





# LEICA DM6000B MetaMorph 影像軟體中文操作手冊

MICROSYSTEMS







## 軟體擷取影像與分析方法

- 1. image acquisition 影像擷取
- 2. MultiDimensional acquisition 多維度影像擷取
- **3. Image bit Depth and Save** 影像位元與存檔選取
- **4. Image Overlay**多色影像合併
- 5. Graphics 輸入文本
- 6. Calibrate Distance and Draw scale bar刻度校正與影 像刻度尺
- 7. Region measurement測量圈選區域
- 8. Integrated Morphometry Analysis (IMA) 自動量測
- 9. Make Movie and Montage影片製作與多張影像序列







### image acquisition 影像擷取

- 1. 開啟MetaMorph程式
- 2. 在顯微鏡下找到目標後,將光路切換至CCD
- 3. 切換光源及鏡頭



**Mag**:點選此處下拉式選單,以選取欲使 用之物鏡倍率

滑鼠點選此處,可控制螢光**/**穿透光快門 開關

Illum:點選此處以選擇欲使用之光源。 例如:BF--穿透光,FLUO-螢光專用

點選Acquire或Configure Acquisition快速鍵,即可開始設定拍照參數

э́е н	letak	lorph						
<u>F</u> ile	<u>E</u> dit	<u>R</u> egions	<u>S</u> tack	Acguire	De <u>v</u> ices	Display	Process	Log
Illum	DAF	P		<b>~</b>	Mag: [N	lone]		~
È		🔁 🗿 🕻	×   @	) 🗯 🖸	8 ₽ 2	<u>بھر</u> ا	🛢   10	olo
R		় ও ১	$\setminus V$	୯ ଫ୍ର	ि Configu	re Acquisi	ition	







6.	A		
(3)	Acquire	Image: Acquired	(3) Acquire: ▲在Show Live 情況下,調整好曝光
	Save w/Sequence	Display Acquire Correct Annotate Special	時間後,按卜Acquire 則可將影像 擷取下來
(2)	AutoExpose		→(2) Exposure Time:
	Binning:	Autoscale Scale in active region: □ On Acquire Now	設定CCD曝尤時间,曝光時间越長, 影像越亮,可直接輸入數字,或按上
	-> Full Chip Center Quad	Image Gamma:	下前頭調整 單位可為 <b>ms,s</b> 或min
(4)	Use Active Region		
(1)	Show Live		→ (1)Show Live:
	Live Bin:	비	即時預覽影像,若影像不清楚可再
	Temp: n/a	Off	微調焦距
	Setting:		影像太亮或太暗時,調整曝光時間
		Reset Display	
	Close Less <<	Setting: Load Save Save As	

Save Image 儲存影像

Save w/Sequence 自動依序儲存影像檔案 AutoExpose 自動曝光;按此鍵CCD 會自動檢測最適當的曝光時間 Binning 可設定儲存影像之顯像方式,通常為1.數值愈大,解析愈差.

Camera Area: Full Chip 以整個CCD Chip 面積擷取影像 Center Quad. 以Chip 的中央四分之一面積擷取影像 Use Active Region 以自訂任意Chip 面積擷取影像

Show Live 顯示即時影像 Live Bin 當欲快速找到目標時使用. 通常設為2. 數值愈大, 速度愈快, 解析度愈差.

Image 顯示擷取影像所放位置 Set Save... 設定影像儲存

Display

Image Scaling: 調整影像對比情況, 通常明視野時設定為Autoscale; 螢光則建議取消Autoscale 並將箭頭移至左右最旁邊,再依影像情況,將背景調黑.

Image Gamma: 調整影像亮度分佈情況, 通常設定為1.00







## Multidimensional acquisition 多維度影像擷取

# Apps → Multidimensional Acquisition

MICROSYSTEMS







#### Multi Dimensional Acquisition 多維影像擷取

●點選快速鍵,或Apps→ Multi Dimensional Acquisition

Se N	leta <i>l</i> /	iorph										
<u>F</u> ile	<u>E</u> dit	<u>R</u> egions	<u>S</u> tack	Acguire	De <u>v</u> ices	<u>D</u> isplay	Process	Log	<u>M</u> easure	Journal	App	
Illum	[Nor	ne]		<b>v</b> 🛞	Mag: []	None]		~	17	5	X: 0	
È		<u>6</u> /	<b>X</b>   @	🗯 🖪	1	2 👜	<b>p</b>   10	TO I	14 <mark>17</mark> 1	1	۰ 🗗	
R	$\mathbb{R} \square \bigcirc \Im \smallsetminus \mathcal{V} \subseteq \mathfrak{G}   \mathfrak{B}  $											
						M	lulti Dimen	sional	Acquisition			

👽 Multi Dimensional A	Acquisition							
Main								
Saving	□Timelapse 時間序列影像擷取(曠時攝影)	Summary						
Stage	☑ Multiple Stage Positions 多重位置擷取							
Wavelengths	☑ fultiple Wavelengths 多波長(不同螢光及穿透光)	Save State						
W1: BF	□ C Series Z軸序列影像擷取							
W2: FITC	□ Stream 高速影像描取	Load State						
Summary	Bun Journals 於影倫姆取時加入 Journal							
Jammary		7						
	所有參數設定元畢後,可將參數儲存							
		<b> </b>						
	按下Load State 可套用已儲存的參數							
	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·							
	勾選欲使用之模式,不需使用的則取消							
	● Previous ● Next ● 唯正俊	女下Next						
🗰 Bin: 1 🌻 🆺 E	Bin: 1 🔄 🔳 🔳 1:BF 🔽 🔚 🖾 Acqu	ire Close						
	Major Instrument	s Co., Ltd.						





#### Saving

₩ M	ulti Dimensional /	Acquisition	
Mair	n Stage Wavelengths W1: BF W2: FITC Display Summary	Description: *Images automatically saved with base file* Multi Dimensions Experiment Select Directory. D:VMM Test 0306 D:VMM Test 0306 Compared base name if file exists Experiment14 要擇存檔位置 可自行決定檔名	
		勾選此處,則軟體於存檔時會自動累加 Ex:第一次擷取的影像為Experiment 01 下次擷取則自動存取為Experiment 02	

MICROSYSTEMS







#### Wavelenghths 多波長擷取

50 N	lulti Dimensional /	Acquisition 📃 🗖 🔀
Ma	in Saving Timelapse	Number of Wavelengths: 2
	Stage	選擇欲使用之波長數目
Wavelengths		
	W1: BF	
	W2: FITC	

👐 Multi Dimensional .	Acquisition		🛛 🔀
Main Saving	Illumination:	BF	決定欲使用之波長 如BF,或螢光FITC等
Timelapse Stage Wavelengths	Exposure:	10 😭 ms 💌	每個波長之曝光時間均
W1: BF W2: FITC	Auto Expose:	Never 2	可分別設定
Display Summary	Acquire: Auto Focus:	Never 2	Configure
	Alignment Cro	pping X: 0 🚭 Y: 0 🚭 Set.	Alignment
按下Live 可預覽樣	本即時影像		
💼 Bin: 1 🞅 📳	Bin: 1 🞅 🚺	Previous	Next
			Major Instruments Co., Ltd.





#### Z Series 多重Z 軸擷取

👽 Multi Dimensional Ac	quisition										
Main Saving	Interactive settings Current Position: 0 侯 Steps Increment: 1 🚔										
Timelapse Stage	Settings for acquisition series Loop order 1. 同一個Z 平面。將	的順序 将不同波									
Wavelengths W1: 1. DAPI W2: 2. FITC	<ul> <li>O Acquire wavelength set at each Z</li> <li>○ Acquire Z series for one wavelength at a time</li> <li>C Keep shutter open between steps</li> </ul>	P面先擷 下個波長									
<b>Z Series</b> Display	Range: 10 🚔 🗹 Range Around Current										
Summary	Top: 5 📚 Set Top To Current										
	Bottom:       -5       以目前的Z 軸位置為中心 擷取一段Z 軸範圍         Step Size:       1       正         Number of Steps:       11       正										
	Recommended Step Size: 0.9 um The <b>1</b> 2 of each stage position will be the center position for each Z Series.										
[	Z 軸間隔寬度 ◀ Previous ► Next										
📫 Bin: 1 🎅 🆺 Bin	r: 1 🔄 🔳 🔳 2:2. FITC 💽 🔚 🖾 Acquire	Close									
	所有參數設定完成後 便可按下Acquire 開始擴	取影像									







## Image bit Depth and Save 影像位元與存檔

因為*CC*D所拍出的影像檔案位元的不同,在**MetaMorph**系統內設定為 16位元的圖片,若是想轉為可在一般軟體開啟的檔案,8位元或是24位 元,可用以下幾種方法:

🌁 Dapi (70%) 📃 🗖 🗙	M Image Info	
	Image Dapi	
	Property Name	Property Value
	Location on Disk	C:WMNimages\Dapitif (Plane 1)
	File Type	MetaMorph TIFF File Format
	Creation Timestamp	Thu Jun 2 15:39:36:586 2005
	Last Saved Timestamp	FriJul 15 16:17:14:528 2005
A 12	Lookup Table Model	Monochrome
	Storage Requirement[ bytes]	723,840
	Image Width	696
	Image Height	520
	Image Depth (bits)	16
	Thrage - Edbrotion (um/pixel)	0.65231139
	Image'r' Calbration (um/pixel)	0.63291139
	N. advect of Dimension	4
11 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	C III	-
		(1) A 1 K
0	Plane Number:	STON STRONGT
	Open Log Configure Log.	Image Status Bar Print Clop
1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1		
	Data Log Not Open	

1.8位元轉檔 Display的地方選取Scale Image









### 2. 24位元轉檔 可將單色的圖檔先用LUT套色,Edit的地方選取 Duplicate -> As Display再轉成24位元的彩色圖檔 (在執行此動作之前要先將要轉檔的影像放大至100%,如此轉檔完的圖

. 檔才會和原始檔案大小相同**)** 











# Image Overlay多色影像合併

1. 開啟要重疊的所有影像後,選擇 Display → Overlay Image



2. Overlay Image 視窗開啟





Major Instruments Co., Ltd.

可調整每層顏色顯

示的亮度





3. 在每層顏色選擇正確的影像來源



**4**. 選擇完後<sup>,</sup>按下**Apply** 

₩ MelaMorph	
File Edit Regions Stack Acquire Devices Display Process Log Measure Journal	Apps Hindow Help 5 T T - no z motor
😂 🖬 🏷 香 🗙 🛞 🗯 型 🥊 型 建 建 🖉 👓 🗛 🗰 🗣 📆	월 28 28 78 78 18 □ O G \ V C G 18 14 14 14 V Overlay Image:
Q: 10072000 Fiels 1 - 402 Compression (HOF_ADT_O_+2 (D	Timage:         4         Auto Balance         Preview Image           Image:         Image:         Book Colocatedon         Image:         Image:           Show Preview         Overlage Brightness:         50         Image:         Image:         Image:           Her:         But:         XABgr:         YABgr:         Souce:         Image:         Image:
10012006 Plate 1 - 40X Compareds plate NOT, A01_5 = 1 (1	Edd Her Let           Dest.         Oveday           Apply         Clow

5. 則會出現影像檔名為Overlay重疊的圖









### Graphics 輸入文本

- 1. 輸入箭頭: Display的地方選取Graphics -> Paint Arrow
- 2. 輸入註解: Display的地方選取Graphics -> Text
- 3. 輸入日期時間: Display的地方選取Graphics -> Date / Time 點選Color處可以自選所要標訂的顏色

🗖 Text	
Image: Color Combine Draw	🖪 •Color Combine (90%)
X: 255 Text Color: Color Close	<b>♀</b> <sup>±</sup> (11:53:E3:538)
Y: 255 Sack. Color. Color Undo	
Erase image behind text	
Text	
NUTE: Variables may be specified by enclosing the	<u>•</u>
variable name between two % characters (ex. %X%).	<u> 9.</u>
Font MS Sans Serif Regular 10	
Paint Arrow	
Image: Paint	тык
Color Combine Undo	
Arrow Type: Close	
Simple Simple W Arrow Head	Date/Time
Double-headed	Image: Color Combine Stamp
Arrow Tail	Date/Time: Time Image Was Created 💌 Undo
Length: 10	Position: Color: Format
Tail Size: 14	X: 27 Text: Color Font
Width: 10 📚	Y: 15 📚 Background: Color
Position:	Make Colors image Min/Max Fill Background
X: 349 🗢	







#### Calibrate Distance and Draw scale bar 刻度校正與影像刻度

- 1. 開啟MetaMorph軟體
- 2. 若是在拍圖的時候有選取對應的鏡頭,所擷取的影像圖就有做過刻 度校正

File	<u>E</u> dit	<u>R</u> egions	<u>S</u> tack	Acquire	Devices	Display	Process	Log	<u>M</u> easure	Journal	<u>A</u> pps	<u>W</u> indow	<u>H</u> elp					
Illun	n: [No:	ne]		~	🛞   Ma	eg: 10X			~	🖣 🖣	5 - T	ኛ X: 0.00	0.00 Y: 0.00		0	\$ \$	<b>6</b> ▼ Z:	0.00
Þ		6 🔿 🔪	<   ®	<b>()</b>	2 🍽 🗖	I [None 10X	]			) 😤 🕏	Σ 🔊	😨 🚭	🍇 🐴	🀐 🏘	20	Â	<i>þ</i> 🗟	1
R		⊃ ଓ `	$\overline{V}$	C €	<del>۵</del> ۶	40X 100X												

- 3. 若是無校正的圖,可選取Measure選項裡Calibrate Distance
- 4. 選取所用的鏡頭倍率,按下Apply
- 5. 圖片下方會出現正確的刻度









# 畫出Scale Bar

1. 開啟要加上Scale Bar 的影像後,選擇Display→ Graphics→ Calibration Bar



2. Calibration Bar 視窗開啟,設定所要顯示Calibration Bar的樣式











3. 設定好所要顯示Calibration Bar的樣式,點選Stamp後 Calibration Bar則會顯示在影像上



Scale Bar貼上後若要更改,一定要先點選Undo後再做更改 (因為軟體Undo只能回復到上一步,即只能回復一次)

若影像為24 bit 圖檔加上的Scale Bar 可為彩色的 若影像為8 bit或16 bit單色圖檔則Scale Bar只能呈現單色顏色

MICROSYSTEMS







# Region measurement測量圈選區域

- 1. 進入MetaMorph
- 2. 打開欲測量的影像檔案
- 3. 選取區域工具
- 4. 在影像上圈選待測量的區域
- 5. Measure的地方選取Region Measurement
- 6. 若要將數據輸出,點選Open Log,點選DDE會連結到Excel,再按Log Data便將數據輸出

🔽 *Color Combine (50%)	📃 Kegion Mea	surements				
	Color Combine Include Al Regio Measurements	ons 🔽 Graph   Config		Open Log Llose	>	
	Region Label 1 2 3 4 5 6	Image Plane 1 1 1 1 1 1	Aree 17231 24960 2271 2177 4352 9408	Distance 472.14 632 172.865 168.152 264 392	Average Intensity 38.868 30.5978 53.7591 53.0804 88.7353 34.4224	Intensity Standard Dev 20.4211 24.857 20.3102 14.7308 22.8894 15.6438
	Open Data Log Log Measuremer I gynamic Da A text file OK	its to: Ita Exchange (D Cance				







## Integrated Morphometry Analysis (IMA) 自動量測

在使用IMA之前要分析的影像要先經過Threshold處理

1. 開啓要分析的影像, 點選要使用Threshold的方式 Thresholding 的步驟. 主要是依據灰階, 將欲量測部份先加上虛擬顏 色,再將加上顏色的部份拿去量測



可移動此鍵號來將所要分析的區域套上虛擬顏色

2. 點選 Measure → Integrated Morphometry Analysis,按下 Measure 即可

2) terPlc	ogram   Scatt	Summary Hist	ione] bject data	s   View   0	gment using ma s Preference	Source: frogeg	1		terPlot	togram   Scat	ummery   His DEVr	Nonie) Ibject data s Configure L	sk Mesk s   View C pen Log	gs oment using mo s   Preference	Measurement Display mod Ourrent
			pen	ary Log Not O	ated Summ	Accumu	1	Centroid Y S	CentroidX	Perimeter	Intensity center Y	Intensity center X	Average intensitu	Total area	Object #
He	Width	Shape factor	Total	Average	Area 200	Summary		3.568	14 910	41.556	5.549	13,704	1.919	111.000	1
_	12 660	0.875	203	1.624	127 679	Áverane .		2,355	69.677	29.899	3,429	70.286	1.694	62,000	2
	2,762	0.084	74.256	0.591	25.845	Std Dev		9.901	139.636	51.213	10.595	141.367	1.570	151.000	3
_	1.000	0.566	3.000	0.028	4.000	Minimum		3.484	183.524	44.142	5.284	183.473	1.762	126.000	4
	19.000	1.000	402.000	5.250	169.000	Maximum		2.574	216.383	25.899	3.185	214.741	1.723	47.000	5
38	3355.000	231.822	53796.000	430.283	33835.000	Total		0.867	293.500	23.657	0.333	297.500	0.600	30.000	6
								1.620	404.100	29.071	3.250	403.577	3.120	50.000	7
								3.228	479.823	32.142	4.932	477.977	1.671	79.000	8
								12.776	256.254	46.142	10.909	256.068	0.985	134.000	9
								9.682	366.924	40.385	8.043	367.522	0.523	132.000	10
								13.658	334.184	48.042	13.632	334.310	1.717	152.000	11
								15,944	238.976	44.142	13.900	239.675	0.952	126.000	12
	-		_	23.01.02				14.170	464.037	42.870	15.028	465.685	2.400	135.000	13
				lows	mmary data in i	Display st	<u> </u>	19715	159 673	12 212	19 602	157 307	2.021	130.000	14





### Make Movie and Montage 影片製作與多張影像序列

1. 開啟─個Stack 檔案後,點選Stack → Make Movie



2. Make Movie 視窗開啟



選擇要做成動畫檔的單張影像







3. 選擇完要做成動畫檔的單張影像後,按下儲存



#### 4. 則軟體自動會形成一個動畫檔









Stack檔案也可將影像做成序列圖

1. 開啟─個stack檔後,選擇 Stack → Montage



2. Montage視窗開啟









3. 設定好後按下OK則軟體會自動進行拼圖動作





*ICROSYSTEMS* 

