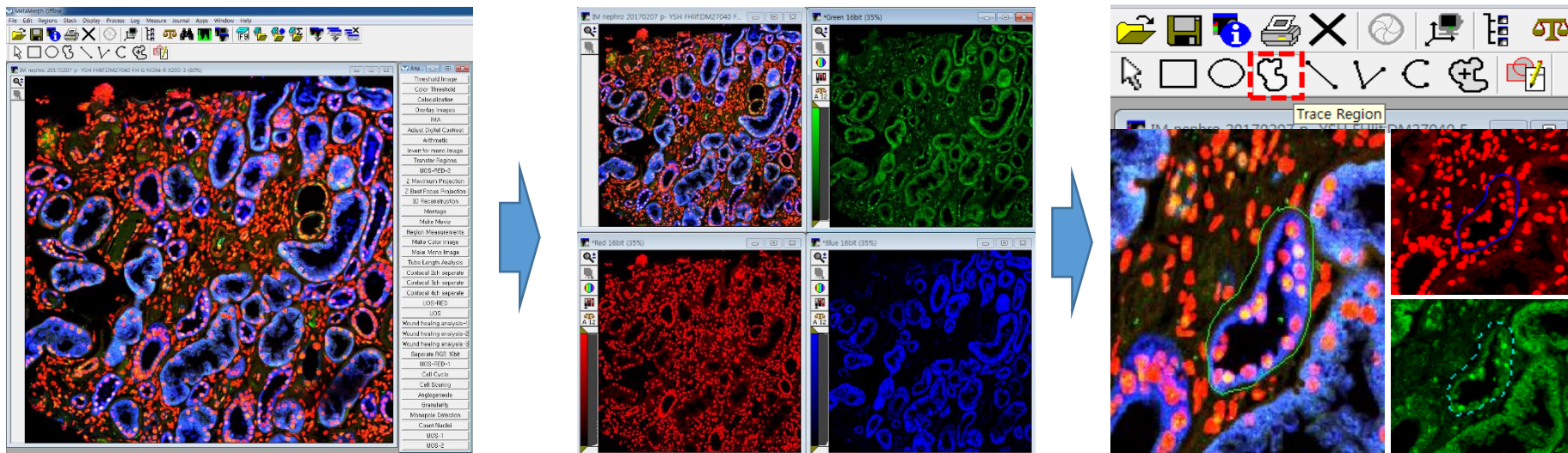


MetaMorph V.7.8.1를 이용하여 비정형 영역에서의 target cell count

세포체학실험실에 보유 중인 MetaMorph image analysis software (Molecular Devices, CA, USA)는 immunofluorescence (IF) 또는 일부 immunohistochemistry (IHC) 염색된 images의 channel별 분리 및 region of interest (ROI) 영역 설정, 거리, 면적 등을 계산하여 excel file로 export할 수 있으며, 현재 보유중인 추가적인 options (Angiogenesis, Cell Cycle, Count Nuclei, Cell Scoring, Granularity, Monopole Detection, Wound healing analysis)을 통해 다양한 분석이 가능합니다. ImageJ로 분석 algorithm 또는 building block을 직접 제작하기 어려운 경우, MetaMorph를 사용하여 분석한다면, 손쉽게 도움을 받을 수 있습니다.

분석 algorithm:

Open file (IF형광 image) -> Separate RGB -> ROI (Region of interest) -> Adjustment of inclusive threshold by input of low and high threshold -> IMA (integrated morphometry analysis) -> Set filters for area and average intensity -> Measure and confirm the summary data -> Individual cell information will be displayed in Object data tab



Source: Green 16bit

Intensity range: 12-Bits (0-4095)

Threshold state: Inclusive Exclusive Off

Low: 1500 High: 4095

Source: Green 16bit

Parameter	Display	Filter	Compari	Limit 1	Limit
Area	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	>=	10	100000
Average intensity	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	between	0.0000000000	0.0000000000
Total intensity	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	between	0.0000000000	0.0000000000
Perimeter	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	between	0.0000000000	0.0000000000
Centroid X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	between	0.0000000000	0.0000000000
Centroid Y	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	between	0.0000000000	0.0000000000
Orientation	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	between	-90.000	90
Shape factor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	between	0.000	1
Texture Difference	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	between	0.000	49
Texture Inverse	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	between	0.000	1

Source: Green 16bit

Summary	Area	Average intensity
Count	39	39
Average	17	1904.301
Std. Dev.	47	353.943
Minimum	1	1522.000
Maximum	234	3164.000
Total	667	74267.719

Source: Red 16bit

Summary	Area	Average intensity
Count	20	20
Average	43	3864.542
Std. Dev.	28	138.589
Minimum	3	3458.667
Maximum	120	3930.240
Total	852	77290.852

Region measurements:

형광 IF images 또는 조직 IHC images에서 특정 영역의 dimensional information (area, distance, width, height) 등과 같은 정보를 얻고자 할 경우, 손 쉽게 사용할 수 있는 분석 tool로서, 간단히 ROI trace region만 모니터 상에서 그려만 주면, 관련 data를 excel file로 exporting할 수 있습니다. 또한 한 번에 여러 개의 ROI를 그려 넣어줌으로써 여러 개의 targets에 대한 region measurements를 손쉽게 획득 할 수 있습니다. 해당 ROI를 복사 하여, 붙여 넣기 함으로써 동일한 조건에서 여러 images의 region measurement를 진행할 수 있습니다.

Transfer Regions:

다른 image file의 영역을 분석하고자 하는 image로 옮겨와 함께 비교 분석할 수 있습니다.

Red 16bit

Include: Entire Image

Measure: Active Region

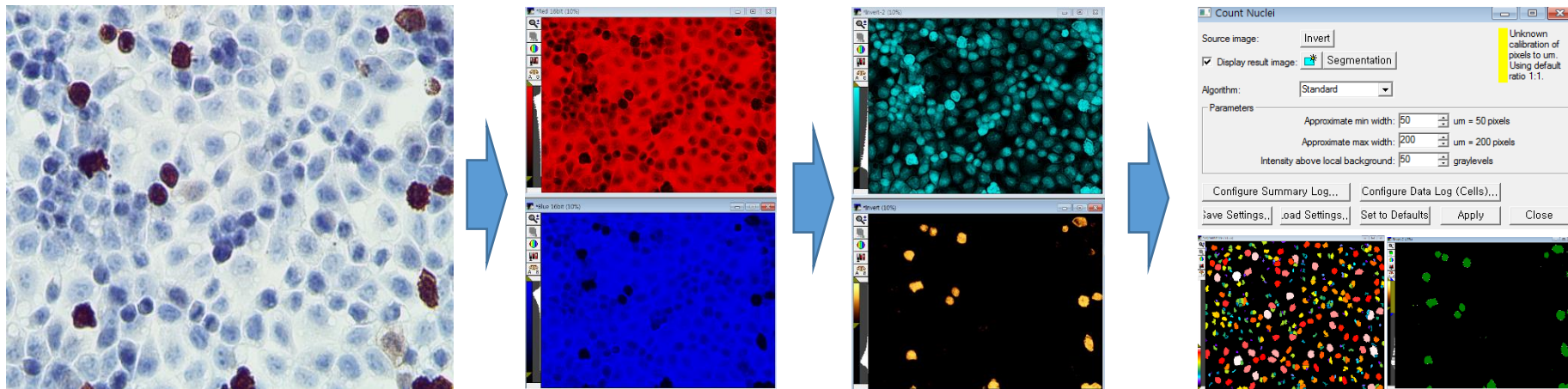
Region Label	Area	Distance	Width	Height
Entire Image	338512	2327	581.818	!

	Area	Distance	Width	Height
Average	338512	2327	581.818	!
Integrated	338512	2327	581.818	!

IHC로 염색된 image를 분석하기 위해서는 image conversion과정을 진행해야 하며, 과정은 다음과 같습니다.

Process:

Open file (IHC image) -> Separate RGB -> Select most appropriate color images which represent original IHC targets -> Invert for mono images -> Count Nuclei (input approximate min width and max width) -> Decide intensity local background gray level.



형광 IF 또는 IHC 염색된 슬라이드 샘플의 정량(quantification)을 위해서는 자가형광 또는 background noise가 최대한 제거된 뚜렷한(actual fluorescence of interest) 이미지가 선제조건입니다. Image 분석과 관련하여 궁금하신 사항이나 문의하실 내용은 세포체학실험실 (T. 1714 또는 21117@snuh.org)로 연락 주시기 바랍니다.