

FLUO+ 3.4

Uživatelská příručka

FLUO+ 3.4

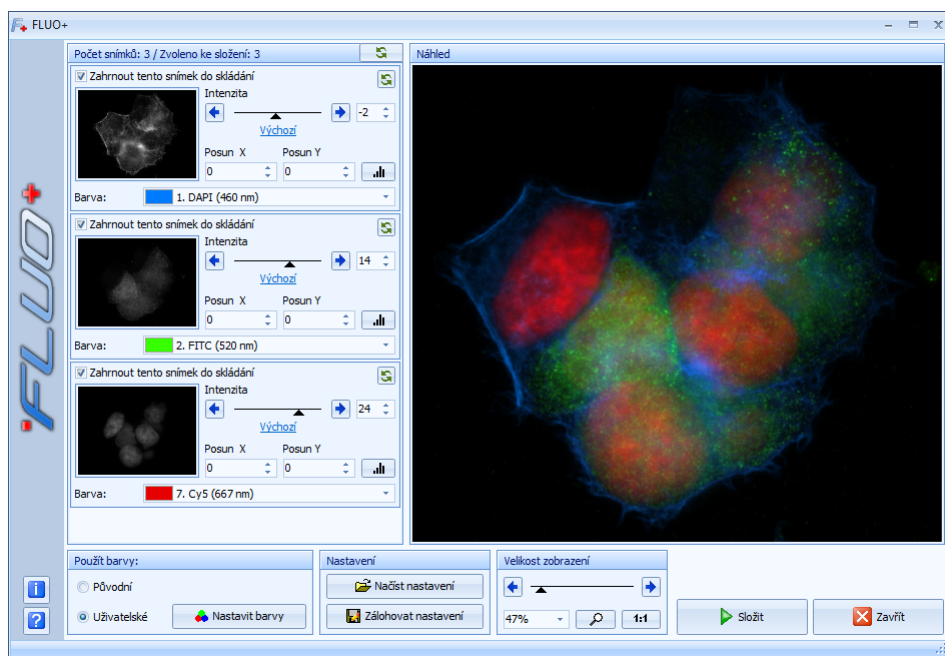
Copyright © 2014 PROMICRA, s.r.o. Všechna práva vyhrazena.

Obsah

Úvod	5
Instalace modulu FLUO+ 3.4	7
Použití modulu FLUO+ 3.4	9
Minimální systémové požadavky	19

Úvod

FLUO+ 3.4 je přídatný softwarový modul k programům QuickPHOTO určený pro skládání snímků pořízených pomocí fluorescenčního mikroskopu. Až osm dílčích snímků pořízených s použitím různých fluorescenčních filtrů může být složeno do jednoho výsledného snímku.



Instalace modulu FLUO+ 3.4

Důležité

Pro úspěšnou instalaci modulu FLUO+ 3.4 je nutné mít v počítači nainstalován některý z programů *QuickPHOTO CAMERA*, *QuickPHOTO MICRO* nebo *QuickPHOTO INDUSTRIAL* ve verzi 3.1.

Poznámka

Pokud instalujete demo verzi modulu FLUO+ 3.4 (v hardwarovém klíči nemáte obsaženo oprávnění pro používání modulu FLUO+ 3.4), nebo modul instalujete do zkušební verze programu *QuickPHOTO* (hardwarový klíč vůbec nemáte), bude modul FLUO+ 3.4 spuštěn v režimu demoverze. Demoverze modulu FLUO+ 3.4 poskytuje všechny funkce plné verze, avšak do vytvořených snímků bude vložen vodoznak. Pokud chcete zakoupit plnou verzi modulu FLUO+ 3.4, kontaktujte svého dodavatele softwaru QuickPHOTO. O skutečnosti, že modul FLUO+ 3.4 pracuje v režimu demoverze, budete při každém jeho spuštění informováni.

Vložte instalační CD modulu FLUO+ 3.4 do jednotky CD/DVD-ROM. Objeví se uvítací okno. Pokud se uvítací okno automaticky neobjeví, spusťte z instalačního CD program *autorun.exe*. Zvolte *Instalovat FLUO+ 3.4*.

Objeví se úvodní dialogové okno instalačního průvodce. Zvolte požadovaný jazyk a pokračujte tlačítkem *OK*. Dále pokračujte podle pokynů instalačního průvodce. Instalační program vyhledá instalaci programu *QuickPHOTO CAMERA*, *QuickPHOTO MICRO* nebo *QuickPHOTO INDUSTRIAL*. Pokud máte na svém počítači nainstalováno více verzí programu *QuickPHOTO*, vyberte verzi, do které má být modul FLUO+ 3.4 nainstalován a stiskněte tlačítko *Další*.

Dále pokračujte podle pokynů průvodce instalací.

Použití modulu FLUO+ 3.4

1. Výběr snímků určených ke složení a spuštění modulu

Modulem FLUO+ 3.4 je možné skládat snímky otevřené v *Panelu náhledů* programu QuickPHOTO.

Postup spuštění modulu:

1. Pořídíte ze snímacího zařízení nebo v programu QuickPHOTO otevřete snímky určené ke složení.
2. V *Panelu náhledů* programu *QuickPHOTO* označte snímky určené ke složení. Náhledy vybraných snímků budou označeny rámečky. Označování je možné provést obdobně jako označování souborů v *Průzkumníku Windows®* (všechny náhledy je možné označit pomocí klávesové zkratky [Ctrl+A], souvislý výběr pomocí klávesy [Shift] a nesouvislý pomocí klávesy [Ctrl]).
3. Spustíte modul FLUO+ 3.4 z nabídky *Moduly* → *FLUO+ 3.4* nebo kliknutím na ikonu  v *Panelu nástrojů*.

Otevře se okno modulu FLUO+ 3.4 s náhledy zvolených snímků.

Důležité

Snímky určené ke složení musí mít stejné rozměry v pixelech (např. 1600 x 1200).

Poznámka

Pro použití modulu FLUO+ 3.4 doporučujeme v programu QuickPHOTO aktivovat barevné schéma *Dark*. Toto barevné schéma je navrženo speciálně pro práci s fluorescenčními snímky tak, aby obrazovka počítače uživatele co nejméně oslňovala. Aktivaci barevného schématu *Dark* provedte v *Nastavení* programu QuickPHOTO (*Úpravy* → *Nastavení...*). V části označené *Obecné* aktivujte záložku s názvem *Vzhled a rozložení*. Na této záložce provedte změnu nastavení v části *Barevné schéma programu*.

2. Nastavení uživatelských barev

Použití uživatelských barev umožňuje obarvení dílčích fluorescenčních snímků pořízených pomocí monochromatické digitální kamery, případně přebarvení barevných snímků. Nastavení uživatelských barev stačí provést pouze jednou. Zvolené barvy budou zapamatovány pro další použití modulu FLUO+ 3.4.

Postup nastavení uživatelských barev:

Ve spodní části otevřeného okna modulu FLUO+ 3.4 v části *Použít barvy* aktivujte volbu *Uživatelské* a stiskněte tlačítko *Nastavit barvy*.

Otevře se dialogové okno *Nastavení uživatelských barev*:

Nastavení uživatelských barev

Tento dialog vám umožní nastavit si vlastní sadu uživatelských barev. Postupujte následovně:

1. Zvolte požadovanou barvu v části Výběr vlnové délky/barvy kliknutím levého tlačítka myši do zobrazeného spektra nebo vepište hodnotu do pole Vlnová délka/barva;
2. V části Nastavené barvy (pozice 1-18) vyberte pozici, do které chcete zvolenou barvu uložit;
3. Proveďte uložení stisknutím tlačítka Uložit zvolenou vlnovou délku/barvu do vybrané pozice.

Výběr vlnové délky/barvy

Vlnová délka/barva: 580 nm

Uložit zvolenou vlnovou délku/barvu do vybrané pozice

Nastavené barvy (pozice 1-18)

1. DAPI (460 nm)	2. FITC (520 nm)	3. TRITC (572 nm)	4. Texas Red (620 nm)	5. GFP (510 nm)	6. Cy3 (565 nm)
7. Cy5 (667 nm)	8. EYFP (527 nm)	9. Prázdná pozice	10. Prázdná pozice	11. Prázdná pozice	12. Prázdná pozice
13. Prázdná pozice	14. Prázdná pozice	15. Prázdná pozice	16. Prázdná pozice	17. Prázdná pozice	18. Prázdná pozice

Přejmenovat Změnit pozici Smazat

Načíst barvy Zálohovat barvy Výchozí Smazat vše OK Storno

Toto okno umožňuje nastavit sadu uživatelských barev dle fluorescenčních filtrů, které používáte na mikroskopu. Jednotlivé barvy je možné definovat buď volbou barevného odstínu nebo zvolením příslušné vlnové délky emisního fluorescenčního záření.

Dialogové okno *Nastavení uživatelských barev* se skládá ze dvou hlavních částí:

- Část *Výběr vlnové délky/barvy* - tato část slouží k volbě barvy a jejímu uložení do některé z pozic v části *Nastavené barvy* (pozice 1-18). Barvu je možné zvolit kliknutím levého tlačítka myši do zobrazeného barevného spektra nebo vepsáním požadované hodnoty vlnové délky do pole *Vlnová délka/barva*. Náhled zvolené barvy se zobrazí vedle tohoto pole.
- Část *Nastavené barvy* (pozice 1-18) - tato část obsahuje 18 pozic (zásobníků) pro uložení uživatelských barev. Několik pozic obsahuje předdefinované nejčastěji používané barvy. Tyto barvy je možné předdefinovat nebo smazat. Každá pozice je znázorněna barevným čtverečkem, má pořadové číslo a v případě, že obsahuje nějakou barvu, je označena názvem a zvolenou vlnovou délkou.

Postup volby a uložení uživatelské barvy:

1. Zvolte požadovanou barvu v části *Výběr vlnové délky/barvy* kliknutím levého tlačítka myši do zobrazeného spektra nebo vepište požadovanou hodnotu do pole *Vlnová délka/barva*.
2. V části *Nastavené barvy* (pozice 1-18) vyberte kliknutím levého tlačítka myši pozici, do které chcete zvolenou barvu uložit.
3. Proveďte uložení stisknutím tlačítka *Uložit zvolenou vlnovou délku/barvu do vybrané pozice*.
4. V otevřeném dialogovém okně vyplňte název barvy (např. FITC dle použitého barvení) a potvrďte tlačítkem *OK*.

Výše uvedený postup je možné použít také pro předdefinování některé již uložené barvy.

Pokud chcete některou uloženou barvu přejmenovat, vyberte požadovanou pozici a stiskněte tlačítko *Přejmenovat*. V otevřeném dialogovém okně přepište název barvy a potvrďte tlačítkem *OK*.

Pokud chcete zaměnit obsah dvou pozic, vyberte jednu z pozic obsahující barvu určenou k záměně a stiskněte tlačítko *Zaměnit pozice*. V otevřeném dialogovém okně vyberte druhou pozici určenou k záměně a potvrďte tlačítkem *OK*.

Pro smazání některé uložené barvy vyberte požadovanou pozici a stiskněte tlačítko *Smazat*.

Zálohování, načtení, obnovení a smazání všech uživatelských barev

Kompletní nastavení uživatelských barev je možné uložit do záložního souboru stisknutím tlačítka *Zálohovat barvy* a volbou názvu a umístění záložního souboru.

Nastavení uživatelských barev může být obnoveno ze záložního souboru stiskem tlačítka *Načíst barvy* a následným zvolením záložního souboru. Tato akce přepíše aktuální nastavení uživatelských barev nastavením načteným ze záložního souboru.

Stisknutí tlačítka *Výchozí* obnoví výchozí nastavení uživatelských barev (výchozí nastavení po instalaci modulu).

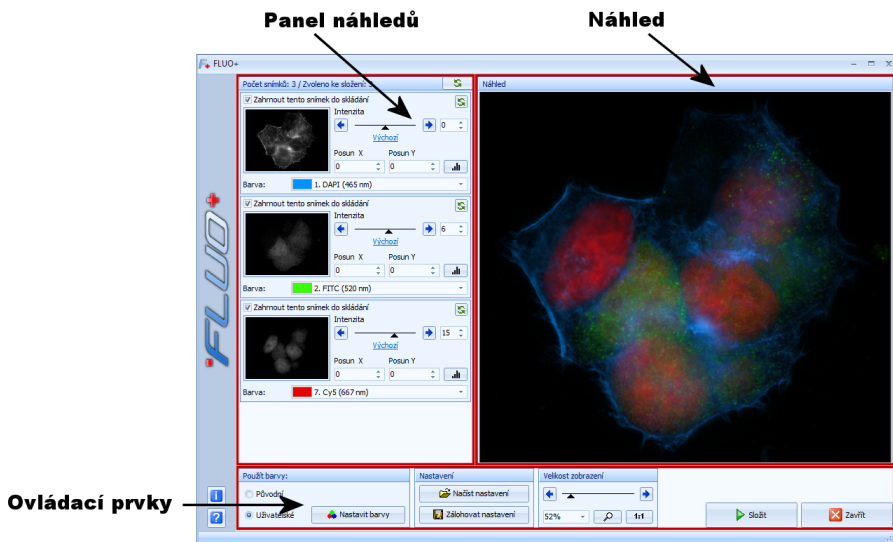
Stisknutí tlačítka *Smazat vše* smaže obsah všech pozic.

Pro potvrzení provedených změn zavřete okno *Nastavení uživatelských barev* tlačítkem *OK*.

3. Nastavení parametrů pro skládání snímků

Okno modulu FLUO+ 3.4 se skládá z několika částí:

- *Panel náhledů* - obsahuje náhledy snímků určených ke složení.
- *Náhled* - zobrazuje náhled složeného snímku dle nastavených parametrů pro skládání. Všechny změny nastavení parametrů pro skládání se v *Náhledu* zobrazují interaktivně.
- *Ovládací prvky* ve spodní části - tato část obsahuje ovládací prvky pro nastavení barevného režimu, uložení nastavení modulu do záložního souboru/načtení nastavení ze souboru a ovládací prvky pro nastavení velikosti zobrazení *Náhledu*.



Volba barevného režimu

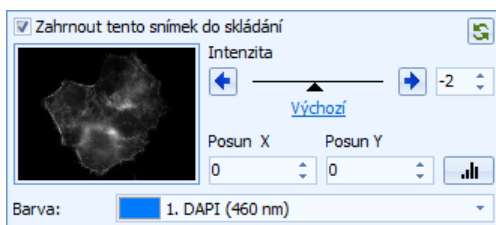
Modul FLUO+ 3.4 umožňuje pracovat s fluorescenčními snímky ve dvou barevných režimech. Přepnutí barevného režimu je možné provést pomocí ovládacích prvků v části *Použít barvy* ve spodní části dialogového okna modulu FLUO+ 3.4. Na výběr jsou dvě volby:

- **Původní** - pokud je aktivní tato volba, budou ve složeném snímku použity původní barvy z dílčích fluorescenčních snímků. Tato volba je vhodná pro skládání fluorescenčních snímků pořízených pomocí barevné digitální kamery.
- **Uživatelské** - po aktivaci této volby bude aktivováno použití uživatelsky definovaných barev. U každého z náhledů bude aktivována nabídka *Barva* pro zvolení požadované barvy výběrem ze seznamu uživatelsky definovaných barev. Tato volba umožňuje obarvit fluorescenční snímky pořízené pomocí monochromatické digitální kamery nebo barevné snímky podle potřeby přebarvit.

Ovládací prvky v Panelu náhledů

Nad náhledy snímků je zobrazena stavová lišta, která obsahuje informaci o počtu snímků otevřených v modulu FLUO+ 3.4 a počtu snímků zvolených ke složení. Vedle těchto údajů je umístěno tlačítko  *Obnovit výchozí nastavení všech snímků*. Stisknutí tohoto tlačítka obnoví výchozí nastavení všech parametrů pro skládání (s výjimkou parametru *Barva*) pro všechny snímky.

Každý náhled snímku je vybaven řadou ovládacích prvků pro nastavení parametrů pro skládání:

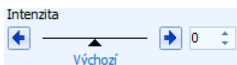


☒ Zahrnout tento snímek do skládání

Zahrnout tento snímek do skládání: po otevření modulu FLUO+ 3.4 mají všechny snímky obsažené v *Panelu náhledů* zaškrtnutou volbu *Zahrnout tento snímek do skládání*. To znamená, že všechny tyto snímky budou obsaženy ve složeném snímku. Pokud některý snímek zobrazený v *Panelu náhledů* nechcete do skládání zahrnout, zrušte zaškrtnutí této volby.



Obnovit výchozí nastavení tohoto snímku: toto tlačítko pro daný snímek obnoví nastavení parametrů *Intenzita*, *Posun X*, *Posun Y* a *Upravit histogram* na výchozí hodnoty.



Intenzita: tento ovládací prvek umožňuje nastavit intenzitu, s jakou bude dílčí fluorescenční snímek viditelný ve složeném snímku. Pokud je dílčí snímek ve složeném snímku nedostatečně viditelný, zvýšte pomocí posuvníku, nebo vepsáním hodnoty do pole vpravo od posuvníku, hodnotu intenzity a naopak. Kliknutí na podtržený odkaz *Výchozí* obnoví výchozí hodnotu prvku *Intenzita*.

Posun X	Posun Y
0	0

Posun X, Posun Y: tyto ovládací prvky umožňují přesně upravit vzájemnou pozici jednotlivých dílčích fluorescenčních snímků ve složeném snímku.



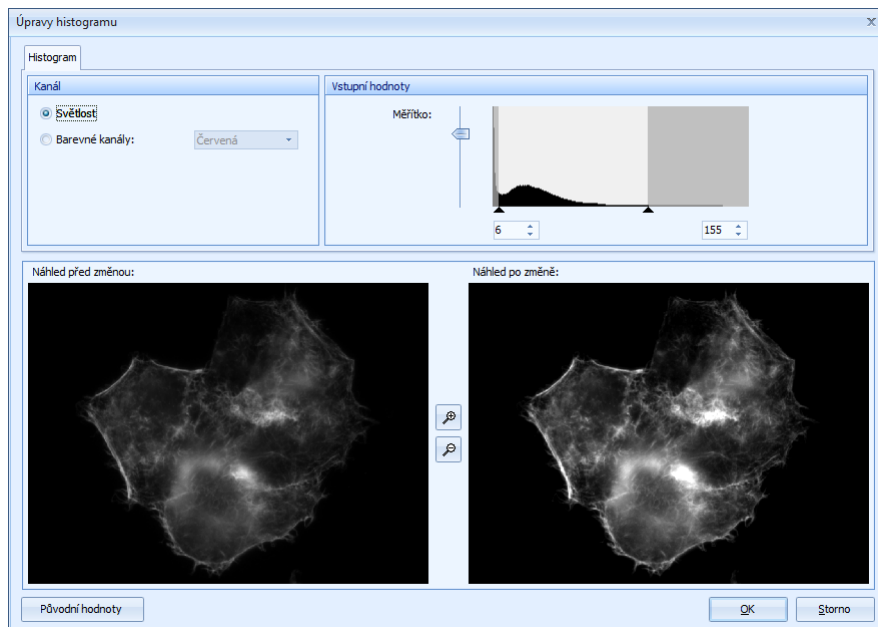
Upravit histogram: toto tlačítko otevře dialogové okno pro úpravu histogramu.

Barva:	
3. TRITC (572 nm)	
1. DAPI (460 nm)	
2. FITC (520 nm)	
3. TRITC (572 nm)	
4. Texas Red (620 nm)	
5. GFP (510 nm)	
6. Cy3 (565 nm)	
7. Cy5 (667 nm)	
8. EYFP (527 nm)	
Použít původní	

Barva: tato nabídka je aktivní v případě, že je v části *Použití barvy* aktivována volba *Uživatelské*. Tato nabídka obsahuje seznam uživatelsky definovaných barev. Požadovanou barvu snímku přiřadíte výběrem zvolené barvy z této nabídky. Pokud chcete pro některý snímek ponechat původní barvy (například snímek pořízený pomocí metody diferenciálního interferenčního kontrastu), vyberte z této nabídky volbu *Použít původní*.

Úprava histogramu

Pro každý dílčí fluorescenční snímek je možné provést úpravu histogramu. Tuto funkci je možné aktivovat stisknutím tlačítka *Upravit histogram* v ovládacích prvcích vedle náhledu požadovaného snímku. Otevře se dialogové okno *Úpravy histogramu*.



Toto okno se skládá z několika částí:

Část *Kanál* - v této části vyberte, na jakém barevném kanálu snímku se budou úpravy histogramu provádět. Volba *Světlost* (doporučená pro monochromatické fluorescenční snímky) ovlivňuje celý snímek (všechny barevné kanály najednou). Pokud zvolíte možnost *Barevné kanály*, je možné upravovat jednotlivé barevné kanály nezávisle.

V části *Vstupní hodnoty* se provádějí vlastní úpravy histogramu. Zobrazený graf představuje histogram pro kanál zvolený v části *Kanál*. Měřítka histogramu je možné měnit svislým posuvníkem *Měřítka*. Pod grafem histogramu jsou na krajích zobrazeny malé trojúhelníčky. Tyto trojúhelníčky je možné posouvat a tím nastavit hraniční hodnoty histogramu, tzv. „*černý bod*“ (levý trojúhelníček) a tzv. „*bílý bod*“ (pravý trojúhelníček). Nastavené hodnoty jsou zobrazeny v editovatelných polích pod histogramem. U monochromatických fluorescenčních snímků je možné posunutím „*černého bodu*“ doprava potlačit (ztmavit) příliš světlé pozadí. Posunutím „*bílého bodu*“ doleva je možné zesílit (zesvětlit) úroveň zobrazení fluorescenčního signálu.

V dolní části okna jsou náhledy snímku před a po provedení změn. Tlačítka  a  mezi oběma náhledy slouží ke změně zvětšení obou náhledů. Po zvětšení náhledů je možné tažením myši při stisknutí levém tlačítku oběma náhledy posouvat. Provedené úpravy histogramu se ihned projeví v pravém náhledu. Tlačítko *Původní hodnoty* ve spodní části okna vrátí všechna nastavení snímku do výchozího stavu. Provedené změny aplikujete na celý snímek stiskem tlačítka *OK*.

4. Složení snímku

Po nastavení všech požadovaných parametrů pro skládání stiskněte tlačítko  *Složit*. Složený snímek bude zobrazen v programu QuickPHOTO, kde s ním můžete dále pracovat a uložit jej. Složený snímek bude v programu QuickPHOTO pojmenován *fm #####.pripona*, kde ##### je pořadové číslo přidělené snímku programem QuickPHOTO. Dialogové okno modulu FLUO+ 3.4 zůstane otevřeno pro případné opakované skládání s jiným nastavením parametrů.

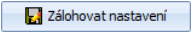
5. Obarvení/přebarvení snímku (bez skládání)

Modul FLUO+ 3.4 je možné také použít k obarvení monochromatického fluorescenčního snímku nebo k přebarvení barevného snímku. Postup je následující:

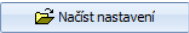
1. Poříděte snímek nebo jej otevřete v programu QuickPHOTO.
2. Snímek určený k obarvení/přebarvení označte v *Panelu náhledů* programu QuickPHOTO a spusťte modul FLUO+ 3.4.
3. V části *Použití barvy* aktivujte volbu *Uživatelské*.
4. V ovládacích prvcích náhledu snímku v modulu FLUO+ 3.4 zvolte z nabídky *Barva* požadovanou barvu.
5. Stiskněte tlačítko  *Složit*.

6. V programu QuickPHOTO bude zobrazen obarvený/přebarvený snímek.

6. Uložení nastavení modulu FLUO+ 3.4 do záložního souboru/načtení nastavení ze zálohy

Kompletní nastavení modulu FLUO+ 3.4 je možné uložit do záložního souboru stisknutím tlačítka  *Zálohovat nastavení* a následným zvolením názvu a umístění záložního souboru. Do souboru bude uloženo nastavení parametrů: *Intenzita*, *Posun X*, *Posun Y*, použitá barva pro každý snímek a celé uživatelské nastavení barev.

Načtení uloženého nastavení ze záložního souboru je možné provést stisknutím tlačítka

 *Načíst nastavení* a zvolením souboru obsahujícího zálohu nastavení.

Minimální systémové požadavky

- Jednojádrový procesor 2,4 GHz nebo vícejádrový procesor
- 1 GB RAM
- CD/DVD-ROM jednotka
- Microsoft® Windows® XP(SP3)/Vista®/7/8

Podporované verze programu QuickPHOTO:

- QuickPHOTO CAMERA 3.1
- QuickPHOTO MICRO 3.1
- QuickPHOTO INDUSTRIAL 3.1

Microsoft®, Windows®, Vista® jsou registrované značky společnosti Microsoft Corp.

v.207

