	Мягкий свет с резким теневым эффектом
Дополнительные аксессуары к осветителям	
Фокусирующие насадки для световодов	Повышение яркости
Поляризаторы для световодов и кольцевых осветителей	Снижающие блики

Допустимое отклонение $\pm 5\%$

Ниже приведена таблица с материалами насадок на окуляры, имеющих контакт с человеком:

Наименование изделия:	Материал	Контакт
Насадка на окуляр защитная для очков	Нитриловый каучук NBR (CAS №9005-98-5) / Поливинилхлорид (CAS №9002-86-2) твердость по Шору 70	Кратковременный контакт с кожей
Насадка на окуляр антибликовая		
Корпус микроскопа, варианты исполнения: Stemi 305 / Stemi 305 trino / Stemi 305 sam	- Термопластик АБС+ПК HP-1001 - Сплав EN AC-Al Si12Cu1(Fe)F - Сплав CuZn40Pb2 F43	Кратковременный контакт с кожей
Окуляры: Окуляр 10х/23, окуляр 16х/14, окуляр 16х/16, окуляр 25х/10	- Нитриловый каучук NBR (CAS №9005-98-5) / Поливинилхлорид PVC (CAS №9002-86-2), твердость по Шору 70 - Алюминиевый сплав LY12-CZ EN AW-2024 - Оптическое стекло HZK50	Кратковременный контакт с кожей

Руководство пользователя.
Программное обеспечение.
ZEN 2.3 (blue)



We make it visible.

Carl Zeiss Microscopy GmbH

Карл-Цейс-Променаде 10
07745 Йена, Германия
microscopy@zeiss.com
www.zeiss.com/microscopy



Carl Zeiss Microscopy GmbH

Королевская аллея 9-21
37081 Геттинген
Германия

Дата вступления в силу: апрель 2016 г.

© Йена 2016 г., Carl Zeiss Microscopy GmbH. Все права защищены.

Запрещается перевод, воспроизведение или передача настоящего документа в целом или его части при помощи любых электронных и механических способов, включая фотокопирование, запись и применение любых других систем хранения информации. Нарушение прав преследуется по закону.

Использование общих описательных наименований, зарегистрированных наименований, торговых марок и пр. в настоящем документе не подразумевает, даже если это явно не указано, что на подобные наименования не распространяются соответствующие законы и подзаконные акты о защите интеллектуальной собственности и что такие наименования можно использовать бесплатно. Программное обеспечение является исключительной собственностью компании ZEISS. Запрещается передача программ, документации и обновлений третьей стороне без предварительного письменного разрешения компании ZEISS. Кроме того, запрещается копирование и иное воспроизведение указанных материалов даже для внутренних нужд заказчика, за исключением создания одной резервной копии в целях безопасности.

Компания ZEISS сохраняет за собой право вносить изменения в данный документ без предварительного уведомления.

1	О настоящем документе	16
1.1	Используемые условные обозначения	16
1.2	Отображение примечаний по технике безопасности и предупреждающих табличек	16
1.3	Нормативные примечания.....	17
2	Базовые принципы.....	19
2.1	Введение	19
2.2	Получение изображений.....	19
2.3	Обработка изображений.....	19
2.4	Анализ изображений.....	20
2.5	Формат файла	20
2.6	Расширения	20
3	Начало работы	21
3.1	Запуск программного обеспечения	21
3.2	Пользовательский интерфейс	22
3.2.1	Заголовок окна	22
3.2.2	Конфигурация рабочего пространства	23
3.2.3	Строка меню.....	23
3.2.4	Панель инструментов.....	23
3.2.5	Левая область инструментов.....	24
3.2.6	Центральная область экрана	24
3.2.7	Правая область инструментов	25
3.2.8	Панель документов.....	25
3.2.9	Строка состояния.....	26
3.2.9.1	Системные сообщения	27
3.3	Настройка языка пользователя	28
3.4	Активация режима Show All.....	29
3.5	Настройка компонентов микроскопа	29
3.6	Получение первого изображения	31
3.7	Добавление аннотаций к изображению	33
3.8	Настройка живого изображения.....	34
3.9	Ручное масштабирование	35
3.10	Завершение работы программного обеспечения	36
4	Получение изображений.....	38
4.1	Настройка многоканальных экспериментов	38
4.1.1	Настройка нового эксперимента	39

4.1.2	Вариант 1. Smart Setup (Быстрая настройка).....	39
4.1.3	Вариант 2. Инструмент Channels (Каналы)	42
4.2	Получение изображений срезов по оси Z	43
4.2.1	Настройка эксперимента с изображением серии срезов по оси Z в автоматическом режиме	44
4.2.2	Ручная настройка среза по оси Z (режим первой/последней плоскости).....	45
4.2.3	Ручная настройка среза по оси Z (режим средней плоскости).....	46
4.3	Получение изображений временной серии	47
4.4	Отображение и настройка расчетной сетки в области изображения	49
4.5	Получение конфокальных изображений	50
4.6	Работа со стратегиями фокусирования	55
4.6.1	Введение	55
4.6.2	Использование программной автофокусировки	56
4.6.3	Использование точной фокусировки в экспериментах с временными сериями	58
4.6.4	Использование локальных или общих фокальных поверхностей.....	58
5	Обработка изображений	61
5.1	Порядок обработки изображений	61
5.2	Общие настройки	61
5.3	Деконволюция со значениями по умолчанию	63
5.4	Настраиваемая деконволюция	67
5.4.1	Шаг 1. Усреднение гранул.....	67
5.4.2	Шаг 2. Создание PSF	70
5.4.3	Шаг 3. Загрузка входного изображения для деконволюции	74
5.4.4	Шаг 4. Задание параметров для деконволюции	75
5.4.5	Шаг 5. Выполнение деконволюции	80
5.4.6	Шаг 6. Активация и использование древовидного меню	82
5.5	Извлечение отдельных флуоресцентных изображений из многоканального изображения	85
5.6	Пакетная обработка	87
5.7	Кадрирование области интереса.....	92
5.8	Создание EDF-изображения	96
5.9	Функции обработки изображений	98
5.9.1	Деконволюция	98
5.9.1.1	Деконволюция по умолчанию	98
5.9.1.2	Настраиваемая деконволюция	99
5.9.1.3	Создание PSF	111
5.9.1.4	Bead Average (Усреднение гранулы)	112
5.9.1.5	Методы деконволюции в ZEN.....	114
5.9.2	Настройка	119
5.9.2.1	Цветовой баланс	119
5.9.2.2	Оттенок / Насыщенность / Яркость	120
5.9.2.3	Баланс белого	120
5.9.2.4	Цветовая температура	121

	5.9.2.5	Яркость / Контрастность / Гамма	121
	5.9.2.6	Коррекция серии срезов по оси Z	121
	5.9.2.7	Коррекция равномерности освещения	122
	5.9.2.8	Вычитание фона	123
	5.9.2.9	Выравнивание гистограммы	123
5.9.3	Границы	124	
	5.9.3.1	Фильтрация верхних частот	124
	5.9.3.2	Оператор Робертса	124
	5.9.3.3	Максимальный градиент	125
	5.9.3.4	Сумма градиентов	125
	5.9.3.5	Метод Собеля	125
	5.9.3.6	Фильтр высоких частот Лапласа	125
	5.9.3.7	Локальная дисперсия	125
5.9.4	Геометрические преобразования	125	
	5.9.4.1	Выравнивание каналов	125
	5.9.4.2	Выравнивание серии срезов по оси Z	127
	5.9.4.3	Сшивка	128
	5.9.4.4	Наложение изображения	130
	5.9.4.5	Вращение	131
	5.9.4.6	Вращение двумерных изображений	132
	5.9.4.7	Отражение	133
	5.9.4.8	Изменение ориентации	133
	5.9.4.9	Изменение размера	133
	5.9.4.10	Ортогональная проекция	135
	5.9.4.11	Shift (Смещение)	136
	5.9.4.12	Цветокодированная проекция	136
	5.9.4.13	Уменьшение образца	136
	5.9.4.14	Выравнивание каналов (расширенное)	137
5.9.5	Морфологические преобразования	138	
5.9.6	Усиление резкости	140	
	5.9.6.1	Увеличенная глубина резкости	140
	5.9.6.2	Очерчивание	141
	5.9.6.3	Выделение контуров	142
	5.9.6.4	Нерезкое маскирование	142
5.9.7	Сглаживание	144	
	5.9.7.1	Медиана	144
	5.9.7.2	Sigma (Сигма)	144
	5.9.7.3	Низкочастотная фильтрация	144
	5.9.7.4	Биномиальный фильтр	145
	5.9.7.5	Gauss (Гаусс)	145
	5.9.7.6	Однопиксельный фильтр	146
	5.9.7.7	Упорядоченность	146
	5.9.7.8	Устранение шума	146
5.9.8	Временные серии	147	
	5.9.8.1	Выравнивание временных точек	147
	5.9.8.2	Скользящее среднее	149
	5.9.8.3	Временной дифференциал	149

	5.9.8.4	Объединение изображений временной серии	150
	5.9.8.5	Кимограф	150
	5.9.8.6	Сшивка изображений временной серии	151
5.9.9		Арифметические преобразования	152
	5.9.9.1	Сложение	152
	5.9.9.2	Прибавление константы	152
	5.9.9.3	Вычитание	153
	5.9.9.4	Умножение	153
	5.9.9.5	Умножение константы	153
	5.9.9.6	Деление	154
	5.9.9.7	Квадрат	154
	5.9.9.8	Квадратный корень	154
	5.9.9.9	Логарифмическая функция	155
	5.9.9.10	Экспоненциальная функция	155
	5.9.9.11	Инвертирование	155
	5.9.9.12	Обратная величина	155
	5.9.9.13	Average (Средний)	155
	5.9.9.14	Объединение	155
	5.9.9.15	Minimum (Минимальный)	156
	5.9.9.16	Maximum (Максимальный)	156
5.9.10		Сегментация	156
	5.9.10.1	Threshold (Пороговая величина)	156
	5.9.10.2	Порог (автоматический)	157
	5.9.10.3	Порог (динамический)	158
	5.9.10.4	Долины	159
	5.9.10.5	Кэнни	160
	5.9.10.6	Март	160
5.9.11		Binary (Бинарный)	161
	5.9.11.1	Заполнение отверстий	161
	5.9.11.2	Брак	161
	5.9.11.3	Маркирование областей	161
	5.9.11.4	«И»	161
	5.9.11.5	«ИЛИ»	162
	5.9.11.6	Исключающее «ИЛИ»	162
	5.9.11.7	«НЕ»	162
	5.9.11.8	Максимальная эрозия	162
	5.9.11.9	Дистанционное преобразование	163
	5.9.11.10	Утончение	163
	5.9.11.11	Экзоскелет	163
	5.9.11.12	Разделение	163
	5.9.11.13	Маркировка изображения	164
5.9.12		Служебные программы	164
	5.9.12.1	Конвертация необработанных данных в ApoTome	164
	5.9.12.2	Деконволюция в ApoTome	165
	5.9.12.3	Копирование аннотаций	165
	5.9.12.4	Копирование изображений	165
	5.9.12.5	Изменение типа пикселя	165

5.9.12.6	Наложение шума.....	166
5.9.12.7	Создание поднабора изображений	166
5.9.12.8	Слияние поднабора изображений	168
5.9.12.9	Генератор изображений.....	168
5.9.12.10	Создание изображения в градации серого ...	170
5.9.12.11	Image Calculator (Калькулятор изображения)	170
5.9.12.12	Добавление каналов.....	172
5.9.12.13	Создание пирамиды изображений	172
5.9.12.14	Разделение на RGB.....	172
5.9.12.15	Воссоздание RGB-изображения.....	172
5.9.12.16	Разделение на HLS	173
5.9.12.17	Воссоздание HLS-изображения	173
5.9.12.18	Вычисление гистограммы	173
5.9.12.19	Разделение сцен (запись файлов)	175
5.9.12.20	Разделение сцен	176
5.9.12.21	Разделение многоблокового изображения ..	176
5.9.12.22	Изображение с эталонной равномерностью освещения из мозаичного изображения	176
5.9.12.23	Обработка Airyscan.....	181
5.9.12.24	Преобразование в лямбду	182
5.9.12.25	Линейное разделение	182
5.9.12.26	Корреляция.....	183
5.9.12.27	Конвертация необработанных данных в VivaTome	183
5.9.13	Экспорт/Импорт.....	183
5.9.13.1	Экспорт изображений.....	183
5.9.13.2	Экспорт видео.....	190
5.9.13.3	Раздел OME TIFF Export.....	195
5.9.13.4	Экспорт в ZVI-формат	198
5.9.13.5	Импорт изображения	199
5.9.14	Анализ изображений	202
6	Анализ изображений	206
6.1	Измерение интенсивности флуоресценции в многоканальном изображении	206
6.2	Подсчет числа флуоресцентных каналов на ядра.....	213
7	Импорт/экспорт изображений	226
7.1	Последовательность операций экспорта/импорта	226
7.2	Экспорт изображений	229
7.3	Экспорт видеофайлов.....	229
7.4	Экспорт многоканальных изображений	230
7.5	Импорт изображений серии срезов по оси Z	233
8	Обратная связь по эксперименту.....	238
8.1	Введение.....	238

8.2	Последовательность операций обратной связи по эксперименту ..	238
9	Персонализация приложения.....	240
9.1	Выбор дизайна	240
9.2	Персонализация панели инструментов	240
9.3	Масштабирование рабочего пространства.....	241
9.4	Отображение или скрытие областей рабочего пространства	241
9.5	Открепление/закрепление окон инструментов.....	241
10	Управление пользователями и группами	243
10.1	Создание нового пользователя	243
10.2	Добавление пользователей в группу	244
10.3	Управление правами доступа для групп пользователей	246
11	Разработка открытого приложения (OAD)	249
11.1	Введение.....	249
11.2	Запуск существующей макрокоманды	250
11.3	Запись макрокоманды.....	251
12	Расширение ImageJ	252
12.1	Введение.....	252
12.2	Подготовительные процедуры.....	252
12.3	Активация расширения ImageJ	253
12.4	Отправка и загрузка изображений	254
12.5	Использование методов ImageJ	254
12.6	Типы изображений, используемые при отправке/загрузке.....	256
13	Модуль Tiles & Positions	257
13.1	Работа с мозаиками и позициями.....	257
13.1.1	Введение	257
13.1.2	Общие подготовительные процедуры	257
13.1.2.1	Калибровка столика и выбор канала	258
13.1.3	Калибровка столика и выбор канала	263
13.1.4	Настройка простого эксперимента с мозаиками в модуле Tiles	267
13.1.5	Настройка простого эксперимента с позициями в модуле Positions (Позиции)	269
13.1.6	Модуль Tiles & Positions с расширенными настройками ..	271
13.1.6.1	Сканирование просмотра.....	272
13.1.6.2	Создание областей мозаик по контуру	275

13.1.6.3	Создание области мозаик по предопределенному контуру	275
13.1.6.4	Создание области мозаик по подложке	276
13.1.6.5	Создание позиций по местоположению	277
13.1.6.6	Создание позиций по массиву	277
13.1.6.7	Создание позиций по подложке	280
13.1.7	Копирование области мозаики или позиции	281
13.1.8	Корректировка Z-величин	283
13.1.8.1	Корректировка Z-величин областей мозаики	283
13.1.8.2	Корректировка Z-величин позиций	284
13.1.9	Локальные или общие фокальные поверхности	286
13.1.9.1	Введение	286
13.1.9.2	Создание локальной фокальной поверхности	286
13.1.9.3	Создание общей фокальной поверхности	290
13.1.10	Присвоение категорий областям мозаик и позициям	296
13.1.11	Перемещение подложки после инкубации	299
13.1.12	Использование подложек	305
13.1.12.1	Выбор шаблона подложки	305
13.1.12.2	Персонализация шаблона подложки	306
13.1.13	Экспорт мозаичных изображений	308
13.2	Функции и их назначение	311
13.2.1	Инструмент Tiles	311
13.2.1.1	Раздел Tile Regions	312
13.2.1.2	Раздел Positions	315
13.2.1.3	Раздел Sample Carrier	319
13.2.1.4	Раздел Focus Surface (Verify)	320
13.2.1.5	Раздел Options	321
13.2.1.6	Диалоговое окно Verify Tile Regions или Verify Positions	323
13.2.1.7	Диалоговое окно Select Template	325
13.2.2	Меню Tiles Advanced Setup	325
13.2.3	Поле обзора столика	326
13.2.4	Опции предметного просмотра	327
13.2.4.1	Вкладка Preview Scan	327
13.2.4.2	Вкладка Carrier	328
13.2.4.3	Вкладка Tile Region Setup	330
13.2.4.4	Вкладка Position Setup	333
13.2.4.5	Вкладка Properties	337
13.2.4.6	Вкладка Support Points	340
13.2.5	Опции модуля Tiles	343
14	Модуль Dynamics	346
14.1	Работа в окне MeanROI (в автономном режиме)	346
14.1.1	Введение	346
14.1.2	Создание и настройка областей интереса	347
14.1.2.1	Создание областей интереса	347
14.1.2.2	Настройка областей интереса для временных точек	349
14.1.3	Настройка отображения	349

14.1.4	Экспорт таблицы данных	351
14.1.5	Использование коррекции фона	352
14.1.6	Расчет коэффициентов	353
14.1.6.1	Расчет коэффициента для одной длины волны	353
14.1.6.2	Расчет коэффициента для двух длин волны	353
14.2	Порядок проведения экспериментов в модуле Dynamics	354
14.2.1	Введение	354
14.2.2	Настройка расчета онлайн-коэффициента	355
14.2.3	Проведение эксперимента в окне MeanROI Setup	356
14.2.3.1	Создание областей интереса	356
14.2.3.2	Настройка отображения	358
14.2.3.3	Использование коррекции фона	360
14.2.4	Запуск и изменение эксперимента	361
14.2.4.1	Корректировка областей интереса во время эксперимента	362
14.2.5	Эксперимент Fura-2 с DG4/5	362
14.2.5.1	Шаг 1. Создание каналов	362
14.2.5.2	Шаг 2. Настройка временной серии и создание переключателей	363
14.2.5.3	Шаг 3. Настройка онлайн-коэффициента	364
14.2.5.4	Шаг 4. Настройка области интереса	364
14.2.5.5	Шаг 5. Запуск, анализ и изменение эксперимента	364
15	Модуль Shuttle & Find	366
15.1	Введение	366
15.2	Порядок работы с модулем Shuttle & Find	367
15.2.1	Настройки и получение изображений с помощью оптического микроскопа	367
15.2.1.1	Установка держателя образца в LM	367
15.2.1.2	Запуск программного обеспечения LM	368
15.2.1.3	Выбор держателя образца	370
15.2.1.4	Создание нового шаблона держателя образца	371
15.2.1.5	Калибровка держателя образца	373
15.2.1.6	Получение LM-изображения	375
15.2.2	Позиции образца в Shuttle & Find на электронном микроскопе	376
15.2.2.1	Установка держателя образца в SEM	376
15.2.2.2	Запуск программы SEM в ПО ZEN	377
15.2.2.3	Выбор держателя образца	378
15.2.2.4	Калибровка держателя образца	378
15.2.2.5	Получение EM-изображения	379
15.2.2.6	Точная калибровка держателя образца	381
15.2.3	Корреляция изображений	381
15.2.3.1	Корреляция двух загруженных изображений	381
15.2.3.2	Корреляция живого и загруженного изображений	382
15.3	Функции и их назначение	383
15.3.1	Пользовательский интерфейс	383

15.3.2	Инструмент Shuttle & Find	383
15.3.3	Поле обзора Shuttle & Find	385
15.3.3.1	Вкладка S&F	386
15.3.3.2	Вкладка S&F Correlation	389
15.3.4	Мастер калибровки держателя образца	391
15.3.4.1	Шаг 1. Options (Опции)	392
15.3.4.2	Шаги 2–4. Calibration (Калибровка)	393
15.4	Приложение	395
15.4.1	Модуль Shuttle & Find с EVO 10	395
15.4.2	Сопоставительные держатели образца	396
16	Модуль CAT	400
16.1	Введение	400
16.2	Общие подготовительные процедуры	401
16.2.1	Подготовка образца	401
16.2.2	Предварительные настройки (оптический микроскоп)	401
16.2.3	Настройки эксперимента	402
16.3	Последовательность операций в CAT	403
16.3.1	Введение	403
16.3.2	Создание нового образца	403
16.3.3	Выбор держателя образца	405
16.3.4	Создание нового шаблона держателя образца	405
16.3.5	Калибровка держателя образца	407
16.3.5.1	Подготовка к калибровке	407
16.3.5.2	Настройка опций калибровки	408
16.3.5.3	Выполнение калибровки	408
16.3.6	Получение LM-изображений	410
16.3.6.1	Введение	410
16.3.6.2	Получение обзорного изображения	410
16.3.6.3	Определение лент	412
16.3.6.4	Визуализация лент	413
16.3.6.5	Определение срезов	415
16.3.6.6	Определение областей интереса	419
16.3.6.7	Визуализация областей интереса	421
16.3.6.8	Повторная съемка областей интереса	422
16.3.7	Получение SEM-изображений	423
16.3.7.1	Общие подготовительные процедуры	423
16.3.7.2	Получение SEM-изображения	424
16.3.8	Выравнивание изображения серии срезов по оси Z	429
16.3.9	Корреляция LM- и SEM-изображений	434
16.4	Функции и их назначение	439
16.4.1	Введение	439
16.4.2	Инструмент CAT	439
16.4.2.1	Диалоговое окно Select Sample	441
16.4.3	Мастер калибровки держателя образца	443

16.4.3.1	Шаг 1. Options (Опции).....	444
16.4.3.2	Шаги 2–4. Calibration (Калибровка)	445
16.4.4	Мастер получения изображений	446
16.4.4.1	Обзорная визуализация	447
16.4.4.2	Определение лент.....	449
16.4.4.3	Визуализация лент	450
16.4.4.4	Определение срезов.....	450
16.4.4.5	Определение областей интереса	453
16.4.4.6	Визуализация областей интереса.....	454
16.4.4.7	Повторная съемка	454
16.4.5	Мастер выравнивания серии срезов по оси Z.....	455
16.4.5.1	Импорт изображения	455
16.4.5.2	Pre-Processing (Предварительная обработка).....	455
16.4.5.3	Image Review (Просмотр изображения).....	456
16.4.5.4	Alignment (Выравнивание)	456
16.4.5.5	Manual Correction (Ручная коррекция)	457
16.4.5.6	Final Image Creation (Создание конечного изображения)	457
16.4.6	Мастер корреляции.....	457
16.4.6.1	Import Z-Stacks (Импорт серий срезов по оси Z)	458
16.4.6.2	Корреляция.....	458
16.4.6.3	Manual Correction (Ручная коррекция)	459
16.4.6.4	Create Final Correlation Image (Создание конечного коррелированного изображения).....	459
16.5	Приложение	460
16.5.1	Сопоставительные держатели образца	460
17	Модуль Confocal Topography	464
17.1	Введение.....	464
17.2	Последовательность действий при сканировании топографии.....	464
17.2.1	Введение	464
17.2.2	Получение топографических изображений	465
17.3	Последовательность действий при измерении толщины слоя	470
17.3.1	Введение	470
17.3.2	Измерение толщины слоя.....	470
17.4	Функции и их назначение.....	476
17.4.1	Вкладка Applications.....	476
17.4.2	Инструмент Topography	476
17.4.3	Мастер измерения топографии	477
17.4.3.1	Шаг 1. Определение.....	478
17.4.3.2	Шаг 2. Z-Stack Acquisition	478
17.4.4	Инструмент Layer Thickness Measurement (Измерение толщины слоя)	478
17.4.5	Мастер измерения толщины слоя (Layer Thickness Measurement Wizard)	479
17.4.5.1	Шаг 1. Определение.....	479
17.4.5.2	Шаг 2. Sectioning	479
17.4.5.3	Шаг 3. Measurement (Измерения)	480
17.4.6	Инструменты настройки визуализации.....	480

17.4.6.1	Tiles (Мозаики)	480
17.4.6.2	Channel (Канал).....	481
17.4.6.3	Режим Acquisition (Получение изображений)	482
17.4.6.4	Z-Stack (Серия срезов по оси Z)	484
18	Модуль Software Autofocus	486
18.1	Введение	486
18.1.1	В каком случае фокусировка установлена правильно?	486
18.1.2	Программная автофокусировка в ZEN	486
18.2	Функции и их назначение	488
18.2.1	Введение	488
18.2.2	Инструмент Software Autofocus	488
19	Приложения и компоненты	492
19.1	Slidescan.....	492
19.1.1	Введение	492
19.1.2	Работа с ZEN slidescan.....	493
19.1.2.1	Настройка светопольных, флуоресцентных или поляризационных профилей	493
19.1.2.2	Импорт имен, профилей и сцен.....	500
19.1.2.3	Использование настроек сканирования этикеток со слайдами 4"x3"	502
19.1.2.4	Использование настроек сканирования просмотра со слайдами 4"x3"	504
19.1.2.5	Реализация собственного алгоритма обнаружения тканей.....	506
19.1.2.6	Использование штрихкода для определения имени, профиля и подпапки	508
19.1.2.7	Настройка области интереса для изображения предпросмотра.....	509
19.1.2.8	Создание изображения с эталонной равномерностью освещения из мозаичного изображения	511
19.1.2.9	Изображение с эталонной равномерностью освещения из мозаичного изображения	513
19.1.2.10	Настройки карты фокусировки (FL).....	518
19.1.2.11	Настройка параметров сканирования для флуоресцентных профилей	529
19.1.2.12	Настройки карты фокусировки (BF)	537
19.1.2.13	Настройка параметров сканирования для светопольных профилей.....	544
19.1.3	Мастеры Slidescan	550
19.1.3.1	Введение	550
19.1.3.2	Мастер быстрого выбора профиля сканирования (автономный).....	551
19.1.3.3	Мастер создания профиля сканирования (онлайнный).....	552
19.1.3.4	Расширенный мастер создания профиля сканирования (онлайнный).....	554
19.1.3.5	Расширенный мастер создания профиля сканирования (автономный).....	605
19.1.3.6	Мастер обнаружения тканей (автономный).....	605
19.1.3.7	Мастер калибровки Axio Scan (онлайнный).....	608
19.1.4	Функции и их назначение	608

19.1.4.1	Вкладка Scan	608
19.1.4.2	Окно Magazine	614
19.2	ApoTome.2.....	621
19.2.1	Введение	621
19.2.2	Принцип визуализации с помощью метода структурированного освещения	621
19.2.3	Оптимальные условия для получения изображений	625
19.2.4	Перечень рекомендованных объективов	626
19.2.4.1	EC Plan-Neofluar	627
19.2.4.2	LCI Plan-Neofluar	627
19.2.4.3	Plan-Apochromat	628
19.2.4.4	LD LCIPlan-Apochromat	628
19.2.4.5	CApochromat	628
19.2.4.6	LD CApochromat	629
19.2.4.7	a Plan-Apochromat	629
19.2.4.8	a Plan-Fluar	629
19.2.5	Подготовка: фазовая калибровка.....	629
19.2.6	Шаг 1. Определение каналов с помощью Smart Setup	630
19.2.7	Шаг 2. Калибровка фокуса сетки	632
19.2.8	Шаг 3. Проведение эксперимента в ApoTome	635
19.2.9	Шаг 4. Обработка результирующего изображения.....	637
19.2.10	Шаг 5. Получение серии срезов по оси Z	640
19.2.11	Шаг 6. Выполнение деконволюции в ApoTome	642
20	Часто задаваемые вопросы	647
20.1	Что делать, если изображение слишком темное?	647
20.2	Как можно сбалансировать цвет изображений?	647
20.3	Откуда на изображении появляется пыль или тень, если используемый образец чист?	648
20.4	Почему изображение выглядит так, словно чем-то прожжено (т. е. присутствует тень от предыдущего образца)?	649
20.5	Как исправить оттенок градиента цвета?	649
20.6	Что делать, если живое изображение низкого качества и пикселизировано?	650
20.7	Как исправить медленную передачу живого изображения?	650
20.8	Что делать, если живое изображение большей частью красное/синие?	651
20.9	Что делать, если живое изображение остается черным или белым после настройки экспозиции?	652
20.10	Почему живое изображение отображается в предельных цветах по сравнению с тем, что я наблюдаю в окуляры?	652
20.11	Почему разрешение изображения ниже заявленных характеристик камеры?	653
20.12	Что делать, если живое изображение расфокусировано?	653
20.13	Почему цвет изображения отличается от наблюдаемого в окуляры?	653
	Глоссарий	655

Алфавитный указатель.....	661
---------------------------	-----

1 О настоящем документе

1.1 Используемые условные обозначения

Настоящий документ содержит следующие виды форматирования текста:

Пример	Описание
Иконка Save (Сохранить)	Интерактивные элементы пользовательского интерфейса, например кнопки и иконки
Кнопка On/Off (Вкл/Выкл)	Аппаратные кнопки на микроскопе
Панель Image (Изображение)	Неинтерактивные элементы пользовательского интерфейса, например название диалогового окна
Клавиша <i>Ctrl</i>	Комбинация клавиш
Вводимый текст	Текст, вводимый пользователем
Ссылка [► 16]	Ссылка на дополнительную информацию

Дополнительная информация обозначается следующим образом:

i Примечание

Настоящий документ содержит следующие виды форматирования текста:

1.2 Отображение примечаний по технике безопасности и предупреждающих табличек

В зависимости от уровня риска в документации и программном обеспечении используются следующие примечания по технике безопасности:



Риск получения травмы

«ОСТОРОЖНО!» обозначает потенциально опасную ситуацию, которая в случае игнорирования может привести к тяжелой травме или смерти.

⚠ ВНИМАНИЕ!**Риск получения травмы**

«ВНИМАНИЕ!» обозначает потенциально опасную ситуацию, которая может привести к получению травмы незначительной или средней степени тяжести.

ПРИМЕЧАНИЕ**Риск повреждения оборудования**

«ПРИМЕЧАНИЕ» указывает на вероятность повреждения оборудования. Также данная надпись используется в случае потери или повреждения данных.

Предупреждающие иконки и таблички на изделии или в документации обозначают потенциальную опасность или следующую информацию:

Иконка / табличка	Название	Описание
	Защемление пальцев	Эта иконка предупреждает о возможном риске защемления пальцев.

1.3 Нормативные примечания

Компания ZEISS обращает внимание пользователя на то, что информация и справочные материалы, содержащиеся в настоящей документации, могут быть изменены в результате технической модификации, связанной с постоянным совершенствованием продукции компании ZEISS.

Прилагаемая документация не содержит в себе какой-либо гарантии компании ZEISS в отношении технических процессов, описанных в документации, или определенных воспроизведенных характеристик продукции. Более того, компания ZEISS не несет никакой ответственности за любые возможные типографские ошибки или другие неточности настоящей документации за исключением случаев, подтвержденных тем, что данные ошибки или неточности были заранее известны компании или были допущены в результате явной небрежности с ее стороны и не были устранены должным образом. Таким образом, компания ZEISS обращает внимание пользователя на то, что данное руководство содержит только общее описание технических процессов, осуществление которых в отдельно взятом случае может не соответствовать приведенной здесь информации. В случае возникновения сомнений пользователю рекомендуется напрямую обратиться в компанию ZEISS.

Настоящая документация охраняется авторским правом. Компания ZEISS сохраняет за собой все права на данную документацию. Запрещается полное и частичное копирование, а также перевод настоящего руководства на другой язык за исключением случаев копирования для личного пользования.

Компания ZEISS обращает внимание на то, что информация, содержащаяся в настоящей документации, будет регулярно обновляться в соответствии с техническими модификациями и дополнениями в конструкции изделий, и, более того, настоящее руководство отражает техническое состояние продукции компании только на момент печати.

Техника безопасности

Перед установкой и применением программного обеспечения необходимо изучить все указания по технике безопасности, приведенные в документации к соответствующим приборам (например, к периферийному оборудованию микроскопа, камерам, компьютерам, дополнениям к компьютеру и т. д.).

Правовая оговорка

Автор не несет ответственности за любую информацию, на которую делается ссылка со страниц его веб-сайта, если только автор не осведомлен о ее незаконном содержании и не может воспрепятствовать просмотру этих страниц посетителями своего веб-сайта. В случае нанесения ущерба вследствие использования информации, представленной на внешних страницах, исключительную ответственность несет автор этих страниц, а не лицо, с веб-сайта которого был осуществлен переход на соответствующие страницы. Более того, автор не несет ответственности за любые публикации или сообщения, размещенные пользователями на форумах, в гостевых книгах или списках рассылок, представленных на его странице.

Обратите внимание, что данное программное обеспечение содержит расширение, которое позволяет подключаться к стороннему программному обеспечению ImageJ. ImageJ не является продуктом компании ZEISS. Следовательно, компания ZEISS не предоставляет гарантию на ImageJ, не заявляет, что ImageJ или производные инструменты, например Fiji, или соответствующие макросы будут работать с вашим оборудованием, и не несет ответственности за любые повреждения, возникшие при использовании данного расширения. Используя это расширение, вы соглашаетесь с этой правовой оговоркой.

Уведомление со стороны производителя

Данный программный продукт разработан, реализован, проверен, подтвержден и выпущен в сертифицированной производственной среде. Система управления качеством сертифицирована в соответствии со стандартами DIN EN ISO 9001 и DIN EN ISO 13485.

Сферой применения программного обеспечения являются общие задачи и приложения в области микроскопии и, соответственно, визуализации (так называемое «готовое программное обеспечение»). Тем не менее пользователь подтверждает, что при любом использовании программного продукта конечный пользователь несет ответственность за подтверждение соответствия программного обеспечения конкретному применению с учетом всех требований соответствующих законодательных актов и стандартов (например, FDA/раздел 21, часть 11 свода федеральных нормативных актов США (CFR), Использование в медицинских изделиях для диагностики *in vitro* и т. д.). При необходимости конечный пользователь должен установить, задокументировать, внедрить и соблюдать специальную процедуру обеспечения соответствия всем правилам соответствующих законодательных актов и стандартам. Следует отметить, что представленные данные измерений (например, измерения длины) нельзя использовать непосредственно в качестве аналитических значений результатов диагностики.

КОМПАНИЯ CARL ZEISS НЕ ГАРАНТИРУЕТ, ЧТО НАСТОЯЩЕЕ ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПРИГОДНО К РЕШЕНИЮ СПЕЦИАЛЬНЫХ ЗАДАЧ, КОТОРЫЕ ВЫХОДЯТ ЗА РАМКИ УКАЗАННОЙ СФЕРЫ ПРИМЕНЕНИЯ.

2 Базовые принципы

2.1 Введение

ZEN 2.3 (blue) — модульное программное обеспечение для цифровой микроскопии, предназначенное для получения, обработки и анализа изображений. Сокращение «ZEN» расшифровывается как ZEISS Efficient Navigation (Эффективная навигация ZEISS) и указывает на то, что оно может использоваться для управления всеми микроскопами и системами визуализации, выпускаемыми компанией ZEISS.

Помимо базовых функций получения, предварительной обработки и аннотирования изображений, анализа изображений и функций создания отчетов, доступны множество дополнительных модулей для специфических микроскопических исследований.

Базовая версия программного обеспечения ZEN lite предоставляется бесплатно. Помимо базовых функций получения, элементарной обработки изображений, анализа изображений и документации, в ZEN lite возможно подключение множества дополнительных модулей. Более подробная информация представлена в каталоге продукции.

2.2 Получение изображений

Программное обеспечение ZEN 2.3 (blue) позволяет использовать все микроскопы и камеры компании ZEISS в качестве эффективных и специализированных систем визуализации. Пройдя краткий курс обучения, вы сможете интерактивно управлять всем рабочим процессом, начиная с получения, обработки и анализа изображений.

В зависимости от используемой системы вы сможете получать отдельные изображения, многоканальные флуоресцентные изображения или видеофрагменты с максимальной глубиной изображения до 16 бит на канал видеoinформации. ZEN поддерживает функцию Smart Setup, которая обеспечивает оптимальные сочетания красителя и длины волны.

С ZEN 2.3 (blue) может использоваться целый ряд камер различных типов, начиная с простых телевизионных камер и заканчивая камерами для микроскопии с высокой разрешающей способностью и высокой чувствительностью. Полная интеграция камер в программное обеспечение позволяет создавать сложные изображения и видеофрагменты одним щелчком мыши. Для достижения наилучших результатов рекомендуется использовать камеры для микроскопии серии AxioCam компании ZEISS.

2.3 Обработка изображений

Сразу после получения изображение немедленно отображается на экране. После этого его можно оптимизировать с помощью следующих методов:

- Регулировка контраста, яркости и цвета.
- Подавление шума, сглаживание и выделение контуров.
- Повышение резкости/выделение деталей.
- Корректировка освещения и баланса белого.

ZEN 2.3 (blue) также может использоваться для добавления аннотаций к изображениям. В программу интегрированы все элементы, начиная с масштабных линеек и заканчивая цветными метками в тексте и графическими изображениями.

2.4 Анализ изображений

Простые интерактивные измерения можно выполнять даже с помощью **ZEN lite**. Результаты измерений (например, длина, площадь и периметр) доступны в таблице данных, обработка которой может осуществляться с помощью редакторов электронных таблиц.

С помощью дополнительных модулей **Image Analysis** (Анализ изображения) и **Measurement** (Измерение) можно осуществлять профессиональный анализ, например создавать автоматизированные методики измерения или измерять микроскопические структуры в интерактивном режиме.

2.5 Формат файла

Для ПО ZEN был разработан специальный формат файла — ***.czi** (Carl Zeiss Image). Помимо самих данных изображения такой формат сохраняет множество дополнительных данных, например дату получения изображения, настройки микроскопа, значения экспозиции, данные о размере и масштабе изображения, использованные процедуры настройки контраста изображения. В этом файле также сохраняются все аннотации и результаты измерений.

Для получения дополнительной информации о формате файлов изображений ZEISS рекомендуем посетить форум по микроскопическим исследованиям компании ZEISS в сети Интернет (http://forums.zeiss.com/microscopy_community/forum.php). На форуме вы можете принять участие в интересных дискуссиях или загрузить подробную документацию о формате файлов.

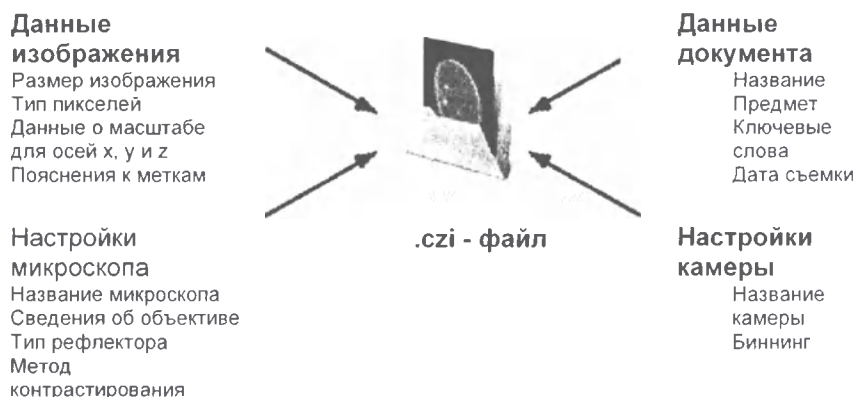


Рисунок 2.1. Файловый формат .CZI

2.6 Расширения

Концепция расширений позволяет динамически расширять функциональность ПО ZEN. С технической точки зрения она сродни концепции подключаемых модулей и надстроек. Для расширений в программном обеспечении зарезервирована специальная область (вкладка «Расширения»), в которой вы сразу найдете все загруженные расширения.

3 Начало работы

3.1 Запуск программного обеспечения

Необходимые предварительные условия ■ ПО ZEN 2.3 (blue) было установлено на ваш компьютер.

Порядок действий 1 Дважды щелкните на иконку программы на Рабочем столе вашего компьютера.



2 Либо нажмите на **Start | All Programs | Carl Zeiss Microscopy | ZEN | ZEN (blue edition)** (Пуск | Все программы | Инструменты для микроскопии Carl Zeiss | ZEN | ZEN (blue edition)) (синяя иконка).

Запустится программное обеспечение. Через мгновение появится экран входа в систему.



3 Нажмите на кнопку необходимого приложения. Доступность приложений зависит от вашей лицензии и системы (например, если вы работаете с ЛСМ, то вам доступны только **ZEN system** (Система ZEN) и **Image Processing** (Обработка изображений)). Убедитесь, что используемые вами компоненты аппаратного обеспечения включены и готовы к работе.

Запустится программное обеспечение. Во время запуска программы произойдет инициализация настроек аппаратного обеспечения.

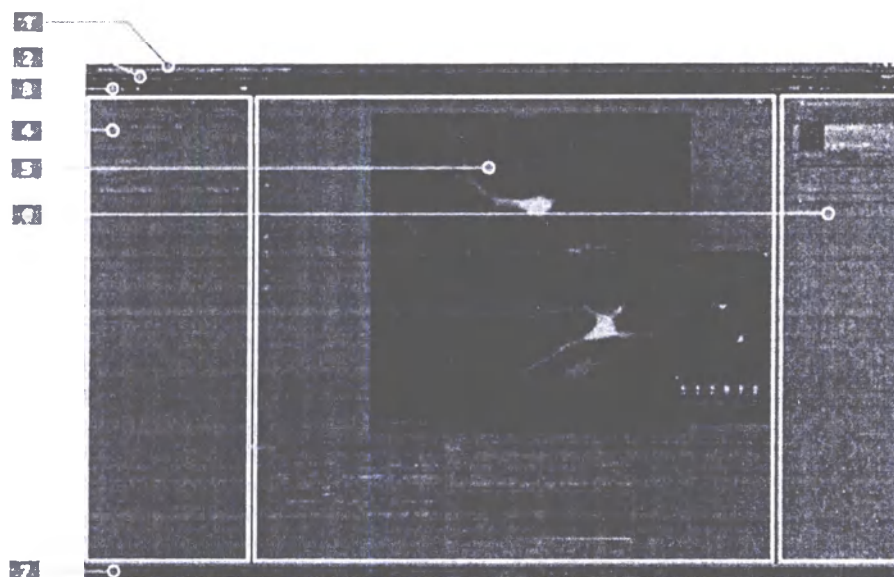
Вы успешно запустили программное обеспечение.

! Примечание

После запуска программы для работы с изображениями, полученными в ходе предыдущей сессии, необходимо установить флажок напротив **Reload Last Used Documents** (Загрузить последние использованные документы) в меню **Tools | Options | Startup** (Инструменты | Опции | Пуск).

3.2 Пользовательский интерфейс

Пользовательский интерфейс ZEN 2.3 (blue) разделен на три главных области. С помощью вкладок в **левой области инструментов (4)** вы получаете доступ ко всем основным инструментам управления микроскопом (вкладки определения местоположения (Locate), получения изображений (Acquisition), обработки изображений (Processing), анализа изображений (Analysis) и создания отчетов (Reporting)). В **центральной области экрана (5)** отображаются полученные изображения, в то время как в **правой области инструментов (6)** представлен список всех открытых документов, позволяющий осуществлять расширенное управление файлами.



- Заголовок окна
- Строка меню
- Панель инструментов
- Левая область инструментов
- Центральная область экрана
- Правая область инструментов
- Строка состояния

3.2.1 Заголовок окна

Параметр	Описание
Значок Help (Справка)	Активирует функцию перетаскивания справки. На курсоре мыши появится вопросительный знак. Переместите указатель мыши в то место программного обеспечения, где вам необходима помощь. Нажмите левой клавишей мыши в требуемом месте. Откроется интерактивная справка.
Minimize (Свернуть)	Сворачивает окно программы.

Параметр	Описание
Maximize Over 2 Screens (Развернуть на два экрана)	Разворачивает окно программы на два экрана, при наличии таковых. Эта опция доступна только при работе с двумя экранами с одинаковой разрешающей способностью.
Maximize (Развернуть)	Расширяет окно программы по границам основного экрана.
Restore Down (Свернуть в окно)	Уменьшает окно программы до необходимого размера.
Close (Заккрыть)	Закрывает окно программы.

3.2.2 Конфигурация рабочего пространства



Рисунок 3.1. Конфигурация рабочего пространства

Здесь размещены настройки вашего рабочего пространства. Для настройки дизайна пользовательского интерфейса выберите опцию **Light/Dark Design** (Осветлить/затемнить дизайн), а для расширения экрана воспользуйтесь ползунком **Workspace Zoom** (Масштабирование рабочего пространства). Вы также можете сохранять и повторно загружать все персональные настройки в конфигурации рабочего пространства. С помощью кнопки  **Dock all tool windows** (Закрепить все окна инструментов) в верхнем правом углу вы можете с легкостью закреплять все незакрепленные инструменты одним щелчком мыши.

3.2.3 Строка меню



Рисунок 3.2. Строка меню

Строка меню содержит все меню, необходимые для управления, редактирования и просмотра ваших проектов.

3.2.4 Панель инструментов



Рисунок 3.3. Панель инструментов

Здесь вы можете получить быстрый доступ к важным функциям, например сохранению или открытию файлов. Правее расположены дополнительные настройки рабочего пространства, например **Design** (Дизайн) и **Workspace** (Рабочее пространство). Ознакомьтесь с персонализацией панели инструментов в разделе «Персонализация панели инструментов» [► 240].

3.2.5 Левая область инструментов

Здесь находятся основные вкладки с настройками микроскопа и камеры (вкладка **Locate**), получения изображений (вкладка **Acquisition**), обработки изображений (вкладка **Processing**), анализа изображений (вкладка **Analysis**) и создания отчетов (вкладка **Reporting**). Расположение основных вкладок соответствует типовому порядку проведения экспериментов в бионауке или материаловедении.



Рисунок 3.4. Левая область инструментов

3.2.6 Центральная область экрана

Центральная область экрана состоит из 4 областей. Сверху расположена **панель документов (1)**. Ниже, слева от изображения расположены вкладки для общего и предметного **просмотра изображения (2)**. В середине центральной области экрана расположена **область изображений (3)**. В ней отображаются изображения, отчеты и таблицы. Под областью изображения находятся вкладки с параметрами **общего и предметного просмотров (4)**. Вкладки управления предметным просмотром помечены синим уголком.

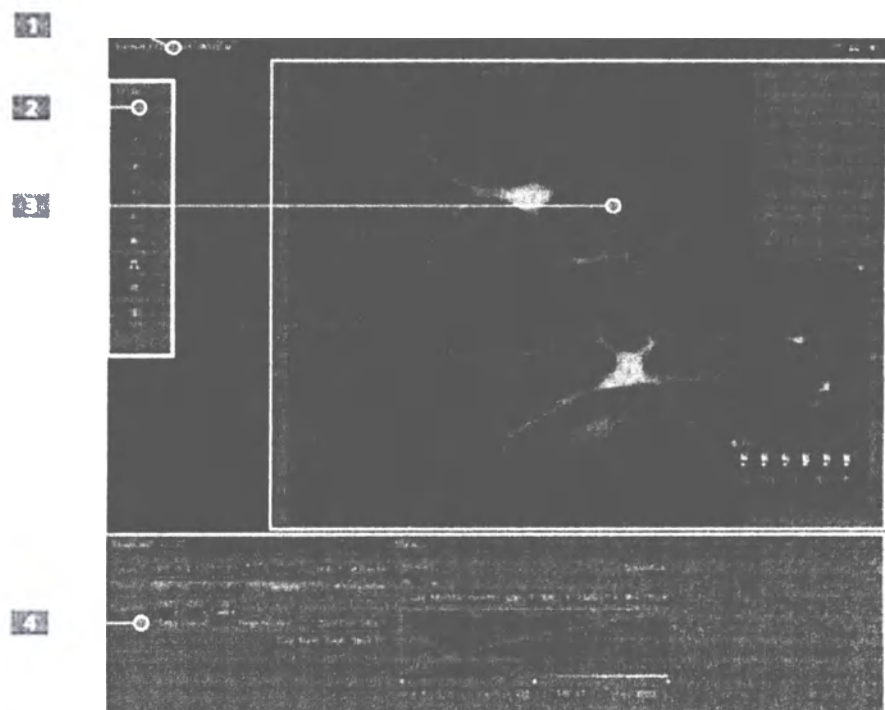


Рисунок 3.5. Центральная область экрана

- 1** Панель документов
- 2** Вкладки параметров просмотра изображений
- 3** Область изображений
- 4** Вкладки параметров общего и предметного просмотров

3.2.7 Правая область инструментов

Здесь расположена галерея **Images and Documents** (Изображения и документы), инструменты управления **Microscope** (Микроскоп), **Stage** (Столик), **Focus** (Фокусировка) и **Definite Focus** (Точная фокусировка), а также инструмент **Macro** (Макрокоманда) (зависит от модуля/лицензии).

3.2.8 Панель документов



Рисунок 3.6. Панель документов

Здесь отображаются вкладки всех открытых документов. Для просмотра изображения/документа нажмите на вкладку. На панели документов справа расположены кнопки переключения режимов просмотра с **Expose** (Экспозиция) на **Splitter** (Разделенный экран) и дополнительными опциями просмотра изображения (меню просмотра **View**).

1 Примечание

Звездочка (*) рядом с названием изображения/документа указывает на то, что в документ внесены несохраненные изменения. Чтобы избежать потери данных, периодически сохраняйте изображения/документы.

3.2.9 Строка состояния

На этой панели отображается важная информация о состоянии системы:

Параметр	Описание
Scaling (Масштабирование)	Отображает латеральный масштаб, используемый в текущий момент. Нажатие стрелки открывает диалоговое окно масштабирования. В нем вы получите доступ к расширенным настройкам масштабирования и мастеру масштабирования.
System Information (Сведения о системе)	Постоянно отображает последний активный процесс, выполняемый в данный момент системой.
Progress bar (Индикатор выполнения)	Отображает ход выполнения активного процесса. Каждый новый добавленный процесс заменяет старые, все еще активные процессы. Нажатие кнопки-стрелки открывает окно с перечнем всех процессов в хронологическом порядке. С помощью кнопки Stop (Стоп) можно остановить выполняемый в данное время процесс.
Индикаторы производительности	В этой группе отображаются показатели производительности отдельных компонентов компьютера: ■ Индикатор Free RAM (Свободная оперативная память) отображает объем доступной физической памяти. ■ Индикатор Free HD (Свободное пространство на жестком диске) отображает объем доступного пространства на жестком диске, на который будет производиться запись следующего изображения (см. Extras / Options / Save (Дополнительные возможности / Опции / Сохранить)). ■ Индикатор CPU (ЦП) отображает степень использования центрального процесса. ■ В небольшой строке состояния отображается общая оценка использования системы. Информация. двойным нажатием на область индикаторов производительности открывается Диспетчер задач Windows.
Frame Rate (Частота кадров)	Отображается текущую частоту в кадрах в секунду (fps), используемую активной камерой для получения новых изображений. Обратите внимание: в большинстве случаев при скорости выше 100 кадров в секунду данное значение не всегда определяется точно.

Параметр	Описание
Pixel Value (Значение пикселей)	Отображает значение серого на изображении в текущей позиции указателя мыши. У многоканальных изображений значение насыщенности серого в одном канале отображается для 4 каналов.
Position (Позиция)	Отображает X и Y координаты позиции указателя мыши на изображении (в пикселях).
Информация (i)	Нажатие на данную иконку открывает окно с <i>системными сообщениями</i> (System Messages) [► 27].
Storage Folder (Папка хранения информации)	Отображает путь к папке для автоматического сохранения новых изображений. Чтобы изменить путь, выберите в меню Tools Options Saving (Инструменты Опции Сохранение).
User (Пользователь)	Отображает имя пользователя Windows, вошедшего в систему.
Time (Время)	Отображает системное время Windows.

3.2.9.1 Системные сообщения

Нажатие правой клавишей мыши по системному сообщению открывает доступ к кнопке **Сору** (Копировать). Нажатием левой клавишей мыши на кнопку **Сору** (Копировать) сообщение копируется в буфер обмена. Затем вставьте сообщение в текстовый файл или электронное сообщение. Идея заключается в том, что пользователь легко может пересылать сообщения об ошибках, например, службе технической поддержки. Функция копирования/вставки применима ко всем системным сообщениям или сообщениям об ошибках внутри приложения.

Параметр	Описание
 Информация	Системная информация, которая появляется во время нормальной работы программного обеспечения. Системная информация не приводит к прерыванию рабочего процесса. Информационное окно не отображается автоматически.
 Предупреждения	Информация, требующая от пользователя определенных действий, например запрос на замену компонента микроскопа с ручным приводом фокусировки. Эта информация приводит к кратковременному отображению информационного окна. Тем не менее окно закрывается спустя несколько секунд.
 Ошибки	Сообщения об ошибках указывают на неисправность системы. В этом случае появляется информационное окно, которое остается открытым. Система требует от пользователя определенных действий для продолжения работы.

Примечание

В ходе рабочей сессии могут накапливаться сотни сообщений. Отображаться могут не более 300 сообщений. Для отображения сообщений определенной категории установите или снимите соответствующие флажки.

3.3 Настройка языка пользователя

Необходимые предварительные условия ■ Приложение успешно запущено.

- Порядок действий
- 1 Перейдите в меню **Tools | Options** (Инструменты | Опции).
Откроется диалоговое окно **Options** (Опции). Выберите элемент **General** (Общее) в группе **Software** (Программное обеспечение).
 - 2 Снимите флажок **Select Automatically** (Выбрать автоматически), если хотите установить язык вручную.

Примечание

Если установлен флажок **Select Automatically** (Выбрать автоматически), программное обеспечение будет использовать язык, установленный в системных настройках вашего компьютера. Эта настройка используется по умолчанию.

- 3 Выберите язык из выпадающего списка **Fixed Language** (Фиксированный язык).

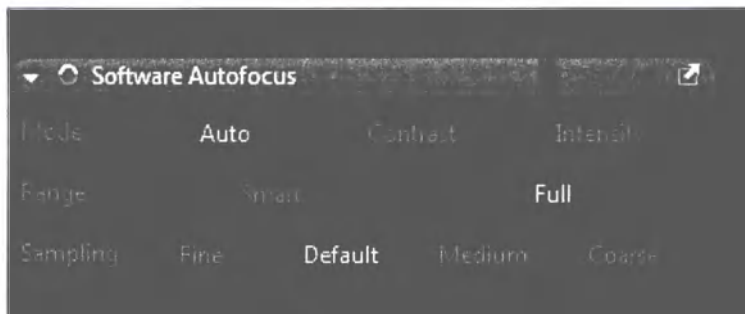


Появится сообщение о необходимости перезапуска приложения.

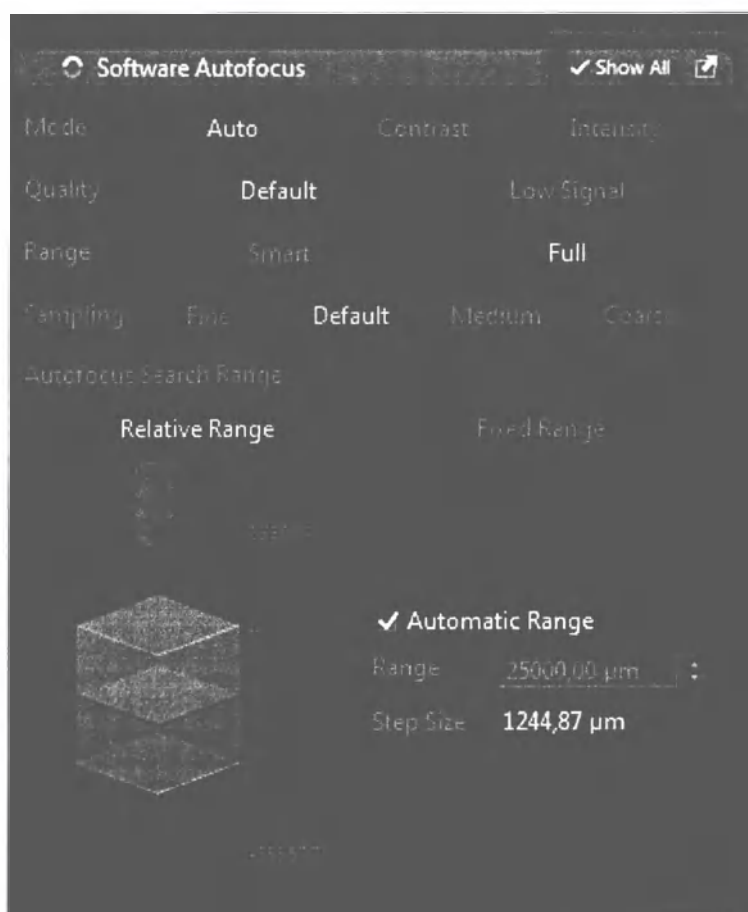
- 4 Нажмите **OK**.
Закроется диалоговое окно **Options** (Опции).
 - 5 Выполните выход из программы и перезапустите ее.
- Вы успешно установили язык пользователя.

3.4 Активация режима Show All

- Порядок действий
- 1 В отключенном (по умолчанию) режиме **Show All** (Показать все) отображаются только основные функции окон инструментов и параметров просмотра.



- 2 Для отображения расширенных настроек либо экспертных функций окон инструментов и параметров просмотра нажмите на кнопку **Show All** (Показать все).



3.5 Настройка компонентов микроскопа

Этот раздел посвящен ручной настройке компонентов микроскопа в **ZEN lite**. Все определения компонентов микроскопа сохраняются в метаданных полученного изображения.

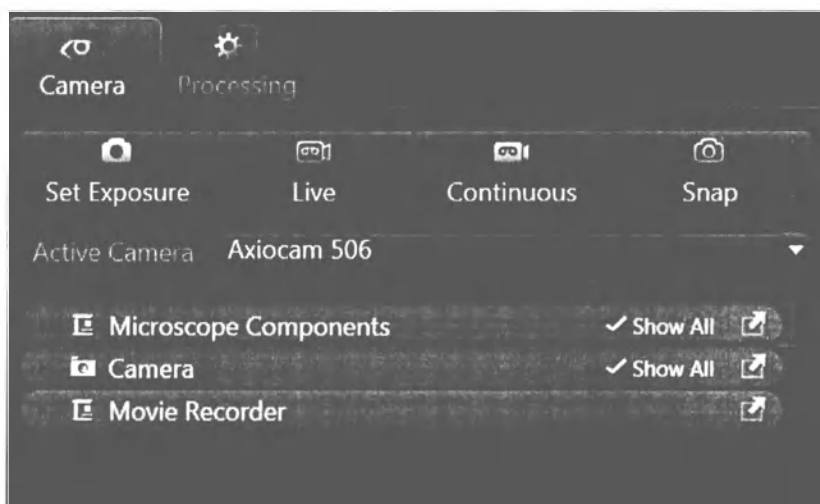
Необходимые предварительные условия ■

Выбрана вкладка **Camera** (Камера).



Порядок действий 1

Нажмите на синий заголовок инструмента **Microscope Components** (Компоненты микроскопа).



Откроется инструмент. Предположим, что кнопка отображения всех функций (**Show all**) активирована.



- 2 В строке **Objective** (Объектив) выберите объектив, который будет использоваться для получения изображений.
- 3 Выберите остальные компоненты микроскопа, которые вы планируете использовать (например, модуль Optovar, рефлектор и т. д.).

Примечание

Если в строке состояния под опцией **Scaling** (Масштабирование) (стандартные настройки) установлен флажок **Select automatically** (Выбрать автоматически), масштаб рассчитывается исходя из ваших определений. Для выполнения масштабирования вручную ознакомьтесь с разделом «Ручное масштабирование» [► 35].

Вы успешно настроили компоненты вашего микроскопа.

3.6 Получение первого изображения

В данном разделе описывается процесс получения первого изображения с помощью программного обеспечения ZEN 2.3 (blue).

- Необходимые предварительные условия ■ Камера микроскопа (например, AxioCam MR) настроена и подключена к вашей системе.
- Приложение запущено.

- Настроены компоненты микроскопа (например, объектив, переходник камеры), используется автоматическое или ручное масштабирование.
- Открыта вкладка **Camera** (Камера) (только ZEN lite) или вкладка **Locate** (Местоположение).
- Камера микроскопа отображается в разделе **Active Camera** (Активная камера). Если нет, выберите камеру из списка.



Порядок действий

- 1 Расположите образец и отрегулируйте микроскоп таким образом, чтобы сфокусированное изображение было видно через окуляр микроскопа.
- 2 Настройте регулятор микроскопа для передачи изображения на камеру (например, **50% camera** (50% камера) и **50% eyepieces** (50% окуляр)).
- 3 Нажмите кнопку **Live** (Живое изображение).

Включится режим живого изображения **Live**. На активацию режима **Live** указывает зеленый индикатор или заштрихованная вкладка панели документов [► 25]. В центральной области экрана вы увидите живое изображение с камеры. По умолчанию живое изображение снабжено перекрестием, помогающим перемещаться по образцу. В разделе «Настройка живого изображения» [► 34] вы научитесь оптимизировать отображение живых изображений.



- 4 Нажмите кнопку **Set Exposure** (Установить экспозицию).

Время экспозиции будет определено и задано автоматически.

i Примечание

Если вы не видите сфокусированное изображение, то выполните повторное фокусирование образца на микроскопе. В качестве дополнительной помощи вы также можете использовать панель фокусирования. Откройте контекстное меню, нажав правой клавишей мыши в **центральной области экрана**. Выберите элемент **Focus Bar** (Панель фокусирования). Отобразится панель фокусирования.

- 5 Нажмите на кнопку **Snap** (Моментальный снимок).

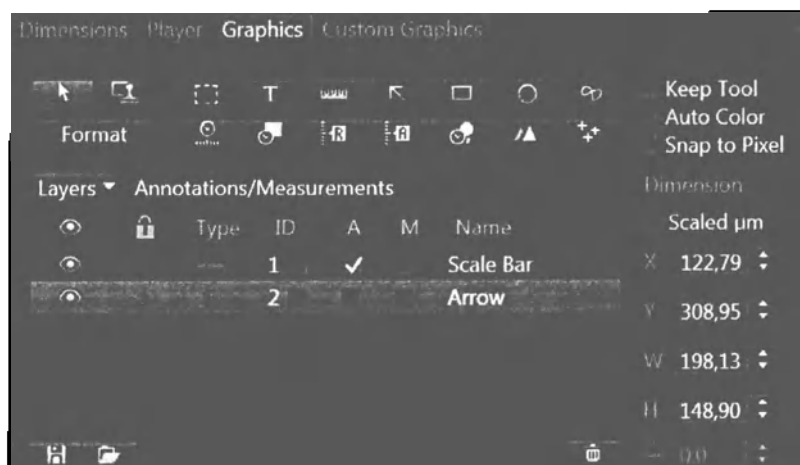
Вы успешно получили ваше первое изображение. Сохраните изображение в файловой системе при помощи меню **File | Save as** (Файл | Сохранить как).

3.7 Добавление аннотаций к изображению

Аннотации — это общий термин для всех графических элементов (например, прямоугольника, стрелки, шкалы), измерений, текстовых сообщений и прочих метаданных (например, время записи), которые можно добавить к изображению.

Необходимые предварительные условия ■ Получено изображение с помощью ZEN 2.3 (blue).

- Порядок действий **1** В **центральной области экрана** выберите вкладку **Graphics** (Графические элементы).



- 2** Нажмите кнопку **Scale Bar** (Масштабная линейка).
Масштабная линейка появится непосредственно на изображении.

i Примечание

Для редактирования аннотации (например, цвета, толщины линии) правой клавишей щелкните по необходимой аннотации в изображении. Откроется контекстное меню. Выберите **Format Graphical Element** (Форматировать графический элемент). В открывшемся диалоговом окне представлены различные инструменты форматирования.

3 Нажмите кнопку **Draw Arrow** (Нарисовать стрелку).

Цвет кнопки изменится на синий, что указывает на ее активацию. Теперь вы можете нарисовать стрелку на изображении.

Вы добавили к изображению масштабную линейку (**Scale Bar**) и стрелку (**Arrow**) из панели инструментов.

3.8 Настройка живого изображения

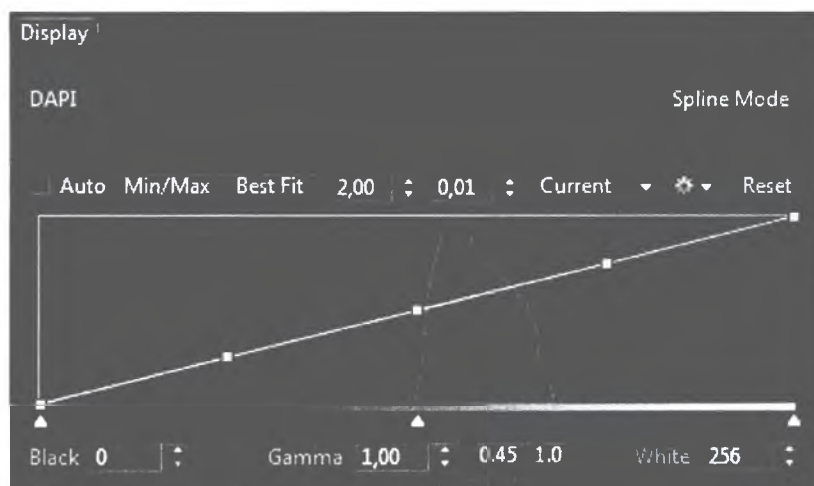
Необходимые предварительные условия ■ Активирован режим живого изображения (**Live Mode**) с помощью кнопки **Live**, и в **центральной области экрана** отображается живое изображение с камеры.

- Под область изображения присутствуют настройки общего вида во вкладке **Dimensions** (Измерения), **Graphics** (Графические элементы) и **Display** (Отображение).

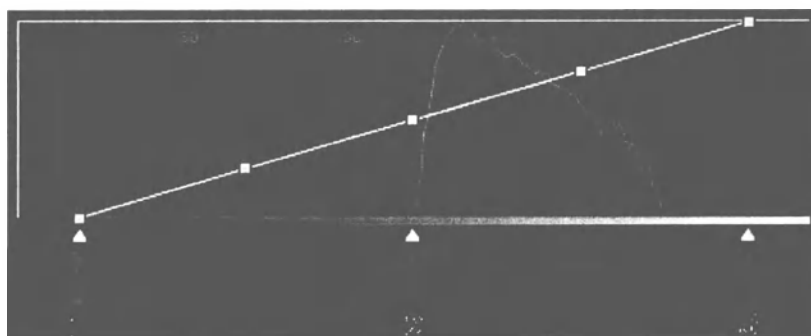
Порядок действий **1** Во вкладке **Dimensions** установите флажок рядом с **Range Indicator** (Индикатор экспонирования). После чего переэкспонированные (слишком светлые) области живого изображения отобразятся красным цветом, а недозэкспонированные (слишком темные) области отобразятся синим.



- 2 Во вкладке **Display** (Отображение) нажмите кнопку **0.45**. Кривая отображения адаптируется к значению гаммы 0,45. Благодаря этому оптимизируется цветопередача. Если эта кнопка не отображается, активируйте режим **Show all**.



- 3 Для регулировки яркости (белый), гаммы и контраста (черный) живого изображения перемещайте элементы управления влево и вправо.



- 1 Управление контрастом (точка черного)
- 2 Управление гаммой
- 3 Управление яркостью (точка белого)

Примечание

С помощью приведенных выше настроек адаптируется отображение живого изображения. Эти настройки также будут перенесены на полученное изображение. При этом настройки камеры не изменяются.

3.9 Ручное масштабирование

Необходимые предварительные условия ■ Выполнена горизонтальная ориентация объект-микрометра на предметном столике.

- Порядок действий
- Правильно выбраны все определения для используемого микроскопа в инструменте **Microscope Components** (Компоненты микроскопа) (только ZEN lite). В данном примере используется объектив с 10-кратным увеличением.
 - 1 Получите изображение (см. раздел «Получение первого изображения» [► 31]) шкалы объект-микрометра, используя объектив для ручного масштабирования.
 - 2 В строке состояния снизу нажмите стрелку в области масштабирования (**Scaling**). В диалоговом окне **Scaling** (Масштабирование) уберите флажок **Select Automatically** (Выбрать автоматически).
 - 3 В разделе **Create new scaling** (Создание нового масштаба) нажмите кнопку **Interactive Calibration...** (Интерактивная калибровка).
В области изображения появится мастер калибровки.
 - 4 Нажмите кнопку **Reference Line** (Опорная линия) (выбрана по умолчанию) и установите флажок **Automatic Line Detection** (Автоматическое определение линии) (включена по умолчанию).

i Примечание

Функция **автоматического определения линии** рассчитывает теоретический максимум обеих конечных точек опорной линии к ближайшим штрихам шкалы изображения. Таким образом, расстояние будет рассчитано с субпиксельной точностью.

- 5 Прочертите опорную линию вдоль шкалы.
- 6 Введите истинное расстояние между двумя штрихами шкалы в мастере калибровки. В нашем примере, оно равно 500 микрометрам.
- 7 Введите имя масштабирования (например, Obj 10x) и нажмите кнопку **Save Scaling** (Сохранить масштаб).

Вы выполнили ручное масштабирование для используемого объектива. Выполняйте ручное масштабирование в этой последовательности для всех объективов. Обязательно проверяйте правильность выбора объектива в инструменте **Microscope Components** (Компоненты микроскопа), для которого в строке состояния выполнено и выбрано соответствующее масштабирование.

i Примечание

Если для имеющихся объективов используется ручное масштабирование, а для открытия диалогового окна **Scaling** (Масштабирование) и повторной установки флажка **Select Automatically** (Выбрать автоматически) вы нажимаете на строку состояния в области масштабирования (**Scaling**), система использует фактические масштабы вместо теоретических. За указанным размером пикселя появится метка **Measured** (Фактическое) вместо **Theoretic** (Теоретическое).

3.10 Завершение работы программного обеспечения

- Порядок действий
- 1 Нажмите **File | Exit** (Файл | Выход). Также можно воспользоваться сочетанием клавиш **ALT+F4** либо нажать значок **Close** (Заккрыть) на панели программ.

i Примечание

Если не было выполнено сохранение файлов, перед закрытием программы появится диалоговое окно **Save Documents** (Сохранение документов). Выберите файлы, которые необходимо сохранить, или снимите метку с файлов, которые сохранять не требуется.

4 Получение изображений

4.1 Настройка многоканальных экспериментов

В следующих разделах вы узнаете, как быстро и легко проводить многоканальные эксперименты с помощью ZEN 2.3 (blue).

i Примечание

Убедитесь, что вы используете полностью моторизованный микроскоп. Все компоненты микроскопа (например, объективы, фильтры и т. д.) должны быть заранее настроены в программе MicroToolBox (MTB).

Существует два варианта проведения многоканальных экспериментов. В первом варианте используется функция быстрой настройки Smart Setup, во втором — инструмент Channels (Каналы). Оба варианта имеют сходства и различия, описанные в обзоре ниже:

Сходства

- Флуоресцентные красители и методы работы в проходящем свете выбираются из базы данных.
- Создание автоматических настроек аппаратного обеспечения моторизованных микроскопов, в которых учитываются свойства выбранного красителя и аппаратного обеспечения используемого микроскопа.
- Создание баз экспериментов с помощью двух вариантов и возможность дальнейшей оптимизации настроек опытными пользователями.

Различия

Smart Setup (Быстрая настройка)	Инструмент Channels (Каналы)
Доступны максимум 4 флуоресцентных канала и 1 канал проходящего света	Отсутствуют ограничения по числу и типу каналов
До 3 предлагаемых вариантов эксперимента (исходя из выбранной комбинации красителей и используемого аппаратного обеспечения)	—
Больше предлагаемых вариантов по оптимизации настроек эксперимента с использованием кнопок Motif	—

Smart Setup (Быстрая настройка)	Инструмент Channels (Каналы)
Графическое представление расчетной интенсивности сигнала выбранных красителей	—
Графическое представление предполагаемых спектральных помех с выбранными комбинациями красителей	—
Отображение спектров возбуждения и излучения выбранных красителей	—
—	Возможность настройки каналов для красителей, не поддерживаемых (или недостаточно хорошо поддерживаемых) используемым программным обеспечением

4.1.1 Настройка нового эксперимента

Необходимые предварительные условия ■ Микроскоп и его компоненты включены и настроены.

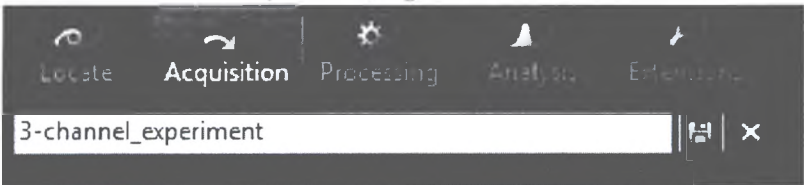
- Успешно запущено программное обеспечение.

Порядок действий 1 В левой области инструментов выберите вкладку **Acquisition** (Получение изображений).

- 2 В менеджере экспериментов **Experiment Manager** нажмите кнопку  **Options** (Опции). Откроется выпадающий список **Options**.

(Новый). 3 Для создания нового, «пустого» эксперимента нажмите **New**

- 4 Введите название эксперимента, например «3-канальный_НОВЫЙ».



- 5 Для создания эксперимента нажмите кнопку  **Save** (Сохранить).

Создан новый, пустой эксперимент. Все остальные настройки сохраняются в этом эксперименте. После внесения изменений в эксперимент в конце имени файла появится звездочка (*). Она указывает на то, что эксперимент был изменен и не сохранен. Во избежание потери настроек периодически сохраняйте эксперименты.

4.1.2 Вариант 1. Smart Setup (Быстрая настройка)

- Порядок действий 1 Нажмите кнопку **Smart Setup** (Быстрая настройка) во вкладке **Acquisition** (Получение изображений). Откроется диалоговое окно **Smart Setup**.
- 2 Нажмите кнопку **WF** (широкопольная микроскопия) в верхней части диалогового окна.

- 3 Чтобы добавить канал, нажмите кнопку  **Add** (Добавить) в разделе **Configure your Experiment** (Настройка эксперимента).
- 4 Откроется диалоговое окно **Add Dye or Contrasting Method** (Добавить краситель или метод контрастирования). Выберите необходимый краситель или метод контрастирования.
- 5 Нажмите кнопку **Add** (Добавить). Также вы можете двойным нажатием выбрать краситель в соответствующей базе данных. Краситель будет перенесен непосредственно в эксперимент.
Канал успешно добавлен в эксперимент. Для добавления дополнительных каналов повторите последние два шага.

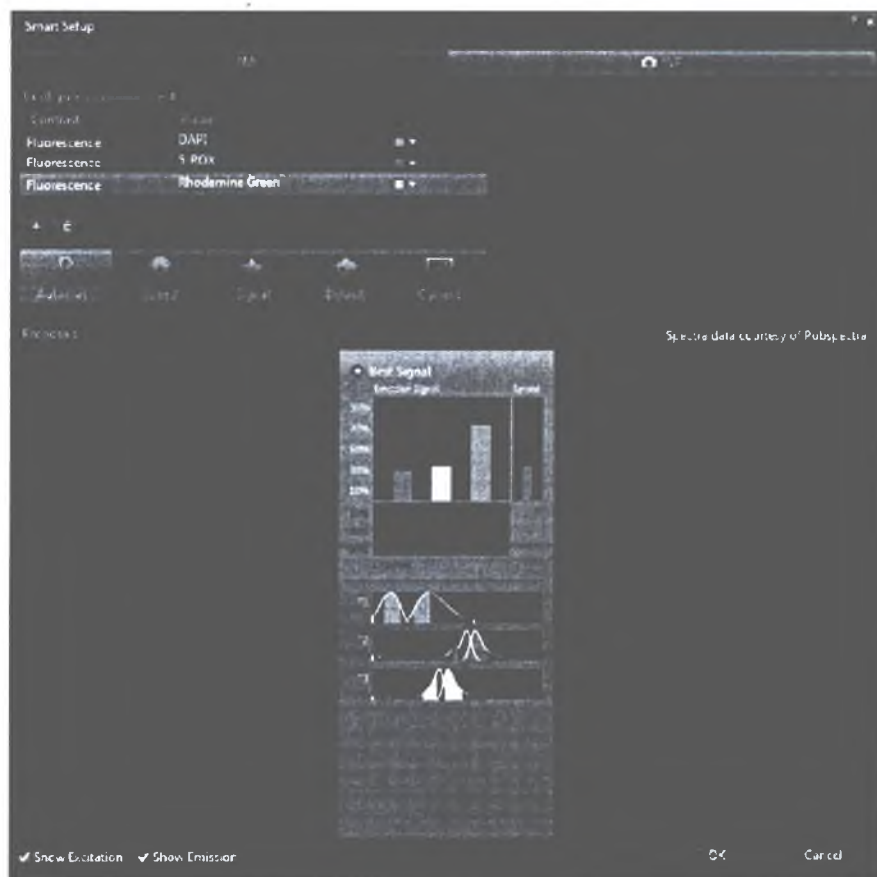
Примечание

Появление сообщения об ошибке **“Smart Setup calculation failed”** («Не удалось выполнить расчет с помощью функции Smart Setup») означает, что функции Smart Setup не удалось рассчитать ни одно из предложений. Это может происходить из-за того, что фильтры и источники света, имеющиеся в системе, не позволяют получать изображение красителя при хорошем сигнале или незначительных перекрестных помехах. Следовательно, создание канала для данного красителя или метода контрастирования невозможно. В этом случае попробуйте выбрать другой аналогичный краситель.

В случае если подобное сообщение об ошибке появляется при выборе всех красителей, то это может происходить по одной из следующих причин:

- источник света не настроен или выключен;
 - не настроена камера в системе, камера не подсоединена или (на определенных моделях) выключена.
- 6 Для возврата к функции **Smart Setup** нажмите кнопку **Close** (Заккрыть).

Теперь в разделе **Proposals** (Предложения) отобразится графическое представление. В нем схематически представлены спектры красителей, расчетная интенсивность сигналов на краситель и спектральные помехи.



Примечание

В зависимости от выбранного красителя и используемого аппаратного обеспечения микроскопа может отображаться до трех разных предложений (наилучший сигнал, самый быстрый сигнал, наилучшее сочетание). Они отличаются интенсивностью сигнала, перекрестными помехами и скоростью. Выберите предложение, наиболее подходящее для эксперимента.

- 7 Для выбора предложения (при наличии более одного) активируйте **кнопку-переключатель** в верхней части предложения.
- 8 Для дополнительной оптимизации настроек эксперимента нажмите кнопку **Motif**. По умолчанию активирована кнопка **Automatic** (Автоматически).

i Примечание

Для получения высококачественного изображения (кнопка **Quality** (Качество)) либо для быстрого получения изображения, но при более низком качестве (кнопка **Speed** (Скорость)), с помощью кнопок **Motif** можно автоматически оптимизировать параметры получения изображений и настройки камеры. Более подробное описание кнопок **Motif** приводится в диалоговом окне **Smart Setup** (Быстрая настройка).

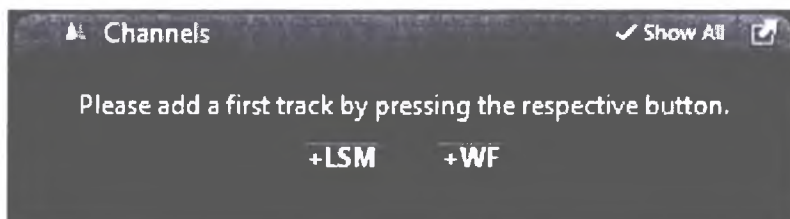
- 9 Для оптимизации настроек эксперимента примите предлагаемые параметры и закройте окно **Smart Setup**, нажав кнопку **OK**.
Дополнительные каналы будут автоматически добавлены в инструмент **Channels** (Каналы).
- 10 Нажмите на кнопку **Set Exposure** (Установить экспозицию) в строке **управляющих кнопок** в верхней части вкладки **Acquisition** (Получение изображений).
Время экспозиции теперь измеряется последовательно для всех трех каналов. Оно перенесено в настройки данных каналов. Вслед за измерением времени экспозиции производится автоматическое получение многоканального изображения, которое отображается в **центральной области экрана**.
- 11 Для сохранения эксперимента со всеми настройками нажмите кнопку  **Options** (Опции) менеджера экспериментов (**Experiment Manager**).
- 12 В выпадающем списке менеджера экспериментов (**Experiment Manager**) выберите **Save** (Сохранить).

Вы настроили многоканальный эксперимент с помощью функции **Smart Setup** (Быстрая настройка), провели его, а затем сохранили его конфигурацию. Теперь вы можете повторять этот эксперимент сколько угодно, используя те же настройки.

4.1.3 Вариант 2. Инструмент Channels (Каналы)

Порядок действий

- 1 Откройте инструмент **Channels** (Каналы) в группе **Acquisition Parameter** (Параметры получения изображений).



- 2 Нажмите кнопку **+WF**.
Откроется диалоговое окно **Add Dye or Contrast Method** (Добавить краситель или метод контрастирования).
- 3 Выберите необходимый краситель или метод контрастирования. Вы можете выполнить поиск красителя по его названию (или начальной букве) в поле ввода **Search** (Поиск).
- 4 Нажмите кнопку **Add** (Добавить) в нижней части диалогового окна или просто дважды нажмите на строку ввода.
Канал будет добавлен в ваш эксперимент. Для добавления дополнительных каналов повторите последние два шага.
- 5 Нажмите кнопку **Close** (Заккрыть).

Добавленные каналы появятся в инструменте **Channels** (Каналы).

- 6 Нажмите кнопку **Set Exposure** (Установить экспозицию) в строке основных кнопок верхней части вкладки **Acquisition** (Получение изображений).
Время экспозиции теперь измеряется последовательно для всех настроенных каналов. Оно также перенесено в настройки этих каналов. Для установки времени экспозиции для каждого канала в отдельности воспользуйтесь кнопкой **Set Exposure** (Установить экспозицию) в настройках канала инструмента **Channels** (Каналы). Вслед за измерением времени экспозиции производится автоматическое получение многоканального изображения, которое отображается в **центральной области экрана**.

- 7 Для сохранения эксперимента со всеми настройками нажмите кнопку  **Options** (Опции) менеджера экспериментов (**Experiment Manager**).

- 8 В выпадающем списке выберите **Save** (Сохранить).

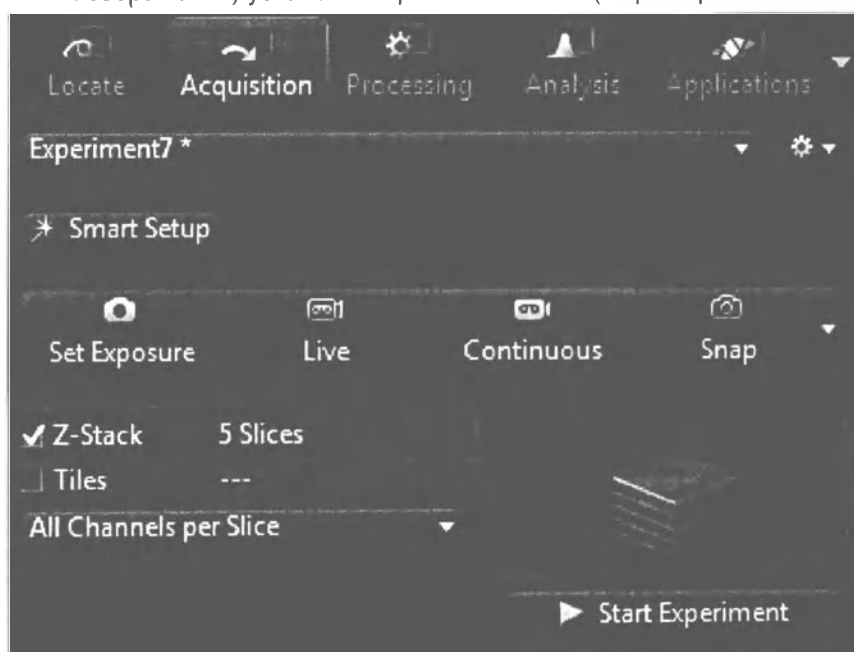
Вы настроили многоканальный эксперимент с помощью инструмента **Channels** (Каналы), выполнили его и затем сохранили его конфигурацию. Теперь вы можете повторять этот эксперимент сколько угодно, используя те же настройки.

4.2 Получение изображений срезов по оси Z

Необходимые предварительные условия ■ Микроскоп и его компоненты включены и настроены.

- Вы *настроили новый эксперимент* [► 39], по крайней мере определили один канал, правильно отрегулировали фокусировку и время экспозиции.
- Открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений).

Порядок действий 1 В разделе **Acquisition Dimensions** (Измерения полученных изображений) установите флажок **Z-Stack** (Серия срезов по оси Z).



В группе инструментов **Multidimensional Acquisition** (Получение многомерных изображений) появится инструмент **Z-Stack** (Изображение серий срезов по оси Z).

2 Чтобы открыть инструмент, просто нажмите на синюю строку.

Вы успешно выполнили общие подготовительные процедуры. Теперь можно настраивать эксперименты с серией срезов по оси Z в автоматическом и ручном режимах.

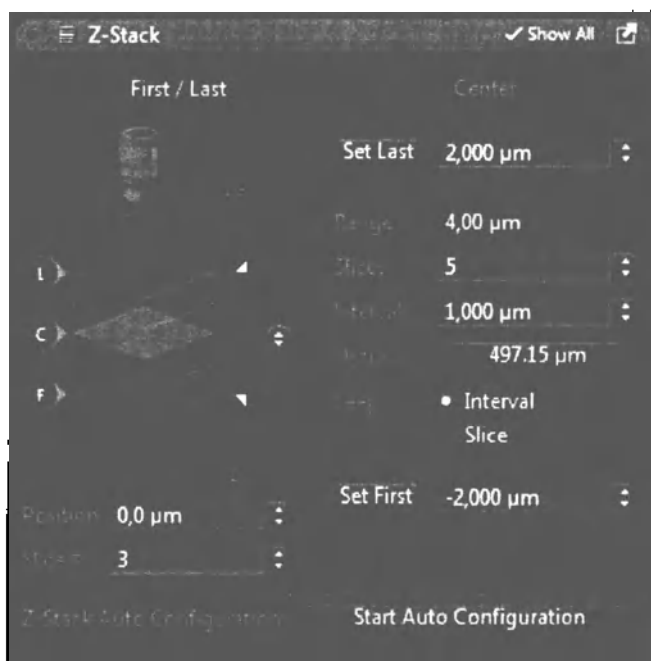
4.2.1 Настройка эксперимента с изображением серии срезов по оси Z в автоматическом режиме

Примечание

Обратите внимание, что автоматическая конфигурация серии срезов по оси Z возможна только в том случае, если в инструмент **Channels** (Каналы) не добавлены треки ЛСМ.

Порядок действий

- 1 Убедитесь, что образец размещен в поле зрения камеры и находится примерно в ее фокусе. Установите время экспозиции камеры, достаточное для принятия хорошего сигнала.
- 2 Нажмите на кнопку **Start Auto Configuration** (Запуск автоконфигурации).



Подтвердите системное сообщение, нажав **ОК**. Запустится автоматическая конфигурация.

Примечание

В зависимости от настроек получения изображений автоматическая конфигурация длится от нескольких секунд до полуминуты. Вы можете проверить состояние конфигурации по **индикатору выполнения в строке состояния**.

В режиме автоматической конфигурации позиция фокусировки первого, последнего и среднего срезов по оси Z, число срезов и интервал между ними определяются автоматически. Вы успешно настроили эксперимент с серией срезов по оси Z.

- 3 Для запуска эксперимента нажмите кнопку **Start Experiment** (Начать эксперимент).

Вы успешно настроили и провели эксперимент с серией срезов по оси Z.

i Примечание

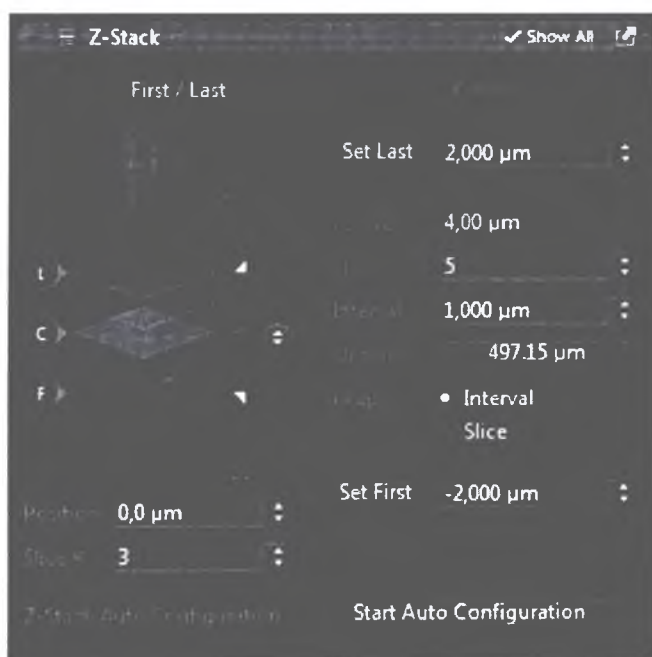
Вы можете изменить область образца (направление по оси Z в процентах), покрываемую автоматической конфигурацией серии срезов по оси Z в меню **Tools | Options | Acquisition | Z-Stack** (Инструменты | Опции | Получение изображений | Серия срезов по оси Z). Использование малых величин увеличивает срез по оси Z. Использование больших величин уменьшает срез по оси Z.

4.2.2 Ручная настройка среза по оси Z (режим первой/последней плоскости)

С помощью этого режима устанавливаются первая и последняя плоскости среза по оси Z. Этот режим подходит, если точно неизвестна толщина используемого образца.

Необходимые предварительные условия ■ Открыт инструмент **Z-Stack** (Серия срезов по оси Z).

- Порядок действий**
- 1 Включите режим **First / Last** (Первая плоскость / Последняя плоскость), нажав кнопку **First / Last**. Кнопка активирована по умолчанию.



- 2 В режиме живого изображения (**Live**) отрегулируйте электропривод по оси Z так, чтобы достичь верхней плоскости серии срезов по оси Z. Плоскость, изображенная на рисунке голубым цветом, является фактической плоскостью фокусировки.
- 3 Нажмите кнопку **Set First** (Установить первую позицию), чтобы установить отрегулированную позицию по оси Z в качестве первой позиции серии срезов по оси Z.

- 4 В режиме живого изображения (**Live**) отрегулируйте электропривод по оси Z так, чтобы достичь нижней плоскости серии срезов по оси Z.
- 5 Нажмите кнопку **Set Last** (Установить последнюю позицию), чтобы установить отрегулированную позицию по оси Z в качестве последней позиции серии срезов по оси Z.
Вы успешно установили верхнюю и нижнюю границы серии срезов по оси Z.
- 6 Нажмите кнопку **Optimal** (Оптимальный). Произойдет оптимизация числа срезов и определение наилучшего интервала в соответствии с критериями Найквиста. Также вы можете вручную задать необходимый интервал и число срезов в полях ввода.

Примечание

В зависимости от опции, выбранной в разделе **Keep** (Удерживать), будет поддерживаться постоянным либо интервал (**Interval**), либо число срезов (**Slices**).

- 7 Для запуска эксперимента нажмите кнопку **Start Experiment** (Начать эксперимент).

Вы успешно настроили и провели эксперимент с серией срезов по оси Z в режиме первой и последней плоскостей (**First/Last**).

4.2.3 Ручная настройка среза по оси Z (режим средней плоскости)

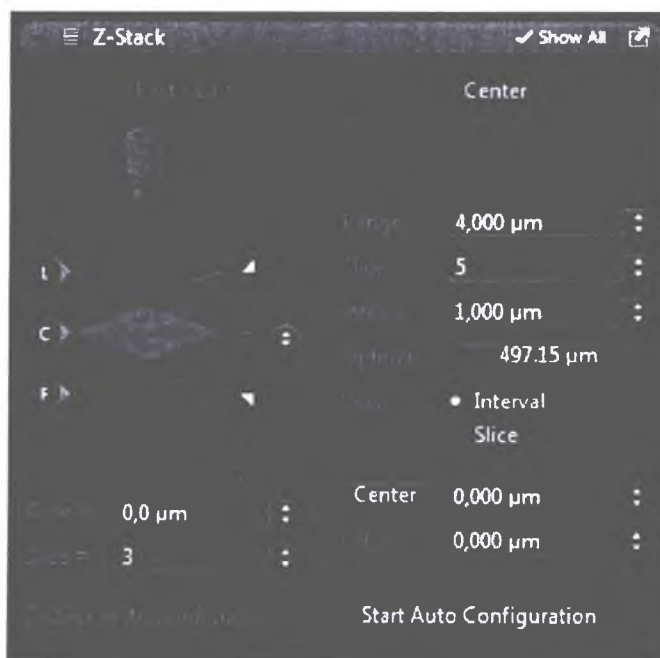
С помощью этого режима устанавливается центральная плоскость среза по оси Z. Этот режим подойдет, если точно известна толщина используемого образца. В таком случае это самый быстрый способ настройки серии срезов по оси Z.

Необходимые предварительные условия ■

Открыт инструмент **Z-Stack** (Серия срезов по оси Z).

Порядок действий

- 1 Включите режим **Center** (Центральная плоскость), нажав кнопку **Center** (Центральная плоскость) в верхней части инструмента.



- 2 В режиме живого изображения (**Live**) отрегулируйте электропривод по оси Z так, чтобы точно сфокусироваться на центре образца. Плоскость, изображенная на рисунке голубым цветом, является фактической плоскостью фокусировки.
- 3 Нажмите кнопку **Center** (Центральная плоскость) под разделом настроек, чтобы установить фактическую позицию фокусировки в качестве центральной плоскости серии срезов по оси Z.
- 4 Нажмите кнопку **Optimal** (Оптимальный). Произойдет оптимизация числа срезов и определение наилучшего интервала в соответствии с критериями Найквиста. Также вы можете вручную задать необходимый интервал и число срезов в полях ввода.

1 Примечание

В зависимости от опции, выбранной в разделе **Keep** (Удерживать), будет поддерживаться постоянный либо интервал (**Interval**), либо число срезов (**Slices**).

- 5 Для запуска эксперимента нажмите кнопку **Start Experiment** (Начать эксперимент).
- 6 Вы успешно настроили и провели эксперимент с серией срезов по оси Z в режиме **Center** (Центральная плоскость).

4.3 Получение изображений временной серии

Необходимые предварительные условия ■ Для настройки экспериментов с **временными сериями** необходимо приобрести лицензию на модуль **Time Series**.

- Вы настроили *новый эксперимент* [► 39], по крайней мере определили один канал [► 38], правильно отрегулировали фокусировку и время экспозиции.
- Открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений).

Порядок действий

- 1 Активируйте инструмент **Time Series** (Временная серия), установив флажок **Time Series** в разделе **Acquisition Dimensions** (Измерения полученных изображений).

В **левой области инструментов** появится инструмент **Time Series** (Временная серия).

- 2 Откройте инструмент **Time Series** (Временная серия).
- 3 С помощью ползунка **Duration** (Продолжительность) установите длину временной серии. Вы можете выбрать интервал (дни, часы, минуты, секунды, миллисекунды) или циклы (1-n), например 10 циклов.
- 4 Установите интервал для временной серии ползунком **Interval** (Интервал), например 5 с.
- 5 Нажмите кнопку **Start Experiment** (Начать эксперимент).

Начнется эксперимент с временной серией. Вы ознакомились с основами настройки экспериментов с временной серией. В приведенном примере изображение получают в 10 циклах через каждые 5 секунд. Изображение временной серии также содержит 10 отдельных изображений.

i Примечание

Отдельные изображения можно вывести на экран с помощью ползунка **Time** (Время) во вкладке **Dimensions** (Измерения).

4.4 Отображение и настройка расчетной сетки в области изображения

В этом разделе вы узнаете, как отображать и настраивать расчетную сетку в области изображений.

Примечание

Расчетная сетка отображается только на полученном изображении или живом изображении в непрерывном режиме (**Continuous**).

Необходимые предварительные условия ■ Открыто изображение, на котором необходимо отобразить расчетную сетку.

Порядок действий 1 Выберите **Grid** (Расчетная сетка) в меню **Graphics** (Графические элементы).

Расчетная сетка отобразится на изображении.

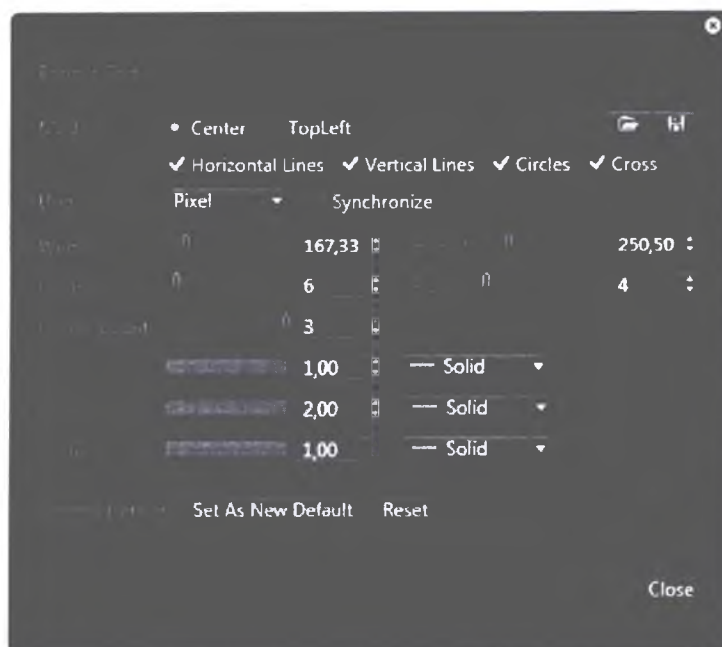


2 Щелкните правой клавишей мыши точно по линии сетки.

Откроется контекстное меню.

3 В контекстном меню выберите **Format Graphical Elements** (Форматировать графические элементы).

Отобразится диалоговое окно **Format Grid** (Форматирование расчетной сетки).



- 4 Установите флажок **Synchronize** (Синхронизировать). Эта функция означает, что любое изменение, например числа столбцов, одновременно изменяет и число рядов. Таким образом, расчетная сетка всегда остается квадратной.
- 5 Большее число столбцов устанавливается с помощью ползунка **Columns** (Столбцы). Также необходимое число можно ввести в поле ввода.
Изменения отображаются непосредственно на изображении.
- 6 Для сохранения настроек расчетной сетки нажмите  **Save** (Сохранить).
Откроется диалоговое окно Windows сохранения настроек.
- 7 Введите имя настройки и нажмите **Save** (Сохранить).
- 8 Закройте диалоговое окно **Format Grid** (Форматирование расчетной сетки).

Вы успешно вставили расчетную сетку в изображение, отредактировали и сохранили ее настройки.

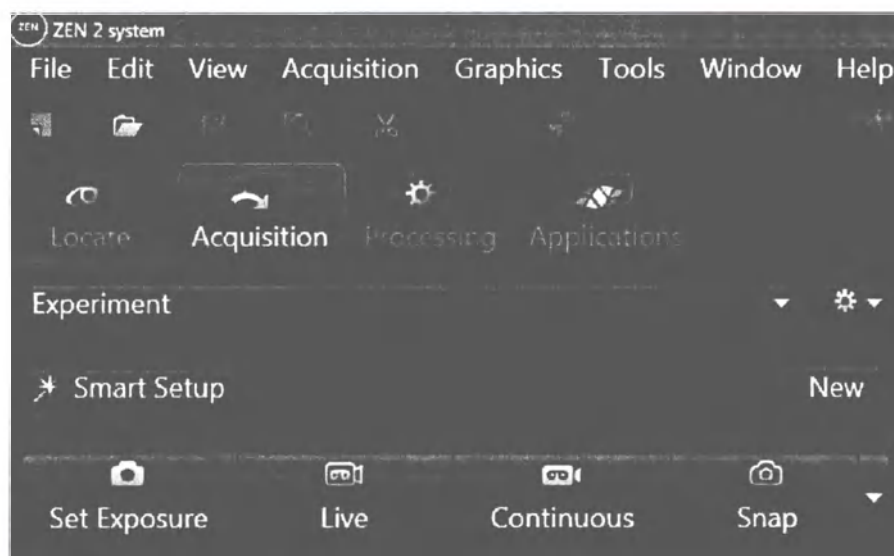
4.5 Получение конфокальных изображений

Для получения конфокальных изображений необходимо сначала определить параметры получения изображений и настроить эксперимент. Поэтому рекомендуем использовать функцию быстрой установки **Smart Setup**, где будут автоматически предложены определенные параметры для настройки эксперимента, например, при получении изображений с помощью модуля Airyscan или с помощью камеры. В следующем разделе вы

узнаете, как использовать функцию быстрой установки Smart Setup, и получите первое конфокальное изображение. Вследствие огромного разнообразия образцов (и подходящих конфигураций для экспериментов) в этом разделе рассматриваются лишь основы получения конфокального изображения.

Необходимые предварительные условия ■ Открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений).

Порядок действий 1 Нажмите кнопку **Smart Setup** (Быстрая настройка).



2 Нажмите  **Add** (Добавить).

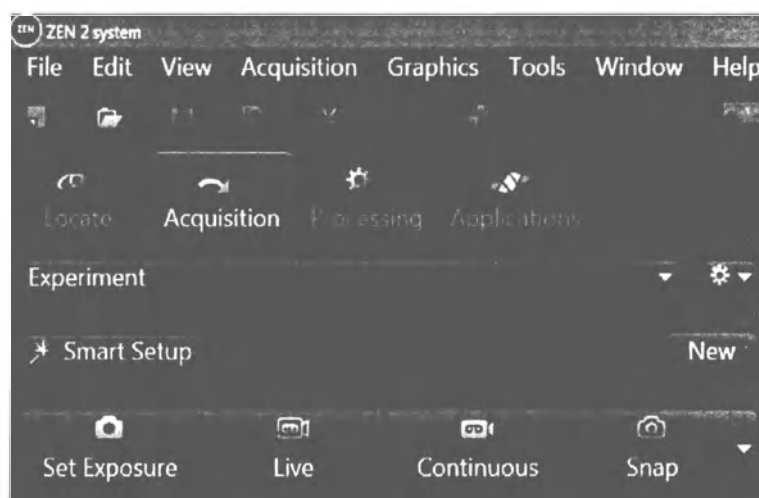


Откроется диалоговое окно **Add Dye** (Добавить краситель).

- 3 Выберите красители, используемые в эксперименте. Двойным щелчком добавьте краситель в список.



- 4 Нажмите **Ok**, чтобы закрыть диалоговое окно Smart Setup.
- 5 Убедитесь, что покровное стекло используемого образца направлено на объектив. Используйте иммерсионную среду, соответствующую объективу.
- 6 Для запуска непрерывного сканирования нажмите **Continuous** (Непрерывное сканирование).

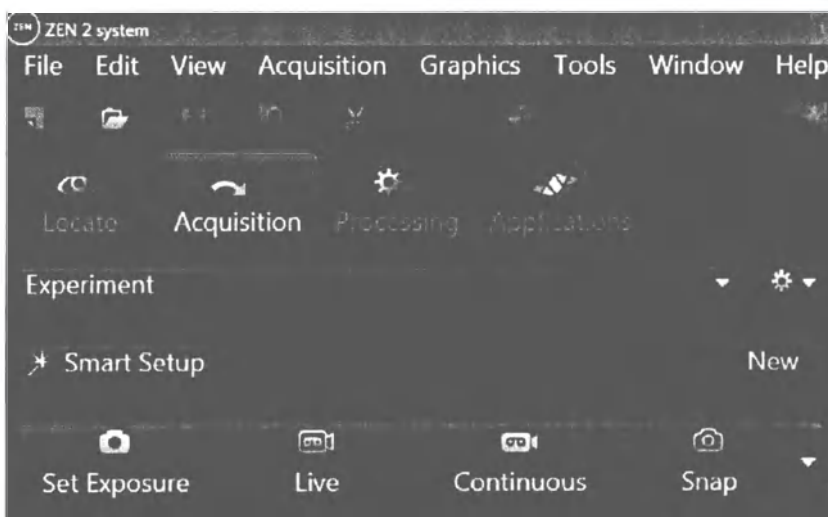


В центральной области экрана появится изображение образца.

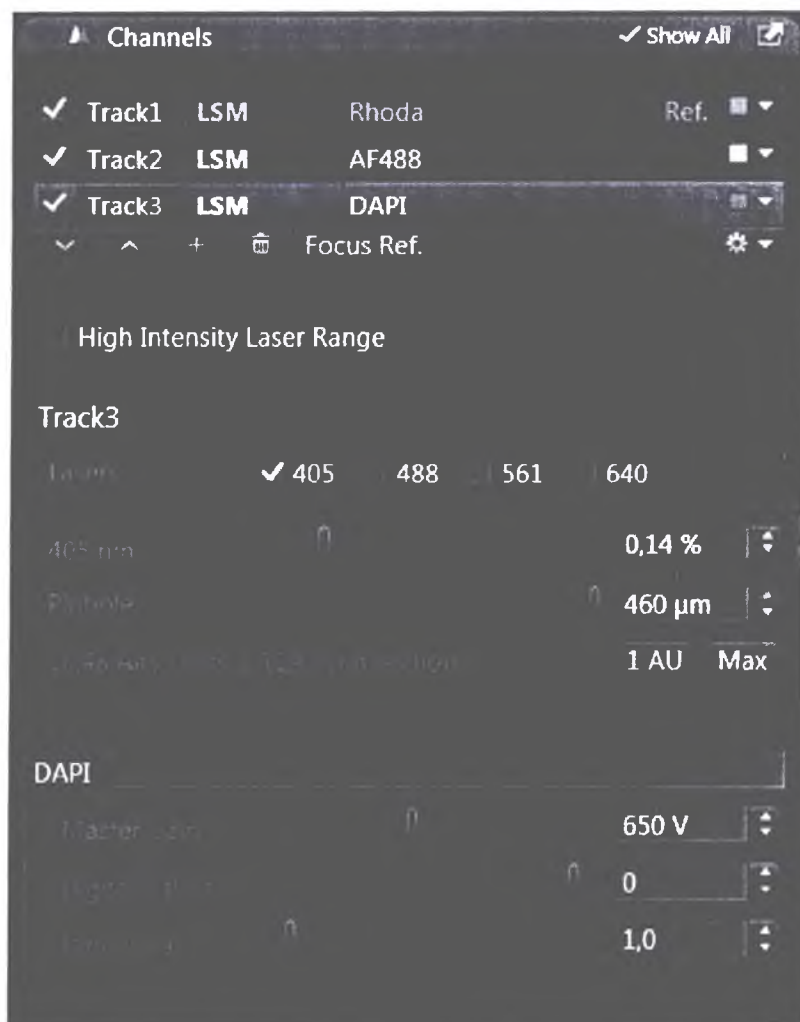
- 7 Переместитесь в необходимую область образца и с помощью джойстика выполните фокусировку. Или же воспользуйтесь колесиком мыши, зажав клавишу *Ctrl*.
- 8 Для прекращения непрерывного сканирования нажмите **Stop** (Стоп).



- 9 Нажмите кнопку **Set Exposure** (Установить экспозицию), чтобы автоматически применить параметры чувствительности детектора к яркости образца.

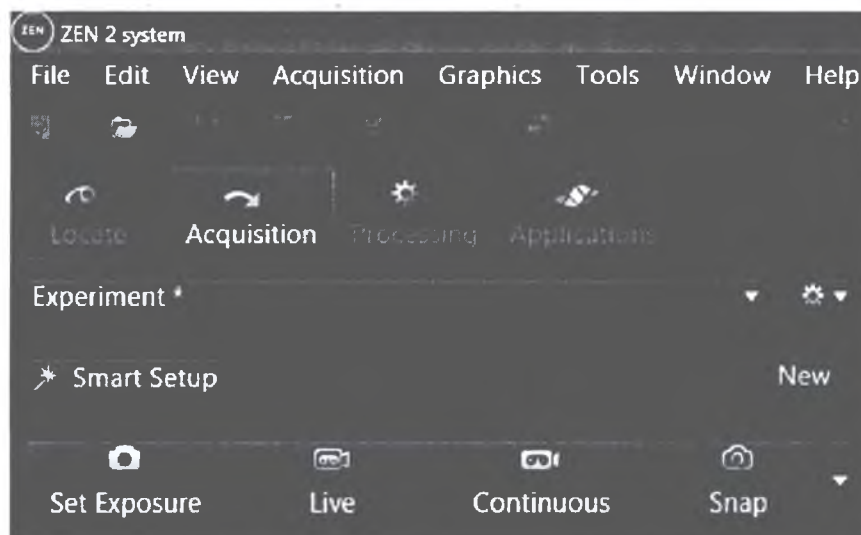


- 10 **Дополнительно:** если вы работаете со слабо окрашенными образцами, то можете попробовать увеличить мощность лазера в меню **Channels | Lasers** (Каналы | Лазеры). Затем повторите последний шаг, нажав **Set Exposure** (Установить экспозицию).



Образец отрегулирован должным образом.

- 11 Нажмите кнопку моментального снимка **Snap** для получения отдельного конфокального изображения.



Вы успешно получили конфокальное изображение. Сохраните изображение в инструменте **Images and Documents** (Изображения и документы) или с помощью меню **File | Save** (Файл | Сохранить).

4.6 Работа со стратегиями фокусирования

4.6.1 Введение

Для работы со стратегиями фокусирования необходимо использовать инструмент **Focus Strategy** (Стратегия фокусирования). Данный инструмент позволяет выбирать подходящую стратегию и оптимизировать соответствующие настройки, например ручное или автоматическое определение позиции по оси Z, а также обновлять их в ходе эксперимента. Обратите внимание, что доступность определенных стратегий фокусирования зависит от используемой системы и имеющихся компонентов (например, Definite Focus.2).

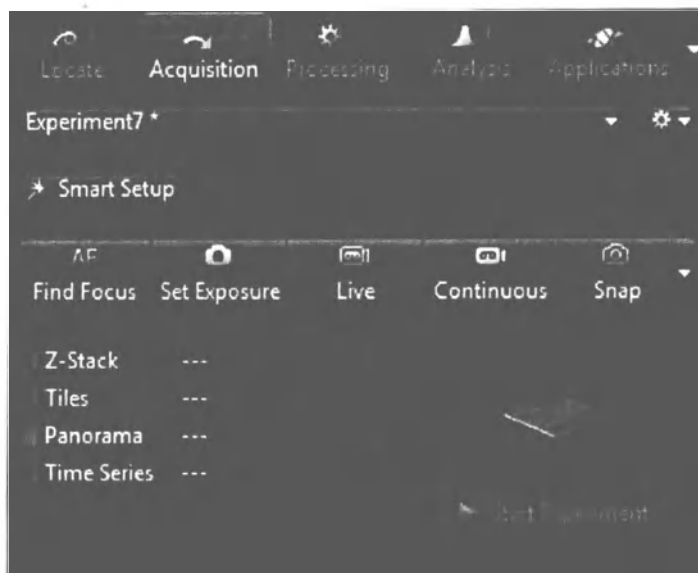
4.6.1.1.1 Общие подготовительные процедуры

Необходимые предварительные условия ■ Чтобы воспользоваться стратегиями фокусирования, вам потребуется электропривод фокусировки/привод по оси Z.

- Открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений) в **левой области инструментов**.
- *Создан новый эксперимент [► 39], определен по крайней мере один канал [► 38], правильно настроены фокус и время экспозиции.*

Порядок действий

- 1 Активируйте измерения полученного изображения (например, Tiles (мозаики), Time Series (временные серии)), необходимые в эксперименте.



- 2 Откройте инструмент **Focus Strategy** (Стратегия фокусирования). Доступные стратегии фокусирования отобразятся в выпадающем списке.

Примечание

Число доступных стратегий фокусирования зависит от активированных измерений полученных изображений (например, мозаик, временной серии), используемых аппаратных средств (например, модуля точной фокусировки) и лицензии на программное обеспечение (например, модули **Software Autofocus** (Программная автофокусировка) и **Tiles** (Мозаики) позволяют использовать дополнительные стратегии фокусирования).

- 3 Определите наиболее подходящую для своего эксперимента стратегию. При проведении эксперимента с мозаиками (**Tiles**) программное обеспечение автоматически выберет наиболее подходящую стратегию фокусирования, если таковая не была выбрана заранее. Более подробное описание всех стратегий см. в разделе «Стратегия фокусирования».

Вы успешно выполнили общие подготовительные процедуры. В зависимости от определенной стратегии фокусирования следуйте одному из нижеприведенных наборов инструкций.

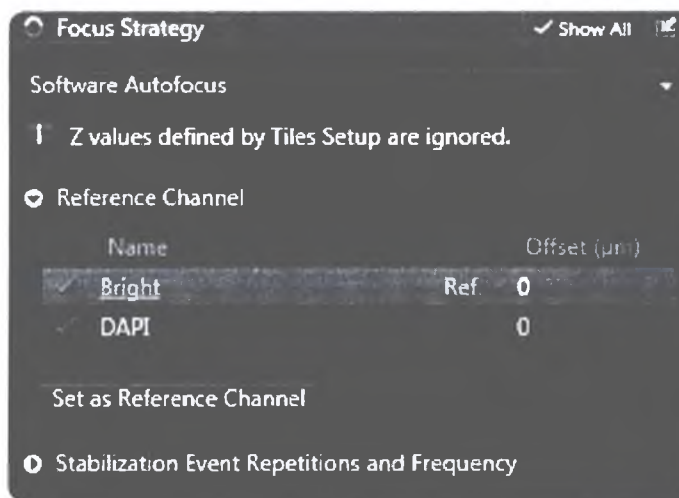
4.6.2 Использование программной автофокусировки

Данная стратегия фокусирования предназначена для автоматизации фокусирования используемого образца до и в ходе получения изображения с помощью программной автофокусировки (**Software Autofocus**). Эта стратегия особенно полезна при проведении экспериментов с временной серией (**Time Series**) или мозаиками (**Tiles**).

Необходимые предварительные условия ■ Для использования стратегии программной автофокусировки (**Software Autofocus**) необходимо наличие модуля **Autofocus** (Автофокусировка).

Порядок действий

- Успешно выполнены *общие подготовительные процедуры* [► 55] для использования стратегий фокусирования (создан эксперимент, определен по крайней мере один канал, активированы измерения полученных изображений).
 - Во вкладке **Acquisition** (Получение изображений) открыт инструмент **Focus Strategy** (Стратегия фокусирования).
- 1 Из выпадающего списка выберите **Software Autofocus** (Программная автофокусировка). Обратите внимание, что Z-величины, определенные в настройках модуля **Tiles** (Мозаики), не учитываются.



- 2 В разделе **Reference Channel** (Опорный канал) выберите из списка канал, который необходимо использовать для фокусировки. Расширьте раздел, если он отображается не полностью.
- 3 Нажмите кнопку **Set as Reference Channel** (Установить в качестве опорного канала).
- 4 В разделах **Time Series Loop** (Контур временной серии) и (или) **Tiles Loop** (Контур мозаик) инструмента **Focus Strategy** (Стратегия фокусирования) вы можете определить момент фокусирования в ходе эксперимента.
- 5 Откройте инструмент **Software Autofocus** (Программная автофокусировка).
- 6 Введите параметры автофокусировки (например, **Quality** (Качество), **Sampling** (Дискретизация) и т. д.), соответствующие условиям проведения эксперимента, или для начала используйте настройки по умолчанию.
- 7 Настройте эксперимент с мозаиками и (или) временной серией.
- 8 Для запуска эксперимента нажмите кнопку **Start Experiment** (Начать эксперимент).



Вы успешно воспользовались инструментом **Software Autofocus** (Программная автофокусировка) для фокусировки изображений в ходе эксперимента.

4.6.3 Использование точной фокусировки в экспериментах с временными сериями

Выберите эту стратегию фокусирования, чтобы использовать модуль точной фокусировки для стабилизации фокуса в условиях колебания температур во время экспериментов с временными сериями (**Time Series**).

Необходимые предварительные условия ■ Чтобы воспользоваться стратегией фокусирования **Definite Focus** (Точная фокусировка), вам потребуется модуль точной фокусировки **Definite Focus**.

- Успешно выполнены *общие подготовительные процедуры* [► 55] для использования стратегий фокусирования.
- Во вкладке **Acquisition** (Получение изображений) открыт инструмент **Focus Strategy** (Стратегия фокусирования).

Порядок действий 1 Выберите **Definite Focus** (Точная фокусировка) из выпадающего списка стратегий фокусирования. Обратите внимание, что Z-величины, определенные в настройках модуля **Tiles**, не учитываются.

- 2 В разделе **Stabilization Event Repetitions and Frequency** (Частота и повторения случаев стабилизации) выберите режим **Standard** (Стандартный). В этом режиме используются рекомендуемые нами стандартные настройки для стабилизации. Выбрав режим **Expert** (Экспертный), вы можете отрегулировать все настройки по вашему усмотрению.
- 3 Настройте эксперимент с временной серией (**Time Series**), более подробно см. раздел «Получение изображений временной серии» [► 47].
- 4 Для определения позиции фокусировки с помощью привода фокусировки воспользуйтесь режимом живого изображения (**Live**).
- 5 Для запуска эксперимента нажмите **Start Experiment** (Начать эксперимент).



Стратегия **Definite Focus** (Точная фокусировка) инициализируется в начале эксперимента в текущей позиции фокусировки. Затем фокус стабилизируется в соответствии с настройками эксперимента с временной серией. На экране отобразится подсказка о необходимости соответствующим образом установить фокус перед началом эксперимента. Вы можете сделать это путем перехода в соответствующее местоположение (позицию или область мозаики) и запуска режима живого изображения или непрерывного режима. Затем вы можете продолжить или отменить выполнение эксперимента.

Вы успешно воспользовались стратегией фокусирования **Definite Focus** (Точная фокусировка) для стабилизации фокуса в ходе эксперимента с временной серией.

4.6.4 Использование локальных или общих фокальных поверхностей

Для использования локальных или общих фокальных поверхностей требуется выбрать стратегию фокусирования **Use Focus Surface/Z Values Defined by Tiles Setup** (Использовать фокальную поверхность/Z-величины, определенные в настройках модуля **Tiles**). Эта стратегия выбирается по умолчанию, если вы приобрели лицензию на модуль **Tiles**. В таком случае вы можете получить мозаичные изображения вдоль локальных или общих фокальных поверхностей (в определенной области мозаики/позиции) и использовать стратегию фокусирования для достижения оптимальных результатов изображения.

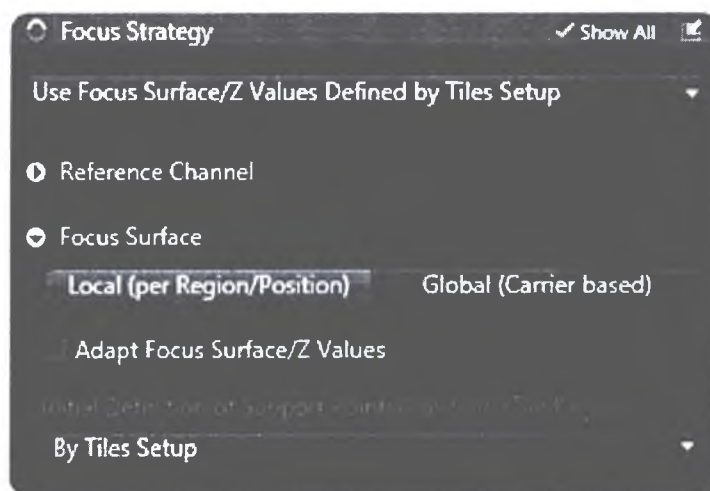
Локальная/общая фокальная поверхность обеспечивает фокусировку всех мозаик на образцах с наклонной или неровной поверхностью. Локальные фокальные поверхности для всех областей мозаик интерполируются в зависимости от позиций фокусировки контрольных точек. Позиции автоматически приобретают горизонтальную область фокусировки, которая определяется Z-величиной позиции.

В следующем разделе приводятся инструкции по использованию стратегии фокусирования для локальных фокальных поверхностей.

Необходимые предварительные условия ■ Для использования стратегии фокусирования **Use Focus Surface/Z-Values Defined by Tiles Setup** (Использовать фокальную поверхность/Z-величины, определенные в настройках модуля Tiles) необходимо иметь лицензию на модуль Tiles.

- Вы ознакомились с разделом «Введение» [► 55] для использования стратегий фокусирования (создан эксперимент, определен по крайней мере один канал, активированы измерения полученных изображений).
- Во вкладке **Acquisition** (Получение изображений) открыт инструмент **Focus Strategy** (Стратегия фокусирования).

- Порядок действий**
- 1 Выберите элемент **Use Focus Surface/Z-Values Defined by Tiles Setup** (Использовать фокальную поверхность/Z-величины, определенные в настройках модуля Tiles) в выпадающем списке (если таковой не выделен по умолчанию).
 - 2 В разделе **Focus Surface** (Фокальная поверхность) выберите **Local (per Region/Position)** (Локальная (для области/позиции)).
 - 3 В выпадающем списке **Initial Definition of Z-Values for Support Points/Positions** (Первоначальное определение Z-величин для контрольных точек/позиций) выберите **By Tiles Setup** (По настройке мозаик).



Примечание

Также можно выбрать опции **By Software Autofocus** (По программной автофокусировке) или **By Definite Focus: Recall Focus** (По точной фокусировке: извлечь фокус), если вы приобрели лицензию на модуль **Software Autofocus** (Программная автофокусировка) и (или) используете модуль точной фокусировки **Definite Focus.2**. Таким образом вы указываете на то, что позиции контрольных точек по оси Z должны быть обновлены модулем Software Autofocus / Definite Focus.2 непосредственно перед получением изображения.

- 4 Настройте эксперимент с **мозаиками**, см. раздел, посвященный проведению экспериментов с мозаиками и позициями.
- 5 Создайте **локальную фокальную поверхность** для областей мозаик, см. раздел «Создание локальной фокальной поверхности» [► 286].

- 6 Для запуска эксперимента нажмите кнопку **Start Experiment** (Начать эксперимент).



Получение мозаик областей мозаик и позиций осуществляется вдоль локальных фокальных поверхностей.

Если вы выполняете эксперимент в модуле **Time Series**, рекомендуем использовать функции **Adapt Focus Surface/Z Values** (Настройка фокальной поверхности/Z-величины), см. раздел «Стратегия фокусирования». Таким образом, вы сможете корректировать фокус при малых дрейфах, возникающих в ходе длительных экспериментов с многомерными временными сериями (например, с живыми клетками).

5 Обработка изображений

5.1 Порядок обработки изображений

Во вкладке **Processing** (Обработка изображений) применяются функции обработки полученных или загруженных изображений. Основной порядок обработки изображений довольно прост:

- Получите или откройте изображение, требующее обработки.
- Откройте вкладку **Processing** (Обработка изображений).

При открытии вкладки в качестве входного изображения для функции обработки используется последнее активное изображение (например, из вкладки **Acquisition** (Получение изображений)).

При необходимости выбрать другое входное изображение загрузите новое изображение в меню **Image Parameters | Input** (Параметры изображения | Входное изображение). Обратите внимание: изображение должно быть заранее открыто в ZEN.

- Выберите требуемую функцию обработки в меню **Method** (Способ), например **Color Balance** (Цветовой баланс). Поиск функций обработки также осуществляется в поле поиска (**Search**). Просто введите начальные буквы функций, которые требуется найти.
- Установите параметры функции в меню **Parameters** (Параметры). Справочная информация по какой-либо функции и ее параметрам доступна при нажатии клавиши F1.
В интерактивной справке подробно описаны все функции.
- Для просмотра применяемых функций нажмите кнопку **Preview** (Предварительный просмотр) в меню **Image Parameters | Output** (Параметры изображения | Выходные данные).
- Для применения изменения обработки изображения нажмите кнопку **Apply** (Применить).
Будет создано новое изображение в новом графическом контейнере. Исходное изображение не изменится.

5.2 Общие настройки

Сохранение / загрузка настроек

В разделе **Settings** (Настройки) в верхней области инструмента функций **Parameters** (Параметры) вы можете сохранять и повторно загружать оптимизированные настройки. Если вы отрегулировали параметры функции, чтобы сохранить настройки под новым именем, просто нажмите **Options | New** (Опции | Новый).



Рисунок 5.1. Раздел Settings (Настройки)

Оптимизация настроек для канала

Если входное изображение — многоканальное, все настройки можно оптимизировать для каждого канала в отдельности. Для этого необходимо установить флажок **Adjust per Channel** (Поканальные настройки).

Настройки трехмерности

Если у входного изображения имеется несколько измерений и (или) включен режим отображения всех функций (**Show all**), пользователю станет доступен выпадающий список **Third Dimension** (Трехмерность). Здесь можно выбрать измерение, к которому требуется дополнительно применить функцию. В зависимости от входного изображения доступны несколько вариантов:

Вариант	Функция
2D Slices (Двухмерные срезы)	Эта функция используется в двухмерном режиме только с многомерными изображениями, полученными, например, во время покадровой съемки или серии срезов по оси Z.
Z, T or C (Z, T или C)	Здесь вы можете выбрать, к какому дополнительному измерению следует применить функции: ■ Z = серия срезов по оси Z ■ T = время ■ C = каналы

Восстановление настроек по умолчанию

Восстановить настройки функций по умолчанию можно нажатием кнопки **Defaults** (Настройки по умолчанию).

5.3 Деконволюция со значениями по умолчанию

Успешное выполнение деконволюции зависит от качества изображения и типа образца. Для выполнения деконволюции доступно множество параметров, которые позволяют оптимизировать алгоритмы соответствующим образом. Это разнообразие параметров может быть огромным. С помощью метода **Deconvolution (defaults)** (Деконволюция по умолчанию) можно попытаться достигнуть хорошего первоначального результата, используя заранее выбранный набор параметров по умолчанию. Однако это будет возможно не для всех ситуаций. В таких случаях следует использовать метод настраиваемой деконволюции **Deconvolution (adjustable)**.

Необходимые предварительные условия ■ Открыта вкладка **Processing** (Обработка изображений).

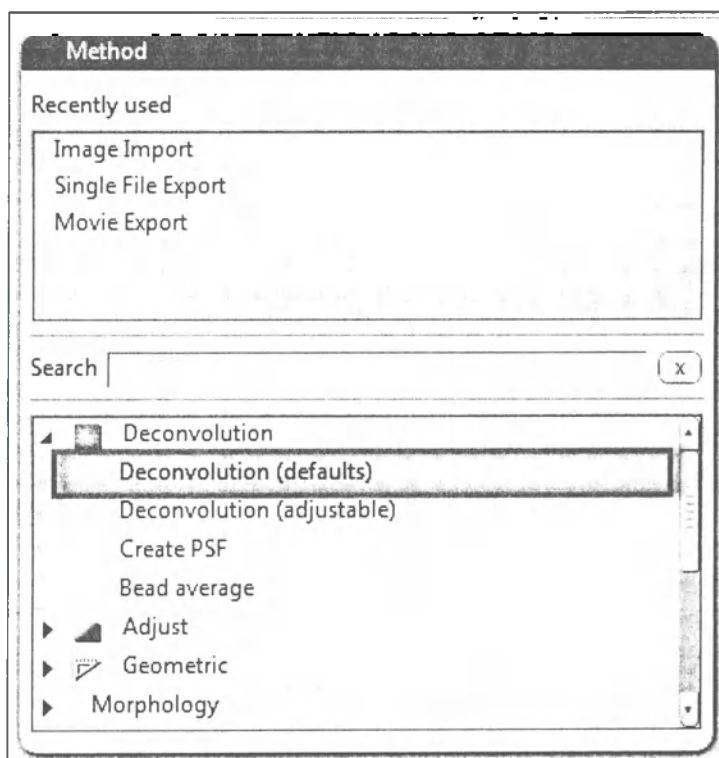
■ Получено или открыто флуоресцентное изображение, на котором необходимо выполнить деконволюцию.

Порядок действий 1 Откройте инструмент **Method** (Метод) меню **Method Selection** (Выбор метода).

2 Щелкните по группе **Deconvolution** (Деконволюция).

В списке отобразятся методы **Deconvolution (defaults)** (Деконволюция по умолчанию) и **Deconvolution (adjustable)** (Настраиваемая деконволюция).

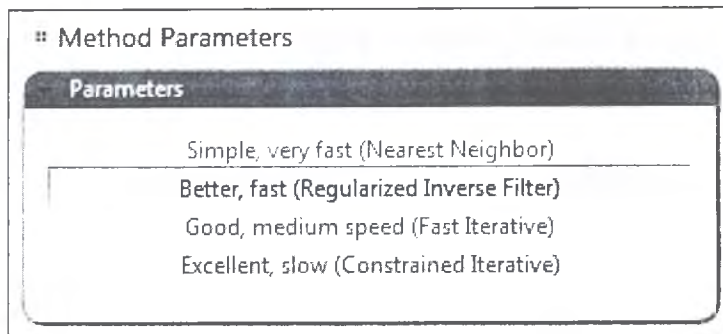
3 Выберите **Deconvolution (defaults)** (Деконволюция по умолчанию).



4 Откройте инструмент **Parameters** (Параметры) меню **Method Parameters** (Параметры метода).

Отобразятся 4 разных алгоритма деконволюции (Nearest Neighbor (Ближайший сосед), Inverse Filter (Обратный фильтр), Fast Iterative (Быстрый итеративный), Iterative (Итеративный)), которые вы можете автоматически применить к изображению.

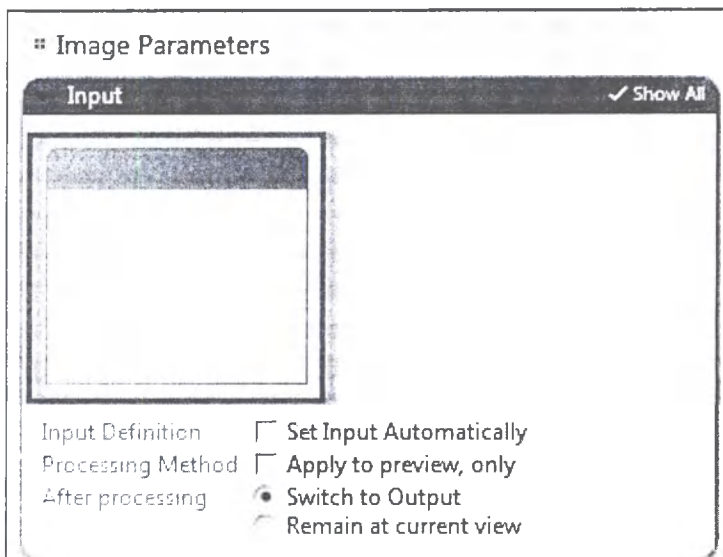
- 5 Для выбора алгоритма нажмите на соответствующий элемент.



- 6 Откройте инструмент **Input** (Входное изображение) меню **Image Parameters** (Параметры изображения).

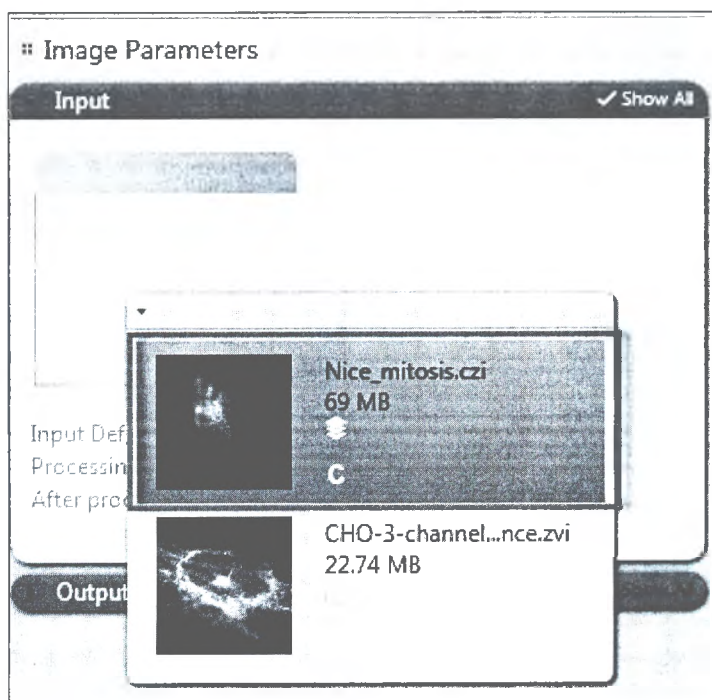
Отобразится инструмент **Input** (Входное изображение). Контейнер для входного изображения пуст.

- 7 Нажмите на пустой графический контейнер.



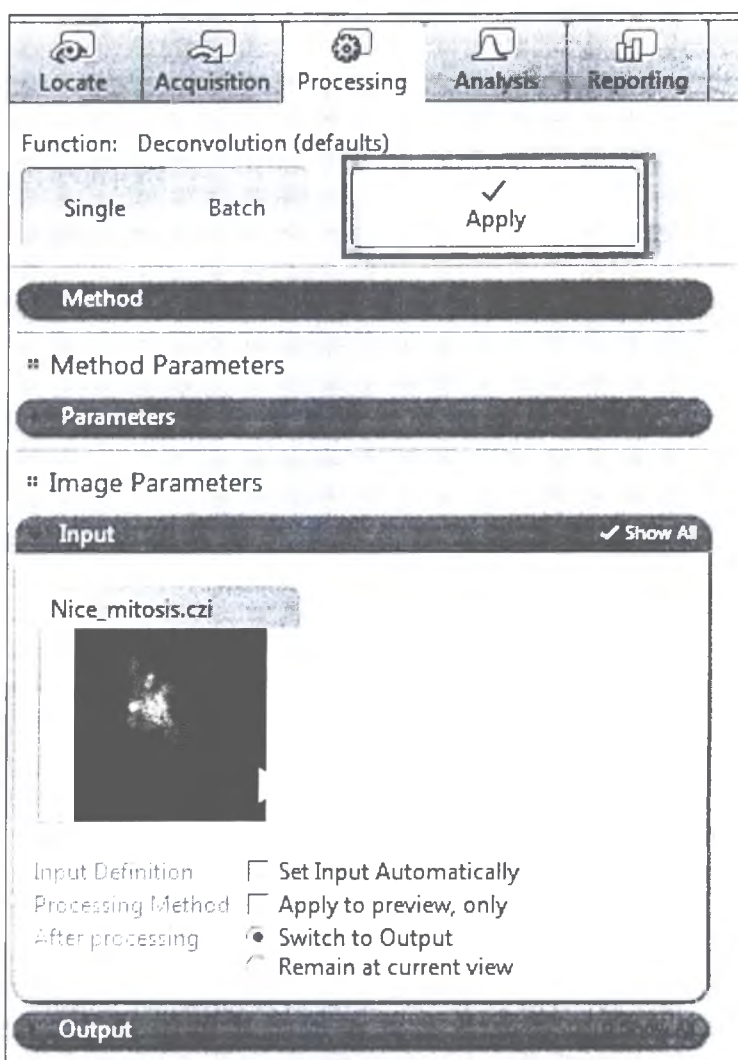
Откроется список предварительного просмотра всех открытых изображений.

- 8 Нажмите на изображение, к которому необходимо применить деконволюцию.



Теперь изображение находится в графическом контейнере и будет использовано в качестве входного изображения для обработки.

9 Для выполнения деконволюции нажмите кнопку **Apply** (Применить).



Начнется выполнение деконволюции. После обработки будет создан новый файл изображения, который автоматически откроется в центральной области экрана. Если вас устраивает качество обработки, сохраните обработанное изображение. Повторите деконволюцию, используя остальные параметры по умолчанию, для получения разных результатов. Если вы обладаете экспертными знаниями в данной области, можете самостоятельно настроить все параметры деконволюции, используя метод **Deconvolution (adjustable)** (Настраиваемая деконволюция).

5.4 Настраиваемая деконволюция

В нижеприведенной инструкции пошагово описывается метод проведения деконволюции изображения серий срезов по оси Z.

Мы будем использовать наилучший метод **Constrained Iterative** (Ограниченный итеративный) и **фактическую функцию рассеяния точки (PSF)**.

Подготовка

Для выполнения данных инструкций потребуется изображение серий срезов по оси Z используемого образца и изображение серий срезов гранул по оси Z, полученные в одних условиях с использованием одной системы. Откройте ZEN 2.3 (blue) без загрузки изображений.

Общая схема

В настоящей инструкции описаны следующие шаги:

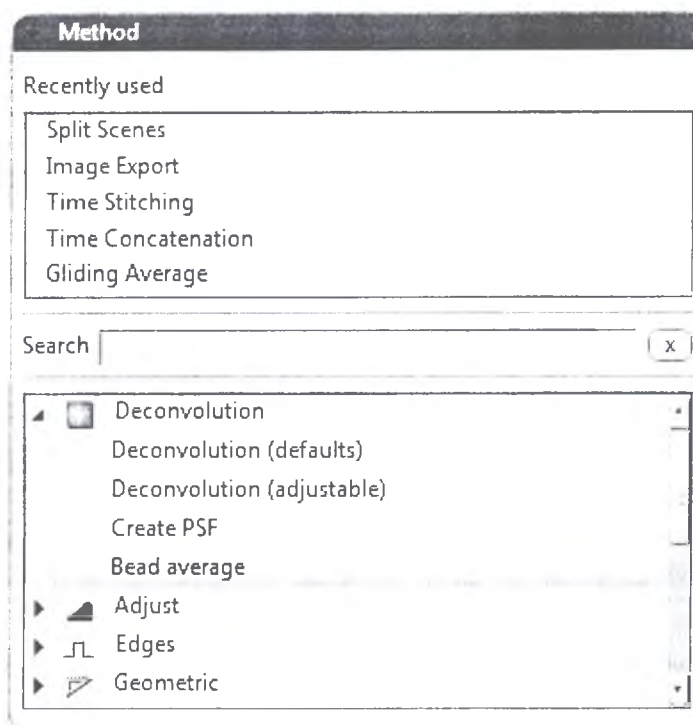
- **Шаг 1. Усреднение гранул**
В этом разделе вы научитесь создавать изображение серии срезов по оси Z с усредненными гранулами.
- **Шаг 2. Создание PSF**
В этом разделе вы научитесь создавать функцию рассеяния точки (PSF) из изображения серий срезов по оси Z с усредненными гранулами.
- **Шаг 3. Загрузка входного изображения**
В этом разделе вы научитесь загружать входное изображение для метода настраиваемой деконволюции.
- **Шаг 4. Задание параметров**
В этом разделе вы научитесь задавать параметры и добавлять фактическую PSF.
- **Шаг 5. Обработка изображения**
В этом разделе вы научитесь обрабатывать изображение и сравнивать его с входным.

5.4.1 Шаг 1. Усреднение гранул

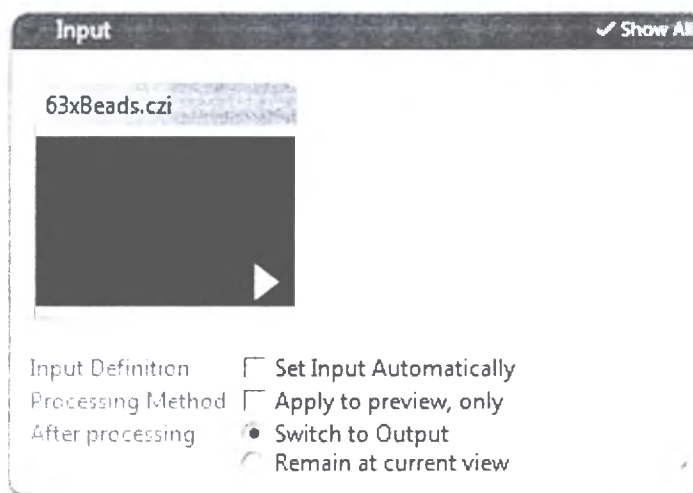
В этом разделе вы создадите изображение серии срезов отдельной гранулы по оси Z, полученное из нескольких гранул посредством усреднения. Усреднение уменьшает шум изображения и улучшает качество полученной PSF.

- | | |
|------------------|---|
| Порядок действий | <ol style="list-style-type: none"> 1 Откройте изображение с полученной гранулой. 2 Перейдите во вкладку Processing (Обработка изображений). Убедитесь, что выбран режим обработки отдельного изображения Single processing. |
|------------------|---|

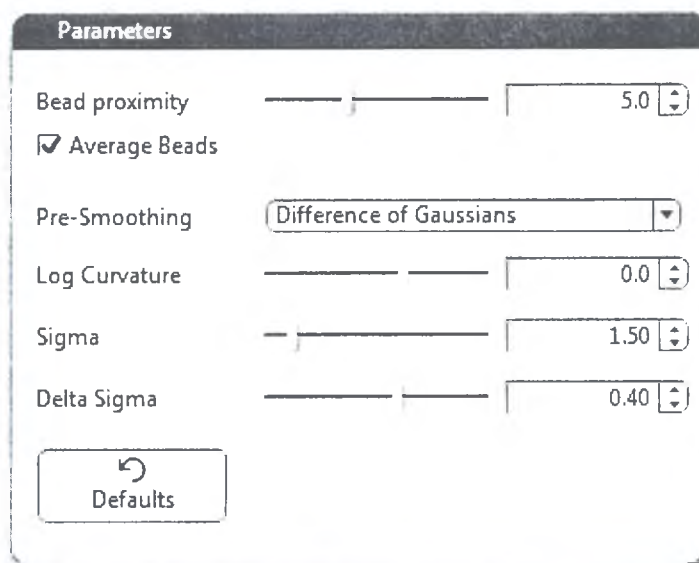
- 3 В инструменте **Method** (Метод) в группе **Deconvolution** (Деконволюция) выберите **Bead Average** (Усреднение гранулы).



- 3 В инструменте **Input** (Входное изображение) выберите изображение гранулы и снимите флажок **Set Input Automatically** (Задать входное изображение автоматически).



- 5 Откройте инструмент **Parameters** (Параметры). Для используемого примера изображения достаточно параметров, установленных по умолчанию:

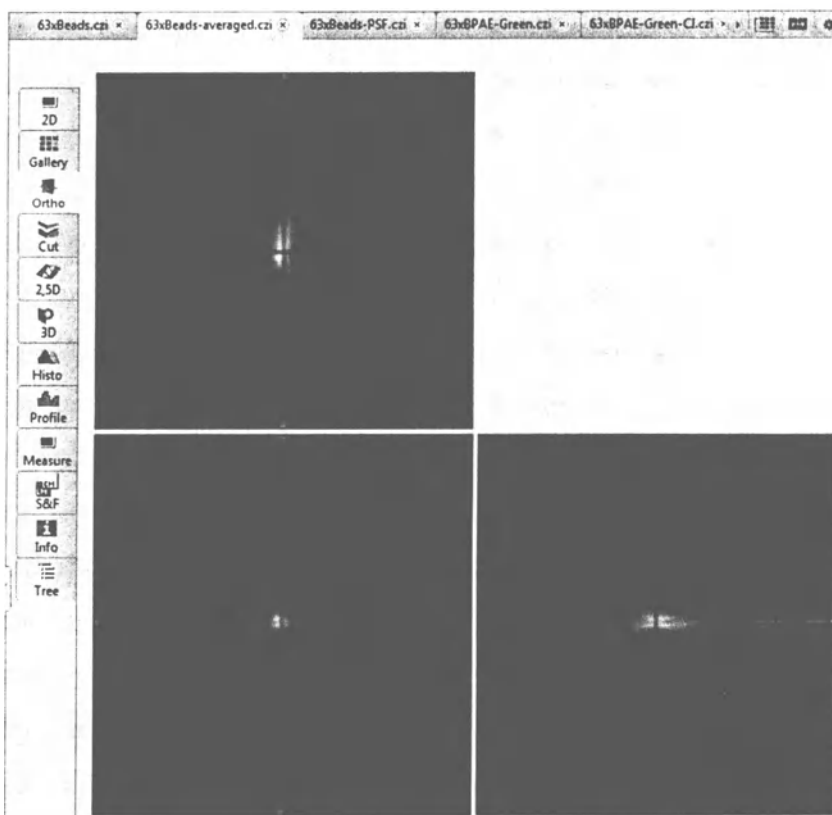


Примечание

Для проверки настроек рекомендуем отключить опцию **Bead Averaging** (Усреднение гранул). В полученном изображении вы сможете просмотреть отдельные гранулы и определить, обнаружены ли с помощью используемых параметров все подходящие гранулы. После проверки снова включите опцию и создайте окончательное изображение гранул.

- 6 Нажмите кнопку **Apply** (Применить).

Спустя несколько минут будет получен новый графический документ. На изображении будет представлена отдельная отцентрированная гранула со значительно сниженным уровнем шумов. Полученное изображение лучше просматривать в ортогональном виде (**Ortho**).



6 Сохраните результат под соответствующим именем.

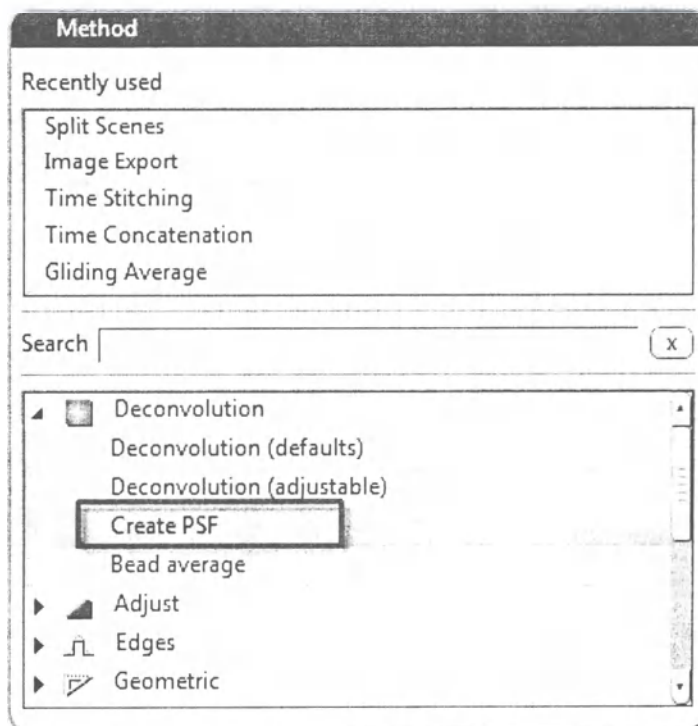
Вы успешно выполнили усреднение гранулы и создали изображение серии срезов по оси Z из полученной отдельной усредненной гранулы.

5.4.2 Шаг 2. Создание PSF

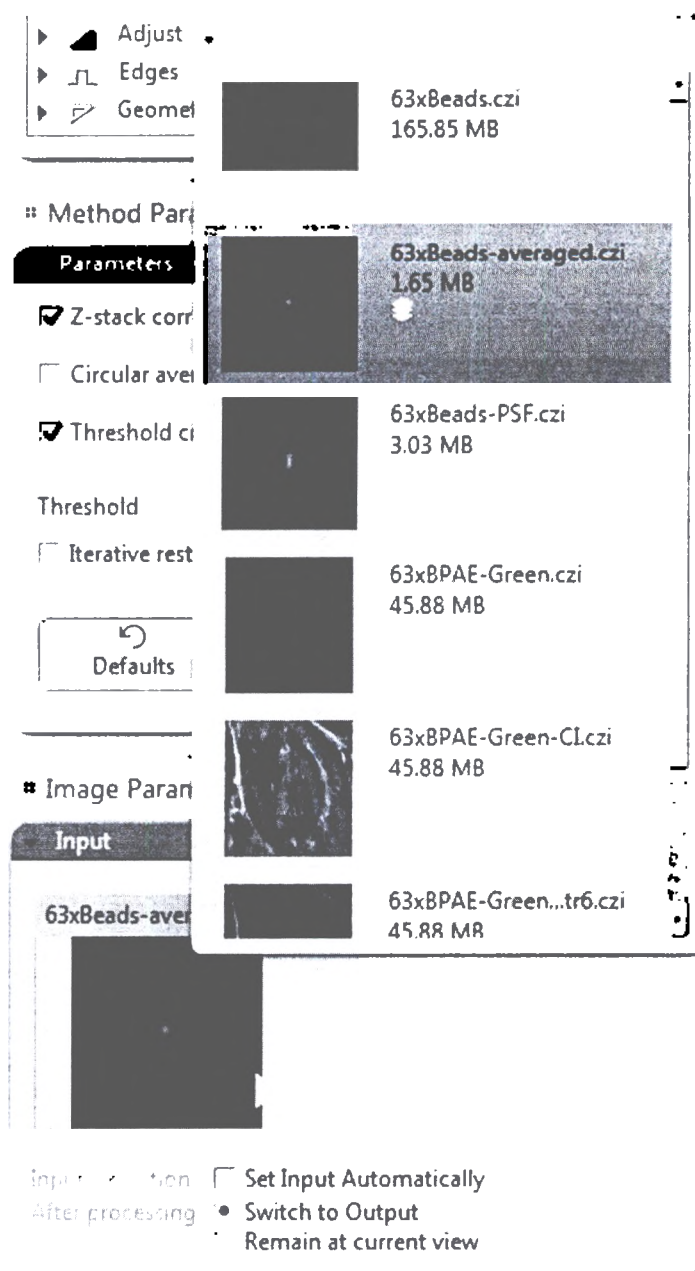
На данном этапе вы создадите PSF из изображения гранулы, созданного в **шаге 1**. Данные изображения преобразованы в другой формат, все шумы изображения устранены, и рассчитаны параметры PSF.

Необходимые предварительные условия ■ Изображение, созданное в шаге 1, должно быть открыто.

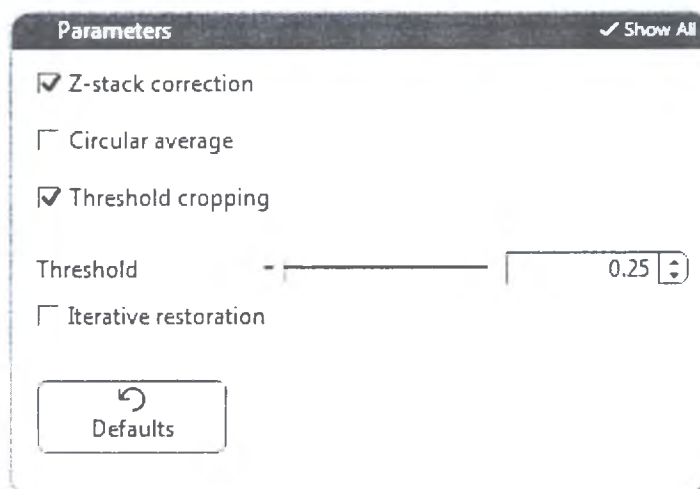
- Порядок действий 1 Во вкладке **Processing** (Обработка изображений) в группе **Deconvolution** (Деконволюция) выберите метод **Create PSF** (Создать PSF):



- 2 В инструменте **Input** (Входное изображение) выберите изображение, созданное в шаге 1.



- 3 Откройте инструмент **Method Parameters** (Параметры метода).

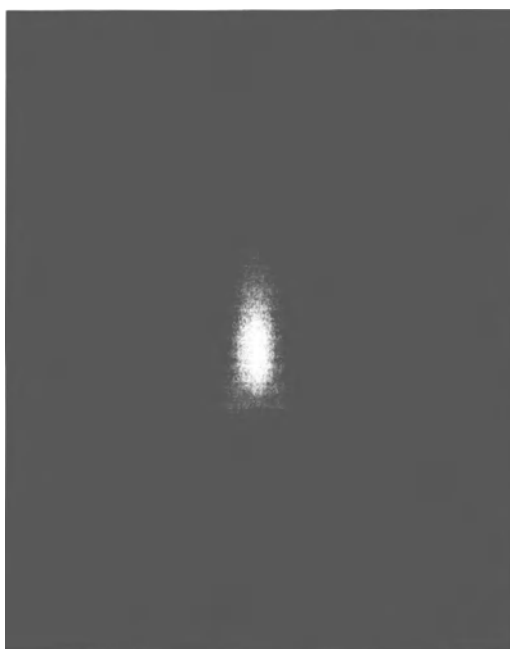


Как правило, установленные по умолчанию параметры обеспечивают хорошие результаты и не требуют изменения.

i Примечание

При использовании гранул с диаметром, превышающим предел разрешающей способности объектива, следует воспользоваться опцией Iterative Restoration (Итеративное восстановление) и указать диаметр гранул.

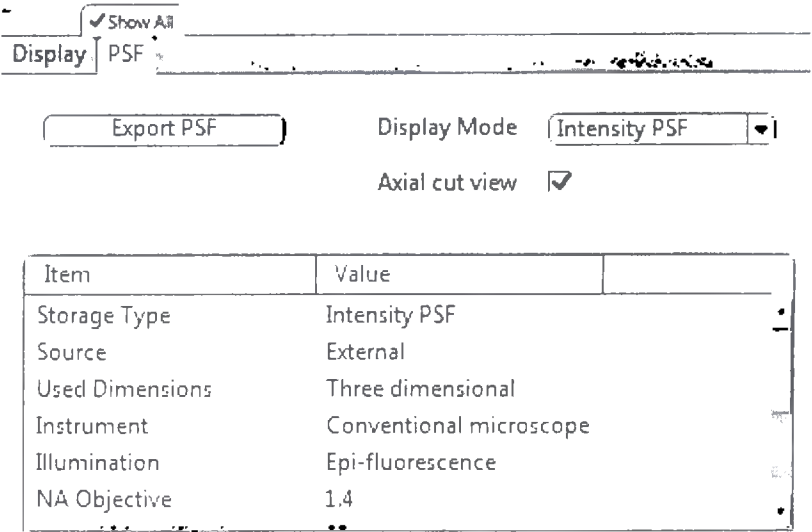
- 4 Выполните функцию, нажав кнопку Apply (Применить).
Вскоре вы получите новый графический документ созданной PSF.



- 5 Сохраните документ под соответствующим именем.

Отобразится вкладка параметров **PSF**. Эта вкладка отображается только для документов PSF.

6



Особый интерес здесь представляют величины, определенные для поперечного и продольного разрешений. С помощью полосы прокрутки просмотрите содержимое таблицы:

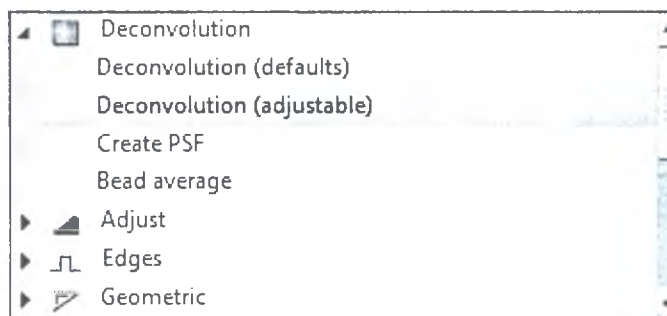
Illumination Wavelength	493 nm
Detection Wavelength	517 nm
Transverse Resolution (Ray	0.305 µm
Axial resolution (FWHM)	0.692 µm

Здесь вы можете увидеть, как в реальных условиях может отличаться поперечное разрешение от конструктивных параметров объектива. В очень редких случаях это может быть связано только с качеством объектива, во всех остальных просто описывает реальные условия, в которых было получено изображение анализируемого образца, в том числе всех aberrаций. В частности, сферическая aberrация отрицательно влияет на разрешение.

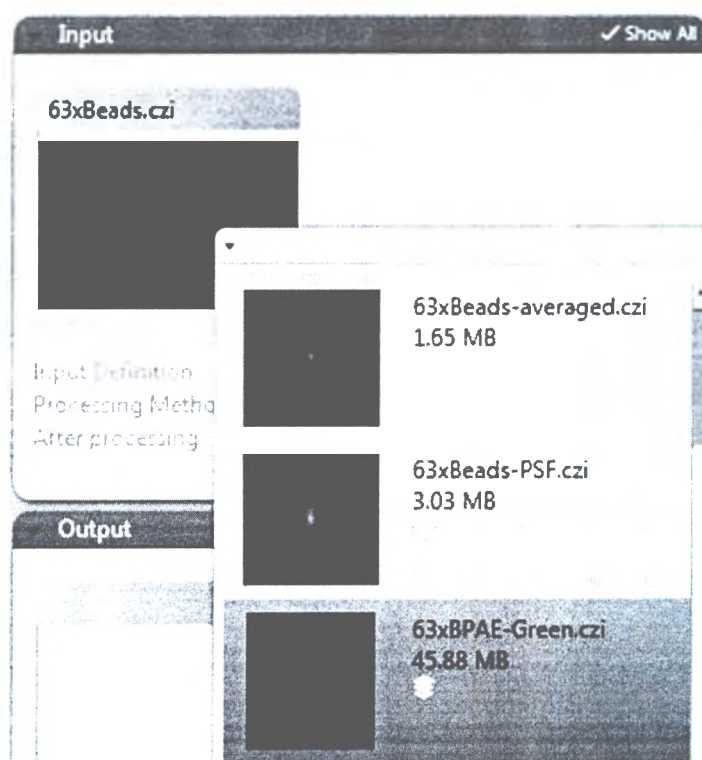
5.4.3 Шаг 3. Загрузка входного изображения для деконволюции

На данном этапе будет выбрано и загружено входное изображение для обработки методом деконволюции. Во время загрузки, чтобы подтвердить наличие всей информации, необходимой для деконволюции, осуществляется проверка метаданных изображения. В случае отсутствия каких-либо данных отобразится соответствующее сообщение об ошибке.

- Порядок действий 1 Во вкладке **Processing** (Обработка изображений) в инструменте **Method** (Метод) в группе **Deconvolution** (Деконволюция) выберите метод **Deconvolution (adjustable)** (Настраиваемая деконволюция):



- 2 В инструменте **Input** (Входное изображение) выберите изображение, которое требуется восстановить из свертки.



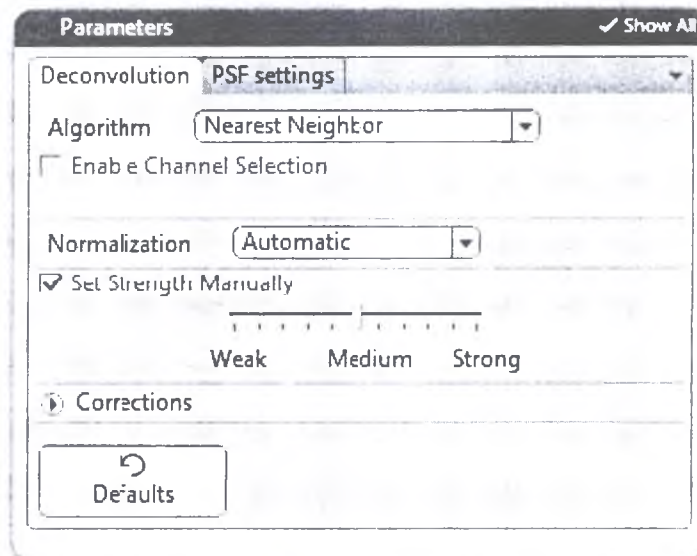
Примечание

Если в этот момент появится предупреждение, вероятно, в изображении отсутствуют параметры, необходимые для выполнения деконволюции. Впоследствии вы можете ввести или изменить эти значения в инструменте **Parameters** (Параметры).

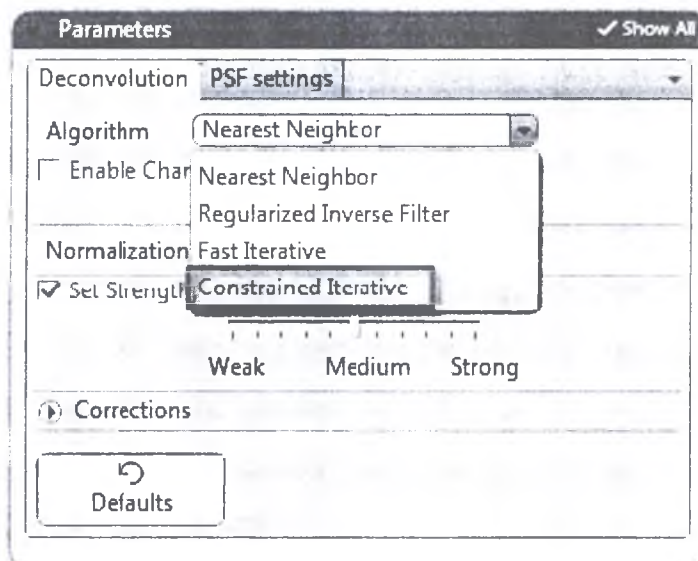
5.4.4 Шаг 4. Задание параметров для деконволюции

На данном этапе задается желаемый алгоритм и связанные с ним параметры метода. Также изображению присваивается PSF, созданная в шаге 2. Наконец, выполняется деконволюция и сохраняется результат.

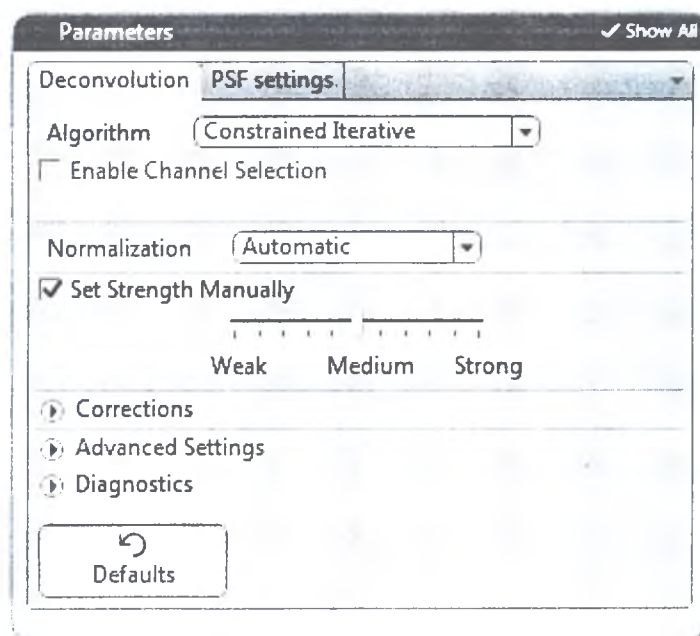
Необходимые предварительные условия ■ Во вкладке **Processing** (Обработка изображений) в группе **Method Parameters** (Параметры метода) выбран инструмент **Parameters** (Параметры).



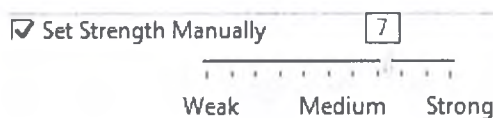
- Порядок действий 1 Сначала задайте желаемый алгоритм во вкладке **Deconvolution** (Деконволюция). Для примера используется итеративный, наиболее сложный алгоритм, но наиболее подходящий для использования с широкоугольным изображением.



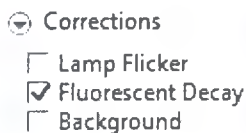
Теперь во вкладке отображается ряд дополнительных параметров (режим **Show All** (Показать все)).



- 2 Задайте желаемую степень восстановления изображения. С помощью ползунка вы можете определить, насколько сильным будет эффект восстановления. Однако большая степень восстановления повышает риск усиления шума изображения и отображения чрезмерно восстановленных данных. При использовании итеративного алгоритма при работе с высококачественными изображениями до образования артефактов, как правило, можно устанавливать степень до 6–8.



- 3 В меню **Corrections** (Коррекции) выберите функцию **Bleaching Correction** (Осветление). Использование данного типа коррекции уместно, если флуоресцентный краситель обесцвечивается во время получения серии срезов по оси Z.



Остальные типы коррекции должны использоваться по мере необходимости. Более подробная информация по данному вопросу содержится в интерактивной справке.

- 4 Откройте раздел **Diagnosis** (Диагностика) (режим **Show All** (Показать все)). Во время обработки изображения выведите это окно на передний план. Таким образом удобнее всего наблюдать за ходом выполнения обработки.

▼ Diagnostics

Convergence History

i Примечание

В разделе **Advanced Settings** (Дополнительные настройки) представлены экспертные функции, которые обычно не требуются. Помните: неправильная настройка параметров в этом разделе может привести к неожиданным последствиям, например к чрезмерно долгим вычислениям. Более подробная информация по отдельным параметрам приводится в интерактивной справке.

- 5 Перейдите во вкладку **PSF Settings** (Настройки PSF).

В разделе **Microscope Parameters** (Параметры микроскопа) представлены все параметры, использованные во время получения изображения и сохраненные вместе с изображением. В случае отсутствия одного из параметров его можно самостоятельно ввести в соответствующее активное поле ввода.

Deconvolution PSF settings

Microscope parameters

Microscope Conventional microscope

NA Objective 1.40

Immersion 1.515 Oil

Scale lateral 0.102 µm/pixel

Scale axial 0.270 µm/slice

Override

Master reset

Поскольку мы работаем с фактической PSF, мы пропустим дополнительные настройки и коррекцию аберрации.

- 6 Выберите опцию **Use External PSF** (Использовать внешнюю PSF).

Alexa Fluor 488

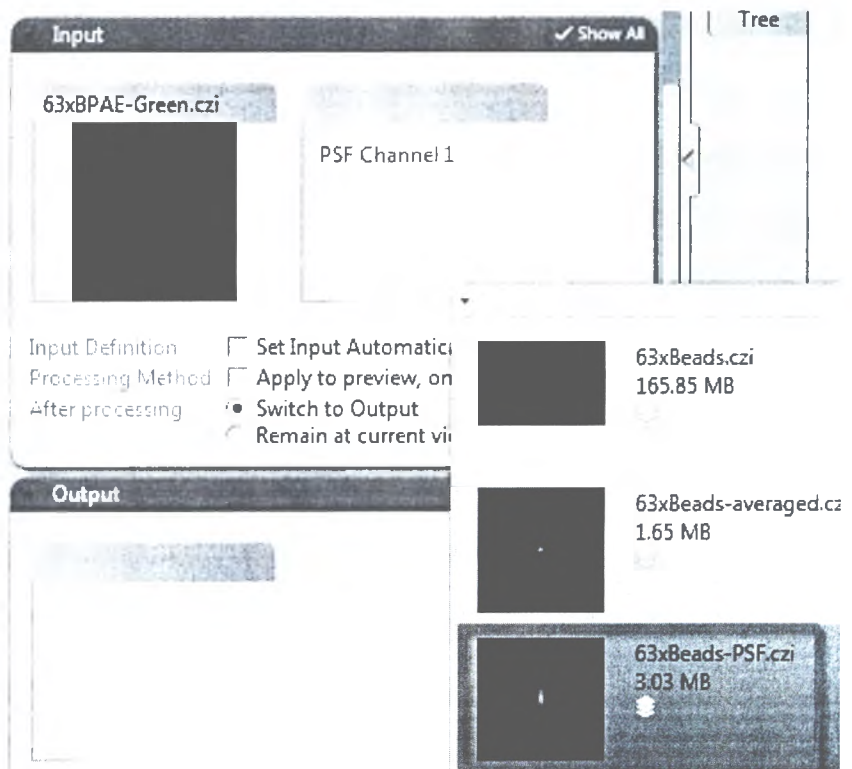
☒ Use external PSF

Attach to input

- 7 Теперь откройте инструмент **Input** (Входное изображение). Здесь, рядом с уже выбранным входным изображением, отобразится вторая опция ввода **PSF Channel 1** (Канал 1 PSF).



- 8 Выберите в этом окне PSF-документ, который был создан в шаге 2.



- 9 Для добавления фактической PSF ко входному изображению нажмите кнопку **Link to Input** (Связать с входным изображением).



- 10 Теперь сохраните изменения, внесенные во входное изображение. Теперь вы легко выполните обработку этого изображения на других компьютерах, используя корректную фактическую функцию рассеяния точки (PSF).

5.4.5 Шаг 5. Выполнение деконволюции

На последнем этапе выполняется деконволюция. Результирующее изображение сопоставляется с входным, и отмечаются детали, связанные с процедурой обработки.

- Порядок действий
- 1 Перейдите во вкладку **Deconvolution** (Деконволюция) инструмента **Parameters** (Параметры) и выведите раздел **Diagnosis** (Диагностика) на передний план.
 - 2 Нажмите кнопку **Apply** (Применить).
- В окне **Diagnosis** (Диагностика), в котором строится график прогресса конвергенции относительно итераций, вы можете наблюдать за ходом выполнения деконволюции.

☑ Diagnostics

Convergence History

i Примечание

Обработка исключительно больших изображений серии срезов по оси Z или продолжительных временных серий может занять некоторое время. Во избежание нежелательного увеличения времени обработки рекомендуем не выполнять одновременно других сложных действий в ZEN или других программах на компьютере.

- 3 Сохраните результирующее изображение под соответствующим именем.

- 4 Нажмите кнопку  **Split Mode** (Режим разделения) на панели документов. Будет создано множественное изображение (разделенное изображение).



- 5 В режиме **Splitter** (Разделенный экран) активное изображение загружается автоматически. Переместите входное изображение из галереи документов в правой области инструментов в разделенный документ.



- 6 Во вкладке **Split Display** (Раздельное отображение) снимите флажок **Synchronize Display** (Синхронизировать отображение). Это позволяет определить отдельную настройку гистограммы для каждого изображения.
- 7 Нажмите на изображении, которое требуется изменить, и (если необходимо) отрегулируйте отображение, например, для оптимальной подгонки (**Best Fit**) используйте 0,01, а для значения черного и белого — гамму (**Gamma**), равную 0,8.
- 8 Повторите эту настройку для другого изображения.
- 9 Если во вкладке **Split Display** (Раздельное отображение) установлен флажок **Synchronize Dimensions** (Синхронизировать измерения), можно одновременно увеличивать изображения (колесиком мыши) и, зажав колесико мыши, перемещать содержимое изображения, сосредотачиваясь на интересных областях.

- 10 Для создания изображения с желаемым режимом отображения нажмите **New Image** (Новое изображение) в меню **Current View | Create** (Текущий вид | Создать).

Будет создан новый документ с обоими выходными изображениями, расположенными рядом.



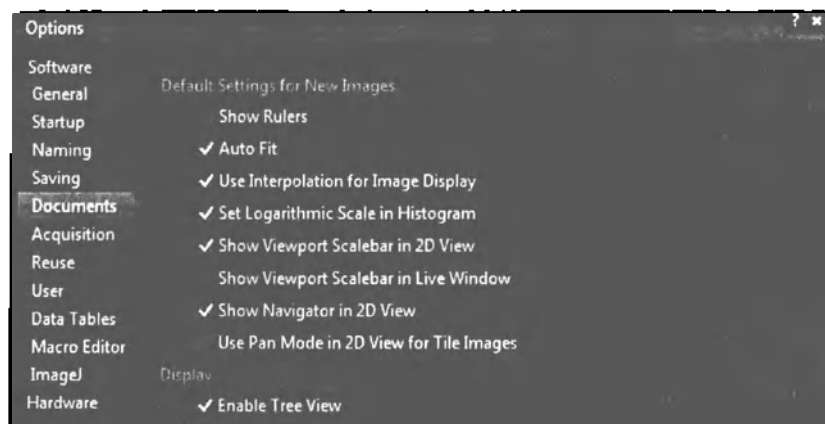
Вы успешно выполнили деконволюцию, отследили процесс обработки и создали выходное изображение для сравнения результатов обработки.

5.4.6 Шаг 6. Активация и использование древовидного меню

Наконец, мы хотим вывести на дисплей информацию о длительности расчета изображения.

Порядок действий

- 1 Откройте меню **Extras | Options** (Дополнительно | Опции).
- 2 В группе **Documents** (Документы) включите опцию **Tree View** (Древовидное меню).



Вы успешно вывели на экран дополнительную информацию о восстановленном из свертки изображении.

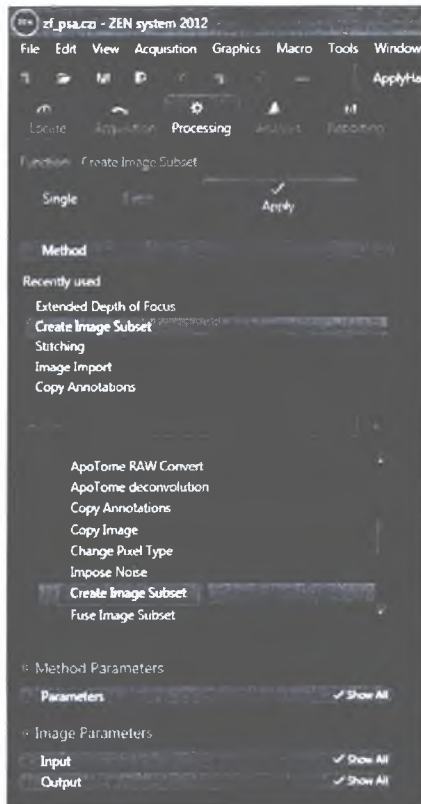
5.5 Извлечение отдельных флуоресцентных изображений из многоканального изображения

В этом разделе рассказывается, как извлечь отдельные флуоресцентные изображения из многоканального изображения.

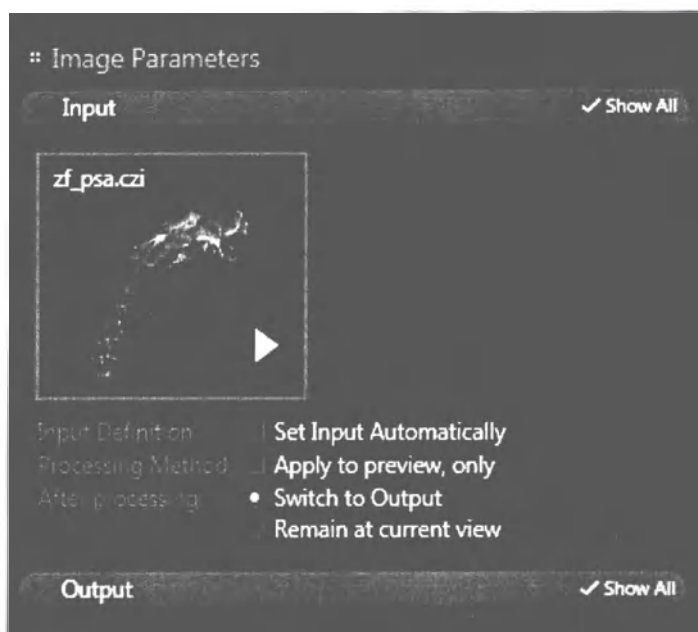
Необходимые предварительные условия ■ Получено или открыто многоканальное изображение (например, DVD 40 (09/2011)-(ZEN)\Example Image Databases\zf_psa.czi).



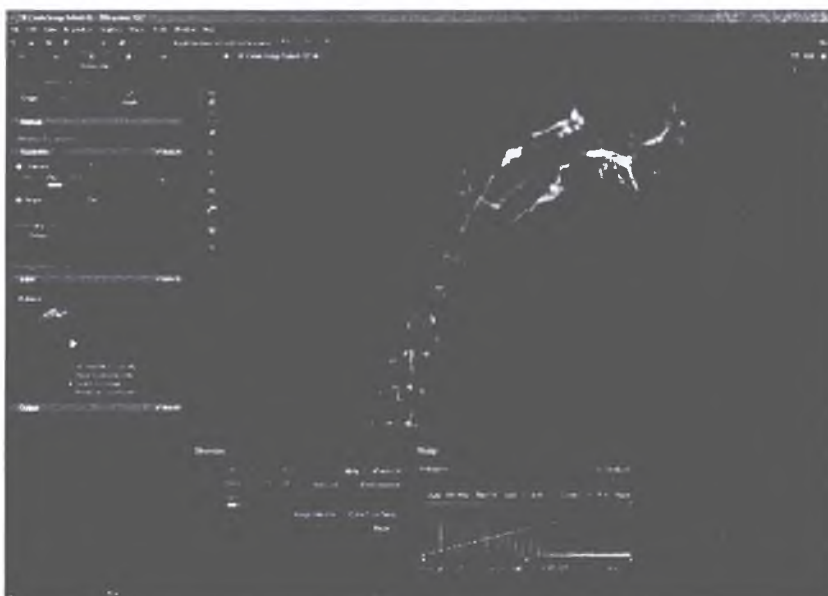
Порядок действий 1 Выберите вкладку **Processing** (Обработка изображений). Откройте инструмент **Method** (Метод), в меню **Utilities** (Служебные программы) выберите **Create Image Subset** (Создать поднабор изображений).



- 2 В разделе **Image Parameters** (Параметры изображения) откройте инструмент **Input** (Входное изображение) и выберите многоканальное изображение.



- 3 В разделе **Method Parameters** (Параметры метода) откройте инструмент **Parameter** (Параметр) и выберите **Channels** (Каналы). Отключите красный и синий флуоресцентные каналы. Теперь выбрано только зеленое флуоресцентное изображение.



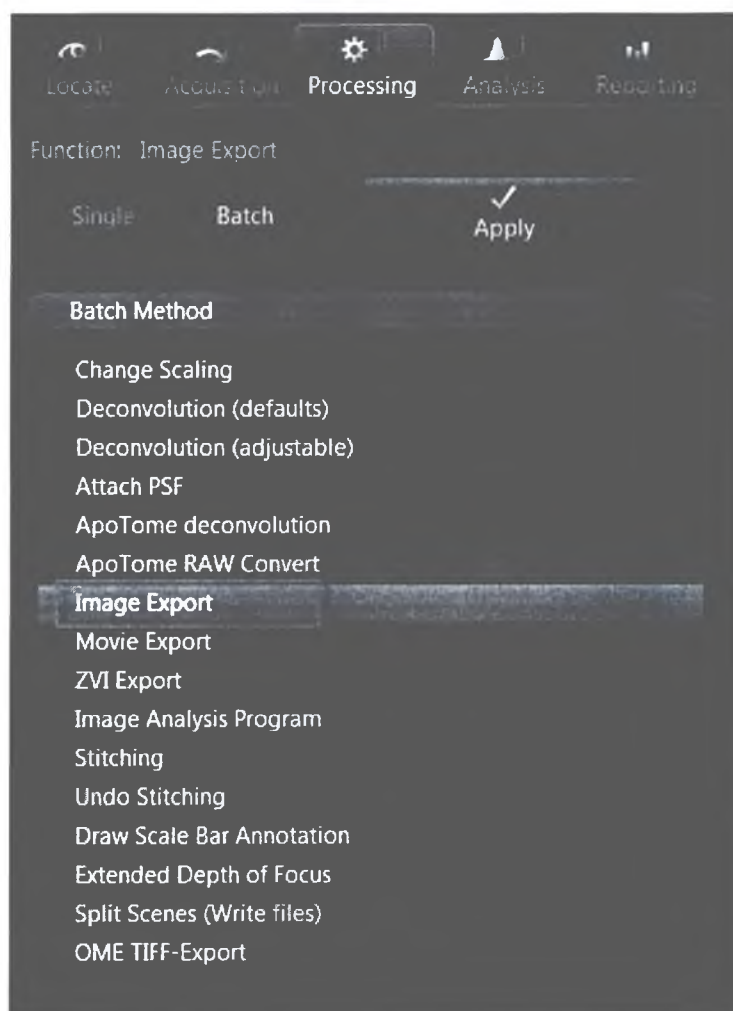
- 4 Нажмите кнопку **Apply** (Применить).

Вы извлекли из многоканального изображения изображение в зеленом флуоресцентном канале. Активируйте соответствующий канал и отключите остальные каналы для извлечения других отдельных флуоресцентных изображений. Сохраните извлеченные части изображения в отдельных файлах.

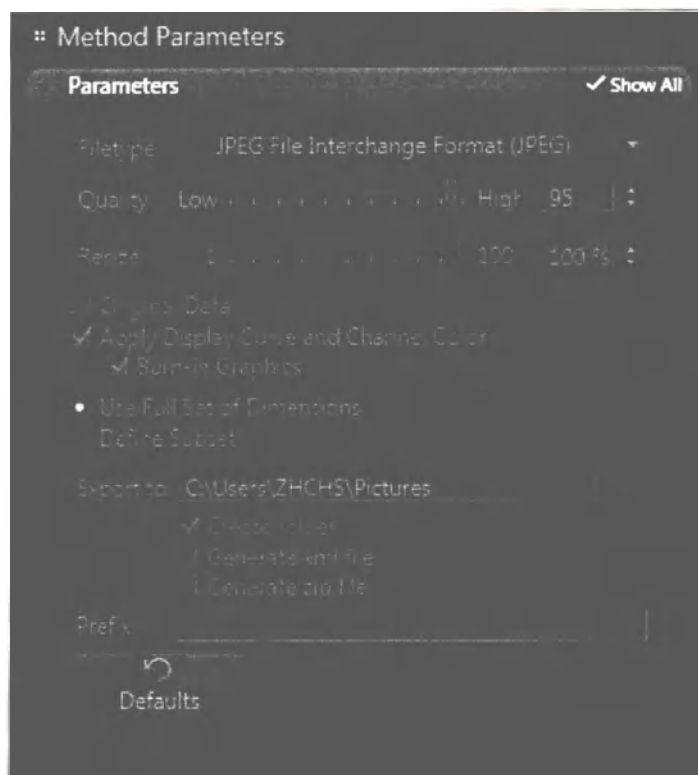
5.6 Пакетная обработка

В этом разделе рассказывается, как экспортировать пакет всех изображений папки. Для каждого изображения вы можете использовать аналогичные или разные настройки экспорта.

- Необходимые предварительные условия ■** Имеется папка с несколькими CZI-изображениями, которые требуется конвертировать в новый тип изображения (например, TIFF, BMP, JPEG). В ней содержатся, например, два двухканальных изображения покадровой съемки, одно двухканальное изображение серии срезов по оси Z, одно трехканальное изображение продукта DVD 40 (09/2011)-(ZEN)\Example Image Databases\CaRationSeries.czi, kaede5lsm.czi, ratbrainstack.czi, zf_psa.czi).
- Порядок действий**
- 1 Выберите вкладку **Processing** (Обработка изображений). Нажмите кнопку **Batch** (Пакет).
 - 2 Откройте инструмент **Method** (Метод) и выберите **Image Export** (Экспорт изображения).



- 3 В разделе **Method Parameters** (Параметры метода) откройте инструмент **Parameters** (Параметры).

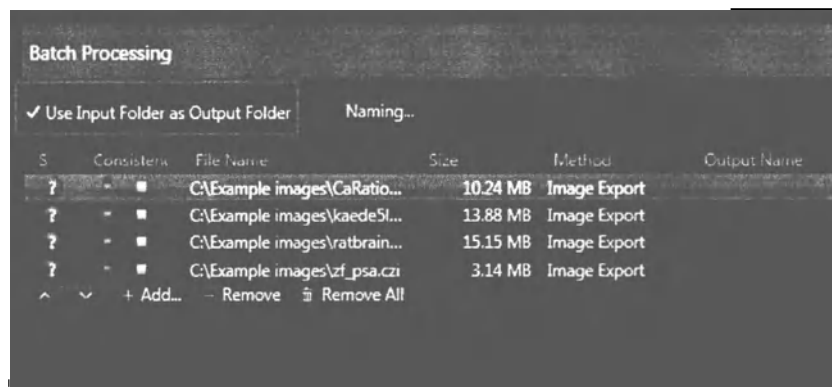


- 4 Нажмите кнопку **Add** (Добавить) в инструменте **Batch Processing** (Обработка пакета). Выберите папку, отметьте все изображения, которые необходимо экспортировать и нажмите кнопку **Open** (Открыть).



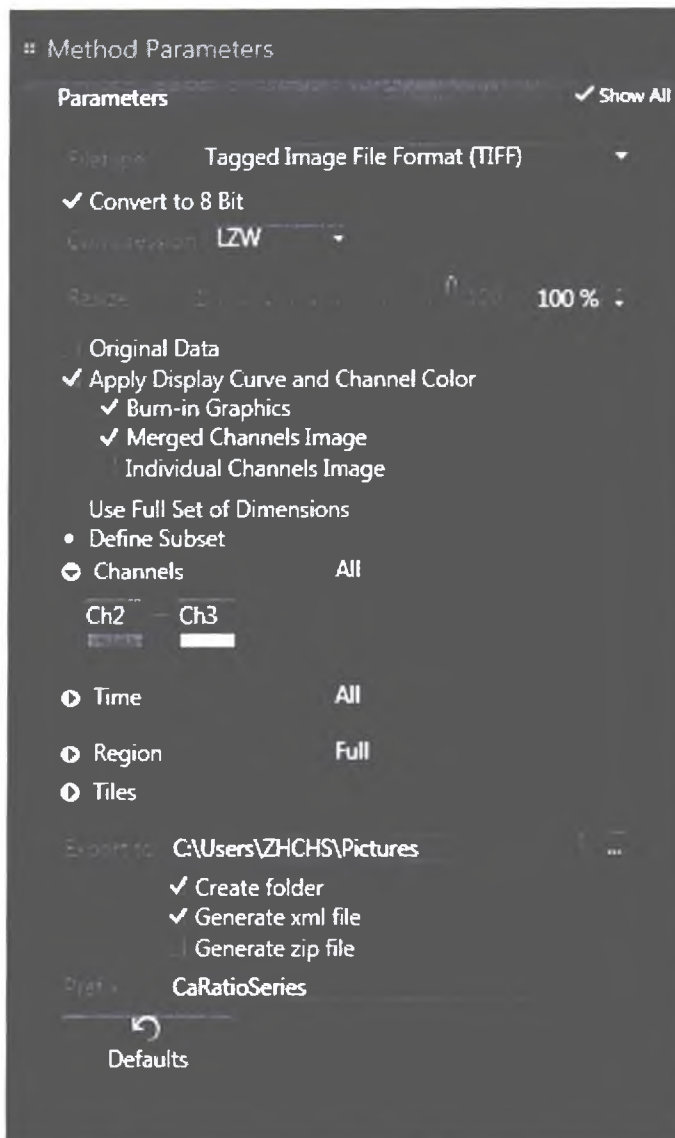
Перечень изображений отобразится в инструменте **Batch Processing** (Обработка пакета).

- 5 Установите флажок **Use Input Folder as Output Folder** (Использовать входную папку в качестве выходной) для сохранения экспортированных изображений в папке исходных изображений.



- 6 Нажмите на одно из изображений в списке и выполните экспорт настроек в инструменте **Parameters** (Параметры). В приведенном примере для всех временных точек и каналов используется TIFF-формат. Эта настройка действительна только для выбранного изображения, но может быть скопирована

в другие изображения списка с идентичными измерениями (например, двухканальное изображение временной серии).

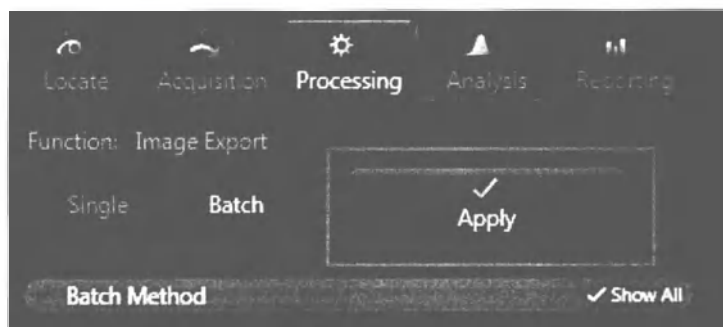


- 7 Нажмите кнопку **Copy Parameters** (Копировать параметры). Выберите из списка изображение с идентичными измерениями и нажмите кнопку **Paste Parameters** (Вставить параметры).
- 8 Выполните аналогичные действия с остальными изображениями в списке. Используйте команды **Copy Parameters** (Копировать параметры) и **Paste Parameters** (Вставить параметры) или определите настройки экспорта для каждого изображения в отдельности в инструменте **Parameters** (Параметры).

- 9 Нажмите кнопку **Check All** (Отметить все). Все изображения в списке, имеющие правильную настройку, будут отмечены зеленым маркером.



- 10 Нажмите кнопку **Apply** (Применить).



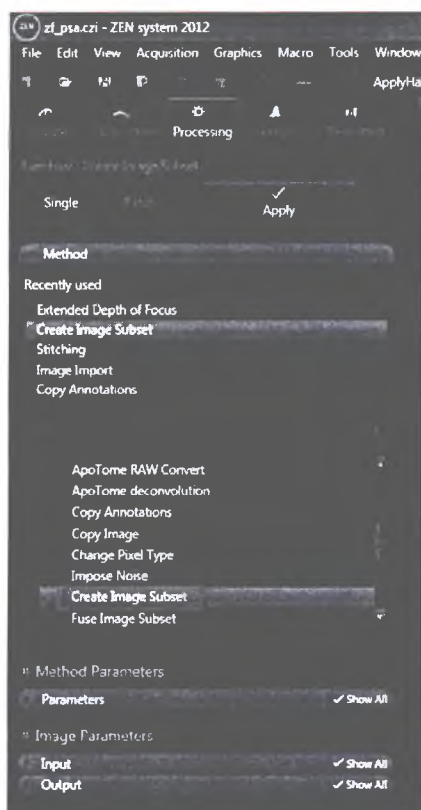
Все экспортированные изображения в списке будут отмечены маркером и экспортированы в отдельные папки во входной папке.

5.7 Кадрирование области интереса

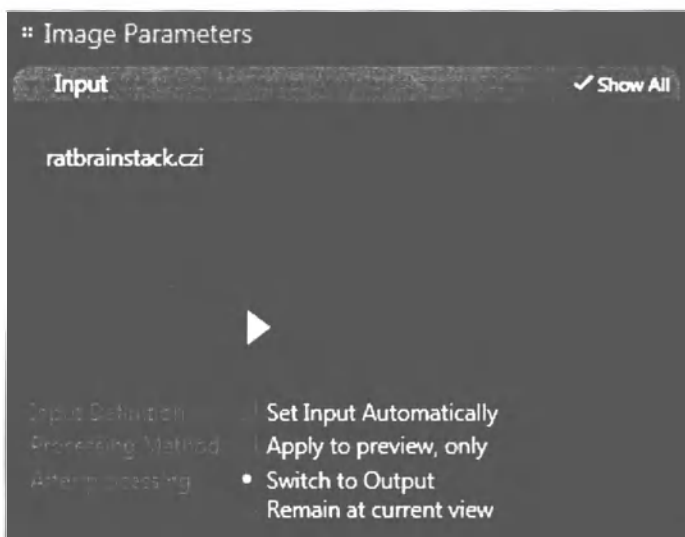
В этом разделе рассказывается, как выполнить кадрирование области интереса на изображении.

Необходимые предварительные условия ■ Получено или открыто многоканальное изображение.

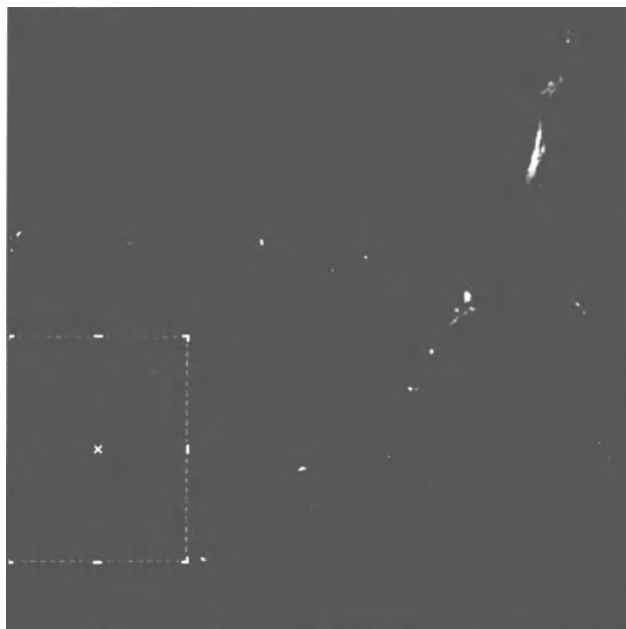
Порядок действий 1 Выберите вкладку **Processing** (Обработка изображений). Откройте инструмент **Method** (Метод) и выберите в меню служебных программ **Create Image Subset** (Создать поднабор изображений).



2 В разделе **Image Parameters** (Параметры изображения) откройте инструмент **Input** (Входное изображение) и выберите изображение.

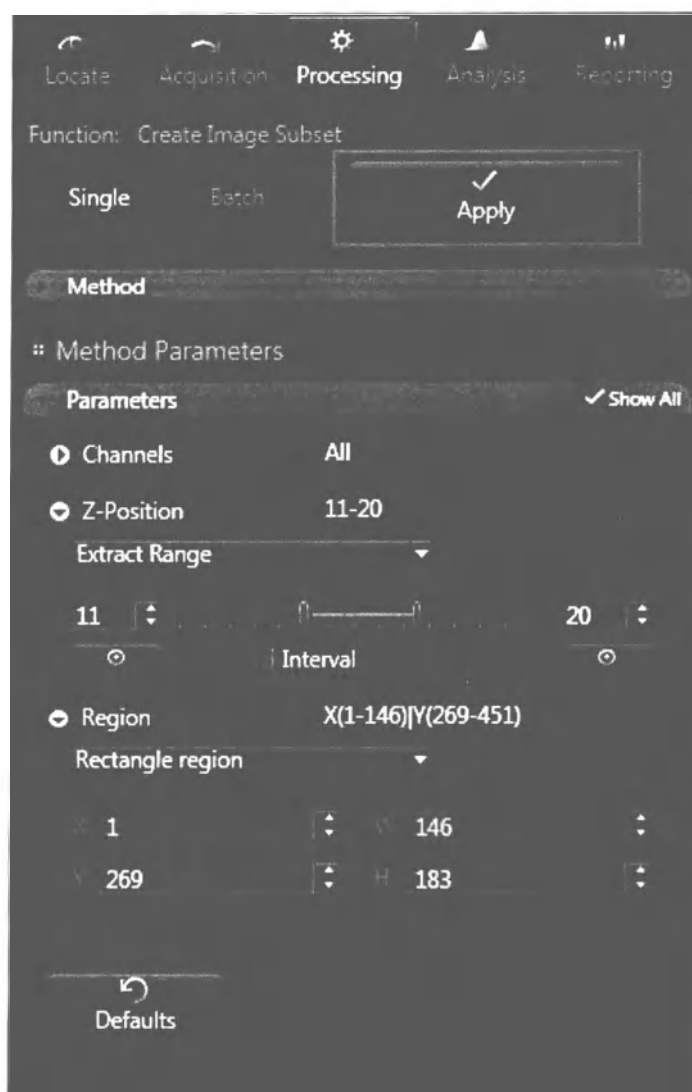


- 3 В разделе **Method Parameters** (Параметры метода) откройте инструмент **Parameters** (Параметры).
- 4 Откройте настройку измерения позиции по оси Z и выберите **Extract Range** (Извлечь диапазон) из выпадающего списка. С помощью ползунка установите начальную позицию на «11» и конечную позицию на «20».
- 5 Откройте настройку **Region** (Область) и выберите **Rectangular Region** (Прямоугольная область) из выпадающего списка.
- 6 Нажмите на начальную позицию области интереса в изображении и растяните прямоугольную область.



Вы выделили область интереса, которая подлежит кадрированию.

7 Нажмите кнопку **Apply** (Применить).



Отмеченная область интереса с определенными измерениями выделена из изображения. Теперь можно сохранить или обработать это изображение.

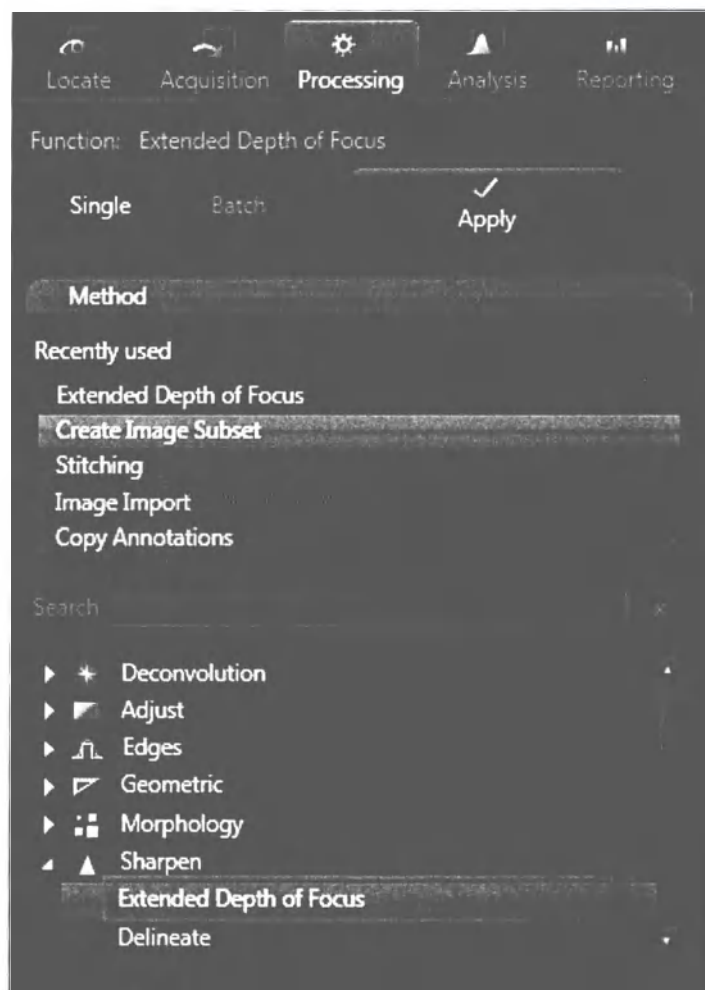


Рисунок 5.2. Кадрированная область интереса с измерениями **All channels** (Все каналы) и **Z-Position 11-20** (Позиция по оси Z 11-20)

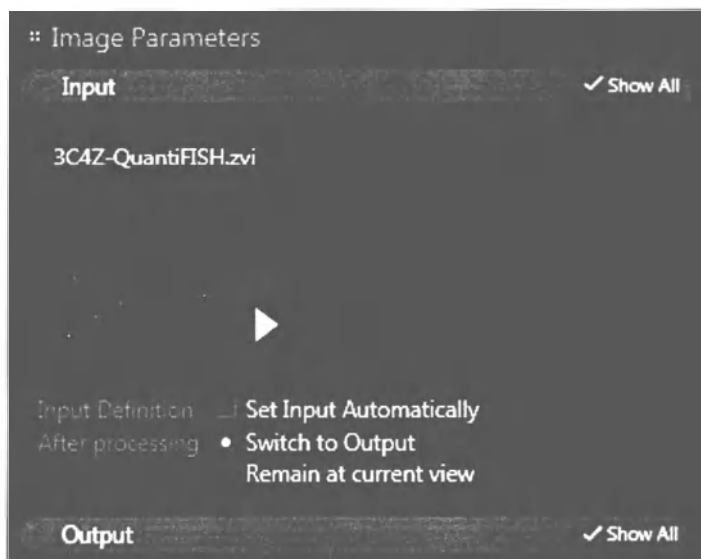
5.8 Создание EDF-изображения

В этом разделе показано, как создать изображение серии срезов по оси Z с увеличенной глубиной резкости (EDF). Плоскости фокусировки всех позиций по оси Z рассчитаны для одного EDF-изображения.

- Необходимые предварительные условия** ■ Получено или открыто изображение серии срезов по оси Z.
- Порядок действий** 1 Выберите вкладку **Processing** (Обработка изображений). Откройте инструмент **Method** (Метод) и в группе **Sharpen** (Усиление резкости) выберите **Extended Depth of Focus** (Увеличенная глубина резкости).



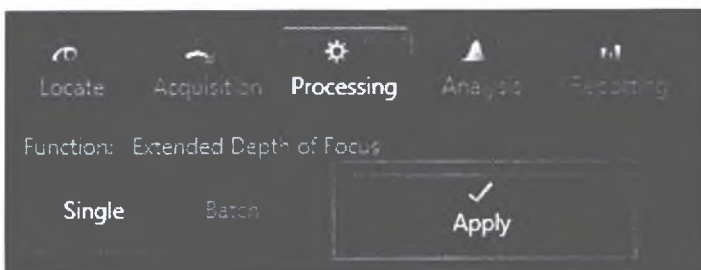
- 2 В разделе **Image Parameters** (Параметры изображения) откройте инструмент **Input** (Входное изображение) и выберите изображение серии срезов по оси Z.



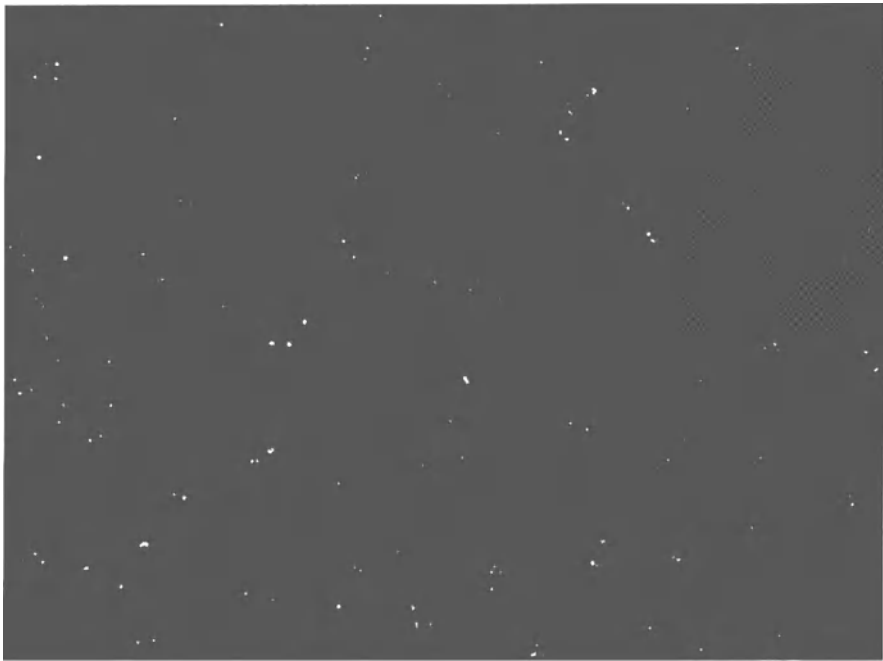
- 3 В разделе **Method Parameters** (Параметры метода) откройте инструмент **Parameters** (Параметры).



- 4 Выберите **Wavelets** (Волны) в выпадающем списке **Method** (Метод).
- 5 Выберите **High** (Высокий) в выпадающем списке **Z-Stack Alignment** (Выравнивание серии срезов по оси Z).
- 6 Нажмите кнопку **Apply** (Применить).



Все плоскости фокусировки изображения серии срезов по оси Z теперь рассчитаны для одного EDF-изображения.



5.9 Функции обработки изображений

5.9.1 Деконволюция

5.9.1.1 Деконволюция по умолчанию

Этот метод позволяет использовать четыре разных алгоритма деконволюции без применения дополнительных настроек.

В инструменте **Parameters** (Параметры) представлены следующие алгоритмы:

Параметр	Описание
Простой, очень быстрый (Nearest Neighbor (Ближайший сосед))	Использует быстрый метод ближайшего соседа, используя параметры по умолчанию.
Лучший, быстрый (Regularized Inverse Filter (Упорядоченный обратный фильтр))	Выполняет алгоритм упорядоченной обратной фильтрации для улучшения качества изображения.
Хороший, средней скорости (Fast Iterative (Быстрый итеративный))	Использует быстрый метод многокадрового восстановления.
Превосходный, медленный (Constrained Iterative (Ограниченный итеративный))	Использует метод ограниченного количественного многокадрового восстановления.

5.9.1.2 Настраиваемая деконволюция

Деконволюция может выполняться либо с использованием центрального процессора компьютера, либо видеокарты. Использование видеокарты может значительно ускорить выполнение деконволюции. Для этого потребуется видеокарта NVIDIA с поддержкой библиотеки вычислений CUDA. Свяжитесь с менеджером отдела продаж для получения дополнительной информации о поддерживаемых моделях видеокарт.

Подробный обзор всех методов деконволюции (и их комбинаций) см. в разделе «Методы деконволюции в ZEN» [► 114]. Эти методы позволяют использовать и отдельно настраивать 4 разных алгоритма деконволюции. Под инструментом **Parameters** (Параметры) расположены две вкладки с настройками:

- Во вкладке **Deconvolution** (Деконволюция) можно выбрать необходимый алгоритм и задать для него точные настройки, см. вкладку *Deconvolution (Деконволюция)* [► 99].
- Во вкладке **PSF Settings** (Настройки PSF) можно просмотреть и изменить все ключевые параметры для генерирования расчетной PSF, см. вкладку *PSF Settings (Настройки PSF)* [► 106].

5.9.1.2.1 Вкладка Deconvolution (Деконволюция)

Примечание

Для определения некоторых настроек требуются экспертные знания. Если вы сомневаетесь, оставьте настройки без изменения.

Выпадающий список алгоритмов

Здесь можно выбрать используемый алгоритм. Доступны следующие алгоритмы:

- Nearest Neighbor (Ближайший сосед).
- Regularized Inverse Filter (Упорядоченный обратный фильтр).
- Fast Iterative (Быстрый итеративный).
- Constrained Iterative (Ограниченный итеративный).

Enable Channel Selection (Включить выбор канала)

Флажок установлен: настройки применяются в зависимости от канала. Это позволяет устанавливать параметры направленно для каждого канала. Для каждого канала отобразится отдельная цветная вкладка.

Флажок убран: настройки применяются ко всем каналам многоканального изображения.

5.9.1.2.1.1 Раздел Normalization (Нормализация)

В разделе Normalization (Нормализация) указывается метод обработки данных результирующего изображения.

Параметр	Описание
Clip (Отсечение)	Устанавливает отрицательные значения на 0 (черный). Если во время вычисления значения превышают максимально возможное значение серого 65636, то они ограничиваются значением 65636 (пиксел — 100% белый). Результаты разных входных изображений можно количественно сравнить между собой.
Automatic (Автоматически)	Автоматически нормализует выходное изображение. В этом случае минимальное значение равно нулю, а максимальное значение равно максимально возможному значению серого в изображении (значение серого — 65636). Максимально допустимый диапазон значений серого всегда полностью используется в результирующем изображении. Результаты разных входных изображений не могут быть сопоставлены непосредственно между собой.

5.9.1.2.1.2 Раздел Set Strength Manually (Установить силу вручную)

Установка силы вручную

Если вы выбрали алгоритм **Nearest Neighbor** (Ближайший сосед), флажок будет установлен постоянно.

i Примечание

Если вы выбрали алгоритм **Fast Iterative** (Быстрый итеративный), флажок будет установлен постоянно. С помощью ползунка вы можете затем напрямую ввести число итераций, поскольку в противоположность остальным методам упорядочение не производится.

Флажок установлен: степень восстановления вводится с помощью ползунка.

Чтобы добиться более сильного контраста, переместите ползунок в направлении **Strong** (Сильный).

Чтобы добиться меньшего контраста, переместите ползунок в направлении **Weak** (Слабый).

При слишком сильном контрасте возможно повышение шума изображения, могут появиться прочие артефакты, например кольцевые.

Флажок убран: автоматически определяет силу восстановления для достижения оптимального качества изображения.

Сила восстановления обратно пропорциональна силе так называемого упорядочения. Она определяется автоматически с помощью общей перекрестной проверки на достоверность (GCV).

5.9.1.2.1.3 Convergence History (История конвергенции)

Отображается только в режиме **Show All** (Показать все).

Этот раздел отображается, только если выбран алгоритм **Fast Iterative** (Быстрый итеративный) или **Constrained Iterative** (Ограниченный итеративный).

Здесь в графической форме отображается ход вычисления. Параметр повышения качества измеряется для каждой итерации, как только достигается оптимальное или максимально допустимое число итераций, обработка прекращается. Этот индикатор позволяет напрямую наблюдать влияние итеративного метода на имеющиеся данные. Он также показывает число использованных итераций и время, затраченное на них.

5.9.1.2.1.4 Раздел Corrections (Коррекции)

Чтобы развернуть раздел Corrections (Коррекции), нажмите кнопку со стрелкой .

Параметр	Описание
Lamp Flicker (Мерцание освещения)	Флажок установлен: анализирует общую яркость каждой плоскости по оси Z. В случае непостоянных изменений общей яркости между соседними плоскостями в расчет принимается поправочный коэффициент. Активируйте эту функцию, если ваши изображения получены с помощью старой флуоресцентной лампы с сильными флуктуациями яркости/мерцанием.
Fluorescent Decay (Затухание флуоресценции)	Флажок установлен: корректирует осветление образца во время получения серии срезов по оси Z. Эта функция активируется только для широкопольных изображений. Используйте ее, только если вовремя получения изображения используемый образец подвергается сильному осветлению.
Background (Фон)	Флажок установлен: анализирует фон изображения и удаляет его перед расчетом деконволюции. Это может предотвратить усиление фоновых шумов во время выполнения деконволюции.

5.9.1.2.1.5 Раздел Advanced Settings (Дополнительные настройки)

Отображается только в режиме **Show All** (Показать все).

Раздел Advanced Settings (Дополнительные настройки) отображается, только если выбран алгоритм **Inverse Filter** (Обратный фильтр), **Iterative (Fast)** (Быстрый итеративный) или **Iterative** (Итеративный).

Чтобы развернуть этот раздел, нажмите на кнопку со стрелкой .

В зависимости от выбранного алгоритма доступны разные опции дополнительных настроек. В следующих разделах описаны настройки каждого из алгоритмов.

5.9.1.2.1.6

Дополнительные настройки (Regularized Inverse Filter (Упорядоченный обратный фильтр))**Regularization (Упорядочение)**

В этом разделе выбираются частоты изображения, учитываемые во время упорядочения:

Параметр	Описание
Regularization (Упорядочение)	
– Zero Order (Нулевой порядок)	Упорядочение на основе G-разности, смоделированной по Тихонову, но ускоренной.
– First Order (Первый порядок)	Упорядочение на основе неровности по Гуду. При определенных обстоятельствах из зашумленных данных извлекается больше информации. Возможно, больше подойдет для обработки конфокального набора данных.
GPU Acceleration (Ускорение графического процессора)	Доступен только при наличии подходящей видеокарты (NVIDIA, CUDA). В этом случае флажок установлен по умолчанию. Если флажок не установлен, вместо видеокарты используется ЦП.

5.9.1.2.1.7

Дополнительные настройки (Fast Iterative (Быстрый итеративный))

Параметр	Описание
Likelihood (Правдоподобие)	В этом разделе вы можете выбрать предпочтительный метод вычисления правдоподобия:
– Poisson (Meinel) (Пуассоновский (по Мейнелу))	Вычисление по методу Мейнела работает с одной кратностью на итерацию и обеспечивает более быстрое схождение, обычно за 4–5 итераций. Однако этот метод может приводить к возникновению артефактов.
– Poisson (Richardson-Lucy) (Пуассоновский (по Люси-Ричардсону))	Вычисление по методу Люси-Ричардсона, напротив, обычно требует сотни итераций и, следовательно, занимает значительно больше времени. Тем не менее этот метод вычисления несколько надежнее.
Regularization (Упорядочение)	Для вычисления по методу Мейнела (Poisson (Meinel)) в качестве дополнительной возможности можно выполнять упорядочение нулевого порядка (G-разность). Однако это означает, что вычисление займет значительно больше времени и главное преимущество в скорости метода Мейнела будет утрачено.

Параметр	Описание
– None (Отсутствует)	Упорядочение не выполняется.
– Zero Order (Нулевой порядок)	Упорядочение на основе G-разности, смоделированной по Тихонову, но ускоренной.
– Total Variation (Полная вариация)	
Optimization (Оптимизация)	
– Numerical Gradient (Числовой градиент)	Если выбран этот параметр, предпринимается попытка заранее определить тенденцию итераций и экстраполировать ее на все вычисление. Это может значительно ускорить вычисление.
First Estimate (Первая оценка)	
– Input Image (Входное изображение)	Входное изображение используется для первой оценки рассматриваемой структуры (по умолчанию).
– Last Output Image (Последнее выходное изображение)	Результат последнего вычисления используется для оценки следующего вычисления. Это может ускорить вычисление, которое неоднократно выполняется с использованием незначительно отличающихся параметров.
– Average of Input Image (Среднее значение входного изображения)	Оценка не производится. Это наиболее жестко заданная область применения деконволюции, которая занимает продолжительное время.
Maximum Iterations (Максимальное число итераций)	Здесь указывается максимально допустимое число итераций. Если используется метод Люси-Ричардсона, следует указывать значительно больше итераций.
Quality Threshold (Порог качества)	Определяет уровень качества, при достижении которого вычисление прекращается. Процентное отношение описывает разность улучшения качества между последней и предпоследней итерацией относительно наибольшей разности с момента начала вычисления. 1% — значение по умолчанию. Понижение порога может привести к незначительному улучшению качества.
GPU Acceleration (Ускорение графического процессора)	Функция доступна только при наличии подходящей видеокарты (NVIDIA, CUDA). В этом случае флажок установлен по умолчанию. Если флажок не установлен, вместо видеокарты используется ЦП.
GPU Tiling (Разбиение на мозаики в графическом процессоре)	Функция доступна только для очень больших изображений, которые превышают объем свободной памяти видеокарты. С помощью этой функции изображение разбивается на меньшие части, соответствующие объему памяти видеокарты. Функция автоматически определяет, на сколько мозаик

Параметр	Описание
	необходимо разбить изображение, чтобы максимально эффективно использовать видеокарту. Полученные мозаики будут автоматически объединены для получения конечного выходного изображения.
	Если функция отключена, разбиение на мозаики не осуществляется. Тем не менее в этом случае на видеокarte выполняются только определенные подфункции деконволюции, а увеличение скорости по сравнению с обработкой ЦП будет ниже. Качество изображения может быть выше, чем при разбиении на мозаики, поскольку сшивка не требуется.

5.9.1.2.1.8 Дополнительные настройки (Constrained Iterative (Ограниченный итеративный))

Параметр	Описание
Likelihood (Правдоподобие)	В этом разделе вы можете выбрать предпочтительный метод вычисления правдоподобия:
– Poisson (Пуассон)	Вычисление по Пуассону.
– Gauss (Гаусс)	Вычисление по Гауссу.
Regularization (Упорядочение)	В этом разделе вводятся частоты изображения, учитываемые во время упорядочения:
– Zero Order (Нулевой порядок)	Упорядочение на основе G-разности, смоделированной по Тихонову, но ускоренной.
– First Order (Первый порядок)	Упорядочение на основе неровности по Гуду. При определенных обстоятельствах из зашумленных данных извлекается больше информации. Подобное упорядочение иногда может давать лучшие результаты при обработке конфокальных наборов данных.
– Second Order (Второй порядок)	Регуляризация Тихонова-Миллера. Высокие частоты здесь забраковываются больше, чем в неровности по Гуду.
Optimization (Оптимизация)	
– Analytical (Newton Raphson) (Аналитический (по Ньютону-Рафсону))	Здесь предпринимается попытка аналитической оптимизации итерации. Этот метод обычно быстрее, но он также может быть менее точным.
– Line Search (Линейный поиск)	Точно и всесторонне выполняет поиск минимума. Следовательно, этот параметр более устойчив, но вычисление может занимать больше времени.
First Estimate (Первая оценка)	

Параметр	Описание
– Input Image (Входное изображение)	Входное изображение используется для первой оценки рассматриваемой структуры (по умолчанию).
– Last Output Image (Последнее выходное изображение)	Результат последнего вычисления используется для оценки следующего вычисления. Это может ускорить вычисление, которое неоднократно выполняется с использованием незначительно отличающихся параметров.
– Average of Input Image (Среднее значение входного изображения)	Для следующей итерации оценка не производится. Это наиболее жестко заданная область применения деконволюции, которая занимает продолжительное время.
Maximum Iterations (Максимальное число итераций)	Здесь указывается максимально допустимое число итераций.
Quality Threshold (Порог качества)	Определяет уровень качества, при достижении которого вычисление прекращается. Процентное отношение описывает разность улучшения качества между последней и предпоследней итерацией относительно наибольшей разности с момента начала вычисления. 1% — значение по умолчанию. Понижение порога может привести к незначительному улучшению качества.
GPU Acceleration (Ускорение графического процессора)	Функция доступна только при наличии подходящей видеокарты (NVIDIA, CUDA). В этом случае флажок установлен по умолчанию. Если флажок не установлен, вместо видеокарты используется ЦП.
GPU Tiling (Разбиение на мозаики в графическом процессоре)	Функция доступна только для очень больших изображений, которые превышают объем свободной памяти видеокарты. С помощью этой функции изображение разбивается на меньшие части, соответствующие объему памяти видеокарты. Эта функция автоматически определяет, на сколько мозаик необходимо разбить изображение, чтобы максимально эффективно использовать видеокарту. Полученные мозаики будут автоматически объединены для получения конечного выходного изображения. Если функция отключена, разбиение на мозаики не осуществляется. Тем не менее в этом случае на видеокарте выполняются только определенные подфункции деконволюции, а увеличение скорости по сравнению с обработкой ЦП будет ниже. Качество изображения может быть выше, чем при разбиении на мозаики, поскольку сшивка не требуется.

5.9.1.2.1.9 Раздел Diagnosis (Диагностика)

Отображается только в режиме **Show All** (Показать все).

Раздел **Diagnosis** (Диагностика) отображается только при выборе алгоритма **Fast Iterative** (Быстрый итеративный) или **Iterative** (Итеративный).

Чтобы развернуть этот раздел, нажмите на кнопку со стрелкой .

Здесь в графической форме отображается ход вычисления. На экране отображаются различные параметры, цель вычисления — минимизировать их. Этот индикатор позволяет напрямую наблюдать влияние итеративного метода на имеющиеся данные.

5.9.1.2.2 Вкладка PSF Settings (Настройки PSF)

Во вкладке PSF Settings (Настройки PSF) отображаются все ключевые параметры для генерирования расчетной функции рассеяния точки (Point Spread Function (PSF)).

i Примечание

Обычно изображения, полученные с помощью ZEN (типа *.czi), автоматически содержат все параметры микроскопа, следовательно, вам не придется задавать настройки на этой странице. Поэтому на дисплее большинство параметров выделены серым цветом. Тем не менее допускается, что из-за неправильной комплектации микроскопа значения могут отсутствовать или быть неверными. Изменить их можно в этой вкладке. Также здесь можно настроить коррекцию сферической аберрации.

5.9.1.2.2.1 Раздел Microscope parameters (Параметры микроскопа)

В разделе Microscope parameters (Параметры микроскопа) отображаются наиболее важные для генерирования функции PSF, общие для всех каналов, параметры микроскопа.

ПРИМЕЧАНИЕ

Ввод неверных значений может привести к некорректным вычислениям. Если значения явно ошибочны или отсутствуют, проверьте комплектацию микроскопа.

Параметр	Описание
Выпадающий список Microscope (Микроскоп)	Отображает тип используемого микроскопа. Возможны два варианта: традиционный микроскоп (также известный как широкопольный микроскоп) и конфокальный микроскоп, к которому применяется дополнительный параметр «диаметр микроотверстия».
NA Objective (Числовая апертура объектива)	Отображает числовую апертуру объектива.
Immersion (Иммерсионная среда)	Отображает показатель преломления иммерсионной среды. Обратите внимание, что показатель преломления не может быть меньше числовой апертуры объектива. Из выпадающего списка рядом с полем ввода можно выбрать одну из типичных иммерсионных сред.

Параметр	Описание
Scale lateral (Латеральный масштаб)	Отображает геометрическое масштабирование в направлении X/Y.
Scale axial (Осевой масштаб)	Отображает геометрическое масштабирование в направлении Z.
Кнопка Override (Ручная коррекция)	Нажмите на эту кнопку для изменения полей ввода, которые обычно отображаются серым цветом. Теперь поля ввода и выпадающие списки активны. Затем текст на кнопке изменяется на Reset (Сброс). Для восстановления первоначальных значений, сохраненных в изображении, нажмите кнопку Reset (Сброс).

5.9.1.2.2.2

Раздел Advanced (Дополнительные настройки)

Отображается только в режиме **Show All** (Показать все).

Чтобы развернуть раздел Advanced (Дополнительные настройки), нажмите кнопку со стрелкой. 

Выпадающий список Phase Ring (Фазовое кольцо)

Если флуоресцентное изображение было получено с помощью фазово-контрастного объектива, то фазовое кольцо, помещенное в объектив, указывается в списке. Эта настройка существенно влияет на расчетную функцию рассеяния точки (PSF).

Выпадающий список генерации PSF

Существуют две модели расчета PSF

Параметр	Описание
Scalar Theory (Скалярная теория)	Волновые векторы света интерпретируются как электрическое поле = интенсивность и просто прибавляются. Это быстрый метод, которого в большинстве случаев достаточно (настройка по умолчанию).
Vectorial Theory (Векторная теория)	Волновые векторы добавляются геометрически. Тем не менее вычисление занимает значительно больше времени.

Z-Stack (Серия срезов по оси Z)

Это поле можно изменять, только если невозможно было определить этот параметр во время получения изображения, например, из-за того, что не был известен тип микроскопа. Этот параметр указывает на направление получения серии срезов по оси Z:

Параметр	Описание
Descending (Нисходящее)	Серия срезов по оси Z отдаляется от объектива.
Ascending (Восходящее)	Серия срезов по оси Z поднимается по направлению к объективу. Эта настройка применяется только при работе с коррекцией сферической аберрации.

5.9.1.2.2.3 Раздел Aberration correction (Коррекция аберрации)

Отображается только в режиме **Show All** (Показать все).

В разделе Aberration correction (Коррекция аберрации) вы указываете, следует ли учитывать и корректировать сферическую аберрацию при расчете PSF. Как и в случае с остальными параметрами PSF, большинство значений извлекается автоматически из сведений о микроскопе, которые сохраняются после получения изображения. Поэтому опция ввода не активна.

Параметр	Описание
Enable Correction (Включить коррекцию)	Флажок установлен: используется функция коррекции. Все опции активны, возможно редактирование.
Embedding medium (Заливочная среда)	Здесь можно выбрать из списка используемую заливочную среду.
Refractive index (Показатель преломления)	Отображает показатель преломления выбранной заливочной среды. Введите соответствующий показатель преломления, если используется другая заливочная среда.
Manufacturer (Производитель)	Отображается производитель, если таковой известен.
Depth variance (Изменение глубины)	Если включена коррекция аберрации (Aberration Correction), также можно включить создание функции рассеяния точки с изменением по глубине. Данный метод значительно улучшает восстановление изображения образцов с большей толщиной путем создания аксиально различных расчетных PSF в виде функции от расстояния до покровного стекла и показателя преломления заливочной среды. Для использования коррекции аберрации с изменением по глубине установите флажок. В поле редактирования счетчика вводится количество генерируемых PSF. Чем больше PSF генерируется, тем лучше результаты, однако это приводит к увеличению продолжительности обработки. Следует выбирать не менее 3 функций PSF. В выпадающем списке вы можете выбрать метод анализа первичного компонента (PCA method) (Primary Component Analysis, M. Arigovindan et al., 2005, IEEE Transactions on Image Processing 14. nr. 4 p.450ff), наиболее подходящий для ограниченного итеративного и быстрого итеративного методов, или метод слоев (Strata method) (Myneni and Preza, Frontiers in Optics 2009, Optical Society of America, paper CThC4.), наиболее подходящий для метода упорядоченного обратного фильтра и итеративной деконволюции по Люси-Ричардсону.

Параметр	Описание
Distance to cover slip (Расстояние до покровного стекла)	Отображает расстояние полученной структуры до стороны покровного стекла, обращенного к заливочной среде. Половина высоты серии срезов по оси Z принимается за первоначальную величину расстояния до покровного стекла. Данное значение может быть скорректировано, если известно расстояние. По возможности, это расстояние должно быть измерено.
Cover slip type (Тип покровного стекла) (Толщина и тип)	Имеющиеся в продаже покровные стекла делятся на разные группы в зависимости от толщины (0, 1, 1,5 и 2), которую можно выбрать в выпадающем меню. Покровные стекла типа 1,5 имеют среднюю толщину 170 мкм. Однако в некоторых случаях в зависимости от производителя фактическая толщина стекла может значительно отличаться. Для достижения наилучших результатов рекомендуется использовать покровные стекла, толщина которых гарантированно составляет 170 мкм. Значения, отличающиеся от указанного, можно ввести непосредственно в поле ввода.
Cover slip ref. index (Показатель преломления покровного стекла)	Выберите в выпадающем списке материал, из которого выполнено покровное стекло. Соответствующий показатель преломления отобразится в соседнем поле ввода.
Working distance (Рабочее расстояние)	Отображает рабочее расстояние объектива (т. е. расстояние от передней линзы до поверхности покровного стекла, обращенной к объективу). Рабочее расстояние объектива автоматически определяется в соответствии с данными об объективе, если только объектив был правильно выбран в программе настроек MTV 2004. Тем не менее это значение может быть введено вручную.
Override (Ручная коррекция)	Параметр активен, только если установлен флажок Enable Correction (Включить коррекцию). Для сброса значений нажмите кнопку Reset (Сброс).

5.9.1.2.2.4

Раздел Channel specific (Специальные настройки канала)

В разделе Channel specific (Специальные настройки канала) приводятся все специальные настройки определенного канала. Это означает, что каждый канал настраивается по-разному.

Параметр	Описание
Опция Use external PSF (Использование внешней PSF)	Флажок установлен: используется внешняя фактическая PSF. Под меню Image Parameters Input (Параметры изображения Входное изображение) отображается дополнительное окно ввода, в котором можно выбрать внешний файл PSF. Программное обеспечение проверит, соответствуют ли параметры микроскопа в файле PSF входному изображению. Аберрации (допускаются аберрации с длиной волны 10 нм) заставляют программу использовать расчетную PSF.

Параметр	Описание
Кнопка Attach To Input (Прикрепить к входному изображению)	Если выбран внешний файл PSF, то его можно прикрепить к входному изображению. Тогда сохраненное входное изображение будет содержать корректную фактическую PSF. Для подобного изображения также можно использовать расчетную PSF. Просто уберите флажок Use external PSF (Использовать внешнюю PSF).
Поле индикации Illumination (Освещение)	Отображает длину волны возбуждения в нанометрах для канала красителя. Допустим максимум. Цветовое поле соответствует длине волны (насколько это возможно).
Поле индикации Detection (Детектирование)	Отображает максимальную длину волны излучения для канала красителя. Цветовое поле соответствует длине волны (насколько это возможно).
Поле индикации Sampling lateral (Поперечная дискретизация)	Зависит от геометрического масштабирования в направлении X/Y и отображает степень передискретизации по Найквисту. Для достижения хороших результатов во время выполнения деконволюции это значение должно быть близким к «2» и более. Как и в случае с широкопольными микроскопами, эта величина обычно определяется объективом, переходником для камеры и самой камерой, и на нее может влиять только использование модуля Optovar.
Поле индикации Sampling axial (Продольная дискретизация)	Зависит от геометрического масштабирования в направлении Z и отображает степень передискретизации по Найквисту. Для достижения хороших результатов во время выполнения деконволюции это значение должно быть не меньше «2». Эта величина определяется дискретностью привода фокусировки во время получения серии срезов по оси Z и, следовательно, может легко изменяться.
Поле индикации Pinhole (Микроотверстие)	Доступно, только если в параметрах микроскопа указан конфокальный микроскоп. Отображает размер конфокального микроотверстия в единицах Эйри (AU).
Поле индикации NA Cond. (Числовая апертура конденсатора)	Доступно, только если используется традиционный микроскоп (Conventional Microscope), а в качестве типа освещения выбран проходящий свет (Transmitted Light). Отображает числовую апертуру конденсатора, при которой осуществляется получение изображения в режиме проходящего света.

5.9.1.2.2.4.1

Раздел **Microscope info** (Сведения о микроскопе)

В разделе **Microscope info** (Сведения о микроскопе) отображаются сведения о микроскопе, которые в зависимости от канала влияют на форму PSF:

Параметр	Описание
Выпадающий список Illumination (Освещение)	В этом списке можно выбрать способ освещения, при котором осуществляется получение данных. Если в параметрах микроскопа был указан Conventional Microscope (Традиционный микроскоп), в списке будут доступны следующие опции: Epifluorescence (Эпифлуоресценция), Multiphoton Excitation (Многофотонное возбуждение) и Transmitted Light (Проходящий свет). При использовании конфокальных микроскопов доступна только опция Epifluorescence (Эпифлуоресценция).
Image Formation (Формирование изображений)	Этот параметр указывает, происходило формирование изображений в некогерентном излучении (традиционный микроскоп) или когерентном излучении (лазерный сканирующий микроскоп).
Lateral Resolution (Поперечное разрешение)	Отображает поперечное разрешение расчетной PSF.
Axial FWHM (Продольная ПШПВ)	Отображает полную ширину на половине высоты (ПШПВ) в качестве меры измерения продольного разрешения PSF.

5.9.1.2.2.4.2 Раздел просмотра PSF

Этот инструмент отображает PSF, рассчитанную для канала на основе текущих настроек. Если установлен флажок **Auto Update** (Автоматическое обновление), все изменения, внесенные в параметры PSF, сразу применяются в просмотре PSF. Это позволяет быстро проверить соответствие заданных настроек вашим ожиданиям.

5.9.1.3 Создание PSF

С помощью этого метода создается изображение с функцией рассеяния точки (PSF) из изображения серий срезов по оси Z гранулы, полученного для измерения PSF. Для получения оптимального изображения соблюдайте следующие инструкции: использование гранул для измерения PSF.

Наилучшие результаты достигаются при создании среднего изображения серии срезов по оси Z из нескольких изображений гранул, полученных с помощью функции *усреднения гранулы* [► 112].

Результатом является так называемое PSF-изображение. Для оптимизации дополнительных настроек и опций используйте специальные элементы управления во вкладке PSF Display (Отображение PSF).

Возможно использование двух типов гранул:

- Гранулы с диаметром, не превышающим разрешающей способности микроскопа. В этом случае изображение сразу преобразуется в соответствующий формат PSF.
- Гранулы с диаметром, превышающим разрешающую способность микроскопа. В этом случае PSF восстанавливается в ходе итеративной обработки с учетом известного диаметра гранул. Основным преимуществом здесь является то, что большие гранулы лучше видны, и во время получения изображения достигается лучшее расстояние сигнал/шум. Рекомендуется использовать гранулы диаметром 1,0 мкм.

Параметры

Параметр	Описание
Z-Stack Correction (Коррекция серии срезов по оси Z)	Флажок установлен: выполняет коррекцию фона серии срезов по оси Z перед обработкой.
Circular Average (Круговое усреднение)	Флажок установлен: форсирует PSF латеральной симметрией. Обычно не включают, поскольку латеральные асимметрии лучше соответствуют фактическому состоянию. Круговое усреднение рекомендуется выполнять, только когда фактическая PSF используется вместе с быстрым итеративным методом (Fast Iterative).
Threshold Cropping (Пороговое кадрирование)	Флажок установлен: PSF ограничивается диапазоном насыщенности серого до 0,25% самого яркого вокселя, если это значение уменьшается или опция отключается, то PSF может быть больше. При этом увеличивается время вычисления. Однако в этом случае также можно добиться немного лучших результатов. Эта опция включена по умолчанию.
Threshold (Пороговая величина)	С помощью ползунка или поля ввода задается процентное значение, начиная с которого PSF снижается, если выбрана опция Volume Clipping (Объемное отсечение).
Iterative Restoration (Многокадровое восстановление)	Флажок установлен: Если для генерации PSF используются изображения серии срезов по оси Z гранул с диаметром, превышающим разрешающую способность микроскопа, следует выбрать эту опцию. Диаметр гранул можно вводить с помощью ползунка или поля ввода.

5.9.1.4 Bead Average (Усреднение гранулы)

Этот метод определяет позицию флуоресцентных гранул в изображении серии срезов по оси Z. Если эти гранулы располагаются слишком близко друг к другу, то при вычислении они не используются. Гранулы, расположенные достаточно далеко друг от друга, объединяются в одну гранулу, с помощью которой впоследствии можно рассчитать PSF, используя функцию Create PSF (Создать PSF).

Описание алгоритма

Функция состоит из серии этапов до и после обработки. Цель — обнаружить гранулы, расположенные достаточно далеко друг от друга. Ниже приводится последовательность шагов обработки:

- Выбор входного изображения.
- Сглаживание изображения.
- Сегментация
- Выбор гранулы.
- Центрирование обнаруженных гранул.

- Усреднение обнаруженных гранул.

Параметры

Параметр	Описание
Bead proximity (Близость гранул)	Определяет расстояние между двумя соседними гранулами в мкм. Гранула исключается из усреднения, если расстояние до соседней гранулы больше минимального заданного расстояния. При малом значении обнаруживается меньшее число гранул, хотя они и расположены дальше друг от друга; при большем значении обнаруживается большее число гранул, однако существует риск их частичного перекрытия.
Average Beads (Усредненные гранулы)	Флажок установлен: создается изображение отдельной усредненной гранулы. Флажок убран: создается изображение, в котором каждая обнаруженная гранула центрируется, но сохраняется в R-измерении. Затем во вкладке Dimensions (Измерения) появится ползунок для вращения гранулы (R-измерение).
Pre-Smoothing (Предварительное сглаживание)	С математической точки зрения сегментация изображений представляет собой «некорректно поставленную задачу». Для достижения более надежных результатов, изображение перед сегментацией можно сгладить, используя следующие параметры:
– None (Отсутствует)	Сглаживание изображения не выполняется; шума изображения может привести к некорректным результатам.
– Gaussian (Гауссовый фильтр)	Выполняет трехмерную гауссовую фильтрацию с использованием изотропного сигма ядра. Этот фильтр не сохраняет контуры.
– Difference of Gaussians (Различие гауссовых фильтров)	Изображение сглаживается с помощью двух разных сигма ядер (сигма и дельта-сигма). Для сегментации используются различия двух изображений. Этот фильтр сохраняет контуры.
Log Curvature (Логарифмическая кривая)	Здесь вы можете задать градиент кривой, который может использоваться для нахождения локальных максимумов интенсивности (т. е. гранул). При малом значении обнаруживается большее число гранул, но функция становится более чувствительной к шуму изображения. При большом значении обнаружение гранул меньше нарушается шумом изображения, но обнаруживается меньшее число гранул.
Sigma (Сигма)	Здесь задается сила воздействия гауссова ядра, более подробно см. в разделе «Сигма» [► 144].
Delta Sigma (Дельта-сигма)	Здесь задается разность сигмы между первой и второй гауссовой фильтрацией. Сигма второй фильтрации равняется сигма + дельта-сигма.

5.9.1.5 Методы деконволюции в ZEN

Метод (общее название)	Источники	Настройки	Примечания
Nearest Neighbor (Ближайший сосед)	К. Кастелман (K. Castleman), "Digital image processing", Prentice Hall 1997 г.	Алгоритм (по умолчанию): Nearest Neighbor (Ближайший сосед)	Специальный «двухмерный алгоритм устранения размытости» фокусируется на вычитании размытости вне фокуса.
Regularized Inverse (Упорядоченный обратный) также известный как: Линейный метод наименьших квадратов	Для G-разности нулевого порядка: Шефер (Schaefer) и соавт. (2001 г.)	Алгоритм (по умолчанию): Regularized Inverse Filter (Упорядоченный обратный фильтр) Advanced settings Regularization (Дополнительные настройки Упорядочение): Zero order (нулевой порядок)	Использует различие в наблюдении и оценке в качестве условия упорядочения.
Regularized Inverse (Упорядоченный обратный) также известный как: Линейный метод наименьших квадратов	Для упорядочен ия первого порядка или <i>неровности по Гуду</i> : Фервеер (Verveer) и соавт. (1997 г.)	Алгоритм: Regularized Inverse (Упорядоченный обратный) Advanced settings Regularization (Дополнительные настройки Упорядочение): First order (первый порядок)	Использует первую производную оценки неровности по Гуду в качестве условия упорядочения.
Regularized Inverse (Упорядоченный обратный) также известный как: Линейный метод наименьших квадратов В комплексе с микроскопией структурированного освещения (модуль ApoTome)	Шефер (Schaefer) и соавт. (2006 г.) Шефер (Schaefer) и соавт. (tbs)	Алгоритм: Regularized Inverse (Упорядоченный обратный) Advanced settings Regularization (Дополнительные настройки Упорядочение): Zero / First order (Нулевой / первый порядок)	Патентованный метод максимального использования необработанных изображений в ApoTome
Fast Iterative (Быстрый итеративный) Также известный как: Алгоритм Мейнела	Мейнел (Meinel) (1986 г.)	Алгоритм (по умолчанию): Fast Iterative (Быстрый итеративный)	Классический, неупорядоченный алгоритм Мейнела.

Метод (общее название)	Источники	Настройки	Примечания
Золотой Мейнел		Advanced settings Likelihood (Дополнительные настройки Правдоподобие): Poisson (Meinel) (Пуассоновский (по Мейнелу))	
Fast Iterative (Быстрый итеративный) Алгоритм Мейнела + упорядочение:	Мейнел (Meinel) (1986 г.) Для G-разности нулевого порядка: Шефер (Schaefer) и соавт. (2001 г.)	Алгоритм: Fast Iterative (Быстрый итеративный) Дополнительные настройки: – Likelihood (Правдоподобие) Poisson (Meinel) (Пуассоновский (по Мейнелу)) – Regularization (Упорядочение) Zero order (нулевой порядок)	Упорядоченный алгоритм Мейнела с использованием G-разности (различие в наблюдении и оценки).
Fast Iterative (Быстрый итеративный) Алгоритм Мейнела + Optimization (Оптимизация)	Мейнел (Meinel) (1986 г.) Биггс (Biggs) (1998 г.)	Алгоритм: Fast Iterative (Быстрый итеративный) Дополнительные настройки: – Likelihood (Правдоподобие) Poisson (Meinel) (Пуассоновский (по Мейнелу)) – Regularization (Упорядочение) None / Zero order (Отсутствует / Нулевой порядок) – Optimization (Оптимизация): Numerical Gradient (Числовой градиент)	Алгоритм Мейнела с использованием формулы оценки числового градиента, предложенной Д. Биггсом (D. Biggs).

Метод (общее название)	Источники	Настройки	Примечания
Fast Iterative (Быстрый итеративный) Также известный как: Алгоритм Люси-Ричардсона	Ричардсон (Richardson) (1972 г.) Люси (Lucy) (1974 г.)	Алгоритм: Fast Iterative (Быстрый итеративный) Advanced settings Likelihood (Дополнительные настройки Правдоподобие): Poisson (Richardson-Lucy) (Пуассоновский (по Люси-Ричардсону))	Классический, исходный неупорядоченный алгоритм Люси-Ричардсона. Может потребоваться гораздо больше итераций, чем в любом другом алгоритме.
Fast Iterative (Быстрый итеративный) Также известный как: Алгоритм Люси-Ричардсона + оптимизация	Ричардсон (Richardson) (1972 г.) Люси (Lucy) (1974 г.) Биггс (Biggs) (1998 г.)	Алгоритм: Fast Iterative (Быстрый итеративный) Дополнительные настройки: – Likelihood (Правдоподобие) Poisson (Richardson-Lucy) (Пуассоновский (по Люси-Ричардсону)) – Optimization (Оптимизация): Numerical Gradient (Числовой градиент)	Классический, исходный неупорядоченный алгоритм Люси-Ричардсона. Улучшенная скорость конвергенции. Примерно в десять раз быстрее алгоритма Люси-Ричардсона с использованием формулы оценки числового градиента, предложенной Д. Биггсом (D. Biggs).
Constrained Iterative (Ограниченный итеративный)	Фервеер (Verveer) и соавт. (1997 г.) Шефер (Schaefer) и соавт. (2001 г.)	Алгоритм (по умолчанию): Constrained Iterative (Ограниченный итеративный) Дополнительные настройки: – Likelihood (Правдоподобие) Poisson (Пуассон) – Regularization (Упорядочение) Zero order (нулевой порядок)	Восстановление характерного сопряженного градиента с использованием возведенной в квадрат оценки для введения положительности. Использует различие в наблюдении и оценке в качестве условия упорядочения.
Constrained Iterative (Ограниченный итеративный)	Фервеер (Verveer) и соавт. (1997 г.) Шефер (Schaefer) и соавт. (2001 г.)	Алгоритм: Constrained Iterative (Ограниченный итеративный)	Восстановление характерного сопряженного градиента с использованием возведенной в квадрат оценки

Метод (общее название)	Источники	Настройки	Примечания
		Дополнительные настройки: – Likelihood (Правдоподобие) Poisson (Пуассон) – Regularization (Упорядочение) First order (первый порядок)	для введения положительности. Использует дифференциальный оператор неровности по Гуду в качестве условия упорядочения.
Constrained Iterative (Ограниченный итеративный)	Тихонов (1977 г.) Фервеер (Verveer) и соавт. (1997 г.) Шефер (Schaefer) и соавт. (2001 г.)	Алгоритм: Constrained Iterative (Ограниченный итеративный) Дополнительные настройки: – Likelihood (Правдоподобие) Poisson (Пуассон) – Regularization (Упорядочение) Second order (Второй порядок)	Восстановление характерного сопряженного градиента с использованием возведенной в квадрат оценки для введения положительности. Использует второй дифференциальный оператор Тихонова-Миллера-Филлипса в качестве условия упорядочения.
Constrained Iterative (Ограниченный итеративный)	Фервеер (Verveer) и соавт. (1997 г.) Шефер (Schaefer) и соавт. (2001 г.)	Алгоритм: Constrained Iterative (Ограниченный итеративный) Дополнительные настройки: – Likelihood (Правдоподобие) Gauss (Гаусс) – Regularization (Упорядочение) Zero order (нулевой порядок)	Восстановление характерного сопряженного градиента с использованием возведенной в квадрат оценки для введения положительности. Использует различие в наблюдении и оценке в качестве условия упорядочения.
Constrained Iterative (Ограниченный итеративный)	Фервеер (Verveer) и соавт. (1997 г.) Шефер (Schaefer) и соавт. (2001 г.)	Алгоритм: Constrained Iterative (Ограниченный итеративный) Дополнительные настройки: – Likelihood (Правдоподобие) Gauss (Гаусс)	Восстановление характерного сопряженного градиента с использованием возведенной в квадрат оценки для введения положительности. Использует дифференциальный оператор неровности по Гуду

Метод (общее название)	Источники	Настройки	Примечания
		- Regularization (Упорядочение): First order (первый порядок)	в качестве условия упорядочения.
Constrained Iterative (Ограниченный итеративный) Также известный как: ISTM Ограниченный итеративный по Тихонову-Миллеру	ван дер Воорт (van der Voort) и соавт. (1995 г.) Фервеер (Verveer) и соавт. (1997 г.) Шефер (Schaefer) и соавт. (2001 г.)	Алгоритм: Constrained Iterative (Ограниченный итеративный) Дополнительные настройки: – Likelihood (Правдоподобие) Gauss (Гаусс) – Regularization (Упорядочение) Second order (Второй порядок)	Восстановление характерного сопряженного градиента с использованием возведенной в квадрат оценки для введения положительности. Использует второй дифференциальный оператор Тихонова-Миллера-Филлипса в качестве условия упорядочения.
Constrained Iterative (Ограниченный итеративный)	Фервеер (Verveer) и соавт. (1997 г.) Schaefer et al. (2001)	Алгоритм: Constrained Iterative (Ограниченный итеративный) Дополнительные настройки: – Likelihood (Правдоподобие): Poisson/Gauss (Пуассоновский/по Гауссу) – Regularization (Упорядочение): 0/1/2nd order (0/1/2-й порядок) – Optimization (Оптимизация): Line search / Analytical (Линейный поиск / аналитический)	Восстановление характерного сопряженного градиента с использованием возведенной в квадрат оценки для введения положительности. По умолчанию для оптимизации – быстрый аналитический метод (по Ньтону-Рафсону). Линейный поиск может быть более точным, но также намного более медленным.

Список литературы

Schaefer, L.H., Schuster, D. & Herz, H. *Generalized accelerated maximum likelihood based image restoration approach applied to three-dimensional fluorescence microscopy*, Journal of Microscopy, 2004 (2001), Pt. 2, 99-107 (PubMed)

Verveer, P.J. & Jovin, T.M. (1997) *Efficient superresolution restoration algorithms using maximum a posteriori estimations with application to fluorescence microscopy*. *J. Opt. Soc. Am. A*, 14, 1696-1706.

Meinel E.S., *Origins of linear and nonlinear recursive restoration algorithms*, *J. Opt. Soc. Am. A.*, 1986, 3 (6): 787-799.

Biggs, D.S.C. 1998. *Accelerated Iterative Blind Deconvolution*. Ph.D. Thesis, University of Auckland, New Zealand.

Schaefer, L.H. & Schuster, D. *Structured illumination microscopy: improved spatial resolution using regularized inverse filtering*, Proceedings of the FOM 2006, Perth, Australia

Lucy L.B., *An iterative technique for the rectification of observed distributions*, *Astron. J.*, 1974, 79: 745-754.

Richardson W.H., *Bayesian-based iterative method of image restoration*, *J. Opt. Soc. Am.*, 1972, 62 (6): 55-59.

van der Voort, H. T. M. and Strasters, K. C. (1995) *Restoration of confocal images for quantitative image analysis*. *J. Microsc.*, **178**, 165-181.

Tikhonov, A.N. & Arsenin, V.Y. (1977) *Solutions of Ill Posed Problems*. Wiley, New York.

5.9.2 **Настройка**

5.9.2.1 **Цветовой баланс**

Метод Color Balance (Цветовой баланс) позволяет регулировать диапазон отдельных цветовых каналов изображения с реальными цветами.

Параметр	Описание
Range to Adjust (Диапазон регулировки)	Здесь можно выбрать диапазон регулировки цветового баланса. Доступны 3 диапазона регулировки:
— Shadows (Тени)	Настройка относится к тонам в диапазоне темных цветов.
— Midtones (Средние тона)	Настройка относится к тонам в диапазоне средних цветов.
— Lights (Светлые тона)	Настройка относится к тонам в диапазоне светлых цветов.
Cyan - Red (Циан - красный цвет)	Настройку необходимого цветового баланса выполняют с помощью ползунка или поля ввода.
Yellow - Blue (Желтый - синий)	Настройку необходимого цветового баланса выполняют с помощью ползунка или поля ввода.
Magenta - Green (Пурпурный - зеленый)	Настройку необходимого цветового баланса выполняют с помощью ползунка или поля ввода.

5.9.2.2 Оттенок / Насыщенность / Яркость

Метод Hue/Saturation/Lightness (Оттенок/Насыщенность/Яркость) позволяет регулировать оттенок, насыщенность и яркость изображения с реальными цветами.

Параметры

Параметр	Описание
Hue (Оттенок)	Значение сдвига представляет собой угол на цветовом круге. Следовательно, величины -180 и $+180$ оказывают одинаковый эффект. Отрицательные значения угла сдвига изменяют цветовой оттенок в сторону синего цвета, а положительные — в сторону красного цвета. Настройку изменения цветового тона выполняют с помощью ползунка или поля ввода.
Saturation (Насыщенность)	Термином «насыщенность» описывается интенсивность цвета пикселя. Chromatic (хроматический) — максимальная степень насыщенности, achromatic (ахроматический) относится к цветам, лишенным тона в смысле цветового восприятия. Настройку насыщенности выполняют с помощью ползунка или поля ввода.
Lightness (Яркость)	Термин «яркость» описывает степень насыщенности пикселя светлыми или темными тонами. Наибольшая разница существует между черным и белым или между фиолетовым и желтым цветами. Настройку яркости выполняют с помощью ползунка или поля ввода.

5.9.2.3 Баланс белого

Метод White Balance (Баланс белого) позволяет регулировать баланс белого в изображении

Параметры

Параметр	Описание
Automatic (Автоматически)	Флажок установлен: белое пятно вычисляется автоматически на основе данных изображения.
White Spot (Белое пятно)	Отображается, только если убран флажок Automatic (Автоматически). Определите белое пятно, нажав кнопку  Pick (Выбрать). Указатель мыши приобретет вид пипетки. Щелкните пипеткой по белой области входного изображения. Рядом с кнопкой отобразятся координаты и значение цвета выбранного белого пятна.
Temperature Delta (Дельта температур)	Отрегулируйте дельту, прибавляемую к вычисленным значениям цвета. Отрицательные значения уменьшают цветовую температуру, а положительные — повышают. Значение «1» соответствует 10 K.

5.9.2.4 Цветовая температура

Метод Color Temperature (Цветовая температура) позволяет настроить цветовую температуру изображения с реальными цветами. Используйте ползунок *Temperature Delta*. Описание ползунка представлено в разделе «Баланс белого» [► 120],

5.9.2.5 Яркость / Контрастность / Гамма

Метод Brightness/Contrast/Gamma (Яркость/Контрастность/Гамма) позволяет настроить яркость, контрастность и гамму изображения.

i Примечание

В отличие от регулировок, выполняемых во вкладке **Display** (Отображение), здесь изменяются значения пикселей изображения.

Параметры

Параметр	Описание
Brightness (Яркость)	Настройку яркости выполняют с помощью ползунка или поля ввода. Изменение яркости означает, что каждое значение насыщенности серого или цвета увеличивается или уменьшается на одну и ту же величину. Тем не менее разность между наибольшим и наименьшим значениями насыщенности серого или цвета в изображении остается неизменной.
Contrast (Контрастность)	Настройку контрастности выполняют с помощью ползунка или поля ввода. Изменение контрастности означает, что значение насыщенности серого или цвета умножается на указанный коэффициент. Разность между наибольшим и наименьшим значениями насыщенности серого или цвета изменяется.
Gamma (Гамма)	Настройку гаммы выполняют с помощью ползунка или поля ввода. Изменение гаммы означает, что значение насыщенности серого или цвета умножается на индивидуальные коэффициенты.

5.9.2.6 Коррекция серии срезов по оси Z

Метод Stack Correction (Коррекция серии срезов по оси Z) позволяет улучшить качество изображений серии срезов по оси Z, освещенных во время получения.

Параметры

Во вкладке **Correction** (Коррекция) можно выбрать один или несколько режимов коррекции.

Параметр	Описание
Decay (Затухание)	Этот режим компенсирует эффект осветления.
Flicker (Мерцание)	Этот режим компенсирует скачки напряжения лампы накаливания.
Background (фон)	Этот режим уменьшает фоновый шум.

5.9.2.7 Коррекция равномерности освещения

Метод Shading Correction (Коррекция равномерности освещения) позволяет улучшить изображения, качество которых снижено неравномерным освещением или виньетированием.

При желании выполнить коррекцию равномерности освещения перед проведением эксперимента (рекомендуется) необходимо использовать функцию коррекции равномерности освещения в инструменте **Camera** (Камера) раздела Postprocessing (Постобработка).

Параметры

Параметр	Описание
Shading Mode (Режим равномерности освещения)	
– Camera shading (Равномерность освещения камеры)	Применяет параметр Shading correction (Коррекция равномерности освещения) к каждой мозаике мозаичного изображения.
– Global shading (Общая равномерность освещения)	Применяет параметр Shading correction (Коррекция равномерности освещения) ко всему мозаичному изображению. Необходимо изображение с эталонной равномерностью освещения того же размера, что и мозаичное изображение.
Automatic (Автоматически)	Флажок установлен: функция автоматически вычисляет эталонное изображение коррекции равномерности освещения из входного изображения.
Display Mode (Режим отображения)	
– Additive (Аддитивный)	В этом режиме нормализованное эталонное изображение вычитается из каждого кадра камеры. Это влияет на яркость изображения.
– Multiplicative (Мультипликативный)	В этом режиме каждый кадр камеры делится на нормализованное эталонное изображение. Это влияет на контраст изображения. Эта настройка используется по умолчанию. До 20 кадров камеры усредняется во входное изображение и пропускается через низкочастотный фильтр, таким образом создавая имитирующее/автоматическое эталонное изображение.
Offset (Смещение)	С помощью ползунка или поля ввода отрегулируйте значение серого, которое будет добавлено к новым расчетным значениям серого. Если получаются отрицательные значения, то они приравниваются к нулю. Значения, превышающие максимальное значение серого, приравниваются к максимальному значению серого.

5.9.2.8 Вычитание фона

С помощью функции Background Subtraction (Вычитание фона) удаляется гладкий фон или корректируется неравномерное освещение. Эта процедура заимствована из соответствующей функции в ImageJ и основана на алгоритме катящегося шара (S. Sternberg, "Biomedical image Processing", IEEE Computer, January 1983).

Параметры

Параметр	Описание
Radius (Радиус)	Здесь задают радиус катящегося шара в пикселях. Это значение должно быть не меньше радиуса наибольшего объекта на изображении, не являющегося частью фона. Большие значения также будут подходить до тех пор, пока фон изображения не станет слишком неровным.
Create Background only (Создать только фон)	Если параметр включен, создается изображение, содержащее только обнаруженный фон. Используйте это изображение для последующего выполнения ручной коррекции фона, например, с помощью калькулятора изображения.
Do smoothing beforehand (Предварительное сглаживание)	Если параметр активирован, перед анализом фона выполняется усреднение по пикселям (3x3). Используйте эту опцию, чтобы данные изображения после вычитания не оказались под фоном.
Light Background (Светлый фон)	Используйте эту опцию, если изображение содержит светлый фон и темные объекты.
Radius (Радиус)	Здесь задают радиус катящегося шара в пикселях. Это значение должно быть не меньше радиуса наибольшего объекта на изображении, не являющегося частью фона. Большие значения также будут подходить до тех пор, пока фон изображения не станет слишком неровным.

5.9.2.9 Выравнивание гистограммы

Функция Histogram Equalization (Выравнивание гистограммы) повышает контраст путем линеаризации гистограммы изображения на равные области в гистограмме. Области (число пикселей, умноженное на диапазон насыщенности серого) всех значений серого в гистограмме полученного изображения одинаковы.

Параметр	Описание
All Z (Все плоскости по оси Z)	Если параметр активирован, функция применяется ко всем плоскостям по оси Z.
All T (Все временные точки)	Если параметр активирован, функция применяется ко всем временным точкам.
High Threshold (Верхнее пороговое значение)	Область пикселей, которая отобразится в наибольшем значении серого на выходном изображении.
Lower Threshold (Нижнее пороговое значение)	Область пикселей, которая отобразится в нулевом значении серого.

5.9.3 Границы

5.9.3.1 Фильтрация верхних частот

Метод Highpass (Фильтрация верхних частот) выполняет фильтрацию верхних частот. Фильтрация верхних частот — разница между исходным изображением и исходным изображением, прошедшим фильтрацию нижних частот.

Параметр

Параметр	Описание
Normalization (Нормализация)	Доступность опций, представленных в списке, зависит от выбранной функции обработки изображения.
– Clip (Отсечение)	Уровням серого, не попадающим в указанный диапазон насыщенности серого, автоматически присваивается наименьшее/наибольшее значение серого (черный или белый). Этот эффект соответствует недоэкспонированию или переэкспонированию. Это означает, что в некоторых случаях происходит потеря информации.
– Automatic (Автоматически)	Автоматическая нормализация значений серого до доступного диапазона насыщенности серого.
– Wrap (Перенос)	Если полученное значение больше максимального значения серого на изображении, то из него вычитается «максимальное значение серого + 1».
– Shift (Смещение)	Нормализует выходное изображение до величины равной «значение серого + максимальное значение серого/2».
– Absolute (Абсолютный)	Используются только положительные значения.
Count (Счетчик)	Здесь устанавливается число повторений. То есть число последовательных применений функции к соответствующему результату фильтрации. Эффект усиливается соответствующим образом.
Kernel Size (Размер ядра)	Вы можете симметрично установить размер фильтра в направлениях X, Y, Z относительно зависимого пикселя. Это должен быть размер области перехода между объектами и фоном.

5.9.3.2 Оператор Робертса

Метод Roberts (Оператор Робертса) рассчитывает градиентное изображение с использованием матрицы оператора Робертса. Большие разности значений серого между соседними элементами отображаются как значения светло-серого. Отсутствие изменений обозначается величиной «0» (черный). Границы тоньше, чем при использовании метода Собеля.

5.9.3.3 Максимальный градиент

Метод Gradient Max (Максимальный градиент) выполняет фильтрацию градиента. Градиентное изображение рассчитывается на основе суммы матрицы 2x2 в направлении X и Y с использованием большего из двух компонентов. Границы получаются темнее, чем при использовании метода **Gradient Sum** (Сумма градиентов).

5.9.3.4 Сумма градиентов

Метод Gradient Max (Максимальный градиент) выполняет фильтрацию градиента. Градиентное изображение рассчитывается на основе суммы матрицы 2x2 в направлении X и Y. Границы получаются ярче, чем при использовании метода **Gradient Max** (Максимальный градиент).

5.9.3.5 Метод Собеля

Градиентное изображение рассчитывается с применением фильтра Собеля (Sobel)

Этот метод отмечает изменения значений серого на изображении. Большим различиям между соседними элементами соответствует значение ярко-серого, при отсутствии изменений значение равняется «0» (ноль). Пиксели в выходном изображении рассчитываются с помощью дифференциального оператора Собеля на основе ядра 3x3x3 входного изображения.

5.9.3.6 Фильтр высоких частот Лапласа

Функция Laplace пропускает изображение через фильтр высоких частот Лапласа.

Вычисление производится на основе оператора Лапласа (3x3x3) во всех направлениях. Эта функция недостаточно хорошо отображает изменения значений серого.

5.9.3.7 Локальная дисперсия

Метод Local variance (Локальная дисперсия) осуществляет фильтрацию краев, рассчитывающую дисперсию каждого пикселя с соседними пикселями по размеру поперечного фильтра.

Параметр**Размер ядра по оси X/Y**

Здесь можно симметрично задать размер матрицы в направлениях X и Y относительно пикселя. Kernel Size in X/Y (Размер ядра по оси X/Y) определяет степень сглаживания в направлении X и Y.

5.9.4 Геометрические преобразования**5.9.4.1 Выравнивание каналов**

С помощью метода Channel Alignment (Выравнивание каналов) можно безошибочно автоматически выравнивать отдельные каналы многоканального изображения относительно друг друга.

Параметры

Параметр	Описание
Registration Method (Метод регистрации)	Здесь можно выбрать метод (или комбинацию методов) для выравнивания изображений.
– Translation (Перемещение)	Соседние срезы серии срезов по оси Z смещаются относительно друг друга в направлении X и Y.
– Rotation (Вращение)	Соседние срезы серии срезов по оси Z вращаются относительно друг друга.
– Iso Scaling (Масштабирование по ISO)	Увеличение регулируется от среза к срезу.
– Skew Scaling (Масштабирование наклона)	Корректируется наклон/искривление соседних срезов серии срезов по оси Z.
– Affine (Аффинное преобразование)	Соседние срезы изображения серии срезов по оси Z смещаются в направлении X и Y и вращаются, увеличение регулируется от среза к срезу.

Приведенные ниже параметры отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Параметр	Описание
Quality (Качество)	Здесь можно выбрать уровень качества, обеспечиваемый функцией.
– Low (Низкое)	Высокая скорость с низким качеством изображения.
– Medium (Среднее)	Высокая скорость со средним качеством изображения.
– High (Высокое)	Низкая скорость с высоким качеством изображения.
– Highest (Наивысшее)	Самая низкая скорость с наивысшим качеством изображения.
Interpolation (Интерполяция)	Здесь можно выбрать метод выполнения интерполяции: расчет пикселя из нескольких отдельных пикселей.
– Nearest Neighbor (Ближайший сосед)	Выходному пикселю присваивается значение серого цвета входного пикселя, расположенного рядом с ним.
– Linear (Линейное комбинирование)	Выходному пикселю присваивается значение серого, полученное путем линейного комбинирования входных пикселей, расположенных рядом с ним.
– Cubic (Кубический)	Выходному пикселю присваивается значение серого, равное значению полиномиальной функции от входных пикселей, расположенных рядом с ним.

5.9.4.2 Выравнивание серии срезов по оси Z

Метод Z-Stack Alignment (Выравнивание серии срезов по оси Z) позволяет выравнивать отдельные плоскости изображения серии срезов по оси Z, если они расположены не точно друг под другом. Это происходит, когда, например, серии срезов по оси Z получают под наклоном с помощью стереомикроскопа.

Параметры

Параметр	Описание
Registration Method (Метод регистрации)	Здесь можно выбрать метод (или комбинацию методов) для выравнивания изображений.
– Translation (Перемещение)	Соседние срезы серии срезов по оси Z смещаются относительно друг друга в направлении X и Y.
– Rotation (Вращение)	Соседние срезы серии срезов по оси Z вращаются относительно друг друга.
– Iso Scaling (Масштабирование по ISO)	Увеличение регулируется от среза к срезу.
– Skew Scaling (Масштабирование наклона)	Корректируется наклон/искривление соседних срезов серии срезов по оси Z.
– Affine (Аффинное преобразование)	Соседние срезы изображения серии срезов по оси Z смещаются в направлении X и Y и вращаются, увеличение регулируется от среза к срезу.

Приведенные ниже параметры отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Параметр	Описание
Quality (Качество)	Здесь можно выбрать уровень качества, обеспечиваемый функцией.
– Low (Низкое)	Высокая скорость с низким качеством изображения.
– Medium (Среднее)	Высокая скорость со средним качеством изображения.
– High (Высокое)	Низкая скорость с высоким качеством изображения.
– Highest (Наивысшее)	Самая низкая скорость с наивысшим качеством изображения.
Interpolation (Интерполяция)	Здесь можно выбрать метод выполнения интерполяции: расчет пикселя из нескольких отдельных пикселей.
– Nearest Neighbor (Ближайший сосед)	Выходному пикселю присваивается значение серого цвета входного пикселя, расположенного рядом с ним.
– Linear (Линейное комбинирование)	Выходному пикселю присваивается значение серого, полученное путем линейного комбинирования входных пикселей, расположенных рядом с ним.

Параметр	Описание
— Cubic (Кубический)	Выходному пикселю присваивается значение серого, равное значению полиномиальной функции от входных пикселей, расположенных рядом с ним.

5.9.4.3 Сшивка

Метод Stitching (Сшивка) позволяет автоматически и правильно выравнивать относительно друг друга отдельные мозаики мозаичного изображения.

Параметры

Параметр	Описание
Inplace (Замещение)	Сшивка применяется к исходному изображению.
New Output (Новое выходное изображение)	В результате сшивки создается новое изображение. Исходное изображение не изменяется.
Fuse Tiles (Объединить фрагменты)	Отображается, только если нажата кнопка New Output (Новое выходное изображение). Флажок установлен: все отдельные мозаичные изображения объединяются после выравнивания. Флажок убран: отдельные мозаичные изображения выравниваются, но не объединяются.
Correct shading (Скорректировать равномерность освещения)	Отображается, только если нажата кнопка New Output (Новое выходное изображение). Флажок установлен: применяет функцию коррекции равномерности освещения (мультипликативный режим, см. раздел «Коррекция равномерности освещения» [► 122]) к каждому изображению перед сшивкой. Выберите из выпадающего списка эталонное изображение, которое необходимо использовать для коррекции равномерности освещения.
— Automatic (Автоматически)	Функция автоматически вычисляет эталонное изображение из входного изображения.
— Источники	Функция использует существующее эталонное изображение. Эту функцию следует выбирать в дополнение к входному изображению в инструменте Input (Входное изображение) в разделе Image Parameters (Параметры изображений).

Выбор эталонных измерений для сшивки

Раздел Select dimension references for stitching (Выбор эталонных измерений для сшивки) доступен только для многомерных входных изображений.

Выберите эталонное измерение (один канал, одну позицию по оси Z, одну временную точку) из многомерного массива данных. Данное эталонное измерение используется либо только для сшивки (остальные плоскости измерений не сшиваются), либо в качестве эталонного во время сшивки всех плоскостей измерений.

Параметр	Описание
Get all dimensions from 2d view (Получить все измерения из двухмерной проекции)	Считывает рассматриваемые плоскости измерений из двухмерной проекции.
Z-Position (Позиция по оси Z)	С помощью этого параметра выбирается позиция по оси Z для двухмерного изображения.
Time (Время)	С помощью этого параметра выбирается временная точка для двухмерного изображения.
Channels (Каналы)	С помощью этого параметра выбирается канал для двухмерного изображения.

Сшивка многомерных изображений

Раздел **Select dimension references for stitching** (Выбор эталонных измерений для сшивки) доступен только для многомерных входных изображений. Плоскости измерений, подлежащих сшивке, можно выбрать под соответствующим измерением.

Параметр	Описание
All by reference (Все по эталонной)	Все плоскости этого измерения сшиваются и отображаются в выходном изображении. Сшивка рассчитывается отдельно для каждой плоскости.
Reference only (Только эталонная)	Для расчета сшивки учитывается только эталонная плоскость (двухмерное изображение) данного измерения. Все остальные плоскости сшиваются соответствующим образом и отображаются в выходном изображении.
All individually (Все по отдельности)	Сшивается только выбранная эталонная плоскость (двухмерное изображение) этого измерения. Остальные плоскости на выходном изображении не отображаются.

Параметры

Параметр	Описание
Edge Detector (Детектор контуров)	
– Yes (Да)	Детектор контуров применяется для определения границ изображения. Это может улучшить результат сшивки.
– No (Нет)	Детектор контуров не применяется.
Minimal Overlap (Минимальное перекрытие)	Задаёт размер области минимального перекрытия (в процентах) отдельных мозаик.
Max Shift (Максимальное смещение)	Задаёт максимальную степень смещения (в процентах) отдельных мозаик относительно друг друга.
Comparer (Функция сравнения)	Определяет метод оценки соответствия мозаик в перекрывающихся областях.
– Basic (Базовый)	Элементарное сравнение (быстрое).

Параметр	Описание
– Best (Наилучший)	Тщательное сравнение (медленное).
– Optimized (Оптимизированный)	Оптимизированное сравнение.
Global Optimizer (Глобальный оптимизатор)	Определяет, какие перекрытия мозаик оцениваются.
– Basic (Базовый)	Оценивается только одно перекрытие на мозаику.
– Best (Наилучший)	Оцениваются все перекрытия мозаики.

5.9.4.4 Наложение изображения

С помощью функции Image Overlay (Наложение изображения) можно выравнять (или накладывать) два изображения, которые смещены относительно друг друга. Также можно совмещать отдельные плоскости изображения серии срезов по оси Z, в случае если они не располагаются точно одна поверх другой.

Вы можете определить 3 соответствующих точки как на входном (**Input Pixel** (входной пиксель)), так и на эталонном изображении (**Reference Pixel** (эталонный пиксель)), которое смещено относительно первого. Выберите в интерактивном режиме видимые точки, присутствующие на обоих изображениях. При нажатии кнопки **Apply** (Применить) функция вычисляет выходное изображение, в котором новые подходящие точки имеют те же координаты, что и на входном изображении.

Параметры

Параметр	Описание
Input Pixel 1 - 3 (Входной пиксель 1 - 3)	Нажав на соответствующие кнопки, можно определить 3 входных пикселя. Выбранная точка отобразится на графической плоскости. Эта точка помогает ориентироваться во время нажатия на контрольные точки.
Reference Pixel 1 - 3 (Эталонный пиксель 1 - 3)	Нажав на соответствующие кнопки, можно определить 3 эталонных пикселя.
Interpolation (Интерполяция)	Здесь указывается степень влияния вращения на соседние пиксели.
– Linear (Линейное комбинирование)	Поворачиваемому пикселю присваивается значение серого, рассчитанное из линейной комбинации значений серого тона двух пикселей: ближайшего к поворачиваемому и его ближайшего соседа.
– Cubic (Кубический)	Поворачиваемому пикселю присваивается значение серого, равное значению полиномиальной функции от пикселя, расположенного рядом с поворачиваемым.

5.9.4.5 Вращение

С помощью метода Rotate (Вращение) можно задавать углы поворота изображения. Эта функция специально разработана для вращения сложных (многомерных) изображений в доступных измерениях изображения. Функция может работать медленно, но предоставляет больше настроек для вращения. Для простых двумерных вращений рекомендуем использовать более быструю функцию **Rotate 2D** (Вращение двумерных изображений).

Параметр

Параметр

Описание

**Third Dimension
(Трехмерность)**

Отображается только для трехмерного входного изображения и (или) в режиме **Show all** (Показать все).

Здесь можно выбрать способ обработки многомерных изображений с помощью данной функции.

- 2D Slices
(Двухмерные срезы)

Эта функция используется в двумерном режиме только с многомерными изображениями, полученными, например, во время покадровой съемки или серии срезов по оси Z.

- Z, T or C
(Z, T или C)

Здесь можно выбрать, к какому дополнительному измерению следует применить функции.

**Adapt sizes
(Адаптация
размеров)**

Флажок установлен: размер выходного изображения регулируется в соответствии с настройками масштабирования.

Флажок убран: выходное изображение имеет тот же размер, что и входное. В зависимости от размера изображения и угла вращения области входного изображения могут быть частично невидимы на выходном изображении.

**Adjust per Channel
(Поканальные
настройки)**

Отображается только для многоканального изображения.

Флажок установлен: можно отдельно настраивать параметры для каждого канала.

**Interpolation
(Интерполяция)**

Здесь можно выбрать метод выполнения интерполяции: расчет пикселя из нескольких отдельных пикселей.

- Nearest Neighbor
(Ближайший сосед)
- Linear (Линейное комбинирование)
- Cubic
(Кубический)

Выходному пикселю присваивается значение серого цвета входного пикселя, расположенного рядом с ним.

Выходному пикселю присваивается значение серого, полученное путем линейного комбинирования входных пикселей, расположенных рядом с ним.

Выходному пикселю присваивается значение серого, равное значению полиномиальной функции от входных пикселей, расположенных рядом с ним.

Параметр	Описание
Angle (Угол)	Задайте величину угла вращения входного изображения с помощью ползунка или поля ввода. При положительных углах изображения вращаются по часовой стрелке.
Angle X (Угол по оси X)	Задайте величину угла вращения входного изображения по оси X с помощью ползунка или поля ввода.
Angle Y (Угол по оси Y)	Задайте величину угла вращения входного изображения по оси Y с помощью ползунка или поля ввода.
Angle Z (Угол по оси Z)	Задайте величину угла вращения входного изображения по оси Z с помощью ползунка или поля ввода.

Приведенные ниже параметры отображаются, только если убран флажок **Adapt sizes** (Адаптировать размеры).

Center X (Центр вращения по оси X)	Задайте координату центра вращения по оси X с помощью ползунка или счетчика/поля ввода. «0» означает, что изображение вращается вокруг своей центральной точки. Отрицательное значение означает, что центр вращения изображения смещается влево от центральной точки изображения. Положительное значение смещает центр вращения вправо.
Center Y (Центр вращения по оси Y)	Задайте координату центра вращения по оси Y с помощью ползунка или счетчика/поля ввода. «0» означает, что изображение вращается вокруг своей центральной точки. Отрицательное значение означает, что центр вращения изображения смещается вниз от центральной точки изображения. Положительное значение смещает центр вращения вверх.
Center Z (Центр вращения по оси Z)	Задайте координату центра вращения по оси Z с помощью ползунка или счетчика/поля ввода. «0» означает, что изображение вращается вокруг своей центральной точки. Отрицательное значение означает, что центр вращения изображения смещен вперед от центральной точки изображения. Положительное значение смещает центр вращения назад.

5.9.4.6 Вращение двумерных изображений

С помощью метода Rotate 2D (Вращение двумерных изображений) можно вращать изображение по часовой стрелке вокруг осевой линии. Желаемый угол вращения задается с помощью ползунка. Также величину угла вращения можно напрямую ввести в поле ввода. Для выполнения вращения нажмите кнопку **Apply** (Применить) в верхней части вкладки **Processing** (Обработка изображений).

5.9.4.7 Отражение

Метод Mirror (Отражение) позволяет отразить изображение слева направо или сверху вниз. При работе с многомерными изображениями, такими как серия срезов по оси Z или изображения покадровой съемки, метод отражения можно использовать, чтобы задать обратную последовательность соответствующего измерения.

Параметры

Параметр	Описание
Display Mode (Режим отображения)	
– Horizontal (Слева направо)	Отражает изображение слева направо.
– Vertical (Сверху вниз)	Отражает изображение сверху вниз.
– T/Z	Отображается только для многоканального входного изображения. Инвертирует последовательность срезов (Z) или временных точек (T).

5.9.4.8 Изменение ориентации

С помощью функции Change Orientation (Изменение ориентации) можно изменить ориентацию изображения.

Параметры

Параметр	Описание
Ориентация	
– Flip Horizontally (Отразить слева направо)	Отражает изображение слева направо.
– Flip Vertically (Отразить сверху вниз)	Отражает изображение сверху вниз.
– Rotate 90 CW (Повернуть на 90° по ч.с.)	Изображение поворачивается на 45° по часовой стрелке (по ч.с.).
– Rotate 90 CCW (Повернуть на 90° против ч.с.)	Изображение поворачивается на 45° против часовой стрелки (против ч.с.).
– Rotate 180	Изображение поворачивается на 180°.
– Mirror at +45 Diagonal (Отразить при +45° по диагонали)	Изображение отражается на +45° по диагонали.
– Mirror at -45 Diagonal (Отразить при -45° по диагонали)	Изображение отражается на -45° по диагонали.

5.9.4.9 Изменение размера

Метод Resample (Изменение размера) изменяет размер изображения в каждом измерении. Можно увеличить или уменьшить размер изображения.

Параметры

Параметр

Описание

Third Dimension (Трехмерность)

Отображается только для трехмерного входного изображения и (или) в режиме **Show all** (Показать все).

Здесь можно выбрать способ обработки многомерных изображений с помощью данной функции.

- - 2D Slices
(Двухмерные срезы)

Эта функция используется в двухмерном режиме только с многомерными изображениями, полученными, например, во время покадровой съемки или серии срезов по оси Z.

- - Z, T or C
(Z, T или C)

Здесь можно выбрать, к какому дополнительному измерению следует применить функции.

Adapt sizes (Адаптация размеров)

Флажок установлен: размер выходного изображения регулируется в соответствии с настройками масштабирования.

Флажок убран: выходное изображение имеет тот же размер, что и входное. В зависимости от размера изображения и угла вращения области входного изображения могут быть частично невидимы на выходном изображении.

Adjust per Channel (Поканальная

Отображается только для многоканального изображения.

настройка)

Флажок установлен: можно отдельно настраивать параметры для каждого канала.

Interpolation (Интерполяция)

Здесь можно выбрать метод выполнения интерполяции: расчет пикселя из нескольких отдельных пикселей.

- Nearest Neighbor
(Ближайший сосед)

Выходному пикселю присваивается значение серого цвета входного пикселя, расположенного рядом с ним.

- Linear (Линейное
комбинирование)

Выходному пикселю присваивается значение серого, полученное путем линейного комбинирования входных пикселей, расположенных рядом с ним.

- Cubic
(Кубический)

Выходному пикселю присваивается значение серого, равное значению полиномиальной функции от входных пикселей, расположенных рядом с ним.

Элементы управления

Параметр

Описание

Scaling in X (Масштабирование по оси X)

Настройку масштаба по оси X выполняют с помощью ползунка или поля ввода.

Scaling in Y (Масштабирование по оси Y)

Настройку масштаба по оси Y выполняют с помощью ползунка или поля ввода.

Параметр	Описание
Scaling in Z (Масштабирование по оси Z)	Настройку масштаба по оси Z выполняют с помощью ползунка или поля ввода.
Приведенные ниже параметры отображаются, только если убран флажок Adapt sizes (Адаптировать размеры).	
Shift in X (Смещение по оси X)	С помощью ползунка или поля ввода задают величину смещения по оси X.
Shift in Y (Смещение по оси Y)	С помощью ползунка или поля ввода задают величину смещения по оси Y.
Shift in Z (Смещение по оси Z)	С помощью ползунка или поля ввода задают величину смещения по оси Z.

5.9.4.10 Ортогональная проекция

С помощью метода Orthogonal Projection (Ортогональная проекция) из трехмерных изображений можно извлекать определенные части. Для этого используются три возможные плоскости проекции: фронтальная — в направлении осей X и Y, сагиттальная — в направлении осей Y и Z, поперечная — в направлении осей X и Z. Доступны разные методы проецирования; общим в них является то, что пиксели анализируются наблюдателем вдоль воображаемого луча проекции. Также можно определить толщину плоскостей проекции и, следовательно, глубину проекции.

Параметры

Параметр	Описание
Projection Plane (Плоскость проекции)	Здесь выбирается тип плоскости проекции (фронтальная (X/Y), поперечная (X/Z), сагиттальная (Y/Z)).

Метод

- **Maximum (Максимальный)** Используется самый яркий пиксель вдоль луча проекции.
- **Minimum (Минимальный)** Используется самый темный пиксель вдоль луча проекции.
- **Average (Средний)** Рассчитывается среднее значение всех пикселей вдоль луча проекции.
- **Weighted average (Средневзвешенное)** Этот метод используется при вычислении увеличенной глубины резкости. Здесь предпочтительны структуры с улучшенной поперечной резкостью луча проекции. Выходное изображение содержит более выразительные детали.
- **Standard deviation (Стандартное отклонение)** Рассчитывает стандартное отклонение значений серого тона пикселя вдоль луча проекции.

Параметр	Описание
Start position (Начальная позиция)	Здесь устанавливается начальная позиция плоскости проекции (в пикселях или позициях серии срезов по оси Z в зависимости от выбранной плоскости проекции). Максимальный диапазон устанавливается автоматически в зависимости от размера входного изображения.
Thickness (Толщина)	Здесь регулируется толщина секущей плоскости (в пикселях или сериях срезов по оси Z в зависимости от выбранной плоскости проекции). Максимальный диапазон устанавливается автоматически в зависимости от размера входного изображения.

5.9.4.11 Shift (Смещение)

Метод Shift (Смещение) позволяет смещать содержимое изображения в направлении 3 осей: X, Y и Z. Для настройки смещения воспользуйтесь соответствующими ползунками под инструментом **Parameters** (Параметры).

5.9.4.12 Цветокодированная проекция

Функция Color-coded projection (Цветокодированная проекция) создает проекционное изображение с максимальной интенсивностью вдоль Z-измерения или измерения времени многомерного массива данных. Вместо использования цветов, назначенных каналам, эта функция отображает позиции по оси Z или во времени с помощью градиента цвета.

Параметры

Параметр	Описание
Palette (Палитра)	Здесь выбирается цветовой шаблон проекции.
ROI (Область интереса)	Здесь задается диапазон измерения (выбранного ниже), который используется для создания проекции.
Dimension (Измерение)	Здесь выбирается направление проекции: вдоль прямой времени (T) или вдоль оси Z (Z). Отображаются только измерения, доступные в вашем наборе данных.

5.9.4.13 Уменьшение образца

С помощью функции Sample Down (Уменьшение образца) можно уменьшать размер изображения. Уменьшение производится вместе с усреднением соответствующего измерения. Если заданное значение параметра равно «1», то соответствующее измерение не изменяется.

Параметры

Параметр	Описание
Average Pixels X (Усреднение пикселей по оси X)	Здесь указывается количество пикселей, усредняемых в поперечном измерении по оси X для вычисления выходного изображения. Размер выходного изображения уменьшается на этот коэффициент.

Параметр	Описание
Average Pixels Y (Усреднение пикселей по оси Y)	Здесь указывается количество пикселей, усредняемых в поперечном измерении по оси Y для вычисления выходного изображения. Размер выходного изображения уменьшается на этот коэффициент.
Third Dimension (Трехмерность)	Если входное изображение имеет третье измерение, здесь можно задать параметр для изменения его размера. ■ Z (срезы изображения серии срезов по оси Z), ■ T (временные точки временной серии), ■ C (Каналы) или ■ H (Фазы). ■ Если выбрана функция 2D Slices (двухмерные срезы), размер третьего измерения не изменяется.

5.9.4.14 Выравнивание каналов (расширенное)

С помощью метода Channel Alignment (Выравнивание каналов) можно безошибочно автоматически выравнивать отдельные каналы многоканального изображения относительно друг друга.

Параметры

Параметр	Описание
Load transformation (Загрузить преобразование)	Если параметр активирован: загружает результат предыдущего преобразования. Нажмите кнопку  и выберите соответствующий файл *.xml.
Save transformation (Сохранить преобразование)	Если параметр активирован: результат процесса преобразования сохраняется в файле *.xml для последующего использования.

Параметр	Описание
Registration Method (Метод регистрации)	Здесь можно выбрать метод (или комбинацию методов) для выравнивания изображений.
– Translation (Перемещение)	Соседние срезы серии срезов по оси Z смещаются относительно друг друга в направлении X и Y.
– Rotation (Вращение)	Соседние срезы серии срезов по оси Z вращаются относительно друг друга.
– Iso Scaling (Масштабирование по ISO)	Увеличение регулируется от среза к срезу.
– Skew Scaling (Масштабирование наклона)	Корректируется наклон/искривление соседних срезов серии срезов по оси Z.

Параметр	Описание
➤ Affine (Аффинное преобразование)	Соседние срезы изображения серии срезов по оси Z смещаются в направлении X и Y и вращаются, увеличение регулируется от среза к срезу.

Приведенные ниже параметры отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Параметр	Описание
Quality (Качество)	Здесь можно выбрать уровень качества, обеспечиваемый функцией.
– Low (Низкое)	Высокая скорость с низким качеством изображения.
– Medium (Среднее)	Высокая скорость со средним качеством изображения.
– High (Высокое)	Низкая скорость с высоким качеством изображения.
– Highest (Наивысшее)	Самая низкая скорость с наивысшим качеством изображения.
Interpolation (Интерполяция)	Здесь можно выбрать метод выполнения интерполяции: расчет пикселя из нескольких отдельных пикселей.
– Nearest Neighbor (Ближайший сосед)	Выходному пикселю присваивается значение серого цвета входного пикселя, расположенного рядом с ним.
– Linear (Линейное комбинирование)	Выходному пикселю присваивается значение серого, полученное путем линейного комбинирования входных пикселей, расположенных рядом с ним.
– Cubic (Кубический)	Выходному пикселю присваивается значение серого, равное значению полиномиальной функции от входных пикселей, расположенных рядом с ним.

5.9.5 Морфологические преобразования

Морфологические функции применяют структурные элементы к изображениям. Структурный элемент подобен трафарету. Если на изображение помещен трафарет, то через его отверстия видны только некоторые пиксели. Выполняется сбор значений серого тона этих пикселей и производится вычисление внешнего значения серого (минимальное или максимальное).

Внешнее значение серого присваивается пикселю результирующего изображения, которое соответствует месту размещения трафарета на входном изображении. Если трафарет размещается на всех позициях входного изображения, внешнее значение серого присваивается всем пикселям результирующего изображения. Если требуются структурные элементы большего размера, то небольшие элементы подвергаются итерации с помощью параметра **Count** (Счетчик).

Доступны следующие функции:

Функция	Описание
Erode (Эрозия)	Сжимает яркие структуры на более темном фоне входного изображения. Тонкие связи между структурами и собственно малоразмерные структуры исчезают.
Dilate (Расширение)	Расширяет яркие структуры на более темном фоне входного изображения. Небольшие промежутки между структурами заполняются, и эти структуры объединяются.
Open (Размыкание)	Яркие структуры на более темном фоне входного изображения сначала размываются (класс размытия), затем расширяются (класс расширения) на аналогичное число шагов. Таким образом, яркие структуры на более темном фоне разделяются, но практически сохраняют свой размер.
Close (Закреть)	Яркие структуры на более темном фоне входного изображения сначала расширяются (класс расширения), затем размываются (класс размытия) на аналогичное число шагов. Таким образом, яркие структуры на более темном фоне соединяются, но сохраняют практически свой размер.
Top Hat (White) (Цилиндр (Белый))	Вычитает разомкнутое изображение (класс размыкания) из исходного. Яркие структуры, сглаженные размыканием, усиливаются на полученном изображении. Это подобно цилиндру (размер равен операции размыкания), помещенному над структурой и сохраняющему только ту часть, которая попала внутрь.
Top Hat (Black) (Цилиндр (Черный))	Вычитает замкнутое изображение (класс замыкания) из исходного. Темные структуры, сглаженные замыканием, усиливаются на полученном изображении. Это подобно цилиндру (размер равен операции замыкания), помещенному под структурой с темной стороны и сохраняющему только ту часть, которая попала внутрь.
Gradient (Градиент)	Вычитает изображение после эрозии из изображения после расширения (класс расширения и класс эрозии). Поскольку точка на изображении после расширения имеет максимальное значение серого, а соответствующая точка на изображении после эрозии имеет минимальное значение серого, следовательно, внутри структурного элемента для областей с постоянными значениями серого разность равна нулю и увеличивается на более крутых склонах или скатах.
Watersheds (Водоразделы)	Определяет барьеры между водосборными областями локальных минимумов на входном изображении с градацией серого. Локальный минимум представляет собой плато точек, из которых невозможно достигнуть точки нижнего значения серого, не достигнув сначала верхних значений серого. Водосборная область локального минимума представляет собой связанный элемент, содержащий этот

Функция	Описание
	минимум и все точки, расположенные по направлению стока. Нисходящий поток — путь точек, вдоль которого значения серого неизменно уменьшаются. Таким образом, все водосборные области локальных минимумов расширяются до столкновения с другими водосборными областями. В этих точках формируются барьеры (водоразделы). Выходное изображение бинарно и содержит все водоразделы. Если установлен флаг Basins (Водосборные области), на выходном изображении водосборные области отображаются в виде уникально маркированных связанных компонентов без разграничительных линий.
Grey Reconstruction (Восстановление серого)	Работает, главным образом, как функция повторного расширения изображения (класс расширения), но в качестве второго входного изображения используется ограничительное изображение. После каждого расширения вычисляется пиксельный минимум расширенного и ограничительного изображений, после чего выдается следующее для расширения изображение. Вычисление прекращается автоматически, когда все расширенные пиксели превышают соответствующие пиксели ограничительного изображения.

Параметры

Параметр	Описание
Structure Element (Структурный элемент)	Здесь выбирается требуемый структурный элемент. Доступны следующие элементы: Horizontal (Горизонтальный), Diagonal 45° (Диагональный при 45°), Vertical (Вертикальный), Diagonal 135° (Диагональный при 135°), Cross (Перекрещивающийся), Square (Прямоугольный), Octagon (Восьмиугольный)
Count (Счетчик)	Здесь задается количество повторов для определения размера структурного элемента.
Binary (Бинарный)	Доступен только для функций Erode (Эрозия) , Dilate (Расширение) , Open (Размыкание) и Close (Замыкание) . Флажок установлен: создается бинарное изображение. Отличается быстрым вычислением.

5.9.6 Усиление резкости

5.9.6.1 Увеличенная глубина резкости

С помощью метода Extended Depth of Focus (Увеличенная глубина резкости) резкие области отдельных срезов изображения серии срезов по оси Z объединяются для формирования целого изображения. Это позволяет получить глубину резкости значительно больше, чем полученная с помощью микроскопа.

Параметры

Параметр	Описание
Метод	

Параметр	Описание
– Wavelets (Волны)	Волновое преобразование используется для выявления самых резких областей на изображениях.
– Contrast (Контрастность)	Величиной данного метода является разность самого яркого и самого темного пикселя в «ядре».
– Maximum Projection (Максимальная проекция)	В первую очередь формируются изображения с самыми яркими и самыми темными пикселями. Из них в качестве результирующего изображения используется изображение с наибольшей дисперсией.
– Variance (Дисперсия)	Для данного метода дисперсия значений пикселей рассчитывается внутри «ядра».
Выравнивание серии срезов по оси Z	Здесь указывается, следует ли выравнивать изображения серии срезов по оси Z перед вычислением, а также необходимый уровень качества. Если требуется получить изображения с помощью стереомикроскопа, изображения смещаются относительно друг друга. Подобное смещение может быть скорректировано. Чем точнее выравнивание, тем дольше вычисление. Если требуется получить изображения с помощью биологического микроскопа, выберите опцию No Alignment (Без выравнивания).
– No Alignment (Без выравнивания)	Изображение серии срезов по оси Z не выравнивается перед выполнением вычисления. Этот параметр следует выбирать в том случае, если изображения серии срезов по оси Z не были получены с помощью стереомикроскопа.
– Normal (Нормальное)	Высокая скорость с нормальным качеством изображения.
– High (Высокое)	Низкая скорость с высоким качеством изображения.
– Highest (Наивысшее)	Самая низкая скорость с наивысшим качеством изображения.
– Wavelets (Волны)	Волновое преобразование используется для выявления самых резких областей на изображениях.
– Contrast (Контрастность)	Величиной данного метода является разность самого яркого и самого темного пикселя в «ядре».
– Maximum Projection (Максимальная проекция)	В первую очередь формируются изображения с самыми яркими и самыми темными пикселями. Из них в качестве результирующего изображения используется изображение с наибольшей дисперсией.
– Variance (Дисперсия)	Для данного метода дисперсия значений пикселей рассчитывается внутри «ядра».

5.9.6.2

Очерчивание

Метод Delineate (Очерчивание) выделяет границы отдельных областей изображения. Он устраняет эффект ореола и влияет только на границы.

Параметры

Параметр	Описание
Threshold (Пороговая величина)	Введите пороговую величину для определения границ с помощью ползунка или счетчика/поля ввода. Пороговая величина должна примерно соответствовать разности значений серого между объектами и фоном.

Параметр	Описание
Size (Размер)	Введите размер фильтра распознавания границ с помощью ползунка или счетчика/поля ввода. Величина должна соответствовать размеру переходной области между объектами и фоном.

5.9.6.3 Выделение контуров

Метод Enhance Contour (Выделение контуров) позволяет выделять контуры изображения и подчеркивать области, в которых изменяются значения серого. Эта функция пригодна для наглядного выделения мелкоразмерных структур на изображении.

Параметры

Параметр	Описание
Strength (Степень)	Здесь указывается коэффициент усиления выделения границ.
Normalization (Нормализация)	Здесь выбирается метод обработки значений серого/цвета, не входящих в диапазон значений.
– Clip (Отсечение)	Уровням серого, не входящим в указанный диапазон насыщенности серого, автоматически присваивается наименьшее/наибольшее значение серого (черный или белый). Этот эффект соответствует недозэкспонированию или переэкспонированию. В определенных условиях возможна потеря данных.
– Automatic (Автоматически)	Автоматически нормализует уровни серого до доступного диапазона насыщенности серого.
– Wrap (Перенос)	Если полученный результат больше максимального значения серого на изображении, то из него вычитается «максимальное значение серого +1».
– Shift (Смещение)	Нормализует выходное изображение до величины равной «значение серого + максимальное значение серого/2».
– Absolute (Абсолютный)	Преобразует отрицательные значения серого в положительные.
– Strength (Степень)	Здесь указывается коэффициент усиления выделения границ.

5.9.6.4 Нерезкое маскирование

С помощью метода Unsharp Mask (Нерезкое маскирование) можно увеличивать резкость структур изображения и, соответственно, получать изображение, насыщенное деталями. Эта функция позволяет целенаправленно усиливать контраст малоразмерных структур и границ.

Параметры

Параметр	Описание
Strength (Степень)	Введите степень нерезкого маскирования (Unsharp Masking) с помощью ползунка или счетчика/поля ввода. Чем выше выбранное значение, тем больше степень усиления малоразмерных структур.
Ползунок Radius (Радиус)	Введите радиус с помощью ползунка или счетчика/поля ввода. Радиусом определяется ширина структур, резкость которых необходимо повысить. Малый радиус повышает резкость малоразмерных деталей. При слишком большом радиусе, на границах может возникать эффект ореола.
Color Mode (Цветовой режим)	В выпадающем списке выберите желаемый цветовой режим.
– RGB	Вычисляет резкость для каждого цветового канала в отдельности. Может измениться цветовая насыщенность и цвет структур, а также возникнуть цветовой шум.
– Luminance (Яркость)	Рассчитывает резкость только на основе установленного сигнала яркости. В этом режиме не проявляется цветовой шум и изменение насыщенности цвета производится должным образом.
Threshold Mode (Пороговый режим)	Из выпадающего списка можно выбрать настройку для расчета границы между областями изображения с усиленной резкостью. Режим эффективен, только если параметр Lower Threshold Value (Нижнее пороговое значение) не равен «0» или параметр Upper Threshold Value (Верхнее пороговое значение) не равен «100».
– None (Отсутствует)	Настройки отсутствуют.
– Binary (Бинарный)	Переход выполняется в соответствии с пороговыми значениями.
– Linear (Линейное комбинирование)	Рассчитывает линейный курс.
Threshold Low (Нижний порог)	Задайте нижнее пороговое значение с помощью ползунка или счетчика/поля ввода. Этим параметром определяется нижний предел, начиная с которого изменяются существующие контрастные структуры.
Threshold High (Верхний порог)	Задайте верхнее пороговое значение с помощью ползунка или счетчика/поля ввода. Благодаря этому предотвращается дальнейшее нежелательное повышение существующего высокого контраста.
Clip To Valid Bits (Отсечение до битов достоверности)	Флажок установлен: диапазон значений серого/цвета выходного изображения регулируется до диапазона значений входного изображения.

5.9.7 Сглаживание

5.9.7.1 Медиана

Метод Median (Медиана) позволяет уменьшить шум изображения. Каждый пиксель замещается медианой соседних пикселей. Размер области рассматриваемых соседних пикселей определяется квадратной матрицей фильтров. Преобразуется центральный пиксель матрицы фильтров. Медиана — средняя величина значений серого тона пикселя и соседних пикселей, упорядоченных в порядке возрастания.

Параметр

Параметр	Описание
Kernel Size (Размер ядра)	Здесь можно настроить размер матрицы фильтров. В режиме Show All (Показать все) можно скорректировать параметры в направлении осей X, Y и Z по отдельности.

5.9.7.2 Sigma (Сигма)

Метод Sigma (Сигма) позволяет уменьшать шум изображения. Каждый пиксель замещается усредненным значением соседних пикселей. Размер области рассматриваемых соседних пикселей определяется квадратной матрицей фильтров. Преобразуется центральный пиксель матрицы фильтров. Для вычисления среднего значения учитываются только значения серого, которые находятся в пределах указанного диапазона (+/- сигма) вблизи значения серого центрального пикселя. В результате мелкогабаритные структуры объектов не размываются; корректируются только значения серого в соответствующих областях изображения.

Параметр

Параметр	Описание
Sigma (Сигма)	Значение сигмы вводится с помощью ползунка или поля ввода.

Параметр	Описание
Kernel Size (Размер ядра)	Здесь можно настроить размер матрицы фильтров. В режиме Show All (Показать все) можно скорректировать параметры в направлении осей X, Y и Z по отдельности.

5.9.7.3 Низкочастотная фильтрация

Метод Median (Медиана) позволяет уменьшить шум изображения. Каждый пиксель замещается усредненным значением соседних пикселей. Размер области рассматриваемых соседних пикселей определяется квадратной матрицей фильтров. Преобразуется центральный пиксель матрицы фильтров.

Параметр

Параметр

Count (Счетчик)

Описание

Число повторений вводится с помощью ползунка или поля ввода. Функция может применяться к результату фильтрации несколько раз подряд. Это соответствующим образом усиливает эффект.

Параметр

Kernel Size (Размер ядра)

Описание

Здесь можно настроить размер матрицы фильтров. В режиме **Show All** (Показать все) можно скорректировать параметры в направлении осей X, Y и Z по отдельности.

5.9.7.4 Биномиальный фильтр

Метод Median (Медиана) позволяет уменьшить шум изображения. Каждый пиксель замещается средневзвешенным значением соседних пикселей. Коэффициенты взвешивания вычисляются из биномиальных коэффициентов в зависимости от размера фильтра. Биномиальный фильтр очень схож по своему действию с фильтром Гаусса.

Параметр

Параметр

Kernel Size (Размер ядра)

Описание

Здесь можно настроить размер матрицы фильтров. В режиме **Show All** (Показать все) можно скорректировать параметры в направлении осей X, Y и Z по отдельности.

5.9.7.5 Gauss (Гаусс)

Метод Median (Медиана) позволяет уменьшить шум изображения. Каждый пиксель замещается средневзвешенным значением соседних пикселей. Соседние пиксели взвешиваются в соответствии с двухмерной гауссовой кривой.

Параметр

Параметр

Sigma (Сигма)

Описание

Здесь можно задать значение сигмы. В режиме **Show All** (Показать все) можно скорректировать параметры в направлении осей X, Y и Z по отдельности.

5.9.7.6 Однопиксельный фильтр

С помощью функции Single Pixel Filter (Однопиксельный фильтр) можно устранить однопиксельные явления наподобие тех, которые возникают в случае формирования индуцированного заряда устройствами с электронным увеличением, снабженными ПЗС-матрицей, и шума радиотелеграфного сигнала КМОП-датчиками. Однопиксельный фильтр анализирует входное изображение и устраняет пиксели, чья интенсивность сильно отличается от средней интенсивности соседних пикселей.

Фильтр анализирует входное изображение и удаляет пиксели, которые «намного» больше медианы соседних пикселей. Принцип работы алгоритма:

- 1 Сортировка всех 9 пикселей по окрестности 3x3.
- 2 Определение медианы интенсивности отсортированных пикселей.
- 3 Умножение медианы на пороговый коэффициент для получения предельного значения.
- 4 Если интенсивность центрального пикселя превышает полученный предел, происходит замена пикселя на медиану.

Большие пороговые коэффициенты повышают предельное значение интенсивности и сокращают число заменяемых пикселей. Величина «1,5», установленная по умолчанию, является произвольной, но, видимо, устраняет индуцированный зарядами шум из изображений, полученных с помощью камер с электронным увеличением. Этот фильтр также можно использовать для удаления горячих пикселей с изображений.

Параметр

Параметр	Описание
Threshold (Пороговая величина)	Здесь регулируется пороговое значение.

5.9.7.7 Упорядоченность

Метод Rank (Упорядоченность) выполняет упорядоченную фильтрацию. Уровни серого на результирующем изображении определяются вычислением ранжирования в пределах **размера матрицы фильтра** в направлениях X и Y. Четному числу автоматически присваивается следующее нечетное число. Нижнее **значение очередности** расширяет темные области, верхнее значение увеличивает яркие области изображения.

5.9.7.8 Устранение шума

Метод Denoise (Устранение шума) устраняет шум изображений с помощью вещественных или комплексных волновых преобразований. Процесс устранения шума на изображении можно разделить на три этапа:

- Расчет волнового преобразования зашумленного изображения. Волновое преобразование вычисляется по методу вещественных волн (**Real Wavelet**) и комплексных волн (**Complex Wavelet**).
- Изменение коэффициента зашумленных волн. Это выполняется с помощью двумерной усадки с оценкой локальной дисперсии (пороговая фильтрация). [Bivariate Shrinkage with Local Variance Estimator, Levent Sendur and Ivan W. Selesnick, IEEE Signal Processing Letters, Vol. 9, No. 12, December 2002]
- Вычисление обратного преобразования с использованием пороговых коэффициентов.

Параметры

Параметр	Описание
Метод	
- Complex wavelets (Комплексные волновые преобразования) - Real wavelets (Вещественные волновые преобразования)	Метод дуального разложения с применением комплексного волнового преобразования обеспечивает лучшие результаты в связи с тем, что он является почти однонаправленным и выделяет большее число направленных поддиапазонов. Полученные результаты будут меньше подвержены блочным артефактам. Однако этот метод в вычислительном отношении более интенсивен и, следовательно, занимает много времени. В вещественном волновом преобразовании учитываются только три стороны (XYZ) и, следовательно, этот метод быстрее. Однако в результате могут отображаться блочные артефакты.
Strength (Степень)	Здесь регулируется степень применения функции.

5.9.8 Временные серии

5.9.8.1 Выравнивание временных точек

Используя функцию Time Alignment (Выравнивание временных точек), можно автоматически выравнивать отдельные временные точки для компенсации смещений между временными точками.

! Примечание

Для работы функции выравнивания необходимо наличие неподвижных и четко различимых структур объектов во временной серии. Также при выравнивании серии срезов по оси Z по прошествии некоторого времени следует обязательно использовать Z-измерение из выпадающего списка Third Dimension (Трехмерность). В противном случае каждая Z-плоскость будет выравниваться по прошествии некоторого времени, что может привести к артефактам в серии срезов по оси Z.

Параметр**Параметр****Описание****Registration Method
(Метод регистрации)**

Здесь можно выбрать метод (или комбинацию методов) для выравнивания изображений.

- Translation (Перемещение) Соседние срезы серии срезов по оси Z смещаются относительно друг друга в направлении X и Y.
- Rotation (Вращение) Соседние срезы серии срезов по оси Z вращаются относительно друг друга.
- Iso Scaling (Масштабирование по ISO) Увеличение регулируется от среза к срезу.
- Skew Scaling (Масштабирование наклона) Корректируется наклон/искривление соседних срезов серии срезов по оси Z.
- Affine (Аффинное преобразование) Соседние срезы изображения серии срезов по оси Z смещаются в направлении X и Y и вращаются, увеличение регулируется от среза к срезу.

Приведенные ниже параметры отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Параметр**Описание****Quality (Качество)**

Здесь можно выбрать уровень качества, обеспечиваемый функцией.

- Low (Низкое) Высокая скорость с низким качеством изображения.
- Medium (Среднее) Высокая скорость со средним качеством изображения.
- High (Высокое) Низкая скорость с высоким качеством изображения.
- Highest (Наивысшее) Самая низкая скорость с наивысшим качеством изображения.

**Interpolation
(Интерполяция)**

Здесь можно выбрать метод выполнения интерполяции: расчет пикселя из нескольких отдельных пикселей.

- Nearest Neighbor (Ближайший сосед) Выходному пикселю присваивается значение серого цвета входного пикселя, расположенного рядом с ним.
- Linear (Линейное комбинирование) Выходному пикселю присваивается значение серого, полученное путем линейного комбинирования входных пикселей, расположенных рядом с ним.
- Cubic (Кубический) Выходному пикселю присваивается значение серого, равное значению полиномиальной функции от входных пикселей, расположенных рядом с ним.

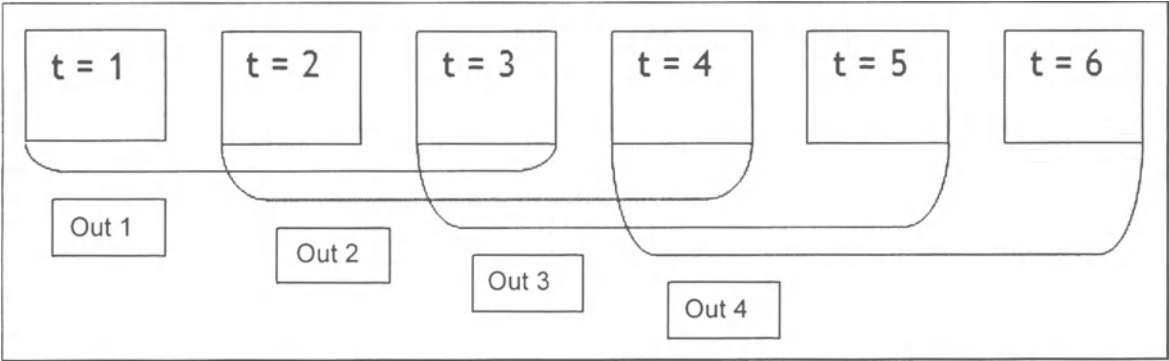
5.9.8.2 Скользящее среднее

С помощью функции Gliding Average (Скользящее среднее) сглаживающий эффект достигается усреднением шума. Функция рассчитывает скользящее среднее изображения временной серии с учетом определенного числа временных точек по следующей схеме:

Входное изображение: SizeT = 6

Средняя длина: AvL = 3

Выходное изображение: SizeT(выходное) = SizeT – AvL + 1 = 6 - 3 + 1 = 4



Параметр	
Параметр	Описание
Average Length (Средняя длина)	Определяет количество изображений, используемое для определения среднего значения. Максимальное значение коррелирует с числом временным точек.
Scaling Factor (Коэффициент масштабирования)	Предустановленное значение — «1». К изображениям с низкой интенсивностью можно применять значения больше 1. В этом случае все значения пикселей умножаются на указанный коэффициент.

5.9.8.3 Временной дифференциал

Функция Time Differential (Временной дифференциал) рассчитывает дифференциал первого и второго порядка изображений покадровой съемки по следующей формуле и схеме:

Дифференциал первого порядка:

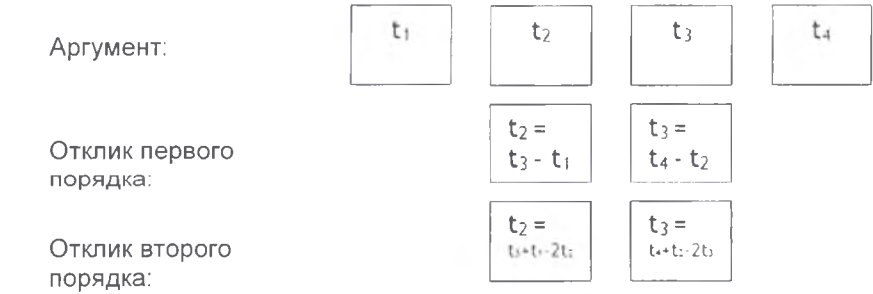
Отклик[t] = аргумент[t+1] – аргумент[t-1]

-> разность последующих пикселей не вычисляется, таким образом, выходное изображение не является направленным. Дифференциал первого порядка представляет собой «скорость» (**Speed**).

Дифференциал второго порядка:

Отклик[t] = аргумент[t-1] + аргумент[t+1] – 2 x аргумент[t]

-> Дифференциал второго порядка также известен как «лапласовский» и представляет собой «ускорение» (**Acceleration**). Дифференциал второго порядка усиливает мелкоразмерные детали на изображении (в том числе шум). Сглаживающее ядро помогает уменьшить этот шум.



Параметр

Параметр

Описание

Derivative
(Производная)

Здесь можно указать, следует ли вычислять дифференциал первого (скорость) или второго порядка (ускорение).

Smoothing
(Сглаживание)

Обозначает итеративный биномиальный сглаживающий фильтр. Этот фильтр уменьшает шум на дифференциальных изображениях, сохраняя максимумы и минимумы. Диапазон значений: 0–50

Normalization
(Нормализация)

- Определяет метод обработки отрицательных значений, полученных в ходе вычисления.
- **Clip** (Отсечение): отрицательные значения заменяются нулем (0).
 - **Absolute** (Абсолютный): отрицательные значения преобразуются в положительные.

5.9.8.4 Объединение изображений временной серии

Функция Time Concatenation (Объединение изображений временной серии) объединяет два изображения для формирования нового изображения временной серии. Выберите необходимые изображения в инструменте **Input** (Входное изображение) и нажмите кнопку **Apply** (Применить).

i Примечание

Данная функция вставит изображения с изменяющимися измерениями в разные блоки. На результирующем графическом документе появится ползунок **Block** (Блок) в блоке окна **Dimensions** (Измерения).

5.9.8.5 Кимограф

Метод Кymograph (Кимограф) создает кимограф. Входное изображение должно быть изображением временной серии, содержащим незаблокированный графический элемент (например, линию, стрелку, кривую или многоугольник).

Параметр**Параметр****Описание****Graphic tool**
(Графический инструмент)

Здесь отображаются все графические инструменты, которые могут быть использованы. Выберите из списка желаемый инструмент. Обратите внимание, что инструмент также необходимо выбрать на изображении.

Width (Ширина)

Здесь регулируется ширина графических инструментов (в пикселях). Этот инструмент определяет пиксели, которые будут использованы для вычисления среднего значения серого по ширине.

5.9.8.6**Сшивка изображений временной серии**

С помощью функции Time Stitching (Сшивка изображений временной серии) сшиваются разнородные **CZI**-изображения для создания нового отдельного однородного изображения временной серии, содержащего все измерения и временные точки, расположенные в правильном порядке. Эта функция отличается от функции **Time Concatenate** (Объединение изображений временной серии), которая просто присоединяет одно изображение покадровой съемки к концу другого без учета соответствующего хронологического порядка или содержимого канала.

Недостающие изображения могут быть компенсированы либо копиями предыдущего допустимого изображения в серии, либо черными изображениями.

При объединении временной серии с серией срезов по оси Z и временной серии без серии срезов по оси Z перед сшивкой изображений можно выбрать либо использование только центральной плоскости серии срезов по оси Z, либо создание проекции серии срезов по оси Z с увеличенной резкостью.

Параметр**Параметр****Описание****Fill Missing with**
(Заполнить отсутствующее)— Previous
(Предыдущее)

Заполняет недостающий индекс измерения копией последнего используемого изображения из этого индекса.

— Black (Черное)

Заполняет индекс недостающего измерения черным изображением.

Z-Stack (Серия срезов по оси Z)— Collapse (EDF)
(Свернуть (EDF))

Уменьшает серию срезов по оси Z с увеличенной глубиной резкости до отдельного плоского изображения, которое затем присоединяется к выходному.

— Collapse (Center Plane)
(Свернуть (Центральная плоскость))

Используется только центральная плоскость из серии срезов по оси Z для выходного изображения.

— Expand
(Развернуть)Функция в неизменном виде копирует серию срезов по оси Z в выходное изображение, заполняет недостающие индексы в соответствии с параметром выпадающего списка **Fill Missing with** (Заполнить отсутствующее).

5.9.9 Арифметические преобразования

5.9.9.1 Сложение

Функция Add (Сложение) попиксельно складывает два изображения (**Input1** и **Input2**) и генерирует **выходное** изображение. Обратите внимание, что полученное значение серого может превышать максимальное значение серого на изображении.

Параметр

Параметр	Описание
Normalization (Нормализация)	Доступность опций, представленных в списке, зависит от выбранной функции обработки изображения.
– Automatic (Автоматически)	Автоматическая нормализация значений серого до доступного диапазона насыщенности серого.
– Clip (Отсечение)	Уровням серого, не входящим в указанный диапазон насыщенности серого, автоматически присваивается наименьшее/наибольшее значение серого (черный или белый). Этот эффект соответствует недоэкспонированию или переэкспонированию. Это означает, что в некоторых случаях происходит потеря информации.
– Shift (Смещение)	Нормализует выходное изображение до величины равной «значение серого + максимальное значение серого/2».
– Wrap (Перенос)	Если полученное значение больше максимального значения серого на изображении, то из него вычитается «максимальное значение серого +1».

5.9.9.2 Прибавление константы

Функция Add Constant (Прибавление константы) прибавляет коэффициент слагаемого (**Addend**) к каждому пикселю **входного** изображения и генерирует **выходное** изображение.

Для эффективной работы с этой функцией значения пикселей входного изображения должны быть представлены в виде чисел с плавающей точкой. Если используются 8-, 16-, 24-, и 48-битные входные изображения, то выходные изображения будут аналогичного типа, т. е. выходное значение будет ограничено целочисленным значением. Отрицательные значения округляются до нуля (0); значения, превышающие максимальное значение серого, округляются до максимально возможного значения серого.

Параметр

Параметр	Описание
Addend (Слагаемое)	Здесь определяется слагаемое.

5.9.9.3 Вычитание

Функция Subtract (Вычитание) попиксельно вычитает два изображения (**Input1** и **Input2**) и генерирует **выходное** изображение. Обратите внимание, что полученное значение серого может быть меньше нуля (0).

Параметр

Параметр	Описание
Normalization (Нормализация)	Доступность опций, представленных в списке, зависит от выбранной функции обработки изображения.
– Automatic (Автоматически)	Автоматическая нормализация значений серого до доступного диапазона насыщенности серого.
– Clip (Отсечение)	Уровням серого, не входящим в указанный диапазон насыщенности серого, автоматически присваивается наименьшее/наибольшее значение серого (черный или белый). Этот эффект соответствует недозэкспонированию или переэкспонированию. Это означает, что в некоторых случаях происходит потеря информации.
– Shift (Смещение)	Нормализует выходное изображение до величины равной «значение серого + максимальное значение серого/2».
– Wrap (Перенос)	Если полученное значение больше максимального значения серого на изображении, то из него вычитается «максимальное значение серого +1».

5.9.9.4 Умножение

Функция Multiply (Умножение) попиксельно умножает два изображения (**Input1** и **Input2**) и генерирует выходное изображение.

Параметр

Параметр	Описание
Factor (Коэффициент)	Здесь устанавливается коэффициент масштабирования, на который делится результат умножения. С помощью этого коэффициента можно удерживать значения серого на выходном изображении в пределах диапазона от 0 до максимального значения серого. Значения, превышающие максимальное значение серого, в любом случае ограничиваются максимальным значением серого. Отрицательные значения заменяются нулем (0).

Диапазон значений: –20,000 ... +20,000

5.9.9.5 Умножение константы

Функция Multiply Constant (Умножение константы) умножает каждый пиксель **входного** изображения на регулируемый **коэффициент** и генерирует **выходное** изображение.

Для эффективной работы с этой функцией значения пикселей входного изображения должны быть представлены в виде чисел с плавающей точкой. Если используются 8-, 16-, 24-, и 48-битные входные изображения, то выходные изображения будут аналогичного типа, т. е. выходное значение будет ограничено целочисленным значением. Отрицательные значения округляются до нуля (0); значения, превышающие максимальное значение серого, округляются до максимально возможного значения серого.

Параметр

Параметр	Описание
Factor (Коэффициент)	Здесь устанавливается умножаемый коэффициент.

5.9.9.6 Деление

Функция Divide (Деление) попиксельно делит изображение **Input1** на **Input2** и генерирует **выходное** изображение.

Параметр

Параметр	Описание
Factor (Коэффициент)	Здесь устанавливается коэффициент масштабирования, на который умножается результат деления. С помощью этого коэффициента можно удерживать значения серого на выходном изображении в пределах диапазона от 0 до максимального значения серого. Значения, превышающие максимальное значение серого, в любом случае ограничиваются максимальным значением серого. Отрицательные значения заменяются нулем (0). Диапазон значений: -20,000 ... +20,000

5.9.9.7 Квадрат

Функция Square (Возведение в квадрат) попиксельно возводит в квадрат **входное** изображение и генерирует **выходное** изображение.

Для эффективной работы с этой функцией значения пикселей входного изображения должны быть представлены в виде чисел с плавающей точкой. Если используются 8-, 16-, 24-, и 48-битные входные изображения, то выходные изображения будут аналогичного типа, т. е. выходное значение будет ограничено целочисленным значением. Отрицательные значения округляются до нуля (0); значения, превышающие максимальное значение серого, округляются до максимально возможного значения серого.

5.9.9.8 Квадратный корень

Функция Square Root (Квадратный корень) попиксельно рассчитывает квадратный корень **входного** изображения и генерирует **выходное** изображение.

Для эффективной работы с этой функцией значения пикселей входного изображения должны быть представлены в виде чисел с плавающей точкой. Если используются 8-, 16-, 24-, и 48-битные входные изображения, то выходные изображения будут аналогичного типа, т. е. выходное значение будет ограничено целочисленным значением. Отрицательные значения округляются до нуля (0); значения, превышающие максимальное значение серого, округляются до максимально возможного значения серого.

5.9.9.9 Логарифмическая функция

Логарифмическая функция (Logarithm) попиксельно рассчитывает логарифмическую функцию **входного** изображения и генерирует **выходное** изображение.

Для эффективной работы с этой функцией значения пикселей входного изображения должны быть представлены в виде чисел с плавающей точкой. Если используются 8-, 16-, 24-, и 48-битные входные изображения, то выходные изображения будут аналогичного типа, т. е. выходное значение будет ограничено целочисленным значением. Отрицательные значения округляются до нуля (0); значения, превышающие максимальное значение серого, округляются до максимально возможного значения серого.

5.9.9.10 Экспоненциальная функция

Экспоненциальная функция (Exponential) попиксельно рассчитывает экспоненциальную функцию **входного** изображения и генерирует **выходное** изображение.

Для эффективной работы с этой функцией значения пикселей входного изображения должны быть представлены в виде чисел с плавающей точкой. Если используются 8-, 16-, 24-, и 48-битные входные изображения, то выходные изображения будут аналогичного типа, т. е. выходное значение будет ограничено целочисленным значением. Отрицательные значения округляются до нуля (0); значения, превышающие максимальное значение серого, округляются до максимально возможного значения серого.

5.9.9.11 Инвертирование

Функция Invert (Инвертирование) аддитивно инвертирует значения серого тона входного изображения на выходном изображении. Светлые пиксели становятся темнее и наоборот. Для определения выходного диапазона используется параметр **Operand** (Операнд). В этом случае выполняемое математическое действие имеет вид: значение серого выходного изображения = константа – значение серого входного изображения. Отрицательным значениям присваивается нулевое (0), а результатам, превышающим максимум, присваивается максимально возможное значение серого.

5.9.9.12 Обратная величина

Функция Reciprocal (Обратная величина) рассчитывает обратные величины значения серого тона входного изображения на выходном изображении. Светлые пиксели становятся темнее и наоборот. Для определения выходного диапазона используется параметр **Factor** (Коэффициент). В этом случае выполняемое математическое действие будет иметь вид: значение серого выходного изображения = коэффициент / значение серого входного изображения. Отрицательным значениям присваивается нулевое (0), а результатам, превышающим максимум, присваивается максимально возможное значение серого.

5.9.9.13 Average (Средний)

Функция Average (Среднее) попиксельно рассчитывает среднее двух изображений (**Input1** и **Input2**) и генерирует **выходное** изображение.

5.9.9.14 Объединение

Функция Combine (Объединение) рассчитывает линейную комбинацию двух изображений на основе пикселей.

Оба **входных** изображения сначала умножаются на установленный коэффициент, затем складываются. После этого можно настроить яркость **выходного** изображения. Комбинацию двух изображений можно использовать, например, для уменьшения шума. Это достигается путем получения нескольких изображений объекта и последующего их объединения.

Параметры

Параметр	Описание
Factor 1	Коэффициент взвешивания для входного изображения 1. Диапазон значений: -1,00 ... +1,00
Factor 2	Коэффициент взвешивания для входного изображения 2. Диапазон значений: -1,00 ... +1,00
Offset (Смещение)	Смещение между входными изображениями 1 и 2.

5.9.9.15 Minimum (Минимальный)

Функция Minimum (Минимум) попиксельно вычисляет максимальное значение двух изображений (**Input1** и **Input2**).

5.9.9.16 Maximum (Максимальный)

Функция Maximum (Максимум) попиксельно вычисляет минимальные значения двух изображений (**Input1** и **Input2**).

5.9.10 Сегментация

5.9.10.1 Threshold (Пороговая величина)

Функция Threshold (Пороговая величина) выполняет сегментацию на основе определения диапазона яркости (разделенного на цветовые каналы (красный, зеленый, синий)) для областей сегментирования. Все пиксели, чья насыщенность цветового тона находится в определенном цветовом диапазоне, отмечаются на результирующем изображении как региональные пиксели. Все пиксели, чья насыщенность цветового тона находится за определенным цветовым диапазоном, отмечаются как фоновые пиксели (черный).

На результирующем изображении региональным пикселям можно задать постоянное значение насыщенности цветового тона (белый) или оставлять их в неизменном виде. Если задать региональным пикселям постоянное значение (белый), в результате будет получено бинарное изображение, которое затем можно использовать как изображение маски для последующего автоматического измерения.

Параметры

Параметр	Описание
Level Low (Нижний уровень)	Определяет нижний порог яркости для сегментируемых регионов. Все пиксели, чьи значения серого находятся ниже этой пороговой величины, отмечаются как фоновые пиксели (черный).
Level High (Верхний уровень)	Определяет верхний порог яркости для сегментируемых регионов. Все пиксели, чьи значения серого находятся выше этой пороговой величины, отмечаются как фоновые пиксели (черный).

Приведенные ниже параметры отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Параметр	Описание
Create binary (Создать бинарное изображение)	Флажок установлен: результирующее изображение бинарно. Пикселям в пределах вычисленного диапазона уровня серого присваивается максимальное значение серого (белый), а пикселям за пределами вычисленного диапазона уровня серого присваивается 0. Флажок убран: результирующее изображение по типу аналогично входному. Пикселям в пределах вычисленного диапазона уровня серого присваивается исходное значение серого. Пикселям за пределами вычисленного диапазона уровня серого присваивается значение 0.
Invert result (Инвертировать результат)	Флажок установлен: инвертирует результат применения функции. Сегментированным областям будет присвоено значение 0, а всем остальным пикселям — значение серого/белого или значение серого/цвета входного изображения.

5.9.10.2**Порог (автоматический)**

Метод Threshold (auto) (Порог (автоматический)) выполняет автоматическую сегментацию значений серого. Функция рассчитывает два минимума в отдельных каналах на гистограмме насыщенности серого на входном изображении (**Input**) и использует их для сегментации.

Приведенные ниже параметры отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Параметр	Описание
Метод	
– Otsu (Метод Оцу)	
– Maximum (Максимальный)	
– Peak (Максимум)	
– Iso Data (ИСОМАД)	

Параметр	Описание
– Triangle Threshold (Порог треугольника) – Three Sigma Threshold (Порог трех сигм)	
Process tiles separately (Раздельная обработка мозаик)	
Параметры	
Параметр	Описание
Create binary (Создать бинарное изображение)	Флажок установлен: результирующее изображение бинарно. Пикселям в пределах вычисленного диапазона уровня серого присваивается максимальное значение серого (белый), а пикселям за пределами вычисленного диапазона уровня серого присваивается 0. Флажок убран: результирующее изображение по типу аналогично входному. Пикселям в пределах вычисленного диапазона уровня серого присваивается исходное значение серого. Пикселям за пределами вычисленного диапазона уровня серого присваивается значение 0.
Invert result (Инвертировать результат)	Флажок установлен: инвертирует результат применения функции. Сегментированным областям будет присвоено значение 0, а всем остальным пикселям — значение серого/белого или значение серого/цвета входного изображения.

5.9.10.3 Порог (динамический)

Метод Threshold (dynamic) (Порог (динамический)) выполняет адаптивную сегментацию значений серого. Эта процедура особенно хорошо подходит для сегментации малоразмерных структур на меняющемся фоне.

Функция изначально использует фильтр нижних частот и затем вычитает изображение, прошедшее низкочастотную фильтрацию, из входного изображения. Результат применения этой функции в основном зависит от размера матрицы фильтра: выберите меньшее значение параметра **Size** (Размер) для сегментации малоразмерных областей или областей с низким контрастом значений серого из фона. Выберите большее значение параметра **Size** (Размер) для сегментации больших областей из фона.

Параметры

Параметр	Описание
Kernel Size (Размер ядра)	Размер матрицы низкочастотного фильтра в направлениях X и Y симметрично вокруг рассматриваемого пикселя. Определяет степень сглаживающего эффекта. Поскольку затронутый пиксель находится в центре, то длина кромки матрицы фильтра всегда будет

Параметр	Описание
	нечетной. Если с помощью клавиатуры ввести четное число, это число изменится на следующее большее нечетное число.
Threshold (Пороговая величина)	Этой величиной определяется разность значений серого между определяемыми областями и фоном. Сегментируемым пикселям присваивается максимальное значение серого (белый), а остальным — 0.

Приведенные ниже параметры отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Параметр	Описание
Create binary (Создать бинарное изображение)	Флажок установлен: результирующее изображение бинарно. Пикселям в пределах вычисленного диапазона уровня серого присваивается максимальное значение серого (белый), а пикселям за пределами вычисленного диапазона уровня серого присваивается 0. Флажок убран: результирующее изображение по типу аналогично входному. Пикселям в пределах вычисленного диапазона уровня серого присваивается исходное значение серого. Пикселям за пределами вычисленного диапазона уровня серого присваивается значение 0.
Invert result (Инвертировать результат)	Флажок установлен: инвертирует результат применения функции. Сегментированным областям будет присвоено значение 0, а всем остальным пикселям — значение серого/белого или значение серого/цвета входного изображения.

5.9.10.4

Долины

Метод Valleys (Долины) обнаруживает темные линии на светлом фоне (долины значений серого) и контуры светлых областей.

Параметр

Параметр	Описание
Sigma (Сигма)	Степень сглаживания входного изображения перед обнаружением долин. Коэффициент сглаживания может влиять на чувствительность распознавания. При задании малого значения обнаруживается большое число долин. При задании большого значения обнаруживается меньшее число долин.
Threshold (Пороговая величина)	Кривая на максимуме/минимуме дна долины. В зависимости от настроек обнаруживаются либо только сильно выраженные долины, либо еще и слабо выраженные.

5.9.10.5 Кэнни

Функция Кэнни (Canny) обнаруживает границы изображения. Эта функция обнаруживает сравнительно толстые контуры по краям светлых областей.

Параметр

Параметр

Описание

Sigma (Сигма)

Степень сглаживания входного изображения перед обнаружением границ. В качестве сглаживающей функции используется фильтр Гаусса. Коэффициент сглаживания может влиять на чувствительность распознавания. При задании малого значения обнаруживается большое число границ. При задании большого значения обнаруживается малое число границ. Если заданное значение равно 0, сглаживание не производится.

Threshold (Пороговая величина)

Обнаруживаемая крутизна краев. Малые значения означают «плоские» края с широким участком перехода между областями. В этом случае обнаруживается большое число краев. При использовании больших значений обнаруживается малое количество краев, поскольку только крутые переходные области интерпретируются как края.

5.9.10.6 Мэпп

С помощью этого метода обнаруживаются границы или области на изображении. В отличие от методов "Valleys" ("Долины") и "Canny" ("Кэнни"), здесь фильтр Лапласа рассчитывается с последующим сглаживанием с помощью фильтра Гаусса, и обнаруживаются границы (Display Mode (Режим обнаружения) | Edges (Границы)) или области (Display Mode (Режим отображения) | Regions (Области)).

Параметр

Параметр

Описание

Sigma (Сигма)

Степень сглаживания входного изображения перед обнаружением границ или областей. В качестве сглаживающей функции используется фильтр Гаусса. Коэффициент сглаживания может влиять на чувствительность распознавания. При задании малого значения обнаруживается большое число границ. При задании большого значения обнаруживается малое число границ. Если заданное значение равно 0, сглаживание не производится.

Display Mode (Режим отображения)

- Границы Обнаруживает границы областей.
- Regions (Области) Обнаруживает области, а не только их границы.

5.9.11 Binary (Бинарный)**5.9.11.1 Заполнение отверстий**

С помощью метода Fill Holes (Заполнение отверстий) заполняются отверстия областей. Отверстия — это структуры со значением градации серого, равным нулю (0), которые полностью окружены пикселями со значением серого, равным нулю (0). Подразумевается, что области вне изображения — черного цвета. Черные зоны, которые касаются края изображения, сохраняются, даже если они обрамлены контуром.

5.9.11.2 Брак

Метод Scrap (Брак) удаляет области внутри определенного участка.

Параметр**Параметр****Описание**

Minimum Area
(Минимальная
площадь)

Здесь устанавливается минимальная площадь в пикселях.

Maximum Area
(Максимальная
площадь)

Здесь устанавливается максимальная площадь в пикселях.

Select in Range
(Выбор в диапазоне)

5.9.11.3 Маркирование областей

Функции Mark Regions (Маркирование областей) отмечает бинарные области входного изображения. Для каждой области входного изображения проводится проверка, определяющая, был ли установлен пиксель в маркерном изображении.

Параметр**Параметр****Описание**

**Select Marked (Выбор
маркированной
области)**

Флажок установлен: копирует маркированную область в выходное изображение.

Флажок убран: копирует немаркированную область в выходное изображение.

5.9.11.4 «И»

Метод And (И) выполняет вычисление побитового «И» для входных изображений (Input1 и Input2). Эта функция подходит для маскирования изображений. Все пиксели белого цвета на входном изображении 1 И входном изображении 2 становятся белыми на результирующем изображении. Пиксели белого цвета только на одном из двух входных изображений становятся черными.

5.9.11.5 «ИЛИ»

Метод Or (ИЛИ) выполняет вычисление побитового «ИЛИ» для входных изображений (**Input1** и **Input2**). Эта функция используется для объединения бинарных масок или областей. Все пиксели белого цвета на входном изображении 1 ИЛИ входном изображении 2 становятся белыми на результирующем изображении. Это означает, что все пиксели белого цвета на двух входных изображениях становятся белыми на результирующем изображении.

5.9.11.6 Исключающее «ИЛИ»

Метод Xor (Исключающее «ИЛИ») выполняет вычисление побитового исключающего «ИЛИ» для входных изображений (**Input1** и **Input2**). Эта функция используется для объединения бинарных масок или областей. Все пиксели белого цвета на входном изображении 1 или входном изображении 2 становятся белыми на результирующем изображении. Пиксели белого цвета на обоих входных изображениях становятся черными.

5.9.11.7 «НЕ»

Функция Not («НЕ») выполняет бинарную операцию «НЕ» на всех битах двоичного представления значения серого входного пикселя. 0-бит входного пикселя становится 1-бит соответствующего выходного пикселя, а 1-бит входного пикселя становится 0-бит выходного пикселя. На интегральных изображениях полученное выходное значение серого представляет собой разность максимально возможного значения серого минус входное значение серого, а на плавающих изображениях результаты являются неоднозначными из-за неоднородного плавающего формата.

5.9.11.8 Максимальная эрозия

Функция Ultimate Erode (Максимальная эрозия) аналогична «нормальной эрозии». Структуры на входном изображении уменьшаются. Тонкие связи между областями исчезают. Отличие этой функции от нормальной эрозии заключается в том, что структуры уменьшаются до их полного исчезновения на последующем этапе эрозии. С помощью эрозии рассматриваемому пикселю на результирующем изображении присваивается нулевое значение серого (черный). Для областей (пикселей) по краям изображения подразумевается, что пиксели вне изображения — белого цвета.

Параметр

Параметр	Описание
Structure Element (Структурный элемент)	Здесь выбирается предпочтительное направление морфологического изменения (т. е. Cross (перекрещивающееся), Diagonal (диагональное)).
Count (Счетчик)	Здесь устанавливается число повторений. Это означает, что функция применяется установленное число раз после получения результата фильтрации. Это соответствующим образом усиливает эффект.
Converge (Затухание)	Будучи активированной, функция автоматически повторяется до тех пор, пока все области не будут удалены на последующем этапе эрозии.

5.9.11.9 Дистанционное преобразование

С помощью метода Distance (Дистанционное преобразование) из бинарного изображения создается дистанционно-преобразованное изображение (дистанционная карта, дистанционное изображение). Евклидово расстояние до следующего фонового пикселя (значение серого 0) рассчитывается для каждого пикселя внутри белых областей бинарного изображения (входного изображения) и кодируется как значение серого. Светлые пиксели (верхние значения серого) означают большое расстояние до фона.

5.9.11.10 Утончение

Метод Thinning (Утончение) утончает объекты до линии толщиной в один пиксель.

Параметр

Параметр	Описание
Thinning Element (Элементы утончения)	Здесь выбирается необходимый метод утончения.
– Arcelli (Арчелли)	Выполняет утончение по методу Арчелли.
– Levaldi (Левиальди)	Выполняет утончение по методу Левиальди.
Count (Счетчик)	Задаёт число повторений. Это означает, что функция применяется установленное число раз после получения результата фильтрации. Это соответствующим образом усиливает эффект. Если число повторений равно «0», то функция автоматически повторяется до тех пор, пока все области не будут максимально утончены. Диапазон значений: 0...256.
Prune (Отсечение)	Отсекает концы утонченных линий.
Converge (Затухание)	Прекращает утончение, если дальнейшие изменения не возможны.
AxioVision Compatibility (Совместимость с AxioVision)	Выполняет функцию, как и в AxioVision для достижения идентичных результатов.

5.9.11.11 Экзоскелет

С помощью метода Exoskeleton (Экзоскелет) генерируется изображение с экзоскелетом зоны влияния областей. Анализируется фон **входного** изображения и определяется скелет зон влияния объектов. Затем это изображение сохраняется как бинарное во вкладке **Output image** (Выходное изображение).

5.9.11.12 Разделение

С помощью функции Separation (Разделение) можно попытаться автоматически разделить соприкасающиеся объекты, которые не удалось разделить сегментацией.

Параметр	
Параметр	Описание
Separation Mode (Режим разделения)	Здесь выбирается необходимый метод утончения.
— Arcelli (Арчелли)	Выполняет утончение по методу Арчелли.
— Levaldi (Левиальди)	Выполняет утончение по методу Левиальди.
Count (Счетчик)	

5.9.11.13 Маркировка изображения

С помощью функции Label Image (Маркировка изображения) каждому объекту бинарного изображения присваивается значение серого.

Параметры

Параметр	Описание
Label Background (Маркировка фона)	Флажок установлен: присваивает значения серого фоновым объектам с возможностью подключения 4. Флажок убран: присваивает значения серого фоновым объектам с возможностью подключения 8.

5.9.12 Служебные программы

5.9.12.1 Конвертация необработанных данных в ApoTome

Метод ApoTome RAW convert (Конвертация необработанных данных в ApoTome) принимает только необработанные данные ApoTome.

Здесь можно ввести настройки, аналогичные настройкам во вкладке **ApoTome** (опция просмотра изображений ApoTome).

Параметр

Описание параметров приводится во вкладке ApoTome. К RAW-данным ApoTome вы можете применить следующие методы коррекции:

- No correction (Без коррекции).
- Local bleaching (Локальное обесцвечивание).
- Global bleaching (Общее обесцвечивание).
- Phase errors (Фазовые погрешности).
- Phase errors and global bleaching (Фазовые погрешности и общее обесцвечивание).
- Phase errors and local bleaching (Фазовые погрешности и локальное обесцвечивание).

Функция также доступна для пакетной обработки. Это позволяет легко конвертировать серию необработанных изображений ApoTome в восстановленные из свертки изображения.

5.9.12.2 Деконволюция в ApoTome

Метод ApoTome RAW convert (Конвертация необработанных данных в ApoTome) принимает только необработанные данные **ApoTome**.

Метод извлечен из модуля **деконволюции** и доступен в каждой лицензионной версии ZEN 2.3 (blue). Он содержит настройки и параметры, которые подходят только для деконволюции в ApoTome.

Параметр

Описание параметров приводится под параметрами Deconvolution (adjustable) (Деконволюция регулируемая). Этот метод также применяется с пакетной обработкой.

5.9.12.3 Копирование аннотаций

С помощью метода Copy Annotations (Копирование аннотаций) аннотации одного изображения копируются в другое.

5.9.12.4 Копирование изображений

С помощью метода Copy Image (Копирование изображений) создается копия изображения.

5.9.12.5 Изменение типа пикселя

Метод Change Pixel Type (Изменение типа пикселя) позволяет изменять тип пикселя изображения. Этот метод может пригодиться, если необходимо сравнить или объединить изображения с разными типами пикселей.

Параметры

Параметр	Описание
Pixel Format (Формат пикселей)	Выберите в выпадающем списке необходимый формат пикселей.
– 8 Bit B/W (8-битный ч/б)	Выходное изображение монохромно; целочисленные значения серого тона изображения расположены в диапазоне от 0 до 255.
– 16 Bit B/W (16-битный ч/б)	Выходное изображение монохромно; целочисленные значения серого тона изображения расположены в диапазоне от 0 до 65535.
– 32 Bit B/W Float (32-битный ч/б, плавающий)	Выходное изображение монохромно, в качестве значений пикселей используются вещественные числа.
– 2x32 Bit Complex (2x32-битный, комплексный)	Выходное изображение монохромно в качестве значений пикселей используются комплексные числа (вещественная часть и мнимая часть). Подобные изображения обычно создаются посредством преобразования в Фурье-пространстве.
– - 24 Bit RGB (24-битный, RGB)	Цветное выходное изображение; целочисленные значения цвета изображения в красном, зеленом и синем каналах располагаются в диапазоне от 0 до 255.
Pixel Format (Формат пикселей)	Выберите в выпадающем списке необходимый формат пикселей.

Параметр	Описание
– 48 Bit RGB (48-битный, RGB)	Цветное выходное изображение; целочисленные значения цвета изображения в красном, зеленом и синем каналах располагаются в диапазоне от 0 до 65535.
– 2x32 Bit RGB Float (2x32-битный, RGB, плавающий)	Цветное выходное изображение, в качестве значений цвета в красном, зеленом и синем каналах используются вещественные числа.
– 3x64 Bit RGB Complex (3x64-битный, RGB, комплексный)	Цветное выходное изображение, в качестве значений цвета в красном, зеленом и синем каналах используются комплексные числа (вещественная часть и мнимая часть). Подобные изображения обычно создаются посредством преобразования в Фурье-пространстве.

5.9.12.6 Наложение шума

С помощью функции Impose Noise (Наложение шума) в целях тестирования на изображения накладывается определенный уровень шума.

Параметр	Описание
Signal to Noise Ratio (Соотношение «сигнал-шум»)	Регулирует соотношение сигнал-шум. Диапазон: 0,10–100,00.
Distribution (Распределение)	
– Poisson (Пуассон)	Накладывает шум, распределенный по закону Пуассона.
– Gauss (Гаусс)	Накладывает шум, распределенный по закону Гаусса.

5.9.12.7 Создание поднабора изображений

Метод Create Image Subset (Создание поднабора изображений) позволяет извлекать части из одного изображения и использовать их для создания нового изображения. Можно произвольно выбирать части отдельных измерений изображения.

i Примечание

Каждый раздел, описанный ниже, отображается только в том случае, если входное изображение имеет соответствующее измерение.

Параметр

Параметр	Описание
Channels (Каналы)	Здесь можно выбрать используемые каналы входного изображения. По умолчанию выбраны все каналы. Для отмены выбора канала нажмите на кнопку соответствующего канала.
Z-Position, Time, Block (Позиция по оси Z, Время, Блок)	Здесь можно выбрать части входного изображения, используемые для получения результирующего изображения.

Параметр	Описание
– Extract All (Извлечь все)	Этот параметр позволяет извлечь все части соответствующего изображения.
– Extract Single (Извлечь отдельное изображение)	Этот параметр позволяет извлечь отдельное изображение.
– Extract Range (Извлечь диапазон)	Этот параметр позволяет извлечь определенный диапазон изображений.
– Extract Multiple (Извлечь множество)	Этот параметр позволяет выбрать несколько непрерывных диапазонов и отдельных срезов. Введите в поле ввода один или несколько срезов, которые необходимо выбрать. Для этого введите первый срез, за которым следует знак «минус», и затем последний срез. Если вы желаете определить интервал, то после последнего среза поставьте двоеточие и затем укажите интервал. Запись «2-10:2» означает, что от среза 2 до среза 10 выбран каждый второй срез. Если требуется указать еще один срез, после первого среза поставьте запятую. Также можно выбирать отдельные срезы, разделяя их запятыми. Запись «2-10:2,14-18,20,23» означает, что выбран каждый второй срез, со среза 2 по срез 10, за которыми следуют срезы с 14 по 18, а также срезы 20 и 23.
– Get current position (Получить текущую позицию)	Заимствует позицию с текущего дисплея в области изображения.
– Interval (Интервал)	Флажок установлен: включен режим интервалов. Отображается счетчик/поле ввода интервала. Введите желаемый интервал. Например, при значении «2» учитывается только каждое второе значение диапазона.
Region (Область)	Здесь можно указать, необходимо использовать целое изображение или только область (область интереса) входного изображения.
– Full (Целое изображение)	При выборе этой опции для создания нового изображения используется целое изображение.
– Rectangle region (ROI) (Прямоугольная область)	Выбрав эту опцию, можно нарисовать прямоугольную область интереса, используемую для создания нового изображения. После выделения прямоугольной области можно просматривать и изменять ее координаты, редактируя поля ввода X/Y/W/H.
– Keep tiles (Удерживать мозаики)	Оказывает влияние, только если выделена область интереса (ROI). Флажок установлен: извлекает выделенную область вместе с цельными мозаиками. Эту настройку рекомендуется выбирать, если необходимо применить вычислительные функции деконволюции на результирующем изображении.

5.9.12.8 Слияние поднабора изображений

Метод Fuse Image Subset (Слияние поднабора изображений) позволяет вставлять поднабор изображений обратно в исходное изображение. Его содержимое заменяется содержимым поднабора изображений. С помощью этого метода можно обрабатывать ранее созданный поднабор изображений, используя функции обработки изображения, и копировать полученное изображение обратно в исходное.

Параметры

Параметр	Описание
In Place (Локально)	
Subset (Поднабор)	Содержит описание метода создания входного изображения в качестве поднабора. Показывает, какие срезы были выбраны при создании поднабора изображений для каждого измерения (каналы, серия срезов по оси Z, временная серия), а также для определенного среза изображения. Пример: Запись «Z (1-8:2) T (2-7)» означает, что части изображения состоят из срезов 1, 3, 5, 7 с интервалами от 2 до 7 входного изображения.

5.9.12.9 Генератор изображений

С помощью функции Image Generator (Генератор изображений) создается синтезированное изображение, в котором могут быть определены измерения.

Параметр	Описание
Width (Ширина)	Ширина изображения (по оси X).
Height (Высота)	Высота изображения (по оси Y).
Z Slices (Срезы по оси Z)	Число срезов изображения по оси Z. Если значение больше «1», то изображение станет серией срезов по оси Z.
Channels (Каналы)	Число каналов изображения. Если значение больше «1», то изображение станет многоканальным.
Time Slices (Временные срезы)	Число временных срезов. Если величина больше «1», то изображение станет изображением временного ряда.
Min. Gray Value	Минимальное значение серого для генерации изображения.
Max Gray Value (Макс. значение серого)	Максимальное значение серого для генерации изображения.
Pixel Type (Тип пикселя)	Указывает тип пикселя изображения.
Pattern (Шаблон)	
– Uniform (Одинаковое значение)	Все пиксели изображения имеют идентичное минимальное значение серого.

Параметр	Описание
— 2D Gray Scale Vertical (Градация серого двумерного изображения сверху вниз)	Градация серого на изображении: от минимального значения до максимального сверху вниз.
— 2D Gray Scale Horizontal (Градация серого двумерного изображения по горизонтали)	Градация серого на изображении: от минимального значения до максимального слева направо.
— Ramp (Линейное изменение)	Значения серого на изображении линейно изменяются от минимального до максимального от каждого угла к центру изображения.
— Gaussian (Гауссовый фильтр)	Градация серого на изображении имеет форму нормального распределения значений от минимального до максимального от границ к центру изображения.
— Checkerboard (Шахматный узор)	Изображение содержит шахматный узор, в котором «темные» поля имеют минимальное значение серого , а «светлые» поля имеют максимальное значение серого .
— Cosine Checkerboard (Косинусный шахматный узор)	Изображение содержит шахматный узор с наложенной косинусоидальной модуляцией, в котором «темные» поля имеют минимальное значение серого , а «светлые» поля имеют максимальное значение серого .
— Chirp Cosine (Косинусоида с ЛЧМ)	Изображение содержит шахматный узор с наложенной внутриимпульсной ЛЧМ, в котором «темные» поля имеют минимальное значение серого , а «светлые» поля имеют максимальное значение серого .
— Chirp Checker (Шахматный узор с ЛЧМ)	Изображение содержит шахматный узор с наложенной внутриимпульсной ЛЧМ, в котором «темные» поля имеют минимальное значение серого , а «светлые» поля имеют максимальное значение серого .
— Random Spheres (Беспорядочно распределенные сферы)	Создается 3D-изображение (серия срезов по оси Z), содержащее Number of Spheres число сфер диаметром Sphere Diameter , беспорядочно распределенных по изображению.
— Sphere Array (Упорядоченное распределение сфер)	Создается 3D-изображение (серия срезов по оси Z), содержащее Number of Spheres число сфер диаметром Sphere Diameter , равномерно распределенных по изображению.
— Single Sphere (Отдельная сфера)	Создается трехмерное изображение (серия срезов по оси Z), содержащее единственную сферу диаметром Sphere Diameter в центре изображения.
Sphere Diameter (Диаметр сферы)	Диаметр создаваемых сфер.
Number of Spheres (Число сфер)	Количество сфер, создаваемых в 3D-изображении.

5.9.12.10

Создание изображения в градации серого

Метод Create Gray Scale Image (Создание изображения в градации серого) позволяет создавать изображения в градации серого.

Параметры

Параметр	Описание
Pattern (Шаблон)	Здесь выбирается желаемый шаблон изображения в градации серого.
- Uniform (Одинаковое значение) 2D Gray Scale Vertical (Градация серого двухмерного изображения сверху вниз) 2D Gray Scale Horizontal (Градация серого двухмерного изображения по горизонтали)	Все пиксели имеют идентичное значение серого/цвета. Градация серого осуществляется сверху вниз, начиная со значения серого, выбранного в параметре Min. Gray Value (Мин. значение серого). Градация серого осуществляется слева направо, начиная со значения серого, выбранного в параметре Min. Gray Value (Мин. значение серого).
Width (Ширина)	С помощью ползунка или поля ввода задайте необходимую ширину выходного изображения в пикселях.
Height (Высота)	С помощью ползунка или поля ввода установите необходимую высоту выходного изображения в пикселях.
Мин. Gray Value	С помощью ползунка или поля ввода установите минимальное значение градации серого.
Макс. Gray Value	С помощью ползунка или поля ввода задайте максимальное значение градации серого.
Pixel Type (Тип пикселя)	Здесь задается необходимый тип пикселя.
8 Bit B/W (8-битный ч/б) 16 Bit B/W (16-битный ч/б) 24 Bit RGB (24-битный, RGB) 48 Bit RGB (48-битный, RGB)	Выходное изображение монохромно; целочисленные значения серого тона изображения расположены в диапазоне от 0 до 255. Выходное изображение монохромно; целочисленные значения серого тона изображения расположены в диапазоне от 0 до 65535. Цветное выходное изображение; целочисленные значения цвета изображения в красном, зеленом и синем каналах располагаются в диапазоне от 0 до 255. Цветное выходное изображение; целочисленные значения цвета изображения в красном, зеленом и синем каналах располагаются в диапазоне от 0 до 65535.

5.9.12.11

Image Calculator (Калькулятор изображения)

Метод Image Calculator (Калькулятор изображения) позволяет применять арифметические операции к изображениям в форме калькулятора.

Можно обработать отдельное изображение или объединить два изображения.

Все операции выполняются попиксельно.

Параметры

Параметр	Описание
Channel Input 1 (Канал входного изображения 1)	Здесь указывается, следует ли использовать для выполнения вычислений отдельный канал или все каналы первого входного изображения.
Channel Input 2 (Канал входного изображения 2)	Здесь указывается, следует ли использовать для выполнения вычислений отдельный канал или все каналы второго входного изображения.
First Images (Первые изображения)	Флажок установлен: при работе со вторым входным изображением для выполнения вычислений используются только первые временные точки изображения покадровой съемки. Это позволяет, например, нормализовать изображение покадровой съемки до значений интенсивности первых временных точек. С помощью поля ввода задайте количество изображений, необходимое для использования во время вычисления.
Formula (Формула)	С помощью клавиатуры или цифровой клавишной панели введите расчетную формулу. В качестве прототипа для первого входного изображения используйте «S1», а для второго входного изображения – «S2».
Input 1	Вставляет прототип для первого входного изображения в поле ввода Formula (Формула) в текущей позиции курсора.
Input 2	Вставляет прототип для второго входного изображения в поле ввода Formula (Формула) в текущей позиции курсора.
Absolute Intensities (Абсолютные интенсивности)	Активируйте эту кнопку-переключатель, если входное изображение 1 и входное изображение 2 имеют одинаковый тип пикселя.
Normalize Intensities 0..1 (Нормализация интенсивности 0..1)	Активируйте эту кнопку-переключатель, если входное изображение 1 и входное изображение 2 имеют разные типы пикселя. Для объединения подобных изображений перед выполнением вычислений значения интенсивности двух изображений нормализуются до диапазона значений от 0 до 1.
Operators... (Операторы...)	Открывает перечень всех доступных операторов. Здесь можно выбрать необходимый оператор. Двойное нажатие на строку списка вставляет ее в поле ввода Formula (Формула) в текущей позиции курсора.
Delete (Удаление)	Удаляет содержимое поля ввода Formula (Формула) .
Undo (Отмена ввода)	Отменяет ввод последних данных в поле Formula (Формула) .

5.9.12.12 Добавление каналов

Метод Add Channels (Добавление каналов) позволяет объединять два входных изображения с разными каналами, но с одинаковым измерением (серия срезов по оси Z, временная серия, мозаика, сцена). Создается изображение, содержащее все каналы входных изображений.

Если два входных изображения отличаются друг от друга в измерениях (серия срезов по оси Z, временная серия, мозаика, сцена), то входное изображение 1 и входное изображение 2 копируются во входное изображение в виде двух отдельных блоков.

5.9.12.13 Создание пирамиды изображений

Метод Generate Image Pyramid (Создание пирамиды изображений) позволяет вычислять пирамиду разрешений изображения. Пирамида разрешений позволяет крайне эффективно перемещаться по мозаичным изображениям очень большого размера и отображать отдельные области в окне изображения.

Параметры

Параметр	Описание
Background (фон)	Эта опция влияет на представление фона пирамиды изображения.
– Auto (Автоматическое)	Область вне сцен сохраняет значение серого тона изображения, т. е. белое для светлопольных изображений и черное — для флуоресцентных изображений.
– Black (Черное)	Область вне сцен отображается черным.
– White (Белый)	Область вне сцен отображается белым.

5.9.12.14 Разделение на RGB

Метод Split into RGB (Разделение на RGB) разделяет входное RGB-изображение на отдельные цветовые каналы: красный, зеленый и синий. Результирующие изображения в красном, зеленом и синем каналах принимают вид серых изображений.

Параметры

Параметр	Описание
Output Pixel type (Тип выходного пикселя)	Здесь выбирается необходимый формат выходного изображения, например 8-битный, ч/б.

5.9.12.15 Воссоздание RGB-изображения

Метод Combine RGB (Воссоздание RGB-изображения) создает цветное изображение из трех входных изображений с отдельными цветовыми каналами: **красным**, **зеленым** и **синим**.

Параметры

Параметр

Описание

Output Pixel type (Тип выходного пикселя)

Здесь выбирается необходимый формат выходного изображения, например 24-битный, RGB.

5.9.12.16

Разделение на HLS

Метод Split into HLS (Разделение на HLS) разделяет входное HLS-изображение на отдельные цветовые каналы. Результирующие изображения в каналах «оттенок-яркость-насыщенность» принимают вид серых изображений.

5.9.12.17

Воссоздание HLS-изображения

Метод Combine HLS (Воссоздание HLS-изображения) создает HLS-изображение из отдельных каналов: оттенок, яркость, насыщенность.

5.9.12.18

Вычисление гистограммы

Метод Calculate Histogram (Вычисление гистограммы) вычисляет распределение выбранных параметров таблицы данных измерений по гистограмме.

Параметры

Параметр

Описание

Columns (Столбцы)

Задайте параметры измерений для классификации, произвольно введя номера столбцов, например 1,3,5, или 1-6, или 1,3-7,8.

Чтобы открыть диалоговое окно **Select columns** (Выбрать столбцы), нажмите кнопку . Установив соответствующий флажок, в этом диалоговом окне можно включить или отключить имена столбцов данных.

Class Boundaries (Границы классов)

Здесь определяются границы классов на вычисленной гистограмме.

— $\geq \dots <$

Числовое значение попадает в класс гистограммы, если оно больше или равно ($\geq$) нижней границе класса или меньше ($<$) верхней границы класса.

— $> \dots \leq$

Числовое значение попадает в класс гистограммы, если оно больше ($>$) нижней границы класса или меньше или равно ($\leq$) верхней границе класса.

Automatic Classification (Автоматическая классификация)

Флажок установлен: на основе имеющихся данных границы класса вычисляются автоматически. Диапазон значений от самого низкого до самого высокого значения данных разделяется на столько классов равной ширины, сколько было установлено в поле ввода **Class Number** (Число классов).

Параметр	Описание
	Пример: Минимальное значение: 0 Максимальное значение: 10000 Диапазон: 10000 единиц Число классов: 4 Тогда границы классов следующие: Class 1: 0 .. 2500 Класс 2: 2501 .. 5000 Class 3 : 5001 .. 7500 Класс 4: 7501 .. 10000
Logarithmic (Логарифмический)	Параметр активен, только если установлен флажок Automatic Classification (Автоматическая классификация). Флажок установлен: границы классов отображаются на логарифмической шкале. Пример: Минимальное значение: 0 Максимальное значение: 10000 Диапазон: 10000 единиц Число классов: 4 Тогда границы классов следующие: Класс 1: 0 ... 10 Класс 2: 11 ... 100 Класс 3: 101 ... 1000 Класс 4: 1001 ... 10000
Class Count (Счетчик классов)	Определяет число создаваемых классов.
Display Mode (Режим отображения)	Здесь определяется метод вычисления значений гистограммы.
– Count (Счетчик)	Гистограмма показывает количество массивов данных, входящих в соответствующий класс, и содержит частоту значений в рассматриваемом классе.
– Count Cumulative (Накопленное число)	Гистограмма накапливает количество значений в каждом классе. Класс 1 содержит количество значений для класса 1, Класс 2 содержит сумму значений класса 1 и класса 2, класс 3 содержит сумму значений класса 2 и класса 3 и т. д.
– Percentage (Процентное отношение)	Гистограмма показывает процент массивов данных, входящих в соответствующий класс, и, следовательно, содержит процентную долю значений в рассматриваемом классе.

Параметр	Описание
– Percentage Cumulative (Накопленный процент)	Гистограмма накапливает количество значений (в процентах) в каждом классе. Класс 1 содержит проценты для класса 1, класс 2 содержит сумму процентов класса 1 и класса 2, класс 3 содержит сумму процентов класса 2 и класса 3 и т. д. Следовательно, последний класс содержит 100%.
– Sum (Сумма)	Гистограмма содержит сумму числовых значений массивов данных, входящих в соответствующий класс; значения массивов данных, входящих в рассматриваемый класс, соответственно суммируются.
– Sum Cumulative (Накопленная сумма)	Гистограмма накапливает суммы значений в каждом классе. Класс 1 содержит сумму числовых значений класса 1, класс 2 содержит сумму числовых значений класса 1 и класса 2, класс 3 содержит сумму числовых значений класса 2 и класса 3 и т. д. Последний класс, соответственно, содержит сумму всех отдельных значений.
– Percentage Sum (Суммарный процент)	Гистограмма показывает процентную долю общих числовых значений в соответствующем классе.
– Percentage Sum Cumulative (Накопленный суммарный процент)	Гистограмма накапливает процент сумм значений всех величин, принадлежащих к классу. Класс 1 содержит процент всех числовых значений класса 1, класс 2 содержит сумму процентов всех числовых значений класса 1 и класса 2, класс 3 содержит сумму процентов всех числовых значений класса 2 и класса 3 и т. д. Следовательно, последний класс содержит 100%.

5.9.12.19 Разделение сцен (запись файлов)

Метод Split Scenes (Write files) (Разделение сцен (запись файлов)) сохраняет отдельные сцены (мозаики или позиции) многосценивого изображения (т. е. изображения многолуночного планшета) в виде отдельных изображений в папке в CZI-формате.

Параметр

Параметр	Описание
Display field (Поле отображения)	Путь к папке назначения отображается автоматически в поле отображения. Для изменения папки нажмите кнопку  справа от поля отображения.

Параметр	Описание
Include Scene Information in Generated File Name (Включить информацию о сцене в имя сгенерированного файла)	Флажок установлен: включает информацию о сцене в имя отдельного изображения.
Overwrite existing files (Заменить существующие файлы)	Флажок установлен: при повторном применении этой функции все файлы в целевой папке удаляются.
Compression (Сжатие)	Здесь выбирается тип сжатия, например исходный Original (без сжатия) или сжатый Compression (JPEG XR) .

5.9.12.20 **Разделение сцен**

Метод Split Scenes (Разделение сцен) выделяет сцены из мозаичного или позиционного изображения. Отдельные изображения отображаются в **центральной области экрана**. Обратите внимание, что изображения, полученные с помощью этого метода, в отличие от метода **Split Scenes (write files)** (Разделение сцен (запись файлов)) автоматически не сохраняются в папке.

5.9.12.21 **Разделение многоблокового изображения**

Метод Split Multiblock Image (Разделение многоблокового изображения) сохраняет отдельные блоки/измерения (мозаики или позиции) многоблокового изображения (т. е. изображения неоднородного эксперимента) в папке в **CZI**-формате.

Параметр

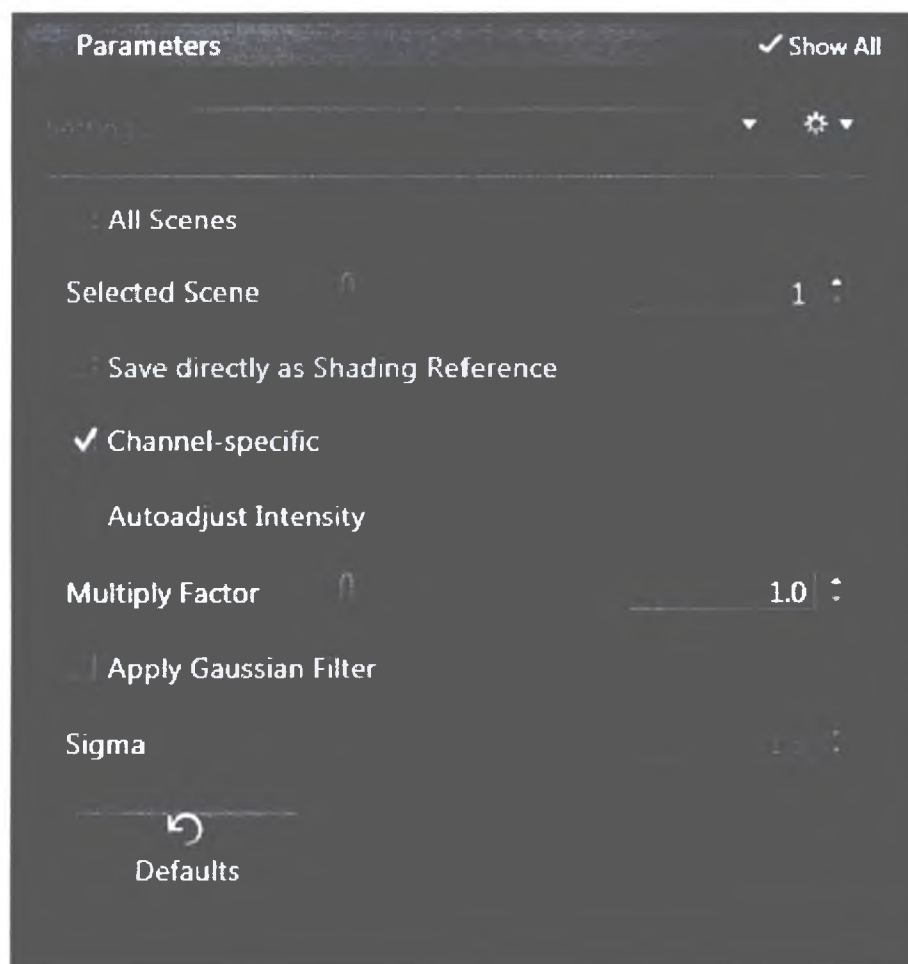
Параметр	Описание
Split Mode (Режим разделения)	Выберите режим разделения многоблокового изображения.
– Homogeneous groups (Однородные группы)	Разделяет многоблоковое изображение на отдельные измерения. Блоки при этом сохраняются.
– Single blocks (Отдельные блоки)	Разделяет многоблоковое изображение на отдельные блоки.
Display field (Поле отображения)	Путь к папке назначения отображается автоматически в поле отображения. Для изменения папки нажмите кнопку  справа от поля отображения.

5.9.12.22 **Изображение с эталонной равномерностью освещения из мозаичного изображения**

С помощью метода Shading Reference from Tile Image (Изображение с эталонной равномерностью освещения из мозаичного изображения) из многоканальных мозаичных изображений можно создавать изображения с эталонной равномерностью освещения.

Параметры (светлопольное изображение)

Для обработки светлопольного изображения (**Brightfield image**) можно выбрать следующие параметры:



Обратите внимание, что параметр **Selected Scene** (Выбранная сцена) и кнопка-флажок **All Scenes** (Все сцены) доступны только при обработке многосценивого изображения.

Параметр	Описание
Save directly as Shading Reference (Сохранить как изображение с эталонной равномерностью освещения)	Флажок установлен: программное обеспечение создает изображение с эталонной равномерностью освещения (Shading Reference) и сохраняет его непосредственно в менеджере калибровки (Calibration Manager). Программное обеспечение не позволяет просмотреть изображение перед сохранением, поэтому рекомендуется убрать флажок и выполнить эту функцию. Система создаст эталонные изображения и выведет их на экран. Если изображения имеют хорошее качество, можно установить флажок и повторно выполнить эту функцию. Обратите внимание, что после активации этой опции необходимо ознакомиться с системными сообщениями (под знаком «i» в нижней части экрана). Если, к примеру, результирующее изображение с эталонной равномерностью освещения слишком тусклое, система не будет использовать его в качестве действительного изображения с эталонной равномерностью освещения, что будет

Параметр	Описание
Channel-specific (Поканальное выравнивание освещенности)	указано в системных сообщениях. После успешного завершения импорта базы данных эталонных сообщений отобразится соответствующее системное сообщение! Флажок установлен: программное обеспечение выполняет поканальную коррекцию равномерности освещения. В этом случае используемый блок флуоресцентных фильтров сохраняется с файлом равномерности освещения. Для этого учитываются следующие компоненты: Метод контрастирования и конденсатор, флуоресцентный фильтр, увеличение: объектив и модуль Optovar; глубина цвета камеры и режим RGB / ч/б, тип и расположение разъема камеры. Флажок убран: система выполняет всеканальную (All Channel) калибровку и коррекцию равномерности освещения, зависящую от используемого объектива. Для этого учитываются следующие компоненты: увеличение (объектив и модуль Optovar); глубина цвета камеры и режим RGB/ч/б, тип и расположение разъема камеры.
Multiply Factor (Множитель)	Здесь можно применить множитель, при этом программное обеспечение умножит интенсивность каждого пикселя изображения с эталонной равномерностью освещения на указанную величину. При использовании собственного образца в большинстве случаев изображения получаются очень тусклыми и интенсивность пикселей не достигает значений, необходимых для использования в менеджере калибровки изображения с эталонной равномерностью освещения, а значит, этот образец будет отклонен.
Auto Adjust Intensity (Авторегулировка интенсивности)	В случае активации этот параметр на основе значений серого тона изображения автоматически рассчитывает множитель и необходимые значения серого для использования изображения в менеджере калибровки изображения с эталонной равномерностью освещения. Если Auto Adjust Intensity (Авторегулировка интенсивности) включен, параметр Multiply Factor (Множитель) никак не влияет на создание изображения.
Apply Gaussian Filter (Применить фильтр Гаусса)	В случае активации фильтр Гаусса применяется после усреднения видимых зон мозаичного изображения. Это позволяет сглаживать изображение с эталонной равномерностью освещения. Сигма-коэффициент определяет силу сглаживания.

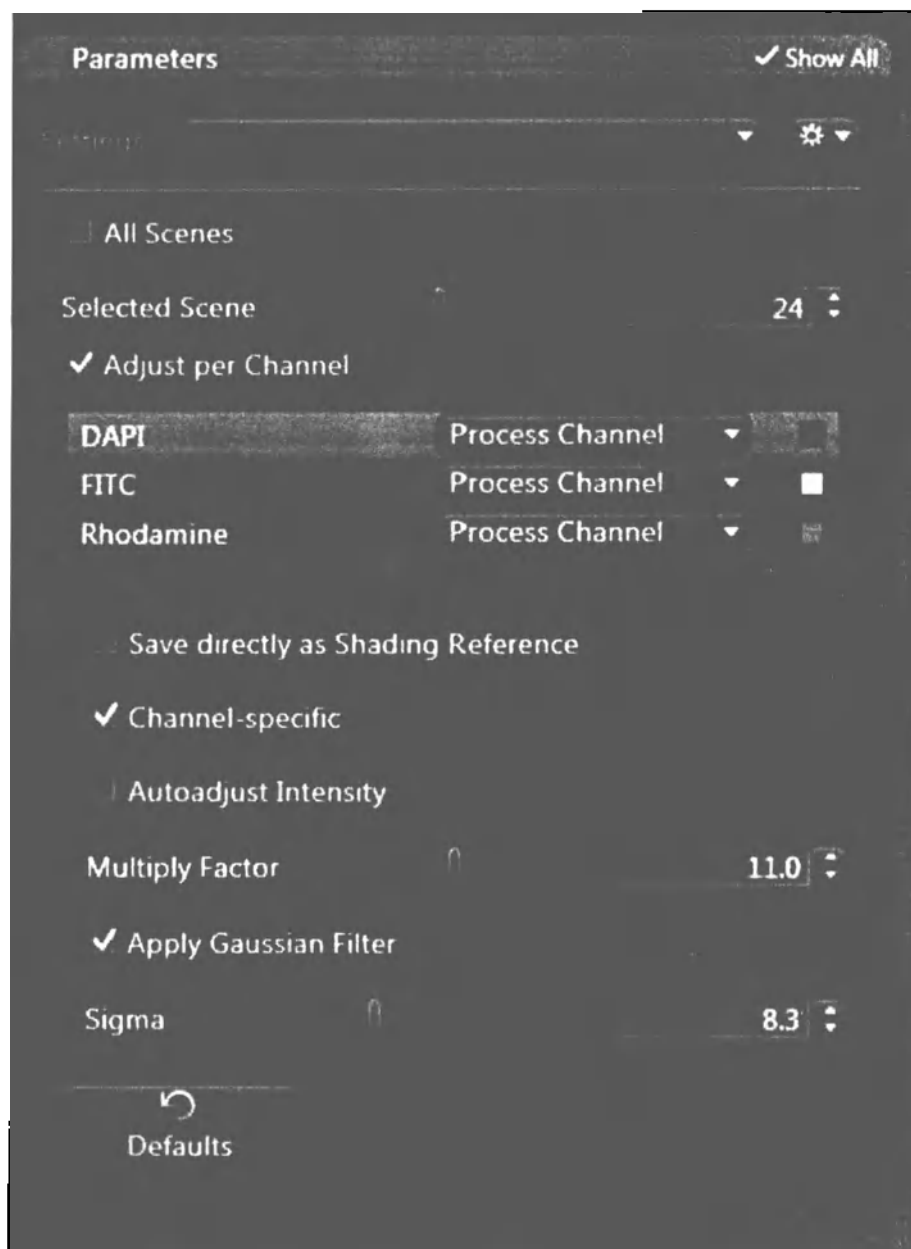
Параметр**Описание**

Используйте этот фильтр и сигма-коэффициент с большой осторожностью, так как могут быть удалены элементы, реальные равномерно освещенные структуры. Рекомендуется использовать этот параметр при малом, не способном увеличиться при определенных обстоятельствах количестве мозаик сканированного изображения.

Параметры (многоканальное изображение)

Все параметры (см. описание выше) многоканального (например, флуоресцентного) изображения могут настраиваться поканально.

Обратите внимание, что параметр **Selected Scene** (Выбранная сцена) и кнопка-флажок **All Scenes** (Все сцены) доступны только при обработке многосценивого изображения.



Параметр

Adjust per Channel
(Поканальные
настройки)

Описание

После активации можно регулировать настройки для каждого канала в отдельности. Выберите **Process Channel** (Обработать канал), чтобы использовать канал, или **Skip Channel** (Пропустить канал), чтобы не обрабатывать канал.

Настройки **Save directly as Shading Reference** (Сохранить как изображение с эталонной равномерностью освещения) и **Channel-specific** (Поканальное выравнивание освещенности) применяются отдельно для каждого канала. Если необходимо использовать одинаковые настройки для всех каналов, уберите флажок.

5.9.12.23 Обработка Airyscan

Функция Airyscan Processing (Обработка Airyscan) открывает доступ к данным сверхвысокого разрешения изображений, полученных с помощью модуля Airyscan.

Параметры

Параметр

Описание

3D Processing
(Трехмерная
обработка)

Эта опция доступна только для изображений с пятью и более позициями по оси Z.

Будучи активированной, эта опция улучшает разрешение в продольном и поперечном направлениях. Массив данных должен иметь не менее 5 срезов по оси Z, полученных с оптимальным размером шага. Трехмерная обработка медленнее двухмерной. Для выполнения трехмерной обработки необходимо, чтобы вся серия срезов по оси Z (отдельный канал и временная точка) помещалась в физическую память.

Auto Filter
(Автоматический
фильтр)

После включения фильтр автоматически определяет подходящий для обработки в модуле Airyscan параметр **Super Resolution** (Сверхвысокое разрешение) для выбранного массива данных.

Для регулировки параметра **Super Resolution** (Сверхвысокое разрешение) вручную уберите флажок. Затем определите подходящие значения с помощью соответствующей функции в блоке просмотра модуля Airyscan во вкладке **Airyscan**. Обратите внимание, что функция предварительного просмотра доступна только для двухмерной обработки в модуле Airyscan. Функция предварительного просмотра для трехмерной обработки в модуле Airyscan отсутствует. Для настройки параметров трехмерной обработки следует сначала обработать массив данных после использования автоматического фильтра (Auto Filter), а затем проверить величину, которая в действительности была применена функцией обработки модуля Airyscan. Эта величина хранится в метаданных обработанного изображения и доступна для просмотра с помощью меню **Info** (Информация).

Adjust per Channel
(Поканальные
настройки)

Отображается, только если убран флажок **Auto Filter** (Автоматический фильтр).

Доступен только для изображений с двумя и более каналами Airyscan.

После активации можно вручную устанавливать параметры обработки для каждого канала в модуле Airyscan.

Fuse Tiles
(Объединить
фрагменты)

Доступен только для изображений с областями мозаик.

Если параметр активирован, сшивка выполняется автоматически после получения изображений в модуле Airyscan.

5.9.12.24 Преобразование в лямбду

С помощью функции **Convert To Lambda** (Преобразование в лямбду) серии срезов лямбда, полученные с помощью **LSM 800**, можно преобразовать в файл с аналогичным видом, что и внутри области просмотра **Lambda** (Лямбда). В отличие от универсального формата необработанных данных серии срезов лямбда, эти файлы нормально открываются и анализируются в **ZEN (black)**.

5.9.12.25 Линейное разделение

С помощью функции **Linear Unmixing** (Линейное разделение) из сильно перекрывающихся мультифлуоресцентных данных, полученных в многоканальных изображениях или сериях срезов лямбда, можно извлекать излучение отдельных флуоресцентных красителей (например, только GFP, только YFP и т. д.) (доступно только в режиме визуализации LSM).

Зная спектральные характеристики отдельных компонентов многокомпонентного образца, из экспериментального многоканального массива данных можно математически извлечь даже сильно перекрывающиеся отдельные спектральные характеристики. Этот метод является процедурой исключительно попиксельного анализа изображений.

В условиях эксперимента полученные спектры флуоресценции образцов с одной меткой сохраняются в базе данных спектров в виде внешнего источника. Затем из образца с несколькими метками извлекается многоканальное изображение или серия срезов лямбда. Отдельные компоненты извлекаются математическим способом с использованием данных эталонных спектров. Для создания 10-канального выходного изображения без частичного перекрытия каналов в алгоритме на основе подбора методом наименьших квадратов можно использовать до десяти разных опорных сигналов.

Избегайте насыщения флуоресцентного сигнала в разделяемом массиве данных. Насыщенность генерирует сильный сигнал в остаточном канале.

Если образцы с одной меткой отсутствуют, то эталонные изображения могут быть получены следующими способами:

- В интерактивном режиме посредством выбора областей изображения, где присутствует только один флуоресцентный краситель (доступно только в меню **Unmixing** (Разделение)).
- Автоматически с помощью программных анализов отдельных спектральных параметров. Эта функция обработки называется автоматическим извлечением компонентов (ACE, от англ. Automatic Component Extraction).

Обратите внимание, что в некоторых случаях спектрально полученные изображения не подходят для ACE, а линейное разделение может привести к ошибочным результатам.

Параметры

Параметр	Описание
Components (Компоненты)	Здесь устанавливается число спектрально различимых флуоресцентных компонентов, доступных для выбора в визуализированном образце. Число извлекаемых компонентов не должно превышать число полученных каналов. Максимально возможное число компонентов: 10.
Autoscale (Автоматическое выравнивание)	Приводит интенсивность неразделенных каналов к одинаковым уровням.

Параметр	Описание
Calculate Residuals (Вычисление остаточных величин)	Создает дополнительный канал, в котором величины интенсивности представляют собой разность полученных спектральных данных и подобранной линейной комбинации эталонных спектров. Проще говоря, остаточная величина — это наибольший остаток, полученный в результате подбора методом наименьших квадратов. Остаточные величины — общий показатель правильности подбора алгоритма. Чем выше интенсивность дополнительного канала, тем хуже пригодность спектров к массиву данных.

5.9.12.26 Корреляция

С помощью функции Correlation (Корреляция) можно отображать конфокальные наборы данных вместе с пространственной или временной корреляцией изображения или серии изображений. Тип проводимой корреляции можно выбрать, установив соответствующие флажки.

Параметры

Параметр	Описание
Cross Correlation (Кросс-корреляция)	Если параметр активирован, можно сопоставлять два изображения. Обратите внимание, что второе входное изображение должно иметь аналогичную размерность и размер.
X, Y	Сопоставляет сигнал в направлении X или Y.
Z	Сопоставляет сигнал в направлении Z. Доступен только для массивов данных, содержащих срезы по оси Z.
Time (Время)	Сопоставляет сигнал во времени. Доступен только для массивов данных временной серии.

5.9.12.27 Конвертация необработанных данных в VivaTome

5.9.13 Экспорт/Импорт

5.9.13.1 Экспорт изображений

Метод Image Export (Экспорт изображений) позволяет экспортировать отдельные изображения в различные типы файлов для их последующего использования в других программах. Многомерные изображения (многоканальные, серии срезов по оси Z, кадровая съемка, мозаичные изображения) экспортируются как отдельные изображения.

Параметры

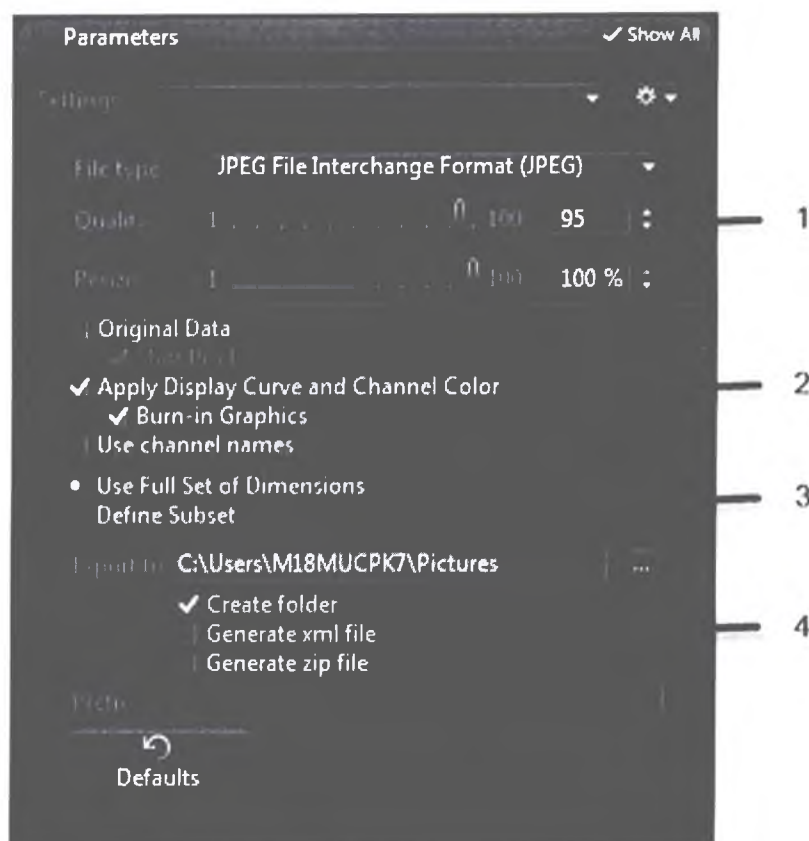


Рисунок 5.3. Параметр Image Export (Экспорт изображений)

П/п	Описание
1	Здесь регулируются настройки типа файла, например формат или сжатие. Точное описание функций см. в разделе «File Type» (Тип файла) [► 185]. Тип файла, выбранного для экспорта изображения, влияет на изменение настроек остальных параметров.
2	Здесь указываются действия, выполняемые с данными изображения во время экспорта, например запись графических элементов на картинку. Точное описание функций см. в разделе «Image Data» (Данные изображения) [► 186].
3	Здесь указываются действия, выполняемые с измерениями, например экспорт всех или только некоторых измерений изображения. Точное описание функций см. в разделе «Dimensions» (Измерения) [► 187].
4	Здесь определяются остальные настройки экспорта, например папка экспорта. Точное описание функций см. в разделе «Export to...» (Экспорт в...) [► 189].

5.9.13.1.1

Раздел File Type

Параметр

Описание

File Type (Тип файла)

Выберите необходимый тип файла из выпадающего списка:

- **JPEG** (формат обмена файлами JPEG)
- **BMP** (Точечный рисунок Windows)
- **TIFF** (теговый формат файлов изображения)
- **BigTIFF** (Tiff-формат (64-битный))
- **PNG** (переносимая сетевая графика)
- **WDP** (JPEG XR)

Обратите внимание, что доступность опций зависит от выбранного типа файла.

Quality (Качество)

Доступно только для файлов типа **JPEG** и **JPEG XR**. С помощью ползунка или поля ввода введите качество изображения, влияющее на размер файла. Низкие значения приводят к появлению файлов очень малого размера, при этом качество изображения может быть значительно снижено.

Resize (Изменение размера)

Настройка размера изображения (в процентах) производится с помощью ползунка или поля ввода.

Convert to 8 Bit
(Преобразование в 8-битное изображение)

Доступно только для файлов типа **TIFF**, **BigTIFF**, **PNG** и **JPEG XR**.

Флажок установлен: преобразовывает 16-битное полутоновое изображение в 8-битное полутоновое, или 48-битное цветное изображение в 24-битное цветное.

Compression
(Сжатие)

Доступно только для файлов типа **TIFF** и **BigTIFF**.
Доступны следующие виды сжатия объема данных:

– None
(Отсутствует)

Сохраняет объем данных исходного изображения. Сжатие не производится.

– LZW

Доступен только для файлов типа **TIFF**.

Производит сжатие без потери данных в соответствии с алгоритмом Лемпеля-Зива-Велша (LZW).

– ZIP

Доступен только для файлов типа **TIFF**.

Производит сжатие без потери данных по ZIP-методу.

– Loss less (Без потери данных)

Доступен только для файлов типа **BigTIFF**.

Производит сжатие без потери данных в соответствии с алгоритмом Лемпеля-Зива-Велша (LZW).

Параметр	Описание
– Lossy (С потерей данных)	Доступен только для файлов типа BigTIFF . Производит сжатие с потерей данных по методу JPEG XR (расширенный диапазон).
BigTIFF	Доступен только для файлов типа BigTIFF . Флажок установлен: генерирует изображение в формате BigTIFF. Максимальный размер изображения больше 4 Гб. Флажок убран: генерирует изображение в формате TIFF с максимальным размером 4 Гб.
TIFF Tiles (Мозаики в формате TIFF)	Доступен только для файлов типа BigTIFF . Флажок установлен: генерирует новые прямоугольные мозаики для работы с внутренними данными. Флажок убран: объединяет мозаики в полосы для работы с внутренними данными.
Pyramid (Пирамида)	Доступен только для файлов типа BigTIFF . Флажок установлен: вычисляет пирамиду изображения.
Merge All Scenes (Объединение всех сцен)	Доступен только для файлов типа BigTIFF . Флажок установлен: генерирует одно изображение, включающее все сцены. Если флажок убран, генерирует изображения с отдельными сценами.

5.9.13.1.2

Раздел Image Data

Приведенные ниже функции отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Параметр	Описание
Original Data (Исходные данные)	Флажок установлен: экспортирует изображение с исходными цветами каналов и исходной кривой характеристик отображения.
Shift Pixel (Сдвиг пикселей)	Флажок установлен: сдвигает значение серого тона 10-битного или 12-битного изображения до 16-битного.
Apply Display Curve and Channel Color (Применить кривую отображения и цвет канала)	Флажок установлен: экспортирует изображение с измененными настройками цвета канала и кривой характеристик отображения. Эти настройки применяются к значениям пикселей экспортируемых изображений. Они исключительно важны, если необходимо использовать темные изображения с динамическим диапазоном более 8 бит в других программах.

i Примечание

Должен быть установлен по меньшей мере один из двух флажков. Если установлены оба флажка, можно в один прием экспортировать исходные изображения и изображения с измененными настройками.

Параметр	Описание
Burn In Graphic (Запись графических элементов)	Флажок установлен: производится запись графических элементов на изображение. При этом пиксели под графическим элементом (например, масштабные линейки) перезаписываются. Записанные графические элементы изменить нельзя.
Merged channels image (Изображение с объединенными каналами)	Отображается только для многоканальных изображений. Флажок установлен: экспортирует псевдоцветное изображение всех выбранных каналов.
Individual Channels image (Изображение с отдельными каналами)	Отображается только для многоканальных изображений. Флажок установлен: экспортирует отдельное цветное изображение всех выбранных каналов.

i Примечание

Должен быть установлен по меньшей мере один из трех флажков. Если установлены флажки **Merged channels image** (Изображение с объединенными каналами) и **Individual Channel image** (Изображение с отдельными каналами), в один прием можно экспортировать отдельные цветные и псевдоцветные изображения.

Параметр	Описание
Use channel names (Использование имен каналов)	Отображается только для многоканальных изображений. Флажок установлен: включает имя канала в имя экспортируемого изображения.

5.9.13.1.3

Раздел Dimensions

Приведенные ниже функции отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Параметр	Описание
Use Full Set of Dimensions (Использовать полный набор измерений)	Выберите, если необходимо экспортировать все измерения без внесения изменений.
Define Subset (Определить поднабор)	Выберите, если требуется экспортировать только отдельные измерения или поднаборы отдельных измерений.

i Примечание

Каждый раздел, описанный ниже, отображается, только если на входном изображении имеется соответствующее измерение.

Параметр	Описание
Channels (Каналы)	Здесь можно выбрать используемые каналы входного изображения. По умолчанию выбраны все каналы. Для отмены выбора канала нажмите на кнопку соответствующего канала.
Z-Position, Time, Block (Позиция по оси Z, Время, Блок)	Здесь можно выбрать части входного изображения, используемые для получения результирующего изображения.
– Extract All (Извлечь все)	Этот параметр позволяет извлечь все части соответствующего изображения.
– Extract Single (Извлечь отдельное изображение)	Этот параметр позволяет извлечь отдельное изображение.
– Extract Range (Извлечь диапазон)	Этот параметр позволяет извлечь определенный диапазон изображений.
– Extract Multiple (Извлечь множество)	Этот параметр позволяет выбрать несколько непрерывных диапазонов и отдельных срезов. Введите в поле ввода один или несколько срезов, которые необходимо выбрать. Для этого введите первый срез, за которым следует знак «минус», и затем последний срез. Если вы желаете определить интервал, то после последнего среза поставьте двоеточие и затем укажите интервал. Запись «2-10:2» означает, что от среза 2 до среза 10 выбран каждый второй срез. Если требуется указать еще один срез, после первого среза поставьте запятую. Также можно выбирать отдельные срезы, разделяя их запятыми. Запись «2-10:2,14-18,20,23» означает, что выбран каждый второй срез, со среза 2 по срез 10, за которыми следуют срезы с 14 по 18, а также срезы 20 и 23.
– Get current position (Получить текущую позицию)	Заимствует позицию с текущего дисплея в области изображения.
– Interval (Интервал)	Флажок установлен: включен режим интервалов. Отображается счетчик/поле ввода интервала. Введите желаемый интервал. Например, при значении «2» учитывается только каждое второе значение диапазона.
Region (Область)	Здесь можно указать, необходимо использовать целое изображение или только область (область интереса) входного изображения.

Параметр	Описание
– Full (Целое изображение)	При выборе этой опции для создания нового изображения используется целое изображение.
– Rectangle region (ROI) (Прямоугольная область)	Выбрав эту опцию, можно нарисовать прямоугольную область интереса, используемую для создания нового изображения. После выделения прямоугольной области можно просматривать и изменять ее координаты, редактируя поля ввода X/Y/W/H.
– Keep tiles (Удерживать мозаики)	Оказывает влияние, только если выделена область интереса (ROI). Флажок установлен: извлекает выделенную область вместе с цельными мозаиками. Эту настройку рекомендуется выбирать, если необходимо применить вычислительные функции деконволюции на результирующем изображении.

5.9.13.1.4 Раздел Export to...

Параметр	Описание
Export to (Экспорт в)	Путь к папке экспорта отображается автоматически в поле отображения. Для изменения пути к файлу нажмите кнопку  справа от поля отображения.

Приведенные ниже функции отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Параметр	Описание
Create folder (Создать папку)	Флажок установлен: создает отдельную папку с именем входного изображения.
Create xml file (Создать xml-файл)	Флажок установлен: создает два XML-файла с метаданными входного изображения. ■ Meta.xml содержит всю дополнительную информацию о входном изображении (например, настройки аппаратного обеспечения, измерения). ■ Info.xml содержит только дополнительную информацию об экспортированных отдельных изображениях (например, имена, измерения, размеры).
Generate zip file (Создать zip-файл)	Флажок установлен: создает ZIP-файл, в котором сохраняются все экспортируемые отдельные изображения, в том числе XML-файлы.

Параметр	Описание
Prefix (Префикс)	Здесь можно отредактировать заданный префикс или ввести новое имя. Имя исходного изображения указывается по умолчанию.

5.9.13.2 Экспорт видео

Функция Movie Export (Экспорт видео) позволяет экспортировать многомерные изображения (например, временные серии или изображения серии срезов по оси Z) в различные типы файлов в виде видеоряда с возможностью их использования в других программах.

Примечание

Если необходимо экспортировать **MOV**-файлы (H264 или MPEG4), загрузите приложение **FFmpeg** (например, здесь: <http://www.ffmpeg.org/> или здесь: <http://ffmpeg.zeranoe.com/blog/?p=178>). Скопируйте **ffmpeg.exe** в папку с файлом **ZEN.exe**.

5.9.13.2.1 Раздел File Type

Примечание

Для 32-разрядной операционной системы Windows доступен только режим **AVI (MS-Video1)**.

Параметр	Описание
Режим	Выберите необходимый режим. Для экспорта видео доступны следующие форматы. ■ AVI (сжатие M-JPEG) ■ AVI (без сжатия) ■ AVI (DV) ■ WMF (WindowsMedia) ■ MOV (H.264) ■ MOV (MPEG4) ■ AVI (MS-Video1)
Format (Формат)	Выберите необходимый формат. – Original Size (Исходный размер) Недоступно для файлов типа AVI (DV) и AVI (MS-Video1). Использует высоту и ширину входного изображения и устанавливает частоту в 5 кадр/с.

Параметр	Описание
– User-Defined (Определяемый пользователем)	Недоступно для файлов типа AVI (DV) и AVI (MS-Video1) . Введите необходимые значения в поля ввода Width (Ширина), Height (Высота) и Frame Rate (Частота кадров).
– 720x576/25f ps (PAL 576p/25)	Используется видеоразрешение PAL (Phase Alternating Line) с частотой кадров 25 кадр/с.
– 720x480/29.97fps (NTSC)	Используется видеоразрешение NTSC (National Television Systems Committee) с частотой кадров 29,97 кадр/с.
– 1280x720/50fps (HD 720p/50)	Недоступно для файлов типа AVI (DV) и AVI (MS-Video1) . Используется видеоразрешение HD (High Definition 720) с частотой кадров 25 кадр/с.
– 1920x1080/25fps (HD 1080p/25)	Недоступно для файлов типа AVI (DV) и AVI (MS-Video1) . Используется видеоразрешение HD (High Definition 1080) с частотой кадров 25 кадр/с.
– 1920x1080/ 29.97fps (HD 1080p/29.97)	Недоступно для файлов типа AVI (DV) и AVI (MS-Video1) . Используется видеоразрешение HD (High Definition 1080) с частотой кадров 29,97 кадр/с.
Width (Ширина)	Параметр активен, только если в выпадающем списке Format (Формат) выбрана опция User-Defined (Определяемый пользователем). Здесь можно ввести ширину изображения в пикселях (px).
Height (Высота)	Параметр активен, только если в выпадающем списке Format (Формат) выбрана опция User-Defined (Определяемый пользователем). Здесь можно ввести высоту изображения в пикселях (px).
Frame Rate (Частота кадров)	Параметр активен, только если в выпадающем списке Format (Формат) выбрана опция User-Defined (Определяемый пользователем). Здесь можно ввести частоту кадров (fps (кадр/с)).
Quality (Качество)	Отображается, только если в выпадающем списке Mode (Режим) выбран режим AVI (сжатие M-JPEG) или MOV .

Параметр	Описание
	Здесь можно задать качество изображения с помощью ползунка или счетчика/поля ввода. Это влияет на размер файла. Низкие значения приводят к появлению файлов очень малого размера, при этом качество изображения может быть значительно снижено.

5.9.13.2.2 Раздел Image Data

Приведенные ниже функции отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Параметр	Описание
Burn In Graphic (Запись графических элементов)	Флажок установлен: производится запись графических элементов на изображение. При этом пиксели под графическим элементом (например, масштабные линейки) перезаписываются. Записанные графические элементы изменить нельзя.
Merged channels image (Изображение с объединенными каналами)	Отображается только для многоканальных изображений. Флажок установлен: экспортирует псевдоцветное изображение всех выбранных каналов.
Individual Channels image (Изображение с отдельными каналами)	Отображается только для многоканальных изображений. Флажок установлен: экспортирует отдельное цветное изображение всех выбранных каналов.

i Примечание

Должен быть установлен по меньшей мере один из трех флажков. Если установлены флажки **Merged channels image** (Изображение с объединенными каналами) и **Individual Channel image** (Изображение с отдельными каналами), в один прием можно экспортировать отдельные цветные и псевдоцветные изображения.

5.9.13.2.3 Раздел Fitting

Приведенные ниже функции отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Параметр	Описание
Fitting (Подгонка)	Выберите здесь требуемый тип подбора.
– Fit All (Uniform) (Подогнать все (Обычное))	Изображение подгоняется под выбранное разрешение. Исходное соотношение сторон изображения сохраняется.
– Fit and Crop (Uniform to Fill) (Подогнать и обрезать (Однородное заполнение))	Изображение подгоняется под выбранное разрешение и обрезается. Исходное соотношение сторон изображения не сохраняется.
– Fit and Stretch (Fill) (Подогнать и растянуть (заполнение))	Изображение растягивается до выбранного разрешения. Исходное соотношение сторон изображения не сохраняется.

Параметр	Описание
– Crop (None) (Кадрирование (отсутствует))	Изображение обрезается по выбранному разрешению. Исходное соотношение сторон изображения сохраняется.

5.9.13.2.4 Раздел Sequence

Приведенные ниже функции отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Измените последовательность измерений, в которых требуется создать видеофайл.

Кнопка 

Перемещает выбранное измерение на одну строку вверх.

Кнопка 

Перемещает выбранное измерение на одну строку вниз.

5.9.13.2.5 Раздел Mapping

Параметр	Описание
Mapping (Картинирование)	Выберите способ обозначения изображений.
– Fixed Duration (Фиксированная продолжительнос ть)	С помощью ползунка или счетчика/поля ввода введите значение времени (в секундах) для каждого изображения. Общая продолжительность отображается в поле Final Movie Length (Полная длина видеофайла).
– 1 Frame per Image (1 кадр/изображение)	Одному кадру соответствует одно изображение.
Image count (Число изображений)	Число изображений указывается в поле ввода.
Final Movie Length (Полная длина видеофайла)	Указывает полную длину результирующего видеофайла, зависящую от выбранной последовательности и временного обозначения изображения.

5.9.13.2.6 Раздел Dimensions

Приведенные ниже функции отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Параметр	Описание
Use Full Set of Dimensions (Использовать полный набор измерений)	Выберите, если необходимо экспортировать все измерения без внесения изменений.
Define Subset (Определить поднабор)	Выберите, если требуется экспортировать только отдельные измерения или поднаборы отдельных измерений.

i Примечание

Каждый раздел, описанный ниже, отображается только в том случае, если входное изображение имеет соответствующее измерение.

Параметр	Описание
Channels (Каналы)	Здесь можно выбрать используемые каналы входного изображения. По умолчанию выбраны все каналы. Для отмены выбора канала нажмите на кнопку соответствующего канала.
Z-Position, Time, Block (Позиция по оси Z, Время, Блок)	Здесь можно выбрать части входного изображения, используемые для получения результирующего изображения.
– Extract All (Извлечь все)	Этот параметр позволяет извлечь все части соответствующего изображения.
– Extract Single (Извлечь отдельное изображение)	Этот параметр позволяет извлечь отдельное изображение.
– Extract Range (Извлечь диапазон)	Этот параметр позволяет извлечь определенный диапазон изображений.
– Extract Multiple (Извлечь множество)	Этот параметр позволяет выбрать несколько непрерывных диапазонов и отдельных срезов. Введите в поле ввода один или несколько срезов, которые необходимо выбрать. Для этого введите первый срез, за которым следует знак «минус», и затем последний срез. Если вы желаете определить интервал, то после последнего среза поставьте двоеточие и затем укажите интервал. Запись «2-10:2» означает, что от среза 2 до среза 10 выбран каждый второй срез. Если требуется указать еще один срез, после первого среза поставьте запятую. Также можно выбирать отдельные срезы, разделяя их запятыми. Запись «2-10:2,14-18,20,23» означает, что выбран каждый второй срез, со среза 2 по срез 10, за которыми следуют срезы с 14 по 18, а также срезы 20 и 23.
– Get current position (Получить текущую позицию)	Заимствует позицию с текущего дисплея в области изображения.
– Interval (Интервал)	Флажок установлен: включен режим интервалов. Отобразится счетчик/поле ввода интервала. Введите желаемый интервал. Например, при значении «2» учитывается только каждое второе значение диапазона.
Region (Область)	Здесь можно указать, необходимо использовать целое изображение или только область (область интереса) входного изображения.

Параметр	Описание
– Full (Целое изображение)	При выборе этой опции для создания нового изображения используется целое изображение.
– Rectangle region (ROI) (Прямоугольная область)	Выбрав эту опцию, можно нарисовать прямоугольную область интереса, используемую для создания нового изображения. После выделения прямоугольной области можно просматривать и изменять ее координаты, редактируя поля ввода X/Y/W/H.
– Keep tiles (Удерживать мозаики)	Оказывает влияние, только если выделена область интереса (ROI). Извлекает выделенную область вместе с цельными мозаиками. Эту настройку рекомендуется выбирать, если необходимо применить вычислительные функции деконволюции на результирующем изображении.

5.9.13.2.7 Раздел Export to...

Параметр	Описание
Export to (Экспорт в)	Путь к папке экспорта отображается автоматически в поле отображения. Для изменения пути к файлу нажмите кнопку  справа от поля отображения.

Параметр	Описание
Prefix (Префикс)	Здесь можно отредактировать заданный префикс или ввести новое имя. Имя исходного изображения указывается по умолчанию.

5.9.13.3 Раздел OME TIFF Export

С помощью функции **OME TIFF Export** (Экспорт в OME TIFF) можно экспортировать изображения в формате OME TIFF (для загрузки в Открытую микроскопную среду, от англ. Open Microscopy Environment) для последующего использования изображений в других программах. После этого изображения будут доступны в виде многостраничного TIFF-файла.

5.9.13.3.1 Раздел Image Format

Параметр	Описание
Resize (Изменение размера)	Настройка размера изображения (в процентах) производится с помощью ползунка или счетчика/поля ввода.
Приведенные ниже параметры отображаются только в режиме Show All (Показать все).	
BigTIFF	Флажок установлен: создает изображение в формате BigTIFF, размер которого может превышать 4 Гб, и использует 64-битный сдвиг.

Параметр	Описание
Compress (Сжатие)	Флажок установлен: выполняет внутреннее сжатие TIFF-файла.
Use Tiles (Использование мозаик)	Флажок установлен: выполняет внутреннее разбиение изображения на мозаики. Обратите внимание, что эта опция рекомендуется для изображений больших размеров, поскольку некоторые программы считывания TIFF-изображений не поддерживают большие изображения.
Shift Pixel (Сдвиг пикселей)	Флажок установлен: сдвигает значение серого тона 10-битного или 12-битного изображения до 16-битного.
Merge All Scenes (Объединение всех сцен)	Флажок установлен: генерирует одно изображение, включающее все сцены. Если флажок убран, генерирует изображения с отдельными сценами.

5.9.13.3.2

Раздел Image Data

Приведенные ниже функции отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Параметр	Описание
Original Data (Исходные данные)	Флажок установлен: экспортирует изображение с исходными цветами каналов и исходной кривой характеристик отображения.
Apply Display Curve and Channel Color (Применить кривую отображения и цвет канала)	Флажок установлен: экспортирует изображение с измененными настройками цвета канала и кривой характеристик отображения. Эти настройки применяются к значениям пикселей экспортируемых изображений. Они исключительно важны, если необходимо использовать темные изображения с динамическим диапазоном более 8 бит в других программах.
Burn In Graphics (Запись графических элементов)	Флажок установлен: производится запись графических элементов на изображение. При этом пиксели под графическим элементом (например, масштабные линейки) перезаписываются. Записанные графические элементы изменить нельзя.

5.9.13.3.3

Раздел Dimensions

Приведенные ниже функции отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Параметр	Описание
Use Full Set of Dimensions (Использовать полный набор измерений)	Выберите, если необходимо экспортировать все измерения без внесения изменений.
Define Subset (Определить поднабор)	Выберите, если требуется экспортировать только отдельные измерения или поднаборы отдельных измерений.

1 Примечание

Каждый раздел, описанный ниже, отображается только в том случае, если входное изображение имеет соответствующее измерение.

Параметр	Описание
Channels (Каналы)	Здесь можно выбрать используемые каналы входного изображения. По умолчанию выбраны все каналы. Для отмены выбора канала нажмите на кнопку соответствующего канала.
Z-Position, Time, Block (Позиция по оси Z, Время, Блок)	Здесь можно выбрать части входного изображения, используемые для получения результирующего изображения.
– Extract All (Извлечь все)	Этот параметр позволяет извлечь все части соответствующего изображения.
– Extract Single (Извлечь отдельное изображение)	Этот параметр позволяет извлечь отдельное изображение.
– Extract Range (Извлечь диапазон)	Этот параметр позволяет извлечь определенный диапазон изображений.
– Extract Multiple (Извлечь множество)	Этот параметр позволяет выбрать несколько непрерывных диапазонов и отдельных срезов. Введите в поле ввода один или несколько срезов, которые необходимо выбрать. Для этого введите первый срез, за которым следует знак «минус», и затем последний срез. Если вы желаете определить интервал, то после последнего среза поставьте двоеточие и затем укажите интервал. Запись «2-10:2» означает, что от среза 2 до среза 10 выбран каждый второй срез. Если требуется указать еще один срез, после первого среза поставьте запятую. Также можно выбирать отдельные срезы, разделяя их запятыми. Запись «2-10:2,14-18,20,23» означает, что выбран каждый второй срез, со среза 2 по срез 10, за которыми следуют срезы с 14 по 18, а также срезы 20 и 23.
– Get current position (Получить текущую позицию)	Заимствует позицию с текущего дисплея в области изображения.
– Interval (Интервал)	Флажок установлен: включен режим интервалов. Отобразится счетчик/поле ввода интервала. Введите желаемый интервал. Например, при значении «2» учитывается только каждое второе значение диапазона.
Region (Область)	Здесь можно указать, необходимо использовать целое изображение или только область (область интереса) входного изображения.

Параметр	Описание
– Full (Целое изображение)	При выборе этой опции для создания нового изображения используется целое изображение.
– Rectangle region (ROI) (Прямоугольная область)	Выбрав эту опцию, можно нарисовать прямоугольную область интереса, используемую для создания нового изображения. После выделения прямоугольной области можно просматривать и изменять ее координаты, редактируя поля ввода X/Y/W/H.
– Keep tiles (Удерживать мозаики)	Оказывает влияние, только если выделена область интереса (ROI). Флажок установлен: извлекает выделенную область вместе с цельными мозаиками. Эту настройку рекомендуется выбирать, если необходимо применить вычислительные функции деконволюции на результирующем изображении.

5.9.13.3.4 Раздел Export to...

Параметр	Описание
Export to (Экспорт в)	Путь к папке экспорта отображается автоматически в поле отображения. Для изменения пути к файлу нажмите кнопку  справа от поля отображения.
Prefix (Префикс)	Здесь можно отредактировать заданный префикс или ввести новое имя. Имя исходного изображения указывается по умолчанию.

5.9.13.4 Экспорт в ZVI-формат

С помощью функции **ZVI Export** (Экспорт в ZVI-формат) можно экспортировать изображения в ZVI-формат для последующего использования в ПО AxioVision.

5.9.13.4.1 Раздел Export to...

Параметр	Описание
Export to (Экспорт в)	Путь к папке экспорта отображается автоматически в поле отображения. Для изменения пути к файлу нажмите кнопку  справа от поля отображения.

Параметр	Описание
Prefix (Префикс)	Здесь можно отредактировать заданный префикс или ввести новое имя. Имя исходного изображения указывается по умолчанию.

5.9.13.5 Импорт изображения

С помощью функции **Image Import** (Импорт изображения) можно создавать многомерные изображения (многоканальные, серии срезов по оси Z, покадровой съемки, мозаичные, позиционные изображения) из отдельных изображений. Отдельные изображения могут иметь любой из внешних форматов, поддерживаемых ZEN (см. ниже). Результирующее изображение можно затем сохранить в формате **CZI** и далее обработать, используя функции, доступные в ZEN.

Поддерживаемые типы файлов:

- JPG.
- BMP.
- TIFF.
- PNG.
- GIF.
- Изображения DeltaVision.
- Изображения MetaFluor.
- Многостраничные изображения.

Параметры

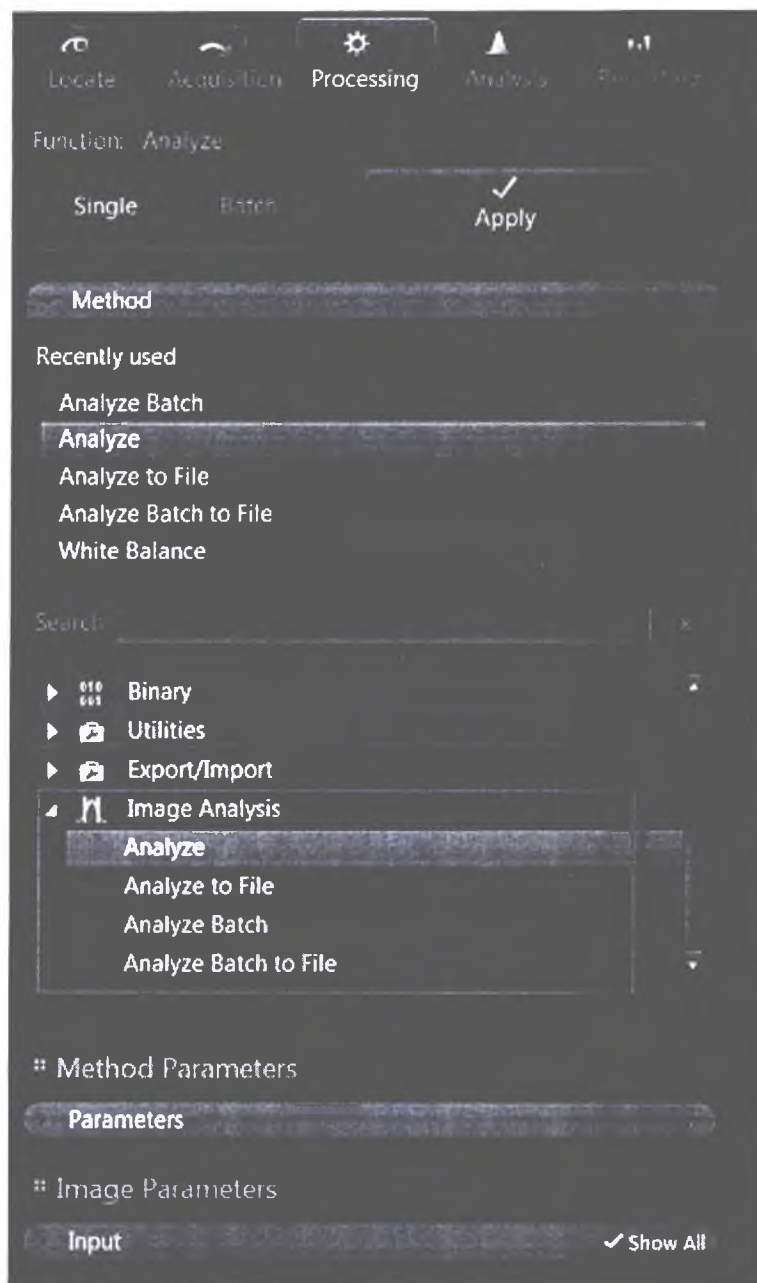
Параметр	Описание
Multichannel (Многоканальные)	Флажок установлен: активирует настройки для импорта многоканальных изображений. Отрегулируйте настройки импорта многоканальных изображений (см. список ниже).
– Use Channel Name as Identifier (Использовать имя канала как идентификатор)	Флажок установлен: использует имя, указанное в столбце Name (Имя), для идентификации канала. Имя канала появится в поле предварительного просмотра в разделе Specify the Identifiers (Определение идентификаторов). Флажок убран: активирует столбцы Identifier (Идентификатор), Start Index (Начальный индекс) и Interval (Интервал) в разделе Specify the Identifiers (Определение идентификаторов).
Z-Stack (Серия срезов по оси Z)	Флажок установлен: активирует настройки импорта изображений серии срезов по оси Z. Отрегулируйте настройки импорта изображений серии срезов по оси Z (см. список ниже).

Параметр	Описание
– Interval (Интервал)	Здесь вводится расстояние (в мкм) между отдельными срезами. Из этого значения и числа срезов автоматически вычисляется общая высота серии срезов по оси Z.
– Slices (Срезы)	Здесь вводится число срезов в серии срезов по оси Z.
– Range (Диапазон)	Здесь вводится общая высота (диапазон) серии срезов по оси Z (в мкм). Из этой величины и числа срезов автоматически вычисляется расстояние между отдельными сериями срезов по оси Z и отображается в поле Interval (Интервал).
– Extended Microscope Parameters (Дополнительные параметры микроскопа)	Активирует дополнительные параметры, необходимые для последующей обработки импортированного изображения (например, для деконволюции): ■ Magnification (Увеличение): Здесь выбирается увеличение объектива, которое использовалось для получения изображения. ■ Aperture (Апертура): Здесь вводится значение числовой апертуры объектива, которая использовалась для получения изображения. ■ Immersion (Иммерсионная среда): Здесь выбирается иммерсионная среда, которая использовалась для получения изображения.
Временные серии	Флажок установлен: активирует настройки импорта изображений временной серии.
– Interval (Интервал)	Здесь вводится величина интервала между отдельными временными точками. Выберите единицы времени из выпадающего списка справа от поля ввода.
→ Cycles (Циклы)	Здесь вводятся настройки циклов временной серии. В зависимости от выбранного параметра введенное значение влияет на продолжительность/интервал.
– Duration (Продолжительность)	Здесь можно задать продолжительность всей временной серии. Выберите единицы времени из выпадающего списка справа от поля ввода. Число временных точек указывается в поле ввода Time Points (Временные точки).
Tiles (Мозаики)	Флажок установлен: активирует настройки для импорта мозаичных изображений.
– Columns (Столбцы)	Здесь вводится число столбцов мозаичного изображения.

Параметр	Описание
– Overlap (Перекрытие)	Здесь вводится процентное значение перекрытия мозаик.
– Rows (Ряды)	Здесь вводится число рядов мозаичного изображения.
– Meander (Меандр)	Выберите эту опцию, если импортируемые изображения были получены в режиме получения/распространения меандра.
– Comb (Гребень)	Выберите эту опцию, если импортируемые изображения были получены в режиме получения/распространения гребня.
Positions (Позиции)	Флажок установлен: активирует настройки импорта изображений отдельных позиций.
Scalings (Масштабирование)	Чтобы развернуть этот раздел, нажмите кнопку 
– Use Current Scaling (Использовать текущее масштабирование)	Использует выбранное геометрическое масштабирование и отображает в соответствующем поле значения Scale (X) (Шкала (X)) и Scale (Y) (Шкала (Y)) в используемых единицах измерения.
– Define scaling (Определить масштабирование)	Введите необходимые значения в поле ввода Scale (X) (Шкала (X)) и счетчике/поле ввода Scale (Y) (Шкала (Y)). В выпадающем списке справа от каждого поля ввода выберите единицы масштабирования.
Automatic (Автоматически)	При выборе этого параметра выполняется автоматический импорт всех изображений в папке импорта.
– Import From (Импортировать из)	Здесь выбирается папка импорта. Для выбора папки нажмите кнопку  справа от поля отображения. Имена изображений отображаются в списке File Name (Имя файла) под полем отображения.
Sequential (Последовательный)	При выборе этого параметра последовательность изображений импортируется в определенном порядке (например, измерения изображения, закодированные с помощью чисел в имени изображения).
– Import From (Импортировать из)	Здесь можно импортировать изображения в соответствии со списком файлов (File List) или многостраничным изображением (Multi page image). Нажмите кнопку  справа от поля отображения. Имена изображений отображаются в списке File Name (Имя файла) под полем отображения.
Specify the Identifiers (Определить идентификаторы)	Здесь можно ввести и проверить все настройки, необходимые для идентификации изображений.

5.9.14 Анализ изображений

В группе **Image Analysis** (Анализ изображений) доступны четыре варианта анализа изображений в одиночном и пакетном режимах. Данные измерений могут быть включены в изображение или сохранены в списке данных *csv.



Анализ

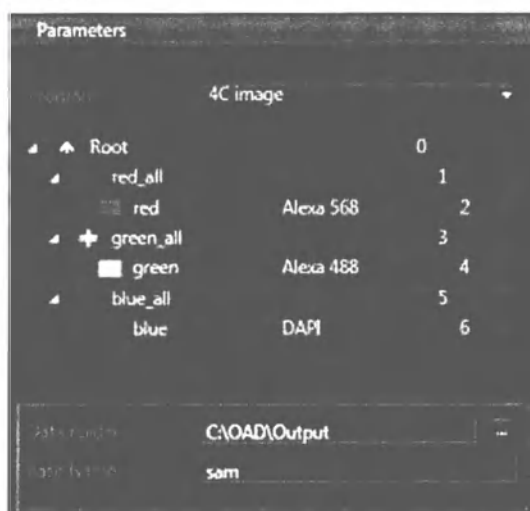
Функция **Analyze** (Анализ) применима только к одному изображению: его следует выбрать в инструменте **Input** (Входное изображение). Данные измерений включаются в изображение.

Анализ в файл

Функция **Analyze** (Анализ) применима только к одному изображению: его следует выбрать в инструменте **Input** (Входное изображение). Данные измерений сохраняются в списке данных ***csv** и не включаются в изображение.

Поддерживаются следующие типы файлов:

- CZI.
- ZVI.
- BMP.
- TIF.
- JPG.



Параметр	Описание
Data Folder (Папка данных)	Папка, в которой сохраняются списки данных *csv .
Base Name (Основное имя)	Имя списка данных.

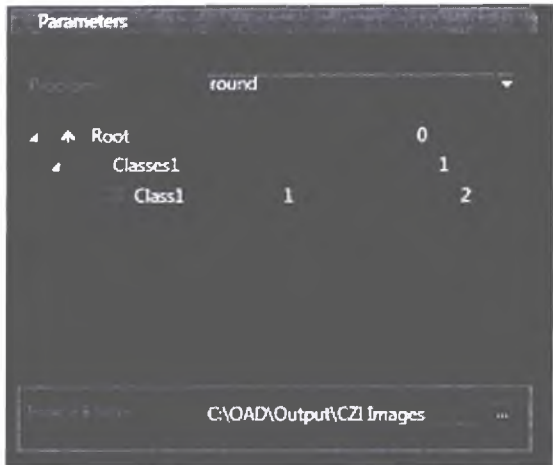
Пакетный анализ

Функция **Analyze Batch** (Пакетный анализ) позволяет выполнять анализ всех изображений, сохраненных в папке.

Примечание

Функция **Analyze Batch** (Пакетный анализ) может применяться только к изображениям типа ***czi**.

Данные измерений включаются в каждое исходное изображение.



Параметр	Описание
Image Folder (Папка с изображениями)	Папка с изображениями *czi, подлежащими измерению.

Пакетный анализ в файл

Функция Analyze Batch to File (Пакетный анализ в файл) позволяет анализировать все изображения в папке. Данные измерений сохраняются в списке данных *csv и не включаются в изображение.

Поддерживаются следующие типы файлов:

- CZI.
- ZVI.
- BMP.
- TIF.
- JPG.



Параметр	Описание
Image Folder (Папка с изображениями)	Папка с изображениями, подлежащими измерению.
Data Folder (Папка данных)	Папка, в которой сохраняются списки данных *csv.
Base Name (Основное имя)	Имя списка данных.
Append Data (Добавление данных)	Флажок установлен: для каждого класса сохраняется сборный список данных *csv, содержащий данные измерений всех изображений. Флажок убран: для каждого изображения сохраняется один список данных на класс.

6 Анализ изображений

6.1 Измерение интенсивности флуоресценции в многоканальном изображении

Этот раздел содержит инструкции по настройке программы измерений с помощью мастера анализа изображений (Image Analysis Wizard). После чего программа может быть использована для измерения интенсивности флуоресценции в многоканальном изображении.

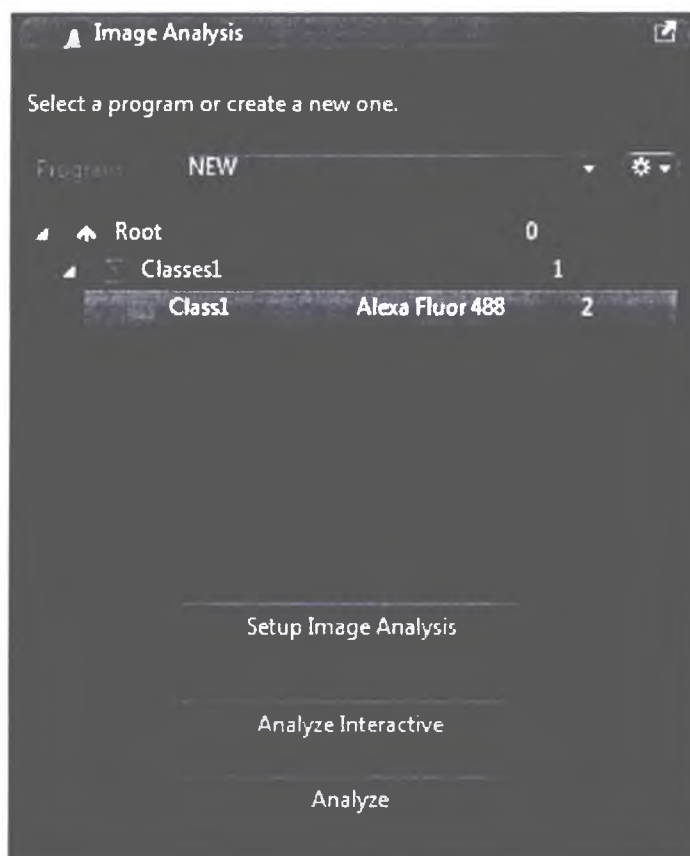
В качестве примера используем многоканальное изображение с двумя каналами (1-й канал — синий, DAPI / 2-й канал — красный, mRFP1) меченых флуоресцентным красителем клеток. Сначала определим меченые синим ядра клеток в первом канале. Затем измерим интенсивность флуоресценции обоих каналов этого канала.

Настройка программы измерений с помощью мастера анализа изображений

Необходимые предварительные условия ■ Открыто многоканальное изображение.

■ Выбрана вкладка **Analysis** (Анализ).

Порядок действий 1 Откройте инструмент **Image Analysis** (Анализ изображений).



2 Откройте меню  **Options** (Опции).

3 Нажмите на строку **New** (Новый) и введите имя вашей программы измерений.

4 Для сохранения программы нажмите кнопку  **Save** (Сохранить).

5 Нажмите кнопку **Setup Image Analysis** (Настроить анализ изображения).

Откроется Мастер анализа изображения (**Image Analysis Wizard**). В левой части экрана будут отображаться настройки семи этапов процесса конфигурации.

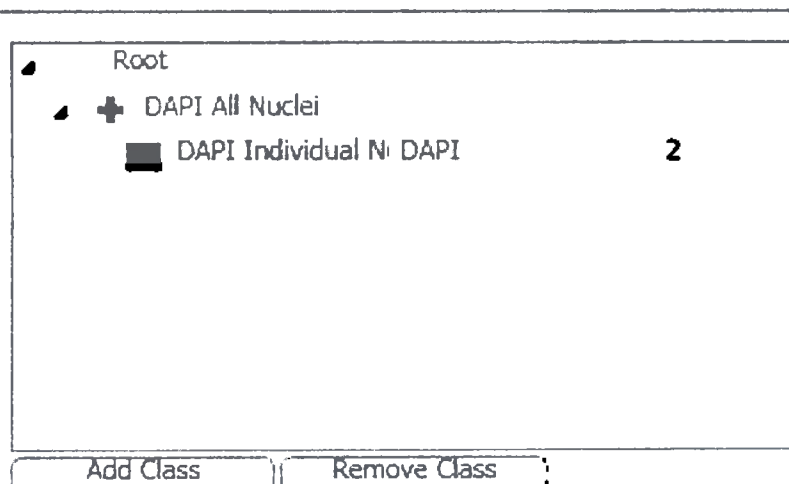
Шаг 1. Classes (Классы)

Порядок действий

1 Выберите из списка **Class1** (Класс 1) и введите **DAPI Individual Nuclei** (Окрашивание отдельных ядер DAPI) в поле ввода **Name** (Имя).

2 Выберите из списка **Classes 1** (Классы 1) и введите **DAPI All Nuclei** (Окрашивание всех ядер DAPI) в поле ввода **Name** (Имя).

1 Classes



Name DAPI Individual Nuclei

Channel DAPI

Color

3 Нажмите кнопку **Next** (Далее).

Шаг 2. Measurement frame (Измерение фрейма)

Порядок действий

1 Снимите флажок **Interactive** (Интерактивно).

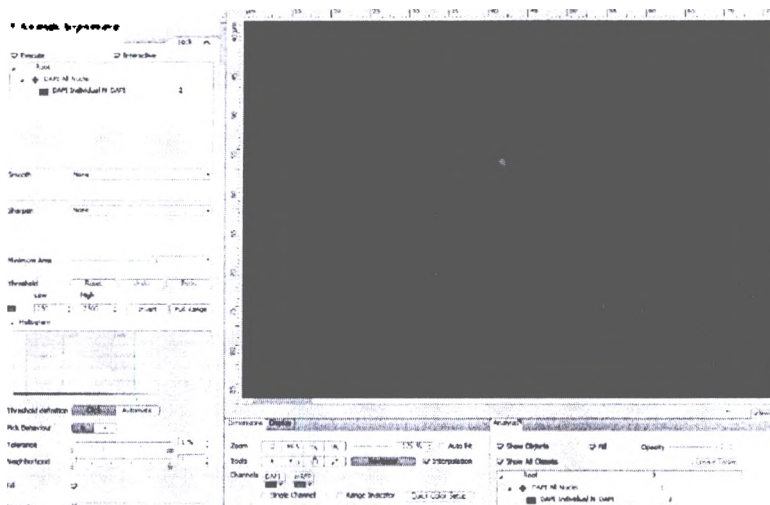
2 Нажмите кнопку **Next** (Далее).

Шаг 3. Automatic segmentation (Автоматическая сегментация)

Порядок действий

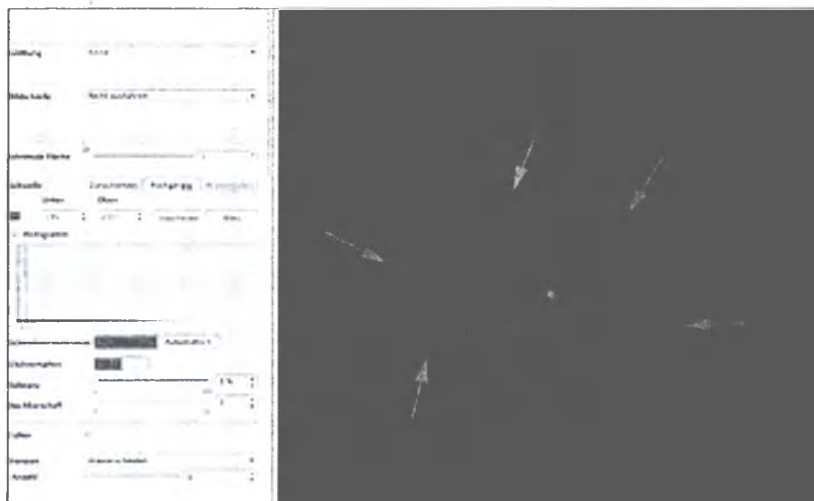
- 1 Выберите в списке строку **DAPI Individual Nuclei** (Окрашивание отдельных ядер DAPI).
- 2 В разделе **Threshold** (Пороговое значение) установите значение параметра **Tolerance** (Отклонение) на 1%.
- 3 Нажмите на меченые синим ядра клеток на изображении.

Обнаруженные ядра окрасятся в синий цвет. Пороговые значения отображаются в разделе **Threshold** (Порог) в полях ввода **Lower** (Нижний) / **Upper** (Верхний).



- 4 Нажимайте на области меченых синим клеточных ядер, которые не были обнаружены, до их полного окрашивания в синий цвет.
- 5 Установите флажок **Fill** (Заполнение).
Все отверстия обнаруженных клеточных ядер будут заполнены.
- 6 В выпадающем списке раздела **Separate** (Разделить) выберите **Watersheds** (Водоразделы) и задайте значение «3».

Между клеточными ядрами теперь отображаются четкие разделительные линии.



7 Нажмите кнопку **Next** (Далее).

Шаг 4. Condition (Условие)

- | | |
|------------------|--|
| Порядок действий | 1 Снимите флажок Execute (Выполнить). |
| | 2 Нажмите кнопку Next (Далее). |

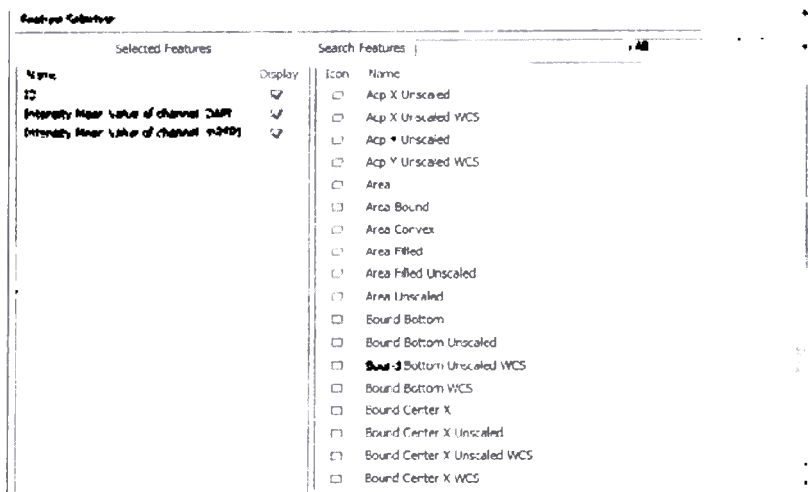
Шаг 5. Interactive segmentation (Интерактивная сегментация)

- | | |
|------------------|---|
| Порядок действий | 1 Снимите флажок Interactive (Интерактивно). |
| | 2 Нажмите кнопку Next (Далее). |

Шаг 6. Measurement features (Свойства измерения)

- | | |
|------------------|---|
| Порядок действий | 1 Выберите в списке строку DAPI Individual Nuclei (Окрашивание отдельных ядер DAPI). |
| | 2 В разделе Region Features (Свойства области) нажмите кнопку Edit (Редактировать). |
| | Откроется диалоговое окно Feature Selection (Выбор свойств). |
| | 3 Последовательно дважды щелкните по Mean Value (Средняя величина), Intensity Mean Value of channel 'DAPI' (Средняя величина интенсивности канала 'DAPI') и Intensity Mean Value of channel 'mRFP1' (Средняя величина интенсивности канала 'mRFP1'). |
| | Свойства отобразятся в списке Selected Features (Выбранные свойства) слева. |
| | 4 Удалите из списка ненужные свойства (например, Area (Площадь), Perimeter (Периметр)). Выберите свойство и нажмите на кнопку  Delete (Удалить). |

5 Установите флажок **Display** (Отобразить) для отображения свойств.



6 Нажмите **OK**.

Выбранные свойства отобразятся в разделе **Region Features** (Свойства области).

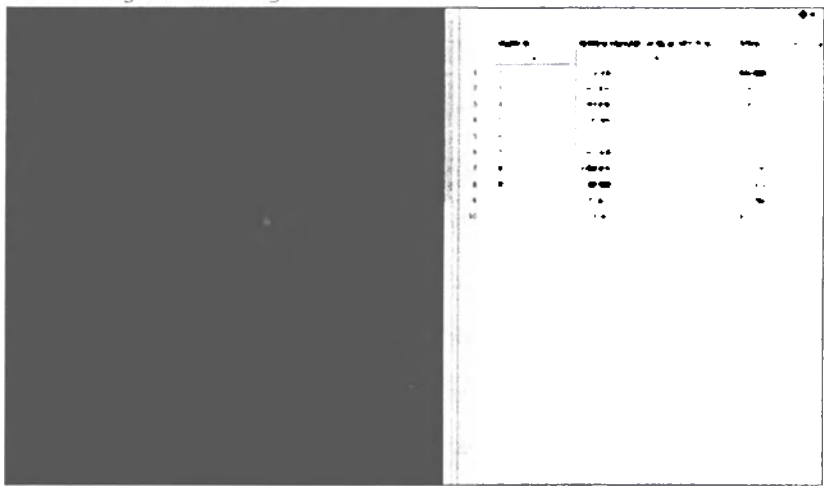
7 Нажмите кнопку **Next** (Далее).

Шаг 7. Measurement (Измерения)

Порядок действий

1 Выберите в списке **DAPI All Nuclei** (Окрашивание всех ядер DAPI).
Число измеренных клеточных ядер отобразится в таблице данных справа от изображения.

2 Выберите в списке **DAPI Individual Nuclei** (Окрашивание отдельных ядер DAPI).
На изображении в рассматриваемых клеточных ядрах и в списке данных справа от изображения отобразятся номер объекта и значения усредненной интенсивности флуоресценции на канал.



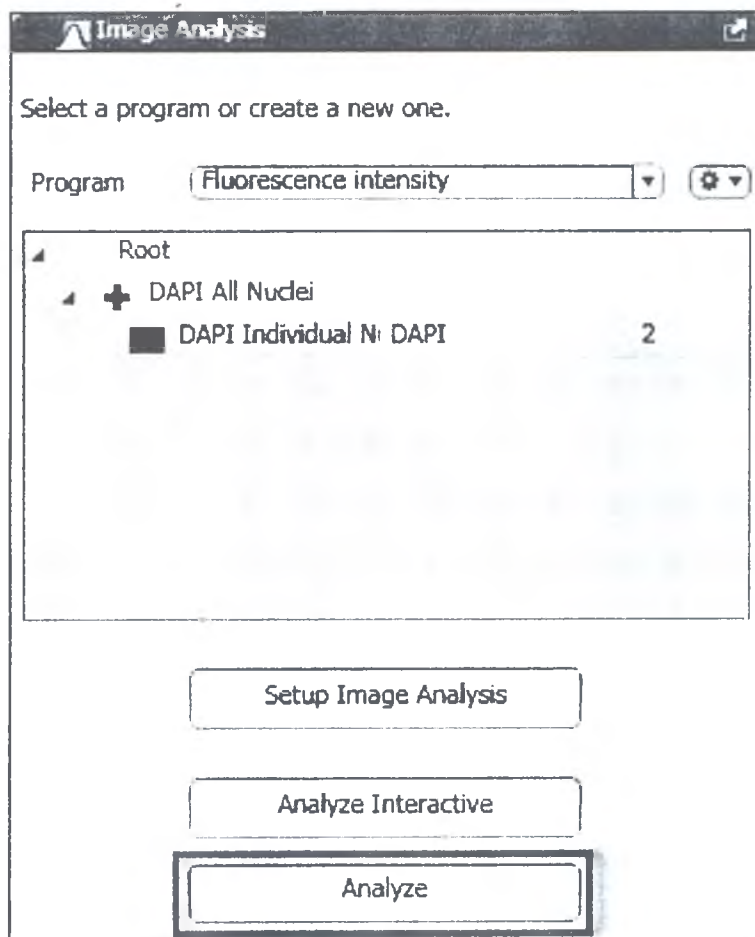
3 Нажмите кнопку **Finish** (Готово).
Программа измерений сохранена.

Выполнение программы измерений

Необходимые предварительные условия ■ Открыт инструмент **Image Analysis** (Анализ изображений).

■ Загружена созданная программа измерений.

Порядок действий 1 Нажмите кнопку **Analyze** (Анализировать).

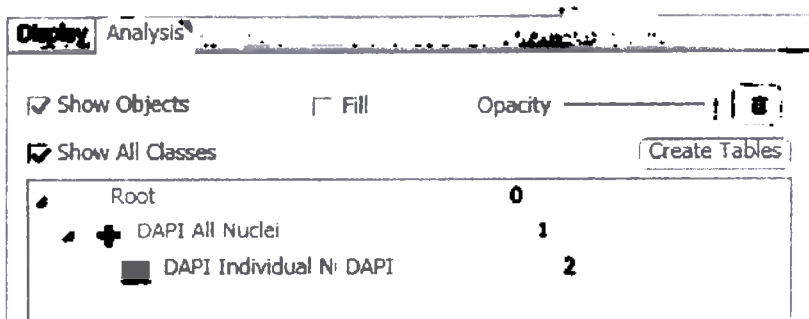


К изображению будет применена программа измерений.

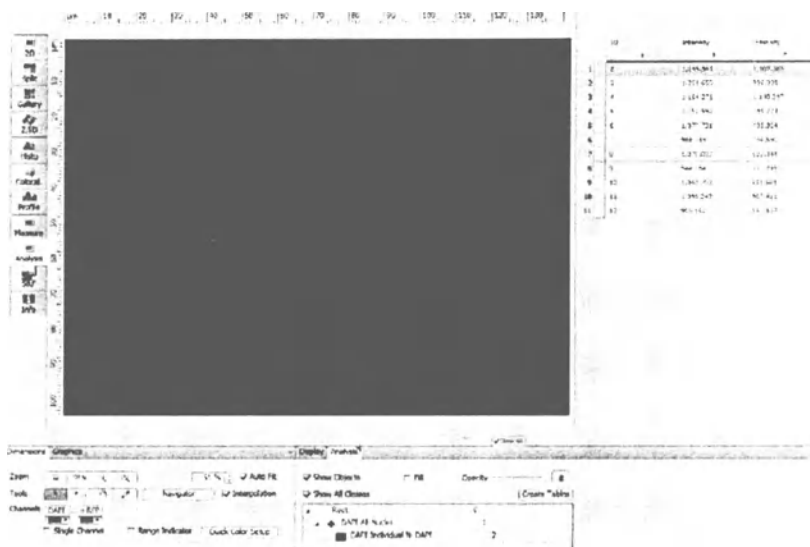
Окно просмотра анализа (**Analysis View**) также появится в центральной области экрана.

2 В окне просмотра анализа (**Analysis View**) отобразится изображение с измеренными клеточными ядрами, окрашенными в синий цвет, а справа от него — список данных с отдельными измерениями.

- 3 В элементе управления **Analysis** (Анализ) снимите флажок **Fill** (Заполнение).



Отобразятся контуры выделенных клеточных ядер.



- 4 Нажмите на ряд в списке данных или же на ядро клетки на изображении.

В списке данных будет выделен ряд, содержащий результаты измерений. Связанное с выделенным рядом клеточное ядро будет отмечено красным прямоугольником.

Примечание

Измеренные клеточные ядра связаны напрямую с результатами измерений в таблице данных. Вы можете нажать либо на измеренное клеточное ядро на изображении, либо на ряд в таблице данных.

Создание таблицы результатов измерений

Порядок действий

- Во вкладке **Analysis** (Анализ) нажмите на кнопку **Create Measurement Data Table** (Создать таблицу результатов измерений). Два списка данных станут отдельными документами и будут удалены с изображения.
- Сохраните каждый список данных при помощи меню **File | Save As** (Файл | Сохранить как). Присвойте имя и выберите тип файла **.csv**.

Таблицы результатов измерений сохраняются в формате **CSV** и, следовательно, могут быть открыты непосредственно в Excel.

- 3 Нажмите на изображение и сохраните при помощи меню **File | Save as** (Файл | Сохранить как). Присвойте имя и выберите тип файла **.czi**.

Изображение будет сохранено вместе с результатами измерений. После открытия изображения результаты измерений можно просмотреть в окне **Analysis View** (Просмотр анализа).

6.2 Подсчет числа флуоресцентных каналов на ядра

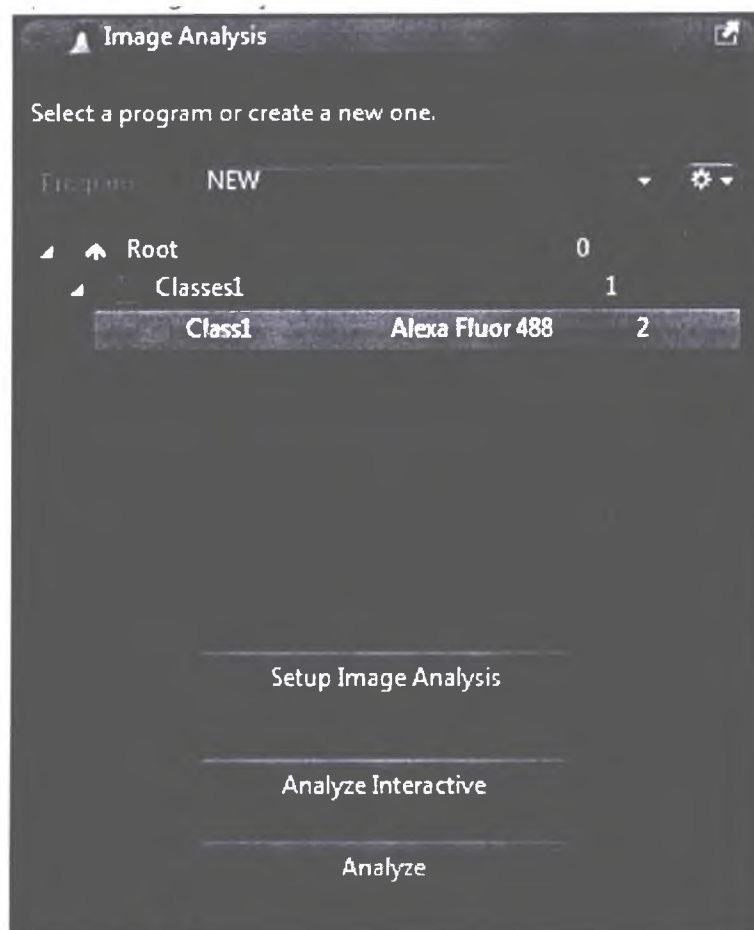
Этот раздел содержит инструкции по настройке программы измерений с помощью мастера анализа изображений (Image Analysis Wizard). После чего программа может быть использована для подсчета флуоресцентных пятен в многоканальном изображении. В качестве примера используем многоканальное изображение с двумя каналами (1-й канал — синий, DAPI / 2-й канал — зеленый, GFP) меченых флуоресцентным красителем клеток. Сначала обнаружим меченые синим ядра клеток в первом канале, а затем — меченые зеленым сигналы во втором канале. Затем измерим число зеленых флуоресцентных сигналов на ядро.

Настройка программы измерений с помощью мастера анализа изображений

Необходимые предварительные условия ■ Открыто многоканальное изображение.

- Выбрана вкладка **Analysis** (Анализ).

Порядок действий 1 Откройте инструмент **Image Analysis** (Анализ изображения).



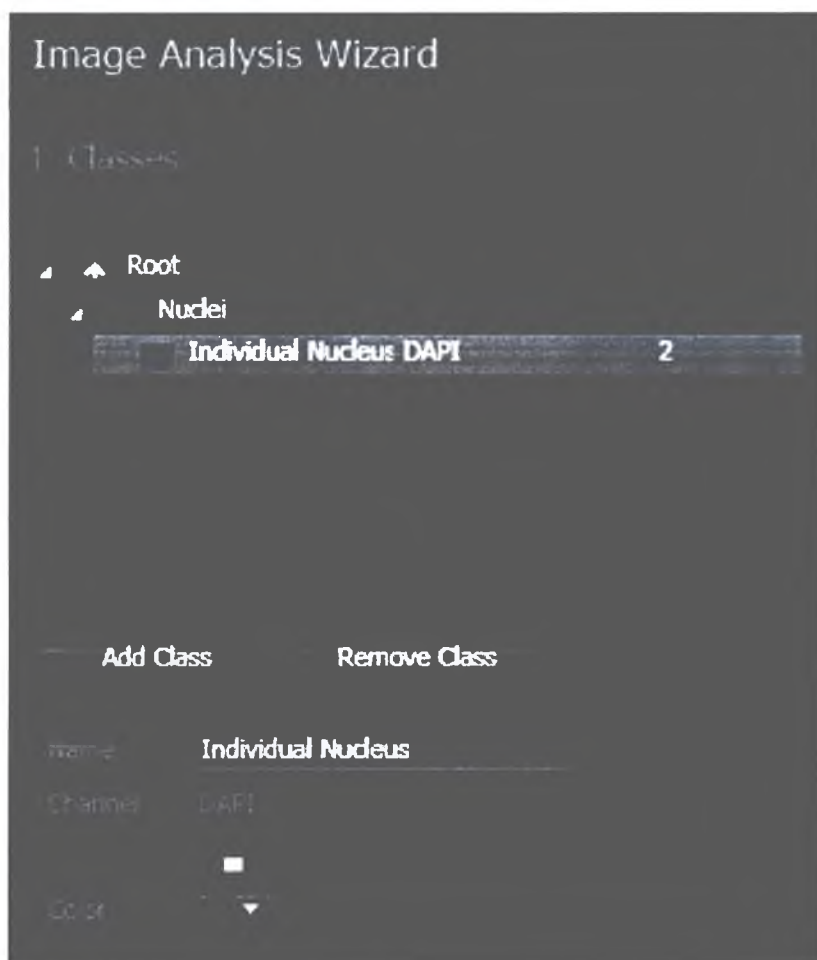
- 2 Откройте  контекстное меню **Options** (Опции).
- 3 Нажмите на строку **New** (Новый) и введите имя вашей программы измерений.
- 4 Для сохранения программы нажмите кнопку  **Save** (Сохранить).
- 5 Нажмите кнопку **Setup Image Analysis** (Настроить анализ изображения).

Откроется **мастер анализа изображений** (Image Analysis Wizard). В левой части экрана будут отображаться настройки семи этапов процесса конфигурации.

Шаг 1. Classes (Классы)

- Порядок действий
- 1 Выберите из списка **Classes1** и введите **Nuclei** (Ядра) в поле ввода **Name** (Имя).
 - 2 В выпадающем списке раздела **Color** (Цвет) выберите синий цвет.
 - 3 Выберите в списке строку **Class1** и введите **Individual Nucleus** (Отдельное ядро) в поле ввода **Name** (Имя).

- 4 Нажмите на синюю иконку канала в разделе **Channel** (Канал).

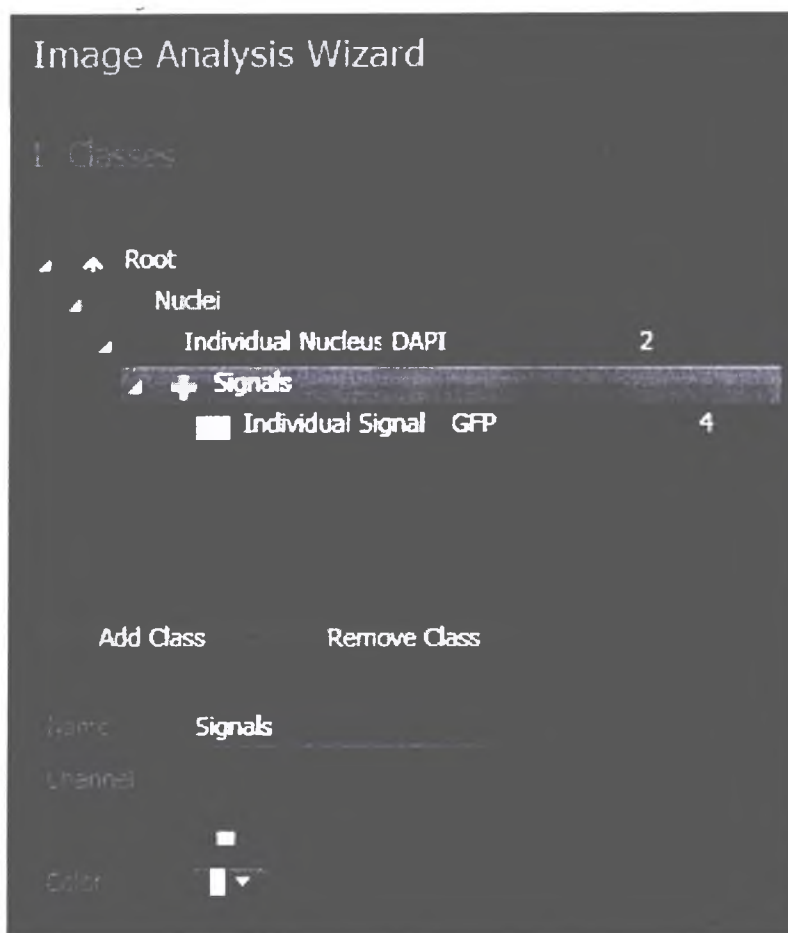


Вы настроили классовую пару для ядер.

Порядок действий

- 1 Нажмите кнопку **Add Class** (Добавить класс).
- 2 Выберите из списка **Classes3** и введите **Signals** (Сигналы) в поле ввода **Name** (Имя).
- 3 В выпадающем списке раздела **Color** (Цвет) выберите зеленый цвет.
- 4 Выберите в списке строку **Class3** и введите **Individual Signal** (Отдельный сигнал) в поле ввода **Name** (Имя).

- 5 Нажмите на зеленую иконку канала в разделе **Channel** (Канал).



Вы настроили классовую пару (дочерний класс) для сигналов внутри класса Individual Nucleus (Отдельное ядро) (родительский класс).

Порядок действий

- 1 Нажмите кнопку **Next** (Далее).

Шаг 2. Measurement frame (Измерение фрейма)

Порядок действий

- 1 Снимите флажок **Interactive** (Интерактивно).
- 2 Нажмите кнопку **Next** (Далее).

Шаг 3. Automatic segmentation (Автоматическая сегментация)

Порядок действий

- 1 Выберите в списке строку **Individual Nucleus** (Отдельное ядро).
Под списком отобразятся параметры сегментации (**Smooth** (Сглаживание), **Sharpen** (Усиление резкости), **Minimum Area** (Минимальная площадь) и т. д.).
- 2 В выпадающем списке раздела **Smooth** (Сглаживание) выберите опцию **Gauss** (По Гауссу) и установите параметр **Sigma** (Сигма) на **1.5**.
- 3 Нажмите на меченые синим ядра клеток на изображении.

Обнаруженные ядра окрасятся в синий цвет. Пороговые значения отображаются в разделе **Threshold** (Порог) в полях ввода **Lower** (Нижний) / **Upper** (Верхний).

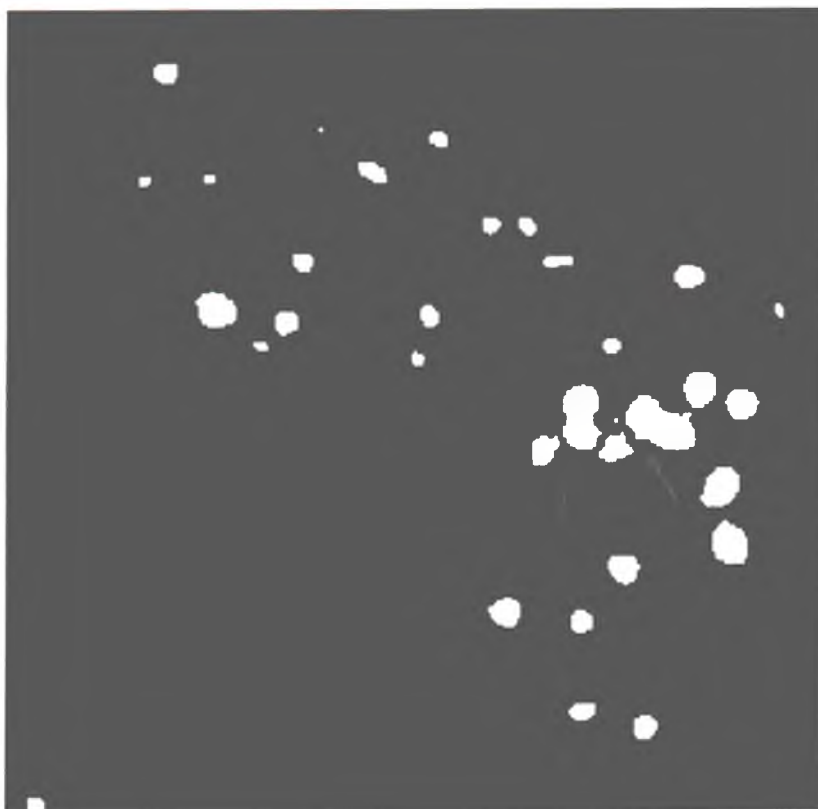
- 4 Нажимайте на области меченых синим клеточных ядер, которые не были обнаружены, до их полного окрашивания в синий цвет.
- 5 В выпадающем списке раздела **Separate** (Разделить) выберите строку **Watersheds** (Водоразделы) и задайте значение «17».

Между клеточными ядрами теперь отображаются четкие разделительные линии.



- 6 Выберите в списке строку **Individual Signal** (Отдельный сигнал).
Под списком отобразятся параметры сегментации (**Smooth** (Сглаживание), **Image Sharpness** (Резкость изображения), **Minimum Area** (Минимальная площадь) и т. д.).
- 7 В выпадающем списке раздела **Smooth** (Сглаживание) выберите опцию **Gauss** (По Гауссу) и установите параметр **Sigma** (Сигма) на **1.5**.
- 8 Нажмите на меченые зеленым сигналы на изображении.
Обнаруженные сигналы окрасятся в зеленый цвет. Пороговые значения отображаются в разделе **Threshold** (Порог) в полях ввода **Lower** (Нижний) / **Upper** (Верхний).
- 9 Нажимайте на области зеленых сигналов, которые не были обнаружены, до их полного окрашивания в зеленый цвет.
- 10 Установите флажок **Fill** (Заполнение).
- 11 Все отверстия обнаруженных сигналов будут заполнены.
- 12 В выпадающем списке раздела **Separate** (Разделить) выберите строку **Watersheds** (Водоразделы) и задайте значение «17».

Между сигналами теперь отображаются четкие разделительные линии.



13 Нажмите кнопку **Next** (Далее).

Шаг 4. Condition (Условие)

- | | |
|------------------|--|
| Порядок действий | 1 Снимите флажок Execute (Выполнить). |
| | 2 Нажмите кнопку Next (Далее). |

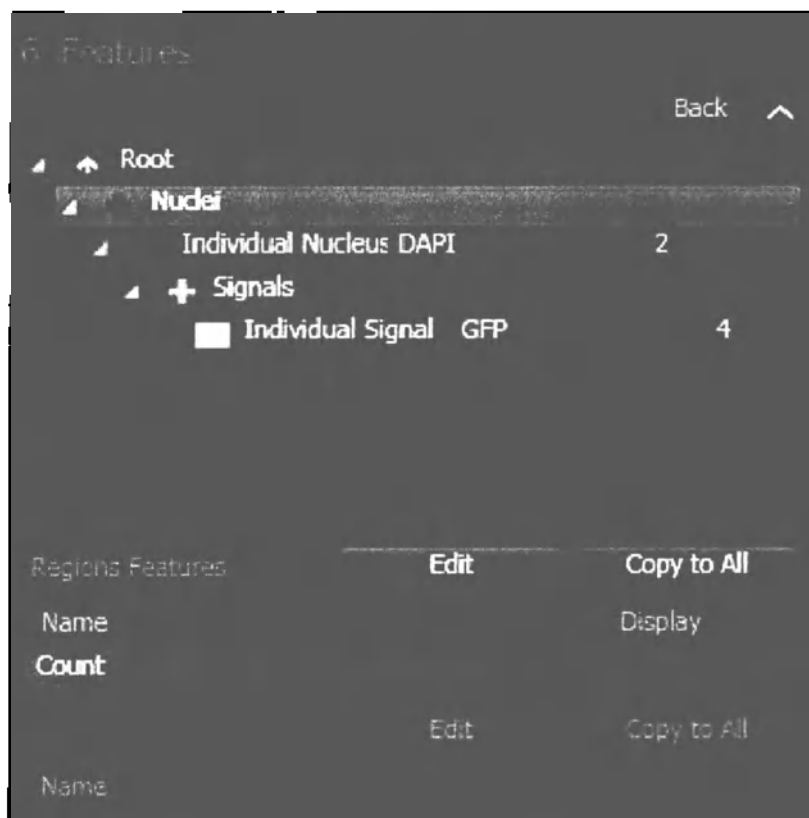
Шаг 5. Interactive segmentation (Интерактивная сегментация)

- | | |
|------------------|---|
| Порядок действий | 1 Снимите флажок Interactive (Интерактивно). |
| | 2 Нажмите кнопку Next (Далее). |

Шаг 6. Measurement features (Свойства измерения)

- | | |
|------------------|---|
| Порядок действий | 1 Выберите в списке строку Nuclei (Ядра). |
| | 2 В разделе Region Features (Свойства области) нажмите на кнопку Edit (Редактировать).
Откроется диалоговое окно Feature Selection (Выбор свойств). |
| | 3 Дважды кликните на идентификационный номер (ID) в списке справа.
Свойства отобразятся в списке Selected Features (Выбранные свойства) слева. |
| | 4 Удалите из списка ненужные свойства. Выберите свойство и нажмите на кнопку  Delete (Удалить). |

- 5 Снимите флажок **Display** (Отобразить) напротив свойства.



- 6 Выберите в списке строку **Individual Nucleus** (Отдельное ядро).
- 7 В разделе **Region Features** (Свойства области) нажмите кнопку **Select** (Выбрать).
Откроется диалоговое окно **Feature Selection** (Выбор свойств).
- 8 Дважды кликните на **идентификационный номер (ID) родительского элемента** в списке справа.
Свойства отобразятся в списке **Selected Features** (Выбранные свойства) слева.
- 9 Удалите из списка ненужные свойства (например, Area (Площадь), Perimeter (Периметр)). Выберите свойство и нажмите кнопку **Delete** (Удалить).

- 10 Снимите флажок **Display** (Отобразить) напротив свойства.



- 11 Выберите в списке строку **Signals** (Сигналы).
- 12 В разделе **Region Features** (Свойства области) нажмите на кнопку **Edit** (Редактировать).

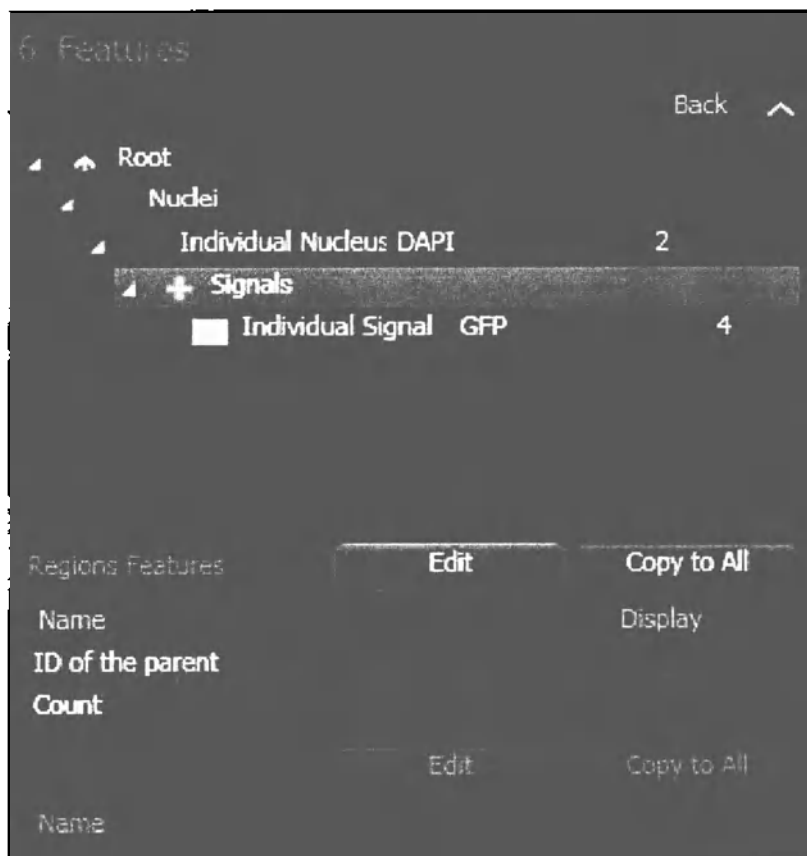
Откроется диалоговое окно **Feature Selection** (Выбор свойств).

- 13 Дважды кликните на **ID** (Идентификационный номер), **Count** (Число) в списке справа.

Свойства отобразятся в списке **Selected Features** (Выбранные свойства) слева.

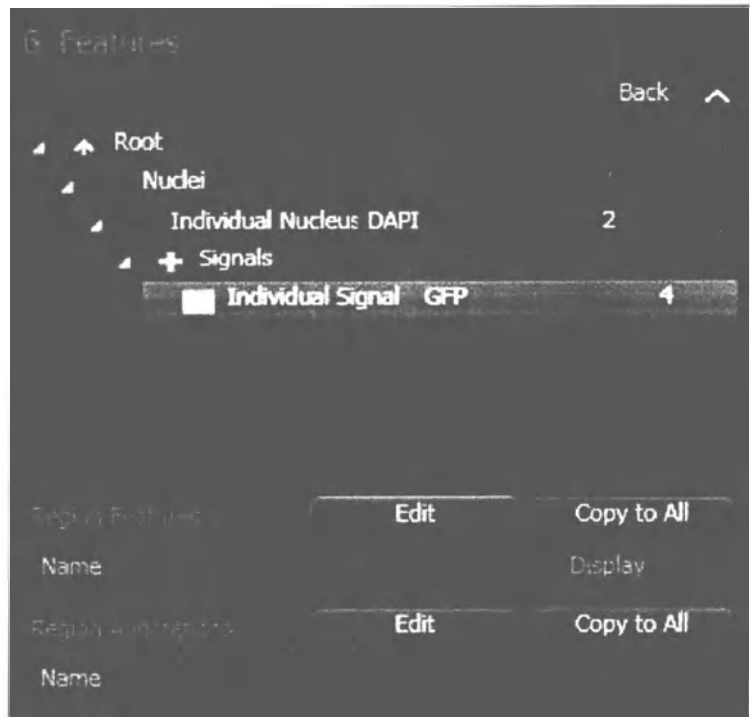
- 14 Удалите из списка ненужные свойства. Выберите свойство и нажмите кнопку  **Delete** (Удалить).

- 15 Снимите флажок **Display** (Отобразить) напротив свойств.



- 16 Выберите в списке строку **Individual Signal** (Отдельный сигнал).
- 17 В разделе **Region Features** (Свойства области) нажмите на кнопку **Select** (Выбрать).
- Откроется диалоговое окно **Feature Selection** (Выбор свойств).
- 18 Удалите из списка ненужные свойства (например, Area (Площадь), Perimeter (Периметр)). Выберите свойство и нажмите кнопку **Delete** (Удалить).
- 19 Нажмите кнопку **OK**.

Выбранные свойства отобразятся в разделе **Region Features** (Свойства области).



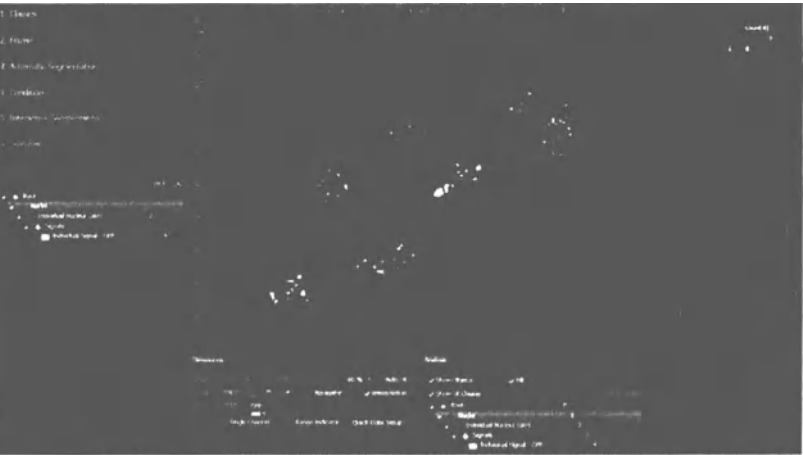
20 Нажмите кнопку **Next** (Далее).

Шаг 7. Measurement (Измерения)

Порядок действий

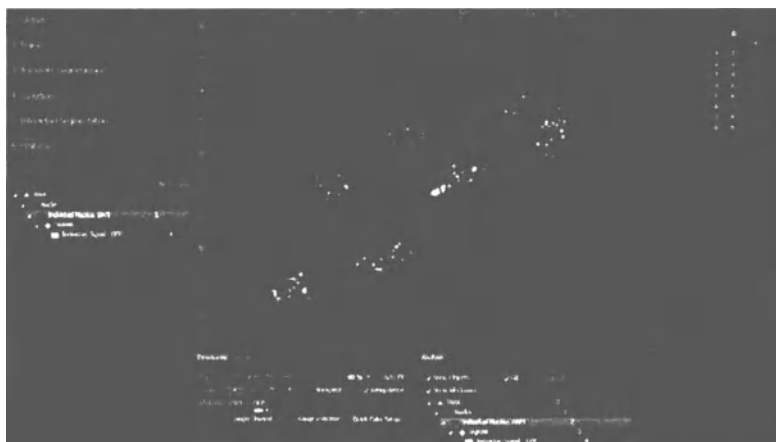
1 Нажмите в списке на строку **Nuclei** (Ядра).

Число измеренных ядер отобразится в таблице данных справа от изображения.



2 Нажмите в списке на строку **Individual Nucleus** (Отдельное ядро).

Идентификационный номер измеренных ядер отобразится в списке данных справа от изображения.



- 3 Нажмите в списке на строку **Signals** (Сигналы).

Идентификационный номер родительского элемента (соответствует идентификационному номеру ядра) и число измеренных сигналов отобразятся в таблице данных справа от изображения.



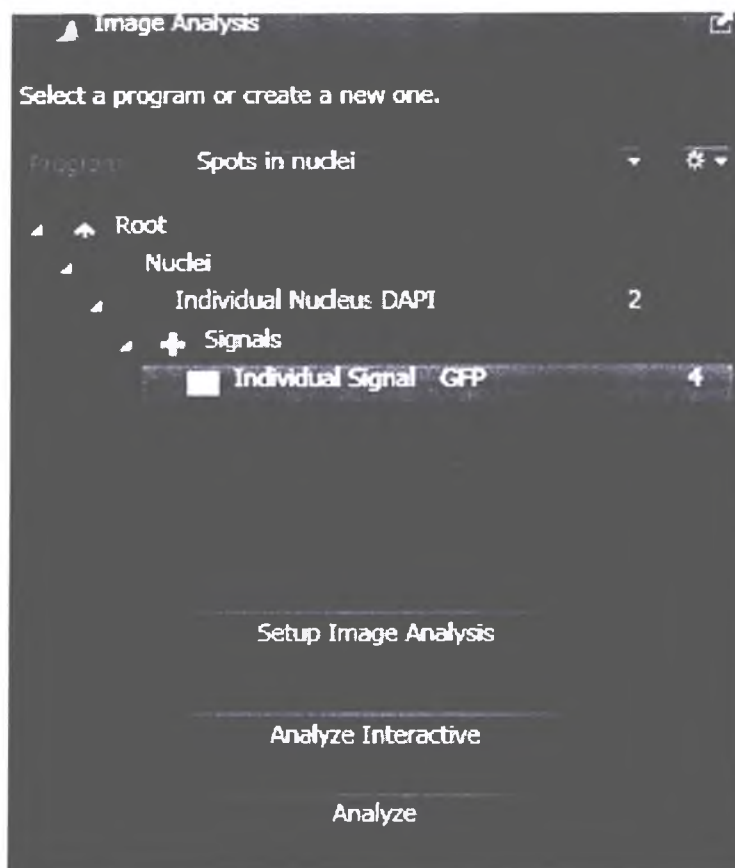
- 4 Нажмите кнопку **Finish** (Готово).

Программа измерений сохранена.

Выполнение программы измерений

- Необходимые предварительные условия
- Открыт инструмент **Image Analysis** (Анализ изображения).
- Загружена созданная программа измерений.

Порядок действий 1 Нажмите кнопку **Analyze** (Анализировать).

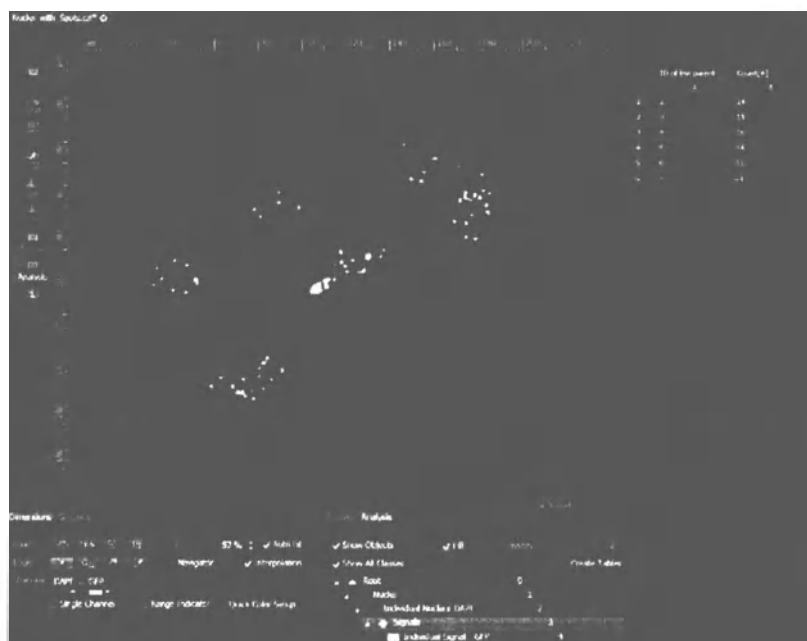


К изображению будет применена программа измерений.

Окно просмотра анализа (**Analysis View**) также появится в центральной области экрана.

В окне просмотра анализа (**Analysis View**) отобразится изображение с измеренными клеточными ядрами, окрашенными в синий цвет, и сигналами, окрашенными в зеленый цвет. Справа от него находится список данных, содержащий количество сигналов на ядро.

2



Отображается только количество сигналов измеренных ядер. Ядра, касающиеся кадра, не учитываются.

Создание таблицы результатов измерений

Порядок действий

- 1 Во вкладке **Analysis** (Анализ) нажмите кнопку **Create Measurement Data Table** (Создать таблицу результатов измерений).
Два списка данных станут отдельными документами и будут удалены с изображения.
- 2 Сохраните каждый список данных при помощи меню **File | Save As** (Файл | Сохранить как). Присвойте имя и выберите тип файла **.csv**.
Таблицы результатов измерений сохраняются в формате **CSV** и, следовательно, могут быть открыты непосредственно в Excel.
- 3 Нажмите на изображение и сохраните при помощи меню **File | Save as** (Файл | Сохранить как). Присвойте имя и выберите тип файла **.dzi**.

Изображение будет сохранено вместе с результатами измерений. После открытия изображения результаты измерений можно просмотреть в окне **Analysis View** (Просмотр анализа).

7 Импорт/экспорт изображений

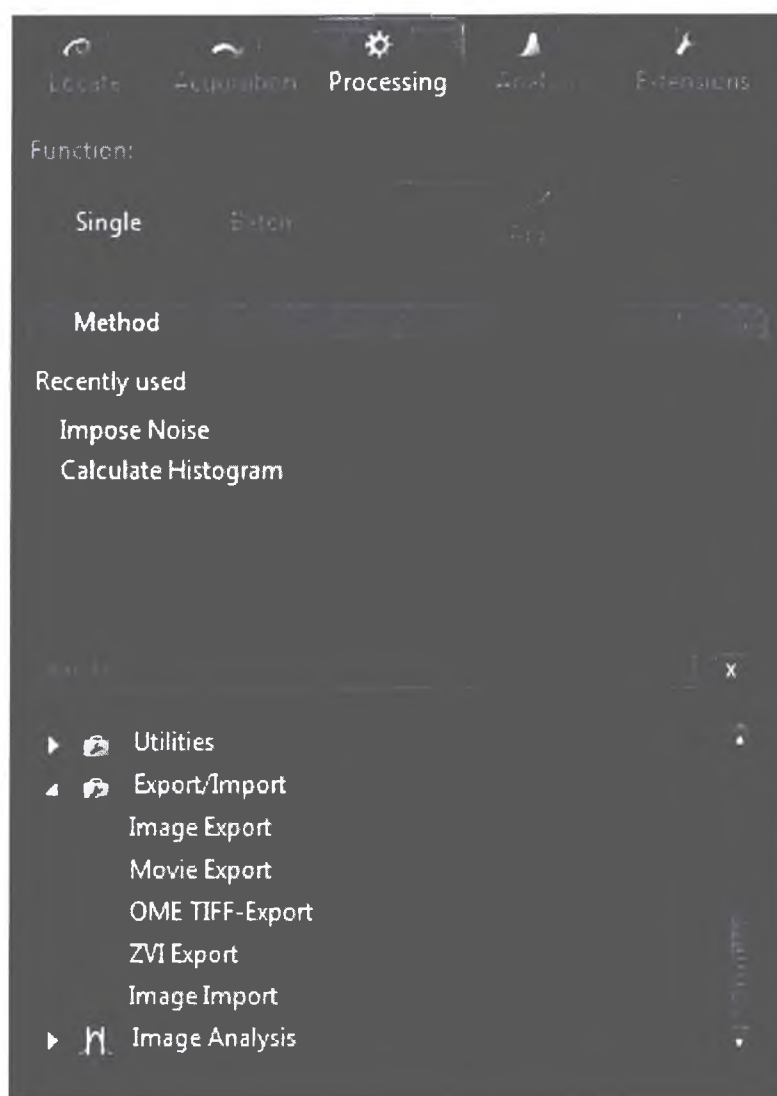
7.1 Последовательность операций экспорта/импорта

В примере описывается последовательность операций экспорта изображений (**Image Export**). Обычная последовательность операций одинакова как для экспорта, так и для импорта изображений.

Необходимые предварительные условия ■ Выбрана вкладка **Processing** (Обработка изображений).

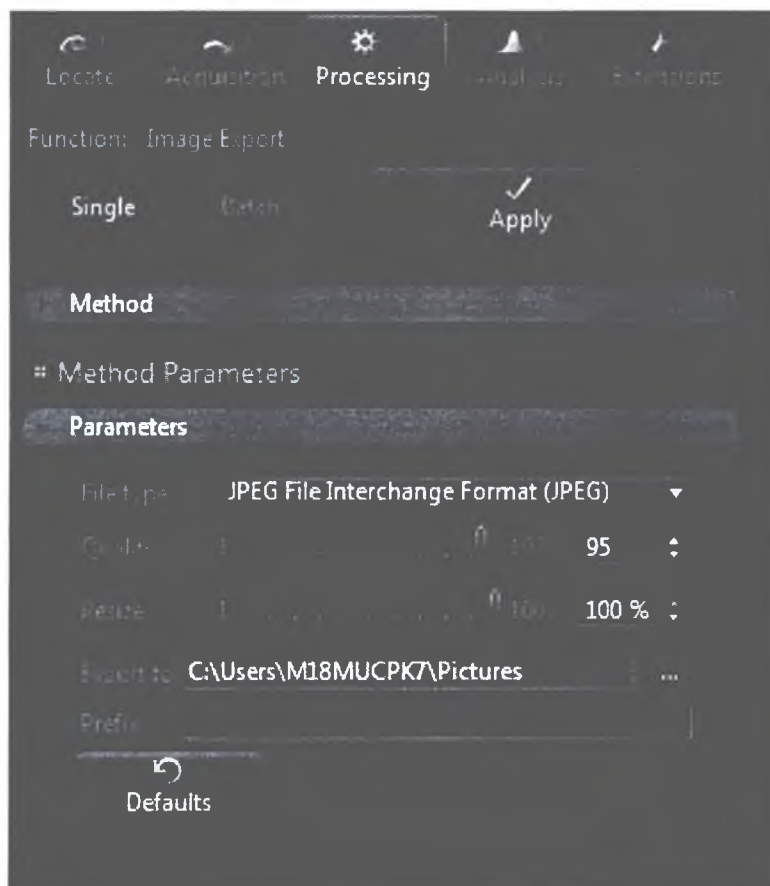
Порядок действий 1 **Выберите метод**

В инструменте **Method** (Метод) откройте группу **Export/Import** (Экспорт/Импорт) и выберите метод **Image Export** (Экспорт изображений).



2 Задайте параметры метода.

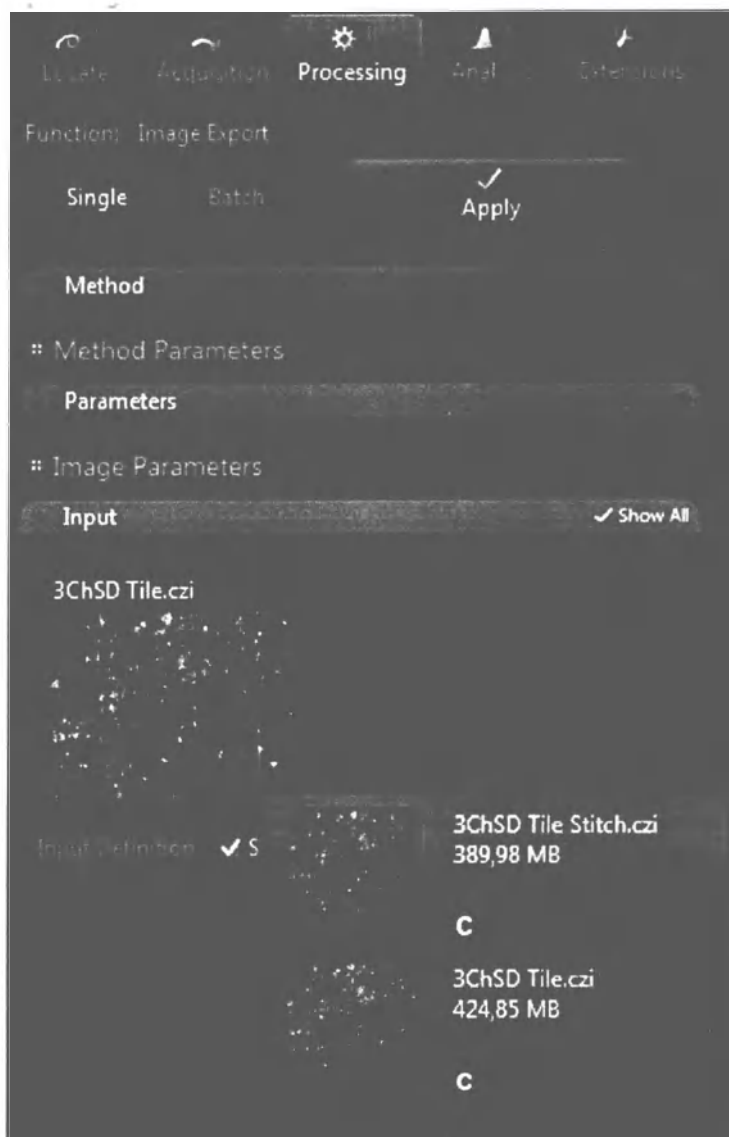
В меню **Method Parameters | Parameters** (Параметры метода | Параметры) задайте необходимые настройки экспорта, например тип файла, качество, папка экспорта и т. д.



3 Выберите изображение для экспорта

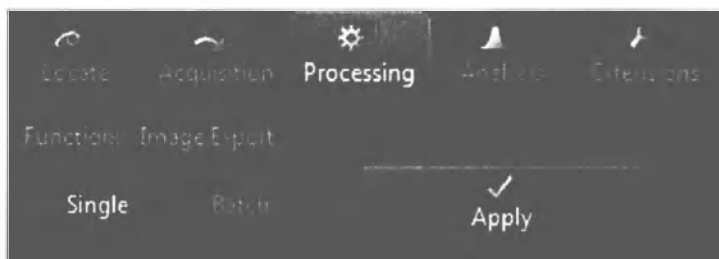
В меню **Image Parameters | Input** (Параметры изображения | Входное изображение) выберите изображение, которое необходимо экспортировать. Для этого нажмите на небольшое изображение для предварительного просмотра в инструменте **Input** (Входное изображение). Будет доступен предварительный просмотр всех открытых изображений. Выберите нужное изображение, нажав на него. Это необходимо, только если открыто несколько изображений

одновременно. По умолчанию выбранное изображение всегда используется в качестве входного.



4 Экспортируйте изображение

В верхней части вкладки **Processing** (Обработка изображений) нажмите кнопку **Apply** (Применить).



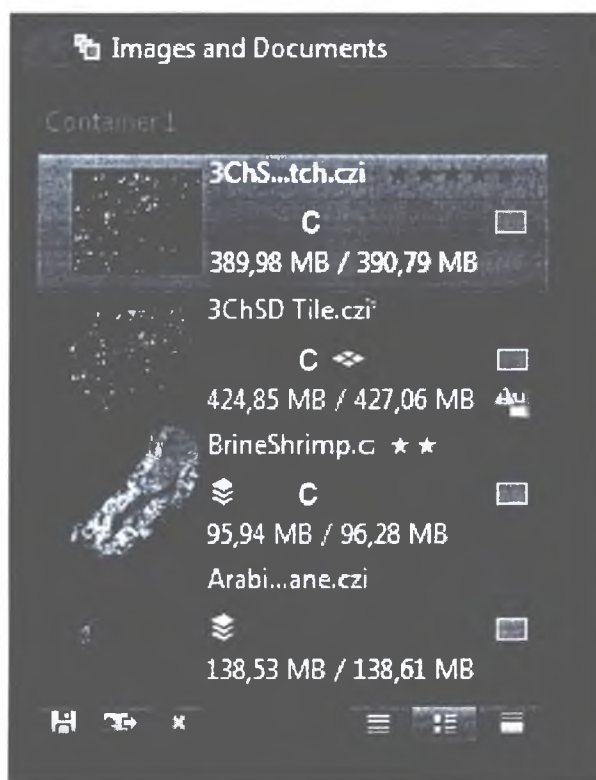
Вы успешно экспортировали выбранное изображение.

7.2 Экспорт изображений

С помощью функции **Quick Export** (Быстрый экспорт) изображения можно автоматически экспортировать одним щелчком мыши, без настройки параметров метода.

Необходимые предварительные условия ■ Получено или открыто изображение.

- Порядок действий 1 В правой области инструментов в нижней части окна **Images and Documents** (Изображения и документы) нажмите на кнопку **Quick Export** (Быстрый экспорт).



Или же в меню **File | Export/Import** (Файл | Экспорт/Импорт) нажмите на **Quick Export** (Быстрый экспорт).

Выбранное изображение будет автоматически экспортировано со стандартными настройками метода **Image Export** (Экспорт изображений) (JPEG, качество: 95%, размер: 100%). Изображение находится в одной из подпапок папки изображений Windows (.../User/My Pictures).

Примечание

Тип и источник риска

Если изображение покадровой съемки экспортируется с помощью функции **Quick Export** (Быстрый экспорт), то автоматически создается видеофайл с использованием настроек по умолчанию метода **Movie Export** (Экспорт видеофайлов).

7.3 Экспорт видеофайлов

С помощью функции **Quick Export** (Быстрый экспорт) видеофайлы можно автоматически экспортировать одним щелчком мыши, без настройки параметров метода.

Необходимые предварительные условия ■ Получено или открыто изображение временной серии или изображение серии срезов по оси Z.

- Порядок действий 1 В правой области инструментов в нижней части окна **Images and Documents** (Изображения и документы) нажмите на кнопку **Quick Export** (Быстрый экспорт).



Или же в меню **File | Export/Import** (Файл | Экспорт/Импорт) нажмите на **Quick Export** (Быстрый экспорт).

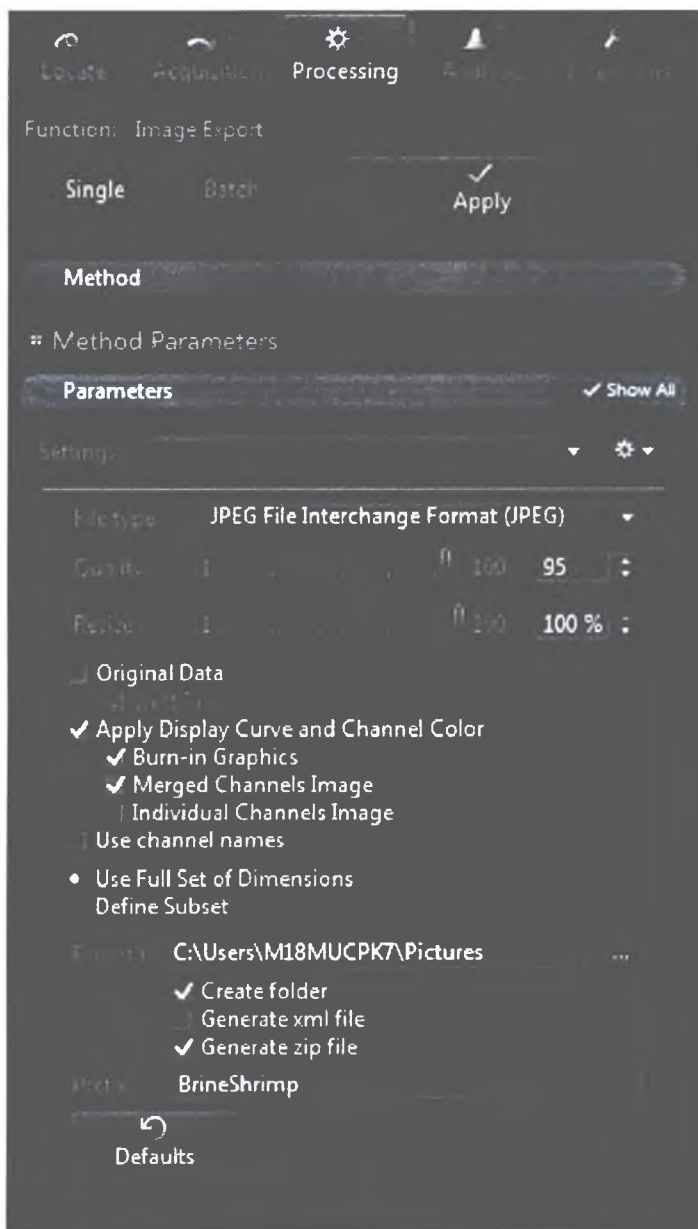
Выбранный эксперимент будет автоматически экспортирован со стандартными настройками метода **Movie Export** (Экспорт видеофайлов) (AVI, исходный размер). Видеофайл можно находить в одной из подпапок папки изображений Windows (.../User/My Videos).

7.4 Экспорт многоканальных изображений

В этом разделе вы научитесь экспортировать отдельные изображения из многоканального изображения с тремя каналами и автоматически сохранять их в ZIP-архиве. Вы также узнаете, как экспортировать целое многоканальное изображение (псевдоцветное изображение) в виде отдельного изображения.

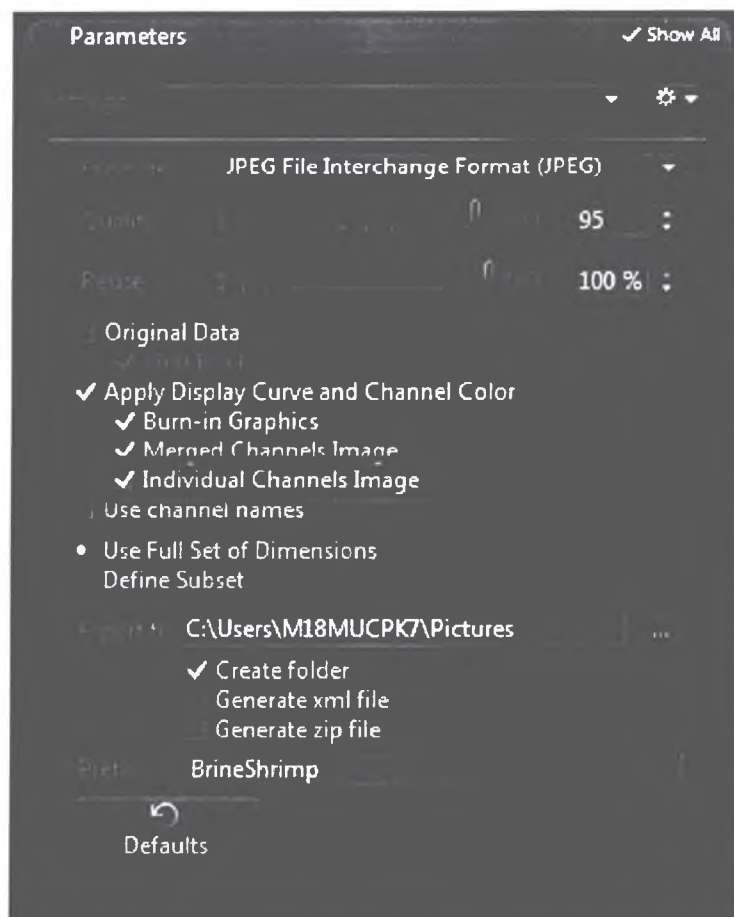
- Необходимые предварительные условия ■ Получено или открыто многоканальное изображение.
- Порядок действий 1 Во вкладке **Processing** (Обработка изображений) откройте параметры **Image Export** (Экспорт изображений) (**Ctrl+6** или в меню **File | Export/Import | Export** (Файл | Экспорт/Импорт | Экспорт)).

На экране отобразятся настройки по умолчанию параметров экспорта изображения. Убедитесь, что активирован режим **Show All** (Показать все).



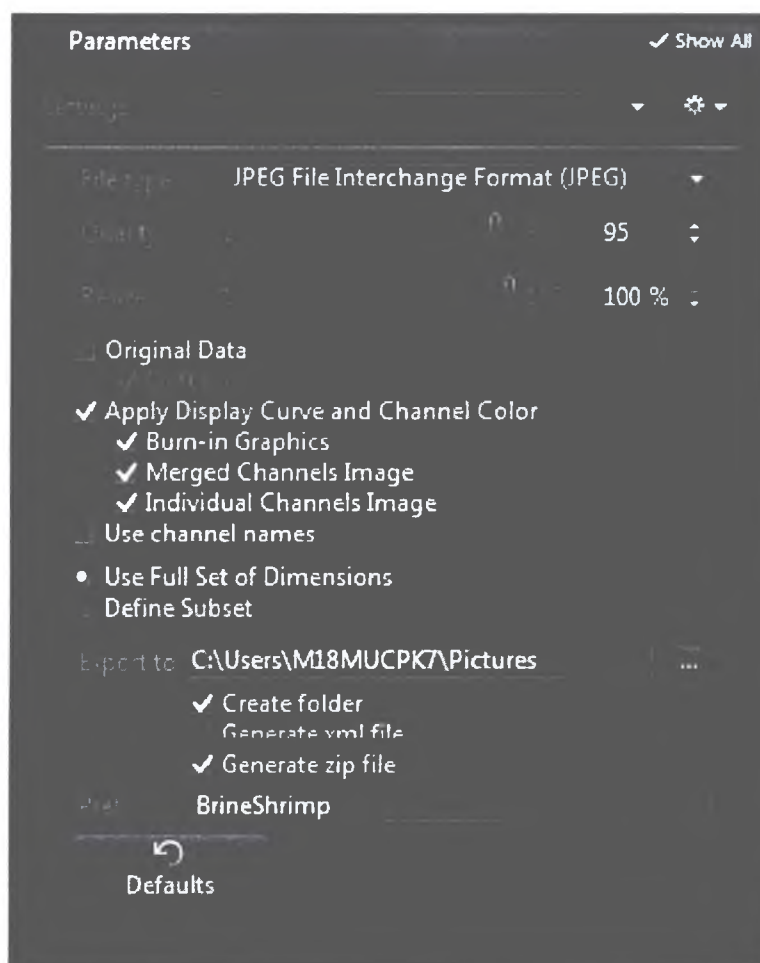
- 2 Установите флажок **Individual Channels Image** (Изображение с отдельными каналами).

Изображение будет экспортировано из каждого канала. Флажок **Multichannel Image** (Многоканальное изображение) установлен по умолчанию. Это означает, что псевдоцветное изображение (изображение со смешанными цветами из всех каналов) будет экспортировано в виде отдельного изображения.



- 3 Установите флажок **Generate zip file** (Создать zip-файл) под строкой **Export to** (Экспортировать в). Установите флажок **Create folder** (Создать папку) для создания подпапки с префиксом в имени.

ZIP-архив сохранится в подпапке.



- 4 Нажмите кнопку **Apply** (Применить) в верхней части вкладки **Processing** (Обработка изображений).

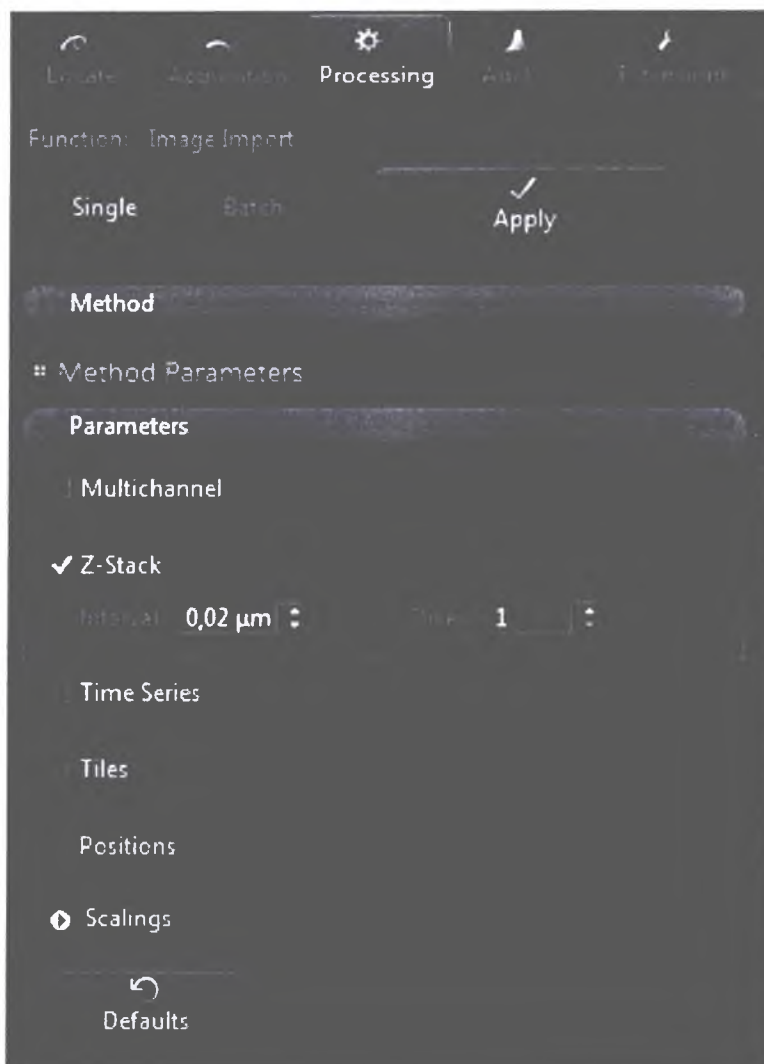


Вы успешно экспортировали изображения отдельных каналов и псевдоцветное изображение вашего многоканального изображения и автоматически сохранили их в ZIP-формате. ZIP-архив с 4 изображениями находится в указанной папке экспорта.

7.5 Импорт изображений серии срезов по оси Z

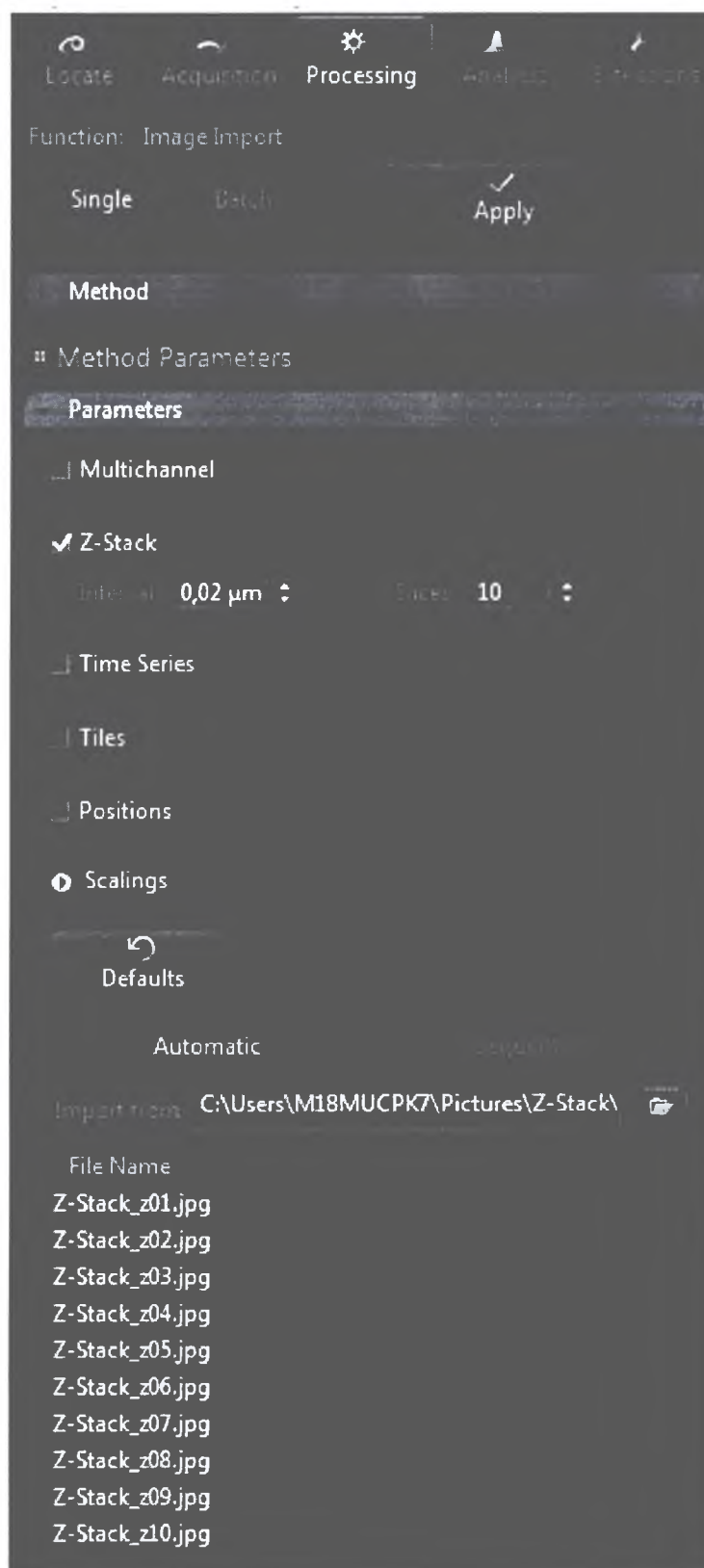
Необходимые предварительные условия ■ Отдельные изображения серии срезов по оси Z сохранены в папке на вашем компьютере. Изображениям были систематически присвоены имена, например: Image_Z0, Image_Z01 и т. д.

- Порядок действий
- 1 Во вкладке **Processing** (Обработка изображений) откройте параметры **Image Import** (Импорт изображений) (или в меню **File | Export/Import | Import** (Файл | Экспорт/Импорт | Импорт)).
На экране отобразятся настройки по умолчанию параметров **импорта изображения**.
 - 2 Установите флажок **Z-stack** (Серия срезов по оси Z). Отключите все остальные измерения.



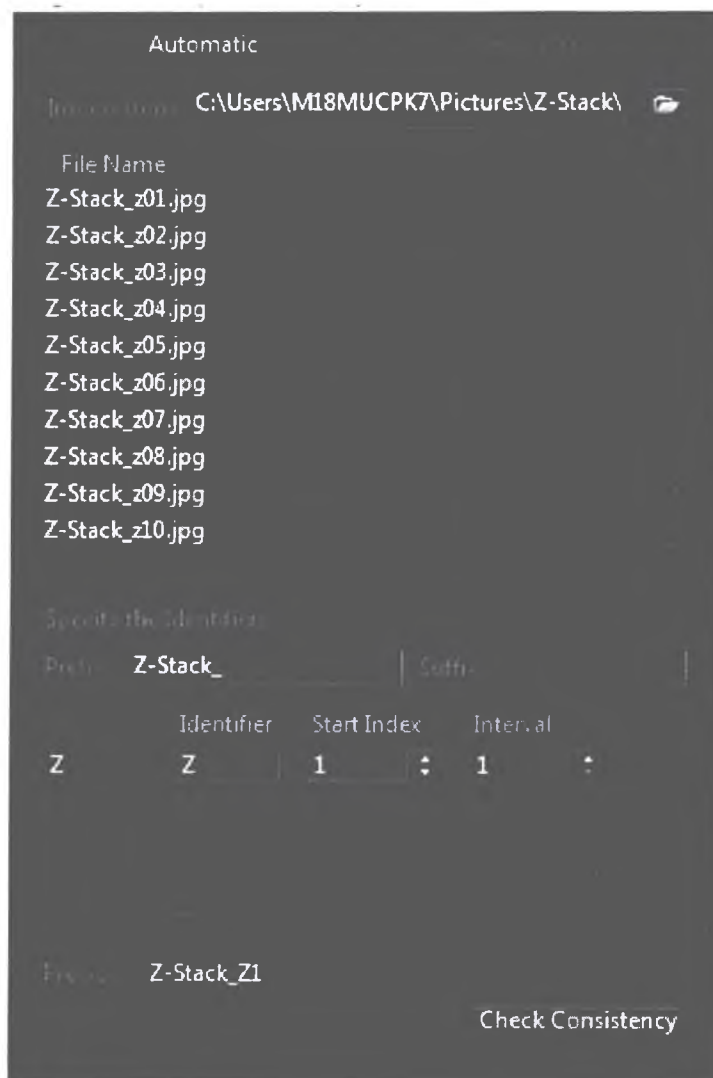
- 3 Введите интервал для серии срезов по оси Z. Число плоскостей устанавливается автоматически, если изображениям были систематически присвоены имена.

- 4 В разделе **Import from** (Импорт из) выберите папку, в которой размещаются отдельные изображения серии срезов по оси Z.

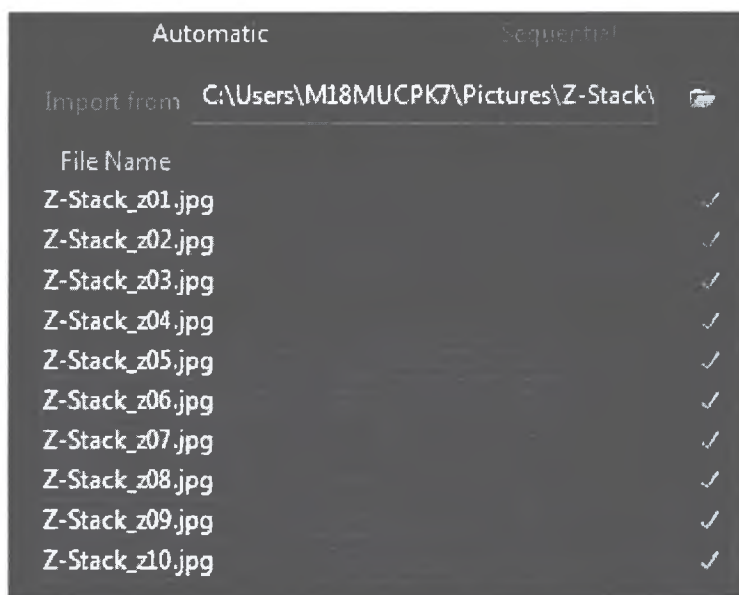


Отдельные изображения автоматически отобразятся в списке под папкой импорта.

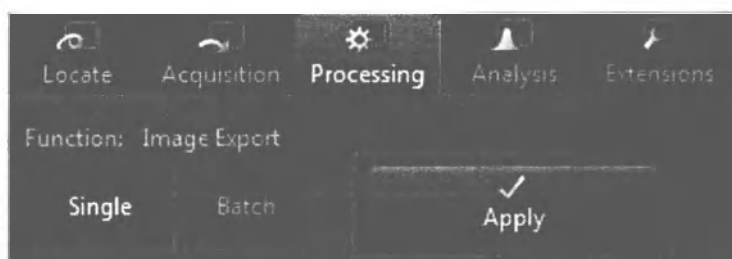
- 5 Нажмите кнопку **Check Consistency** (Проверить совместимость). Это позволит проверить правильность импорта изображений.



После каждого имени файла в списке появится «галочка». Теперь можно импортировать отдельные изображения.



- 6 Нажмите кнопку **Apply** (Применить) в верхней части вкладки **Processing** (Обработка изображений).



Отдельные изображения будут импортированы и объединены в изображение серии срезов по оси Z. Вы успешно извлекли изображение серии срезов по оси Z из отдельных изображений.

8 Обратная связь по эксперименту

8.1 Введение

Функция «Обратная связь по эксперименту» (условному или настраиваемому эксперименту) ПО ZEN позволяет определять специальные правила и действия, которые должны выполняться во время проведения эксперимента. Например, изменение хода выполнения эксперимента в зависимости от текущего состояния системы или природы полученных данных во время выполнения эксперимента. Более того, возможна интеграция определенных задач, таких как запись данных или запуск внешнего приложения непосредственно в эксперимент визуализации. В основном но не только, подобный эксперимент сочетает в себе выбор изображения с автоматическим анализом изображений в режиме онлайн.

Эксперименты с обратной связью можно настраивать и контролировать с помощью инструмента Experiment Feedback (Обратная связь по эксперименту) и Script Editor (Редактор сценариев). Обратите внимание, что функция «Обратная связь по эксперименту» является частью модуля **Advanced Processing** (Расширенная обработка). Примерная последовательность операций обратной связи по эксперименту описана в разделе «Последовательность операций обратной связи по эксперименту» [► 238].

Обратите внимание, что здесь не дается подробное описание обратной связи по эксперименту, поскольку подробная инструкция по выполнению экспериментов с обратной связью и множество других руководств представлена на DVD-диске ZEN в папке.../Other/Experiment Feedback/Example Tutorials.

8.2 Последовательность операций обратной связи по эксперименту

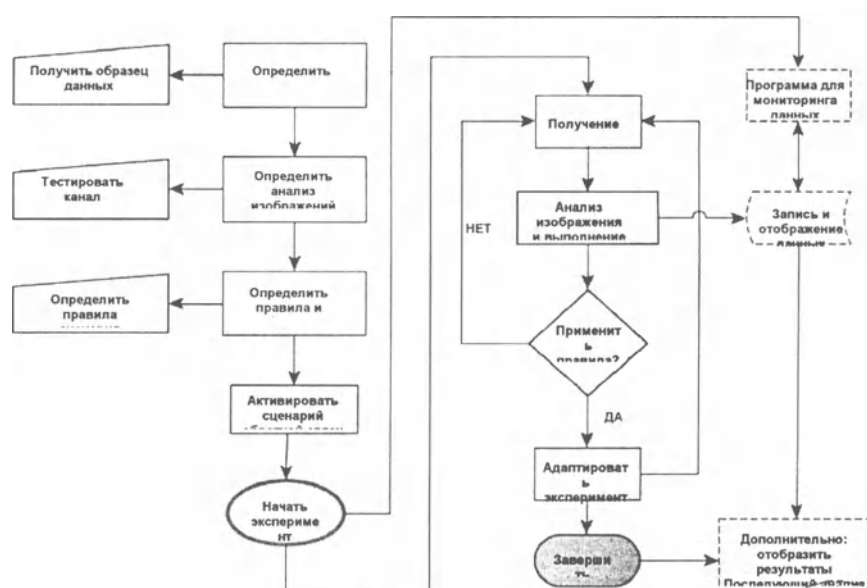


Рисунок 8.1. Последовательность операций обратной связи по эксперименту

На данной блок-схеме изображена типовая последовательность операций в экспериментах с обратной связью. В ней указаны наиболее важные этапы:

Этап	Описание
Определить эксперимент	Необходимо тщательно спланировать эксперимент, подобрать правильные параметры (временная серия, серия срезов по оси Z, многоканальное изображение и т. д.), необходимые для получения точных результатов в исследовании ? . После определения эксперимента рекомендуется получить образец данных , которые затем будут использоваться для проверки анализа изображения.
Определить анализ изображений	На данном этапе используется мастер анализа изображений для создания и визуализации канала анализа для последующего использования внутри сценария обратной связи ?. С помощью сценария доступны только указанные параметры и настоятельно рекомендуется протестировать канал анализа изображений, чтобы гарантировать, что полученные результаты имеют значение. Дополнительно можно создавать настройки анализа изображений программным путем с помощью макрофункции разработки открытых приложений (OAD, от англ. Open Application Development).
Определить правила и измеряемые величины	На данном этапе принимается решение о том, как на самом деле должен работать сценарий. Что следует соблюдать и как должен реагировать эксперимент на определенное событие ? После выяснения основной идеи можно приступить к определению правил в сценарии обратной связи .
Начать эксперимент	На данном этапе можно начинать эксперимент и наблюдать за его результатами. Общий замысел этой последовательности операций можно описать в виде цикла получения изображения. Каждый раз после «чего-то», обычно получения изображения, выполняется определенный сценарий. Проверяются правила и, если необходимо, выполняются определенные задачи. Помимо этого, можно экспортировать или записывать данные в текстовый файл и (или) запускать внешнее приложение в любой момент выполнения эксперимента. Наиболее подходящий момент для выполнения подобных действий зависит от типа приложения.

9 Персонализация приложения

9.1 Выбор дизайна

- Порядок действий
- 1 Из выпадающего списка **Design** (Дизайн) в области конфигурации рабочего пространства выберите **Light** (Светлый)/**Dark** (Темный) дизайн.



9.2 Персонализация панели инструментов

Необходимые предварительные условия ■ Открыто меню **Tools | Customize Application** (Инструменты | Персонализация приложения).

- Вкладка **Toolbar** (Панель инструментов) выбрана по умолчанию.

- Порядок действий
- 1 Нажмите на строку в списке **Available Toolbar Items** (Доступные элементы панели инструментов).
Отобразится список всех доступных элементов в этой группе.
 - 2 Дважды нажмите на элемент.
Элемент будет добавлен в список выбранных элементов панели инструментов (**Selected Toolbar Items**) и появится на панели инструментов (**Toolbar**) приложения. Добавить элемент также можно путем перетаскивания.
 - 3 Для изменения порядка расположения символов на панели инструментов воспользуйтесь кнопками **Вверх/Вниз**.
 - 4 Чтобы удалить иконку с панели инструментов, нажмите на кнопку  **Delete** (Удалить).
 - 5 Нажмите кнопку **Close** (Заккрыть), чтобы закрыть диалоговое окно. Изменения сразу вступят в силу.

Панель инструментов (**Toolbar**) успешно персонализирована.

9.3 Масштабирование рабочего пространства

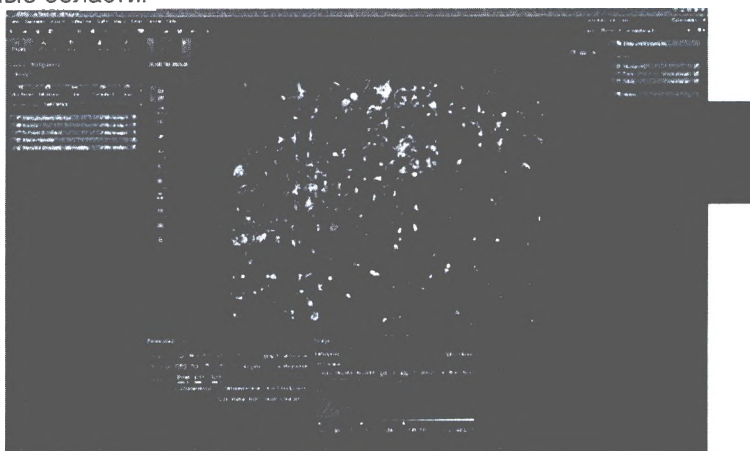
Порядок действий 1 Для увеличения/уменьшения рабочего пространства переместите ползунок влево или вправо.



2 Для восстановления размера рабочего пространства, установленного по умолчанию, нажмите кнопку **Reset** (Сброс).

9.4 Отображение или скрывание областей рабочего пространства

Порядок действий 1 Нажмите на кнопки **Show** (Отобразить)/**Hide** (Скрыть), чтобы отобразить/скрыть необходимые области.



9.5 Открепление/закрепление окон инструментов

Эта функция позволяет открепить/закрепить необходимое окно инструментов. Открепленное окно инструментов можно разместить в любой области экрана.

Порядок действий 1 Нажмите кнопку **Undock** (Открепить), чтобы открепить окно инструментов. После открепления окно инструментов можно перемещать по экрану, нажав и перетаскивая за синюю панель окна.



- 2 Нажмите кнопку **Dock** (Закрепить), чтобы закрепить окно инструментов в первоначальном положении в левой области инструментов.



i Примечание

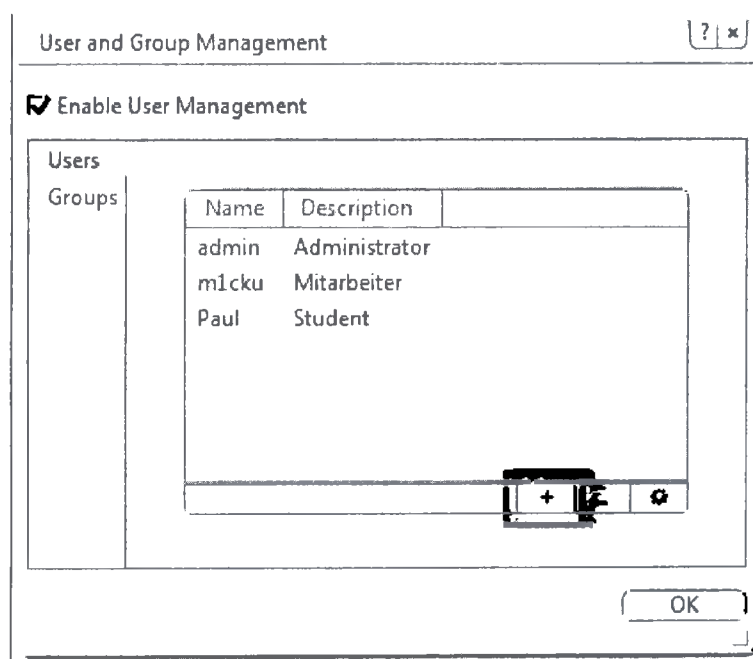
С помощью функции **закрепления всех инструментов** в области конфигурации рабочего пространства (Workspace Configuration) можно сразу закрепить в **левой области инструментов** все открепленные окна.

10 Управление пользователями и группами

10.1 Создание нового пользователя

- Порядок действий
- 1 В меню **Tools | Users and Groups...** (Инструменты | Пользователи и группы...) откройте диалоговое окно **User and Group Management** (Управление пользователями и группами).
 - 2 Установите флажок **Enable User Management** (Активировать управление пользователями).

После активации управления пользователями все настройки вступят в силу при следующем запуске программного обеспечения. Не забудьте свой пароль, имя пользователя и т. д.
 - 3 Во вкладке **Users** (Пользователи) нажмите кнопку  **Add** (Добавить).

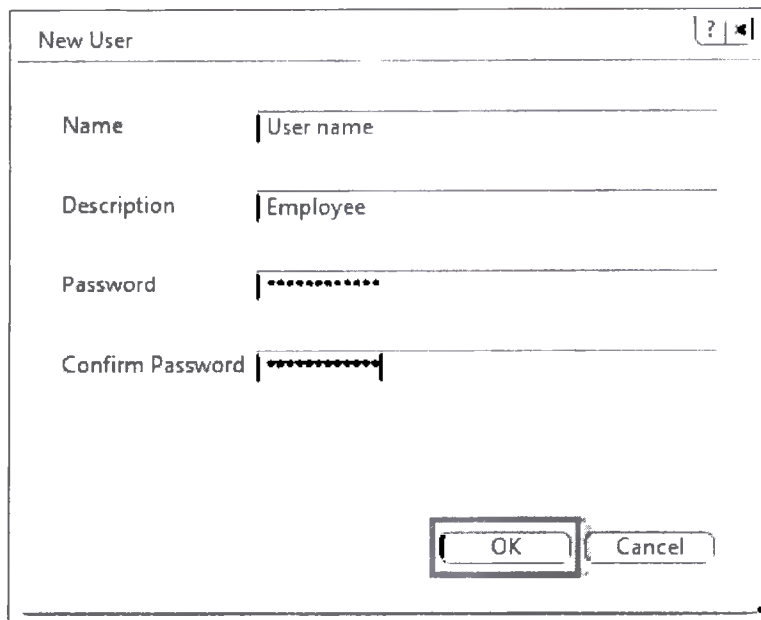


Откроется диалоговое окно **New User** (Новый пользователь).

- 4 Введите имя пользователя.

Дополнительно: введите описание и (или) введите и подтвердите пароль

5 Нажмите кнопку **OK**.

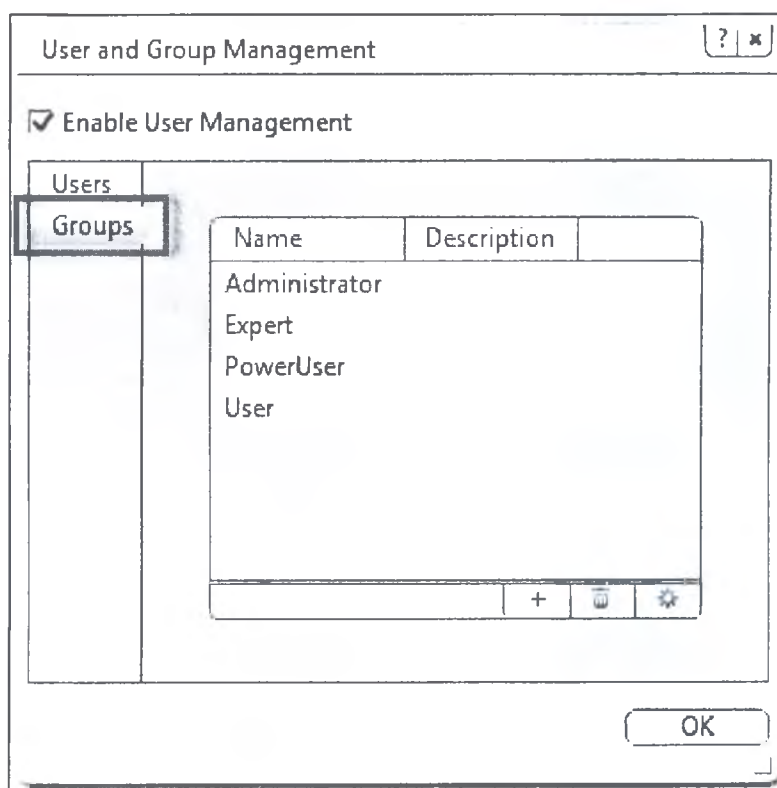


Вы успешно создали новую учетную запись. Теперь пользователя можно добавить в определенную группу пользователей.

10.2 Добавление пользователей в группу

- Необходимые предварительные условия ■ Открыто меню **Tools | User And Group Management** (Инструменты | Управление пользователями и группами).
- Установлен флажок **Enable User Management** (Активировать управление пользователями и группами).

Порядок действий 1 Нажмите на вкладку **Groups** (Группы).



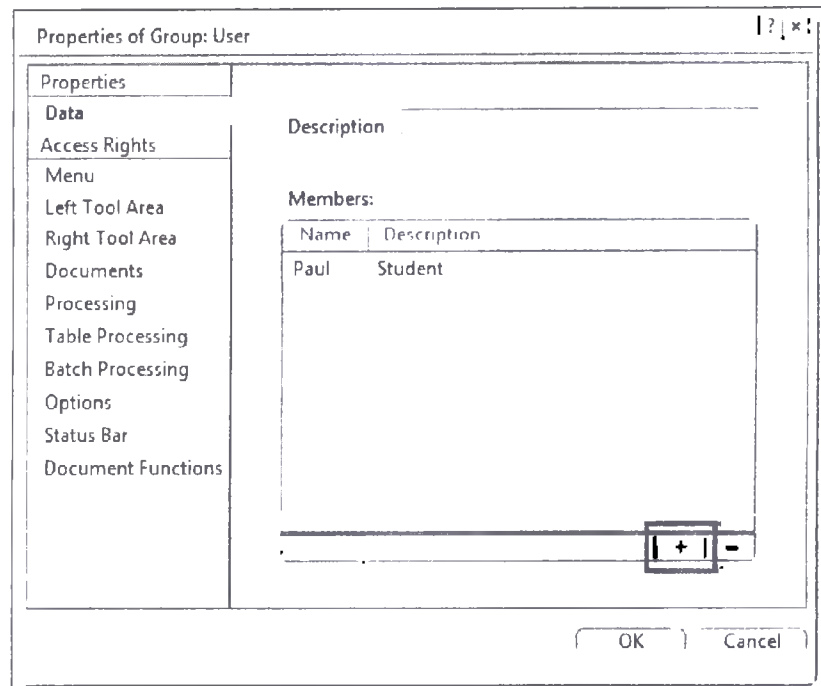
По умолчанию во вкладке имеются 4 группы (**Admin** (Администратор), **Expert** (Эксперт), **PowerUser** (Квалифицированный пользователь), **User** (Пользователь)) с одинаковыми правами. Инструкции по управлению правами доступа каждой группы пользователей представлены в разделе «Управление правами доступа для групп пользователей» [► 246].

i Примечание

Члены группы **User** (Пользователь) не имеют доступа к диалоговому окну **User and Group Management** (Управление пользователями и группами). Для этих пользователей этот элемент меню не отображается.

- 2 Выберите группу, в которую вы хотите добавить пользователя, например **User** (Пользователь).
- 3 Нажмите кнопку  **Group Properties** (Свойства группы) в списке. Откроется диалоговое окно **Group Properties** (Свойства группы). В меню **Data | Members** (Данные | Члены) отобразится список членов группы.

- 4 Нажмите кнопку  **Add** (Добавить).



Откроется диалоговое окно **Select User** (Выбрать пользователя).

- 5 Выберите пользователя, которого требуется добавить в группу, и нажмите кнопку **OK**.

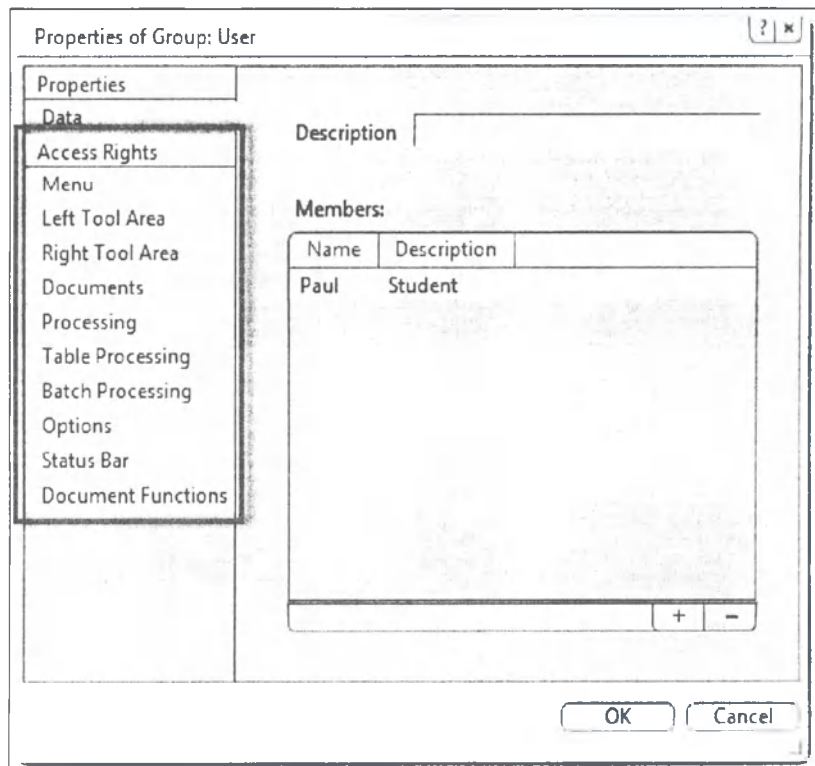
Вы успешно добавили пользователя в группу пользователей.

10.3 Управление правами доступа для групп пользователей

Необходимые предварительные условия ■ Открыто меню **Tools | User And Group Management** (Инструменты | Управление пользователями и группами).

- Порядок действий
- 1 Нажмите на вкладку **Groups** (Группы).
По умолчанию во вкладке имеются 4 группы с одинаковыми правами.
 - 2 Выберите группу, для которой необходимо установить права доступа.
 - 3 Нажмите кнопку  **Group Properties** (Свойства группы).

Откроется диалоговое окно **Group Properties** (Свойства группы).



Примечание

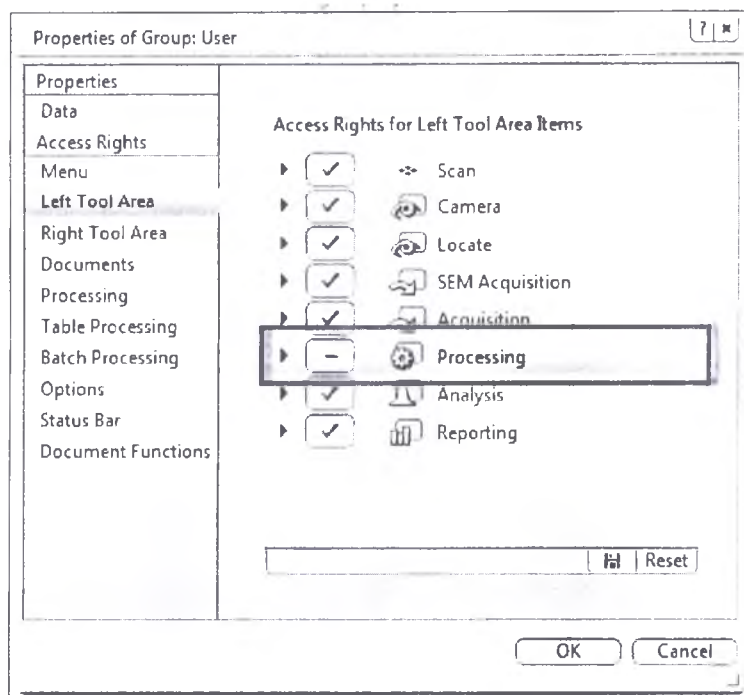
В левом столбце под заголовком **Access Rights** (Права доступа) приведены все области, для которых можно настроить права доступа (например, **Menu** (Меню), **Processing** (Обработка) и т. д.). В качестве примера покажем, как отказывать выбранной группе в праве доступа к вкладке **Processing** (Обработка изображений) в **левой области инструментов**. Эта вкладка не будет видна членам этой группы, когда они будут входить в программу.

- 4 Под заголовком **Access Rights** (Права доступа) нажмите на вкладку **Left Tool Area** (Левая область инструментов).

Отобразится список элементов вкладки **Left Tool Area** (Левая область инструментов).

- 5 Нажмите на **галочку** перед элементом **Processing** (Обработка изображений).

Кнопка изменится на иконку «Минус». С этого момента доступ к вкладке **Processing** (Обработка изображений) ограничен для всех членов этой группы.



- 6 Нажмите кнопку **ОК** и закройте диалоговое окно.
 - 7 Перезапустите программное обеспечение, чтобы изменения вступили в силу.
- Вы успешно изменили права доступа для группы пользователей.

11 Разработка открытого приложения (OAD)

11.1 Введение

Под термином «разработка открытого приложения» (OAD) подразумевается как платформа OAD на ZEN, так и процесс разработки приложений на данной платформе. Платформа предоставлена нашим заказчиком для того, чтобы они могли расширить функциональность ZEN. С помощью OAD обычные процедуры микроскопии можно интегрировать в ПО ZEN. Краткий перечень особенностей OAD: Макро-интерфейс для доступа к основной функциональности ZEN и его объектам, а также доступа к внешним библиотекам (например, .Net Framework), что позволяет значительно расширять область применения программного обеспечения.

Наше программное обеспечение ZEN 2.3 (blue) включает в себя следующие компоненты, рассматриваемые нами в качестве основных частей для Разработки открытого приложения (OAD):

- Среда выполнения для макрокоманд (интегрирована).
- Макрорегистратор.
- Макроредактор.
- Макроотладчик.
- Макроинтерфейс (библиотека объектов).
- Расширение ImageJ.

Базовая функциональность

Все продукты ZEN (за исключением ZEN lite) снабжены базовой макрофункциональностью, которая позволяет выполнять макрокоманды программного обеспечения (**инструмент Macro**).

Примечание

В ZEN можно запускать только файлы макрокоманд с расширением **.czmac**, которые создаются или сохраняются в макросреде ZEN. Для запуска ваших макрокоманд их нужно разместить в папке: **../User/Documents/Carl Zeiss/ZEN/Documents/Macros**.

Расширенная функциональность

Макрорегистратор, макроредактор и макроотладчик интегрированной среды разработки (IDE, от англ. Integrated Development Environment) снабжены модулем **ZEN Macro Environment** (Макросреда). Интегрированная среда разработки (IDE) для макросреды состоит из двух частей. В **правой области инструментов** размещен облегченный вариант IDE, который вы можете найти в инструменте Macro (Макрокоманды). Полнофункциональный вариант IDE доступен в диалоговом окне Macro Editor (Макроредактор) и позволяет пользователям создавать и работать с макрокомандами, подобными макросам в Excel/Word. Макроинтерфейс встроен в программное обеспечение и, следовательно, не является отдельным продуктом. Расширение **ImageJ** — первое расширение для ZEN, которое предоставляется бесплатно. ImageJ отсутствует в ZEN lite.

Форум пользователей

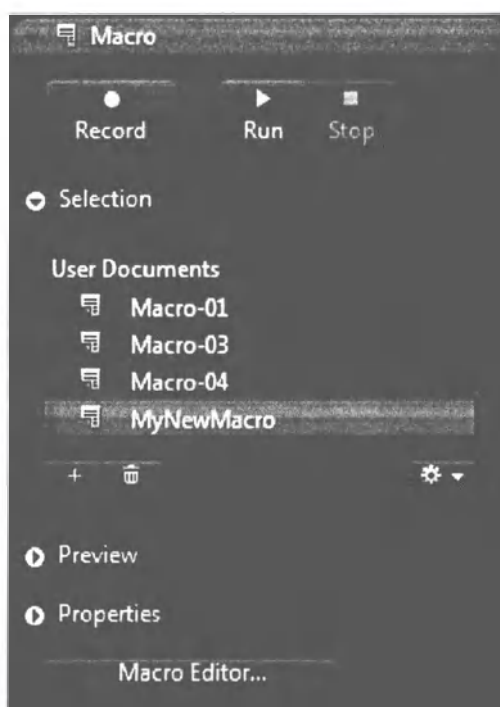
Форум пользователей был создан для обмена макрокомандами между пользователями и обсуждения программных решений. На форуме вы найдете множество примеров макрокоманд и дополнительную документацию. Форум пользователей доступен по ссылке: www.zeiss.com/ZEN-OAD.

11.2 Запуск существующей макрокоманды

Необходимые предварительные условия ■ Наличие лицензированной версии ZEN 2.3 (blue), например **ZEN pro**, **ZEN desk** или **ZEN system**. Обратите внимание, что в ZEN lite макросреда отсутствует.

- Отсутствие лицензионного модуля **макросреды** (Macro Environment).
- Наличие файла макрокоманды, который необходимо воспроизвести в ZEN.

- Порядок действий**
- 1 Скопируйте файл макрокоманды в папку:
.../User/My Documents/Carl Zeiss/ZEN/Documents/Macros.
 - 2 Запустите ПО ZEN.
 - 3 В **правой области инструментов** откройте инструмент **Macro** (Макрокоманды).
- Макрокоманда отобразится в списке под заголовком **User Documents** (Пользовательские документы).



- 4 Выберите свою макрокоманду.
- 5 Нажмите кнопку **Run** (Запустить).

Ваша макрокоманда выполнена. Вы успешно воспроизвели макрокоманду в ZEN.

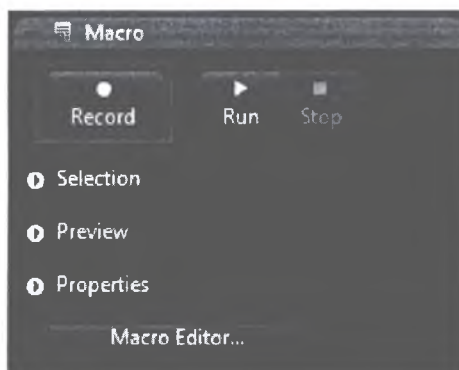
11.3 Запись макрокоманды

В этом разделе приводятся инструкции по записи макрокоманды простого процесса обработки.

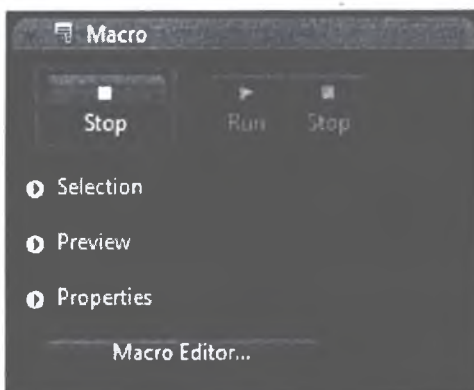
Необходимые предварительные условия ■ Наличие лицензионного модуля **макросреды** (Macro Environment).

- Открыт инструмент **Macro** (Макрокоманды) в правой области инструментов.

Порядок действий 1 Нажмите кнопку **Record** (Запись).



- 2 Загрузите цветное изображение с помощью меню **File | Open...** (Файл | Открыть...).
- 3 Перейдите во вкладку **Processing** (Обработка изображений).
- 4 Под заголовком **Method** (Метод) выберите **Edges | Sobel** (Границы | По Собелю).
- 5 В меню **Method Parameters | Normalization** (Параметры метода | Нормализация) выберите элемент **Clip** (Отсечение).
- 6 Под заголовком **Image Parameters** (Параметры изображения) установите цветное изображение для входного изображения (**Input**).
- 7 В верхней части вкладки **Processing** (Обработка изображений) нажмите кнопку **Apply** (Применить).
К используемому изображению будет применен метод Собеля. Будет создано выходное изображение и открыто в новом графическом контейнере.
- 8 В инструменте **Macro** (Макрокоманды) нажмите кнопку **Stop** (Стоп).



Вы успешно записали макрокоманду для простого процесса обработки. Данный процесс теперь можно повторять автоматически путем воспроизведения записанного файла макрокоманды.

12 Расширение ImageJ

12.1 Введение

В ПО ZEN включено бесплатное расширение **ImageJ**, которое обладает следующими возможностями:

- Позволяет выполнять быстрый обмен изображениями, от простых - двумерных изображений до более сложных, многомерных объектов, таких как серии срезов по оси Z, временные серии и т. д. Обмен может производиться в обоих направлениях: от ZEN в ImageJ и наоборот.
- Пользователь может выполнять функции ImageJ на ImageJ, не покидая среды ZEN.
- И наконец, расширение ImageJ позволяет пользователю сочетать два преимущества, упомянутых выше: пользователи могут отправлять изображение ZEN в ImageJ, обрабатывать его в нем, и затем пересылать результирующее изображение обратно в ZEN в один прием.

Обратите внимание, что существуют разные версии и варианты ImageJ и Fiji. Настоящее руководство основывается на ImageJ/Fiji версии 1.46. См. примечания по характерным отличиям остальных версий и вариантов. Для простоты при упоминании расширения ImageJ далее по тексту также подразумевается Fiji.

12.2 Подготовительные процедуры

i Примечание

Помните, что в **ZEN lite** расширение ImageJ отсутствует.

Порядок действий

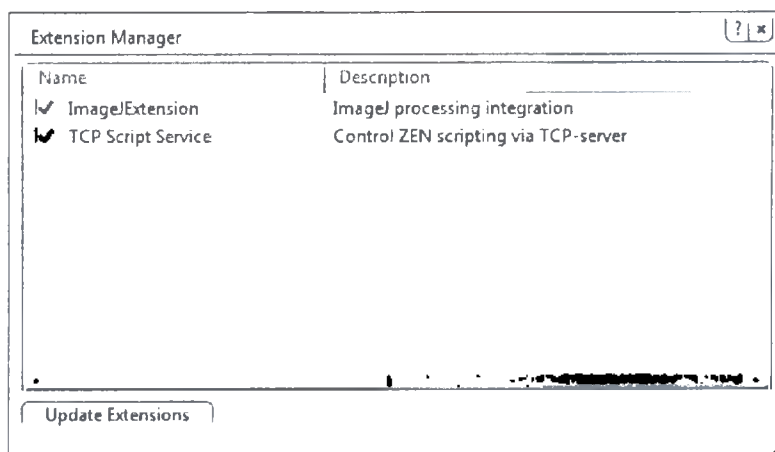
- 1 Установите **ImageJ** на компьютер. Убедитесь, что используется последняя версия расширения (после завершения установки проверьте обновления в режиме онлайн).
- 2 Загрузите файл **loci_tools.jar** и сохраните в папке **ImageJ/plugins**.
- 3 Обозначьте имя папки предпочтительным альтернативным именем. Несмотря на то, что вы можете свободно переключаться между средами, целесообразно придерживаться одной и той же среды, после того как вы начали добавлять собственные программы и макрокоманды.
- 4 Папка ImageJ/Fiji, которую вы впоследствии будете использовать, может принадлежать либо только вам, либо использоваться совместно с остальными пользователями системы. Решать вам: если вы — единственный пользователь, никто не получит доступ к содержимому вашей папки (изображениям, макрокомандам и т. д.), но в будущем вам придется копировать и распространять ее содержимое, если оно будет представлять интерес для остальных пользователей системы.

Вы успешно выполнили все необходимые предварительные условия. Теперь можно перейти к настройке ImageJ в ПО ZEN.

12.3 Активация расширения ImageJ

Расширение автоматически включено в установку ZEN. Для его установки запустите программное обеспечение и выполните следующее:

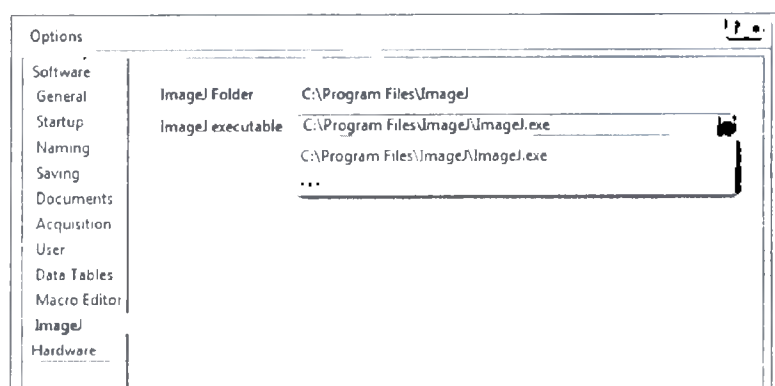
- Порядок действий
- 1 Для активации расширения перейдите в **Tools | Extension Manager**. (Инструменты | Менеджер расширений...) и установите флажок **ImageJ Extension** (Расширение ImageJ).



- 2 Нажмите кнопку **Apply** (Применить).

Расширение выполнит поиск места установки программного обеспечения и предложит место для установки. Для выбора предпочтительной среды выполните следующее:

- 3 В меню **Tools | Options | ImageJ** (Инструменты | Опции | ImageJ) в выпадающем списке **ImageJ executable** (Исполняемый файл ImageJ) выберите файл **ImageJ.exe**.
- 4 Если необходимо использовать другой исполняемый файл или нужный исполнительный файл отсутствует в списке, нажмите на последнюю строку «...» для его поиска.

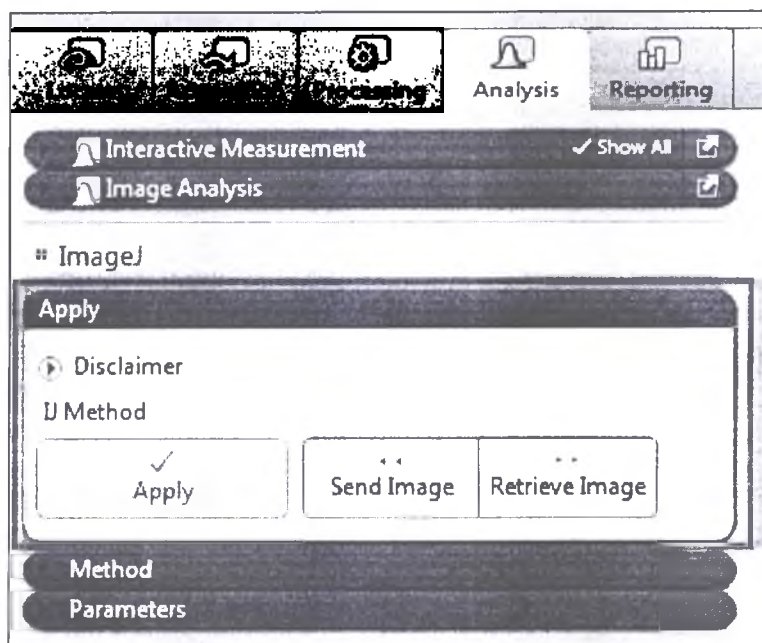


Вы успешно настроили расширение ImageJ в программном обеспечении. Теперь можно начать работу с расширением.

12.4 Отправка и загрузка изображений

Порядок действий

- 1 В левой области инструментов нажмите на вкладку **Analysis** (Анализ).
Отобразится группа инструментов **ImageJ** с инструментом **Apply** (Применить).



Порядок действий

- 1 Для пересылки изображения из ПО ZEN в расширение **ImageJ** выберите изображение в ZEN.
- 2 Нажмите кнопку **Send Image** (Отправить изображение).
Изображение будет отправлено в ImageJ и открыто в новом фрейме изображения. Теперь можно редактировать изображение в приложении ImageJ.
- 3 Для загрузки изображения из приложения **ImageJ** в ZEN выберите изображение в ImageJ.
- 4 Нажмите кнопку **Retrieve Image** (Загрузить изображение).
Изображение откроется в ZEN.

Вы успешно выполнили обмен изображениями между ZEN и ImageJ.

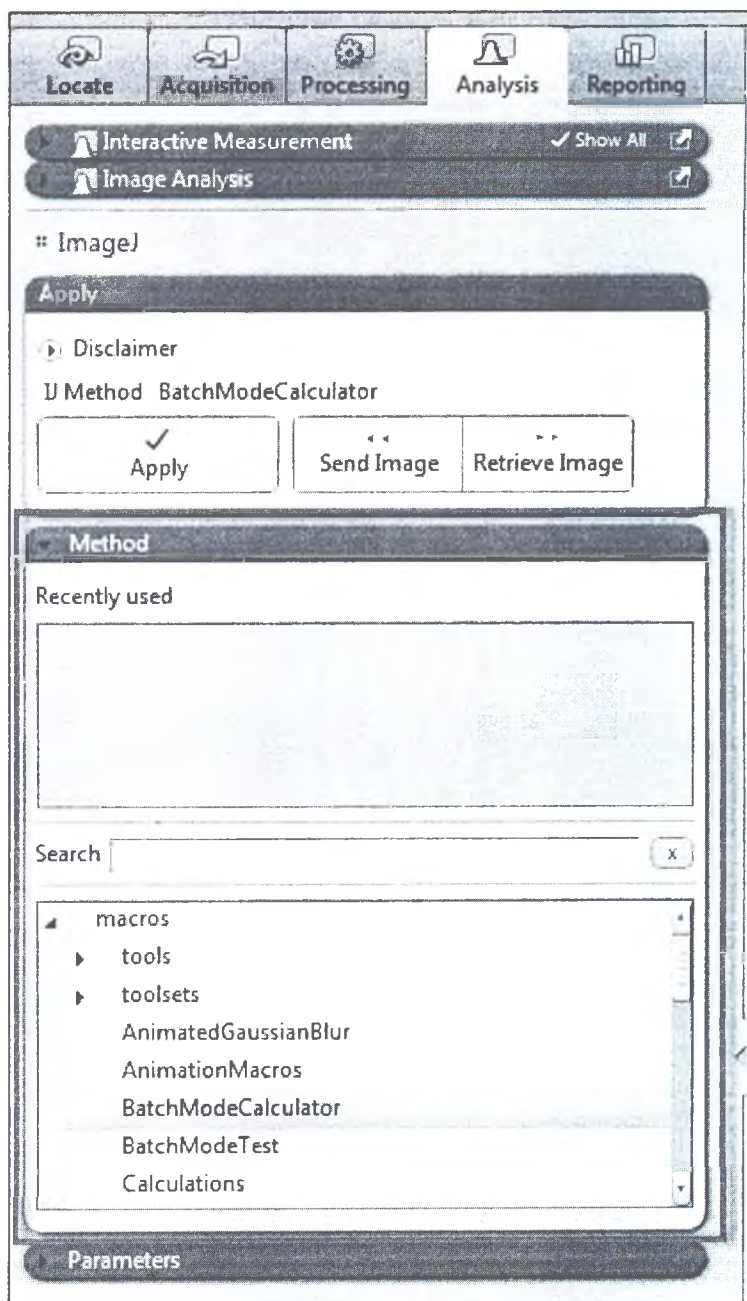
12.5 Использование методов ImageJ

Расширение предлагает возможность отправки изображений в ImageJ для обработки и (или) загрузки результата обработки. Ниже приведены основные шаги по применению методов обработки изображений в ImageJ.

Необходимые предварительные условия ■

Открыта вкладка **Analysis** (Анализ) в ImageJ.

- Порядок действий 1 В инструменте **Methods** (Методы) выберите команду или метод, который необходимо применить, например макрокоманду ImageJ.



- 2 В инструменте **Parameters** (Параметры) укажите, использовать в выбранном методе входное и (или) результирующее изображение.
- 3 Для выполнения команды в инструменте **Apply** (Применить) нажмите кнопку **Apply**.

Вы успешно применили выбранный метод к изображению.

12.6 Типы изображений, используемые при отправке/загрузке

Из ZEN в ImageJ

Тип изображения	Получено как...	Примечания
.tif, .jpg, .bmp, .png, .gif	Исходное	
.ome.tif	Исходное	
Двухмерное, ч/б, .czi	32-битное (RGB)	Преобразуйте изображение в ImageJ в необходимый тип пикселя с помощью команды Image > Type (Изображение > Тип).
Двухмерное, 24/48-битное, цветное, .czi	32-битное (RGB)	
Двухмерное, 36/42-битное, цветное, .czi	—	Преобразуйте CZI-изображение в 24/48-битное перед отправкой или использованием в выбранном методе.
Многоканальное x серия срезов по оси Z x временная серия	Многомерное изображение	При необходимости измените измерения, например с помощью команды Image > Hyperstacks (Изображение > Гиперстеки). Цвета каналов могут отличаться от установленных в ZEN.
Мозаичные изображения	—	Загружается только первая мозаика.
12-битные, ч/б	Ошибка в ImageJ	Обходное решение: преобразовать в ZEN тип пикселя изображения в 16-битный

Из ImageJ в ZEN

Тип изображения	Получено как...	Примечания
.tif, .jpg, .bmp, .png, .gif	Исходное	
.ome.tif	Исходное	
Двухмерное, ч/б или RGB	ч/б, RGB TIF	
Многоканальное x серия срезов по оси Z x временная серия	Многомерное изображение	Совет: выберите RGB в Quick Color Setup (Быстрая настройка цвета) для получения тех же цветов каналов, что и в ImageJ.
Мозаичные изображения	—	Загружается только первая мозаика.

13 Модуль Tiles & Positions

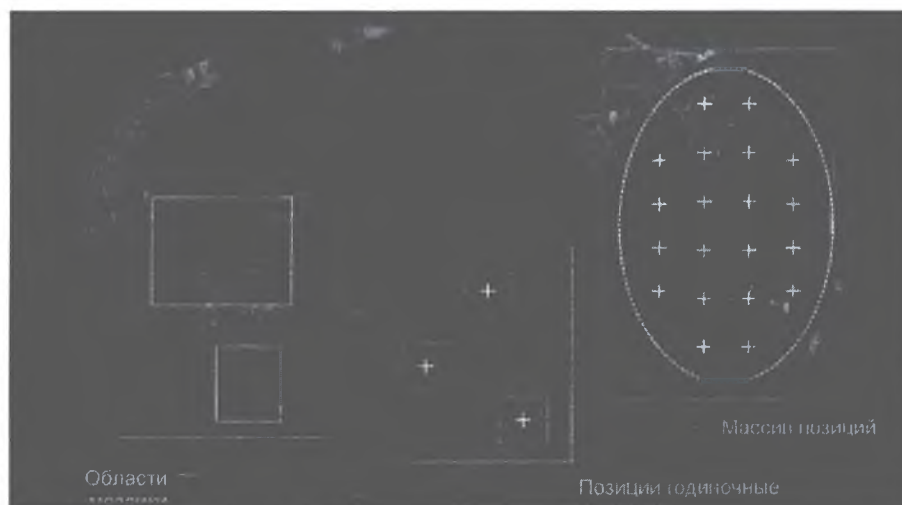
13.1 Работа с мозаиками и позициями

13.1.1 Введение

С помощью модуля **Tiles** можно получать изображения, состоящие из ряда отдельных изображений (мозаик). Для получения изображений можно определить области мозаик и позиции.

Лицензионный модуль **Tiles** помимо базовых функций инструмента **Tiles** (Мозаики) обладает **расширенной функциональностью**. Это позволит быстрее настраивать эксперименты в модуле **Tiles**, а также использовать подложки и фокальные поверхности.

Обратите внимание, что после активации инструмента **Tiles** (Мозаики) программное обеспечение автоматически выберет подходящую стратегию фокусирования **Use Focus Surface/Z-Values Defined by Tiles Setup** (Использовать фокальную поверхность/Z-величины, определенные в настройках модуля Tiles). Эта стратегия фокусирования доступна только при наличии лицензионного модуля **Tiles**.



Примечание

Чтобы получить области мозаик или позиции с разными позициями по оси Z, необходимо использовать подходящую стратегию фокусирования. Более подробно см. раздел «Использование стратегий фокусирования» [► 55] в интерактивной справке ZEN.

13.1.2 Общие подготовительные процедуры

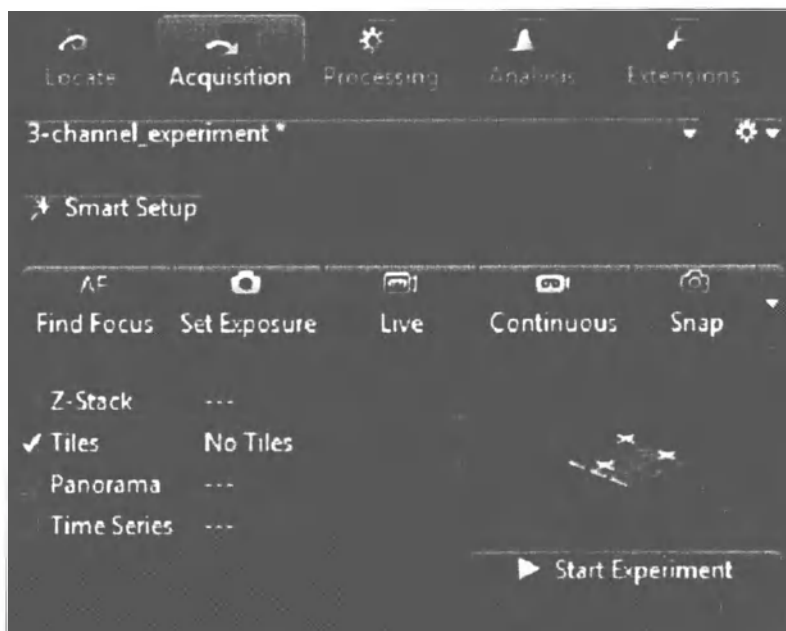
Необходимые предварительные условия ■ Модуль **Tiles** активируется в меню **Tools | Modules Manager... | Tiles & Positions** (Инструменты | Менеджер модулей... | Мозаики и позиции).

- Для настройки экспериментов в модуле **Tiles** потребуется столик с электроприводом. Он должен быть правильно настроен и откалиброван в соответствии с ориентацией камеры. Более подробно см. раздел «Калибровка столика и выбор канала» [► 263].

- Создан новый эксперимент [► 39], определен по крайней мере один канал [► 38] правильно установлены фокус и время экспозиции.
- Открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений).

Порядок действий

- 1 Активируйте инструмент **Tiles** (Мозаики), установив флажок **Tiles** (Мозаики) в разделе **Acquisition Dimensions** (Измерения полученных изображений).



В левой области инструментов в группе **Multidimensional Acquisition** (Получение многомерных изображений) появится инструмент **Tiles** (Мозаики).

Вы успешно выполнили общие подготовительные процедуры. Теперь можно настраивать эксперименты в модуле **Tiles** или **Positions** (см. --- FEHLENDER LINK ---).

13.1.2.1**Калибровка столика и выбор канала**

Во время запуска системы с электроприводным столиком и (или) фокусом программное обеспечение предложит вам привести компоненты к **откалиброванным** концевым выключателям. Это гарантирует, что работа в этой сессии начнется с абсолютных координат. При выключении и повторном включении питания микроскопа эту процедуру следует повторить. Эта функция особенно полезна при непрерывной работе с одинаковыми подложками (например, 96-луночным планшетом), постоянно устанавливаемыми по заданному шаблону эксперимента. Если калибровка подложки в разделе **Sample Carrier** (Подложка) выполнялась вместе с откалиброванным столиком, то повторная калибровка подложки не требуется.

Примечание

Запрос на калибровку столика и фокуса включается/выключается в меню **Options | Startup | Stage/Focus Calibration** (Опции | Пуск | Калибровка столика/фокуса).

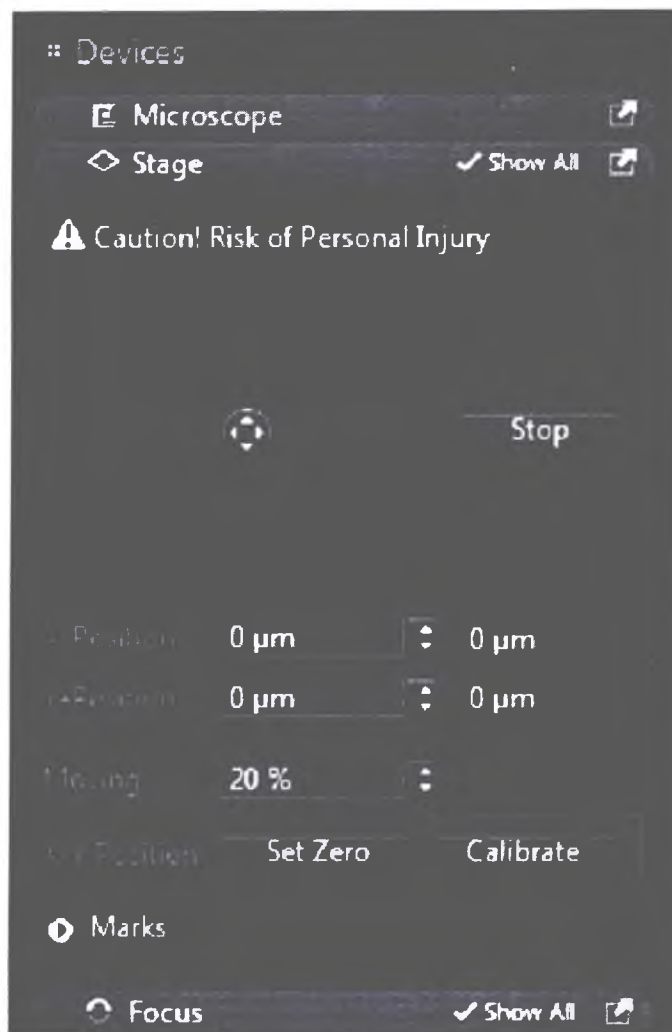
Порядок действий

- 1 Поместите подложку на столик.
- 2 Откройте вкладку **Locate** (Местоположение).

- 3 Выберите объектив с малым увеличением (например, 10x).
- 4 Нажмите кнопку **Live** (Живое изображение) и определите зону фокусировки в режиме проходящего или флуоресцентного света.
- 5 В инструменте **Microscope Control** (Управление микроскопом) нажмите кнопку **Stage** (Столик).

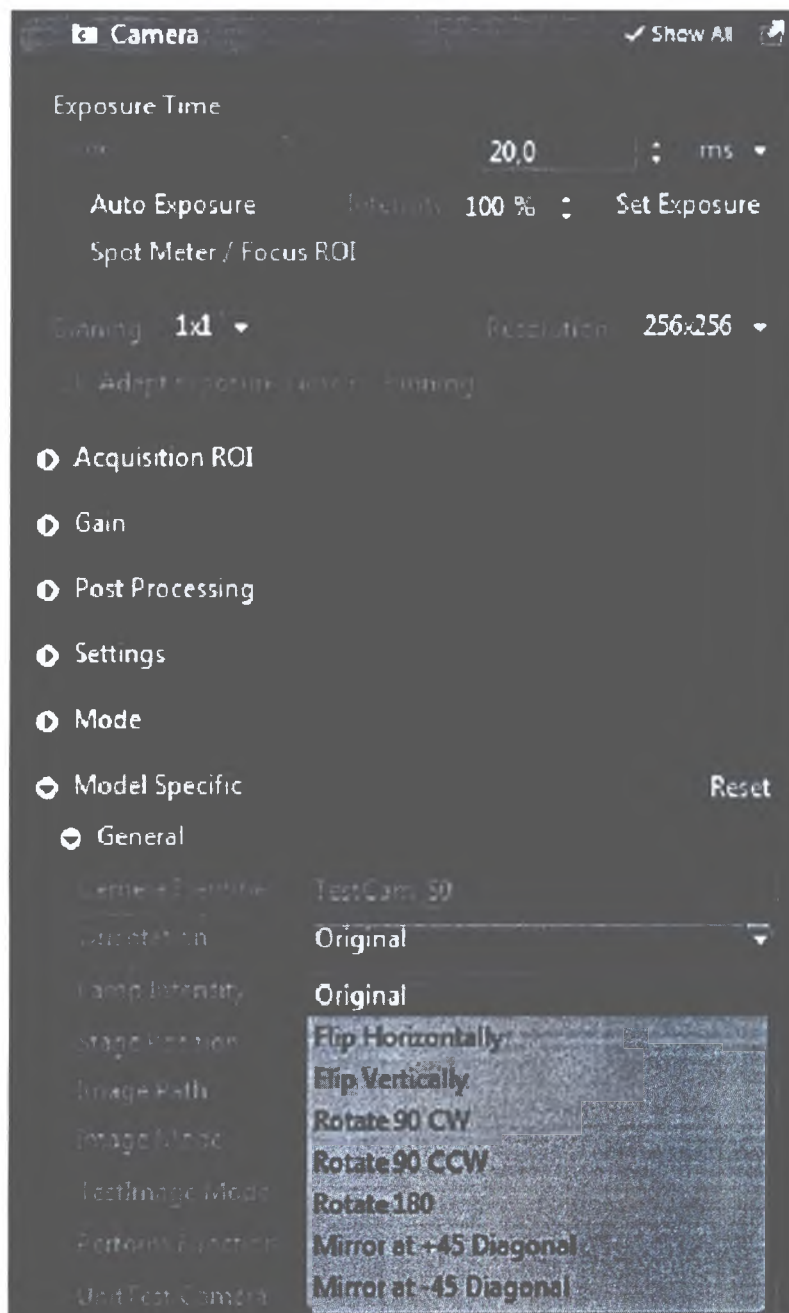


- 6 Активируйте режим **Show all** (Показать все) и нажмите кнопку **Calibrate** (Калибровать).



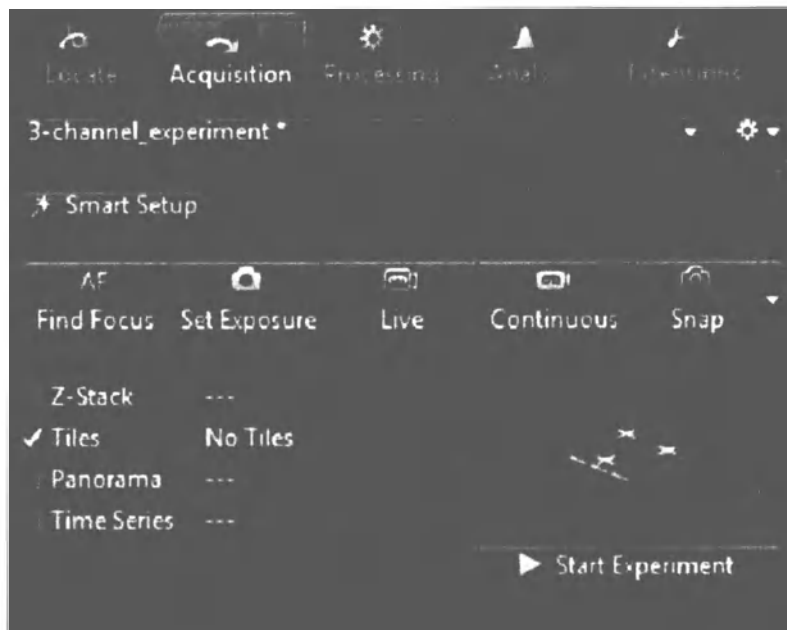
- 7 Проверьте правильность выравнивания камеры и джойстика, перемещая джойстик программного обеспечения вверх, вниз, влево и вправо, и наблюдайте, соответствует ли перемещение изображения перемещению круга. Кроме этого, проверьте, соответствует ли перемещение изображения перемещению джойстика.
- 8 В случае неправильного выравнивания откройте вкладку **Camera** (Камера), активируйте режим **Show all** (Показать все) и нажмите кнопку **Model Specific** (По конкретной модели).

- 9 В разделе **Orientation** (Ориентация) можно подстроить ориентацию камеры к ориентации джойстика. Также можно инвертировать оси X и Y столика в программе **MTB** для выравнивания перемещений джойстика и программно-управляемого столика.

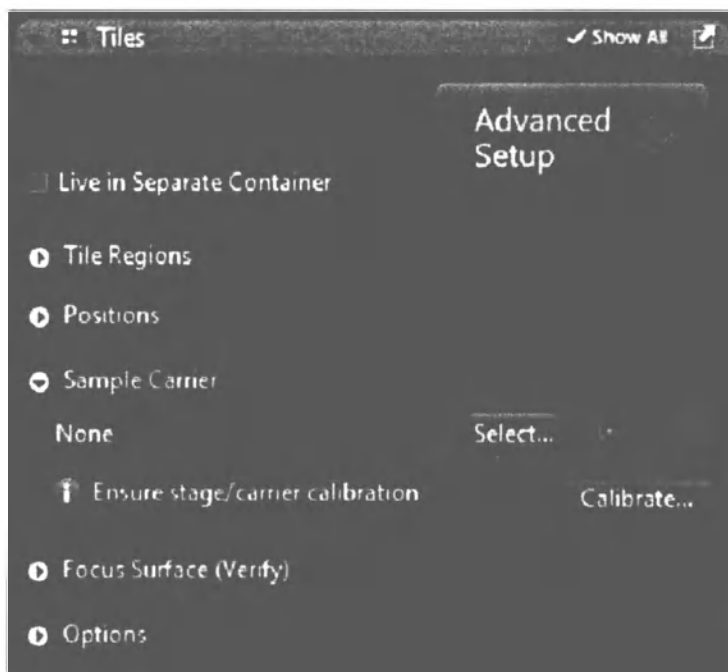


- 10 Откройте вкладку **Acquisition** (Получение изображений).
- 11 Выполните все необходимые предварительные условия (например, настройки каналов и камеры) для проведения эксперимента в модуле **Tiles & Positions**. Для этого используйте функцию **Smart Setup** (Быстрая настройка) и, при необходимости, **Experiment Designer** (Конструктор эксперимента) (не рекомендуется для новичков).

- 12 После определения по меньшей мере одного канала (например, EGFP), установите флажок напротив модуля **Tiles**.



- 13 Откройте инструмент **Tiles** (Мозаики) в модуле **Multidimensional Acquisition** (Получение многомерных изображений) и активируйте режим **Show all** (Показать все).
- 14 В инструменте **Tiles** (Мозаики) откройте раздел **Sample Carrier** (Подложка).
- 15 Нажмите кнопку **Select...** (Выбрать...).



- 16 Выберите заранее установленный **шаблон подложки** и нажмите кнопку **OK**.

13.1.3 Калибровка столика и выбор канала

Во время запуска системы с электроприводным столиком и (или) фокусом программное обеспечение предложит вам привести компоненты к откалиброванным концевым выключателям. Это гарантирует, что работа в этой сессии начнется с абсолютных координат. При выключении и повторном включении питания микроскопа эту процедуру следует повторить. Эта функция особенно полезна при непрерывной работе с одинаковыми подложками (например, 96-луночным планшетом), постоянно устанавливаемыми по заданному шаблону эксперимента. Если калибровка подложки в разделе Sample Carrier (Подложка) выполнялась вместе с откалиброванным столиком, то повторная калибровка подложки не требуется.

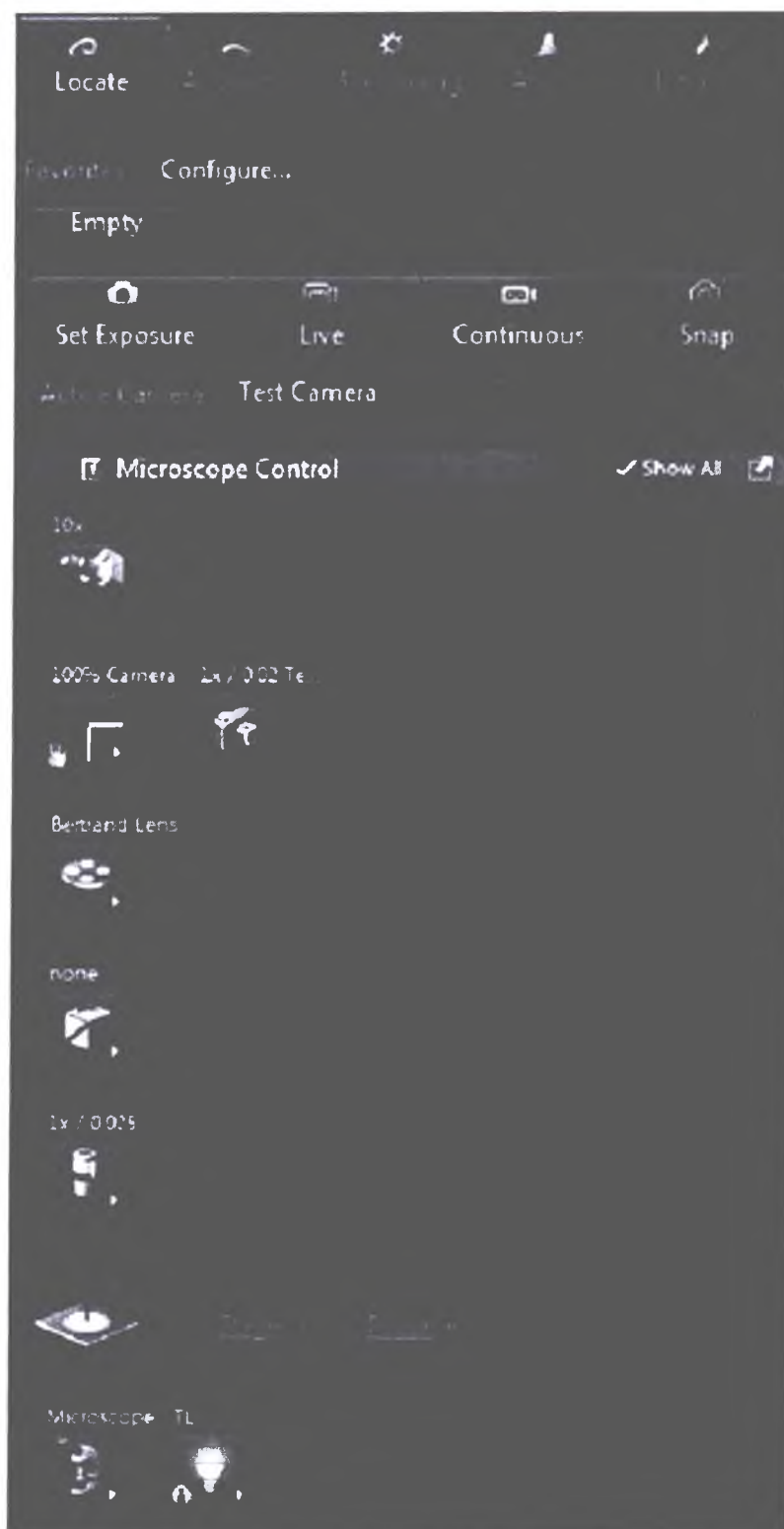
Примечание

Запрос на калибровку столика и фокуса включается/выключается в меню **Options | Startup | Stage/Focus Calibration** (Опции | Пуск | Калибровка столика/фокуса).

Порядок действий

- 1 Поместите подложку на столик.
- 2 Откройте вкладку **Locate** (Местоположение).
- 3 Выберите объектив с малым увеличением (например, 10x).
- 4 Нажмите кнопку **Live** (Живое изображение) и определите зону фокусировки в режиме проходящего или флуоресцентного света.

- 5 В инструменте **Microscope Control** (Управление микроскопом) нажмите кнопку **Stage** (Столик).

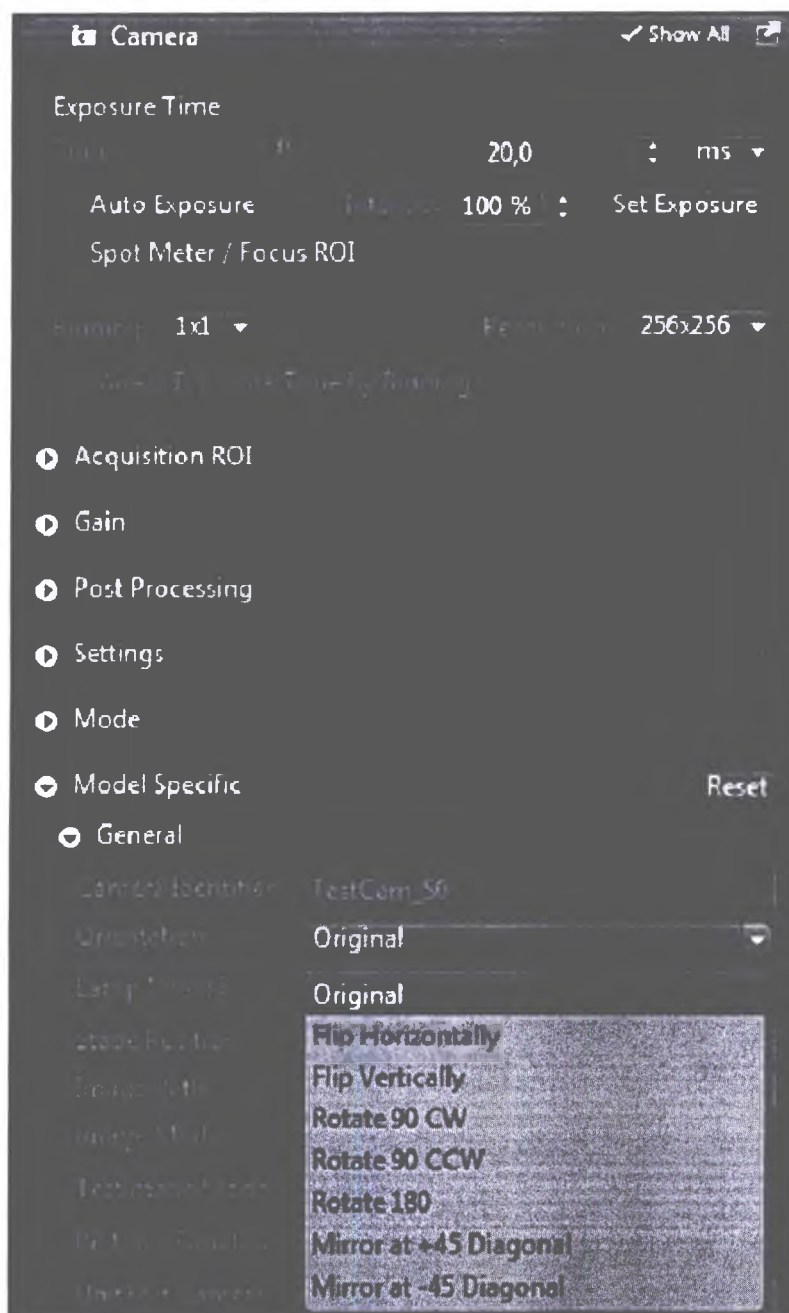


- 6 Активируйте режим **Show all** (Показать все) и нажмите кнопку **Calibrate** (Калибровать).



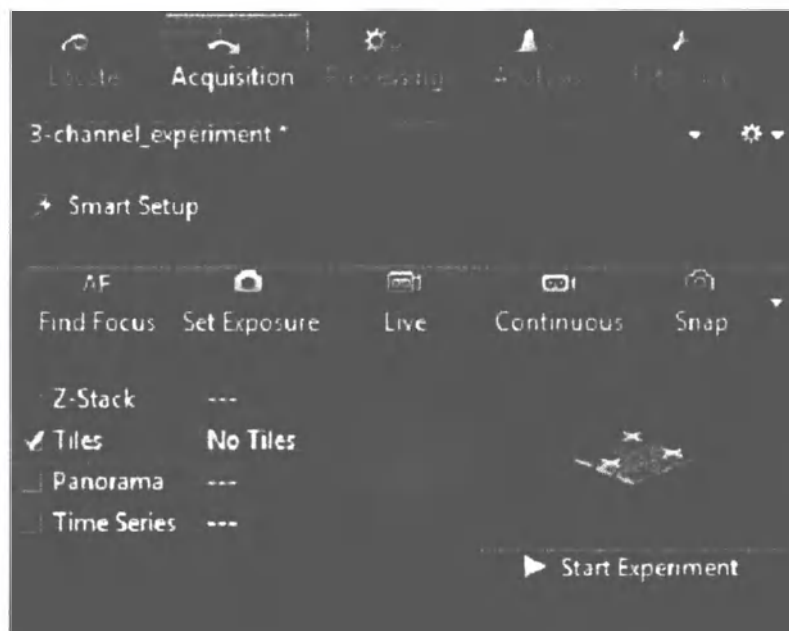
- 7 Проверьте правильность выравнивания камеры и джойстика, перемещая джойстик программного обеспечения вверх, вниз, влево и вправо, и наблюдайте, соответствует ли перемещение изображения перемещению круга. Кроме этого, проверьте, соответствует ли перемещение изображения перемещению джойстика.
- 8 В случае неправильного выравнивания откройте вкладку **Camera** (Камера), активируйте режим **Show all** (Показать все) и нажмите кнопку **Model Specific** (По конкретной модели).

- 9 В разделе **Orientation** (Ориентация) можно подстроить ориентацию камеры к ориентации джойстика. Также можно инвертировать оси X и Y столика в программе **MTB** для выравнивания перемещений джойстика и программно-управляемого столика.

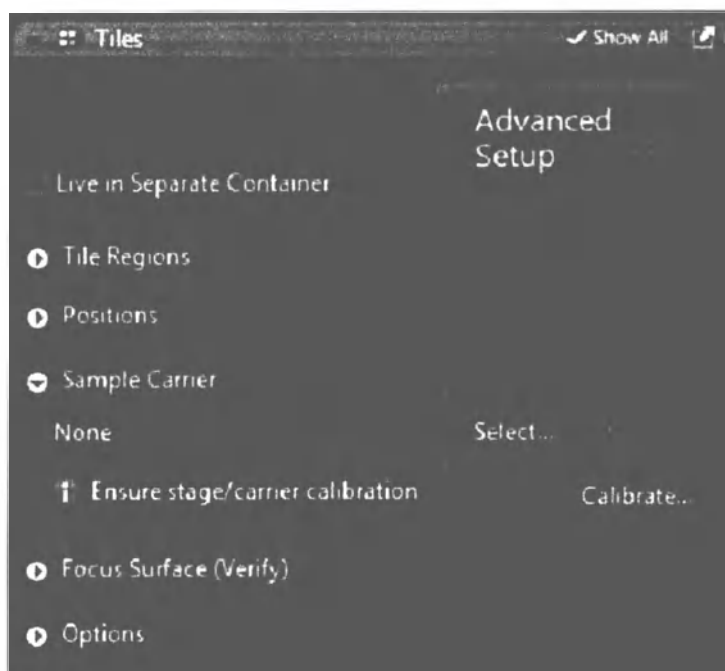


- 10 Откройте вкладку **Acquisition** (Получение изображений).
- 11 Выполните все необходимые предварительные условия (например, настройки каналов и камеры) для проведения эксперимента в модуле **Tiles & Positions**. Для этого используйте функцию Smart Setup (Быстрая настройка) и, при необходимости, Experiment Designer (Конструктор эксперимента) (не рекомендуется для новичков).

- 12 После определения по меньшей мере одного канала (например, EGFP), установите флажок напротив модуля **Tiles**.



- 13 Откройте инструмент **Tiles** (Мозаики) в модуле **Multidimensional Acquisition** (Получение многомерных изображений) и активируйте режим **Show all** (Показать все).
- 14 В инструменте **Tiles** (Мозаики) откройте раздел **Sample Carrier** (Подложка).
- 15 Нажмите кнопку **Select...** (Выбрать...).

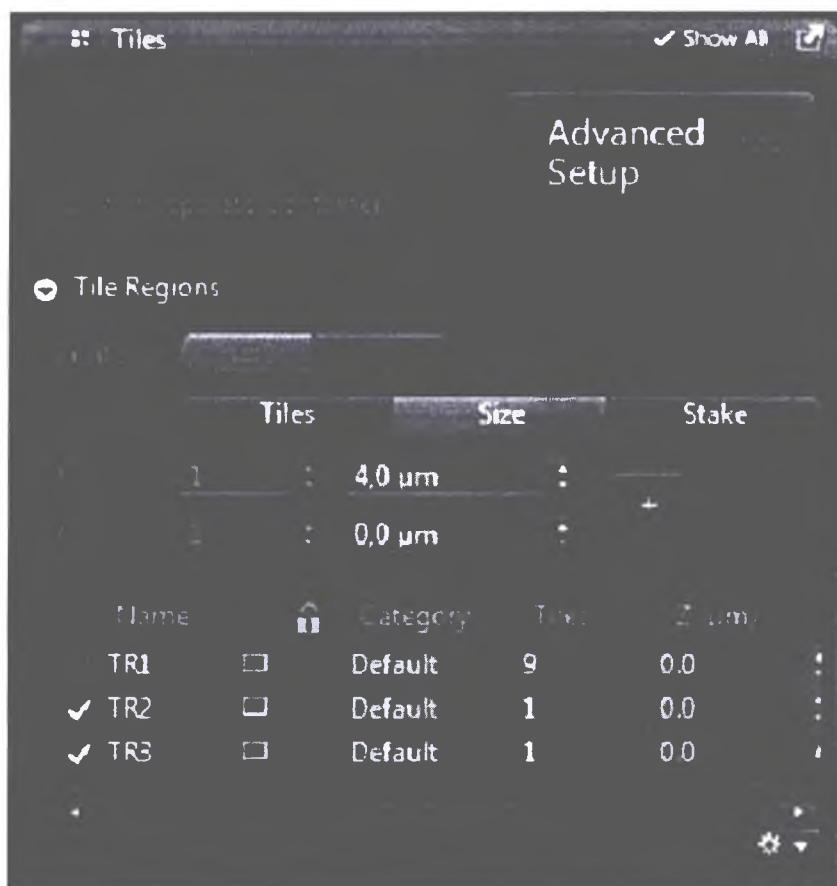


- 16 Выберите заранее установленный шаблон подложки и нажмите на кнопку **OK**.

13.1.4 Настройка простого эксперимента с мозаиками в модуле Tiles

Необходимые предварительные условия ■ В инструменте **Tiles** (Мозаики) открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений).

- Порядок действий**
- 1 Запустите режим **живого изображения** (Live), чтобы использовать столик для определения местоположения точки, предпочтительного центра области мозаики.
 - 2 Сфокусируйте изображение образца с помощью привода фокусировки.
 - 3 Откройте раздел **Tile Regions** (Области мозаик).
 - 4 Режим **Tiles** (Мозаики) активирован по умолчанию. В этом режиме введите число мозаик в поля ввода **X** и **Y**, например, **X = 3, Y = 3** преобразуется в область, содержащую 9 мозаик. Также можно ввести необходимый размер области добавляемой мозаики. Для этого активируйте режим **Size** (Размер).
 - 5 Нажмите кнопку  **Add** (Добавить).
Область мозаики добавлена в эксперимент. Текущая позиция столика определяет центр и позицию по оси **Z** области мозаики.
 - 6 Для следующего добавления областей мозаик переместите столик в другую позицию на образце и повторите описанные выше шаги.
Добавленные области мозаик (**TR1, TR2** и т. д.) отобразятся в списке областей мозаик.



Прокрутив вправо таблицу, вы увидите размеры областей мозаик.

i Примечание

Для гарантированного учета отдельных Z-величин областей мозаик ZEN автоматически выбирает наиболее подходящую *стратегию фокусирования* [► 55], если установлен флажок **Tiles** (Мозаики). Описанный эксперимент не требует внесения дополнительных поправок. При необходимости получить все области мозаик в одной позиции по оси Z, следует выбрать строку **None** (Отсутствует) в выпадающем списке инструмента **Focus Strategy** (Стратегия фокусирования). В таком случае отдельные позиции по оси Z будут игнорироваться, а текущая позиция по оси Z на момент начала эксперимента будет использоваться для всех областей мозаик.

7 Сохраните эксперимент. Для этого в **менеджере экспериментов** (Experiment Manager) нажмите кнопку  **Options** (Опции) и выберите **Save As** (Сохранить как). В поле ввода введите имя эксперимента, например Simple Tile Experiment (Простой эксперимент в модуле Tiles).

8 Нажмите кнопку **Start Experiment** (Начать эксперимент).

Получен эксперимент с **областью мозаики**.

Отдельные области мозаик отображаются в полученном файле в виде сцен и доступны для выбора с помощью ползунка **Scene** (Сцена) во вкладке **Dimensions** (Измерения). Если флажок **Scene** (Сцена) убран, все области мозаик отображаются в виде обзора.

Вы успешно настроили и получили простой эксперимент с **областью мозаики**.

13.1.5 Настройка простого эксперимента с позициями в модуле Positions (Позиции)

Необходимые предварительные условия ■ Открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений) в инструменте **Tiles** (Мозаики).

Порядок действий 1 Откройте раздел **Positions** (Позиции).

2 Активируйте режим **живого изображения** (Live), чтобы использовать столик для определения позиции, изображение которой необходимо получить.

Координаты по оси X и Y текущей позиции отображаются в полях ввода **Current X/Y** (Текущие X- и Y-координаты).

3 Сфокусируйте изображение образца с помощью привода фокусировки.

4 Нажмите кнопку  **Add** (Добавить).

Текущая позиция будет добавлена в эксперимент.

i Примечание

Если текущая позиция близка к добавленной ранее, программное обеспечение попросит подтвердить добавление еще одной позиции в этом местоположении (пороговая величина здесь лежит в пределах круга, чей радиус меньше половины приближенной ширины видимой области обзора камеры).

5 Для последующего добавления позиций переместите столик в другую позицию на образце и повторите описанные выше шаги.

Добавленные позиции отобразятся в списке раздела **Single Positions** (Одиночные позиции) вместе с координатами по оси X, Y и Z.



Примечание

Для гарантированного учета отдельных Z-величин позиций программное обеспечение автоматически выбирает наиболее подходящую *стратегию фокусирования* [► 55], если установлен флажок **Tiles** (Мозаики).

Описанный эксперимент не требует внесения дополнительных поправок. При необходимости получить все области мозаик в одной позиции по оси Z, следует выбрать строку **None** (Отсутствует) в выпадающем списке инструмента **Focus Strategy** (Стратегия фокусирования). В таком случае отдельные позиции по оси Z будут игнорироваться, а текущая позиция по оси Z на момент начала эксперимента будет использоваться для всех областей мозаик.

6 Сохраните эксперимент. Для этого в **менеджере экспериментов** (Experiment Manager) нажмите кнопку  **Options** (Опции) и выберите строку **Save As** (Сохранить как). В поле ввода введите имя эксперимента, например Simple Tile Experiment (Простой эксперимент в модуле Tiles).

7 Нажмите кнопку **Start Experiment** (Начать эксперимент).

Получен эксперимент с позициями.

Отдельные позиции отображаются в полученном файле в виде сцен и доступны для выбора с помощью ползунка **Scene** (Сцена) во вкладке **Dimensions** (Измерения). Если флажок **Scene** (Сцена) убран, все позиции отображаются одновременно в виде обзора.

Вы успешно настроили и получили простой эксперимент с позициями.

13.1.6 Модуль Tiles & Positions с расширенными настройками

Расширенные настройки (**Advanced Setup**) облегчают создание областей мозаик и позиций посредством отображения распределения и измерений областей мозаик и позиций в пределах перемещения столика. Вы можете выполнить сканирование просмотра (**Preview Scan**) и точно выделить области мозаик или позиции по этому шаблону. Для выполнения сканирования просмотра можно использовать объектив с малым увеличением и (или) другой канал (например, проходящий свет).

Примечание

Для гарантированного учета отдельных Z-величин областей мозаик и (или) позиций ZEN автоматически выбирает наиболее подходящую *стратегию фокусирования* [► 55], если установлен флажок **Tiles** (Мозаики). Описанный эксперимент не требует внесения дополнительных поправок. При необходимости получить все области мозаик в одной позиции по оси Z, следует выбрать строку **None** (Отсутствует) в выпадающем списке инструмента **Focus Strategy** (Стратегия фокусирования). В таком случае отдельные позиции по оси Z будут игнорироваться, а текущая позиция по оси Z на момент начала эксперимента будет использоваться для всех областей мозаик.

Необходимые предварительные условия ■ Для настройки эксперимента с мозаиками в режиме **Advanced Setup** (Расширенные настройки), потребуется модуль **Tiles**.

- Вы ознакомились с введением.
- Открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений) в инструменте **Tiles** (Мозаики).

Порядок действий 1 Нажмите кнопку **Advanced Setup** (Расширенные настройки).



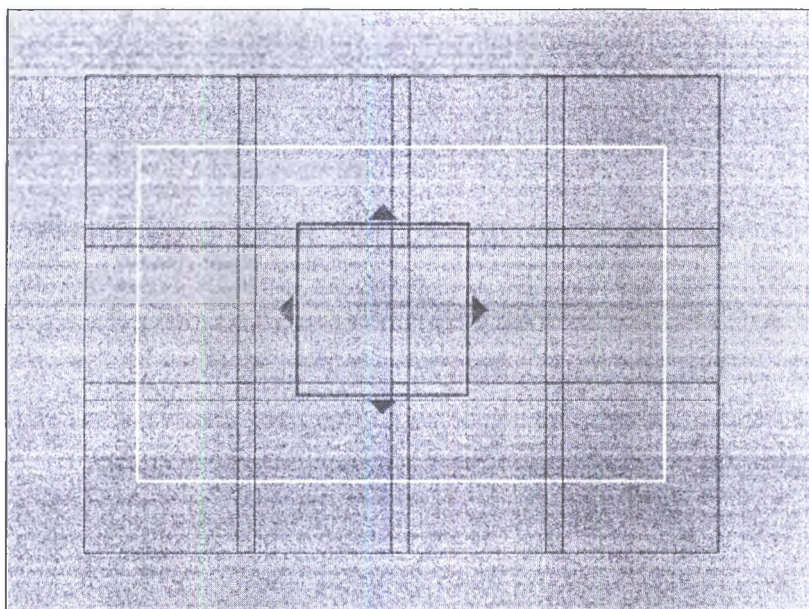
Откроется окно обзора **Advanced Tiles Setup** (Расширенные настройки модуля Tiles).

Режим живого изображения (Live) активируется автоматически. Если режим живого изображения не требуется, отключите его для предотвращения обесцвечивания образца. Для этого нажмите на активную кнопку **Stop** (Стоп) в меню **левой области инструментов**.

13.1.6.1 Сканирование просмотра

Необходимые предварительные условия ■ Открыта вкладка **Advanced Setup** (Расширенные настройки) инструмента **Tiles** (Мозаики).

- Порядок действий
- 1 В области опций **Specific View** (Предметный просмотр) откройте вкладку **Preview Scan** (Сканирование просмотра).
 - 2 Выберите объектив с относительно малым увеличением.
 - 3 В инструменте **Preview Scan** (Сканирование просмотра) уберите флажок **Use Experiment Settings** (Использовать настройки эксперимента) и выделите/отмените выделение каналов, которые необходимо использовать для сканирования просмотра.
 - 4 При необходимости с помощью режима живого изображения (Live) после смены объектива или канала настройте область фокусировки и экспозицию.
 - 5 Для достижения лучшего обзора медленно уменьшайте окно обзора **Advanced Setup** (Расширенные настройки).
 - 6 Запустите режим живого изображения (**Live**), чтобы использовать столик для приблизительного определения местоположения центра области, для которой необходимо выполнить сканирование просмотра.
 - 7 Откройте вкладку **Tile Region Setup** (Настройка области мозаики) в настройках области просмотра **Advanced Setup** (Расширенные настройки).
 - 8 Напротив элемента **Setup by** (Определить по) нажмите кнопку **Contour** (Контур).
 - 9 Под кнопкой **Contour** (Контур) выберите инструмент **Rectangular Contour** (Прямоугольный контур).
 - 10 В поле обзора столика растяните прямоугольник, приблизительно охватив область, для которой требуется выполнить сканирование просмотра.

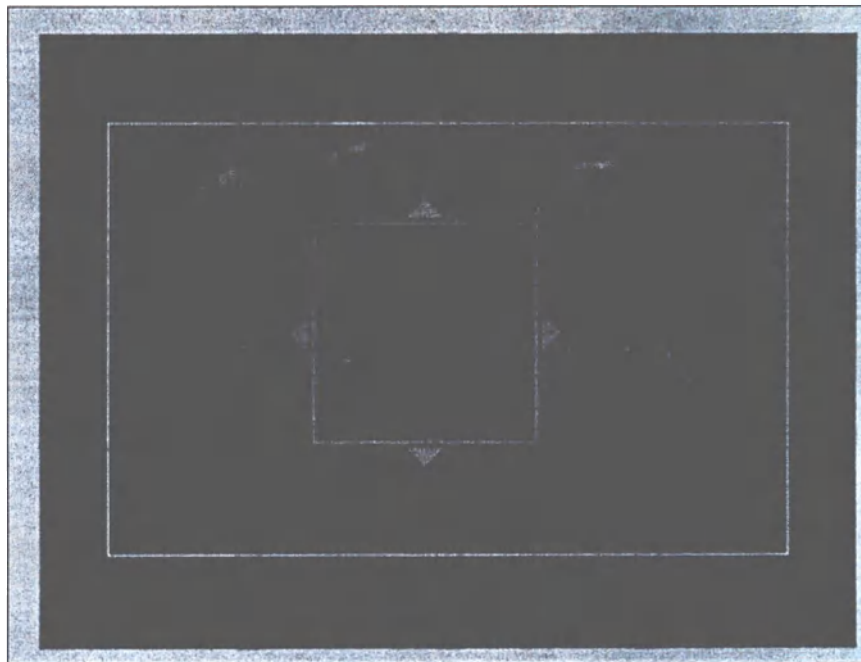


Для выделенной области будет создана область мозаики, которая отобразится в списке раздела **Tile Regions** (Области мозаики) инструмента **Tiles** (Мозаики).

- 11 С помощью режима живого изображения (**Live**) проверьте, охватывает ли область мозаики желаемую область изображения. Воспользуйтесь столиком для определения положения углов и границ области мозаики и по мере необходимости увеличивайте или уменьшайте желтую рамку выбора.

- 12 Во вкладке **Preview Scan** (Сканирование просмотра) нажмите кнопку **Start Preview Scan** (Начать сканирование просмотра).

Для предварительного просмотра выделенной области будет получена серия моментальных снимков.



Вы успешно выполнили сканирование просмотра.

Перед выполнением реального эксперимента выполните следующие шаги:

- Порядок действий 1 В разделе **Tiles Regions** (Области мозаики) отключите предварительный просмотр области мозаики (TR 1), убрав флажок напротив соответствующей строки списка. Предварительный просмотр области мозаики во время выполнения реального эксперимента будет отключен.



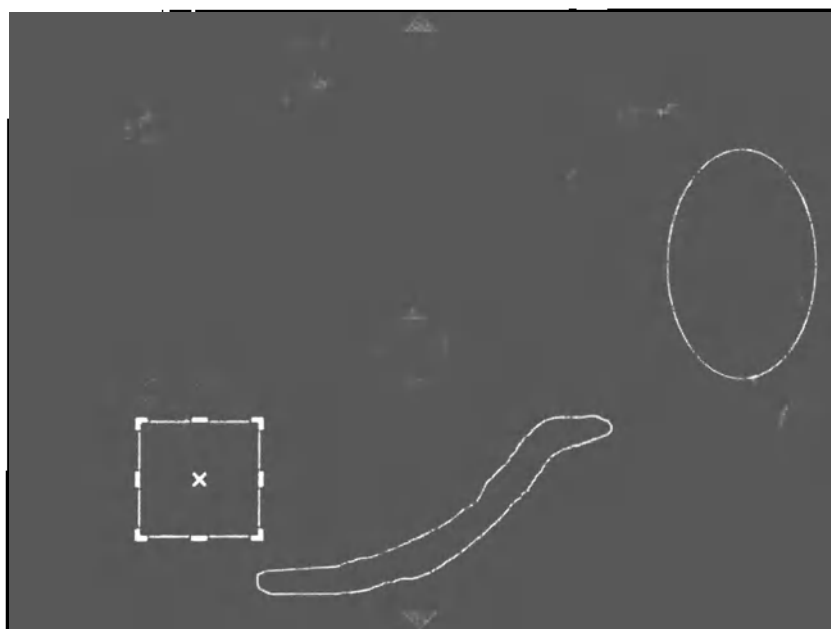
- 2 В инструменте **Preview Scan** (Сканирование просмотра) или **Microscope Control** (Управление микроскопом) в правой области инструментов (в ZEN версии 2.3 и выше) выберите объектив, который необходимо использовать для получения окончательного изображения.
- 3 Для настройки зоны фокусировки и соответственно экспозиции используйте режим живого изображения (**Live**).

Теперь можно продолжить проведение эксперимента с мозаиками.

13.1.6.2 Создание областей мозаик по контуру

Необходимые предварительные условия ■ Выполнено *сканирование просмотра* [► 272], которое облегчит определение местоположения областей мозаик.

- Порядок действий**
- 1 Откройте вкладку **Tile Region Setup** (Настройка области мозаики) в настройках области просмотра **Advanced Setup** (Расширенные настройки).
 - 2 Напротив элемента **Setup by** (Определить по) выберите опцию **Contour** (Контур).
 - 3 В разделе **Contour** (Контур) выберите необходимый инструмент выделения контуров.
 - 4 С помощью инструмента **Contour** (Контур) в поле обзора столика выделите области мозаик, изображения которых требуется получить.



Области мозаик будут созданы для каждой выделенной области. Они добавляются в список раздела **Tile Regions** (Области мозаик) инструмента **Tiles** (Мозаики).

Вы успешно создали области мозаик во вкладке **Advanced Setup** (Расширенные настройки).

13.1.6.3 Создание области мозаик по предопределенному контуру

Необходимые предварительные условия ■ Открыта вкладка **Advanced Setup** (Расширенные настройки) инструмента **Tiles** (Мозаики).

- Выбрана и откалибрована подложка с одной или несколькими лунками/контейнерами.

- Порядок действий**
- 1 Во вкладке **Carrier** (Подложка) (снизу слева, под центральной областью экрана) выберите лунку(-и), удерживая клавишу **Ctrl** и нажимая на необходимые лунки.

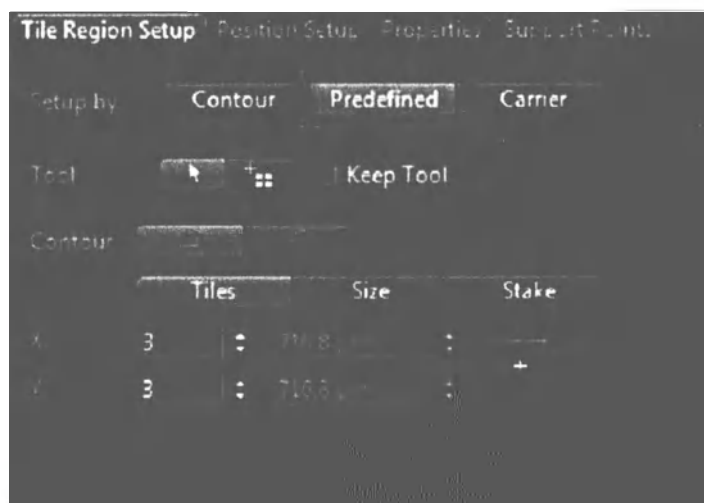
Выбранные лунки будут обведены синим контуром.



1 Примечание

При двойном щелчке мышью по одной из лунок столик переместится в центр этой лунки.

- Откройте вкладку **Tile Region Setup** (Настройка области мозаики) под центральной областью экрана и включите режим **Show All** (Показать все).
- Во вкладке **Tile Region Setup** (Настройка области мозаики) напротив элемента **Setup by** (Определить по) выберите опцию **Predefined** (Предустановленные значения).



- Укажите, сколько мозаик в измерениях X и Y необходимо добавить, и подтвердите выбор кнопкой **Add** (Добавить).

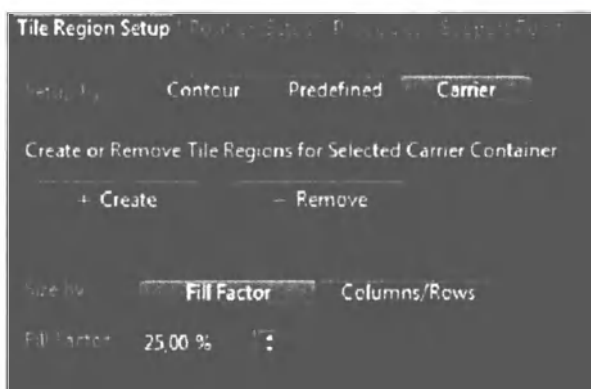
13.1.6.4 Создание области мозаик по подложке

Необходимые предварительные условия ■ Открыта вкладка **Advanced Setup** (Расширенные настройки) инструмента **Tiles** (Мозаики).

- Выбрана и откалибрована подложка с одной или несколькими лунками/контейнерами.

Порядок действий

- Откройте вкладку **Tile Region Setup** (Настройка области мозаики) под центральной областью экрана и включите режим **Show All** (Показать все).
- Во вкладке **Tile Region Setup** (Определение области мозаики) напротив элемента **Setup by** (Определить по) выберите опцию **Carrier** (Подложка).



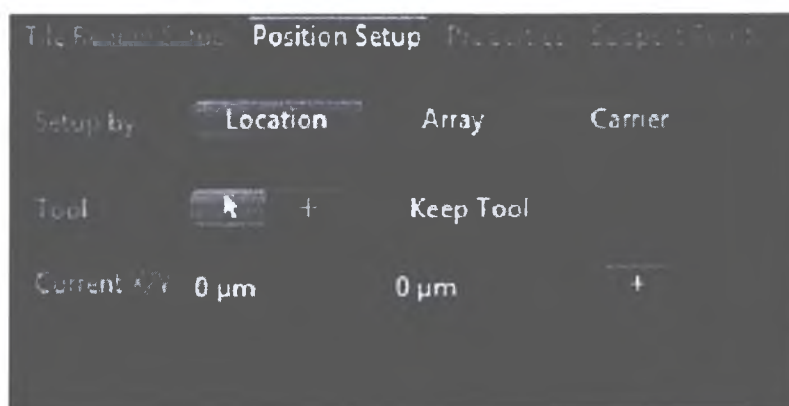
- 3 Во вкладке **Carrier** (Подложка) выберите отдельные лунки, для которых необходимо создать области мозаик, удерживая клавишу *Ctrl* и нажимая на лунки.
- 4 Напротив опции **Size by** (Размер по) выберите **Fill Factor** (Коэффициент заполнения) и введите желаемое значение в поле ввода **Fill Factor** (Коэффициент заполнения).
- 5 Нажмите кнопку «+» (**Создать**).

В соответствии с выбранным коэффициентом заполнения (**Fill Factor**) лунки будут заполнены вычисленным количеством мозаик, расположенных вокруг центра. Для создания области мозаик выбранного размера, аналогичным образом воспользуйтесь функцией **Columns/Rows** (Столбцы/Ряды).

13.1.6.5 Создание позиций по местоположению

Необходимые предварительные условия ■ Открыта вкладка **Advanced Setup** (Расширенные настройки) инструмента **Tiles** (Мозаики).

- Порядок действий
- 1 Откройте вкладку **Position Setup** (Настройка позиции) в настройках области просмотра **Advanced Setup** (Расширенные настройки).
 - 2 Напротив элемента **Setup by** (Определить по) нажмите кнопку **Location** (Местоположение).



- 3 В разделе **Tool** (Инструменты) выберите инструмент  **Add** (Добавить).
- 4 В поле обзора столика нажмите на местоположение добавления позиции.
Добавленные позиции отобразятся в списке **Single Positions** (Одиночные позиции) в разделе **Positions** (Позиции) инструмента **Tiles** (Мозаики).

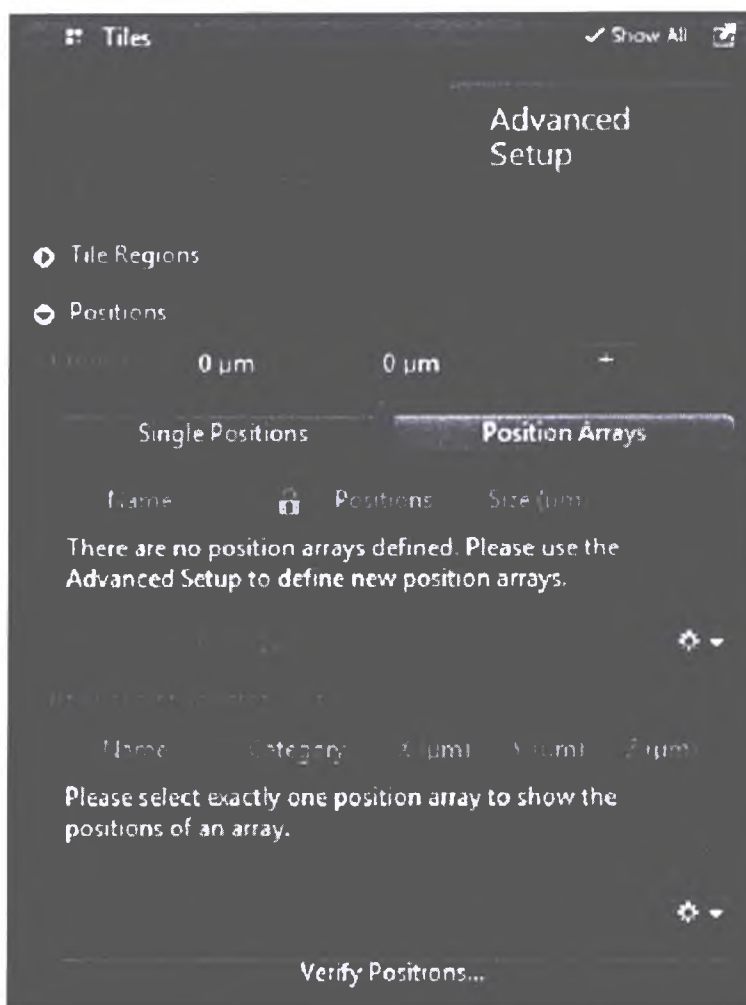
Вы успешно создали позиции во вкладке **Advanced Setup** (Расширенные настройки).

13.1.6.6 Создание позиций по массиву

Необходимые предварительные условия ■ Открыта вкладка **Advanced Setup** (Расширенные настройки) инструмента **Tiles** (Мозаики).

- Порядок действий
- 1 В модуле **Tiles** (Мозаики) откройте раздел **Positions** (Позиции).

- 2 Выберите опцию **Position Arrays** (Массивы позиций).



- 3 Откройте вкладку **Position Setup** (Настройка позиции) под центральной областью экрана и активируйте режим **Show All** (Показать все).
- 4 Напротив элемента **Setup by** (Определить по) нажмите кнопку **Array** (Массив).



- 5 Выберите прямоугольный либо круглый контур (**Contour**), введите количество (**Number**) требуемых позиций и смещение (**Bias**) расположения позиций.

i Примечание

Если установлен флажок **Random** (Случайный), то выбранное число позиций в массиве определяется случайным образом в пределах массивов.

- 6 Отметьте интересующую область подложки в центральной области экрана, зажав левую кнопку мыши.

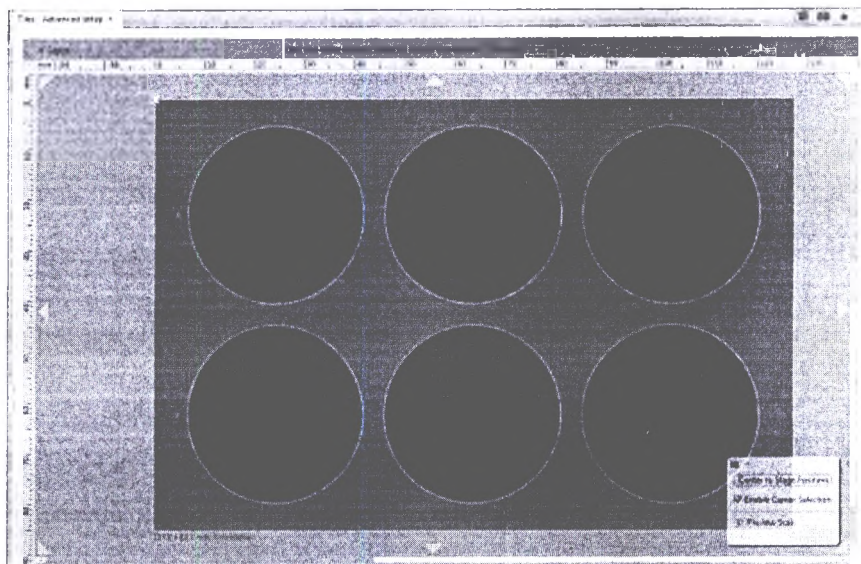
Позиции будут сгенерированы автоматически.

13.1.6.7 Создание позиций по подложке

Необходимые предварительные условия ■ Выбран и откалиброван *шаблон подложки* [► 305].

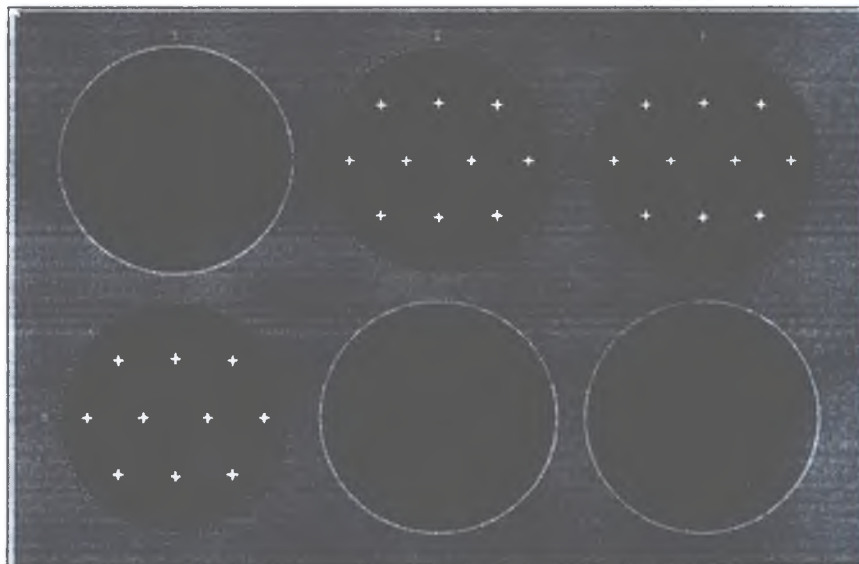
- Открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений) в инструменте **Tiles** (Мозаики).

- Порядок действий
- 1 Нажмите кнопку **Advanced Setup** (Расширенные настройки).
Откроется окно Advanced setup (Расширенные настройки).
 - 2 Для полного просмотра подложки уменьшите окно обзора (клавиша **Ctrl** + колесико мыши).



- 3 В настройках области просмотра выберите вкладку **Position Setup** (Настройка позиции).
- 4 Напротив элемента **Setup by** (Определить по) нажмите кнопку **Carrier** (Подложка).
- 5 Выберите **контейнеры**, в которых необходимо распределить **позиции**, удерживая клавишу **Ctrl** и нажимая на соответствующие контейнеры.
- 6 Нажмите кнопку **Create** (Создать).

Каждый выбранный контейнер будет заполнен массивом позиций (группой позиций).



Массивы позиций отобразятся в разделе **Positions** (Позиции) инструмента **Tiles** (Мозаики) в списке **Position Arrays** (Массивы позиций).

Вы успешно использовали **подложку** и опцию **Setup by Carrier** (Определение по подложке) для создания позиций.

Примечание

Аналогично массивам позиций области мозаик также могут быть созданы во вкладке **Tile Region Setup** (Определение области мозаики) с помощью кнопки **Carrier** (Подложка). В обоих случаях вы можете использовать дополнительные функции настройки подложки для выполнения других полезных настроек. Например, можно задавать мозаичную поверхность контейнеров или число и распределение позиций, см. разделы «Определение по подложке (область мозаики)» [► 331] и «Определение по подложке (позиции)» [► 335].

13.1.7

Копирование области мозаики или позиции

Если необходимо скопировать и вставить настройки области мозаики или позиции (например, определенную схему расположения мозаик, позиций или локальных контрольных точек) из одной лунки в другие, или даже во все контейнеры подложки, выполните следующие действия.

Порядок действий

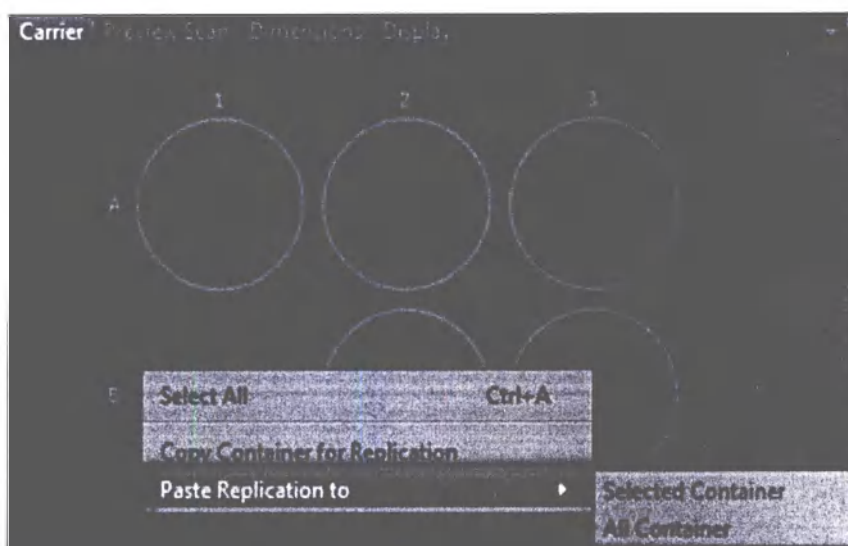
- 1 Выберите лунку, из которой необходимо скопировать настройки области мозаики/позиции.
Выбранная лунка будет обведена синим контуром.
- 2 Откройте контекстное меню, нажав правой клавишей мыши внутри выбранной лунки в центральной области экрана (вне области мозаики).
- 3 Выберите опцию **Copy Container for replication** (Копировать контейнер для репликации).

- 4 Если необходимо выбрать определенные лунки, то с помощью левой кнопки мыши выберите лунки, в которые требуется вставить скопированные настройки области мозаики/позиции.

i Примечание

Можно выбрать несколько лунок, удерживая клавишу **Ctrl**.

- 5 Нажмите правой клавишей мыши в центральной области экрана и выберите в контекстном меню **Paste Replication to** (Вставить репликацию в), затем выберите либо опцию **Selected Container** (Выбранный контейнер), либо **All Container** (Все контейнеры).



Скопированные настройки области мозаики/позиции будут вставлены в выбранные или все лунки подложки с теми же координатами относительно центра каждой лунки.

13.1.8 Корректировка Z-величин

В случае добавления позиций или областей мозаики текущая Z-величина будет автоматически скорректирована для области мозаики или позиции.

- Более подробно о корректировке и подтверждении Z-величин позиций см. в разделе «Корректировка Z-величин позиций» [► 284].
- Более подробно о корректировке и подтверждении Z-величин областей мозаики см. в разделе «Корректировка Z-величин областей мозаики» [► 283]. Обратите внимание, что установленные Z-величины действительны для всех мозаик в рассматриваемой области мозаики.

i Примечание

Для гарантированного учета отдельных Z-величин областей мозаики программное обеспечение автоматически выбирает наиболее подходящую *стратегию фокусирования* [► 55], если установлен флажок **Tiles** (Мозаики). Описанный эксперимент не требует внесения дополнительных поправок. Если необходимо получить все области мозаики в одной Z-величине, в выпадающем списке инструмента **Focus Strategy** (Стратегия фокусирования) следует выбрать **None**. В таком случае отдельные Z-величины будут игнорироваться, а текущая на момент начала эксперимента Z-величина будет использоваться для всех областей.

13.1.8.1 Корректировка Z-величин областей мозаики

Необходимые предварительные условия ■ Настроен эксперимент с мозаиками с по меньшей мере одной областью мозаики.

- Порядок действий**
- 1 Для проверки Z-величины областей мозаики откройте раздел **Tile Regions** (Области мозаики) в инструменте **Tiles** (Мозаики).
Z-величины областей мозаики указываются в столбце **Z** списка.
 - 2 Дважды нажмите на элемент списка области мозаики, который хотите проверить.
Столик автоматически определит центр области мозаики и соответствующей позиции по оси Z.
 - 3 Для проверки Z-величины области мозаики используйте режим живого изображения (**Live**).
 - 4 Для корректировки Z-величины, с помощью инструмента фокусировки установите новую позицию по оси Z.
 - 5 В списке **Tile Regions** (Области мозаики) снизу справа нажмите кнопку **Options** (Опции)  и выберите **Set Current Z For Selected Tile Regions** (Установить текущую Z-величину для выбранных областей мозаики).
 - 6 Для проверки других областей мозаики повторите шаги 2–4.
 - 7 Для проверки и корректировки большого количества областей мозаики нажмите на кнопку **Verify Tile Regions** (Проверить области мозаики).
Откроется диалоговое окно **Verify Tile Region** (Проверить области мозаик). В нем вы получите доступ к интерфейсу процедуры верификации каждой области мозаики.
 - 8 После проверки всех областей мозаик нажмите на кнопку **Close** (Заккрыть).

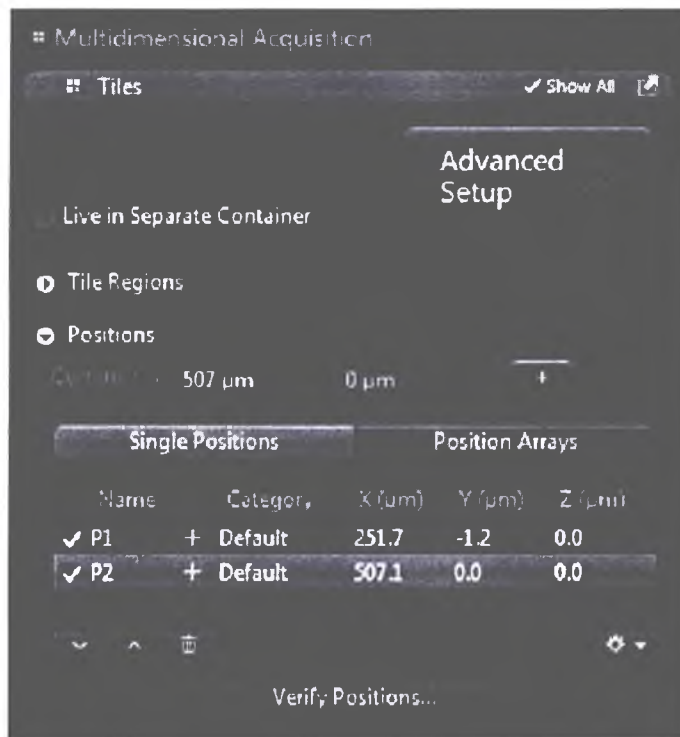
Вы успешно проверили и скорректировали отдельные Z-величины областей мозаик.

13.1.8.2 Корректировка Z-величин позиций

Необходимые предварительные условия ■ Настроен эксперимент с мозаиками с по меньшей мере одной позицией.

■ Открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений) в инструменте **Tiles** (Мозаики).

- Порядок действий**
- 1 Для проверки и корректировки Z-величины позиций откройте раздел **Positions** (Позиции).
Z-величины указываются в столбце **Z** списка **Single Positions** (Одиночные позиции).
 - 2 Дважды нажмите на элемент списка позиций, который необходимо проверить.
Столик автоматически определит местоположение позиции.
 - 3 Для проверки Z-величины позиции используйте режим **живого изображения** (Live).
 - 4 Для корректировки Z-величины задайте нужную позицию с помощью инструмента фокусировки.
 - 5 В списке **Single Positions** (Одиночные позиции) снизу справа нажмите на кнопку  **Options** (Опции) и выберите опцию **Set Current Z For Selected Positions** (Установить текущую позицию по оси Z для выбранных позиций).
 - 6 Проверка и корректировка большого числа **позиций** производится в диалоговом окне **Verify Positions** (Проверить позиции).
 - 7 Для этого нажмите кнопку **Verify Positions...** (Проверить позиции...) в разделе **Positions** (Позиции).



Откроется диалоговое окно **Verify Positions** (Проверить позиции).

- 8 Выберите желаемый вспомогательный метод (**Helper Method**). Он поможет определить Z-величины. Опциями вспомогательного метода являются Autofocus (AF) (Автофокусировка (АФ)) и Definite Focus (DF) (Точная фокусировка (ТФ)). Если не отображается ни одна из опций, значит, корректировать Z-величины можно только вручную.

- 9 Нажмите кнопку **Move to Current Point** (Переместить в текущую точку).



Столик автоматически переместится в позицию, выделенную в списке синим. Также можно дважды нажать в списке на позицию, которую необходимо проверить.

- 10 В режиме **Live** (Живое изображение) воспользуйтесь инструментом **Focus** (Фокусировка) (или **SW Autofocus** (Программная автофокусировка)) для корректировки требуемой Z-величины.
- 11 Нажмите кнопку **Set Z and Move to Next** (Установить Z-величину и переместиться к следующей).
- Позиция будет отмечена галочкой.
- Столик автоматически переместится в следующую позицию в списке.
- 12 Выполняйте последние 3 шага, пока не проверите все пункты списка.
- После этого отобразится сообщение: **“All points have been verified”** («Все точки подтверждены»).
- 13 Закройте диалоговое окно **Verify Positions** (Проверить позиции).
- Вы успешно проверили и скорректировали отдельные Z-величины позиций.

13.1.9 Локальные или общие фокальные поверхности

13.1.9.1 Введение

Локальная фокальная поверхность Для получения крупноразмерных областей мозаик на образцах с наклонной или неровной поверхностью необходимо присвоить каждой мозаике отдельные Z-величины. Следовательно, требуется создать локальную фокальную поверхность (**Local Focus Surface**). Обратите внимание, что локальная фокальная поверхность всегда связана только с одной областью мозаики. Поэтому зону фокусировки необходимо создавать отдельно для каждой области мозаики.

Общая фокальная поверхность Для создания зоны фокусировки, покрывающей весь образец, нужно создать общую фокальную поверхность (**Global Focus Surface**). Общие фокальные поверхности определяются по шаблону подложки (например, для слайдов или многолуночных планшетов) и в результате являются фокальной поверхностью, которая действительна для всей подложки и, следовательно, всех ее областей мозаик и позиций. Это позволяет компенсировать любые наклоны и изгибы подложки.

13.1.9.2 Создание локальной фокальной поверхности

Для создания локальных фокальных поверхностей необходимо распределить контрольные точки по всем областям мозаик и определить их позицию фокусировки. Затем зона фокусировки каждой области мозаики интерполируется из значений этих контрольных точек.

13.1.9.2.1 Распределение контрольных точек

Необходимые предварительные условия ■ Для создания локальной фокальной поверхности потребуется модуль **Tiles** (Мозаики).

- Проведен эксперимент в модуле **Tiles** по меньшей мере с одной областью мозаики. Более подробно см. раздел, посвященный проведению экспериментов с мозаиками и позициями.
- Открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений) в инструменте **Tiles** (Мозаики).

Порядок действий 1 Нажмите кнопку **Advanced Setup** (Расширенные настройки).



Откроется окно **Advanced Tiles Setup** (Расширенные настройки модуля Tiles).

- 2 Выберите область мозаики, для которой необходимо создать контрольные точки. Для этого нажмите на соответствующую область мозаики в списке раздела **Tile Regions** (Области мозаики) инструмента **Tiles** (Мозаики).

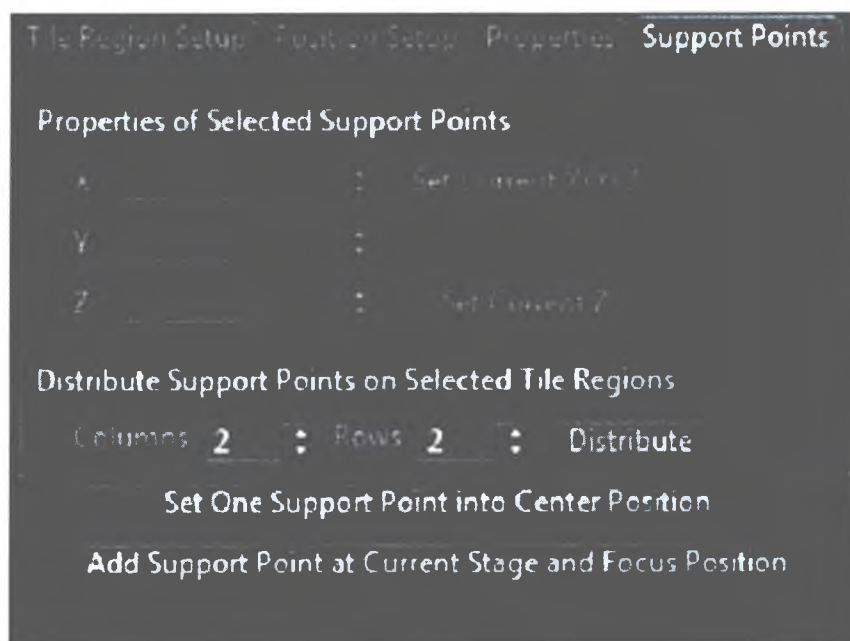
Примечание

Выбрать области мозаик можно, нажимая мышью непосредственно на требуемую область мозаики

в окне **Advanced Setup** (Расширенные настройки). Оба метода позволяют выбрать несколько

областей мозаик одновременно, удерживая клавишу **Ctrl**.

- 3 Откройте вкладку **Support Points** (Контрольные точки) в настройках области просмотра **Tiles - Advanced Setup (Мозаики - Расширенные настройки)**.
- 4 В разделе **Distribute Support Points on Selected Tile Regions** (Распределить контрольные точки по выбранным областям мозаик) укажите число столбцов и рядов для распределения контрольных точек.



- 5 Нажмите кнопку **Distribute** (Распределить).
Контрольные точки распределяются по выбранной области мозаики и отображаются в виде желтых точек в поле обзора столика .
Контрольные точки выбранной области мозаики отображаются вместе с координатами в списке **Local (per Tile Region)** (Локальные (на область мозаики)) в разделе **Focus Surface** (Фокальная поверхность) инструмента **Tiles** (Мозаики).
- 6 При необходимости распределение контрольных точек можно вручную скорректировать в окне **Advanced Setup** (Расширенные настройки).
Позицию контрольных точек можно изменить, перетаскив их.
- 7 Кроме того, отдельные контрольные точки можно добавить, используя столик для определения местоположения необходимой позиции, и с помощью кнопки **Add Support Points At Current Stage and Focus Position** (Добавить контрольные точки в текущей позиции столика и фокусировки) во вкладке **Support Points** (Контрольные точки).

1 Примечание

Равномерно распределите контрольные точки по **области мозаики**. Чем искривленнее поверхность образца, тем больше контрольных точек требуется установить. Чтобы обеспечить надежность вычислений для ровной, но наклонной поверхности требуется по меньшей мере 4 точки, а для простой седловидной поверхности — не менее 9 контрольных точек. Высокая плотность контрольных точек гарантирует более точный результат, однако, максимально полезная плотность составляет одну контрольную точку на мозаику.

- 8 Повторяйте шаги 2–6, пока не распределите контрольные точки по всем областям мозаик.

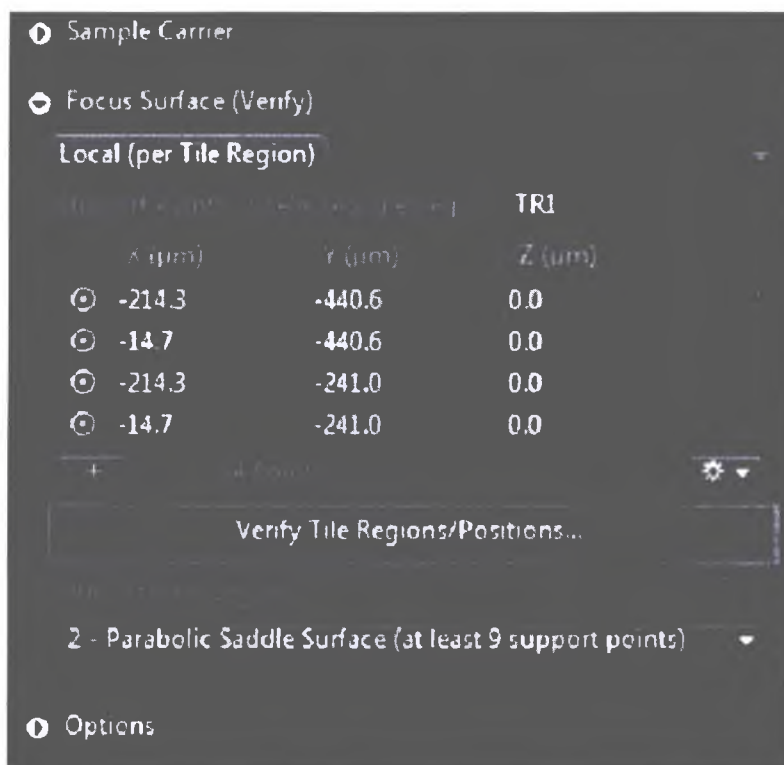
Вы успешно распределили контрольные точки по областям мозаик.

13.1.9.2.2

Проверка Z-величин контрольных точек

Порядок действий

- 1 Нажмите кнопку **Verify Tile Regions/Positions...** (Проверить области мозаики/позиции) в разделе **Focus Surface (Verify)** (Фокальная поверхность (Проверить)) инструмента **Tiles (Мозаики)**.



Откроется диалоговое окно **Verify Tile Regions / Positions** (Проверить области мозаики/позиции).

- 2 Выберите желаемый вспомогательный метод (**Helper Method**). Он поможет определить Z-величины. Опциями вспомогательного метода являются Autofocus (AF) (Автофокусировка (АФ)) и Definite Focus (DF) (Точная фокусировка (ТФ)). Если не отображается ни одна из опций, значит, корректировать Z-величины можно только вручную.
- 3 Нажмите кнопку **Move to Current Point** (Переместить в текущую точку). Столик автоматически переместится в контрольную точку, выделенную синим в списке контрольных точек. Также можно дважды нажать в списке на контрольную точку, которую необходимо проверить.

- 4 В режиме **Live** (Живое изображение) для корректировки Z-величины воспользуйтесь инструментом **Focus** (Фокусировка) (или SW Autofocus (Программная автофокусировка)).
- 5 Нажмите кнопку **Set Z and Move to Next** (Установить Z-величину и переместиться к следующей).

Проверенная контрольная точка будет отмечена зеленой галочкой.

Столик автоматически переместится в следующую контрольную точку в списке.

- 6 Выполняйте последние 3 шага, пока не проверите все контрольные точки.

После этого отобразится сообщение: **"All points have been verified"** («Все точки подтверждены»).

- 7 Закройте диалоговое окно **Verify Tile Regions/Positions** (Проверить области мозаики/позиции).

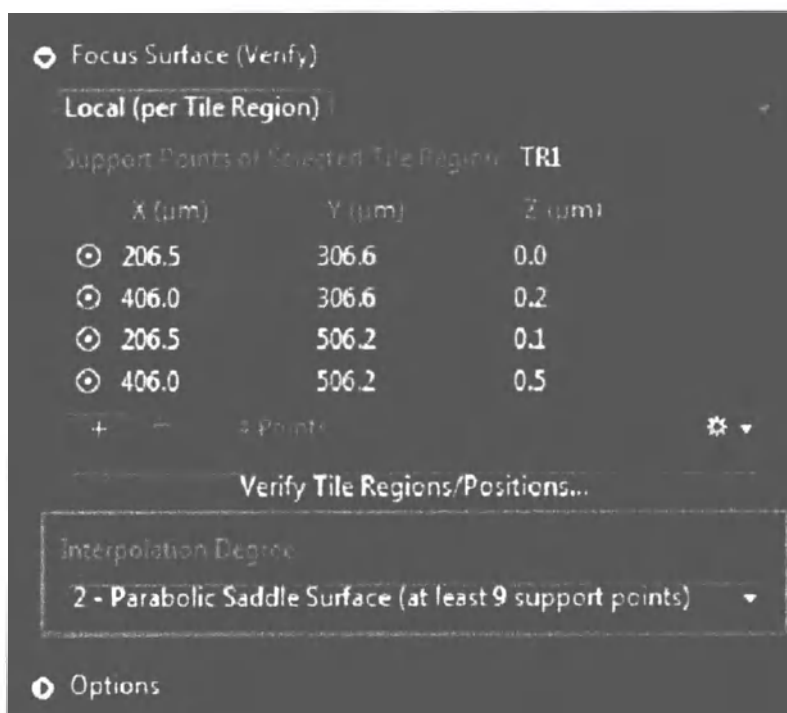
Вы скорректировали и проверили Z-величины всех контрольных точек.

Примечание

Позиции всегда имеют горизонтальную локальную фокальную поверхность, которая определяется Z-величиной позиции. Если позиции используются в дополнение к областям мозаик, то подтвердить Z-величины позиций можно с помощью аналогичного диалогового окна. Откройте диалоговое окно, нажав кнопку **Verify Positions...** (Проверить позиции...) в разделе **Positions** (Позиции) инструмента **Tiles** (Мозаики).

13.1.9.2.3 Выбор степени интерполяции

- Порядок действий
- 1 Выберите уровень интерполяции в выпадающем списке **Interpolation Degree** (Степень интерполяции) раздела **Focus Surface** (Фокальная поверхность).



i Примечание

Минимально необходимое число контрольных точек на область мозаики указывается для каждого элемента выпадающего списка **Interpolation Degree** (Степень интерполяции). Надежность вычисления повышается, если число контрольных точек превышает это минимальное значение. Поэтому рекомендуется повышать только степень интерполяции, насколько позволяет поверхность образца, даже если задано больше контрольных точек. Если число контрольных точек не соответствует минимальному числу для выбранной степени интерполяции, то степень интерполяции будет уменьшена автоматически.

Вы успешно создали локальную фокальную поверхность. Теперь можно начать эксперимент. Чтобы гарантировать получение мозаик с фокальной поверхностью, программное обеспечение автоматически выберет наиболее подходящую стратегию фокусирования. Более подробно о стратегиях фокусирования см. в разделе «Работа со стратегиями фокусирования» [► 55] в интерактивной справке ZEN.

13.1.9.3 Создание общей фокальной поверхности

Для создания общей фокальной поверхности необходимо распределить контрольные точки по подложке и указать их позицию фокусировки. Зона фокусировки по подложке затем интерполируется из величин этих контрольных точек.

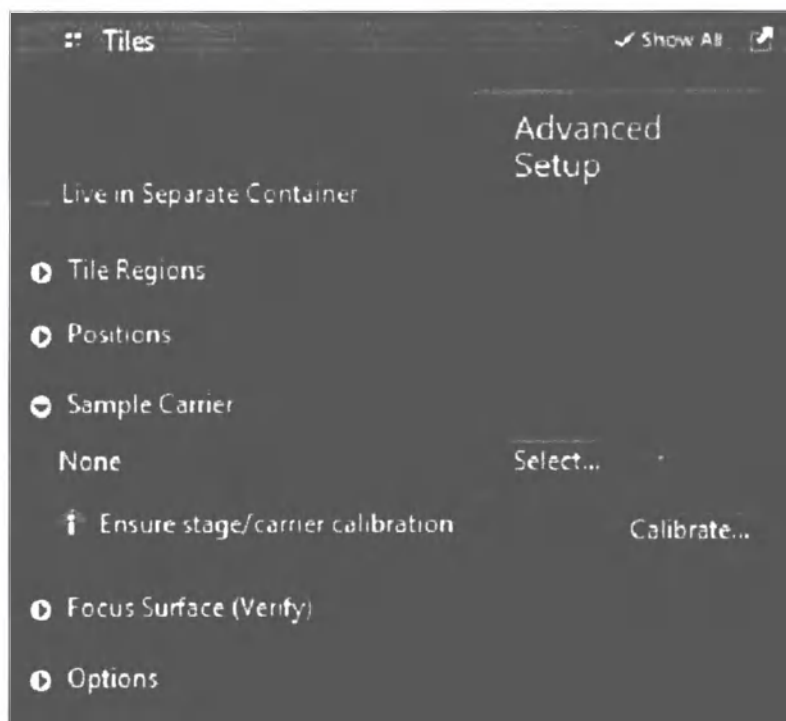
13.1.9.3.1 Распределение контрольных точек

Необходимые предварительные условия ■ Заданы общие параметры для настройки эксперимента с мозаиками (создан эксперимент, определен по крайней мере один канал, активированы измерения в модуле Tiles).

- Для создания общей фокальной поверхности необходим модуль **Tiles** (Мозаики).
- Открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений) в инструменте **Tiles** (Мозаики).

Порядок действий 1 Откройте раздел **Sample Carrier** (Подложка).

- 2 Нажмите кнопку **Select...** (Выбрать...).

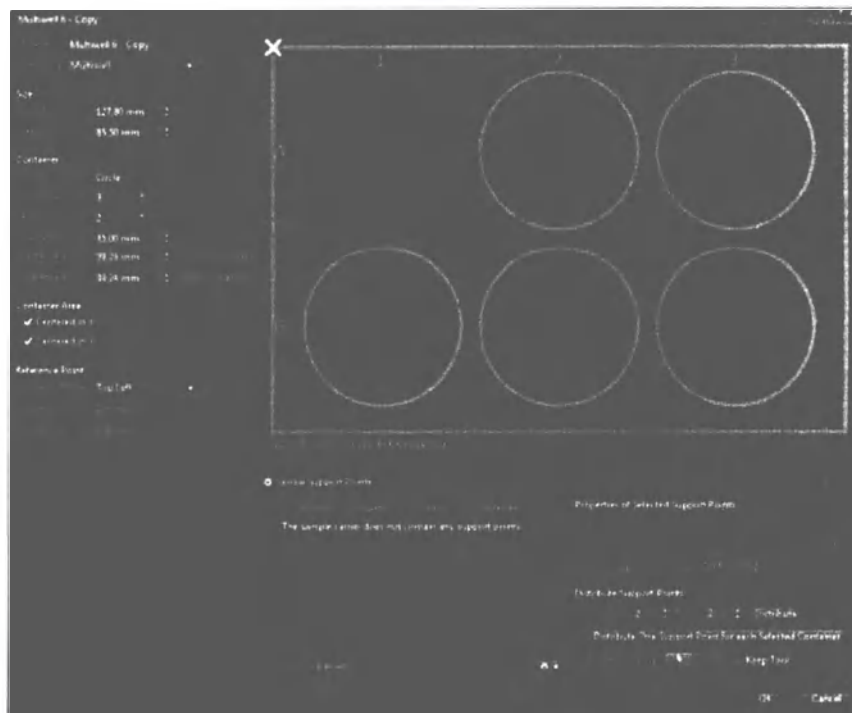


Откроется диалоговое окно **Select Template** (Выбрать шаблон).

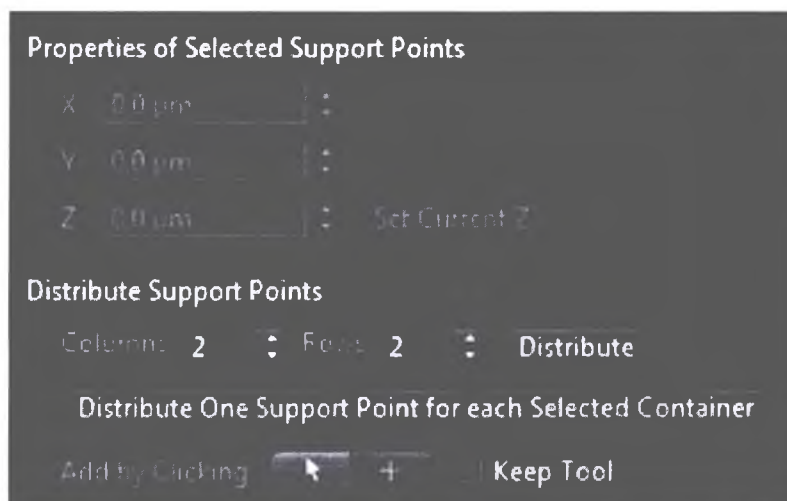
- 3 Выберите необходимый шаблон подложки.
- 4 Нажмите кнопку **Options** (Опции)  и выберите **Copy And Edit...** (Копировать и редактировать...).

Копия существующего шаблона будет создана и открыта в редакторе подложки (Sample Carrier Editor).

- 5 Для распределения контрольных точек по шаблону подложки откройте раздел **Global Support Points** (Общие контрольные точки).



- 6 Выберите контейнеры, в которых требуется создать общие контрольные точки. Для этого нажимайте на контейнеры, удерживая клавишу **Ctrl**.
- 7 Нажмите кнопку **Distribute One Support Point For Each Selected Container** (Распределить по одной контрольной точке в каждом выбранном контейнере).



Каждому контейнеру будет присвоена одна контрольная точка.

1 Примечание

Если используется подложка без контейнеров (например, слайд), для распределения контрольных точек по столбцам и рядам воспользуйтесь кнопкой **Distribute** (Распределить).

Контрольные точки будут автоматически распределены по подложке.

Контрольные точки можно добавить вручную с помощью кнопки **Add** (Добавить) .

i Примечание

Создавайте контрольные точки только там, где вы можете сфокусировать образец (в пределах контейнеров). Это единственный способ, с помощью которого позднее можно будет определить и настроить Z-величины контрольных точек. Установка общих контрольных точек в центре контейнера фиксирована, т. е. они не могут быть перемещены. Если поверхность подложки наклонная, но ровная, то для надежности вычисления потребуются по меньшей мере 4 контрольных точки. Чем искривленнее поверхность, тем больше контрольных точек необходимо распределить.

- 8 Чтобы закрыть окно редактора (**Editor**), нажмите кнопку **OK**.
- 9 Для выбора отредактированного шаблона подложки нажмите кнопку **OK**.
Если необходимо повторно отредактировать общие контрольные точки, откройте редактор подложки нажатием иконки  **Edit** (Редактировать).
- 10 Откалибруйте подложку, нажав кнопку **Calibrate...** (Калибровать...), и следуйте указаниям мастера калибровки.



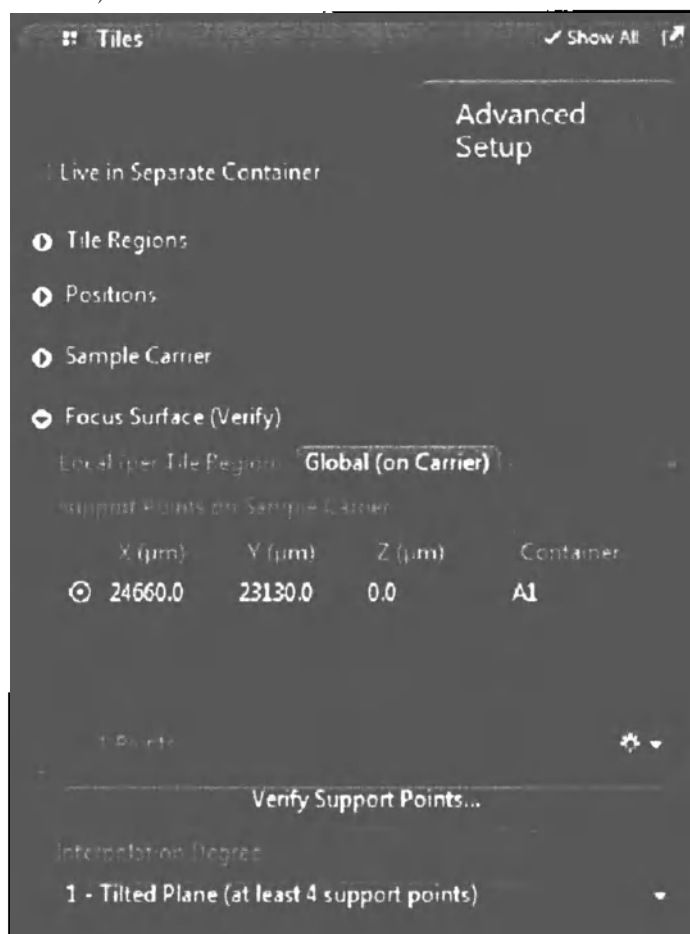
Вы успешно распределили контрольные точки по шаблону подложки, выбрали и откалибровали ее.

13.1.9.3.2 Проверка Z-величин контрольных точек

Порядок действий

- 1 В инструменте **Tiles** (Мозаики) откройте раздел **Focus Surface** (Фокальная поверхность).
- 2 Перейдите к вкладке **Global (on Carrier)** (Общая (на подложке)).
Все контрольные точки выбранного шаблона подложки отобразятся в списке **Support Points on Sample Carrier** (Контрольные точки на подложке).

- 3 Нажмите кнопку **Verify Support Points...** (Проверить контрольные точки...).



Откроется диалоговое окно **Verify Global Support Points** (Проверить общие контрольные точки).

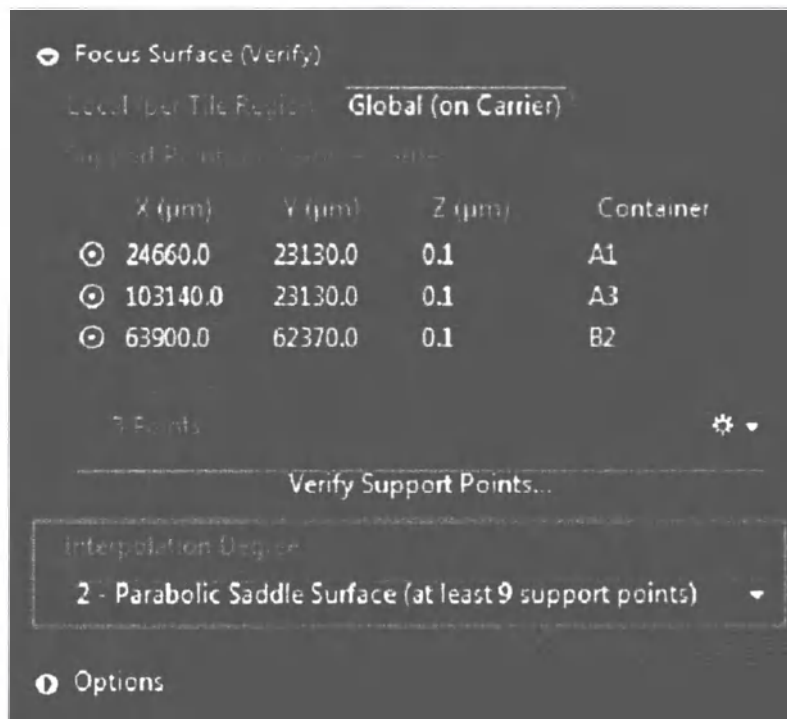
- 4 Выберите желаемый вспомогательный метод (**Helper Method**). Он поможет определить Z-величины. Опциями вспомогательного метода являются Autofocus (AF) (Автофокусировка (АФ)) и Definite Focus (DF) (Точная фокусировка (ТФ)). Если не отображается ни одна из опций, значит, корректировать Z-величины можно только вручную.
- 5 Нажмите кнопку **Move to Current Point** (Переместить в текущую точку). Столик автоматически переместится к контрольной точке, выделенной в списке синим. Также можно дважды нажать в списке на контрольную точку, которую необходимо проверить.
- 6 В режиме **Live** (Живое изображение) для установки Z-величины воспользуйтесь инструментом **Focus** (Фокусировка) (или SW Autofocus (Программная автофокусировка)).
- 7 Нажмите кнопку **Set Z and Move to Next** (Установить Z-величину и переместиться к следующей).
Контрольная точка будет отмечена галочкой.
Столик автоматически переместится в следующую контрольную точку в списке.
- 8 Выполняйте последние 3 шага, пока не проверите все контрольные точки.
После этого отобразится сообщение: **"All points have been verified"** («Все точки подтверждены»).
- 9 Закройте диалоговое окно **Verify Global Support Points** (Проверить общие контрольные точки).

Вы скорректировали и проверили Z-величины всех контрольных точек.

13.1.9.3.3 Выбор степени интерполяции

Порядок действий

- 1 Выберите степень интерполяции в выпадающем списке **Interpolation Degree** (Степень интерполяции) раздела **Focus Surface (Verify)** (Фокальная поверхность (Проверить)).



Примечание

Минимально необходимое число контрольных точек указывается для каждого элемента в выпадающем списке **Interpolation Degree** (Степень интерполяции). Надежность вычисления повышается, если число контрольных точек превышает это минимальное значение. Поэтому рекомендуется повышать только степень интерполяции, насколько позволяет поверхность подложки, даже если задано больше контрольных точек. Если число контрольных точек не соответствует минимальному числу для выбранной степени интерполяции, то степень интерполяции будет уменьшена автоматически. Степени интерполяции **1 – Tilted Plane (at least 4 support points)** (1 – Наклонной поверхности (не менее 4 контрольных точек)) достаточно для компенсации любого наклона подложки.

Вы успешно создали общую фокальную поверхность.

Теперь вы можете провести эксперимент с использованием мозаики с помощью держателя образца. Более подробно см. раздел «Использование подложек» [► 305]. Чтобы гарантировать получение мозаик с фокальной поверхностью во время проведения эксперимента, программное обеспечение автоматически выберет наиболее подходящую стратегию фокусирования в инструменте **Focus Strategy** (Стратегия фокусирования). Более подробно о стратегиях фокусирования см. в разделе «Работа со стратегиями фокусирования» [► 55] в интерактивной справке ZEN.

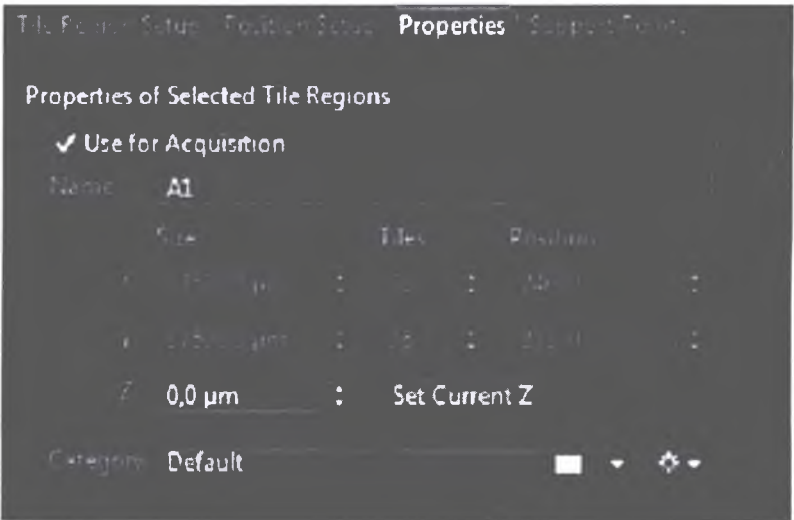
i Примечание

13.1.10 Присвоение категорий областям мозаик и позициям

В некоторых случаях полезно не только отображать число лунок вместе с полученными изображениями (путь: **Graphics | Frequent Annotations | Carrier Container Name** (Графические элементы | Часто используемые аннотации | Имя контейнера подложки)), но и создавать определенные дополнительные аннотации к разным областям мозаик или позиций, например «условие управления» или «условие эксперимента 1».

Для этой цели программное обеспечение позволяет добавлять и редактировать имена и категории различных созданных областей мозаик/позиций.

- Порядок действий
- 1 Для присвоения отдельных имен различным отдельным позициям и (или) областям мозаик в эксперименте с использованием луночного планшета, нажмите на соответствующую область мозаики (Tile Region) или позицию (Position) и откройте вкладку **Properties** (Свойства) в центральной области экрана (Tiles – Advanced Setup).
 - 2 Установите флажок **Use for Acquisition** (Использовать для получения изображений).



- 3 Отредактируйте имя (**Name**) выбранной области мозаики/позиции.

- 4 Либо отредактируйте имя (**Name**) области мозаики/позиции, нажав в модуле **Tiles** (Мозаики) на соответствующее имя в разделе **Tile Regions** (Области мозаик) или **Positions** (Позиции).



- 5 Повторяйте эту операцию, когда требуется переименовать разные области мозаик или позиций.

Примечание

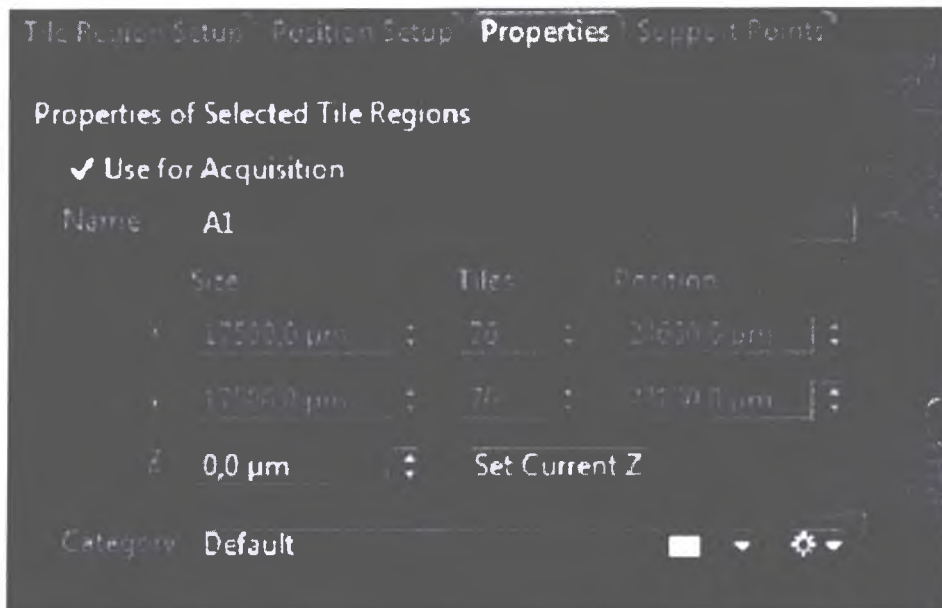
Для отображения в последующем имени области мозаики/позиции на полученных изображениях откройте меню **Graphics | Frequent Annotations | More...** (Графические элементы | Часто используемые аннотации | Дополнительно) и выберите **Image.Scene.Name** (Имя сцены изображения) из списка **Metadata** (Метаданные).

- 6 Для присвоения или редактирования областей мозаик/позиций необходимо сначала установить флажки напротив всех областей мозаик/позиций, которые необходимо сгруппировать в одной категории.
- 7 Во вкладке **Properties** (Свойства) нажмите кнопку **Options** (Опции) под элементом **Category** (Категория).
- 8 В выпадающем списке выберите строку **New...** (Новый...).
Откроется окно **New Category** (Новая категория).
- 9 Введите имя (**Name**) и добавьте описание (**Description**) к выбранным областям мозаик/позициям.
- 10 Выберите цвет (**Color**) для новой категории, нажав на цветную полосу и выбрав желаемый цвет.

11 Для создания новой категории нажмите **OK**.

Окно **New Category** (Новая категория) закроется, и будет создана новая категория.

12 В выпадающем списке **Category** (Категория) выберите для выбранных областей мозаик/позиций необходимую категорию.



Областям мозаик/позициям будет присвоена выбранная категория.

Примечание

Обратите внимание, что предопределенную категорию можно применить к дифференцированному выбору областей мозаик/позиций из нескольких лунок.

Также обратите внимание, что присвоенный цвет используется как свойство только во вкладке Tiles (Мозаики) (левая область панели инструментов).

Примечание

Для отображения свойств категории области мозаики/позиции (**Name** (Имя) и (или) **Description** (Описание)) в полученном изображении перейдите в меню **Graphics | Frequent Annotations | More...** (Графические элементы | Часто используемые аннотации | Дополнительно).

Введите в строку поиска слово "category" («категория») и выберите свойство, которое необходимо отобразить (несмотря на наличие опции Color (Цвет), программное обеспечение данный элемент не отображает).

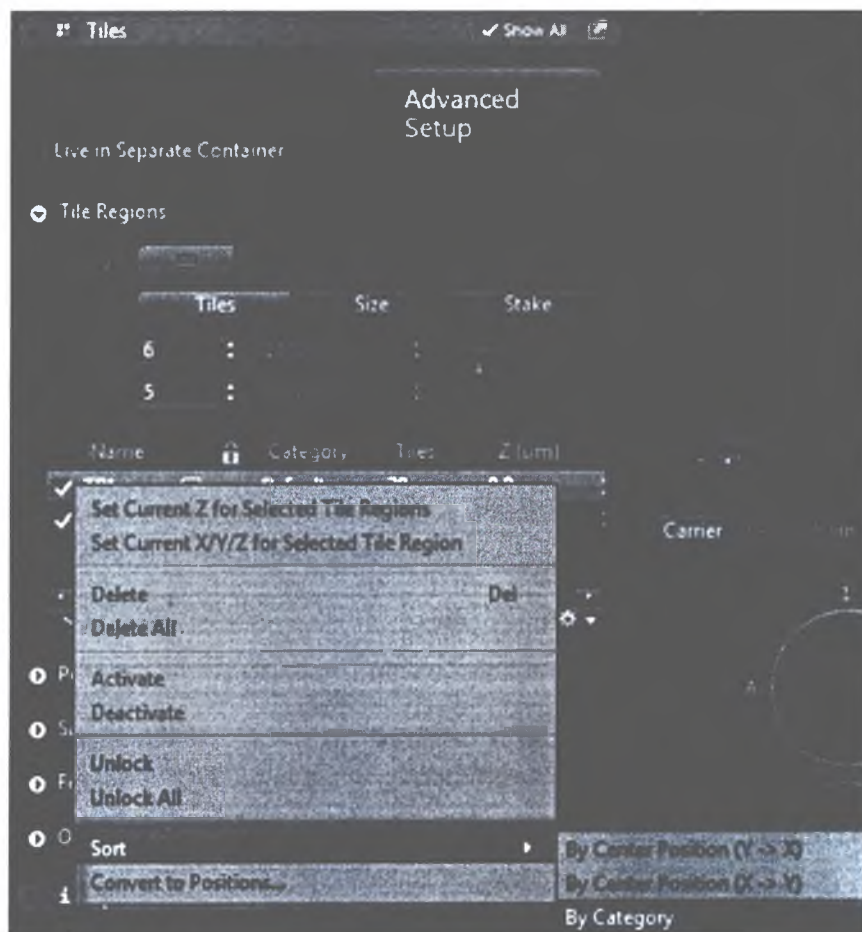
Примечание

Для настройки параметров аннотаций (например, размера шрифта) нажмите на аннотации правой кнопкой мыши и перейдите в меню **Format | Graphical Elements** (Формат | Графические элементы).

Отображение категорий в списке мозаик/позиций (Tiles/Positions List) (левая область инструментов)

Необходимые предварительные условия ■ Выбраны разные позиции или области мозаик и присвоены разные категории.

- Порядок действий**
- 1 В разделе **Positions** (Позиции) или **Tiles** (Мозаики) модуля Tiles (левая область инструментов) выберите позицию или область мозаики.
 - 2 Щелкните правой кнопкой мыши по выбранной позиции/мозаике и выберите **Sort | By Category** (Упорядочить | По категории).



Позиции/области мозаик будут упорядочены по алфавиту в соответствии с присвоенными категориями.

13.1.11 Перемещение подложки после инкубации

Если вы хотите получить изображения позиций/областей мозаик на подложке, снятой со столика, например, для инкубации или замены иммерсионной среды, следуйте инструкции по перемещению подложки.

Запуск эксперимента

Необходимые предварительные условия ■ Выполнена калибровка столика и размещен образец, см. раздел «Калибровка столика и выбор канала» [► 263].

- Настроен по меньшей мере один канал и отрегулировано время экспозиции камеры/освещения.
- Установлен флажок **Tiles** (Мозаики) и включен режим **Show All** (Показать все).

Порядок действий 1 Нажмите на **Sample Carrier** (Подложка) и затем **Select** (Выбрать).



Откроется диалоговое окно **Select Template** (Выбрать шаблон).

2 Выберите желаемый шаблон.

Примечание

В демонстрационных целях выберите стандартный слайд, который может имитировать ваш пробный образец.

Примечание

Что касается калибровки используемого шаблона, то вы можете персонализировать собственную подложку, см. раздел «Персонализация шаблона подложки» [► 306], но для слайдов с одним покровным стеклом или лункой, существует только опция Single Reference Point Calibration (Калибровка одиночной контрольной точки). Для многолуночных планшетов доступны опции для 7-точечной, 4-точечной, 3-точечной или 1-точечной калибровки. Это становится важным при регулировке вращения образца.

3 Отрегулируйте поверхность подложки. См. раздел «Создание общей фокальной поверхности» [► 290].

Откроется диалоговое окно **Select Template** (Выбрать шаблон).

i Примечание

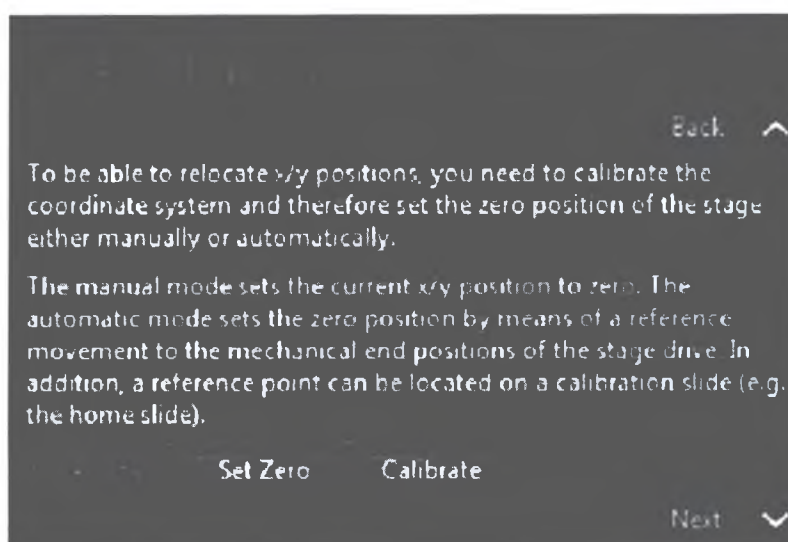
Предполагается, что вы используете традиционный стеклянный слайд с размещенными в центре клетками или тканями.

- 4 Нажмите кнопку **Calibrate (Калибровать)**.



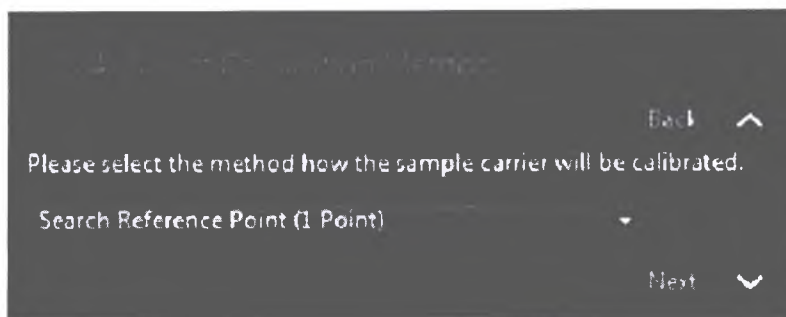
Откроется мастер калибровки подложки (**Sample Carrier Calibration Wizard**).

- 5 Переместите контрольную точку образца в центр перекрестия. Этой контрольной точкой может быть любая уникальная, легко опознаваемая точка на слайде, которая необязательно должна располагаться в центре слайда.
- 6 Нажмите кнопку **Next (Далее)**.
- 7 Напротив элемента **X/Y Position (Позиция по оси X/Y)** нажмите на **Set Zero (Установка нулевой точки)**.

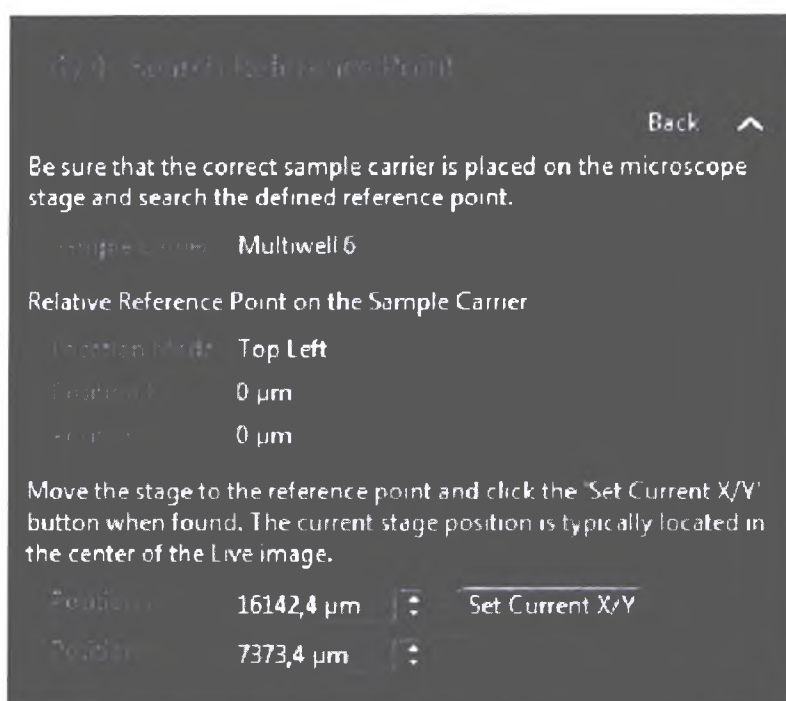


- 8 Нажмите кнопку **Next (Далее)**.

- 9 В качестве метода калибровки (Calibration Method) выберите **Search Reference Point** (Поиск контрольной точки).



- 10 Нажмите кнопку **Next** (Далее).
- 11 Нажмите кнопку **Set Current X/Y** (Установить текущую позицию по оси X/Y).



- 12 В инструменте **Tiles** (Мозаики) нажмите кнопку **Advanced Setup** (Расширенные настройки) и добавьте позиции/области мозаик в интересные местоположения.

i Примечание

Увеличение или уменьшение области выполняется колесиком мыши, а перемещение столика в центральную область экрана к интересующей точке — двойным щелчком на подложку.

- 13 После определения всех позиций/областей мозаик нажмите на кнопку  **Options** (Опции) во вкладке **Acquisition** (Получение изображений) менеджера экспериментов (**Experiment Manager**).
- 14 Сохраните настройки эксперимента, включая списки позиций/областей мозаик, нажав либо на **Save As** (Сохранить как), либо на **Export** (Экспорт).

i Примечание

Нажатие кнопки **Save As** сохраняет настройки непосредственно в менеджере экспериментов (Experiment Manager).

Нажатие кнопки **Export** сохраняет настройки в выбранной папке.

15 Начните эксперимент и запишите изображения выбранных позиций/областей мозаик.

16 Уберите образец со столика и поместите, например, обратно в инкубационную камеру.

17 Закройте программное обеспечение.

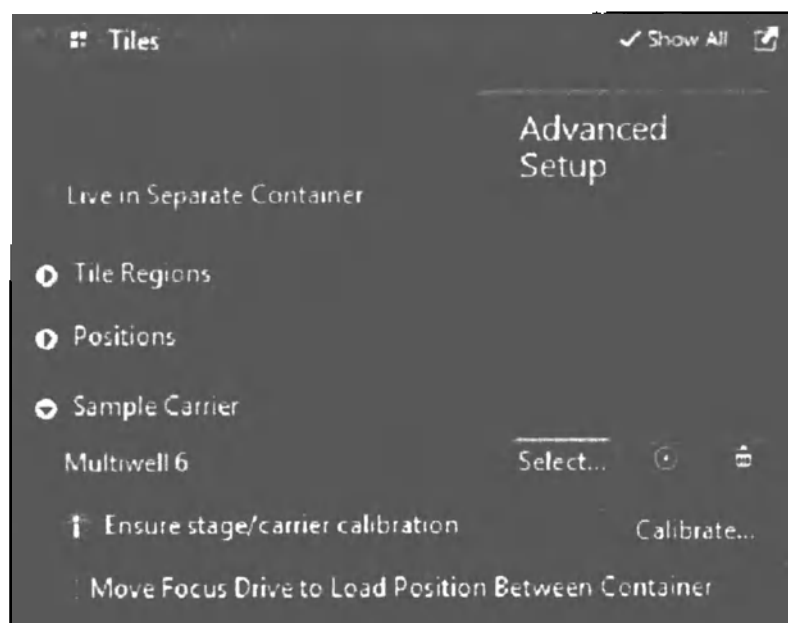
Вы выполнили все настройки для успешного перемещения подложки после проведения эксперимента.

Перемещение подложки после эксперимента**i** Примечание

Если вы выключили и включили электропитание микроскопа, программное обеспечение предложит откалибровать столик и (или) приводы фокусировки. Таким образом, если калибровка многолучевого планшета проводилась в тех же условиях, то калибровка подложки не потребуется. Тем не менее следует удостовериться, что остальные параметры, такие как ориентация планшета и его размещение на микроскопе, не были изменены.

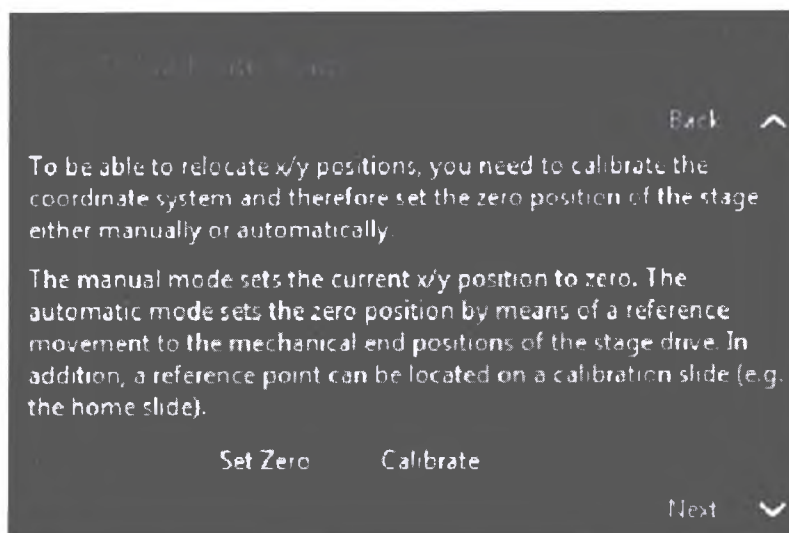
Порядок действий

- 1 Перезапустите программное обеспечение.
- 2 Во вкладке **Acquisition** (Получение изображений) перейдите в менеджер экспериментов (**Experiment Manager**), в котором загрузите (**Reload**) или импортируйте (**Import**) настройки эксперимента, а также список позиций/областей мозаик.
- 3 В инструменте **Tiles** (Мозаики) под заголовком раздела **Sample Carrier** (Подложка) нажмите на кнопку **Calibrate** (Калибровать).

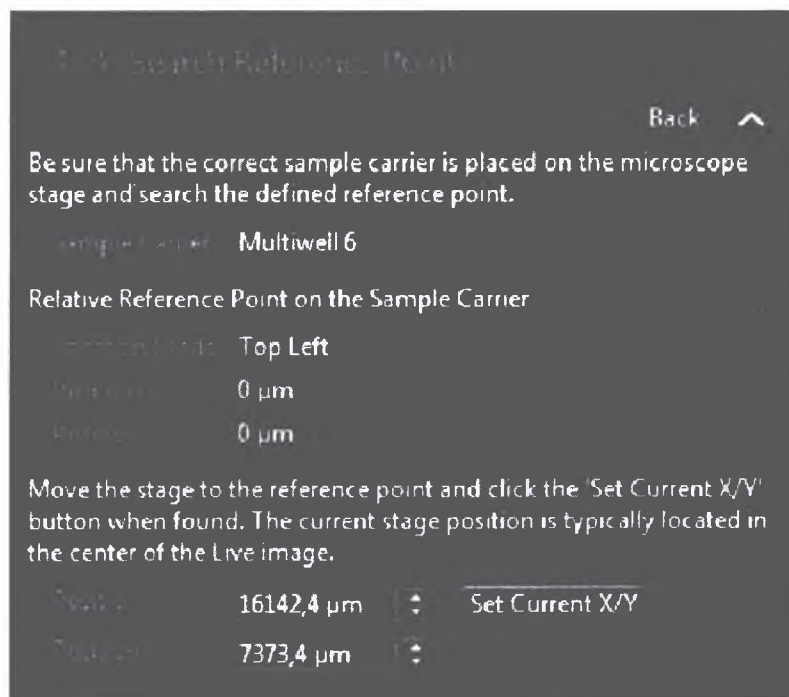


Откроется мастер калибровки подложки (**Sample Carrier Calibration Wizard**).

- 4 Переместите ранее выбранную контрольную точку образца в центр перекрестия.
- 5 Нажмите кнопку **Next** (Далее).
- 6 Напротив элемента **X/Y Position** (Позиция по оси X/Y) нажмите на **Set Zero** (Установка нулевой точки).



- 7 Нажмите кнопку **Next** (Далее).
- 8 В качестве метода калибровки (Calibration Method) выберите **Search Reference Point** (Поиск контрольной точки).
- 9 Нажмите кнопку **Next** (Далее).
- 10 Нажмите на кнопку **Set Current X/Y** (Установить текущую позицию по оси X/Y).



11 Теперь необходимо проверить и подтвердить смещение позиций по оси Z. Для этого следуйте соответствующим указаниям, приведенным в разделах «Корректировка Z-величин областей мозаики» [► 283] и «Корректировка Z-величин позиций» [► 284].

Теперь всем выбранным позициям/областям мозаик присвоены верные X/Y/Z-величины относительно (уникальной, легко опознаваемой) контрольной точки.

Теперь можно возобновить эксперимент и записать изображения выбранных позиций/областей мозаик.

13.1.12 Использование подложек

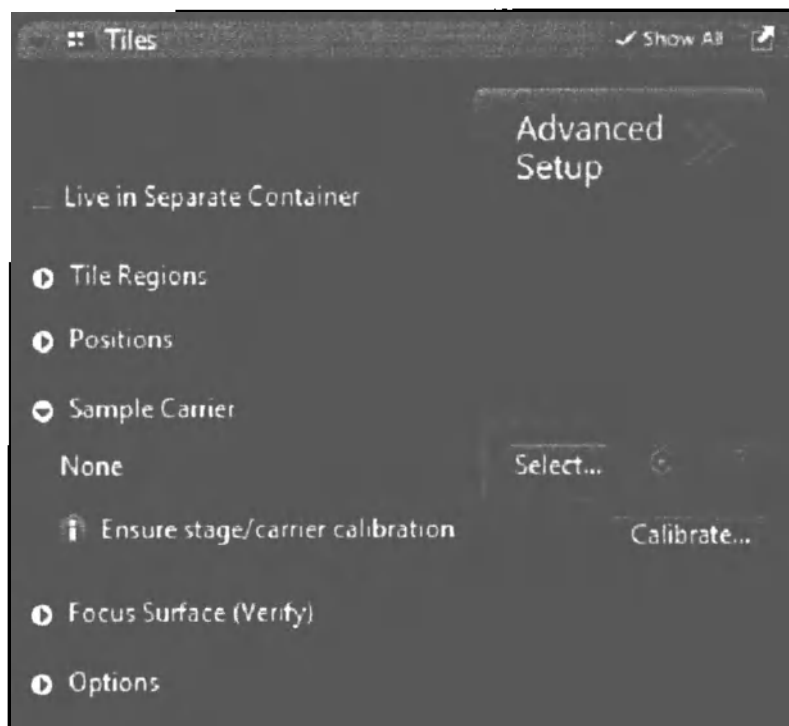
Воспользуйтесь шаблоном для отображения размера и внешнего вида используемой подложки (например, слайда или многолуночного планшета) в разделе **Advanced Setup** (Расширенные настройки). Благодаря этому области мозаик или позиции легко распределяются по используемой подложке.

13.1.12.1 Выбор шаблона подложки

Необходимые предварительные условия ■ Заданы общие параметры для настройки эксперимента с мозаиками (создан эксперимент, определен по крайней мере один канал, активированы измерения в модуле Tiles).

■ Открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений) в инструменте **Tiles** (Мозаики).

- Порядок действий**
- 1 Откройте раздел **Sample Carrier** (Подложка).
 - 2 Нажмите кнопку **Select...** (Выбрать...).



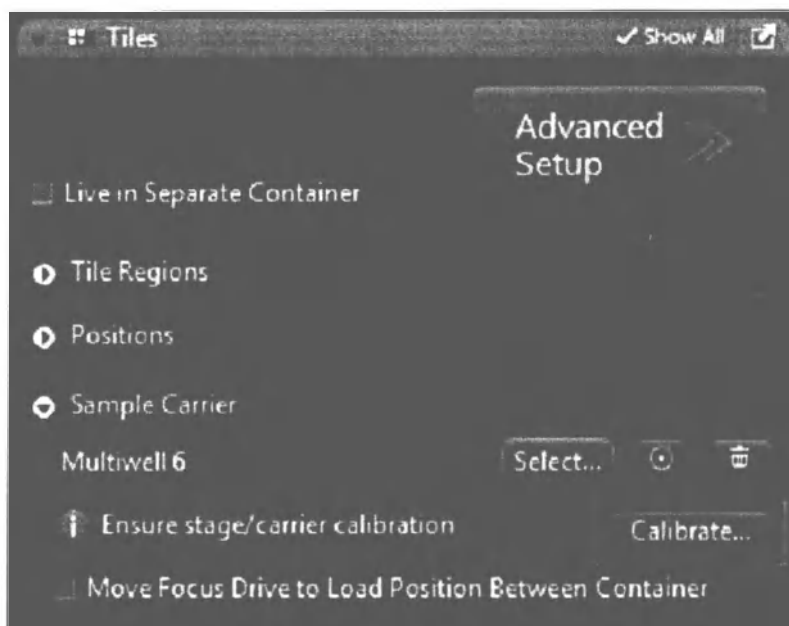
Откроется диалоговое окно **Select Sample Carrier Template** (Выбор шаблона подложки).

- 3 Выберите существующий **шаблон подложки** или создайте новый, нажав на кнопку .

i Примечание

Пользовательские шаблоны можно выводить на экран или редактировать, нажав на кнопку  и выбрав **Display/Edit...** (Отобразить/редактировать...). **Шаблоны Zeiss** не редактируются. Для создания редактируемой пользовательской копии выберите **Copy And Edit...** (Копировать и редактировать...).

- 4 Чтобы закрыть диалоговое окно, нажмите на кнопку **OK**.
- 5 Откалибруйте подложку, нажав на кнопку **Calibrate...** (Калибровать...).



Откроется **мастер калибровки подложки** (Sample Carrier Callibration Wizard).

- 6 Следуйте инструкциям мастера калибровки до полной калибровки подложки.

По завершении калибровки, в разделе **Sample Carrier (Подложка)** появится сообщение: "The sample carrier is calibrated" («Подложка откалибрована»).

i Примечание

Обратите внимание, что калибровочные значения сохраняются в эксперименте и могут быть повторно использованы при условии, что вы работаете с абсолютными координатами посредством калибровки конечных точек столика и приводов фокусировки, а настройки аппаратного обеспечения не изменяются. Это поможет сэкономить немало времени, если вы постоянно работаете с одной моделью подложки и в одном режиме получения изображений.

Вы успешно выбрали **подложку**.

13.1.12.2 Персонализация шаблона подложки

Если вы работаете с подложкой, отсутствующей в базе данных шаблонов, то создайте новый шаблон, выполнив следующие действия.

Необходимые предварительные условия ■ Выполнены все предварительные условия проведения эксперимента в модуле Tiles & Positions.

- Определен по меньшей мере один канал.
- Установлен флажок **Tiles** (Мозаики).

Порядок действий

- 1 Перейдите во вкладку **Acquisition** (Получение изображений).
- 2 Откройте инструмент **Tiles** (Мозаики) и включите режим **Show all** (Показать все).
- 3 Откройте раздел **Sample Carrier** (Подложка) и нажмите на кнопку **Select...** (Выбрать...).

Откроется диалоговое окно **Select Template** (Выбрать шаблон).

- 4 Нажмите на кнопку **Options** и выберите **New Template...** (Новый шаблон...).

Откроется диалоговое окно **New Sample Carrier Template** (Новый шаблон подложки).

- 5 Выберите категорию (**Category**), соответствующую типу используемой подложки и присвойте имя (**Name**) шаблону.

New Sample Carrier Template

Name: Slide

Category: Slide

Size: Slide

Width: 76.0

Height: 24.0

Container: No Container

Type: 0

Columns: 0

Rows: 0

Width: 0.00 mm

Height: 0.00 mm

Distance X: 0.00 mm

Distance Y: 0.00 mm

Container Area: 0.00 mm²

Reference Point: Center

Position X: 38.20 mm

Position Y: 12.00 mm

76.0 x 24.0 mm, 0 Cont

i Примечание

В соответствии с категорией (**Category**) можно задать разные параметры шаблона.

- 6** Например, если выбрать слайд (**Slide**), можно настроить **ширину (Width)** и **высоту (Height)** слайда, отрегулировать местоположение контрольной точки (**Reference Point**).
- 7** Если выбрать шаблон **Multislide**, **Petri Dish**, **Multiwell** (Совмещенное предметное стекло, чашка Петри, многоруночный планшет) или **Multichamber** (Мультикамера), можно настраивать и корректировать дополнительные параметры используемой подложки.
- 8** Если необходимо изменить один из ранее использованных шаблонов, выберите опцию **Category** (Категория), которая отображается рядом используемой подложкой, перейдите во вкладку **Category** (Категория) и выберите опцию **Custom** (Индивидуальный).

i Примечание

При выборе **Custom** (Индивидуальный) доступно изменение дополнительных предустановленных опций шаблона.

Вы персонализировали шаблон подложки или создали индивидуальный.

13.1.13 Экспорт мозаичных изображений

Необходимые предварительные условия ■ Получено или открыто мозаичное изображение.

- Порядок действий**
- 1** Во вкладке **Processing** (Обработка изображений) откройте параметры **Image Export** (Экспорт изображений) (**Ctrl+6** или в меню **File | Export/Import | Export** (Файл | Экспорт/Импорт | Экспорт)).
На экране отобразятся настройки параметров **экспорта изображения**. Убедитесь, что включен режим **Show All** (Показать все).
 - 2** Выберите желаемый тип файла. Рекомендуем использовать формат **PNG**, поскольку этот формат отличается сжатием без потерь при приемлемом размере файла.

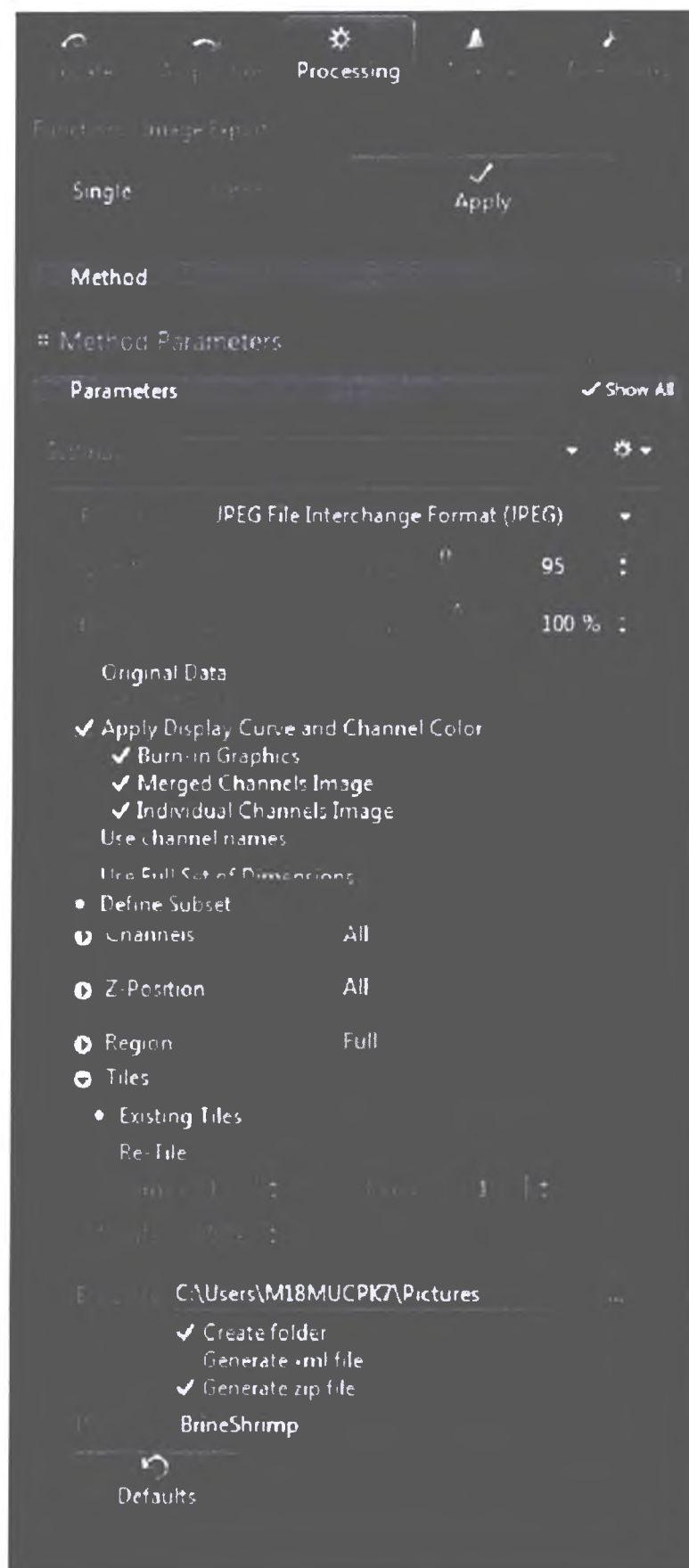
i Примечание**Тип и источник риска**

В случае исключительно большого размера мозаичных изображений рекомендуем уменьшить размер тех изображений, которые необходимо экспортировать. Для этого задайте с помощью ползунка **Resize** (Изменение размера) процент уменьшения размера изображений для экспорта, например 25%.

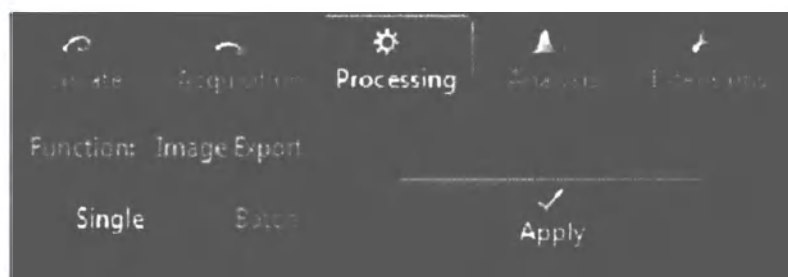
- 3** Установите флажок **Apply Display Curve and Channel Color** (Применить кривую отображения и цвет канала). Изображения экспортируются с учетом заданных настроек, например с корректировками градации тонов или контраста. Если установлен флажок **Original Data** (Исходные данные), изображения экспортируются без изменений. В этом случае настройки кривой отображения, например корректировки градации тонов и контраста, не принимаются.

- 4 Выберите кнопку-переключатель **Define Subset** (Определить поднабор).
Откроются настройки имеющихся измерений.
- 5 Откройте настройки измерения **Tiles** (Мозаики).

- 6 Выберите кнопку-переключатель **Existing Tiles** (Существующие мозаики).



- 7 Нажмите кнопку **Apply** (Применить) в верхней части вкладки **Processing** (Обработка изображений).



Вы экспортировали отдельные мозаики мозаичного изображения. Файлы расположены в указанной папке экспорта.

13.2 Функции и их назначение

13.2.1 Инструмент Tiles

Примечание

Инструмент Tiles (Мозаики) отображается, только если вы приобрели лицензию и активировали этот модуль в **Менеджере модулей** (Modules Manager). Кроме того, следует установить соответствующий флажок во вкладке **Acquisition** (Получение изображений) **менеджера экспериментов** (Experiment Manager).

В инструменте **Tiles** (Мозаики) настраивается функция получения изображений, состоящая из нескольких полей изображения. Соответственно, вы определяете области мозаик (Tile Regions) или позиции (Positions). Здесь также можно настроить фокальные поверхности (Focus Surfaces) и шаблоны подложки (Sample Carrier Templates).

Инструмент Tiles (Мозаики) находится в **левой области инструментов** под элементом **Multidimensional Acquisition** (Получение многомерных изображений).

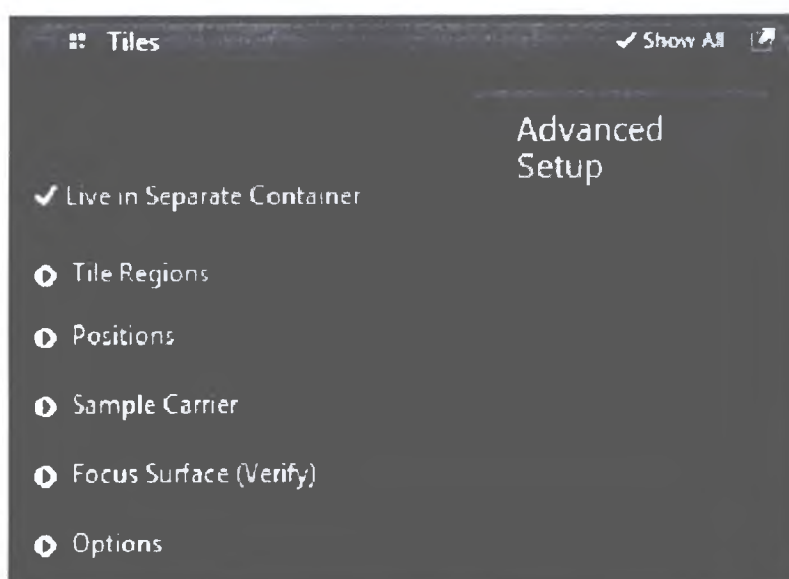


Рисунок 13.1. Инструмент Tiles

Параметр	Описание
Live in Separate Container (Живое изображение в отдельном контейнере)	В случае активации живое изображение открывается в отдельном графическом контейнере. Особо рекомендуем активировать эту опцию при использовании двух отдельных мониторов.
Advanced Setup (Расширенные настройки)	Открывается окно <i>расширенных настроек</i> модуля Tiles (Мозаики) [► 324] в центральной области экрана

i Примечание

Разделы **Sample Carrier** (Подложка), **Focus Surface** (Фокальная поверхность) и **Options** (Опции) отображаются только в режиме **Show All** (Показать все).

Если модуль **Tiles** (Мозаики) не лицензирован, доступны только разделы **Tile Regions** (Области мозаик), **Positions** (Позиции) и **Options** (Опции).

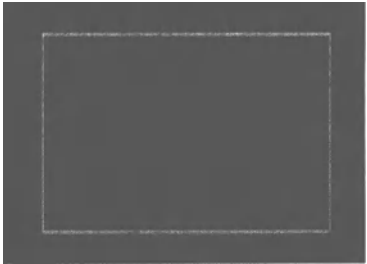
13.2.1.1 Раздел Tile Regions

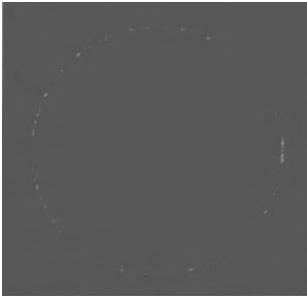
В разделе Tile Regions (Области мозаик) можно определять необходимые области мозаик и добавлять их к изображению.

Параметр	Описание
Contour (Контур)	Отображается только в режиме Show All (Показать все). Здесь выбирается форма или контур добавляемой области мозаики. Для выбора желаемого контура нажмите на соответствующую кнопку. Выбранный контур будет выделен синим цветом.



- Rectangle (Прямоугольник)	Параметр позволяет создавать прямоугольные области мозаик.
-----------------------------	--



Параметр	Описание
- Circle (Круг)	Параметр позволяет создавать круглые области мозаик. 
Режим	
- Tiles (Мозаики)	Необходимо задать количество мозаик для расчета размера области мозаики. Введите число мозаик в поля ввода X/Y. В случае добавления круглой области мозаики в поле ввода Diameter (Диаметр) укажите число мозаик в диаметре.
- Size (Размер)	Необходимо задать размер мозаик для расчета размера области мозаики. Введите размер области мозаики в поля ввода X/Y. В случае добавления круглой области мозаики в поле ввода Diameter (Диаметр) введите диаметр области мозаики.
- Stake (Маркеры)	Параметр определяет область мозаики путем размещения не менее двух маркеров (координаты столика по осям X/Y, заданные пользователем). Чтобы изменить область мозаики (расширить/уменьшить), отрегулируйте область мозаики до необходимого размера. После определения области мозаики нажмите кнопку Done (Выполнено). Чтобы таким образом создать круглые или прямоугольные области мозаик, выберите соответствующий контур.
- Add (Добавить)	Добавляет область мозаики к изображению. Добавленная область мозаики также появится в списке областей мозаик (Tile Regions List) и будет активирована для получения изображений. Добавленные области мозаик отобразятся в виде красных расчетных сеток в поле обзора столика в разделе Advanced Tiles Setup (Расширенные настройки модуля Tiles).
Tile Regions List (Список областей мозаик)	Отображает добавленные области мозаик. Список содержит следующие столбцы:
- Checkbox (Флажок)	Активирует соответствующий элемент списка для полученного изображения.
- Name (Имя)	Здесь редактируется имя области мозаики.
- Contour (Контур)	Отображает контур области мозаики.

Параметр	Описание
- Category (Категория)	Отображает категорию области мозаики. Категории определяются в настройках области просмотра Advanced Tiles Setup (Расширенные настройки модуля Tiles) во вкладке Properties (Свойства).
- Tiles (Мозаики)	Отображает число мозаик в области мозаики.
- Z	Отображает позицию области мозаики по оси Z.
- Size (Размер)	Отображает размер области мозаики.
Verify Tile Regions... (Проверить области мозаик...)	Открывает диалоговое окно Verify Tile Regions (Проверить области мозаик). В диалоговом окне можно проверить фокус и позицию каждой точки области мозаики.

Опции списка Tile Regions List

Параметр	Описание
Вверх  и Вниз 	Кнопки вверх/вниз перемещают выбранный элемент на одну позицию вверх или вниз в списке областей мозаик (Tile Regions List). Это позволяет изменять порядок получения изображений.
Delete (Удаление) 	Удаляет выбранный элемент списка.
Lock (Блокировка) 	Разблокирует выбранные элементы списка для редактирования.
Options (Опции) 	При нажатии на кнопку отобразятся следующие опции:
- Set Current Z for Selected Tile Regions (Установить текущую позицию по оси Z для выбранных областей мозаик)	Устанавливает текущую позицию по оси Z для всех выбранных областей мозаик.
- Set Current X/Y/Z for Selected Tile Regions (Установить текущую позицию по оси X/Y/Z для выбранных областей мозаик)	Устанавливает текущую позицию по оси X/Y/Z для всех выбранных областей мозаик.
- Delete (Удалить)	Удаляет текущую область мозаики.
- Delete All (Удалить все)	Удаляет все области мозаик.
- Activate (Активировать)	Активирует текущую область мозаики для получения изображения.
- Deactivate (Деактивировать)	Деактивирует текущую область мозаики для получения изображения.
- Unlock (Разблокировать)	Разблокирует текущую область мозаики.
- Unlock All (Разблокировать все)	Разблокирует все заблокированные области мозаик.

Параметр	Описание
- Sort (Упорядочить)	By Center Position (Y -> X) (По центральной позиции (Y -> X)) упорядочивает все области мозаик по их общей Y-позиции. By Center Position (X -> Y) (По центральной позиции (X -> Y)) упорядочивает все области мозаик по их общей X-позиции. By Category (По категории) упорядочивает все области мозаик по категории.
- Convert to Positions... (Преобразовать в позиции...)	Преобразовывает выбранную область мозаики в позиции (Positions) или массив позиций (Position Array).

13.2.1.2

Раздел Positions

Раздел Current Position

Отображает текущую позицию столика.

Параметр	Описание
X Position (X-позиция)	Отображает X-координату текущей позиции.
Y Position (Y-позиция)	Отображает Y-координату текущей позиции.
 Сложение	Добавляет текущую позицию в список позиций (Positions List) и активирует ее для получения изображения.

Раздел Display mode

Параметр	Описание
Single Positions (Одиночные позиции)	Отображает список одиночных позиций (Single Positions List). Более подробно об одиночных позициях см. термин «позиция» в глоссарии.
Position Arrays (Массивы позиций)	Отображает список массивов позиций (Position Arrays List) и список позиций выбранного массива (Positions of selected Array List), содержащий полный список одиночных позиций (Single Positions List) для выбранного массива. Более подробно о массивах позиций см. термин «позиция» в глоссарии.

Список Single Position List

Отображает добавленные позиции. Список содержит следующие столбцы и кнопки:

Параметр	Описание
Checkbox (Кнопка-флажок)	Активирует соответствующий элемент списка для полученного изображения.
Название	Здесь редактируется имя одиночной позиции.
Category (Категория)	Отображает категорию одиночной позиции. Категории определяются в настройках области просмотра Advanced Tiles Setup (Расширенные настройки модуля Tiles) во вкладке Properties (Свойства).
X	Отображает X-позицию одиночной позиции.
Y	Отображает Y-позицию одиночной позиции.
Z	Отображает позицию одиночной позиции по оси Z.
Перемещение по списку  и 	Кнопки вверх/вниз перемещают выбранный элемент на одну позицию вверх или вниз в списке областей мозаик (Tile Regions List). Это позволяет изменять порядок получения изображений. Обратите внимание, что флажок Tile Regions/Positions (Области мозаик/Позиции) необходимо убрать, см. раздел «Опции модуля Tiles» [► 342].
Delete (Удаление) 	Удаляет выбранный элемент списка.
Lock (Блокировка) 	Разблокирует выбранные элементы списка для редактирования.
Options (Опции) 	Открывает <i>параметры редактирования одиночных позиций</i> [► 317].

Список Position Array List

Отображает добавленные массивы позиций. Список содержит следующие столбцы и кнопки:

Параметр	Описание
Checkbox (Кнопка-флажок)	Активирует соответствующий элемент списка для полученного изображения.
Название	Здесь редактируется имя области мозаики.
Contour (Контур)	Отображает контур массива позиций.
Positions (Позиции)	Отображает число позиций в массиве.
Size (Размер)	Отображает размер массива позиций.

Параметр	Описание
Перемещение по списку  и 	Кнопки вверх/вниз перемещают выбранный элемент на одну позицию вверх или вниз в списке областей мозаик (Tile Regions List). Это позволяет изменять порядок полученных изображений.
 Delete (Удаление)	Удаляет выбранный элемент списка.
 Lock (Блокировка)	Разблокирует выбранные элементы списка для редактирования.
 Options (Опции)	Открывает <i>параметры редактирования массивов позиций</i> [► 318].
Раздел Verify Positions	
Параметр	Описание
Verify Positions... (Проверить позиции...)	Открывает диалоговое окно <i>Verify Tile Regions (Проверить области мозаик)</i> или <i>Verify Positions (Проверить позиции)</i> [► 322].

13.2.1.2.1 Опции для редактирования одиночных позиций

Параметр	Описание
Set Current Z for Selected Positions (Установить текущую позицию по оси Z для выбранных позиций)	Устанавливает текущую позицию по оси Z для всех выбранных позиций.
Set Current XYZ for Selected Position (Установить текущую позицию по оси X/Y/Z для выбранной позиции)	Устанавливает текущую позицию по оси X/Y/Z для выбранной позиции.
Delete (Удаление)	Удаляет текущую позицию.
Delete All (Удалить все)	Удаляет все позиции.
Activate (Активировать)	Активирует текущую позицию для получения изображения.
Deactivate (Деактивировать)	Деактивирует текущую позицию для получения изображения.
Sort (Упорядочить)	Упорядочивает элементы списка по выбранному параметру.
- By Center Position (Y -> X) (По центральной позиции (Y -> X))	Упорядочивает все позиции по их общей Y-позиции.
- By Center Position (X -> Y) (По центральной позиции (X -> Y))	Упорядочивает все позиции по их общей X-позиции.
- By Category (По категории)	Упорядочивает все позиции по их

категории.

13.2.1.2.2 Параметры редактирования массивов позиций

Параметр	Описание
Delete (Удаление)	Удаляет текущий массив позиций.
Delete All (Удалить все)	Удаляет все массивы позиций.
Activate (Активировать)	Активирует текущий массив позиций для получения изображения.
Deactivate (Деактивировать)	Деактивирует текущий массив позиций для получения изображения.
Unlock (Разблокировать)	Разблокирует текущий массив позиций.
Unlock All (Разблокировать все)	Разблокирует все заблокированные массивы позиций.
Sort (Упорядочить)	Упорядочивает элементы списка по выбранному параметру.
- By Center Position (Y -> X) (По центральной позиции (Y -> X))	Упорядочивает все позиции по их общей Y-позиции.
- By Center Position (X -> Y) (По центральной позиции (X -> Y))	Упорядочивает все позиции по их общей X-позиции.

13.2.1.3 Раздел Sample Carrier

Отображается только в режиме Show All (Показать все).

Параметр	Описание
Sample Carrier (Подложка)	Отображает выбранный шаблон подложки. При отсутствии выбранного шаблона отображается None (Отсутствует).
Select... (Выбрать...)	Открывает диалоговое окно <i>Select Template (Выбор шаблона)</i> [► 324]. Здесь выбирается шаблон подложки.
 (Редактировать контрольные точки)	Открывает диалоговое окно выбора/редактирования шаблона подложки. Здесь можно редактировать и добавлять общие контрольные точки в выбранную подложку.
 Delete (Удаление)	Удаляет выбранную подложку из поля подложки. Шаблон будет по-прежнему доступен в диалоговом окне Select Sample Carrier Template (Выбор шаблона подложки).
Calibrate... (Калибровать...)	Открывается мастер калибровки подложки (Sample Carrier Calibration Wizard). Мастер калибровки проведет вас через процесс калибровки подложки.

Параметр	Описание
Move Focus Drive to Load Position Between Containers (Переместить привод фокусировки в позицию загрузки между контейнерами)	Флажок установлен: перемещает привод фокусировки в позицию загрузки во время перемещения столика к другому контейнеру подложки (например, лунки или предметного стекла). Это предотвращает возможные повреждения.

13.2.1.4 Раздел Focus Surface (Verify)

Отображается только в режиме **Show All** (Показать все).

Вкладка Local (per Tile Region)

Отображает добавленные локальные контрольные точки выбранной области мозаики. Локальные контрольные точки можно отредактировать в параметрах области просмотра Advanced Tiles Setup (Расширенные настройки модуля Tiles) во вкладке Support Points (Контрольные точки). Список содержит следующие столбцы и кнопки:

Параметр	Описание
X	Отображает X-координату контрольной точки фокусировки.
Y	Отображает Y-координату контрольной точки фокусировки.
Z	Отображает Z-координату контрольной точки фокусировки.
 Add (Добавить)	Добавляет новую контрольную точку в выбранную область мозаики в текущей позиции столика и фокусировки.
 Delete (Удаление)	Удаляет выбранный элемент списка.
 Options (Опции)	Открывает параметры (Options) редактирования контрольных точек (Support Points).

Вкладка Global (on Carrier) Support

Отображает добавленные общие контрольные точки выбранной подложки. Общие контрольные точки можно отредактировать в диалоговом окне Select Sample Carrier Template (Выбор шаблона подложки).

Поскольку список не сильно отличается от списка локальных контрольных точек (**Local Support Points List**), далее описываются только дополнительные столбцы:

Параметр	Описание
Container (Контейнер)	Позволяет упорядочивать общие контрольные точки по их контейнеру на подложке.

Параметр	Описание
Verify Support Points... (Проверить контрольные точки...)	Открывает диалоговое окно Verify Z Position (Проверка позиции по оси Z).

Параметр	Описание
Interpolation Degree (Степень интерполяции)	Отображает выбранную степень интерполяции. Степень интерполяции выбирается из выпадающего списка.

Примечание

Чем изменчивее поверхность используемого образца, тем выше следует выбирать степень интерполяции. Для более высоких степеней требуется больше контрольных точек. Минимальное число контрольных точек для каждой степени интерполяции приводится в выпадающем списке. Поскольку превышение минимального числа гарантирует надежность расчетов, рекомендуем использовать минимальную степень интерполяции, даже если добавлено больше контрольных точек. Повышайте степень интерполяции, насколько того требует поверхность образца.

Если при выбранной степени интерполяции добавлено слишком мало контрольных точек, то будет использоваться предыдущая степень интерполяции, соответствующая используемому минимальному количеству контрольных точек.

13.2.1.5 Раздел Options

Отображается только в режиме **Show All** (Показать все).

В этом разделе задавать такие параметры, как получение изображений и режим перемещения столика во время проведения эксперимента. Изменения в этом разделе инструментов влияют на все элементы, позиции, массивы позиций и получение мозаик.

Параметр	Описание
Tile Overlap (Перекрытие мозаик)	Определяет перекрытие (в процентах) отдельных мозаик в областях мозаик. Значение по умолчанию: 10%. Обратите внимание, что низкий процент перекрытия может приводить к возникновению артефактов. Правильная сшивка изображений возможна только при наличии перекрытий.
Stage Travel Optimization (Оптимизация перемещения столика)	В этом разделе можно настроить перемещение столика во время эксперимента.
Перемещение по областям мозаик - Meander (Меандр)	Получает области мозаик по типу меандра — поочередно с обоих направлений движения (слева направо; справа налево). Подобное сканирование выполняется быстрее.

Параметр	Описание
- Comb (Гребень)	Получает области мозаик по типу гребня — только с одного направления движения (слева направо). Подобное сканирование выполняется точнее.
- Spiral (Спираль)	Получает области мозаик по типу спирали — от центра области к внешним границам по часовой стрелке. Этот режим подходит только для областей с прямоугольными или эллиптическими контурами.
Tile Regions/Positions (Области мозаик/Позиции)	Флажок установлен: получение отдельных позиций и областей мозаик происходит не в той последовательности, в какой они были определены в списке областей мозаик (Tile Regions). Перемещение столика будет автоматически подстроено под расположение отдельных областей мозаик и позиций. В случае добавления или удаления областей мозаик или позиций порядок получения также изменяется.
- Sort by X, then Y (Упорядочить по X, затем по Y)	Области мозаик и позиции упорядочиваются по их абсолютной позиции (сначала X, затем Y).
- Sort by Y, then X (Упорядочить по Y, затем по X)	Области мозаик и позиции упорядочиваются по их абсолютной позиции (сначала Y, затем X).
Лунки/контейнеры подложки	Флажок установлен: применяет выбранные типы перемещений (см. описание выше) во время получения мозаик с использованием лунок/контейнеров.
Use Stage Speed from Stage Tool (Использовать скорость столика из инструмента Stage)	Флажок установлен: программное обеспечение использует скорость перемещения столика, установленную в инструменте Stage (Столик) правой области инструментов.
Stage and Focus Backlash Correction (Коррекция люфта столика и фокуса)	Флажок установлен: позиционирование столика и фокусировки выполняется с коррекцией люфта; подобное позиционирование точнее, но медленнее.
Keep Number of Tiles Constant on Re-scaling (Сохранение числа мозаик при изменении масштаба)	Флажок установлен: число мозаик (столбцов и рядов) остается постоянным при изменении масштаба, например из-за смены объектива. При активации этой опции площадь сканирования на столике не является фиксированной. Она зависит от текущего размера мозаики.
Split Scenes into Separate Files (Разделение сцен на отдельные файлы)	Флажок установлен: сцены (например, области мозаик и позиции) сохраняются в отдельных физических файлах. Но они по-прежнему объединены в один логический файл изображения.
Stitching During Acquisition (Сшивка во время получения изображений)	Флажок установлен: сшивка мозаик выполняется во время получения.

Параметр	Описание
Image pyramid during acquisition (Пирамида изображения во время получения)	Флажок установлен: пирамида изображения создается во время получения. При этом изображение оптимизируется для быстрого отображения. Если эта опция отключена, полученное изображение не будет отображаться и обновляться в области документов во время получения.

13.2.1.6 Диалоговое окно Verify Tile Regions или Verify Positions

Обратите внимание, что Z-величины позиций, общие и локальные контрольные точки проверяются в отдельных диалоговых окнах, доступ к которым осуществляется через соответствующие разделы. Поскольку диалоговые окна содержат схожие элементы и параметры проверки Z-величин, их описание приводится только один раз.

Параметр	Описание
Tile Regions/ Positions List (Список областей мозаик/позиций)	Отображает выделенные области мозаик (TR), позиции (P) или контрольные точки (SP). Список содержит следующие столбцы и кнопки:
- Status (Статус)	Здесь можно проверить, подтверждена ли позиция по оси Z. Затем в соответствующем ряду появится зеленая галочка.
- Name (Имя)	Отображает имя выбранной контрольной точки.
- Z (µm) (мкм)	Отображает позицию по оси Z области мозаики или позиции.
- Tile Region (Область мозаики)	Отображает область мозаики локальной контрольной точки.
- Array (Массив)	Показывает, является ли позиция частью массива позиций (Position Array).
-  Опции	Открывает меню опций для проверки областей мозаик/позиций, см. описание ниже.

Verification Helper Method (Вспомогательный метод проверки)

- None (manual adjustment) (Отсутствует (ручная регулировка))	При выборе этого параметра необходимо вручную отрегулировать фокус для каждой проверяемой точки.
Autofocus (AF) (Автофокусировка (АФ))	Параметр доступен только при наличии в системе электропривода фокусировки (по оси Z). При выборе этого параметра используется программная автофокусировка для регулирования фокуса для каждой проверяемой точки. Затем в диалоговом окне появятся соответствующие кнопки.
Definite Focus (DF) (Точная фокусировка (ТФ))	Параметр доступен только при наличии в системе модуля точной фокусировки .

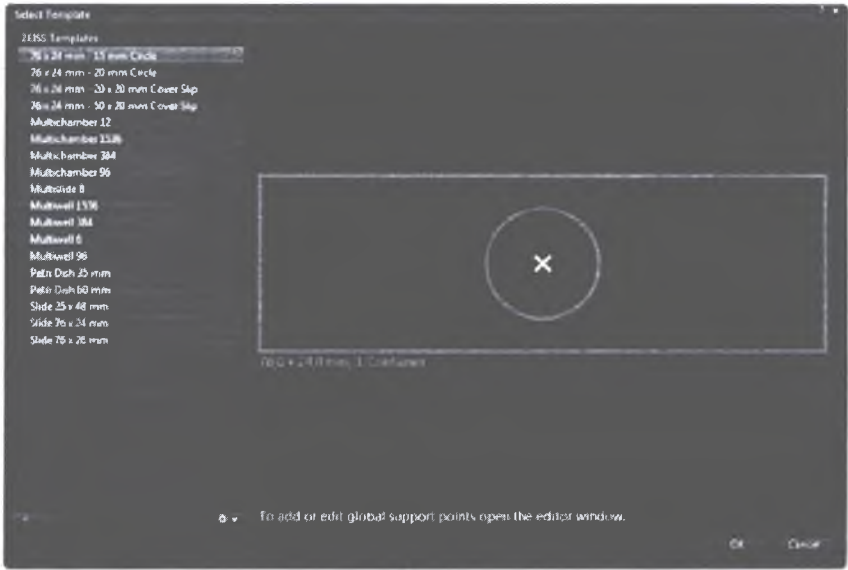
Параметр	Описание
	При выборе этого параметра используется точная фокусировка для регулирования фокуса для каждой проверяемой точки. Ниже, в диалоговом окне появятся соответствующие кнопки.
Move to Current Point (Переместить в текущую точку)	Перемещает столик в текущую точку.
Include Z when Moving to Points (Включить Z-величину при перемещении в точки)	Флажок установлен: запускается программная автофокусировка и для контрольной точки задается определенная Z-величина.
Set Z & Move to Next (Установить Z-величину и переместить в следующую точку)	Устанавливает текущую Z-величину для выбранной контрольной точки и меняет статус на подтвержденный. Затем программное обеспечение перемещает столик в следующую контрольную точку.
Run AF (or DF) and Set Z (Запустить АФ (или ТФ) и установить Z-величину)	Эта кнопка отображается, только если в качестве вспомогательного метода (Helper Method) выбрана автофокусировка (АФ) (Autofocus (AF)) или точная фокусировка (ТФ) (Definite Focus (DF)). Запускает программную автофокусировку/точную фокусировку и меняет статус позиции по оси Z на подтвержденный.
Run AF (or DF) and Set Z (Запустить АФ (или ТФ) и установить Z-величину)	Эта кнопка отображается, только если в качестве вспомогательного метода (Helper Method) выбрана автофокусировка (АФ) (Autofocus (AF)) или точная фокусировка (ТФ) (Definite Focus (DF)). Запускает программную автофокусировку/точную фокусировку и меняет статус позиции по оси Z на подтвержденный.
Use AF (or DF) to Verify the Remaining (Использовать АФ (или ТФ) для проверки оставшихся точек)	Эта кнопка отображается, только если в качестве вспомогательного метода (Helper Method) выбрана автофокусировка (АФ) (Autofocus (AF)) или точная фокусировка (ТФ) (Definite Focus (DF)). Автоматически перемещается к оставшимся точкам и с помощью программной фокусировки определяет для них Z-величину.

Параметры проверки областей мозаик/позиций

Параметр	Описание
Current Point Verified (Текущая точка подтверждена)	Здесь можно изменить статус выбранной контрольной точки с подтвержденного на неподтвержденный (или наоборот).
Set all Points as Verified (Изменить статус всех точек на подтвержденный)	Изменяет статус всех точек на подтвержденный.
Reset Verification State of all Points (Сбросить статус всех точек)	Изменяет статус всех точек на неподтвержденный.
Set Current Z for Selected Points (Установить текущую Z-величину для выбранных точек)	Текущая Z-величина устанавливается для всех выбранных точек.
Set Current Z for all Points (Установить текущую Z-величину для всех точек)	Текущая Z-величина устанавливается для всех точек.

Параметр	Описание
Apply Z-Offset... (Применить смещение по оси Z...)	Открывает диалоговое окно для применения смещения по оси Z для всех или выбранных точек.

13.2.1.7 Диалоговое окно Select Template



Параметр	Описание
User Templates (Пользовательские шаблоны)	Отображает все персонализированные шаблоны подложек.
ZEISS Templates (Шаблоны ZEISS)	Отображает предустановленные шаблоны ZEISS для нескольких подложек.
 Add (Добавить)	Открывает диалоговое окно Edit Sample Carrier Template (Редактировать шаблон подложки) для создания нового шаблона.
 Delete (Удаление)	Удаляет выбранный шаблон подложки.
 Options (Опции)	Открывает параметры (Options) редактирования шаблонов подложек.
Preview (Предварительный просмотр)	Обеспечивает предварительный просмотр выбранного шаблона подложки.

13.2.2 Меню Tiles Advanced Setup

В меню Tiles Advanced Setup (Расширенные настройки модуля Tiles) можно выполнять расширенную настройку и планировать проведение эксперимента в модуле Tiles & Positions. В **центральной области экрана** отображается *поле обзора столика* [► 325]. При открытии окна **Advanced Tiles Setup (ATS)** (Расширенные настройки модуля Tiles) поле обзора столика «расширяется» на

предустановленный коэффициент. Размер поля можно изменить во вкладке **Dimensions | Zoom** (Измерения | Размер окна) или вращением колесика мыши.

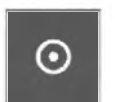
Для перемещения по экрану доступны следующие опции:

В каждом углу и вдоль каждой кромки расположены стрелки, нажимая на которые, можно перемещать поле обзора в направлении каждой из стрелок. Для центрирования поля обзора на текущей позиции столика нажмите кнопку **Center to Stage Position** (Центрировать по позиции столика). Дополнительные настройки и инструменты, используемые при работе с областями мозаик или позициями, находятся в опциях предметного просмотра.

- 1 Поле обзора столика (*Stage View*) [► 325].
- 2 **Центрировать по позиции столика**
- 3 **Опции предметного просмотра:**
 - Вкладка Preview Scan (Сканирование просмотра)* [► 326].
 - Вкладка Carrier (Подложка)* [► 327].
 - Вкладка Tile Region Setup (Настройка области мозаики)* [► 329].
 - Вкладка Position Setup (Настройка позиции)* [► 332].
 - Вкладка Properties (Свойства)* [► 336].
 - Вкладка Support Points (Контрольные точки)* [► 339].

13.2.3 Поле обзора столика

В центральной области экрана отображается весь диапазон перемещения столика микроскопа, а также текущая позиция столика, графическое представление подложек и полученные изображения мозаик. Управлять полем обзора столика можно с помощью стрелок по краям области изображения. Поле обзора можно расширять, уменьшать или перемещать с помощью элементов общего управления.

Символ	Параметр	Описание
	Selected/Active (Выбранный/активный)	Выделяет выбранный/активный контейнер/лунку синим контуром.
	Live Navigator (Живой навигатор)	Отображает текущую позицию столика, а также живое изображение в виде синего фрейма. Для перемещения фрейма дважды щелкните по необходимой позиции. Или переместите мышь, удерживая левую кнопку мыши на инструменте Live Navigator (Живой навигатор). Рамка также служит для управления получением изображения. При нажатии на одну из синих стрелок рамки будет получено изображение. Инструмент Live Navigator (Живой навигатор) перемещается в соответствующем направлении на расстояние, равное ширине одного фрейма. Подобным способом можно создавать мозаичные изображения используемого образца.
		
	Tile Region (Область мозаики)	Выделяет области мозаик в поле обзора столика красной расчетной сеткой.
	Positions (Позиции)	Выделяет позиции в поле обзора столика знаком «плюс» желтого цвета.
	Position Arrays (Массивы позиций)	Выделяет массивы позиций в поле обзора столика соответствующими знаками позиций, окруженными пунктирной линией.
	Local Support Point (Локальная контрольная точка)	Выделяет локальные контрольные точки в поле обзора столика желтым кругом с точкой в центре.
	Global Support Point (Общая контрольная точка)	Выделяет общие контрольные точки в поле обзора столика белым кругом с точкой в центре.

13.2.4 Опции предметного просмотра

13.2.4.1 Вкладка Preview Scan

Во вкладке Preview Scan (Сканирование просмотра) можно задать настройки сканирования просмотра. Обычно для этого используется объектив с малым увеличением и канал, предохраняющий используемый образец (например, проходящий свет). Это обеспечит обзор образца с низким разрешением для выделения областей мозаик и (или) позиций.

i Примечание

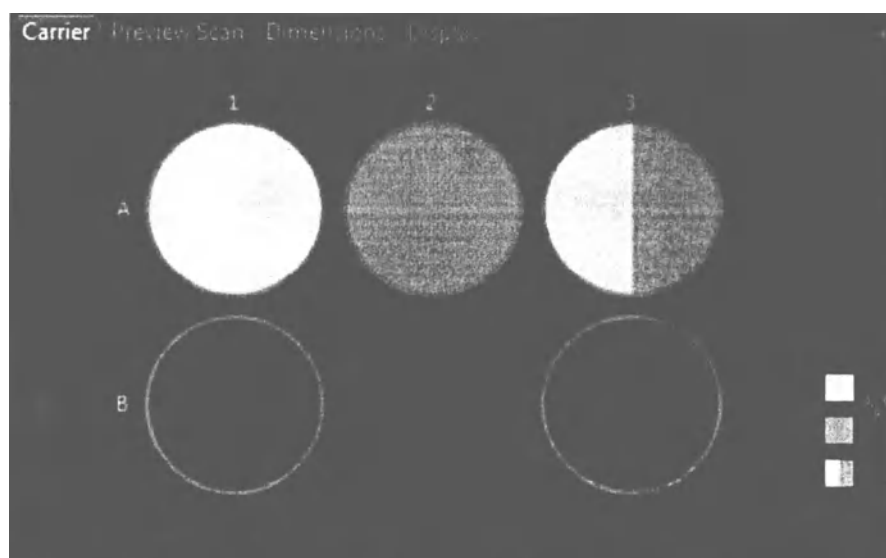
Обратите внимание, что выбранный объектив для **сканирования просмотра** связан с настройками эксперимента. Смена объектива отразится в настройках во вкладке **Locate** (Местоположение) или **Acquisition** (Получение изображений). Таким образом, чтобы использовать другой объектив для проведения эксперимента, после сканирования просмотра вам придется быстро переставить объектив.

Параметр	Описание
Start Preview Scan (Начать сканирование просмотра)	Запускает сканирование просмотра для получения обзорных изображений.
Delete Existing Preview Images (Удалить существующие изображения предварительного просмотра)	Флажок установлен: удаляет существующие изображения предварительного просмотра при получении следующего изображения.
Objective/Optovar (Объектив/модуль Optovar)	Здесь можно выбрать объектив и модуль Optovar, которые будут использоваться для сканирования просмотра. Для получения обзорных изображений всех активных мозаик и позиций переключитесь на объектив с малым увеличением. Установите время экспозиции канала и начните получение обзорных изображений.
Use Existing Experiment Settings (Использовать существующие настройки эксперимента)	Флажок установлен: использует существующие настройки эксперимента. Эта настройка используется по умолчанию. Флажок убран: открываются дополнительные опции Camera (Камера) и Channels (Каналы). Это позволяет выполнять независимую активацию/деактивацию каналов. Параметр Use Binning from Experiment (Использовать биннинг из эксперимента) позволит определять настройки биннинга независимо от используемых в эксперименте. При использовании биннинга автоматически компенсируется время экспозиции во избежание насыщения. Изменение этих параметров не влияет на настройки, которые будут использоваться для проведения эксперимента.

13.2.4.2 Вкладка Carrier

Отображается только при выборе подложки.

Во вкладке представлено графическое изображение используемой подложки.



Примечание

Учитываются только контейнеры/лунки, чьи области мозаик и позиции были определены опцией *Setup by Carrier* (Определение по подложке) [► 331] вкладки **Tile Regions Setup** (Настройка областей мозаик) или опцией *Setup by Carrier* (Определение по подложке) [► 335] вкладки **Positions Setup** (Настройка позиций).

Обратите внимание на следующие особенности отображения:

Символ



Описание

Пустые контейнеры/лунки выделяются серым цветом, что означает, что области мозаик или позиции не были определены опцией *Carrier* (Подложка)



Активные контейнеры/лунки выделяются синим контуром.



Контейнеры/лунки, заполненные только **областями мозаик**, выделяются заливкой желтого цвета.



Контейнеры/лунки, заполненные только **позициями**, выделяются заливкой оранжевого цвета.



Контейнеры/лунки, заполненные **областями мозаик и позициями**, выделяются одновременно желтой и оранжевой заливкой.

Примечание

Правой кнопкой мыши вызывается небольшое контекстное меню. С его помощью можно копировать содержимое выбранной лунки или вставлять содержимое во все или выбранные лунки.

13.2.4.3 Вкладка Tile Region Setup

Во вкладке Tile Region Setup (Настройка области мозаики) можно выбрать настройки областей мозаик. Для выбора доступны три варианта настроек:

13.2.4.3.1 Setup by Contour

Опция Setup by Contour (Определение по контуру) позволяет определить области мозаик по контуру.

Раздел Contour

В разделе Contour (Контур) можно выбрать контур области мозаики. Пользователю доступны следующие инструменты:

Параметр	Описание
Режим выбора 	Чтобы переместить или отредактировать уже созданную область мозаики, нажмите на нее с помощью этого инструмента.
Прямоугольник 	С помощью этого инструмента можно создать прямоугольную область мозаики.
Овал 	С помощью этого инструмента можно создать овальную область мозаики.
Многоугольник 	С помощью этого инструмента можно создать многоугольную область мозаики.
Кеер Tool (Удерживать инструмент)	Флажок установлен: выбранный инструмент остается активным. Можно использовать инструмент несколько раз подряд без необходимости его повторного выбора.

13.2.4.3.2 Setup by Predefined

В опции Setup by Predefined (Определение по предустановленным значениям) можно задать количество или размер областей мозаик.

Раздел Tool

В разделе Tool (Инструмент) можно выбрать требующийся инструмент. Пользователю доступны следующие инструменты:

Параметр	Описание
 Выделение	Выбирает элемент в поле обзора столика для редактирования или перемещения.

Параметр	Описание
 Добавить область мозаики	Добавляет текущее определение мозаики в область изображения.
Keep Tool (Удерживать инструмент)	Флажок установлен: выбранный инструмент остается активным. Можно использовать инструмент несколько раз подряд без необходимости его повторного выбора.

Раздел Contour

Отображается только в режиме **Show All** (Показать все).
В разделе Contour (Контур) можно выбрать контур области мозаики. Пользователю доступны следующие инструменты:

Параметр	Описание
 Прямоугольник	Добавляет прямоугольную область мозаики.
 Круг	Добавляет круглую область мозаики.

Раздел Mode

Параметр	Описание
Tiles (Мозаики)	Необходимо задать количество мозаик для расчета размера области мозаики. Введите количество мозаик в поля ввода X/Y. В случае добавления круглой области мозаики в поле ввода Diameter (Диаметр) укажите число мозаик в диаметре.
Size (Размер)	Необходимо задать размер мозаик для расчета размера области мозаики. Введите размер области мозаики в поля ввода X/Y. В случае добавления круглой области мозаики в поле ввода Diameter (Диаметр) введите диаметр области мозаики.
Stake (Маркеры)	Определяет область мозаики путем размещения не менее двух маркеров (координаты столика по осям X/Y, заданные пользователем). Чтобы изменить область мозаики (расширить/уменьшить), отрегулируйте область мозаики до необходимого размера. После определения области мозаики нажмите кнопку Done (Выполнено). Чтобы таким образом создать круглые или прямоугольные области мозаик, выберите соответствующий контур.

Параметр	Описание
Сложение	Добавляет область мозаики в список областей мозаик (Tile Regions List) и активирует ее для получения изображения. Добавленные области мозаик отобразятся в виде красных расчетных сеток в поле обзора столика в разделе Advanced Tiles Setup (Расширенные настройки модуля Tiles).

13.2.4.3.3 Setup by Carrier

Опция Setup by Carrier (Определение по подложке) позволяет автоматически определить области мозаик по коэффициенту заполнения подложки.

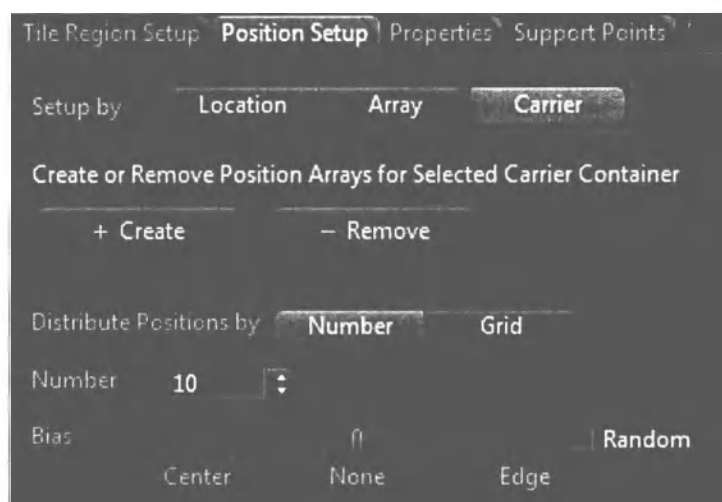
Примечание

Подложка должна быть выбрана в разделе *Sample Carrier* (Подложка) [► 318] инструмента **Tiles** (Мозаики).

Примечание

При переключении в режим определения области мозаики по **подложке** созданные вручную области мозаик и позиции (определенные по **контуре** и **предустановленным значениям**) будут удалены. Если необходимо объединить ручной и автоматический способы определения, то сначала воспользуйтесь определением по подложке (**Setup by Carrier**), а затем перейдите в режим ручного определения.

Областям мозаик, автоматически созданным определением по подложке (**Carrier**), по умолчанию назначается контейнер, за которым они закрепляются, после чего на них устанавливается защита от редактирования вручную. Разблокировать области мозаик можно в инструменте **Tiles** (Мозаики), выбрав необходимую область мозаики и нажав на кнопку разблокировки.



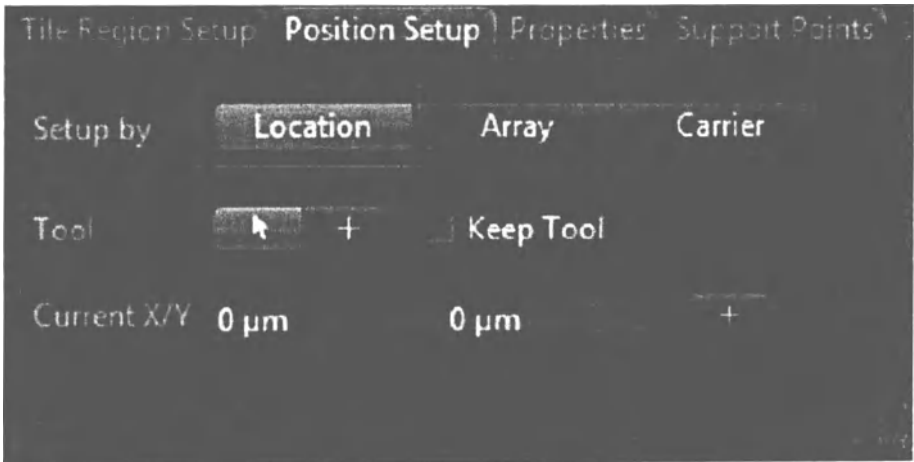
Параметр	Описание
Create (Создать)	Активен, только если выбран контейнер во вкладке <i>Carrier</i> (Подложка) [► 327] или в <i>поле обзора столика</i> [► 325]. Автоматически создает области мозаик с заданным коэффициентом заполнения в выбранном контейнере подложки.
Remove (Удалить)	Удаляет все области мозаик в выбранном контейнере.
Fill Factor (Коэффициент заполнения)	Здесь задается коэффициент, используемый для заполнения выбранного контейнера.
Columns/Rows (Столбцы/Ряды)	Здесь можно добавить в контейнер одиночные области мозаик, указав число столбцов и рядов мозаики. Область мозаики всегда размещается в центре контейнера лунки.

13.2.4.4 Вкладка Position Setup

Во вкладке Position Setup (Настройка позиции) можно выбрать настройки позиций. Для выбора доступны три варианта настроек.

13.2.4.4.1 Setup by Location

Опция Setup by Location (Определение по местоположению) позволяет определить позиции по местоположению. Различные позиции в поле обзора столика добавляются с помощью мыши.



Параметр	Описание
	Выбирает элемент в поле обзора столика для редактирования или перемещения.
Выделение	
	Добавляет новую позицию в поле обзора столика.
Сложение	

Параметр	Описание
Keep Tool (Удерживать инструмент)	Флажок установлен: выбранный инструмент остается активным. Можно использовать инструмент несколько раз подряд без необходимости его повторного выбора.

Параметр	Описание
X Position/Y Position (X-позиция / Y-позиция)	Отображает текущую позицию столика (X/Y).
	Добавляет новую позицию при текущем положении столика.
Сложение	

13.2.4.4.2

Setup by Array

Опция Setup by Array (Определение по массиву) позволяет определять позиции по массиву позиций. В поле обзора столика можно добавлять различные контуры массивов позиций.

Примечание

Массивы позиций — это группы, состоящие из нескольких отдельных позиций. Обычно массивы позиций содержат несколько сотен отдельных позиций. Они облегчают работу с правильно и равномерно распределенными образцами.

**Раздел Contour**

В разделе Contour (Контур) можно выбрать контур области мозаики. Пользователю доступны следующие инструменты:

Параметр	Описание
Режим выбора 	Чтобы переместить или отредактировать уже созданный массив позиций, нажмите на него с помощью этого инструмента.
Прямоугольник 	С помощью этого инструмента можно создать прямоугольный массив позиций.
Овал 	С помощью этого инструмента можно создать овальный массив позиций.
Кеер Tool (Удерживать инструмент)	Флажок установлен: выбранный инструмент остается активным. Можно использовать инструмент несколько раз подряд без необходимости его повторного выбора.

Раздел Number

Параметр	Описание
Number (Число)	Отображает текущее число позиций, распределенных по новому массиву позиций. Измените это число, чтобы увеличить или уменьшить число одиночных позиций, полученных с помощью массива позиций.

Раздел Bias

Отображается только в режиме **Show All** (Показать все).

В разделе Bias (Смещение) можно задать смещение распределения одиночных позиций, созданных для нового массива позиций.

Параметр	Описание
Bias (Смещение)	Корректирует общее положение одиночных позиций в массиве позиций.
- None (Отсутствует)	Одиночные позиции массива позиций равномерно распределяются внутри массива.
- Center (Центр)	Одиночные позиции массива позиций распределяются главным образом вблизи центра массива позиций. По краям массива располагается меньшее число позиций.
- Edge (Край)	Позиции массива позиций распределяются по краям массива. В центре массива располагается меньшее число позиций.
Random (Случайное)	Флажок установлен: одиночные позиции массива распределяются внутри него в случайном порядке. Общее смещение по-прежнему учитывается.

13.2.4.4.3 Setup by Carrier

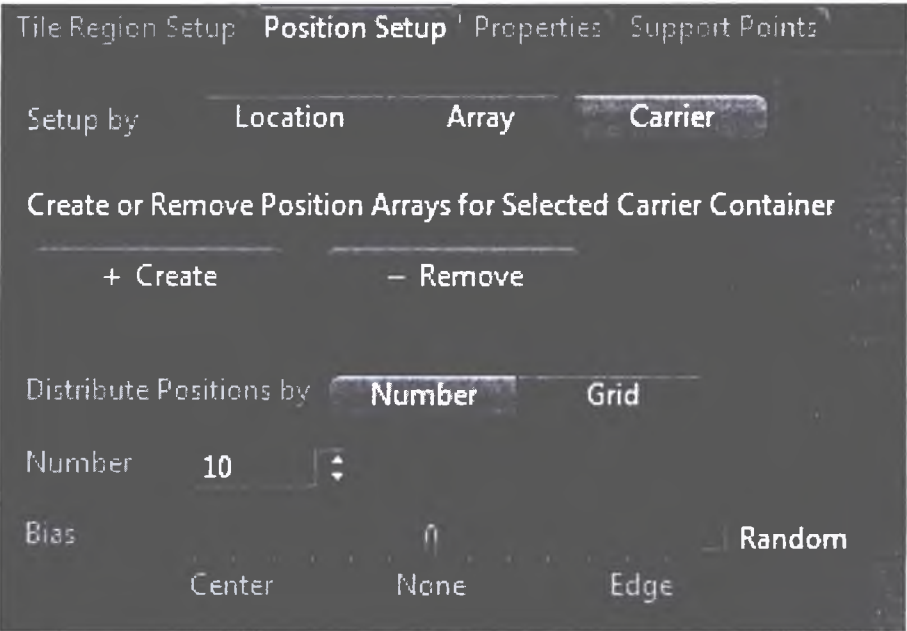
Опция Setup by Carrier (Определение по подложке) позволяет автоматически определять позиции по соответствующей подложке образца.

i Примечание

Подложку следует выбрать в разделе Sample Carrier (Подложка) инструмента Tiles (Мозаики).

i Примечание

При переключении в режим определения области мозаики по подложке созданные вручную области мозаик и позиции (**определенные по контуру и предустановленным значениям**) будут удалены. Если необходимо объединить ручной и автоматический способы определения, сначала воспользуйтесь определением по подложке (**Setup by Carrier**), а затем перейдите в режим ручного определения.



Параметр	Описание
Create (Создать)	Активен, только если выбран контейнер во вкладке <i>Carrier</i> (Подложка) [▶ 327] или в поле <i>обзора столика</i> [▶ 325]. Автоматически создает области мозаик с заданным коэффициентом заполнения в выбранном контейнере подложки.
Remove (Удалить)	Удаляет все области мозаик в выбранном контейнере.

Раздел Number**Параметр****Описание****Number (Число)**

Отображает текущее число позиций, распределенных по новому массиву позиций. Измените это число, чтобы увеличить или уменьшить число одиночных позиций, полученных с помощью массива позиций.

Раздел Bias

Отображается только в режиме **Show All** (Показать все).

В разделе Bias (Смещение) можно задать смещение распределения одиночных позиций, созданных для нового массива позиций.

Параметр**Описание****Bias (Смещение)**

Корректирует общее положение одиночных позиций в массиве позиций.

- None (Отсутствует)

Одиночные позиции массива позиций равномерно распределяются внутри массива.

- Center (Центр)

Одиночные позиции массива позиций распределяются главным образом вблизи центра массива позиций. По краям массива располагается меньшее число позиций.

- Edge (Край)

Позиции массива позиций распределяются по краям массива. В центре массива располагается меньшее число позиций.

Random (Случайное)

Флажок установлен: одиночные позиции массива распределяются внутри него в случайном порядке. Общее смещение по-прежнему учитывается.

13.2.4.5**Вкладка Properties**

Во вкладке Properties (Свойства) можно управлять свойствами выбранной области мозаики или позиции.

i Примечание

Для просмотра параметров, доступных в этой вкладке, необходимо выбрать область мозаики или одиночную позицию. Просматривать и управлять параметрами целого массива позиций невозможно.

13.2.4.5.1**Свойства выбранных областей мозаик**

В разделе Properties of selected Tile Regions (Свойства выбранных областей мозаик) можно управлять свойствами выбранной области мозаики.

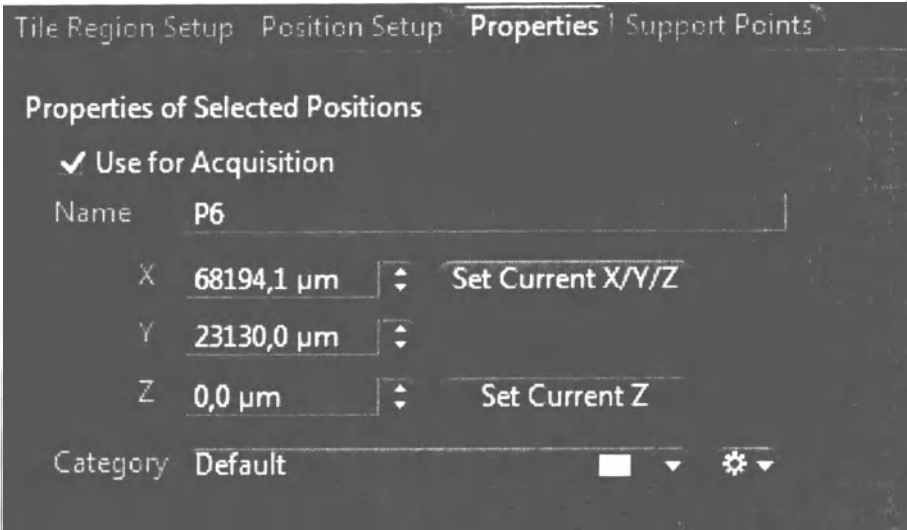


Рисунок 13.2. Вкладка Properties (режим отображения всех функций)

Параметр	Описание
Use for Acquisition (Использовать для получения изображений)	Флажок установлен: использует выбранную область мозаики для получения изображения.
Название	Здесь вводится имя выбранной области мозаики.
Size (Размер)	Здесь можно просматривать и редактировать размер области мозаики в измерениях X/Y/Z. X/Y-измерения областей мозаик, созданных с помощью опции Setup by Carrier (Определение по подложке) [► 331], редактировать нельзя, поскольку они установлены размером контейнера/лунки.
Tiles (Мозаики)	Здесь можно просматривать число мозаик в измерениях X/Y. Число мозаик отредактировать нельзя, поскольку оно определяется размером области мозаики.
Position (Позиция)	Здесь можно указать позицию выбранной области мозаики в X/Y-измерениях. Позиции областей мозаик, созданные с помощью опции Setup by Carrier (Определение по подложке) [► 331], редактировать нельзя, поскольку они определяются контейнером/лункой.
Set Current Z (Установить текущую позицию по оси Z)	Устанавливает Z-измерение в текущей позиции по оси Z привода фокусировки.

Отображается только в режиме Show All (Показать все).

Здесь можно присваивать категории областям мозаик. Определения категорий отобразятся в соответствующем столбце таблицы инструмента Tiles (Мозаики). Это значение также записывается в метаданные изображения. Таким образом, переменные или схемы определений лунок могут создаваться и сохраняться в качестве элемента шаблона эксперимента.

Параметр	Описание
Category (Категория)	Отображает текущую присвоенную категорию выбранной области мозаик. Категория Default (По умолчанию) устанавливается для всех новых областей мозаик.
 Options (Опции)	Открывает параметры редактирования и создания категорий.
- New... (Создать...)	Открывает диалоговое окно New Category (Новая категория) для создания новой категории.
- Edit... (Редактировать...)	Открывает диалоговое окно Edit Category (Редактировать категорию) для редактирования выбранной категории.
- Delete (Удалить)	Удаляет выбранную категорию и присваивает этой категории области мозаик значение Default (По умолчанию).

13.2.4.5.2 Свойства выбранных позиций

В разделе Properties of selected Positions (Свойства выбранных позиций) можно управлять свойствами выбранной позиции.

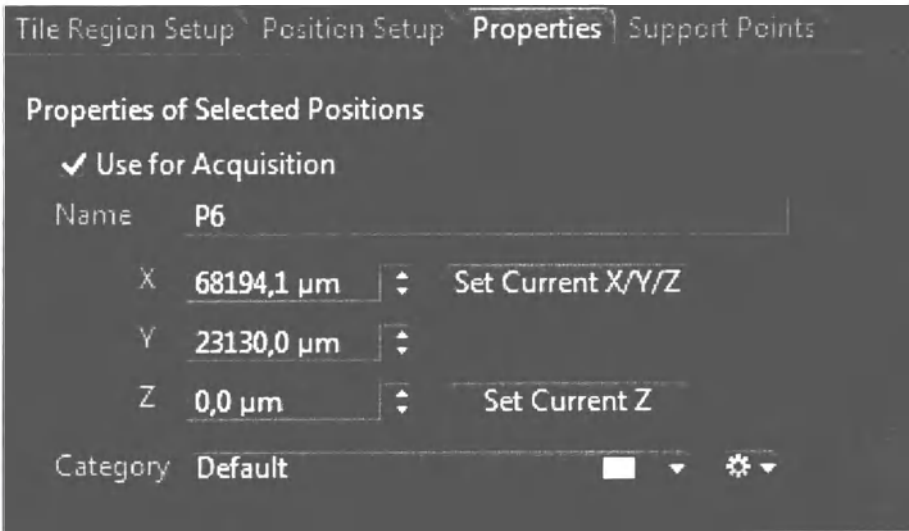


Рисунок 13.3. Вкладка Properties (режим отображения всех функций)

Параметр	Описание
Use for Acquisition (Использовать для получения изображений)	Флажок установлен: использует выбранную позицию для получения изображения.
Название	Здесь вводится имя выбранной позиции.

Параметр	Описание
X/Y/Z	Здесь можно просматривать и редактировать положение выбранной позиции на столике в X/Y/Z-измерениях.
Set Current X/Y/Z (Установить текущую позицию по оси X/Y/Z)	Устанавливает X/Y/Z-измерение в текущей позиции по оси X/Y/Z столика/привода фокусировки.
Set Current Z (Установить текущую позицию по оси Z)	Устанавливает Z-измерение в текущей позиции по оси Z привода фокусировки.

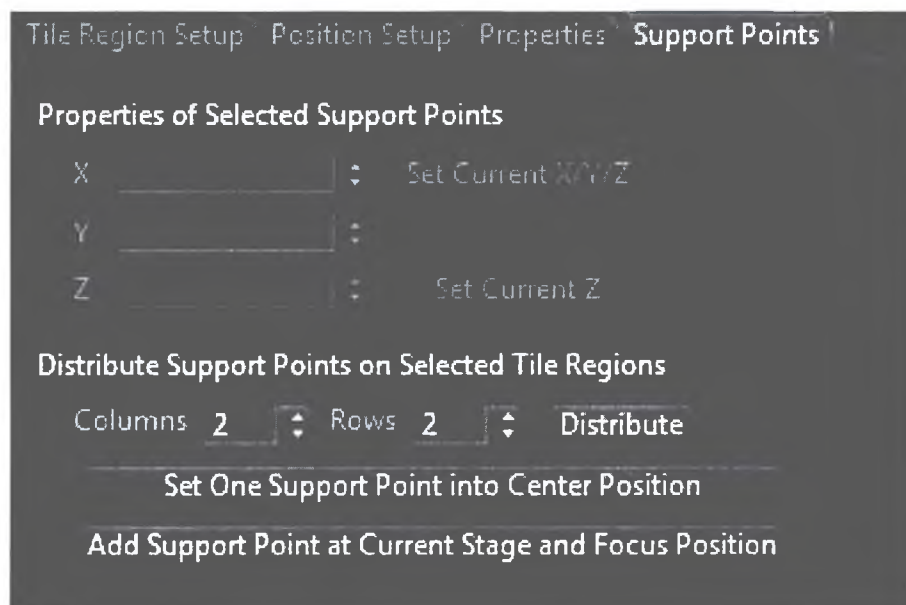
Отображается только в режиме **Show All** (Показать все).

Здесь можно присваивать категории областям мозаик. Определения категорий отобразятся в соответствующем столбце таблицы инструмента Tiles (Мозаики). Это значение также записывается в метаданные изображения. Таким образом, переменные или схемы определений лунок могут создаваться и сохраняться в качестве элемента шаблона эксперимента.

Параметр	Описание
Category (Категория)	Отображает текущую присвоенную категорию выбранной области мозаик. Категория Default (По умолчанию) устанавливается для всех новых областей мозаик.
 Options (Опции)	Открывает параметры редактирования и создания категорий.
- New... (Создать...)	Открывает диалоговое окно New Category (Новая категория) для создания новой категории.
- Edit... (Редактировать...)	Открывает диалоговое окно Edit Category (Редактировать категорию) для редактирования выбранной категории.
- Delete (Удалить)	Удаляет выбранную категорию и присваивает этой категории области мозаик значение Default (По умолчанию).

13.2.4.6 Вкладка Support Points

Во вкладке Support Points (Контрольные точки) можно создавать, распределять и управлять свойствами выбранных локальных и общих контрольных точек.



Раздел Properties of Selected Support Point

Раздел Properties of Selected Support Point (Свойства выбранной контрольной точки) содержит следующие столбцы и кнопки:

Параметр	Описание
Position (Позиция)	X/Y-измерения отображаются, только в режиме Show All (Показать все). Здесь можно просматривать и редактировать положение выбранной позиции на столике в X/Y/Z-измерениях.
Set Current X/Y/Z (Установить текущую позицию по оси X/Y/Z)	Отображается только в режиме Show All (Показать все). Устанавливает X/Y/Z-измерение в текущей позиции по оси X/Y/Z столика/привода фокусировки.
Set Current Z (Установить текущую позицию по оси Z)	Устанавливает Z-измерение в текущей позиции по оси Z привода фокусировки.

i Примечание**Свойства общих контрольных точек**

Свойства выбранных общих контрольных точек слегка отличаются от свойств локальных контрольных точек, поскольку X/Y-измерения определяются выбранным шаблоном подложки и не редактируются. Поэтому в разделе общих контрольных точек отсутствует кнопка **Set Current X/Y/Z** (Установить текущую позицию X/Y/Z). Если необходимо отредактировать количество и XY-измерения общих контрольных точек, это можно сделать непосредственно в разделе **Sample Carrier** (Подложка) инструмента Tiles (Мозаики).

Режим **Show All** (Показать все) не влияет на отображение дополнительных опций общих контрольных точек, а также опций локальных контрольных точек.

Раздел Distribute Support Points on Selected Tile Regions**i** Примечание

Раздел Distribute Support Points on Selected Tile Regions (Распределение контрольных точек по выбранным областям мозаик) отображается, только если выбрана одна или более областей мозаик или локальная контрольная точка области мозаики. При выборе локальной контрольной точки отключаются функции раздела распределения контрольных точек.

Раздел Distribute Support Points on Selected Tile Regions (Распределение контрольных точек по выбранным областям мозаик) содержит следующие поля ввода и кнопки:

Параметр	Описание
Columns (Столбцы)	Определяет число столбцов контрольных точек в выбранной области мозаики.
Rows (Ряды)	Определяет число рядов контрольных точек в выбранной области мозаики.
Distribute (Распределить)	Распределяет по области мозаики заданное в полях ввода столбцов и рядов число контрольных точек. Ранее определенные контрольные точки будут удалены.
Set One Support Point into Center Position (Установить одну контрольную точку в центр)	Отображается только в режиме Show All (Показать все). Устанавливает одну контрольную точку в центр выбранной области мозаики. Ранее определенные контрольные точки будут удалены.
Add Support Point at Current Stage and Focus Position (Добавить контрольную точку в текущей позиции столика и фокусировки)	Отображается только в режиме Show All (Показать все). Добавляет контрольную точку в текущей позиции столика и фокусировки. Не влияет на ранее определенные контрольные точки.

13.2.5 Опции модуля Tiles

Дополнительные опции модуля Tiles (Мозаики) позволяют настраивать несколько параметров получения изображений и дополнительной информации. Диалоговое окно опций модуля Tiles находится в меню **Tools | Options... | Acquisition | Tiles** (Инструменты | Опции... | Получение изображений | Мозаики).

Раздел Tiles

Параметр	Описание
Automatically Start Live Mode in the Advanced Setup View (Автоматически запускать режим живого изображения в окне расширенных настроек)	Флажок установлен: автоматически запускает режим живого изображения в центральной области экрана при нажатии на кнопку Advanced Setup (Расширенные настройки) во вкладке Acquisition (Получение изображений) инструмента Tiles (Мозаики). Отключите эту опцию для предотвращения обесцвечивания образца.
Additionally Open Snap Images as Separate Documents (Дополнительно открыть моментальные снимки в отдельных документах)	Флажок установлен: при нажатии кнопки Advanced Setup (Расширенные настройки) во вкладке Acquisition (Получение изображений) инструмента Tiles (Мозаики) создается новый файл в отдельном контейнере для моментального снимка, а не просто миниатюра в области предварительного просмотра.
Show Information Title in the Advanced Setup View (Показывать информационный заголовок в окне расширенных настроек)	Флажок установлен: при нажатии на кнопку Advanced Setup (Расширенные настройки) во вкладке Acquisition (Получение изображений) инструмента Tiles (Мозаики) над окном Advanced Setup (Расширенные настройки) отображается панель, которая содержит дополнительную информацию.
Show Snap Animation (Показывать анимацию моментального снимка)	Флажок установлен: показывает моментальный снимок, анимированный во время получения моментального снимка нового изображения в окне Advanced Setup (Расширенные настройки).
Automatic Snap by Clicking the Live Navigator Buttons (Автоматический моментальный снимок нажатием кнопки Live Navigator)	Флажок установлен: делает снимок во вкладке Advanced Setup (Расширенные настройки) модуля Tiles (Мозаики) каждый раз при перемещении инструмента Live Navigator (Живой навигатор) с помощью стрелок перемещения.
Enable Stage Moving with Live Navigator Handle (Активировать перемещение столика с помощью манипулятора живого навигатора)	В инструменте Live Navigator (Живой навигатор) отображает текущую позицию столика, в том числе живое изображение в виде фрейма, выделенного синим. Для перемещения фрейма дважды щелкните по необходимой позиции. Рамка также служит для управления получением изображения. Флажок установлен: получает изображение при нажатии на одну из синих стрелок фрейма. Инструмент Live Navigator (Живой навигатор) перемещается в соответствующем направлении на расстояние, равное ширине одного фрейма. Подобным способом можно создавать мозаичные изображения используемого образца.

Параметр	Описание
Show Label on Sample Carrier Container (Показывать метку на контейнере подложки)	Флажок установлен: показывает метку на каждом контейнере/лунке выбранной подложки.
Show Tool Tip on Sample Carrier Container (Показывать всплывающую подсказку на контейнере подложки)	Флажок установлен: во вкладке Carrier (Подложка) при наведении мыши показывает подсказку с именем контейнера/лунки.
Delimiter for CSV Export/Import (Разделитель для экспорта/импорта CSV)	Определяет разделитель для экспорта или импорта CSV-файла. Выберите запятую (Comma) (по умолчанию), точку с запятой (Semicolon) или табуляцию (Tab).
Ask Whether Support Points/Positions Should be Overwritten (Спрашивать, заменять ли контрольные точки/позиции)	Если контрольные точки и (или) позиции определяются программной автофокусировкой, существующие точки могут быть заменены новыми Z-величинами. Флажок установлен: отображает окно сообщения, в котором предлагается заменить точки при наличии Z-величины, определенной автофокусировкой.
Enable Removing of Focus Surface Outlier (Активировать устранение точек за пределами фокальной поверхности)	Флажок установлен: игнорирует контрольные точки, расположенные далеко за пределами интерполированной фокальной поверхности. В этом разделе доступны следующие опции:
- Maximum Interpolation Degree for Outlier Detection (Макс. Степень интерполяции для определения выпадающих точек)	Эта значение может равняться 0 или 1. При значении «1» для определения выпадающих контрольных точек используется линейное приближение. Эта опция используется по умолчанию. При «0» для определения выпадающих опорных точек используется среднее значение.
- Threshold in Terms of the Standard Deviation (Sigma) (Пороговая величина при стандартном отклонении (Сигма))	Этот параметр устанавливает пороговое значение для определения контрольных точек, выпадающих из процесса приближения. Она определяется стандартным отклонением (среднеквадратическое значение), заданным в счетчике. Контрольные точки, не соответствующие этому критерию, как следствие, игнорируются при определении фокальной поверхности.
Activate Stitching During Acquisition for New Experiments (Активировать сшивку во время получения изображения для новых экспериментов)	Флажок установлен: активирует сшивку во время получения изображения по умолчанию для всех новых экспериментов Для проведения нового эксперимента это значение заменяется соответствующей опцией в разделе настроек модуля Tiles (Мозаики).

Параметр	Описание
Use Local Focus Surface for Preview Scans (Использовать локальную фокальную поверхность для сканов предпросмотра)	Флажок установлен: для получения сканов предпросмотра используйте значения локальных фокальных поверхностей (Z-величины позиций, области мозаик и, если определены, интерполированные локальные поверхности, определенные по контрольным точкам). Обратите внимание, что при активации измерения в модуле Tiles (Мозаики) предварительно устанавливается соответствующая стратегия Use Focus Surface Defined by Tiles Setup (Использовать фокальную поверхность, определенную в настройках модуля Tiles).
Binning Compensation of Exposure Time in Preview Scans (Компенсация биннинга для определения времени экспозиции на сканах предпросмотра)	Определяет силу изменения коэффициента биннинга с целью автоматического определения времени экспозиции, используемой для сканирования просмотра, где настройки биннинга отличаются в интервале между экспериментом и сканированием просмотра. Значением по умолчанию является «2.0», то есть квадратичное. Таким образом, например, время экспозиции будет уменьшено в четыре раза, если биннинг эксперимента составляет 1x1, а биннинг сканирования просмотра — 2x2. Это значение может варьироваться в интервале между 1.0 и 2.0 с шагом 0.1.
Live Image in Sample Carrier Calibration Wizard (relevant only for systems with camera) (Живое изображение в мастере калибровки подложки (только для систем, снабженных камерой))	Флажок установлен: настройка по умолчанию для живого изображения, обеспечивающая взаимодействие навигации и фокуса во время калибровки подложки.
- Use Imaging Device from Selected Channel with "Acquisition" Settings (Использовать устройство визуализации из выбранного канала с настройками вкладки Acquisition)	Эта опция относится только к системам с фотоприемником с большим полем зрения.
- Use Active Camera with "Locate" Settings (Использовать активную камеру с настройками вкладки Locate)	Флажок установлен: обеспечивает возможность использования настроек камеры, определенных во вкладке Locate (Местоположение), в мастере калибровки подложки (в режиме живого изображения). По умолчанию будут использованы настройки эксперимента для выбранного канала/трека.

14 Модуль Dynamics

14.1 Работа в окне MeanROI (в автономном режиме)

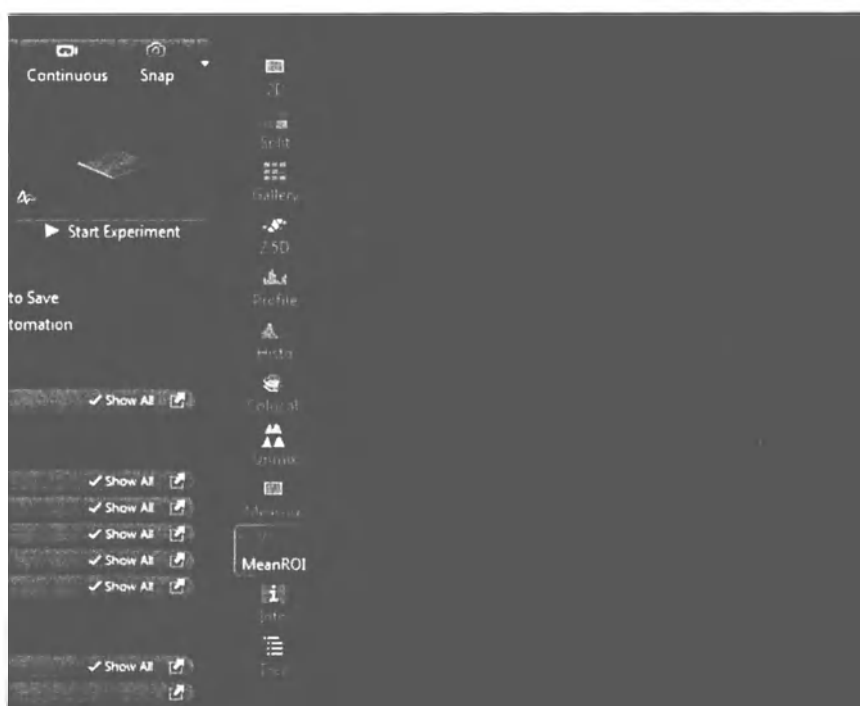
14.1.1 Введение

Используя автономные функции **MeanROI**, можно отмечать произвольные области измерений (области интереса) после получения эксперимента с покадровой съемкой и анализировать изменения интенсивности во времени. Кривые интенсивности можно отобразить на диаграммах или экспортировать значения в виде таблиц. Эта базовая функция доступна для изображений временной серии, открываемых в ZEN 2.3 (blue) (за исключением ZEN lite).

Модуль **Dynamics** расширяет автономные функции **MeanROI**, позволяя рассчитать коэффициенты диалогового/автономного режима (во время/после получения изображений), и предоставляет дополнительные функции анализа и виды отображения информации (шкала времени, отслеживание областей интересов и т. д.).

Необходимые предварительные условия ■ Получен эксперимент с временными сериями. Эксперимент открыт, и первая временная точка отображается в **двухмерной проекции (2D)**.

Порядок действий 1 Выберите из вкладок просмотра изображений в центральной области экрана вкладку **MeanROI**.



Откроется окно **MeanROI**.

Теперь можно начать работу в окне **MeanROI**. В следующих разделах будут описаны первые шаги.

14.1.2 Создание и настройка областей интереса

В этом разделе вы научитесь создавать и редактировать области измерений для расчетов интенсивности, а также настраивать данные области по отдельным временным точкам.

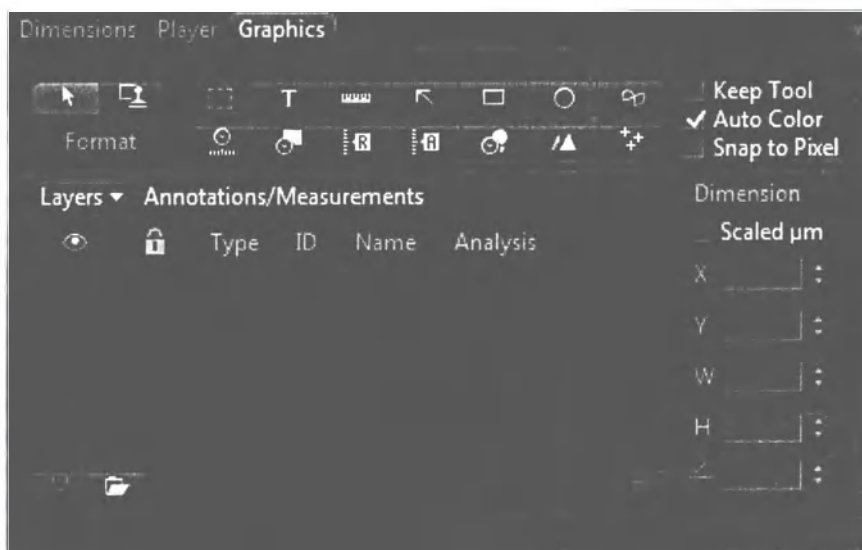
i Примечание

При сохранении эксперимента **области интереса** автоматически сохраняются вместе с ним. Они будут доступны для просмотра в окне **MeanROI** при следующем открытии файла. Для повторного выполнения расчетов интенсивности сохраненных областей интереса и отображения результатов нажмите кнопку **Recalculate** (Пересчитать) во вкладке **ROI Tools** (Инструменты области интереса).

14.1.2.1 Создание областей интереса

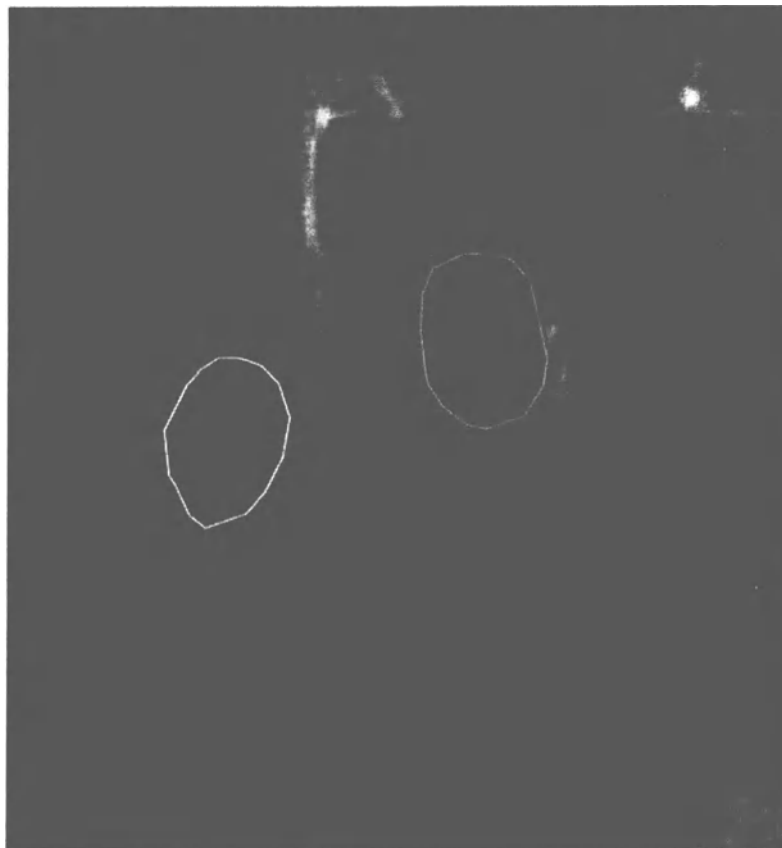
Необходимые предварительные условия ■ Открыто окно **MeanROI** или **MeanROI Setup** (Настройка областей интереса) во вкладке **Acquisition** (Получение изображений).

- Порядок действий**
- 1 Перейдите во вкладку **Graphics** (Графические элементы) в **опциях области просмотра**.
 - 2 Выберите инструмент для создания **областей интереса**, например инструмент **Polygon** (Многоугольник).

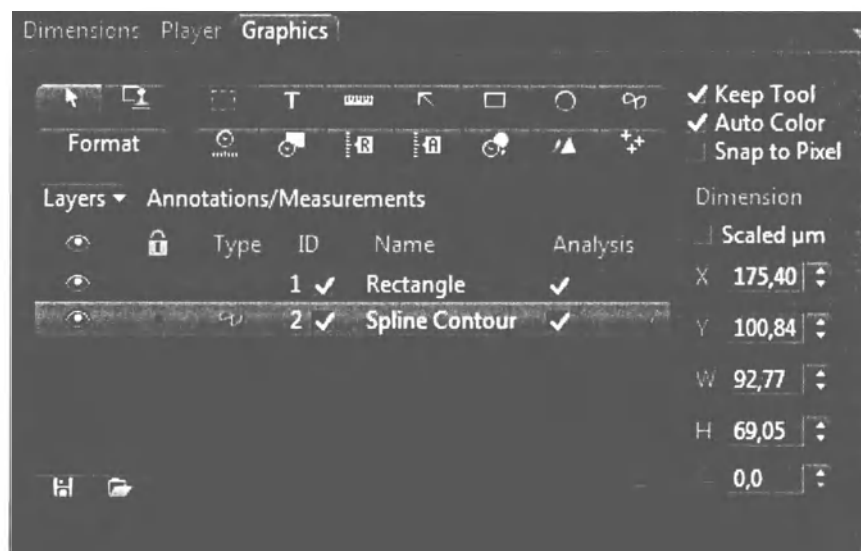


- 3 Установите флажок **Keep tool** (Удерживать инструмент).
Выбранный инструмент останется активным после создания **области интереса**. Это означает возможность создать несколько областей интереса без необходимости повторного выбора этого инструмента.

- 4 С помощью выбранного инструмента в окне обзора изображения создайте объекты или области (области интереса), интенсивность которых требуется измерить.



Области интереса отобразятся в списке (Annotations/Measurements (Аннотации/Измерения)) во вкладке **Graphics** (Графические элементы).



Интенсивность измеряется для каждой области интереса и отображается в области диаграмм справа от окна обзора изображений. Вы успешно определили области измерений для расчетов интенсивности.

14.1.2.2 Настройка областей интереса для временных точек

Если в ходе проведения эксперимента с временной серией объекты перемещаются латерально, **области интереса** в каждой **временной точке** можно скорректировать соответствующим образом.

Необходимые предварительные условия ■ Определена по меньшей мере одна область интереса.

■ Открыто окно **MeanROI**.

Порядок действий

- 1 Откройте вкладку **Dimensions** в опциях общего вида.
- 2 Для прокрутки временных точек воспользуйтесь ползунком **Time** (Время). Остановитесь на первой временной точке, в которой необходимо настроить область интереса.
- 3 Скорректируйте позицию области интереса, перетаскивая ее. Для этого выберите область интереса в области изображения, нажав левую кнопку мыши и не отпуская ее. Затем переместите область интереса в новую позицию и отпустите кнопку мыши.
- 4 Откройте вкладку **ROI Tracing** (Отслеживание областей интересов) и установите флажок **Enable ROI Tracing** (Активировать отслеживание области интереса). Для редактирования позиции одиночного ключевого фрейма (**Key frame**) переключитесь с режима **Key Frame Edit** (Редактировать ключевой фрейм) на одиночный режим. 
- 5 При необходимости форму области интереса можно изменить, нажав правой кнопкой мыши на область и выбрав элемент **Edit Points** (Редактировать точки) (например, для многоугольных контуров).
Обратите внимание, что при изменении площади области интереса, изменится средняя величина интенсивности. Возможно, понадобится перейти к измерению **интегральной интенсивности** во вкладке **MeanROI**.
- 6 Скорректируйте форму области интереса путем перетаскивания контурных точек.
Изменения в позиции и форме областей интереса переносятся на все последующие временные точки.
- 7 Повторите предыдущие шаги для всех остальных временных точек, для которых необходимо скорректировать область интереса.
Для выбранной области интереса можно просмотреть список временных точек, позиция/форма которых была изменена. Поскольку расстояние (во фреймах) между каждым ключевым фреймом может варьироваться, для сглаженного прохождения области интереса по временным точкам используется линейная интерполяция. В качестве альтернативы можно деактивировать линейную интерполяцию (константу) или применить сплайн-метод, который может описать движение отслеживаемого объекта.

Вы успешно привели области измерений в соответствие с экспериментом.

14.1.3 Настройка отображения

В этом разделе вы научитесь настраивать отображение фактических значений интенсивности в диаграммах и таблицах по своему желанию.

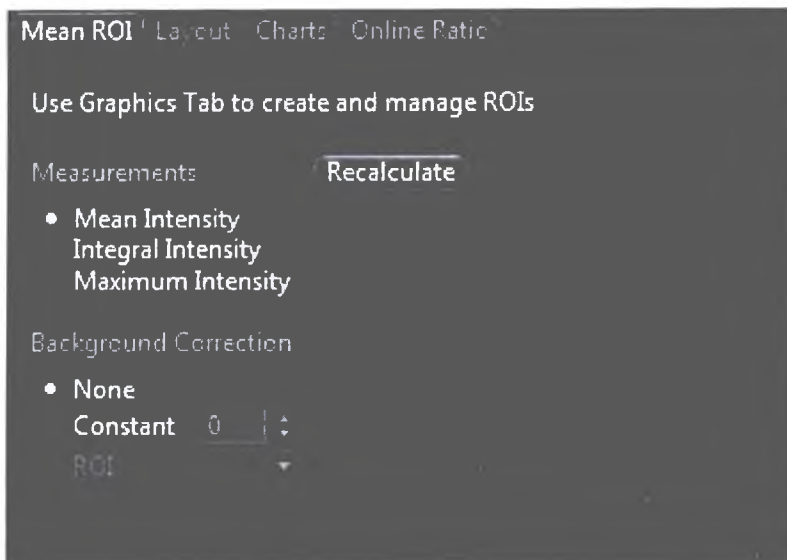
Необходимые предварительные условия ■ Открыто окно **MeanROI** или **MeanROI Setup**.

■ Определена по меньшей мере одна область интереса.

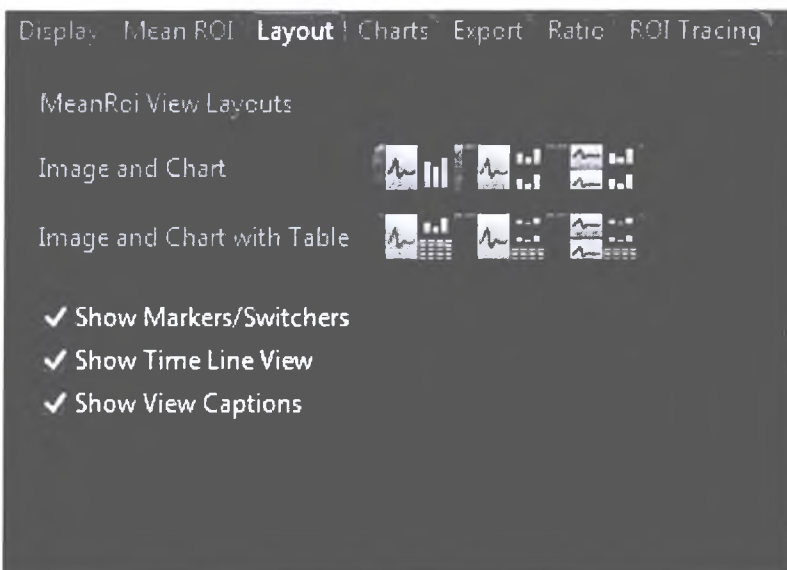
Порядок действий

- 1 Откройте вкладку **MeanROI** в опциях области просмотра.

- 2 В разделе **Measurements** (Измерения) выберите тип интенсивности (Mean (Средняя), Integral (Интегральная) или Maximum (Максимальная)), которую требуется отобразить в диаграммах.

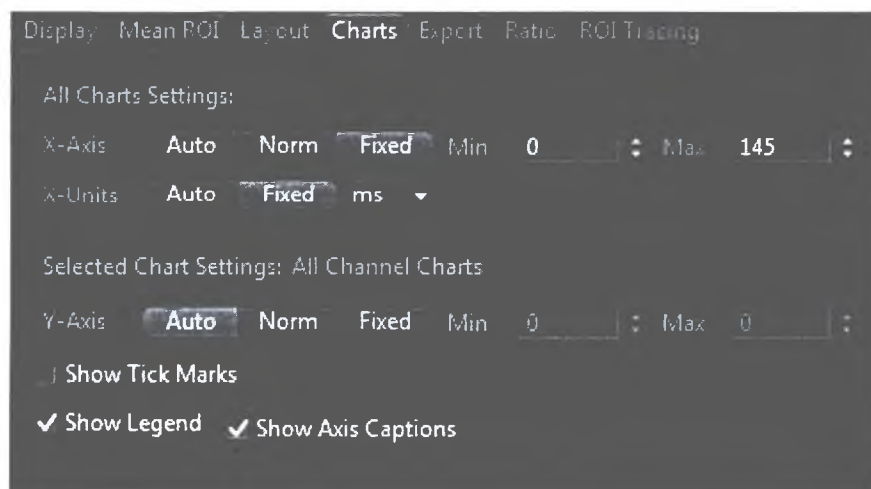


- 3 Выберите вкладку **Layout** (Разметка) в опциях области просмотра.



- 4 Для настройки вида изображения и диаграммы выберите желаемый режим визуального отображения напротив элемента **Image and Chart** (Изображение и график).
- 5 Если необходимо, чтобы данные отображались еще и в табличной форме, выберите желаемый режим визуального отображения напротив элемента **Image and Chart with Table** (Изображение и график с таблицей).
- 6 Для выполнения только **автономных анализов**: выберите подходящий вид отображения изображения, диаграммы и таблицы.

- 7 Если необходимо отрегулировать масштабирование по осям, перейдите во вкладку **Charts** (Графики) в опциях области просмотра.



- 8 Чтобы вручную определить минимальное и максимальное значения осей, нажмите на кнопку **Fixed** (Фиксированные) напротив элемента **X-/Y-Axis** (X-/Y-ось).
Активируются поля ввода **Min** (Мин) и **Max** (Макс) для осей.
- 9 Введите желаемые значения сначала в поле ввода **Max** (Макс), затем **Min** (Мин).
Минимальные и максимальные значения осей диаграммы отрегулированы.
- 10 Для изменения единиц оси X нажмите на кнопку **Fixed** (Фиксированные) напротив элемента **X Units** (Единицы оси X).
Появится выпадающее меню единиц измерения. Теперь можно выбрать необходимые единицы измерения.

Вы успешно настроили режим отображения значений интенсивности.

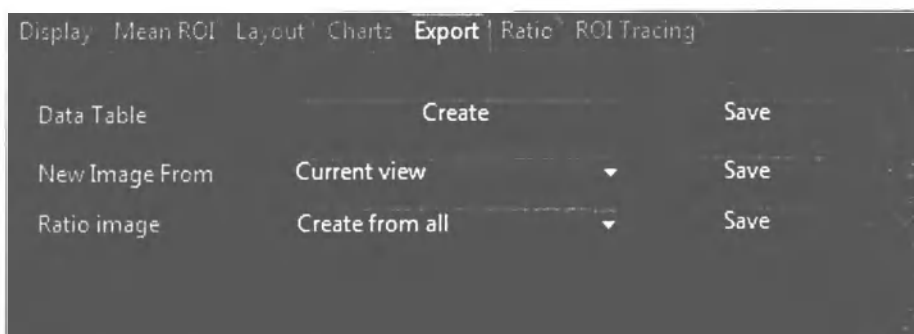
14.1.4 Экспорт таблицы данных

Необходимые предварительные условия ■ Открыто окно **MeanROI**.

- Определена по меньшей мере одна область интереса.

Порядок действий

- 1 Выберите вкладку **Export** (Экспорт) в опциях области просмотра.
- 2 В разделе **Data Table** (Таблицы данных) нажмите кнопку **Save** (Сохранить).



Откроется диалоговое окно **Save As** (Сохранить как).

- 3 Введите соответствующее имя файла, укажите папку для сохранения и нажмите кнопку **Save** (Сохранить).

Все данные измерений сохраняются в виде значений, разделенных запятыми, в csv-файле. Этот файл содержит данные о времени, площадь областей интереса и результаты измерения интенсивности трех типов (средней, интегральной, максимальной) для каждого канала и каждой области интереса.

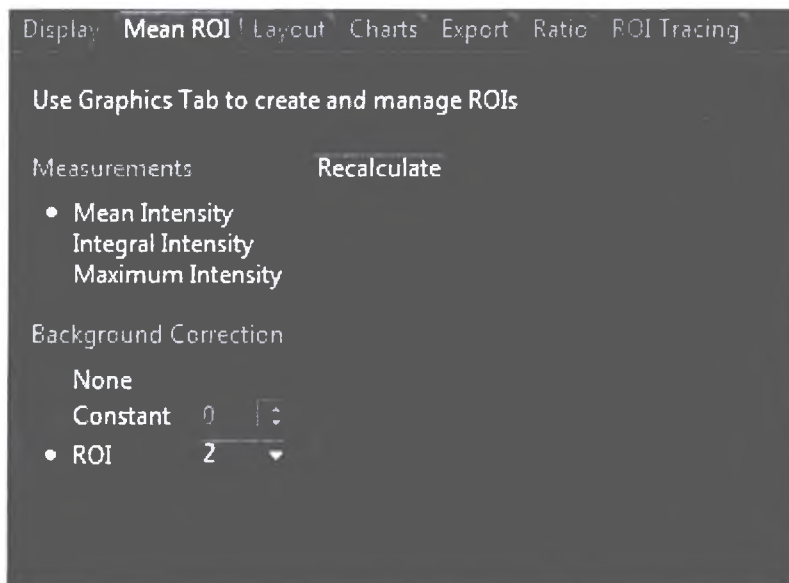
14.1.5 Использование коррекции фона

Используйте функцию Background Correction (Коррекция фона) для вычитания значений фона из результатов измерения. Коррекция фона позволит лучше сравнить магнитуду изменений интенсивности флуоресценции во время проведения эксперимента. Значения фона определяйте либо с помощью функции Background ROI (Фоновая область интереса), либо фиксированным значением.

Определение фоновой области интереса

Необходимые предварительные условия ■ Открыто окно **MeanROI** или **MeanROI Setup**.

- Порядок действий
- 1 В первой временной точке временной серии переместите **область интереса** в область изображения, содержащую только фоновый сигнал во всех каналах.
 - 2 Перейдите во вкладку **MeanROI | Background Correction** (MeanROI | Коррекция фона) и активируйте кнопку-переключатель ROI (Область интереса).
 - 3 Выберите номер области интереса, определенной в шаге 1.



- 4 Для редактирования **фоновой области интереса** (Background ROI) просто создайте новую область интереса и выберите ее из выпадающего списка.

Вы успешно определили **фоновую область интереса** (Background ROI). Средняя интенсивность фоновой области интереса вычитается из результатов измерения **областей интереса** в зависимости от канала и временной точки. Скорректированные значения копируются во все диаграммы и таблицы.

Определение фиксированного значения фона

Необходимые предварительные условия ■ Открыто окно **MeanROI** или **MeanROI Setup**.

- Порядок действий**
- 1 Во вкладке **MeanROI** в разделе **Background Correction** (Коррекция фона) выберите опцию **Constant** (Константа).
Активируется соответствующее поле ввода.
 - 2 Введите фиксированное значение фона в поле ввода **Constant** (Константа).
 - 3 Нажмите кнопку **Enter** (Ввод) для обновления измерений.
Установленное значение фона вычитается из всех измеренных значений областей интереса.

14.1.6 Расчет коэффициентов

14.1.6.1 Расчет коэффициента для одной длины волны

Необходимые предварительные условия ■ Для расчета коэффициентов (соотношение двух значений интенсивности флуоресценции) и вывода на экран изображений коэффициента потребуется модуль **Dynamics**.

- Открыт соответствующий массив данных.
- Открыто окно **MeanROI** во вкладке **Ratio** (Коэффициент) (опция просмотра).

- Порядок действий**
- 1 В выпадающем списке **Method** (Метод) выберите **Single Wavelength (F/F₀)** (Одинарная длина волны (F/F₀)).
 - 2 В выпадающем списке **Calculation** (Вычисления) выберите канал для расчета соотношения.
 - 3 В разделе **Reference image (F_{t0}) Set-up** (Настройки эталонного изображения (F_{t0})) определите фреймы изображения временной серии, на основе которых необходимо рассчитать эталонное значение F_{t0}.
 - 4 Нажмите кнопку **Recalculate** (Пересчитать).
Будет выполнен расчет значений коэффициентов. Изображение коэффициента и диаграмма коэффициентных значений отображаются в окне MeanROI.

Вы успешно рассчитали коэффициент для красителя с одинарной длиной волны типа Fluo-4.

14.1.6.2 Расчет коэффициента для двух длин волны

Необходимые предварительные условия ■ Для расчета коэффициентов (соотношение двух значений интенсивности флуоресценции) и вывода на экран изображений коэффициентов потребуется модуль **Physiology**.

- Открыт соответствующий массив данных.
- Открыто окно **MeanROI** во вкладке **Ratio** (Коэффициент) (опция просмотра).

- Порядок действий**
- 1 В выпадающем списке **Method** (Метод) выберите элемент **Dual Wavelength** (Двойная длина волны).
 - 2 В выпадающих списках **Calculation** (Вычисления) выберите каналы для расчета соотношения.
 - 3 Нажмите кнопку **Recalculate** (Пересчитать).
Будет выполнен расчет значений коэффициентов. Изображение коэффициента и диаграмма коэффициента отображаются в окне MeanROI.

Вы успешно рассчитали коэффициент для красителя с двойной длиной волны типа Fura-2.

14.2 Порядок проведения экспериментов в модуле Dynamics

14.2.1 Введение

Используя настройки **MeanROI** инструмента **Dynamics**, можно отмечать произвольные области измерений (области интереса) до получения эксперимента с покадровой съемкой и анализировать изменения интенсивности во времени в диалоговом режиме во время эксперимента. Коэффициенты также можно рассчитывать и отображать в режиме онлайн — это обычные функции, используемые в физиологических экспериментах.

Перед проведением эксперимента

Предварительным условием для проведения физиологического эксперимента является наличие **эксперимента с временной серией**, который проводится в инструменте **Time Series**. Инструмент снабжен кнопкой для открытия окна **MeanROI Setup** (Настройка областей интереса). В нем можно создавать области мозаик и настраивать вид отображения результатов измерений. Открытие окна настроек автоматически приводит к созданию моментального снимка, на основе которого можно настроить проведение последующих экспериментов. Структура **MeanROI Setup** (Настройка областей интереса) основана на структуре окна **MeanROI** (Область интереса), что упрощает ее освоение.

В ходе выполнения эксперимента

После начала проведения физиологические эксперименты отображаются в режиме реального времени в окне **MeanROI** (Область интереса). Это позволяет анализировать и отслеживать эксперимент во время получения изображения. Структура и опции в основном соответствуют окну **MeanROI** (Область интереса) в автономном режиме. Поэтому рекомендуем ознакомиться со структурой окна **MeanROI** (Область интереса) (в автономном режиме) перед проведением физиологического эксперимента.

После выполнения эксперимента

После выполнения эксперимента в модуле **Physiology**, результаты эксперимента отобразятся в окне **MeanROI** (Область интереса) в режиме офлайн и будут доступны для анализа, обработки и экспорта. Более подробно см. раздел «Работа в окне **MeanROI** (в автономном режиме)».

Необходимые предварительные условия ■ Для проведения физиологических экспериментов потребуется модуль **Dynamics**.

- Создан новый эксперимент [► 39], определен по крайней мере один канал [► 38] и отрегулированы фокус и время экспозиции.
- Открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений).

Порядок действий

- 1 Активируйте инструмент **Time Series** (Временная серия) в разделе **Acquisition Dimensions** (Измерения полученных изображений).
В левой области инструментов под элементом **Multidimensional Acquisition** (Получение многомерных изображений) появится инструмент **Time Series** (Временная серия).
- 2 Активируйте инструмент **Dynamics** в менеджере экспериментов.
Инструмент **Dynamics** отобразится в **левой области инструментов** под элементом **Applications** (Приложения).

i Примечание

Инструмент **Dynamics** недоступен, если активированы измерения **серии срезов по оси Z, изображений из мозаик или панорамных изображений**. Для доступа к инструменту **Physiology** отключите эти измерения.

3 Настройте эксперимент с временной серией [► 47].

4 Откройте инструмент **Dynamics**.

5 Нажмите кнопку **MeanROI Setup** (Настройки области интереса).

Вы выполнили общие предварительные условия для проведения эксперимента в модуле Dynamics.

14.2.2 Настройка расчета онлайн-коэффициента

Необходимые предварительные условия ■ Вы ознакомились с разделом «Введение» [► 353].

- Порядок действий
- 1 В окне **MeanROI Setup** (Настройки области интереса), в опциях области просмотра, выберите вкладку **Online Ratio** (Онлайновый коэффициент).
 - 2 Установите флажок **Activate Live Ratio Generation** (Активировать потоковое генерирование коэффициента).
 - 3 В выпадающем списке **Method** (Метод) выберите метод расчета коэффициента.

i Примечание

Если для расчета онлайн-коэффициента выбрать метод **Single wavelength (F/F₀)** (Одинарная длина волны (F/F₀)), необходимо определить эталонное изображение. Для определения эталонного изображения в поле ввода **Reference Image Set-up** (Настройка эталонного изображения) вкладки **Online Ratio** (Онлайновый коэффициент) укажите количество изображений, из которых следует усреднить эталонное изображение. Затем для получения изображений нажмите кнопку **Define** (Определить) и вычислите из них эталонное изображение.

- 4 Если для вычисления онлайн-коэффициента необходимо использовать коррекцию фона, активируйте соответствующую опцию напротив элемента **Background Correction** (Коррекция фона).

В формуле для вычисления коэффициента напротив элемента **Calculate** (Рассчитать) появится поле ввода, в котором необходимо указать постоянное значение фона (элемент **Constant**).

Элемент **ROI** (Область интереса) доступен для выбора только после определения области интереса на изображении.

- 5 Напротив элемента **Calculate** (Рассчитать) заполните формулу для вычисления онлайн-коэффициента, выбрав необходимые элементы из выпадающих списков и указав значения в полях ввода.
- 6 Напротив элемента **Color** (Цвет) можно изменить LUT (Look-Up-Table) (Справочная таблица) для отображения изображения коэффициента.
- 7 Установите флажок **Threshold** (Порог), если необходимо установить пороговое значение в проводимом эксперименте.

i Примечание

В ПО ZEN коэффициент R отдельного пикселя $xу$ в случае использования красителя с двойной длиной волны вычисляется по следующей формуле:

$$R_{xy} = \frac{Ch1_{xy}}{Ch2_{xy}}$$

где:

$Ch1_{xy} = 0$, если $(Ch1_{xy} - \text{фон } Ch1) < \text{порог } Ch1$

$Ch1_{xy} = Ch1_{xy} - \text{фон } Ch1$, если $(Ch1_{xy} - \text{фон } Ch1) > \text{порог } Ch1$

То же самое верно для $Ch2_{xy}$ с использованием соответствующих значений фона и порога.

- 8 При необходимости можно отрегулировать настройки для вычисления коэффициента, изображение предпросмотра в окне MeanROI Setup (Настройка области интереса) будет скорректировано соответствующим образом. Нажмите кнопку **Snap** (Моментальный снимок), если требуется обновить изображения.

Вы успешно активировали/скорректировали вычисление онлайн-коэффициента.

14.2.3 Проведение эксперимента в окне MeanROI Setup

Необходимые предварительные условия ■ Вы ознакомились с разделом «Введение» [► 353].

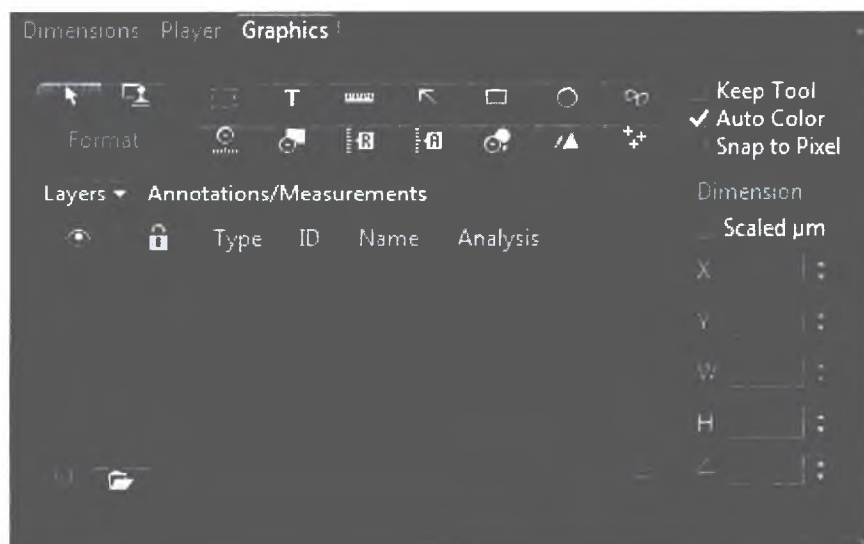
- Порядок действий
- 1 Установите флажок Dynamics в менеджере экспериментов.
 - 2 В инструменте **Dynamics** нажмите кнопку **MeanROI Setup** (Настройка области интереса).
Откроется окно MeanROI Setup (Настройка области интереса).
Автоматически будет получено изображение, на основе которого можно редактировать настройки. Для обновления изображения вы в любое время можете нажать на кнопку **Snap**.

14.2.3.1 Создание областей интереса

Необходимые предварительные условия ■ Открыто окно **MeanROI** или **MeanROI Setup** (Настройка областей интереса) во вкладке **Acquisition** (Получение изображений).

- Порядок действий
- 1 Перейдите во вкладку **Graphics** (Графические элементы) в опциях области просмотра.

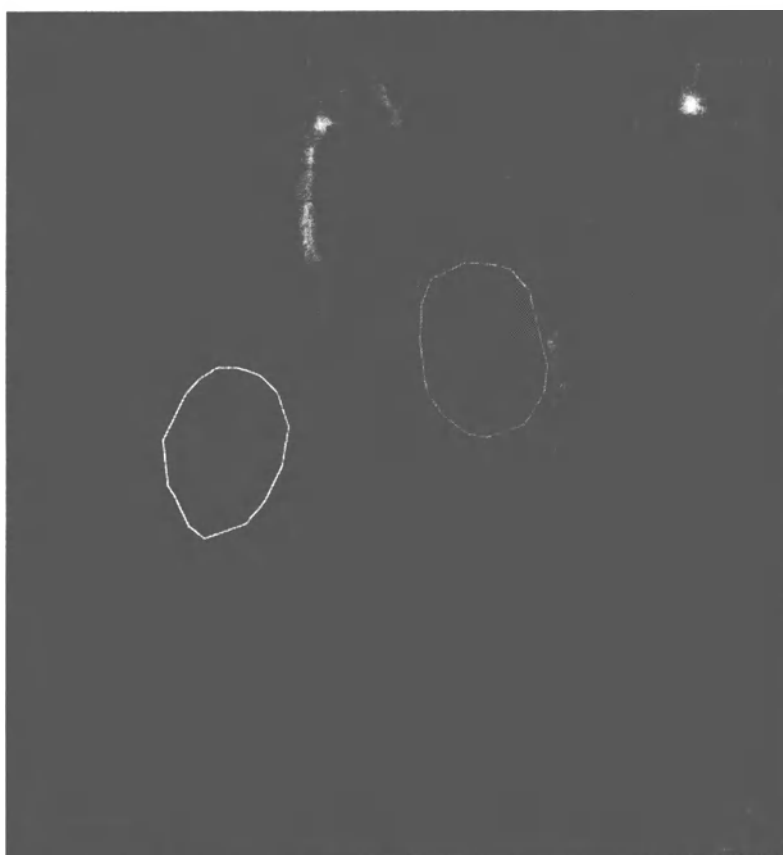
- 2 Выберите инструмент для создания областей интереса, например инструмент **Polygon** (Многоугольник).



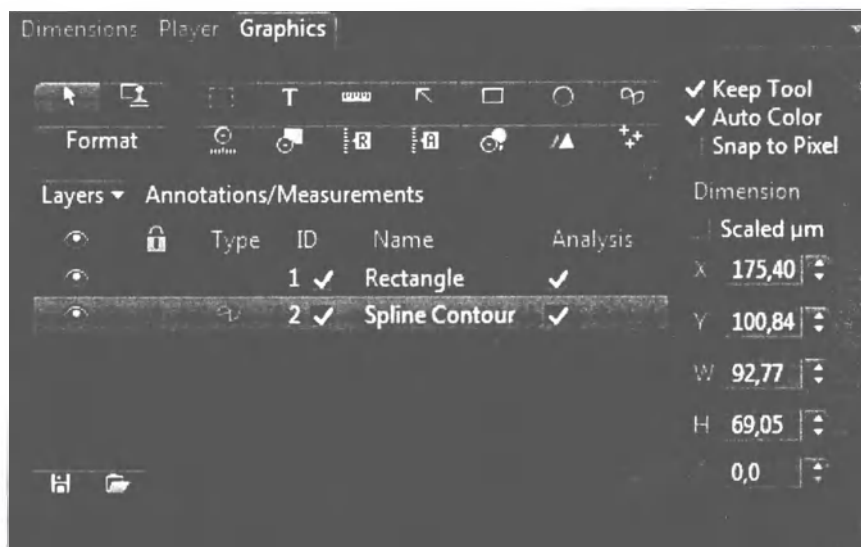
- 3 Установите флажок **Keep tool** (Удерживать инструмент).

Выбранный инструмент останется активным после создания **области интереса**. Это означает возможность создать несколько областей интереса без необходимости повторного выбора этого инструмента.

- 4 С помощью выбранного инструмента в окне обзора изображения создайте объекты или области (области интереса), интенсивность которых требуется измерить.



Области интереса отобразятся в списке (Annotations/ Measurements (Аннотации/Измерения)) во вкладке **Graphics** (Графические элементы).



Интенсивность измеряется для каждой области интереса и отображается в области диаграмм справа от окна обзора изображений.

Вы успешно определили области измерений для расчетов интенсивности.

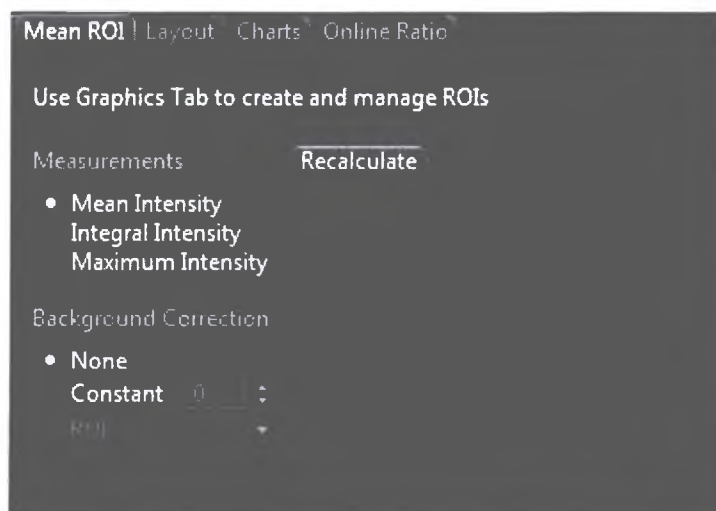
14.2.3.2 Настройка отображения

В этом разделе вы научитесь настраивать отображение фактических значений интенсивности в диаграммах и таблицах по своему желанию.

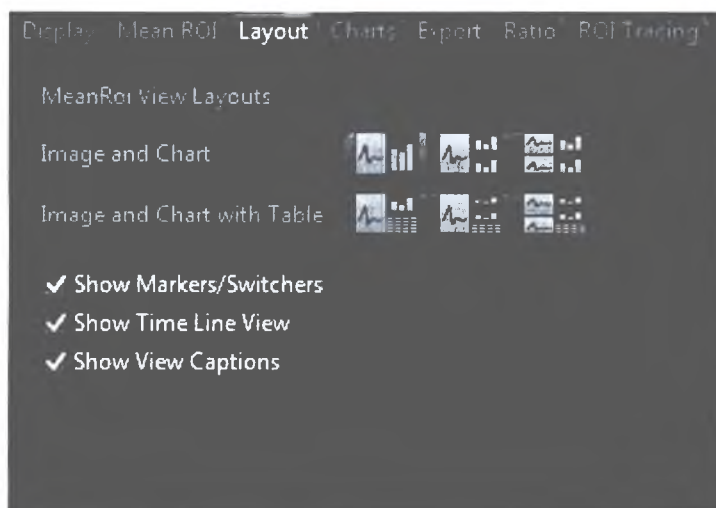
Необходимые предварительные условия ■ Открыто окно **MeanROI** или **MeanROI Setup**.

■ Определена по меньшей мере одна область интереса.

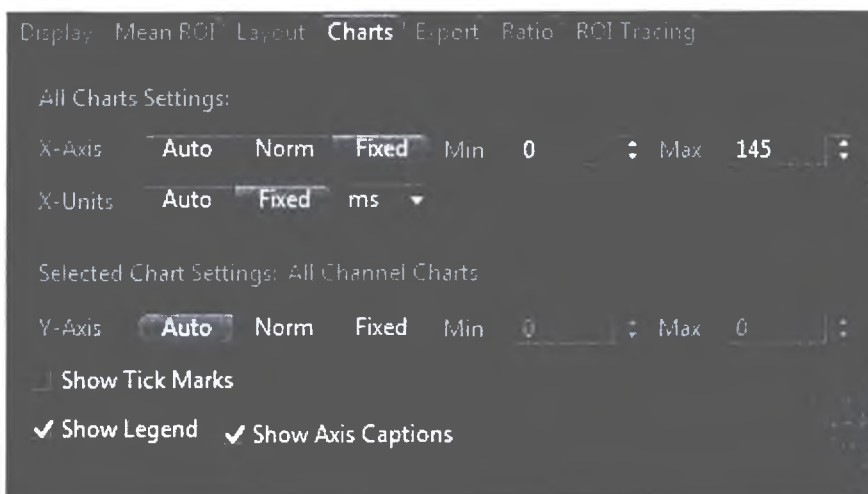
- Порядок действий
- 1 Откройте вкладку **MeanROI** в опциях области просмотра.
 - 2 В разделе **Measurements** (Измерения) выберите тип интенсивности (Mean (Средняя), Integral (Интегральная) или Maximum (Максимальная)), которую требуется отобразить в диаграммах.



- 3 Выберите вкладку **Layout** (Разметка) в опциях области просмотра.



- 4 Для настройки вида изображения и диаграммы выберите желаемый режим визуального отображения напротив элемента **Image and Chart** (Изображение и график).
- 5 Если необходимо, чтобы данные отображались еще и в табличной форме, выберите желаемый режим визуального отображения напротив элемента **Image and Chart with Table** (Изображение и график с таблицей).
- 6 Для выполнения только **автономных анализов**: выберите подходящий вид отображения изображения, диаграммы и таблицы.
- 7 Если необходимо отрегулировать масштабирование по осям, перейдите во вкладку **Charts** (Графики) в опциях области просмотра.



- 8 Чтобы вручную определить минимальное и максимальное значения осей, нажмите на кнопку **Fixed** (Фиксированные) напротив элемента **X-/Y-Axis** (X-/Y-ось).
- Активируются поля ввода **Min** (Мин) и **Max** (Макс) для осей.
- 9 Введите желаемые значения сначала в поле ввода **Max** (Макс), затем — **Min** (Мин).
- Минимальные и максимальные значения осей диаграммы отрегулированы.
- 10 Для изменения единиц оси X нажмите на кнопку **Fixed** (Фиксированные) напротив элемента **X Units** (Единицы оси X).

Появится выпадающее меню единиц измерения. Теперь можно выбрать необходимые единицы измерения.

Вы успешно настроили режим отображения значений интенсивности.

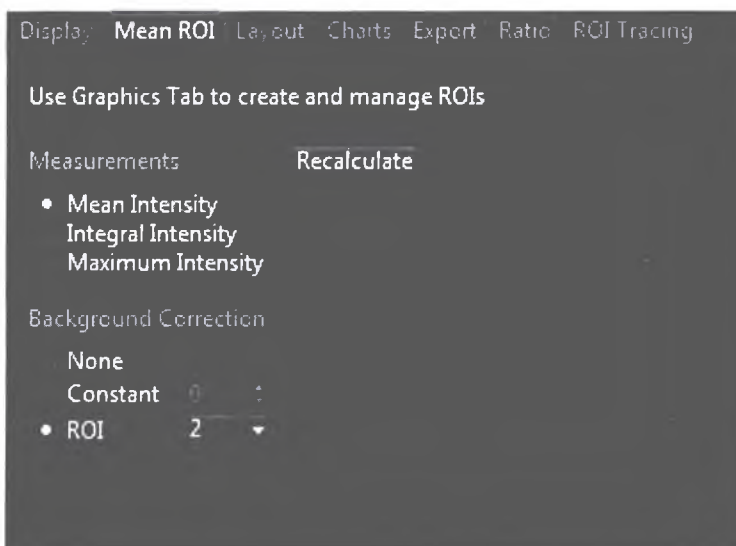
14.2.3.3 Использование коррекции фона

Используйте функцию Background Correction (Коррекция фона) для вычитания значений фона из результатов измерения. Коррекция фона позволит лучше сравнить магнитуду изменений интенсивности флуоресценции во время проведения эксперимента. Значения фона определяйте либо с помощью функции Background ROI (Фоновая область интереса), либо фиксированным значением.

Определение фоновой области интереса

Необходимые предварительные условия ■ Открыто окно **MeanROI** или **MeanROI Setup**.

- Порядок действий
- 1 В первой временной точке временной серии переместите **область интереса** в область изображения, содержащую только фоновый сигнал во всех каналах.
 - 2 Перейдите во вкладку **MeanROI | Background Correction** (MeanROI | Коррекция фона) и активируйте кнопку-переключатель **ROI** (Область интереса).
 - 3 Выберите номер области интереса, определенной в шаге 1.



- 4 Для редактирования **фоновой области интереса** (Background ROI) просто создайте новую область интереса и выберите ее из выпадающего списка.

Вы успешно определили **фоновую область интереса** (Background ROI). Средняя интенсивность фоновой области интереса вычитается из результатов измерения **областей интереса** в зависимости от канала и временной точки. Скорректированные значения копируются во все диаграммы и таблицы.

Определение фиксированного значения фона

Необходимые предварительные условия ■ Открыто окно **MeanROI** или **MeanROI Setup**.

- Порядок действий**
- 1 Во вкладке **MeanROI** в разделе **Background Correction** (Коррекция фона) выберите опцию **Constant** (Константа).
Активируется соответствующее поле ввода.
 - 2 Введите фиксированное значение фона в поле ввода **Constant** (Константа).
 - 3 Нажмите кнопку *Enter* (Ввод) для обновления измерений.
- Установленное значение фона вычитается из всех измеренных значений областей интереса.

14.2.4 Запуск и изменение эксперимента

Необходимые предварительные условия ■ Вы ознакомились с разделом «Введение» [► 353] и настроили эксперимент в окне **MeanROI Setup** (Настройка области мозаики).

■ Открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений).

- Порядок действий**
- 1 Запустите физиологический эксперимент, нажав кнопку **Start Experiment** (Начать эксперимент).
Начнется эксперимент с временными сериями. Откроется окно **MeanROI** (в режиме онлайн), в котором отобразятся текущие изображения и кривые интенсивности каждой области интереса, измеренные в режиме онлайн. Кривые интенсивности отображаются на панели шкалы времени и на диаграммах.

i Примечание

В зависимости от производительности вашей системы может происходить короткая задержка в 2–3 секунды между появлением окна **MeanROI** и получением изображений. Это никак не влияет на процесс получения изображений. Таким образом, подобную задержку в отображении следует принимать за характерную точку отсчета экспериментов данного типа.

- 2 Эксперимент можно приостановить в любое время, нажав кнопку **Pause Experiment** (Приостановить эксперимент), и возобновить, нажав кнопку **Continue Experiment** (Возобновить эксперимент).
- 3 **Фокусировку** можно выполнить во время проведения эксперимента. Для предотвращения получения нечетких изображений приостановите эксперимент и с помощью кнопки получения живого изображения **Live** выполните фокусировку. Затем продолжите проведение эксперимента. Обратите внимание, что наблюдение в режиме реального времени (**Live**) работает только с экспериментами, проводимыми в интерактивном режиме.
- 4 Настройте отображение значений интенсивности во время эксперимента, меняя настройки в **Layout** (Разметка) или **Charts** (Графики). Изменить единицы оси X в ходе проведения эксперимента нельзя.
- 5 Во время получения изображений можно перемещать и изменять области интереса. Изменения вносятся во все временные точки, см. раздел «Создание и настройка областей интереса» [► 346]. Обратите внимание, что функция отслеживания областей интереса доступна только после получения изображения.
- 6 Для выполнения соответствующих действий во время проведения эксперимента активируйте функцию **Switches** (Переключатели) в инструменте **Time Series** (Временная серия).

i Примечание

Различные события, такие как активация переключателей или приостановка эксперимента, помечаются на панели шкалы времени маркерами.

- 7 Чтобы проанализировать полученные к настоящему моменту данные, во вкладке **Dimensions** (Измерения) уберите флажок **Follow Acquisition** (Отслеживать получение изображений). Выберите соответствующие временные точки с помощью ползунка времени (**Time**), графических ползунков или ползунка панели шкалы времени (**Time Line**) в окне **MeanROI**.
- 8 Чтобы настроить раздел, отображаемый в диаграммах, измените размер области, отмеченной на панели шкалы времени (**Time Line**) синим цветом.

Вы успешно запустили и проанализировали эксперимент в режиме реального времени, а также изменили его.

14.2.4.1 **Корректировка областей интереса во время эксперимента**

Если в ходе проведения эксперимента объекты перемещаются латерально, в любой момент эксперимента **области интереса** можно скорректировать соответствующим образом.

Необходимые предварительные условия ■ Определена по меньшей мере одна область интереса.

- Начат физиологический эксперимент.

- Порядок действий**
- 1 В **менеджере экспериментов** (Experiment Manager) нажмите кнопку **Pause experiment** (Приостановить эксперимент).
 - 2 Скорректируйте позицию **области интереса**, перетаскив ее. Для этого выберите область интереса в **области изображения**, нажав левую кнопку мыши и не отпуская ее. Затем переместите область интереса в новую позицию и отпустите кнопку мыши.
 - 3 Для изменения формы **области интереса** нажмите на них левой кнопкой мыши и сместите границы в нужном направлении.

Изменения в позиции и форме **областей интереса** переносятся на все временные точки.
 - 4 Повторите предыдущие шаги для всех остальных областей интереса, требующих корректировки. Обратите внимание, что можно выбрать несколько областей интереса и скорректировать все позиции одновременно.

14.2.5 **Эксперимент Fura-2 с DG4/5****14.2.5.1** **Шаг 1. Создание каналов**

Необходимые предварительные условия ■ Для проведения эксперимента потребуется модуль **Dynamics**.

- Имеется **Sutter DG4/5** с соответствующими возбуждающими светофильтрами для **Fura-2** и набор фильтров **Fura-2** в рефлекторной турели микроскопа.
- Открыта вкладка **Acquisition** (Получение изображений).

- Порядок действий**
- 1 Создайте новый эксперимент в менеджере экспериментов (**Experiment Manager**), например **Physiology Fura-2**.

- 2 В диалоговом окне **Smart Setup** (Быстрая настройка) добавьте канал Fura-2.
 - 3 Установите флажок **Time Series** (Временная серия) в разделе **Acquisition Dimensions** (Измерения полученных изображений).
 - 4 Откройте инструмент **Channels** (Каналы).
 - 5 Выберите в списке канал Fura-2.
 - 6 Нажмите кнопку  **Options** (Опции) и выберите элемент **Duplicate** (Дублировать).
 - 7 Выберите в списке первый канал Fura-2.
 - 8 Нажмите кнопку  **Options** (Опции) и выберите элемент **Rename** (Переименовать).
Теперь можно переименовать канал, например в “Fura-2 340 nm”.
 - 9 Повторите Шаги 7 и 8 для переименования второго канала, например в “Fura-2 380 nm”.
 - 10 Выберите канал **Fura-2 380 nm**.
 - 11 Выберите в выпадающем списке другую справочную таблицу (LUT), например, для красного.
 - 12 Выберите элемент **21 HE Ex. FURA 380** в выпадающем списке возбуждающих светофильтров.
Возбуждающий светофильтр будет применен к данному каналу.
 - 13 Отрегулируйте время экспозиции и фокусировку для обоих каналов.
- Вы создали каналы для эксперимента.

14.2.5.2

Порядок действий

Шаг 2. Настройка временной серии и создание переключателей

- 1 Откройте инструмент **Time Series** (Временная серия).
- 2 С помощью ползунка **Duration** (Продолжительность) и выпадающего списка единиц измерения укажите продолжительность эксперимента, например 10 мин.
- 3 С помощью ползунка **Interval** (Интервал) и выпадающего списка единиц измерения укажите величину интервала получения изображений, например 1 секунда.
- 4 Для создания интерактивных переключателей откройте раздел **Interactive Switches** (Интерактивные переключатели) инструмента **Time Series** (Временная серия). Этот раздел отображается только в режиме **Show All** (Показать все).
- 5 Нажмите кнопку  **Add** (Добавить).
Будет добавлен новый переключатель.
- 6 Отредактируйте переключатель, нажав на черную стрелку справа от переключателя.
Отобразятся свойства переключателя.
- 7 Введите имя, например **Fast** (Быстро). Установите флажок **Color** (Цвет) и выберите цвет, например синий. Укажите действие, которое необходимо выполнить при активации кнопки, например **As fast as possible** (Максимально быстро).

Вы успешно настроили временную серию и создали переключатель.

14.2.5.3 Шаг 3. Настройка онлайнного коэффициента

- Порядок действий**
- 1 Откройте инструмент **MeanROI Setup** (Настройка области интереса).
Снимки настроенных каналов будут автоматически получены и отображены в центральной области экрана. Справа будут представлены диаграммы для каждого изображения.
 - 2 Из опций области просмотра выберите вкладку **Ratio** (Коэффициент) и активируйте потоковое генерирование коэффициента.
 - 3 В разделе **Method** (Метод) в выпадающем списке выберите элемент **Dual Wavelength** (Двойная длина волны).
 - 4 В разделе **Calculation** (Вычисления) в выпадающем списке числителя формулы выберите **Fura-2 340 nm**.
 - 5 В разделе **Calculation** (Вычисления) в выпадающем списке знаменателя формулы выберите **Fura-2 380 nm**.
На экране отобразится коэффициент, рассчитанный в соответствии с настройками коэффициента.
- Вы успешно активировали функции расчета коэффициента и указали метод расчета коэффициента.

14.2.5.4 Шаг 4. Настройка области интереса

- Порядок действий**
- 1 В инструменте **Dynamics** нажмите кнопку **MeanROI Setup** (Настройка области интереса).
 - 2 Во вкладке **Graphics** (Графические элементы) выберите инструмент для создания области интереса, например **Circle** (Круг).
 - 3 Установите флажок **Keep tool** (Удерживать инструмент).
 - 4 Создайте область интереса в одном из изображений.
 - 5 Снимите флажок **Keep tool** (Удерживать инструмент) и повторно выберите инструмент выделения (стрелка).
 - 6 В разделе **Measure** (Измерение) вкладки **Mean ROI** (Область интереса) выберите тип измерения интенсивности, который необходимо вывести на экран, например **Mean Intensity** (Средняя интенсивность).
 - 7 Во вкладке **Layouts** (Разметки) выберите вид отображения изображения и диаграммы, например **Multi-Image Multi-Chart** (Множественные изображения, множественные графики).
 - 8 Откройте вкладку **Charts** (Графики), напротив элемента **X Units** (Единицы оси X) нажмите кнопку **Fixed** (Фиксированные) и выберите в выпадающем списке единицы измерения, например секунды.
 - 9 В верхней левой области окна **MeanROI Setup** (Настройки области экрана) нажмите кнопку **Exit** (Выход).
- Вы успешно настроили и отрегулировали окно **MeanROI Setup** (Настройка области интереса).

14.2.5.5 Шаг 5. Запуск, анализ и изменение эксперимента

- Порядок действий**
- 1 Запустите эксперимент, нажав кнопку **Start Experiment** (Начать эксперимент).
Начнется эксперимент. В нашем примере изображение будет поступать каждую секунду в течение 10 минут. Эксперимент откроется в режиме реального времени в окне **MeanROI** (Область интереса), в котором отображаются текущие изображения и измерения.

- 2 Активируйте созданный переключатель в нужной временной точке. Для этого откройте раздел **Switches** (Переключатели) инструмента **Time Series** (Временная серия). Нажмите на переключатель, как только возникнет необходимость в выполнении заданного для него действия, например, для максимально быстрого последовательно получения следующих изображений нажмите на переключатель **Fast**. Маркером на оси X соответствующим переключателю цветом (например, синим) будет отмечена временная точка, в которой он был активирован.
- 3 По завершении временной серии эксперимент можно проанализировать в автономном режиме в окне **MeanROI** (Область интереса), обработать его и экспортировать его значения.

Вы успешно провели эксперимент.

15 Модуль Shuttle & Find

15.1 Введение



Рисунок 15.1. Система SEM/LM для корреляционной микроскопии

В ПО ZEN 2.3 (blue) модуль **Shuttle & Find** используется для перемещения позиций образца в двух разных микроскопах, например в оптическом микроскопе (LM, от англ. light microscope) и растровом электронном микроскопе (SEM, от англ. scanning electron microscope), и сопоставления (корреляции) двух изображений с одним объединенным. Этот метод называется корреляционной микроскопией или просто CorrMic. Он используется для соединения двух методов: растровой электронной микроскопии и оптической микроскопии, и объединяет их в одно изображение.

Образцы можно устанавливать в специальных сопоставительных держателях (с тремя корреляционными калибровочными маркерами) производства компании ZEISS. Также возможно использование пользовательских держателей с тремя калибровочными маркерами. Биологические образцы в основном размещаются на покровных стеклах или сетках просвечивающих электронных микроскопов (ПЭМ). В отличие от биологических образцов, форма и размер образцов материала значительно варьируется. Сопоставительные держатели проектировались в соответствии с этими требованиями.

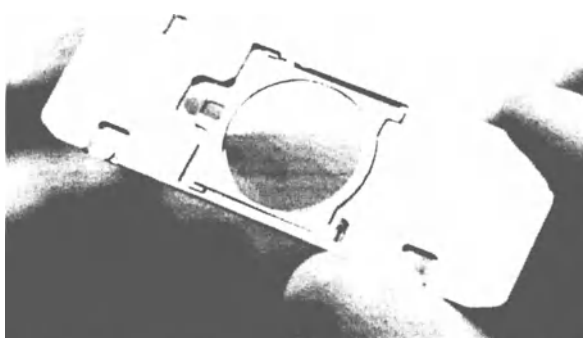


Рисунок 15.2. Пример корреляционного держателя образца компании ZEISS

15.2 Порядок работы с модулем Shuttle & Find

15.2.1 Настройки и получение изображений с помощью оптического микроскопа

Перед получением изображения с помощью оптического микроскопа и его использованием для корреляционной микроскопии необходимо выполнить общие настройки, например: калибровку столика, ориентацию камеры, калибровку объективов и правильную настройку масштабирования. Обратите внимание, что в данном руководстве все эти операции не описываются, поскольку раздел посвящен только работе с модулем Shuttle & Find.

Более того, в этом руководстве не описывается базовая функциональность ПО ZEN 2.3 (blue), как, например, структура программы или общие вопросы получения изображения. Чтобы подробнее ознакомиться с этими вопросами, обратитесь к интерактивной справке ZEN.

15.2.1.1 Установка держателя образца в LM

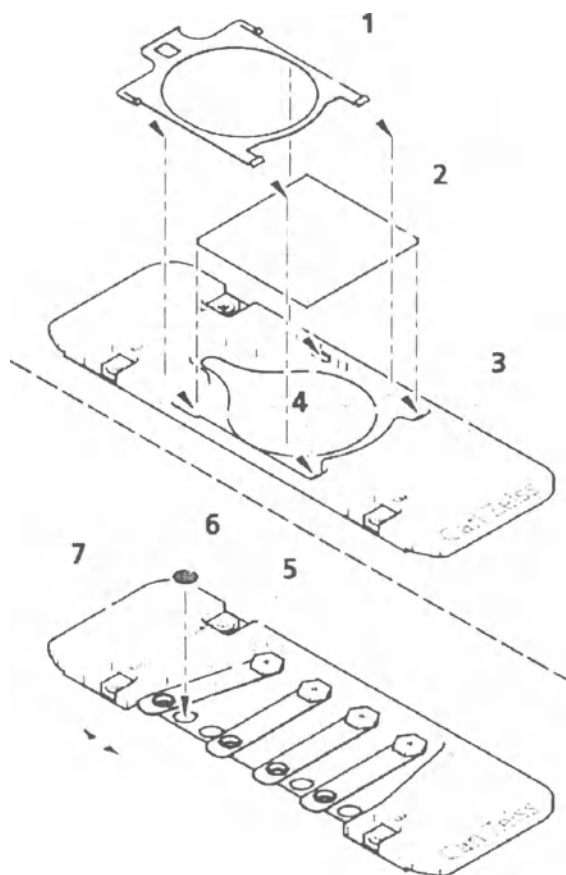


Рисунок 15.3. Монтаж покровных стекол или сеток ПЭМ

Порядок действий

- 1 Поместите покровное стекло (2) в соответствующий держатель образца и зафиксируйте его.

При использовании держателя **Life Science** для покровных стекол 22x22:

- С помощью пинцета извлеките прижимную рамку (1).
- Поместите покровное стекло (2) в держатель образца (3).

- Установите прижимную рамку в держатель образца до защелкивания зажимов (4).

При использовании держателя **Life Science для сеток ПЭМ**:

- Приподнимите пружину и отведите в сторону (5).
- Вставьте сетку ПЭМ (6) в удерживающую ячейку держателя и зафиксируйте ее пружиной (7).

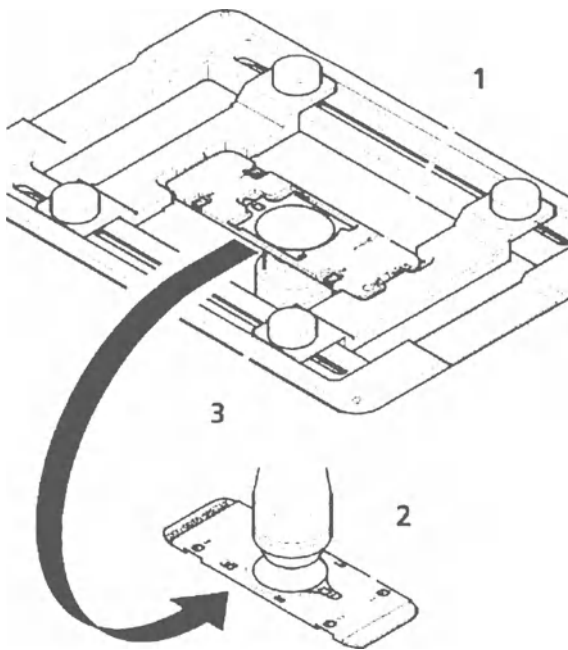


Рисунок 15.4. Установка держателя образца

- 2 Вставьте держатель образца (1) в установочную рамку столика микроскопа следующим образом:
 - Для штативов инвертированных микроскопов см. (3).
 - Для штативов прямых микроскопов см. (2).

15.2.1.2 Запуск программного обеспечения LM

Для проведения корреляционной микроскопии с использованием оптических микроскопов необходимо ПО ZEN 2.3 (blue). Дополнительно потребуется лицензионная версия модуля **Shuttle & Find**.

- | | |
|------------------|--|
| Порядок действий | <ol style="list-style-type: none"> 1 Для запуска программного обеспечения нажмите на иконку программы на Рабочем столе вашего компьютера. |
|------------------|--|

Откроется следующее окно.

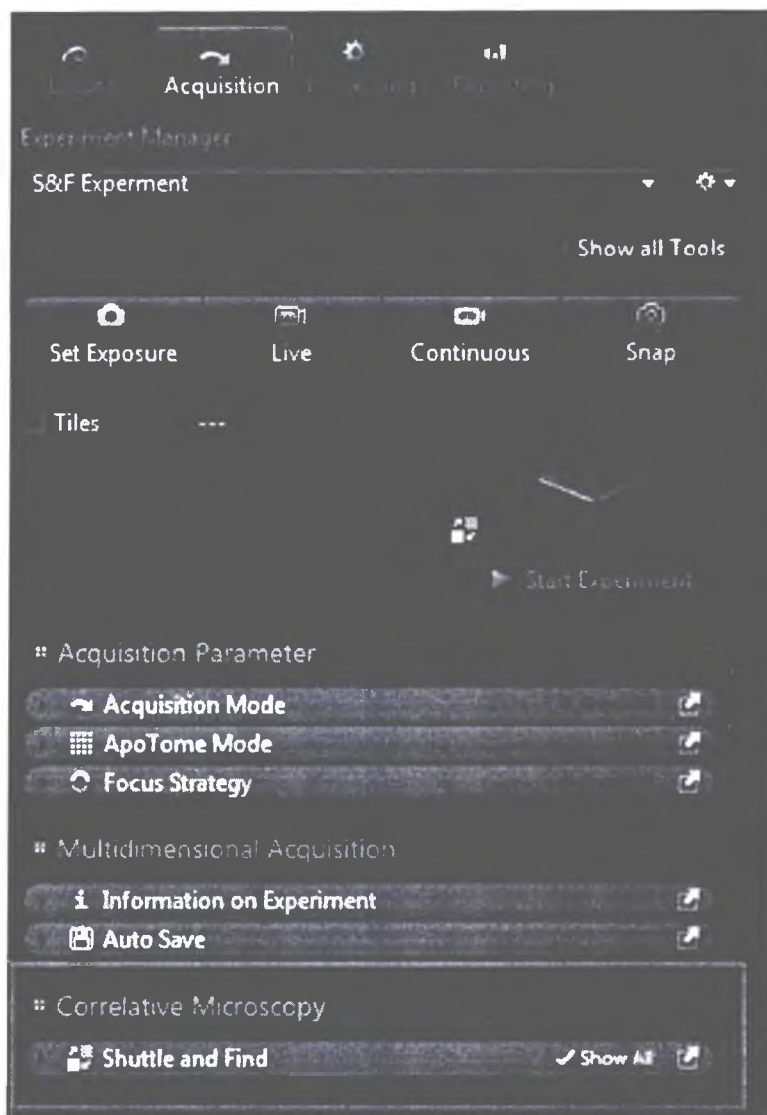


- 2 Для запуска необходимого приложения нажмите на кнопку **ZEN pro** или **ZEN system**.

Запустится приложение. Убедитесь, что модуль **Shuttle & Find** активирован в меню **Tools | Modules Manager...** (Инструменты | Менеджер модулей...).



- 3 В левой области инструментов откройте вкладку **Acquisition** (Получение изображений) и откройте инструмент **Shuttle & Find**.



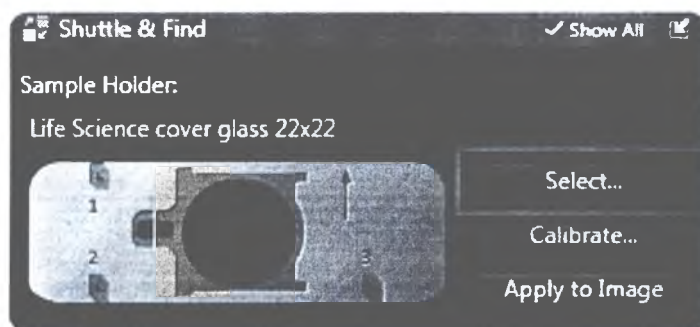
Успешно запущено программное обеспечение. Теперь можно начать работу с модулем **Shuttle & Find**.

15.2.1.3 Выбор держателя образца

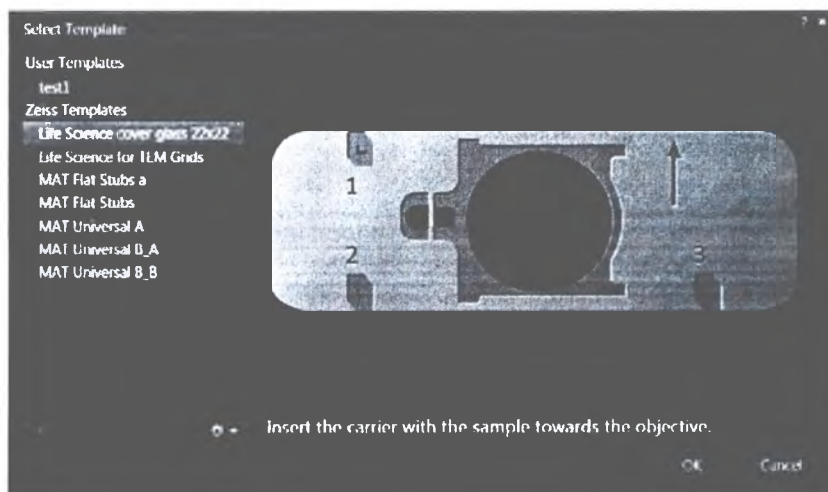
Необходимые предварительные условия ■ Активирован инструмент **Shuttle & Find** в менеджере экспериментов (**Experiment Manager**).

- Открыт инструмент **Shuttle & Find**.

- Порядок действий
- 1 Нажмите кнопку **Select...** (Выбрать...), чтобы открыть диалоговое окно **Select Template** (Выбрать шаблон) и выбрать необходимый сопоставительный держатель. Для выбора доступны разные типы сопоставительных держателей, см. приложение «Сопоставительные держатели образца».



- 2 В диалоговом окне **Select Template** (Выбор шаблона) выберите желаемый сопоставительный держатель. Если вы хотите использовать собственные держатели, нажмите на кнопку «+» (Добавить) под списком и следуйте инструкциям, приведенным в разделе «Создание нового шаблона держателя образца» [► 370].



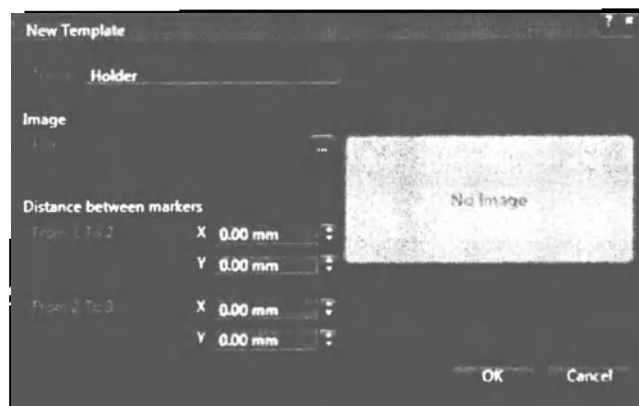
- 3 Нажмите кнопку **Ok**, чтобы закрыть диалоговое окно.
Теперь можно перейти к калибровке держателя образца, описанной в разделе «Калибровка держателя образца» [► 372]. Калибровка держателя образца обязательна для получения изображений.

15.2.1.4 Создание нового шаблона держателя образца

С помощью этого диалогового окна можно задать новые сопоставительные держатели в дополнение к существующим шаблонам держателей. Необязательно использовать сопоставительные держатели компании ZEISS. Также можно использовать пользовательские сопоставительные держатели с тремя координатными метками.

- Порядок действий 1 Чтобы открыть диалоговое окно, нажмите кнопку  (Добавить) в диалоговом окне **Select Template** (Выбор шаблона). Это диалоговое окно можно открыть с помощью инструмента **Shuttle & Find**.

Откроется новое диалоговое окно **New Template** (Новый шаблон).



- 2 Введите имя нового держателя/подложки. Также можно загрузить изображение нового держателя.
- 3 Укажите расстояния (в мм) между первым и вторым маркером и между вторым и третьим маркером.
 Расстояния можно определить в диалоговом окне **Stage Control** (Управление столиком), доступном в инструменте **Light Path** (Оптический путь) во вкладке **Right Tool Area** (Правая область инструментов). Рекомендуем сделать это до начала работы в диалоговом окне **New template** (Новый шаблон). Запишите расстояния, чтобы ввести их в диалоговом окне **New Template** (Новый шаблон).
- 1 Активируйте наблюдение в режиме реального времени в центральной области экрана, нажав на кнопку **Live** во вкладке **Locate** (Местоположение).
- 2 Вручную с помощью джойстика переместите столик к калибровочному маркеру на держателе образца X/Y-координаты маркера.
- 3 Повторите эту процедуру для всех трех маркеров и определите расстояние между маркером 1 и маркером 2, а также между маркером 2 и маркером 3 соответственно.



Рисунок 15.5. Инструмент Stage

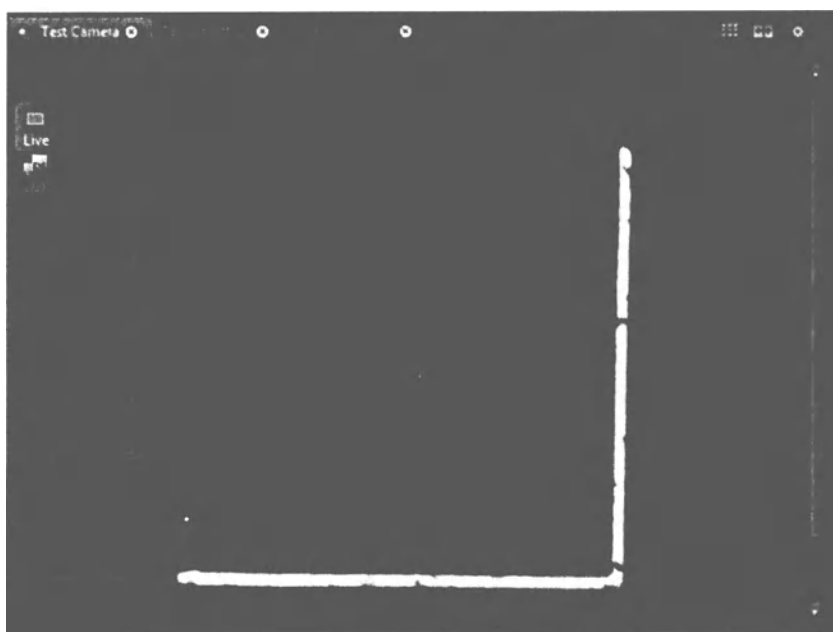
15.2.1.5 Калибровка держателя образца

Сопоставительные держатели снабжены тремя координатными метками, позволяющими выполнять трехточечную калибровку (обозначены номерами 1-2-3). Калибровочные маркеры состоят из одного малого (длиной 50 мкм) и одного большого L-образного маркера (длиной 1 мм). Большой маркер служит для приблизительного ориентирования, в то время как малый маркер используется для калибровки.

15.2.1.5.1 Подготовка к калибровке

Порядок действий

- 1 Активируйте наблюдение в режиме реального времени в **центральной области экрана**, нажав на кнопку **Live** во вкладке **Acquisition** (Получение изображений).
- 2 Вручную с помощью джойстика переместите столик к первому калибровочному маркеру на держателе образца (отмечен номером «1»). Достаточно переместить столик к большому L-образному калибровочному маркеру. Малый маркер будет автоматически обнаружен мастером калибровки держателя образца (**Sample Holder Calibration Wizard**). Для определения позиций маркеров рекомендуем использовать сухой объектив с малым увеличением (5х–20х).



- 3 Откройте инструмент.
- 4 Нажмите кнопку **Calibrate...** (Калибровать...), чтобы открыть мастер калибровки держателя образца (**Sample Holder Calibration Wizard**).

15.2.1.5.2 Настройка опций калибровки

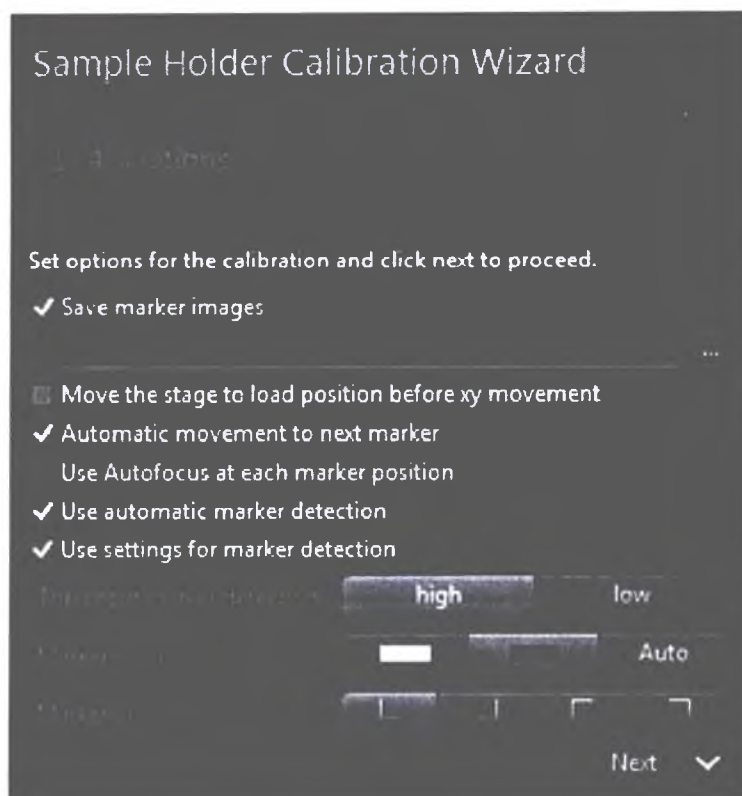


Рисунок 15.6. Опции мастера калибровки держателя образца

Для рекомендуемого порядка выполнения калибровки в шаге 1 мастера следует активировать следующие опции:

Порядок действий 1 Проверьте, установлен ли флажок **Automatic movement to next marker** (Автоматическое перемещение к следующему маркеру).

Таким образом столик автоматически переместится к следующему маркеру после подтверждения позиции маркера и нажатия кнопки **Next** (Далее).

2 Проверьте, установлен ли флажок **Use automatic marker detection** (Использовать автоматическое обнаружение маркеров).

Программное обеспечение автоматически попытается обнаружить правильные позиции каждого маркера.

3 Если необходимо изменить цвет маркера или проверить правильность ориентации маркера, установите флажок **Use settings for marker detection** (Использовать настройки для обнаружения маркера) для доступа к этим функциям.

4 Нажмите кнопку **Next** (Далее) для перехода к следующему шагу мастера.

15.2.1.5.3 Выполнение калибровки

Порядок действий 1 Нажмите кнопку **Set** (Установить) для определения позиции первого маркера.

Будет выполнена автоматическая калибровка столика. После калибровки столика система автоматически попытается определить позицию малого маркера.

Появится сообщение с запросом о подтверждении правильности обнаружения маркера.

- 2 Нажмите **Yes** (Да) для подтверждения сообщения.

i Примечание

В случае неправильного обнаружения маркера вы можете задать позицию маркера вручную. Просто нажмите левой кнопкой мыши на перекрестие L-маркера на изображении, и эта позиция будет принята системой. Убедитесь, что вы всегда выбираете одну и ту же точку калибровки на каждом L-маркере.

- 3 Нажмите кнопку **Next** (Далее) для перехода к следующему шагу мастера.

Столик автоматически переместится (приблизительно) к позиции следующего маркера. Если столик переместится в неверном направлении, вы можете воспользоваться кнопками **Invert X / Invert Y** (Инвертировать X / Инвертировать Y) для корректировки направления перемещения.

- 4 Повторите предыдущие шаги и установите позиции маркеров 2 и 3 соответственно.

После определения позиции маркера 3 отобразится зеленая иконка с галочкой, обозначающая успешное завершение процесса калибровки.



- 5 Нажмите кнопку **Finish** (Готово), чтобы сохранить результаты калибровки и закрыть мастер калибровки.

Для проверки правильности калибровки получите изображение и откройте древовидное меню (**Tree view**) в центральной области экрана. В меню должен отобразиться список с сопоставительными калибровочными данными. Если древовидное меню (**Tree view**) не отображается, перейдите в **Tools | Options | Documents** (Инструменты | Опции | Документы) и установите флажок **Enable Tree View** (Активировать древовидное меню).

15.2.1.6 Получение LM-изображения

В основном получение изображения здесь схоже с аналогичным процессом в ПО ZEN. Форматом данных модуля Shuttle & Find является общий файловый формат *.czi. Сохраненные изображения могут быть загружены в ПО ZEN с помощью меню **File | Open** (Файл | Открыть).

После получения изображения следующим шагом является определение/создание областей/точек интереса в используемом изображении. Поэтому вы можете воспользоваться инструментами **Region** (Область) во вкладке **S&F**, см. раздел «Regions, Find u Dimensions» [▶387].

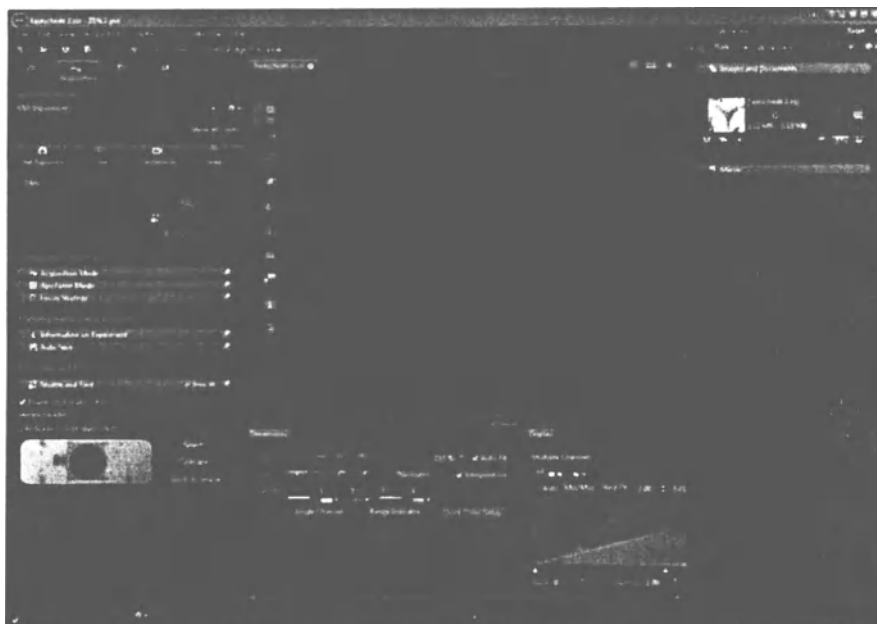


Рисунок 15.7. LM-изображение

15.2.2 Позиции образца в Shuttle & Find на электронном микроскопе

Теперь вы можете перенести (Shuttle) образец и файл изображения оптического микроскопа (LM-изображение) (.czi) на растровый электронный микроскоп (SEM). В нем вы сможете легко изменять (Find) позиции того же образца и получать соответствующее изображение в программе **SEM ПО ZEN 2.3 (blue)**. Поэтому необходимо выполнить аналогичные шаги, что и для оптического микроскопа.

15.2.2.1 Установка держателя образца в SEM

Для визуализации образца в SEM вставьте держатель образца (2) в специальный переходник для SEM (1) и установите его в SEM.

i Примечание

Стрелка на держателе образца и стрелка на переходнике SEM должны быть направлены друг к другу.

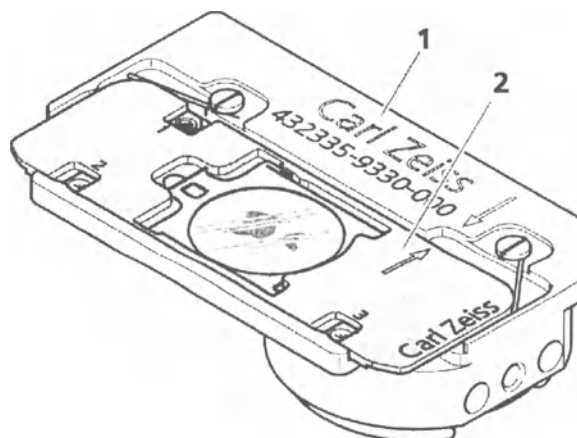


Рисунок 15.8. Держатель образца, установленный в переходник SEM

15.2.2.2 Запуск программы SEM в ПО ZEN

Для проведения корреляционной микроскопии с использованием растровых электронных микроскопов должны быть установлены программы **SmartSEM** и SEM ZEN 2.3 (blue). SmartSEM — управляющее программное обеспечение растрового электронного микроскопа. ZEN 2.3 (blue) — дополнение к SmartSEM, предназначенное для выполнения корреляционной микроскопии и использования модуля Shuttle & Find на SEM.

Необходимые предварительные условия ■ Выполнен запуск SmartSEM.

Порядок действий 1 Запустите ПО ZEN 2.3 (blue), нажав на иконку программы на Рабочем столе вашего компьютера.

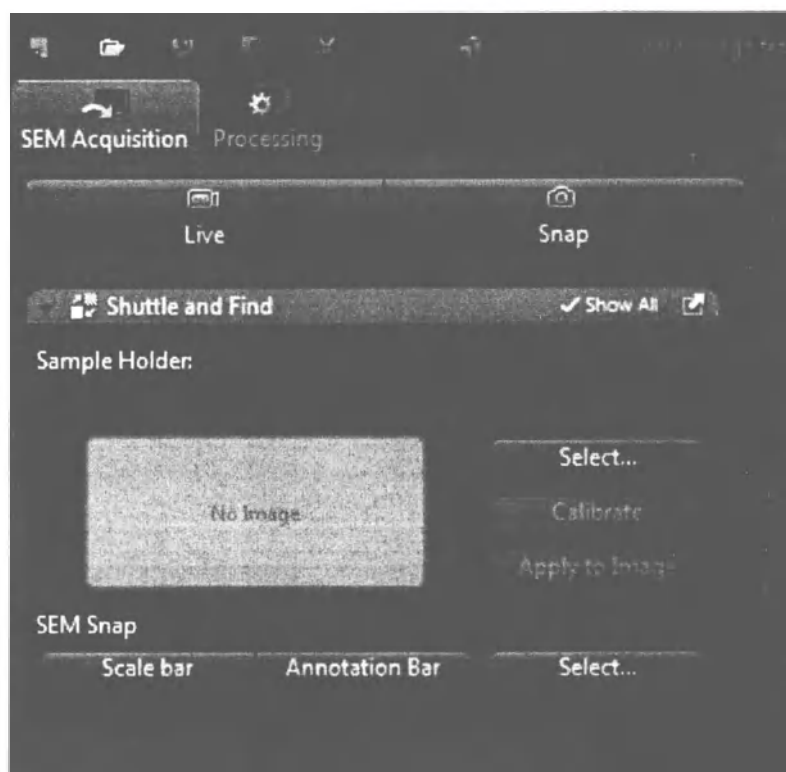
Откроется следующее окно.



2 Для запуска программы нажмите на кнопку **SEM**.

Отобразится программный интерфейс с уменьшенным пользовательским интерфейсом по сравнению с ZEN 2.3 (blue). В левой области инструментов доступны только вкладки **Acquisition SEM** (Получение SEM-изображений) и **Processing** (Обработка изображений). Во вкладке SEM Acquisition (Получение SEM-изображений) находится

инструмент **Shuttle & Find** с тремя дополнительными кнопками в нижней области инструмента.



15.2.2.3 Выбор держателя образца

Этот шаг полностью соответствует выбору держателя образца для оптического микроскопа, подробный порядок действий см. в разделе «Выбор держателя образца» [►369].

15.2.2.4 Калибровка держателя образца

Как и предыдущий шаг, этот шаг абсолютно аналогичен шагу, описанному для оптического микроскопа, поэтому для более подробной информации ознакомьтесь с разделом «Калибровка держателя образца» [►372].

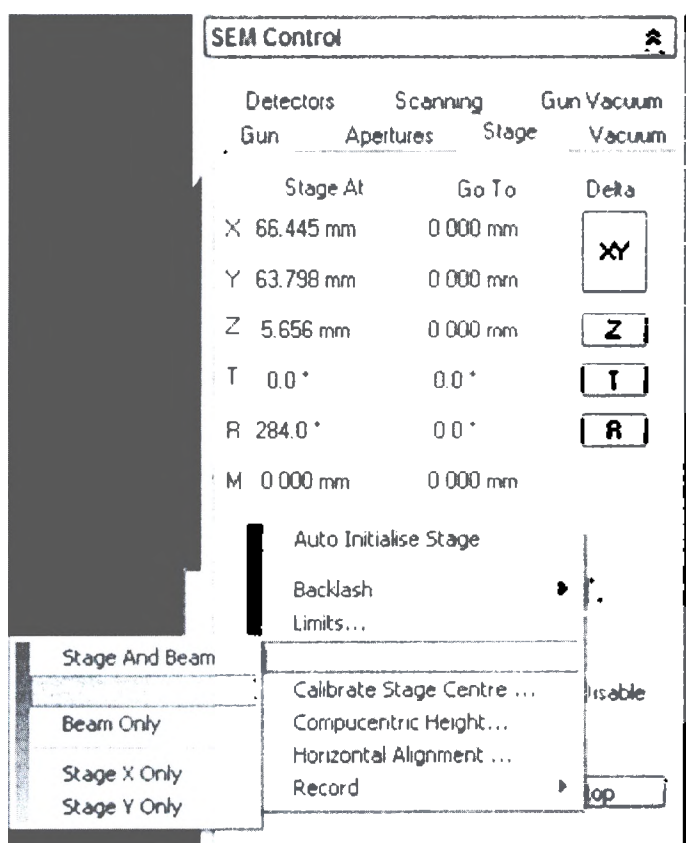
i Примечание

Калибровка держателя образца должна быть выполнена на обеих системах: LM и SEM. В противном случае изменение позиций образца или областей/точек интереса, сохраненных в изображении, выполнено не будет.

i Примечание

Обратите внимание, что смещение луча в модуле Shuttle & Find должно быть выключено. Смещение луча в **SmartSEM** отключается следующим образом:

- ◆ Вызовите контекстное меню **Center Point / Feature** (Центральная точка/Свойство), нажав правой кнопкой мыши на странице свойств столика **Stage**.
- ◆ Выберите элемент **Center Point / Feature** (Центральная точка/Свойство) и **Stage only** (Только столик).



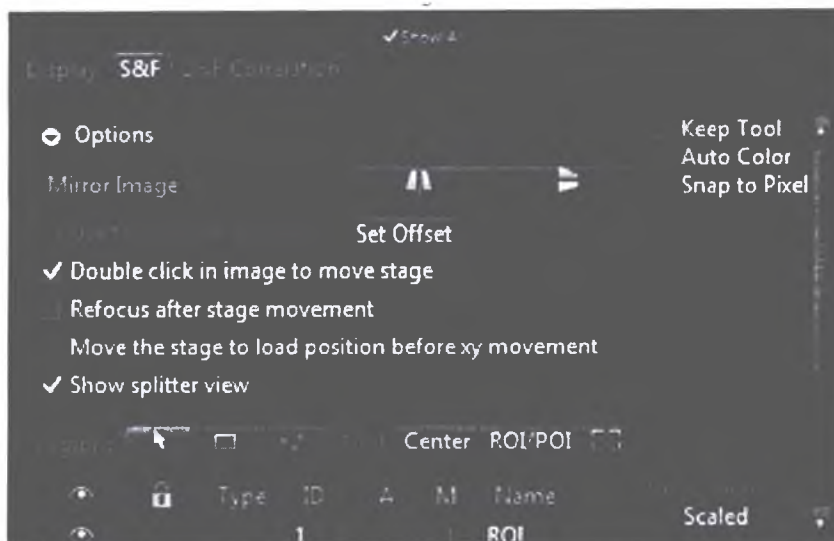
15.2.2.5

Получение ЕМ-изображения

Порядок действий

- 1 Загрузите LM-изображение в программу SEM (.czi) ПО ZEN 2.3 (blue).
Изображение появится в центральной области экрана.
- 2 Активируйте режим живого изображения (**Live**).
Появится живое изображение с SEM. Обратите внимание, что все настройки для SEM-изображения выполняются только в ПО SmartSEM.
- 3 Активируйте область просмотра **S&F** в центральной области экрана.
- 4 Перейдите во вкладку **S&F**.

- 5 Проверьте, активированы ли кнопки-флажки **Double click in image to move stage** (Дважды нажать на изображение для перемещения столика) и **Show splitter view** (Показывать разделитель) (по умолчанию).



В левом графическом контейнере появится живое изображение с SEM. Правый графический контейнер останется пустым.

- 6 Перетащите загруженное LM-изображение из галереи **Images and Documents** (Изображения и документы) в пустой графический контейнер.

Теперь вы можете легко перемещать позиции образца, дважды нажимая на изображении или на кнопку ROI/POI (Область/позиция интереса) (если созданы и выбраны области/позиции интереса) во вкладке S&F.

Для получения изображения воспользуйтесь кнопкой Snap (Моментальный снимок) в SEM ПО ZEN 2.3 (blue). Обратите внимание, что здесь не описывается настройка и получение изображения в SEM. По вопросам работы в SEM см. интерактивную справку или руководство пользователя.



Рисунок 15.9. SEM- и LM-изображения

15.2.2.6 Точная калибровка держателя образца

Точность перемещения можно повысить путем определения величины смещения. Этой величиной описывается смещение позиции между загруженным и живым изображениями. Установленная величина смещения действительна только для загруженного изображения. При открытии другого изображения или закрытии диалогового окна величина смещения удаляется.

Необходимые предварительные условия ■ Смещение видно при попытке переместить позиции маркера на живом изображении в сопоставлении с LM-изображением.

- Порядок действий**
- 1 Нажмите кнопку **Set Offset** (Установить смещение). Столик переместится в выбранную позицию маркера. Затем появится сообщение с запросом о перемещении столика в правильную позицию.
 - 2 Вручную с помощью джойстика переместите столик в правильную позицию.
 - 3 Подтвердите сообщение, нажав кнопку **OK**.
Теперь можно повторить перемещение. Позиции должны быть идентичными.

15.2.3 Корреляция изображений

15.2.3.1 Корреляция двух загруженных изображений

Необходимые предварительные условия ■ Получены и загружены два изображения с калибровочными данными S&F (например, LM/SEM), подлежащими калибровке. При неодинаковой ориентации изображений воспользуйтесь кнопкой **Mirror Image** (Зеркальное изображение) в меню **Options** (Опциями) вкладки **S&F Correlation** (Корреляция в S&F).

- В разделенной области просмотра центрального экрана появятся расположенные рядом два изображения. Если это не произошло, перетащите изображения из галереи **Images and Documents** (Изображения и документы) в центральную область экрана.
- Порядок действий**
- 1 Нажмите кнопку **Set correlation points** (Установить корреляционные точки) во вкладке **S&F Correlation** (Корреляция в S&F).
Указатель мыши превратится в пипетку.
 - 2 Нажмите на левое изображение, чтобы установить корреляционную точку. Сначала установите все точки трех маркеров на левом изображении, затем установите соответствующие 3 маркера на правом изображении. После установки корреляционной точки появится зеленая галочка перед соответствующей точкой.
Убедитесь, что позиции в обоих изображениях идентичны. После установки всех шести точек пипетка обратно превратится в курсор.
 - 3 Нажмите кнопку **Create Correlation** (Создать корреляцию).
Будет создано коррелированное изображение и открыто в новом графическом контейнере.

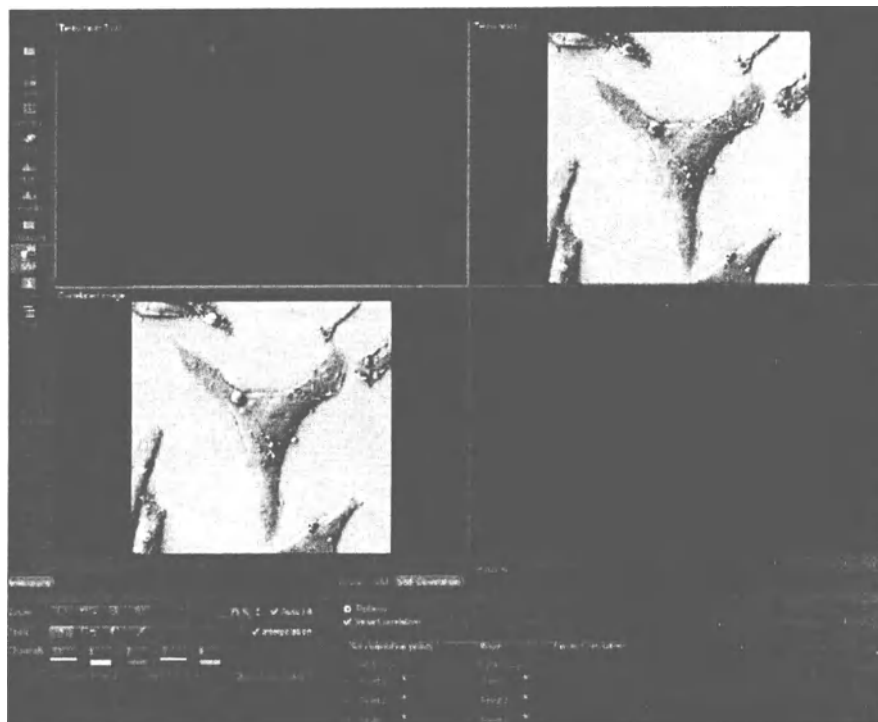


Рисунок 15.10. Коррелированное изображение

Советы и рекомендации

- Также возможно устанавливать каждую точку в отдельности. Под элементом **Left Image / Right Image** (Левое изображение/Правое изображение) нажмите кнопку **Arrow** (Стрелка) позади точки (например, **Point 1** (Точка 1)). Затем нажмите на нужную позицию на изображении.
- Для повышения точности определения изображения можно увеличить колесиком мыши.
- Для редактирования/перемещения точки нажмите на необходимую точку. Когда точка выделится пунктирным прямоугольником, переместите точку, удерживая левую кнопку мыши. Другой вариант — под элементом **Left Image / Right Image** (Левое изображение/Правое изображение) нажмите на кнопку **Arrow** (Стрелка) тех точек, которые требуется переместить, и нажмите на новую позицию на изображении.

15.2.3.2 Корреляция живого и загруженного изображений

Необходимые предварительные условия ■ Включен режим **Live** (Живое изображение).

- Порядок действий
- 1 Выберите область просмотра **S&F** в **центральной области экрана** и нажмите вкладку **S&F Correlation** (Корреляция в S&F).
В центральной области экрана появится разделенная область просмотра. В левом графическом контейнере отобразится живое изображение.
 - 2 Перетащите соответствующее LM-изображение из галереи **Images and Documents** (Изображения и документы) в центральную область экрана.

- 3 Нажмите кнопку **Set correlation points** (Установить корреляционные точки) для установки корреляционных точек. Всегда начинайте с установки 3 точек в левом (живом изображении), затем переходите к установке идентичных точек (в аналогичном порядке) в загруженном изображении.
- 4 После установки всех 6 корреляционных точек будет автоматически выполнена корреляция изображения.

Коррелированное изображение появится в третьем графическом контейнере под живым и загруженным изображениями.

15.3 Функции и их назначение

15.3.1 Пользовательский интерфейс



Рисунок 15.11. Пользовательский интерфейс

- Инструмент Shuttle & Find в левой области инструментов (1)
- Поле обзора S&F в центральной области экрана (2)
- Опции S&F и S&F Correlation (Корреляция в S&F) под центральной областью экрана (3)

15.3.2 Инструмент Shuttle & Find

Инструмент Shuttle & Find позволяет выбрать и откалибровать держатели образцов. Инструмент отображается, только если установлен флажок Shuttle & Find в менеджере экспериментов (**Experiment Manager**).

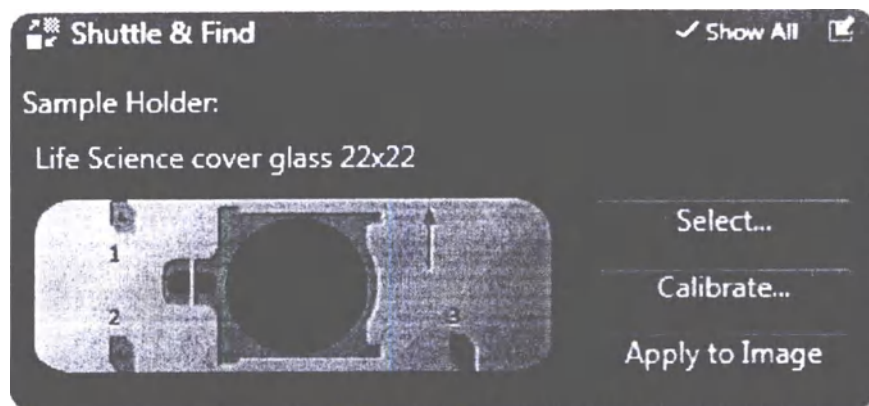


Рисунок 15.12. Инструмент Shuttle & Find

Параметр	Описание
Sample holder (Держатель образца)	Здесь отображается имя и изображение предпросмотра выбранного держателя образца.
Select... (Выбрать...)	Открывает диалоговое окно Select Template (Выбрать шаблон). В нем можно выбрать предпочтительный держатель образца или создать новые шаблоны держателей, см. «Выбор держателя образца»[►369].
Calibrate... (Калибровать...)	Открывает мастер калибровки держателя образца (Sample Holder Calibration Wizard) [► 390]. В нем можно откалибровать выбранный держатель образца.
Apply to Image (Применить к изображению)	Отображается только в режиме Show All (Показать все). Используйте эту кнопку только в том случае, если забыли откалибровать держатель перед получением изображения. Применяет калибровку к полученному изображению. Не извлекайте образец из сопоставительного держателя в интервале между получением изображения и калибровкой.

Инструмент Shuttle & Find для SEM

Отображается только, если запущена программа SEM в ПО ZEN 2.3 (blue).

Окно инструментов адаптировано под требования процесса корреляции на SEM.

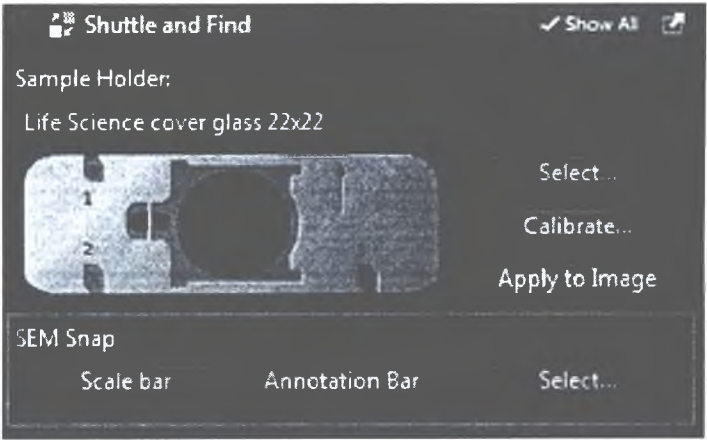


Рисунок 15.13. Инструмент Shuttle & Find в программе SEM в ПО ZEN

Параметр	Функция
Scale bar (Масштабная линейка)	Добавляет масштабную линейку к полученному изображению.
Annotation bar (Панель аннотаций)	Добавляет панель аннотаций к полученному изображению.
Select... (Выбрать...)	После нажатия на эту кнопку открывается диалоговое окно выбора параметров для панели аннотаций. Для панели аннотаций можно выбрать максимум 9 параметров.

15.3.3 Поле обзора Shuttle & Find

Помимо инструмента Shuttle & Find в левой области инструментов, в центральной области экрана ПО ZEN отображается область обзора S&F (Shuttle & Find). При выборе поля обзора S&F на экране под областью изображения в качестве опций предметного просмотра появятся вкладки S&F и S&F Correlation (Корреляция в S&F).



Рисунок 15.14. Поле обзора Shuttle & Find

15.3.3.1 Вкладка S&F

Здесь находятся полезные опции и инструменты для создания и перемещения областей интереса (ROI) или точек интереса (POI) на изображении образца.

15.3.3.1.1 Options (Опции)

Параметр	Описание
Mirror image (Зеркальное изображение)	Здесь с помощью двух кнопок справа вы можете отразить изображение по горизонтали или по вертикали. Выравнивание изображений зависит от микроскопа (прямой/инвертированный) и ориентации держателя образца.
Keep tool (удерживать инструмент)	Флажок установлен: выбранный инструмент остается активным. Это полезно в тех случаях, если необходимо создать несколько областей/точек интереса.
Auto color (Автоцвет)	Флажок установлен: использует новый цвет для каждого нового созданного элемента.
Snap to Pixel (Привязка к пикселю)	Флажок установлен: создает графические элементы с помощью пиксельной сетки.
Use fine calibration value (Использовать значение точной калибровки)	Флажок установлен: использует измеренную точную калибровку.

Параметр	Описание
	Точность перемещения и, следовательно, качество наложенного изображения можно повысить путем определения величины смещения. Этой величиной описывается смещение между загруженным и живым изображениями. Определенная величина смещения действительна только для загруженного изображения, которое отображается в контейнере. При открытии другого изображения или закрытии диалогового окна величина смещения удаляется. Определите смещение путем идентификации точки интереса (POI, от англ. Point Of Interest) на полученном изображении. Для определения точки интереса воспользуйтесь кнопками раздела Regions (Области). При нажатии кнопки Set Offset (Установить смещение) столик перемещается в предполагаемую позицию образца. Сравните позицию образца на живом изображении с установленной точкой интереса и скорректируйте позицию столика до совмещения обеих позиций. Подтвердите выполнение точной калибровки, нажав на кнопку OK. Теперь точная калибровка измерена, а флажок установлен. Более подробно, см. раздел «Точная калибровка держателя образца» [▶ 380].
Double click in image to move stage (Перемещение столика по двойному щелчку на изображении)	Флажок установлен: перемещает столик в позицию, указанную двойным нажатием мыши.
Refocus after stage movement (Выполнять повторную фокусировку после перемещения столика)	Флажок установлен: автоматически регулирует фокусировку после перемещения столика.
Move stage in z-direction before x/y movement (Перемещать столик в направлении оси Z перед перемещением по осям X/Y)	Флажок установлен: перемещает столик в позицию загрузки перед перемещением к следующему корреляционному калибровочному маркеру.
Show splitter view (Отображать разделенную область просмотра)	Флажок установлен: активирует режим раздельной области просмотра в центральной области экрана.

15.3.3.1.2 Параметры Regions, Find и Dimensions

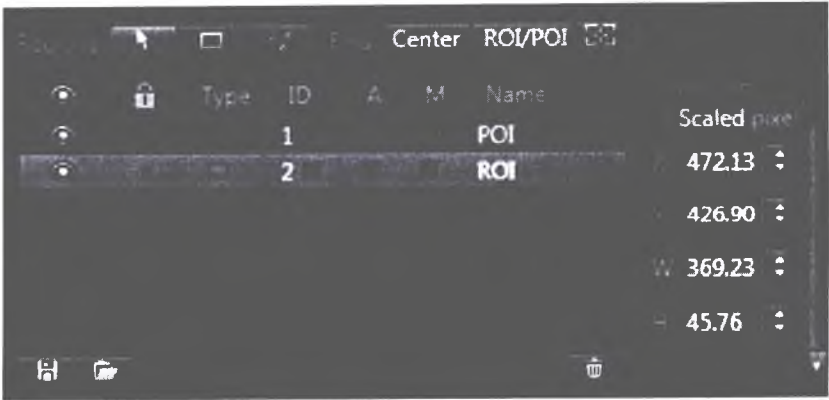


Рисунок 15.15. Параметры Regions, Find, Dimension

Панель инструментов Regions (Области) и Find (Поиск)

Параметр	Описание
 Режим выбора	Выбирает области или точки интереса в области изображения. Воспользуйтесь этой кнопкой, чтобы переключиться из другого режима в режим Selection (Выбор).
 Нарисовать прямоугольник	Создает прямоугольник (область интереса (ROI)), стороны которого параллельны краям изображения.
 Нарисовать маркер	Создает точку маркера (точку интереса (POI)).
 Центр	Перемещает столик в центр открытого изображения.
 Область/точка интереса	Перемещает столик в выбранную область/точку интереса .
 Показать позицию столика	Показывает текущую позицию столика в виде прямоугольника на изображении.

Раздел Dimension

В разделе Dimension (Измерения) представлены координаты и измерения выбранного графического элемента в списке. Если установлен флажок **Scaled** (Масштабный), используемой единицей измерения является «мкм», в противном случае — «пиксель».

- Параметр **X**: отображает горизонтальную позицию (X-координата) центра графического элемента.
- Параметр **Y**: отображает вертикальную позицию (Y-координата) центра графического элемента.
- Параметр **W**: отображает ширину графического элемента.
- Параметр **H**: отображает высоту графического элемента.

Список графических элементов

Ниже приведен список всех создаваемых областей/точек интереса.

Параметр	Описание
«Глаз»	Показывает/скрывает область/точку интереса на изображении.
«Замок»	Запирает область/точку интереса, предотвращая изменения.
Тип (Тип)	Отображает иконку типа инструмента (ROI/POI). Для форматирования графического элемента дважды нажмите на иконку. Откроется диалоговое окно Format Graphic Elements (Форматирование графических элементов).
ID (Номер)	Отображается только в режиме Show All (Показать все). Отображает номер графического элемента. Для этого установите флажок напротив соответствующего элемента списка.
A	Отображается только в режиме Show All (Показать все). Отображает аннотации к графическому элементу (ROI). Для этого установите флажок напротив соответствующего элемента списка. Затем дважды нажмите на кнопку-флажок. Откроется диалоговое окно Format Graphic Elements (Форматирование графических элементов). В выпадающем списке Annotation (Аннотация) выберите аннотацию, которую необходимо отобразить на изображении.
M	Отображается только в режиме Show All (Показать все). Отображает результаты измерения графического элемента. Для этого установите флажок напротив соответствующего элемента списка.
Название	Отображает имя графического элемента. Для изменения имени дважды нажмите на поле ввода Name (Имя). Затем введите необходимый текст.

15.3.3.2 Вкладка S&F Correlation

Во вкладке S&F Correlation (Корреляция в S&F) расположены все функции для наложения (соотнесения) двух изображений.



Рисунок 15.16. Вкладка S&F Correlation

Параметр	Описание
Transform (Преобразовать)	Здесь выбирается изображения для преобразования. С помощью кнопок Left Image/Right Image (Правое изображение/Левое изображение) выберите изображение, которое необходимо преобразовать в другое. Во время преобразования пиксель наложенного изображения вычисляется с помощью пикселей двух исходных изображений, которые должны быть совмещены/объединены.
Interpolation (Интерполяция)	Здесь вы можете выбрать один из следующих методов интерполяции:
- Nearest Neighbor (Ближайший сосед)	Значение серого тона результирующего пикселя в наложенном изображении рассчитывается из соседнего пикселя. Это высокоскоростной метод интерполяции.
- Linear (Линейное комбинирование)	Результирующему или вычисленному пикселю наложенного изображения присваивается значение серого, которое является результатом линейной комбинации значений пикселей, расположенных поблизости (в исходном изображении).
- Cubic (Кубический)	Результирующему или вычисленному пикселю наложенного изображения присваивается значение серого, которое рассчитывается с помощью полиномиальной функции с использованием значений серого тона пикселей исходных изображений; эти пиксели располагаются рядом с вычисленным пикселем.
Mirror image (зеркальное изображение)	Здесь вы можете отразить изображение по горизонтали или по вертикали. Просто нажмите на соответствующую кнопку. Отражение изображения необходимо в тех случаях, когда ориентация загруженного изображения отличается от ориентации живого изображения.
Show Correlation (Показать корреляцию)	Флажок установлен: открывает коррелированное изображение в новом графическом документе/новом контейнере.

Параметр	Описание
Set correlation points (Установить корреляционные точки)	Позволяет устанавливать 6 точек (по 3 точки в каждом изображении) подряд в виде корреляционных маркеров, см. раздел «Корреляция двух загруженных изображений» [► 380].
Reset (Сброс)	Удаляет все корреляционные точки на изображениях.
Create Correlation (Создать корреляцию)	Активен только при установке всех точек в обоих изображениях. Создает корреляционное наложенное изображение. Третий графический контейнер с коррелированным изображением будет открыт в центральной области экрана , флажок Show Correlation (Показать корреляцию) будет установлен автоматически.

15.3.4 Мастер калибровки держателя образца

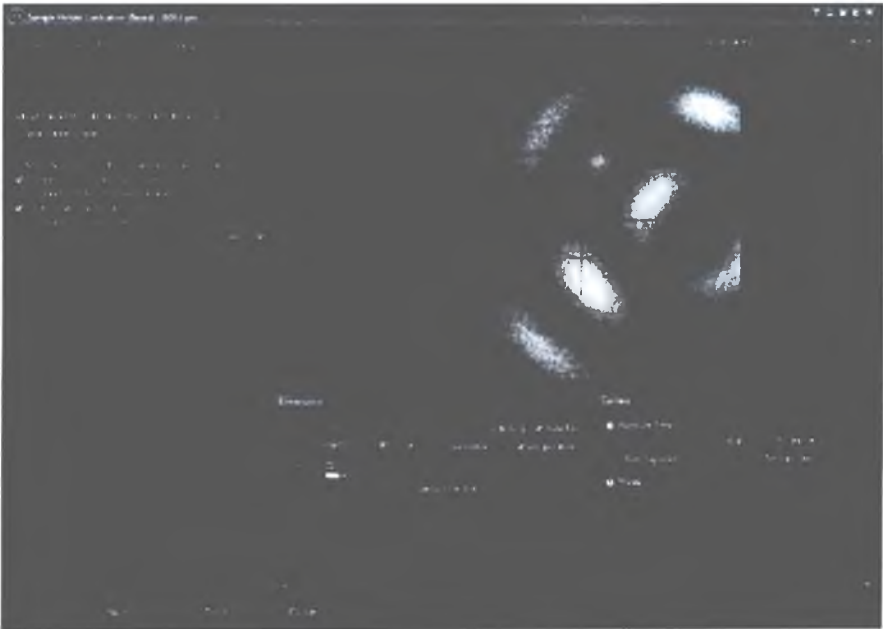


Рисунок 15.17. Мастер калибровки держателя образца

С помощью мастера калибровки держателя образца (Sample Holder Calibration Wizard) калибруется выбранный корреляционный держатель образца. Мастер открывается в инструменте Shuttle & Find. Убедитесь, что активирован инструмент **Shuttle & Find** и выбран держатель образца, см. раздел «Выбор держателя образца» [► 369].

15.3.4.1 Шаг 1. Options (Опции)

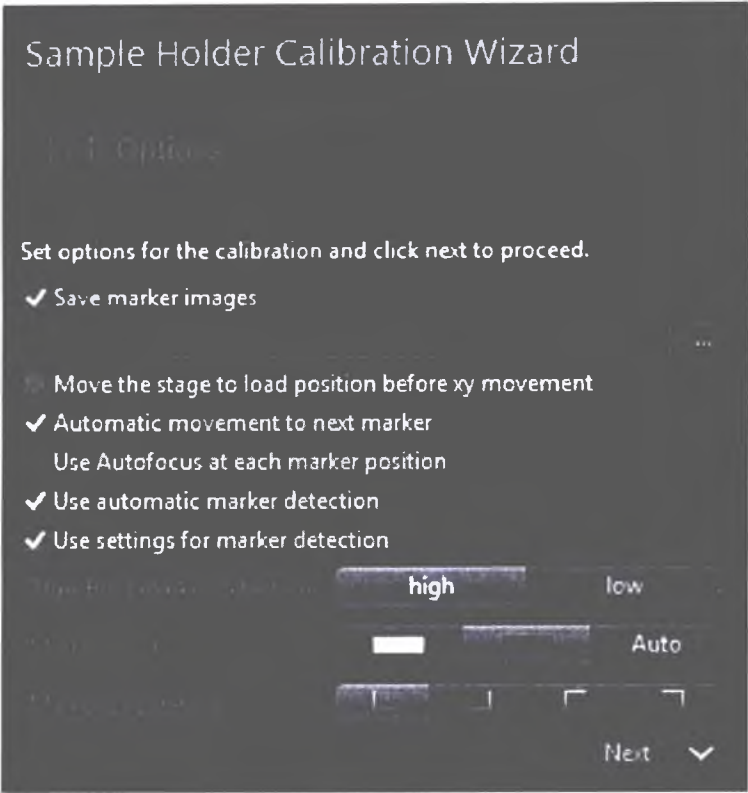


Рисунок 15.18. Опции мастера калибровки держателя образца

Опция	Описание
Save marker images (Сохранить маркерные изображения)	Флажок установлен: маркерные изображения сохраняются во время калибровки. Впоследствии изображения могут использоваться для проверки калибровки. Нажмите кнопку Select Folder (...) (Выберите папку (...)) для выбора папки хранения данных.
Move the stage to load position before x/y movement (Перемещать столик в позицию загрузки перед перемещением по осям X/Y)	Флажок установлен: перемещает столик в позицию загрузки перед перемещением к следующему корреляционному калибровочному маркеру. При использовании AxioObserver револьверная головка объектива перемещается в позицию загрузки.
Automatic movement to next marker (Автоматическое перемещение к следующему маркеру)	Флажок установлен: при нажатии на кнопку Next (Далее) в мастере калибровки столик автоматически перемещается к следующему калибровочному маркеру.
Use Autofocus at each marker position (Использовать автофокус в позиции каждого маркера)	Эта опция активна только в том случае, если установлен флажок Automatic movement to next marker (Автоматическое перемещение к позиции следующего маркера). Флажок установлен: фокусировка выполняется автоматически после перемещения к позиции следующего маркера.

Опция	Описание
Use automatic marker detection (Использовать автоматическое обнаружение маркеров)	Флажок установлен: программное обеспечение попытается автоматически обнаружить малый калибровочный маркер.
Use settings for marker detection (Использовать настройки для обнаружения маркеров)	Эта опция активна только в том случае, если установлен флажок Use automatic marker detection (Использовать автоматическое обнаружение маркеров). Флажок установлен: отображает настройки для обнаружения маркеров (см. описание ниже). Здесь выбираются свойства калибровочных маркеров.

Настройки для обнаружения маркеров

Раздел Settings for marker detection (Настройки для обнаружения маркеров) отображается только, если установлен флажок **Use settings for marker detection** (Использовать настройки для обнаружения маркеров).

Опция	Описание
Threshold marker detection: high – low (Порог для обнаружения маркеров: высокий – низкий)	Низкий порог для обнаружения маркеров используется, когда невозможно точно распознать измерения корреляционных L-маркеров, например, когда держатель образца слегка засорен.
Marker color (Цвет маркера)	Здесь выбирается цвет маркеров, отображаемых на живом изображении. Белый: маркер белого цвета на темном фоне. Черный: темный маркер на светлом фоне. Авто: цвет маркера определяется автоматически.
Marker orientation (Ориентация маркера)	Здесь необходимо указать ориентацию L-маркеров на используемом держателе образца. Нажмите на соответствующую кнопку выбора ориентации калибровочного маркера, который отображается на живом изображении.

Чтобы перейти к следующему шагу мастера, нажмите кнопку **Next** (Далее).

15.3.4.2 Шаги 2–4. Calibration (Калибровка)

В шагах 2–4 мастер калибровки проведет вас через процесс калибровки.

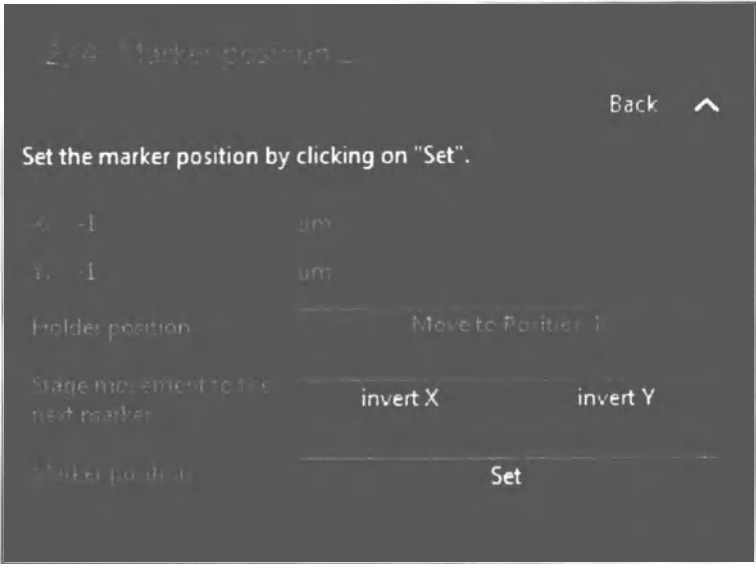


Рисунок 15.19. Мастер калибровки держателя образца

Опция	Функция
Позиция держателя	Кнопка Move to Position 1 (Переместить в Позицию 1) Перемещает столик в позицию 1 маркера. Это возможно, только если первая позиция была установлена заранее и даны X/Y-координаты. Кнопка Current (Текущая позиция) Отображается только для позиций 2 и 3 маркера. Перемещает столик в текущую позицию маркера. Это возможно, только если текущая позиция была установлена заранее и даны X/Y-координаты.
Stage movement to the next marker (Перемещение столика к следующему маркеру)	Здесь можно изменить перемещение столика в направлении X или Y. Это необходимо, если во время калибровки столик перемещается в неправильном направлении.
Marker position (Позиция маркера)	При нажатии на кнопку Set (Установить) подтверждается фактическая позиция маркера.

15.4 Приложение

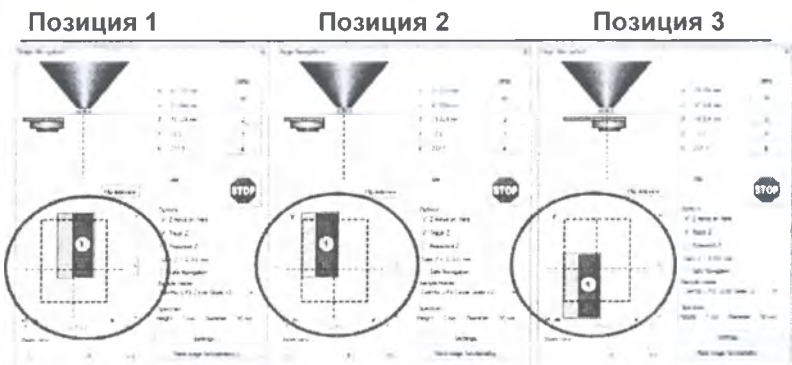
15.4.1 Модуль Shuttle & Find с EVO 10

Для использования модуля Shuttle & Find (программные и сопоставительные держатели) с EVO 10 убедитесь, что ограничения столика (для осей X, Y, Z) установлены следующим образом:

Stage Limits					
	Limit Hit	Low Limit	High Limit	Edit Low Limit	Edit High Limit
X	None	0.000 mm	80.000 mm	0.000 mm	80.000 mm
Y	None	0.000 mm	100.000 mm	0.000 mm	100.000 mm
Z	None	0.000 mm	35.000 mm	0.000 mm	35.000 mm
T	None	-1.0 °	90.0 °	-1.0 °	90.0 °
R	None	-380.0 °	380.0 °	-380.0 °	380.0 °
☐ R Limits Enabled					
Advanced >>					

Позиции держателя

Позиции держателя должны быть сориентированы, как показано на рисунках



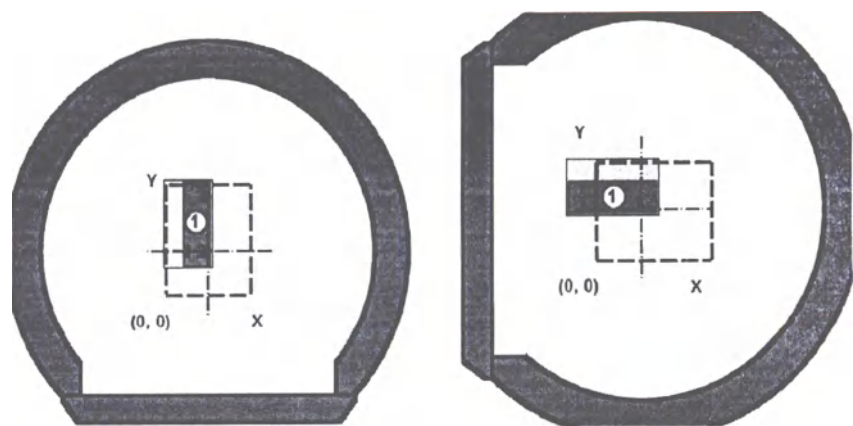
ПРИМЕЧАНИЕ

В случае неправильной ориентации невозможно перемещение столика ко всем корреляционным маркерам из-за ограничений столика для EVO 10.

- ❖ Держатель должен быть установлен в EVO так, чтобы корреляционные маркеры (1) и (2) располагались рядом с дверцей камеры, а маркер (3) располагался вдали от дверцы камеры (см. раздел Установка A/B).
- ❖ При необходимости SEM-изображение может быть повернуто в соответствии с LM-изображением с помощью опции **Scan Rotate** (Поворот сканирования) в SmartSEM.

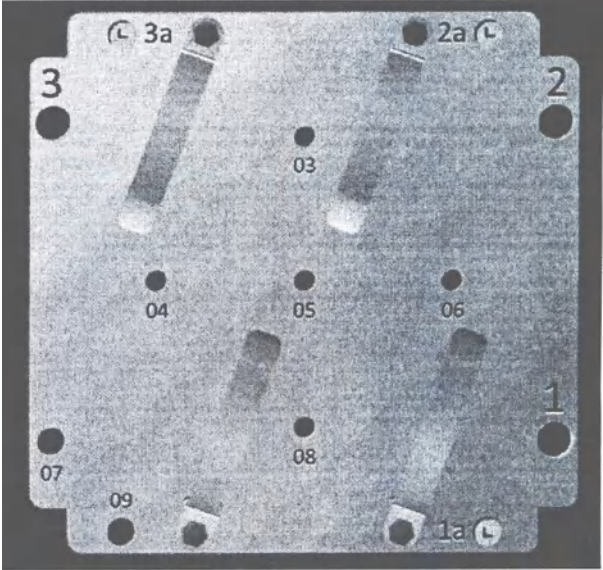
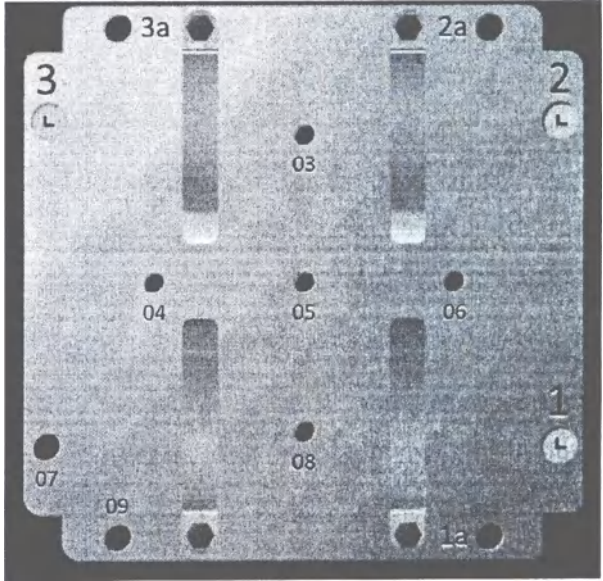
Монтаж A:

Монтаж B:



15.4.2 Сопоставительные держатели образца

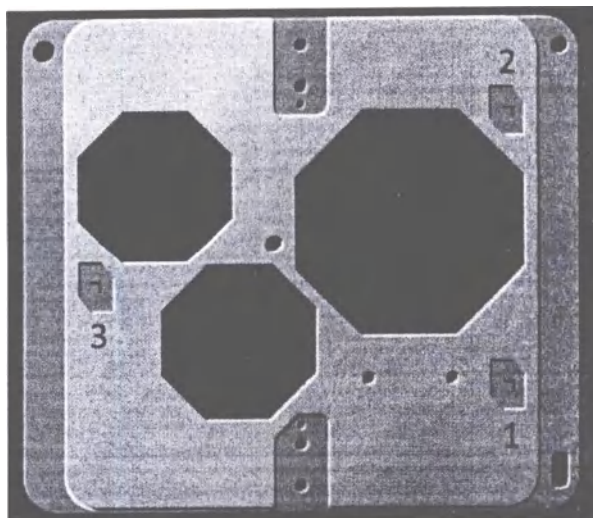
Название	Изображение
Life Science для покровных стекол 22x22	
Life Science для сеток ПЭМ	
Покровное стекло с координатными метками 22x22	

Название	Изображение
МАТ для плоских подставок А	
МАТ для плоских подставок	

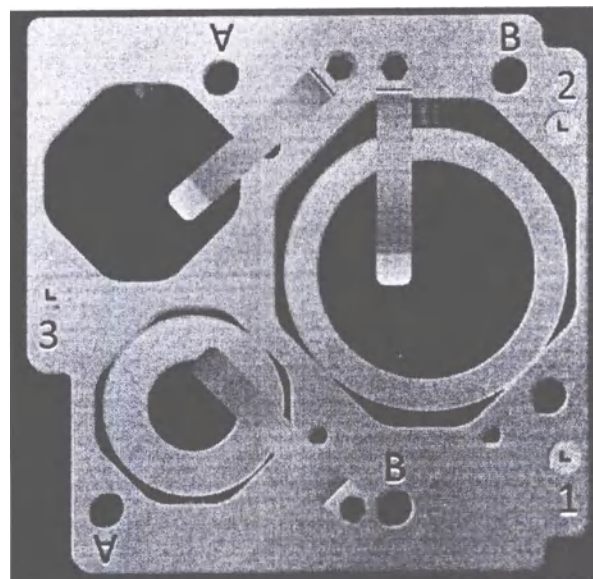
Название

Изображение

Универсальный
держатель MAT A



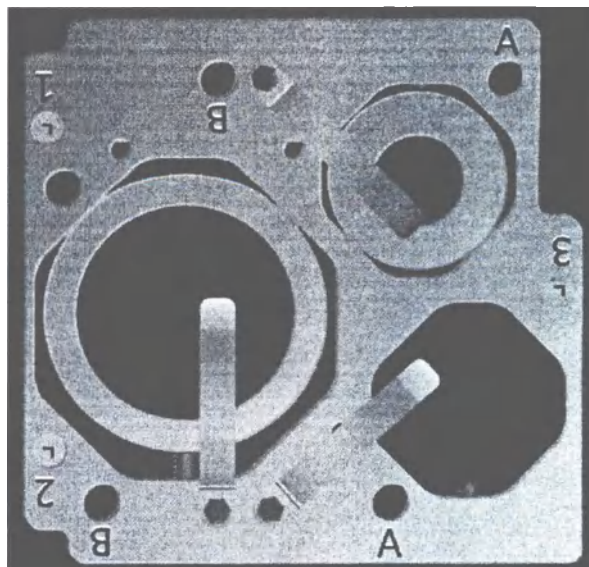
Универсальный
держатель MAT B_A



Название

Изображение

Универсальный
держатель MAT В_В



16 Модуль CAT

16.1 Введение

Матричная томография — метод объемной микроскопии, используемый для визуализации и восстановления трехмерных изображений серийных срезов. Образцы тканей или клеток, залитых смолой, разрезаются на последовательные срезы ультрамикротомом и собираются на подложке (например, покровном стекле). Последовательность срезов определяет позицию по оси Z и позволяет восстанавливать трехмерное изображение. Следовательно, разрешающая способность по оси Z результирующего трехмерного массива данных определяется толщиной среза.

Корреляция данных растрового электронного микроскопа (SEM), особенно в сочетании с изображением, полученным с помощью флуоресцентного микроскопа (LM), позволяет визуализировать флуоресцентно меченные биологические структуры в собственном ультраструктурном контексте не только в двухмерном, но теперь и трехмерном с помощью модуля ZEN Correlative Array Tomography (Корреляционная матричная томография ZEN).

Модуль ZEN Correlative Array Tomography (CAT)

Программный модуль ZEN Correlative Array Tomography (CAT) обеспечивает автоматическую визуализацию ультратонких серийных срезов (лент) с помощью оптического и растрового электронного микроскопов. После калибровки подложки и обнаружения срезов можно вручную определить в единичном срезе области интереса, которые будут автоматически перенесены на все остальные срезы. Затем выбранные области интереса можно визуализировать, используя разные методы контрастирования и разное увеличение на оптическом микроскопе.

В растровом электронном микроскопе ранее определенные области интереса будут автоматически визуализироваться после загрузки изображения, ранее полученного на оптическом микроскопе. Соответствующие последовательности двухмерных изображений, записанные LM и SEM, совмещаются в трехмерную серию срезов по оси Z с помощью интегрированных алгоритмов совмещения и корреляции модуля ZEN Correlative Array Tomography. Результатом этого процесса является корреляционный трехмерный массив данных, объединяющий информацию с LM и SEM в одном изображении.

Для выполнения корреляции необходимо установить один модуль CAT в широкопольной системе, а второй модуль в SEM. Подробная инструкция по корреляции представлена в разделе «Последовательность операций в CAT» [► 399].

Программный модуль может использоваться вместе с широкопольными микроскопами ZEISS, а также с растровыми электронными микроскопами ZEISS. Помимо инструмента CAT, модуль снабжен четырьмя мастерами. Подробное описание функций инструментов и мастеров можно найти в соответствующих главах.

■ **Инструмент Correlative Array Tomography**, см. раздел «Инструмент CAT» [► 438].

■ **Мастер калибровки**, см. раздел «Мастер калибровки держателя образца» [► 442].

■ **Мастер получения изображений**, см. раздел «Мастер получения изображений» [► 445].

■ **Мастер совмещения серии срезов по оси Z**, см. раздел «Мастер совмещения серии срезов по оси Z» [► 454].

- **Мастер корреляции**, см. раздел «Мастер корреляции» [► 456].

16.2 Общие подготовительные процедуры

16.2.1 Подготовка образца

Тип подложек/покровных стекол

Рекомендуем использовать покровные стекла, покрытые оксидом индия и олова и снабженные координатными метками. Оксид индия и олова минимизирует эффекты образования зарядов в растровом электронном микроскопе. Покровные стекла с координатными метками требуют выполнения дополнительных подготовительных процедур после визуализации образца с помощью оптического микроскопа и перед визуализацией с помощью растрового электронного микроскопа.

Нанесение серийных срезов на покровное стекло

■ Последовательность серийных срезов

Во время разделения на серийные срезы проверьте свое знание последовательности лент, а также точек начала и окончания лент.

■ Расположение серийных срезов на покровном стекле

Важно размещать серийные срезы в центре покровного стекла. Если срезы расположены слишком близко к краю покровного стекла, объектив может коснуться подложки во время получения изображения. В особенности это может произойти при использовании иммерсионных объективов. Это приведет к ошибочному расчету карты фокусировки или получению расфокусированных изображений.

■ Несколько лент (серийных срезов) на покровном стекле

Следите за тем, чтобы единичные серийные срезы не располагались в непосредственной близости друг к другу, поскольку это может нарушить программный алгоритм нумерации и привести к неправильной нумерации.

16.2.2 Предварительные настройки (оптический микроскоп)

Перед началом работы с модулем CAT необходимо проверить следующие настройки оптического микроскопа (аппаратные и программные настройки). Обычно система калибруется специалистом по техобслуживанию, но мы рекомендуем повторно проверять настройки после смены компонентов, например объективов или рефлекторных модулей. Поскольку эти общие настройки не описываются в настоящем руководстве, обратитесь к вашему специалисту по техобслуживанию или к интерактивной справке ZEN.

■ Проверка парцентричности и парфокальности

Обратите внимание, что калибровка парцентричности и парфокальности должна выполняться на TFT-дисплее микроскопа.

■ Проверка ориентации камеры и перемещения столика

Перед проверкой перемещения столика необходимо сначала проверить правильность ориентации камеры. Ориентация камеры должна соответствовать полю обзора, наблюдаемому в окуляр микроскопа. В противном случае измените ориентацию камеры в инструменте **Camera** (Камера).

Для проверки перемещения камеры рекомендуем получить мозаичное изображение и проверить правильность сшивки мозаик. В случае отрицательного результата нужно закрыть ПО ZEN и открыть ПО **MTB 2011**. В списке конфигураций раздела **Motorized Stage** (Электроприводный столик) следует изменить инверсию столика.

■ Коррекция равномерности освещения

Перед началом работы с CAT необходимо выполнить коррекцию равномерности освещения в ПО ZEN. Для этого ознакомьтесь с соответствующим разделом интерактивной справки ZEN.

16.2.3 Настройки эксперимента

Для работы в модуле CAT требуется сначала настроить эксперимент в ПО ZEN. Поскольку этот процесс описан в интерактивной справке ZEN, остановимся на наиболее важных для работы с модулем CAT настройках:

- В меню **Tools | Options | Acquisition | Acquisition** (Инструменты | Опции | Получение изображений | вкладка «Получение изображений») необходимо установить флажок **Enable Advanced Imaging Setup** (Активировать расширенные настройки визуализации).
- В инструменте **Imaging Setup** (Настройка визуализации) требуется включить режим **Show All** (Показать все).
- В инструменте **Imaging Setup** (Настройка визуализации) необходимо включить режим **Advanced Imaging Setup** (Расширенные настройки визуализации).
- В инструменте **Imaging Setup** (Настройка визуализации) в окне светового тракта требуется отрегулировать следующие настройки:
 - Опцию **Microscope Manager** (Менеджер микроскопа) следует исключить из всех настроек. Для исключения настройки нажмите на иконку компонента/параметра. Появится меню, в котором можно установить/убрать флажок **Include in this Setting (Включить в эту настройку)**. Если флажок не установлен, компонент/параметр будет исключен из выбранной настройки. Обратите внимание, что вам необходимо выбрать каждый параметр Before/After (До/После), проверить, исключены или включены эти компоненты, и отрегулировать их соответствующим образом.
 - Опцию **TL / RL Switch** (Переключатель «Проходящий свет/Отраженный свет») следует исключить из всех настроек.
 - Все опции **TL / RL Shutters** (Затворы «Проходящий свет/Отраженный свет») в оптическом пути должны быть включены во все настройки. Обратите внимание, что иконки включенных настроек будут выделены синим цветом.
 - Все **источники света** (TL / RL (Проходящий свет/Отраженный свет)) в оптическом пути должны быть включены во все настройки.
 - Все настройки интенсивности света должны быть одинаковыми (например, 2 В).
- В общем для настроек **Before Experiment** (До эксперимента) и **After Experiment** (После эксперимента) выполните следующие регулировки:
 - Все затворы (**Shutters**) должны быть закрыты.
- Пример настроек фазового контраста (Phase Contrast):
 - Для настроек **Before TL Phase** (До фазы проходящего света) выполните следующие регулировки:
 - Затвор проходящего света (**TL Shutter**) должен быть открыт.
 - Затвор отраженного света (**RL Shutter**) должен быть закрыт.

– Для настроек **After TL Phase** (После фазы проходящего света) выполните следующие регулировки:

- Затвор проходящего света (**TL Shutter**) должен быть закрыт.
- Затвор отраженного света (**RL Shutter**) должен быть закрыт.

■ Пример настройки одного флуоресцентного канала (Fluorescence Channel) (здесь DAPI):

– Для настроек **Before DAPI** (До DAPI) выполните следующие регулировки:

- Затвор проходящего света (**TL Shutter**) должен быть закрыт.
- Затвор отраженного света (**RL Shutter**) должен быть открыт.

– Для настроек **After DAPI** (После DAPI) выполните следующие регулировки:

- Затвор проходящего света (**TL Shutter**) должен быть закрыт.
- Затвор отраженного света (**RL Shutter**) должен быть закрыт.

16.3 Последовательность операций в CAT

16.3.1 Введение

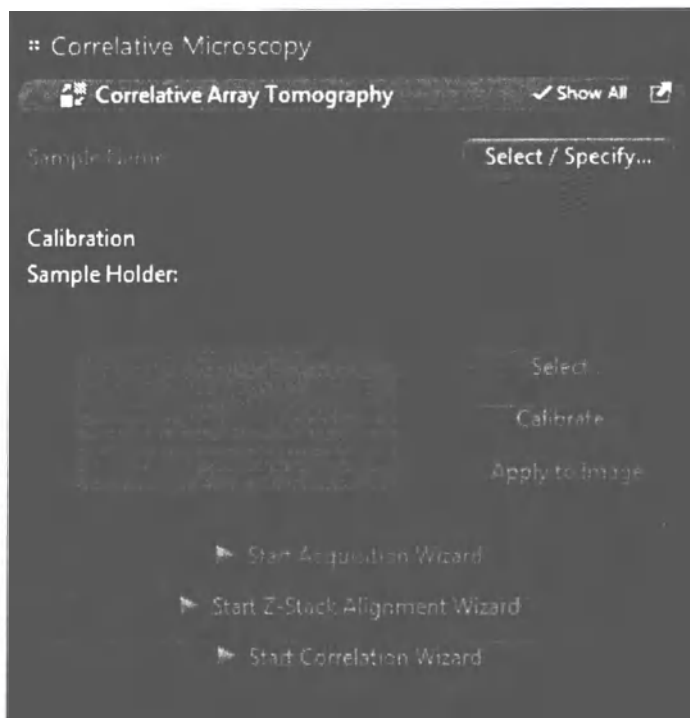
В этом разделе приведена информация о типичной последовательности операций в CAT. В этом разделе приводится вводная информация и последовательность операций в CAT. Начиная с общих подготовительных процедур и до получения изображения на оптическом микроскопе (LM) в этом разделе также описывается процедура получения изображений в растровом электронном микроскопе (SEM). После получения изображения мы подробно остановимся на выравнивании и корреляции изображений.

Обратите внимание, что здесь не приводится подробное описание процедуры настройки эксперимента, поскольку данный шаг выходит за рамки настоящего раздела, который посвящен, главным образом, последовательности операций в CAT. Вместо этого ознакомьтесь с разделом «Общие подготовительные процедуры» [►400], где описываются наиболее важные предварительные условия для проведения эксперимента в CAT. Здесь также не описывается процесс последующей обработки результирующих изображений.

16.3.2 Создание нового образца

Если вы настроили эксперимент в ZEN (например, многоканальный эксперимент), следующим этапом будет создание и выбор образца. Если вы впервые начинаете работу с программным обеспечением, вам сначала потребуется создать новый образец.

Необходимые предварительные условия ■ Открыт инструмент **Correlative Array Tomography** (Корреляционная матричная томография).



Порядок действий

- 1 Нажмите кнопку **Select / Specify** (Выбрать/Указать).
Откроется диалоговое окно **Select Sample** (Выбрать образец).
- 2 Нажмите кнопку  **Add** (Добавить) под элементом **List of specified samples** (Список указанных образцов).
Откроется диалоговое окно **New Sample** (Новый образец).
- 3 Введите необходимую информацию об образце: Name (Имя), Description (Описание), Number of sample carriers (Число подложек), Type of sample carrier (Тип подложки) и Section thickness (Толщина среза).

Примечание

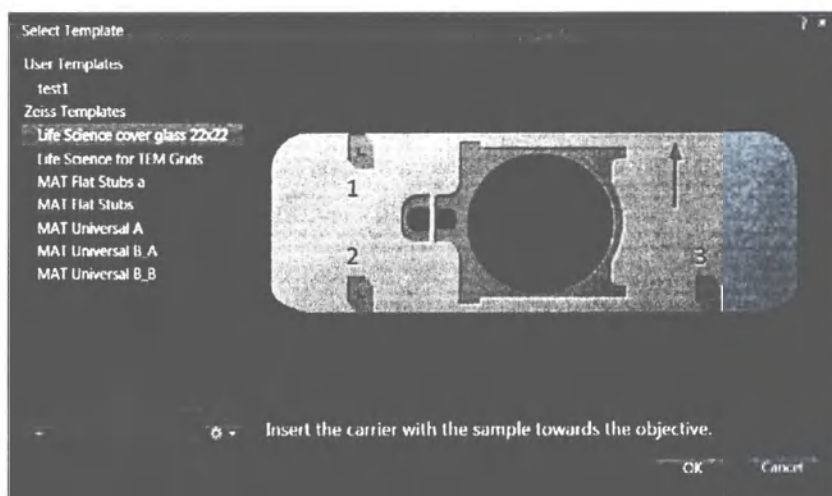
Обратите внимание, что важно указать точное количество подложек для нумерации лент/срезов в будущем. Информация об образце сохранится в данных изображения и будет использована для последующей обработки изображений и управления данными.

- 4 Нажмите **OK**.
Закроется диалоговое окно. Новый образец отобразится в списке указанных образцов (**List of specified samples**).
- 5 Выберите из списка новый образец и нажмите кнопку **OK**.
Вы создали и выбрали новый образец.

16.3.3 Выбор держателя образца

Необходимые предварительные условия ■ Открыто меню инструмента.

- Порядок действий
- 1 В разделе **Sample Holder** (Держатель образца) нажмите кнопку **Select...** (Выбрать...), чтобы открыть диалоговое окно **Select Template** (Выбор шаблона) и выбрать необходимый сопоставительный держатель образца. Для выбора доступны разные типы сопоставительных держателей, см. Приложение «Сопоставительные держатели образца» [► 459].
 - 2 В диалоговом окне **Select Template** (Выбор шаблона) выберите желаемый сопоставительный держатель. Если необходимо использовать собственные держатели, под списком нажмите кнопку  (Добавить) и следуйте инструкциям, приведенным в разделе «Создание нового шаблона держателя образца» [► 404].



- 3 Нажмите кнопку **ОК**, чтобы закрыть диалоговое окно.
Теперь можно перейти к калибровке держателя образца, описанной в разделе «Калибровка держателя образца» [► 406]. Обратите внимание, что калибровка держателя образца обязательна для получения изображений.

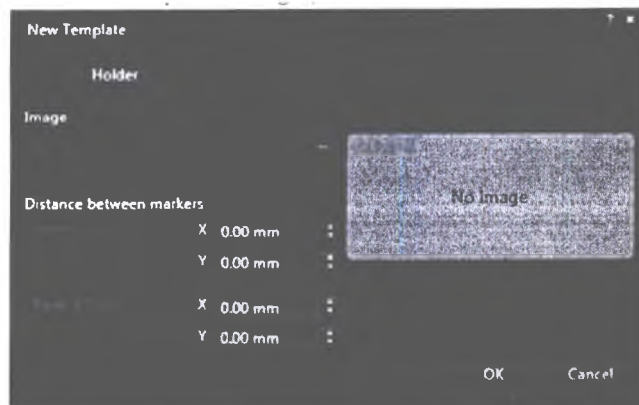
16.3.4 Создание нового шаблона держателя образца

С помощью этого диалогового окна можно задать новые сопоставительные держатели в дополнение к существующим шаблонам держателей. Необязательно использовать сопоставительные держатели компании ZEISS. Также можно использовать пользовательские сопоставительные держатели с тремя координатными метками.

Порядок действий

- 1 Чтобы открыть диалоговое окно нажмите кнопку  **Add** (Добавить) в диалоговом окне **Select Template** (Выбор шаблона). Это диалоговое окно можно открыть с помощью инструмента **Shuttle & Find**.

Откроется новое диалоговое окно **New Template** (Новый шаблон).



- 2 Введите имя нового держателя/подложки. Также можно загрузить изображение нового держателя.
- 3 Укажите расстояния (в мм) между первым и вторым маркером и между вторым и третьим маркером.

Расстояния можно определить в диалоговом окне **Stage Control** (Управление столиком), доступном в инструменте **Light Path** (Оптический путь) во вкладке **Right Tool Area** (Правая область инструментов). Рекомендуем сделать это до начала работы в диалоговом окне **New template** (Новый шаблон). Запишите расстояния, чтобы ввести их в диалоговом окне **New Template** (Новый шаблон).

- 1 Активируйте наблюдение в режиме реального времени в центральной области экрана, нажав кнопку **Live** во вкладке **Locate** (Местоположение).
- 2 Вручную с помощью джойстика переместите столик к калибровочному маркеру на держателе образца X/Y-координаты маркера.
- 3 Повторите эту процедуру для всех трех маркеров и определите расстояние между маркером 1 и маркером 2, а также между маркером 2 и маркером 3 соответственно.



Рисунок 16.1. Инструмент Stage

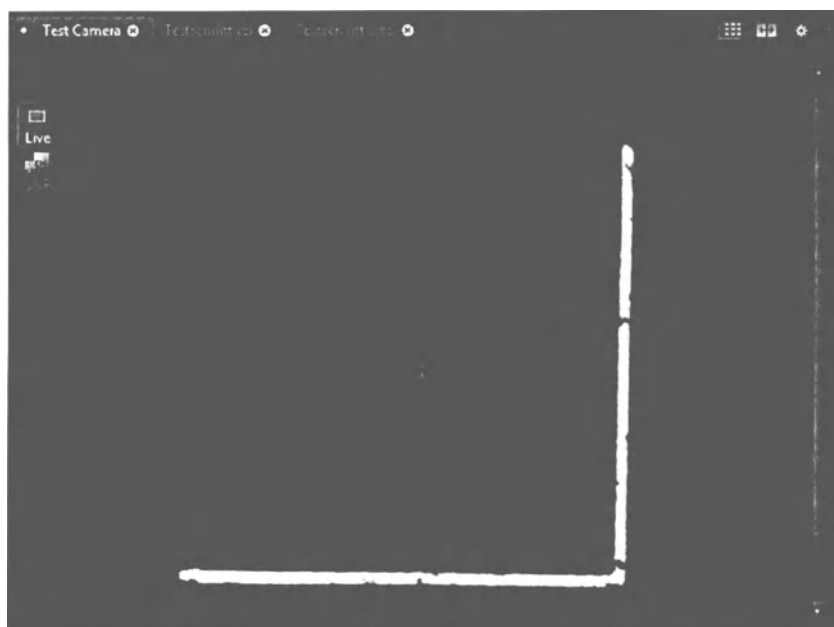
16.3.5 Калибровка держателя образца

Сопоставительные держатели снабжены тремя координатными метками, позволяющими выполнять трехточечную калибровку (обозначены номерами 1-2-3). Калибровочные маркеры состоят из одного малого (длиной 50 мкм) и одного большого L-образного маркера (длиной 1 мм). Большой маркер служит для приблизительного ориентирования, в то время как малый маркер используется для калибровки.

16.3.5.1 Подготовка к калибровке

Порядок действий

- 1 Активируйте наблюдение в режиме реального времени в **центральной области экрана**, нажав кнопку **Live** во вкладке **Acquisition** (Получение изображений).
- 2 Вручную с помощью джойстика переместите столик к первому калибровочному маркеру на держателе образца (отмечен номером «1»). Достаточно переместить столик к большому L-образному калибровочному маркеру. Малый маркер будет автоматически обнаружен мастером калибровки держателя образца (**Sample Holder Calibration Wizard**). Для определения позиций маркеров рекомендуем использовать сухой объектив с малым увеличением (5х–20х).



- 3 Откройте инструмент.
- 4 Нажмите кнопку **Calibrate...** (Калибровать...), чтобы открыть **мастер калибровки держателя образца** (**Sample Holder Calibration Wizard**).

16.3.5.2 Настройка опций калибровки

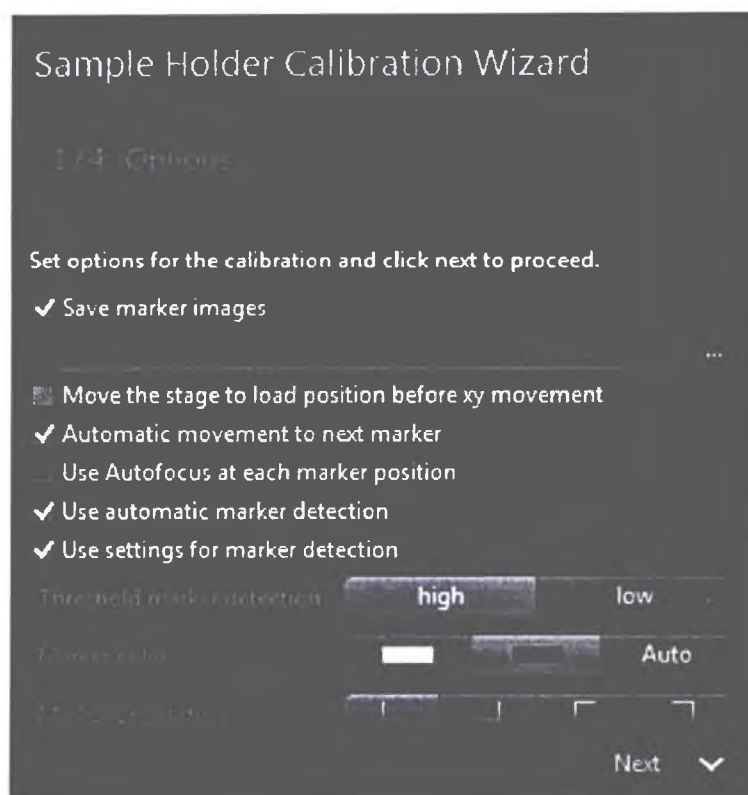


Рисунок 16.2. Опции мастера калибровки держателя образца

Для рекомендуемого порядка выполнения калибровки в шаге 1 мастера следует активировать следующие опции:

- | | |
|------------------|---|
| Порядок действий | <ol style="list-style-type: none"> 1 Проверьте, установлен ли флажок Automatic movement to next marker (Автоматическое перемещение к следующему маркеру).
Таким образом столик автоматически переместится к следующему маркеру после подтверждения позиции маркера и нажатия кнопки Next (Далее). 2 Проверьте, установлен ли флажок Use automatic marker detection (Использовать автоматическое обнаружение маркеров).
Программное обеспечение автоматически попытается обнаружить правильные позиции каждого маркера.
Если необходимо изменить цвет маркера или проверить правильность ориентации маркера, для доступа к этим функциям установите флажок Use settings for marker detection (Использовать настройки для обнаружения маркера). 3 Нажмите кнопку Next (Далее) для перехода к следующему шагу мастера. |
|------------------|---|

16.3.5.3 Выполнение калибровки

- | | |
|------------------|---|
| Порядок действий | <ol style="list-style-type: none"> 1 Нажмите кнопку Set (Установить) для определения позиции первого маркера.
Будет выполнена автоматическая калибровка столика. После калибровки столика система автоматически попытается определить позицию малого маркера. |
|------------------|---|

Появится сообщение с запросом о подтверждении правильности обнаружения маркера.

- 2 Нажмите **Yes** (Да) для подтверждения сообщения.

! Примечание

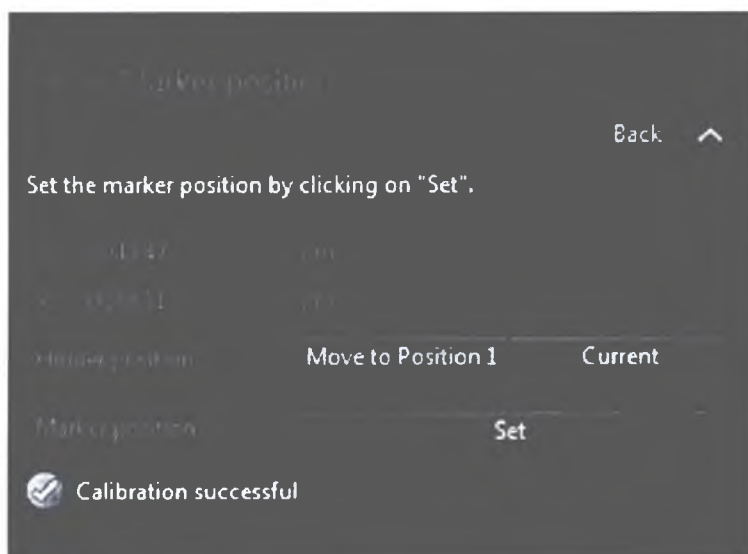
В случае неправильного обнаружения маркера вы можете задать позицию маркера вручную. Просто нажмите левой кнопкой мыши на перекрестие L-маркера на изображении, и эта позиция будет принята системой. Убедитесь, что вы всегда выбираете одну и ту же точку калибровки на каждом L-маркере.

- 3 Нажмите кнопку **Next** (Далее) для перехода к следующему шагу мастера.

Столик автоматически переместится (приблизительно) к позиции следующего маркера. Если столик перемещается в неверном направлении, то для корректировки движения можно воспользоваться кнопками **Invert X / Invert Y** (Инвертировать X / Инвертировать Y).

- 4 Повторите предыдущие шаги и установите позиции маркеров 2 и 3 соответственно.

После определения позиции маркера 3 отобразится зеленая иконка с галочкой, обозначающая успешное завершение процесса калибровки.



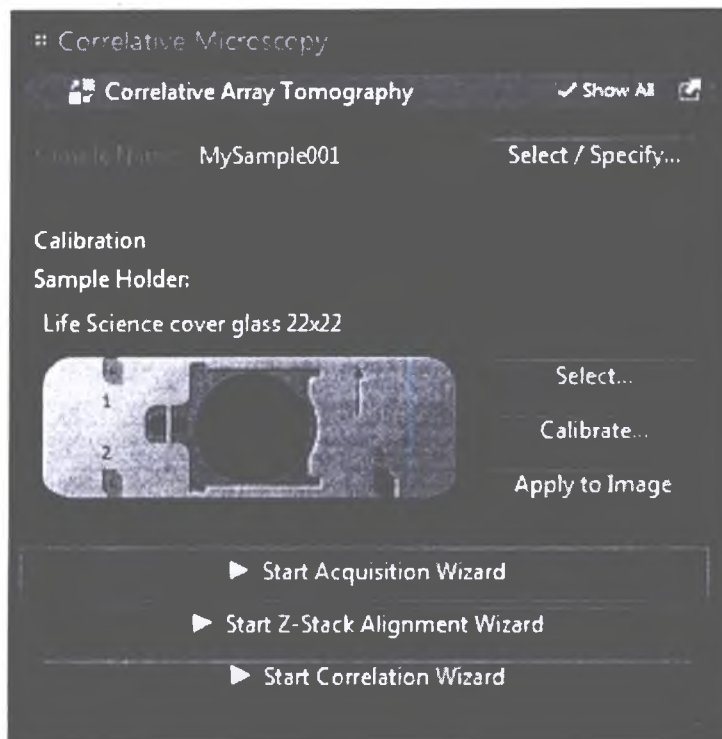
- 5 Нажмите кнопку **Finish** (Готово), чтобы сохранить результаты калибровки и закрыть мастер калибровки.

Для проверки правильности калибровки получите изображение и откройте **древовидное меню** (Tree view) в центральной области экрана. В меню должен отобразиться список с сопоставительными калибровочными данными. Если древовидное меню (Tree view) не отображается, перейдите в **Tools | Options | Documents** (Инструменты | Опции | Документы) и установите флажок **Enable Tree View** (Активировать древовидное меню).

16.3.6 Получение LM-изображений

16.3.6.1 Введение

Получение изображений осуществляется с помощью мастера получения изображений (Acquisition Wizard), который открывается в инструменте CAT.



Мастер включает в себя семь шагов:

- *Overview Imaging* (Обзорная визуализация) [►409].
- *Ribbon Definition* (Определение лент (по усмотрению)) [►411].
- *Ribbon Imaging* (Визуализация лент (по усмотрению)) [►412].
- *Section Specification* (Определение срезов) [►414].
- *ROI Specification* (Определение областей интереса) [►418].
- *ROI Imaging* [►420].
- *Re-Shoot* (Повторная съемка (по усмотрению)) [►421].

16.3.6.2 Получение обзорного изображения

Необходимые предварительные условия ■ Запущен мастер получения изображений (Acquisition Wizard) инструмента CAT.

- Вы находитесь в шаге **1/7 Overview Imaging** (Обзорная визуализация).

- Порядок действий
- 1 Проверьте, выбран ли режим **Image Acquisition** (Получение изображений). При входе в мастер эта настройка устанавливается по умолчанию.
 - 2 В выпадающем списке **Experiment** (Эксперимент) выберите подготовленный заранее эксперимент.

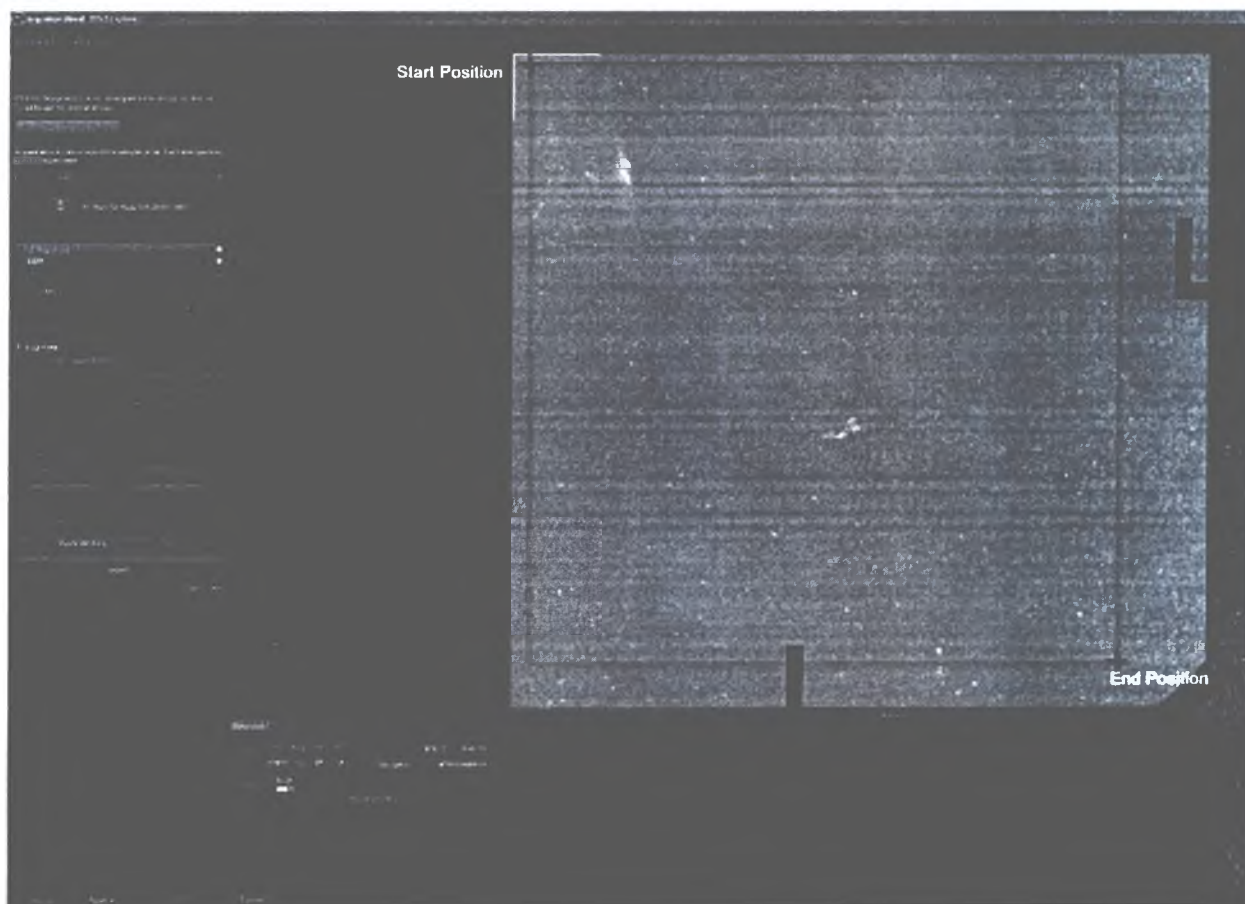
- 3 В списке **Objective** (Объектив) выберите объектив с малым увеличением, например 5x.
- 4 Выберите канал (**Channel**) и источник света (**Light Source**), используемые для получения обзорного изображения. Для обзорного изображения рекомендуем выбирать режим канала **Phase contrast** (Фазовый контраст).

i Примечание

Следите за тем, чтобы флажок **Auto** (Авто) во вкладке **Dimensions** (Измерения) был убран.

- 5 Переместите столик в верхний левый угол используемого образца.
- 6 Нажмите кнопку **Set start position** (Установить начальную позицию) для определения начальной позиции обзорного изображения.
- 7 Переместите столик в нижний правый угол используемого образца.
- 8 Нажмите кнопку **Set end position** (Установить конечную позицию) для определения конечной позиции обзорного изображения.
- 9 Нажмите кнопку **Acquire Overview Image** (Получить обзорное изображение).

Будет получено обзорное изображение. Затем должен отобразиться весь образец со всеми лентами, подлежащими визуализации.



- 10 Нажмите кнопку **Apply Stitching** (Применить сшивку) для устранения смещения между единичными мозаичными изображениями.

Вы успешно получили обзорное изображение. Теперь можно перейти к следующему шагу, нажав кнопку **Next** (Далее).

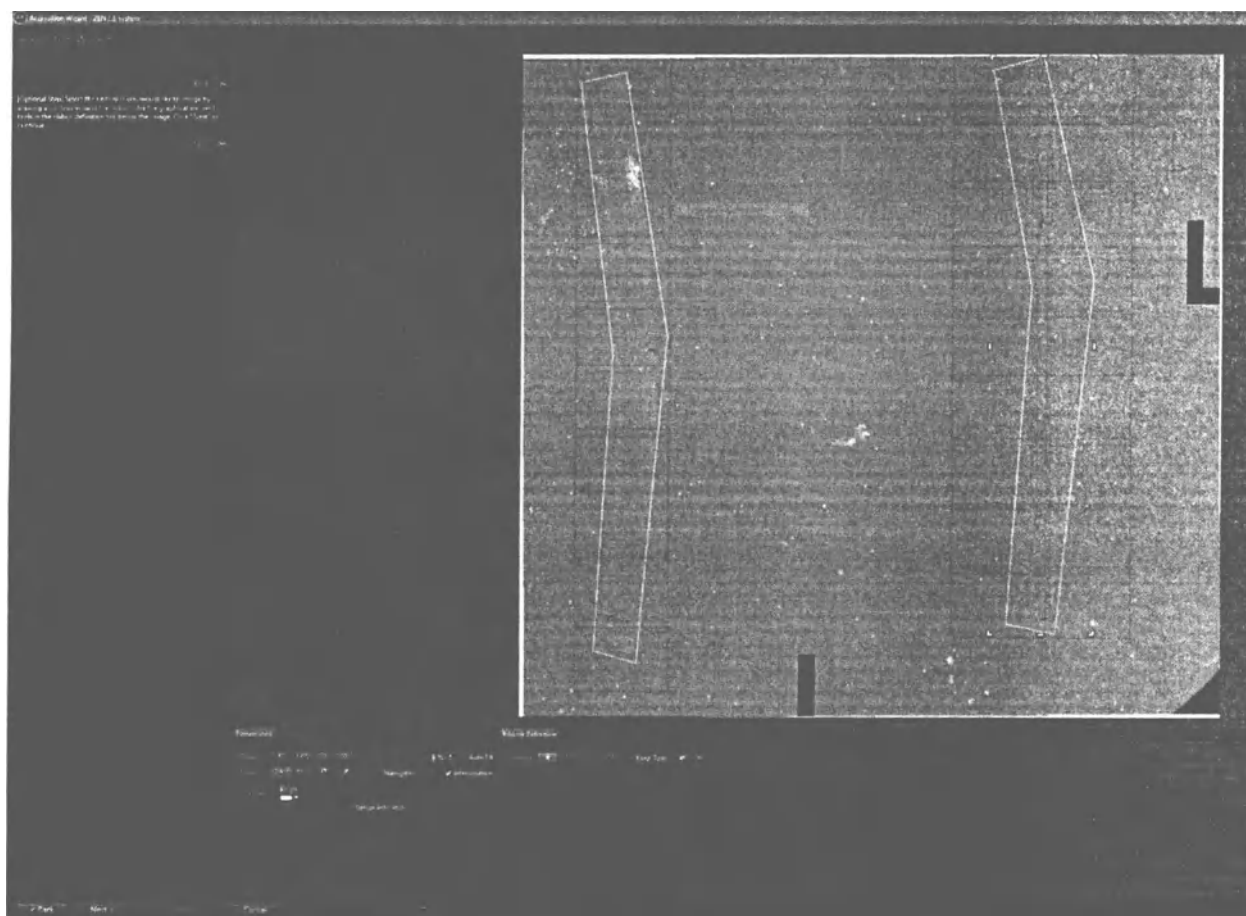
16.3.6.3 Определение лент

Примечание

Если для определения областей интереса в этих срезах подробная информация об образце не требуется, этот шаг вместе с шагом 3 **Ribbon imaging** (Визуализация лент) можно пропустить. В этом случае можно сразу перейти к шагу 4 *Section specification* (Определение срезов) [► 414].

Необходимые предварительные условия ■ Вы находитесь в шаге **2/7 Ribbon Definition** (Определение лент) мастера получения изображений.

- Порядок действий** 1 Для выделения контурных линий лент, подлежащих визуализации, воспользуйтесь инструментами вкладки **Ribbon Definition** (Определение лент). Контурные линии выделяются желтым цветом.



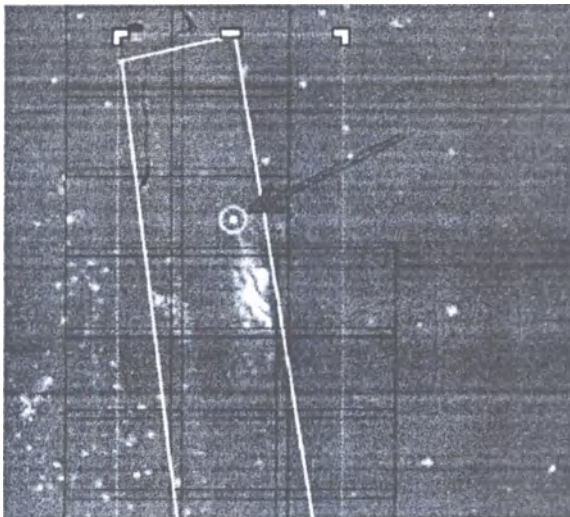
Программное обеспечение автоматически создаст необходимое для визуализации лент число мозаик. Число мозаик зависит от выбранного объектива. Фреймы мозаик будут отображаться красным цветом. После выделения контуров нажмите кнопку **Next** (Далее).

16.3.6.4 Визуализация лент

Обратите внимание, что это необязательный шаг, который выполняется только после определения лент в шаге 2. В общих словах, необходимо выполнить те же действия, что и в шаге 1, но используя объектив с более высоким разрешением и применяя **стратегию общего фокусирования** (Global focus strategy) из раздела **Focus Surface** (Фокальная поверхность).

Необходимые предварительные условия ■ Вы находитесь в шаге 3/7 **Ribbon Imaging** (Визуализация лент).

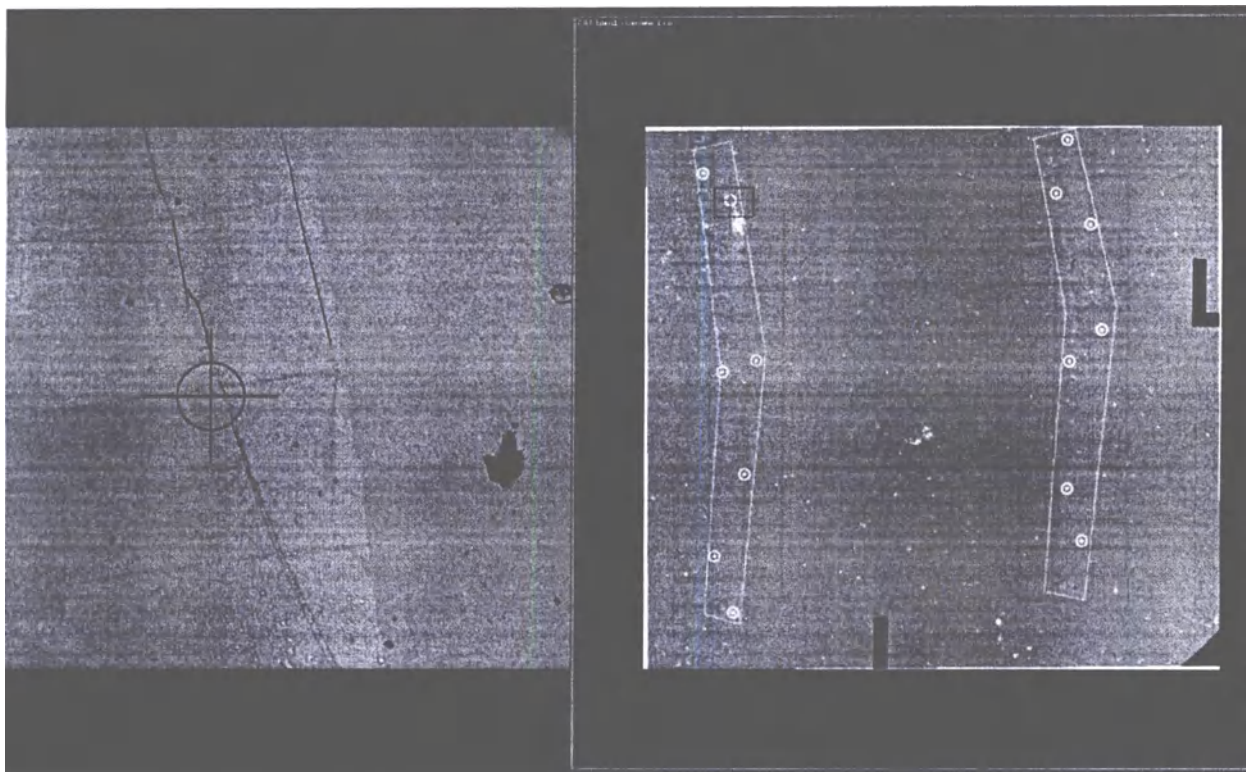
- Порядок действий
- 1 Напротив элемента **Objective** (Объектив) выберите объектив с более высоким увеличением, чем для обзорного изображения, например 10x. Этот объектив должен обеспечить четкое распознавание структур интереса используемого образца.
 - 2 В меню **Focus Surface** (Фокальная поверхность) выберите **Global (all Regions/Ribbons)** (Общая (все области/ленты)).
 - 3 Нажмите кнопку **Distribute Support Points...** (Распределить контрольные точки...).
Контрольные точки будут автоматически распределены по лентам. Они отобразятся в виде окружностей желтого цвета с точкой в середине.



- 4 При необходимости можно продолжить добавление контрольных точек с помощью кнопки **+** (Добавить), расположенной под кнопкой **Distribute Support Points** (Распределить контрольные точки). Просто нажмите в том месте на изображении, где нужно добавить еще одну контрольную точку.
- 5 Нажмите кнопку **Verify Support Points** (Проверить контрольные точки).

Теперь можно проверить, находятся ли все контрольные точки в фокусе. В правом графическом контейнере появится обзорное изображение, а в левом графическом контейнере — детальное изображение. Процесс верификации начнется с первой установленной контрольной точки. Текущая контрольная точка отмечена перекрестием красного цвета. Если

включить опцию **Show stage position within the image** (Показать позицию столика на изображении) во вкладке **Ribbon Definition** (Определение лент) под **центральной областью экрана**, текущая позиция столика на изображении будет обозначена прямоугольником с синей пунктирной рамкой.



- 6** Удерживая клавишу *CTRL*, колесиком мыши отрегулируйте фокус соответствующей контрольной точки.

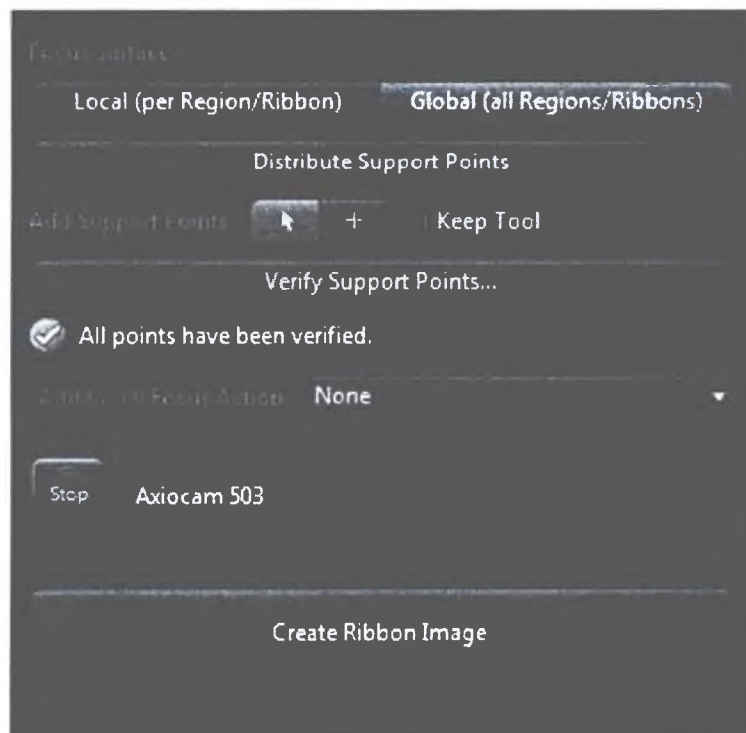
i Примечание

Регулируйте фокус только колесиком мыши. При использовании колесика мыши учитывается коррекция люфта. Не используйте колесико фокусировки на штативе микроскопа.

- 7** Когда контрольная точка окажется в фокусе, нажмите кнопку **Confirm** (Подтвердить).

Программа автоматически переместится к следующей контрольной точке.

- 8 Выполняйте последние 2 шага, пока не исправите и не подтвердите все контрольные точки. По окончании процесса появится сообщение “All points have been verified” («Все точки подтверждены»).



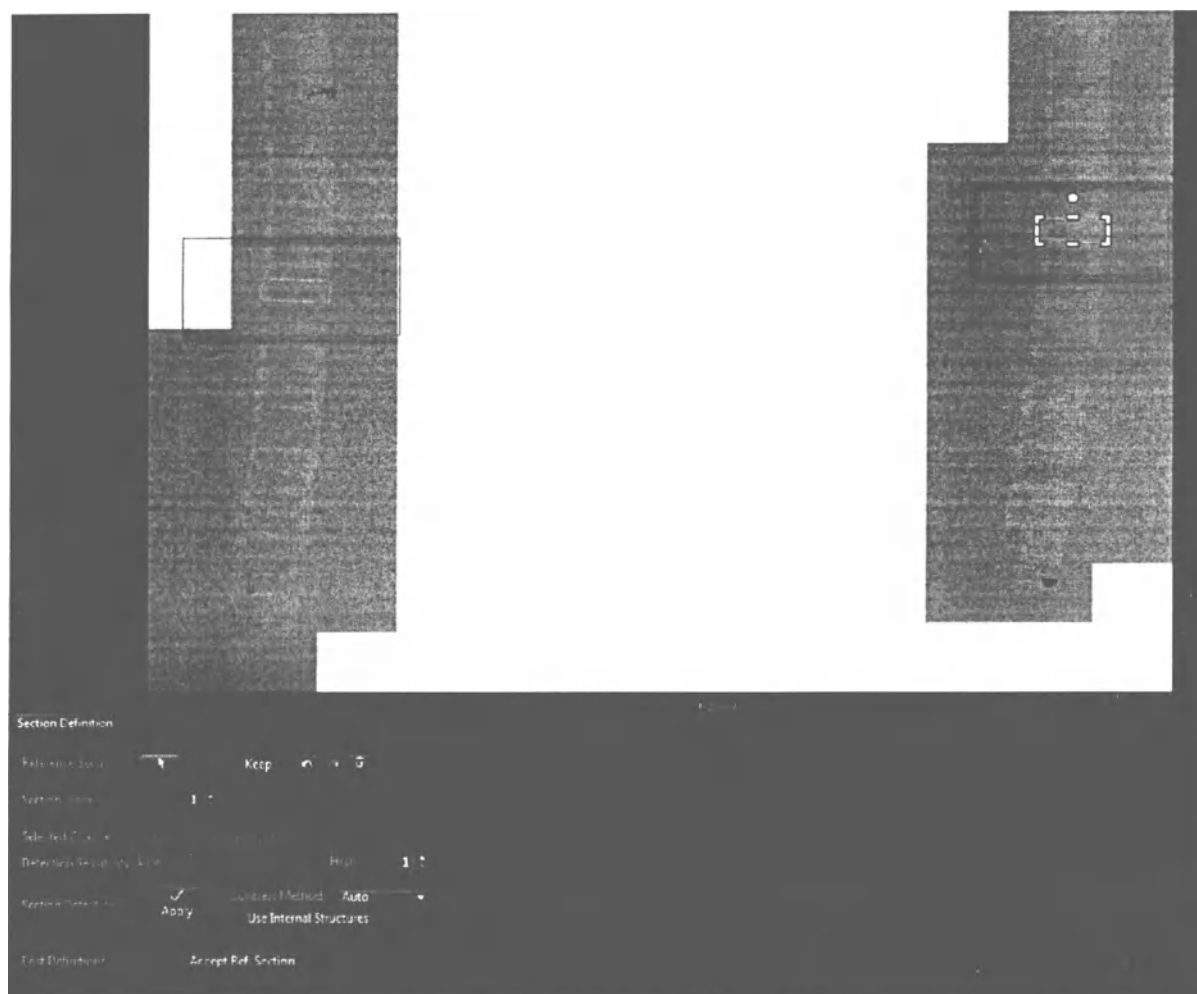
- 9 Нажмите на кнопку **Create Ribbon Image** (Создать изображение ленты).
- Будет сгенерировано изображение ленты. Обратите внимание, что каждая лента отображается как одна сцена.
- 10 Рекомендуем нажать кнопку **Apply Stitching** (Применить сшивку) для устранения смещения между единичными мозаиками.
- Вы получили изображение ленты и теперь можете перейти к следующему шагу, нажав кнопку **Next** (Далее).

16.3.6.5 Определение срезов

В этом шаге все срезы будут определены с помощью алгоритма обнаружения срезов. В общих словах, вам необходимо отметить очертания не менее одного среза в каждой ленте. Затем с помощью алгоритма обнаружения срезов будут автоматически определены срезы лент. Если функция автоматического обнаружения срезов работает неправильно или определяются не все срезы, вы можете отметить недостающие срезы. Также можно редактировать форму, местоположение и ориентацию фреймов срезов.

Необходимые предварительные условия ■ Вы находитесь в шаге **4/7 Section Specification** (Определение срезов).

- | | |
|------------------|---|
| Порядок действий | <ol style="list-style-type: none"> 1 Во вкладке Section Definition (Определение среза) выберите инструмент Polygon (Многоугольник). 2 Отметьте очертания не менее одного среза в каждой ленте. Очертания этих эталонных контуров обозначены оранжевым цветом. |
|------------------|---|

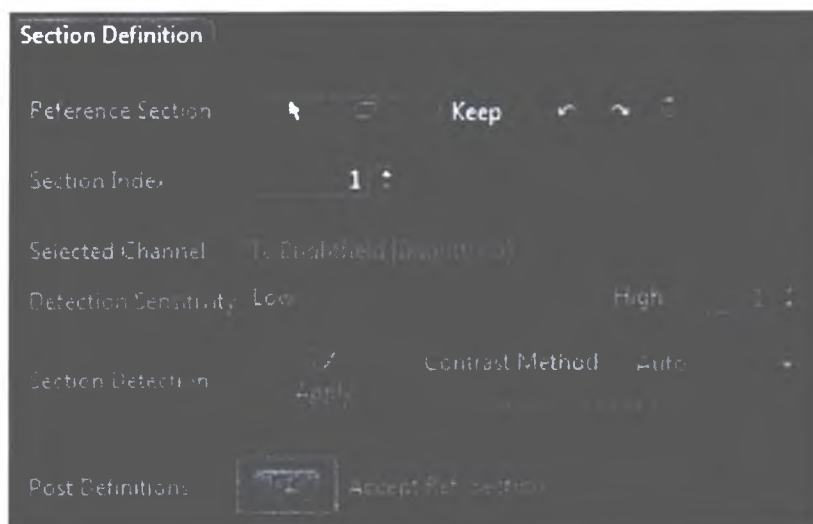


3 Нажмите кнопку **Apply** (Применить).

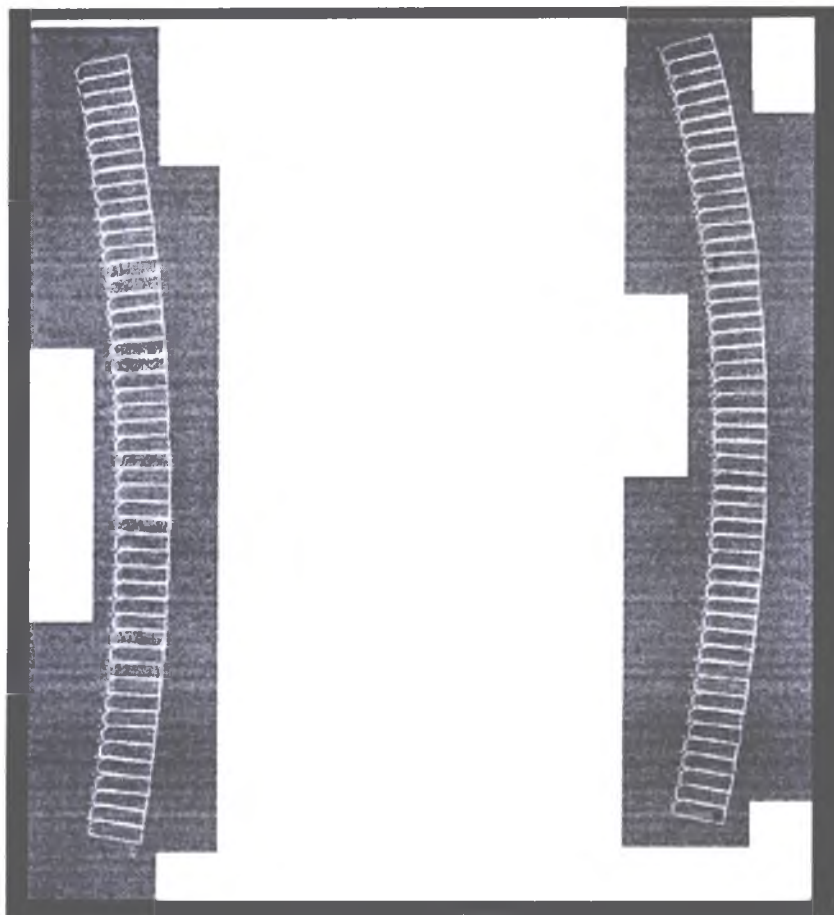
Программное обеспечение попытается автоматически обнаружить оставшиеся срезы. По окончании этого процесса обнаруженные срезы будут обозначены зеленым цветом.



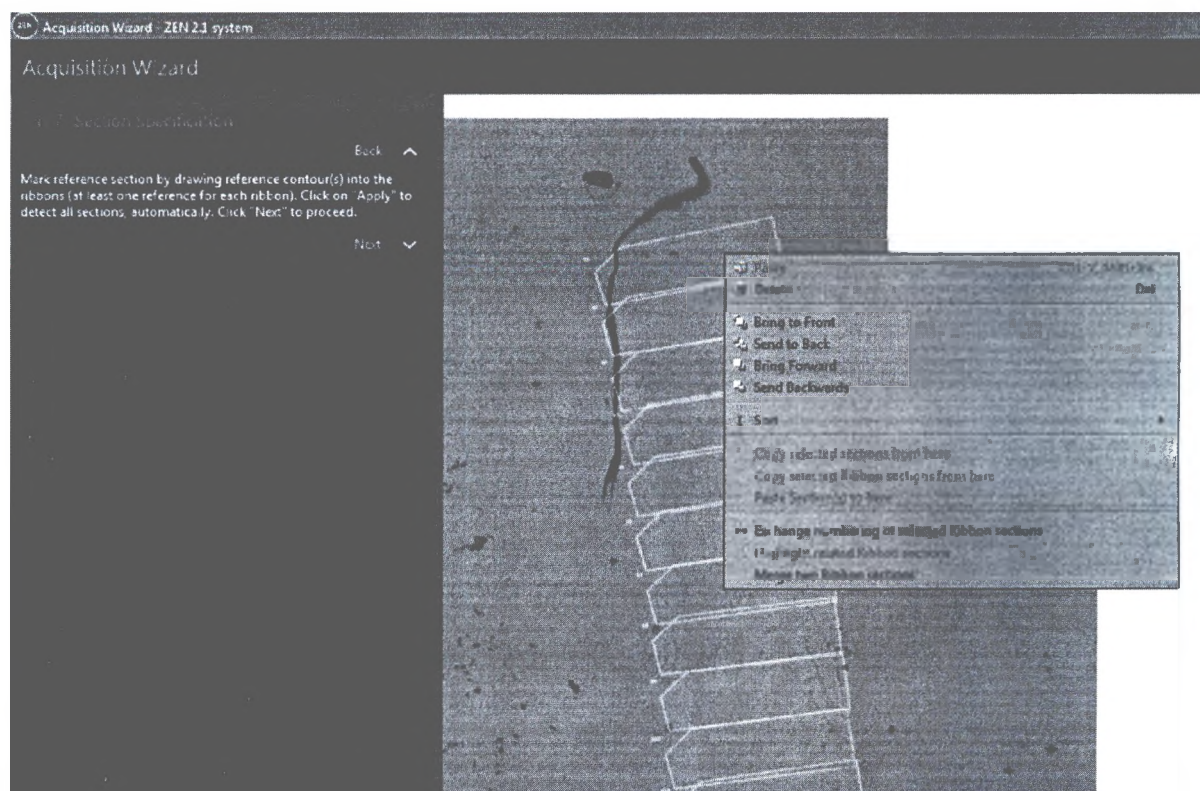
- 4 Если были обнаружены не все срезы, отметьте последний обнаруженный срез и активируйте инструмент **Stamp** (Штамп) во вкладке **Section Definition** (Определение среза).



- 5 Отметьте недостающие срезы таким образом, чтобы был выделен каждый срез.



Внимательно проверьте нумерацию срезов. Правильная нумерация — необходимое условие успешного выравнивания срезов в будущем. Нумерация лент зависит от их размещения во время резки. Для настройки нумерации в контекстном меню доступны несколько опций. Для того чтобы открыть контекстное меню, поместите курсор над срезом и щелкните правой клавишей мыши.

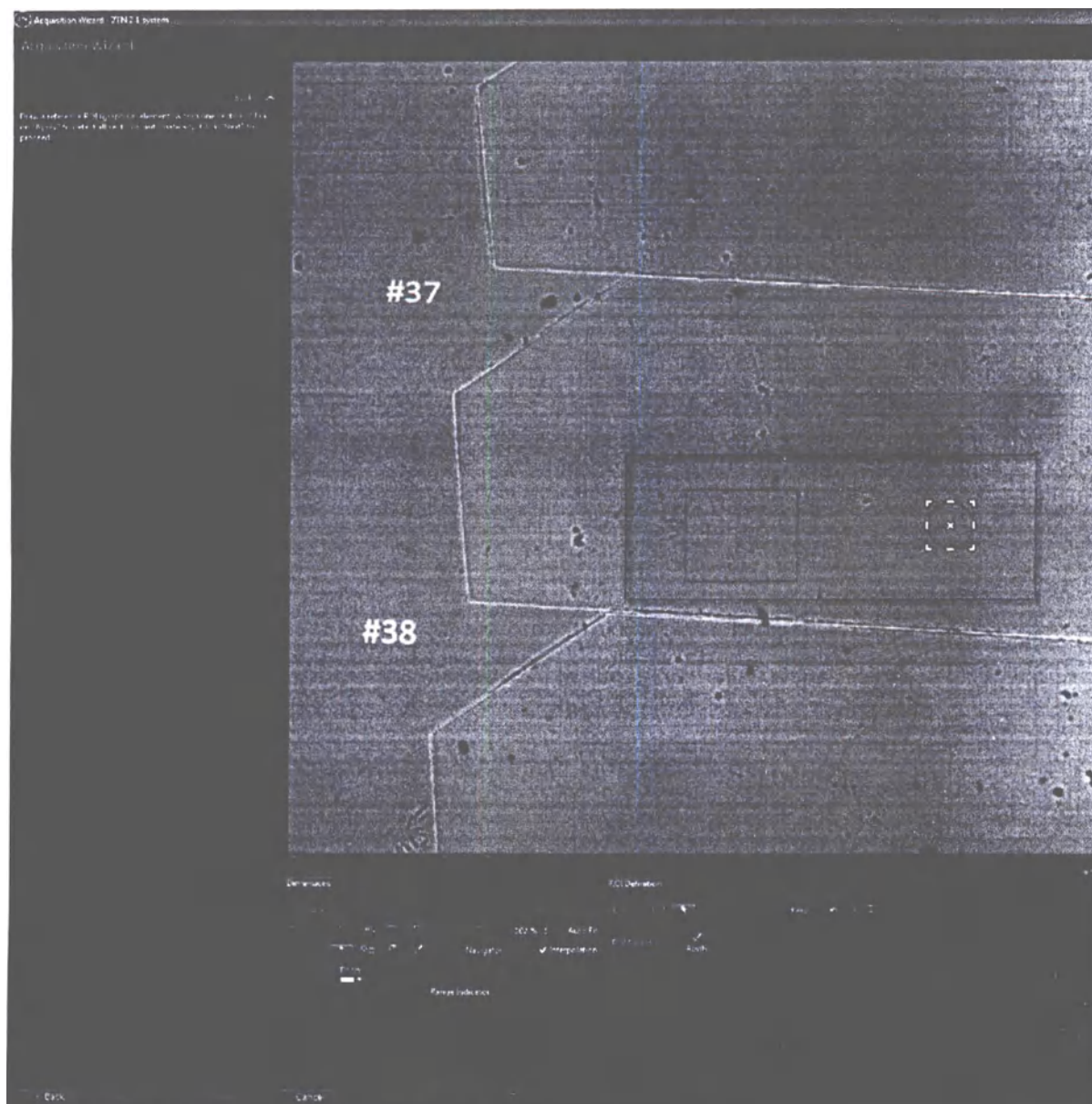


В случае правильной нумерации перейдите к следующему шагу мастера, нажав кнопку **Next** (Далее).

16.3.6.6 Определение областей интереса

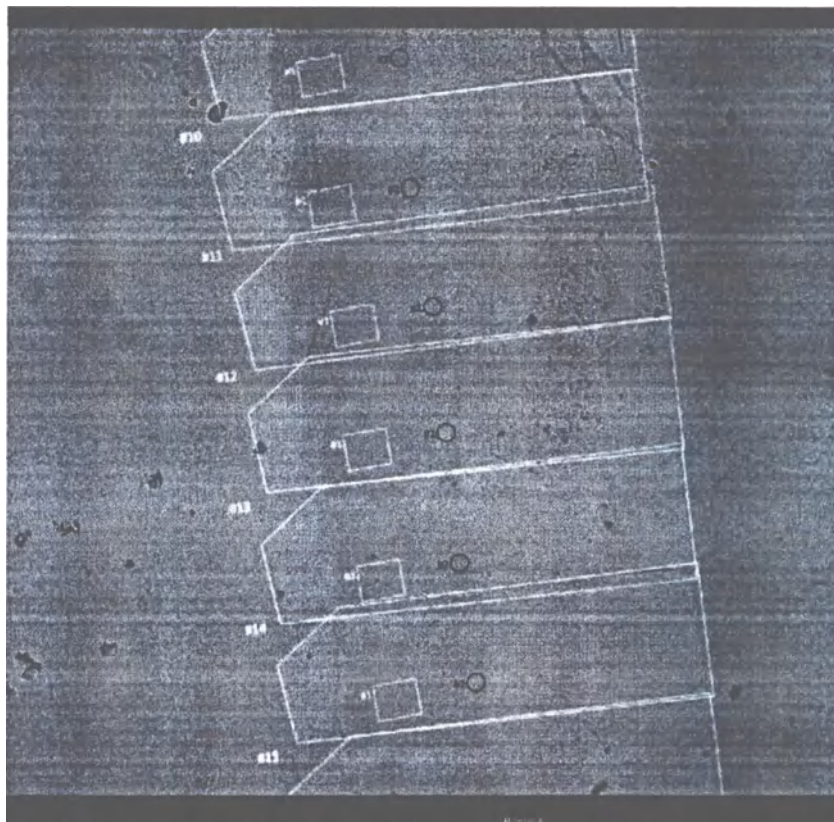
Необходимые предварительные условия ■ Вы находитесь в шаге **5/7 ROI Specification** (Определение областей интереса).

- | | |
|------------------|---|
| Порядок действий | <ol style="list-style-type: none"> 1 Во вкладке ROI Definition (Определение областей интереса) выберите необходимый инструмент для маркирования области интереса, например Rectangle (Прямоугольник) или Circle (Круг). 2 Отметьте желаемые области интереса в одном срезе. Отмеченные области интереса будут выделены пурпурным цветом. |
|------------------|---|



3 Нажмите кнопку **Apply** (Применить).

Программное обеспечение расположит заданные области интереса в каждом срезе по контурам срезов. Обнаруженные области интереса появятся на каждом срезе лент.



В случае правильного обнаружения областей интереса перейдите к следующему шагу мастера, нажав кнопку **Next** (Далее).

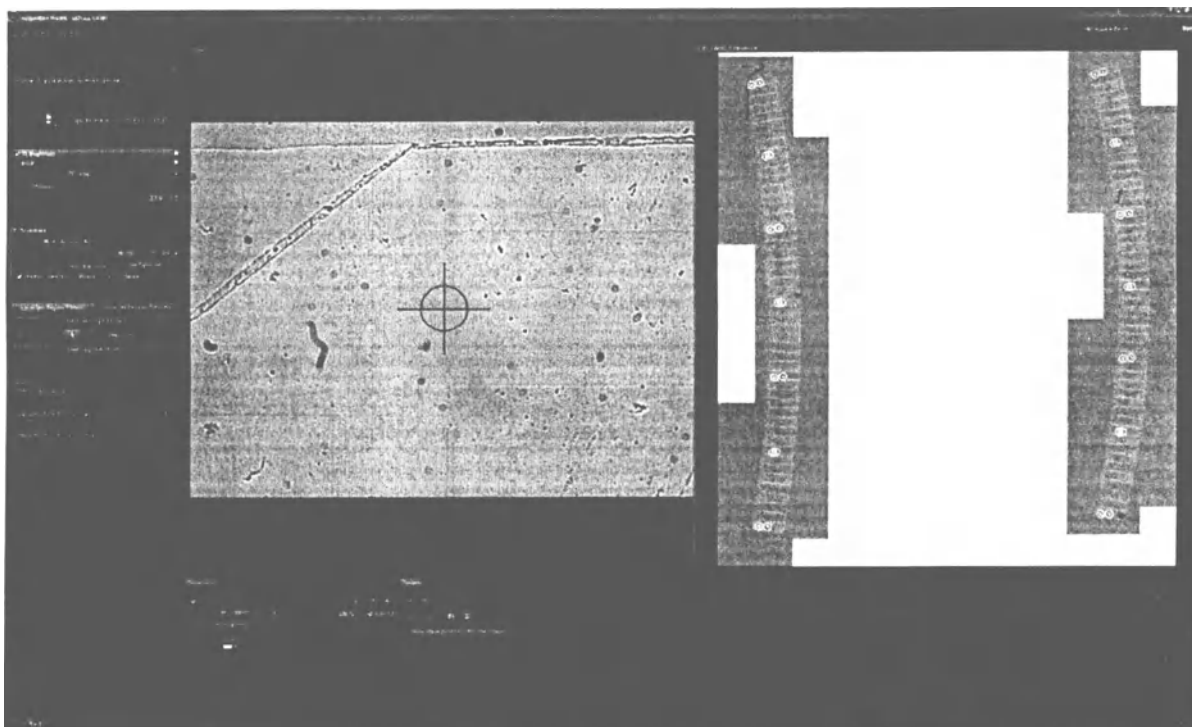
16.3.6.7 Визуализация областей интереса

В этом шаге выполняется визуализация областей интереса с помощью объектива с большей кратностью увеличения и применяется стратегия локального фокусирования. В результате будут получены очень детальные и четкие изображения областей интереса, которые будут использованы для последующей обработки (например, создания серии срезов по оси Z и корреляции с SEM-изображениями).

Необходимые предварительные условия ■ Вы находитесь в шаге **6/7 ROI Imaging** (Визуализация области интереса).

- | | |
|-------------------------|--|
| Порядок действий | <ol style="list-style-type: none"> 1 Напротив элемента Objective (Объектив) выберите объектив с большей кратностью увеличения, например 63x. 2 Теперь, при использовании флуоресцентных образцов, можно активировать соответствующий флуоресцентный канал. 3 Под элементом Focus Surface (Фокальная поверхность) выберите опцию Local (per Region / Ribbon) (Локальная (на область/ленту)). 4 Нажмите кнопку Distribute Support Points (Распределить контрольные точки). |
|-------------------------|--|

В соответствии с шагом 3 **Ribbon Imaging** (Визуализация лент) контрольные точки будут распределены автоматически. Для достижения наилучшей фокусировки контрольные точки попеременно распределяются снаружи и внутри области интереса.



- 5 Нажмите кнопку **Verify Support Points** (Проверить контрольные точки).

Программа проведет вас через данный процесс так же, как и в шаге 3 **Ribbon Imaging** (Визуализация лент).

После проверки всех имеющихся контрольных точек появится сообщение **"All points have been verified"** («Все точки подтверждены»).

- 6 Нажмите кнопку **Acquire Images** (Получить изображения).

Будет выполнена визуализация областей интереса. Следующий шаг может быть использован для проверки каждого изображения областей интереса и повторного получения (повторная съемка) изображений из областей интереса, которые не соответствуют ожиданиям. Для перехода к следующему шагу нажмите кнопку **Next** (Далее).

16.3.6.8 Повторная съемка областей интереса

Этот шаг обычно используется для повторного получения изображений из областей интереса, которые находятся вне фокуса.

Необходимые предварительные условия ■ Вы находитесь в шаге 7/7 **Повторная съемка**.

- | | |
|------------------|---|
| Порядок действий | <ol style="list-style-type: none"> 1 Проверьте, активирован ли режим Select Tiles (Выбрать мозаики). Этот режим должен быть выбран по умолчанию при переходе в этот шаг. 2 Для перемещения по сериям областей интереса можно воспользоваться стрелками с каждой стороны изображения или ползунком Z-Position (Позиция по оси Z) во вкладке Dimensions (Измерения). 3 Выберите изображение для повторного получения, нажав на него левой кнопкой мыши. <p>Изображение будет выделено пунктирной рамкой зеленого цвета.</p> |
|------------------|---|

- 4 Перейдите к проверке и выбору изображений, которые необходимо получить повторно.
- 5 Выбрав все изображения, нажмите кнопку **Acquire** (Получить).
Программа перейдет к первому выбранному изображению.
- 6 Отрегулируйте фокусировку и нажмите кнопку **Snap** (Моментальный снимок).
- 7 Для замены старого изображения новым нажмите кнопку **Replace** (Заменить).
Программа автоматически переместится к следующему выбранному изображению.
- 8 Повторяйте эту операцию, пока не получите все выбранные изображения.
- 9 Нажмите кнопку **Finish** (Готово).
Вы успешно прошли мастер получения изображений лент с оптического микроскопа. Перейдите к процедуре, описанной в следующем разделе настоящего руководства.

16.3.7 Получение SEM-изображений

16.3.7.1 Общие подготовительные процедуры

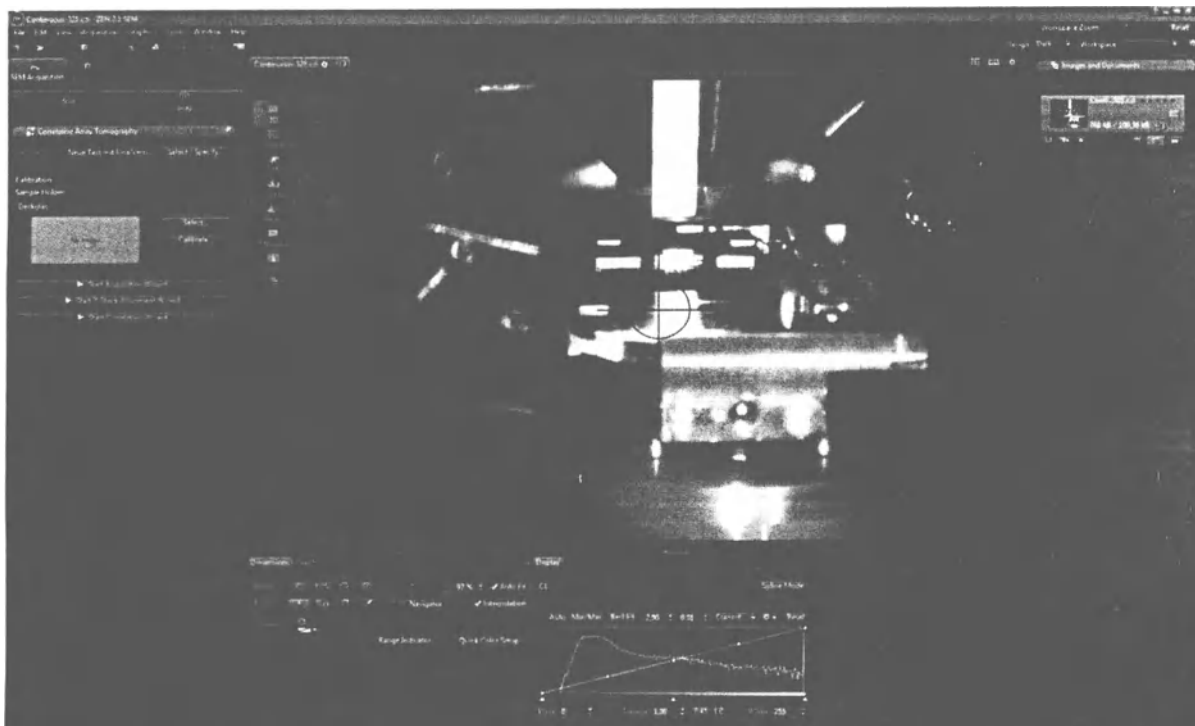
Для получения SEM-изображений необходимо выполнить следующие общие подготовительные процедуры.

Необходимые предварительные условия ■ Получено LM-изображение в соответствии с инструкциями раздела «Получение LM-изображения» [► 409].

- Данные изображения с оптического микроскопа скопированы/перемещены в SEM.

Порядок действий

- 1 Запустите программу **Smart SEM**. Обратите внимание, что ПО SEM используется для настройки параметров получения изображений, например: настроек детектора, увеличения, настроек отображения и скорости сканирования.
- 2 Запустите программу **ZEN SEM**. Проследите за тем, чтобы перед запуском ПО ZEN, была запущена программа SmartSEM.
На экране отобразится вкладка SEM Acquisition (Получение SEM-изображений) и инструмент Correlative Array Tomography (CAT).



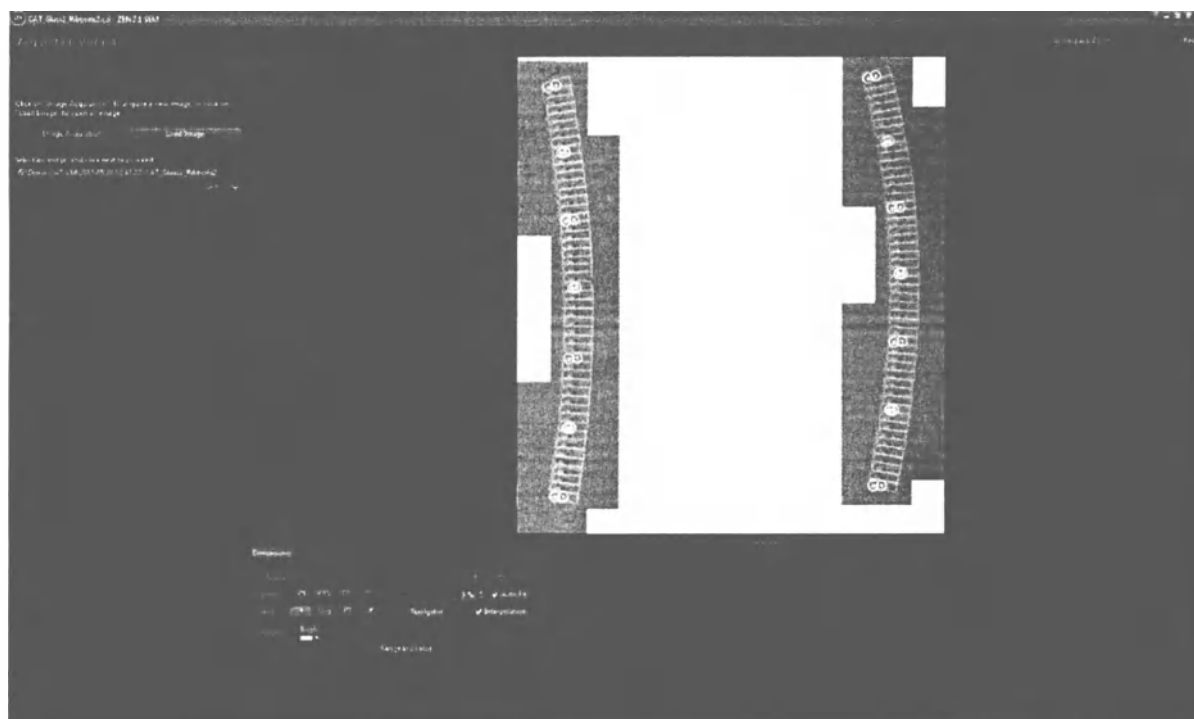
- 3 В инструменте CAT нажмите кнопку **Select / Specify...** (Выбрать/Указать...).
- 4 Выберите файл, который был создан во время получения LM-изображений. Он должен располагаться в папке LM, созданной автоматически.
- 5 Выберите используемый держатель образца.
- 6 Выполните калибровку держателя образца, описанную в разделе «Калибровка» [► 404].

Вы успешно выполнили общие подготовительные процедуры. Теперь можно перейти к получению SEM-изображения.

16.3.7.2 Получение SEM-изображения

Необходимые предварительные условия ■ Вы выполнили общие подготовительные процедуры, см. раздел «Общие подготовительные процедуры» [► 422].

- Порядок действий**
- 1 В инструменте **CAT** нажмите кнопку **Start Acquisition Wizard** (Запуск мастера получения изображений).
Откроется первый шаг мастера «**Overview Imaging**» (Обзорная визуализация).
 - 2 Нажмите кнопку **Load Image** (Загрузить изображение).
 - 3 В папке CAT / LM файловой системы выберите файл-изображение, содержащий области интереса.
Появится изображение с областями интереса.



- 4 Нажмите кнопку **Next** (Далее).

Мастер перейдет сразу к шагу **6/7 ROI Imaging** (Визуализация области интереса), поскольку программа распознает выделенные области интереса в файле-изображении.

Перед получением областей интереса рекомендуем выполнить коррекцию смещения. В этом случае выполните следующее:

- 5 На изображении с областями интереса нажмите на позицию с выделяющейся структурой.

Столик автоматически переместится в эту позицию. Теперь заметна разница между отмеченной и фактической позицией. Это и есть смещение, которое требуется устранить.

- 6 Установите флажок коррекции смещения.

✓ Use correction offset for improving the relocation of defined positions

Select between the "one point correction" mode and the "four point correction" mode. Set correction points on top of characteristic structures which can be recognized easily. Define the offset clicking on "Set correction offset"

Define point in image

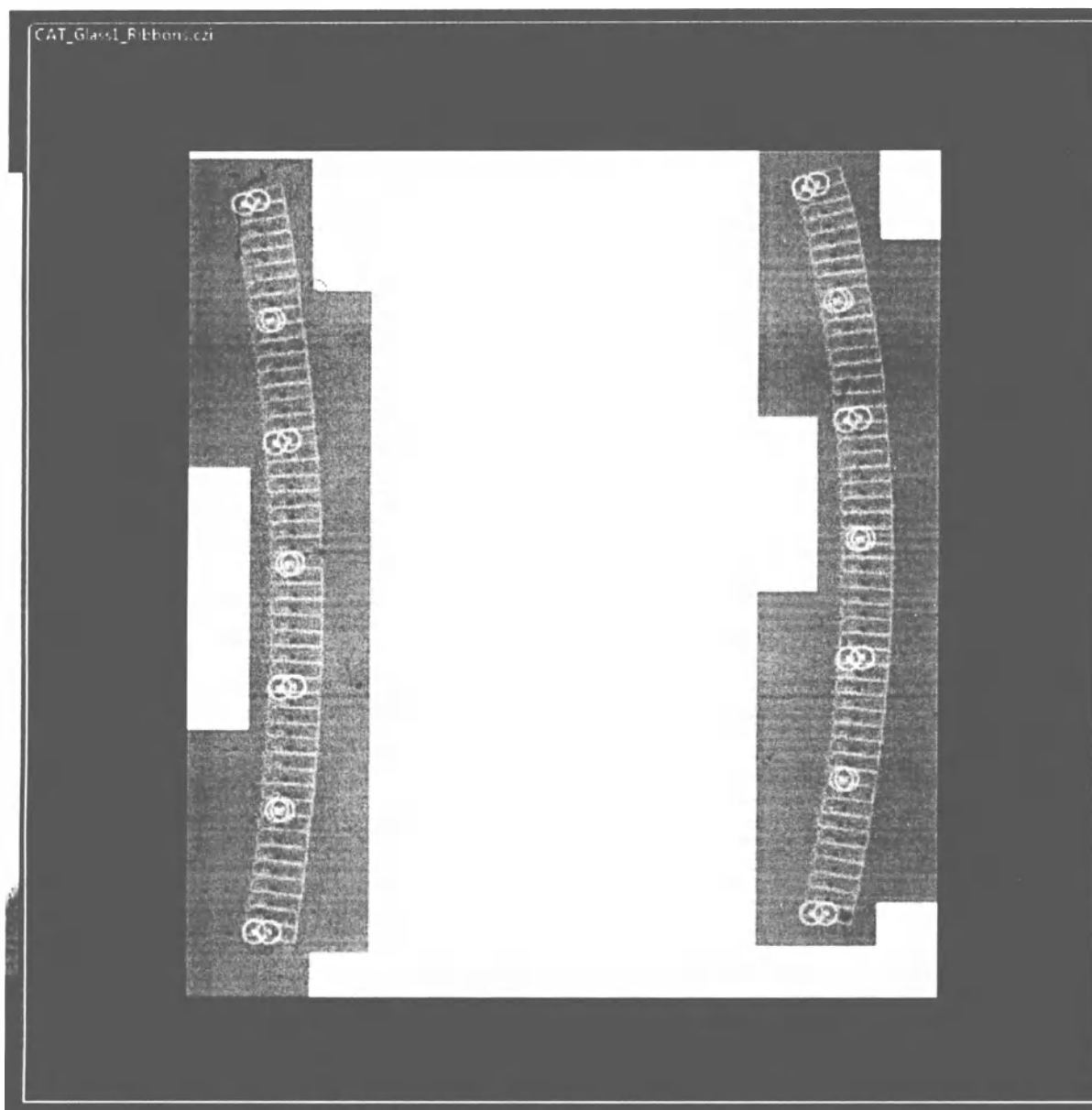
Define 4 points in image

Set correction offset..

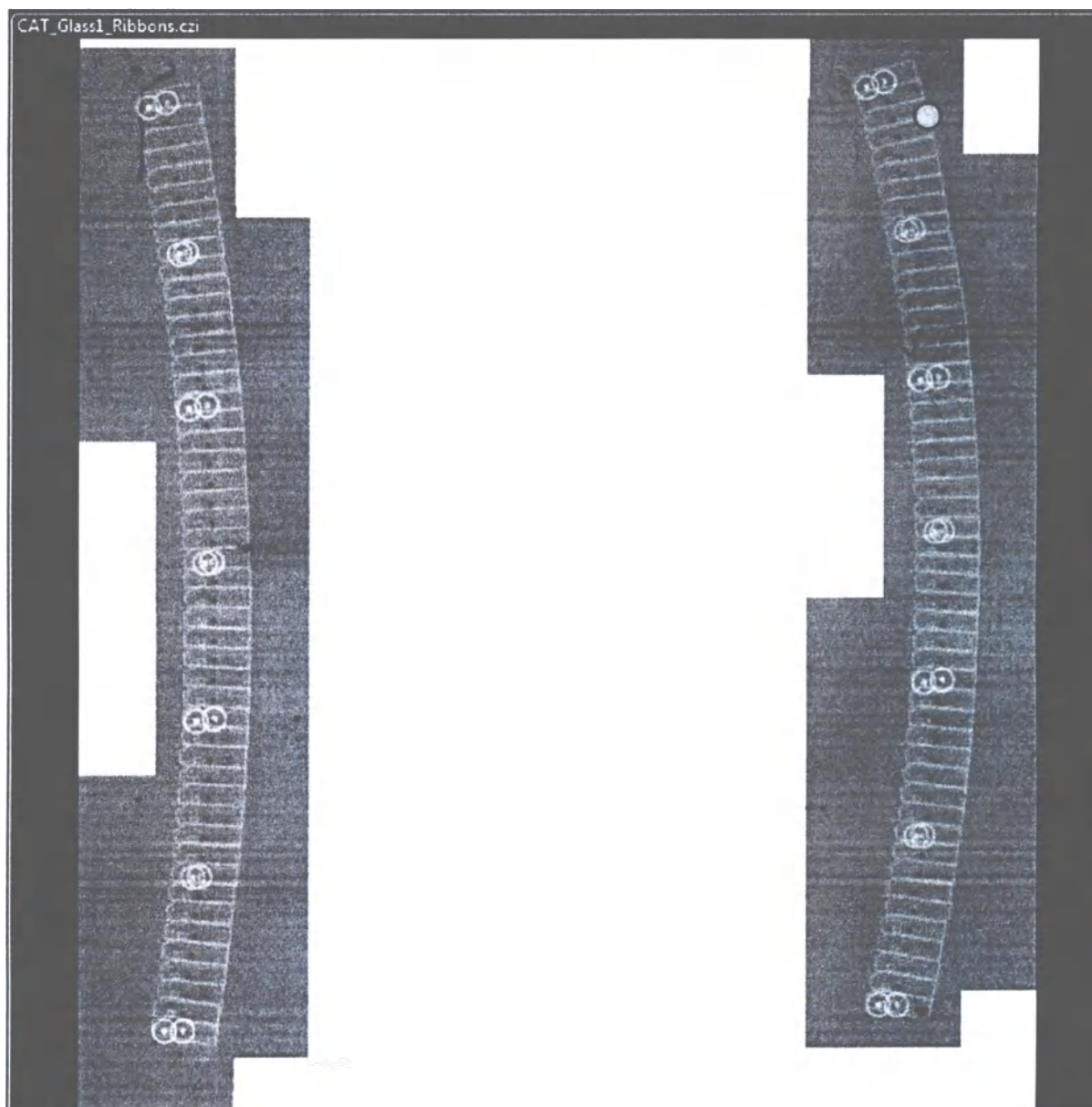
Появятся элементы управления коррекцией смещения.

- 7 Нажмите кнопку **Define 4 points in image** (Определить 4 точки на изображении).

Четыре точки коррекции будут автоматически распределены по изображению. Точки коррекции похожи на контрольные точки (красный контур с красной точкой в центре).



- 8 Переместите точки коррекции в выделяющиеся позиции на образце с легко распознаваемыми структурами, например в углы лент.

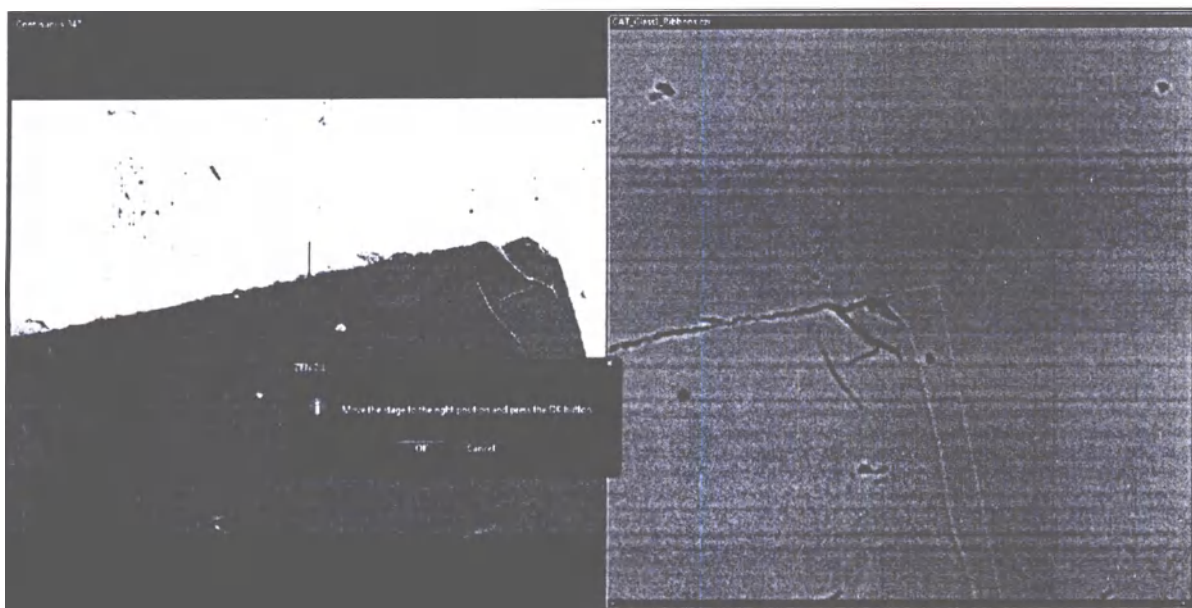


9

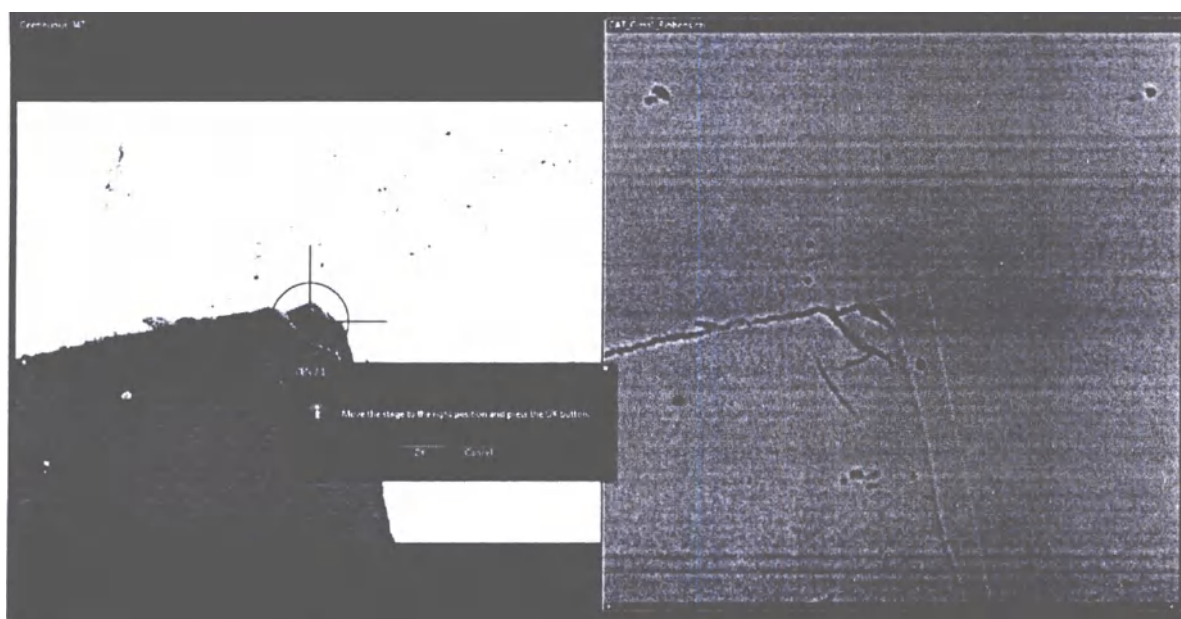
Нажмите кнопку **Set correction offset** (Настроить коррекцию смещения). Обратите внимание, что для настройки коррекции смещения следует использовать то же увеличение, которое будет использовано позже для получения изображения.

Столик переместится в первую точку коррекции.

На изображении слева отобразится позиция SEM-изображения. На изображении справа появится точка коррекции на LM-изображении. Эти позиции не совсем совпадают.



- 10 Переместите столик SEM так, чтобы его позиция совпала с точкой коррекции на LM-изображении.



- 11 Если позиции полностью совпали, подтвердите это, нажав на кнопку ОК.

Столик автоматически переместится к следующей точке коррекции.
Повторите последние три шага для остальных точек коррекции.

После коррекции смещения снова перейдите к проверке контрольных точек. Так как эта процедура аналогична процедуре получения LM-изображения, ознакомьтесь с разделами «Визуализация лент» [► 412] и «Визуализация областей интереса» [► 420]. Помните, что регулировка параметра SEM осуществляется на панели управления SEM.

- 12 После подтверждения контрольных точек нажмите на кнопку **Acquire** (Получить).

Будет выполнена визуализация областей интереса с помощью SEM. Длительность этого процесса зависит от настроек эксперимента.

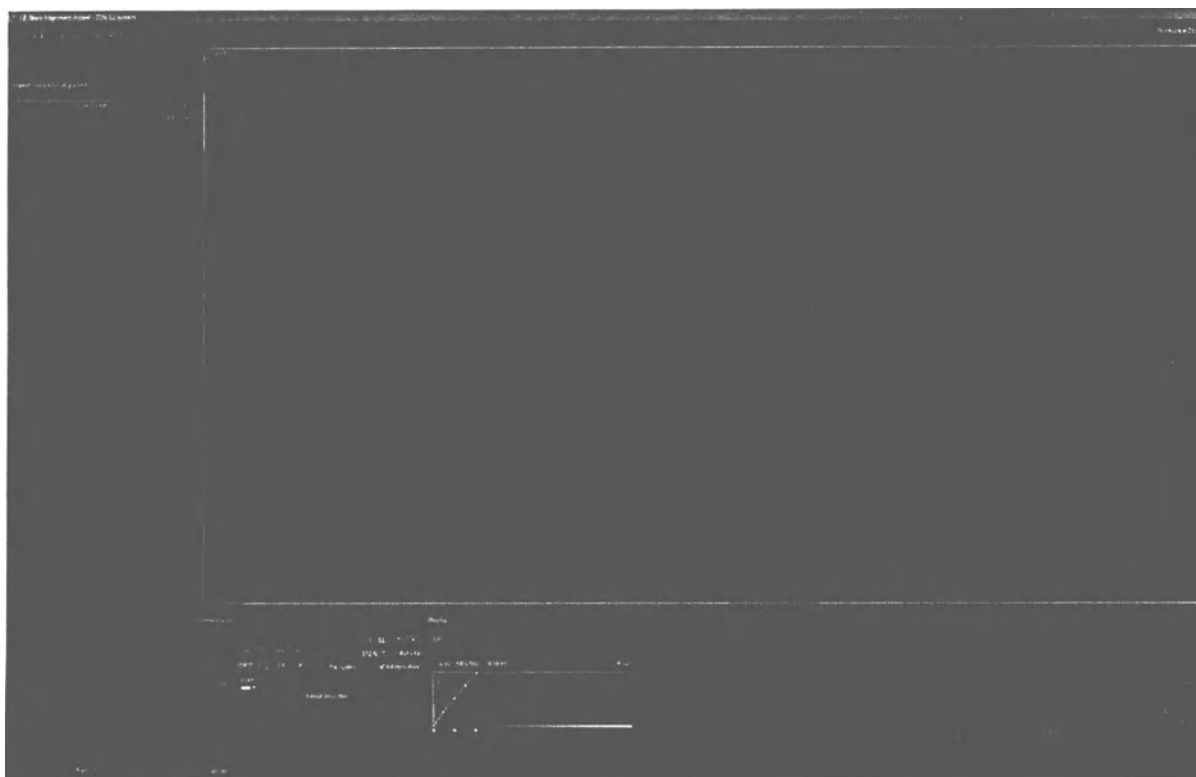
16.3.8 Выравнивание изображения серии срезов по оси Z

Мастер включает в себя шесть шагов:

- Импорт изображения.
- Pre-Processing (Предварительная обработка).
- Image Review (Просмотр изображения).
- Alignment (Выравнивание).
- Manual Correction (Ручная коррекция).
- Final Image Creation (Создание конечного изображения).

Порядок действий

- 1 В инструменте **CAT** нажмите кнопку **Start Z-Stack Alignment Wizard** (Запуск Мастера выравнивания изображения серии срезов по оси Z).
Откроется первый шаг мастера **Image Import** (Импорт изображения).
- 2 Нажмите кнопку **Load Image** (Загрузить изображение) и выберите в файловой системе полученное изображение серии срезов по оси Z. В этом примере мы выберем LM-изображение. Аналогичные операции выполняются и для SEM-изображения.
В центральной области экрана появится изображение серии срезов по оси Z.



- 3 Нажмите кнопку **Next** (Далее).
Откроется шаг **2/6 Pre-Processing** (Предварительная обработка).
- 4 Если используется мозаичное изображение, для устранения смещения между отдельными мозаиками нажмите кнопку **Apply Stitching** (Применить сшивку).
- 5 Если изображение получено с помощью SEM, нажмите кнопку **Histogram Equalization** (Выравнивание гистограммы), чтобы настроить отображение изображения.
- 6 Нажмите кнопку **Next** (Далее).
Откроется шаг **3/6 Image Review** (Просмотр изображения). Обратите внимание, что на данном этапе получение изображений невозможно. Можно только заменить изображение следующим или предыдущим изображением серии срезов по оси Z.

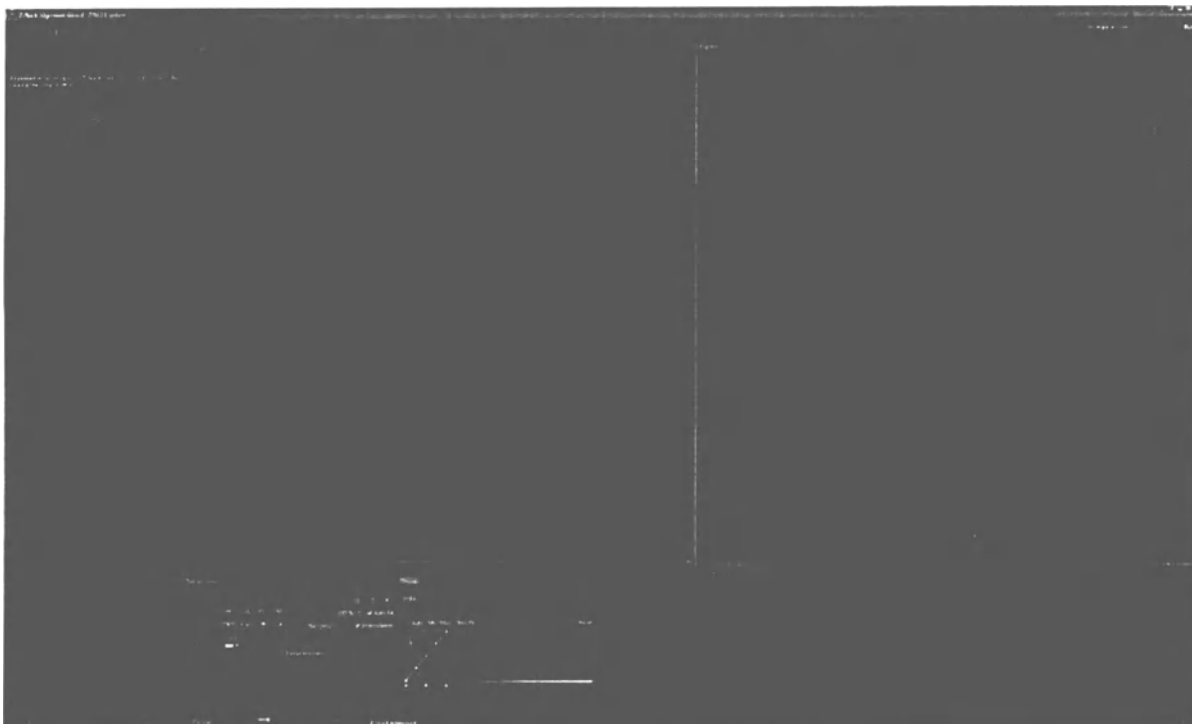


- 7 Выберите мышью изображение, которое требуется заменить, и нажмите кнопку **Replace with next** (Заменить следующим) либо **Replace with previous** (Заменить предыдущим). Также можно нажать клавишу *N* (Следующее) или *P* (Предыдущее).

i Примечание

Обратите внимание, что таблица замененного изображения не сохранится.

- 8 Нажмите кнопку **Next** (Далее).
Откроется шаг **4/6 Alignment** (Выравнивание).



- 9 Если было получено многоканальное изображение, выберите в списке **Channel** (Канал) опорный канал.
- 10 Нажмите кнопку **Start Alignment** (Начать выравнивание).
Выравнивание изображения серии срезов по оси Z будет выполнено автоматически. После выравнивания на изображении слева появится исходное изображение серии срезов по оси Z, а на изображении справа — выравненное изображение серии срезов по оси Z.
- 11 Нажмите кнопку **Next** (Далее).
Откроется шаг **5/6 Manual Correction** (Ручная коррекция).
Если при просмотре серии срезов по оси Z с помощью ползунка **Z-Position** (Позиция по оси Z) обнаружено смещение между отдельными изображениями серии срезов по оси Z, коррекцию отдельных изображений серии срезов по оси Z можно выполнить вручную. В этом случае выполните следующее:
- 12 Нажмите кнопку **Define direction** (Определить направление).
На изображениях справа и слева появится красная стрелка.
- 13 Поместите стрелку на выделяющуюся, легко распознаваемую на всей серии срезов по оси Z, структуру изображения слева.
- 14 Выделите изображение справа и с помощью Z-ползунка просмотрите серию срезов по оси Z во вкладке **Dimensions** (Измерения).
- 15 При распознавании сдвига изображения отрегулируйте положение стрелки на изображении справа так, чтобы оно совпало с выдающейся структурой, отмеченной стрелкой на изображении слева. Обратите внимание, что необходимо проверить и отрегулировать стрелку на каждом изображении серии срезов по оси Z, где позиции не совпадают.



16 Нажмите кнопку **Apply** (Применить).

Будет выполнена коррекция. Если требуется скорректировать серию срезов по оси Z в другой позиции, просто повторите вышеописанную процедуру, используя другую выдающуюся структуру. Конечно же, отменять и восстанавливать действия можно с помощью кнопок **Undo / Redo** (Отменить/Восстановить).

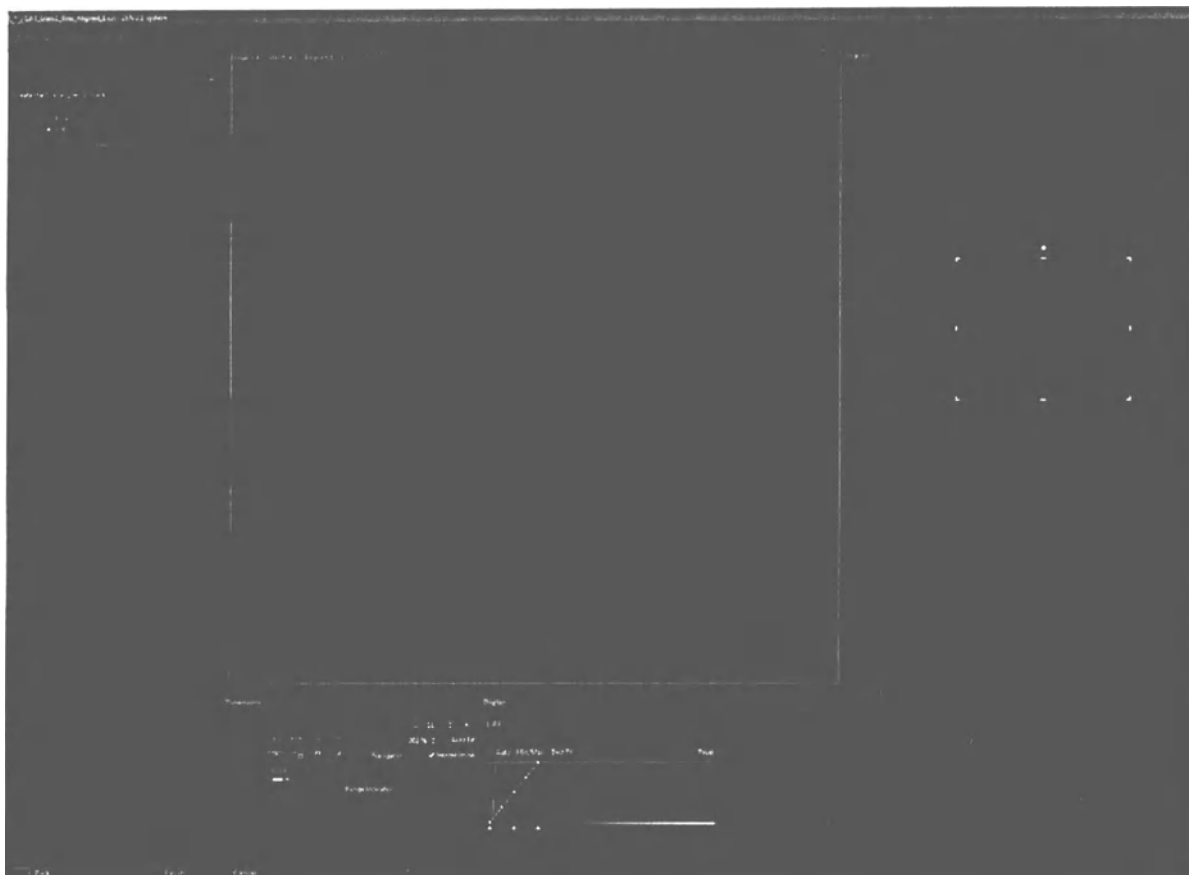
17 Нажмите кнопку **Next** (Далее).

Вы находитесь в шаге **6/6 Create final Z-Stack** (Создание конечной серии срезов по оси Z).

18 Если необходимо создать изображение серии срезов по оси Z из целого изображения, выберите опцию **Total** (Целое изображение) и нажмите кнопку **Create final image** (Создать конечное изображение).

19 Если же требуется создать изображение серии срезов по оси Z из выделенных областей интереса, выберите опцию **ROI (Область интереса)**. Обратите внимание, что здесь можно изменять размер и позицию области интереса. Если отмечено несколько областей интереса, переключаться между областями можно с помощью ползунка **Scene** (Сцена) во вкладке **Dimensions** (Измерения).

20 Нажмите кнопку **Create final image** (Создать конечное изображение).



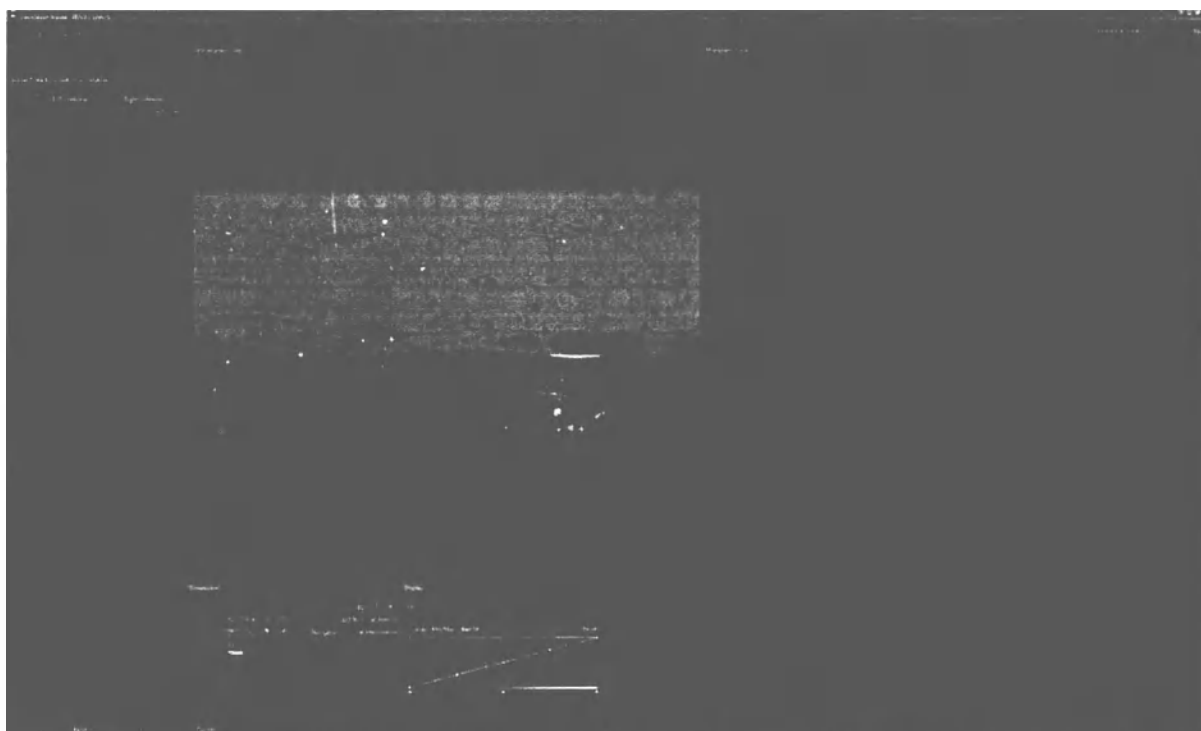
Вы успешно выровняли и создали изображение серии срезов по оси Z. Разумеется, для полученного SEM-изображения вышеописанную процедуру придется повторить.

16.3.9 Корреляция LM- и SEM-изображений

- Мастер включает в себя следующие четыре шага:
- Import Z-Stacks (Импорт серий срезов по оси Z).
- Корреляция.
- Manual Correction (Ручная коррекция).
- Create Final Correlation Image (Создание конечного коррелированного изображения).

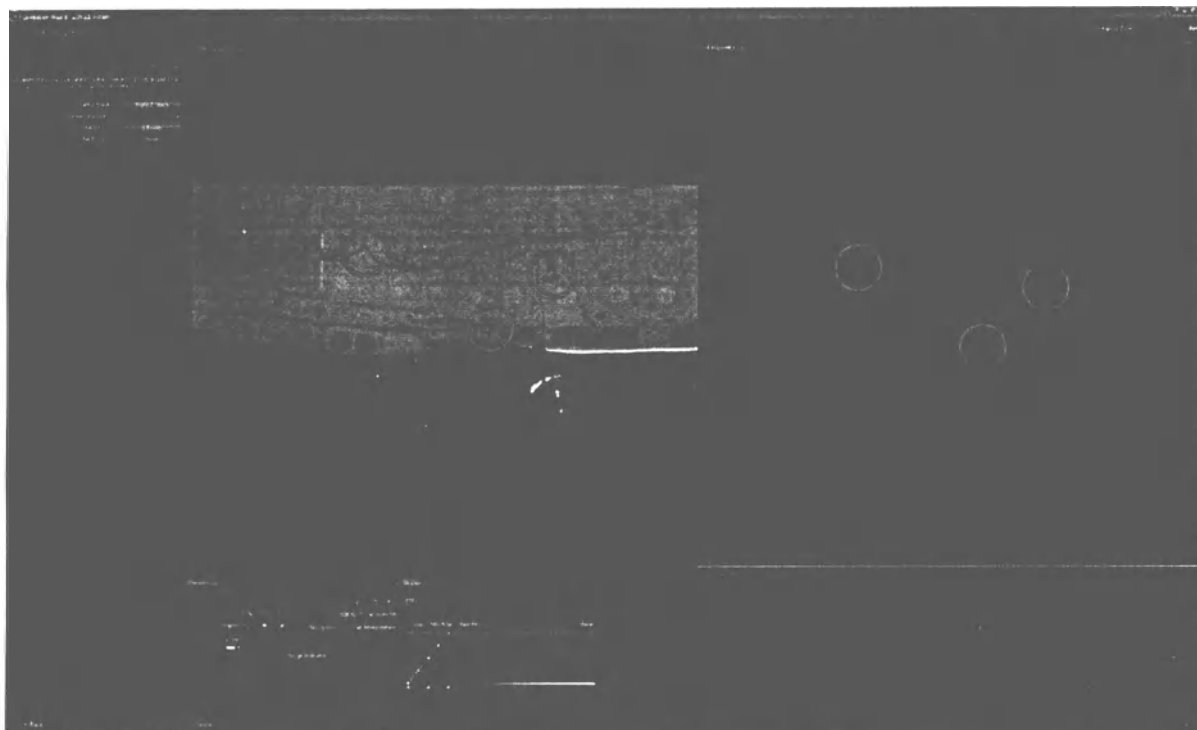
Порядок действий

- 1 В инструменте **CAT** нажмите кнопку **Start Correlation Wizard** (Запуск мастера корреляции изображений).
Откроется первый шаг мастера **Import Z-Stacks** (Импорт серий срезов по оси Z).
- 2 Нажмите кнопку **Left Container** (Левый контейнер) для загрузки выровненного изображения серии срезов по оси Z, полученного с помощью SEM.
- 3 Нажмите кнопку **Right Container** (Правый контейнер) для загрузки выровненного изображения серии срезов по оси Z, полученного с помощью LM.

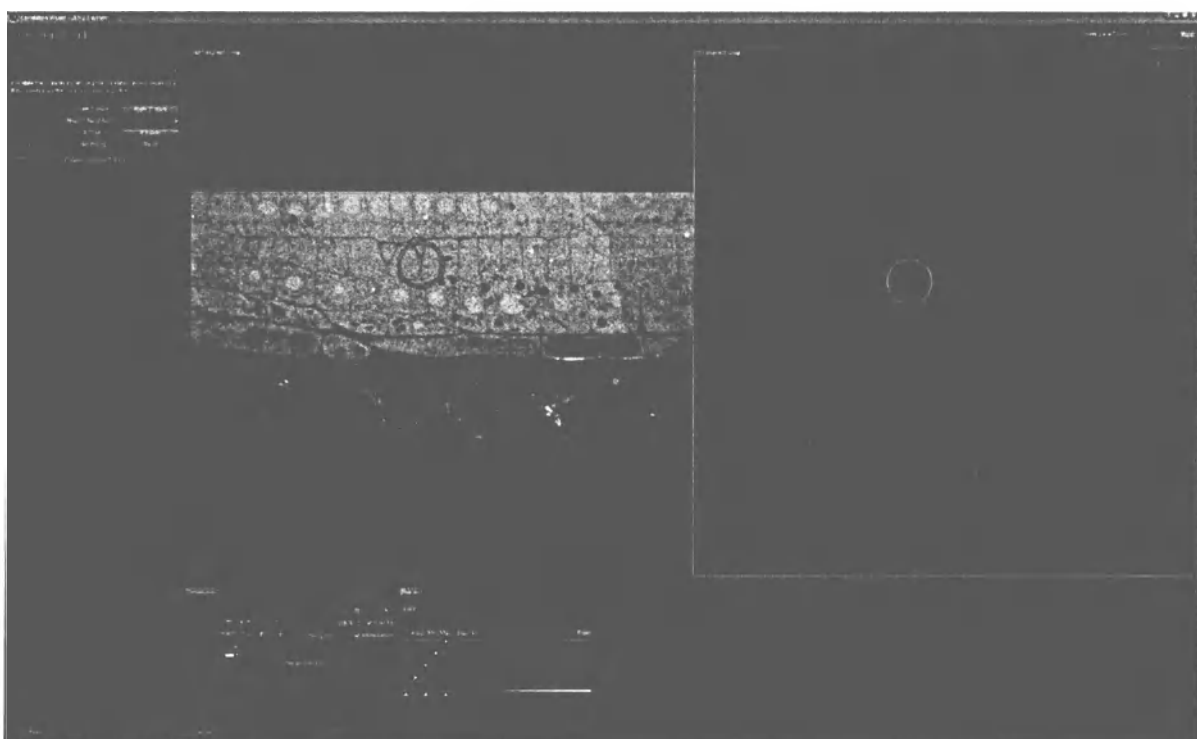


- 4 Нажмите кнопку **Next** (Далее).
Откроется шаг **2/4 Correlation** (Корреляция).
- 5 Напротив элемента **Transform** (Преобразовать) укажите, требуется ли преобразовать серию срезов по оси Z слева (**Left Z-Stack**) в серию срезов по оси Z справа (**Right Z-Stack**) или наоборот.
- 6 Напротив элемента **Mode** (Режим) выберите опцию **4 Points** (4 точки).
- 7 Нажмите кнопку **Set Points** (Установить точки).
- 8 Установите первые три корреляционные точки на первом изображении серии срезов по оси Z изображения слева.
- 9 Установите соответствующие три корреляционные точки на первом изображении серии срезов по оси Z изображения справа.

После установки третьей точки на изображении справа программа автоматически перейдет к последнему изображению серии срезов по оси Z.

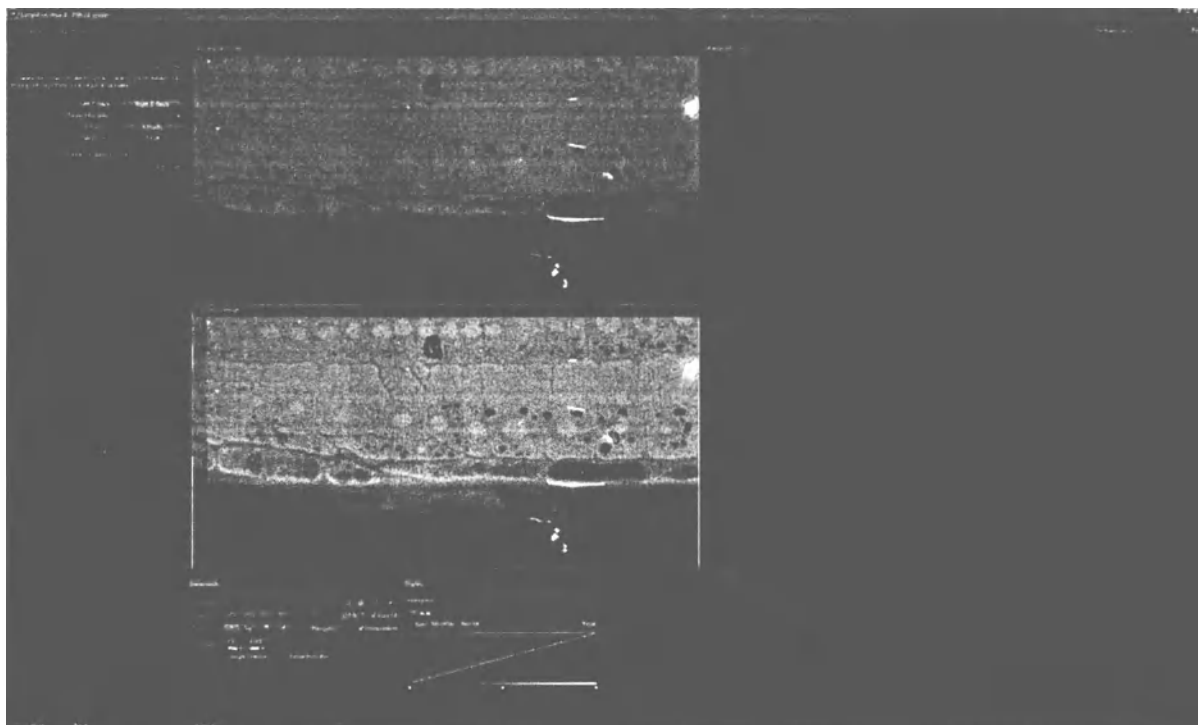


- 10 Установите четвертую корреляционную точку сначала на изображении слева, а затем — на изображении справа.

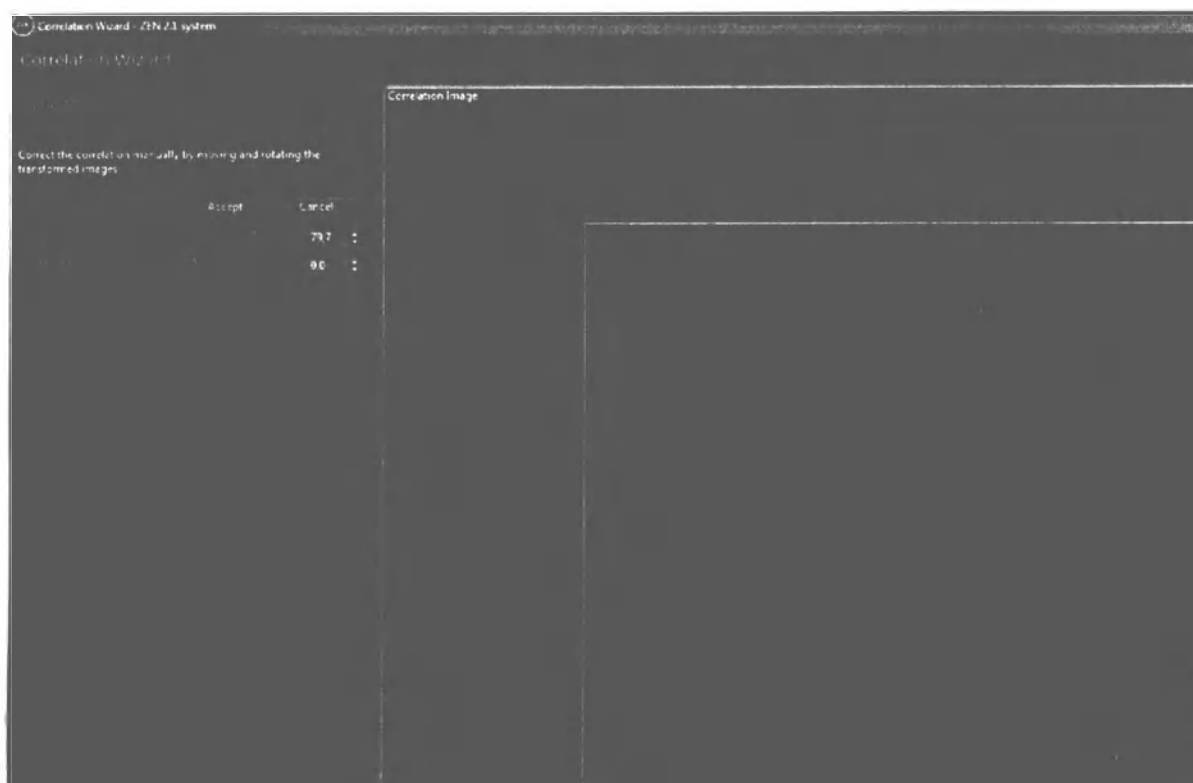


- 11 Нажмите кнопку **Create correlated Z-Stack** (Создать коррелированную серию срезов по оси Z).

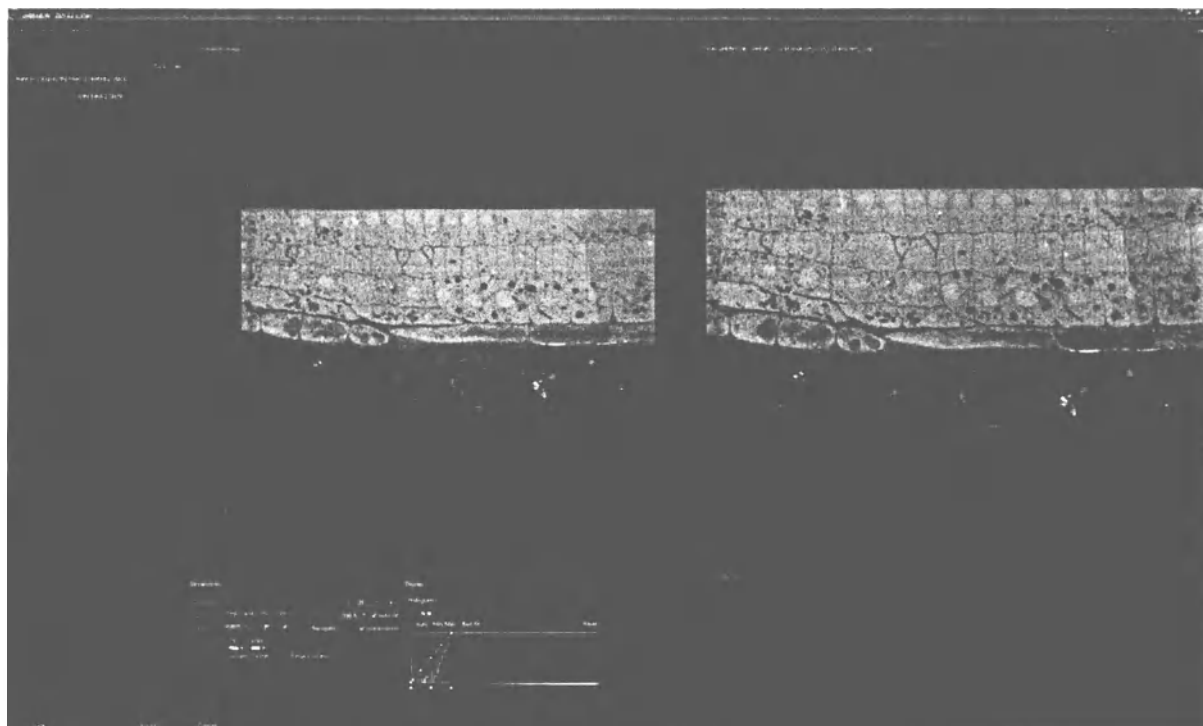
Будет создано коррелированное изображение серии срезов по оси Z, которое откроется в отдельном графическом контейнере.



- 12 Нажмите кнопку **Next** (Далее).
Откроется шаг **3/4 Manual Correction** (Ручная коррекция).
- 13 В этом шаге можно вручную скорректировать выравнивание изображений посредством перемещения и (или) вращения изображений относительно друг друга. Для вращения изображения воспользуйтесь манипулятором в верхней части фрейма изображения. Для перемещения изображения нажмите левой кнопкой мыши на изображении и, сохраняя ее в нажатом положении, выполняйте перемещения.



- 14 По завершении выравнивания изображения нажмите кнопку **Accept** (Принять). Скоррелированные изображения серии срезов по оси Z можно просмотреть с помощью ползунка **Z-Position** (Позиция по оси Z) во вкладке **Dimensions** (Измерения).
- 15 Нажмите кнопку **Next** (Далее).
Откроется шаг **4/4 Create Final Correlation Image** (Создание конечного коррелированного изображения).
- 16 Нажмите кнопку **Create Final Z-Stack** (Создать конечную серию срезов по оси Z).
Будет создано коррелированное изображение серии срезов по оси Z.



17 Нажмите кнопку **Finish** (Готово) для выхода из мастера.

Вы успешно создали коррелированное изображение серии срезов по оси Z.

16.4 Функции и их назначение

16.4.1 Введение

В этом разделе приводится подробное описание всех параметров модуля CAT. Этот раздел предназначен для начинающих пользователей, которые желают получить общее представление о всех функциях программного обеспечения, а также для экспертов, ищущих информацию о конкретной функции.

16.4.2 Инструмент CAT

Инструмент CAT позволяет калибровать и управлять держателями образцов, запускать мастера настройки, используемые для получения изображений из серийных срезов, генерирования изображений серий срезов по оси Z из единичных изображений, а также коррелировать два изображения серии срезов по оси Z, полученных с помощью оптического микроскопа (LM) и растрового электронного микроскопа (SEM).

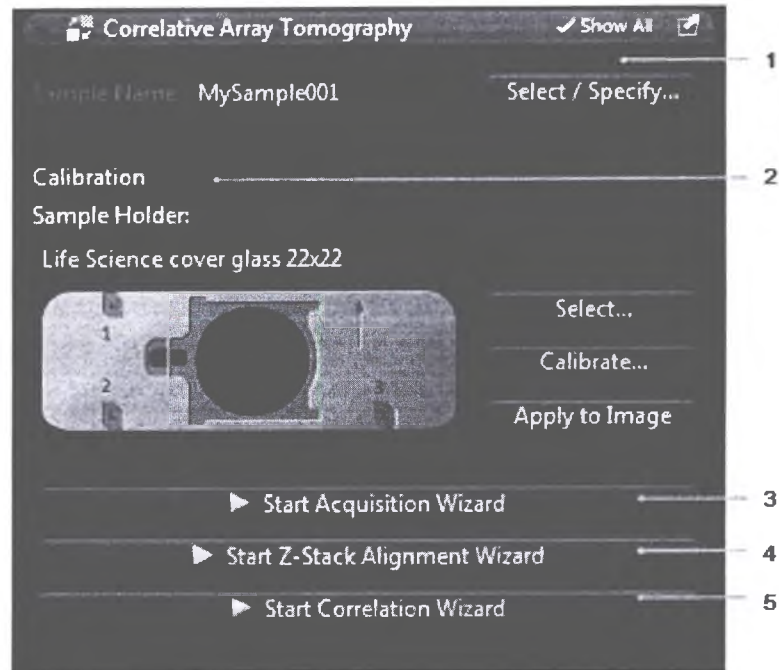


Рисунок 16.3. Инструмент CAT

Параметр	Описание
Определение образца (1)	
- Select / Specify... (Выбрать/Указать..).	Открывает диалоговое окно Select Sample (Выбор образца), см. раздел «Диалоговое окно Select Sample» [► 440]. В нем из списка выбирается лист данных образца или указывается новый образец с пользовательскими данными. Указанная информация об образце используется для обработки изображения (например, выравнивания серии срезов по оси Z) или для управления данными.
Калибровка держателя образца (2)	
- Select... (Выбрать...)	Открывает диалоговое окно Select Template (Выбрать шаблон). В нем можно выбрать предпочтительный держатель образца или создать новые шаблоны держателей, см. «Выбор держателя образца» [►404].
- Кнопка Calibrate... (Калибровать...)	Открывает мастер калибровки держателя образца (<i>Sample Holder Calibration Wizard</i>) [►442]. В нем можно откалибровать выбранный держатель образца.
- Кнопка Apply to Image (Применить к изображению)	Отображается только в режиме Show All (Показать все). Используйте эту кнопку только в том случае, если забыли откалибровать держатель перед получением изображения.

Параметр	Описание
	Применяет калибровку к полученному изображению. Не извлекайте образец из сопоставительного держателя в интервале между получением изображения и калибровкой. Исключение составляют случаи, когда корреляционные маркеры располагаются на держателе образца.
Запуск мастера получения изображений (3)	Запускает мастер получения изображений (Acquisition Wizard), более подробно см. здесь [► 445].
Запуск мастера выравнивания серии срезов по оси Z (4)	Запускает мастер выравнивания серии срезов по оси Z (Z-Stack Alignment Wizard), более подробно см. здесь [► 454].
Запуск мастера корреляции (5)	Запускает мастер корреляции (Correlation Wizard), более подробно см. здесь [► 456].

16.4.2.1 Диалоговое окно Select Sample

В диалоговом окне Select Sample (Выбор образца) можно выбирать или создавать листы данных образца.

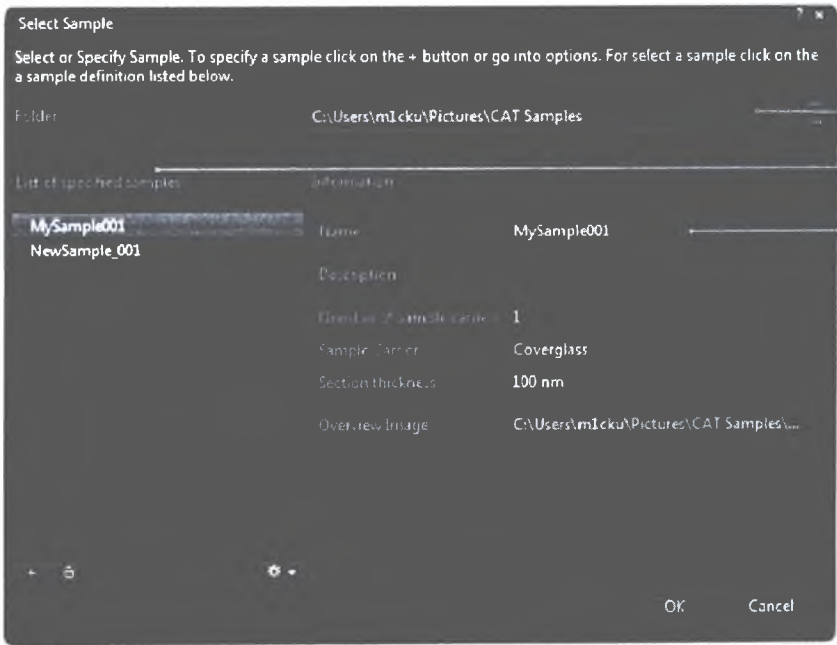
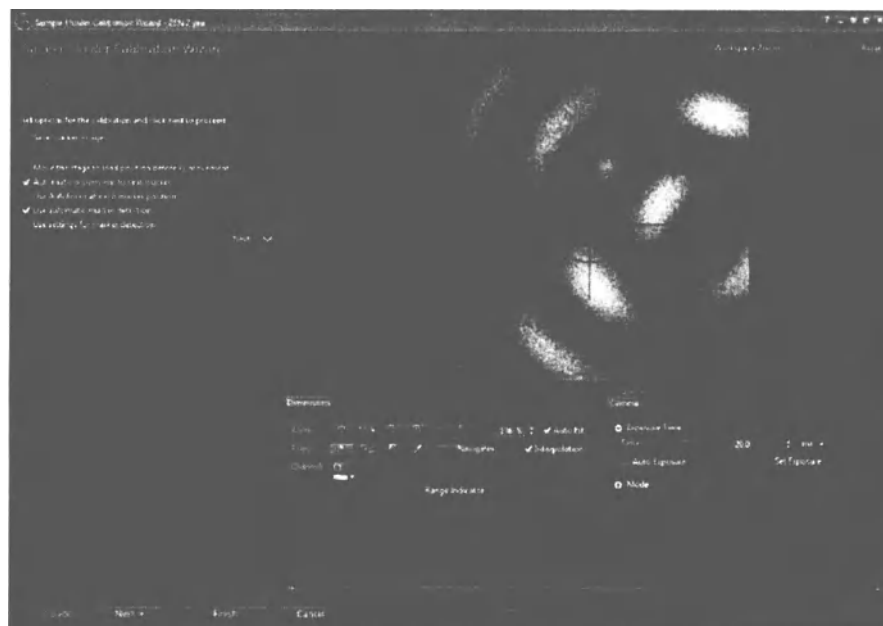


Рисунок 16.4. Диалоговое окно Select Sample

П/п	Параметр	Описание
1	Folder (Папка)	Показывает место хранения файлов.

П/п	Параметр	Описание
		Чтобы изменить место хранения файлов, нажмите кнопку . Путь и папка по умолчанию: C:\Users\user\Pictures\CAT Samples. В этой папке каждый образец сохраняется в своей подпапке. Изображения, полученные с помощью мастера получения изображения CAT (CAT Acquisition Wizard), сохраняются в эту подпапку автоматически. Для большей ясности, при каждом последующем запуске CAT в мастере получения изображений CAT создаются подпапки с именем «[Дата] [Время]». Если имя файла превышает определенное количество символов, оно сокращается с помощью знака «°».
2	List of specified samples (Список указанных образцов)	Показывает образцы, которые уже указаны в программном обеспечении. Если выбрать образец из списка и нажать кнопку OK, выбранный образец будет использоваться в эксперименте. При нажатии на кнопку  откроется диалоговое окно New Sample (Новый образец). В нем можно создать новый образец, который будет добавлен в список, см. «Создание нового образца» [▶ 402]. При нажатии кнопки Options (Опции) отобразятся дополнительные опции управления образцами, такие как Show/Edit (Показать/Редактировать) или Refresh Sample List (Обновить список образцов).
3	Информация	Отображает информацию об указанном образце, например: описание, число подложек, подложку и толщину среза.

16.4.3 Мастер калибровки держателя образца



С помощью мастера калибровки держателя образца (Sample Holder Calibration Wizard) калибруется выбранный сопоставительный держатель образца. Мастер открывается с помощью инструмента. Убедитесь, что вы выбрали необходимый держатель образца, см. раздел «Выбор держателя образца» [►404].

16.4.3.1 Шаг 1. Options (Опции)

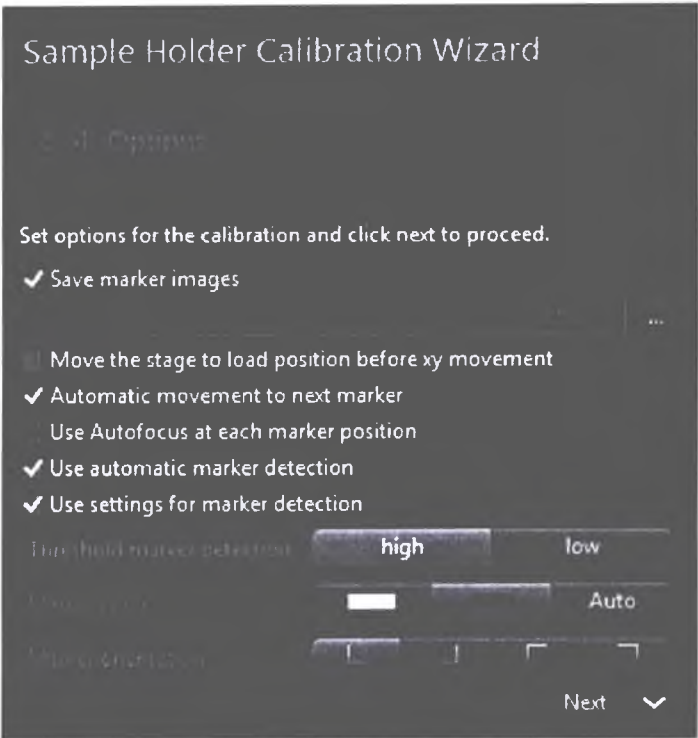


Рисунок 16.5. Опции мастера калибровки держателя образца

Опция	Описание
Save marker images (Сохранить маркерные изображения)	Флажок установлен: маркерные изображения сохраняются во время калибровки. Впоследствии изображения могут использоваться для проверки калибровки. Нажмите кнопку Select Folder (...) (Выберите папку (...)) для выбора папки для хранения данных.
Move the stage to load position before x/y movement (Перемещать столик в позицию загрузки перед перемещением по осям X/Y)	Флажок установлен: перемещает столик в позицию загрузки перед перемещением к следующему корреляционному калибровочному маркеру. При использовании AxioObserver револьверная головка объектива перемещается в позицию загрузки.
Automatic movement to next marker (Автоматическое перемещение к следующему маркеру)	Флажок установлен: при нажатии на кнопку Next (Далее) в мастере калибровки, столик автоматически перемещается к следующему калибровочному маркеру. Флажок убран: для перемещения по маркерам следует использовать джойстик. Это необходимо при использовании сопоставительного держателя, данные о котором не указываются.
Use Autofocus at each marker position (Использовать автофокус в позиции каждого маркера)	Эта опция активна только в том случае, если установлен флажок Automatic movement to next marker (Автоматическое перемещение к позиции следующего маркера).

Опция	Описание
	Флажок установлен: фокусировка выполняется автоматически после перемещения к позиции следующего маркера.
Use automatic marker detection (Использовать автоматическое обнаружение маркеров)	Флажок установлен: программное обеспечение автоматически обнаружит малый калибровочный маркер.
Use settings for marker detection (Использовать настройки для обнаружения маркеров)	Эта опция активна только в том случае, если установлен флажок Use automatic marker detection (Использовать автоматическое обнаружение маркеров). Флажок установлен: отображает настройки для обнаружения маркеров (см. описание ниже). Здесь выбираются свойства калибровочных маркеров.

Настройки для обнаружения маркеров

Раздел Settings for marker detection (Настройки для обнаружения маркеров) отображается, только если установлен флажок **Use settings for marker detection** (Использовать настройки для обнаружения маркеров).

Опция	Описание
Threshold marker detection: high – low (Порог для обнаружения маркеров: высокий – низкий)	Низкий порог для обнаружения маркеров используется, когда невозможно точно распознать измерения корреляционных L-маркеров, например, когда держатель образца слегка засорен.
Marker color (Цвет маркера)	Здесь выбирается цвет маркеров, отображаемых на живом изображении. Белый: маркер белого цвета на темном фоне. Черный: темный маркер на светлом фоне. Авто: цвет маркера определяется автоматически.
Marker orientation (Ориентация маркера)	Здесь необходимо указать ориентацию L-маркеров на используемом держателе образца. Нажмите на соответствующую кнопку выбора ориентации калибровочного маркера, который отображается на живом изображении.

Чтобы перейти к следующему шагу мастера, нажмите кнопку **Next** (Далее).

16.4.3.2 Шаги 2–4. Calibration (Калибровка)

В шагах 2–4 мастер калибровки проведет вас через процесс калибровки.

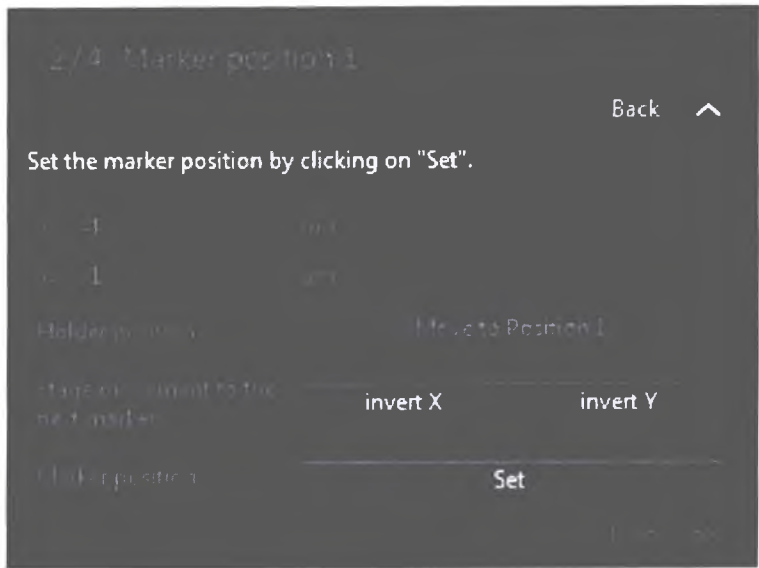


Рисунок 16.6. Мастер калибровки держателя образца

Опция	Функция
Позиция держателя	Кнопка Move to Position 1 (Переместить в позицию 1) Перемещает столик в позицию 1 маркера. Это возможно, только если первая позиция была установлена заранее и даны X/Y-координаты. Кнопка Current (Текущая позиция) Отображается только для позиций 2 и 3 маркера. Перемещает столик в текущую позицию маркера. Это возможно, только если текущая позиция была установлена заранее и даны X/Y-координаты.
Stage movement to the next marker (Перемещение столика к следующему маркеру)	Здесь можно изменить перемещение столика в направлении X или Y. Это необходимо, если во время калибровки столик перемещается в неправильном направлении.
Marker position (Позиция маркера)	При нажатии на кнопку Set (Установить) подтверждается фактическая позиция маркера.

Для выхода из мастера нажмите кнопку **Finish** (Готово).

16.4.4 Мастер получения изображений

Мастер получения изображений (Acquisition Wizard) используется для получения изображений серийных срезов или области интереса в срезах. Этапы получения изображения: **Overview Imaging** (Обзорная визуализация), **Ribbon Imaging** (Визуализация лент), **ROI Imaging** (Визуализация области интереса) и **Re-Shoot** (Повторная съемка). Шаг **Re-Shoot** (Повторная съемка) предоставляет возможность визуализировать части срезов областей интереса или мозаик мозаичного изображения.

Мастер включает в себя семь шагов, описанных в следующих разделах:

- 1/7 Overview Imaging (Обзорная визуализация) [►446].
- 2/7 Ribbon Specification (Определение лент (по усмотрению)) [►448].
- 3/7 Ribbon Imaging (Визуализация лент (по усмотрению)) [►449].
- 4/7 Section Specification (Определение срезов) [►449].
- 5/7 ROI Definition (Определение областей интереса) [►452].
- 6/7 ROI Imaging (Визуализация областей интереса) [►453].
- 7/7 ReShoot (Повторная съемка (по усмотрению)) [►453].

16.4.4.1 Обзорная визуализация

В шаге Overview Imaging (Обзорная визуализация) можно получить общее изображение, позволяющее перемещаться по образцу. На подложке отображаются позиции серийных срезов. Для получения обзорного изображения обычно используется объектив с малой кратностью увеличения. Получение изображения ускоряется благодаря широкому полю обзора и ограниченному числу мозаик.

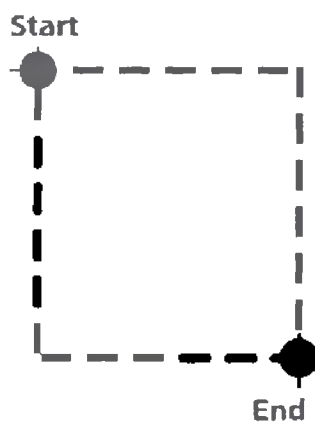
Также можно получать изображения с объективами с большей кратностью увеличения. Но помните, что при этом из-за малого поля обзора увеличивается количество мозаик, а также длительность получения изображения.

i Примечание

Для получения изображений рекомендуем использовать фазово-контрастные изображения. Наиболее надежным в этом случае является алгоритм для автоматического определения срезов, см. шаг 4.

Опция	Описание
Image Acquisition / Load Image (Получение изображений/Загрузка изображения)	С помощью соответствующей кнопки можно либо получить обзорное изображение, либо загрузить изображение.
Image Selection (Выбор изображения)	Нажав на загрузку изображения (Load Image), вы можете выбрать сохраненный файл изображения в файловой системе. Поэтому просто нажмите на кнопку ... и перейдите к необходимому файлу. В зависимости от информации, сохраненной в загруженном изображении, мастер перейдет к соответствующему шагу.
Experiment (Эксперимент)	Если вы нажали на кнопку Image Acquisition (Получение изображений), вам потребуется выбрать эксперимент в списке Experiment (Эксперимент). Обратите внимание, что эксперимент должен быть настроен и сохранен заранее, до входа в мастер.

Параметр	Описание
Objective (Объектив)	Здесь можно выбрать необходимый объектив, который будет использован для получения обзорного изображения. Как упоминалось выше, рекомендуем использовать объектив с малой кратностью увеличения (например, 2.5x или 5x).
Channels (Каналы)	Здесь можно выбрать каналы, которые будут использоваться для получения обзорного изображения. Можно использовать несколько каналов одновременно, если микроскоп снабжен конденсором с электроприводом.
Selected Light Source (Выбранный источник света)	Здесь можно выбрать источник света, который будет использоваться для получения обзорного изображения. Возможна настройка интенсивности света при выборе соответствующего источника.
Camera Settings (Настройки камеры)	Здесь можно регулировать настройки, например время экспозиции или включение/выключение коррекции равномерности освещения. Если в выбранном эксперименте была выполнена и активирована коррекция равномерности освещения, в мастере флажок будет установлен автоматически.
Software Autofocus (Программная автофокусировка)	Здесь можно активировать функцию Software Autofocus (Программная автофокусировка) и применить ее к обзорному изображению. Если опция включена, можно выбрать позиции для выполнения фокусировки. Во время фокусировки живое изображение не отображается. Обратите внимание, что чувствительные флуоресцентные метки во время автофокусировки могут обесцветиться.
Overview Image Definition (Определение обзорного изображения)	Здесь можно определить размер обзорного изображения, указав начальную и конечную позиции.



Программа рассчитает площадь на основе

Параметр	Описание
	определенных начальной и конечной позиций (= обзорное изображение). Под кнопками будет указано число мозаик и объем используемой памяти.
- Set start position (Установить начальную позицию)	Устанавливает текущую позицию столика в качестве начальной позиции области изображения.
- Set end position (Установить конечную позицию)	Устанавливает текущую позицию столика в качестве конечной позиции области изображения.
- Move to start position (Переместить в начальную позицию)	Автоматически перемещает столик в заданную начальную позицию. Обратите внимание, что начальную позицию следует определить заранее.
- Move to end position (Переместить в конечную позицию)	Автоматически перемещает столик в заданную конечную позицию. Обратите внимание, что конечную позицию следует определить заранее.
No. of sample carrier (Номер подложки)	Активен только при использовании нескольких подложек для одной корреляционной серии срезов по оси Z. Здесь можно выбрать номер используемой подложки. Общее число используемых подложек указывается в инструменте CAT, напротив элемента Select / Specify sample (Выбрать/Указать образец).
Move the stage to load position before xy movement (Перемещать столик в позицию загрузки перед перемещением по осям X/Y)	Флажок установлен: перемещает столик в позицию загрузки перед перемещением к следующему корреляционному калибровочному маркеру. При использовании AxioObserver револьверная головка объектива перемещается в позицию загрузки.
Acquire Overview Image (Получить обзорное изображение)	Запускает процесс получения изображения. Процесс получения изображения можно остановить в любое время. В этом случае значение кнопки изменится на Restart (Перезапустить). Перед повторным запуском процесса получения изображения можно изменить настройки. Статус процесса получения изображения отображается в строке состояния программы. После получения обзорного изображения можно выполнить сшивку. При нажатии кнопки Apply Stitching (Применить сшивку) будет выполнена сшивка изображения.
Next (Далее)	Перемещает вас к следующему шагу мастера.

16.4.4.2

Определение лент

Shar Ribbon Definition (Определение лент) используется по усмотрению. В случае необходимости он позволяет визуализировать ленты с большей кратностью увеличения. Например, требуется определить области интереса по структуре образца, которая может быть идентифицирована только при использовании линз с большей кратностью увеличения.

Таким образом, вы можете выделить очертания ленты на используемом образце. Если структуры образца не различимы из-за использования объектива с малой кратностью увеличения при получении обзорного изображения, вы можете повторно визуализировать образец, используя объектив с большей кратностью увеличения.

Для выделения очертаний на изображении воспользуйтесь инструментами из вкладки **Ribbon Definition** (Определение лент) (например, Rectangle (Прямоугольник), Circle (Круг) или Polygon (Многоугольник)).

16.4.4.3 Визуализация лент

В шаге Ribbon Imaging (Визуализация лент) отобразится разделенный экран. Слева появится живое изображение. Справа отобразится обзорное изображение с определенными лентами.

i Примечание

Для изменения живого изображения или изображения с определенными лентами нажмите на соответствующий контейнер. Активированный контейнер будет выделен белой рамкой.

Как и в шаге 1 для обзорного изображения, необходимо выбрать объектив, канал, источник света и настроить время экспозиции. Кроме того, потребуется создать фокальную поверхность, чтобы обеспечить нахождение используемого образца в фокусе в ходе процесса получения изображения.

При нажатии на кнопку **Create Ribbon Image** (Создать изображение ленты) будет получено изображение ленты.

16.4.4.4 Определение срезов

Для определения позиций областей интереса (ROI) в срезах необходимо указать срезы. Линии срезов образуют эталонную систему позиций областей интереса. Срезы отмечаются и выделяются рамкой.

i Примечание

Обратите внимание, что на каждой ленте следует отметить один срез. То есть при наличии на образце трех лент необходимо отметить три среза.

Для определения среза рекомендуем использовать фазово-контрастные изображения. Алгоритм, используемый для автоматического определения среза, наиболее надежен, если используются фазово-контрастные изображения. При использовании светловольных изображений алгоритм может быть недостаточно оптимальным. В этом случае можно вручную добавить или переместить контуры среза.

Во вкладке **Section Definition** (Определение срезов) размещены инструменты и опции для создания срезов на изображении.

Параметр	Описание
Reference Section (Эталонный срез)	
- Select (Выбрать)	Активирует режим выбора (по умолчанию).
- Contour (Контур)	При выборе этого режима можно отметить контурную линию среза.
- Keep (Удерживать)	Выбранный инструмент остается активным. Можно использовать инструмент несколько раз, без необходимости его повторного выбора.
- Step Backward (Шаг назад)	Отменяет последнее действие.
- Step Forward (Шаг вперед)	Повторяет последнее действие.
- Delete (Удаление)	Удаляет выбранный графический элемент.
Section Index (Указатель срезов)	Здесь можно определить начальное число лент. Это важно в тех случаях, когда ленты образца размещены на нескольких подложках.
Selected Channel (Выбранный канал)	Отображает выбранный канал, который используется для обнаружения.
Detection Sensitivity (Чувствительность обнаружения)	Здесь с помощью ползунка можно отрегулировать чувствительность обнаружения с низкой (Low) до высокой (High). Чувствительность регулируется путем изменения порогов контраста, используемых в алгоритме обнаружения срезов. При установке низкой чувствительности срезы будут распознаваться даже при низком контрасте между срезом и субстратом. Недостаток: срезы будут распознаваться даже там, где серийные срезы отсутствуют. При установке высокой чувствительности алгоритм распознает срезы только при высоком контрасте между срезом и субстратом. Если распознаны не все срезы, можно скопировать или отметить контуры срезов.
Section Detection (Обнаружение срезов)	
- Apply (Применить)	Запускает процесс обнаружения срезов на образце. Программа пытается обнаружить каждый срез в ленте.
Contrast Method (Метод контрастирования)	

Параметр	Описание
- Auto (Автоматическое)	Автоматический режим используется по умолчанию. Система автоматически распознает метод контрастирования изображения.
- Ph. Contrast (Фазовое контрастирование)	Применяет метод фазового контрастирования. Даже при использовании светлополюсного изображения фазовый контраст будет применяться в качестве метода контрастирования.
- Brighfield (Светлое поле)	Применяет метод светлополюсного контрастирования. Даже при использовании фазового-контрастного изображения светлое поле будет применяться в качестве метода контрастирования.
Use Internal Structure (Использовать внутреннюю структуру)	Устанавливайте флажок только в тех случаях, когда структуры образца четко видны на срезах. Тогда помимо разности контраста между срезами и субстратом, для обнаружения срезов используются структуры образца. В случае неправильного обнаружения срезов можно либо отметить, либо скопировать контуры срезов.
Post Definitions (Пост-определения)	
- Инструмент Stamp (Штамп)	С помощью этого инструмента можно отметить срезы, не обнаруженные после завершения детектирования срезов. В этом случае просто выберите инструмент и переместите курсор мыши в область рядом с последним обнаруженным срезом. Курсор превратится в штамп, и вы сможете отметить недостающие контуры срезов.
- Accept Ref. Срез	При нажатии на эту кнопку эталонные контуры будут преобразованы в контуры срезов.

При необходимости по завершении обнаружения срезов можно воспользоваться рядом различных опций по их сортировке. Нажмите правой кнопкой мыши на обнаруженных срезах. Появится контекстное меню со следующими опциями:

Параметр	Описание
Sort (Упорядочить)	■ Sort all sections in reverse order (Упорядочить все срезы в обратном порядке) Упорядочивает все срезы, имеющие контур. Первоначальный срез с номером 1 становится последним, а последний срез становится первым с номером 1. ■ Sort selected Ribbon elements in reverse order (Упорядочить выбранные элементы ленты в обратном порядке) Упорядочивает выбранные срезы на ленте. Первоначальный срез с номером 1 становится последним, а последний срез становится первым с номером 1.
Copy selected sections from here (Копировать выбранные срезы)	Копирует выбранные срезы.
Copy selected Ribbon sections from here (Копировать выбранные срезы ленты)	Копирует все контуры срезов на выбранной ленте.
Paste Section(s) to here (Вставить срез(ы))	Вставляет контуры срезов (набор определенных контуров среза или всех срезов ленты) в выделенную позицию.
Exchange numbering of selected Ribbon sections (Заменить нумерацию выбранных срезов ленты)	Заменяет нумерацию выбранных срезов на разных лентах.
Highlight Related Ribbon Sections (Выделить связанные срезы ленты)	Выделяет выбранные срезы на ленте.
Merge two Ribbon Sections (Объединить два среза ленты)	Объединяет срезы на двух разных лентах в один.

16.4.4.5

Определение областей интереса

В шаге ROI Specification (Определение областей интереса) можно проверить используемый образец на наличие областей интереса и отметить эту область графическим элементом. На одном срезе можно определить несколько областей интереса.

Во вкладке **ROI Definition** (Определение областей интереса) можно создать прямоугольник, окружность или нарисовать от руки многоугольник/контур. Нажмите кнопку **Apply** (Применить) для автоматического определения области интереса во всех срезах. Также можно отменить и восстановить действие, воспользовавшись соответствующими кнопками **Undo / Redo** (Отменить/Восстановить). Для удаления графического элемента выберите его и нажмите на кнопку **Delete** (Удалить).

i Примечание

С помощью клавиш-стрелок клавиатуры можно перемещаться по серии от одной области интереса к другой, проверяя, по-прежнему ли располагается интересующая структура в пределах определенной области интереса.

16.4.4.6**Визуализация областей интереса**

В шаге ROI Imaging (Визуализация областей интереса) можно визуализировать области интереса, обнаруженные и отмеченные в предыдущем шаге. Мозаичные изображения автоматически генерируются из всех определенных областей интереса.

i Примечание

Размер полученных мозаичных изображений серии областей интереса может изменяться из-за количества мозаик, необходимых для визуализации определенной области интереса. Количество мозаик может варьироваться из-за изгибов ленты.

16.4.4.7**Повторная съемка**

Шаг Re-Shoot (Повторная съемка) полезен в тех случаях, когда некоторые мозаики или области интереса оказываются размытыми. Подобные мозаики/области можно заменить путем повторного получения выбранных мозаик или мозаичных изображений. Это выполняется следующим образом:

- Сначала выберите все размытые мозаики.
- Установите фокус на каждой позиции мозаики.
- Получите новые изображения.

Параметр	Описание
Select Tiles (Выбрать мозаики)	В этом режиме можно выбрать мозаики, которые требуется переснять. С помощью ползунка Z-Position (Позиция по оси Z) во вкладке Dimensions (Измерения) или стрелок в области изображения прокрутите полученные изображения. При обнаружении мозаичного изображения, которое необходимо переснять, просто щелкните по нему мышью. Цвет фрейма изображения изменится с красного на зеленый. Обратите внимание, что перед повторным получением изображений необходимо определить все мозаики или размытые области.
Acquire (Получить изображение)	В этом режиме можно повторно получить изображения выбранных мозаик после ручной корректировки резкости. При нажатии на эту кнопку столик переместится к первой мозаике и появятся следующие кнопки:
- Snap (Моментальный снимок)	Получает новое изображение.

Параметр	Описание
- Replace (Заменить)	Заменяет старую мозаику новой.
- Correct Brightness (Корректировать яркость)	Если мозаика ярче или темнее, вы можете отрегулировать яркость изображения мозаик.

Для выхода из мастера нажмите кнопку **Finish** (Готово).

16.4.5 Мастер выравнивания серии срезов по оси Z

Мастер выравнивания серии срезов по оси Z (Z-Stack Alignment Wizard) используется для выравнивания отдельных изображений серии срезов по оси Z. Мастер включает в себя шесть шагов, описанных в следующих разделах:

- 1/6 *Image Import* (Импорт изображения) [►454]
- 2/6 *Pre-Processing* (Предварительная обработка) [► 454]
- 3/6 *Image Review* (Просмотр изображения) [►455]
- 4/6 *Alignment* (Выравнивание) [►455]
- 5/6 *Manual Correction* (Ручная коррекция (по усмотрению)) [►456]
- 6/6 *Final Image Creation* (Создание конечного изображения) [►456]

16.4.5.1 Импорт изображения

В шаге *Image Import* (Импорт изображения) загружаются полученные изображения серии срезов по оси Z, которые необходимо выровнять. Просто нажмите на кнопку **Load** (Загрузить) и выберите файл-изображение в файловой системе.

16.4.5.2 Pre-Processing (Предварительная обработка)

В шаге *Pre-Processing* (Предварительная обработка) выполняется предварительная обработка загруженного изображения, например: сшивка (*Stitching*) (только для мозаичных изображений), коррекция яркости и контраста (*Brightness and Contrast Correction*) (только для SEM-изображений).

Параметр	Описание
Кнопка Apply Stitching (Выполнить сшивку)	Отображается только после загрузки мозаичного изображения. При нажатии на кнопку выполняется автоматическая сшивка изображения. Сшивка может быть отменена (<i>Undo</i>) или выполнена повторно (<i>Redo</i>) с помощью кнопок-стрелок.
Clip Limit (Предел по отсечению)	Уменьшает шум изображения. Чем выше предел по отсечению, тем ниже уровень шума. Предел по отсечению может регулироваться в диапазоне от 0 до 10%.

Параметр	Описание
Region Size (Размер области)	Определяет область выравнивания гистограммы. Чем меньше площадь, тем выше контраст, но при этом усиливается шум. Размер области может регулироваться в диапазоне от 16 до 1024 пикселей.
Выравнивание гистограммы	При нажатии на эту кнопку SEM-изображения приводятся к выбранным значениям. Выравнивание гистограммы может быть отменено (Undo) или выполнено повторно (Redo) с помощью кнопок-стрелок.

16.4.5.3 Image Review (Просмотр изображения)

Шаг Image Review (Просмотр изображения) используется для просмотра отдельных изображений серии срезов по оси Z. Эта функция необходима, поскольку некоторые изображения могут не годиться для создания трехмерных изображений из-за проблем, возникающих во время получения изображения или подготовки образца (складки или трещины в срезе). Эти области можно заменить либо предыдущим, либо следующим изображением. Просматриваемые изображения могут быть представлены в виде единичных двухмерных изображений в **двухмерной** проекции или в виде серии изображений в **галерее**.

Параметр	Описание
2D View (Двухмерная проекция)	Позволяет просмотреть единичные изображения серии срезов по оси Z в двухмерной проекции (2D). Перемещение по единичным изображениям осуществляется с помощью ползунка Z-Position (Позиция по оси Z). Чтобы заменить изображение, выберите изображение и нажмите либо на кнопку Replace with next (Заменить следующим), либо Replace with previous (Заменить предыдущим). Нажатие кнопки Undo (Отменить) отменяет последнее выполненное действие.
Gallery View (Галерея)	Позволяет просматривать единичные изображения в галерее. Единичные изображения серии срезов по оси Z отображаются в виде коллекции изображений. При обнаружении изображения, не соответствующего критериям, просто выберите его и замените следующим или предыдущим изображением.

16.4.5.4 Alignment (Выравнивание)

В шаге Alignment выполняется выравнивание изображения. Для этого просто нажмите кнопку **Start Alignment** (Выполнить выравнивание). Для отмены выравнивания нажмите кнопку **Stop** (Стоп).

i Примечание

Перед выравниванием выберите один опорный канал (например, DAPI, так как он окрашивает ядро, которое подходит для выравнивания).

Во время выравнивания доступен режим разделенного экрана. В левом контейнере отображаются исходные изображения, в правом контейнере — выравненные изображения.

16.4.5.5 Manual Correction (Ручная коррекция)

В шаге Manual Correction (Ручная коррекция (по усмотрению)) можно перемещаться по выравненным изображениям и проверять результат выравнивания.

В случае неудовлетворительных результатов выравнивание изображений можно исправить вручную. Ошибки в выравнивании могут происходить при отсутствии отличительных структур на изображениях.

16.4.5.6 Final Image Creation (Создание конечного изображения)

Последний, но не менее важный шаг Final Image Creation (Создание конечного изображения), в котором создается конечное изображение.

Параметр	Описание
Total (Целое изображение)	Для создания изображения используется всё изображение.
ROI (Область интереса)	Для создания изображения используется только область интереса.
Кнопка Create final image (Создать конечное изображение)	Создает конечное выравненное изображение серии срезов по оси Z.

Для выхода из мастера нажмите кнопку **Finish** (Готово).

16.4.6 Мастер корреляции

Мастер корреляции (Correlation Wizard) используется для сопоставления изображения серии срезов по оси Z, полученного с помощью оптического микроскопа (LM), и изображения серии срезов по оси Z, полученного с помощью растрового электронного микроскопа (SEM). Мастер включает в себя четыре шага, описанных в следующих разделах:

- 1/4 *Import Z-Stacks* (Импорт серий срезов по оси Z) [►457]
- 2/4 *Correlation* (Корреляция) [►457]
- 3/4 *Manual Correction* (Ручная коррекция) [►458]
- 4/4 *Create Final Correlation Image* (Создание конечного коррелированного изображения) [►458]

16.4.6.1 Import Z-Stacks (Импорт серий срезов по оси Z)

В шаге Import Z-Stacks (Импорт серии срезов по оси Z) можно импортировать изображения серии срезов по оси Z из LM и SEM, например, изображение серии срезов по оси Z из LM в левом контейнере, а изображение серии срезов по оси Z из SEM в правом контейнере.

Если нажать на кнопку **Left Container** (Левый контейнер), изображение откроется в левом графическом контейнере.

Если нажать на кнопку **Right Container** (Правый контейнер), изображение откроется в правом графическом контейнере.

16.4.6.2 Корреляция

В шаге Correlation (Корреляция) выполняется сопоставление изображений.

Параметр	Описание
Transform (Преобразовать)	Здесь выбирается серия срезов по оси Z, которую требуется преобразовать. Во время преобразования пиксель наложенного изображения серии срезов по оси Z вычисляется с помощью пикселей двух исходных изображений, которые должны быть совмещены/объединены.
Interpolation (Интерполяция)	Здесь вы можете выбрать один из следующих методов интерполяции:
- Nearest Neighbor (Ближайший сосед)	Значение серого тона результирующего пикселя в наложенном изображении рассчитывается из соседнего пикселя. Это высокоскоростной метод интерполяции.
- Linear (Линейное комбинирование)	Результирующему или вычисленному пикселю наложенного изображения присваивается значение серого, которое является результатом линейной комбинации значений пикселей, расположенных поблизости (в исходном изображении).
- Cubic (Кубический)	Результирующему или вычисленному пикселю наложенного изображения присваивается значение серого, которое рассчитывается с помощью полиномиальной функции с использованием значений серого тона пикселей исходных изображений; эти пиксели располагаются рядом с вычисленным пикселем.
Режим	Здесь выбирается режим алгоритма:
- 3-Points (3-точечный)	Этот режим позволяет устанавливать 6 корреляционных точек после нажатия на кнопку Set Points (Установить точки) (3 точки в каждой серии срезов по оси Z в каждом контейнере).
- 4-Points (4-точечный)	Этот режим позволяет устанавливать 8 корреляционных точек после нажатия на кнопку Set Points (Установить точки) (4 точки в каждой серии срезов по оси Z): 3 точки — в первом срезе по оси Z, последнюю точку — в последнем срезе.
Correlation Points (Корреляционные точки)	С помощью кнопки Set Points (Установить точки) устанавливаются корреляционные точки.

Параметр	Описание
	Число корреляционных точек соответствует выбранному алгоритму. Указатель мыши превратится в пипетку. Для установки точек просто нажмите на изображение. Начните с установки первых трех точек в левом контейнере, после чего установите соответствующие корреляционные точки в правом контейнере. После установки корреляционной точки появится зеленая галочка перед соответствующей точкой. При выборе 4-точечного алгоритма (4-Points-Algorithm) дисплей автоматически переместится к последнему изображению серии срезов по оси Z. Установите четвертую корреляционную точку в обоих контейнерах. Убедитесь, что позиции в обеих сериях срезов по оси Z идентичны. После установки всех точек пипетка обратно превратится в курсор. Кнопкой Reset (Сброс) удаляются все корреляционные точки на изображении.
Create correlated Z-Stack (Создать коррелированную серию срезов по оси Z)	При нажатии на эту кнопку будет создана коррелированная серия срезов по оси Z, которая откроется в новом графическом контейнере.

16.4.6.3 Manual Correction (Ручная коррекция)

В шаге Manual Correction (Ручная коррекция) можно вручную исправить корреляцию, перемещая и вращая преобразованное изображение.

Для этого просто нажмите кнопку **Start** (Пуск). Вы сможете интерактивно перемещать изображение, перетаскивая его мышью, или вращать изображение с помощью ползунка **Rotation** (Вращение) или круглой кнопки в верхней части зеленого фрейма изображения. С помощью соответствующего ползунка можно изменять непрозрачность (opacity) изображения.

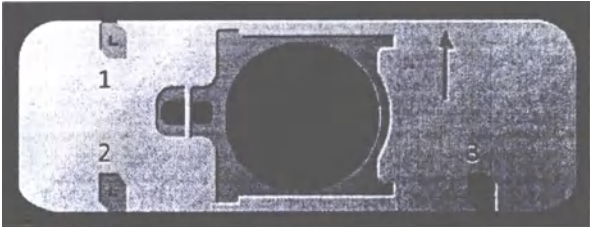
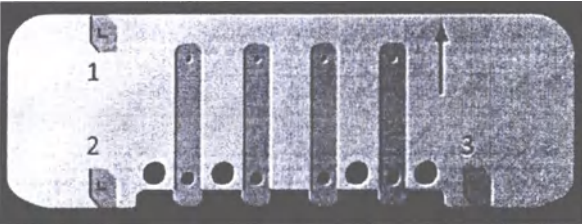
Если нажать на кнопку **Accept** (Принять), ручная коррекция будет применена к коррелированному изображению.

16.4.6.4 Create Final Correlation Image (Создание конечного коррелированного изображения)

В шаге Create Final Correlation Image (Создание конечного коррелированного изображения) создается конечное коррелированное изображение. Для этого просто нажмите кнопку **Create final Z-Stack** (Создать конечную серию срезов по оси Z). Для выхода из мастера нажмите на кнопку **Finish** (Готово).

16.5 Приложение

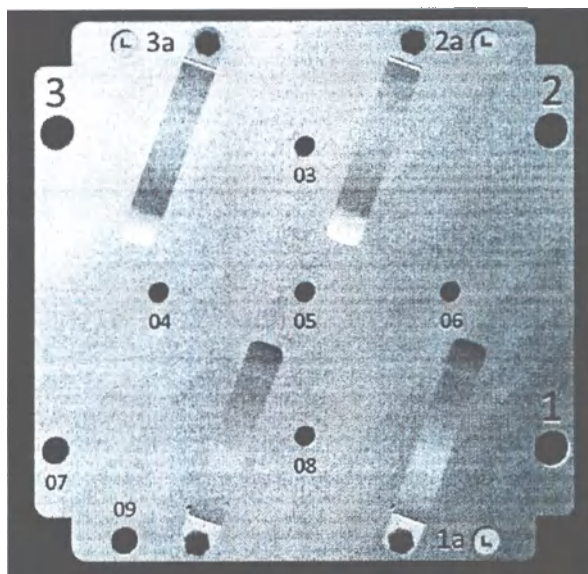
16.5.1 Сопоставительные держатели образца

Название	Изображение
Life Science для покровных стекол 22x22	
Life Science для сеток ПЭМ	
Покровное стекло с координатными метками 22x22	

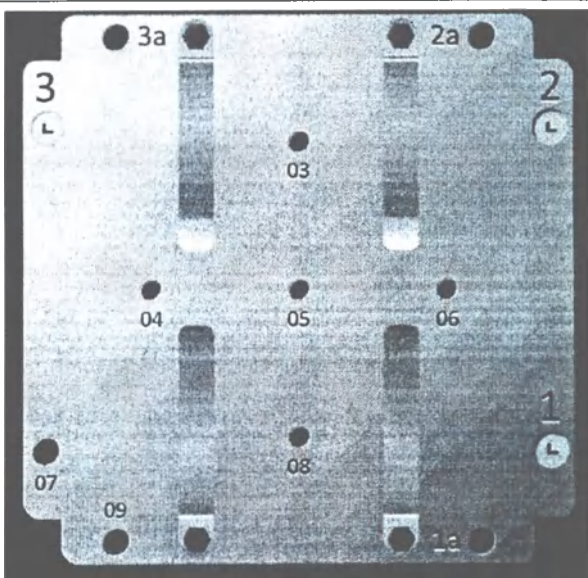
Название

МАТ для плоских
подставок А

Изображение



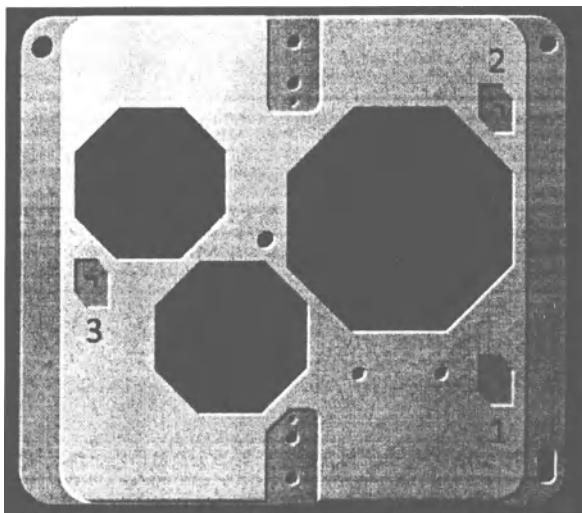
МАТ для плоских
подставок



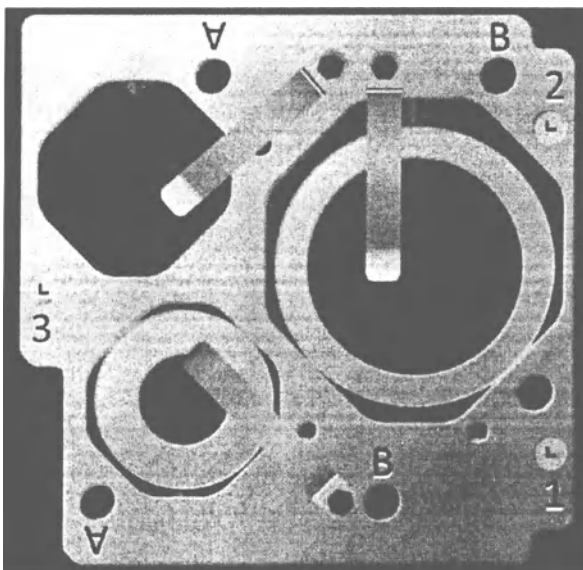
Название

Универсальный
держатель MAT A

Изображение



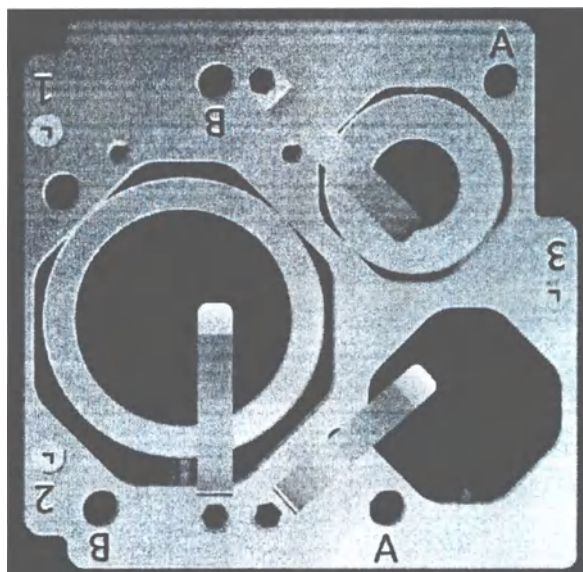
Универсальный
держатель MAT B_A



Название

Универсальный
держатель MAT В_В

Изображение



17 Модуль Confocal Topography

17.1 Введение

Для наших клиентов-материаловедов, например лабораторий по изучению свойств материалов, в дополнение к ПО ZEN мы разработали модуль **Confocal Topography** (Конфокальная топография). Модуль включает в себя следующие функции:

Сканирование топографии

Инструмента **Topography** (Топография) позволяет сканировать и изучать поверхности или структуры поверхностей образцов различных типов (например, подложек, солнечных фотоэлементов). Мастера измерения топографии (**Topography Measurement Wizard**) помогает получать конфокальные изображения используемого образца. Расширенный анализ топографического изображения выполняется программой ConfoMap, включенной в пакет программного обеспечения.

В разделе «**Функции и их назначение**» подробно описаны функции инструмента *Topography* [► 475] и мастера измерения топографии *Topography Measurement Wizard* [► 476].

В разделе «**Последовательность действий при сканировании топографии**» приводятся подробные инструкции по сканированию топографии, см. «*Введение*» [► 463].

Измерение толщины слоя

С помощью инструмента **Layer Thickness Measurement** (Измерение толщины слоя) можно получать изображения серий срезов по оси Z и измерять толщину одного или нескольких прозрачных слоев (например, покрытий, сплавов). Также в этом инструменте имеется мастер измерения толщины слоя (**Layer Thickness Measurement Wizard**), который проведет вас через данный процесс. Полученные значения могут быть скорректированы показателем преломления покрытия.

В разделе «**Функции и их назначение**» подробно описаны функции инструмента *Layer Thickness Measurement* [► 477] и мастера измерения толщины слоя *Layer Thickness Measurement wizard* [► 478].

В разделе «**Последовательность действий при измерении толщины слоя**» приводятся подробные инструкции по измерению толщины слоев, см. «*Введение*» [► 469].

17.2 Последовательность действий при сканировании топографии

17.2.1 Введение

В этом разделе приводится последовательность действий при измерении топографии в ПО ZEN. Этот раздел предназначен для пользователей, которым необходима вводная информация по процессу сканирования топографии. Вы ознакомитесь с процессом сканирования топографии начиная с общих подготовительных процедур и до передачи данных в программу **ConfoMap** для анализа.

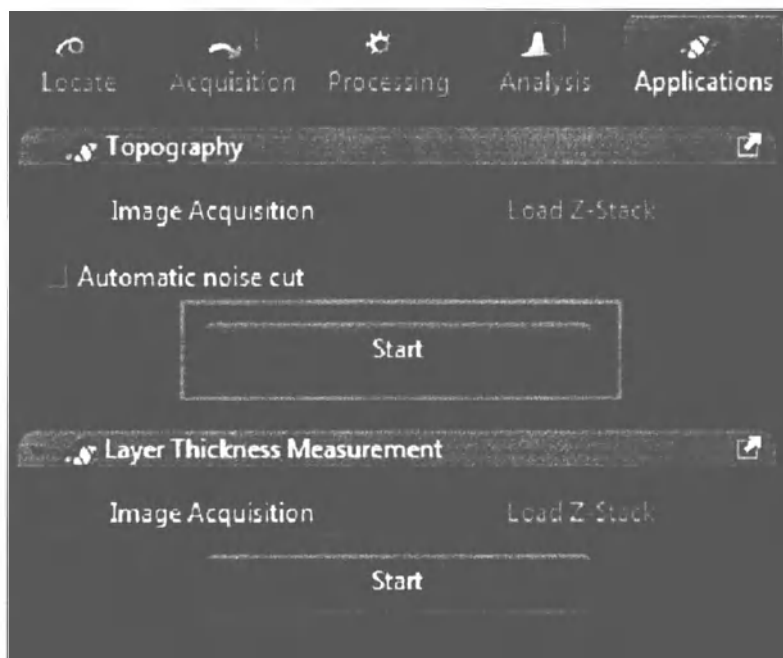
Обратите внимание, что здесь не описывается процесс анализа данных в Confotar, поскольку он изменяется в зависимости от образца. По этому вопросу рекомендуем обратиться к руководствам и документации по Confotar, в которых подробно описываются наиболее важные операции.

17.2.2 Получение топографических изображений

Для получения топографического изображения в ПО ZEN необходимо запустить мастер измерения топографии.

Необходимые предварительные условия ■ Открыта вкладка **Applications** (Приложения), в которой размещен инструмент **Topography** (Топография).

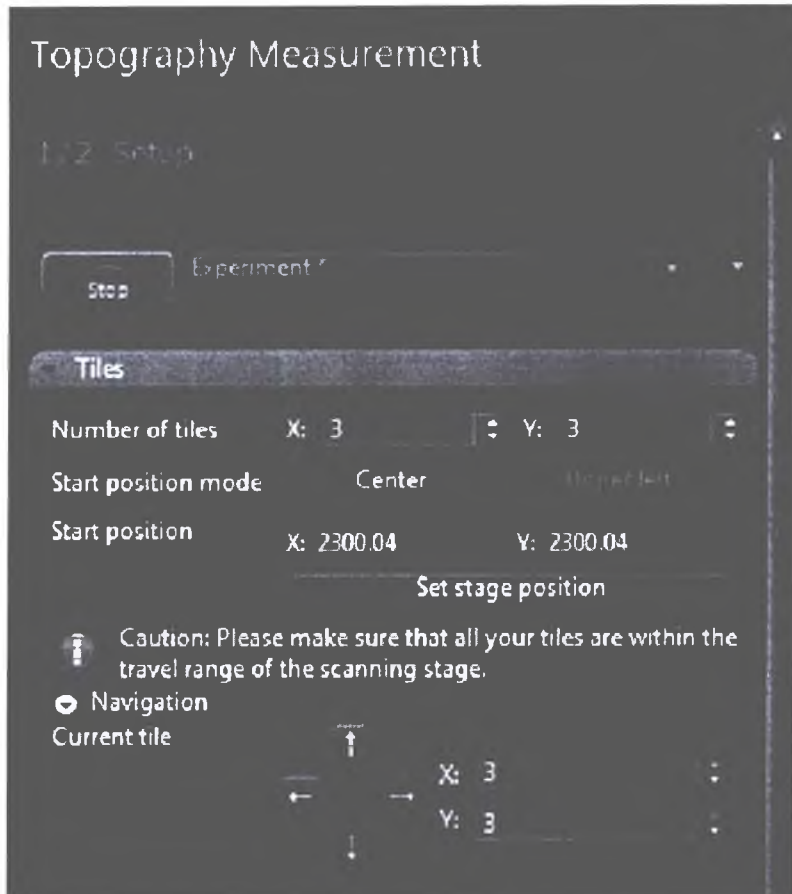
Порядок действий 1 Нажмите кнопку **Start** (Пуск).



Откроется мастер. В левой области инструментов откроется шаг 1/2 **Setup** (Настройка), в котором настраиваются параметры получения топографического изображения. В центральной области экрана в непрерывном режиме отобразится живое изображение используемого образца.

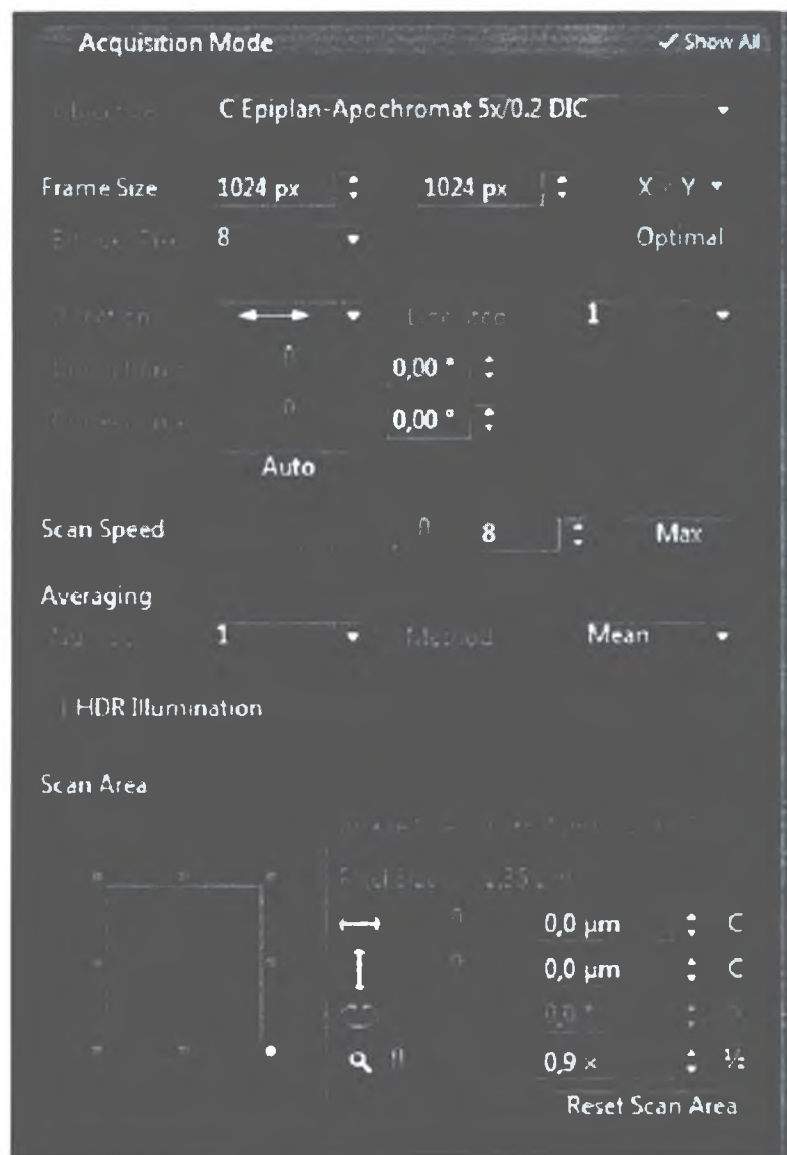
По умолчанию система настроена на получение только одной серии срезов по оси Z. Если область интереса (ROI) расположена в поле обзора (FoV), перейдите к шагу 5 данного руководства. Если область интереса больше поля обзора, можно настроить получение мозаик в инструменте Tiles.

- 2 Введите необходимое число мозаик в поля ввода X и (или) Y, например 3x3. Будет создано изображение из девяти (3x3) единичных мозаик.



- 3 Нажмите кнопку **Set stage position** (Установить позицию столика), чтобы установить точку привязки мозаичного скана в текущей позиции столика.
- 4 В разделе **Navigation** (Навигация) (его следует сначала расширить) с помощью кнопок-стрелок переключайтесь по изображениям единичных мозаик. Функция позволяет проверить, покрывают ли мозаики всю область интереса.

- 5 В инструменте **Acquisition Mode** (Режим получения изображений) отрегулируйте настройки параметров **Objective** (Объектив), **Frame Size** (Размер фрейма) и **Bits per Pixel** (Бит/пиксель) в соответствии с требованиями.

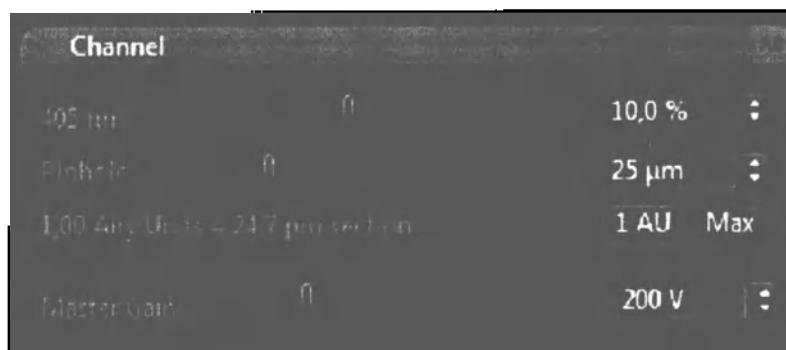


Примечание

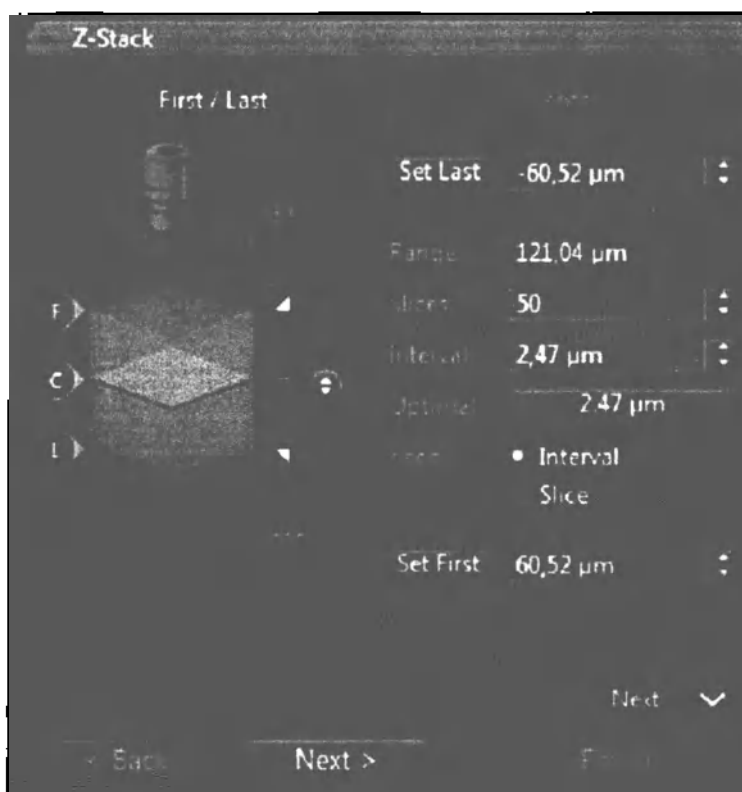
Обратите внимание, что изменять параметры **Frame size** (Размер фрейма) и **Bits per Pixel** (Бит/пиксель) в непрерывном режиме (**Continuous**) (Живое изображение) нельзя. Для отключения непрерывного режима нажмите кнопку **Stop** (Стоп) в левом верхнем углу.

- 6 Выполните фокусировку на поверхности. Настройка микроотверстия по умолчанию — **Max**. (Максимальное). Это позволяет легко фокусироваться на поверхности, как при использовании широкопольного микроскопа. Безусловно, возможна фокусировка и через окуляры.

- 7 Отрегулируйте микроотверстие до необходимого диаметра. Для обеспечения наилучшей производительности системы рекомендуем установить размер микроотверстия на 1 единицу Эйри (кнопка **1AU**). Поскольку у конфокальных изображений уменьшится глубина поля зрения, возможно, потребуется слегка отрегулировать позицию фокусировки.



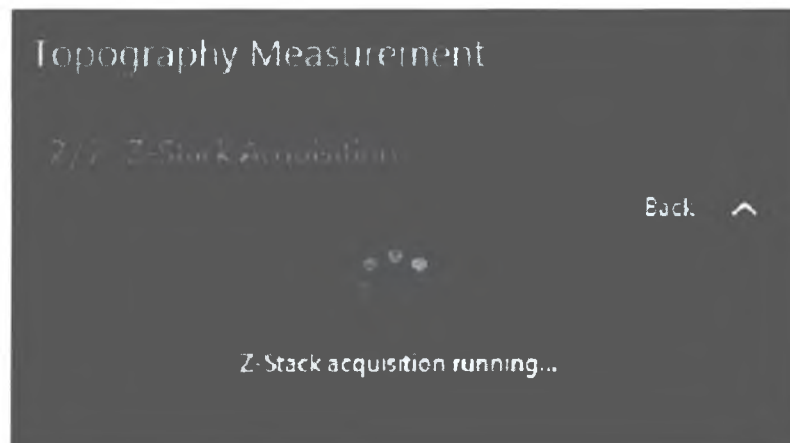
- 8 Отрегулируйте интенсивность лазера. Для этого выполните фокусировку на светлом срезе серии срезов по оси Z. Отрегулируйте интенсивность лазера с помощью ползунка **405 nm** (405 нм) или **Master Gain** (Среднее усиление). Регулируйте интенсивность до исчезновения всех переэкспонированных пикселей (отмечены красным).
- 9 Настройте **серию срезов по оси Z**, отрегулировав диапазон по оси Z (верхнюю и нижнюю границы серии срезов по оси Z). Для этого рекомендуем использовать режим первой и последней плоскостей (**First/Last**).



Убедитесь, что вся поверхность, которую необходимо измерить, находится внутри этих пределов. При сканировании мозаик, чтобы переходить к разным мозаикам, можно использовать стрелки навигации в инструменте **Tiles**.

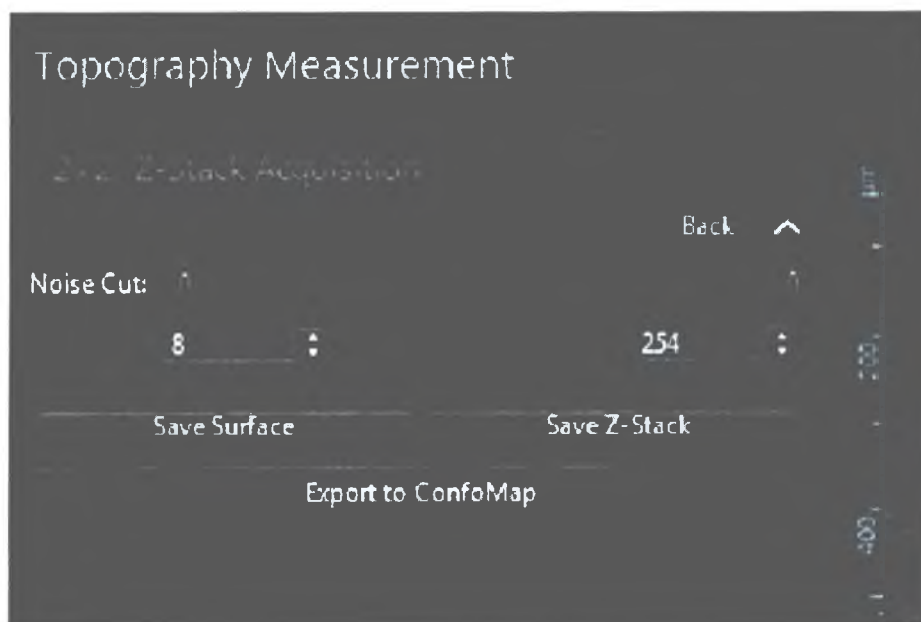
- 10 Нажмите кнопку **Next** (Далее).

Мастер перейдет к шагу **2/2 Z-Stack Acquisition** (Получение серии срезов по оси Z) и начнет получение изображения.



После получения изображения автоматически будет создано топографическое изображение (карта высот). После получения и обработки изображение появится в центральной области экрана.

- 11 При необходимости отрегулируйте пороговые значения с помощью ползунка **Noise Cut** (Отсечение шума). Обратите внимание, что пиксели ниже нижнего порогового значения выделены синим цветом, а пиксели выше верхнего порогового значения — красным цветом.



Примечание

Если функция **Automatic Noise Cut** (Автоматическое отсечение шума) в инструменте **Topography** (Топография) включена, этот шаг будет пропущен, а топографическое изображение будет автоматически экспортировано в **ConfoMap**.

- 12 Завершите работу в ZEN, выбрав следующие опции:

- При нажатии на кнопку **Export to Confomap** (Экспортировать в Confomap) топографическое изображение будет сразу открыто в программе анализа **ConfoMap**.

- Нажатием на кнопку **Save Topography** (Сохранить топографию) топографическое изображение сохраняется в файловой системе.

- Нажатие на кнопку **Save Z-Stack** (Сохранить серию срезов по оси Z) сохраняет исходные данные серии срезов по оси Z.

Вы успешно получили топографическое изображение. Поскольку анализ изображений выполняется программой ConfoMap, для получения подробной информации ознакомьтесь с документацией ПО ConfoMap.

17.3 Последовательность действий при измерении толщины слоя

17.3.1 Введение

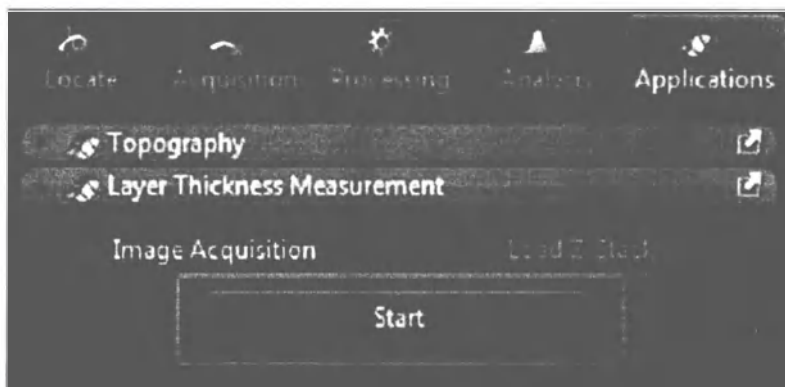
В этом разделе приводится последовательность операций по измерению толщины слоя в ПО ZEN. Этот раздел предназначен для пользователей, которым необходима вводная информация по процессу измерения толщины слоя. Вы ознакомитесь с процессом получения изображений и измерения толщины слоя, начиная с общих подготовительных процедур.

17.3.2 Измерение толщины слоя

Для измерения толщины слоя в ПО ZEN необходимо запустить мастер измерения топографии.

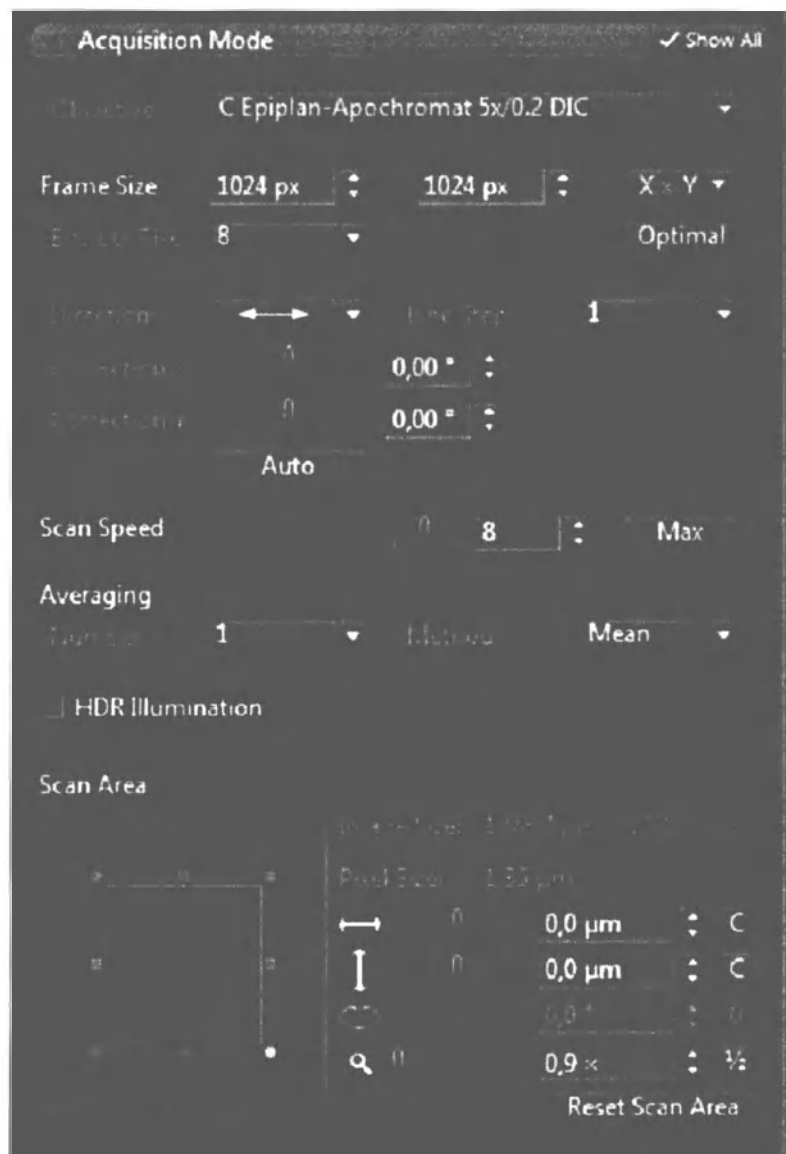
Необходимые предварительные условия ■ Открыта вкладка **Applications** (Приложения), в которой размещен инструмент **Layer Thickness Measurement** (Измерение толщины слоя).

Порядок действий 1 Нажмите кнопку **Start** (Пуск).



Откроется мастер. В левой области инструментов откроется шаг 1/3 **Setup** (Настройка), в котором вводятся параметры получения топографического изображения. В центральной области экрана в непрерывном режиме отобразится живое изображение используемого образца.

- 2 В инструменте **Acquisition Mode** (Режим получения изображений) отрегулируйте настройки параметров **Objective** (Объектив), **Frame Size** (Размер фрейма) и **Bits per Pixel** (Бит/пиксель) в соответствии с требованиями.



Примечание

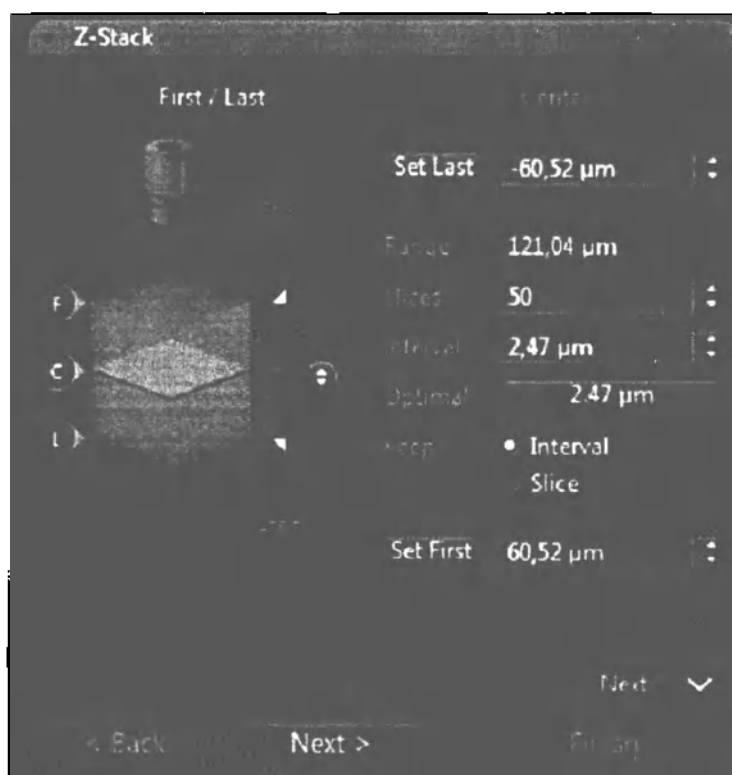
Обратите внимание, что изменять параметры **Frame size** (Размер фрейма) и **Bits per Pixel** (Бит/пиксель) в непрерывном режиме (**Continuous**) (Живое изображение) нельзя. Для отключения непрерывного режима нажмите кнопку **Stop** (Стоп) в левом верхнем углу.

- 3 Выполните фокусировку на поверхности. Настройка микроотверстия по умолчанию — **Max** (Максимальное). Это позволяет легко фокусироваться на поверхности, как при использовании широкопольного микроскопа. Безусловно, возможна фокусировка и через окуляры.

- 4 Отрегулируйте микроотверстие до необходимого диаметра. Для обеспечения наилучшей производительности системы рекомендуем установить размер микроотверстия на 1 единицу Эйри (кнопка **1AU**). Поскольку у конфокальных изображений уменьшится глубина поля зрения, возможно, потребуется слегка отрегулировать позицию фокусировки.



- 5 Отрегулируйте интенсивность лазера. Для этого выполните фокусировку на светлом срезе серии срезов по оси Z. Отрегулируйте интенсивность лазера с помощью ползунка **405 nm** (405 nm) или **Master Gain** (Среднее усиление). Регулируйте интенсивность до исчезновения всех переэкспонированных пикселей (отмечены красным).
- 6 Настройте серию срезов по оси Z, отрегулировав диапазон по оси Z (верхнюю и нижнюю границы серии срезов по оси Z). Для этого рекомендуем использовать режим первой и последней плоскостей (**First/Last**).



Убедитесь, что все слои, которые необходимо измерить, находятся внутри этих пределов. При сканировании мозаик, чтобы переходить к разным мозаикам, можно использовать стрелки навигации в инструменте **Tiles**.

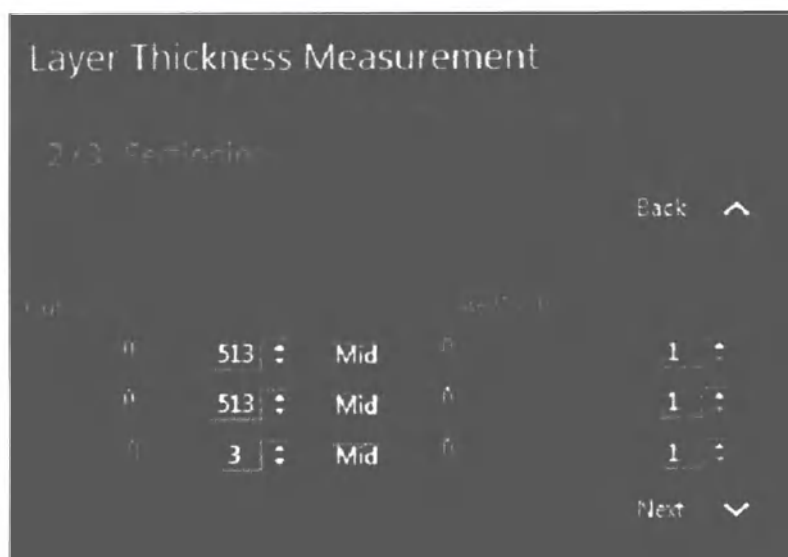
- 7 Нажмите кнопку **Next** (Далее).

Мастер перейдет к шагу **2/3 Sectioning** (Вычерчивание сечения) и начнет получение изображения.



После получения и обработки изображение отобразится в центральной области экрана.

- 8 Нажмите на кнопку **X-Z Layer** или **Y-Z Layer** для создания соответствующего поперечного сечения и его подробного анализа.



- 9 Нажмите кнопку **Next** (Далее).

Мастер перейдет к шагу **3/3 Measurement** (Измерение).

В правой части экрана появится выделенное поперечное сечение.



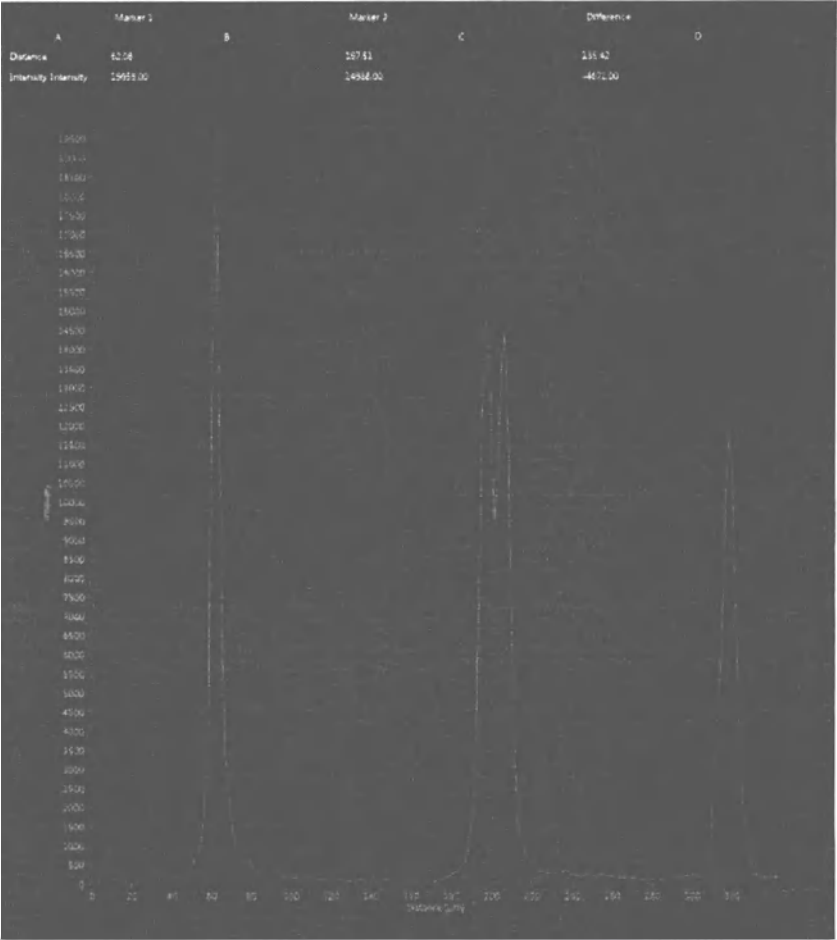
10 Прочертите профиль перпендикулярно поверхности.

Распределение интенсивности профиля отобразится слева от поперечного сечения.



11 Установите толщиномер на максимум интенсивности профиля.

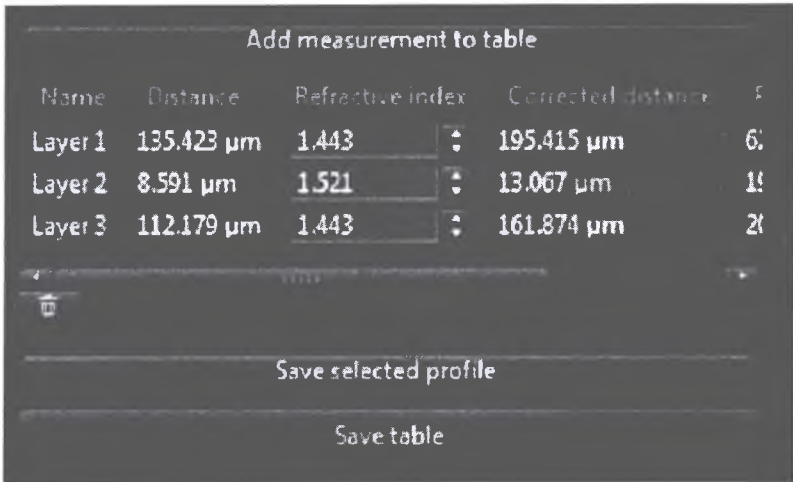
Над профилем появится таблица с данными измерения.



i Примечание

Значения расстояния в этой таблице представляют собой толщину слоя по отношению к оптическому пути. Они не корректируются показателем преломления слоя.

12 Нажмите кнопку **Add measurement to table** (Добавить результаты измерения в таблицу) для переноса данных в таблицу результатов слева. В таблице можно переименовывать слои и вычислять истинную толщину слоя, прибавляя показатель преломления.



- 13 Для сохранения полученных результатов имеются три опции:
- Кнопка **Save table** (Сохранить таблицу) сохраняет таблицу в файловой системе.
 - Кнопка **Save selected profile** (Сохранить выбранный профиль) экспортирует созданный профиль в стороннее программное обеспечение для проведения анализа.
 - Кнопка **Save Z-Stack** (Сохранить серию срезов по оси Z) сохраняет исходные данные серии срезов по оси Z в файловой системе.

Вы успешно измерили толщину слоя используемого образца, сохранили таблицу результатов, профили и исходные данные серии срезов по оси Z.

17.4 Функции и их назначение

17.4.1 Вкладка Applications

Во вкладке Applications (Приложения) доступны следующие инструменты:

- **Инструмент Topography** (Топография) для получения или загрузки существующей конфокальной серии срезов по оси Z и ее экспорта в программу ConfoMap ПО ZEISS для последующей обработки.
- **Инструмент Layer Thickness Measurement** (Измерение толщины слоя) для получения или загрузки существующей конфокальной серии срезов по оси Z и выполнения измерений толщины слоя.

17.4.2 Инструмент Topography

Параметр	Описание
Image Acquisition (Получение изображений)	Позволяет получить изображение с помощью мастера измерения топографии (Topography Measurement wizard).

Параметр	Описание
	Этот мастер проведет вас через весь процесс получения изображения. Затем вы сможете экспортировать изображение в программу ConfoMap для последующей обработки. Мастер запускается кнопкой Start (Пуск) в нижней области инструмента.
Load Z-Stack (Загрузить серию срезов по оси Z)	Позволяет загрузить существующую конфокальную серию срезов по оси Z из файловой системы. Для этого просто нажмите на значок папки и выберите изображение серии срезов по оси Z в файловой системе. При нажатии на кнопку Start (Пуск) мастер топографии (Topography) автоматически перейдет к последнему шагу, в котором выполняется отсечение шума и передача данных в программу ConfoMap.
Automatic Noise Cut (Автоматическое отсечение шума)	Флажок установлен: мастер автоматически выполнит шумоустраняющую фильтрацию с параметрами, предварительно установленными в инструменте. Флажок убран: шумоустраняющая фильтрация является дополнительным шагом в мастере измерения топографии (Topography Measurement wizard).
- Thresholds (Пороговые значения)	Здесь устанавливаются пороговые значения для 8-битных или 16-битных изображений.
Start (Пуск)	Запускает мастер измерения топографии (<i>Topography Measurement Wizard</i>) [► 476].

17.4.3 Мастер измерения топографии

Если вы выбрали опцию **Image Acquisition** (Получение изображения) в инструменте **Topography**, **мастер измерения топографии** будет состоять из двух шагов:

Шаг 1/2. Определение

Этот шаг позволяет выбрать эксперимент или настроить параметры визуализации для получения нового изображения, например число мозаик, режим получения изображения или создание серии срезов по оси Z, более подробно см. *Шаг 1. Setup (Настройка)* [► 477].

Имейте в виду, что в случае выбора опции **Load Z-Stack** (Загрузить серию срезов по оси Z) в инструменте **Topography** и запуска мастера, этот шаг становится недоступным.

Step 2/2. Z-Stack Acquisition

Второй шаг — получение серии срезов по оси Z. Процесс получения изображений осуществляется автоматически. Дополнительно, вы можете применить шумоустраняющую фильтрацию. Пиксели, которые не соответствуют пороговым значениям, будут выделены красным (верхнее пороговое значение) или синим цветом (нижнее пороговое значение), см. *Шаг 2. Z-Stack Acquisition (Получение серии срезов по оси Z)* [► 477].

i Примечание

Шумоустраняющая фильтрация будет пропущена, если установлен флажок **Automatic Noise Cut** (Автоматическое отсечение шума) в инструменте **Topography** (Топография). Предусмотренные параметры немедленно будут применены к изображению, и мастер перейдет к экспорту данных в ConfoMap.

17.4.3.1 Шаг 1. Определение

После запуска мастера в центральной области экрана появится живое изображение (режим Continuous (Непрерывный)) используемого образца. Настройка параметров получения изображения осуществляется в левой части экрана. Отдельные шаги описываются в следующих разделах.

Имейте в виду, что описываемые здесь инструменты установлены в ПО ZEN (blue) по умолчанию и настроены на получение топографических изображений, см. раздел «Инструменты для настройки получения изображения».

17.4.3.2 Шаг 2. Z-Stack Acquisition

Параметр	Описание
Noise Cut (Отсечение шума)	Здесь можно вручную настроить параметры отсечения шума. Для этого воспользуйтесь ползунком или введите нижнее и верхнее значения в поля ввода.
Save Surface (Сохранить поверхность)	Сохраняет изображение поверхности в файловую систему.
Export to ConfoMap (Экспортировать в ConfoMap)	Экспортирует изображение в программу ConfoMap. При нажатии на эту кнопку программа ConfoMap запустится автоматически.

17.4.4 Инструмент Layer Thickness Measurement (Измерение толщины слоя)

Параметр	Описание
Image Acquisition (Получение изображений)	Позволяет получить изображение с помощью мастера измерения толщины слоя (Layer Thickness Measurement wizard). Этот мастер проведет вас через весь процесс получения изображения. Затем вы сможете экспортировать изображение в программу ConfoMap для последующей обработки. Мастер запускается кнопкой Start (Пуск) в нижней области инструмента.
Load Z-Stack (Загрузить серию срезов по оси Z)	Позволяет загрузить существующую конфокальную серию срезов по оси Z из файловой системы. Для этого просто нажмите на значок папки и выберите изображение серии срезов по оси Z в файловой системе.
Start (Пуск)	Запускает мастер измерения толщины слоя (Layer Thickness Measurement wizard) (см. раздел > [► 478]).

17.4.5 Мастер измерения толщины слоя (Layer Thickness Measurement Wizard)

Если вы выбрали опцию **Image Acquisition** (Получение изображения) в инструменте **Layer Thickness Measurement** (Измерение толщины слоя), то мастер измерения толщины слоя (**Layer Thickness Measurement wizard**) будет включать в себя три шага:

Шаг 1/3. Определение

В этом шаге выбирается эксперимент или вводятся параметры визуализации для получения новой серии срезов по оси Z, например: настройка отслеживания, режим получения изображения, настройки серии срезов по оси Z, более подробно см. *Шаг 1. Setup (Настройка)* [► 478].

Шаг 2/3. Sectioning

В этом шаге (вычерчивание поперечного сечения) требуется определить поперечное сечение образца, которое необходимо проанализировать. Здесь, помимо центральной области обзора (оси X/Y; синий фрейм), присутствуют сечения по осям X/Z (сверху, зеленый фрейм) и осям Y/Z (справа, красный фрейм), см. *Шаг 2. Sectioning (Вычерчивание сечения)* [► 478].

Шаг 3/3. Measurement (Измерения)

В этом шаге создается один или несколько профилей распределения интенсивности в поперечном срезе. В этих профилях можно выполнять измерения, а также создавать таблицы с результатами измерений. Наконец, можно сохранить профиль, серию срезов по оси Z или таблицу результатов, см. *Шаг 3. Measurement (Измерение)* [► 479].

17.4.5.1 Шаг 1. Определение

После запуска мастера в центральной области экрана появится живое изображение (режим Continuous (Непрерывный)) используемого образца. Настройка параметров получения изображения осуществляется в левой части экрана. Отдельные шаги описываются в следующих разделах. Обратите внимание, что описываемые здесь инструменты установлены в ПО ZEN (blue) по умолчанию и настроены на получение изображений с измерениями толщины слоя.

17.4.5.2 Шаг 2. Sectioning

Здесь можно настроить параметры для вычерчивания сечения.

Параметр	Описание
X-Z Layer (Слой X-Z) (зеленый)	Для дальнейшего изучения используется сечение X-Z.
Y-Z Layer (Слой Y-Z) (красный)	Для дальнейшего изучения используется сечение Y-Z.
Cut Lines (Секущие линии)	Здесь определяется позиция секущей линии. Для этого воспользуйтесь ползунком или введите координаты позиции непосредственно в поле ввода.
Кнопка Mid (Середина)	При нажатии на эту кнопку соответствующая секущая линия будет размещена в середине (центре) изображения.

Параметр	Описание
Line Width (Ширина линии)	Здесь регулируется ширина соответствующей секущей линии. Значение по умолчанию: 1 (в пикселях)

17.4.5.3**Шаг 3. Measurement (Измерения)**

Здесь настраиваются параметры измерений.

Параметр	Описание
Profile mode (Режим профиля)	Здесь выбирается режим профиля для выполнения измерения:
- Arrow (Стрелка)	Этот режим позволяет начертить стрелку в профиле. При этом профиль будет измерен вдоль прочерченной линии стрелки.
- Rectangle (Прямоугольник)	Этот режим позволяет начертить прямоугольник в профиле. При этом профиль будет измерен по всей площади прямоугольника.
Add measurement to table (Добавить измерение в таблицу)	Результат измерения добавляется в таблицу измерения слева. В этой таблице можно переименовать профиль и скорректировать результат, используя показатель преломления.
Save selected profile (Сохранить выбранный профиль)	Выбранный профиль сохраняется в .czt-файле.
Save Z-Stack (Сохранить серию срезов по оси Z)	Изображение серии срезов по оси Z сохраняется в .czi-файле.
Save table (Сохранить таблицу)	Выбранная таблица сохраняется в .czt-файле.

17.4.6**Инструменты настройки визуализации****17.4.6.1****Tiles (Мозаики)**

В инструменте Tiles (Мозаики) настраиваются параметры получения мозаик. Пользователю доступны следующие параметры:

Параметр	Описание
Number of Tiles (Число мозаик)	Здесь вводится необходимое число мозаик по осям X и Y.
Set stage position (Установить позицию столика)	Текущая позиция столика принимается за начальную позицию для получения мозаик.
Start position mode (Режим начальной позиции)	Здесь определяется выравнивание мозаичного скана относительно определенной позиции.
- Center (Центр)	Центр мозаичного скана принимается за начальную позицию.

Параметр	Описание
- Upper Left (Верхний левый угол)	Верхний левый угол мозаичного скана принимается за начальную позицию.
Navigation (Навигация)	Нажмите на кнопку-стрелку для отображения всего среза. Перед началом получения изображения здесь можно проверить, находится ли в фокусе каждое единичное изображение мозаичного изображения. Чтобы проверить настройки серии срезов по оси Z, перемещайтесь от одной мозаики к другой с помощью кнопок-стрелок или посредством ввода X/Y-координат.
Start position (Начальная позиция)	Отображает X- и Y-значения начальной позиции для получения мозаик.

17.4.6.2

Channel (Канал)

С помощью этого инструмента можно управлять лазером и регулировать его мощность. Пользователю доступны следующие параметры:

Параметр	Описание
405 нм	Здесь с помощью ползунка, кнопок-стрелок или посредством ввода значений в поле ввода указывается необходимое ослабление (в процентах) лазерного излучения.
Pinhole (Микроотверстие)	Регулирует диаметр микроотверстия. Диаметр указывается в микрометрах (мкм). В тексте ниже этот диаметр переводится в единицы Эйри (AU) и толщину среза. Для измерений конфокальной топографии рекомендуемый размер микроотверстия составляет 1AU.
- 1 AU	Приводит диаметр микроотверстия к рекомендуемой величине 1AU (единицы Эйри).
- Max (Максимальный) (установлен по умолчанию)	Микроотверстие открывается на максимальный диаметр. Также это установленный по умолчанию параметр. Это позволяет легко фокусироваться на поверхности, как при использовании широкопольного микроскопа. Безусловно, возможна фокусировка и через окуляры.
Master Gain (Среднее усиление)	Здесь можно управлять напряжением ФЭУ. Высокое напряжение повышает усиление ФЭУ. Изображение в этом случае становится светлее, и возможно уменьшение мощности лазера. При высоком напряжении повышается уровень шума изображения.

Параметр	Описание
	Оптимальное соотношение усиления и шума зависит от требований к эксперименту и используемого образца. Максимальное напряжение многощелочного ФЭУ составляет 900 В.
Digital Offset (Цифровое смещение)	Здесь выполняется регулировка на фоне изображения.
Digital Gain (Цифровое усиление)	Здесь можно в цифровой форме усиливать сигнал лазера.

17.4.6.3 Режим Acquisition (Получение изображений)

Здесь можно регулировать параметры сканирования и получения изображений, которые будут применяться на протяжении всего эксперимента.

Параметр	Описание
Objective (Объектив)	Выберите здесь необходимый для получения изображения объектив.
Frame Size (Размер фрейма)	Необходимый размер фрейма (в пикселях) отображаемого изображения определяется значениями двух полей ввода. Для изменения размера фрейма следует остановить получение живого изображения.
- Кнопка «X x Y» 	Позволяет выбрать размеры фрейма из списка значений по умолчанию (например, 128x128 или 512x512). В случае измерения топографии и толщины слоя рекомендуем начинать с размера фрейма «1024x1024».
- Кнопка Optimal (Оптимальный)	Размеру фрейма (разрешение изображения) присваивается оптимальное значение в соответствии с оптическим увеличением (объективом) и коэффициентом увеличения. Это обеспечивает получение изображения без потери данных и отсутствие пустых данных вследствие оптимальной выборки. Оптимальная величина рассчитывается для выбранного объектива и настроек увеличения, что соответствует двукратной передискретизации по Найквисту. Измерения прямоугольного изображения сохраняются.
- Bits per Pixel (Бит/пиксель)	В выпадающем списке регулируется глубина цвета до 8 бит или 16 бит (т. е. в значениях серого — 256 или 65536). Для изменения глубины цвета следует остановить получение живого изображения.
Direction (Направление)	Для выбора доступны следующие направления сканирования:

Параметр

- Unidirectional
(Однонаправленное)



- Bi-directional
(Двунаправленное)

**Описание**

Лазер выполняет сканирование только в одном направлении, затем возвращается обратно для сканирования следующей линии.

Лазер также выполняет сканирование при обратном перемещении, т. е. время сканирования сокращается вдвое.

Если в результате двунаправленного сканирования возникает заметный сдвиг пикселей между поступательным и обратным движением (двойное изображение), устраните сдвиг с помощью ползунков **Correction X / Correction Y** (Коррекция по оси X/Коррекция по оси Y).

При нажатии на кнопку **Auto** (Авто) выполняется автоматическая коррекция сканирования.

Scan Speed
(Скорость сканирования)

С помощью ползунка отрегулируйте скорость сканирования в диапазоне от 1 (медленно) до 16 (очень быстро).

Обратите внимание, что максимально доступная скорость сканирования зависит от выбранного **размера фрейма** (Frame Size) и коэффициента увеличения (Zoom Factor).

Averaging
(Усреднение)

- Number (Число)

Выберите число изображений, которое необходимо усреднить (1–16).

- Method (Метод)

Выберите метод усреднения:

■ **Mean** (Среднее):

Используется среднее значение всех изображений.

■ **Sum** (Сумма):

Используется сумма всех изображений.

Scan Area (Область сканирования)

В этом разделе регулируется позиция области сканирования.

Внешняя рамка соответствует полю обзора микроскопа.

Внутренняя рамка представляет собой область сканирования. Все изменения (Offset (Смещение), Rotation (Вращение), Zoom (Увеличение)), внесенные в этом разделе, автоматически применяются к области сканирования.

Доступны следующие функции:

- Offset (Смещение)

Корректируйте смещение с помощью ползунка **Left / Right** (Влево/Вправо) или **Up / Down** (Вверх/Вниз). Кроме того, определенное значение можно ввести в поле ввода.

Нажатием на кнопку «С», расположенную за полем ввода, смещенная позиция устанавливается в центр.

Параметр	Описание
	Нажмите левой кнопкой мыши на внутреннем фрейме и, удерживая ее в нажатом положении, свободно перемещайте область сканирования. Позиции, указанные в полях ввода, будут изменены в соответствии с регулировками.
- Rotation (Вращение)	Угол поворота устанавливается с помощью ползунка Rotation (Вращение). Кроме того, определенное значение можно ввести в поле ввода. Нажатием на кнопку «O», расположенную за полем ввода, угол поворота восстанавливается до значения по умолчанию (0°).
- Zoom (Увеличение)	Степень увеличения (0.5x–40x) регулируется с помощью ползунка Zoom (Увеличение). Кроме того, определенное значение можно ввести в поле ввода. Нажатием на кнопку «1/2», расположенную за полем ввода, степень увеличения восстанавливается до значения по умолчанию (0.5x).
- Reset Scan Area (Восстановить настройки области сканирования по умолчанию)	Возвращает все настройки к значениям по умолчанию.

17.4.6.4 Z-Stack (Серия срезов по оси Z)

Здесь настраивается получение изображения серии срезов по оси Z.

Примечание

Получение изображений серии срезов по оси Z осуществляется снизу вверх независимо от того, какая (верхняя или нижняя) плоскость по оси Z в серии срезов определена в качестве первой плоскости по оси Z. Такой порядок получения изображений повышает точность позиционирования по оси Z.

Для ручной настройки серии срезов по оси Z доступны два режима:

Параметр	Описание
First / Last (Первая плоскость / Последняя плоскость)	Можно настроить серию срезов по оси Z, указав первую и последнюю позиции серии срезов по оси Z, более подробно см. раздел «Ручная настройка среза по оси Z (режим первой/последней плоскости)» [► 45].
Центр	Можно настроить серию срезов по оси Z, определив центральную плоскость серии срезов по оси Z, более подробно см. раздел «Ручная настройка среза по оси Z (режим средней плоскости)» [► 46].

В зависимости от активированного режима для настройки серии срезов по оси Z доступны следующие параметры:

Параметр	Описание
Set Last/Set First (Установить первую позицию/Установить последнюю позицию)	Доступен только в режиме First/Last (Первая плоскость/Последняя плоскость). С помощью кнопок Set Last (Установить последнюю позицию) и Set First (Установить первую позицию) текущая позиция указывается в качестве последней или первой позиции серии срезов по оси Z.
Range (Диапазон)	Показывает диапазон настроенной серии срезов по оси Z от последней до первой плоскости среза.
Slices (Срезы)	Здесь вводится число Z-срезов в серии срезов по оси Z.
Interval (Интервал)	Здесь вводится необходимое расстояние между Z-срезами.
Optimal (Оптимальный)	Числовое значение на кнопке означает расстояние, вычисленное для набора каналов и используемого микроскопа по Найквисту. Нажатием на эту кнопку данная величина автоматически вносится в поле ввода Interval (Интервал).
Keep (Удерживать)	■ Interval (Интервал): В случае изменения параметров в инструменте Z-Stack (Серия срезов по оси Z) сохраняет установленный интервал между плоскостями среза постоянным. ■ Slice (Срез): Сохраняет установленное число срезов постоянным.
Центр	Доступен только в режиме Center (Центральная плоскость). Текущая позиция принимается за среднюю плоскость по оси Z. Также можно ввести необходимое значение в поле ввода справа от кнопки.
Offset (Смещение)	Здесь можно ввести величину смещения.

18 Модуль Software Autofocus

18.1 Введение

Модуль **Software Autofocus** (Программная автофокусировка, сокр. SWAF) обладает функцией настраиваемого на основе изображения автофокуса, которая перебирает ряд аксиально ступенчатых изображений, анализируя резкость каждого. Z-величина изображения, которая выдает максимальную резкость, устанавливается в качестве новой плоскости наблюдения.

Для работы модуля микроскоп должен быть снабжен электроприводом по оси Z. Ему не требуется ни Z-пьезоактуатор, ни Z-пьезоэлемент, используемые SWAF в текущей комплектации. Во вкладке **Acquisition** (Получение изображений) или **Locate** (Местоположение) можно изменять настройки SWAF в инструменте **Software Autofocus** (Программная автофокусировка). Настройки также можно вызывать (и тестировать) кнопкой Auto Focus (Автофокусировка) на панели основных кнопок рядом с вкладкой Acquisition (Получение изображений). Настройки SWAF сохраняются вместе с экспериментом во вкладке Acquisition (Получение изображений).

Конфигурация обеспечивает соответствие функции SWAF условиям, в которых должна быть установлена фокусировка. Описание основных функций, настраиваемых отдельными элементами управления см. в разделе «*Функции и их назначение*» [► 487]. Однако перед описанием каждого параметра, мы попытаемся прояснить несколько вопросов: Каким образом SWAF ПО ZEN пытается установить фокус? И как настройка параметров влияет на работу SWAF?

18.1.1 В каком случае фокусировка установлена правильно?

В микроскопии под фокусом подразумеваются такие параметры изображения, как контраст или интенсивность, которые варьируются в зависимости от позиции плоскости наблюдения объектива на образце и уровня детали образца в данной плоскости. Однако алгоритм, который пытается определить (и максимизировать) подобные значения, будет выдавать только осевую позицию, которая соответствует плоскости интереса, в случае их совпадения (обычно это происходит при использовании (тонких) образцов с отдельной дискретной плоскостью детали).

Это значительно затрудняется использованием линз с высокой числовой апертурой (NA), более толстых образцов и менее выраженных деталей (модулируемых как изменение контраста или интенсивности в результирующем изображении). В связи с этим SWAF не следует принимать за средство поиска фокуса, программная автофокусировка может использоваться в качестве метода надежного поиска по заданному осевому диапазону и определения местоположения данной плоскости на образце. Таким образом, несмотря на то, что не все образцы и условия визуализации подходят для данного модуля, SWAF является средством, которое позволяет определять плоскость фокусировки, первого шага для последующей визуализации.

18.1.2 Программная автофокусировка в ZEN

В основном SWAF выполняет поиск (с предустановленным шагом по оси Z) в заданном для плоскости изображения диапазоне Z-величин, в результате чего определяется максимальное значение «резкости». Размер шага или частота дискретизации SWAF определяется числовой апертурой объектива и длиной волны (более подробно см. далее). В свою очередь, область (автоматического) поиска также

в большинстве случаев определяется числовой апертурой объектива. Безусловно, то, что объективы с высокой числовой апертурой имеют меньшую область поиска и наоборот, продиктовано оптикой. Для того чтобы SWAF был эффективен в определенной области применения, плоскость изображения, которая определяет максимальную резкость, в идеале должна соответствовать плоскости интереса образца (т. е. свойства образца определяют, подходит ли SWAF для правильного обнаружения необходимой плоскости исследования). Компонентные алгоритмы и функции SWAF, их взаимозависимость и последовательность основных операций SWAF наглядно представлены на рисунке ниже:

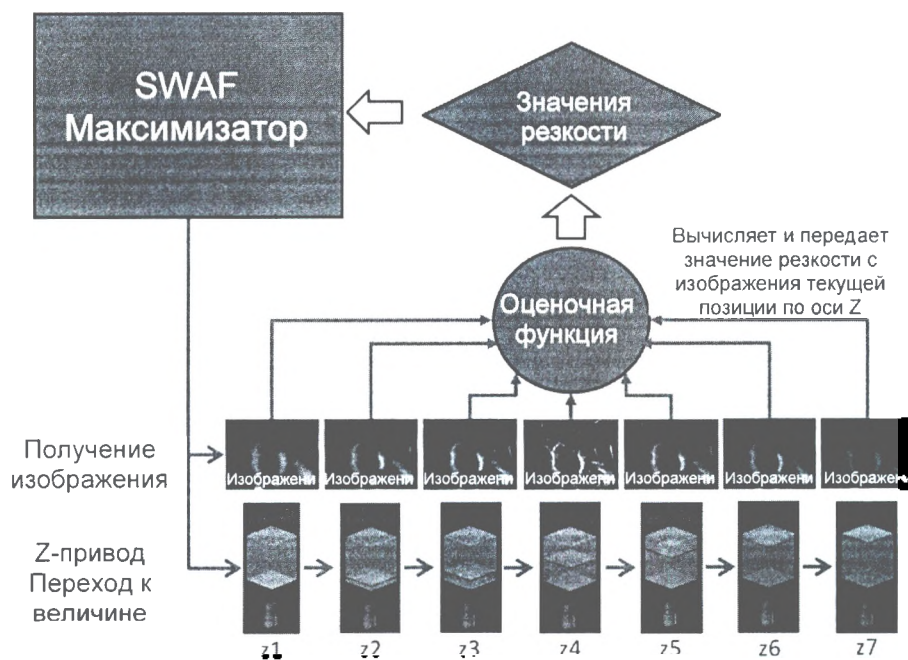


Рисунок 18.1. Последовательность операций в SWAF

SWAF приводится в действие и управляется максимизатором, который попеременно управляет Z-приводом и камерой для получения серии изображений через предустановленные осевые интервалы. Каждое из этих изображений последовательно передается в оценочную функцию, которая вычисляет значение резкости для данного изображения. Полученное значение передается на максимизатор, где ведется таблица значений резкости. Максимизатор выполняет поиск (с помощью однонаправленного (Full) либо двунаправленного (Smart) осевого перемещения) и определяет момент обнаружения величины максимальной резкости. Следующее выравнивание данных выполняется локально, вблизи указанного максимума для уточнения его позиции. Затем SWAF устанавливает эту Z-величину в качестве результирующей осевой позиции Z-привода. Если максимум не установлен, максимизатор определяет состояние ошибки и выдает соответствующее исключение (сообщение об ошибке). В этом случае Z-привод возвращается в исходную позицию, таким образом минимизируя вероятность столкновения объектива с образцом.

18.2 Функции и их назначение

18.2.1 Введение

Модуль **Software Autofocus** имеет ряд настроек, которые можно изменять непосредственно в инструменте **Software Autofocus**, присутствующем во вкладке **Locate** (Местоположение) или **Acquisition** (Получение изображений). Обратите внимание, что изменения, сделанные во вкладке **Locate** (Местоположение), не переносятся на настройки вкладки **Acquisition** (Получение изображений). Поэтому настройки, используемые в ходе эксперимента, должны быть выполнены и во вкладке **Acquisition** (Получение изображений). Безусловно, эти настройки сохраняются в файле эксперимента и могут в дальнейшем использоваться по мере необходимости.

Однако обратите внимание, что параметры, зависящие от линзы объектива (например, шаг, используемый с конкретной частотой дискретизации), изменяются автоматически, если тот же самый эксперимент будет проводиться с другим объективом. В следующем разделе описываются доступные пользователю отдельные настройки:

18.2.2 Инструмент Software Autofocus

Параметр	Описание
Режим	Здесь выбирается режим измерения резкости.
- Auto (Автоматически)	Эта настройка используется по умолчанию. Программа делает выбор на основе конфигурации микроскопа. Так, например, при использовании широкопольных методов или проходящего света резкость всегда зависит от контраста (Contrast). С другой стороны, при использовании методов выделения оптических срезов (например, вращающийся диск) программа автоматически выбирает метод определения значений резкости на основе интенсивности (Intensity). Если комплектация микроскопа не определяется автоматически, выбрать режим измерения резкости можно вручную.
- Contrast (Контрастность)	Резкость определяется на основе контраста.
- Intensity (Интенсивность)	Резкость будет определяться на основе интенсивности.
- Reflex (Отражение)	Доступен только в системах ЛСМ . Если параметр активирован: обнаруживает отражение лазера на поверхности покровного стекла.

Параметр	Описание
	Смещение используется для фокусировки образца. Оно однократно добавляется с помощью кнопки Find Offset (Обнаружить смещение), когда образец находится в фокусе объектива. Для этого метода требуется несовпадение показателя преломления между иммерсионной средой и покровным стеклом, а это значит, что он не подходит для масляно-иммерсионных объективов. При использовании режима Reflex (Отражение) параметр поиска Search должен быть по возможности установлен на Smart (Интеллектуальный). После определения смещения область поиска можно сузить вручную, что позволит сократить время фокусировки. Параметры получения изображения (например, линия лазера, усиление ФЭУ, эмиссионные фильтры) настраиваются автоматически.
Quality (Качество)	Этот параметр определяет оценочную функцию, которая используется для вычисления величины контраста изображения, когда для измерения резкости программой SWAF (Программная автофокусировка) используется режим Contrast (Контрастирование).
- Default (По умолчанию)	При выборе этого параметра используется композит взвешенных оценочных функций. Используйте этот параметр, если образец покрывает большую часть поля обзора камеры.
- Low Signal (Слабый сигнал)	Для определения значения используется простая оценочная функция. Используйте этот параметр, когда изображение зашумлено или когда образец покрывает малую область поля обзора камеры. Подобное возможно при работе с калибровочным слайдом или гранулами.
Search (Поиск)	Имеются две опции: Smart и Full. Они устанавливают разные типы основного максимизатора, используемого для запуска SWAF, который, в свою очередь, определяет ряд дополнительных свойств и параметров всего процесса. Более подробно о параметрах см. раздел «Часто задаваемые вопросы».
- Smart (Интеллектуальный)	Используется альтернативный максимизатор, который выполняет поиск, перемещаясь в двух направлениях, и останавливается при обнаружении локального максимума значений резкости (т. е. значительного снижения резкости в обоих направлениях по оси Z). Напомним, если интеллектуальный максимизатор обнаруживает ошибку, он выдает соответствующее исключение.
- Full (Полный)	Максимизатор, применяемый с этими настройками, использует однонаправленное перемещение Z-привода, пошагово перемещаясь по всей относительной или постоянной области поиска, определенной в инструменте SWAF (см. раздел «Область поиска автофокусировки»).

Параметр	Описание
	Полный максимизатор определит общий максимум для выполнения автофокусировки или выдаст соответствующее исключение, если будет установлено состояние ошибки.
Sampling (Дискретизация)	Здесь можно определить размер шага дискретизации области поиска.
- Default (По умолчанию)	Использует размер шага по умолчанию ($dz = 1/\sqrt[2]{n \cdot \lambda / NA}$).
- Fine (Частая дискретизация)	Использует малое расстояние по оси Z ($0,5 \cdot dz$) между отдельными сфокусированными изображениями, используемыми для вычисления наилучшей позиции фокусировки. Вследствие этого количество срезов по оси Z в заданной области поиска удваивается.
- Medium (Средняя дискретизация)	Использует среднее расстояние по оси Z ($2 \cdot dz$) между отдельными сфокусированными изображениями, используемыми для вычисления наилучшей позиции фокусировки. Вследствие этого количество срезов по оси Z в заданной области поиска уменьшается вдвое.
- Coarse (Грубая дискретизация)	Использует большое расстояние по оси Z ($4 \cdot dz$) между отдельными сфокусированными изображениями, используемыми для вычисления наилучшей позиции фокусировки. Вследствие этого количество срезов по оси Z в заданной области поиска уменьшается вчетверо.
Autofocus Search Range (Область поиска автофокусировки)	Здесь можно выбрать один из подходов, применяемых к области поиска автофокусировки:
- Relative Range (Относительная область)	Этот режим используется по умолчанию. Программная автофокусировка определяется по относительной области. Более подробно см. раздел «Относительная область поиска SWAF».
- Automatic Range (Автоматически определяемая область)	Флажок установлен: автоматически вычисляет область поиска автофокусировки в зависимости от установленного объектива.
Range (Область поиска)	Параметр активен, только если установлен флажок Automatic Range (Автоматическая область поиска). Здесь можно ввести область, которая будет использоваться для поиска автофокусировки.
- Step Size (Шаг)	Отображает расстояние между отдельными сфокусированными изображениями, заданное напротив элемента Range (Область поиска).
- Fixed Range (Постоянная область поиска)	Программная автофокусировка определяется по постоянной области.

Параметр	Описание
	Более подробно см. раздел «Постоянная область поиска SWAF».
- Set Last (Установить последнюю позицию)	Определяет текущую позицию по оси Z как конечную (последнюю) точку для программной автофокусировки. Необходимое значение можно также ввести в поле ввода слева от кнопки.
Range (Область поиска)	Отображает область, которая используется для поиска автофокусировки. Задайте область с помощью кнопок Set Last (Установить последнюю позицию) / Set First (Установить первую позицию) или соответствующих полей ввода.
- Step Size (Шаг)	Отображает выбранное расстояние дискретизации (Sampling) между отдельными фокусными снимками.
- Set First (Установить первую позицию)	Определяет текущую позицию по оси Z как начальную (первую) точку для программной автофокусировки. Необходимое значение можно также ввести в поле ввода слева от кнопки.
Autofocus ROI (Область интереса SWAF)	Здесь вы можете определить область для точечного экспонометра (Spot Meter ROI) или фокусировки (Focus ROI), чтобы пиксели, оцениваемые SWAF, ограничивались областью изображения, определяемой пользователем. Эта функция исключительно полезна при использовании координатной метки (например, частица пыли или иной стойкий артефакт), которая с течением времени служит ориентиром для фокусировки образца в фиксированной позиции. Область автофокусировки отображается на живом изображении образца, что позволяет пользователю размещать и изменять ее размеры по мере необходимости. В качестве дополнительного вспомогательного средства фокусировки также можно использовать функцию фокусированной линейки живого изображения, которая отслеживает контраст живого изображения, или область точечного экспонометра (Spot Meter ROI).
- Spot Meter /Focus ROI (Область точечного экспонометра / Область фокусировки)	Флажок установлен: для определения позиции фокусировки использует только величины области точечного экспонометра (Spot Meter ROI) / фокусировки (Focus ROI). Область фокусировки (Focus ROI) отображается на живом изображении в виде пунктирного прямоугольника красного цвета. Вы можете изменить ее, нажав на рамку и изменив размер и позицию. Обратите внимание, что эта опция недоступна для изображений, полученных с помощью ЛСМ.

19 Приложения и компоненты

19.1 Slidescan

19.1.1 Введение

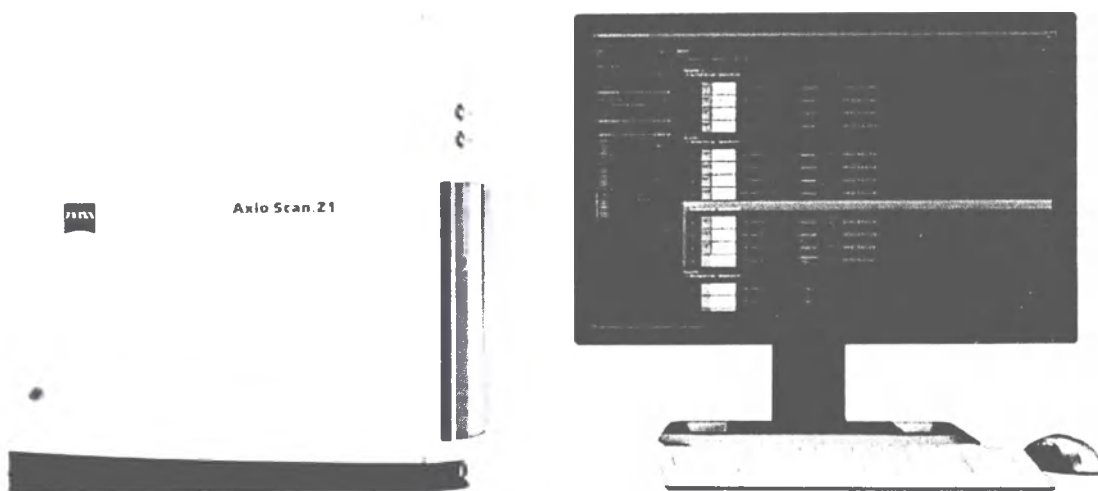


Рисунок 19.1. Система Axio Scan.Z1

ZEN slidescan — пакет программ, обладающий всеми инструментами и функциями, необходимыми для управления системой Axio Scan.Z1. Например, он включает в себя возможность создания серии срезов по оси Z и изображений с увеличенной глубиной резкости. С помощью этого программного обеспечения вы можете автоматически создавать высокоразрешающие изображения (виртуальные слайды) из используемых образцов. Система способна создавать сканы в светлопольном, а также многоканальном флуоресцентном режиме. Axio Scan.Z1 управляется главным образом программными средствами. Более подробную информацию о работе аппаратного обеспечения и прочих процедурах, связанных с аппаратными средствами (например, замена набора фильтров и т. д.) см. в последней версии руководства Axio Scan.Z1. Поскольку Axio Scan.Z1 снабжен встроенной кассетой на 12 или 100 слайдов, программное обеспечение сопровождает сканирование образцов, управляет кассетой и слайдами (включая статус слайдов). Все это визуализируется интуитивным графическим пользовательским интерфейсом.

В настоящем руководстве описывается работа программного обеспечения ZEN slidescan, а не общая функциональность ПО ZEN; более подробно о ПО ZEN см. общее справочное руководство ZEN. Информация, приведенная в данном документе, также доступна в интерактивной справке (F1). Здесь вы получите удобный доступ к информации, организованной по вкладкам и мастерам.

19.1.2 Работа с ZEN slidescan

19.1.2.1 Настройка светловольных, флуоресцентных или поляризационных профилей

В следующих шагах приводится последовательность операций по настройке светловольных, флуоресцентных или поляризационных профилей. В приведенном примере мы выбрали светловольный профиль во вкладке Smart Profile Selection (Быстрый выбор профиля). Для флуоресцентных или поляризационных профилей выбирайте соответствующие профили в пуле хранения профилей.

19.1.2.1.1 Шаг 1. Smart Profile Selection

- Порядок действий**
- 1 Нажмите кнопку **Smart Profile Selection...** (Быстрый выбор профиля...) во вкладке **Scan** (Сканирование) (кнопка расположена в верхней области вкладки).



После этого система проведет вас по дереву принятия решений для подбора профиля, подходящего к области исследования. Шаги снабжены пиктограммами, облегчающими зрительное восприятие. По окончании программное обеспечение представит профиль, наиболее подходящий для образца/области исследования. При необходимости можно изменить имя и описание профиля.

Примечание

Профили, используемые в разделе **Smart Profile Selection** (Быстрый выбор профиля), не меняются и являются элементами пула хранения профилей, не доступными для редактирования пользователем.

- 2 Нажмите кнопку **Finish** (Готово).

Профиль будет скопирован в папку профилей. Профиль отобразится в виде дополнительного элемента в списке профилей.

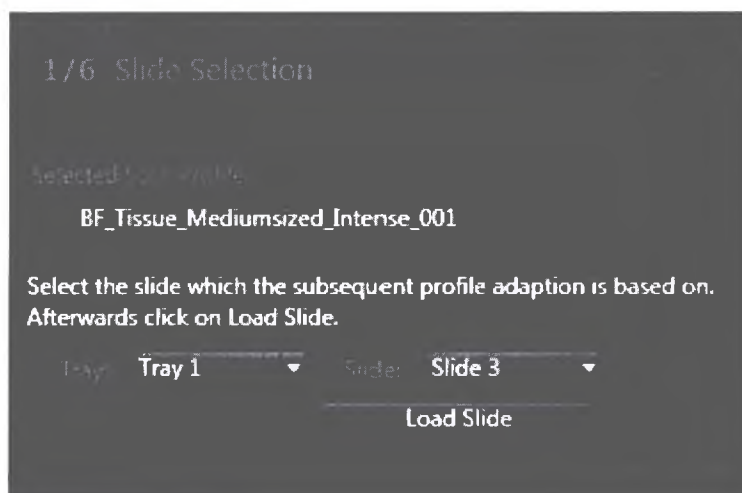
Теперь профиль можно использовать как есть. Рекомендуется использовать мастер профиля сканирования (**Scan Profile Wizard**) для адаптации выбранного профиля к конкретным нуждам. Это можно сделать сразу после быстрого выбора профиля, активировав соответствующую кнопку-флажок.

19.1.2.1.2 Шаг 2. Мастер создания профиля сканирования

Необходимые предварительные условия ■ Откройте дверцу **Axio Scan.Z1**, например, нажав кнопку **Open/Close** (Открыть/Заккрыть). Вставьте кювету с обычным стеклянным слайдом (образец должен представлять большую группу схожих образцов) в кассету и закройте дверцу. Дождитесь, пока не загорится зеленый индикатор основного состояния.

- Порядок действий**
- 1 Во вкладке **Scan** (Сканирование) в разделе **Default Scan Profile** (Профиль сканирования по умолчанию) выберите профиль, который необходимо изменить. Рекомендуем использовать профиль, выбираемый в разделе **Smart Profile Selection** (Быстрый выбор профиля).
 - 2 Нажмите кнопку **Scan Profile Wizard...** (Мастер создания профиля сканирования).

Откроется мастер создания профиля сканирования (Scan Profile Wizard). Появится описание профиля (например, тип используемого предварительного обнаружения). Это важно для правильной подготовки слайда (например, если необходима метка, то ее следует разместить на слайде).
 - 3 Первый шаг — **Slide Selection** (Выбор слайда). Выберите позицию кюветы (**Tray**) и слайда (**Slide**) и нажмите на кнопку **Load Slide** (Загрузить слайд).



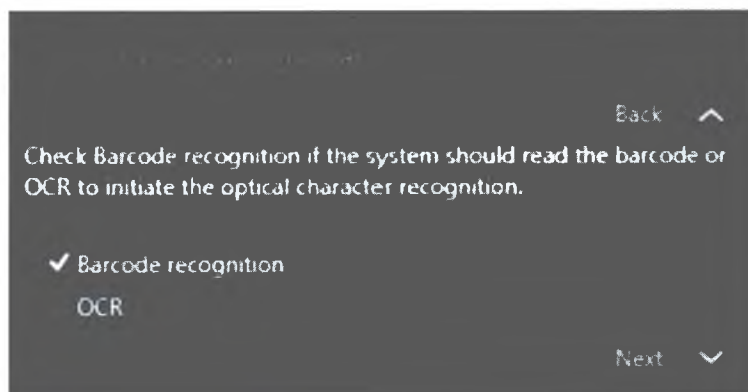
Система переместит кювету в рабочую позицию. Если кювета еще не расположена на столике, программное обеспечение извлечет кювету из кассеты.

i **Примечание**

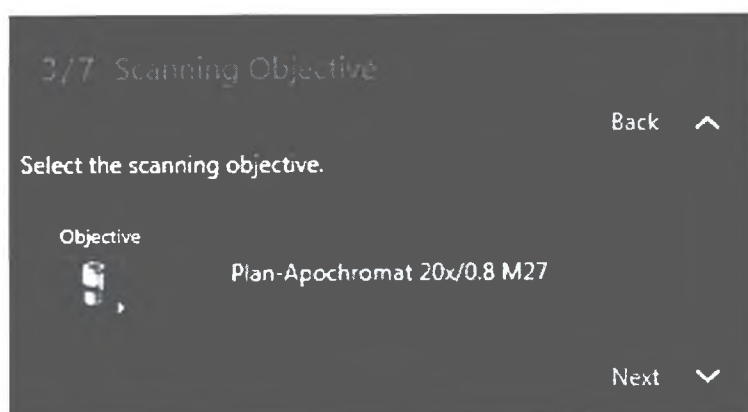
Если в следующем шаге появится область для настройки расчетной сетки, а в профиле отобразится информация о необходимости использования сетки, обратитесь к разделу **Grid definition** (Определение расчетной сетки).

- 4 Следующий шаг — **Label Recognition** (Распознавание метки). Здесь можно выбрать либо **Barcode recognition** (Распознавание по штрихкоду), либо **OCR** (Оптическое распознавание символов). При выборе распознавания по штрихкоду система проверит все возможные типы штрихкодов по умолчанию.

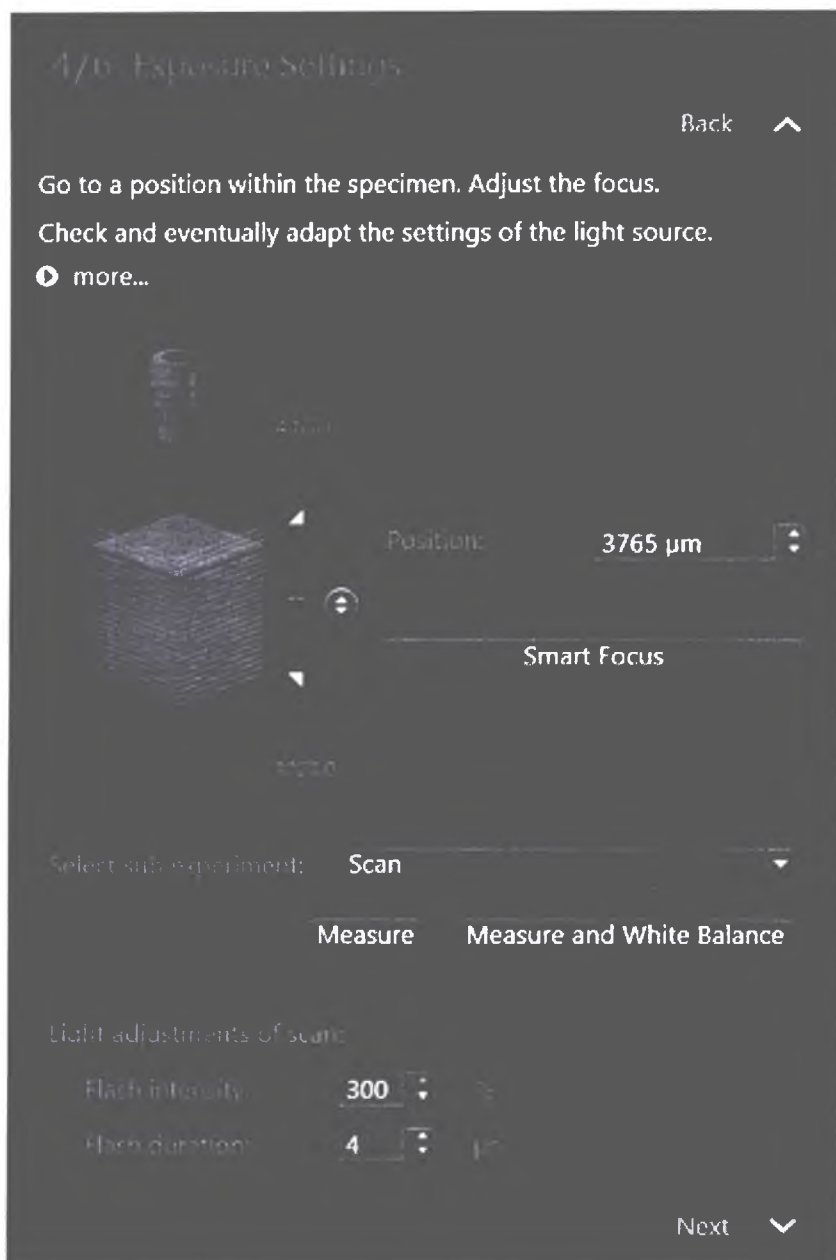
Для получения доступа к расширенным настройкам (например, необходимо считывать конкретный штрихкод) используйте расширенный мастер создания профиля сканирования (**Advanced Scan Profile Wizard**).



- 5 В следующем шаге требуется выбрать сканирующий объектив (**Scanning Objective**).



- 6 Следующий шаг — настройка яркости изображения в разделе **Exposure settings** (Настройки экспозиции). Яркость изображения регулируется с помощью интенсивности (**Flash intensity**) и продолжительности вспышки (**Flash duration**).



Для адаптации этих настроек (особенно необходимо в случае смены сканирующего объектива) следует поместить столик с образцом в оптический путь (например, нажатием на изображение предпросмотра во вкладке **Navigation** (Навигация) или с помощью виртуального джойстика во вкладке **Stage** (Столик)).

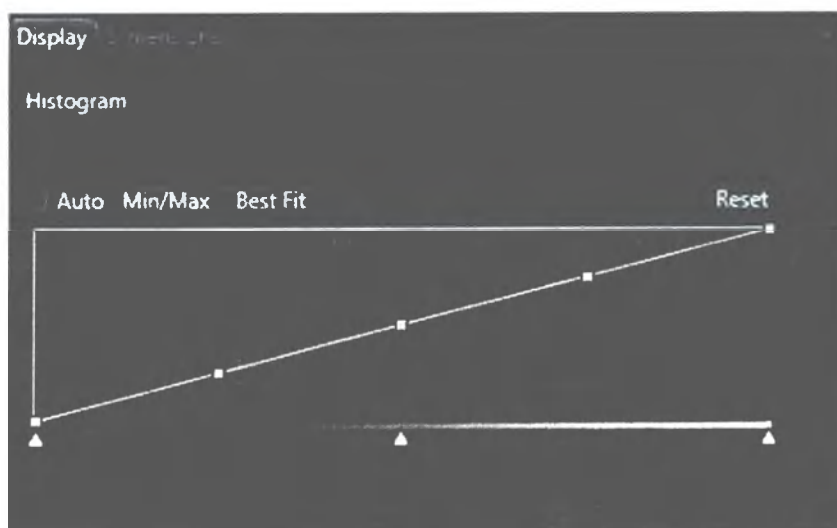


- 7 Теперь необходимо выполнить фокусировку образца, например, нажав на кнопку **Smart Focus** (Быстрая фокусировка). Также можно воспользоваться опциями ручной настройки фокуса.

i Примечание

В большинстве случаев достаточно использовать **Smart Focus** (который представляет собой сочетание грубой (Coarse Focus) и точной фокусировки (Fine Focus)). Если функция **Smart Focus** не работает, проверьте расширенные настройки фокусировки в расширенном мастере создания профиля сканирования (**Advanced Profile Wizard**).

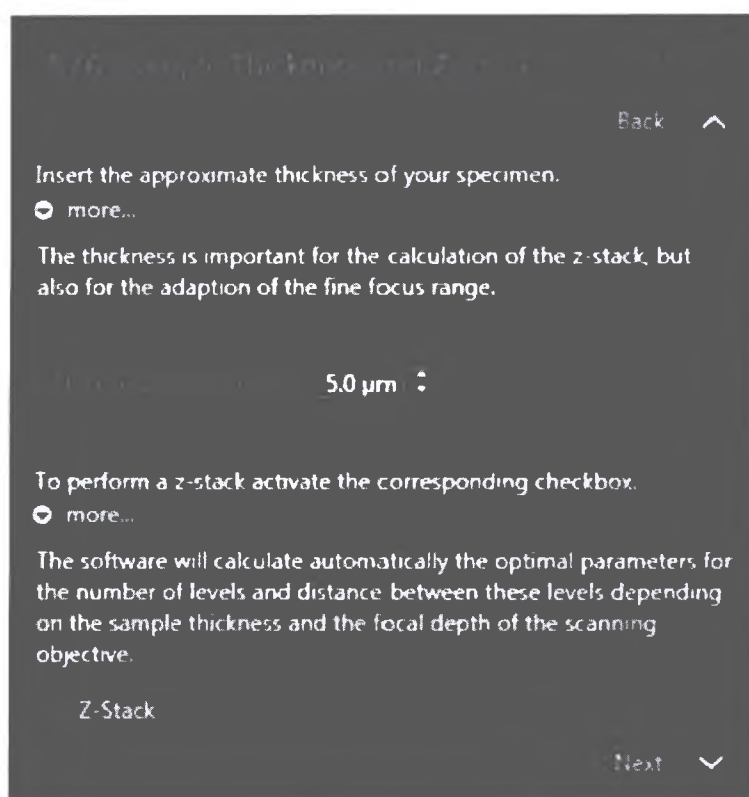
- 8 После выполнения фокусировки следует просмотреть ту область образца, которая не вошла в поле обзора. Теперь можно оптимизировать настройки до получения подходящего вида изображения, без признаков переэкспонирования и недоэкспонирования. Проверьте распределение интенсивности по кривой отображения.



i Примечание

Обратите внимание, что настройки интенсивности вспышки точные, а настройки продолжительности вспышки грубые. Продолжительность вспышки не должна превышать 10 мкс.

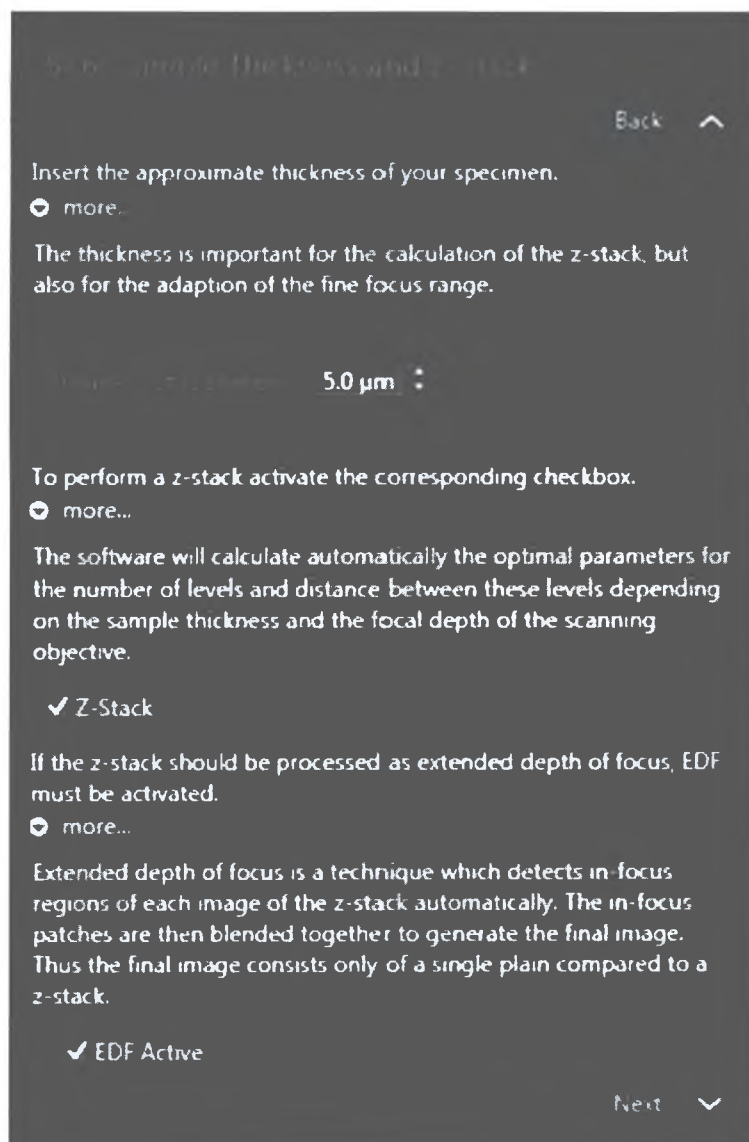
- 9 Следующий шаг — выбор толщины образца (**Sample Thickness**) и серии срезов по оси Z (**Z-Stack**). Для использования серии срезов по оси Z установите флажок **Z-Stack** (Серия срезов по оси Z). Толщина используется для расчета не только параметра Z-Stack (Серия срезов по оси Z), но и для точного определения области фокусировки. Это означает, что данная величина должна быть дважды проверена и отрегулирована, даже если не установлен флажок Z-Stack (Серия срезов по оси Z)
- 10 Если пользователь уже работал над профилем из пула в Smart Profile Selection (Быстрый выбор профиля), он может активировать серию срезов по оси Z, если того требует область исследования. Тем не менее следует также перепроверять параметры. В данном случае — толщину образца.



На основе толщины программное обеспечение вычислит количество уровней фокусировки, а также расстояние между уровнями — используемого объектива.

Наконец, можно либо сохранить серию срезов по оси Z, либо применить **увеличенную глубину резкости (EDF, от англ. Extended Depth of Focus)**.

Для этого следует установить флажок EDF.



- 11 Последний шаг — **Profile Name and Description** (Имя и описание профиля). Функция **Save as New Profile** (Сохранить как новый профиль) позволяет сохранить профиль сканирования под новым именем. Кроме того, можно изменить описание или ввести новое. Рекомендуется по крайней мере изменить описание профиля, чтобы можно было легко проследить базовую настройку профиля.



12 Чтобы сохранить результаты изменения и закрыть мастер, нажмите кнопку **Finish** (Готово).

Вы успешно настроили светлопольный профиль сканирования.

19.1.2.2 Импорт имен, профилей и сцен

Примечание

Перед началом импорта необходимо сначала вставить кюветы с предметными стеклами в кассету, так как только при наличии этой информации система может выполнять логические двойные проверки.

Импорт выполняется с помощью файла данных с разделителями-запятыми (csv). Для каждого слайда должен использоваться один ряд. Каждая строка для каждого определенного слайда должна иметь следующие данные:

- номер кюветы (абсолютный),
- номер слайда (абсолютный),
- имя изображения,
- имя профиля,
- scene1, scene2, scene3 и т. д.

Номер кюветы и предметного стекла вводится обязательно, остальные параметры — по усмотрению. Можете пропустить определенные поля ввода, и они не будут изменены во время импорта. Присвоение имен сценам начинается с верхнего левого объекта с перемещением вправо. После того как всем объектам будет присвоено определенное имя, программа сместится влево, на вторую строку объектов, и продолжит присвоение имен с перемещением влево и т. д.

Пример порядка присвоения имен сценам:

1	2	3	4
5	6	7	8
9	10	11	12

Пример А

1,1,Mouse1,Profile001,brain1,brain2,brain3

Первому слайду первой кюветы система присвоит имя изображения Mouse1 и применит профиль Profile001. Если предпросмотр обнаружит несколько сцен, система присвоит первой сцене имя brain1, второй сцене — brain2 и т. д.

Пример В

1,1,Mouse1

1,2,Mouse2

1,3,Mouse3

Здесь система присвоит указанной позиции кюветы и предметного стекла только имена изображений.

Пример С

1,1,,Profile001

1,2,,Profile002

1,3,,Profile003

Здесь система присвоит указанной позиции кюветы и предметного стекла только имена профилей.

Примечания

- Если в файле импорта будет указан профиль, который отсутствует в списке доступных профилей, программное обеспечение выдаст предупреждение и профиль применен не будет.
- Если в файле импорта определена позиция, не занятая слайдом, программное обеспечение выдаст предупреждение и отменит импорт для данной позиции слайда.

- Если определено больше сцен, чем обнаружит система во время предпросмотра, система не выдаст предупреждение, но остановит присвоение имен после последней обнаруженной сцены.
- Если определено меньше сцен, чем обнаружит система во время предпросмотра, система присвоит все доступные имена сценам и остановит присвоение имен, но все сцены будут просканированы.
- По умолчанию в качестве разделителя используется запятая (,).
Выбрать другой разделитель (табулятор, точка с запятой, пробел) можно в меню Tools -> Options -> Acquisition -> Scan (Инструменты -> Опции -> Получение изображений -> Сканирование).

19.1.2.3

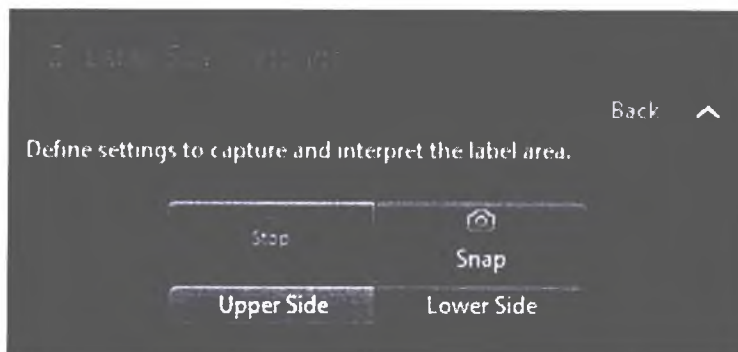
Использование настроек сканирования этикеток со слайдами 4"x3"

При установке слайдов 4"x3" в разделе Label Scan Settings (Настройки сканирования этикеток) станут доступны дополнительные функции. Это происходит потому, что изображение предпросмотра этикетки создается двумя изображениями с камеры предварительного просмотра.

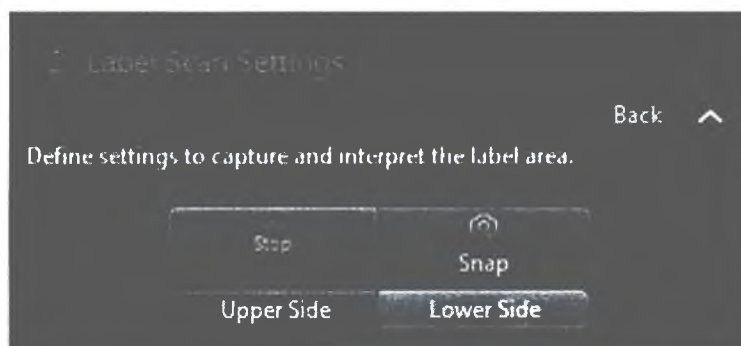
i Примечание

В режиме **Snap** (Моментальный снимок) для слайдов 4"x3" доступен только расширитель **Recognition** (Распознавание) и **Label Orientation** (Ориентация этикетки), поэтому на экране отображаются два сшитых изображения.

Если открыть этот шаг, система автоматически активирует режим живого изображения (**Live**) для верхнего изображения.



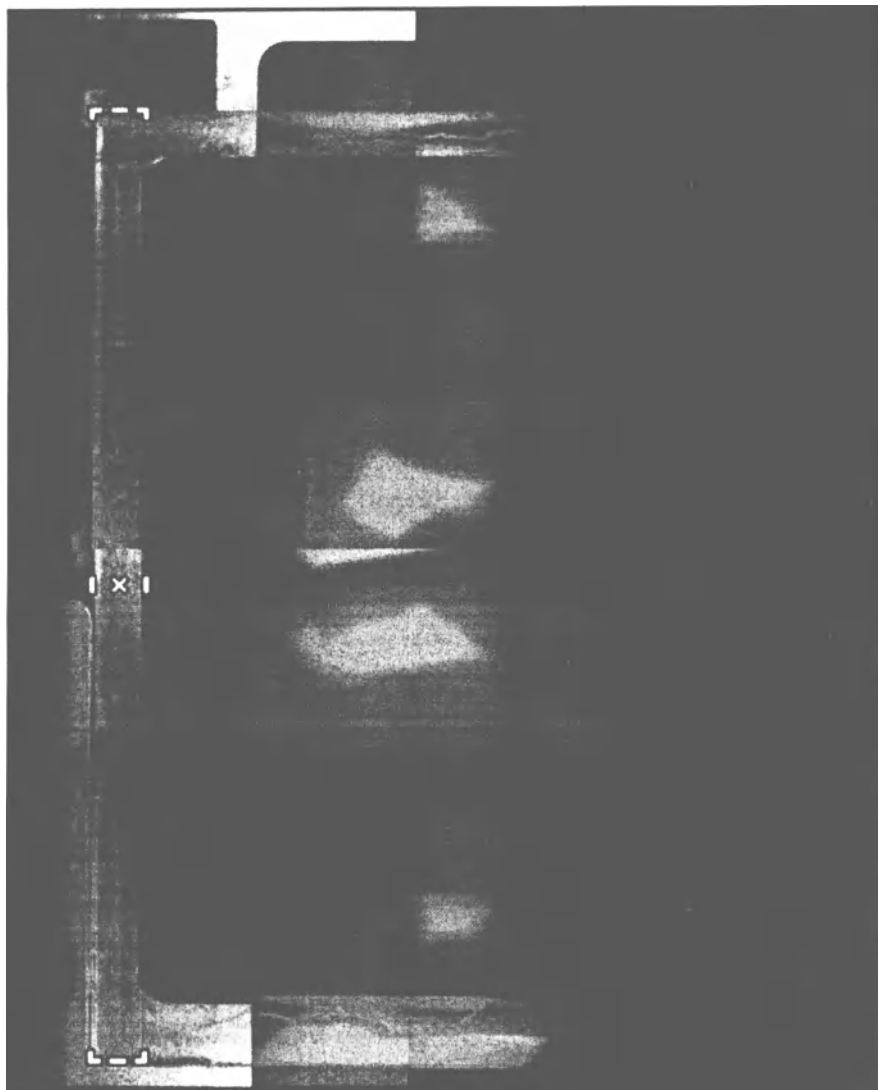
Переключать режимы просмотра живого изображения можно с помощью кнопок **Upper Side** (Вверх) и **Lower Side** (Вниз).



Здесь можно оценить время экспозиции, баланс белого, интенсивность света и применить настройки, перечисленные в расширителях под графическими пользовательскими элементами. Эта обработка аналогична той, что применяется к остальным типам слайдов (1"x3" и 2"x3").

По завершении настройки параметров (обычно подходят стандартные настройки, которые не требуют регулировки) можно перейти в режим моментального снимка (Snap), нажав на кнопку **Snap**.

Теперь система создаст два изображения и выполнит их сшивку. Это изображение отобразится на экране, и пользователь сможет адаптировать область захвата красным фреймом. Содержимое красного фрейма будет запечатлено во время предварительного просмотра/сканирования слайда и сохранено вместе с изображением.



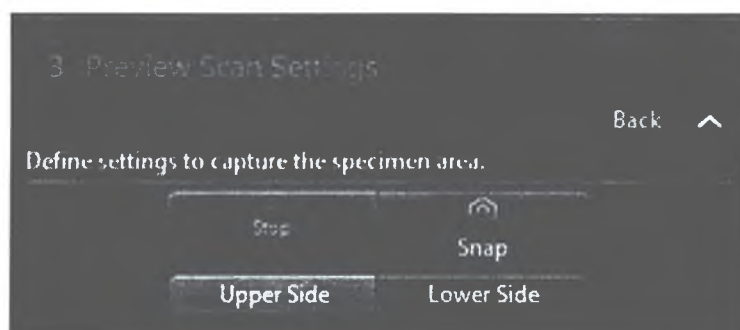
i Примечание

Остальные настройки (например, **Recognition** (Распознавание)) аналогичны настройкам слайдов других типов.

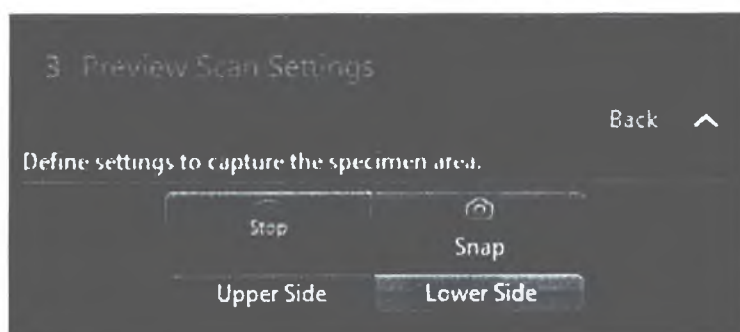
19.1.2.4 Использование настроек сканирования просмотра со слайдами 4"x3"

При установке слайдов 4"x3" в разделе станут доступны дополнительные функции. Это происходит потому, что изображение предпросмотра поверхности образца создается двумя изображениями с камеры предварительного просмотра.

Если открыть этот шаг, система автоматически активирует режим живого изображения (Live) для верхнего изображения.



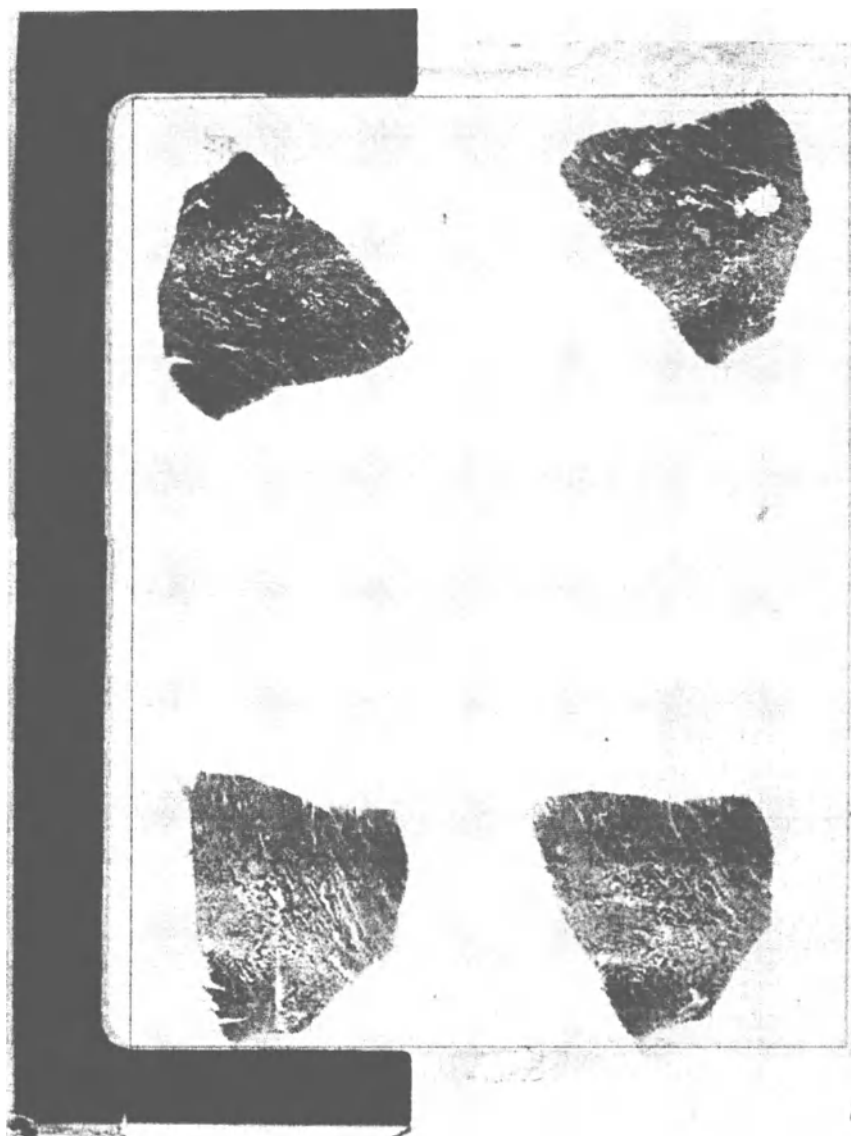
Переключать режимы просмотра живого изображения можно с помощью кнопок **Upper Side** (Вверх) и **Lower Side** (Вниз).



Здесь можно оценить время экспозиции, баланс белого, интенсивность света и применить настройки, перечисленные в расширителях под графическими пользовательскими элементами. Эта обработка аналогична той, что применяется к остальным типам слайдов (1"x3" и 2"x3").

По завершении настройки параметров (обычно подходят стандартные настройки, которые не требуют регулировки) можно перейти в режим моментального снимка (Snap), нажав на кнопку **Snap**.

Теперь система создаст два изображения и выполнит их сшивку. Это изображение отобразится на экране, и пользователь сможет адаптировать область захвата красным фреймом. Содержимое красного фрейма будет запечатлено во время сканирования слайда и сохранено вместе с изображением.



i Примечание

Остальные настройки (например, **Recognition** (Распознавание)) аналогичны настройкам слайдов других типов.

19.1.2.5

Реализация собственного алгоритма обнаружения тканей

У вас есть возможность интегрировать собственный алгоритм обнаружения тканей в стандартную последовательность операций. Это выполняется с помощью расширения, написанного на языке C#; расширения должны быть выполнены в виде динамически компонуемой библиотеки (DLL). Оболочка должна быть написана на языке C#, код для обнаружения тканей может быть написан на любом выбранном вами языке программирования.

Основная последовательность действий будет следующей: система создает CZI-файл и перемещает изображение в ваше расширение. На основе этого изображения алгоритм должен выполнить обнаружение тканей, а в качестве обратной связи для стандартной последовательности операций вы должны добавить аннотации в изображение. Аннотациями будут отмечены области для сканирования.

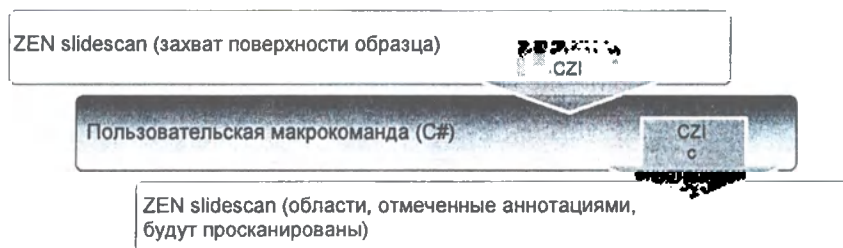


Рисунок 19.2. Базовая последовательность действий

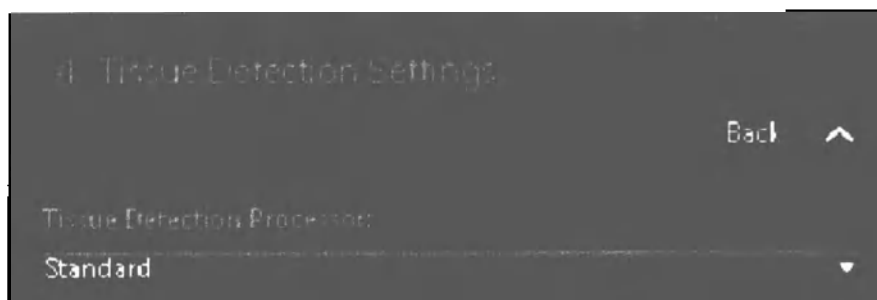
Порядок действий

- 1 Закройте программу ZEN, если она работает.
- 2 При необходимости создайте директорию с именем **Extensions** (Расширения) в
C:\Program Files\Carl Zeiss\ZEN 2\ZEN 2 (blue edition)
- 3 Скопируйте ваши DLL-файлы в эту директорию.

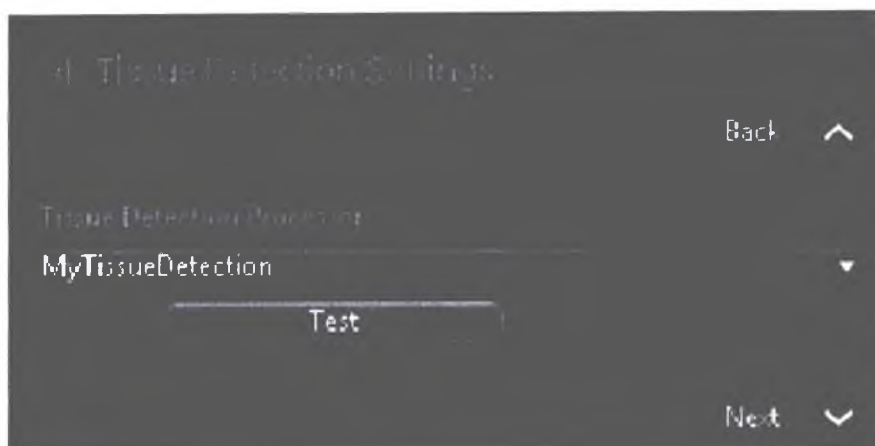
i Примечание

Шаги 1–3 выполняются только в первый раз.

- 4 Откройте ZEN.
- 5 В разделе обнаружения тканей мастера, под заголовком **Tissue Detection Processor** (Процессор системы обнаружения тканей) в выпадающем меню отобразится новый элемент (это выпадающее меню становится видимым только в случае обнаружения программой DLL-файлов в директории).



- 6 Standard (Стандартный) — это встроенная в ZEN slidescan функция обнаружения тканей, установленная по умолчанию, таким образом, вы по-прежнему будете видеть инструменты из настройки системы обнаружения тканей.
- 7 Теперь необходимо выбрать в выпадающем меню ваш алгоритм обнаружения тканей.



- 8 Если вы выберете свое расширение, все остальные возможности настройки обнаружения тканей будут скрыты.
- 9 С помощью кнопки **Test** (Тест) вы можете протестировать ваш алгоритм, проверив его выполнение и эффективность.

Примечание

Чтобы больше узнать о нашем файловом формате и получить дополнительную информацию, перейдите по ссылке www.zeiss.com/czi и зарегистрируйтесь на сайте.

19.1.2.6 Использование штрихкода для определения имени, профиля и подпапки

Если требуется использовать информацию со штрихкода для определения имени изображения, использованного профиля или подпапки, необходимо активировать функцию **Name and Profile from barcode** (Имя и профиль со штрихкода). Функция находится в инструменте **Naming Definition** (Определение именования) в левой области экрана.

Штрихкод можно использовать для определения используемой выходной подпапки, имени и профиля. Для этого в полях маски определяются позиции символов в строке (=штрихкоде). Вы можете определять области с помощью символа «-». Более того, символы, расположенные в разных частях строки, можно связывать запятой.

Пример А

Строка символов: AXIO_SCAN_123

Маска: 1-4 AXIO

Маска: 6-9 SCAN

Маска: 1-4,11-13 AXIO123

Пример В

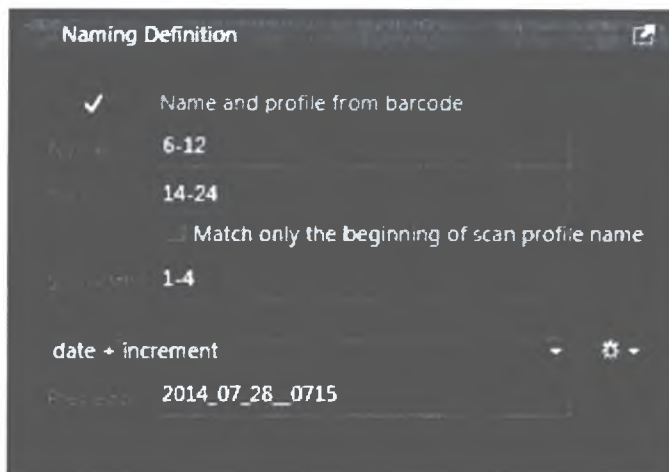
Штрихкод: Path_DoeJohn_003_FAST_HE

Path — путь для сохранения.

DoeJohn — имя изображения.

003_FAST_HE — имя профиля.

Элемент управления штрихкодом для приведенного выше примера выглядел бы следующим образом:



Необязательно использовать все три возможности, можно использовать только одну-две из трех возможностей. Если вы не хотите использовать какой-либо параметр, оставьте это поле ввода пустым.

Если напротив элемента **Name** (Имя) указан диапазон, программное обеспечение вставит в строку **Naming** (Именованное) (в окне **Magazine** (Кассета)) текст **"Name from barcode"** («Имя со штрихкода»), поскольку системе до этого момента не будет известен штрихкод. Как только система считывает штрихкод, в строку будет введено полученное имя. То же самое относится и к профилю, в этом случае вводимый текст — профиль, считанный со штрихкода (**Profile from barcode**).

Если профиль был получен со штрихкода, система извлечет информацию об этикетке (в том числе тип штрихкода и т. Д.) из профиля, выбранного в разделе **Default Scan Profile** (Профиль сканирования по умолчанию) во вкладке **Scan** (Сканирование).

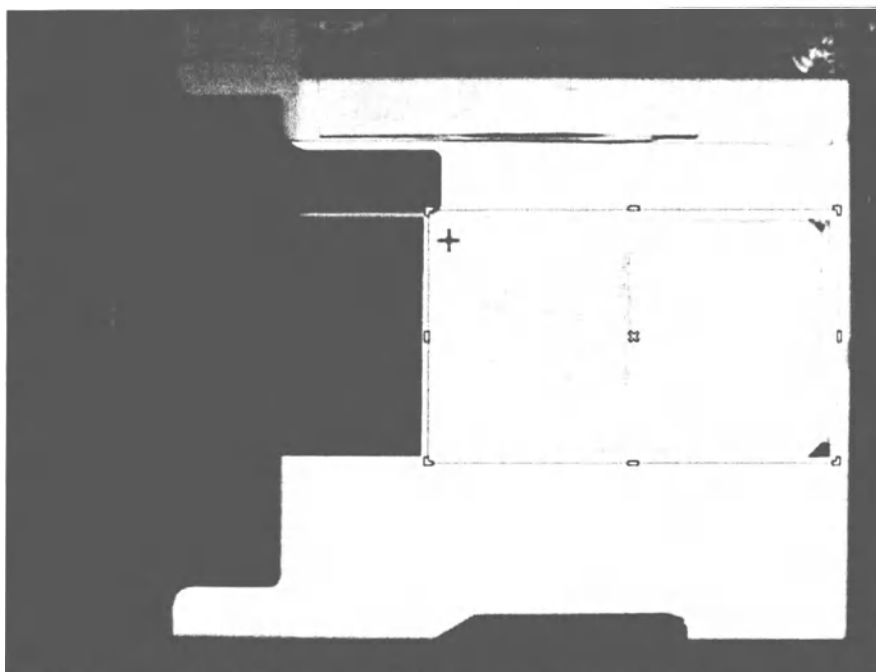
При администрировании и создании профилей желательно использовать описательные имена для легкого распознавания профилей (например, FF04_CF08_HE_23). Однако кодировка подобных профилей в штрихкоде использует очень много памяти и уязвимы к ошибкам. В этом случае можно активировать опцию **Match only the beginning of scan profile name** (Находить соответствие только по начальным символам имени профиля сканирования). Система использует только первые символы для идентификации профиля. Имя может начинаться, например, с недвусмысленного номера, используемого для идентификации. Например, именем профиля может быть 005_FF04_CF08_HE_23. В этом случае вы бы ввели «1-3» в маску профиля и активировали опцию *Match only the beginning of scan profile name* (Находить соответствие только по начальным символам имени профиля сканирования). Теперь для идентификации профиля будет использоваться только номер «005». Убедитесь, что существует только одно имя профиля, которое начинается с символов «005».

19.1.2.7

Настройка области интереса для изображения предпросмотра

Важной и необходимой настройкой является определение области интереса (ROI) для изображения предварительного просмотра образца. Система сфотографирует и зафиксирует эту область интереса. К области интереса также будет применена функция обнаружения ткани (если выбрана пользователем).

Она включает в себя сохраненное и сканированное изображения, а также изображение области этикетки. Область интереса на **живом** изображении может быть скорректирована с помощью красного прямоугольника:



Красный прямоугольник можно перемещать путем перетаскивания. Чтобы изменить размер области интереса, поместите курсор на край или границу прямоугольника, нажмите левую кнопку мыши и удерживайте ее, передвигая края или границы до получения нужного размера.

i Примечание

Для достижения наилучших результатов красная рамка должна покрывать весь слайд и некоторое пространство по периметру. Для обнаружения пустых областей на слайде, для автоматической коррекции равномерности освещения на стекле особенно важно, чтобы красная рамка не была слишком маленькой (например, только вокруг ткани). В противном случае образец может быть принят за пустую область. Это приведет к недостаточной коррекции равномерности освещения. Если требуется ограничить область обнаружения тканей, воспользуйтесь красным фреймом в разделе **Tissue Detection Settings** (Настройки обнаружения тканей) в следующем шаге. Не допускайте того, чтобы красный фрейм затрагивал область этикетки на слайде.

i Примечание

Вы можете настроить кривую отображения (см. вкладку Display (Отображение) в нижней части окна). Настройки отображения сохраняются в профиле! Они также влияют на отображение этикетки в окне Magazine (Кассета), а также на отображение области образца в окне Magazine (Кассета).

19.1.2.8 Создание изображения с эталонной равномерностью освещения из мозаичного изображения

Функция **Shading Reference From Tile Image** (Изображение с эталонной равномерностью освещения из мозаичного изображения) используется для создания изображений с эталонной равномерностью освещения. Эта функция создает для каждого канала обработанного изображения отдельное изображение с коррекцией равномерности освещения. Это изображение можно напрямую сохранить в менеджере калибровки (Calibration manager). Обратите внимание, что эта функция не обрабатывает изображения покадровой съемки и изображения серии срезов по оси Z.

Примечание

Поскольку нам требуется свыше 300 мозаик, эта функция ограничивается главным образом калибровкой с использованием объектива с увеличением 20 и более крат. Остальные объективы (особенно с увеличением 2.5x и 5x) требуют ручной калибровки во вкладке **Locate** (Местоположение).

Необходимые предварительные условия

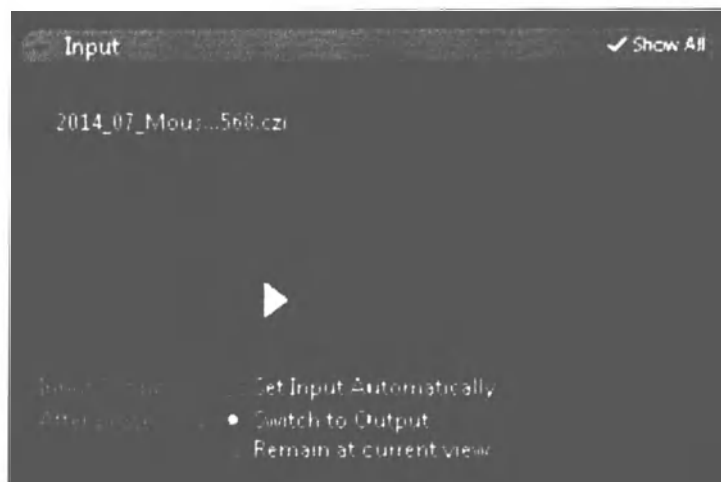
Создано изображение со всеми каналами, для

которых необходимо создать изображение с эталонной равномерностью освещения. Хорошее эталонное изображение должно иметь свыше 300 мозаик на изображение/сцену.

- Избегайте пере- или недозаэкспонирования в результирующем изображении. Если сигнал всего лишь очень тусклый, допускается использование функции **Multiply Factor** (Множитель) или **Autoadjust Intensity** (Автонастройка интенсивности), с помощью которых можно осветлить эталонное изображение. В зависимости от типа камеры потребуется обеспечить определенную степень покрытия динамического диапазона.
- Для камеры **Orcaflash** покрытие должно составлять не менее 30% от общего динамического диапазона. В противном случае результирующее эталонное изображение не будет принято в качестве действительного эталонного изображения. Для цветных камер, используемых для получения светлопольных изображений, степень покрытия должна быть не менее 40%.
- Помните, что изображение должно быть получено без использования функции **Shading correction** (Коррекция равномерности освещения).
- Использование флуоресцентных слайдов для создания флуоресцентных эталонных изображений имеет несколько недостатков (например, рассеянное распределение сигнала, обесцвечивание). Таким образом, следует рассмотреть возможность использования для стандартных флуоресцентных каналов (таких как DAPI, GFP, Cy3) стандартного гематоксилин-эозинового образца и применить автофлуоресценцию этого образца.
- Поскольку рекомендуется выполнять сканирование без перекрытия, за исключением остальных вышеуказанных настроек, для этой цели мастер создания профилей (Smart Profile Wizard) предоставляет специальный профиль. Откройте мастер создания профилей (Smart Profile Wizard), выберите эталонные слайды (Reference Slides) и далее флуоресцентный слайд (FL Slide) для коррекции равномерности освещения. Используйте этот профиль в качестве профиля запуска калибровки данного типа.
- Поскольку рекомендуется выполнять сканирование без перекрытия, за исключением остальных вышеуказанных настроек, для этой цели мастер создания профилей (Smart Profile Wizard) предоставляет специальный профиль. Откройте мастер быстрого выбора профиля сканирования (**Smart Scan Profile Selection Wizard**), выберите эталонные слайды (**Reference Slides**) и далее флуоресцентный слайд (**FL Slide**) для коррекции равномерности освещения. Используйте этот профиль в качестве профиля запуска калибровки данного типа.

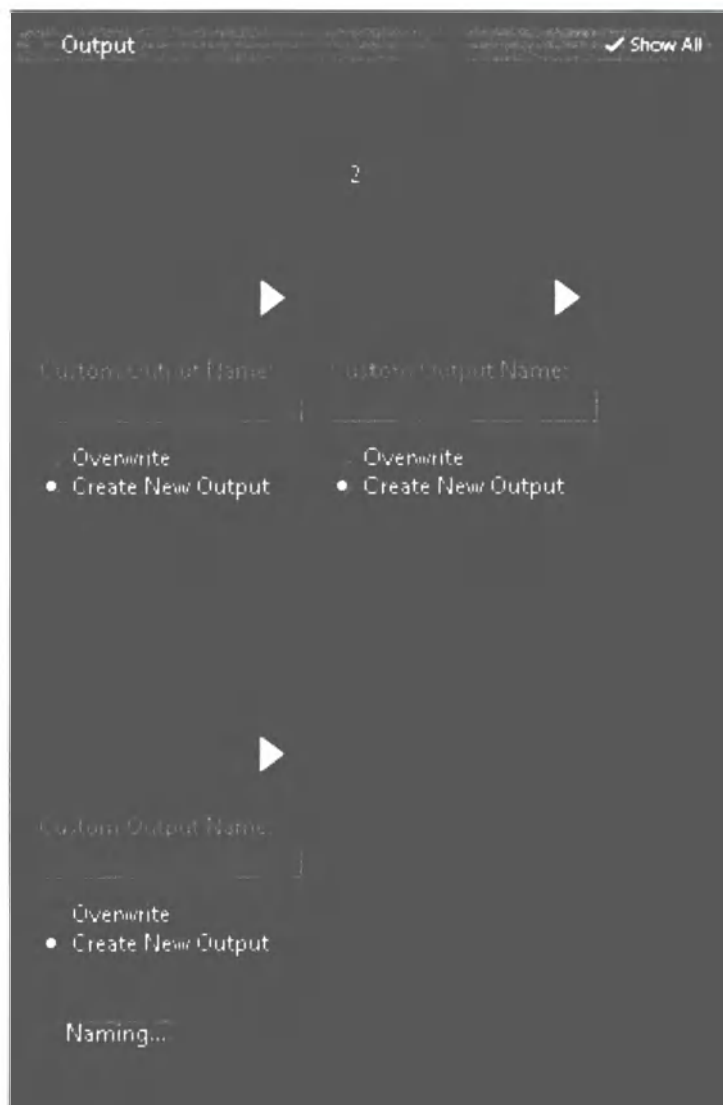
Порядок действий 1 Откройте изображение в ПО ZEN.

- 2 Во вкладке **Processing** (Обработка изображений) под элементом **Method** (Метод) откройте функцию **Shading Reference From Tile Image** (Изображение с эталонной равномерностью освещения из мозаичного изображения).
- 3 В инструменте **Input** (Входное изображение) откройте созданное изображение.



- 4 Задайте необходимые параметры. Подробное описание параметров см. в разделе «Изображение с эталонной равномерностью освещения из мозаичного изображения».
- 5 Если изображение содержит несколько сцен, независимо от методов визуализации отобразится ползунок / счетчик.

- 6 В инструменте **Output** (Выходное изображение) укажите имя созданных файлов (если файлы сохраняются непосредственно в менеджере калибровки, то это никоим образом не повлияет на именование). Функции аналогичны остальным функциям обработки изображений, обеспечивающим возможность именования файлов в инструменте **Naming...** (Именование...).



- 7 Для запуска функции обработки нажмите кнопку **Apply** (Применить).

i Примечание

Если изображение многоканальное и по крайней мере одному каналу присвоен атрибут Skip Channel (Пропустить канал), в разделе **Output** (Выходное изображение) по-прежнему будут отображаться все каналы выбранного изображения.

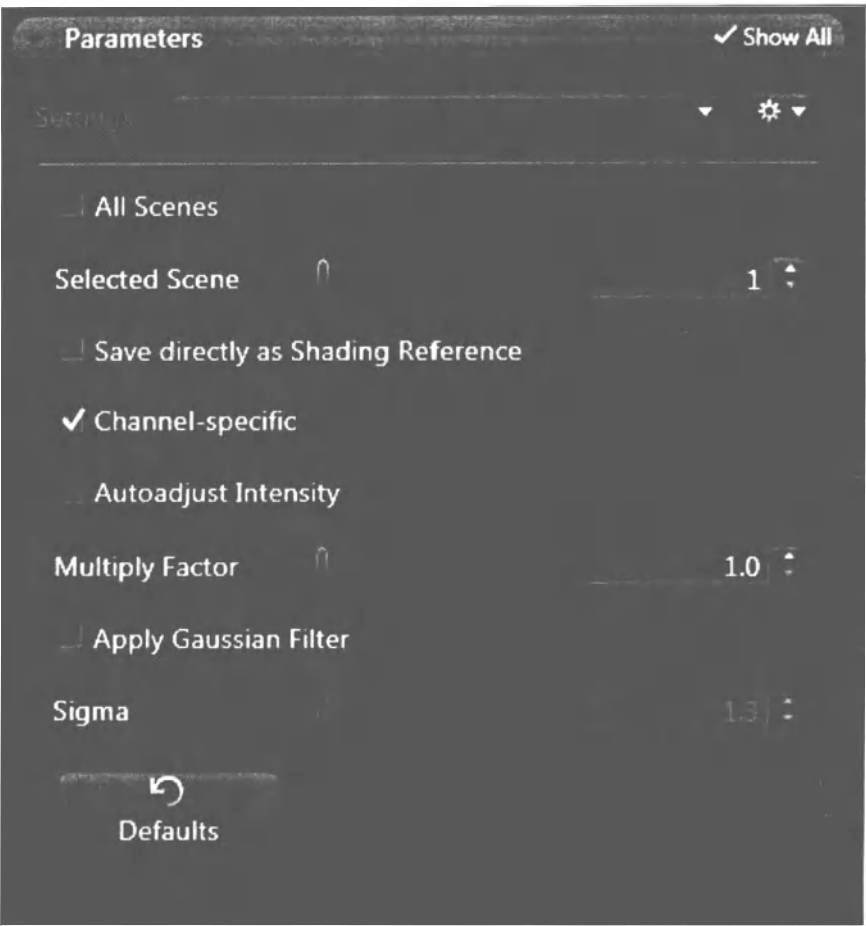
19.1.2.9

Изображение с эталонной равномерностью освещения из мозаичного изображения

С помощью метода Shading Reference from Tile Image (Изображение с эталонной равномерностью освещения из мозаичного изображения) из многоканальных мозаичных изображений можно создавать изображения с эталонной равномерностью освещения.

Параметры (светлопольное изображение)

Для обработки светлопольного изображения (Brightfield image) можно выбрать следующие параметры:



Обратите внимание, что параметр **Selected Scene** (Выбранная сцена) и кнопка-флажок **All Scenes** (Все сцены) доступны только при обработке многосценивого изображения.

Параметры	Описание
Save directly as Shading Reference (Сохранить как изображение с эталонной равномерностью освещения)	Флажок установлен: программное обеспечение создает изображение с эталонной равномерностью освещения (Shading Reference) и сохраняет его непосредственно в менеджере калибровки (Calibration Manager). Программное обеспечение не позволяет просмотреть изображение перед сохранением, поэтому рекомендуется убрать флажок и выполнить эту функцию. Система создаст эталонные изображения и выведет их на экран. Если изображения имеют хорошее качество, можно установить флажок и повторно выполнить эту функцию.

Параметры

Описание

Обратите внимание, что после активации этой опции необходимо ознакомиться с системными сообщениями (под знаком «i» в нижней части экрана). Если, к примеру, результирующее изображение с эталонной равномерностью освещения слишком тусклое, система не будет использовать его в качестве действительного изображения с эталонной равномерностью освещения, что будет указано в системных сообщениях. После успешного завершения импорта базы данных эталонных сообщений отобразится соответствующее системное сообщение!

Channel-specific (Поканальное выравнивание освещенности)

Флажок установлен: программное обеспечение выполняет поканальную коррекцию равномерности освещения. В этом случае используемый блок флуоресцентных фильтров сохраняется с файлом равномерности освещения. Для этого учитываются следующие компоненты:

Метод контрастирования и конденсатор, флуоресцентный фильтр, увеличение: Объектив и модуль Optovar; глубина цвета камеры и режим RGB / ч/б, тип и расположение разъема камеры.

Флажок убран: система выполняет всеканальную (**All Channel**) калибровку и коррекцию равномерности освещения, зависящую от используемого объектива.

Для этого учитываются следующие компоненты: увеличение (объектив и модуль Optovar); глубина цвета камеры и режим RGB/ч/б, тип и расположение разъема камеры.

Multiply Factor (Множитель)

Здесь можно применить множитель, при этом программное обеспечение умножит интенсивность каждого пикселя изображения с эталонной равномерностью освещения на указанную величину.

При использовании собственного образца в большинстве случаев изображения получаются очень тусклыми и интенсивность пикселей не достигает значений, необходимых для использования в менеджере калибровки изображения с эталонной равномерностью освещения, а значит, этот образец будет отклонен.

Auto Adjust Intensity (Авторегулировка интенсивности)

В случае активации этот параметр на основе значений серого тона изображения автоматически рассчитывает множитель и необходимые значения серого для использования изображения в менеджере калибровки изображения с эталонной равномерностью освещения.

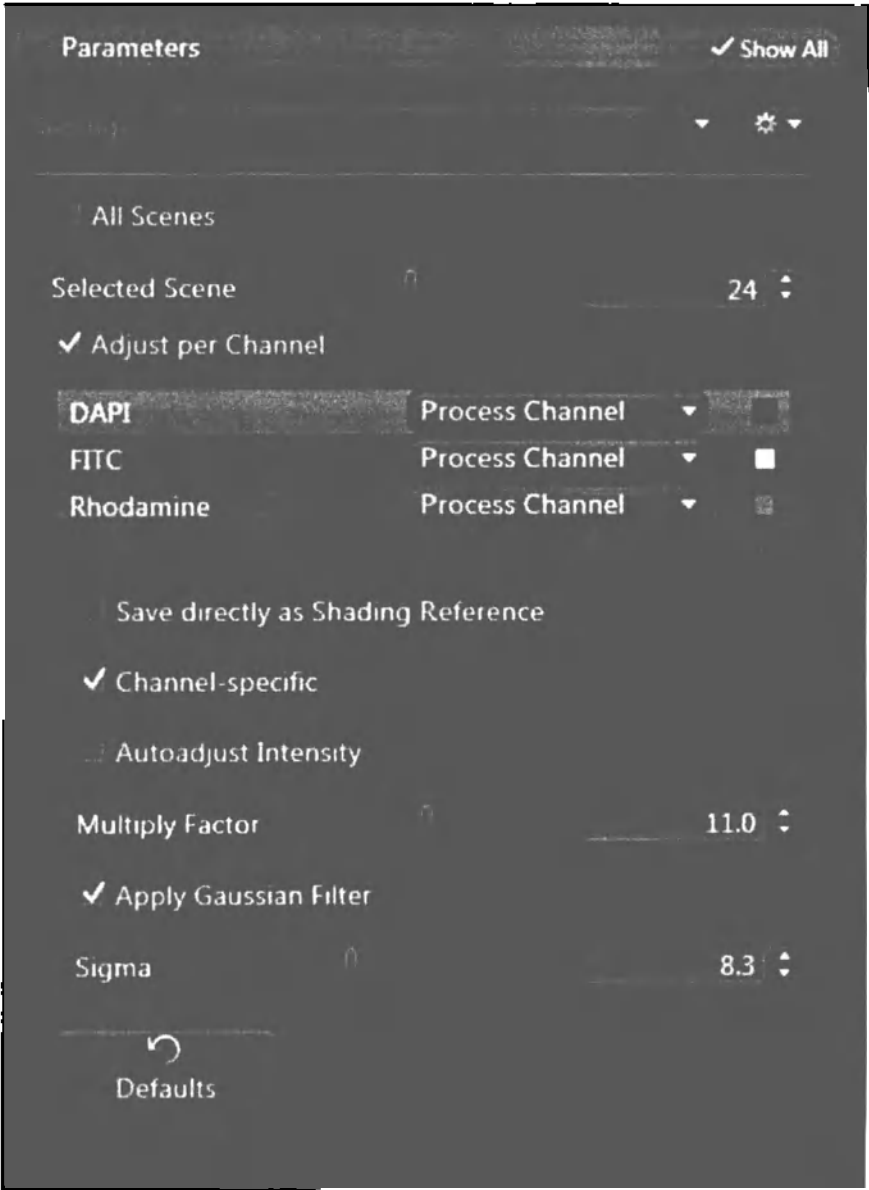
Если Auto Adjust Intensity (Авторегулировка интенсивности) включен, параметр **Multiply Factor** (Множитель) никак не влияет на создание изображения.

Параметры	Описание
Apply Gaussian Filter (Применить фильтр Гаусса)	В случае активации фильтр Гаусса применяется после усреднения видимых зон мозаичного изображения. Это позволяет сглаживать изображение с эталонной равномерностью освещения. Сигма-коэффициент определяет силу сглаживания. Используйте этот фильтр и сигма-коэффициент с большой осторожностью, так как могут быть удалены элементы, реальные равномерно освещенные структуры. Рекомендуется использовать этот параметр при малом, не способном увеличиться при определенных обстоятельствах, количестве мозаик сканированного изображения.

Параметры (многоканальное изображение)

Все параметры (см. описание выше) многоканального (например, флуоресцентного) изображения могут настраиваться поканально.

Обратите внимание, что параметр **Selected Scene** (Выбранная сцена) и кнопка-флажок **All Scenes** (Все сцены) доступны только при обработке многосценивого изображения.

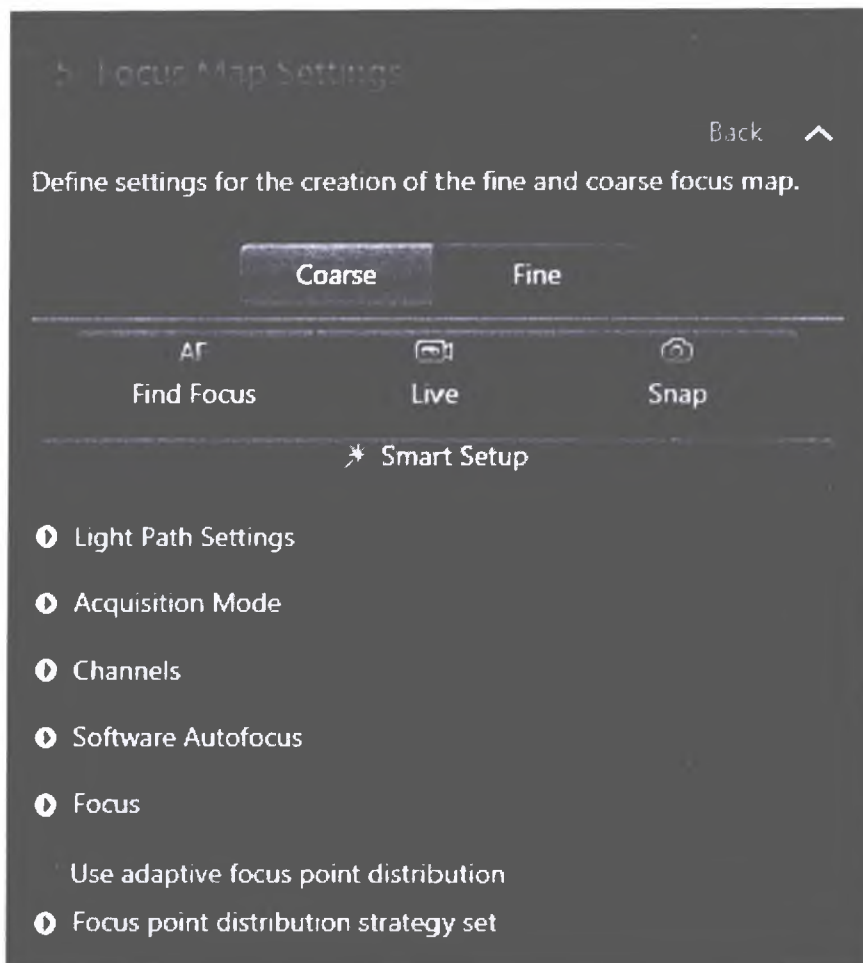


Параметры	Описание
Adjust per Channel (Поканальные настройки)	После активации можно регулировать настройки для каждого канала в отдельности. Выберите Process Channel (Обработать канал), чтобы использовать канал, или Skip Channel (Пропустить канал), чтобы не обрабатывать канал. Настройки Save directly as Shading Reference (Сохранить как изображение с эталонной равномерностью освещения) и Channel-specific (Поканальное выравнивание освещенности) применяются отдельно для каждого канала. Если необходимо использовать одинаковые настройки для всех каналов, уберите флажок.

19.1.2.10 Настройки карты фокусировки (FL)

19.1.2.10.1 Регулировка настроек карты грубой фокусировки (FL)

В этом разделе приводятся способы регулировки настроек карты **грубой фокусировки (Coarse)** в **расширенном мастере создания профиля сканирования (Advanced Scan Profile Wizard)**.

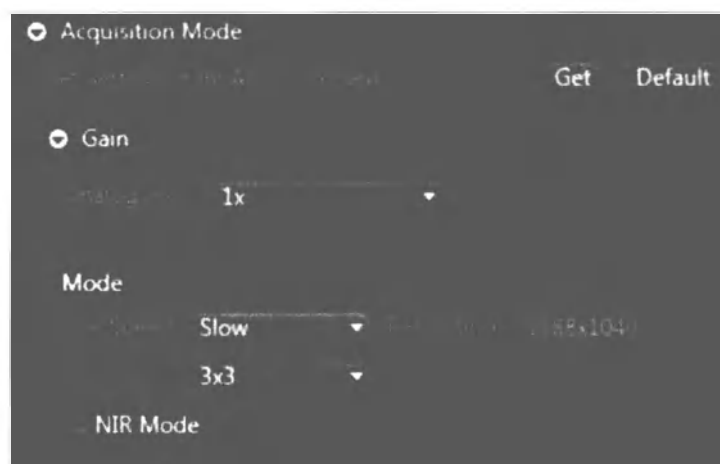


Необходимые предварительные условия ■ В **share 1 Global Data** (Глобальные данные) в разделе **AF (Autofocus) Contrast Type Coarse** (Контрастная грубая автофокусировка) выбран элемент **Channel** (Канал).

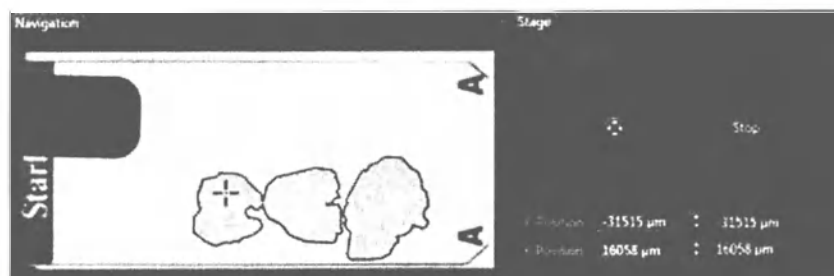
- Порядок действий
- 1 Запустите **Smart Setup** (Быстрая настройка) и укажите канал, который необходимо использовать для фокусировки. Более подробно см. раздел **Smart Setup** в интерактивной справке ZEN. Хороший канал для грубой фокусировки отличается коротким временем экспозиции (для минимизации обесцвечивания и сокращения времени фокусировки) и очень важно, чтобы флуорофор был равномерно распределен по образцу, благодаря чему программное обеспечение постоянно будет обнаруживать сигнал, подходящий для фокусировки. После выполнения настроек в **Smart Setup** программное обеспечение автоматически рассчитает конфигурацию канала (**Channel configuration**).
 - 2 По умолчанию в качестве объектива грубой фокусировки система укажет объектив, находящийся первым в револьверной головке объектива. При необходимости объектив можно изменить в **настройках оптического пути (Light Path Settings)**. Для этого активируйте опцию

Before Experiment: Before Exp. (До эксперимента). Отобразится конфигурация оптического пути. Выберите другой рекомендованный объектив (5x или 10x) и нажмите на кнопку **Go!** (Пуск). Система поместит выбранный объектив в оптический путь.

- 3 В разделе **Acquisition Mode** (Режим получения изображений) измените биннинг с **1x1** на **2x2** или выше, поскольку качество изображения для фокусировки не важно. Это сократит время экспозиции и тем самым минимизирует обесцвечивание и время фокусировки.



- 4 Теперь переместитесь к образцу с помощью инструмента **Stage** (Столик). Также можно нажать на слайд, отображаемый во вкладке **Navigation** (Навигация), и программное обеспечение переместит образец в выбранную позицию.



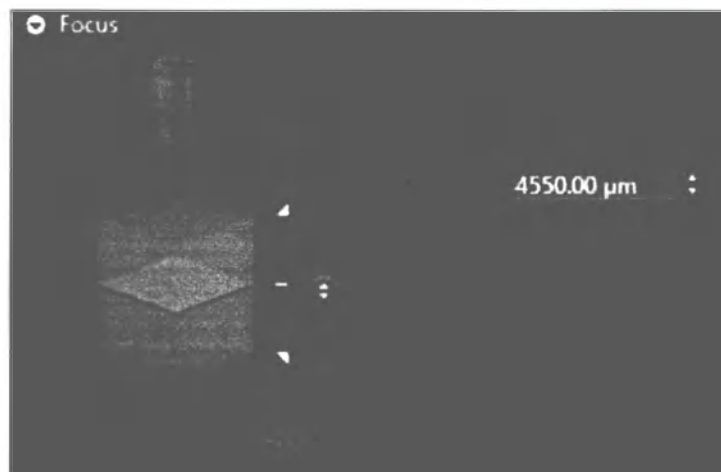
- 5 В разделе **Channels** (Каналы) в списке будут перечислены все определенные каналы. В случае выделения определенного канала аппаратное обеспечение изменит оптический путь.
- 6 Для выбора эталонного канала для фокусировки (**Focus Reference**) выделите нужный канал и нажмите на кнопку **Focus Ref.** Убедитесь, что этот канал отмечен флажком, а все остальные каналы — нет. При наличии двух источников света (например, Colibri.2 и HXP 120 V) можно выбрать один, а также задать его интенсивность.

Низкие значения интенсивности источника света даже при длительной экспозиции обычно приводят к меньшему обесцвечиванию.



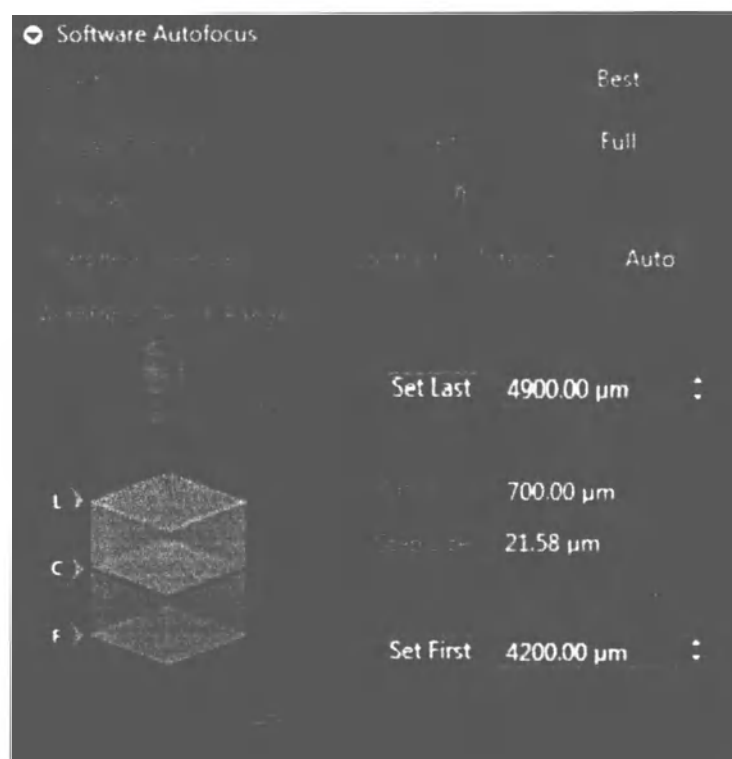
- 7 Следующий шаг — фокусировка образцов, настройка времени экспозиции (**Time**) и значений интенсивности источника света. Для просмотра живого изображения с камеры необходимо включить режим **Live** (Живое изображение), а для получения единичного снимка всех выбранных каналов — нажать кнопку **Snap** (Моментальный снимок). Будьте внимательны во время работы в режиме **Live**, поскольку этот режим может привести к обесцвечиванию образца. Осмотрительно пользуйтесь этим режимом и, по возможности, используйте репрезентативную область вне области сканирования.
- 8 Вы можете воспользоваться кнопкой **Find Focus (AF)** (Выполнить автофокусировку) для выполнения автофокусировки с выбранным (выделенным) каналом. При выключенной фокусировке и (или) несоответствующем времени экспозиции следует воспользоваться ручным управлением фокусировки (в разделе **Focus** (Фокусировка)).

Возможно, вам также потребуется отрегулировать время экспозиции (в разделе **Channels/Time** (Каналы/Время)) и (или) интенсивность источника(-ов) света.

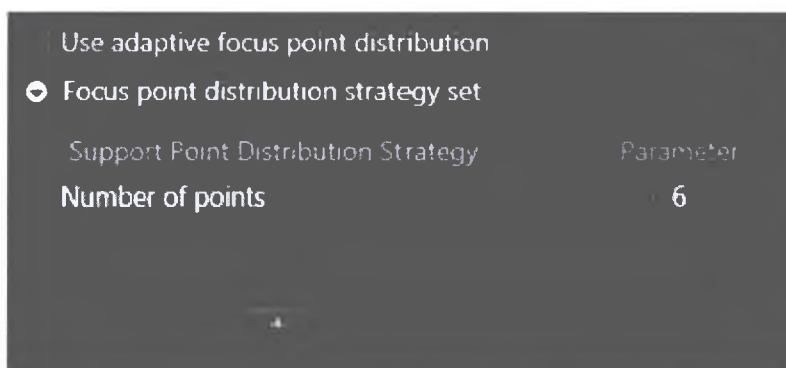


- 9 Не обязательно увеличивать экспозицию, охватывая тем самым весь динамический диапазон камеры. Для отображения сигнала на экране, даже если охватывается всего 5% диапазона, можно отрегулировать кривую отображения на гистограмме.
- 10 После выполнения фокусировки время экспозиции можно скорректировать вручную (в меню **Channels/Time** (Каналы / Время)) или автоматически, нажатием кнопки **Set Exposure** (Установить экспозицию). Время экспозиции будет определено так, чтобы охват диапазона камеры соответствовал значению, установленному в опции **Shift** (Сдвиг).
- 11 Следующий шаг — настройка программной автофокусировки (**Software Autofocus**). Настройки элемента **Quality** (Качество) определяют тип используемого алгоритма автофокусировки. Опция **Range Coverage** (Диапазон перемещения) определяет, следует ли выполнять автофокусировку по всей серии срезов по оси Z (**Full**) или только до первого обнаружения локального максимума (**Smart**). **Full** — наиболее надежный принцип, а **Smart** — быстрый. В режиме **Full** система может обнаружить и два максимума. В опции **Sampling** (Дискретизация) указывается шаг серии срезов по оси Z. Выбранное значение отображается в поле **Step size** (Шаг) (доступный диапазон и размер шага зависят от объектива и остальных оптических параметров). Для объективов с кратностями увеличения 2.5x и 5x рекомендуемый размер шага составляет приблизительно 20 мкм и приблизительно 15 мкм для 10x. Опция **Sharpness Measure** (Определение резкости) определяет, должны ли системы использовать для определения автофокусировки усредненный контраст (**Contrast**) или интенсивность (**Intensity**), или программное обеспечение должно автоматически выбрать один из двух параметров (**Auto**).
- 12 Найдите текущую позицию по оси Z (в поле **Position** (Позиция), в нашем случае — 4550 мкм). Позиция по оси Z должна находиться в диапазоне, указанном в элементах **Set First** (Установить первую позицию) и **Set Last** (Установить последнюю позицию). В нашем случае она идеально располагается в этом диапазоне. В противном случае придется отрегулировать диапазон. Можно увеличить количество срезов (в опции **Slices** (Срезы)).

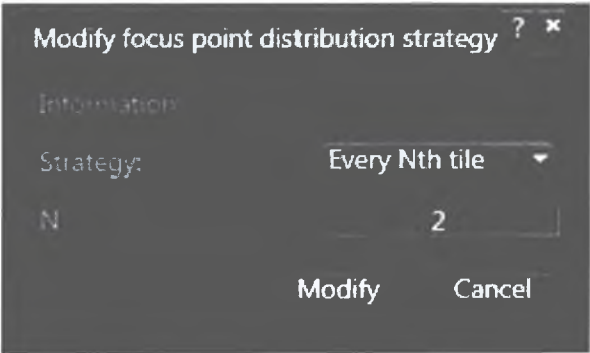
Это приведет к увеличению диапазона, при этом фокусировка займет больше времени. Также диапазон можно расширить, изменив параметры **Set First** (Установить первую позицию) и **Set Last** (Установить последнюю позицию).



- 13 Следующий шаг — настройка набора стратегий распределения точек фокусировки (**Focus point distribution strategy set**). Значение по умолчанию (**Number of points** (количество точек) = 6) наилучшим образом подходит для подавляющего числа образцов (в экранной таблице отображается только один параметр, если требуется отобразить и остальные параметры (при наличии таковых, например, для Onion skin (Кожица лука)), дважды нажмите на элемент таблицы). Исключением могут быть тканевые микропанели (Tissue Micro Arrays), для которых рекомендуется использовать центр тяжести (**Center of gravity**). Описание всех имеющихся стратегий представлено в разделе «Набор стратегий распределения точек фокусировки» [► 574].



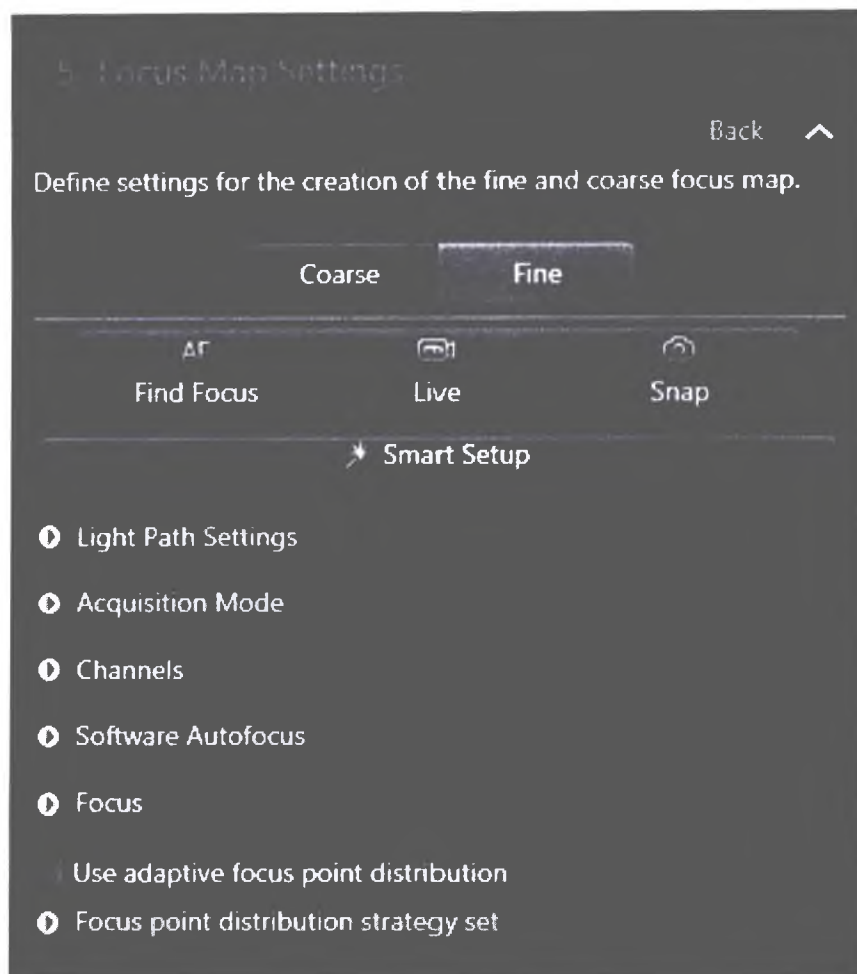
14 Для изменения набора стратегий распределения точек фокусировки дважды нажмите на элемент списка. Появится окно, в котором из выпадающего меню можно выбрать другую стратегию и отрегулировать параметры данной настройки. При нажатии на кнопку **Modify** (Изменить) будут применены изменения.



Вы отрегулировали настройки для карты грубой фокусировки. Теперь можно перейти к регулировке настроек для карты точной фокусировки в том же шаге мастера.

19.1.2.10.2 Регулировка настроек карты точной фокусировки (FL)

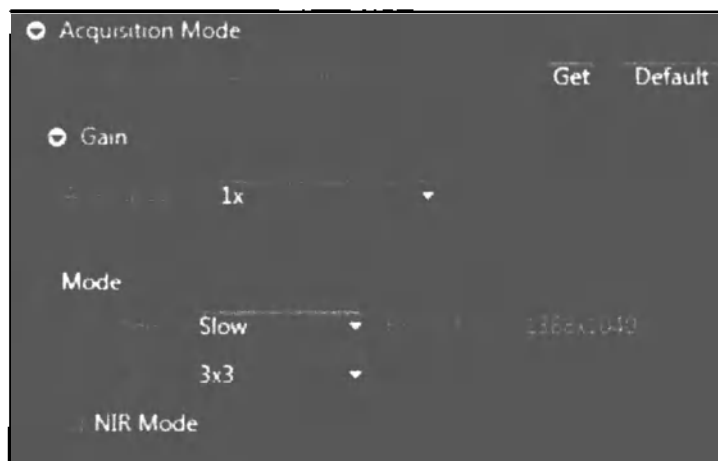
В этом разделе приводятся способы регулировки настроек карты точной фокусировки (**Fine**) в расширенном мастере создания профиля сканирования (**Advanced Scan Profile Wizard**). Обратите внимание, что сначала необходимо отрегулировать настройки карты грубой фокусировки.



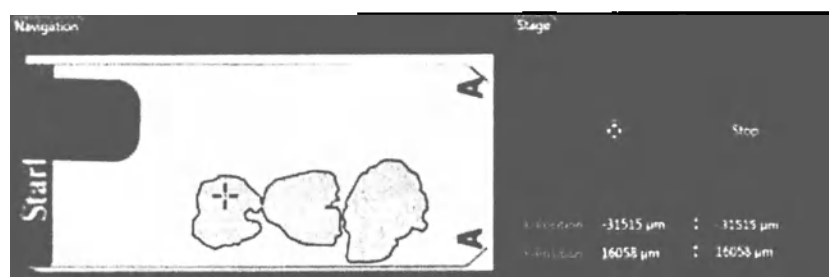
Необходимые предварительные условия ■ В шаге 1 **Global Data** (Глобальные данные) в разделе **AF (Autofocus) Contrast Type Fine** (Контрастная точная автофокусировка) выбран элемент **Channel** (Канал).

- Порядок действий**
- 1 Запустите **Smart Setup** (Быстрая настройка) и укажите канал, который необходимо использовать для фокусировки. Более подробно о **Smart Setup** см. раздел «Быстрая настройка». Для точной фокусировки (**Fine Focus**) используйте тот же канал, что и для грубой фокусировки (**Coarse Focus**). После настройки параметров **Smart Setup** программное обеспечение автоматически рассчитает конфигурацию канала (**Channel configuration**).
 - 2 По умолчанию в качестве объектива точной фокусировки система укажет объектив с кратностью увеличения **20x**. В случае необходимости вы можете изменить объектив в настройках оптического пути (**Light Path Settings**). Для этого активируйте элемент **Before Experiment: Before Exp.** (До эксперимента). Отобразится конфигурация оптического пути. Выберите другой объектив и нажмите кнопку **Go!** (Пуск). Система поместит выбранный объектив в оптический путь. Обратите внимание, что для **точной фокусировки** следует использовать тот же объектив, что и для сканирования.

- 3 В разделе **Acquisition Mode** (Режим получения изображений) измените биннинг с **1x1** на **2x2** или выше, поскольку качество изображения для фокусировки не важно. Это сократит время экспозиции и тем самым минимизирует обесцвечивание и время фокусировки.

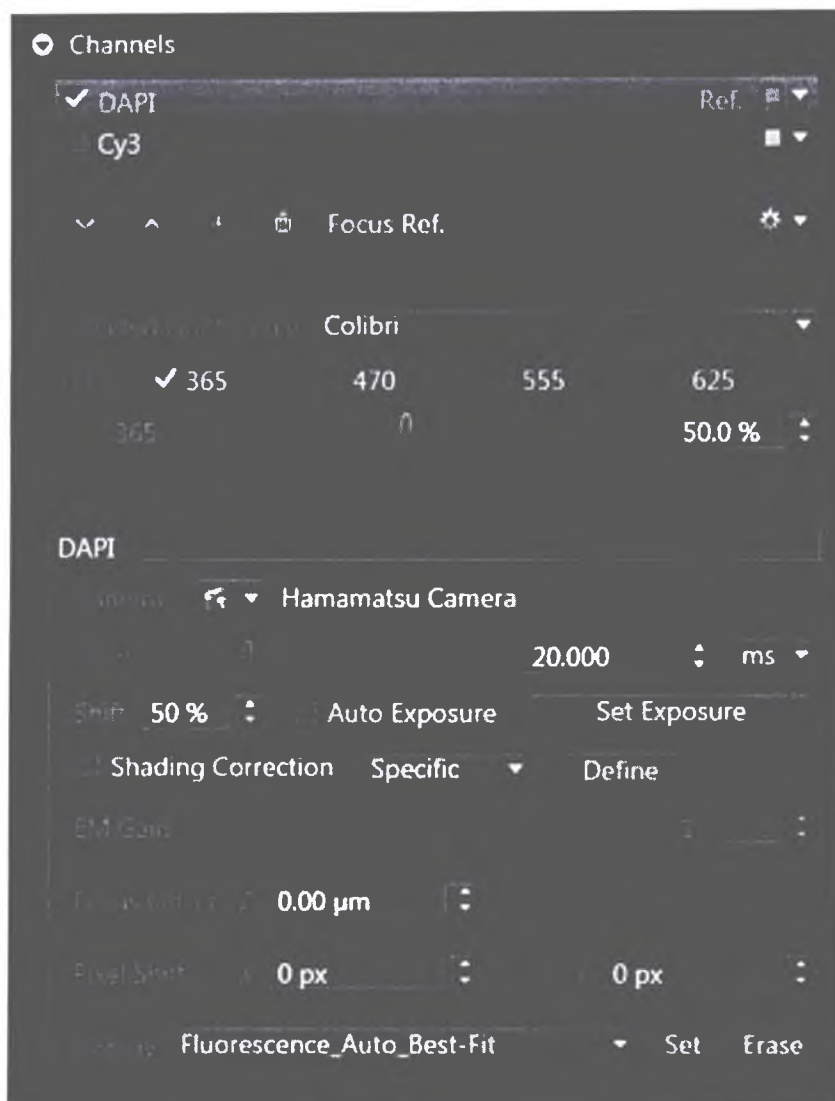


- 4 Теперь переместитесь к образцу с помощью инструмента **Stage** (Столик). Также можно нажать на слайд, отображаемый во вкладке **Navigation** (Навигация), и программное обеспечение переместит образец в выбранную позицию.



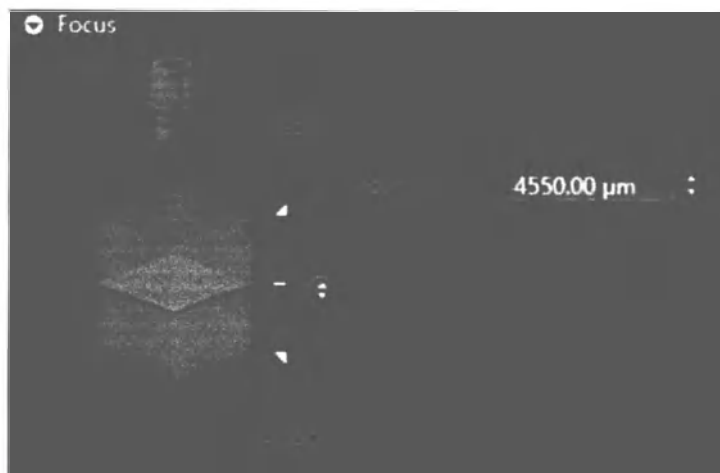
- 5 В разделе **Channels** (Каналы) перечислены все определенные каналы. В случае выделения определенного канала аппаратное обеспечение изменит оптический путь.
- 6 Для выбора эталонного канала для фокусировки (Focus Reference) выделите нужный канал и нажмите на кнопку **Focus Ref.** Убедитесь, что этот канал отмечен флажком, а все остальные каналы — нет. При наличии двух источников света (например, Colibri.2 и HXP 120 V) можно выбрать один, а также задать его интенсивность.

Низкие значения интенсивности источника света даже при длительной экспозиции обычно приводят к меньшему обесцвечиванию.



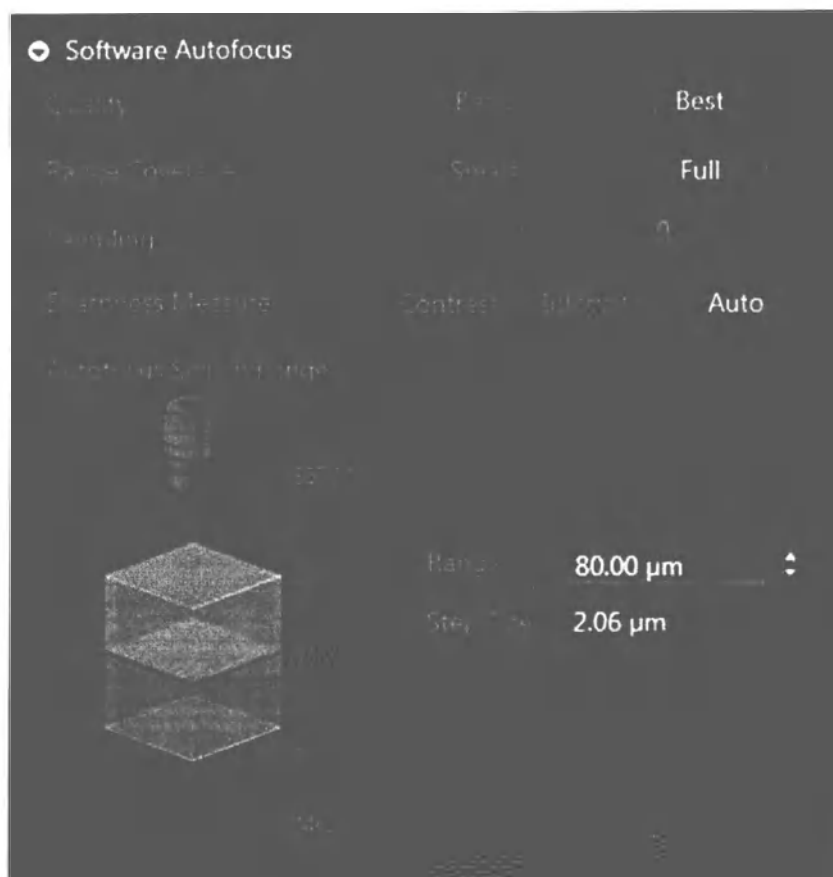
- 7 Следующий шаг — фокусировка образцов, настройка времени экспозиции (в меню **Channels / Time** (Каналы / Время)) и значений интенсивности источника света. Для просмотра живого изображения с камеры необходимо включить режим **Live** (Живое изображение), а для получения единичного снимка — нажать кнопку **Snap** (Моментальный снимок). Будьте внимательны во время работы в режиме Live, поскольку этот режим может привести к обесцвечиванию образца. Осмотрительно пользуйтесь этим режимом и, по возможности, используйте репрезентативную область вне области сканирования.
- 8 Вы можете воспользоваться кнопкой **Find Focus (AF)** (Выполнить автофокусировку) для выполнения автофокусировки с выбранным (выделенным) каналом. При выключенной фокусировке и (или) несоответствующем времени экспозиции следует воспользоваться ручным управлением фокусировки (в разделе **Focus** (Фокусировка)).

Возможно, вам также потребуется отрегулировать время экспозиции (в разделе **Channels/Time** (Каналы/Время)) и (или) интенсивность источника(-ов) света.



- 9 Не обязательно увеличивать экспозицию, охватывая тем самым весь динамический диапазон камеры. Для отображения сигнала на экране, даже если охватывается всего 5% диапазона, можно отрегулировать кривую отображения на гистограмме.
- 10 После выполнения фокусировки время экспозиции можно скорректировать вручную (в разделе **Channels/ Time** (Каналы/Время)) или автоматически, нажатием кнопки **Set Exposure** (Установить экспозицию). Время экспозиции будет определено так, чтобы охват диапазона камеры соответствовал значению, установленному в опции **Shift** (Сдвиг).
- 11 Следующий шаг — настройка программной автофокусировки (**Software Autofocus**). Настройки элемента **Quality** (Качество) определяют тип используемого алгоритма автофокусировки. Опция **Range Coverage** (Диапазон перемещения) определяет, следует ли выполнять автофокусировку по всей серии срезов по оси Z (**Full**) или только до первого обнаружения локального максимума (**Smart**). **Full** — наиболее надежный принцип, а **Smart** — быстрый. В опции **Sampling** (Дискретизация) указывается шаг серии срезов по оси Z. Выбранное значение отображается в поле **Step size** (Шаг) (доступный диапазон и размер шага зависят от объектива и остальных оптических параметров). Для объективов с кратностью увеличения **20x** рекомендуемый размер шага составляет приблизительно **2 мкм**. Опция **Sharpness Measure** (Определение резкости) определяет, должны ли системы использовать усредненный контраст (**Contrast**) или интенсивность (**Intensity**) для определения автофокусировки, или программное обеспечение должно автоматически выбрать один из двух параметров (**Auto**). В поле **Range** (Диапазон) указывается диапазон поиска автофокусировки на основе грубого фокуса, определенного в первом шаге. Если для грубой фокусировки используется объектив с увеличением 2.5x, то для точной фокусировки понадобится диапазон поиска до 250 мкм. Если используется объектив с увеличением 5x или 10x, диапазон

поиска может уменьшиться до 80 мкм. Это также зависит от настроек фокусировки и равномерности образца.

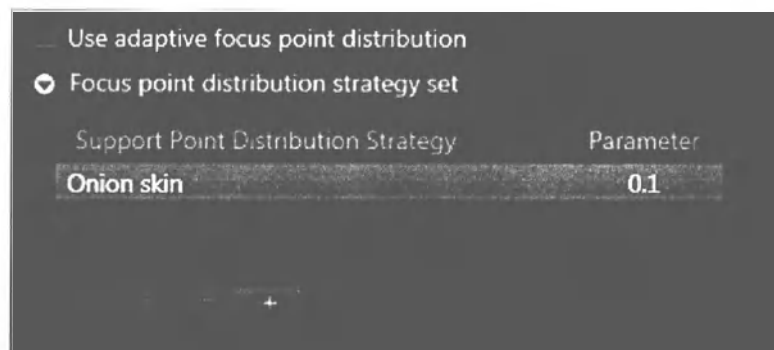


Риск повреждения объектива

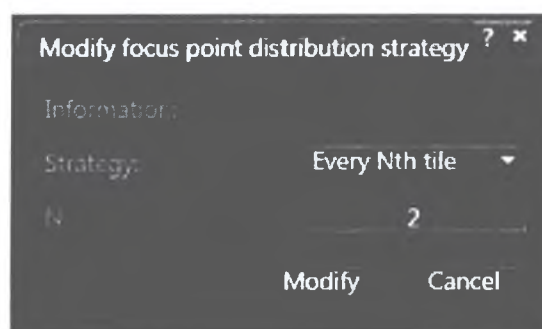
Исходя из рабочего расстояния объективов, максимальный диапазон фокусировки должен составлять **100 мкм** для **Plan-Apo 40x**, а для всех остальных объективов допускается диапазон фокусировки менее **600 мкм**. Здесь учитывается толщина стандартного покровного стекла (170 мкм) и толщина образца около 10 мкм. При использовании только диапазона точной фокусировки 60 мкм максимальная толщина образца может составлять 50 мкм. Большой рабочий диапазон может привести к повреждению объектива, а в худшем случае — к повреждению слайда.

12 Следующий шаг — адаптация *набора стратегий распределения точек фокусировки* [► 574]. Значение по умолчанию (**Onion skin** (Кожица лука) с плотностью — 0,1 и максимальным числом точек фокусировки — 24; в таблице отображается только значение плотности (Density), при необходимости отобразить и остальные параметры (при наличии) дважды нажмите на элемент таблицы)

наилучшим образом подходит для подавляющего числа слайдов с образцами большого размера. Исключением могут быть тканевые микропанели (Tissue Micro Arrays), для которых рекомендуется использовать центр тяжести (Center of gravity).



- 13 Для изменения набора стратегий распределения точек фокусировки дважды нажмите на элемент списка. Появится окно, в котором из выпадающего меню можно выбрать другой набор стратегий распределения точек фокусировки и отрегулировать параметры данной настройки. При нажатии на кнопку **Modify** (Изменить) будут применены изменения.



- 14 Для выполнения повторной проверки нажмите кнопку **Find focus** (Выполнить фокусировку). Если все параметры настроены правильно, система выполнит фокусировку образца, не выдавая никаких предупреждений/сообщений об ошибках. При возникновении проблем перепроверьте вышеуказанные настройки.

! Примечание

Описанная процедура подходит для образцов с деталями равного размера. Поскольку стратегия распределения точек фокусировки зависит от размера деталей образца, система обладает возможностью так называемого адаптивного распределения точек фокусировки. Более подробно см. раздел «Адаптивное распределение точек фокусировки».

19.1.2.11

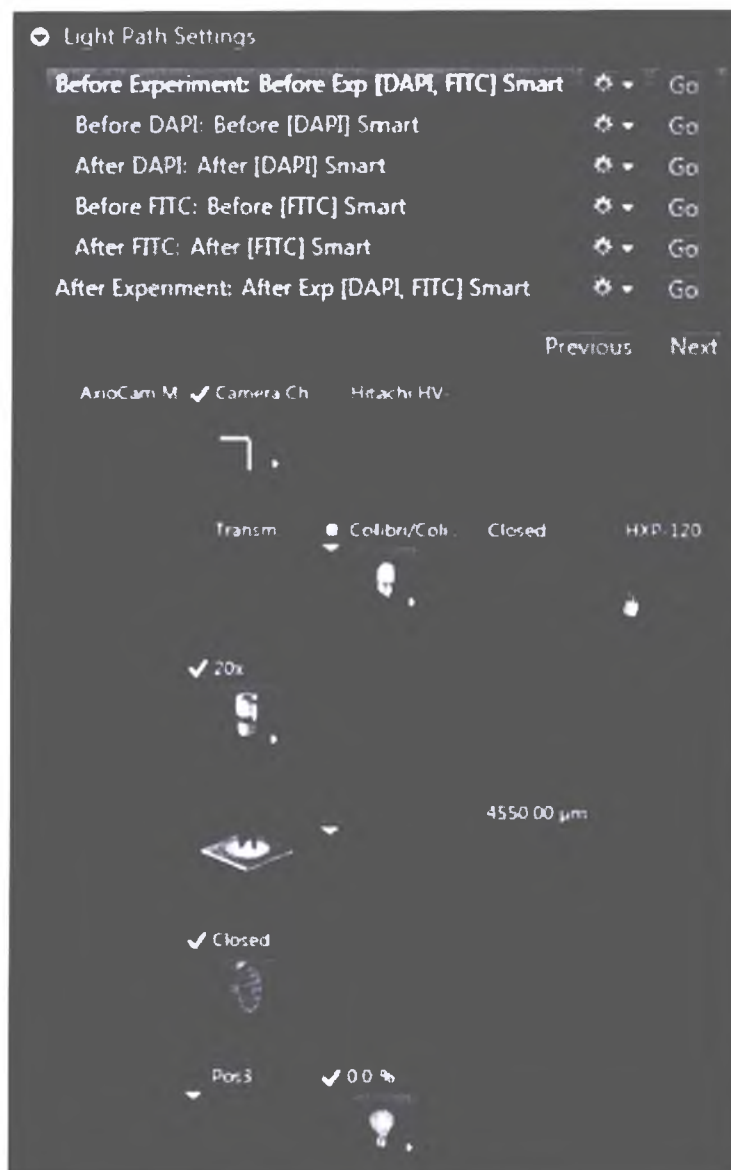
Настройка параметров сканирования для флуоресцентных профилей

Порядок действий

- 1 Первый шаг — регулировка **настроек оптического пути** (Light Path Settings). Настройка выполняется вручную или с помощью мастера **Smart Setup** (Быстрая настройка), см. раздел «Быстрая настройка».

Рекомендуем использовать мастер быстрой настройки **Smart Setup** не только потому, что он включает в себя двойные проверки, но также из-за простоты использования. После запуска мастера **Smart Setup** необходимо добавить используемые красители, дважды нажав на красители в расширенном списке. После чего система предложит одну или несколько возможных конфигураций. Количество вариантов, предлагаемых системой, зависит от конфигурации аппаратного обеспечения.

При выборе определенной настройки (например, **Best Signal** (Наилучший сигнал)) система автоматически примет настройки оптического пути (Light Path Settings). **Smart Setup** позволяет определить до четырех каналов. Если требуется определить более четырех каналов, необходимо перейти в настройки оптического пути (Light Path Settings) и вручную добавить дополнительные каналы.



По умолчанию в качестве сканирующего объектива в настройках оптического пути (Light Path Settings) система укажет объектив с кратностью увеличения **20x**. Чтобы сменить объектив, откройте расширитель настроек оптического пути (Light Path Settings) и активируйте элемент Before Experiment: Before Exp. (До эксперимента). Отобразится конфигурация оптического пути. Напротив объектива с кратностью увеличения 20x будет установлен флажок, поскольку это значение по умолчанию. Если требуется использовать другой объектив, выберите его и нажмите на кнопку **Go!** (Пуск). Система поместит выбранный объектив в оптический путь.

ПРИМЕЧАНИЕ

Риск повреждения устройства

В одном скане, а значит и в настройках сканирования (Scan Settings), используйте только **Colibri.2** или **HXP 120**. В Colibri переключатель светодиодов и HXP не рассчитан на большое количество циклов.

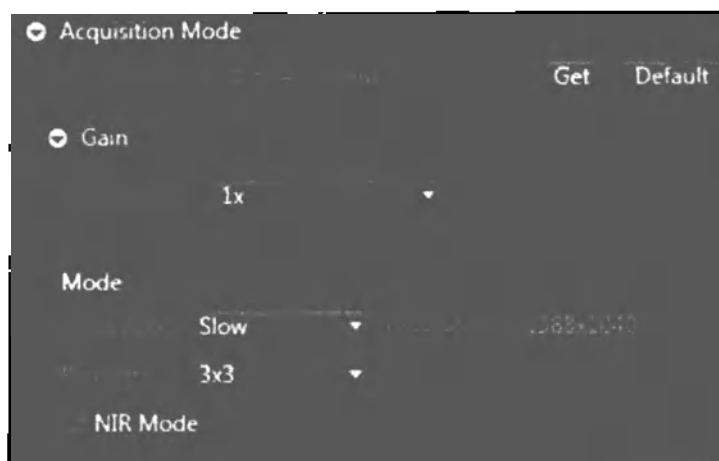
i Примечание

Чтобы сделать профиль более универсальным, можно выбрать больше каналов, чем требуется на самом деле, а на последующих этапах можно выбирать и отключать отдельные каналы.

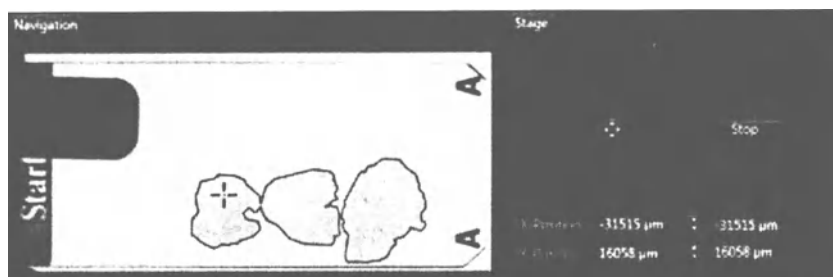
i Примечание

В случае замены объектива убедитесь, что для **точной фокусировки** вы используете тот же объектив.

- 2** В разделе **Acquisition Mode** (Режим получения изображений) расположены дополнительные настройки, которые установлены на оптимальные уровни и не требуют вмешательства оператора. Например, с целью минимизации обесцвечивания или даже сокращения времени сканирования можно уменьшить значения параметра времени экспозиции. Этого можно достигнуть **усилением сигнала** камеры (если таковой имеется для определенной камеры) или повышением **биннинга**. Однако следует отметить, что это уменьшит разрешение и (или) повысит уровень шума в изображении.

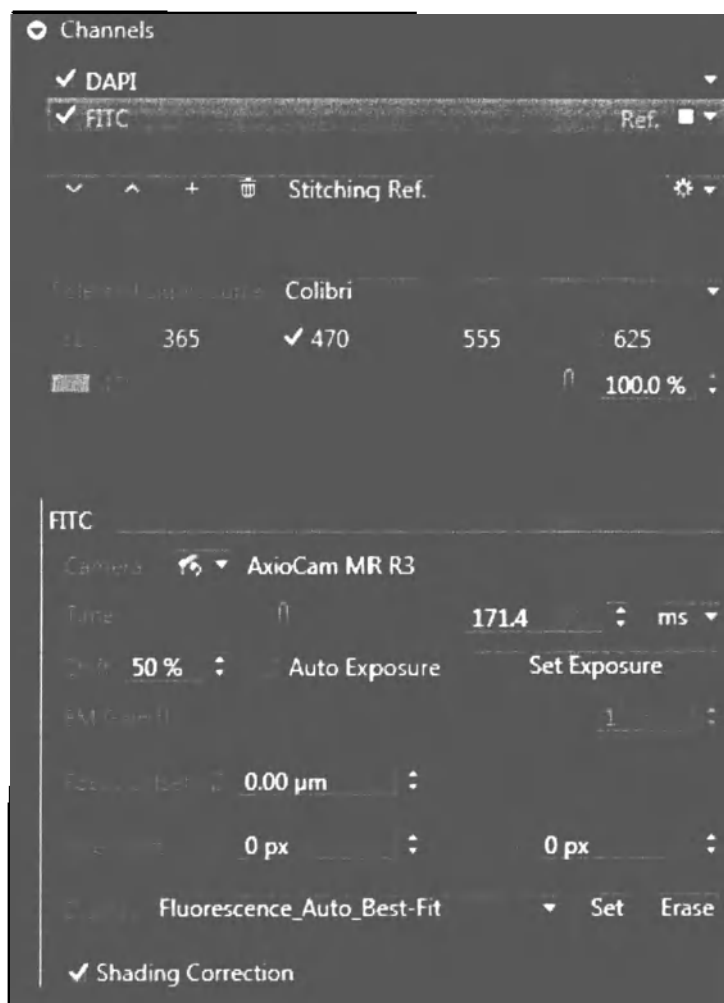


- 3 Переместитесь к образцу с помощью инструмента **Stage** (Столик). Также можно нажать на слайд, отображаемый во вкладке **Navigation** (Навигация), и программное обеспечение переместит образец в выбранную позицию.

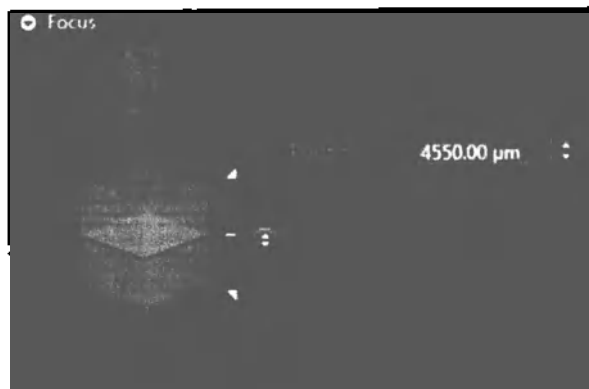


- 4 В списке раздела **Channels** (Каналы) отображаются все определенные каналы. Чтобы включить/выключить любой канал, достаточно установить/убрать соответствующий флажок. В случае выделения определенного канала аппаратное обеспечение изменит оптический путь. Здесь необходимо указать канал, используемый для сшивки (Stitching). Этот канал будет отмечен меткой «Ref.». Для изменения канала сшивки выделите канал и нажмите на кнопку **Stitching Ref.** (Канал сшивки). Убедитесь, что выбранный канал сшивки включен. Подходящим канал — это тот, в котором краситель равномерно распределен по образцу (а значит, системе достаточно структур для выполнения сшивки). Большие структуры с мелкими деталями (например, цитоскелеты) предпочтительны, если равномерно распределены по образцу. При наличии двух источников света (например, Colibri.2 и HXP 120 V) из списка каналов

можно выбрать один, а также задать его интенсивность.



- 5 Следующий шаг — фокусировка образцов, настройка времени экспозиции (в разделе **Time** (Время)) и значений интенсивности источника света. Для просмотра живого изображения с камеры необходимо включить режим **Live** (Живое изображение), а для получения единичного снимка всех выбранных каналов — нажать кнопку **Snap** (Моментальный снимок). Будьте внимательны во время работы в режиме **Live**, поскольку этот режим может привести к обесцвечиванию образца. Осмотрительно пользуйтесь этим режимом и, по возможности, используйте репрезентативную область вне области сканирования.
- 6 Вы можете воспользоваться кнопкой **Find Focus (AF)** (Выполнить автофокусировку) для выполнения автофокусировки с выбранным (выделенным) каналом. При выключенной фокусировке и (или) несоответствующем времени экспозиции можно воспользоваться ручным управлением фокусировки (в разделе **Focus** (Фокусировка)). Возможно, вам также потребуется отрегулировать время экспозиции (в разделе **Time** (Время)) и (или) интенсивность источника(-ов) света.

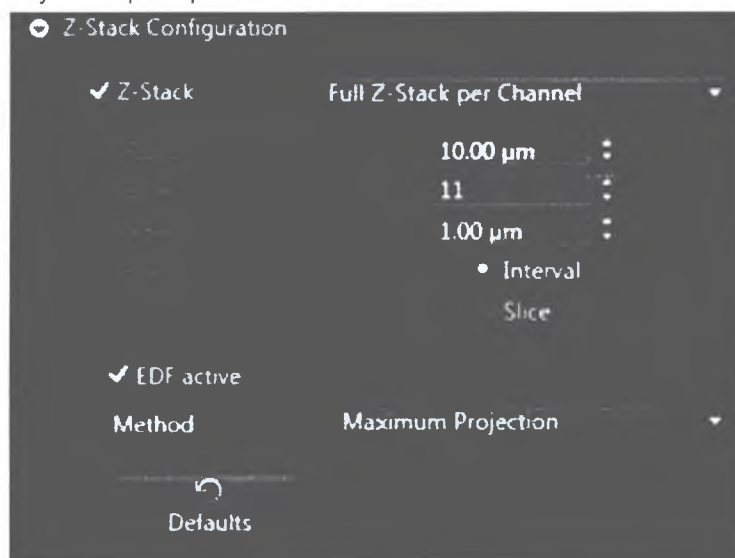


Необязательно увеличивать экспозицию, охватывая тем самым весь динамический диапазон камеры. Для отображения сигнала на экране, даже если охватывается всего 5% диапазона, можно отрегулировать кривую отображения на гистограмме.

- 7 После выполнения фокусировки время экспозиции можно скорректировать повторно (в разделе **Time** (Время)). Это можно сделать вручную с помощью ползунка **Time** (Время) или автоматически нажатием кнопки **Set Exposure** (Установить экспозицию). Время экспозиции будет определено так, чтобы охват диапазона камеры соответствовал значению, установленному в опции **Shift** (Сдвиг).
- 8 Обязательно проверьте несколько областей образца (используя элементы управления инструментами **Navigator** (Навигатор) или **Stage** (Столик)), чтобы определить, имеют ли определенные области более высокую концентрацию флуорофора. Повторите этот шаг для определения времени экспозиции для всех остальных отмеченных каналов.
- 9 Раздел **Z-Stack Configuration** (Конфигурация серии срезов по оси Z) важен, если необходимо автоматически получить серию срезов по оси Z с увеличенной глубиной резкости (EDF) или без нее. Такую возможность следует рассматривать при использовании неровных или очень толстых образцов. Обратите внимание, что, в зависимости от объектива, конденсора и камеры, объектив Plan-Apo с кратностью увеличения 20x имеет глубину фокусировки примерно 1 мкм, а объектив Plan-Apo с кратностью увеличения 40x имеет глубину фокусировки примерно 0,5 мкм. Неровность может быть результатом неоптимально выполненных подготовительных процедур или стремления пользователя просканировать толстые или цитологические образцы.

Наилучший способ оценить оптимальность настроек — перейти к репрезентативной области образца, выполнить автоматическую фокусировку размытого изображения до получения резкого изображения первых структур и отметить Z-величину. Перемещайтесь по всем образцам, пока последние области образцов в поле обзора из резких не станут размытыми, и снова отметьте Z-величину. Разность Z-величин составляет высоту серии срезов по оси Z. Рекомендуется повторить эту процедуру для разных областей образца. В дальнейшем будет использоваться наибольший диапазон по оси Z. Практические исследования показали, что к установленному диапазону по оси Z следует прибавлять 20%, поскольку автофокусировка не всегда располагается точно в центре образца. Теперь на основе диапазона по оси Z необходимо определить размер шага. Теоретически размер шага находится в диапазоне между глубиной фокусировки и ее половинным значением, таким образом, для объектива Plan-Apo с кратностью увеличения 20x шаг будет равен 0,5–1,0 мкм. Однако это может привести к большому числу шагов по оси Z и медленной скорости сканирования. Если вы не хотите сохранять серию срезов по оси Z и работаете с изображениями меньших размеров, можно активировать увеличенную глубину резкости (**EDF активна**).

При активной EDF программное обеспечение использует изображения, полученные в разных плоскостях фокусировки, для каждого поля изображения и объединит области сильнейшего контраста данных изображений серии срезов по оси Z в изображение, которое содержит участки максимального контраста всех изображений, записанных для этого поля изображения. Этот метод гарантирует максимальную глубину резкости. Настоятельно рекомендуется использовать стандартные параметры, так как они наилучшим образом обеспечивают требуемую глубину резкости. Подробное описание отдельных параметров см. в справке к стандартным функциям EDF в ZEN. Сканирование с EDF выполняется несколько быстрее аналогичного сканирования с серией срезов по оси Z. Важно отметить, что увеличенную глубину резкости также можно применить на последующем этапе, однако если она применена в профиле, то в этом случае серия срезов по оси Z не восстанавливается.



ПРИМЕЧАНИЕ

Риск повреждения объектива

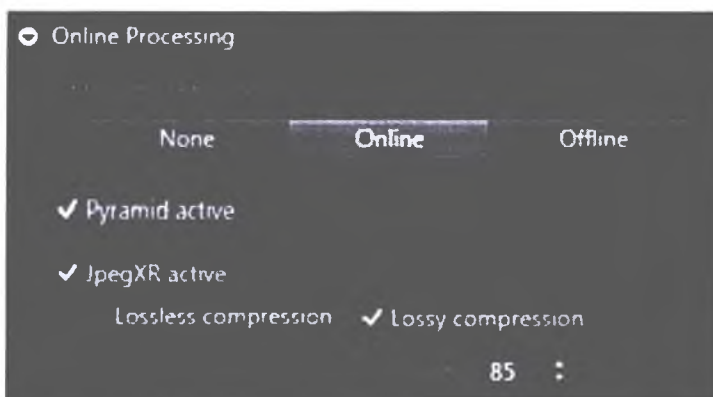
Исходя из рабочего расстояния объективов, максимальный диапазон фокусировки должен составлять **50 мкм** для **Plan-Apo 40x**, а для всех остальных объективов допускается диапазон фокусировки менее **300 мкм**. Здесь учитывается толщина стандартного покровного стекла (170 мкм). Большой рабочий диапазон может привести к повреждению объектива, а в худшем случае — к повреждению слайда.

10 Последний этап настройки — раздел **Online Processing** (Онлайн-обработка). В этом разделе указывается режим выполнения сшивки: онлайн-овый (**Online**), т. е. во время получения изображения, автономный (**Offline**), либо сшивка не выполняется (**None**). Стандартной настройкой является онлайн-овая сшивка, так как она обеспечивает оптимальное время обработки слайда. В автономном (**Offline**) режиме сначала выполняется сканирование, а затем — сшивка. Эта процедура занимает больше времени, чем онлайн-овая сшивка. Разница зависит от размера образца, т. е. чем больше образец, тем автономный режим медленнее онлайн-ового.

При обработке образцов малого размера разница во времени обработки едва заметна. Если сшивку необходимо выполнить позже с помощью измерительных функций ZEN или отдельной программы после экспорта, допускается использование только режима **None** (Без сшивки). Поскольку сшивка крайне важна для флуоресцентных образцов, для малых образцов должен использоваться по крайней мере автономный режим. В автономном режиме пользователь может активировать функцию **Fuse** (Слияние). С помощью функции **Fuse** (Слияние) система создает мозаику, тем самым улучшая равномерность освещения.

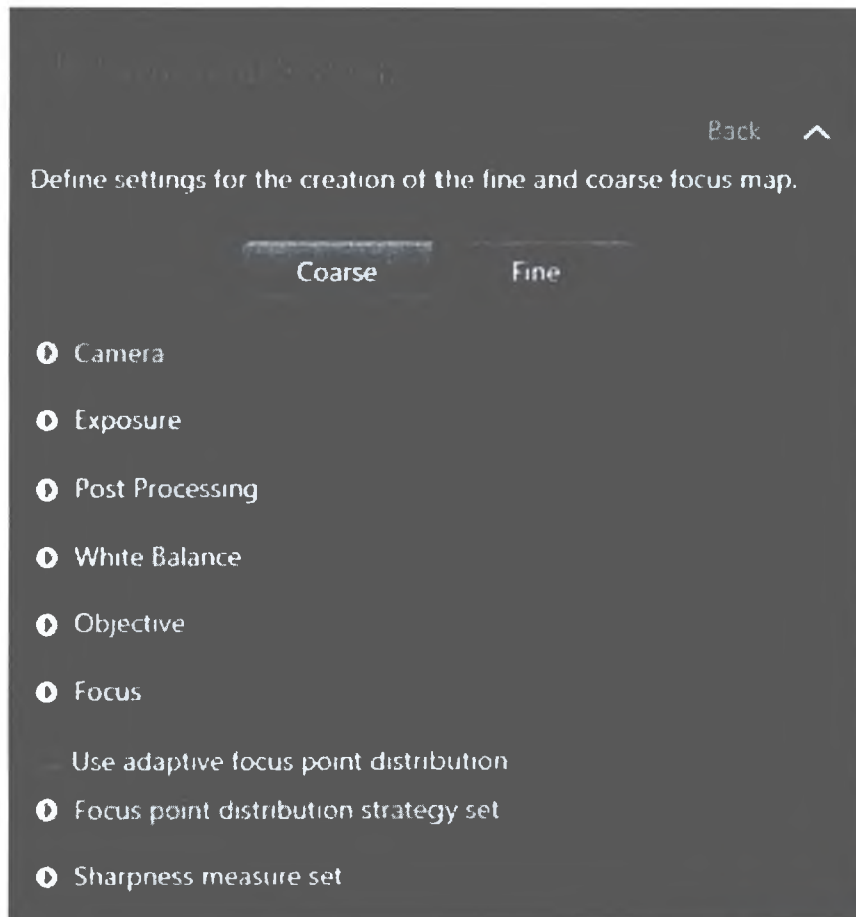
Опция **Pyramid active** (Пирамида активирована) должна быть постоянно включена, так как она ускоряет просмотр изображения. Тем не менее пирамиду также можно создать позже. При открытии непиримидального изображения определенного размера программное обеспечение будет выводить запрос о необходимости создания пирамиды.

Эти окончательные настройки позволяют оптимизировать сжатие во время онлайн-обработки. Если опция **JpegXR active** (JpegXR активна) отключена, изображение будет сохранено без сжатия. Если установлен флажок **JpegXR active** (JpegXR активна), изображение будет сохранено без потерь (**Lossless compression**), это значит, что изображение будет сжато до такой степени, при которой исключается потеря данных. Если установлен флажок **Lossy compression** (Сжатие с потерями), сжатие всегда будет проходить с потерей данных. Если этот флажок установлен, можно определить степень качества (**Quality**).



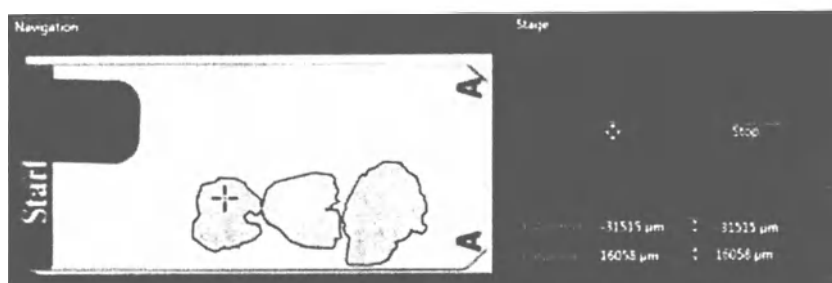
19.1.2.12 Настройки карты фокусировки (BF)

19.1.2.12.1 Регулировка настроек карты грубой фокусировки (BF)

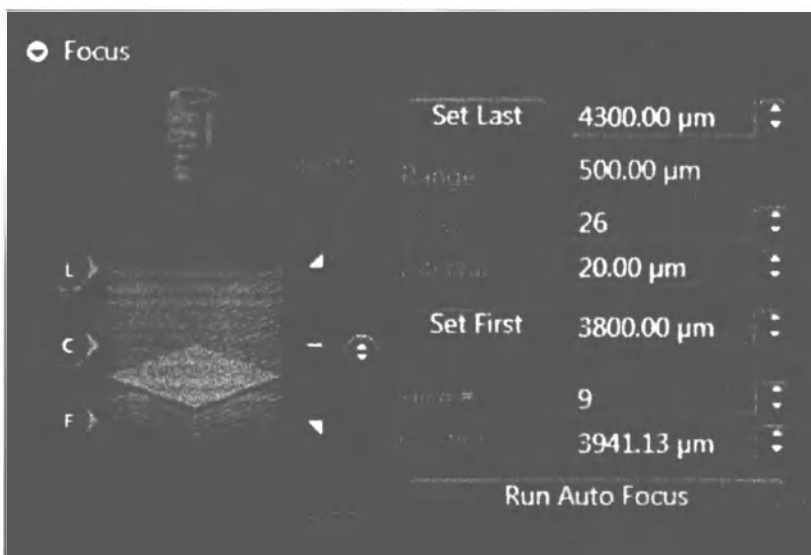


- Порядок действий
- 1 В разделе **Camera** (Камера) выберите активную камеру. **ПРИМЕЧАНИЕ** Выбирайте здесь только цветную камеру Hitachi. Не выбирайте монохромную камеру или AxioCamIC, так как профиль окажется нерабочим!
 - 2 В разделе **Objective** (Объектив) выберите соответствующий объектив. В этом случае рекомендуем выбрать объектив с кратностью увеличения **5x**. Если таковой отсутствует, используйте объектив 10x или 2.5x.
 - 3 Переместитесь к образцу с помощью инструментов, размещенных в нижней части окна. Можно нажать на слайд, отображаемый во вкладке **Navigation** (Навигация), и программное обеспечение переместит образец в выбранную позицию. Для более точной навигации можно воспользоваться виртуальным джойстиком во вкладке **Stage** (Столик).

В главной части окна отображается живое изображение с камеры.

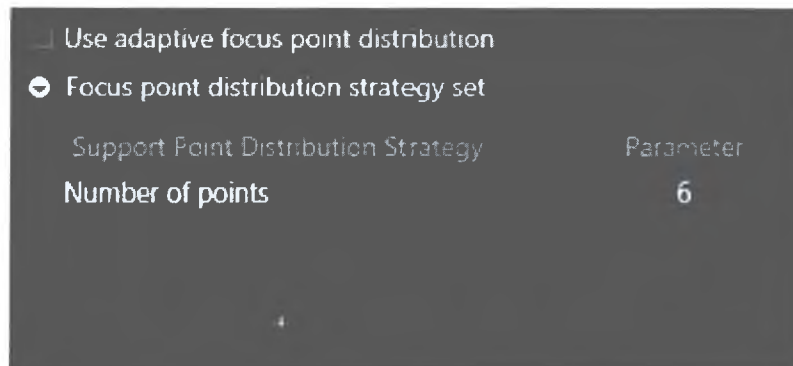


- 4 В разделе **Focus** (Фокусировка) нажмите кнопку **Run Auto Focus** (Выполнить автофокусировку). Если система не сможет выполнить автофокусировку, ее можно выполнить вручную, например с помощью ползунка, расположенного рядом с виртуальным представлением серии срезов по оси Z.
- 5 Как только образец окажется в фокусе, дважды проверьте, не слишком ли светлое или темное изображение, правильный ли баланс белого.
- 6 Найдите текущую позицию по оси Z (в поле **Position** (Позиция), в нашем случае — 4200 мкм). Позиция по оси Z должна находиться в диапазоне, указанном в элементах **Set First** (Установить первую позицию) и **Set Last** (Установить последнюю позицию). В нашем случае она идеально располагается в этом диапазоне. В противном случае придется отрегулировать диапазон. Можно увеличить количество срезов (в опции **Slices** (Срезы)). Это приведет к увеличению диапазона, при этом фокусировка займет больше времени. Также диапазон можно расширить, изменив параметры **Set First** (Установить первую позицию) и **Set Last** (Установить последнюю позицию). Для параметра **Interval** рекомендуются следующие настройки: 2.5x: 20 мкм; 5x: 20 мкм; 10x: 15 мкм.

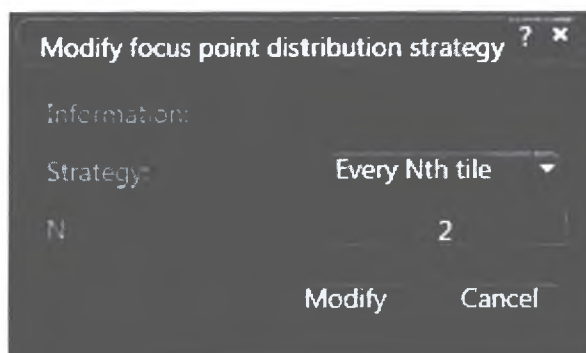


- 7 Следующий шаг — адаптация набора стратегий распределения точек фокусировки [► 574]. Значение по умолчанию (**Number of points** (количество точек) = 6) наилучшим образом подходит для подавляющего числа образцов (в экранной таблице отображается только один параметр, если требуется отобразить и остальные параметры (при наличии таковых, например, для Onion skin (Кожица лука)), дважды нажмите на элемент таблицы).

Исключением могут быть тканевые микропанели (Tissue Micro Arrays), для которых рекомендуется использовать центр тяжести (**Center of gravity**).



- 8 Для изменения стратегии дважды нажмите на элемент списка. Появится окно, в котором из выпадающего меню можно выбрать другой **набор стратегий распределения точек фокусировки** и отрегулировать параметры данной настройки. При нажатии на кнопку **Modify** (Изменить) будут применены изменения.



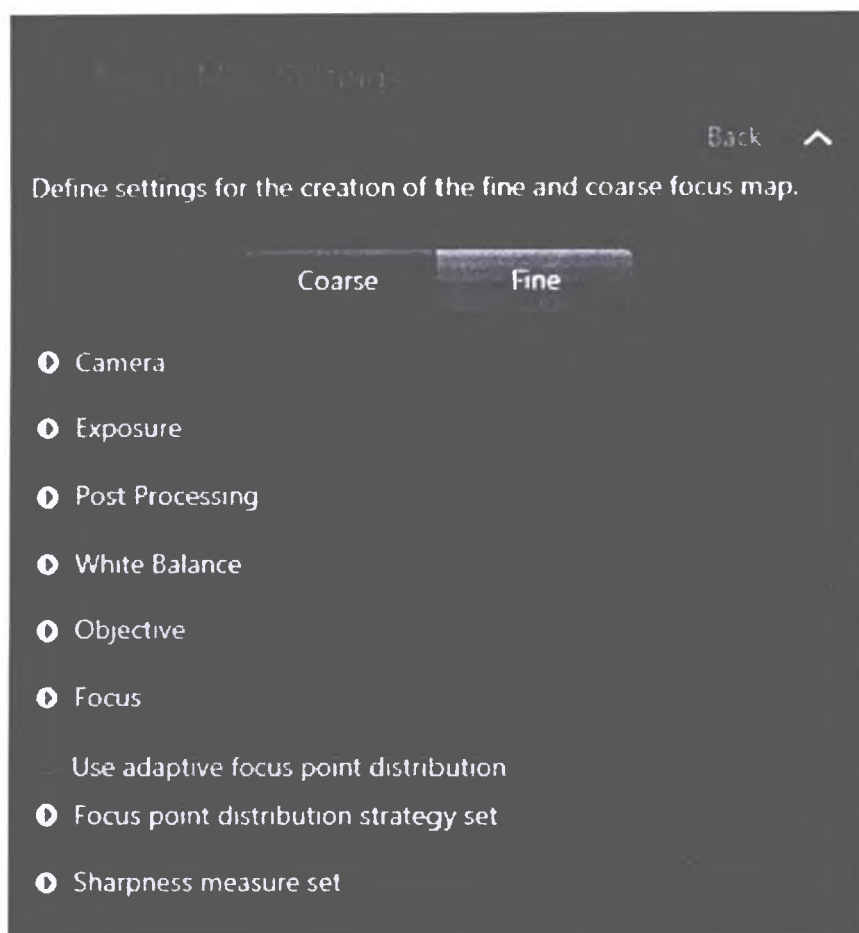
- 9 Последний шаг — настройка *наборов измерения резкости* [► 592]. В нашем случае **Best** (Наилучший) или **Basic** (Базовый) — самые подходящие варианты для грубой фокусировки светлопольного изображения.
- 10 Для выполнения повторной проверки нажмите кнопку **Run Auto Focus** (Выполнить автофокусировку). Если все параметры настроены правильно, система выполнит фокусировку образца, не выдавая никаких предупреждений/сообщений об ошибках. При возникновении проблем перепроверьте вышеуказанные настройки. Чтобы прервать процесс фокусирования, нажмите кнопку **Stop Auto Focus** (Остановить автофокусировку).
- 11 Следующим шагом по умолчанию будет регулировка настроек точной фокусировки (**Fine Focus**).

Примечание

Описанная процедура подходит для образцов с деталями равного размера. Поскольку стратегия распределения точек фокусировки зависит от размера деталей образца, система обладает возможностью так называемого адаптивного распределения точек фокусировки. Более подробно см. раздел «Адаптивное распределение точек фокусировки».

19.1.2.12.2

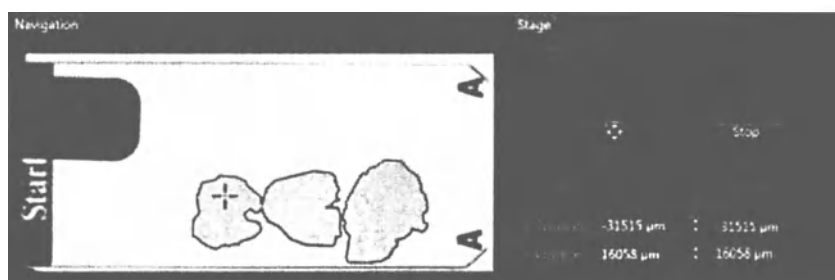
Регулировка настроек карты точной фокусировки (BF)



Необходимые предварительные условия ■ Предварительно отрегулированы настройки грубой фокусировки (**Coarse Focus**), см. раздел *Регулировка настроек карты грубой фокусировки (BF)* [► 536]

- Порядок действий**
- 1 В разделе **Camera** (Камера) выберите активную камеру. **ПРИМЕЧАНИЕ** Выбирайте здесь только цветную камеру **Hitachi**. Не выбирайте монохромную камеру или **AxioCamIC**, так как профиль окажется нерабочим!
 - 2 Выберите соответствующий объектив в разделе **Objective** (Объектив). Это тот же объектив, который использовался бы для сканирования образца.
 - 3 Переместитесь к образцу с помощью инструментов, размещенных в нижней части окна. Можно нажать на слайд, отображаемый во вкладке **Navigation** (Навигация), и программное обеспечение переместит образец в выбранную позицию. Для более точной навигации можно воспользоваться виртуальным джойстиком во вкладке **Stage** (Столик).

В главной части окна отображается живое изображение с камеры.



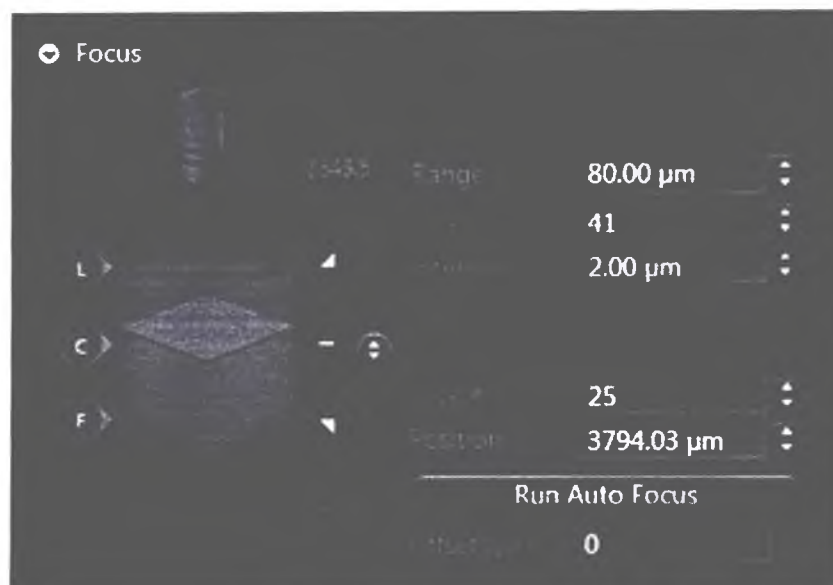
- 4 В разделе **Focus** (Фокусировка) нажмите кнопку **Run Auto Focus** (Выполнить автофокусировку). Если система не сможет выполнить автофокусировку, ее можно выполнить вручную, например, с помощью ползунка, расположенного рядом с виртуальным представлением серии срезов по оси Z. Если до этого была выполнена грубая фокусировка, а программное обеспечение не определяет фокус, значит, параметры точной фокусировки отрегулированы неправильно.
- 5 Как только образец окажется в фокусе, дважды проверьте, не слишком ли светлое или темное изображение, правильный ли баланс белого.
- 6 Теперь необходимо настроить диапазон (**Range**). Можно изменить интервал (**Interval**), но, как правило, значительных изменений не требуется. Для параметра **Interval** рекомендуются следующие настройки: **2.5x**: 20 мкм; **5x**: 8 мкм; **10x**: 4 мкм; **20x**: 2 мкм; **40x**: 1,5 мкм, при этом рекомендуется изменить количество срезов (**Slices**). Конечный оптимальный диапазон зависит от нескольких параметров, таких как число фокусных точек, ровность образца и объектив, используемый для грубой фокусировки (**Coarse Focus**). Если для грубой фокусировки используется объектив с кратностью увеличения 5x или 10x, диапазон поиска при точной фокусировке может составлять приблизительно 70 мкм. Если для грубой фокусировки используется объектив с кратностью увеличения 2.5x, диапазон поиска должен составлять не менее 150 мкм.

ПРИМЕЧАНИЕ

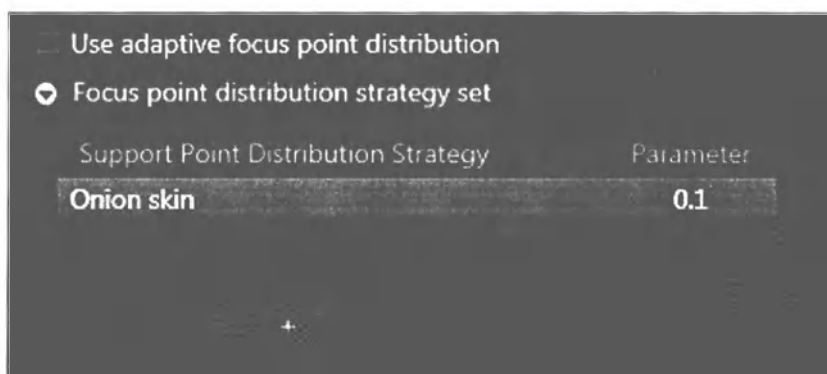
Риск повреждения объектива

Исходя из рабочего расстояния объективов, максимальный диапазон фокусировки должен составлять 100 мкм для Plan-Apo 40x, а для всех остальных объективов допускается диапазон фокусировки менее 500 мкм. Здесь учитывается толщина стандартного покровного стекла (170 мкм) и толщина образца около 10 мкм. При использовании только диапазона точной фокусировки 60 мкм максимальная толщина образца может составлять 50 мкм. Большой рабочий диапазон может привести к повреждению объектива, а в худшем случае — к повреждению слайда.

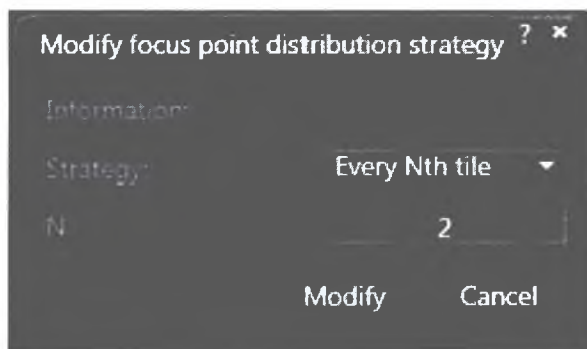
- 7 С помощью параметра **Offset** (Сдвиг) к карте фокусировки можно применить фиксированную величину сдвига (в мкм). Величина сдвига будет прибавлена ко всем Z-величинам карты фокусировки.



- 8 Следующий шаг — адаптация набора стратегий распределения точек фокусировки [► 588]. Значение по умолчанию (**Onion skin** (Кожица лука) с плотностью — 0,1 и максимальным числом точек фокусировки — 24; в таблице отображается только значение плотности (Density), при необходимости отобразить и остальные параметры (при наличии) дважды нажмите на элемент таблицы) наилучшим образом подходит для подавляющего числа слайдов с образцами большого размера. Исключением могут быть тканевые микропанели (Tissue Micro Arrays), для которых рекомендуется использовать центр тяжести (**Center of gravity**).



- 9 Для изменения стратегии дважды нажмите на элемент списка. Появится окно, в котором из выпадающего меню можно выбрать другой набор стратегий распределения точек фокусировки и отрегулировать параметры данной настройки. При нажатии на кнопку **Modify** (Изменить) будут применены изменения.

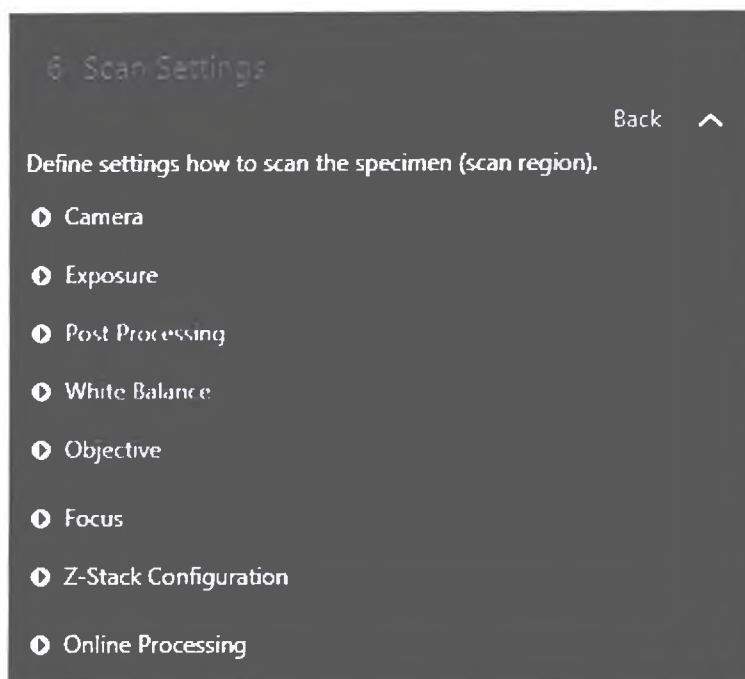


- 10 Последний шаг — настройка наборов измерения резкости [► 592].
В нашем случае **Best (Наилучший)**, **Basic (Базовый)**, или **HG 2^8** — самые подходящие варианты для грубой фокусировки светлопольного изображения. Последний алгоритм фокусируется больше на ядрах.
- 11 Для выполнения повторной проверки нажмите кнопку **Run Auto Focus** (Выполнить автофокусировку). Если все параметры настроены правильно, система выполнит фокусировку образца, не выдавая никаких предупреждений/сообщений об ошибках. При возникновении проблем перепроверьте вышеуказанные настройки. Чтобы прервать процесс фокусирования, нажмите кнопку **Stop Auto Focus** (Остановить автофокусировку).

i Примечание

Описанная процедура подходит для образцов с деталями равного размера. Поскольку стратегия распределения точек фокусировки зависит от размера деталей образца, система обладает возможностью так называемого адаптивного распределения точек фокусировки. Более подробно см. раздел «Адаптивное распределение точек фокусировки».

19.1.2.13 Настройка параметров сканирования для светлопольных профилей

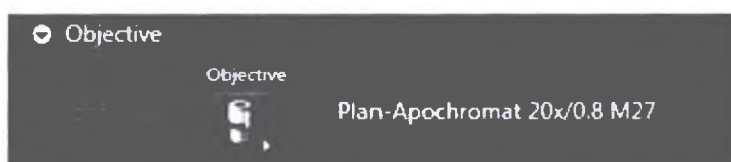


В разделе **Camera** (Камера) не переключайтесь на монохромную камеру или AxioCamIC, так как профиль окажется нерабочим!

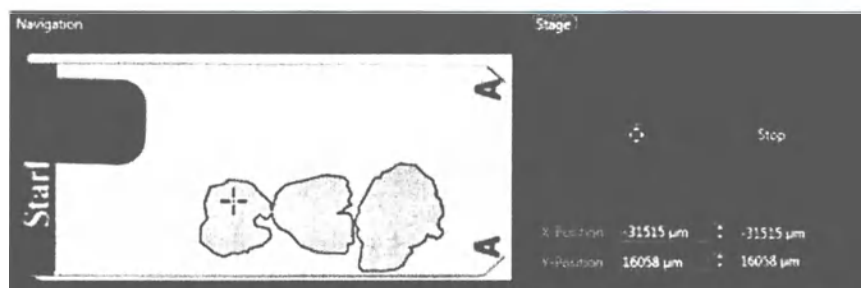
Необходимые предварительные условия ■ При использовании камеры **Hitachi-HV-F202** можно выбрать глубину цвета изображения: 8-бит, 10-бит или 12-бит. Обратите внимание, что глубина цвета свыше 8-бит приводит к увеличению размера изображения.



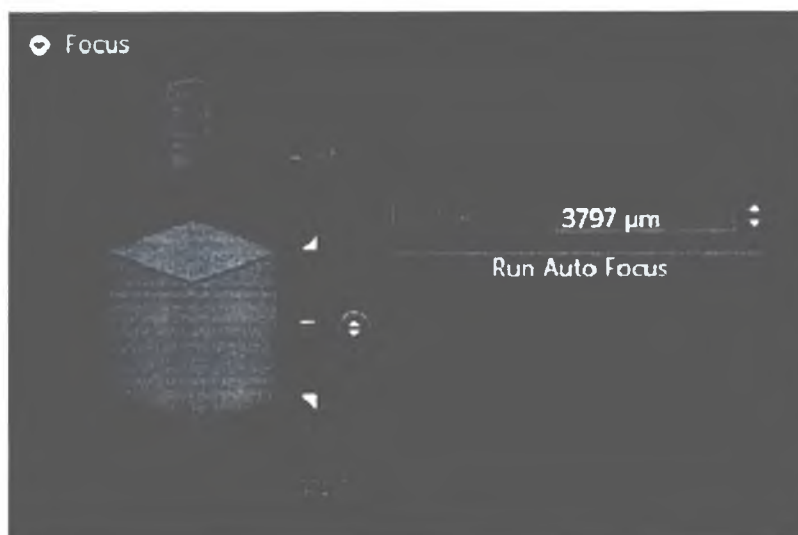
Порядок действий 1 В разделе **Objective** (Объектив) проверьте правильность подключенного объектива. Следует использовать тот же объектив, что использовался для точной фокусировки, или по крайней мере объектив с меньшей кратностью увеличения.



- 2 Переместитесь к образцу с помощью инструментов, размещенных в нижней части окна. Можно нажать на слайд, отображаемый во вкладке **Navigation** (Навигация), и программное обеспечение переместит образец в выбранную позицию. Для более точной навигации можно воспользоваться виртуальным джойстиком во вкладке **Stage** (Столик). В главной части окна отображается живое изображение с камеры.

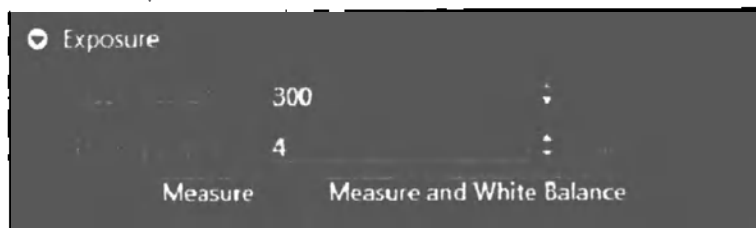


- 3 Для оценки качества изображения сначала необходимо выполнить фокусировку (в разделе **Focus** (Фокусировка)). Этот раздел предназначен только для фокусирования и не влияет на фокусирование во время последующего сканирования, так как настройки были выполнены в предыдущем шаге. Для выполнения автоматической фокусировки воспользуйтесь кнопкой **Run Auto Focus** (Выполнить автофокусировку). Во время выполнения автоматической фокусировки прервать процесс фокусирования можно нажатием кнопки **Stop Auto Focus** (Остановить автофокусировку).

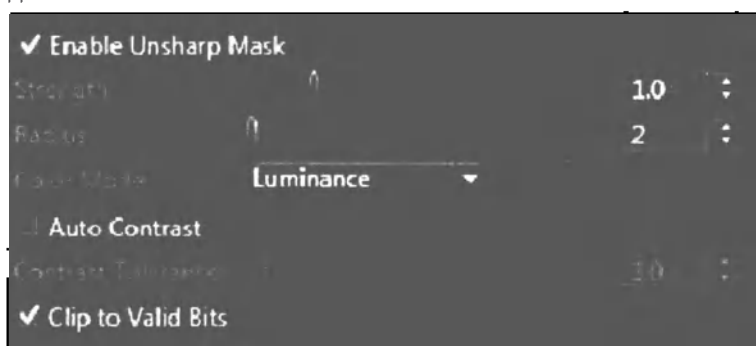


- 4 Для корректировки баланса белого (**White Balance**) и времени экспозиции (**Exposure**) переместитесь в область за пределами образца. Воспользуйтесь кнопкой **Measure and White Balance** (Измерение и баланс белого) в расширителе **Exposure** (Экспозиция) для автоматической настройки экспозиции и баланса белого (при нажатии на кнопку **Measure** (Измерить) программное обеспечение автоматически определит только экспозицию). Если интенсивность определена неверно, экспозицию можно настроить в расширителе **Exposure** (Экспозиция). Время экспозиции для камеры регулировать нельзя, так как это фиксированное значение. Можно изменять только настройки источника света. Поскольку система снабжена светодиодной вспышкой, можно настроить длительность (**Flash duration**) и интенсивность вспышки (**Flash intensity**). Длительность вспышки — это длительность каждой вспышки, а интенсивность вспышки — это интенсивность каждой вспышки. Интенсивность вспышки можно усилить до 300%. Интенсивность вспышки позволяет выполнять очень точные настройки результирующей интенсивности. Изменения длительности вспышки определяют грубую настройку.

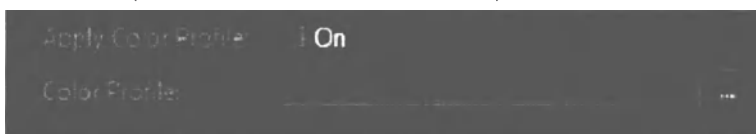
Выполнение ручной настройки рекомендуется начинать с интенсивности вспышки равной приблизительно 250%, а длительность вспышки регулировать до получения соответствующего сигнала и только после этого по мере необходимости повышать интенсивность вспышки.



- 5 Описание настроек для **баланса белого и постобработки** см. в общем описании аналогичных функций в руководстве к ПО ZEN. В разделе **Post Processing** (Постобработка) можно включить функцию **Unsharp Mask** (Нерезкое маскирование). Нерезкое маскирование повышает контраст результирующих изображений, однако, ее следует применять осмотрительно во избежание неестественности изображения. Этот инструмент может быть чрезвычайно полезен при увеличении 40x, поскольку увеличение 40x приводит к передискретизации, а нерезкое маскирование может выделить структуры. При усилении резкости скорость сканирования слегка снижается. Равномерность освещения (Shading) должна быть постоянно включена.



- 6 В разделе **Post Processing** (Постобработка) также можно включить коррекцию цвета, подключив опцию **Apply Color Profile** (Применить цветной профиль). Установив флажок **On**, выберите цветной профиль. По умолчанию применяется цветной профиль **srgb**. Если программное обеспечение не находит профиль, вероятно, цветной профиль был удален, или калибровка цветов не была выполнена. В этом случае необходимо повторно выполнить калибровку цветов с помощью мастера калибровки Axio Scan (**Axio Scan Calibration Wizard**).

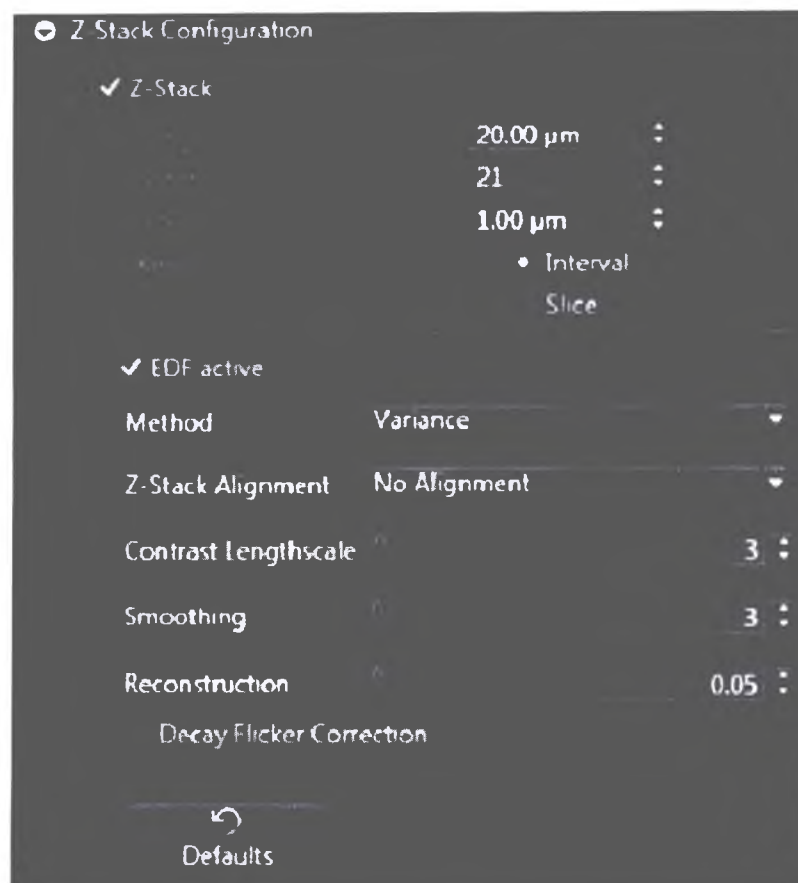


- 7 Раздел **Z-Stack Configuration** (Конфигурация серии срезов по оси Z) позволяет автоматически получить серию срезов по оси Z с увеличенной глубиной резкости (EDF) или без нее. Такую возможность следует рассматривать при использовании неровных или толстых образцов. Обратите внимание, что, в зависимости от объектива, конденсора и камеры, объектив Plan-Apo с кратностью увеличения 20x имеет глубину фокусировки примерно 1 мкм, а объектив Plan-Apo с кратностью увеличения 40x имеет глубину фокусировки примерно 0,5 мкм. Неровность может быть результатом неоптимально выполненных подготовительных процедур или стремления пользователя просканировать толстые или цитологические образцы. Наилучший способ оценить оптимальность настроек — перейти к репрезентативной области образца, выполнить фокусировку размытого изображения до получения резкого изображения первых структур и отметить Z-величину.

Перемещайтесь по всем образцам, пока последние области образцов в поле обзора из резких не станут размытыми, и снова отметьте Z-величину. Разность Z-величин составляет высоту серии срезов по оси Z.

Рекомендуется повторить эту процедуру для разных областей образца. В дальнейшем будет использоваться наибольший диапазон по оси Z.

Практические исследования показали, что к установленному диапазону по оси Z следует прибавлять 20%, поскольку автофокусировка не всегда располагается точно в центре образца. Теперь на основе диапазона по оси Z необходимо определить размер шага. Теоретически размер шага находится в диапазоне между глубиной фокусировки и ее половинным значением, таким образом, для объектива Plan-Apo с кратностью увеличения 20x шаг будет равен 0,5–1,0 мкм. Однако это может привести к большему числу шагов по оси Z и медленной скорости сканирования. Если вы не хотите сохранять серию срезов по оси Z и работаете с изображениями меньших размеров, можно активировать увеличенную глубину резкости (EDF активна). При активной EDF программное обеспечение использует изображения, полученные в разных плоскостях фокусировки, для каждого поля изображения и объединит области сильнейшего контраста данных изображений серии срезов по оси Z в изображение, которое содержит участки максимального контраста всех изображений, записанных для этого поля изображения. Этот метод гарантирует максимальную глубину резкости. Настоятельно рекомендуется использовать стандартные параметры, так как они наилучшим образом обеспечивают требуемую глубину резкости. Подробное описание отдельных параметров см. в справке к стандартным функциям EDF в ZEN. Сканирование с EDF выполняется несколько быстрее аналогичного сканирования с серией срезов по оси Z. Важно отметить, что увеличенную глубину резкости также можно применить на последующем этапе, однако, если она применена в профиле, то в этом случае серия срезов по оси Z не восстанавливается.



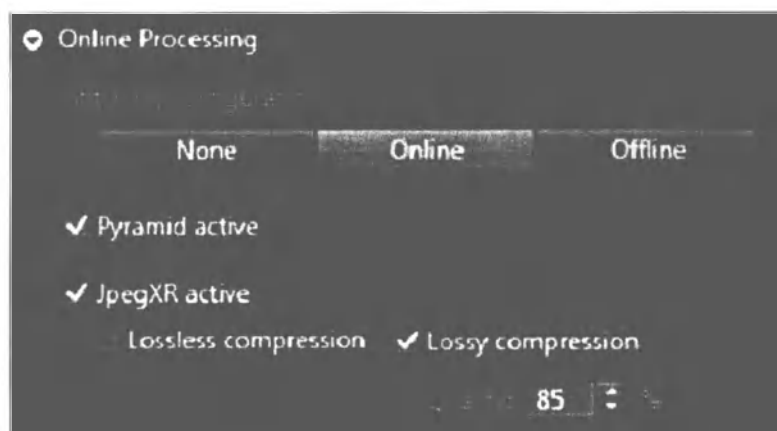
ПРИМЕЧАНИЕ

Риск повреждения объектива

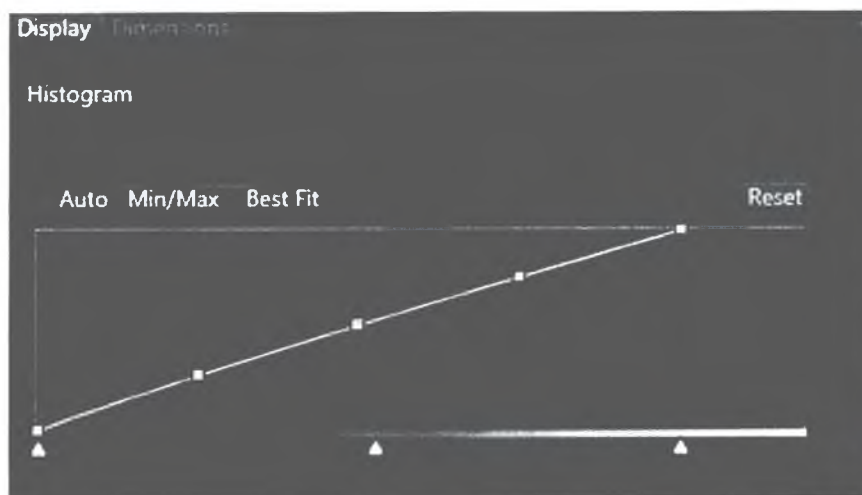
Исходя из рабочего расстояния объективов, максимальный диапазон фокусировки должен составлять 50 мкм для Plan-Apo 40x, а для всех остальных объективов допускается диапазон фокусировки менее 300 мкм. Здесь учитывается толщина стандартного покровного стекла (170 мкм). Большой рабочий диапазон может привести к повреждению объектива, а в худшем случае — к повреждению слайда.

- 8 Последний этап проверки — раздел **Online Processing** (Онлайн-обработка). В этом разделе указывается режим выполнения сшивки: онлайн-сшивка (**Online**), т. е. во время получения изображения, автономный (**Offline**), либо сшивка не выполняется (**None**). Стандартной настройкой является онлайн-сшивка, так как она обеспечивает оптимальное время обработки слайда. В автономном (**Offline**) режиме сначала выполняется сканирование, а затем — сшивка. Эта процедура занимает больше времени, чем онлайн-сшивка. Разница зависит от размера образца, т. е. чем больше образец, тем автономный режим медленнее онлайн-сшивки. При обработке образцов малого размера разница во времени обработки едва заметна. Сшивка не применяется (**None**) только в тех случаях, когда ее необходимо выполнить позже с помощью измерительных функций ZEN или отдельной программы после экспорта.

Опция **Pyramid active** (Пирамида активирована) должна быть постоянно включена, так как она ускоряет просмотр изображения. Тем не менее пирамиду также можно создать позже. При открытии непиримидального изображения в ПО ZEN программное обеспечение будет выводить запрос о необходимости создания пирамиды. Эти окончательные настройки позволяют оптимизировать сжатие во время онлайн-обработки. Если опция **JpegXR active** (JpegXR активна) отключена, изображение будет сохранено без сжатия. Если установлен флажок **JpegXR active** (JpegXR активна), изображение будет сохранено без потерь (**Lossless compression**), это значит, что изображение будет сжато до такой степени, при которой исключается потеря данных. Если установлен флажок **Lossy compression** (Сжатие с потерями), сжатие всегда будет проходить с потерей данных. Если этот флажок установлен, можно определить степень качества (**Quality**).



- 9 В нижней части окна под областью обзора живого изображения находится вкладка **Display** (Отображение). В этой вкладке можно скорректировать кривую отображения. Скорректированная кривая отображения сохраняется вместе со сгенерированным изображением, таким образом, если открыть это изображение, то будет применена эта кривая отображения. Кривая отображения никак не влияет на сами данные изображения, но она, например, предоставляет возможность подавлять сероватый фон.



Примечание

Флажок коррекции равномерности освещения в разделе **Post Processing** (Постобработка) должен быть установлен постоянно. Используемая последовательность действий при коррекции равномерности освещения зависит от увеличения объектива, например, если увеличение меньше или равно 10х, программное обеспечение выполнит захват изображения с коррекцией равномерности освещения вне слайда, т. е. сквозь воздух. Преимущество заключается в том, что пыль и прочие объекты не влияют на изображение с коррекцией равномерности освещения.

Если увеличение больше или равно 20х, программное обеспечение выполнит захват изображения с коррекцией равномерности освещения сквозь стекло. Для этого программное обеспечение определит пустую область приблизительно со 100 полями обзора. Программное обеспечение просканирует эту область и определит среднее изображение в качестве изображения с коррекцией равномерности освещения. Если система не обнаружит пустую область (в случае если образец полностью покрывает слайд, например, при мазках крови), она использует последнее захваченное изображение с коррекцией равномерности освещения и выведет на экран предупреждение.

В разделе **Post-Processing** (Постобработка) можно вручную создать изображение с коррекцией равномерности освещения, но оно будет заменено полученным автоматически.

19.1.3 Мастеры Slidescan

19.1.3.1 Введение

ПО ZEN slidescan включает в себя следующие шесть мастеров:

- Мастер быстрого выбора профиля сканирования (автономный).
- Мастер создания профиля сканирования (онлайновый).
- Расширенный мастер создания профиля сканирования (онлайновый).
- Расширенный мастер создания профиля сканирования (автономный).
- Мастер обнаружения тканей (автономный).
- Мастер калибровки Axio Scan (онлайновый).

Каждый мастер имеет определенные функции и (или) предоставляет доступ определенного уровня к функциям Axio Scan.Z1. Мастер включает в себя несколько шагов. Эти шаги проведут вас через все необходимые настройки, например, создание профиля сканирования или калибровку сканера. **Мастер обнаружения тканей** (Tissue Detection Wizard) состоит только из одного шага.

Мастеры делятся на два основных типа: онлайновый и автономный. Автономные работают без размещения физического слайда на столике, то есть отсутствует живое изображение и доступ к функциям, связанным с живым изображением. Онлайновые требуют размещения слайда на столике (или мастер размещает слайд на столике), тем самым генерируя живое изображение.

i Примечание

В расширенном мастере создания профиля (**Advanced Profile Wizard**) (онлайн/автономный) необязательно выполнять операции последовательно, допускается переход к определенному шагу мастера двойным нажатием на необходимый шаг.

Отсутствие определенных свойств/настроек может быть обусловлено отключенным режимом **Show all** (Показать все). Если это так, установите флажок **Show all** (Показать все). С другой стороны, некоторые настройки доступны только для конкретных областей применения. Если эти настройки вносят путаницу, уберите флажок **Show all** (Показать все).

Создавать новые профили можно с нуля, используя настройки по умолчанию (во вкладке **Scan / Default profile / New** (Сканирование / Профиль по умолчанию / Новый)), но в большинстве случаев рекомендуется изменять существующие профили. Это позволяет быстро и легко адаптировать профиль к новой области применения без проверки каждого шага мастера.

При отсутствии подходящего исходного профиля рекомендуем сначала выбрать базовый профиль для определенной области применения в разделе **Smart Profile Selection** (Быстрый выбор профиля), а затем изменить настройки с помощью **мастера создания профиля сканирования** (Scan Profile Wizard).

19.1.3.2 Мастер быстрого выбора профиля сканирования (автономный)

В мастере быстрого выбора профиля сканирования (Smart Scan Profile Selection) можно выбрать предустановленные профили сканирования. Можно выбрать **Contrast Method** (Метод контрастирования) (шаг 1), **Sample Type** (Тип образца) (шаг 2) и **Profile Name and Description** (Имя и описание профиля) (шаг 3).

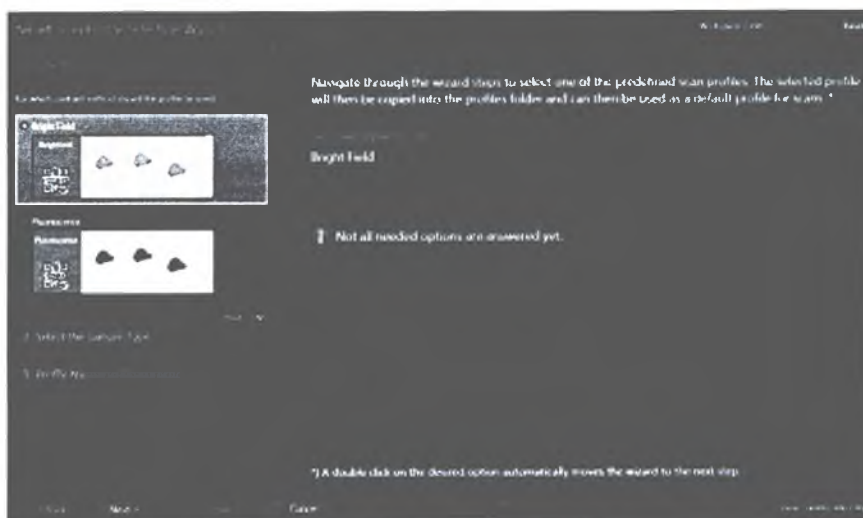


Рисунок 19.3. Мастер быстрого выбора профиля сканирования

В системе имеются предварительно настроенные профили (известные как пул-профили) для большого числа областей применения, включая **поляризацию**, и профили для оценки объектов. Эти профили хранятся в безопасном месте и не могут быть изменены пользователем.

i Примечание

Обратите внимание, что по умолчанию сканирующим объективом для всех пул-профилей выбран объектив с кратностью увеличения 20х, за исключением двух профилей в разделе **Reference slides** (Эталонные слайды) под соответствующими названиями.

Мастер калибровки проведет вас через процесс подбора подходящего профиля для последующих изменений. Каждый вариант сопровождается выбором отдельных опций. Чтобы выбрать необходимую опцию, дважды щелкните по ней кнопкой мыши либо отметьте ее и нажмите кнопку **Next** (Далее) внизу окна.

По завершении мастера выбранный профиль из пула профилей будет скопирован в доступную пользователю папку. В ней можно выбрать профиль в качестве профиля сканирования. В последнем шаге можно изменить имя профиля и активировать опцию, которая запустит **мастер создания профиля сканирования** (Scan Profile Wizard) сразу после **мастера быстрого выбора профиля сканирования** (Smart Scan Profile Selection).

Затем профиль можно изменить с помощью мастера создания профиля сканирования (**Scan Profile Wizard**) или расширенного мастера создания профиля сканирования (**Advanced Scan Profile Wizard**).

Эталонные слайды

Мастер содержит раздел под названием **Reference slides** (Эталонные слайды). Этот раздел содержит семь предустановленных профилей. Пять из них используются для контроля качества.

На заводе просканированы два образца (если система имеет опцию **Polarization** (Поляризация) — три образца):

- 1 **BF 20x** -> Образец BF 03 (почка крысы; гематоксилин-эозин) из набора светлостольных образцов (**474032-9010-000**) при увеличении 20х (если система снабжена объективом 20х);
- 2 **BF 40x** -> Образец BF 03 (почка крысы; гематоксилин-эозин) из набора светлостольных образцов (**474032-9010-000**) при увеличении 40х (если система снабжена объективом 40х);
- 3 **FL 20x** -> FluoCells® подготовленный слайд № 3 (почка мыши; F-24630) при увеличении 20х (если система снабжена объективом 20х и флуоресценцией);
- 4 **FL 40x** -> FluoCells® подготовленный слайд № 3 (почка мыши; F-24630) при увеличении 40х (если система снабжена объективом 40х и флуоресценцией);
- 5 **Polarization 20x** -> Образец POL 01 (коленный сустав крысы; Сириус красный) из набора поляризационных образцов (**474032-9020-000**) при увеличении 20х (если система снабжена поляризацией).

Таким образом, вышеуказанные образцы можно сканировать без внесения изменений в эти профили. Оставшиеся два профиля предназначены для специальных целей, касающихся коррекции равномерности освещения для флуоресценции (более подробно см. разделы 4.8 [► 510] и 4.9 [► 512]).

19.1.3.3**Мастер создания профиля сканирования (онлайнный)**

В мастере создания профиля сканирования (Scan Profile Wizard) можно изменять настройки существующих профилей сканирования.



Рисунок 19.4. Мастер создания профиля сканирования

Возможно редактирование следующих настроек:

Настройки светлопольных профилей

- Определение расчетной сетки, если сетка является частью профиля.
- Считывание штрихкодов.
- Функция OCR (Оптическое распознавание символов).
- Выбор сканирующего объектива.
- Настройка интенсивности и длительности вспышки.
- Параметры серии срезов по оси Z (включая автоматическое определение числа срезов и интервала по толщине образца).
- EDF (увеличенная глубина резкости).

Настройки флуоресцентных профилей

- Определение расчетной сетки, если сетка является частью профиля.
- Считывание штрихкодов.
- Функция OCR (Оптическое распознавание символов).
- Выбор сканирующего объектива.
- Включение/отключение каналов.
- Определение канала сшивки.
- Настройка времени экспозиции.
- Настройка значений интенсивности источника света.
- Параметры серии срезов по оси Z (включая автоматическое определение числа срезов и интервала по толщине образца).

- EDF (увеличенная глубина резкости).

19.1.3.4 Расширенный мастер создания профиля сканирования (онлайнный)

Это онлайнный мастер, таким образом, если кювета со слайдом еще не размещена на столике, система извлечет ее из кассеты. Система будет непрерывно транслировать живое изображение с соответствующих камер (камеры предварительного просмотра / камеры сканирования), перемещая при этом слайд в соответствии с командами оператора.

Этот режим важен, если требуется отрегулировать такие настройки, как время экспозиции и области интереса, а также метки и области предварительного просмотра. Это означает, что вы будете работать с реальным стеклянным слайдом. В то же время этот режим может занимать много времени, поскольку приходится перемещать реальный стеклянный слайд. Если необходимо изменить настройки, которые не связаны непосредственно с живым изображением, можно использовать **автономный расширенный мастер создания профиля** (Advanced Profile Wizard).

Так как настройки флуоресцентного и светлопольного профилей в этом мастере отличаются, их описания приводятся в двух разделах.

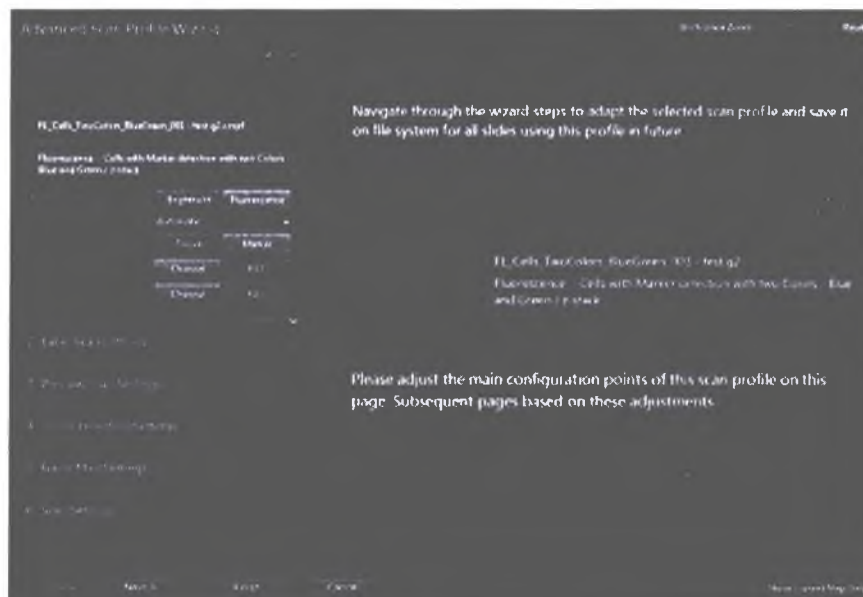


Рисунок 19.5. Расширенный мастер создания профиля сканирования

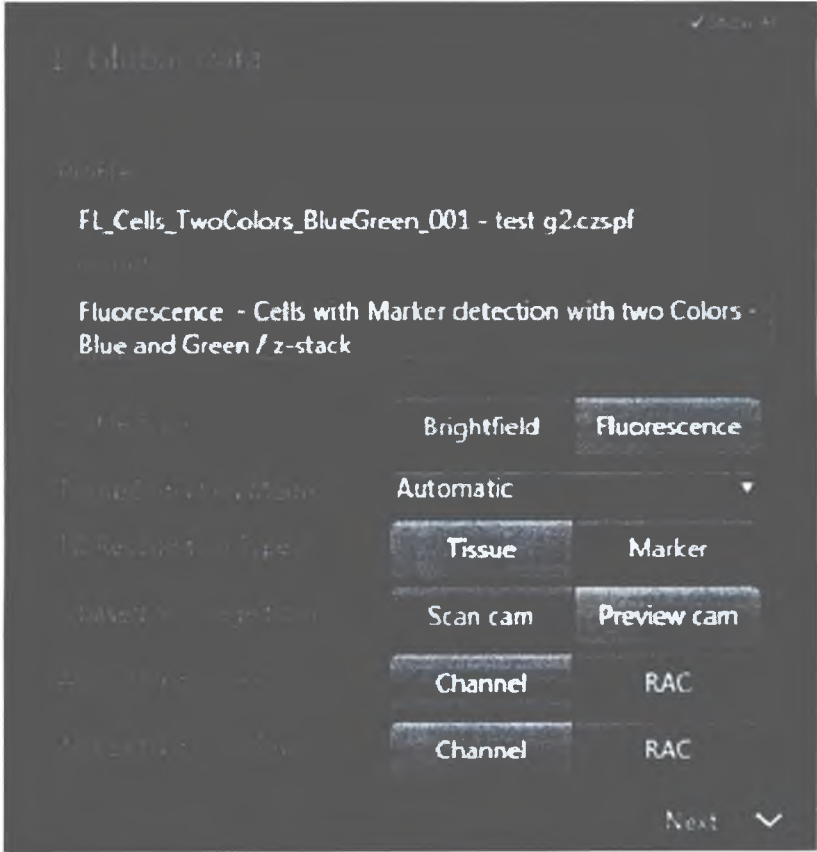
19.1.3.4.1 **Настройки флуоресцентных профилей**

19.1.3.4.1.1 **Глобальные данные**

i **Примечание**

Для доступа ко всем функциям и свойствам, описанным в этом разделе, необходимо включить режим **Show All** (Показать все), установив флажок в верхнем правом углу левой области инструментов.

В разделе Global Data (Глобальные данные) можно определить глобальные настройки профиля сканирования. Глобальные настройки автоматически определяют работу мастера и последовательность операций.



Параметр	Описание
Profile (Профиль)	Отображает имя выбранного профиля сканирования. Здесь имя отредактировать нельзя.
Описание	Отображает описание профиля сканирования. Имя профиля содержит ограниченную информацию, здесь можно ввести дополнительные данные, выделив наиболее важные настройки профиля (например, увеличение/настройки серии срезов по оси Z/настройки карты фокусировки).

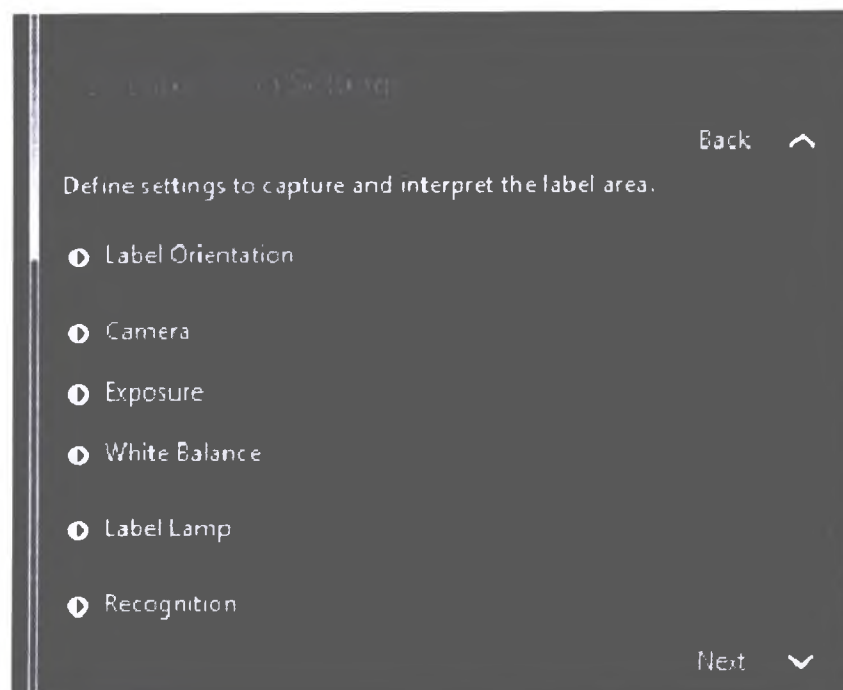
Параметр	Описание
Profile Type (Тип профиля)	Здесь можно выбрать либо светлопольный (Brightfield), либо флуоресцентный (Fluorescence) тип профиля. Если выбран светлопольный профиль, настройки контрастной автофокусировки (AF Contrast Type) отображаться не будут.
Tissue Detection Mode (Режим обнаружения тканей)	Здесь выбирается тип обнаружения тканей. Пользователю доступны три режима:
- Automatic (Автоматический)	В этом режиме система обнаруживает ткани автоматически. Это наиболее используемый режим (наряду с Marker (Маркер)), поскольку он не зависит от вида образца и его подготовки.
- Interactive (Интерактивный)	Если запущен пакетный файл, система приостанавливает процесс и ожидает ввода данных ручного определения областей интереса. Поскольку система приостанавливает процесс сканирования до завершения обмена данными, эту функцию следует использовать очень внимательно.
- Manually (Вручную)	В этом режиме в следующем шаге мастера можно вручную определить область интереса для сканирования или расчетную сетку. Выбирайте этот режим, только если необходимо выбрать поднабор тканей на слайде (в случае если ткань едва заметна), система не может достоверно обнаружить образец или образец имеет регулярную структуру на слайде. Если вы используете данную функцию, то на всех слайдах профиля определенные области будут одинаковыми; таким образом, функция может применяться только при фиксированной области сканирования (например, мазки Папаниколау).
TD Recognition Type (Тип распознавания тканей)	Функция недоступна, если включен ручной режим обнаружения тканей . Здесь необходимо выбрать между обнаружением тканей по пороговым величинам (Tissue) и использованием маркера (Marker) для обведения образца вручную на лицевой стороне реального слайда. В этом случае пороговое значение будет использоваться для обнаружения маркера. Все, что находится внутри этого маркера, будет отсканировано.
- Marker (Маркер)	При выборе этого параметра система выполнит сканирование просмотра с помощью отдельной камеры предварительного просмотра.
- Tissue (Ткань)	

Параметр	Описание
	Позволяет определить для опции based on image from (на основе изображения с) камеру, с которой поступает входное изображение: Preview cam (Камера предварительного просмотра) Создает изображение с помощью камеры предварительного просмотра. Этот режим создает изображения с низким разрешением, специальные методы контрастирования не используются. Рекомендуем использовать этот режим, если образец четко виден на слайде (например, при очень толстом образце). Scan cam (Камера сканирования) Создает изображение с помощью камеры сканирования и выбранного объектива с контрастированием с помощью круговой апертуры (RAC). Рекомендуем использовать этот режим, если исследуемый образец едва заметен (т. е. не виден невооруженным глазом).
AF Contrast Type Coarse & Fine (Контрастная грубая и точная автофокусировка)	Параметр доступен только для флуоресцентных профилей. Здесь можно определить тип контрастирования, который будет использоваться для грубой и точной фокусировки.
- Channel (Канал)	Система будет использовать флуоресцентный сигнал для выполнения фокусировки. Наиболее подходит при флуоресцентном контрастирующем окрашивании образца (например, DAPI). Убедитесь, что флуоресцентный краситель равномерно распределен по образцу; это позволит системе обнаружить достаточное число сигналов в точке фокусировки и обеспечит надежную автофокусировку.
- RAC	Система использует контрастирование с помощью круговой апертуры (RAC) для выполнения фокусировки. Рекомендуется при отсутствии флуоресцентного контрастирующего окрашивания и (или) крайней подверженности флуорофоров к обесцвечиванию. Он также предпочтителен при визуализации образца с помощью метода светлопольного контрастирования. Это означает, что при использовании данного метода контрастирования визуализация распластывания клеток не возможна.

19.1.3.4.1.2

Настройки сканирования этикеток

В разделе Label Scan Settings (Настройки сканирования этикеток) можно выбрать параметры захвата области этикетки.



Область интереса в области этикетки обозначается красным прямоугольником на живом изображении. Вы можете произвольно изменять размер и положение фрейма для совмещения с этикеткой используемого слайда. Захват области этикетки выполняется с помощью отраженного света и отдельной камеры (**AxioCam IC**).

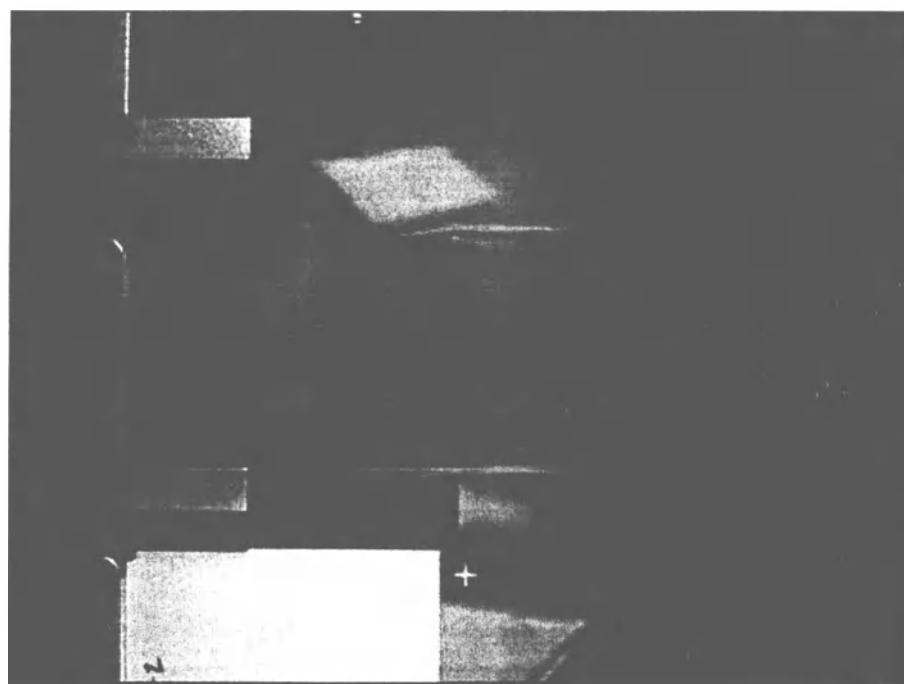
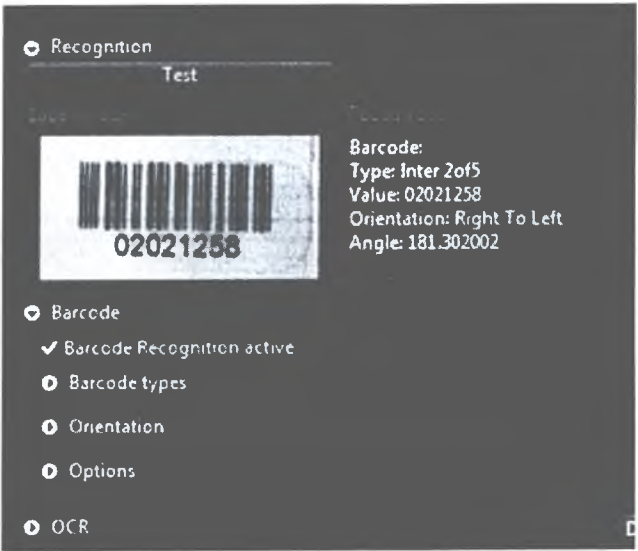


Рисунок 19.6. Область этикетки слайда (красный прямоугольник)

i Примечание

Дополнительная регулировка настроек камеры и (или) источников света обычно не требуется, поскольку эти заводские настройки по умолчанию должны быть оптимальными. По этой причине подробное описание этих настроек (**Camera** (Камера), **Exposure** (Экспозиция), **White Balance** (Баланс белого) и **Label Lamp** (Лампа этикетирования)) в данном разделе не приводится.

Параметр	Описание
Label Orientation (Ориентация этикетки)	Здесь настраивается выравнивание этикетки на слайде. Изображение этикетки можно поворачивать на 90° по часовой стрелке (CW) или использовать исходную ориентацию (Original). Выбор параметра Use Barcode Orientation (Использовать ориентацию штрихкода) подразумевает наличие на слайде стикера со штрихкодом. В таком случае программное обеспечение определит ориентацию штрихкода и применит ее к ориентации области этикетки используемого слайда. Для использования этой функции необходимо снабдить слайд этикеткой со штрихкодом и в разделе Recognition (Распознавание) включить опцию Barcode Recognition active (Распознавание штрихкода активировано). Вы также можете изменить ориентацию позднее в программном обеспечении во время просмотра слайдов. Если на всех слайдах этикетка повернута, рекомендуется изменить ориентацию этикеток в этом разделе.
Recognition (Распознавание)	Здесь можно проверить распознавание штрихкода или символов. Если нажать на кнопку Test (Проверить), система отобразит область интереса с заданной ориентацией и выполнит распознавание штрихкода или OCR. Результат отобразится в поле Recognized (Распознано).



Параметр	Описание
Barcode (Штрихкод)	Если установлен флажок Barcode Recognition active (Распознавание штрихкода активировано), система распознает штрихкод и сохранит информацию штрихкода в виде метаданных в изображении. Если требуется использовать информацию штрихкода в имени изображения, необходимо применить автоматическое именование и с помощью ключевого слова "RecognizedCode (%N)" сделать штрихкод частью имени изображения. По умолчанию система проверяет все используемые типы штрихкодов и все ориентации. Необязательно определять особый штрихкод. Если этикетка содержит два и более штрихкодов разного типа, рекомендуем указывать конкретный тип искомого штрихкода. Для активации определенного штрихкода откройте расширитель Barcode types (Типы штрихкодов) и активируйте только штрихкод, который необходимо считать.
OCR (Оптическое распознавание символов)	Обратите внимание, что функция OCR работает только с английским текстом. Наилучшим образом функция работает с отчетливо напечатанными числами и (или) буквами. Рекомендуем использовать OCR_A или OCR_B в качестве шрифтов для OCR. Не рекомендуем использовать в тексте нижние подчеркивания (_) или специальные символы. Для оптимизации качества распознавания можно выбирать разные опции, но подойти должен и стандартный параметр. Печатный текст должен иметь очень точную ориентацию. Наклон текста после выполнения ориентации изображения должен быть минимальным.

Примечание

Вы можете настроить кривую отображения (см. вкладку **Display** (Отображение) в нижней части окна). Настройки отображения сохраняются в профиле. Они также влияют на отображение этикетки в окне **Magazine** (Кассета).

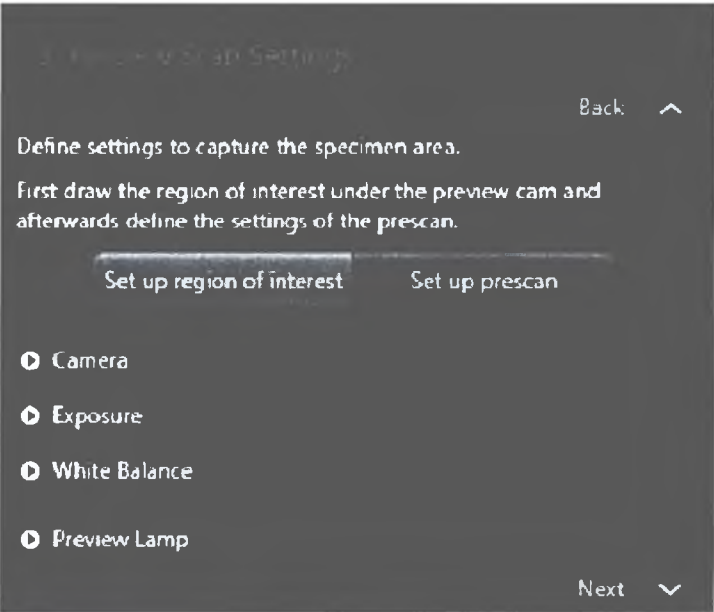
19.1.3.4.1.3

Настройки сканирования просмотра

Вид и функции пользовательского интерфейса изменяются в зависимости от настроек раздела **Global Data** (Глобальные данные). В следующих двух разделах описываются две наиболее часто используемые настройки сканирования просмотра (Preview Scan Settings) с использованием объектива (предварительного сканирования) или камеры предварительного просмотра (предпросмотра).

19.1.3.4.1.3.1

Сканирование просмотра с использованием объектива (предварительного сканирования)



Необходимые предварительные условия

- В шаге 1 **Global Data** (Глобальные данные) в разделе **Tissue Detection Mode** (Режим обнаружения тканей) должен быть включен либо параметр **Automatic** (Автоматический), либо **Interactive** (Интерактивный).
- В разделе **Tissue Recognition Type** (Тип распознавания ткани) должны быть активированы параметры **Tissue** (Ткань) и **Scan cam** (Камера сканирования) опции **based on image from** (на основе изображения с).

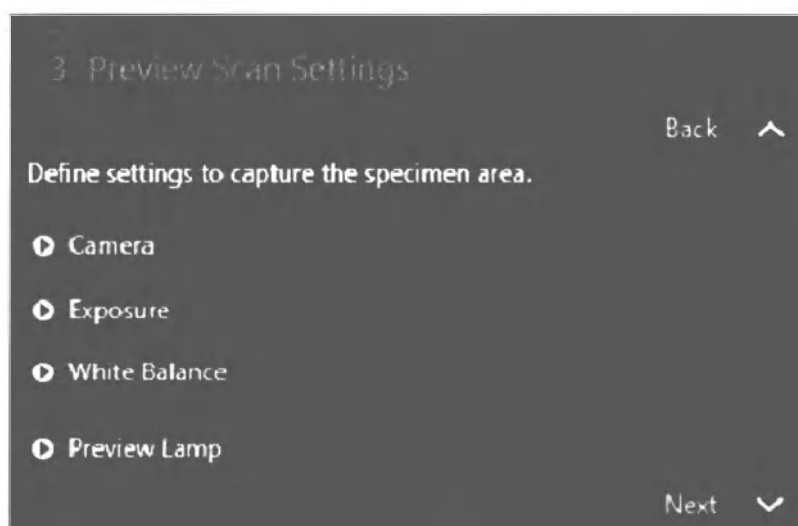
С помощью этих настроек система выполнит сканирование просмотра с использованием сканирующего объектива (известного как объектив предварительного просмотра), а также выполнит **грубую фокусировку**. Пользователю доступны следующие параметры:

Параметр	Описание
Set up region of interest (Настройка области интереса)	После нажатия на эту кнопку вы можете использовать центральную область экрана для настройки области предварительного сканирования, изменяя позицию и размер красного фрейма области предварительного сканирования. Так как предварительное сканирование занимает намного больше времени, чем предпросмотр, рекомендуем выбрать сравнительно небольшие области.
Set up prescan (Настройка предварительного сканирования)	Позволяет настроить метод сканирования области интереса с помощью функции предварительного сканирования. Можно выбрать либо RAC, либо флуоресценцию (канал). Эти настройки зависят от настроек грубой фокусировки (Coarse Focus) в разделе Global Data (Глобальные данные). Если для грубой фокусировки задан параметр RAC , предварительное сканирование выполняется с использованием метода RAC ; если задан параметр Channel (Канал), предварительное сканирование выполняется с использованием флуоресцентного сигнала.

Параметр	Описание
	Этот принцип основан на связи предварительного сканирования с грубой фокусировкой. Для выполнения сфокусированного предварительного сканирования системе необходима автофокусировка. Поскольку автофокусировка уже выполнена с помощью предварительного сканирования, то нет необходимости выполнять следующие шаги по грубой фокусировке. По этой причине грубая фокусировка будет отключена в настройках карты фокусировки (Focus Map Settings), если включено предварительное сканирование. Здесь задаются параметры получения изображения для предварительного сканирования и настройки серии срезов по оси Z (для автофокусировки). Поскольку процесс создания параметров получения изображений аналогичен процессу установки настроек фокусировки, для получения более подробной информации см. раздел настроек фокусировки.
Настройки камеры (Camera (Камера), Exposure (Экспозиция), White Balance (Баланс белого))	Здесь можно регулировать настройки камеры и освещения. Однако мы не рекомендуем изменять эти параметры, чтобы гарантировать получение воспроизводимых результатов. Настройки камеры описываются в соответствующих разделах интерактивной справки ZEN. Изменить камеру просмотра нельзя, потому что это постоянный параметр.
Preview lamp (Лампа просмотра)	Здесь можно отрегулировать интенсивность лампы просмотра для области образца (проходящий свет). Настоятельно рекомендуем не изменять установленное значение.

19.1.3.4.1.3.2

Сканирование просмотра с камерой просмотра



Необходимые предварительные условия

■ В шаге 1 **Global Data** (Глобальные данные) в разделе **Tissue Detection Mode** (Режим обнаружения тканей) должен быть включен либо параметр **Automatic** (Автоматический), либо **Interactive** (Интерактивный).

■ В разделе **Tissue Recognition Type** (Тип распознавания ткани) следует нажать на кнопки **Tissue** (Ткань) и **Preview cam** (Камера просмотра) опции **based on image from** (на основе изображения с).

Или:

■ В шаге 1 **Global Data** (Глобальные данные) в разделе **Tissue Detection Mode** (Режим обнаружения тканей) должен быть включен параметр **Manually** (Вручную).

■ В разделе **Tissue Recognition Type** (Тип распознавания ткани) следует нажать на кнопку **Marker** (Маркер).

Во всех случаях система выполняет предварительный просмотр с помощью отдельной камеры просмотра и создает изображение просмотра (предварительного просмотра) посредством моментального снимка.

Параметр	Описание
Camera (Камера), Exposure (Экспозиция), White Balance (Баланс белого)	Здесь можно регулировать настройки камеры и освещения. Однако мы не рекомендуем изменять эти параметры, чтобы гарантировать получение воспроизводимых результатов. Так как элементы управления аналогичны стандартным элементам управления ZEN, более подробно см. соответствующие разделы интерактивной справки ZEN. Изменить камеру просмотра (опция Camera) нельзя, так как это постоянный параметр.
Preview lamp (Лампа просмотра)	Здесь можно отрегулировать интенсивность лампы просмотра для области образца (проходящий свет). Настоятельно рекомендуем не изменять установленное значение.

19.1.3.4.1.4 Настройки обнаружения тканей

Вид настроек обнаружения тканей (Tissue Detection Settings) зависит от настроек, сделанных в первом шаге мастера в разделе **Global Data** (Глобальные данные). В следующих разделах описываются четыре возможных варианта настроек.

Примечание

Вы можете реализовать собственный алгоритм обнаружения тканей и интегрировать его в рабочий процесс, более подробно см. раздел *Реализация собственного алгоритма обнаружения тканей* ► 505].

- 19.1.3.4.1.4.1 Вариант А. Автоматический режим / На основе порогового значения**
- Необходимые предварительные условия ■ Если в шаге 1 **Global Data** (Глобальные данные) в разделе **Tissue Detection Mode** (Режим обнаружения тканей) вы выбрали опцию **Automatic** (Автоматически), а
- в разделе **TD Recognition Type** (Тип распознавания ткани) нажали кнопку **Tissue** (Ткань), настройки обнаружения тканей имеют следующий вид:

4. Slidescan Detection Settings

Back ^

Define settings to detect the region to be scanned within the specimen area.

Mode: Automatic

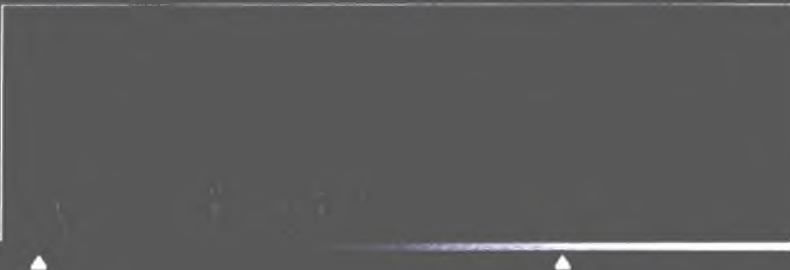
Method: Threshold based

Test ☒ Live update

Settings ☐ ☐

Region minimum size: 600

Specimen:



☒ Automatic

Min. region size: 3.25

Area border dilate: 10

Overlap peak ratio: 2.5

Max elongation: 8

Sort order: Right Left Top Bottom

Область интереса для обнаружения тканей

Примечание

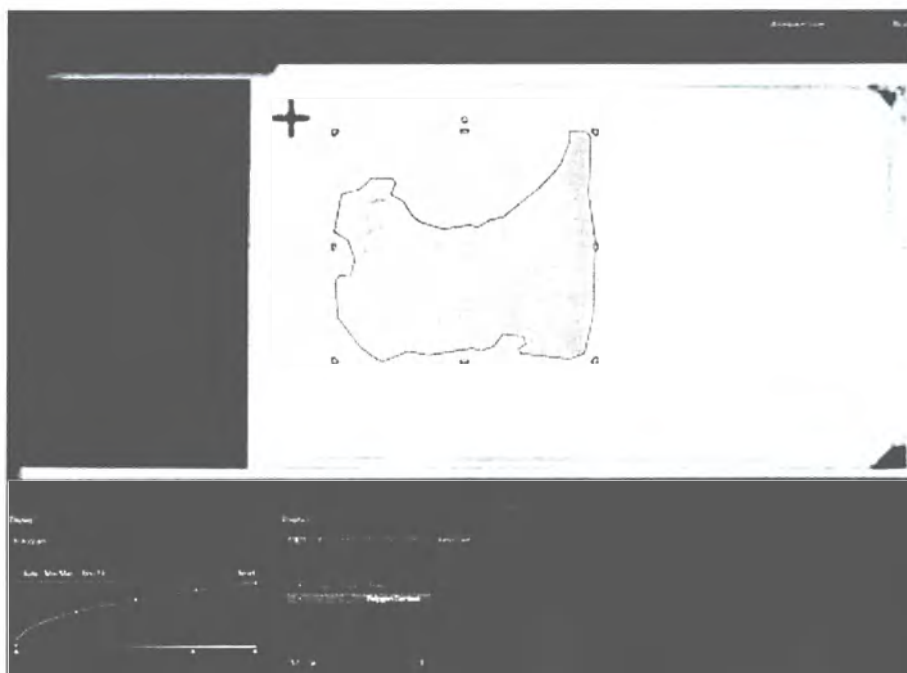
Если вы создали собственные области, убедитесь, что они содержат ткани. Пустая область может привести к созданию неточной карты фокусировки, так как программное обеспечение будет использовать всю начерченную область для создания стратегии распределения точек фокусировки.

Красный прямоугольник на живом изображении в **центральной области экрана** представляет собой область интереса для обнаружения тканей. Сканируются только области, находящиеся внутри области интереса. Остальные области, расположенные вне области интереса и (или) соприкасающиеся с ней, игнорируются. Чтобы изменить размер области интереса, необходимо скорректировать размер красного прямоугольника.

Примечание

Если два или несколько объектов расположены очень близко друг к другу и поэтому выглядят как один объект, возможно, имеет смысл разделить эти объекты с помощью функции **Split** (Разделение), доступной в контекстном меню после нажатия правой кнопкой мыши.

Если нажать на кнопку **Test** (Тест), программное обеспечение выполнит введенные параметры и отобразит результаты в средней области окна. Обнаруженные объекты (каждый объект — это единичная сцена) будут обозначены зеленой границей.



Все объекты перечислены во вкладке **Graphics** (Графические элементы). Вы можете удалять объекты и добавлять новые. Однако результат будет действителен только для данного слайда.

Чтобы активировать непрерывное обновление данных, установите флажок **Live update** (Автоматическое обновление). Обратите внимание, что после изменения параметра обновление может занять несколько секунд. Ниже приведено описание основных параметров этого шага:

Параметр	Описание
Mode & Method (Режим и метод)	Здесь отображается режим и метод обнаружения тканей, выбранные в разделе Global Data (Глобальные данные).
Region dilation size (Величина расширения области)	Здесь можно ввести расстояние от обнаруженной ткани до обрамляющей ее границы.

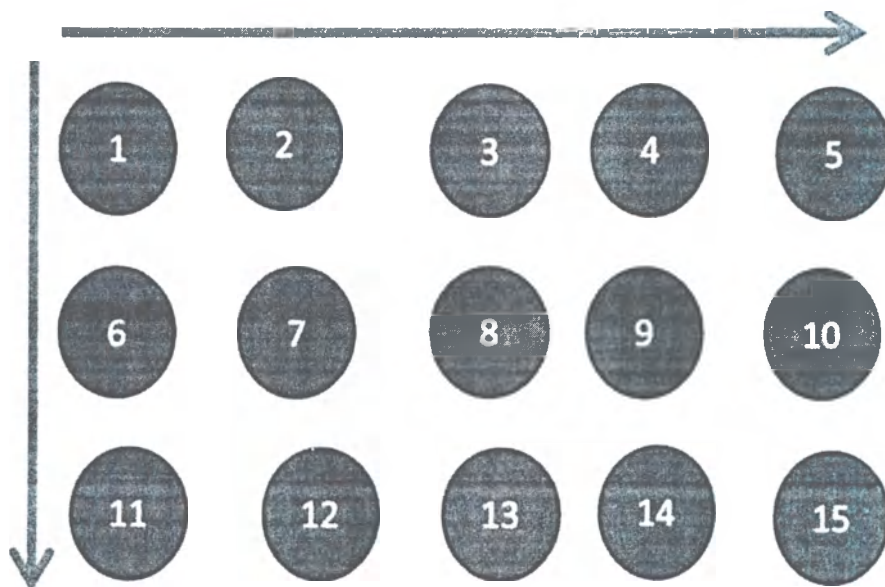
Параметр	Описание
Specimen (Образец)	Здесь пороговые величины определяют верхнюю и нижнюю границы образца. Чтобы перемещать границы вверх и вниз, щелкните по одной из них и нажмите правую кнопку мыши. Если режим Live update (Автоматическое обновление) включен, результат будет отображаться с определенной задержкой слева от центра экрана. Верхняя граница (правая сторона) — это граница светлых красителей, а нижняя граница (левая сторона) — это граница влияния на темные красители. Таким образом, при перемещении правой стороны вправо выделяются светлые красители. При перемещении левой стороны влево выделяются темные красители.
Min region size (Мин. размер области)	Здесь можно ввести минимальный размер области сканирования. Система не будет обнаруживать области, если они меньше установленного значения.
Air border dilate (Величина расширения воздушной границы)	Воздушная граница — это граница вокруг реального стеклянного слайда, т. е. пространство за пределами стеклянного слайда, ограниченное красным фреймом. Это значение определяет степень расширения воздушной границы. Все, что находится внутри этой расширенной воздушной границы, не будет распознано как ткань/маркер. Этот параметр гарантирует, что края слайда и покровного стекла не будут определены как области, подлежащие сканированию.
Over the peak factor (Над пик-фактором)	Этот параметр отображается, только если установлен флажок Automatic (Автоматически). Он определяет расстояние между пиком стеклянного слайда и верхним пороговым значением для обнаружения образца. Таким образом, если установлен флажок Automatic (Автоматически), верхнее значение будет определено автоматически.
Max elongation (Макс. удлинение)	Эта настройка важна при удалении краев покровного стекла. Края покровного стекла представляют собой структуры с большим коэффициентом отношения длинной стороны к короткой. Это означает, что любая структура, у которой соотношение длинной стороны к короткой превышает установленное значение, будет исключена.
Reset (Сброс)	Возвращает настройки к значениям по умолчанию.

Задав соответствующие настройки, вы можете сохранить их нажатием на кнопку **New** (Новый) в **Options** (Опции) раздела **Settings** (Настройки). Вы можете использовать сохраненные настройки в другом профиле, выбрав соответствующий элемент выпадающего списка. Необязательно сохранять эти настройки отдельно, так как они сохраняются в профиле. Их необходимо сохранять только в том случае, если они будут использоваться в другом профиле.

Порядок сортировки В разделе **Sort Order** (Порядок сортировки) вы можете выбрать схему сортировки (нумерации) обнаруженных объектов (областей/сцен). Чтобы применить выбранную схему, нажмите на кнопку **Sort** (Сортировать). Для выбора доступны восемь разных схем. Первый элемент списка (например, Left Right (Слева направо)) осуществляет сортировку по первой схеме, второй элемент списка (например, Top Bottom (Сверху вниз)) — по второй схеме.

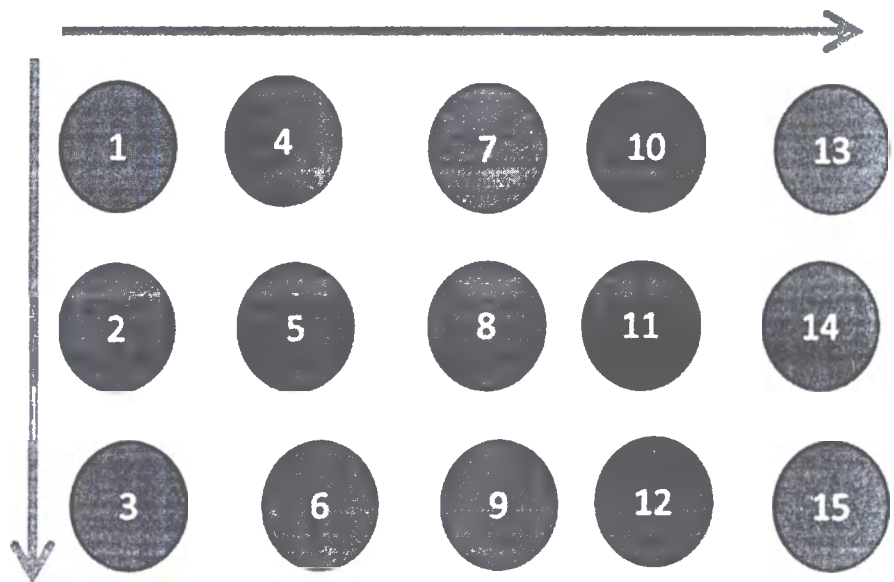
Пример 1. Слева направо / сверху вниз

Первая схема сортировки — слева направо (красная стрелка), вторая схема сортировки — сверху вниз (зеленая стрелка):



Пример 2. Сверху вниз / слева направо

Первая схема сортировки — сверху вниз (красная стрелка), вторая схема сортировки — слева направо (зеленая стрелка):

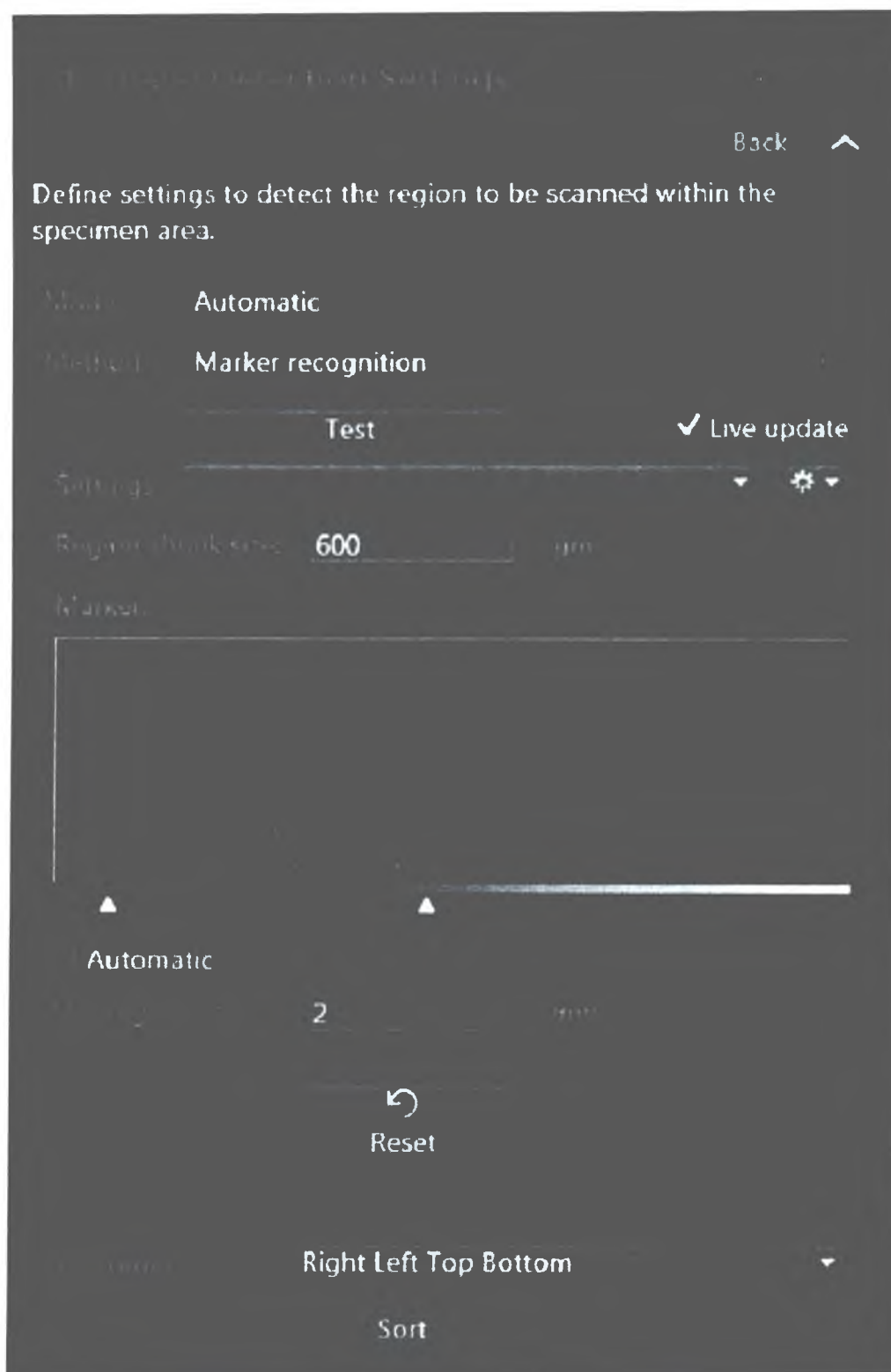


19.1.3.4.1.4.2

Вариант В. Автоматический режим / Распознавание маркера

Необходимые предварительные условия

- Если в шаге 1 **Global Data** (Глобальные данные) в разделе **Tissue Detection Mode** (Режим обнаружения тканей) вы выбрали опцию **Automatic** (Автоматически), а
- в разделе **TD Recognition Type** (Тип распознавания ткани) нажали на кнопку **Marker** (Маркер), настройки обнаружения тканей будут иметь следующий вид:



Настройки ограничиваются пороговой величиной маркера (сопоставимой с пороговой величиной ткани, описанной выше). Единственным дополнительным регулируемым параметром является минимальный размер области (**Min region size**), чья функция аналогична описанной в варианте А.

Обратите внимание, что параметр создания порядка сортировки (**Sort Order**) и кнопка **Sort** (Сортировать) имеют одинаковую функцию, описанную в варианте А.

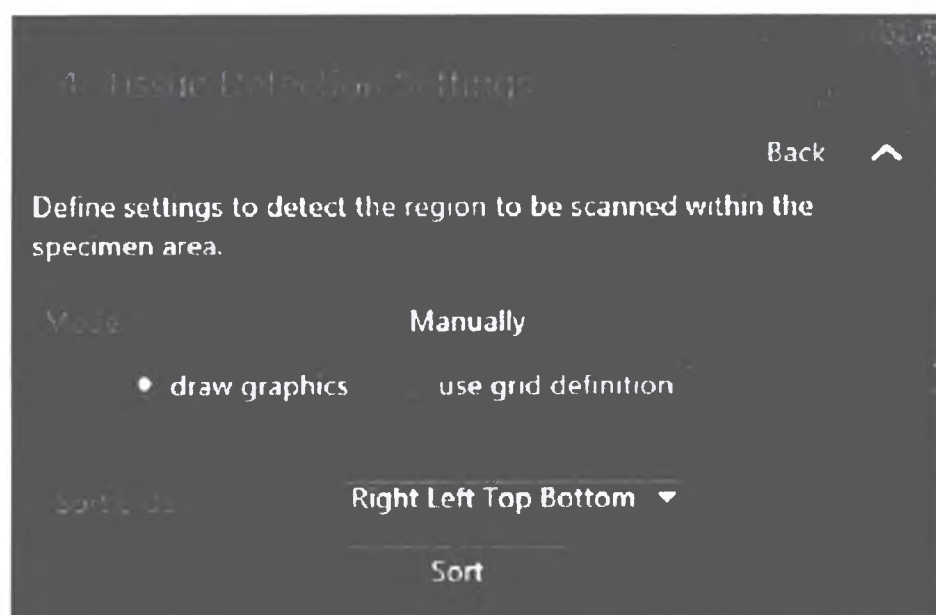
i Примечание

Если вы используете маркер на реальном стеклянном слайде, убедитесь, что выделенные области содержат образцы. Пустая область может привести к созданию неточной карты фокусировки, так как программное обеспечение будет использовать всю отмеченную область для создания стратегии распределения точек фокусировки.

19.1.3.4.1.4.3

Вариант С. Ручной режим / Создание графических элементов**Необходимые предварительные условия**

- Если в шаге 1 **Global Data** (Глобальные данные) в разделе **Tissue Detection Mode** (Режим обнаружения тканей) вы выбрали опцию **Manually** (Вручную), настройки обнаружения тканей будут иметь следующий вид:

**Создание областей обнаружения тканей вручную**

Выбрав опцию **draw graphics** (создать графические элементы), вы можете вручную создавать области внутри области интереса. Для создания областей вы можете использовать инструменты вкладки **Graphics** (Графические элементы) в опциях общего вида **центральной области экрана**. Создание областей в целом аналогично аннотированию изображений в ПО ZEN. Созданные области сохраняются и используются на протяжении всего времени применения профиля, следовательно, эта опция может использоваться только при точном определении областей на слайде (например, мазки Папаниколау).

Обратите внимание, что параметр создания порядка сортировки (**Sort Order**) и кнопка **Sort** (Сортировать) имеют одинаковую функцию, описанную в варианте А.

i Примечание

Если требуется выделить едва заметный образец, для изменения настроек отображения (в частности, посредством корректировки кривой гамма-распределения) можно воспользоваться **кривой отображения** (Display curve) что позволит увидеть даже неокрашенный образец приемлемой толщины.

i Примечание

Вы можете настроить кривую отображения (см. вкладку Display (Отображение) в нижней части окна). Настройки отображения сохраняются в профиле. Они также влияют на отображение этикетки в окне Magazine (Кассета), а также на отображение области образца в окне Magazine (Кассета).

19.1.3.4.1.4.4

Вариант D. Ручной режим / Определение расчетной сетки
Необходимые предварительные условия

- Если в шаге 1 **Global Data** (Глобальные данные) в разделе **Tissue Detection Mode** (Режим обнаружения тканей) вы выбрали опцию **Manually** (Вручную), настройки обнаружения тканей будут иметь следующий вид:

Tissue Detection Mode

Back

Define settings to detect the region to be scanned within the specimen area.

Mode: Manually

draw graphics: ☒ use grid definition

Element Types:

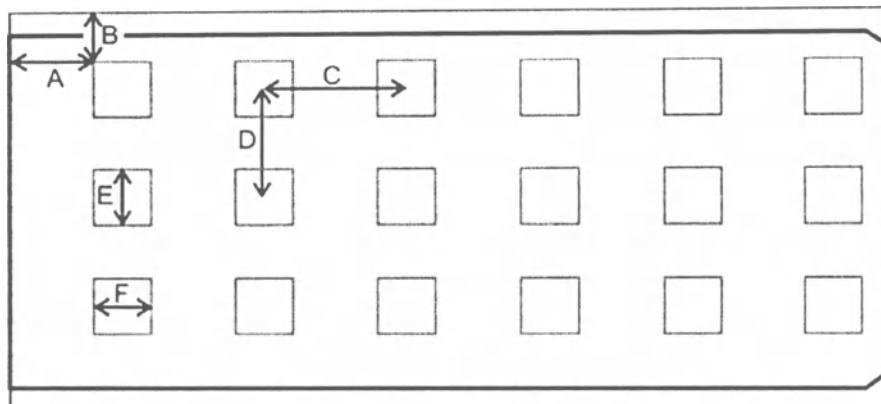
Circle	Rectangle
Element type: 2.0 mm	Element type: 2.0 mm
Distance from origin: 18.0 mm	Distance from origin: 10.0 mm
Relative definition: 6.0 mm	Relative definition: 6.0 mm
Grid definition: 2	Grid definition: 4

Create

Sort: Right Left Top Bottom

Выбрав опцию **use grid definition** (использовать определение расчетной сетки), вы можете определить ее с помощью прямоугольников или окружностей обычного шаблона опции **Element Types** (Типы элементов). Контрольной точкой для данной сетки является верхний правый угол области образца (красный прямоугольник). По ней вы можете определить смещение от верхнего левого угла по оси X (A) и Y (B) в мм, а также шаг сетки по оси X (C) и Y (D).

На основе выбранной геометрической формы (окружность или прямоугольник) вы можете определить радиус или размеры по оси X (F) и по оси Y (E). Число элементов по оси X (в этом примере: 6) и по оси Y (в этом примере: 3) определяет количество элементов.

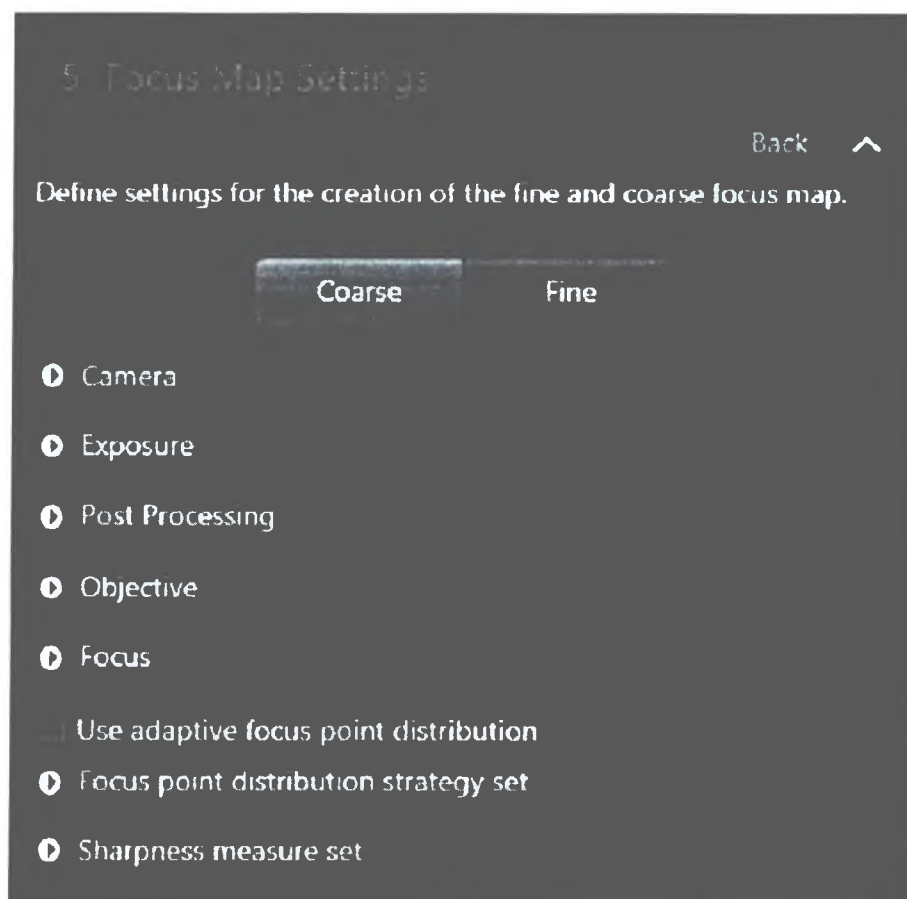


Сетка создается с помощью кнопки **Create** (Создать). Сетка отобразится поверх изображения. Ручная настройка сетки может быть выполнена таким же способом, что и настройка стандартных графических элементов в ПО ZEN.

Обратите внимание, что параметр создания порядка сортировки (**Sort Order**) и кнопка **Sort** (Сортировать) имеют одинаковую функцию, описанную в варианте A.

19.1.3.4.1.5

Настройка карты фокусировки



Соответствующие настройки карты фокусировки (Focus Map Settings) важны для достижения хорошего качества фокусировки по всей площади образца. Карта фокусировки создается в два этапа:

- С помощью объектива с малым увеличением создается карта **грубой** фокусировки. Для карты грубой фокусировки требуется всего несколько точек фокусировки. Для выполнения грубой фокусировки рекомендуем использовать объектив Fluor с увеличением 5х, поскольку смещение между объективом 5х и сканирующим объективом (главным образом 20х) минимально.
- С помощью объектива с большим увеличением (обычно сканирующего объектива) создается карта **точной** фокусировки. В этом случае требуется больше точек фокусировки, число которых обычно определяется плотностью. Карта точной фокусировки составляется на основе карты грубой фокусировки.

Фокусировка не является традиционной автофокусировкой, которая должна точно достичь самой резкой Z-величины. Система получит серию срезов по оси Z (определяемую в следующем шаге) и рассчитает кривую по значению фокусирования (например, значению контраста). Эта кривая используется для определения пикового значения. Это позволяет охватить большой диапазон с сохранением быстрой фокусировки.

Если профиль сконфигурирован так, что включает в себя предварительное сканирование (сканирование с объективом), то **грубая фокусировка** (Coarse focus) отключается, поскольку она выполняется во время предварительного сканирования области интереса.

Так как настройки вкладок **Camera** (Камера), **Exposure** (Экспозиция), **Post Processing** (Постобработка), **Objective** (Объектив) и **Focus** (Фокусировка) описываются в соответствующих разделах интерактивной справки ПО ZEN, далее будут описаны только специальные настройки ZEN slidescan.

Также рекомендуем ознакомиться с нижеуказанными разделами с подробными инструкциями по настройкам фокусировки:

- *Регулировка настроек карты грубой фокусировки (FL) [► 517].*
- *Регулировка настроек карты точной фокусировки (FL) [► 522].*

19.1.3.4.1.5.1

Набор измерения резкости

Параметр	Описание
Basic (Базовый)	Автофокусировка осуществляется на основе контраста, поэтому алгоритм ориентирован на наивысшее значение контраста в серии срезов по оси Z. Это простая, но быстрая автофокусировка.
Best (Наилучший)	Автофокусировка также осуществляется на основе контраста, поэтому алгоритм ориентирован на наивысшее значение контраста в серии срезов по оси Z. Данный тип фокусировки несколько медленнее, чем Basic (Базовый), но точнее для определенных образцов. Обратите внимание, что Best (Наилучший) не всегда означает, что этот алгоритм лучше, чем Basic (Базовый), поскольку зависит от вида ткани/образца.

Параметр	Описание
FFT	Эта настройка автофокусировки использует алгоритм преобразования Фурье, определяющий наилучшее значение фокусировки. Этот алгоритм медленнее остальных алгоритмов и должен использоваться только в случаях контрастирования с помощью круговой апертуры. Он не подходит для стандартного светлопольного контрастирования или флуоресценции, так как выполняет поиск двух контрастных пиков и локального минимума между ними.
HG 2^8	Это усовершенствованный алгоритм по сравнению с Basic (Базовый) и Best (Наилучший). Этот алгоритм в меньшей степени ориентирован на большие окрашенные структуры и в большей — на малые локальные структуры, а значит, данный алгоритм, например, больше фокусируется на ядрах, чем на неокрашенных структурах (например, красители, используемые в иммуногистохимии). С учетом текущего состояния оценки это означает, что HG2^8 подойдет для автофокусировки, когда необходимо сконцентрироваться на ядрах. Недостаток: увеличивается масса загрязнений, из-за чего данный алгоритм следует использовать только для точной, а не грубой фокусировки.
Contrast Power (Степень контрастирования)	Этот алгоритм сопоставим с алгоритмом HG 2^8.

19.1.3.4.1.5.2

Набор стратегий распределения точек фокусировки

i Примечание

Набор стратегий распределения точек фокусировки применяется к каждой сцене, т. е. как отдельный обнаруженный объект в каждой сцене. Если выбрать шесть фиксированных точек для грубой фокусировки, программное обеспечение создаст в каждой сцене шесть фокусных точек.

Некоторые **наборы стратегий распределения точек фокусировки** снабжены дополнительной кнопкой-флажком **Prefer border** (Предпочитать границу). Если установить этот флажок, система разместит больше точек фокусировки на границе обнаруженного образца. Это целесообразно в том случае, если граница образца имеет по сравнению с остальными частями объекта близкие фокусные значения.

Если настройка Density (Плотность) является частью **набора стратегий распределения точек фокусировки**, эта величина определяет процентное соотношение сгенерированных точек фокусировки и общего числа мозаик объекта (например, если объект состоит из 2 000 мозаик и этот параметр установлен на 0,1 (= 10%), система сгенерирует 200 фокусных точек). Поскольку для больших объектов создается особенно много фокусных точек (обратите внимание, большое количество фокусных точек не всегда автоматически обеспечивает высокое качество фокусировки), мы рекомендуем определить максимальное количество фокусных точек (**макс. число**).

Если вы используете автоматическое обнаружение тканей и определяете величину расширения границы, система вычитет величину расширения до распределения фокусных точек, исключив тем самым размещение фокусных точек в зоне расширения. Это применимо только к автоматическому обнаружению тканей.

Чтобы гарантировать размещение фокусных точек внутри ткани, система отодвинет фокусные точки от границы на определенное число видимых зон. Это значение корректируется в меню **Tools | Options ... | Acquisition | Axiio Scan | Minimum Margin of focus point distribution in tile(s)** (Инструменты | Опции | вкладка Получение изображений | расширитель Axiio Scan | Минимальный предел при распределении точек фокусировки в мозаиках). Значение по умолчанию — 1. Это обеспечивает очень хорошие результаты при использовании разнообразных образцов. Обратите внимание, что в программном обеспечении ZEN 2012 slidescan и ZEN 2012 slidescan SP2 значением по умолчанию являлось «2» (и постоянным неотображаемым параметром).

Параметр	Описание
Onion skin (Кожица лука)	Это схема плотности фокусировки. Результирующие фокусные точки отображаются в виде слоев кожицы лука, при этом обеспечивается равномерное распределение, а также достаточное количество фокусных точек особенно на границе. Это стандартная настройка карты точной фокусировки. Этот параметр представляет собой плотность со стандартной настройкой 0,1. Это означает, что 10% от общего числа видимых зон используются в качестве точек фокусировки для расчета фокальной поверхности. При использовании больших образцов это число может значительно увеличиться, но большое количество фокусных точек не всегда автоматически гарантирует качественный расчет фокальной поверхности. По этой причине пользователь также может определить максимальное число фокусных точек. Обычно это число находится в диапазоне от 24 до 36 точек. Эта стратегия распределения точек фокусировки рекомендуется для средне- и большеразмерных объектов.

Пример (плотность: 0,1; макс. число: 24):



Every Nth tile (Каждая n-я мозаика)

Система разместит расчетную сетку поверх образца с указанным расстоянием (N) между двумя фокусными точками в полях обзора камеры по оси X и оси Y.

Параметр**Описание**

Это четко определенный метод создания фокусных точек. При создании большого количества фокусных точек потребуется больше времени на создание карты фокусировки. Эта стратегия распределения точек фокусировки рекомендуется для объектов средних и малых размеров.

Пример: (каждая 5-я мозаика):

**Every tile
(Каждая
мозаика)**

Система будет фокусироваться на каждой мозаике. Занимает исключительно много времени при обработке сканов с большим увеличением и (или) больших образцов, однако, обеспечивает наилучшие результаты для крайне неровных образцов.

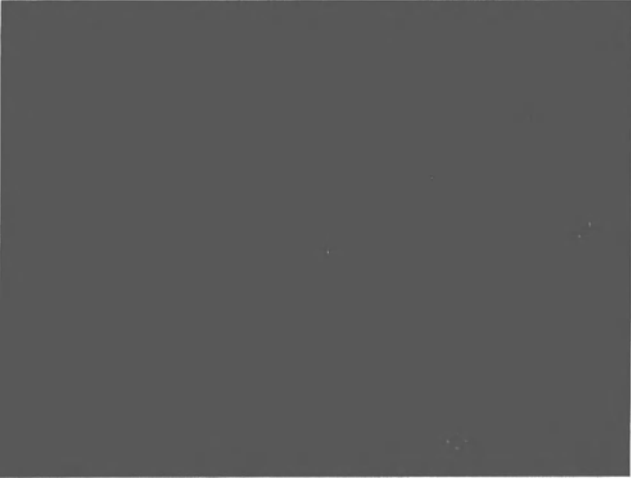
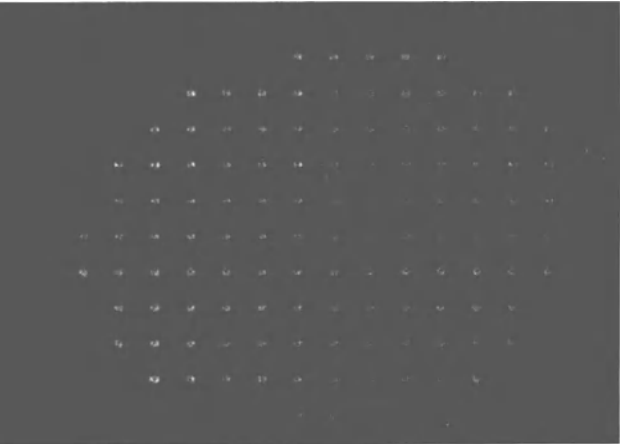
**Number of focus
points (Число
фокусных
точек)**

Здесь пользователь указывает постоянное число фокусных точек на объект (сцену). Настройка по умолчанию для грубой фокусировки составляет шесть фокусных точек на сцену.

Пример ($n = 24$):

**Density
(Плотность)**

Плотность схожа с плотностью «кожицы лука», разница состоит в том, что структура не распределяется аналогично слоям кожицы лука. Распределение по образцу/сцене более равномерно. Эта настройка также может использоваться для

Параметр	Описание
	определения максимального числа фокусных точек. Создание этой карты фокусировки — случайное (как видно из примера), поэтому схема Onion skin (Кожица лука) предпочтительнее, чем Density (Плотность). Пример (плотность: 0,1; макс. число: 24): 
Grid cell size (Размер ячеек расчетной сетки)	Чтобы разместить фокусные точки на фокальной поверхности, данная настройка устанавливает фиксированную расчетную сетку над образцом. Единица измерения – мкм. Эта настройка не зависит от текущего размера фрейма/датчика используемой камеры. Если требуется использовать настройку, которая опирается на размер кристалла камеры, используйте схему Every Nth tile (Каждая n-я мозаика). Пример (1000 мкм 1000 мкм): 
Center of Gravity (Центр тяжести)	Система помещает одну фокусную точку в каждую сцену / объект. Позицией этой фокусной точки является центр тяжести, таким образом, на весь объект приходится только одна фокусная точка. Это полезная настройка для малоразмерных объектов (например, тканевых микропанелей). Обратите внимание, что у определенных структур (например, в форме полумесяца) центр тяжести может находиться за пределами ткани, следовательно, система не имеет точки фокусировки. В таких случаях

Параметр	Описание
	опции Number of focus points (Число фокусных точек) задайте значение «1». Центр тяжести — допустимый параметр (например, для тканевых микропанелей (Tissue Micro Arrays)) для размещения только одной фокусной точки в каждом ядре.

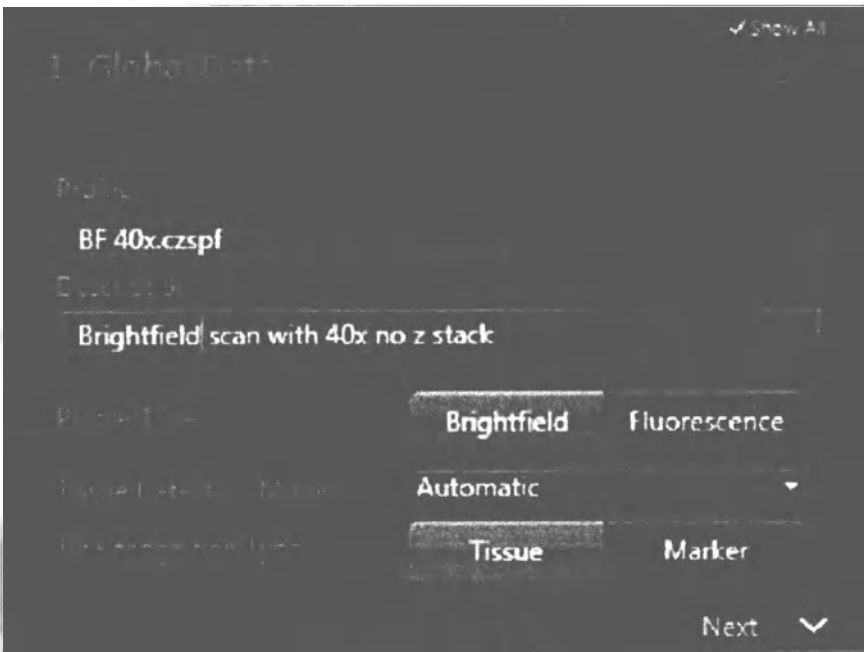
19.1.3.4.1.6 Настройки сканирования



В этом шаге мастера можно регулировать настройки сканирования (Scan Settings). Как регулировать настройки сканирования, написано в разделе «Настройка параметров сканирования для флуоресцентных профилей» [► 528].

19.1.3.4.2 Настройки светлопольных профилей

19.1.3.4.2.1 Глобальные данные



Здесь можно задать глобальные настройки. Глобальные настройки автоматически определяют работу мастера и последовательность операций.

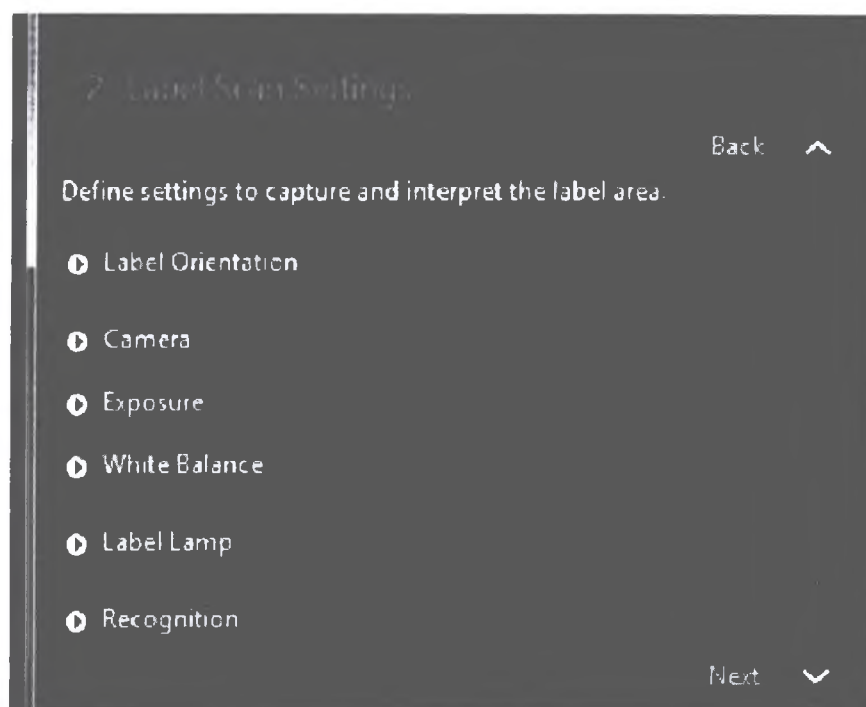
Параметр	Описание
Profile (Профиль)	Отображает имя выбранного профиля сканирования. Здесь имя отредактировать нельзя.
Описание	Отображает описание профиля сканирования. Имя профиля содержит ограниченную информацию, здесь можно ввести дополнительные данные, выделив наиболее важные настройки профиля (например, увеличение/настройки серии срезов по оси Z/настройки карты фокусировки).
Profile Type (Тип профиля)	Здесь можно выбрать либо светлопольный (Brightfield), либо флуоресцентный (Fluorescence) тип профиля. Если выбран светлопольный профиль, настройки контрастной автофокусировки (AF Contrast Type) отображаться не будут.
Tissue Detection Mode (Режим обнаружения тканей)	Здесь выбирается тип обнаружения тканей. Пользователю доступны три режима:
- Automatic (Автоматический)	В этом режиме система обнаруживает ткани автоматически. Это наиболее используемый режим (наряду с Tissue (Ткань)), поскольку он не зависит от вида образца и его подготовки.

Параметр	Описание
- Interactive (Интерактивный)	Если запущен пакетный файл, система приостанавливает процесс и ожидает ввода данных ручного определения областей интереса. Поскольку система приостанавливает процесс сканирования до завершения обмена данными, эту функцию следует использовать очень внимательно.
- Manually (Вручную)	В этом режиме, в следующем шаге мастера, можно вручную определить область интереса для сканирования или расчетную сетку. Выбирайте этот режим, только если необходимо выбрать поднабор тканей на слайде (в случае если ткань едва заметна), система не может достоверно обнаружить образец или образец имеет регулярную структуру на слайде. Если вы используете данную функцию, то на всех слайдах профиля определенные области будут одинаковыми; таким образом, функция может применяться только при фиксированной области сканирования (например, мазки Папаниколау).
TD Recognition Type (Тип распознавания тканей)	Функция недоступна, если включен ручной режим обнаружения тканей . В обоих случаях система выполнит сканирование просмотра с помощью отдельной камеры предварительного просмотра.
- Marker (Маркер)	Используется для обведения образца вручную на лицевой стороне реального слайда. В этом случае пороговое значение будет использоваться для обнаружения маркера. Все, что находится внутри этого маркера, будет отсканировано.
- Tissue (Ткань)	Обнаружение тканей осуществляется по пороговым величинам.

19.1.3.4.2.2

Настройки сканирования этикеток

В разделе Label Scan Settings (Настройки сканирования этикеток) можно выбрать параметры захвата области этикетки.



Область интереса в области этикетки обозначается красным прямоугольником на живом изображении. Вы можете произвольно изменять размер и положение фрейма для совмещения с этикеткой используемого слайда. Захват области этикетки выполняется с помощью отраженного света и отдельной камеры (**AxioCam IC**).

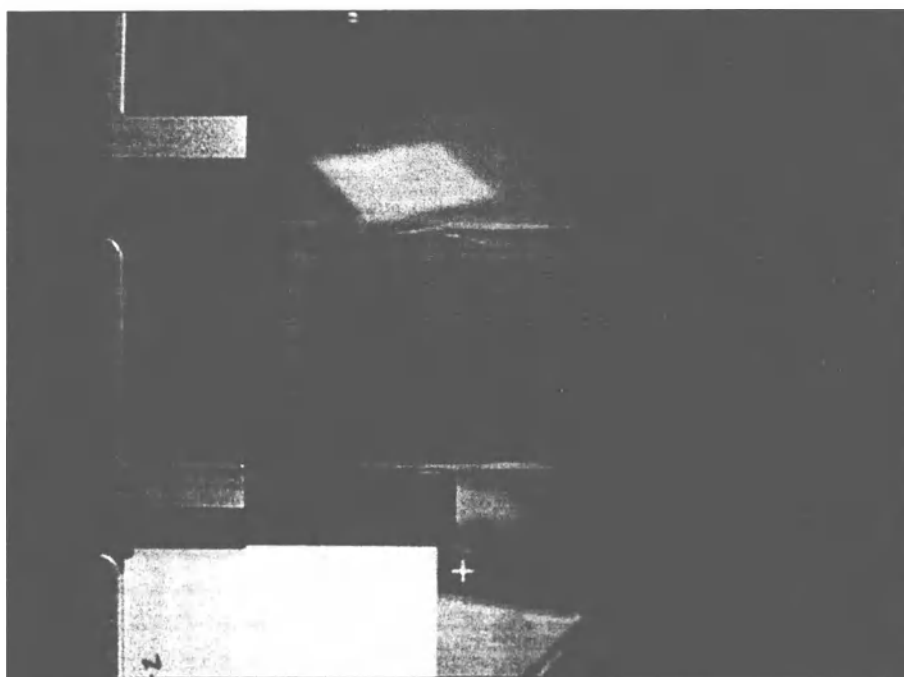
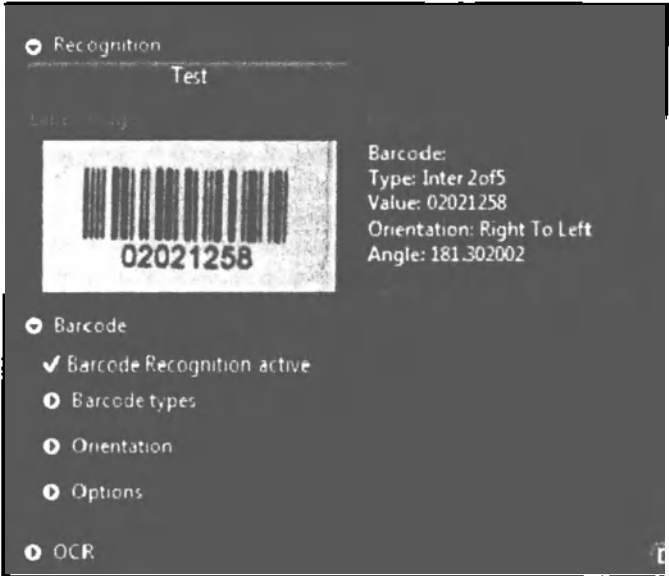


Рисунок 19.7. Область этикетки слайда (красный прямоугольник)

i Примечание

Дополнительная регулировка настроек камеры и (или) источников света обычно не требуется, поскольку эти заводские настройки по умолчанию должны быть оптимальными. По этой причине подробное описание этих настроек (**Camera** (Камера), **Exposure** (Экспозиция), **White Balance** (Баланс белого) и **Label Lamp** (Лампа этикетирования)) в данном разделе не приводится.

Параметр	Описание
Label Orientation (Ориентация этикетки)	Здесь настраивается выравнивание этикетки на слайде. Изображение этикетки можно поворачивать на 90° по часовой стрелке (CW) или использовать исходную ориентацию (Original). Выбор параметра Use Barcode Orientation (Использовать ориентацию штрихкода) подразумевает наличие на слайде стикера со штрихкодом. В таком случае программное обеспечение определит ориентацию штрихкода и применит ее к ориентации области этикетки используемого слайда. Для использования этой функции необходимо снабдить слайд этикеткой со штрихкодом и в разделе Recognition (Распознавание) включить опцию Barcode Recognition active (Распознавание штрихкода активировано). Вы также можете изменить ориентацию позднее в программном обеспечении во время просмотра слайдов. Если на всех слайдах этикетка повернута, рекомендуется изменить ориентацию этикеток в этом разделе.
Recognition (Распознавание)	Здесь можно проверить распознавание штрихкода или символов. Если нажать на кнопку Test (Проверить), система отобразит область интереса с заданной ориентацией и выполнит распознавание штрихкода или OCR. Результат отобразится в поле Recognized (Распознано).

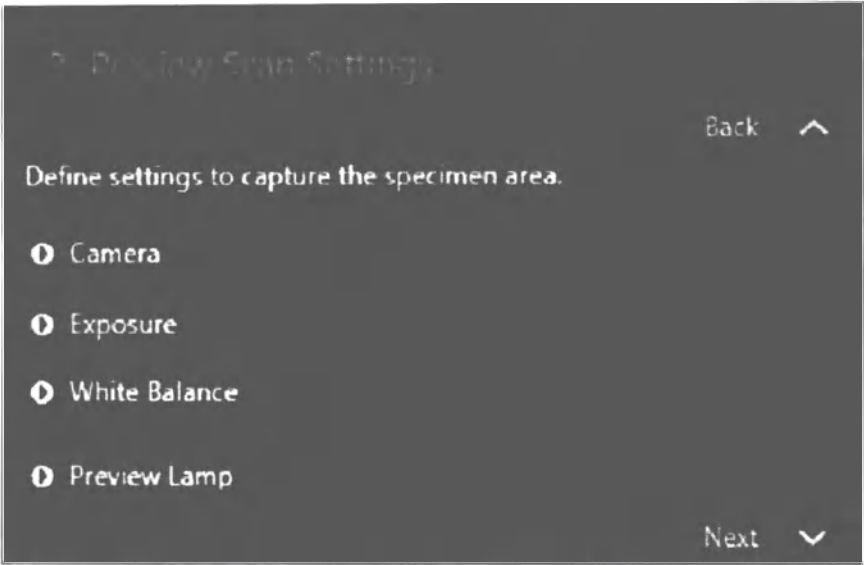


Параметр	Описание
Barcode (Штрихкод)	Если установлен флажок Barcode Recognition active (Распознавание штрихкода активировано), система распознает штрихкод и сохранит информацию штрихкода в виде метаданных в изображении. Если требуется использовать информацию штрихкода в имени изображения, необходимо применить автоматическое именование и с помощью ключевого слова "RecognizedCode (%N)" сделать штрихкод частью имени изображения. По умолчанию система проверяет все используемые типы штрихкодов и все ориентации. Необязательно определять особый штрихкод. Если этикетка содержит два и более штрихкодов разного типа, рекомендуем указывать конкретный тип искомого штрихкода. Для активации определенного штрихкода откройте расширитель Barcode types (Типы штрихкодов) и активируйте только штрихкод, который необходимо считать.
OCR (Оптическое распознавание символов)	Обратите внимание, что функция OCR работает только с английским текстом. Наилучшим образом функция работает с отчетливо напечатанными числами и (или) буквами. Рекомендуем использовать OCR_A или OCR_B в качестве шрифтов для OCR. Не рекомендуем использовать в тексте нижние подчеркивания (_) или специальные символы. Для оптимизации качества распознавания можно выбирать разные опции, но подойти должен и стандартный параметр. Печатный текст должен иметь очень точную ориентацию. Наклон текста после выполнения ориентации изображения должен быть минимальным.

Примечание

Вы можете настроить кривую отображения (см. вкладку **Display** (Отображение) в нижней части окна). Настройки отображения сохраняются в профиле. Они также влияют на отображение этикетки в окне **Magazine** (Кассета).

19.1.3.4.2.3 Настройки сканирования просмотра



Во всех случаях система выполняет предварительный просмотр с помощью отдельной камеры просмотра и создает изображение просмотра с помощью моментального снимка.

Параметр	Описание
Camera (Камера), Exposure (Экспозиция), White Balance (Баланс белого)	Здесь можно регулировать настройки камеры и освещения. Однако мы не рекомендуем изменять эти параметры, чтобы гарантировать получение воспроизводимых результатов. Так как элементы управления аналогичны стандартным элементам управления ZEN, более подробно см. соответствующие разделы интерактивной справки ПО ZEN 2.3 (blue) / инструмент Camera (Камера). Изменить камеру просмотра (опция Camera) нельзя, так как это постоянный параметр. См. также приведенную ниже информацию об оптимальной настройке времени экспозиции.
Preview lamp (лампа просмотра)	Здесь можно отрегулировать интенсивность лампы просмотра для области образца (проходящий свет). Однако менять эту величину не следует, она должна равняться 100%.

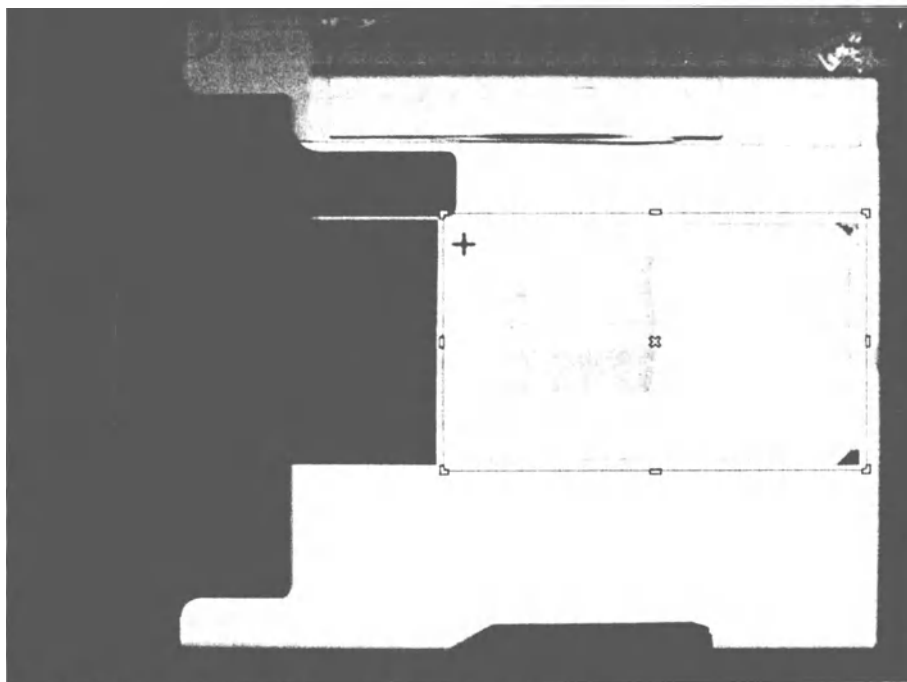
Примечание

Избегайте любого переэкспонирования изображения (особенно за пределами слайда). Переэкспонированное изображение может привести к недостаточной коррекции равномерности освещения. То же самое относится и к слишком тусклым изображениям: здесь переэкспонирование также может привести к недостаточной коррекции равномерности освещения. Во избежание этого установите флажок для наблюдения за переэкспонированием (опция **Range Indicator** (Индикатор экспонирования) в нижней части окна во вкладке **Dimensions**). Регулируйте время экспозиции камеры (расширитель **Exposure** (Экспозиция) и настройка **Time** (Время)), пока не увидите первые красные пиксели, указывающие на переэкспонирование, теперь постепенно уменьшайте время экспозиции на 1 мс до исчезновения красных пикселей. Как только исчезнут красные пиксели, уменьшите время экспозиции еще на 1 мс, чтобы гарантировать отсутствие переэкспонирования.

Примечания по настройке области интереса для изображения просмотра

Важной и необходимой настройкой является определение области интереса (ROI) для изображения предварительного просмотра образца. Система сфотографирует и выполнит захват этой области интереса, после чего применит к ней функцию обнаружения тканей (в случае выбора таковой). Она включает в себя сохраненное и сканированное изображения, а также изображение области этикетки.

Область интереса корректируется в средней части **центральной области экрана** с помощью красного прямоугольника:



Красный прямоугольник корректируется с помощью фрейма.

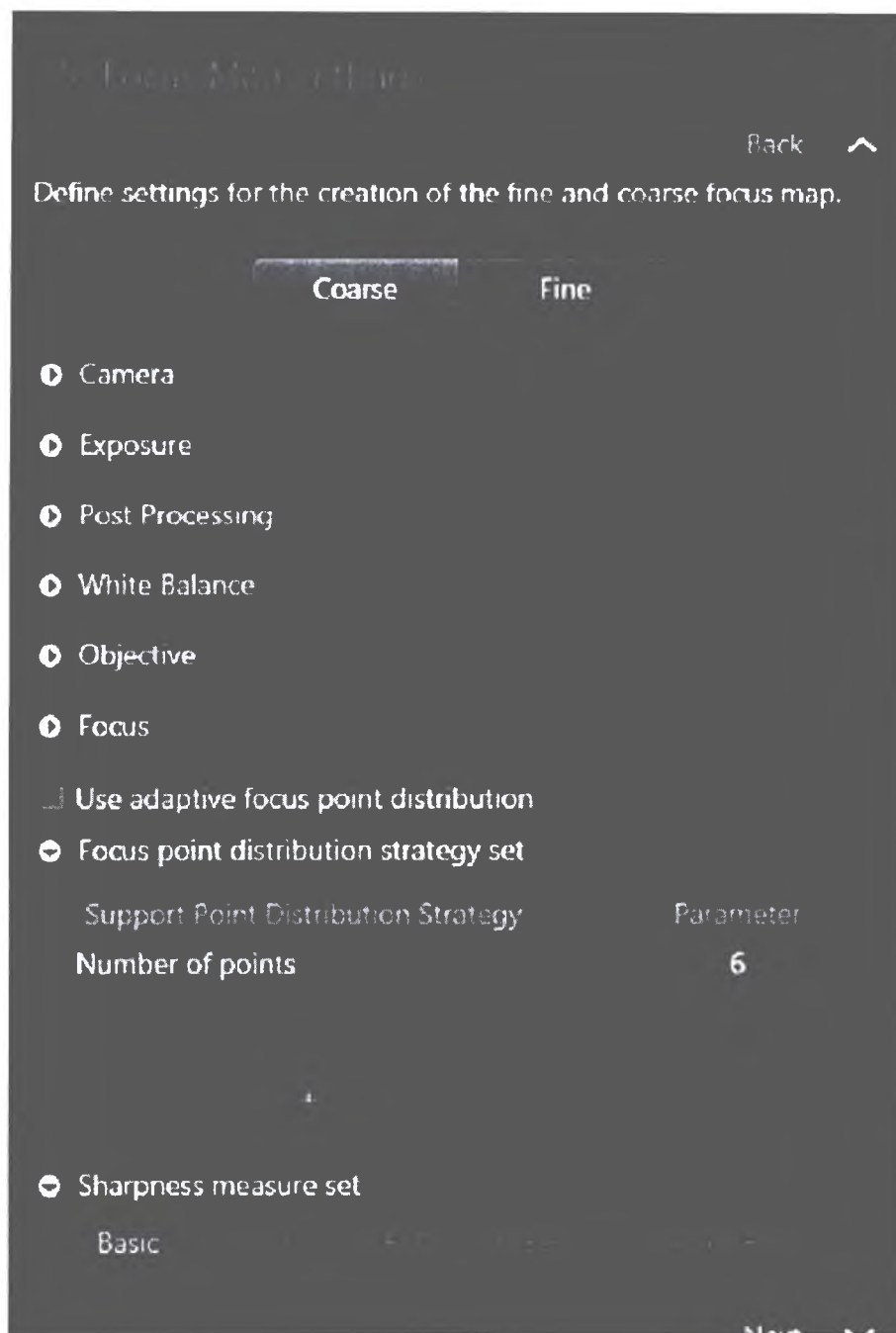
i Примечание

Для достижения наилучших результатов рамка должна покрывать весь слайд и некоторое пространство по периметру. Для обнаружения пустых областей на слайде, для автоматической коррекции равномерности освещения на стекле особенно важно, чтобы красная рамка не была слишком маленькой (например, только вокруг ткани). В противном случае образец может быть принят за пустую область. Это приведет к недостаточной коррекции равномерности освещения. Если требуется ограничить область обнаружения тканей, воспользуйтесь красным фреймом в разделе **Tissue Detection Settings** (Настройки обнаружения тканей) в следующем шаге. Не допускайте того, чтобы красный фрейм затрагивал область этикетки на слайде.

i Примечание

Вы можете настроить кривую отображения (см. вкладку Display (Отображение) в нижней части окна). Настройки отображения сохраняются в профиле! Они также влияют на отображение этикетки в окне Magazine (Кассета), а также на отображение области образца в окне Magazine (Кассета).

19.1.3.4.2.4 Настройка карты фокусировки



Соответствующие настройки карты фокусировки (Focus Map Settings) важны для достижения хорошего качества фокусировки по всей площади образца. Карта фокусировки создается в два этапа:

- С помощью объектива с малым увеличением создается карта **грубой** фокусировки. Для карты грубой фокусировки требуется всего несколько точек фокусировки. Для выполнения **грубой** фокусировки рекомендуем использовать объектив Fluor с увеличением 5х, поскольку смещение между объективом 5х и сканирующим объективом (главным образом 20х) минимально.
- С помощью объектива с большим увеличением (обычно сканирующего объектива) создается карта **точной** фокусировки. В этом случае требуется больше точек фокусировки, число которых обычно определяется плотностью. Карта точной фокусировки составляется на основе карты грубой фокусировки.

Фокусировка не является традиционной автофокусировкой, которая достичь Z-величины при самом резком изображении. Система получит серию срезов по оси Z (определяемую в следующем шаге) и рассчитает кривую по значению фокусирования (например, значению контраста). Эта кривая используется для определения пикового значения. Это позволяет охватить большой диапазон с сохранением быстрой фокусировки.

Так как мы рекомендуем не изменять большинство настроек, здесь мы сосредоточимся на двух важных настройках: **Focus Point Strategy** (Стратегия распределения точек фокусировки) и **Sharpness Measure sets** (Наборы измерения резкости). Подробное описание этих двух настроек приводится в следующем разделе.

Также рекомендуем ознакомиться с нижеуказанными разделами с подробными инструкциями по настройке грубой и точной фокусировки:

- *Регулировка настроек карты грубой фокусировки (BF)* [► 536]
- *Регулировка настроек карты точной фокусировки (BF)* [► 539]

19.1.3.4.2.4.1

Набор стратегий распределения точек фокусировки

і Примечание

Набор стратегий распределения точек фокусировки применяется к каждой сцене, т. е. как отдельный обнаруженный объект в каждой сцене. Если выбрать шесть фиксированных точек для грубой фокусировки, программное обеспечение создаст в каждой сцене шесть фокусных точек.

Некоторые **наборы стратегий распределения точек фокусировки** снабжены дополнительной кнопкой-флажком **Prefer border** (Предпочитать границу). Если установить этот флажок, система разместит больше точек фокусировки на границе обнаруженного образца. Это целесообразно в том случае, если граница образца имеет по сравнению с остальными частями объекта близкие фокусные значения.

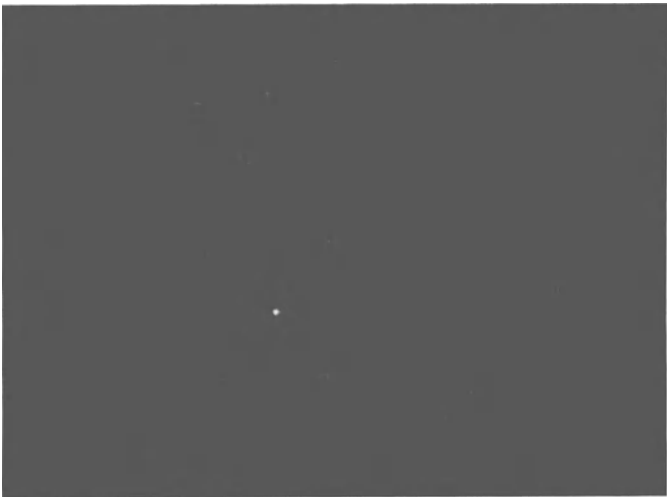
Если настройка Density (Плотность) является частью **набора стратегий распределения точек фокусировки**, эта величина определяет процентное соотношение сгенерированных точек фокусировки и общего числа мозаик объекта (например, если объект состоит из 2 000 мозаик и этот параметр установлен на 0,1 (= 10%), система сгенерирует 200 фокусных точек). Поскольку для больших объектов создается особенно много фокусных точек (обратите внимание, большое количество фокусных точек не всегда автоматически обеспечивает высокое качество фокусировки), мы рекомендуем определить максимальное количество фокусных точек (**макс. число**).

Если вы используете автоматическое обнаружение тканей и определяете величину расширения границы, система вычтет величину расширения до распределения фокусных точек, исключив тем самым размещение фокусных точек в зоне расширения. Это применимо только к автоматическому обнаружению тканей.

Чтобы гарантировать размещение фокусных точек внутри ткани, система отодвинет фокусные точки от границы на определенное число видимых зон. Этот параметр можно регулировать в меню **Tools -> Options ... -> Acquisition -> Axio Scan: Minimum Margin of focus point distribution in tile(s)** (Инструменты -> Опции -> вкладка Получение изображений -> расширитель Axio Scan -> Минимальный предел при распределении точек фокусировки в мозаиках). Значение по умолчанию — 1. Это обеспечивает очень хорошие результаты при использовании разнообразных образцов. Обратите внимание, что в программном обеспечении ZEN 2012 slidescan и ZEN 2012 slidescan SP2 значением по умолчанию являлось «2» (и постоянным неотображаемым параметром).

Параметр	Описание
Onion skin (Кожица лука)	Это схема плотности фокусировки. Результирующие фокусные точки отображаются в виде слоев кожицы лука, при этом обеспечивается равномерное распределение, а также достаточное количество фокусных точек особенно на границе. Это стандартная настройка карты точной фокусировки. Этот параметр представляет собой плотность со стандартной настройкой 0,1. Это означает, что 10% от общего числа видимых зон используются в качестве точек фокусировки для расчета фокальной поверхности. При использовании больших образцов это число может значительно увеличиться, но большое количество фокусных точек не всегда автоматически гарантирует качественный расчет фокальной поверхности. По этой причине пользователь также может определить максимальное число фокусных точек. Обычно это число находится в диапазоне от 24 до 36 точек. Эта стратегия распределения точек фокусировки рекомендуется для средне- и большеразмерных объектов.

Пример (плотность: 0,1; макс. число: 24):



Параметр

Описание

Every Nth tile
(Каждая n-я
мозаика)

Система разместит расчетную сетку поверх образца с указанным расстоянием (N) между двумя фокусными точками в полях обзора камеры по оси X и оси Y. Это четко определенный метод создания фокусных точек. При создании большого количества фокусных точек потребуется больше времени на создание карты фокусировки. Эта стратегия распределения точек фокусировки рекомендуется для объектов средних и малых размеров.

Пример: (каждая 5-я мозаика):



Every tile
(Каждая
мозаика)

Система будет фокусироваться на каждой мозаике. Занимает исключительно много времени при обработке сканов с большим увеличением и (или) больших образцов, однако, обеспечивает наилучшие результаты для крайне неровных образцов.

Number of focus points (Число
фокусных
точек)

Здесь пользователь указывает постоянное число фокусных точек на объект (сцену). Настройка по умолчанию для грубой фокусировки составляет шесть фокусных точек на сцену.

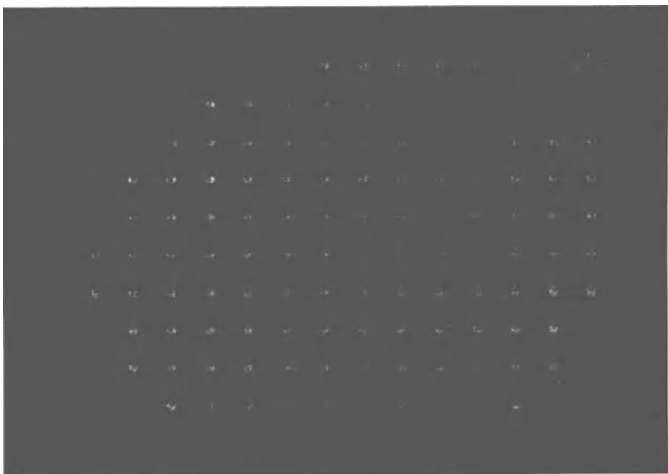
Пример (n = 24):



Параметр	Описание
Density (Плотность)	Плотность схожа с плотностью «кожицы лука», разница состоит в том, что структура не распределяется аналогично слоям кожицы лука. Распределение по образцу/сцене более равномерно. Эта настройка также определяет максимальное число фокусных точек. Создание этой карты фокусировки — случайное (как видно из примера), поэтому схема Onion skin (Кожица лука) предпочтительнее, чем Density (Плотность). Пример (плотность: 0,1; макс. число: 24):



Grid cell size (Размер ячеек расчетной сетки)	Чтобы разместить фокусные точки на фокальной поверхности, данная настройка устанавливает фиксированную расчетную сетку над образцом. Единица измерения — мкм. Эта настройка не зависит от текущего размера фрейма/датчика используемой камеры. Если требуется использовать настройку, которая опирается на размер кристалла камеры, используйте схему Every Nth tile (Каждая n-я мозаика). Как видно из образца, эта схема не такая точная как Every Nth tile (Каждая n-я мозаика), поэтому Every Nth tile (Каждая n-я мозаика) предпочтительна при использовании Grid cell size (Размер ячеек расчетной сетки). Пример (1000 мкм 1000 мкм):
--	--



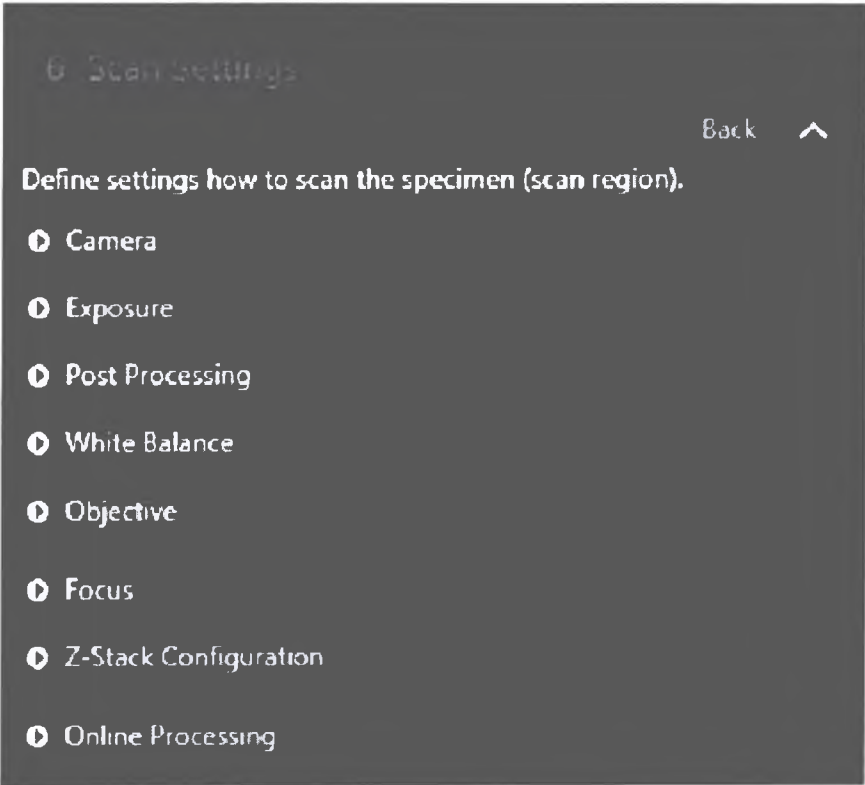
Параметр	Описание
Center of Gravity (Центр тяжести)	Система помещает одну фокусную точку в каждую сцену / объект. Позицией этой фокусной точки является центр тяжести, таким образом, на весь объект приходится только одна фокусная точка. Это полезная настройка для малоразмерных объектов (например, тканевых микропанелей). Обратите внимание, что у определенных структур (например, в форме полумесяца) центр тяжести может находиться за пределами ткани, следовательно, система не имеет точки фокусировки. В таких случаях опции Number of focus points (Число фокусных точек) задайте значение «1». Центр тяжести — допустимый параметр (например, для тканевых микропанелей (Tissue Micro Arrays)) для размещения только одной фокусной точки в каждом ядре.

19.1.3.4.2.4.2

Набор измерения резкости

Параметр	Описание
Basic (Базовый)	Автофокусировка осуществляется на основе контраста, поэтому алгоритм ориентирован на наивысшее значение контраста в серии срезов по оси Z. Это простая, но быстрая автофокусировка.
Best (Наилучший)	Автофокусировка также осуществляется на основе контраста, поэтому алгоритм ориентирован на наивысшее значение контраста в серии срезов по оси Z. Данный тип фокусировки несколько медленнее, чем Basic (Базовый), но точнее для определенных образцов. Обратите внимание, что Best (Наилучший) не всегда означает, что этот алгоритм лучше, чем Basic (Базовый), поскольку зависит от вида ткани/образца.
FFT	Эта настройка автофокусировки использует алгоритм преобразования Фурье, определяющий наилучшее значение фокусировки. Этот алгоритм медленнее остальных алгоритмов и должен использоваться только в случаях контрастирования с помощью круговой апертуры. Он не подходит для стандартного светлопольного контрастирования или флуоресценции, так как выполняет поиск двух контрастных пиков и локального минимума между ними.
HG 2^8	Это усовершенствованный алгоритм по сравнению с Basic (Базовый) и Best (Наилучший). Этот алгоритм в меньшей степени ориентирован на большие окрашенные структуры и в большей — на малые локальные структуры, а значит, данный алгоритм, например, больше фокусируется на ядрах, чем на неокрашенных структурах (например, красители, используемые в иммуногистохимии). С учетом текущего состояния оценки это означает, что HG2^8 подойдет для автофокусировки, когда необходимо сконцентрироваться на ядрах. Недостаток: увеличивается масса загрязнений, из-за чего данный алгоритм следует использовать только для точной, а не грубой фокусировки.
Contrast Power (Степень контрастирования)	Этот алгоритм сопоставим с алгоритмом HG 2^8.

19.1.3.4.2.5 Настройки сканирования



В этом шаге мастера можно регулировать настройки сканирования (Scan Settings). Эти настройки важны, поскольку они определяют качество изображения, получаемого пользователем при настройке времени экспозиции, баланса белого и т. д. Настройки вкладок **Post Processing** (Постобработка) и **White Balance** (Баланс белого) схожи со стандартными инструментами ПО ZEN. Как регулировать настройки сканирования, написано в разделе «Настройка параметров сканирования для светлостерильных профилей» [► 543].

19.1.3.4.2.5.1 Сопоставление режима сжатия с размером файла

Режим сжатия	Размер файла
Без сжатия	9124 Мб/кв.см.
Без потерь (JPEG XR)	4997 Мб/кв.см.
90%-качество JPEG XR	916 Мб/кв.см.
80%-качество JPEG XR	392 Мб/кв.см.
60%-качество JPEG XR	263 Мб/кв.см.
40%-качество JPEG XR	198 Мб/кв.см.
30%-качество JPEG XR	157 Мб/кв.см.

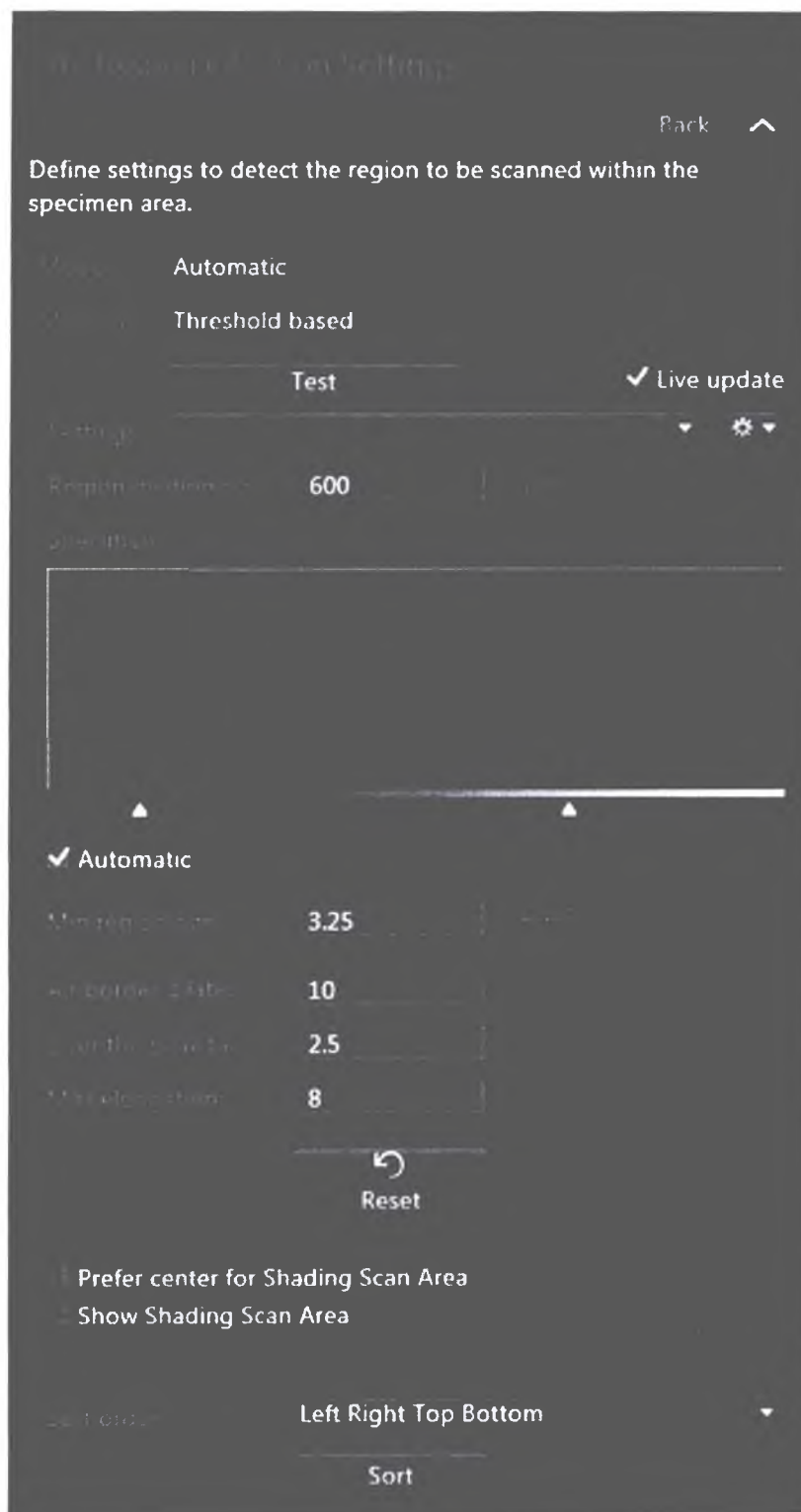
19.1.3.4.2.6 Настройки обнаружения тканей

Вид настроек обнаружения тканей (Tissue Detection Settings) зависит от настроек, сделанных в первом шаге мастера в разделе **Global Data** (Глобальные данные). В следующих разделах описываются четыре возможных варианта настроек.

Примечание

Вы можете реализовать собственный алгоритм обнаружения тканей и интегрировать его в рабочий процесс, более подробно см. раздел *Реализация собственного алгоритма обнаружения тканей* [► 505].

- 19.1.3.4.2.6.1 Вариант А. Автоматический режим / На основе порогового значения**
- Необходимые предварительные условия** ■ Если в шаге 1 **Global Data** (Глобальные данные) в разделе **Tissue Detection Mode** (Режим обнаружения тканей) вы выбрали опцию **Automatic** (Автоматически), а
- в разделе **TD Recognition Type** (Тип распознавания ткани) нажали кнопку **Tissue** (Ткань), настройки обнаружения тканей имеют следующий вид:



Область интереса для обнаружения тканей

Примечание

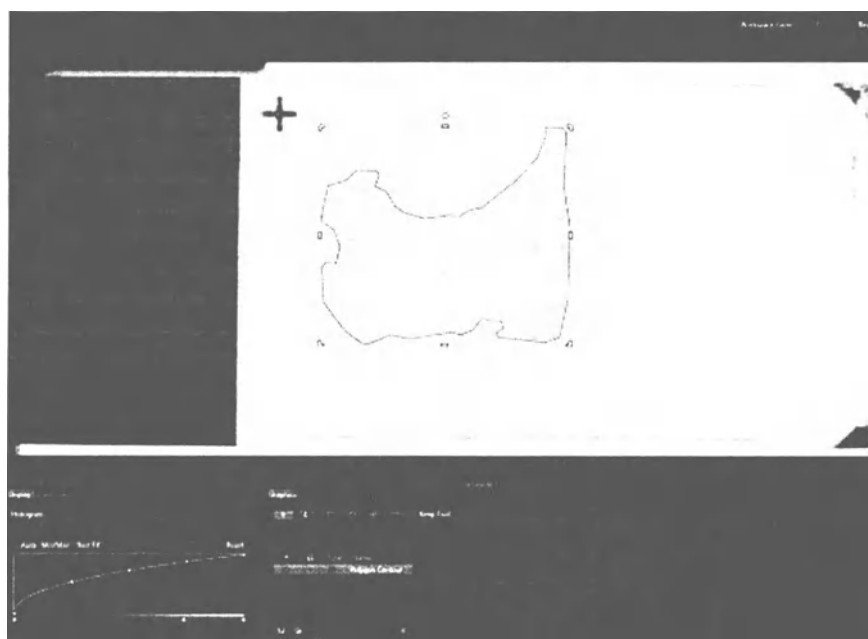
Если вы создали собственные области, убедитесь, что они содержат ткани. Пустая область может привести к созданию неточной карты фокусировки, так как программное обеспечение будет использовать всю начерченную область для создания стратегии распределения точек фокусировки.

Красный прямоугольник на живом изображении в **центральной области экрана** представляет собой область интереса для обнаружения тканей. Сканируются только области, находящиеся внутри области интереса. Остальные области, расположенные вне области интереса и (или) соприкасающиеся с ней, игнорируются. Чтобы изменить размер области интереса, необходимо скорректировать размер красного прямоугольника.

Примечание

Если два или несколько объектов расположены очень близко друг к другу и поэтому выглядят как один объект, возможно, имеет смысл разделить эти объекты с помощью функции **Split** (Разделение), доступной в контекстном меню после нажатия правой кнопкой мыши.

Если нажать на кнопку **Test** (Тест), программное обеспечение выполнит введенные параметры и отобразит результаты в средней области окна. Обнаруженные объекты (каждый объект — это единичная сцена) будут обозначены зеленой границей.



Все объекты перечислены во вкладке **Graphics** (Графические элементы). Вы можете удалять объекты и добавлять новые. Однако результат будет действителен только для данного слайда.

Чтобы активировать непрерывное обновление данных, установите флажок **Live update** (Автоматическое обновление). Обратите внимание, что после изменения параметра обновление может занять несколько секунд. Ниже приведено описание основных параметров этого шага:

Параметр	Описание
Mode & Method (Режим и метод)	Здесь отображается режим и метод обнаружения тканей, выбранные в разделе Global Data (Глобальные данные).
Region dilation size (Величина расширения области)	Здесь можно ввести расстояние от обнаруженной ткани до обрамляющей ее границы.

Параметр	Описание
Specimen (Образец)	Здесь пороговые величины определяют верхнюю и нижнюю границы образца. Чтобы перемещать границы вверх и вниз, щелкните по одной из них и нажмите правую кнопку мыши. Если режим Live update (Автоматическое обновление) включен, результат будет отображаться с определенной задержкой слева от центра экрана. Верхняя граница (правая сторона) — это граница светлых красителей, а нижняя граница (левая сторона) — это граница влияния на темные красители. Таким образом, при перемещении правой стороны вправо выделяются светлые красители. При перемещении левой стороны влево выделяются темные красители.
Min region size (Мин. размер области)	Здесь можно ввести минимальный размер области сканирования. Система не будет обнаруживать области, если они меньше установленного значения.
Air border dilate (Величина расширения воздушной границы)	Воздушная граница — это граница вокруг реального стеклянного слайда, т. е. пространство за пределами стеклянного слайда, ограниченное красным фреймом. Это значение определяет степень расширения воздушной границы. Все, что находится внутри этой расширенной воздушной границы, не будет распознано как ткань/маркер. Этот параметр гарантирует, что края слайда и покровного стекла не будут определены как области, подлежащие сканированию.
Over the peak factor (Над пик-фактором)	Этот параметр отображается, только если установлен флажок Automatic (Автоматически). Он определяет расстояние между пиком стеклянного слайда и верхним пороговым значением для обнаружения образца. Таким образом, если установлен флажок Automatic (Автоматически), верхнее значение будет определено автоматически.
Max elongation (Макс. удлинение)	Эта настройка важна при удалении краев покровного стекла. Края покровного стекла представляют собой структуры с большим коэффициентом отношения длинной стороны к короткой. Это означает, что любая структура, у которой соотношение длинной стороны к короткой превышает установленное значение, будет исключена.
Reset (Сброс)	Возвращает настройки к значениям по умолчанию.
Prefer Center for Shading Scan Area (Предпочитать центр области сканирования с коррекцией равномерности освещения)	Если включена: программное обеспечение исключает влияние, например, краев покровного стекла, на область, которая используется для коррекции равномерности освещения в средней части слайда при увеличении скана не менее 20x. По умолчанию эта опция отключена. Если на сканированном изображении присутствуют мозаичные артефакты, рекомендуем активировать эту опцию и повторно проверить качество коррекции равномерности освещения. Если опция активирована, может происходить

Параметр

Описание

разделение области на малые области (программное обеспечение ограничено по области поиска, потому что внешние области выходят за пределы), что приводит к снижению скорости сканирования с коррекцией равномерности освещения, но при сравнении с общим сканированием несколько секунд не оказывают сильного влияния на время сканирования.

Show Shading Scan Area
(Отображать область сканирования с коррекцией равномерности освещения)

Если включена: программное обеспечение отобразит область, используемую для создания изображения с эталонной равномерностью освещения для этого слайда. При определенных увеличениях скана эта область отображается, даже если не будет использоваться.

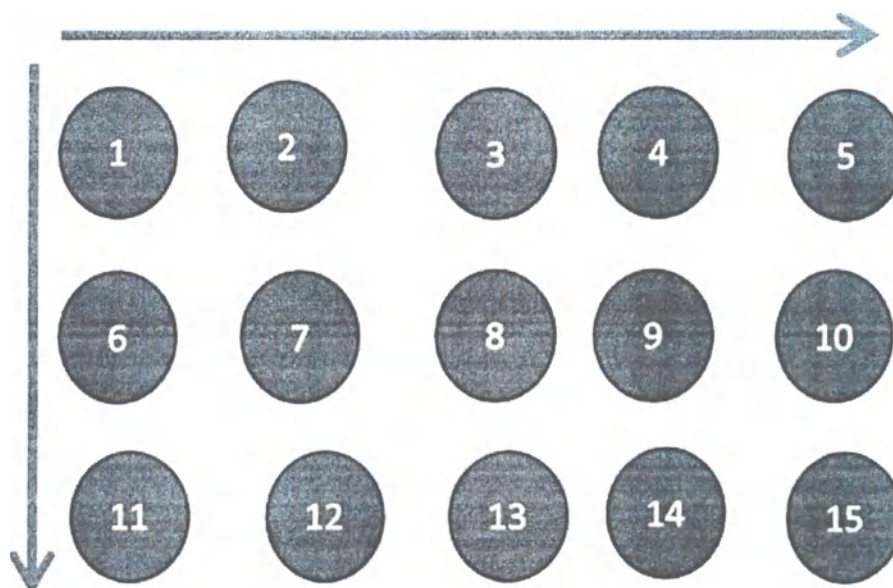
Задав соответствующие настройки, вы можете сохранить их нажатием на кнопку **New** (Новый) в **Options** (Опции) раздела **Settings** (Настройки). Вы можете использовать сохраненные настройки в другом профиле, выбрав соответствующий элемент выпадающего списка. Необязательно сохранять эти настройки отдельно, так как они сохраняются в профиле. Их необходимо сохранять только в том случае, если они будут использоваться в другом профиле.

Раздел Sort Order

В разделе **Sort Order** (Порядок сортировки) вы можете выбрать схему сортировки (нумерации) обнаруженных объектов (областей/сцен). Чтобы применить выбранную схему, нажмите на кнопку **Sort** (Сортировать). Для выбора доступны восемь разных схем. Первый элемент списка (например, Left Right (Слева направо)) осуществляет сортировку по первой схеме, второй элемент списка (например, Top Bottom (Сверху вниз)) – по второй схеме.

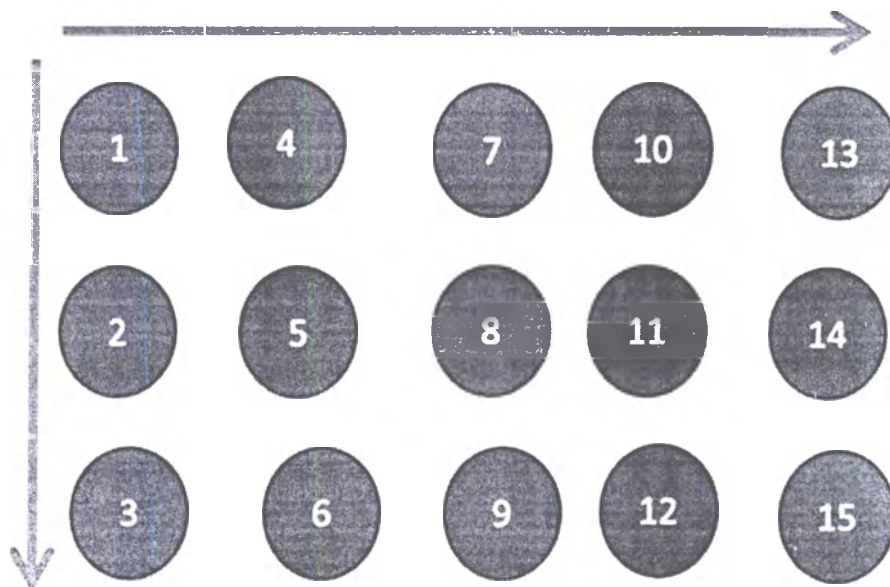
Пример 1. Слева направо / сверху вниз

Первая схема сортировки — слева направо (красная стрелка), вторая схема сортировки — сверху вниз (зеленая стрелка):



Пример 2. Сверху вниз / слева направо

Первая схема сортировки — сверху вниз (красная стрелка), вторая схема сортировки — слева направо (зеленая стрелка):

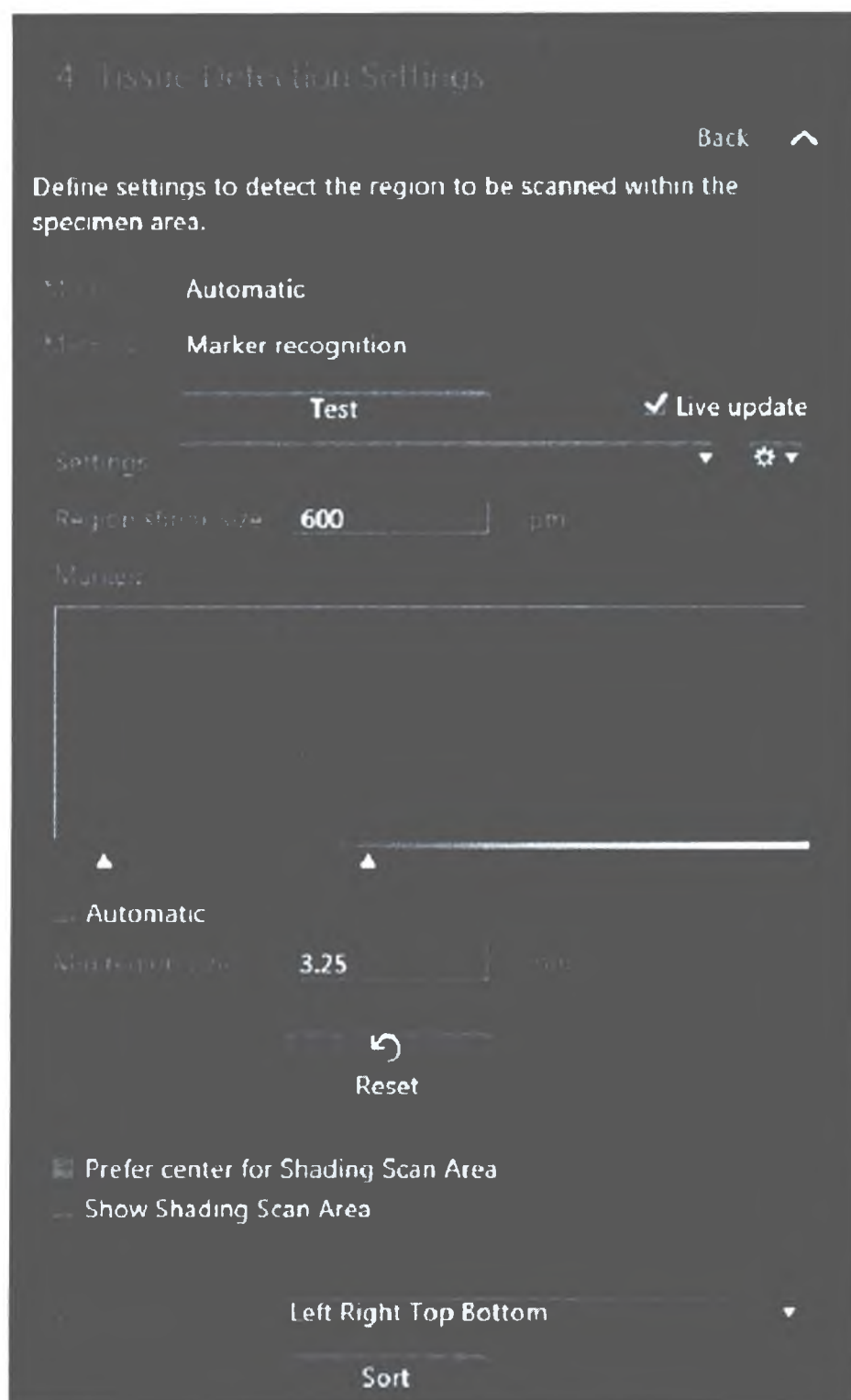


19.1.3.4.2.6.2

Вариант В. Автоматический режим / Распознавание маркера

Необходимые предварительные условия

- Если в шаге 1 **Global Data** (Глобальные данные) в разделе **Tissue Detection Mode** (Режим обнаружения тканей) вы выбрали опцию **Automatic** (Автоматически), а
- в разделе **TD Recognition Type** (Тип распознавания ткани) нажали на кнопку **Marker** (Маркер), настройки обнаружения тканей будут иметь следующий вид:



Настройки ограничиваются пороговой величиной маркера (сопоставимой с пороговой величиной ткани, описанной выше). Единственным дополнительным регулируемым параметром является минимальный размер области (**Min region size**), чья функция аналогична описанной в варианте А.

Обратите внимание, что опции равномерности освещения (**Shading**), параметр создания порядка сортировки (**Sort Order**) и кнопка **Sort** (Сортировать) имеют одинаковую функцию, описанную в варианте А.

Примечание

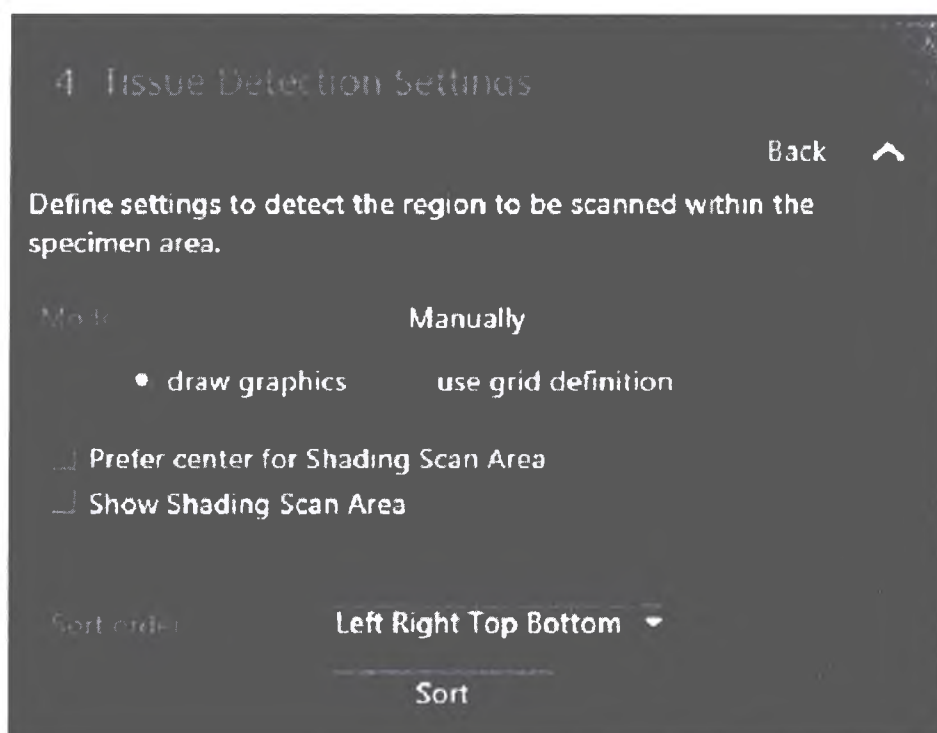
Если вы используете маркер на реальном стеклянном слайде, убедитесь, что выделенные области содержат образцы. Пустая область может привести к созданию неточной карты фокусировки, так как программное обеспечение будет использовать всю отмеченную область для создания стратегии распределения точек фокусировки.

19.1.3.4.2.6.3

Вариант С. Ручной режим / Создание графических элементов

Необходимые предварительные условия

- Если в шаге 1 **Global Data** (Глобальные данные) в разделе **Tissue Detection Mode** (Режим обнаружения тканей) вы выбрали опцию **Manually** (Вручную), настройки обнаружения тканей будут иметь следующий вид:



Создание областей обнаружения тканей вручную

Выбрав опцию **draw graphics** (создать графические элементы), вы можете вручную создавать области внутри области интереса. Для создания областей вы можете использовать инструменты вкладки **Graphics** (Графические элементы) в опциях общего вида **центральной области экрана**. Создание областей в целом аналогично аннотированию изображений в ПО ZEN. Созданные области сохраняются и используются на протяжении всего времени применения профиля, следовательно, эта опция может использоваться только при точном определении областей на слайде (например, мазки Папаниколау).

Обратите внимание, что опции равномерности освещения (**Shading**), параметр создания порядка сортировки (**Sort Order**) и кнопка **Sort** (Сортировать) имеют одинаковую функцию, описанную в варианте А.

i Примечание

Если требуется выделить едва заметный образец, для изменения настроек отображения (в частности, посредством корректировки кривой гамма-распределения) можно воспользоваться кривой отображения (**Display curve**) что позволит увидеть даже неокрашенный образец приемлемой толщины.

i Примечание

Вы можете настроить кривую отображения (см. вкладку Display (Отображение) в нижней части окна). Настройки отображения сохраняются в профиле. Они также влияют на отображение этикетки в окне Magazine (Кассета), а также на отображение области образца в окне Magazine (Кассета).

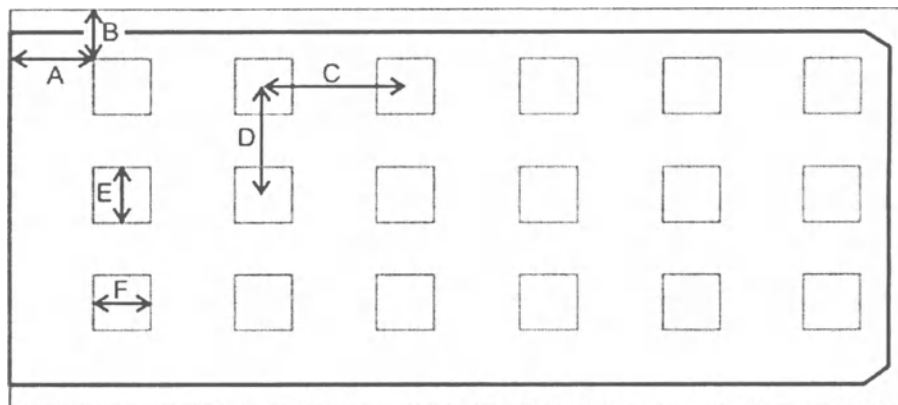
19.1.3.4.2.6.4

Вариант D. Ручной режим / Определение расчетной сетки
Необходимые предварительные условия

- Если в шаге 1 **Global Data** (Глобальные данные) в разделе **Tissue Detection Mode** (Режим обнаружения тканей) вы выбрали опцию **Manually** (Вручную), настройки обнаружения тканей будут иметь следующий вид:

Выбрав опцию **use grid definition** (использовать определение расчетной сетки), вы можете определить ее с помощью прямоугольников или окружностей обычного шаблона опции **Element Types** (Типы элементов). Контрольной точкой для данной сетки является верхний правый угол области образца (красный прямоугольник). По ней вы можете определить смещение от верхнего левого угла по оси X (A) и Y (B) в мм, а также шаг сетки по оси X (C) и Y (D).

На основе выбранной геометрической формы (окружность или прямоугольник) вы можете определить радиус или размеры по оси X (F) и по оси Y (E). Число элементов по оси X (в этом примере: 6) и по оси Y (в этом примере: 3) определяет количество элементов.



Сетка создается с помощью кнопки **Create** (Создать). Сетка отобразится поверх изображения. Ручная настройка сетки может быть выполнена таким же способом, что и настройка стандартных графических элементов в ПО ZEN.

Обратите внимание, что опции равномерности освещения (**Shading**), параметр создания порядка сортировки (**Sort Order**) и кнопка **Sort** (Сортировать) имеют одинаковую функцию, описанную в варианте А.

19.1.3.5 Расширенный мастер создания профиля сканирования (автономный)

Расширенный мастер создания профиля сканирования (автономный) (Advanced Scan Profile Wizard (offline)) является автономным, это означает, что система не перемещает кювету (слайд), а вы не видите живое изображение с камер. Но вы по-прежнему можете изменять параметры. Этот режим подходит, если необходимо изменить параметры, не связанные непосредственно с живым изображением, например настройки серии срезов по оси Z и EDF (увеличенная глубина резкости).

Перемещать реальные стеклянные слайды для регулировки этих настроек не нужно. Вследствие этого функциональность мастера по сравнению с **расширенным мастером создания профиля сканирования (онлайновым)** (Advanced Profile Wizard (online)) ограничена, но не включает в себя больше настроек. Более подробно об определенных функциях см. расширенный мастер создания профиля сканирования (онлайновый).

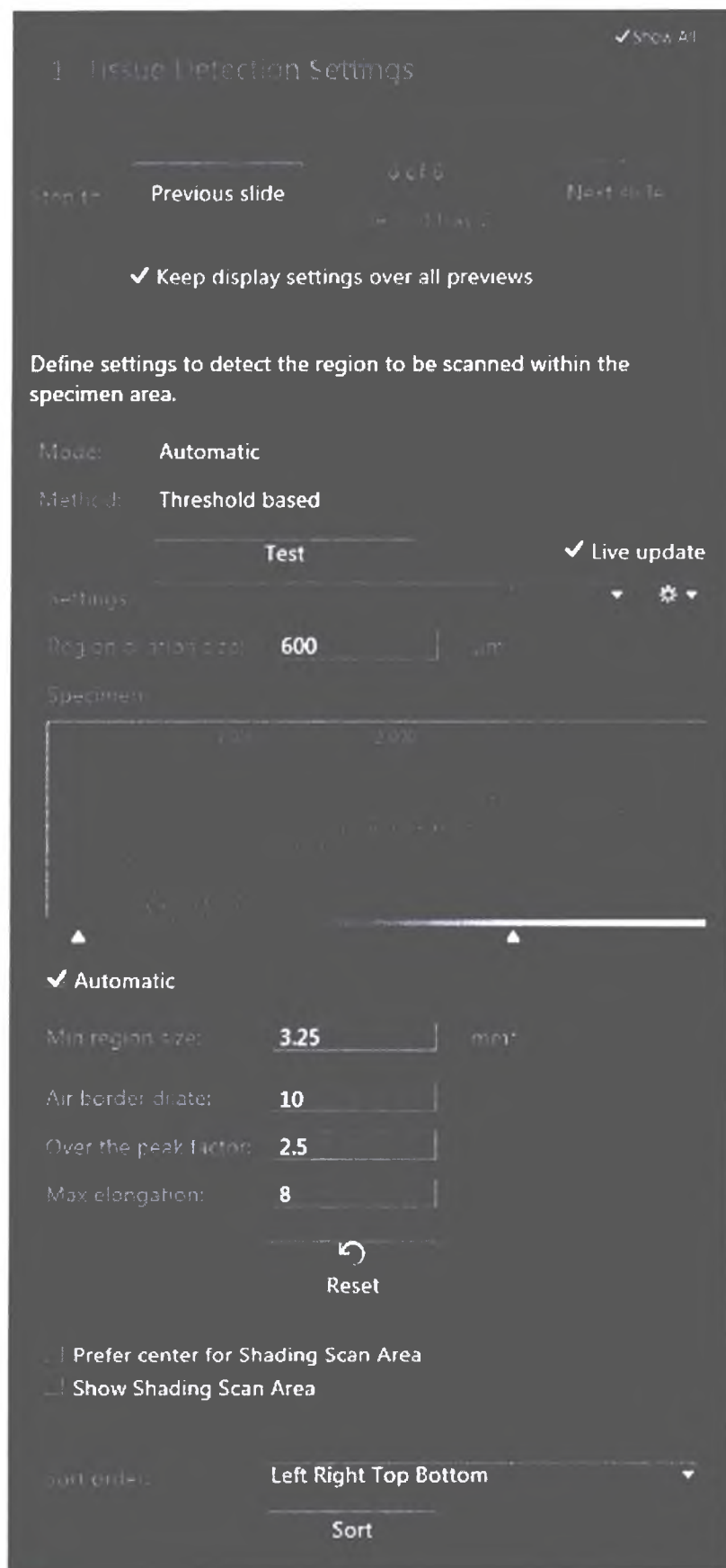
19.1.3.6 Мастер обнаружения тканей (автономный)

Примечание

Мастер обнаружения тканей (автономный) (Tissue Detection Wizard (offline)) активируется, только если предварительно было выполнено сканирование просмотра. После того как система начала сканирование просмотра, вы можете сразу запустить мастер обнаружения тканей (Tissue detection wizard) и работать параллельно с ним.

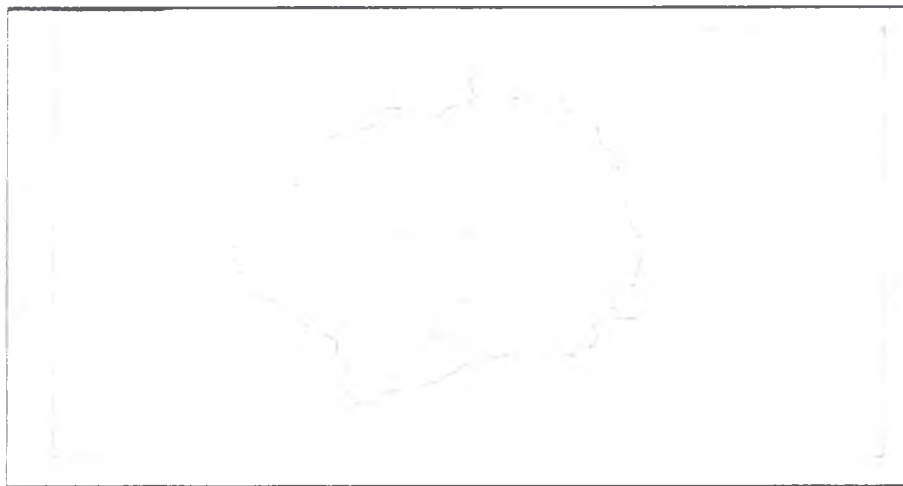
Мастер размещен в опциях профилей сканирования (Scan Profiles).

Здесь вы за один шаг можете изменить следующую область сканирования. В мастере отсутствует возможность изменения настроек кроме обнаружения тканей; тем не менее можно перемещаться к следующему (**Next slide**) или предыдущему слайду (**Previous slide**). Благодаря этому переключение слайдов выполняется быстро и удобно.

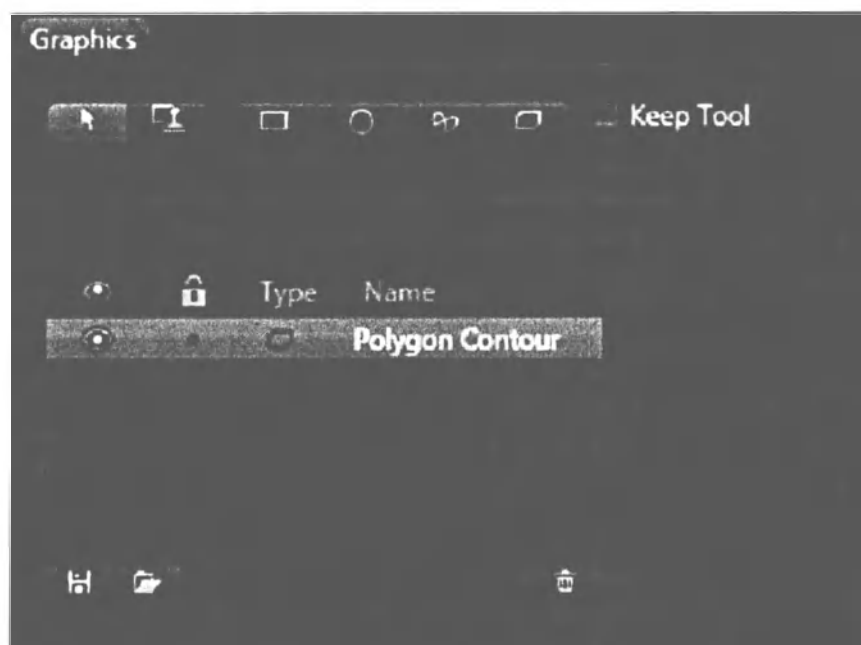


Эта возможность отсутствует в остальных мастерах. Перемещать реальные стеклянные слайды для регулировки этих настроек не нужно.

По большому счету, вы не будете изменять настройки, расположенные в мастере слева. Вы будете работать непосредственно с изображением области образца, выделяя области интереса или удаляя те, которые были обнаружены неверно. Для удаления области интереса просто выберите область и нажмите на клавишу **Delete** (Удалить) на клавиатуре. Вы также можете воспользоваться функцией множественного выделения. Комбинация клавиш **CTRL+Z** позволяет отменить последние выполненные действия.



Красный прямоугольник не является графическим элементом, это — фрейм, предназначенный для определения области, в которой с помощью функции автоматического обнаружения тканей выполняется поиск образца. Вы можете создавать графические элементы вне фреймов. Во вкладке **Graphics** (Графические элементы) в нижней части окна можно просматривать и управлять созданными графическими элементами (областями интереса).



Поскольку области интереса являются стандартными графическими элементами в ПО ZEN, доступ к расширенным опциям редактирования зависит от типа графического элемента, например Split (Разделение), Merge (Объединение), Edit points (Редактирование точек) и т. д.

Настройки обнаружения тканей в основном аналогичны настройкам, описанным в подразделе «**Расширенный мастер создания профиля сканирования**» раздела «Настройки обнаружения тканей».

19.1.3.7 Мастер калибровки Axio Scan (онлайнный)

1 Примечание

Первое отделение кюветы должно вмещать слайд для геометрической калибровки (474029-9030-000), второе — слайд для калибровки цветов (474029-9041-000).

Кювету с калибровочными слайдами следует поместить в первое отделение кассеты.

Можно отредактировать или проверить следующие настройки:

- Парфокальность объективов.
- Парацентричность объективов.
- Регулировка камеры просмотра и камеры сканирования.
- Определение фокусного расстояния объективов.
- Определение угла поворота камеры (это повторная проверка); если угол поворота камеры превышает предполагаемый диапазон (меньше или равно 0,5°), обратитесь в ремонтную службу компании ZEISS.
- Калибровка цветов (для выполнения калибровки потребуется слайд для калибровки цветов (474029-9041-000)) может быть пропущена.

Мастер поэтапно проведет вас через весь процесс калибровки. Шаги, как правило, выполняются без участия пользователя (только на этапе калибровки цветов требуется взаимодействие с пользователем, загрузка калибровки, следовательно, данная калибровка должна быть доступна пользователю). Требуется только запускать действие в каждом шаге. О завершении каждого действия сигнализирует зеленый индикатор. После чего можно перейти к следующему шагу. Последний шаг — сохранение данных в системе.

19.1.4 Функции и их назначение

19.1.4.1 Вкладка Scan

Во вкладке Scan (Сканирование) представлены наиболее важные функции, необходимые для управления системой **Axio Scan.Z1**. Вкладка тесно связана с окном Magazine (Кассета), расположенным в **центральной области экрана**. В верхней части вкладки находится раздел **Default Scan Profile (Профиль сканирования по умолчанию) (1)**, в котором можно выбирать предустановленные профили сканирования или создавать новые. Кроме того, найти, изменить или создать подходящий профиль вам помогут **мастер быстрого выбора профиля сканирования (Smart Profile Selection) (2)** и **мастер создания профиля сканирования (Scan Profile Wizard) (3)**. С помощью **главных кнопок сканирования (4)** можно запускать сканирование или сканирование просмотра.

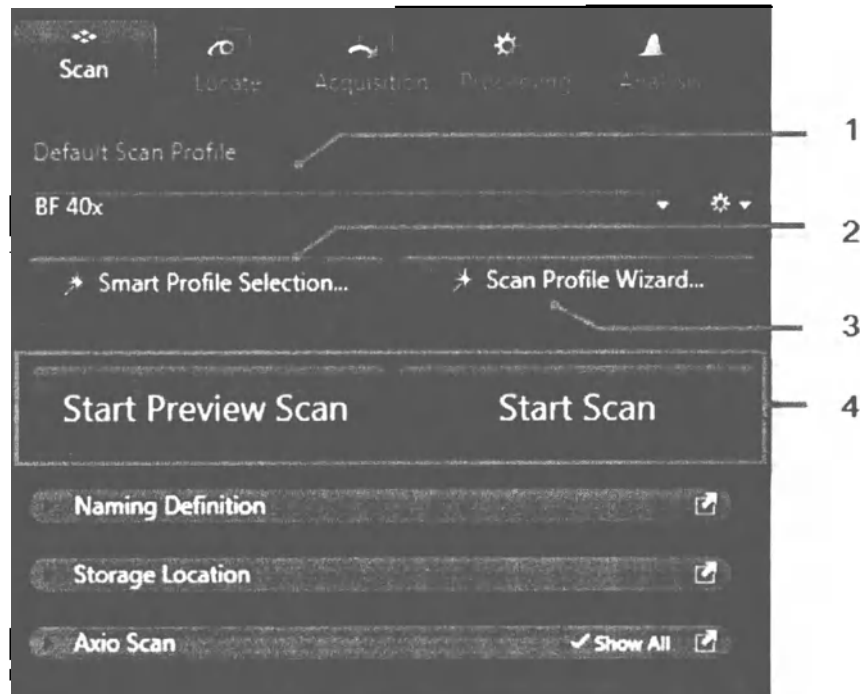


Рисунок 19.8. Вкладка Scan

П/п	Параметр	Описание
1	Раздел Default Scan Profile (Профиль сканирования по умолчанию)	В выпадающем списке можно выбрать профиль сканирования по умолчанию, который будет использован в случае введения новых вставок. Система присваивает выбранный профиль всем устанавливаемым слайдам. Нажмите на кнопку Options  , чтобы открыть контекстное меню Default Scan Profile Options (Опции профиля сканирования по умолчанию) [► 609].
2	Smart Profile Selection... (Быстрый выбор профиля...)	Запускает мастер быстрого выбора профиля сканирования (Smart Scan Profile Selection wizard). Мастер поможет вам открыть предустановленные профили. Это самый быстрый и интуитивно понятный способ присваивания и создания профилей сканирования.
3	Scan Profile Wizard... (Мастер создания профиля сканирования...)	Запускает мастер создания профиля сканирования (Scan Profile Wizard). Мастер позволяет легко менять/изменять существующие профили сканирования. В дальнейшем можно менять профиль каждой вставки в окне Magazine (Кассета). В случае изменения профиля по умолчанию, этот профиль также будет присвоен всем необработанным слайдам.
4	Кнопки сканирования	

П/п	Параметр	Описание
	- Start Preview Scan (Начать сканирование просмотра)	Запускает сканирование просмотра всех выбранных слайдов. Для выбора слайда перейдите в окно Magazine (Кассета) и установите флажок в столбце Process (Обработка). Флажок активируется по умолчанию, если будут установлены вставки. Для выполнения сканирования просмотра используются настройки, определяемые присвоенным профилем. Сканирование просмотра светлополюсных образцов состоит из снимка области этикетки (отраженный свет) и области образца (проходящий свет). Результат отобразится в столбце Preview (Предпросмотр) слайда. Для расширения окна дважды нажмите на изображение. Программное обеспечение откроет изображение в отдельной вкладке. Для применения областей сканирования воспользуйтесь расширенным мастером создания профиля сканирования (Advanced Scan Profile Wizard) или мастером обнаружения тканей (Tissue Detection Wizard).
	- Start Scan (Начать сканирование)	Запускает сканирование всех выбранных слайдов. Сканирование включает в себя сканирование просмотра (области этикетки и области образца), обнаружение тканей, создание карты фокусировки и сканирование образца с высоким разрешением. Используются настройки, определяемые присвоенным профилем. Чтобы открыть изображение, дважды нажмите на него мышью, и оно откроется в отдельной вкладке в центре экрана.

19.1.4.1.1 **Опции раздела Default Scan Profile**

Пункт меню	Описание
New Scan Profile... (Новый профиль сканирования...)	Создает новый профиль. Если был создан новый профиль, он автоматически присваивается всем слайдам в окне Magazine (Кассета).
Smart Profile Selection... (Быстрый выбор профиля...)	Открывает мастер выбора предустановленного профиля. Пользователю потребуется ответить на ряд вопросов об образце, в результате чего мастер подберет наиболее подходящий профиль для оцифровывания. Затем рекомендуется обработать этот профиль в мастере создания профиля сканирования (Scan Profile Wizard).
Advanced Scan Profile Wizard... (Расширенный мастер создания профиля сканирования...)	Открывает мастер для адаптации всех возможных настроек профиля и позволяет пользователю использовать всю гибкость системы. Мастер рекомендуется для опытных пользователей.

Пункт меню	Описание
Scan Profile Wizard... (Мастер создания профиля сканирования...)	Открывает мастер для адаптации базовых настроек профиля, например: штрихкод/OCR/сканирующий объектив/серия срезов по оси Z.
Rename (Переименовать)	Переименовывает выбранный профиль.
Save as (Сохранить как)	Сохраняет пользовательский профиль под другим именем.
Delete (Удаление)	Удаляет выбранный профиль.

19.1.4.1.2 Инструмент Naming Definition

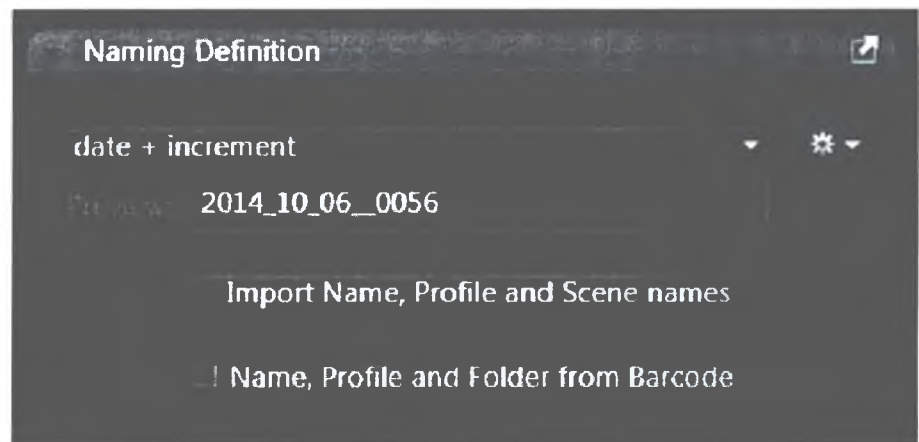


Рисунок 19.9. Инструмент Naming Definition

В инструменте Naming Definition (Определение именования) можно определить принципы именования полученных файлов/изображений. В выпадающем списке необходимо выбрать несколько определений для имен файлов. Имя автоматически включает в себя содержимое обнаруженного штрихкода, если обнаружение штрихкода включено для действующего профиля. Нажмите на кнопку  **Options** (Опции), чтобы определить новые, отредактировать или удалить существующие определения имен.

 Примечание

В поле **Preview** (Предпросмотр) отображается настроенное имя файла.

Параметр	Описание
Опции инструмента Naming Definition	
- New (Новый)	Здесь можно создать новое определение именования. Система попросит ввести имя определения, после чего в диалоговом окне вы сможете настроить определение именования.

Параметр	Описание
- Edit (Редактировать)	Здесь можно редактировать текущее определение именования.
- Rename (Переименовать)	Здесь можно переименовать текущее определение именования.
Save as (Сохранить как)	Здесь можно сохранить текущее определение именования под другим именем.
Delete (Удаление)	Здесь можно удалить выбранное определение именования.
Import Names, Profiles and Scenes names (Импорт имен, профилей и имен сцен)	Позволяет импортировать имена изображений и используемые профили. Также позволяет присваивать имена сценам. Перед запуском импорта необходимо установить все слайды. Программное обеспечение применит импортированные параметры только к слайдам со статусом New (Новый). Более подробно об импорте см. в разделе «Импорт имен, профилей и сцен».
Name, Profile and Folder from Barcode (Имя, профиль и папка из штрихкода)	Позволяет использовать информацию штрихкода для именования изображений, назначения профилей и поддиректорий. Более подробно об импорте см. в разделе «Использование штрихкода для определения имени, профиля и подпапки» [► 507].

19.1.4.1.3

Инструмент Storage Location



Рисунок 19.10. Инструмент storage location

В инструменте Storage Location (Место хранения) можно указать место хранения созданных изображений. Можно указать локальный путь на используемом компьютере, а также сетевую папку для хранения данных на удаленном сервере. Рекомендуется хранить изображения на компьютере, так как в зависимости от свойств сети, соединение может быть недостаточно надежным для сохранения данных. Сбой в соединении с сетью может приводить к остановке процесса сканирования или замедлению передачи данных в случае медленной скорости соединения. В случае выбора сетевой папки, рекомендуемая скорость передачи данных составляет 100 Мб/с. В выпадающем списке можно выбрать доступные пути, которые использовались ранее. С помощью кнопки **Create New Folder** (Создать новую папку) в диалоговом окне **Browse Folder** (Выбор папки) создается новая папка для хранения файлов.

19.1.4.1.4 Инструмент Axio Scan

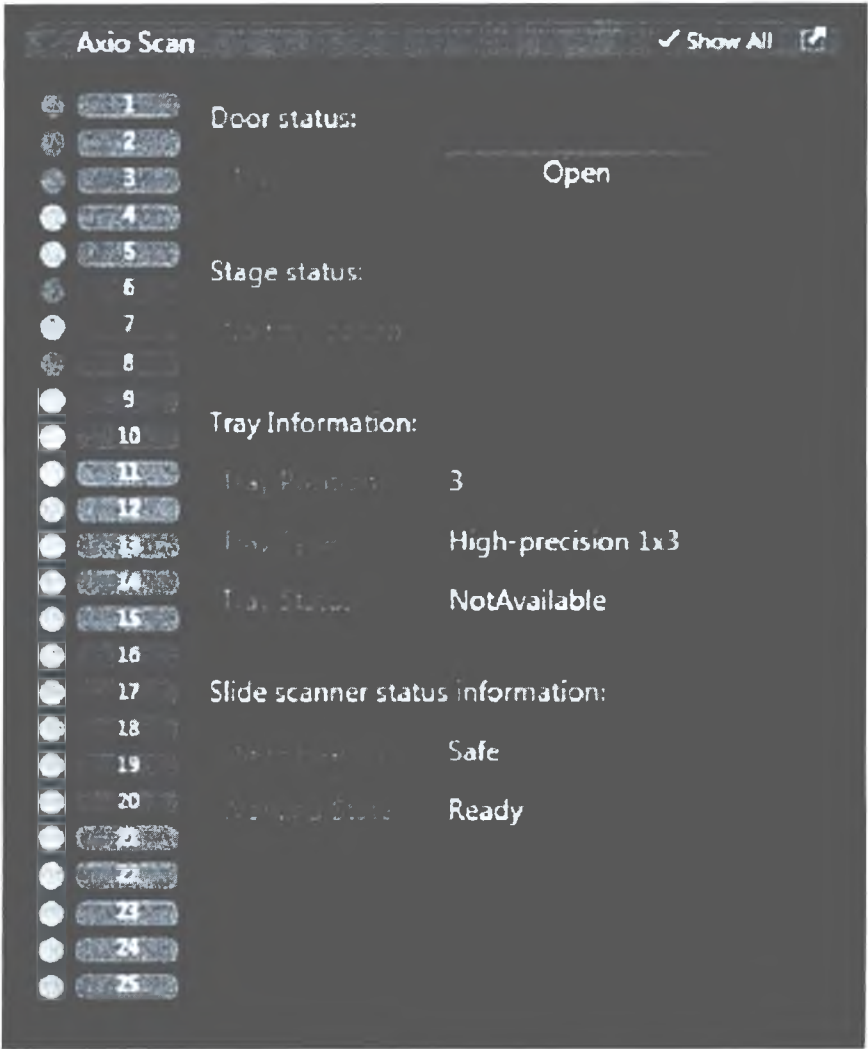


Рисунок 19.11. Инструмент Axio Scan

Параметр	Описание
Door status (Статус дверцы)	Здесь можно видеть, открыта или закрыта та или иная дверца. В зависимости от текущего статуса дверцу можно открыть или закрыть с помощью кнопки Close/Open (Заккрыть/Открыть). Эта функция аналогична кнопке Open/Close (Открыть/Заккрыть) на самом устройстве.
Stage status (Статус столика)	Здесь можно видеть, загружена кювета или нет. Чтобы загрузить кювету, дважды нажмите на кнопки кюветы, расположенные слева от инструмента. Если кювета загружена, появится кнопка Unload tray (Извлечь кювету). При нажатии на эту кнопку кювета, расположенная на столике, будет загружена в кассету.
Tray Information (Сведения о кювете)	Здесь отображается информация о кювете и вставке. Информация в полях просмотра отображается при наведении курсора мыши на кнопки кюветы. Цвета сигнала перед кнопками указывают на текущий статус кювет. Эти сигналы соответствуют сигналам на самом устройстве. Более подробное описание см. в

Параметр	Описание
	руководстве по эксплуатации. Двойное нажатие на кнопку кюветы устанавливает вставку. При установке другой вставки предыдущая удаляется автоматически.
- Tray Position (Позиция кюветы)	Отображает позицию кюветы/вставки в кассете.
- Tray Type (Тип кюветы)	Отображает тип установленной вставки (например, High-precision 1x3 или High-precision 2x3).
- Tray Status (Статус кюветы)	Отображает статус фрейма (например, обработан, просмотрен).
Slide Scanner status information (Информация о текущем состоянии сканера слайдов)	Раздел содержит данные о позиции столика (Stage Position) (например, безопасная позиция) или рабочем состоянии (Working State) (например, состояние готовности) устройства. Эта информация также отображается с помощью главного индикатора самого устройства (готовность, обработка, предупреждение).

19.1.4.2 Окно Magazine

В окне Magazine (Кассета) представлена общая информация о кассете **Axio Scan.Z1**. Вы можете присваивать профили и условные обозначения слайдам, отображать статус и перемещать кюветы вверх или вниз (с помощью операции перетаскивания) для изменения последовательности сканирования. Система начнет обработку всех активированных слайдов сверху вниз (по галочкам в столбце **Process** (Обработка)). Это окно тесно связано с вкладкой **Scan** (Сканирование) в **левой области инструментов**.

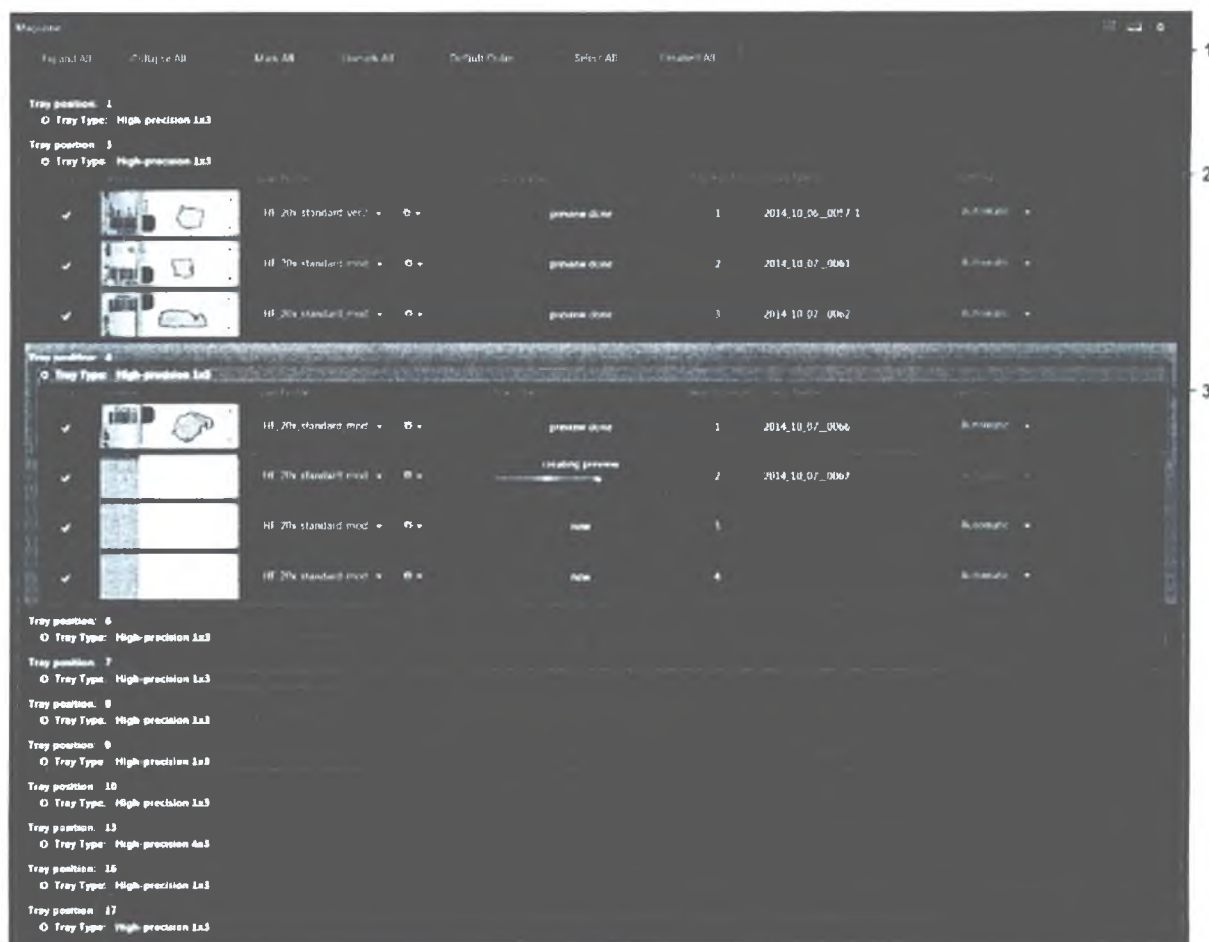


Рисунок 19.12. Окно Magazine

Примечания

- После закрытия дверцы (с помощью программного обеспечения или на самом устройстве) система определяет все кюветы внутри кассеты и устанавливает тип кюветы и кюветные отделения в кассете, занятые реальными слайдами.
- По умолчанию система также проверяет все слайды (см. столбец **Process** (Обработка)) и присваивает профиль сканирования (**Scan Profile**) (определенный во вкладке **Scan**) каждому новому слайду. Даже после запуска процесса пакетной обработки слайдов можно сменить профиль и изменить прочие настройки (если в данный момент слайды не обрабатываются/не сканируются).
- На экране отображаются только установленные слайды. Пустые позиции в кювете не отображаются. Загруженная кювета выделяется оранжевым фреймом по периметру вставки (на примере это — кювета 4).

Основные кнопки (1)

Позволяют легко регулировать вид и настройки окна Magazine (Кассета).

Название	Описание
Expand All (Развернуть все)	Разворачивает все кюветы, отображая расположенные в них слайды.
Collapse All (Свернуть все)	Сворачивает все кюветы, при этом остаются видимы только кюветные отделения.
Mark All (Отметить все)	Активирует все слайды, подлежащие обработке.
Unmark All (Снять все метки)	Отключает все слайды, подлежащие обработке.
Default Order (Порядок по умолчанию)	Восстанавливает позиции кювет и слайдов, принятые по умолчанию. Только если последовательность кювет или слайдов была изменена (например, перетаскиванием).
Select All (Выбрать все)	Выделяет все слайды в кассете.
Unselect All (Отменить выборку всех)	Отключает выделенные элементы в кассете.

Раздел сведений о кювете (2)

Здесь можно просмотреть все кюветы и установленные слайды. Каждое кюветное отделение структурировано одинаково:

Заголовком для каждой кюветы служит физическое отделение кюветы (**Tray Position**) (например, **Tray position: 1**). Под информацией об отделении указывается **тип установленной кюветы** (Tray Type) (например, **High-precision 1x3** или **High-precision 2x3**). Если щелкнуть правой кнопкой мыши по кювете, откроется контекстное меню окна Magazine (Кассета) с несколькими опциями для просмотра кассеты или отдельных кювет. С помощью небольшой кнопки расширителя, расположенной перед типом кюветы, вы можете развернуть/свернуть окно для просмотра **слайдов** кюветы. По умолчанию разворачиваются все кюветы.

Представление данных о слайде (3)

Каждый ряд кюветы представляет собой слайд. Щелчок правой кнопкой мыши по слайду открывает контекстное меню слайда (Slide) с несколькими опциями для него. Столбцы слайда всегда одинаковы:

Столбец	Описание
Process (Обработка)	Указывает, будет ли сканироваться слайд (флажок установлен) или нет (флажок убран).
Preview (Предварительный просмотр)	Показывает изображение просмотра слайда, если выполнено предварительное сканирование. Отображает область этикетки и образца.
Scan Profile (Профиль сканирования)	Присваивает каждому слайду определенный профиль сканирования. Если профиль был принят, перед именем профиля система устанавливает иконку шестеренки.
	Если нажать кнопку  Options (Опции) за профилем сканирования, откроется контекстное меню Scan Profile Options (Опции профиля сканирования).

Столбец	Описание
Scan Status (Статус сканирования)	Выдает информацию о состоянии процесса сканирования слайда. Это может быть: ■ new (новый): сканирование просмотра и сканирование не выполнялись; ■ preview done (выполнено сканирование просмотра): сканирование просмотра выполнено, изображение отобразится в столбце Preview; ■ finished (отсканировано): сканирование успешно выполнено. Предупреждение/сообщение об ошибке появится в этом столбце. Если нажать на сообщение об ошибке/предупреждение, оно отобразится на экране.
Slide Position (Позиция слайда)	Представляет собой физическую позицию слайда в кювете.
Slide Name (Имя слайда)	Представляет собой имя создаваемого изображения. Имя вводится вручную или создается системой в соответствии с правилом именования. Выбор процедуры зависит от данных в столбце Naming (Именование).
Naming (Именование)	Здесь вы можете выбрать между автоматическим созданием имени по правилу именования или вводом имени вручную. Также можно изменить имя изображения после получения изображения просмотра, просто нажав на имя и затем отредактировав его. В зависимости от настроек в разделе Naming Definition (Определение именования) вы можете импортировать имена с помощью CSV-файла или использовать информацию со штрихкода для определения имени в виде подцепочки штрихкода.

i Примечание

Для увеличения изображения этикетки или изображения просмотра области образца просто нажмите на маленькое изображение просмотра. Появится увеличенное изображение для лучшего распознавания деталей. По завершении сканирования слайда появится не обзорное изображение образца, а образ результирующего изображения с малым увеличением. Если необходимо закрыть изображение, повторно нажмите на него, сместите курсор мыши с изображения или нажмите на другой слайд для увеличения другого сканированного изображения/изображения просмотра.

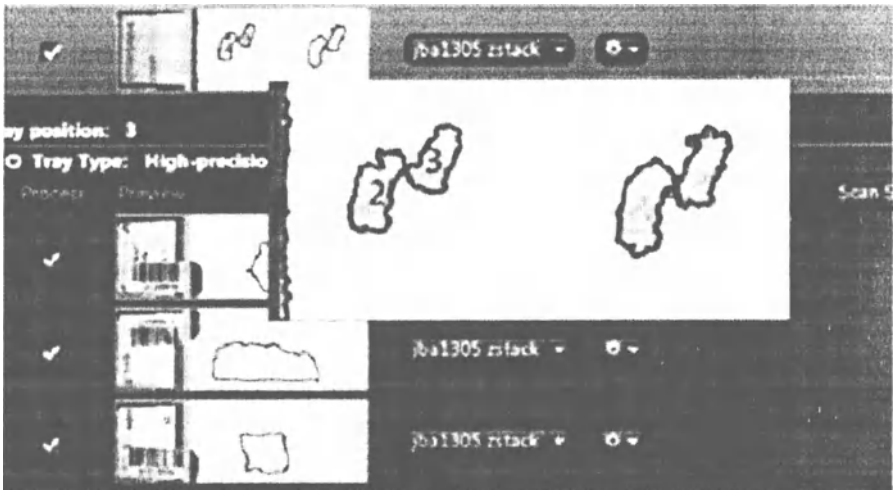


Рисунок 19.13. Увеличенное изображение просмотра

19.1.4.2.1 Контекстное меню окна Magazine

Элемент меню	Описание
Load tray (Загрузить кювету)	Система извлечет выбранную кювету из кассеты и поместит на столик, автоматически убрав со столика предыдущую кювету. Установленная кювета будет выделена оранжевым прямоугольником.
Assign scan profile (Присвоить профиль сканирования)	Открывает выпадающее меню, в котором пользователь может присвоить всем выделенным слайдам существующий профиль.
Mark all slides in highlighted trays for processing (Отметить все слайды выделенных кювет для обработки)	Выбирает все слайды выделенных кювет для обработки (возможен множественный выбор слайдов).
Unmark all slides in highlighted trays for processing (Снять все метки со слайдов выделенных кювет для обработки)	Отменяет выделение всех слайдов выделенных кювет для обработки (возможен множественный выбор слайдов).
Expand all highlighted trays (Развернуть все выделенные кюветы)	Раскрывает все выделенные кюветы одним щелчком мыши. Для выделения кюветы нажмите клавишу Ctrl и выберите с помощью мыши необходимые кюветы.
Collapse all highlighted trays (Свернуть все выделенные кюветы)	Сворачивает все выделенные кюветы одним щелчком мыши.

19.1.4.2.2 Контекстное меню Slide

Элемент меню

Move to Prescan position
(Переместить в позицию
предварительного
сканирования)

Move to Scan position
(Переместить в позицию
сканирования)

Assign scan profile (Присвоить
профиль сканирования)

Open image(s) (Открыть
изображение(-я))

**Mark all highlighted slides for
processing** (Отметить все
выделенные слайды для
обработки)

**Unmark all highlighted slides for
processing** (Снять все метки с
выделенных слайдов для
обработки)

Reset Scan status to new
(Изменить статус сканирования
на «новый»)

Reset Scan status to previewed
(Изменить статус сканирования
на «предварительно
сканирован»)

Описание

Перемещает выбранный слайд в
позицию предварительного
сканирования.

Перемещает выбранный слайд в
позицию сканирования.

Здесь можно выбрать профиль
сканирования и присвоить его
выбранному слайду. Если выбраны
несколько слайдов, выбранный
профиль будет присвоен всем
слайдам.

Параметр активен, если создано
изображение просмотра или
завершено сканирование.

Программное обеспечение откроет
изображение просмотра или
сканированное изображение слайда.
Если выбраны несколько слайдов,
откроются все изображения из этих
слайдов.

Отмечает все выбранные
(выделенные) слайды для обработки.

Отменяет выделение всех
выбранных (выделенных) слайдов
для обработки.

Изменяет статус сканирования
выбранного слайда на "new"
(«новый»).

Изменяет статус сканирования
выбранного слайда на "previewed"
(«предварительно сканирован»).

19.1.4.2.3

Опции Scan Profile

Пункт меню

Описание

Open advanced wizard
(Открыть
расширенный мастер)

Открывает **расширенный мастер создания профиля сканирования** (онлайновый режим). В этом режиме система извлекает кювету со слайдом из кассеты (только если кювета со слайдом еще не размещена на столике). Можно просматривать живое изображение с разных камер (камеры просмотра/камеры сканирования) и перемещаться по слайду. Этот режим подходит, если необходимо отрегулировать, например, время экспозиции, и разместить окна в режиме реального времени. Таким образом, вы будете работать с реальным стеклянным слайдом. В то же время этот режим может занимать много времени, поскольку приходится перемещать реальный стеклянный слайд.

Open advanced wizard in offline mode
(Открыть
расширенный мастер в автономном режиме)

Открывает **расширенный мастер создания профиля сканирования** (автономный режим). В этом режиме система не перемещает кювету (слайд), и камеры не транслируют живое изображение. Этот режим подходит, если необходимо изменить параметры, не связанные непосредственно с живым изображением, например настройки серии срезов по оси Z и EDF (увеличенная глубина резкости) или настройки фокусировки. Перемещать реальные стеклянные слайды для регулировки этих настроек не нужно.

Open tissue detection wizard (Открыть
мастер обнаружения тканей)

Параметр активен, только если создано изображение просмотра. Открывает мастер обнаружения тканей (**Tissue Detection Wizard**). Позволяет менять область, которую затем будет сканировать система. Вы можете перемещаться непосредственно к следующему или предыдущему слайду. Благодаря этому переключение слайдов выполняется быстро и удобно. Перемещать реальные стеклянные слайды для регулировки этих настроек не нужно. Этот мастер можно запускать даже во время сканирования просмотра остальных слайдов.

Save adapted scan profile (Сохранить
адаптированный
профиль
сканирования)

Параметр активен, только если адаптирован профиль сканирования. Здесь можно сохранить адаптированный профиль сканирования (адаптированный профиль сканирования отображается с помощью иконки шестеренки перед именем профиля). После

Пункт меню	Описание
	активации этой функции появится диалоговое окно Save As... (Сохранить как...), в котором можно выбрать и сохранить соответствующее имя для адаптированного профиля.
Properties (Свойства)	Позволяет просмотреть свойства профиля. Откроется средство просмотра XML-файлов со всеми сведениями о профиле сканирования. Эта информация представляет интерес только для более опытных пользователей.

19.2 ApoTome.2

19.2.1 Введение

В следующих разделах описывается, как калибровать **ApoTome** для проведения двухканального эксперимента и получать двухканальное изображение. Это изображение будет использоваться как основа для демонстрации параметров обработки изображений. После этого будет получено изображение серии срезов по оси Z, которое будет восстановлено из свертки в ApoTome.

Фазовая калибровка, если еще не проводилась, выполняется во вкладке **Locate** (Местоположение), а остальные шаги — во вкладке **Acquisition** (Получение изображений).

Калибровка фокуса сетки (Grid Focus Calibration) — важный этап. Чтобы гарантировать одинаковые оптические условия, лучше всего выполнять данную калибровку на образце, изображение которого необходимо получить в будущем. Если образец подвержен значительному обесцвечиванию, можно воспользоваться поставляемым в комплекте слайдом.

Дополнительная информация по ApoTome приводится в разделах:

- *Принцип визуализации с помощью метода структурированного освещения* [► 620]
- *Оптимальные условия для получения изображений* [► 624]
- Перечень рекомендованных объективов

19.2.2 Принцип визуализации с помощью метода структурированного освещения

Оптическая система микроскопа рассчитана на анализ очень тонких образцов. При использовании объектива с коррекцией на толщину покровного стекла все оптические вычисления выполняются для очень тонких объектов, которые располагаются непосредственно под покровным стеклом. Все объективы с коррекцией на толщину покровного стекла, производимые компанией ZEISS, оптимизированы для подобного использования и имеют оптимальную функцию рассеяния точки (PSF) для длин волн, на которые они рассчитаны.

Однако в биологических областях применения подавляющее большинство используемых образцов не соответствует этим оптимальным требованиям. Иногда используются толстые срезы биологических тканей, например для анализа клеток ткани с использованием флуоресцентных маркеров.

В таких случаях во время микроскопического анализа и особенно во время документирования, заданная фокальная плоскость скрывается частями изображения, возникающими из областей, расположенных выше и ниже фактической фокальной плоскости. В результате изображение оказывается тусклым, со сниженным контрастом и светлым фоном. В худшем случае могут быть скрыты важные структуры и детали изображения.

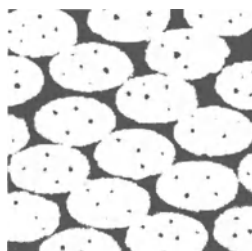


Рисунок 19.14. Входное изображение (схематически)

Данный эффект показан на представленном выше микроскопическом изображении клеточных ядер ткани. Для предотвращения или инвертирования этого эффекта можно использовать ряд методов, таких как конфокальная лазерная сканирующая микроскопия или трехмерная деконволюция.

Принцип структурированного освещения

В ApoTome 2 применяется принцип структурированного освещения. Эта технология включает в себя введение сеточной структуры с линиями определенной ширины в плоскость полевой диафрагмы осветителя на оптическом пути отраженного света. Так как полевая диафрагма осветителя сопряжена с фокальной плоскостью, во время наблюдения через окуляр видна сетка, наложенная на фактический образец.

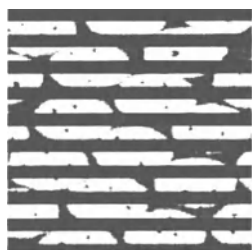
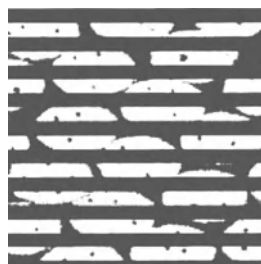


Рисунок 19.15. Изображение сетки

Изображение сетки показано на рисунке выше схематически. В действительности линии сетки намного тоньше.

Перемещение сеточной структуры

Механизм сканирования в слайдере ApoTome 2 используется для перемещения сеточной структуры в плоскости образца по меньшей мере в три определенных этапа. Сетка перемещается очень быстро (менее чем за 20 мс). Цифровое изображение поступает с каждой позиции сетки. На следующем рисунке схематически показано перемещение сетки:



Позиция 1



Позиция 2



Позиция 3

Оптический срез

Три необработанных изображения совмещаются на ПК в режиме онлайн и отображаются в виде оптического среза. Это совмещенное результирующее изображение представляет собой оптический срез образца со следующими характеристиками:

- Сеточная структура удалена из необработанных изображений.
- Части изображения вне фокуса невидимы.
- Резкость и контраст изображения усилены.
- Разрешающая способность изображения в аксиальном направлении повышена.

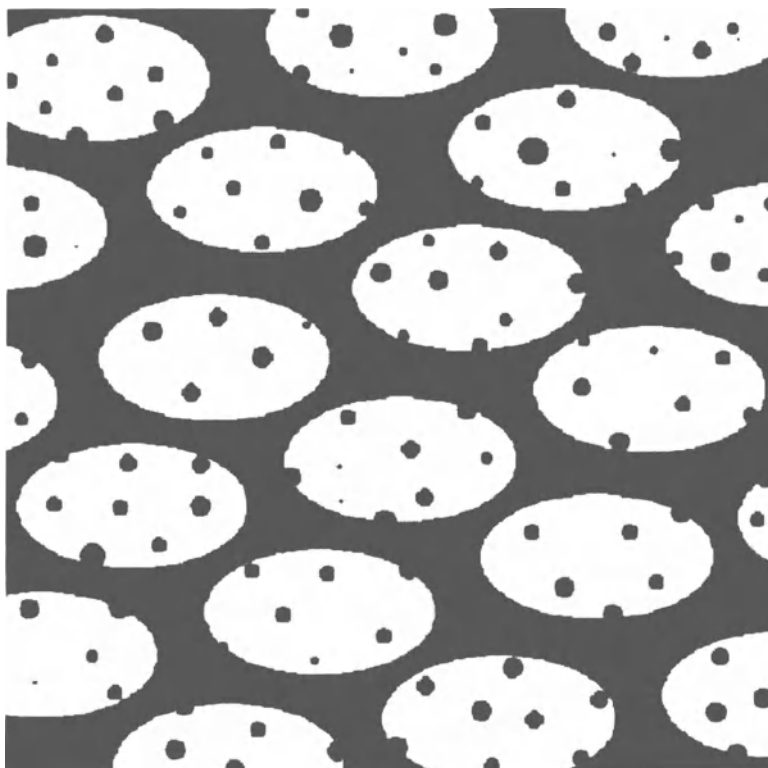


Рисунок 19.16. Выходное изображение (схематическое)

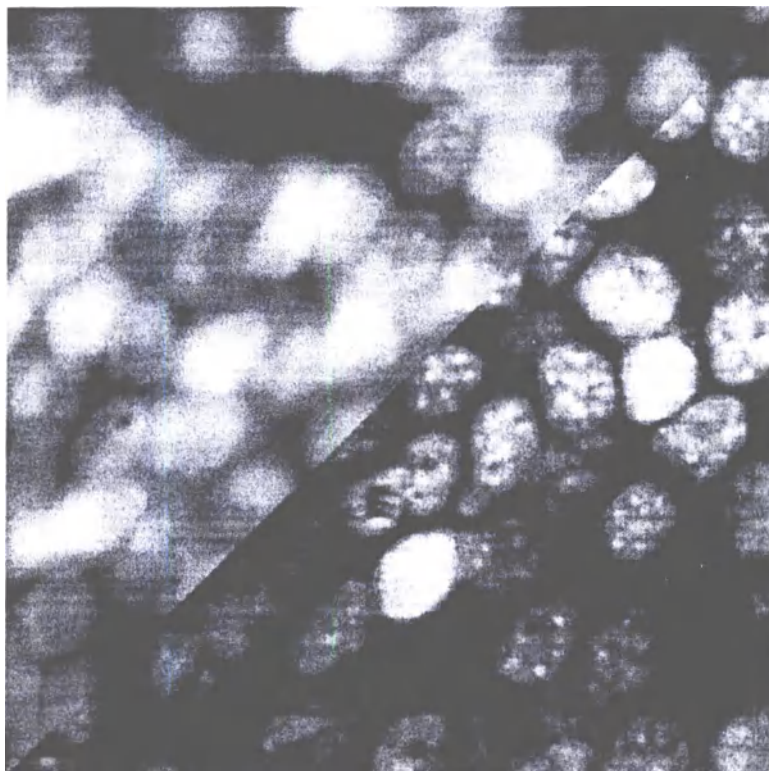


Рисунок 19.17. Изображение образца: клеточные ядра

На рисунке выше представлено черно-белое изображение клеточных ядер (срез головного мозга личинки). Сверху слева: традиционный флуоресцентный срез; снизу справа: оптический срез.

Почему результирующее изображение является оптическим срезом?

Схематическое изображение сетки

Один из возможных способов объяснить это — использовать изображение сетки в образце:

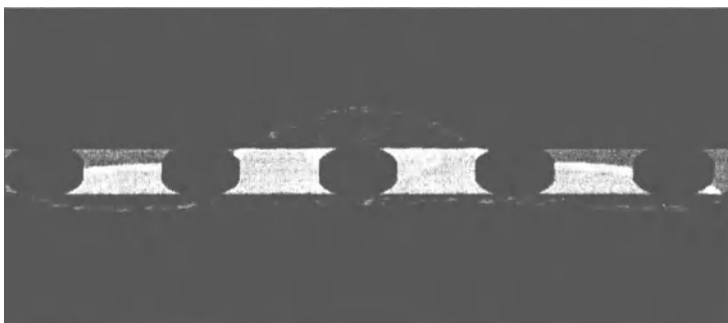


Рисунок 19.18. Изображение сетки (схематическое)

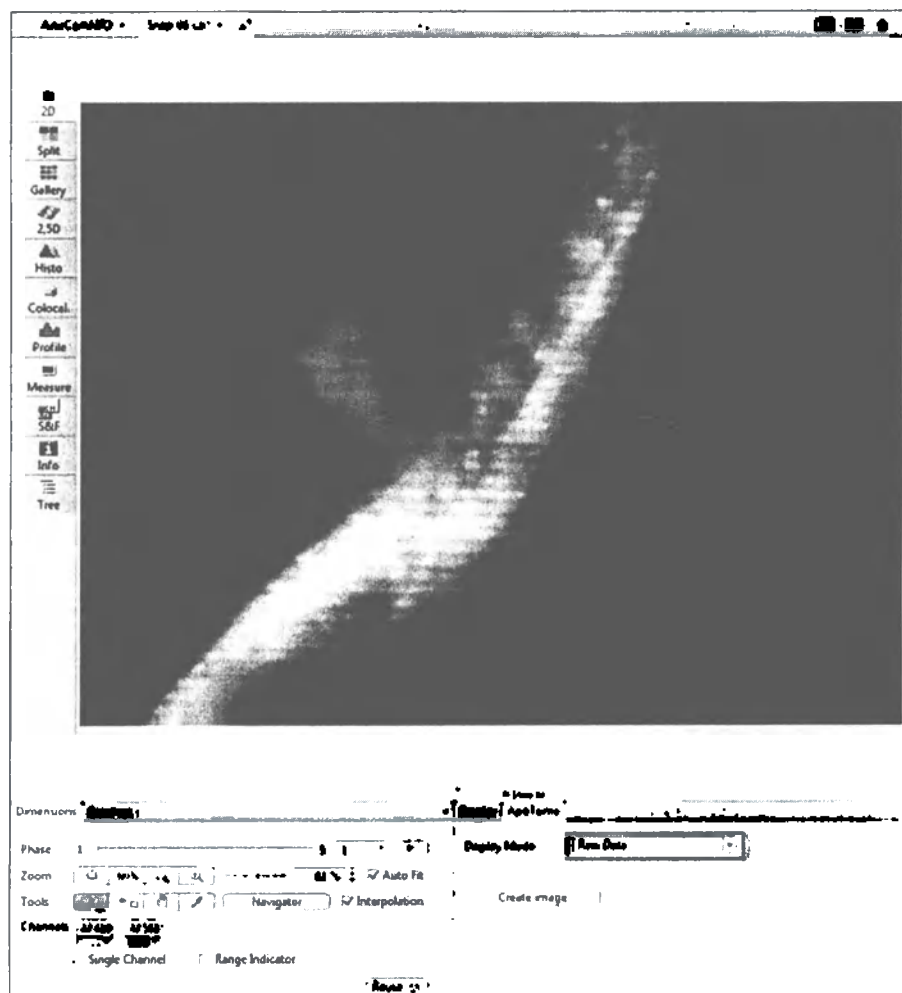
Изображение сетки предоставляет необходимые сведения о расстоянии от установленной фокальной плоскости до различных структур образца (см. рисунок выше). Некоторые структуры образца расположены в фокусе, а другие — выше или ниже фокальной плоскости и проникают в установленную фокальную плоскость.

В методе сеточной проекции используется тот факт, что изображение сетки выше и ниже фактической фокальной плоскости размыто и проникает в размытые области образца. При перемещении линии сетки на фокальной поверхности появляются значительные яркостные контрасты (= контраст).

Вне фокальной плоскости контрасты незначительны, поскольку образец и изображение сетки практически размыты. Яркостные контрасты обнаруживаются с помощью алгоритма, используемого для объединения необработанных изображений, а также удаления частей изображения, расположенных вне фокуса.

Режим исходных данных

Для просмотра исходных данных перейдите в режим отображения исходных данных **Raw Data** во вкладке **ApoTome**.



Во вкладке **Dimensions** (Измерения) появится ползунок **Phase** (Фаза). Здесь можно выбрать отдельные позиции сетки. Этот режим отображения используется для поиска ошибок, например источника остаточных полос в обработанном результирующем изображении.

19.2.3 Оптимальные условия для получения изображений

Для создания оптимальных изображений в ApoTome должны выполняться следующие требования:

- **Время экспозиции камеры:** устанавливается так, чтобы использовалось приблизительно 80% динамического диапазона камеры. Чем меньше динамический диапазон образов линий, тем зашумленнее будут результирующие изображения.
- **Правильная калибровка:** хорошие результаты достигаются только при правильно выполненной калибровке. Для калибровки желательно использовать собственный образец. Если при этом не достигаются хорошие результаты, воспользуйтесь калибровочным слайдом, поставляемым в комплекте.
- **Достаточный контраст сетки на образце:** хорошее изображение среза достигается только в том случае, если линии сетки в живом изображении четко просматриваются во всех областях объекта. При определенных обстоятельствах образцы с очень однородным окрашиванием могут не подходить для визуализации в ApoTome.
- **Избегайте вибраций** во время получения изображений, так как любое смещение позиции сетки в ходе процесса получения изображения может привести к возникновению линейных артефактов.
- **Число фаз:** несмотря на то, что три позиции сетки (также называемые фазами) могут полностью охватить структуры объекта, находящиеся в фокусе, и, следовательно, достаточны для создания оптических срезов, значительно лучшие результаты достигаются при получении 5 и более фаз. Поэтому в качестве стандарта используются 5 фаз.
- **Правильный выбор частоты сетки:** в обычных обстоятельствах наилучшие результаты достигаются при автоматическом выборе сетки. Во время работы с трудными образцами, например при слабом окрашивании, выбор другой сетки вручную может обеспечить лучшие результаты.
- **Избегайте электрических помех:** сканер ApoTome снабжен высокоточной системой управления. Во избежание неправильного позиционирования сетки избегайте воздействия электронных помех, например от близко расположенных к ApoTome сотовых телефонов.

19.2.4 Перечень рекомендованных объективов

В следующем перечне приводится общее описание рекомендованных объективов и их совместимость с некоторыми микроскопами. По ссылкам доступны подробные характеристики каждого объектива.

Общая схема

- EC Plan-Neofluar (Axio Observer / Axio Zoom.V16) *EC Plan-Neofluar* [► 626]
- LCI Plan-Neofluar (Axio Observer / Axio Zoom.V16) *LCI Plan-Neofluar* [► 626]
- Plan-Apochromat (Axio Observer / Axio Zoom.V16) *Plan-Apochromat* [► 627]
- LD LCIPlan-Apochromat (Axio Observer) *LD LCIPlan-Apochromat* [► 627]
- C-Apochromat (Axio Observer) *CApochromat* [► 627]
- LD C-Apochromat (Axio Observer) *LD CApochromat* [► 628]
- A Plan-Apochromat (Axio Observer) *a Plan-Apochromat* [► 628]
- A Plan-Fluar (Axio Observer) *a Plan-Fluar* [► 628]

Микроскопы

■ Объективы для Axio Observer.

■ Объективы для Axio Zoom.V16.

19.2.4.1 EC Plan-Neofluar

V	Числовая апертура	Immersion (Иммерсионная среда)	Сетка / толщина среза при 490 нм [RU/мкм]			DAPI с FS 34	DAPI с FS 49
			Верхняя сетка	Средняя сетка	Нижняя сетка		
10x	0,3	Воздух	2,9 / 31,9	1,7 / 18,2	0,9 / 9,9	Да	Да
20x	0,5	Воздух	2,4 / 9,2	1,4 / 5,3	0,7 / 2,9	Да	Да
40x	0,75	Воздух	1,6 / 2,8	0,9 / 1,6	0,5 / 0,9	Да	Да
40x	1,3	Масло	2,5 / 2,2	1,4 / 1,2	0,8 / 0,7	Да	Да
63x	0,95	Воздух	1,0 / 1,1	0,6 / 0,7	0,4 / 0,4	Да	Нет
63x	1,25	Масло	1,6 / 1,5	0,9 / 0,9	0,5 / 0,5	Да	Да
100x	1,3	Масло	1,0 / 0,9	0,6 / 0,5	0,4 / 0,3	Да	Да

19.2.4.2 LCI Plan-Neofluar

V	Числовая апертура	Immersion (Иммерсионная среда)	Сетка / толщина среза при 490 нм [RU/мкм]			DAPI с FS 34	DAPI с FS 49
			Верхняя сетка	Средняя сетка	Нижняя сетка		
25x	0,8	Масло, вода или глицерин	2,9 / 6,6	1,7 / 3,7	0,9 / 2,0	Да	Да
63x	1,3	Вода или глицерин	1,5 / 1,3	0,9 / 0,7	0,5 / 0,4	Да	Да

19.2.4.3 Plan-Apochromat

V	Числовая апертура	Immersion (Иммерсионная среда)	Сетка / толщина среза при 490 нм [RU/мкм]			DAPI с FS 34	DAPI с FS 49
			Верхняя сетка	Средняя сетка	Нижняя сетка		
10x	0,45	Воздух	4,2 / 20,4	2,4 / 11,5	1,3 / 6,2	Да	Да
20x	0,8	Воздух	3,2 / 4,9	1,8 / 2,8	1,0 / 1,5	Да	Да
40x	0,95	Воздух	1,6 / 1,7	0,9 / 1,0	0,5 / 0,5	Да	Да
40x	1,3	Масло	2,5 / 2,2	1,4 / 1,2	0,8 / 0,7	Да	Да
40x	1,4	Масло	2,4 / 1,8	1,4 / 1,0	0,7 / 0,6	Да	Да
63x	1,4	Масло	1,6 / 1,2	0,9 / 0,7	0,5 / 0,4	Да	Да
100x	1,4	Масло	1,0 / 0,8	0,6 / 0,5	0,4 / 0,3	Да	Да

19.2.4.4 LD LCIPlan-Apochromat

V	Числовая апертура	Immersion (Иммерсионная среда)	Сетка / толщина среза при 490 нм [RU/мкм]			DAPI с FS 34	DAPI с FS 49
			Верхняя сетка	Средняя сетка	Нижняя сетка		
25x	0,8	Масло, вода или глицерин	2,9 / 6,5	1,7 / 3,8	0,9 / 2,0	Да	Да

19.2.4.5 CApochromat

V	Числовая апертура	Immersion (Иммерсионная среда)	Сетка / толщина среза при 490 нм [RU/мкм]			DAPI с FS 34	DAPI с FS 49
			Верхняя сетка	Средняя сетка	Нижняя сетка		
10x	0,45	Вода	4,2 / 20,2	2,4 / 11,7	1,3 / 6,1	Да	Да
40x	1,2	Вода	2,1 / 1,9	1,3 / 1,1	0,7 / 0,6	Да	Да

V	Числовая апертура	Immersion (Иммерсионная среда)	Сетка / толщина среза при 490 нм [RU/мкм]			DAPI с FS 34	DAPI с FS 49
63x	1,2	Вода	1,4 / 1,3	0,8 / 0,7	0,5 / 0,4	Да	Да

19.2.4.6 LD CApochromat

V	Числовая апертура	Immersion (Иммерсионная среда)	Сетка / толщина среза при 490 нм [RU/мкм]			DAPI с FS 34	DAPI с FS 49
			Верхняя сетка	Средняя сетка	Нижняя сетка		
40x	1,1	Вода	2,1 / 2,3	1,3 / 1,4	0,7 / 0,7	Да	Да

19.2.4.7 a Plan-Apochromat

V	Числовая апертура	Immersion (Иммерсионная среда)	Сетка / толщина среза при 490 нм [RU/мкм]			DAPI с FS 34	DAPI с FS 49
			Верхняя сетка	Средняя сетка	Нижняя сетка		
63x	1,46	Масло	1,5 / 1,0	0,9 / 0,6	0,5 / 0,3	Да	Да
100x	1,46	Масло	1,0 / 0,7	0,6 / 0,4	0,3 / 0,2	Да	No (Нет)

19.2.4.8 a Plan-Fluar

V	Числовая апертура	Immersion (Иммерсионная среда)	Сетка / толщина среза при 490 нм [RU/мкм]			DAPI с FS 34	DAPI с FS 49
			Верхняя сетка	Средняя сетка	Нижняя сетка		
100x	1,45	Масло	1,0 / 0,7	0,6 / 0,4	0,3 / 0,2	No (Нет)	No (Нет)

19.2.5 Подготовка: фазовая калибровка

Перед использованием **ApoTome** для проведения экспериментов, следует установить оптимальный угол наклона сканера на **ApoTome 2**. Эта тонкая регулировка сканера проводится только один раз после установки системы. Для этого используются зеркальное предметное стекло и специальный уголкового отражатель, поставляемые в комплекте с ApoTome 2.

Калибровку необходимо выполнить только для одной сетки и одного объектива. Рекомендуется калибровать сетку для малой кратности увеличения (сетка, обозначенная литерой «L» для «малого увеличения») с использованием объектива 20х.

Позиционирование камеры также оптимизируется в диалоговом окне фазовой калибровки. Для достижения оптимальных характеристик горизонтальная плоскость камеры должна максимально точно располагаться параллельно линиям сетки ApoTome 2.

Процесс калибровки сопровождается мастером калибровки. Запустите мастер фазовой калибровки ApoTome (ApoTome Phase Wizard) в меню Acquisition (Получение изображений).

Мастер проведет вас через процесс калибровки, состоящий из пяти шагов. Следуйте указаниям в текстовом поле мастера.

i Примечание

Для выполнения фазовой калибровки потребуется поставляемое в комплекте зеркальное предметное стекло и калибровочный рефлекторный модуль (424930-9902-000). Модуль предназначен для использования с источником белого света, например **HXP120C**, и не может использоваться со светодиодным источником света **Colibri**. Если ваша система ApoTome была заказана и поставлена исключительно с Colibri, то в комплекте должен присутствовать подходящий калибровочный рефлекторный модуль (424930-9000-000). Если источник света Colibri модернизирован, а калибровочный рефлекторный модуль отсутствует, фазовая калибровка невозможна. В этом случае обратитесь к торговому представителю компании ZEISS.

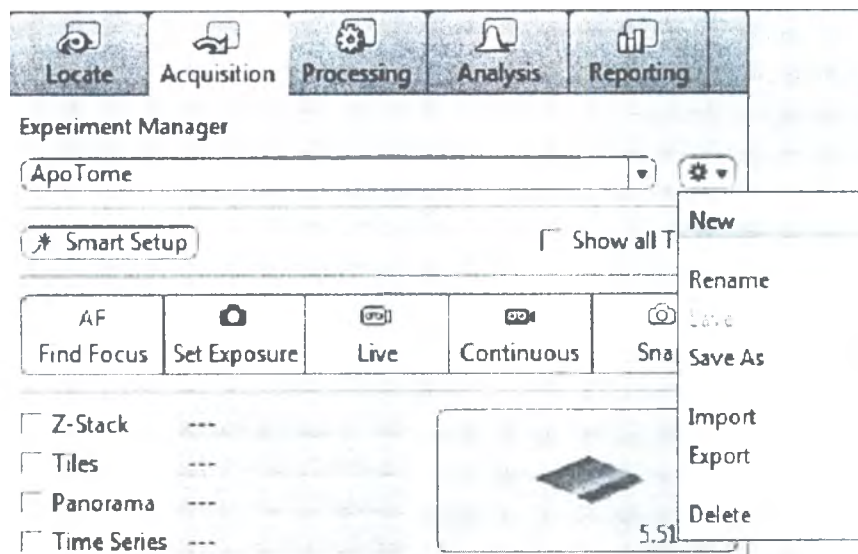
19.2.6 Шаг 1. Определение каналов с помощью Smart Setup

Цель

В этом шаге выполняется настройка двухканального эксперимента. Для этого воспользуемся функцией быстрой настройки Smart Setup. ApoTome находится в первом фиксированном положении, т. е. в пустом положении без сетки.

- Порядок действий
- 1 Поместите образец на столик микроскопа, выполните позиционирование с помощью функций вкладки **Locate** (Местоположение) и фокусировку.

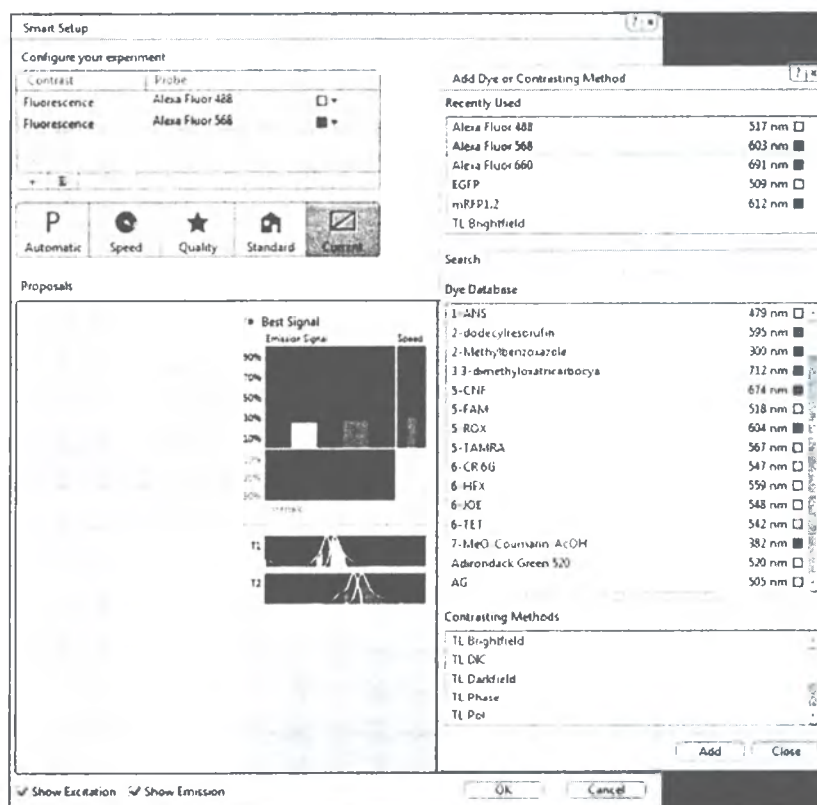
- 2 Перейдите во вкладку **Acquisition** (Получение изображений) и создайте новый эксперимент в менеджере экспериментов (Experiment Manager):



- 3 Откройте диалоговое окно **Smart Setup** (Быстрая настройка)



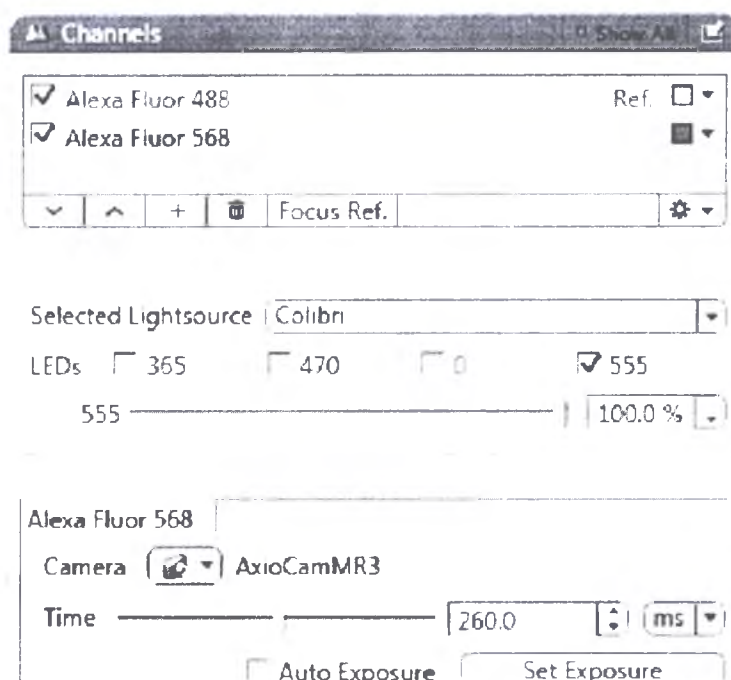
- 4 Выберите соответствующие красители (в нашем случае Alexa 488 и Alexa 568):



- 5 Закройте диалоговое окно, нажав **OK**.

В инструменте **Channels** (Каналы) появятся два канала.

6



Вы успешно установили два канала. Теперь в режиме живого изображения можно проверить фокусировку и время экспозиции для двух каналов.

19.2.7 Шаг 2. Калибровка фокуса сетки

Цель

В этом шаге выполняется калибровка позиции фокусировки сетки ApoTome для выбранных каналов. Этот шаг важен, поскольку без полноценной калибровки невозможно провести эксперимент в ApoTome. Если в важные для проведения калибровки настройки устройства (объектив, рефлекторный модуль и источник света, камера) не были внесены изменения, то выполненная калибровка остается действительной для будущих экспериментов. Тем не менее рекомендуем периодически выполнять калибровку, особенно при изменении типа анализируемого образца. Мастер проведет вас через процесс калибровки из трех простых шагов.

Порядок действий

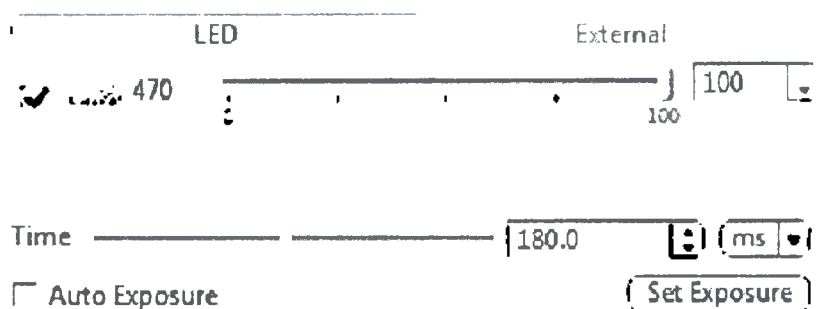
- 1 Переместите ApoTome во второе фиксированное положение так, чтобы сетка располагалась на оптическом пути.
- 2 В меню Acquisition (Получение изображений) откройте элемент **ApoTome Focus Calibration Wizard** (Мастер калибровки фокуса ApoTome).
- 3 В первом шаге выберите канал, который необходимо откалибровать.

Alexa Fluor 488
Alexa Fluor 568

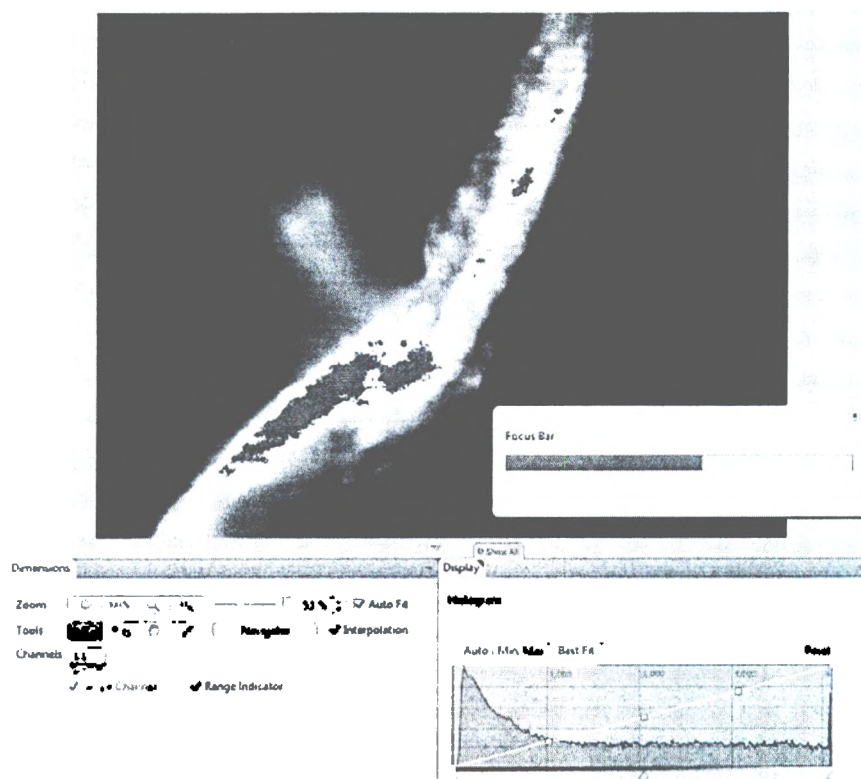
- 4 Для перехода в следующий шаг нажмите кнопку **Next** (Далее).

На экране появится **живое изображение**. Выполните фокусировку образца. Сетка ApoTome перемещена в крайнее положение, чтобы вам было легче сфокусировать образец. Если вы все же наблюдаете линии сетки или что-то, что вы не можете полностью устранить, если вы используете, например, объектив с увеличением 100x, нажмите на одну из кнопок **Grid To Start** (Переместить сетку в начало) или **Grid To End** (Переместить сетку в конец) и используйте положение, при котором видно минимальное количество линий сетки.

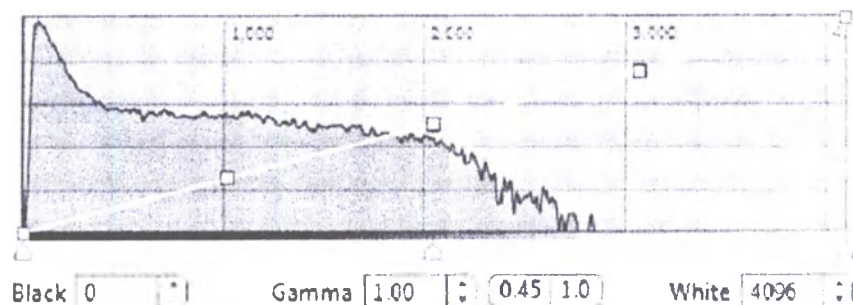
- 5 Слева находится опция настройки времени экспозиции и, если требуется, интенсивности освещения (только с соответствующими источниками света).



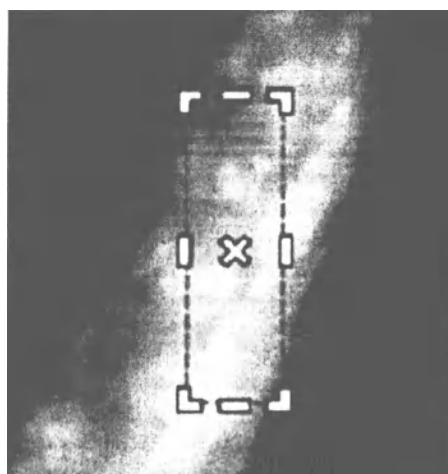
- 6 Для корректной настройки времени экспозиции выберите отображение насыщенности во вкладке **Dimensions** (Измерения). Области, покрытые красным цветом, обозначают насыщенные пиксели.



- 7 Соответствующим образом уменьшите время экспозиции. В идеальном случае приблизительно 70% гистограммы заполнено светлой областью образца.



- 8 Расположите прямоугольник на живом изображении и отрегулируйте его размер так, чтобы он охватывал относительно однородные флуоресцентные структуры и не захватывал фон. Фокус сетки определяется только в пределах этого прямоугольника.



- 9 Нажмите кнопку **Next** (Далее) для перехода к последнему шагу.
- 10 Теперь нажмите кнопку **Start Full Scan** (Переместить сетку в начало), чтобы начать поиск фокуса сетки.
- Контраст сетки отобразится в гистограмме.

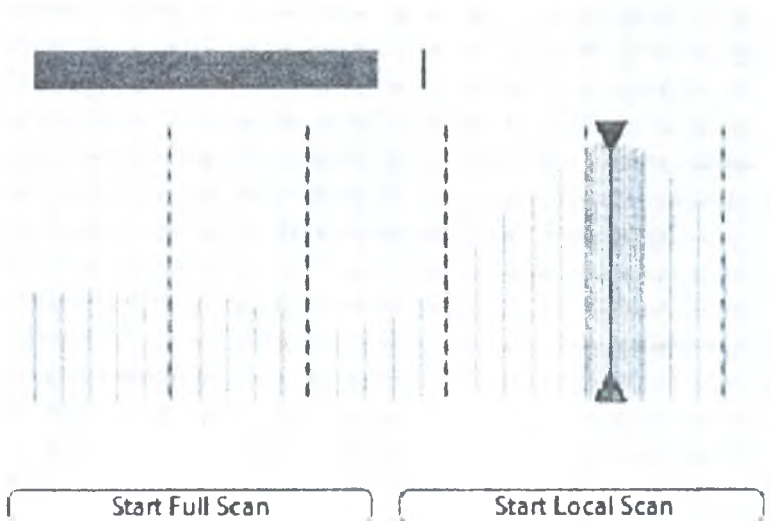


11

Start Full Scan

Start Local Scan

Более точная фокусировка достигается нажатием кнопки **Start Local Scan** (Начать локальное сканирование).



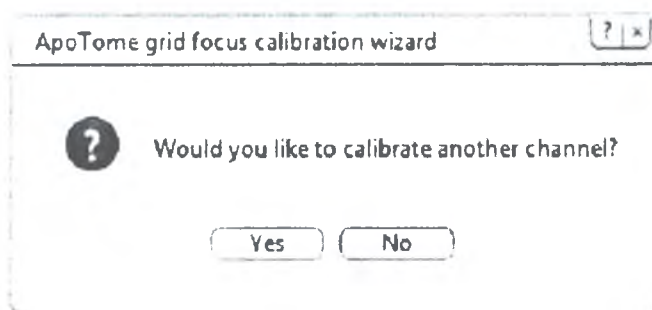
Однако использовать ее рекомендуется только для образцов, не подверженных обесцвечиванию. У образцов, значительно подверженных обесцвечиванию, результатами **локального сканирования** (Local Scan) станут достаточно низкие значения интенсивности, искажающие калибровку.

12 Нажмите кнопку **Finish** (Готово).

13 Для выполнения калибровки второго канала нажмите кнопку **Yes** (Да) в ответ на вопрос "Do you want to calibrate another channel?" («Откалибровать второй канал?») в появившемся диалоговом окне.

После этого мастер возвратится к шагу 1.

14 По завершении калибровки всех каналов закройте мастер, нажав кнопку **No** (Нет).



Вы успешно выполнили калибровку фокуса сетки. Теперь перейдите к следующему шагу.

19.2.8 Шаг 3. Проведение эксперимента в ApoTome

Цель

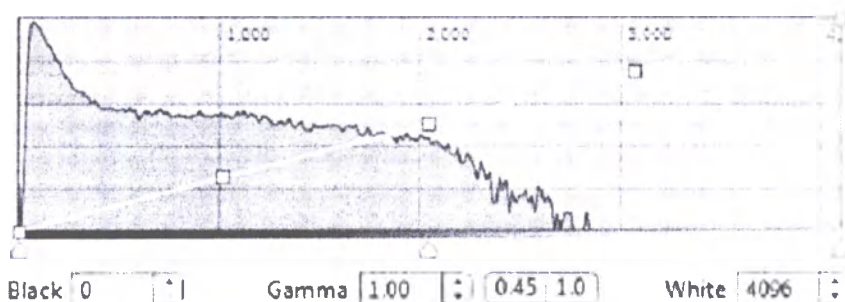
В этом шаге будет получено изображение для двухканального эксперимента. Будут использоваться каналы, установленные в шаге 1. Также необходимо использовать объектив, с помощью которого выполнялась калибровка фокуса сетки.

Порядок действий 1 Установите необходимый образец в держатель для слайдов.

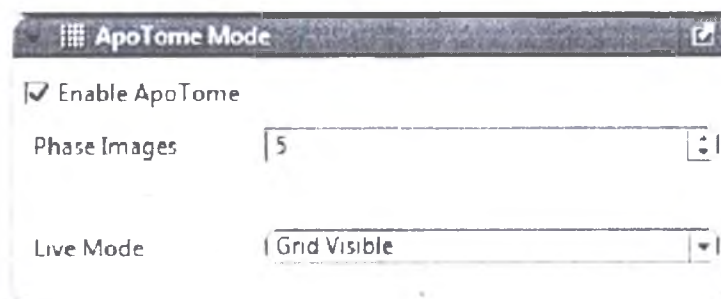
- Откройте изображение в режиме **Live** (Живое изображение) и сфокусируйте образец.



- Установите время экспозиции для двух каналов так, чтобы было заполнено приблизительно 70% гистограммы.



- Закройте живое изображение, чтобы защитить образец.
- Откройте инструмент **ApoTome Mode** (Режим ApoTome) во вкладке **Acquisition** (Получение изображений) и активируйте опцию **ApoTome**.



- Запустите процесс получения изображения, нажав кнопку **Snap** (Моментальный снимок).

В итоге вы получили двухканальное изображение вашего образца.

7



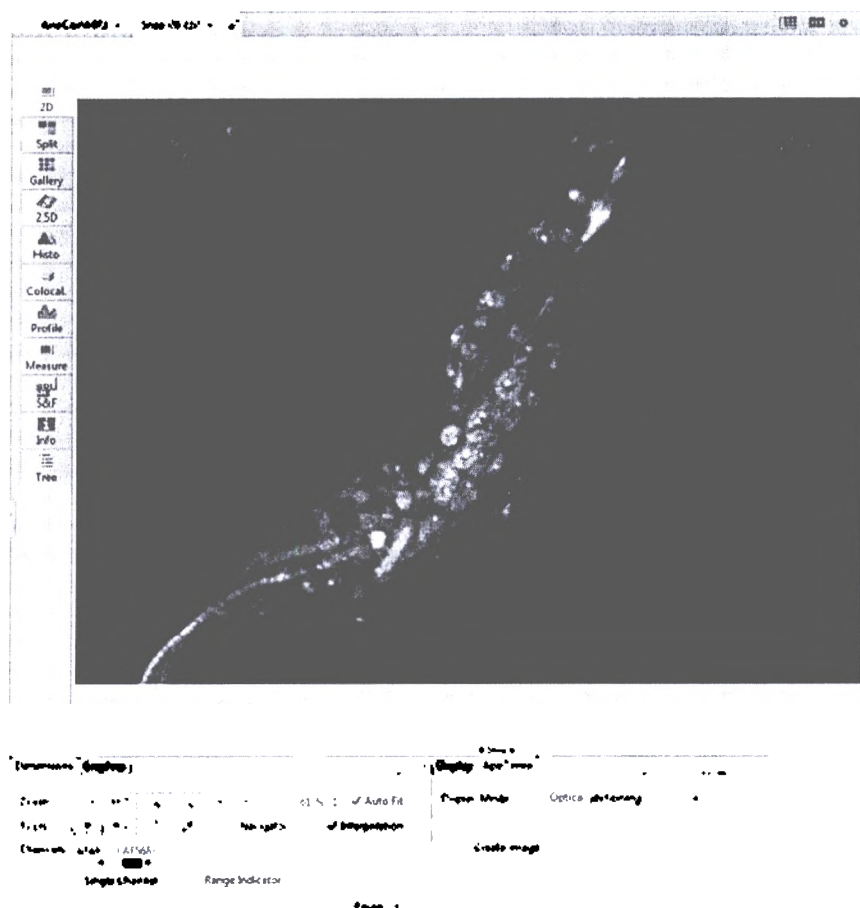
Вы успешно провели эксперимент в ApoTome.

19.2.9 Шаг 4. Обработка результирующего изображения

Цель

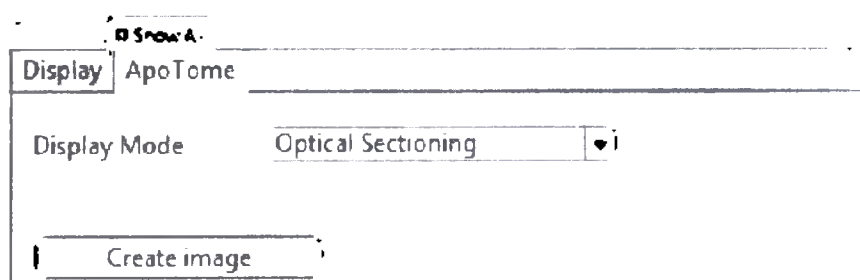
Изображения в ApoTome, полученные во вкладке **Acquisition** (Получение изображений), всегда принимают форму исходных данных. В этом шаге с помощью изображения, полученного в шаге 3, мы рассмотрим доступные опции отображения исходных изображений ApoTome. Также мы создадим обработанное результирующее изображение, которые вы в дальнейшем сможете дополнительно обработать.

Необходимые предварительные условия ■ Для выполнения операций в этом шаге необходимо открыть окно двухмерной проекции (2D).



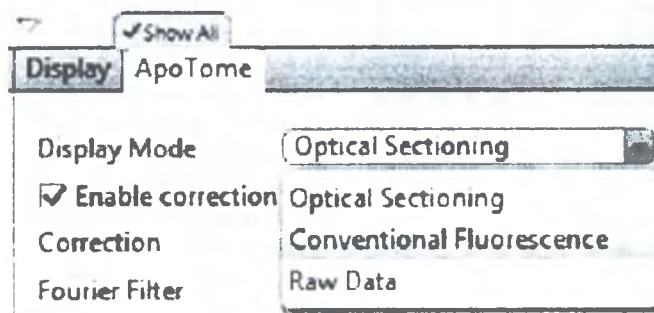
Порядок действий 1 В центральной области экрана перейдите во вкладку **ApoTome**. Эта опция отображается только для необработанных изображений ApoTome.

Если режим Show all (Показать все) отключен, вы увидите две опции: настройки режима отображения **Display Mode** и кнопку **Create Image** (Создать изображение).

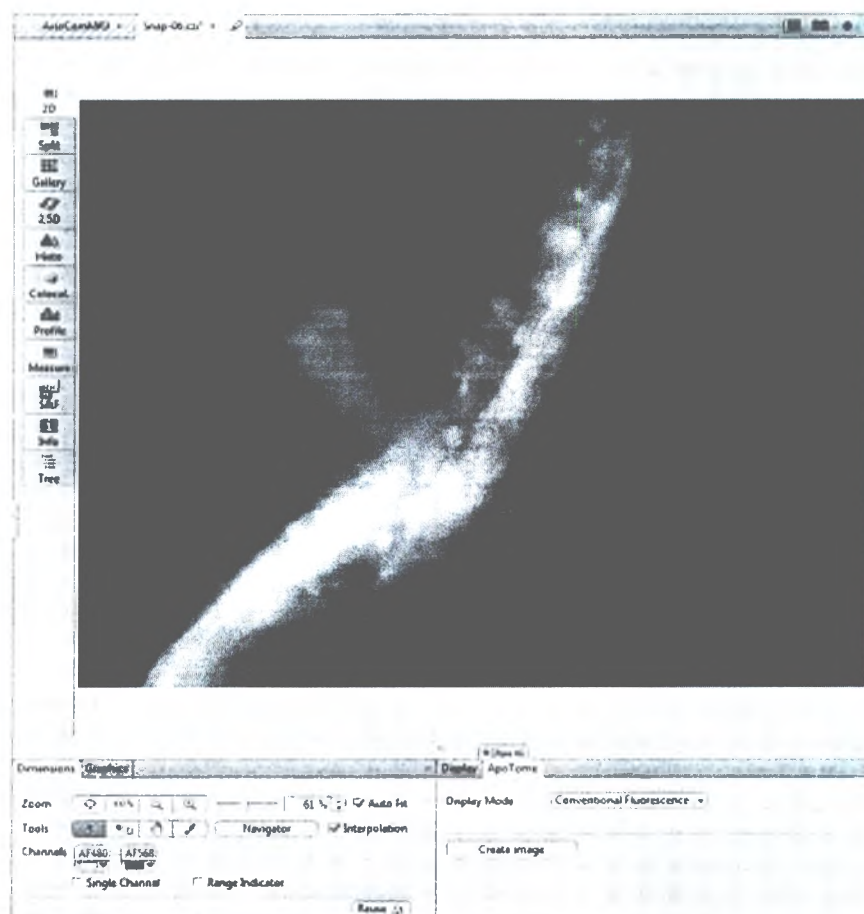


По умолчанию в выпадающем списке Display Mode (Режим отображения) выбран вид **Optical Section** (Оптический срез).

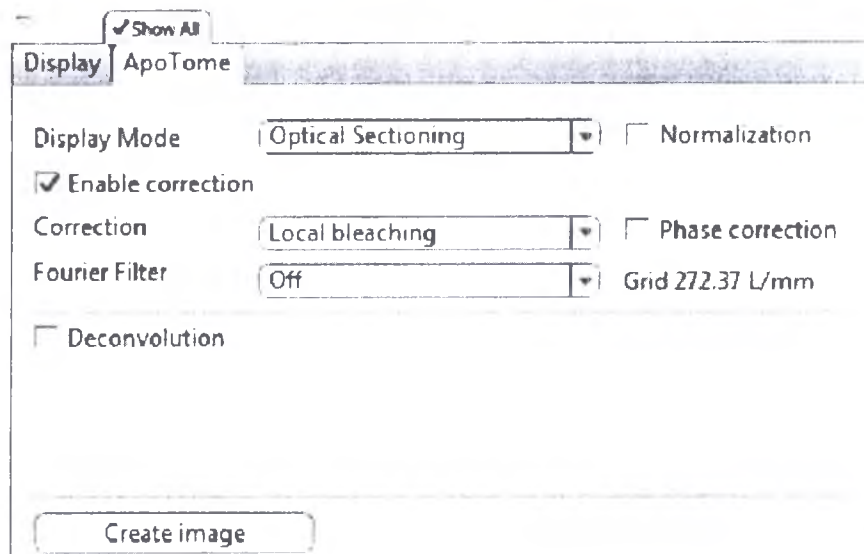
- 2 Из выпадающего списка **Display Mode** (Режим отображения) выберите опцию **Conventional Fluorescence** (Стандартная флуоресценция).



Теперь изображение отображается не в виде оптического среза, а как стандартное флуоресцентное изображение («широкопольное»).



- 3 Для доступа к дополнительным настройкам расчета изображения оптического среза включите режим **Show All** (Показать все).



Примечание

Основная причина возникновения линейных артефактов — обесцвечивание сигнала флуоресценции во время получения изображений сетки (= фазовых изображений). В зависимости от степени обесцвечивания, в результирующем изображении во время объединения изображений сетки могут появиться тонкие линейные артефакты. Однако они легко устраняются.

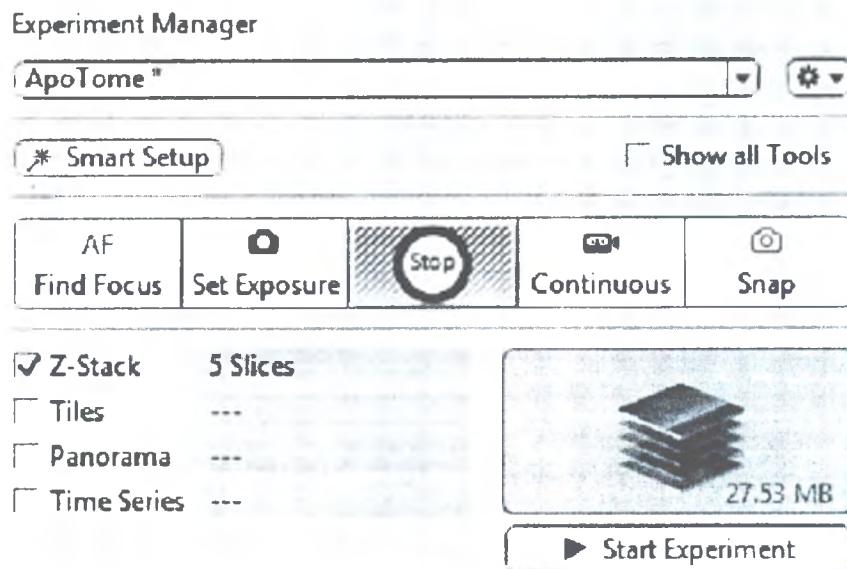
- 4 Чтобы увидеть разницу между скорректированным и некорректированным изображением, отключите опцию **Enable Correction** (Активировать коррекцию). Подробная информация по отдельным опциям приведена в интерактивной справке.
- 5 Если вы этого еще не сделали, активируйте коррекцию опцией **Local Bleaching** (Локальное обесцвечивание).
- 6 Создайте новое обработанное результирующее изображение, нажав кнопку **Create Image** (Создать изображение).

19.2.10 Шаг 5. Получение серии срезов по оси Z

Цель

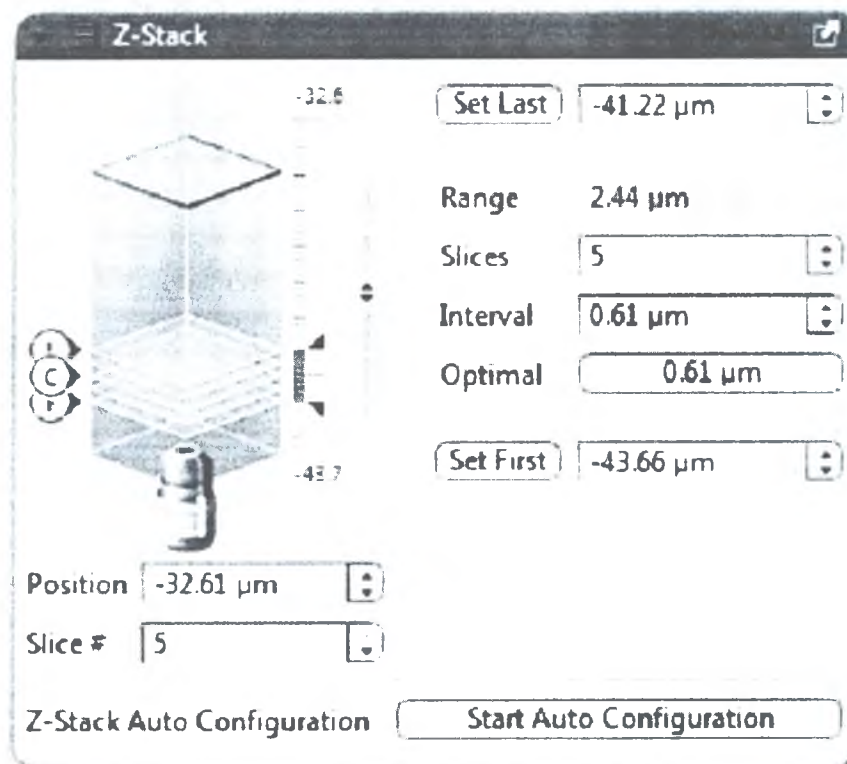
В этом шаге будет получено изображение серии срезов по оси Z с теми же настройками, что и в шаге 3.

- Порядок действий 1 Во вкладке **Acquisition** (Получение изображений) в менеджере экспериментов (Experiment Manager) активируйте опцию **Z-Stack** (Серия срезов по оси Z).



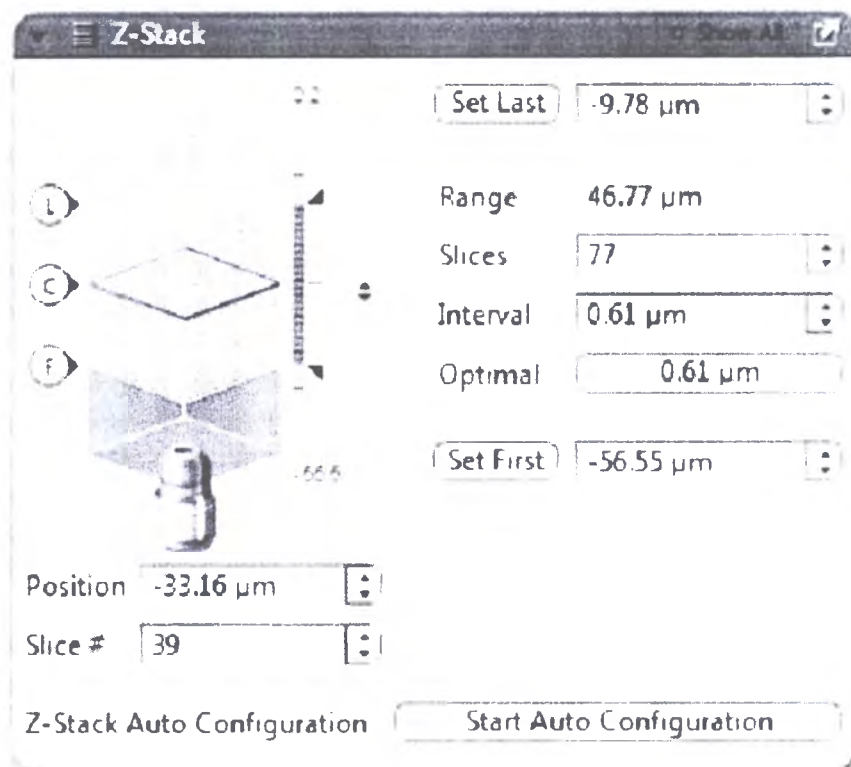
- 2 Откройте инструмент Z-Stack (Серия срезов по оси Z).

= Multidimensional Acquisition



- 3 Включите **режим живого изображения** (Live Mode) и определите измерения серии срезов по оси Z для вашего образца. Для трехмерного захвата всего объекта следует определить верхний и нижний пределы так, чтобы структуры объекта больше не находились в фокусе.

Установите интервал между отдельными плоскостями по оси Z с помощью кнопки **Optimal** (Оптимальный).



- 4 Запустите процесс получения изображения, нажав кнопку **Start Experiment** (Начать эксперимент).

Ход проведения эксперимента отображается с помощью индикатора выполнения в строке состояния:



Вы успешно получили изображение серии срезов по оси Z. Сохраните результирующее изображение под соответствующим именем в меню **File | Save** (Файл | Сохранить) (**Ctrl+S**).

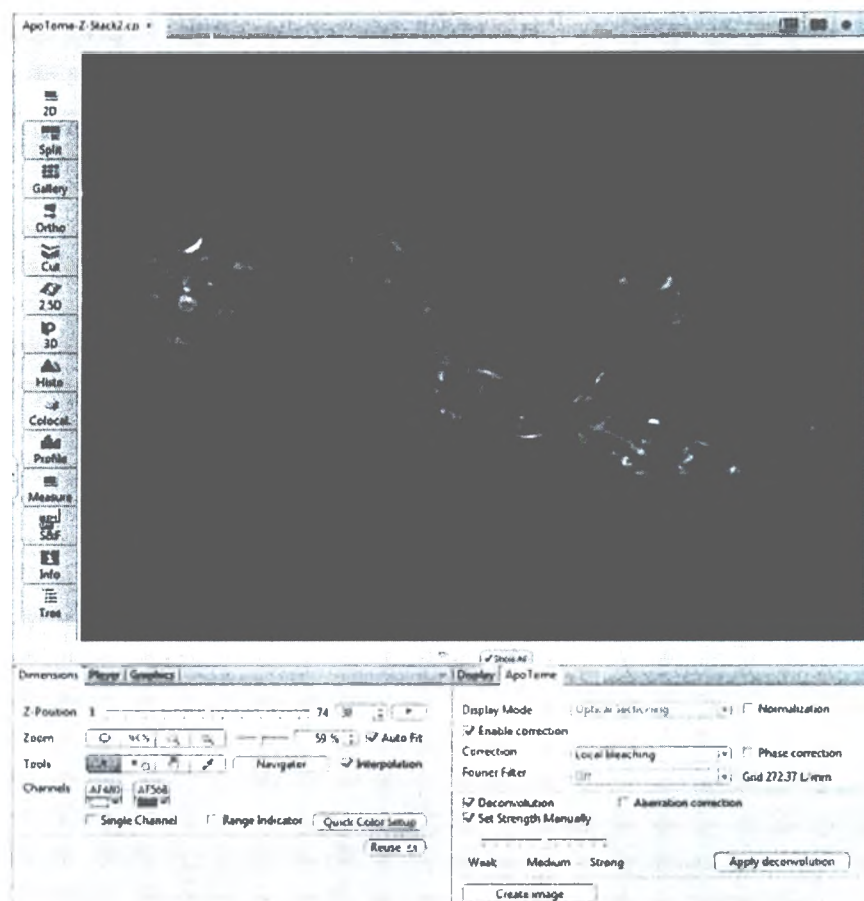
19.2.11 Шаг 6. Выполнение деконволюции в ApoTome

Цель

В этом шаге, в ApoTome, выполняется деконволюция изображения серии срезов по оси Z, полученного в шаге 5. Это позволит значительно улучшить качество изображения, которое недоступно при использовании обычных функций обработки ApoTome.

Необходимые предварительные условия ■ Изображение серии срезов по оси Z должно быть выведено на передний план и открыто в окне двухмерной проекции (2D). Перейдите во вкладку **ApoTome** (опция просмотра). Убедитесь, что включен режим **Show All** (Показать все).

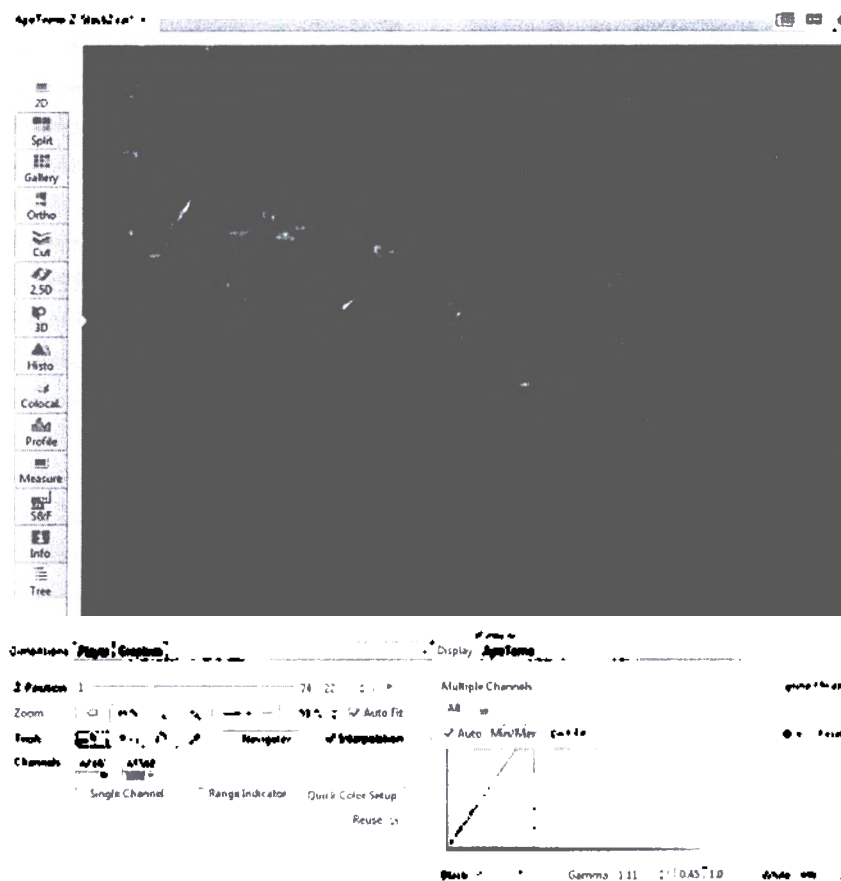
Порядок действий 1 Установите флажок **Deconvolution** (Деконволюция).



Убедитесь, что также активирована опция **Set Strength Manually** (Установить силу вручную). Ползунок **Strength** (Сила) установлен на **Medium** (Средняя) по умолчанию. Пока оставьте эту настройку без изменений.

2 Нажмите кнопку **Apply deconvolution** (Применить деконволюцию).

В зависимости от размера изображения и характеристик компьютера обработка займет от нескольких секунд до нескольких минут. Не забудьте также отрегулировать яркость и контраст, используя настройки во вкладке **Display** (Отображение) (с помощью кнопок **Min/Max** (Мин/Макс)).

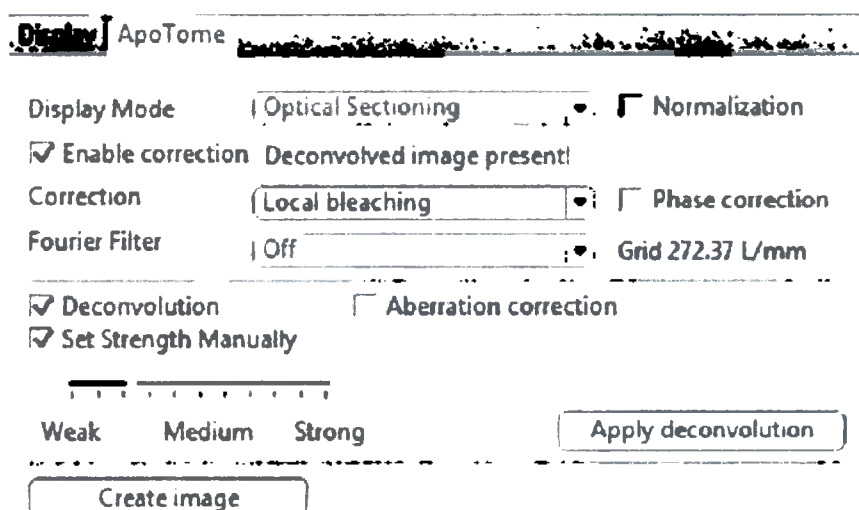


- 3 Просмотрите полученную серию срезов по оси Z с помощью ползунка Z-Position (Позиция по оси Z) во вкладке **Dimensions** (Измерения).

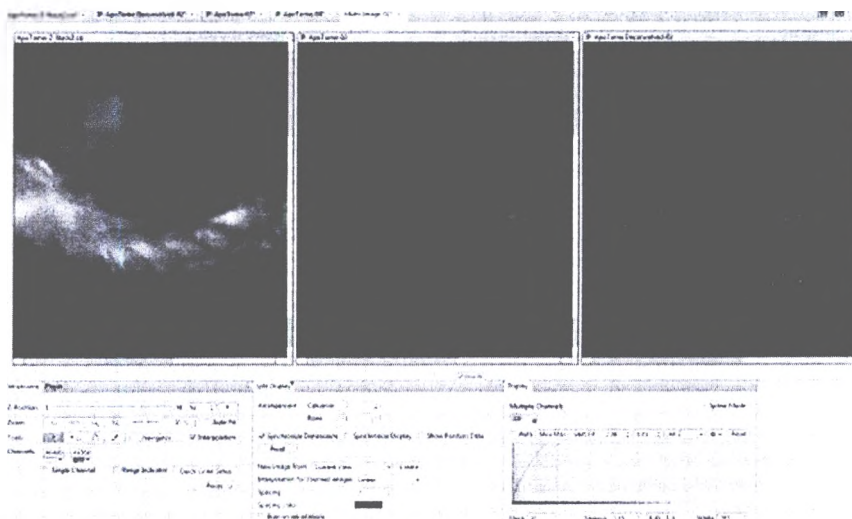
- 4 Измените настройку **Strength** (Сила) во вкладке **ApoTome** до заметного улучшения качества изображения и исчезновения искажающего фонового шума.



- 5 Чтобы сохранить полученное изображение в отдельном графическом документе, нажмите кнопку **Create image** (Создать изображение).



- 6 В режиме Splitter (Разделенный экран) можно сравнить результирующее изображение с широкопольным и изображением, обработанным в ApoTome.



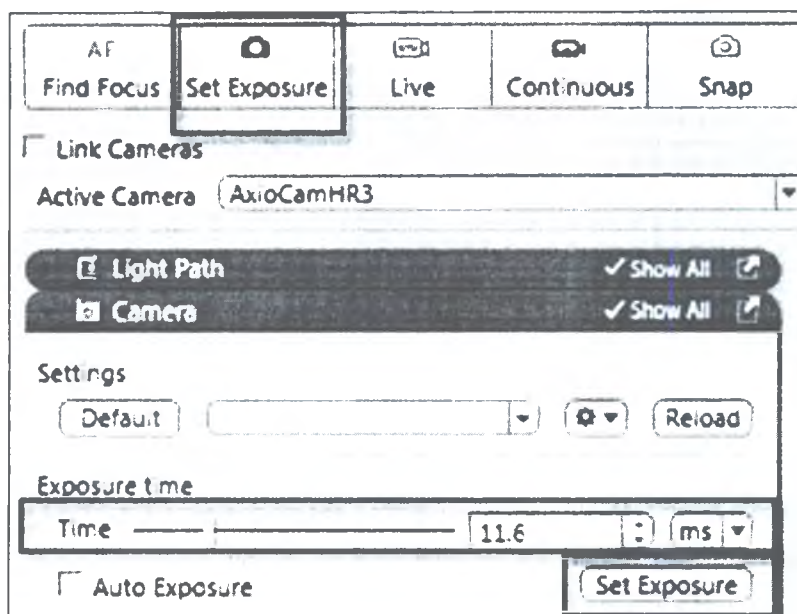
Вы успешно выполнили деконволюцию в ApoTome, создали результирующее изображение и сравнили разные результирующие изображения.

20 Часто задаваемые вопросы

20.1 Что делать, если изображение слишком темное?

Попробуйте увеличить время экспозиции следующими способами:

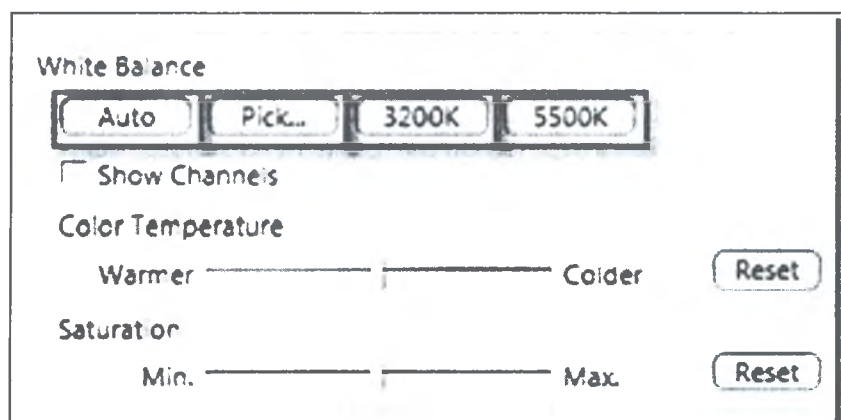
- Во вкладке **Locate** (Местоположение) нажмите кнопку **Set Exposure** (Установить экспозицию). Правильное время экспозиции будет рассчитано автоматически.
- В инструменте **Camera** (Камера) вручную перемещайте ползунок **Time** (Время) до достижения желаемого результата.



- В меню **General View Options | Display** (Опции общего вида | вкладка **Отображение**) настройте кривую отображения, см. раздел «Настройка живого изображения» [► 34].

20.2 Как можно сбалансировать цвет изображений?

Для автоматической или ручной настройки баланса белого обязательно используйте цветную камеру. В меню **Left Tool Area | Locate | Camera** (Левая область инструментов | вкладка Местоположение | инструмент Камера) появится раздел **White Balance** (Баланс белого). В нем можно настроить баланс белого одним из следующих методов:



Метод Auto (Автоматически):

- Порядок действий
- 1 Удалите образец из поля обзора окна **Live** (Живое изображение), чтобы отображался только светлый фон (по существу, источник света).
 - 2 Нажмите кнопку **Auto** (Автоматически).
 - 3 Баланс белого будет рассчитан автоматически. После чего поместите образец обратно в поле обзора.

Метод Interactive/Pick... (Интерактивный/Выбор цвета...)

- Порядок действий
- 1 Нажмите кнопку **Pick...** (Выбрать цвет...).
 - 2 Нажмите на белую область окна живого изображения (**Live**), которая должна быть представлена как белая.
- Эта область будет использоваться в качестве эталонной для баланса белого.

Метод 3200K:

Используйте этот метод при работе с галогенной лампой.

- Порядок действий
- 1 Установите цветовую температуру источника света на 3200K, нажав кнопку **3200K**, расположенную на корпусе микроскопа.
 - 2 Нажмите кнопку **3200K**.

Эффективность этого метода в основном зависит от качества/возраста используемой лампы. Если качество воспроизведения цвета не отвечает ожиданиям, обратитесь к методам **Auto** (Автоматически) или **Interactive/Pick...** (Интерактивный/Выбор цвета...), описанным выше.

Метод 5500K:

Используйте этот метод при работе со светодиодным источником света.

- Порядок действий
- 1 Нажмите кнопку **5500K**.
 - 2 Если качество воспроизведения цвета не отвечает ожиданиям, обратитесь к методам **Auto** (Автоматически) или **Interactive/Pick...** (Интерактивный/Выбор цвета...), описанным выше.

Если ни один из вышеописанных методов не обеспечивает удовлетворительного результата, можно вручную отрегулировать температуру цвета ползунком **Color Temperature**.

20.3 Откуда на изображении появляется пыль или тень, если используемый образец чист?

Если пыль присутствует не на образце, то лучший способ — очистить оптические элементы микроскопа. Однако если это проблематично, можно выполнить коррекцию равномерности освещения, как показано ниже. Это решение имеет некоторые ограничения, особенно, если пыль очень темная или плотная.

- Порядок действий
- 1 Удалите образец из поля обзора, чтобы виден был только источник света/пыль.

- 2 Нажмите кнопку **Channel Specific** (Поканально) в разделе **Post Processing** (Постобработка) инструмента **Camera** (Камера).



- 3 Поместите образец обратно в поле обзора.

20.4 Почему изображение выглядит так, словно чем-то прожжено (т. е. присутствует тень от предыдущего образца)?

Убедитесь, что коррекция равномерности освещения предыдущего эксперимента не выполнялась.

Порядок действий

- 1 В инструменте **Camera** (Камера) откройте раздел **Post Processing** (Постобработка).
- 2 Уберите флажок **Shading Correction** (Коррекция равномерности освещения).



20.5 Как исправить оттенок градиента цвета?

Для исправления оттенка градиента цвета можно выполнить следующее:

Порядок действий

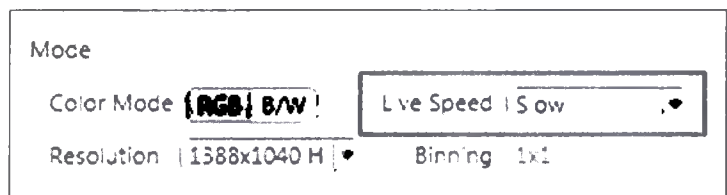
- 1 Удалите образец из поля обзора, чтобы виден был только источник света.
- 2 Нажмите кнопку **Channel Specific** (Поканально) в разделе **Post Processing** (Постобработка) инструмента **Camera** (Камера).



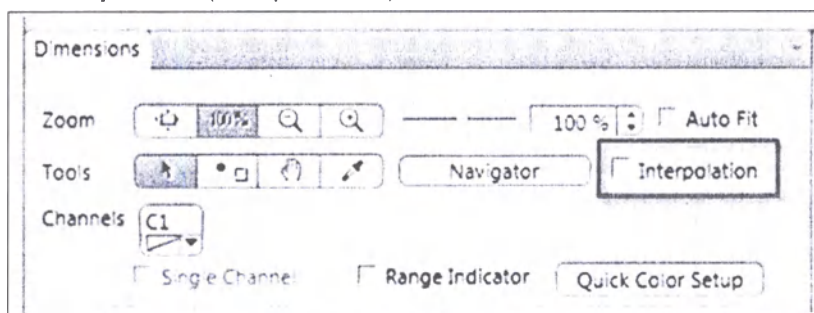
- 3 Поместите образец обратно в поле обзора.
- 4 Настройте баланс белого (**White Balance**), см. раздел «Как можно сбалансировать цвет изображений?» [► 646]

20.6 Что делать, если живое изображение низкого качества и пикселизировано?

- Порядок действий
- 1 В инструменте **Camera** (Камера) раздела **Mode** (Режим) в выпадающем списке **Live Speed** (Скорость передачи живого изображения) выберите строку **Slow** (Медленно).



- 2 Щелкните правой кнопкой мыши по живому изображению и выберите **Fit to View** (Подогнать по размеру окна).
- 3 Также можно во вкладке **Dimensions** (Измерения) установить флажок **Interpolation** (Интерполяция).

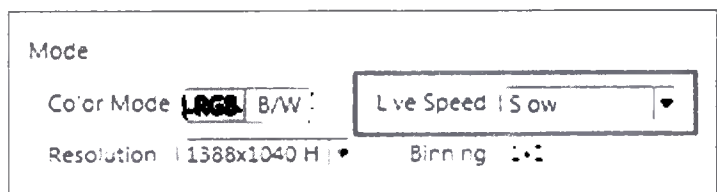


20.7 Как исправить медленную передачу живого изображения?

Решение А

Возможно, задана слишком медленная скорость передачи живого изображения. Увеличьте скорость передачи живого изображения (Live Speed).

- Порядок действий
- 1 В инструменте **Camera** (Камера) раздела **Mode** (Режим) в выпадающем списке **Live Speed** (Скорость передачи живого изображения) выберите более высокую скорость. В зависимости от используемой камеры доступны три варианта: **Slow** (Медленная), **Medium** (Средняя), **Fast** (Быстрая).

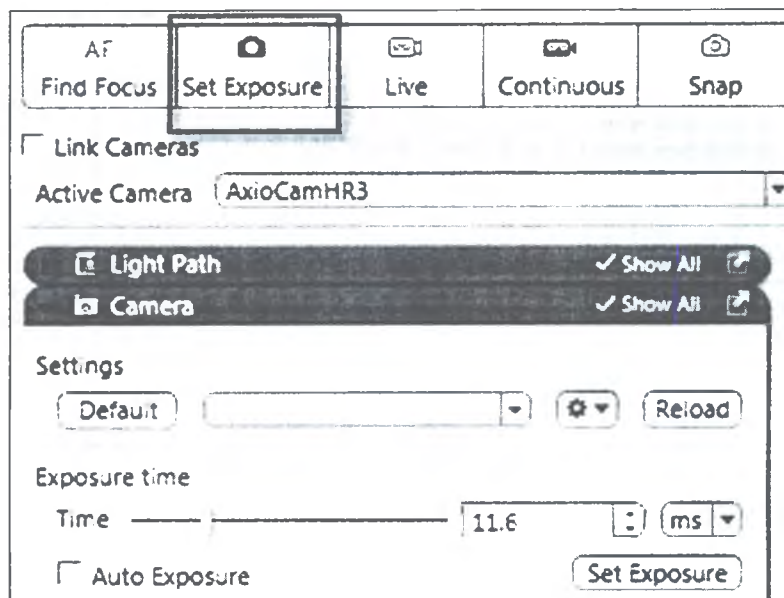


Решение В

Возможно, установлено слишком большое, неподходящее время экспозиции. Оптимизируйте настройки в инструменте **Camera** (Камера) раздела **Exposure time** (Время экспозиции).

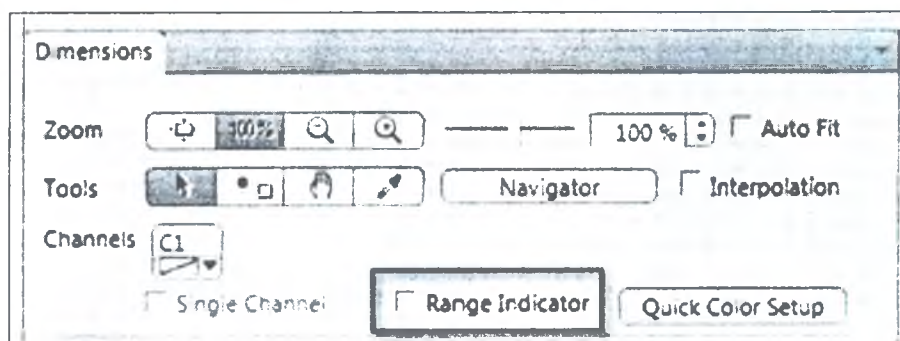
- Порядок действий
- 1 Во вкладке **Locate** (Местоположение) нажмите кнопку **Set Exposure** (Установить экспозицию).
 - 2 Или же в инструменте **Camera** (Камера) нажмите кнопку **Set Exposure** (Установить экспозицию).

- 3 Вручную перемещайте ползунок **Time** (Время) до достижения желаемого результата.



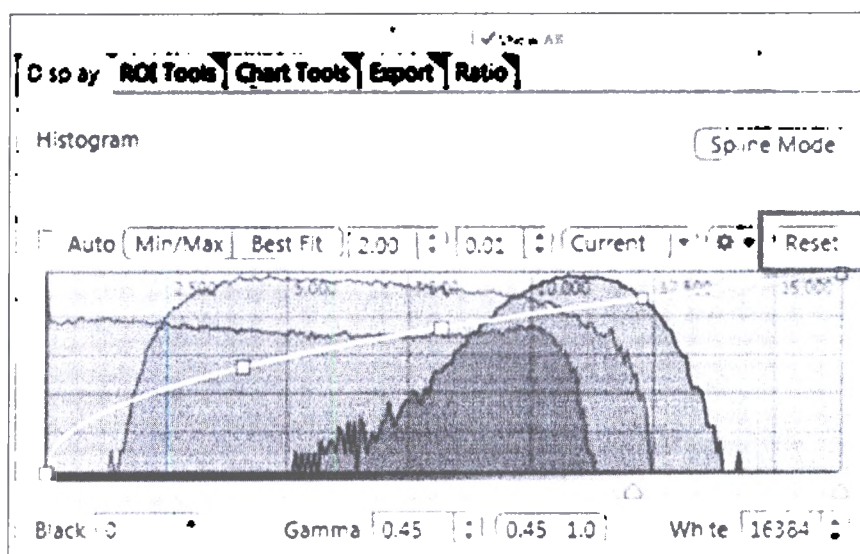
20.8 Что делать, если живое изображение большей частью красное/синие?

Проверьте, установлен ли флажок **Range Indicator** (Индикатор экспонирования). Если это так, дисплей переключится в одноканальный режим (**Single Channel**). Отобразится монохромный канал. Одновременно вы увидите области, окрашенные в красный, где датчик камеры насыщен. Области, в которых значения пикселей равны 0, окрашены в синий. Если проблема решена, уберите флажок.



20.9 Что делать, если живое изображение остается черным или белым после настройки экспозиции?

Убедитесь, что кривая отображения не примыкает к правой/левой границе. Попробуйте восстановить настройки кривой отображения по умолчанию, нажав кнопку **Reset** (Сброс) во вкладке **Display** (Отображение).

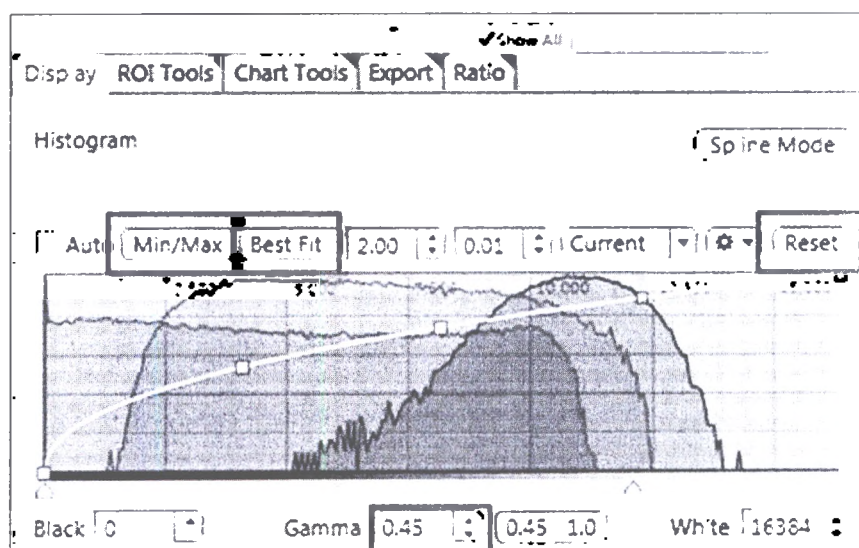


20.10 Почему живое изображение отображается в предельных цветах по сравнению с тем, что я наблюдаю в окуляры?

Причиной может быть неотрегулированная кривая отображения.

Порядок действий

- 1 Нажмите кнопку **Reset** (Сброс).
- 2 Нажмите кнопку **0.45** или установите значение гаммы (Gamma) на 0,45.
- 3 Кроме того, вы можете нажать кнопку **Min/Max** (Мин/Макс) или **Best Fit** (Оптимальная подгонка).

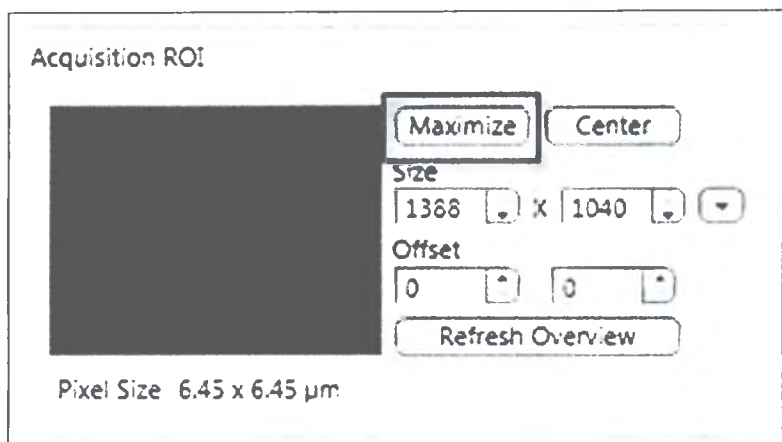


20.11 Почему разрешение изображения ниже заявленных характеристик камеры?

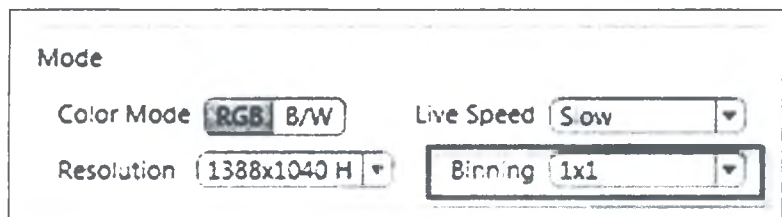
Возможно, выбрана неправильная или неподходящая настройка.

Порядок действий

- 1 В инструменте **Camera** (Камера) раздела **Acquisition ROI** (Получение изображения области интереса) нажмите кнопку **Maximize** (Максимизировать).



- 2 В разделе **Mode** (Режим) убедитесь, что параметр **Binning** (Биннинг) установлен на 1x1.



20.12 Что делать, если живое изображение расфокусировано?

Повторно выполните фокусировку образца в микроскопе. В качестве дополнительной помощи вы также можете использовать панель фокусирования.

Порядок действий

- 1 Откройте контекстное меню, щелкнув правой кнопкой мыши по **живому изображению**.
- 2 Выберите элемент **Focus Bar** (Панель фокусирования).

В живом изображении отобразится **панель фокусирования**.

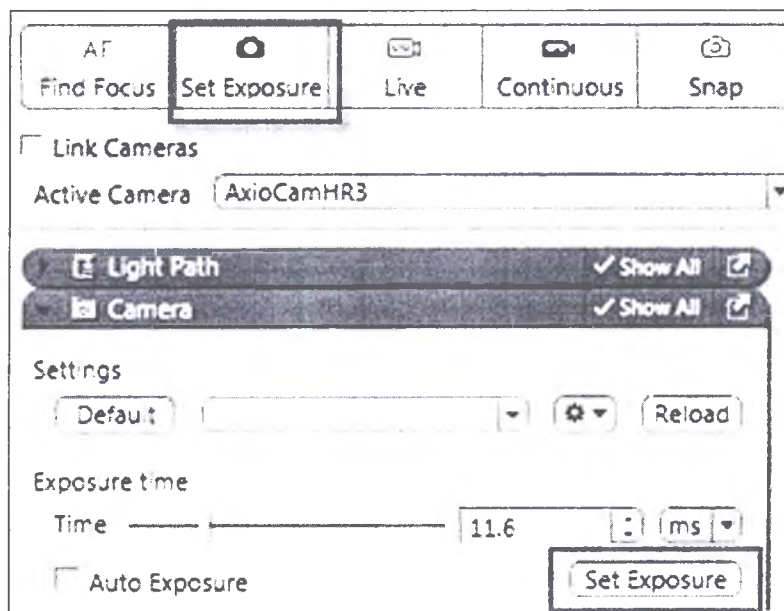
20.13 Почему цвет изображения отличается от наблюдаемого в окуляры?

В большинстве случаев это зависит от цвета используемого источника света. В следующей инструкции предполагается, что используемый источник света установлен на белый.

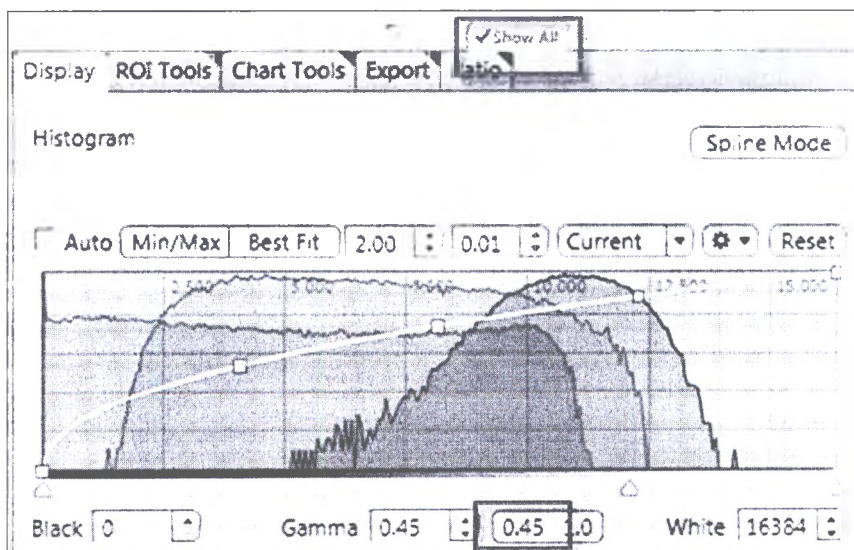
- Порядок действий
- 1 Нажмите кнопку **Default** (По умолчанию) в инструменте **Camera** (Камера) раздела **Settings** (Настройки) для восстановления заводских настроек камеры.



- 2 Нажмите кнопку **Set Exposure** (Установить выдержку).



- 3 Во вкладке **Display** (Отображение) нажмите кнопку **0.45**. Если эта кнопка не отображается, включите режим Show all (Показать все).



A**ApoTome —
коррекция
локального
обесцвечивания**

Если на образце присутствует несколько флуоресцентных красителей, нельзя использовать одну кривую ослабления для коррекции обесцвечивания. Так дело обстоит с большинством биологических образцов особенно при изучении доли автофлуоресцирующих субстанций в общем обнаруженном сигнале. Решением этой проблемы является коррекция локального обесцвечивания, определяющая коэффициент ослабления для каждого отдельного пикселя в каждом необработанном изображении, с помощью которой эффективно устраняются артефакты, в том числе при комплексном сочетании красителей.

**ApoTome —
коррекция общего
обесцвечивания**

В модуле ApoTome измеряется общая (суммарная) интенсивность и строится кривая общего ослабления интенсивности для каждого необработанного изображения. Полученный коэффициент ослабления используется для коррекции яркости всех пикселей необработанного изображения. Этот метод подходит для образцов только с одним флуоресцентным красителем.

C**Constrained Iterative
(Ограниченный
итеративный)**

Наилучшего качества изображения можно достичь, используя итеративный алгоритм оценки максимального правдоподобия (см. Schaefer et al.: "Generalized approach for accelerated maximum likelihood based image restoration applied to three-dimensional fluorescence microscopy", J. of Microscopy, Vol. 204, Pt 2, November 2001, pp. 99ff.). Этот алгоритм способен вычислить источник света по его распространению по различным фокальным плоскостям. Следовательно, применяя этот метод можно извлечь трехмерную структуру из флуоресцентных изображений с правильным распределением яркости, а также визуализировать оптические срезы. Также возможно частично восстановить недостающую информацию по соседним вокселям. Пространственное разрешение можно повысить без артефактов до теоретического предела (один воксел). Важно, чтобы изображения серии срезов по оси Z создавались в соответствии с критерием Найквиста. Получение достаточного числа плоскостей выше и ниже структуры интереса также крайне важно для достижения хороших результатов. Поскольку это сложный математический метод, то вычисления могут занять больше времени в зависимости от размера изображения и используемого ПК.

F**Fast Iterative
(Быстрый
итеративный)**

«Быстрый итеративный» метод — это метод многокадрового восстановления, в котором используется только одна итерация на шаг свертки (см. Meinel, E. S.: Origins of linear and nonlinear recursive restoration algorithms. J. Opt. Soc. Am, 3 (6), 1986, 787-799). В этом случае регуляризация не используется. Благодаря быстрой обработке и конвергенции всего после нескольких итераций, этот метод особенно подходит для обработки больших изображений покадровой съемки. Данный метод может быстро обеспечить хорошие результаты и устранить большую часть несфокусированного света. Тем не менее они не создают количественные условия яркости в изображении. При наличии изображений с недостаточным шагом дискретизации также могут возникать артефакты.

L**Lamp Flicker
(Мерцание
освещения)**

Это явление возникает главным образом при продолжительной работе флуоресцентных дуговых ламп. При определенных обстоятельствах в сериях срезов по оси Z могут появляться перемежающиеся темные и светлые слои. Этот эффект, например, может помешать применению трехмерной деконволюции.

М

MTB Программное обеспечение MicroToolBox (MTB) используется для создания и управления комплектацией микроскопа. Сведения о компонентах микроскопа (таких как револьверная головка, рефлекторные турели, затворы и т. д.) и, при необходимости, дополнительных внешних блоках (например, моторизованные столики для перемещения по осям XY, внешние источники света и т. д.) хранятся в этих конфигурациях. Более того, программное обеспечение может также использоваться для упрощенного ввода информации о компонентах микроскопа (например, объективах, флуоресцентных рефлекторных модулях и т. д.) и сохранения этой информации в микроскопе (зависит от типа используемого микроскопа). В этом случае информация сохраняется непосредственно в микроскопе с возможностью отображения, например, на TFT-экране микроскопа. Могут создаваться различные конфигурации, из которых активирована может быть только одна. Действующая конфигурация используется программой обработки изображений, например ZEN, для обеспечения сконфигурированных компонентов микроскопа (например, элементов управления оптическим путем или компонентами микроскопа) диалоговыми окнами с графическими элементами управления.

N

**Nearest Neighbor
(Ближайший сосед)**

В методе «ближайший сосед» используется самый простой и быстросействующий алгоритм (Castleman, K.R., Digital Image Processing, Prentice-Hall, 1979). Его действие основано на вычитании несфокусированных данных в каждой плоскости серии срезов с учетом соседних срезов, расположенных выше и ниже скорректированной плоскости по оси Z. Этот метод применяется последовательно к каждой плоскости всей трехмерной серии срезов. Это позволяет быстро повышать контраст, даже если серии изображений не были правильно объединены.

P

Position (Позиция)

В экспериментах с мозаиками, позициями называются независимые отдельные поля изображения (мозаики), локализованные в различных областях образца. Позиция соответствует области мозаики, состоящей всего из одной мозаики. Каждая позиция опирается на X- и Y-координаты столика и Z-координату привода фокусировки. Отдельные позиции или массивы позиций (сгруппированные отдельные позиции) определяются с помощью инструмента Tiles. После получения отдельные позиции отображаются в виде сцен.

R

**Regularization
(Упорядочение)**

Работа с реальными микроскопными изображениями, на которых присутствует шум, значительно затрудняет практическое применение методов деконволюции, поэтому регуляризация (например, по Тихонову-Миллеру-Филлипсу) имеет важное значение. Регуляризация — это метод, который уменьшает влияние шума посредством различных штрафных функций. Чем сильнее регуляризация, тем слабее восстановление, и чем слабее регуляризация, тем сильнее восстановление, хотя, в этом случае также усиливается шум.

Regularized Inverse Filter
(Упорядоченный обратный фильтр)

Обратный фильтр — это подлинный трехмерный метод, который обычно достигает лучших результатов, чем алгоритм Nearest Neighbor (ближайший сосед). В основном он включает в себя деление преобразования Фурье (FT) объема на FT функции PSF, что может вычисляться очень быстро. В вещественном пространстве это соответствует деконволюции. Кроме того, применяется статистический метод (Общая перекрестная проверка на достоверность, GCV), который определяет составляющую шума в изображении и автоматически устанавливает оптимальную силу восстановления. Этот процесс также известен, как регуляризация. Этот метод очень хорошо подходит для обработки нескольких серий изображений с целью предварительного выбора изображений для применения итеративного «высококласного» метода. Однако получение серий срезов по оси Z должно происходить с корректным расстоянием (Найквиста). Рекомендуем получать дополнительные плоскости по оси Z выше и ниже структуры интереса.

S

Smart Setup
(Быстрая настройка)

Smart Setup — интеллектуальный и удобный в использовании центр управления флуоресцентными изображениями. Просто выберите флуорохром из более чем 500 хранимых красителей, и ПО ZEN автоматически определит оптимальные сочетания фильтров и настройки получения изображений для вашего эксперимента.

B

Визуализация с широким полем обзора

Классические микроскопы часто называются «широкопольными» для того, чтобы отличать их от систем микроскопии с возможностью выделения оптических срезов, таких как лазерные сканирующие микроскопы. В отличие от подобных систем, широкопольные микроскопы не способны распознавать данные изображения в продольном направлении (по оси Z), что приводит к созданию размытых изображений, и поэтому они, по существу, являются слабыми системами трехмерной визуализации. Существуют методы, которые компенсируют отсутствующую возможность продольного выделения срезов в широкопольных микроскопах, такие как трехмерная деконволюция или структурированное освещение (ApoTome, Elyra-S).

Г

Гауссовское распределение

Излучение флуоресцентного света фактически имеет пуассоновское распределение. Однако если во время визуализации преобладает шум детектора или образы изображения незначительно превосходят шум камеры и, следовательно, очень темные, то к подобным изображениям обычно применяется нормальное распределение по Гауссу.

Д

Деконволюция

Деконволюция — метод, используемый для улучшения изображений, в частности флуоресцентных. Визуальная информация, полученная с помощью микроскопа, не может полностью воспроизвести структуры реального объекта. Это обусловлено тем, что во время получения изображения возникают неминуемые искажения, создаваемые оптикой и электроникой. Кроме того, особенно в случае с флуоресцентными микроскопами, в которых не предусмотрены методы создания оптических срезов, в получаемое изображение постоянно проникает свет из областей объекта, расположенных за пределами фокальной плоскости объектива. Это относится к структурам, которые пользователь в действительности хочет видеть, но которые приводят к снижению контраста и, как следствие, видимому разрешению. Подобные электронно-оптические эффекты могут

быть описаны математически в виде функции рассеяния точки (PSF). Если известна PSF, то с помощью деконволюции можно в значительной степени устранить негативные эффекты. Благодаря ей создается абсолютно резкое контрастное изображение объекта. Обычно деконволюция применяется к серии срезов по оси Z, т. е. используется в качестве трехмерного метода. Однако она также может ограниченно использоваться для улучшения качества двумерных изображений. Основательный обзор деконволюции можно найти в руководстве Wallace et al., 2001: A Workingperson's guide to deconvolution in light microscopy; Biotechniques 31: 1076-1097.

К

- Кимограф** Кимограф — двумерное представление движущегося объекта во времени. Перемещение объекта отслеживается с помощью линии или кривой заданной толщины с построением динамичного графика интенсивности. Кимографическое изображение отображает значения интенсивности вдоль линии по оси X, а временные точки наносятся по оси Y. С помощью этого метода можно визуализировать и анализировать скорость перемещения и ускорение объектов с помощью простого двумерного представления.
- Кнопки Motif** С помощью кнопок Motif можно оптимизировать получение изображений по таким параметрам, как скорость или качество. Все параметры (например, разрешающая способность камеры или динамический диапазон) в режиме Acquisition (Получение изображений) или инструменте Channels (Каналы) определены автоматически. Они в основном влияют на настройки камеры, детектора и освещения.
- Коррекция обесцвечивания** Характеристики широкопольного флуоресцентного микроскопа основаны на предположении, что все плоскости по оси Z имеют одинаковую общую яркость независимо от позиции фокусировки. Обесцвечивание корректируется посредством применения поправочного коэффициента к каждой плоскости по оси Z. Однако это предположение не относится к методам, результатом применения которых является создание оптических срезов, таких как конфокальные изображения.
- Коррекция равномерности освещения** Яркость микроскопных изображений зачастую уменьшается к краям. Это обусловлено, например, смещенным или неравномерным освещением, непостоянными условиями освещения или загрязненной оптикой. ПО ZEN способно устранить подобные помехи с помощью так называемой коррекции равномерности освещения (Shading Correction). Для начала вам понадобится белое изображение. Оно будет выполнять функцию эталонного фона изображения, которое необходимо скорректировать.
- Критерий Найквиста** Критерий Найквиста констатирует, что сигнал должен быть обнаружен по меньшей мере с удвоенной точностью для надежного получения всех частот сигнала. При получении изображений с низкой разрешающей способностью могут возникать нежелательные эффекты, такие как наложение. Это означает, в практическом смысле, что для выполнения деконволюции микроскопные изображения должны иметь разрешающую способность, которая по меньшей мере вдвое превышает оптическое разрешение как в поперечном, так и продольном направлениях.

М

- Мастер анализа изображений** Мастер анализа изображений позволяет очень легко создавать подпрограммы автоматических измерений. Данный мастер обеспечивает получение точных результатов без необходимости тратить время на программирование. Это позволяет выполнять даже сложные измерения за несколько минут.

О

Область мозаики

В экспериментах с мозаиками областью мозаики называется группа отдельных полей изображения (мозаик), подходящих друг к другу и организованных в форме сетки. С помощью областей мозаик можно получать участки с измерениями, которые превышают размер отдельного поля изображения. В рамках эксперимента ряд областей мозаик можно получить в различных позициях на образце. Каждая область мозаики опирается на X- и Y-координаты столика и Z-координату привода фокусировки. Области мозаик определяются с помощью инструмента Tile. После получения отдельные области мозаик отображаются в виде сцен.

**Общая
перекрестная
проверка на
достоверность
(GCV)**

Регуляризация, которая уменьшает влияние шума во время восстановления изображения, обычно управляется параметром, который в большинстве случаев определяется эвристически, методом проб и ошибок. Метод общей перекрестной проверки на достоверность (GCV) позволяет рассчитать этот параметр даже в сложных условиях минимизации пуассоновского максимального правдоподобия.

П

**Принцип работы
модуля Airyscan**

Обычный конфокальный микроскоп подсвечивает одну точку на образце для определения сигнала флуоресценции. Расфокусированное световое излучение проходит через точечную диафрагму, размер которой определяет, сколько узоров Эйри будет выявлено детектором. Вы можете увеличить разрешение, уменьшив размер точечной диафрагмы, но значение отношения «сигнал-шум» значительно снизится, так как точечная диафрагма будет пропускать меньше светового излучения. Модуль Airyscan ZEISS воплощает собой новую концепцию. Вместо пропускания света через точечную диафрагму, 32-канальный детектор области одновременно собирает весь свет в узоре Эйри. Каждый из элементов детектора функционирует как отдельная, очень маленькая точечная диафрагма. Знание траектории пучка и расположения в пространстве каждого узора Эйри обеспечивает возможность сверхлегкой, эффективной визуализации: теперь вы можете использовать все фотоны, собранные объективом вашего устройства.

**Пуассоновское
распределение**

Излучение фотонов флуорохромами имеет статистическое распределение, известное как «пуассоновское распределение». Это предпочтительная модель, принятая за основу для расчета деконволюции. Она применяется в случаях, когда преобладающая доля шума изображения вызвана дробовым шумом (шум типа «соль и перец»). Это предположение применяется к изображениям, которые были получены с помощью качественных, малошумных детекторов с использованием их динамического диапазона.

Р

**Режим исходных
данных**

Модуль ApoTome объединяет преимущества широкоугольных систем визуализации и преимущества выделения оптических срезов. Изображения, полученные во вкладке Acquisition (Получение изображений), содержат все изображения, полученные из сетки. Эти изображения сетки также называются фазовыми или необработанными изображениями. Такой принцип обладает рядом преимуществ: 1) все полученные данные сохраняются и не исключаются; 2) сам процесс получения изображений не замедляется ресурсоемкостью обработки; 3) предоставляется доступ к различным методам коррекции, обеспечивая гибкость в обращении с образцом должным образом сразу после получения изображения; 4) фазовые ошибки (=в позиции сетки), возникающие во время получения изображения и вызываемые, к примеру, вибрациями микроскопа, могут быть с большой вероятностью устранены с помощью фазовой коррекции без необходимости повторного получения изображения; 5) вы можете достигнуть заметного повышения разрешения и контраста с помощью

специально адаптированного к ApoTome режима деконволюции, присутствующего во всех системах; 6) режим исходных данных облегчает анализ изображений, который выявляет ошибки или артефакты в разделенном на срезы изображении, которые в другом случае остались бы незаметны.

С

Сферическая абберрация

Для достижения максимальной оптической разрешающей способности каждый объектив должен использоваться с определенной иммерсионной средой. В микроскопии, особенно в бионауке, не всегда возможно поместить образец в среду с необходимым показателем преломления. Если луч света проникает в заливочную среду с неподходящим показателем преломления, то это приводит к возникновению сферической абберрации. Чем дальше от покровного стекла измеряется PSF, тем больше она становится асимметричной. На практике это проявляется в виде увеличения потери яркости по мере увеличения расстояния до покровного стекла. Компенсировать сферическую абберацию можно с помощью объективов с корректирующими кольцами либо объективов, рассчитанных на определенные заливочные среды (например, водные растворы). Тем не менее в ограниченных пределах сферическую абберацию можно компенсировать во время деконволюции, учитывая параметры, ответственные за данный эффект, во время расчета теоретической PSF. Более подробно о сферической абберации см. S. F. Gibson, F. Lanni, "Experimental test of an analytical model of aberration in an oil-immersion objective lens used in three-dimensional light microscopy", J. Opt. Soc. Am. A, vol. 8, no. 10, pp. 1601-1613, October 1991.

Ф

Флуоресцентные гранулы

Флуоресцентные гранулы часто используются для измерения функции рассеяния точки (PSF). Диаметр этих гранул, как правило, значительно ниже предела разрешающей способности используемого объектива. Зная форму и размер гранул, можно определить различные оптические параметры микроскопа. Для измерения PSF, при использовании объектива с числовой апертурой 1,4, следует использовать гранулы диаметром 50-170 нм.

Функция Drag&Drop

Дословно переводится как «перетащить и опустить». Осуществляет перемещение объектов (например, файлов, иконок и т. д.) на экране из одной папки в другую. Нажатием и удерживанием левой кнопкой мыши объект перемещается в место назначения вместе с мышью.

Функция рассеяния точки (PSF)

Все электронно-оптические эффекты, которые влияют на создание микроскопного изображения могут быть описаны математически в виде функции рассеяния точки (PSF). Если известна PSF, в большинстве случаев для устранения негативных эффектов на микроскопных изображениях можно использовать деконволюцию. Существует три возможных способа определить PSF: теоретический — с помощью известных ключевых оптических параметров, экспериментальный — с помощью измерений с использованием флуоресцентных гранул известного диаметра, слепой — с помощью метода, который работает на основе предварительных знаний. В ПО ZEN реализована теоретическая модель Ленни и Гибсона, которая также моделирует асимметрии, наподобие тех, которые могут возникать из-за сферических аббераций (см. S. F. Gibson, F. Lanni, "Experimental test of an analytical model of aberration in an oil-immersion objective lens used in three-dimensional light microscopy", J. Opt. Soc. Am. A, vol. 8, no. 10, pp. 1601-1613, October 1991).

Э

Эффект ореола

Ореол — это (как правило, нежелательный) эффект в цифровой обработке изображения («ореол» вокруг объекта изображения).

С

Category (Категория)

- Область мозаики 338, 339
- Позиции 338, 339
- Присвоение 297
- Создание новой 297
- Упорядочивание 299

Create (Создать)

- Категория 297
- Локальная фокальная поверхность 286
- Области мозаик 275, 276
- Общая фокальная поверхность 290
- Позиции 277, 280
- Сканирование просмотра 272
- Шаблон подложки 306

D

Distribute (Распределить) 29

- Локальные контрольные точки 286
- Общие контрольные точки 290

O

Options (Опции)

- Мозаики 342

P

Properties (Свойства)

- Вкладка 336
 - контрольных точек 339
 - областей мозаик 336
 - позиций 338

S

Select (Выбрать)

- Диалоговое окно Sample Carrier Template 324
- Категория 297
- Степень интерполяции 295
- Шаблон подложки 305

Shuttle & Find 382

T

Tile Region (Область мозаики)

- Категория 338, 339
- Копирование 281
- Присвоение имени 296
- Присвоение категории 297

Распределение контрольных точек 286

Создание 275, 276

Б

Быстрый выбор профиля 492

В

Введение 491

Величина расширения воздушной границы 565, 597

Вкладка

- Контрольные точки 339
- Настройка области мозаики 329
- Настройка позиции 332
- Подложка 327
- Свойства 336

Вкладка Carrier 327

Вкладка Preview Scan 326

Вкладка Processing

- Концепция настроек 61
- Последовательность операций 61

Вкладка Scan 607

Вкладка Setup 329

автоматическая 44

Настройка серии срезов по оси Z

Настройка серии срезов по оси Z,
ручная 45Получение изображений срезов по оси
Z 43

Ручная настройка 483

Создание EDF-изображения 96

Вращение двухмерных изображений 132

Вращение 131

Выбор дизайна 240

Выполнение деконволюции

Настраиваемая 67

По умолчанию 63

Выравнивание каналов 125

Выравнивание каналов (расширенное) 137

Выравнивание серии срезов по оси Z 127

Г

Геометрические преобразования 125, 137

Глобальные данные светопольных
профилей 579Глобальные данные флуоресцентных
профилей 554

Границы / Фильтрация верхних частот 124

Д

Деконволюция 98
 Диалоговое окно
 Выбор шаблона подложки 324
 Дискретизация 133
 Добавление аннотаций 33

З

Запуск программного обеспечения 21
 Запуск сканирования просмотра 609
 Запуск сканирования 609
 Значение пикселей 27

И

Измерение интенсивности флуоресценции в
 многоканальном изображении 206
 Измерение толщины слоя 463
 Изображение с эталонной равномерностью
 освещения из мозаичного
 изображения 510
 Изображения временной серии 47
 Импорт изображения
 Поддерживаемые типы файлов 199
 Индикатор выполнения 26
 Индикаторы производительности 26
 Инструмент Axio Scan 612
 Инструмент Naming Definition 610
 Инструмент Storage Location 611
 Инструменты
 Инструменты 476
 Инструменты 477

К

Кадрирование области интереса 92
 Калибровка
 Столик 258, 263
 Шаблон подложки 306
 Калибровка держателя образца
 Мастер 390, 442
 Камера
 Настройка ориентации 260, 265
 Категории
 Позиции 338
 Компоненты 29
 Контраст 35
 Контрастная грубая и точная
 автофокусировка 556
 Контрольные точки

Вкладка 339
 Локальные 319
 Общие 319
 Проверка Z-величин 288
 Проверка позиций по оси Z 293
 Распределение по области мозаики 286
 Распределение по подложке 290
 Конфигурация рабочего пространства 23
 Копировать
 Область мозаики 281
 Позиция 281

Л

Лаплас 125
 Локальная дисперсия 125
 Локальная фокальная поверхность 286

М

Макс. градиент 125
 Макс. удлинение 565, 597
 Массивы позиций 316
 Опции 318
 Мастер калибровки Axio Scan 607
 Мастер обнаружения тканей 604
 Мастер создания профиля сканирования 551
 Мастеры 476
 Мастеры 478
 Модуль Confocal Topography 463
 Модуль 463
 Мозаики и позиции
 Выбор степени интерполяции 289
 Настройка простого эксперимента с
 мозаиками 267
 Настройка простого эксперимента с
 позициями 269
 Мозаики 311
 Опции 320, 342
 Проверка области мозаик / позиций 322

Н

Набор измерения резкости
 FFT 574, 592
 HG 2^8 574, 592
 Базовый 573, 592
 Наилучший 573, 592
 Степень контрастирования 574, 592
 Набор стратегий распределения точек
 фокусировки
 Каждая n-я 575, 590
 Каждая мозаика 576, 590

- Кожица лука 575, 589
- Плотность 576, 591
- Размер ячеек расчетной сетки 577, 591
- Центр тяжести 577, 592
- Число фокусных точек 576, 590
- Настройка микроскопа
- Настройка области интереса для изображения предпросмотра Флуоресцентные профили 508
- Настройка ориентации камеры 260, 265
- Настройка позиций по оси Z 283
- Настройка физиологического эксперимента 353
- Настройка языка пользователя 28
- Настройки карты фокусировки 572, 587
- Настройки обнаружения тканей 562, 594
- Настройки сканирования просмотра светлопольных профилей 584
- Настройки сканирования светлопольных профилей 593
- Настройки сканирования этикеток 556, 580
-
- Области мозаики
 - Настройка Z-величин 283
- Область интереса для обнаружения тканей 563, 595
- Обнаружение тканей 566, 598
- Обработка изображений
 - Сохранение настроек для функции обработки изображений 61
- Обработка изображений 61
- Обработка 146
- Обратная связь по эксперименту
 - Концепция 238
 - Последовательность операций 239
- Общая фокальная поверхность 286
- Одиночные позиции 315
 - Опции 317
- Однопиксельный фильтр 146
- Окно Magazine 613
 - Представление данных о слайде 615
 - Сведения о кювете 615
- Окно S&F 384
- Оператор Робертса 124
- Определение
 - Области мозаик 329
 - по контуру 275, 329
 - по массиву 277, 333
 - по местоположению 277, 332
 - по подложке (мозаики) 276, 331
 - по подложке (позиции) 280, 335
 - по предустановленным значениям 275, 329
 - Позиции 332
- Оптимизация настроек живого изображения 34
- Оптическое распознавание символов (OCR) 556, 580
- Опции масштабирования 26
- Опции модуля Tiles 342
- Опции предметного просмотра 327
- Ориентация этикетки 558, 582
- Ортогональная проекция 135
- Открепление/закрепление окон инструментов 241
- Отобразить/Скрыть области 241
- Отражение 133
- П
- Пакетная обработка — экспорт изображения 87
- Панель документов 25
- Панель инструментов 23
 - Shuttle & Find 382
 - Мозаики 311
 - Программная автофокусировка 488
 - Сканирование просмотра 326
- Папка хранения 27
- Параметр Image Export 184
- Перемещение
 - Подложка 299
- Подложка 318
 - Выбор шаблона 305
 - Диалоговое окно Select Template 324
 - Калибровка шаблона 306
 - Перемещение 299
 - Персонализация шаблона 306
 - Распределение контрольных точек 290
 - Создание шаблона 306
- Подсчет числа флуоресцентных каналов на ядра 213
- Позиции 315
 - Вкладка Setup 332
 - Категория 338, 339
 - Копирование 281
 - Настройка Z-величин 284
 - Опции 317
 - Присвоение имени 296
 - Присвоение категории 297

- Создание 277, 280
Поле обзора столика 325
Получение изображений временной серии 47
Получение изображения в AroTome 620
Получение многоканальных изображений 38
Получение мозаичных изображений
Введение 257
Использование подложек 305
Калибровка столика 258, 263
Копирование области мозаики или позиции 281
Модуль Tiles & Positions с расширенными настройками 271
Настройка позиций по оси Z 283
Перемещение подложки после инкубации 299
Присвоение категорий областям мозаик и позициям 296
Пользовательский интерфейс 22
Последовательность операций 61
Правая область инструментов 25
Правдоподобие 102
Присвоение
Имя 296
Категория 297
Проверка позиций по оси Z
контрольных точек 293
Программная автофокусировка 488
Профиль сканирования по умолчанию 608
- Р**
Работа в окне MeanROI 345
Работа со стратегиями фокусирования 55
Распознавание штрихкода 556, 580
Расчет коэффициента для двух длин волны 352
Расчет коэффициента для одной длины волны 352
Расширение ImageJ в OAD 252
Концепция OAD 249
Расширенные настройки модуля Tiles 324
Расширенный мастер создания профиля сканирования 553
Регулировка настроек живого изображения
Гамма 35
Контраст 35
Яркость 35
Регулировка настроек сканирования (FL) 528
Редактировать
Массивы позиций 318
Одиночные позиции 317
Позиции 317
Свойства (контрольные точки) 339
Свойства (мозаики) 336
Свойства (позиции) 338
Режим Show all 29
Ручное масштабирование 35
- С**
Сведения о системе 26
Сглаживание изображения 146
Сканирование просмотра с камерой (предварительного) просмотра для флуоресцентных профилей 562
Сканирование просмотра с объективом (предварительного сканирования) для флуоресцентных профилей 560
Смещение 136
Создание поднабора изображений 92
Создание сканирования просмотра 272
Создание частей изображения 85
Срез
Подложка 318
Позиции 315
Фокальная поверхность 319
Строка меню 23
Строка состояния 26
Сумма градиентов 125
Схема сортировки 566, 598
Сшивка 128
Коррекция равномерности освещения 128
- Т**
Тип распознавания тканей 555, 580
Топография 463
- У**
Увеличение/уменьшение рабочего пространства 241
Увеличенная глубина резкости 96
Упорядочение 102
- Ф**
Фильтр Собеля 125
Фокальная поверхность 319
Локальная 286
Общая 286
Создание локальной 286
Создание общей 290
Функции обработки изображений
Коррекция равномерности освещения 122

Ц

Центральная область экрана 24

Ч

Частота кадров 26

Э

Экспорт видео 190

 Типы файлов 190

Экспорт изображений

 Метод 183

 Папка экспорта 189, 195, 198

 Типы файлов 185

Экспорт/Импорт

 Последовательность операций
 экспорта/импорта 226

Carl Zeiss Microscopy GmbH
Карл-Цейс-Променаде 10
07745 Йена, Германия
microscopy@zeiss.com
www.zeiss.com/microscopy



Carl Zeiss Microscopy GmbH
Королевская аллея 9-21
37081 Геттинген
Германия

Компания ZEISS сохраняет за собой право вносить изменения в данный документ без предварительного уведомления.

© Йена 2016 г., Carl Zeiss Microscopy GmbH. Все права защищены.

Numbered, sewed and sealed 410 sheets in all.

Carl Zeiss Microscopy GmbH

Stephen Huang

Stephen Huang
Quality Director and Management Representative



СВИДЕТЕЛЬСТВО

/Логотип: Китайский комитет содействия развитию международной торговли (ССРПТ)/

Китайский комитет содействия развитию международной торговли является Китайской палатой международной торговли

/Логотип: Китайский комитет содействия развитию международной торговли/

**Китайский комитет содействия развитию международной торговли
Китайская палата международной торговли**

СВИДЕТЕЛЬСТВО

№ 173205BO/001086

НАСТОЯЩИМ УДОСТОВЕРЯЕТСЯ, что печать компании «Карл Цейсс Сучжоу Ко., Лтд.» (Carl Zeiss Suzhou Co., Ltd.) на прилагаемом ДОКУМЕНТЕ является подлинной.

**Китайский комитет содействия
развитию международной торговли**

Подпись уполномоченного лица:

/Подпись/

Ван Мэньгуао (Wang Mengyao)

Дата: 13 ноября 2017 года

*/Печать: Китайский комитет содействия
развитию международной торговли * Сертификация/*

*/Фрагмент печати: Китайский комитет содействия
развитию международной торговли * Сертификация/*

*/Рельефный оттиск на самоклеящемся лейбле: Сертификация * Китайский комитет содействия
развитию международной торговли/*

Росздравнадзору
От компании «Карл Цейсс Сучжоу Ко., Лтд.»

Направляем следующий документ для регистрации медицинского изделия в Российской Федерации:

Инструкция по использованию медицинского изделия «Микроскоп стереоскопический для лабораторных исследований Stemi 305 с принадлежностями» на русском языке.

*/Фрагмент печати: Китайский комитет содействия
развитию международной торговли * Сертификация/*

08.11.2017

/Подпись/

/Печать: «Карл Цейсс Сучжоу Ко., Лтд.» * 3205000527918/

«Карл Цейсс Сучжоу Ко., Лтд.»
Модерн Индастриал Сквер 3-В,
№ 333, Син Пу Роуд, СИП, 215126, Сучжоу, Китай
(Modern Industrial Square 3-B,
No. 333 Xingpu Road SIP, 215126 Suzhou, China)

Тел.: +86(0) 512 6287 1388
Факс: +86(0)512 6287 1366
Веб-сайт: www.zeiss.eoin

Всего пронумеровано, прошито и скреплено печатью 410 листов.

«Карл Цейсс Микроскопи ГмбХ» (Carl Zeiss Microscopy GmbH)

/Подпись/

Стефен Хуан (Stephen Huang)

Директор по качеству и представитель руководства

/Печать: «Карл Цейсс Сучжоу Ко., Лтд.» * 3205000527918/

Переводчик



Голуб Александра Юрьевна

Российская Федерация

Город Москва.

Четвертого декабря две тысячи семнадцатого года.

Я, Мозгунова Наталья Сергеевна, нотариус города Москвы, свидетельствую подлинность подписи переводчика Голуб Александры Юрьевны.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре за № **215514**

Взыскано государственной пошлины (по тарифу): 100 руб. 00 коп.

Уплачено за оказание услуг правового
и технического характера:

200 руб. 00 коп.

Н.С. Мозгунова



Всего прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 4 лист(ов)

Нотариус

