

S A B I A

Version 3.0

Software

User Manual

EBIOGEN Inc.

Contents

I . Introduction	1
II. Install	2
III. Calculate cell Confluency(배양율 계산)	4
IV. Cell counting(셀카운트)	9
V. 이미지 분석	
1. 조직분석	19
2. 면적	22
3. 길이	26

I . Introduction

1. SABIA (Solution for Automatic Bio-Image Analysis) Software 개요

SABIA 소프트웨어는 현미경이나 실험 장비로부터 얻은 세포 및 조직의 이미지(자료)를 분석하는 소프트웨어 도구로서 세포 배양을 자동계산, Cell counting, 색상의 비율 계산 및 특정 영역의 면적 및 길이 계산을 수치적으로 표현 함으로써 분석자가 보다 정확한 판별을 할 수 있도록 돕는 분석 도구이다.

2. 주요 기능

기능	내용
세포 배양을 자동 계산 Cell Culture	세포 이미지에서 배양율의 자동 계산 실시간 영상 캡처 및 분석
셀 카운트 Cell Counting	세포 이미지에서 세포 수 자동 Counting 각 셀의 길이 계산 Aggregation 비율 계산
이미지 분석 Image Analysis	색상 분포간의 비율 계산 면적 및 길이 계산,

3. 구동 환경(권장사항)

- 1) O/S : Window XP 이상 (Window 7 이상 권장)
- 2) 컴퓨터 사양 : Dual-core 이상 프로세서 및 4GB 이상의 Main Memory
- 3) 해상도 : 1600 * 900 이상(고 해상도 권장)
- 4) Internet 연결 : 버전별 상이.
 - ① 영구 버전 : 인증시만 Internet 연결 필요 (구입방법 : 회사로 별도문의)
 - ② 년 갱신 라이선스 버전 : 구동시마다 Internet 연결 체크
 - ③ 무료 체험 버전 : 구동시마다 Internet 연결 체크.

4. 제품 구입 및 기술지원 문의

(주)이바이오젠 Tel : 02-3141-0791 Email : service@e-biogen.com

II. Install

1. Software Download

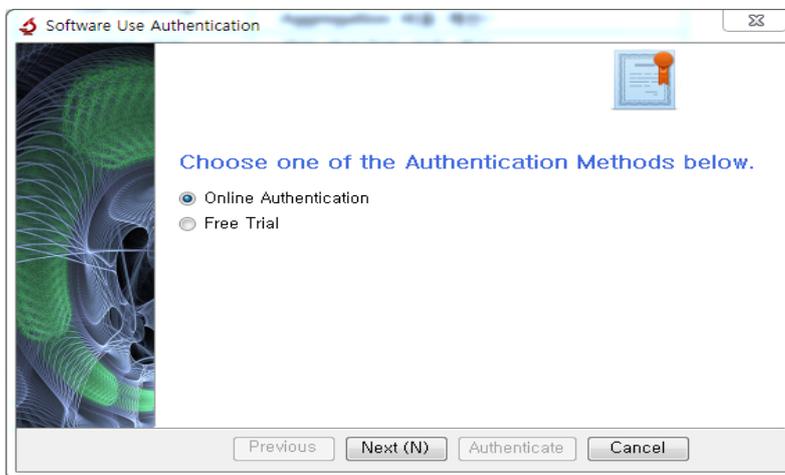
쥬이바이오젠 홈페이지에서 다운로드.

쥬이바이오젠 홈페이지 : www.e-biogen.com > Products > Software & Data Analysis

2. 설치 및 인증

설치 파일을 열어 설치한 후 프로그램 사용 인증 창에서 하나의 인증 방법을 선택하고 '다음' 버튼을 클릭한다.

[인증 방법 선택]



[온라인 인증]



- 1) 구매시 부여 받은 25자리의 인증 번호를 입력한 후, '인증받기' 버튼을 클릭한다.
- 2) 온라인 인증은 인터넷이 연결되어 있는 환경에서 가능하다.

[무료 체험]

Software Use Authentication

FREE Trial [Free Trial]

Company/Organization :

Name : Tel :

E-mail :

Request an authentication key by e-mail

Authentication Key :

※ Email with Authentication Key will be sent to the email address above.

※ MAC Address : 7427EA497237

※ If Free Trial Authentication is not available, copy the MAC Address above and send it to [service@e-biogen.com] with Name, E-mail, and Name of Company/Organization. We will promptly respond to it with Free Trial Authentication Key.

Previous Next (N) Authenticate Cancel

- 1) 무료 체험은 정식으로 구입하기 전에 15 일 동안 SABIA 의 다양한 기능을 체험 할 수 있다
- 2) 회사/조직명, 이름, 이메일 주소를 입력하고 '인증키 이메일 발송 요청'을 클릭하면 입력한 이메일 주소로 인증키가 발송된다.

[주의사항] 보안이 강화된 회사나 기관 메일을 이용하시는 경우 인증 메일을 못 받는 경우가 발생합니다. 이 경우는 이메일 주소를 개인 메일 주소로 입력하면 인증 메일을 받으실 수 있습니다.

만약, 그래도 인증이 안될 경우에는 위 화면의 안내처럼 사용 컴퓨터의 **맥어드레스**를 복사하여 회사/조직명, 이름과 함께 service@e-biogen.com 으로 보내 주시면 빠른 시간 내에 무료 체험 인증 번호를 회신해 드립니다.

Ⅲ. Calculate cell Confluency (배양율 계산)

1. 개요

Cell culture dish 내에서 Cell confluency를 프로그램을 이용하여 수치적으로 정확하게 계산하여 재현성 있는 실험 결과를 도출할 수 있다.

배양율 계산은 두 가지 방법이 있는데 세포 이미지 파일을 대상으로 계산하는 방법과, 컴퓨터 화면에서 이미지를 곧 바로 캡처 하여 사용할 수도 있다.

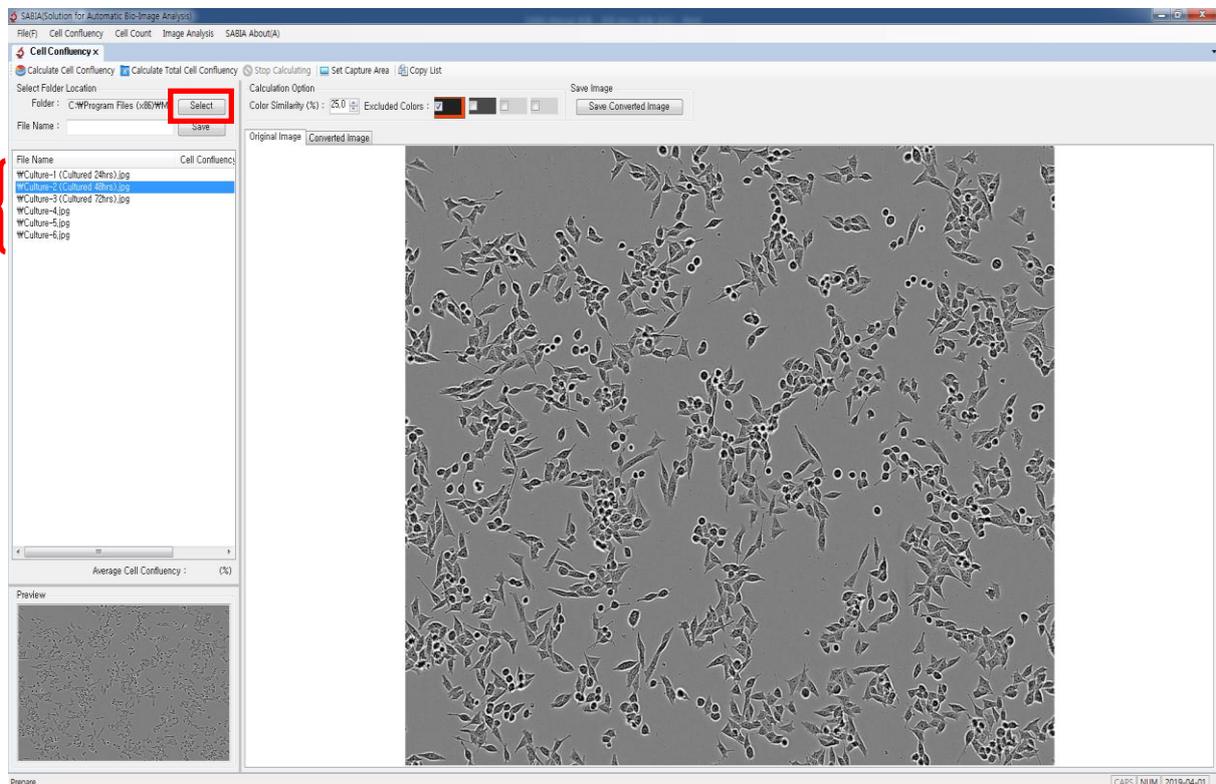
이미지를 캡처 하는 방법은 컴퓨터와 현미경이 연결되어 있는 경우에 사용하기에 적합한데 현미경으로부터 들어오는 영상에서 필요한 부분을 캡처 하여 실시간으로 분석할 수 있다.

2. 사용 방법

1) 파일선택

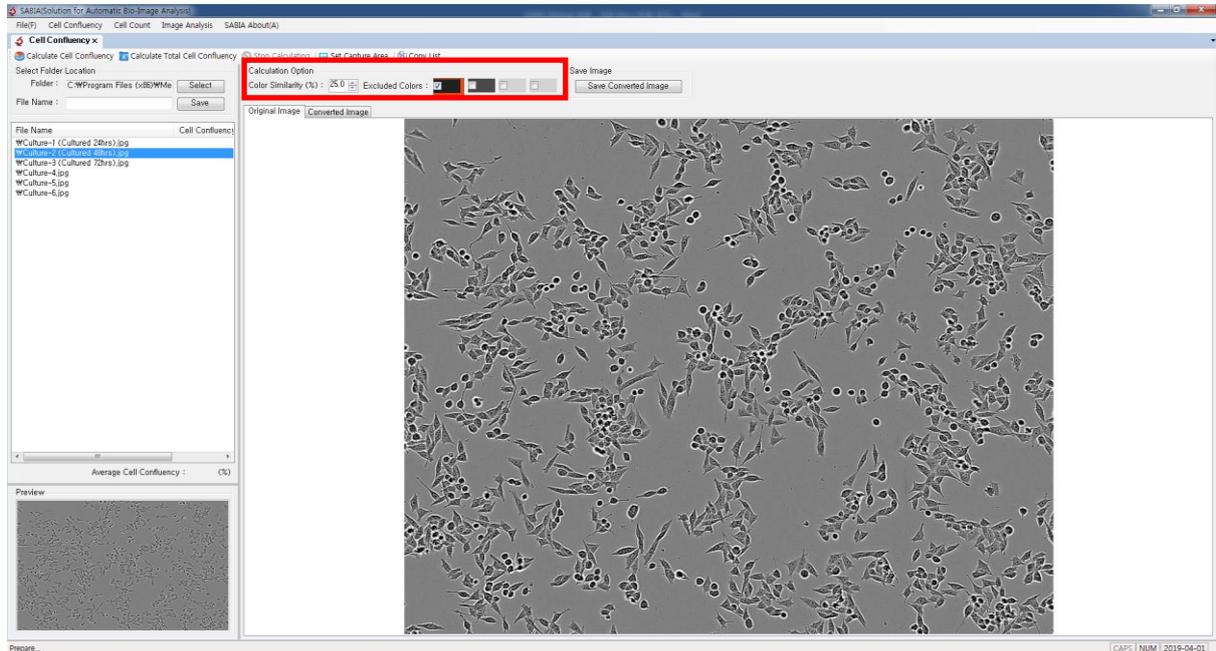
화면 왼쪽 목록에서 배양율을 계산 할 이미지가 있는 폴더와 파일을 선택한다.

선택한 파일은 화면 좌측 하단의 미리보기와 우측의 [원본이미지] 탭에서 이미지 내용을 확인할 수 있다.



2) 배양을 계산 옵션 설정

'배양을 계산 옵션'에서 '색상유사도'와 '제외색상'을 설정하는데 작업의 우선 순위는 없다.



(1) 제외색상 선택

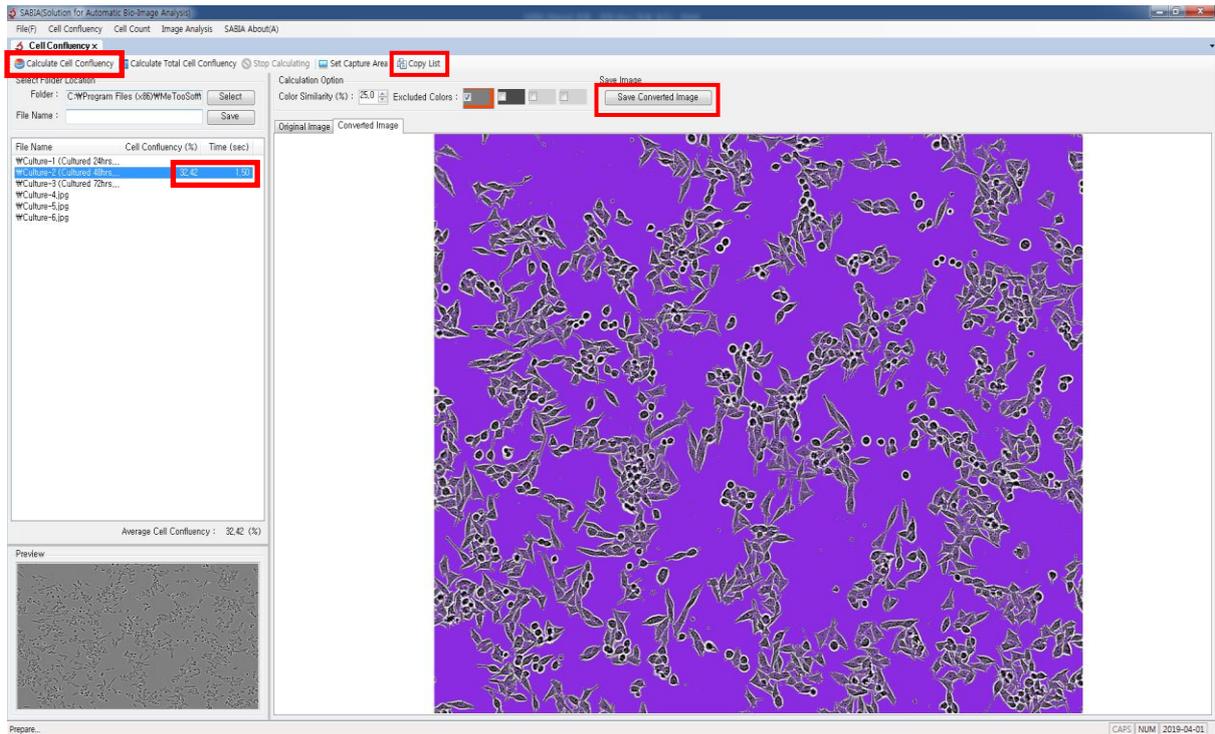
- ① 4 개의 제외 색상 칸 중 하나를 선택하여 체크한다. (최대 4 개까지 선택 가능)
- ② 그 아래의 원본이미지 탭에서 제외(배경)할 색상을 마우스를 클릭해서 지정하는데 제외 색상은 세포가 아닌 단순 배경으로 생각되는 부분을 의미한다.
- ③ 제외할 색상을 클릭하면 위의 '**제외색상**'의 체크되어 있는 칸에 지정한 색상이 표시됨을 알 수 있다.
- ④ 색상이 지정되어 있더라도 체크 되어 있지 않은 색상은 계산 과정에서 제외 된다.

(2) 색상유사도 설정

- ① '**색상유사도**'는 '**제외색상**'의 폭을 어느 정도까지 허용할 지의 의미이다. 지정 범위는 0부터 100(%)까지 선택 가능하며 1 씩 증감하나 소수점 1 자리는 직접 입력 가능하다.
- ② 색상 유사도 값이 클수록 제외색상의 폭이 넓어져 배경으로 인식 될 가능성이 높아진다.
- ③ 이미지의 색상이나 특징에 따라서 선택하며 초기에는 20~30% 사이에서 선택하고 계산된 결과를 보면서 조건을 변경하면 된다.

[주의사항] 너무 높은 수를 선택하면 모든 색이 제외할 색이 되어 세포색까지 인식하여 모든 이미지를 배경색으로 인식 할 수 있다.

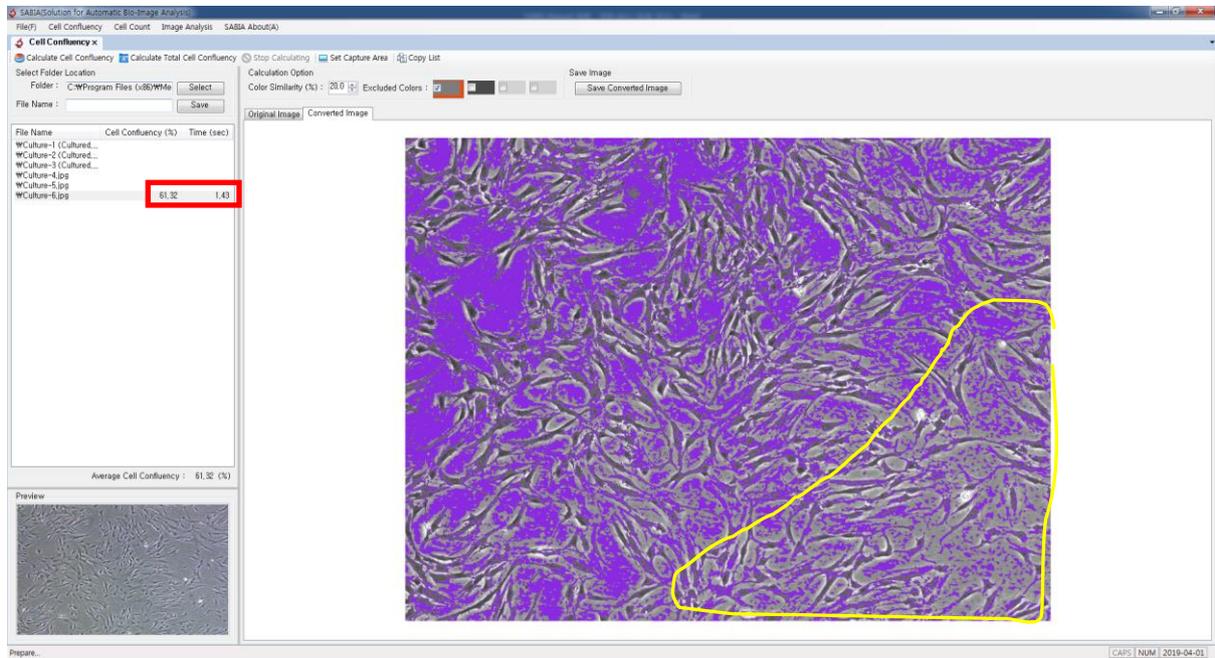
3) 배양율 계산 : 화면 좌측 상단의 '배양율계산' 버튼을 클릭한다



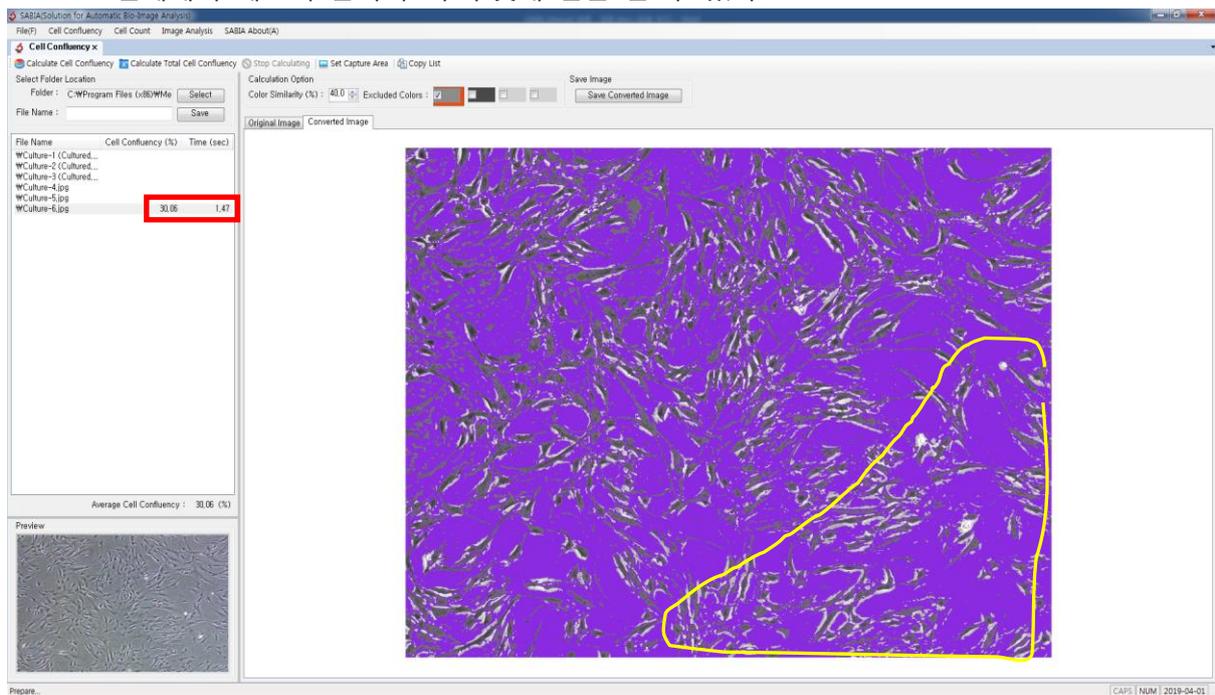
- (1) 계산된 배양율은 왼쪽 목록의 해당 파일 옆에 표시된다.
제외색상으로 선택한 색상은 '변환된이미지' 탭에 **보라색** 계열로 변환되어 보여지고 세포의 윤곽이 뚜렷하게 구분되어짐을 알 수 있다.
- (2) 계산 결과가 만족스럽지 않으면 다음 두 가지 방법을 적용해 본다.
 - ① '색상유사도'를 조정한 후 재계산 해 본다
 - ② 앞서 설명한 '제외색상선택' 방법과 같이 상단의 '제외색상' 체크 칸에 하나를 더 체크한 후, 우측의 '변환된이미지' 탭에서 제외할 색상을 추가로 지정하거나 다시 계산 해 본다.
이때, '제외색상' 선택 시에, 이미 배경으로 인식된 **보라색** 계열의 색상과 뚜렷해진 세포의 윤곽을 제외한 나머지 부분의 색상을 추가하면 정확성이 더 높아진다.
- (3) 적용한 '색상유사도' 및 '제외색상'의 조건은 프로그램이 종료되어도 설정 값이 유지되어서 프로그램을 다시 구동하여 다른 이미지 분석 시에 그대로 적용할 수 있다.
(동일 연구 환경에서 얻은 이미지는 분석 조건의 조정 없이 그대로 계산할 수 있다.)
- (4) '목록복사'를 누르면 계산된 파일명과 배양율이 클립보드에 복사되며 엑셀이나 메모장에 붙여 넣어 데이터의 활용이 가능하다.
- (5) '변환된이미지'에 체크하면 최종 계산된 배양율 이미지가 원본 이미지가 있는 폴더의 하위폴더에 저장된다.
- (6) '전체배양율계산'을 클릭하면 선택한 폴더 내의 모든 파일을 동시에 계산 할 수 있다.

3. **배양율 계산 사례** : 세포 이미지의 배양율을 계산한 사례로써 '색상유사도' 만을 조정하여 빠르게 원하는 결과를 얻는 과정이다.

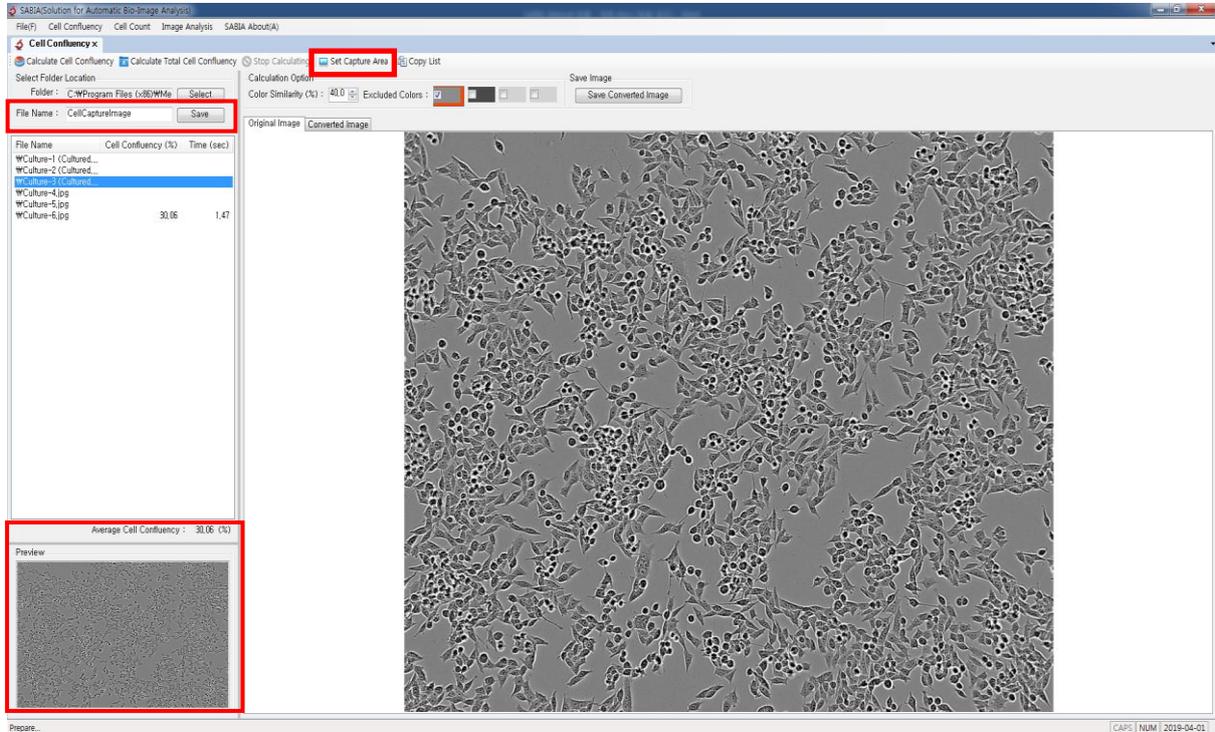
- 1) '제외색상'은 1가지를 선택하고 '색상유사도'를 20%로 설정한 결과 61.3% 배양율 도출
- 2) 노란색 영역내의 부분을 더 제거하기 위해 '색상유사도'를 올림.



- 3) '제외색상'은 변경하지 않고 '색상유사도'만 40% 올린 결과 30% 배양율 결과 도출
- 4) '색상유사도'를 올린 결과 노란색 영역에 세포 윤곽이 더 뚜렷해 짐은 물론, 이미지 전체에서 세포의 윤곽이 더 뚜렷해 짐을 알 수 있다.



4. **실시간 이미지 캡처** : 컴퓨터 화면에 보여지는 현미경 영상이나 일반동영상, 열려져 있는 세포 이미지 파일의 특정 영역 등을 바로 캡처 하여 실시간으로 계산할 수 있다.



1) 이미지 캡처 방법

- ① **'캡처영역설정'** 을 클릭한 후 안내 메시지를 참조하여 진행한다.
- ② 모니터 상의 원하는 이미지 부분을 드래그하여 선택한다.
- ③ 선택 후 **'E'** 를 눌러 영역 설정을 마친다.
만약, 듀얼 모니터를 사용하는 경우에는 **'M'**을 누르면 모니터 화면 전환이 된다.
- ④ 캡처를 취소하고 할 때는 **'Esc'**를 누른다.
- ⑤ 캡처가 완료되면 화면 하단의 **'미리보기'**에서 확인할 수 있으며 파일명을 입력 후 **'이미지 저장'**을 클릭하면 우측의 원본이미지 탭에 보여지며 자동으로 분석 이미지 대상으로 선택된다.
- ⑥ 저장되는 폴더는 현재 위치한 폴더의 하위폴더에 저장되며 폴더 명은 캡처 한 날짜이다.

IV. Cell counting (셀카운트)

1. 개요

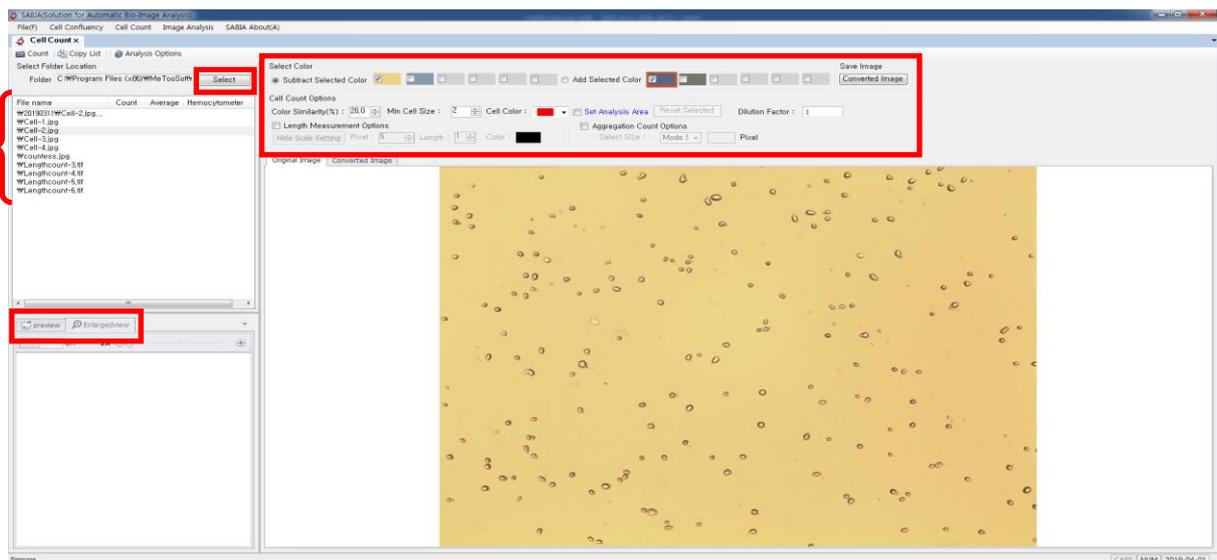
세포(핵)의 개수를 자동 카운트하는 기능으로 다양한 세포 이미지에서 세포 수를 셀 뿐만 아니라 각 세포의 길이까지 계산할 수 있어 셀카운트의 공정을 획기적으로 개선할 수 있다..

기본 사용 방법은 세포배양을 자동계산과 동일하며, 카운트 대상이 아닌 색상을 제외하는 방법과 반대로 카운트 대상 색상을 지정할 수 있는 방법이 있으며, 또한, 전체 이미지가 아닌 분석하고자 하는 일부 영역만을 설정하여 카운트 할 수 있다.

추가로, 필요에 따라 각 Cell들의 길이도 계산할 수 있다.

2. 사용 방법

- 1) 파일 선택 : 화면 왼쪽의 '대상폴더선택'에서 '폴더선택' 버튼을 클릭해서 세포 이미지가 있는 폴더를 선택하고 셀카운트 작업을 진행 할 이미지 파일을 선택한다.



- 2) 옵션 선택 : 화면 상단의 '색상선택 및 Cell Count 계산 옵션'을 각각 설정한다

(1) 색상선택

'선택색상제외'와 '선택색상처리' 옵션이 있으며

선택색상제외 옵션은 단색의 이미지인 경우에, 선택색상처리 옵션은 여러 가지 색상이 혼재할 때 특정 색상을 지정하여 카운트 할 경우에 유리하다..

- ① 선택색상 제외 : 이미지에서 셀카운트에서 제외할 색상(주로 Cell 이 아닌 배경색)을 클릭한다. (총 6개 까지 선택 가능)
- ② 선택색상 처리 : 선택색상 제외 와는 반대로 Cell 색상(카운트 하고자 하는 색상)을 선택한다. (총 6개 까지 선택 가능)

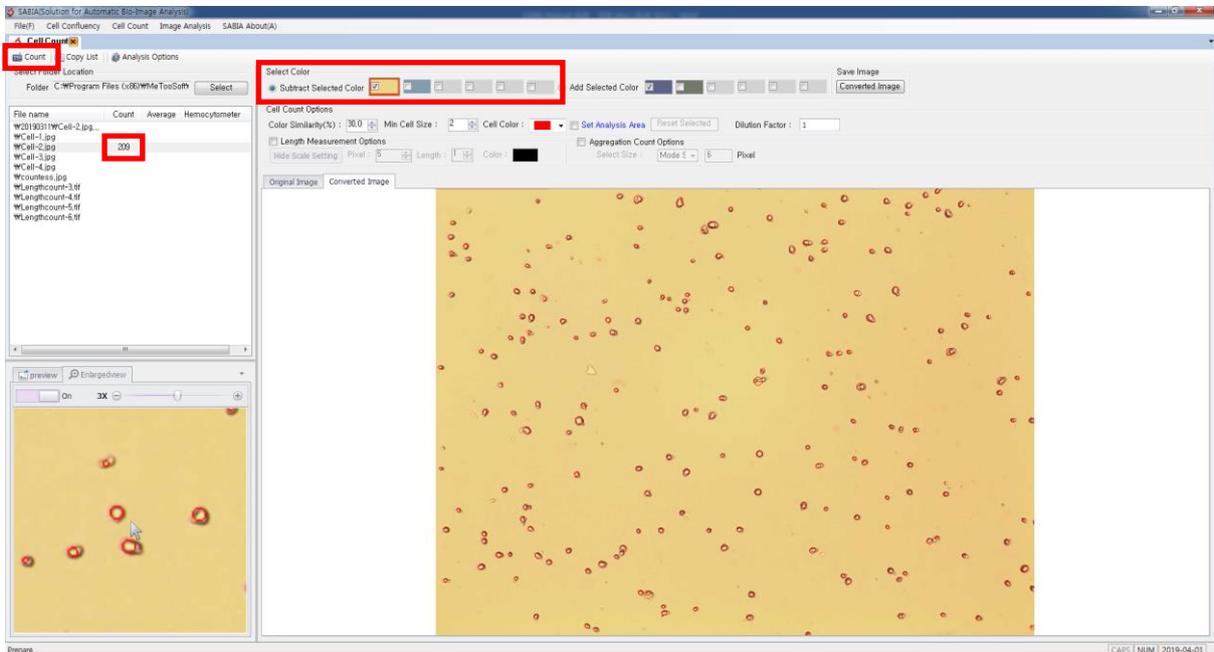
(2) Cell Counting 계산 옵션

- ① **색상 유사도** : 선택한 색상과 유사한 정도를 허용할 범위
 - 0 부터 100%까지 1 씩 증감하며 소수점 1 자리는 직접 입력 가능하다.
 - 0 에 가까울 수록 선택된 색상과 완전히 동일한 색상만을 허용하여 카운트 한다.
 - 선택색상 제외시 : 초기 값을 10~20% 정도
 - 선택색상 처리시 : 초기 값을 40~60% 정도에서 설정하고 결과에 따라서 적절히 조정한다
 - ② **최소 Cell 크기** : Cell 이라고 인정할 수 있는 유효한 Cell 의 **최소 크기**를 지정한다.
 - ③ **Cell 색상** : 카운트 된 Cell 을 표시할 색상(등근 원으로 마킹)을 지정한다
 - ④ **분석 영역 지정** : 카운트 대상을 전체 이미지가 아닌 일부 영역을 설정하여 카운트 하고자 할 때 사용한다. (사각형으로 영역 설정, 별도 설명)
- (3) **길이 계산 옵션** : 카운트 한 Cell 의 길이 계산시 옵션을 설정한다(별도 설명)
 (4) **Aggregation 계산 옵션** : 응집된 Cel 의 확인 및 예상 Cell 개수 계산(별도 설명)
 (5) **확대보기** : 화면의 확대 보기 기능(최대 4 배, 별도 설명)

3) Counting 버튼을 클릭한다.

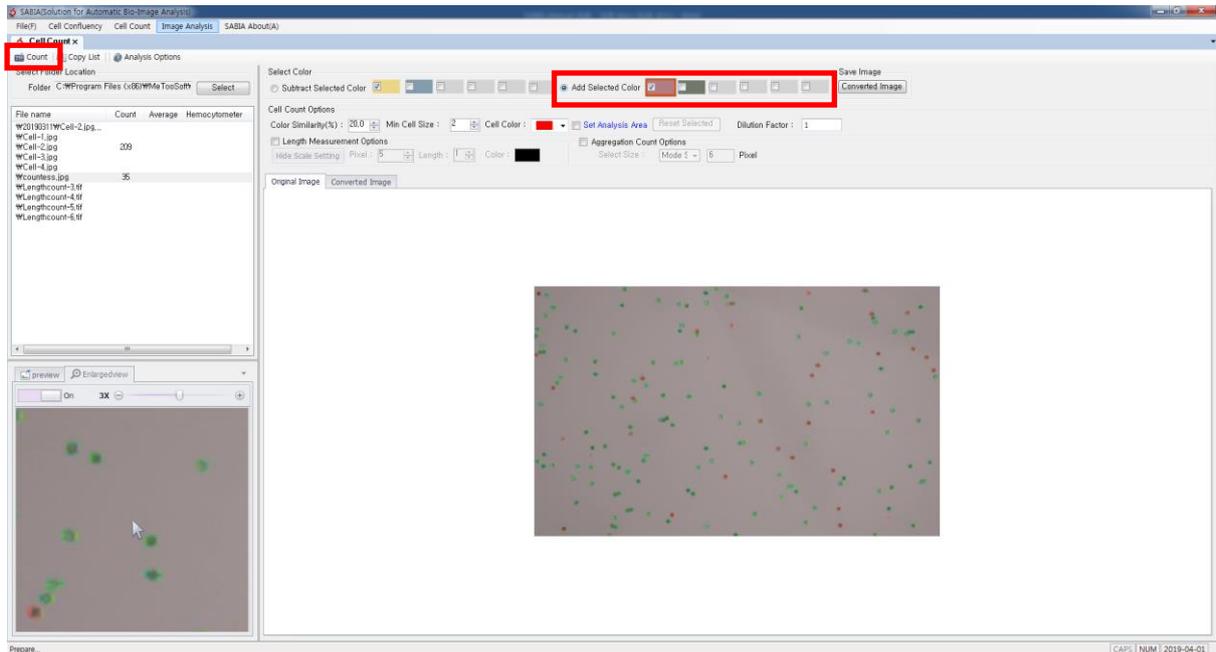
옵션선택을 마치고 화면 좌측 상단의 '**Counting**' 버튼을 클릭하면 조건에 맞는 Cell 을 카운트 하여 개수를 파일명 옆에 표시한다.

(1) 선택색상 제외 옵션 적용 사례

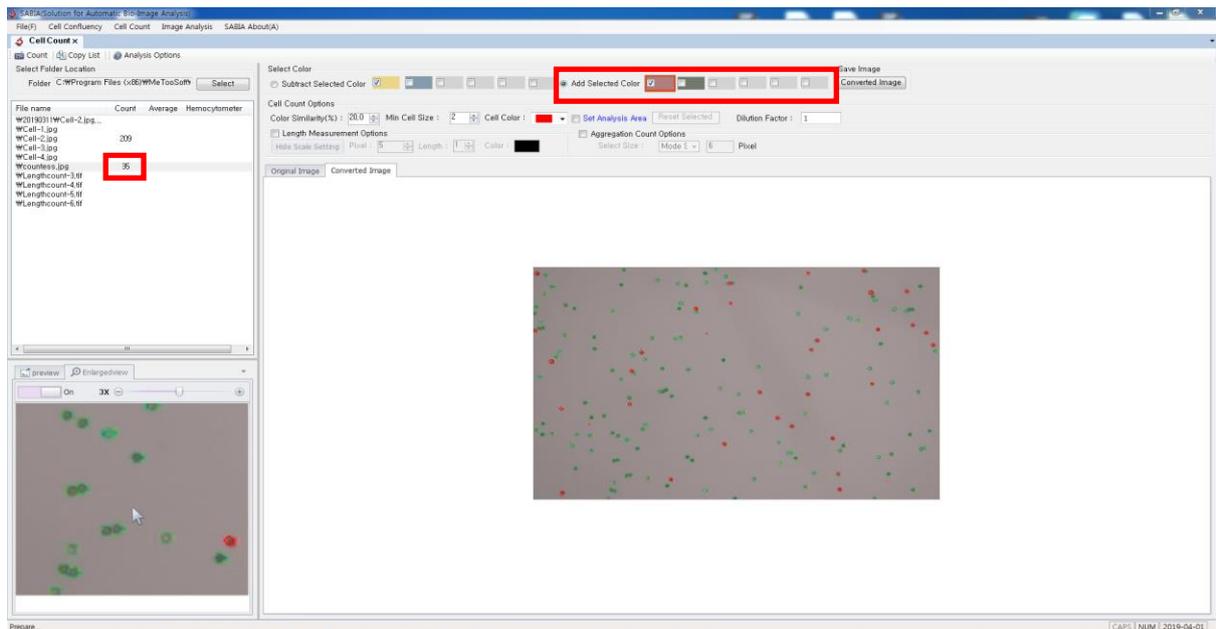


- ① 노란색 배경을 제외 색상으로 지정하고 '**색상유사도**'를 30%로 하여 카운트 한 결과
- ② 위 결과 화면에서는 Cell 개수가 210개인 것으로 카운트 되었고 변환된 이미지 탭에서는 카운트 된 Cell 이 붉은 색으로 표시되었음을 알 수 있다.
- ③ 화면 좌측 하단의 '**확대보기**'를 켜면 보다 더 정확하게 알 수 있다. (별도 설명)

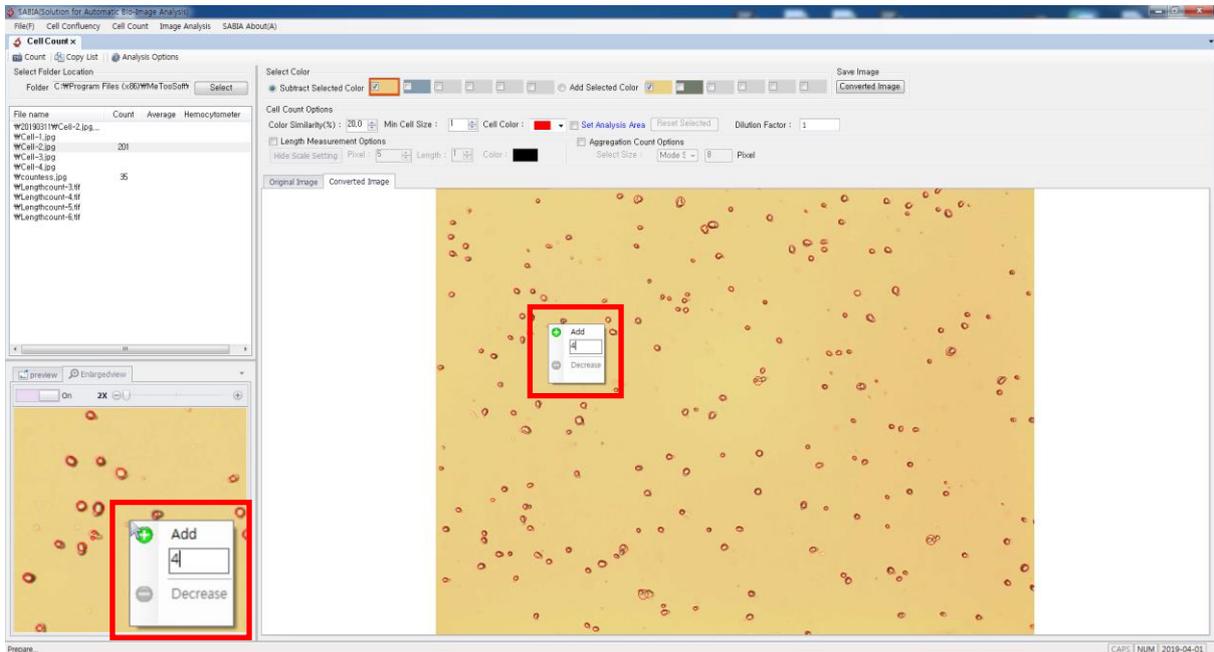
(2) 선택색상 처리 옵션 적용 사례 : 복수의 색상 중에서 특정 색상의 Cell 카운트



- ① 카운트 하고자 하는 Cell 의 색상이 2 개 이상일 때 특정 색상의 Cell 을 카운트 하는 기능으로써 예를 들면, Live Cell 과 Dead Cell 의 색상이 서로 다를 때 각각의 Cell 을 카운트 하고자 할 때 사용 할 수 있다.
- ② 이미지에서 색상을 선택하여 클릭하여 '선택색상 처리' 옵션의 칸에 색상을 지정 하고 색상 유사도를 조정 후 'Counting' 버튼을 클릭한다.
- ③ 위 화면에는 푸른색과 붉은색 계열의 Cell 이 섞여 있는데 그 중 붉은색 계열의 Cell 색상을 지정 한 결과 아래 화면과 같이 모든 붉은 색 계열의 Cell 이 카운트 되었다.



3. 조정 작업 : 카운트 결과 이미지에서 카운트 한 Cell 의 조정 기능 (필요시)



1) 카운트 결과의 조정이 필요한 경우

- ① 유효한 Cell 이 카운트 되지 않아 추가하고자 할 때
- ② 유효하지 않은 Cell 이 카운트 되어 제거하고자 할 때
- ③ 카운트 된 Cell 의 크기를 조정하고자 할 때 (숫자의 크기 변경으로 조정)
- ④ 카운트 된 Cell 의 표시가 Cell 의 위치와 어긋나서 일치 시키고자 할 때

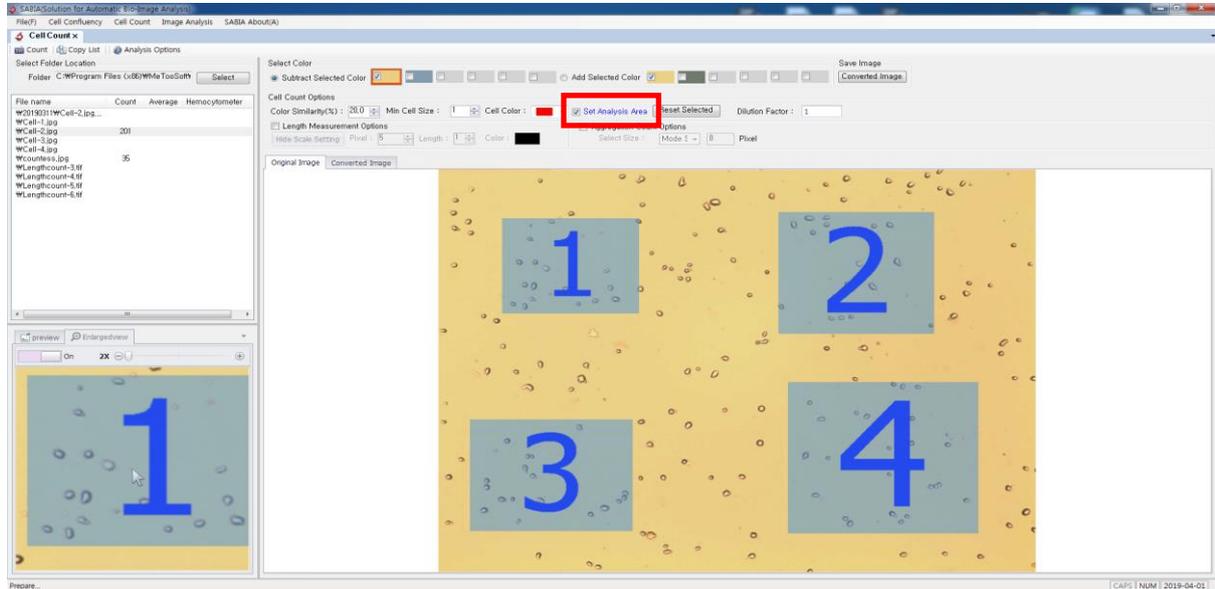
2) 조정 방법

- ① 카운트 된 결과 이미지에서 원하는 위치에서 **마우스 우클릭** 또는 **더블클릭**하여 위 화면의 표시와 같이 팝업 메뉴 생성
- ② **추가** : 카운트 되지 않은 위치에서 팝업 생성하여 Cell 을 새롭게 추가하여 표시.
- ③ **증가** : 카운트 된 Cell 의 위치에서 팝업 생성하면 '추가' 대신 '**증가**'로 표시되고 그 위치에 Cell 을 증가시켜 표시.
- ④ **감소** : 해당 위치에 Cell 이 중복으로 카운트 되어 감소시키고자 할 때 사용하며 1 개씩 줄어든다.
만약, Cell 개수가 중복되지 않고 1 개인 경우는 '**제거**'로 표시.
- ⑤ **제거** : 카운트 된 Cell 이 유효하지 않다고 판단 될 때 사용하며 마킹 표시가 없어짐.
- ⑥ **숫자** : 추가 또는 증가할 Cell 의 크기로서 기본 값은 '**Cell Counting 계산옵션**'의 '**최소 Cell 크기**'의 숫자를 표시하며 원하는 크기를 입력 후 '**추가**' 클릭 또는, 카운트 된 Cell 의 크기를 조정할 때도 사용
- ⑦ **이동** : 카운트 된 Cell 의 위치를 이동하기 위하여 마우스로 해당 Cell 을 클릭한 채 Drag & Drop 하면 위치가 이동.

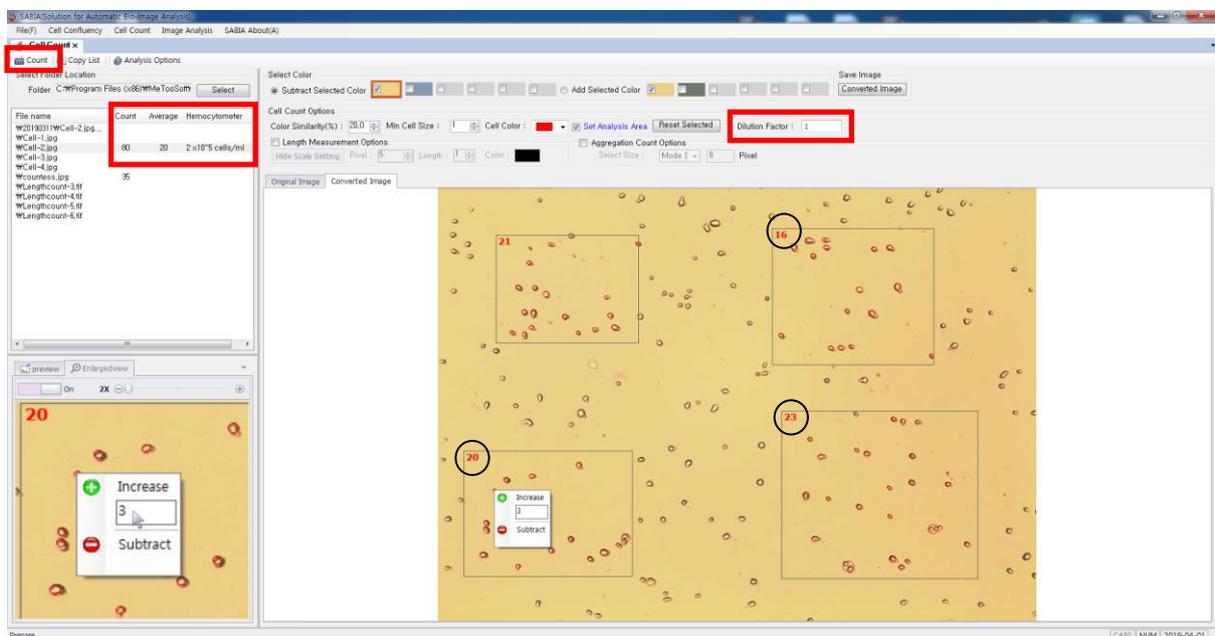
4. 분석영역 지정 : 영역을 설정하여 그 영역내의 Cell 만 카운트 하고자 할 때

1) '분석영역 지정'에 체크한 후 마우스로 영역을 지정하여 카운트 할 수 있다.

영역은 여러개 지정할 수 있으나 영역끼리 겹쳐질 수는 없다.



2) '분석옵션'을 설정하고 'Counting' 을 클릭하여 영역내의 Cell 카운트



① 각 영역별 카운트 된 Cell 개수를 검정색 원의 숫자와 같이 표시해주며 파일 목록창에서 전체 개수와 평균 개수를 보여 준다.

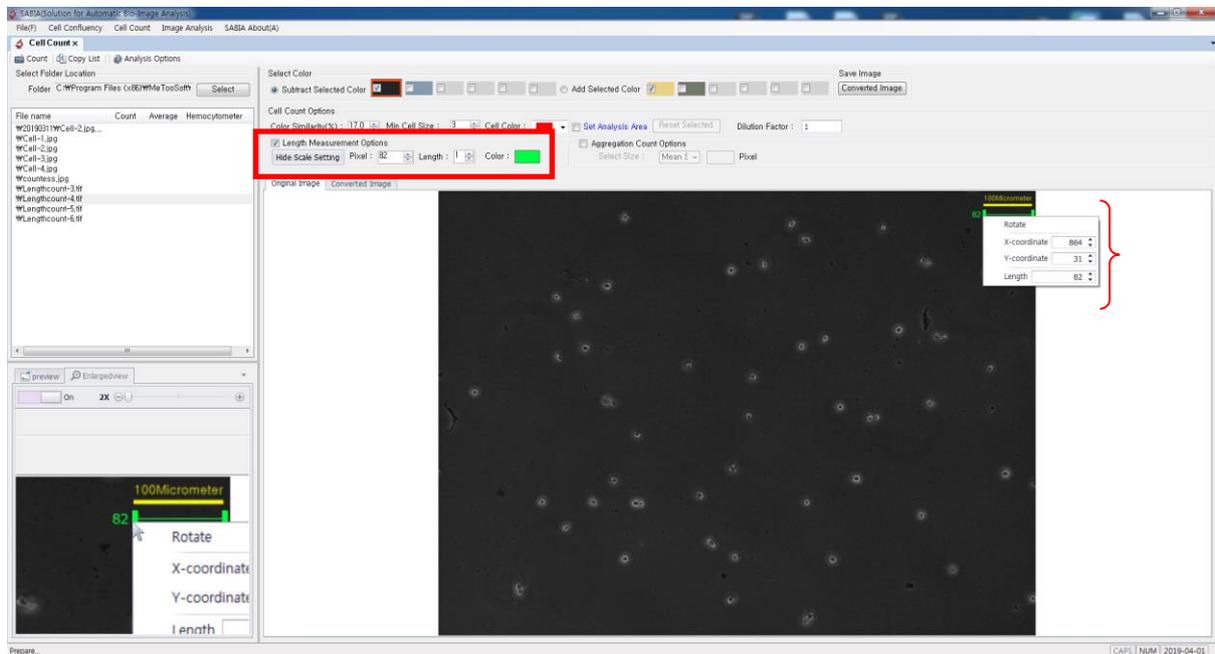
② 분석이 완료된 이미지에서 '마우스 우클릭' 또는 '더블클릭'으로 새로운 Cell 을 추가할 수 있으며, 역시 카운팅 된 Cell 에서 '마우스 우클릭' 또는 '더블클릭' 하여 개수를 증가하거나 줄일 수 있으며 Cell 의 크기도 조정할 수 있다.

③ Dilution Factor 지정 : 값을 지정하면 공식에 의하여 Hemocytometer 를 계산.

5. Cell 의 길이 계산

길이 계산 옵션을 체크 하고 길이 계산의 기준이 되는 옵션 값들을 설정하면 카운트 된 Cell 의 길이를 계산 할 수 있다.

[주의사항] 길이 계산을 이용하기 위해서는 반드시 **Scale Bar** 가 필요하다



1) 길이 계산 옵션 항목 설명

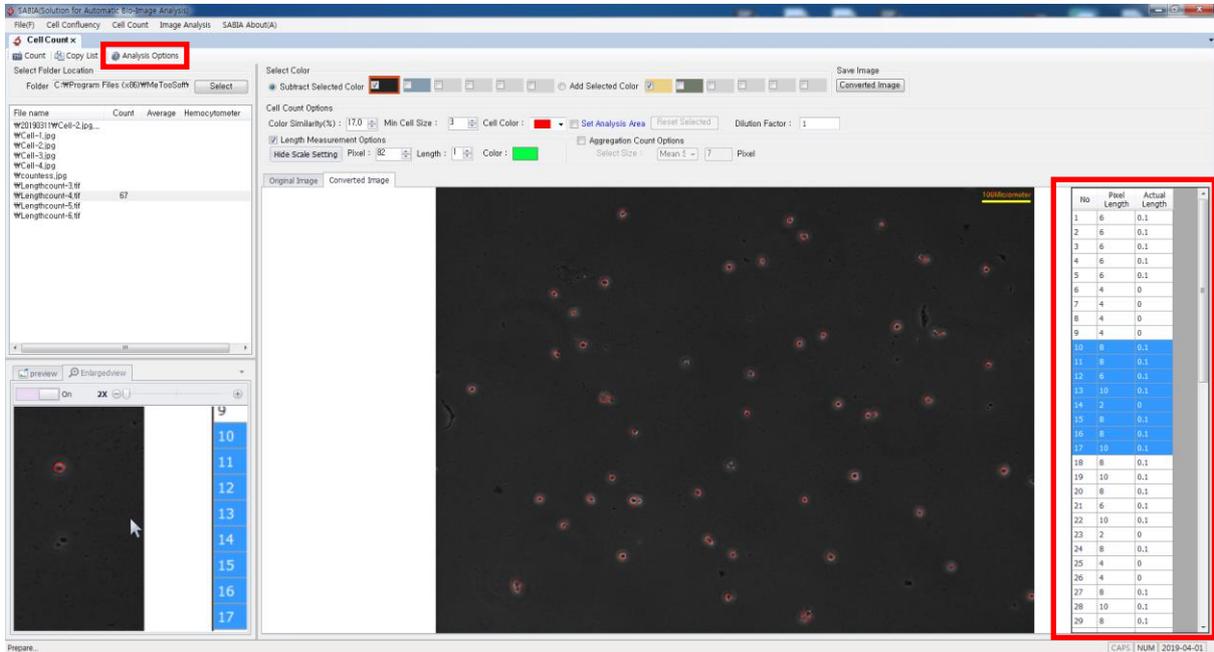
- ① **기준픽셀** : 기준설정 Bar 를 이용하여 구한 Scale Bar 에 대한 픽셀 수치
- ② **기준길이** : 이미지내의 Scale Bar 에 표기되어 있는 수치. (위 이미지에서는 100)
- ③ **단위** : Scale Bar 에 표시된 단위. (위 이미지에서는 micrometer)
- ④ 위 화면 좌측 하단의 돋보기에서는 100 Micrometer 가 82 픽셀에 해당되므로 이를 기준으로 Cell 길이를 계산하며 단위는 Scale bar 에 있는 Micrometer 가 된다.

2) 길이 계산을 위한 기준 설정 설정 방법.

- ① '**기준설정표시**' 버튼을 클릭하여 기준설정 Bar 를 표시
- ② 이미지 내의 Scale Bar 의 위치에 기준설정 Bar 를 Drag 하여 정밀하게 위치.
 - 기준 설정 Bar 의 맨 끝과 Scale Bar 맨 끝을 서로 일치하게 맞춘다.
 - 좌측 하단의 '**확대보기**' 기능을 활용 하면 보다 더 세밀하게 위치 시킬 수 있다.
 - **기준픽셀**의 수치를 증감시키면 기준설정 Bar 도 같이 늘어나거나 줄어든다.(연동)
- ③ 또는, Scale Bar 근처에 기준설정 Bar 를 위치 시켜 놓고 위 그림 우측 상단과 같이 마우스 우클릭하여 나온 팝업 메뉴에서 X,Y 좌표 값과 길이를 조정하여 위치 시킬 수도 있다.
- ④ 최대한 Scale Bar 와 기준설정 Bar 의 위치를 정밀하게 맞추면 기준설정 Bar 의 픽셀 길이를 구할 수 있고 이는 길이 계산 옵션의 '**기준픽셀**' 칸에 자동으로 입력된다.

3) Cell 의 길이 계산 결과 (우측 박스)

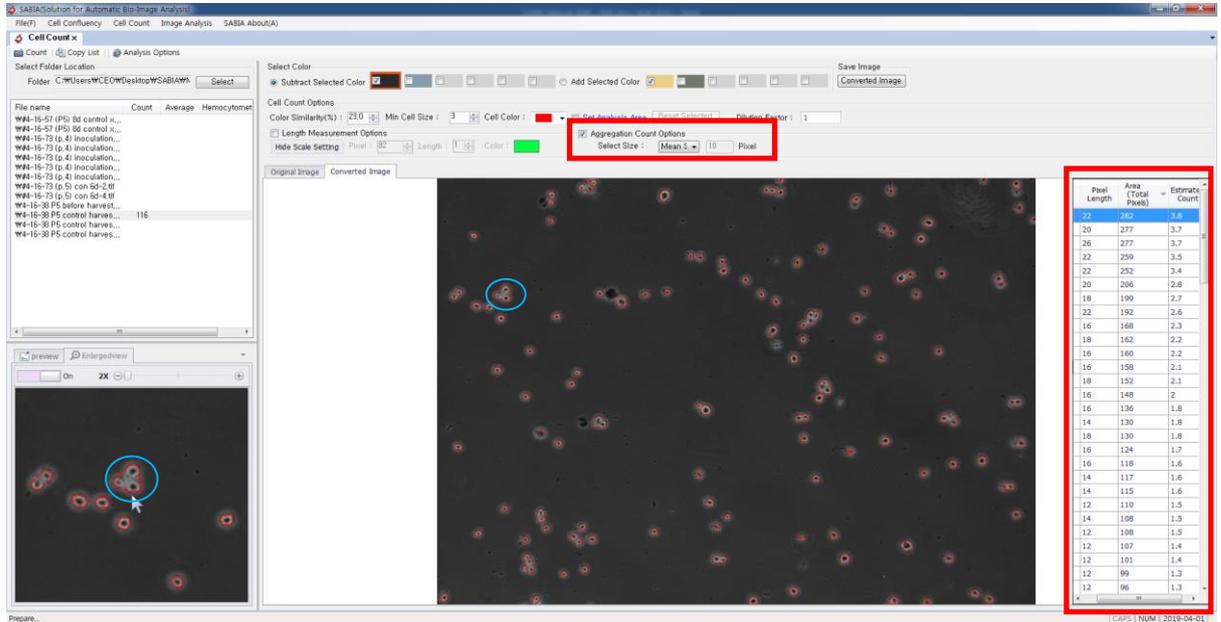
Cell 의 길이 계산 결과는 화면 우측에 표로 보여지며 화면 상단의 '목록 복사' 버튼을 클릭하거나 우측의 길이 목록에서 마우스를 이용하여 범위를 설정하고 Copy & Paste 하여 엑셀이나 메모장에 붙여 넣어 데이터의 활용이 가능하다 (아래 화면 참조)



- ① 픽셀길이 : 화면의 해상도를 기준으로 차지하고 있는 픽셀 개수
- ② 실제길이 : 픽셀길이를 Scale bar 의 기준에 의해 계산한 실제 길이
- ③ 선택 Cell 의 길이를 표에서 찾기 : 카운트 된 Cell 에 마우스를 올려 놓으면 우측의 표에 **파란색**으로 해당 위치를 표시
- ④ 표에서 해당 Cell 위치 찾기 : 표에서 항목을 더블 클릭하면 **흰색**으로 Cell 위치 표시
- ⑤ 표의 값의 클립보드 복사
 - 마우스로 Drag 한 후 'Ctrl+C'
 - Ctrl + 마우스로 항목 개별 선택 후 'Ctrl + C' 한 후 엑셀에서 붙여 넣기
- ⑥ 표 정렬 : 표에서 항목(No, 픽셀, 실제길이)를 누르면 정렬

6. Aggregation 비율 계산

Cell의 Aggregation 상태를 찾아 영역을 구분 지어 표시하고 그 영역내의 Cell의 예상 분포(개수)를 계산하여 전체적인 Aggregation 비율을 유추 할 수 있다.



1) Aggregation 계산 기준 옵션 항목 설명

- ① **평균사이즈** : 마킹된 전체 Cell의 평균 크기(자동 계산)
- ② **최빈사이즈** : 마킹된 Cell 중 가장 빈도가 높은 Cell의 크기(자동 계산)
- ③ **중간사이즈** : 마킹된 Cell의 가장 중간이 되는 Cell의 크기(자동 계산)
- ④ **사용자입력** : 사용자가 입력한 값.

2) Aggregation 계산 결과 설명 (오른쪽 표)

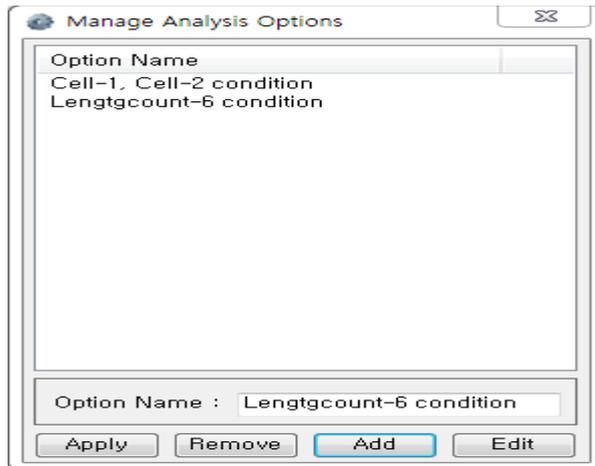
- ① **픽셀길이** : 마킹된 Cell의 직선 최대 길이(픽셀)
 - ② **면적(총픽셀)** : 마킹된 Cell의 전체 면적으로 픽셀의 총 개수를 의미
 - ③ **예상개수** : Aggregation 계산 기준 옵션에서 지정된 Cell의 면적이 마킹된 개별 Cell 영역 내 차지할 예상 개수

$$\text{예상개수} = \text{면적(총픽셀)} / \text{Aggregation 계산 기준 값의 면적}$$
- * Title를 클릭하여 오름차순/내림차순으로 정렬 가능

Pixel Length	Area (Total Pixels)	Estimate Count
22	282	3.8
20	277	3.7
26	277	3.7
22	259	3.5
22	252	3.4
20	206	2.8
18	199	2.7
22	192	2.6
16	168	2.3
18	162	2.2
16	160	2.2

7. 분석 옵션 기능

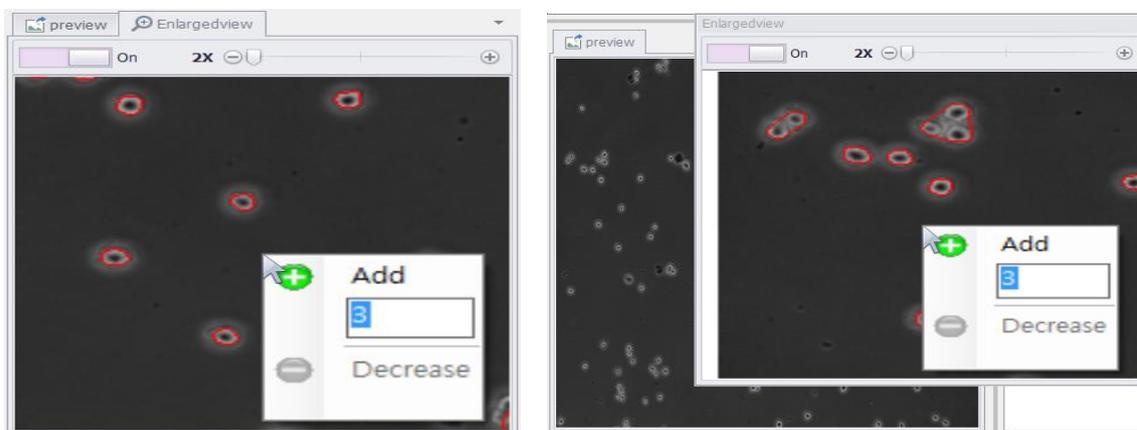
셀카운트 조건을 매번 설정 할 필요 없이 한번 설정한 조건을 '분석 옵션'으로 저장하면 다음 작업에서 유사한 이미지는 조건을 설정할 필요 없이 바로 적용할 수 있다. 또한 이미지의 특성에 따른 조건을 여러 개 설정해 놓을 수 있어 이미지마다 분석 조건을 재설정하는 번거로움을 덜어줄 수 있는 편의 기능이다. (조건 패키지).



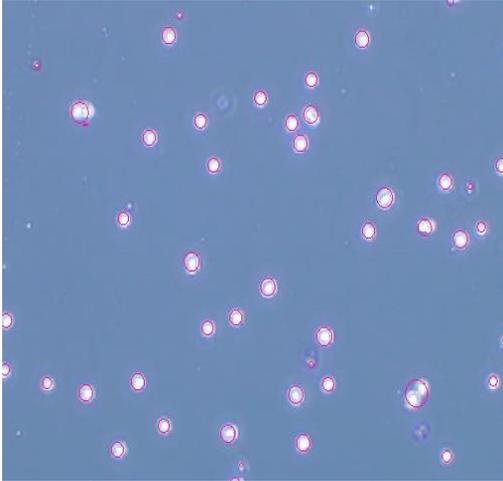
- 1) 분석옵션명 : 카운트시의 여러 조건을 인식하기 쉬운 이름으로 지정
- 2) 적용 : 선택한 분석옵션 적용
- 3) 삭제 : 선택한 분석옵션 삭제
- 4) 추가 : 분석옵션명에 입력한 조건 저장
- 5) 수정 : 선택한 분석옵션명 변경

8. 돋보기 기능

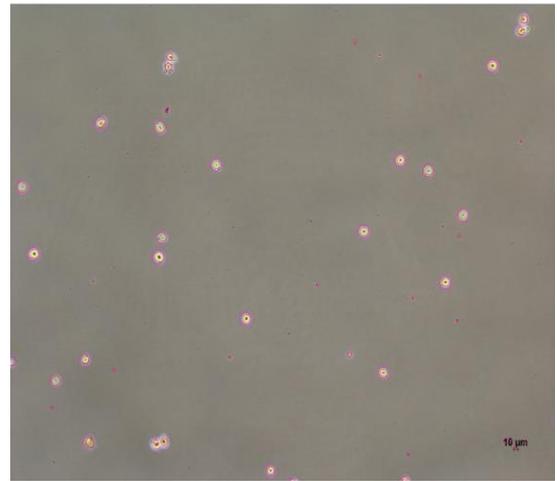
- 1) 결과 이미지의 내용을 확대하는 기능으로 최대 4 배까지 확대가 가능하다.
- 2) 아래 우측과 같이 창을 분리하여 크게 키우면 좀 더 크게 확대한 내용을 볼 수 있다.
 - 복귀는 마우스로 창의 상단을 Click & Drag 하여 제 위치에 갖다 놓거나 마우스 우클릭 하여 나온 메뉴를 이용하면 된다..



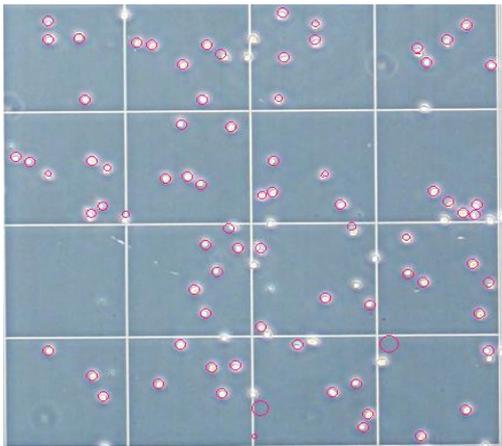
9. 다양한 이미지에서 Cell 카운트 사례



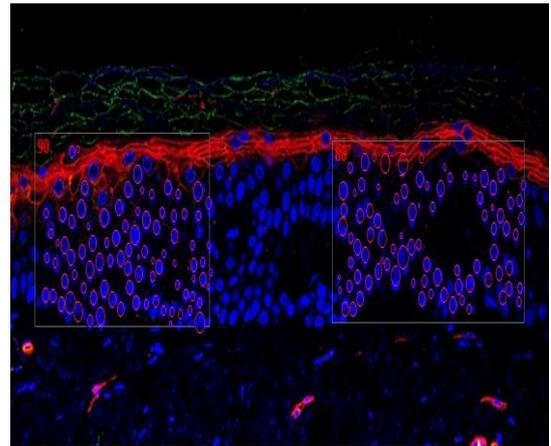
[단색 배경]



[단색 배경2]



[격자 무늬]



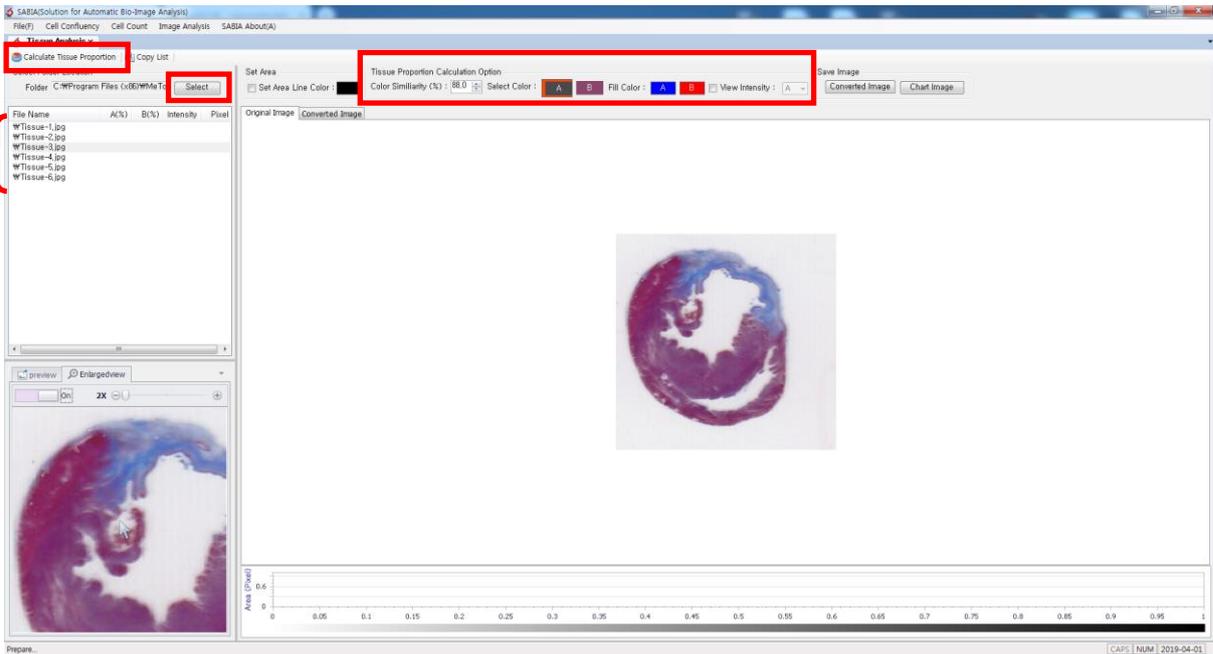
[색상에서 영역 지정]

V. 이미지 분석 - 조직분석

1. 개요

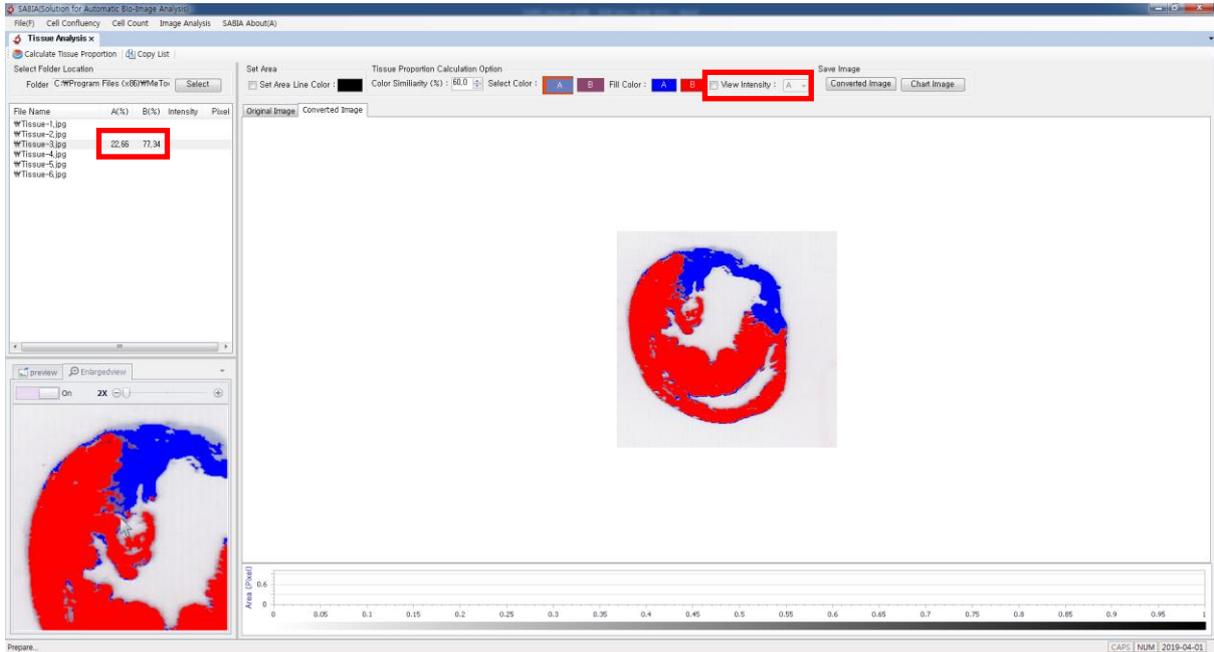
이미지 내의 서로 다른 두 가지 색상의 비율을 계산 하는 기능으로 색상의 분포를 알아내어 상대 비율을 계산해 준다. 영역을 지정하여 비율을 구할 수 있으며 색의 강도(Color Intensity)도 수치화하여 차트와 같이 제공한다.

2. 사용 방법



- 1) **파일선택** : 화면 왼쪽의 '대상 폴더 선택'에서 '폴더 선택' 버튼을 클릭해서 이미지가 저장되어 있는 폴더를 선택하고 대상 이미지 파일을 선택한다.
- 2) **조직비율계산옵션 설정**
 - ① **선택색상** : 비율을 구하고자 하는 두 가지 색상이 표시될 **A 박스**와 **B 박스**를 각각 선택하고 이미지에서 해당 부분의 색상을 클릭하면 각각의 박스에 클릭한 색상이 표시된다.
처음 50% 전후를 설정하여 결과를 보면서 적절히 조정한다.
 - ② **채우기색상** : **A 박스**와 **B 박스**에 선택한 색상이 분포되어 있는 부분을 찾게 될 경우, 표시할 색상을 '채우기색상'에서 변경한다.(필요시)
 - ③ **Intensity 보기** : 'Intensity 보기'에 체크하고 **A 박스**와 **B 박스**중 하나를 선택하면 '채우기색상' 대신 해당 색상의 Color Intensity 의 평균값과 차트를 함께 보여 준다.(필요시)
- 3) **조직비율계산** : '조직비율계산옵션'의 설정 값을 토대로 두 가지 색상의 분포에 대한 비율을 계산한다

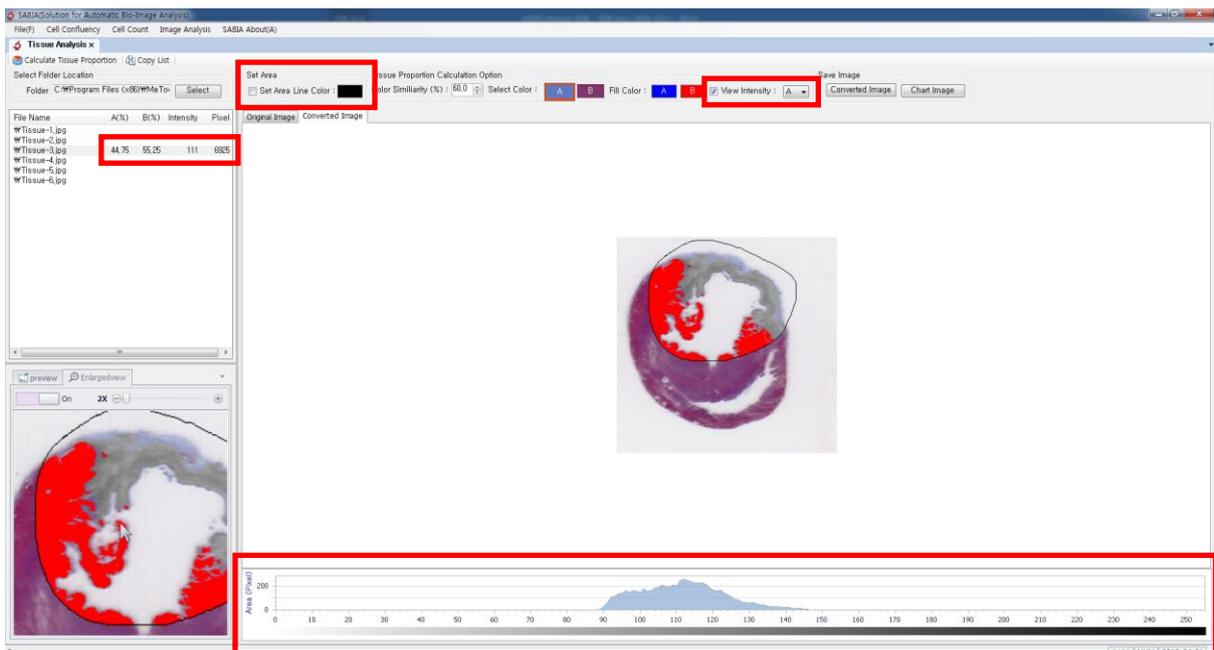
3. 조직비율 계산 결과



- 1) '선택 색상'과 '색상 유사도'를 바탕으로 분포 결과를 [변환된 이미지]탭에 '채우기 색상'의 색상으로 구분하여 시각적으로 구분되도록 표현해 준다.
- 2) 만약, 두 가지 색상 중 어느 하나에도 포함되지 않는 부분은 계산에서 제외된다.
- 3) 파일명 옆에 두 가지 색상의 분포에 대한 비율을 표시한다.

4. 영역을 지정하여 비율 계산

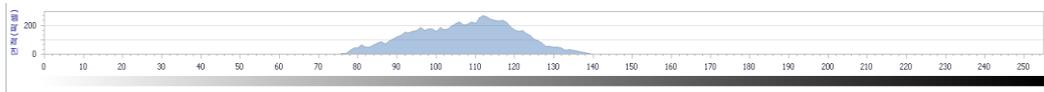
'영역선택'을 체크하여 특정 영역을 설정하여 두 가지 색상에 대한 비율을 계산할 수 있다.



- 1) '영역선택'에 체크한 후 원하는 영역을 설정하고 계산하면 설정한 영역 내에서 두 가지 색상의 비율을 계산한다.
- 2) 'Intensity 보기'를 체크하면 두 가지 색상 중 하나를 선택하여 '채우기 색상'의 색상 대신 Color Intensity 분포를 표현하며 Intensity 수치와 픽셀 크기를 파일명 옆에 표시해준다
- 3) **Color Intensity 및 차트**

Color Intensity 란 색의 강도를 말하며 색상을 **Gray Scale**(하양에서 검정 사이의 회색의 점진적인 단계 범위로 명도 차의 척도)화한 결과를 수치로 나타낸 것이다.

동일한 개체를 염색의 정도를 달리하여 촬영한 이미지나 시간 간격을 두고 변화를 촬영한 이미지 간의 Color Intensity 를 수치화 하여 비교할 수 있다.



- ① 차트는 'Intensity 보기'에서 선택한 색상의 명도 분포를 나타낸 것으로 X 축은 Intensity 수치이며 Y 축은 픽셀(면적) 값이다.
- ② 각 Color Intensity 에 해당하는 픽셀의 수의 분포를 차트로 표현한 것이다.
- ③ Intensity 는 수치가 높을수록 검정에 가까우며 낮을수록 하양에 가깝다.
- ④ Color Intensity 백데이터는 엑셀로 전환하여 활용할 수 있다.

V. 이미지 분석 – 면적

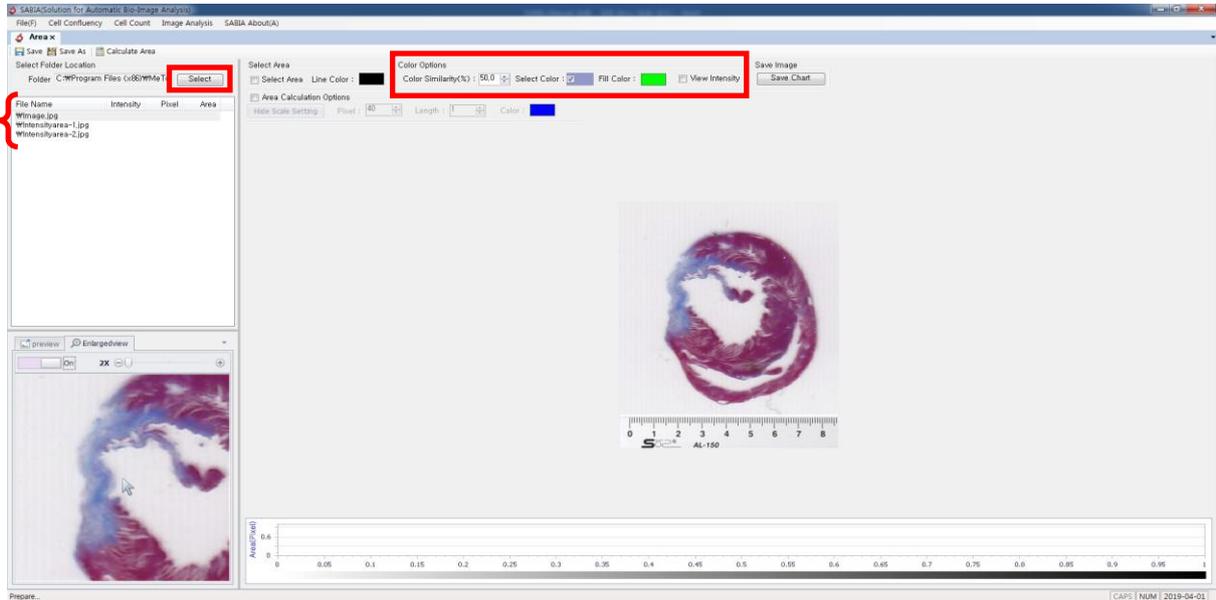
1. 개요

이미지 내에서 면적을 구하는 기능으로 색상의 분포를 이용하거나 영역을 지정하여 면적을 구할 수 있으며 색의 강도(Color Intensity)도 표현 할 수 있어 이미지의 다양한 활용이 가능하다.

기본 사용 방법은 다른 기능과 유사하며, 특정 색상의 분포에 따른 면적을 구할 수 있고, 특정 영역을 지정하여 영역 전체 또는 영역내의 특정 색상의 분포 면적과 Color Intensity를 구할 수 있다.

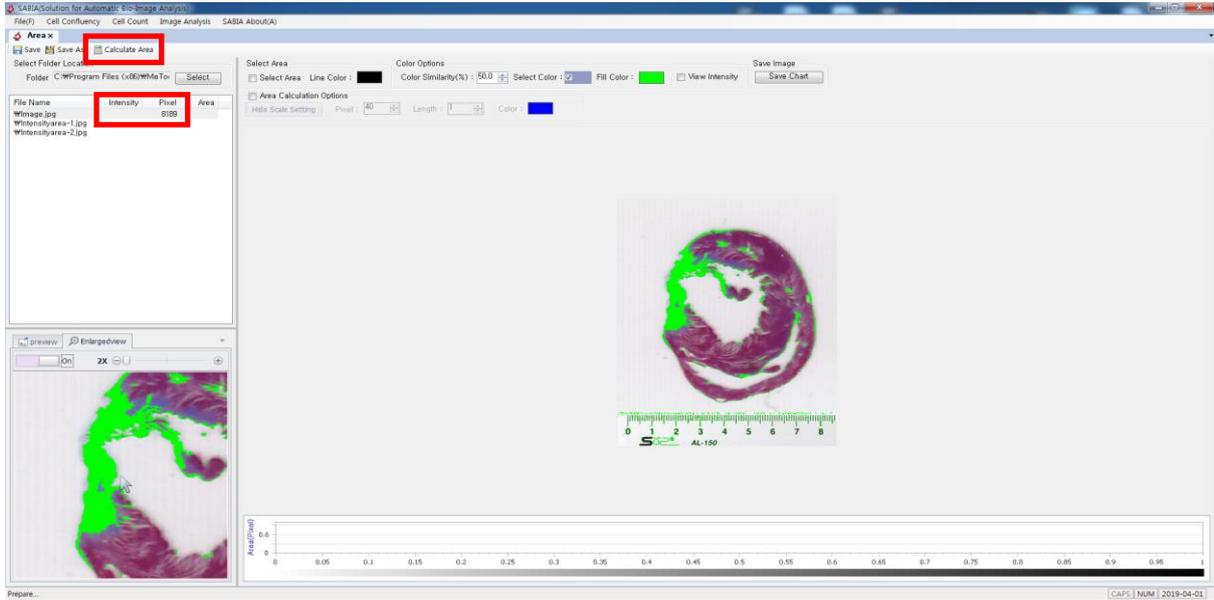
[주의사항] 면적을 구하기 위해서는 셀카운트와 같이 기준이 되는 Scale Bar가 있어야 한다

2. 사용 방법



- 1) 파일선택 : 화면 왼쪽의 '대상 폴더 선택'에서 '폴더 선택' 버튼을 클릭해서 이미지가 저장되어 있는 폴더를 선택하고 대상 이미지 파일을 선택한다.
- 2) 선택색상옵션의 각 항목을 설정한다
 - ① 선택색상 : 이미지에서 특정 색상의 분포와 Color Intensity 를 구하기 위해 특정 부분의 색상을 클릭하면 '선택색상'의 색상 칸에 클릭한 색상이 표시된다.
 - ② 채우기색상 : 선택한 색상이 분포되어 있는 부분을 찾게 될 경우, 표시할 색상을 '채우기색상'에서 색상을 변경한다.(필요시)
 - ③ Intensity 보기 : 'Intensity 보기'에 체크를 하면 채우기 색상 대신에 영역 내의 Color Intensity 와 픽셀을 보여 준다(필요시)
 - ④ 색상유사도 : 선택한 색상의 유사도를 적절하게 조정해 주는데 결과를 보면서 재조정하면 원하는 결과에 도달할 수 있다. (초기 50% 전후 설정)

3. 특정 색상의 분포와 Color Intensity만 구하기(면적 계산 안 한 경우)

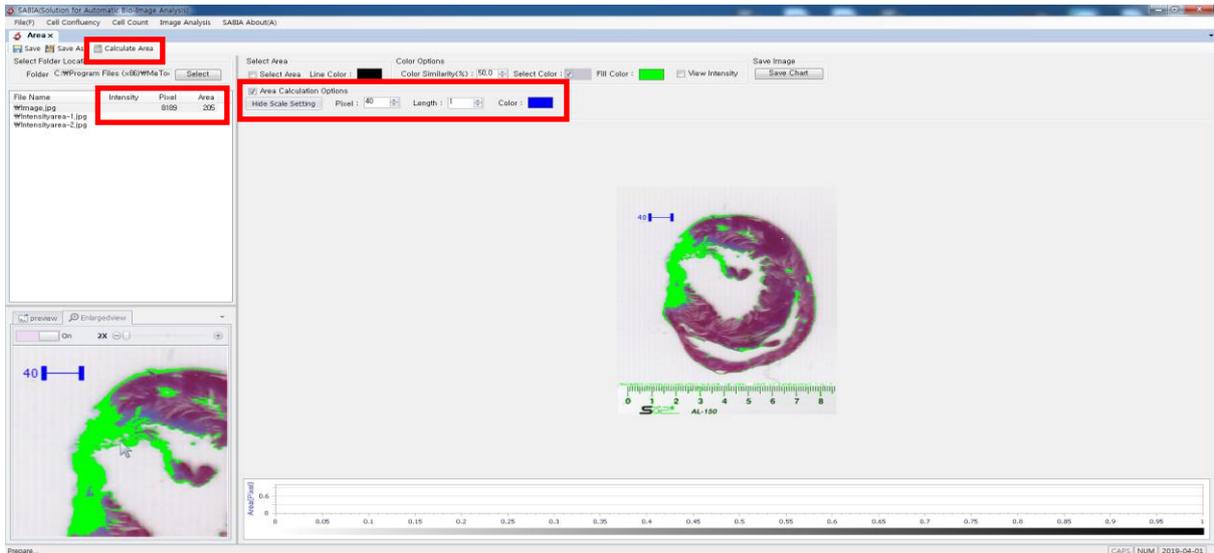


'면적계산'을 클릭하면 지정한 색상의 분포가 '채우기색상'에서 지정한 컬러로 표시되며 파일명 옆에 분포에 대한 픽셀의 합계가 표시된다.

면적은 아직 구하지 않은 상태이다. (아래 4. 면적 구하기 화면 참조)

4. 면적 구하기

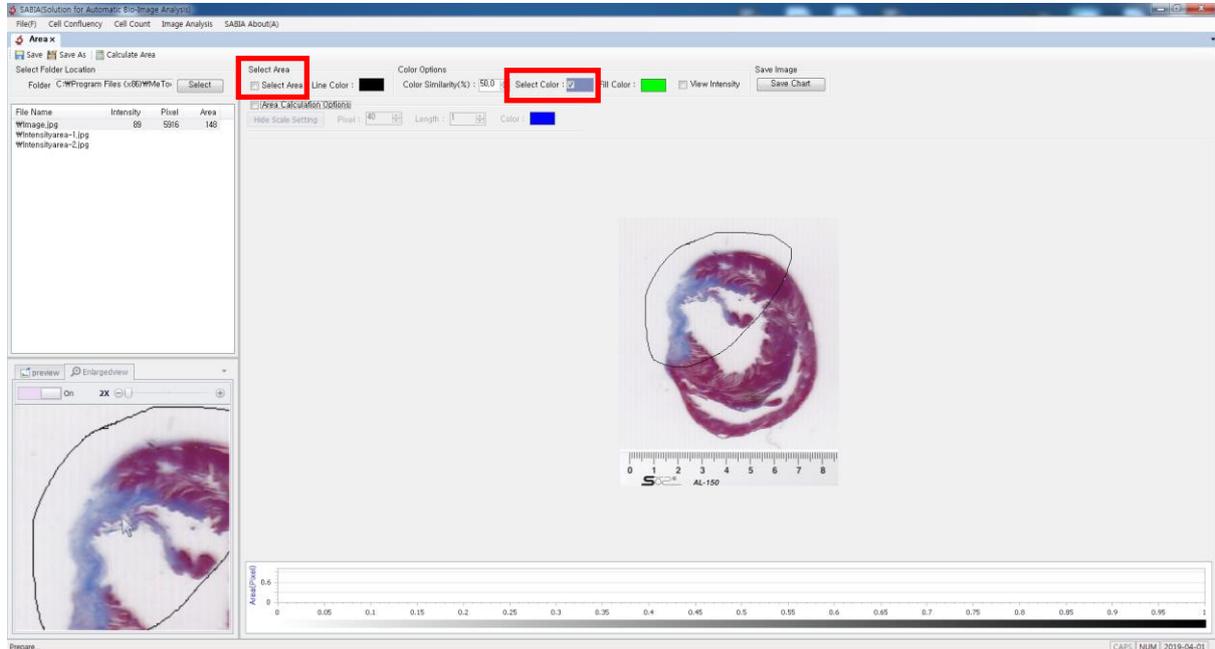
다음의 경우는 이전 작업에서는 구하지 않은 면적을 계산하는 과정이다



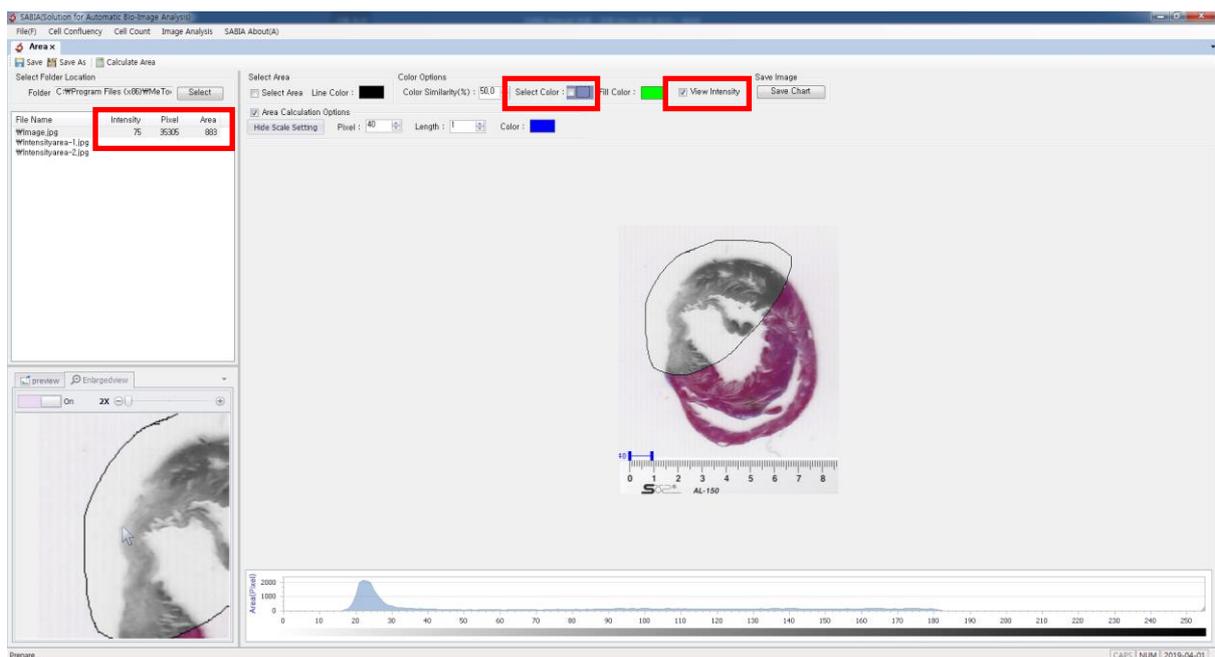
- 1) '면적계산옵션'을 체크하여 활성화 한 다음 '기준설정표시'를 클릭하여 기준설정Bar를 표시한 후 Scale Bar를 참고하여 기준길이에 대한 기준픽셀을 구한다. 방법은 셀카운트 기능에서 기준 픽셀을 구하는 것과 동일하다. (IV-5 Cell의 길이 구하기 참조)
- 2) '면적계산'을 클릭하면 파일명 옆에 면적이 계산되어 표시된다.

5. 영역을 설정하여 면적 구하기

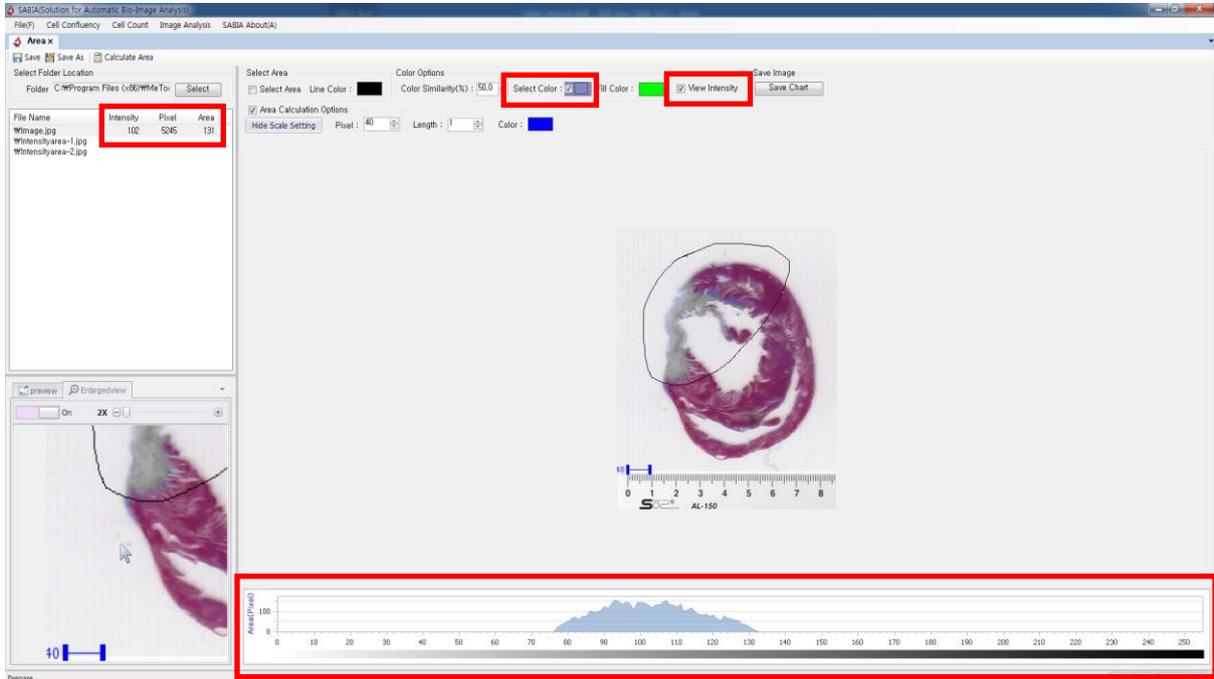
이미지에서 특정 영역을 설정하면 설정한 영역의 전체 또는 선택한 색상의 분포에 대한 **Color Intensity**와 면적을 구하는 것으로 영역 설정만 추가될 뿐 과정은 동일하다.



- 1) '영역선택'에 체크한 후 이미지에서 원하는 영역을 설정한다. (마우스로 그린다)
- 2) 이때, '선택색상'에 체크 하지 않으면 설정한 영역의 전체 면적을, 체크 하면 선택한 색상의 분포에 대한 면적이 구해진다. (채우기색상과 Intensity 중 선택해서 보기)
- 3) '면적계산'을 클릭하여 설정한 영역의 면적을 구한다.
- 4) 선택색상 체크 안한 경우(아래 화면, 설정 영역 전체 면적 883, Intensity 보기로 선택)



- 4) 선택색상 **체크 한** 경우 (아래 화면, 영역 내 색상 면적 131, Intensity 보기로 선택) 설정한 영역 내에서 선택한 색상의 분포에 대한 면적과 Color Intensity 를 구한 것으로 앞 화면과 비교하여 면적과 Color Intensity 차이를 알 수 있다.



6. Color Intensity 차트 : V.조직비율 계산 4-3)항목 참조

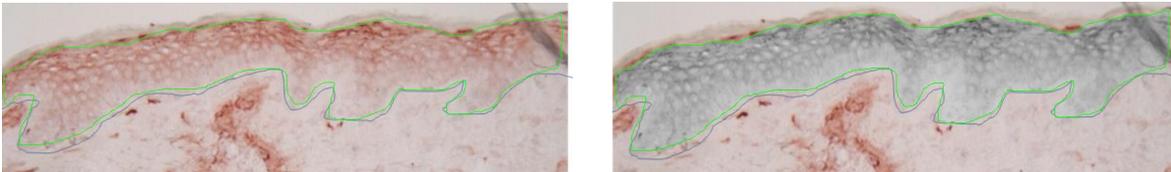
7. Color Intensity 비교 사례

면적 계산 기능은 동일한 개체를 시간 간격이나 다른 방법으로 촬영한 이미지간의 Color Intensity를 비교 분석할 수 있다.

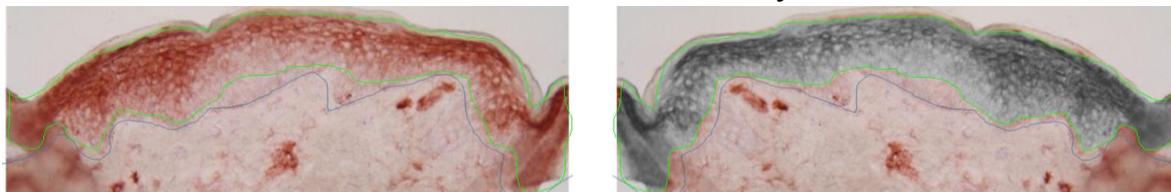
육안으로 보이는 결과를 합리적인 방법으로 수치화하여 객관성과 보편성을 확보할 수 있다.

(이미지 전체 또는 영역 설정, 수치가 높을수록 더 진함)

1) 이미지 A : 상대적으로 연한 상태 (평균 Color Intensity 125)



2) 이미지 B : 상대적으로 진한 상태 (평균 Color Intensity 167)



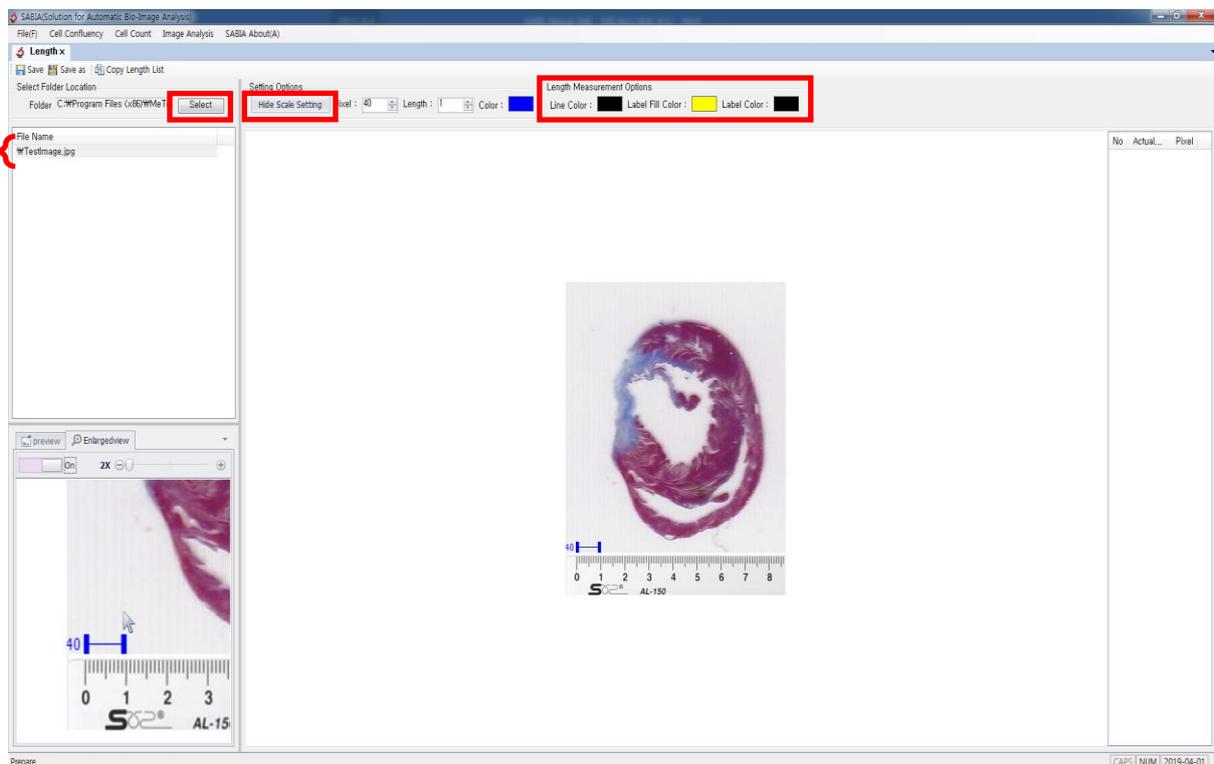
V. 이미지 분석 – 길이

1. 개요

이미지 내에서 실제 길이를 구하는 기능으로 직선 및 자유곡선으로 다양한 길이를 잴 수 있어 면적 기능과 함께 이미지의 다양한 활용이 가능하다.

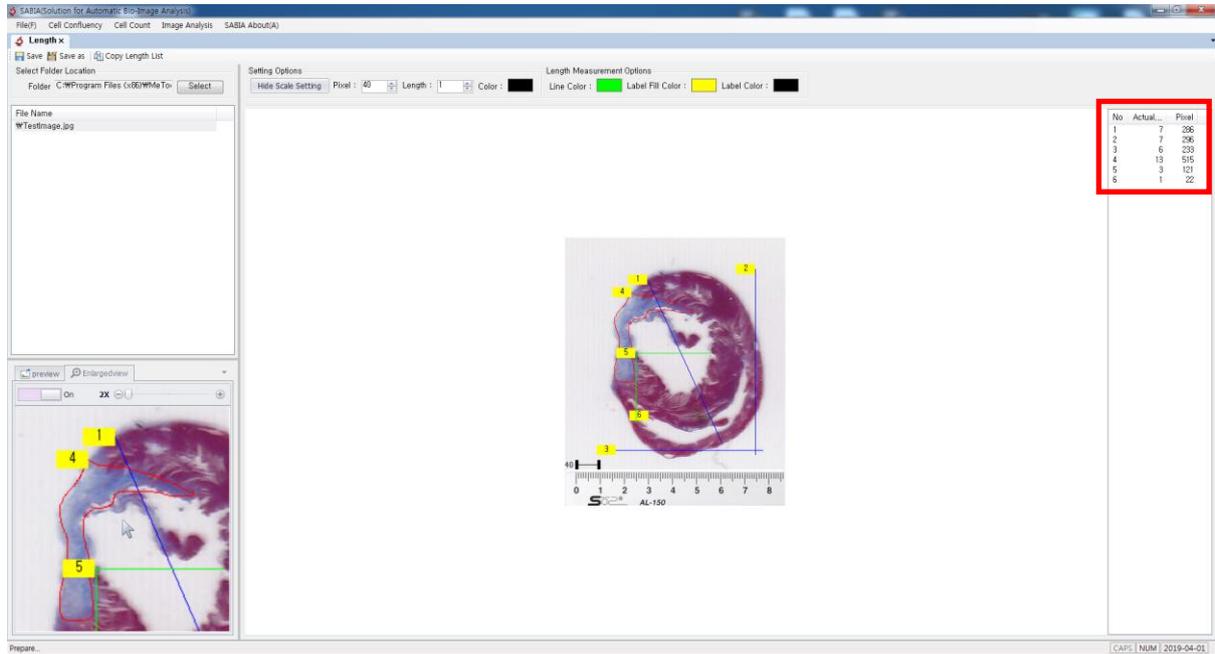
기본 사용 방법은 다른 기능과 유사하며, 이미지 내에 Scale Bar가 포함되어 있는 경우에 실질적인 길이를 구할 수 있다. 직선 거리 및 자유곡선 거리 등 다양하게 길이를 잴 수 있다.

2. 사용 방법



- 1) **파일선택** : 화면 왼쪽의 '대상폴더선택'에서 '폴더선택' 버튼을 클릭해서 분석할 이미지가 저장되어 있는 폴더를 선택하고 이미지 파일을 선택한다.
- 2) **기준설정** : '기준설정표시'를 클릭하여 기준길이에 대한 기준픽셀을 구한다. 방법은 다른 기능에서 기준 픽셀을 구하는 것과 동일하다. (IV-5 Cell의 길이 구하기 참조).
- 3) **기타 옵션 설정** : 필요시, 우측의 '길이계산옵션'에서 길이를 그릴 때 표시되는 선과 라벨 배경 및 글자 색을 마우스 오른쪽 버튼을 클릭해서 원하는 색상으로 변경한다.
- 4) **길이 단위**
 - ① Scale bar에 표시된 단위
 - ② 위 화면에서는 기준길이를 10으로 하면 mm, 1로 하면 cm가 된다.

2. 길이 측정 방법 : 마우스와 Ctrl 키를 이용하여 측정하며 마우스 좌측 버튼은 시작을, 우측 버튼은 종료를 의미한다.



1) 포인트 연결 방법

- ① 길이를 측정하기 원하는 부분의 시작점을 클릭하고 끝 점을 클릭 한 후 마우스 우측 버튼을 눌러 종료한다.
- ② 직선 형태의 선이 그으며 직선, 사선, 세로선 등을 그을 수 있다.

2) 마우스 Drag 방법

- ① 길이를 측정하기 원하는 부분의 시작점에서 마우스 왼쪽 버튼을 클릭한 채 띄지 않고 이동 후 끝 점에서 마우스 우측 버튼을 눌러 종료한다.
- ② 원하는 모양의 자유 곡선을 긋기에 유용한 방법이다.

3) Ctrl 키를 이용한 방법

- ① **Ctrl** 키를 누른 채 마우스 왼쪽 버튼을 클릭한 채 종료 지점 까지 이동 한 후 왼쪽 버튼을 놓고 이어서 **Ctrl** 키를 놓은 후 마우스 우측 버튼을 눌러 종료한다.
- ② 평행한 가로 직선 및 세로 직선을 긋기에 유용하다.

4) 선 긋기의 종료 및 취소

- ① 마우스 우측 버튼을 눌러 측정이 끝나면 그려진 선의 앞쪽 부분에 라벨이 표시되고, 위 화면 우측과 같이 목록에 기록이 추가 된다.
- ② '**Ctrl + Z**' 키를 누를 때 마다 최종 그려진 선부터 하나씩 지워지며 우측의 목록에서도 지워진다.

5) 화면 상단의 '길이 목록 복사' 버튼을 클릭하면, 현재 목록의 정보가 클립보드로 복사 된다

S A B I A

[제품 구입 및 기술지원 문의]

(주)이바이오젠 Tel : 02-3141-0791 Email : service@e-biogen.com

[SABIA Download]

(주)이바이오젠 홈페이지 : www.e-biogen.com > Products > Software & Data Analysis