

Popis průběhu skriptů FazKor

Úvod

Procedura pro registraci obrazů obsahuje 4 skripty FazKor a 7 pomocných funkcí. Procedura využívá metodu modifikované fázové korelace (více v diplomové práci). Tento dokument obsahuje důležité informace pro použití těchto skriptů.

FazKor DAPI a FazKor Alexa Fluor

Tyto dva skripty slouží ke skládání dvojic snímků pořízených fluorescenčním a holografickým módem multimodálního mikroskopu. FazKor DAPI slouží ke skládání fluorescenčních snímků DAPI a holografických snímků. FazKor Alexa Fluor slouží ke skládání fluorescenčních snímků Alexa Fluor a holografických snímků.

Po spuštění je vyžadováno zadání cesty k fluorescenčnímu snímku a k holografickému snímku. Po 1-2 minutách (podle rychlosti počítače) dojde k zobrazení kombinovaného snímku a zobrazení fázové korelace při hledání poměru velikostí a vzájemného pootočení a při hledání vzájemného laterálního posunu. Uživatel je také dokázán, zda je složení úspěšné, to je ověřeno vizuálně.

Pokud je složení úspěšné, zadá se 1 jako potvrzení úspěšného složení. Následně je uživatel dokázán v jakém formátu, kam a pod jakým názvem mají být sesazené snímky a kombinovaný snímek uloženy.

Pokud je složení neúspěšné, je nutné proceduru sdělit, jestli je problém v poměru velikostí a vzájemném pootočení, nebo ve vzájemném posunutí. To lze zjistit vizuálně: pokud je například problém v poměru velikostí, budou snímky sedět v oblasti středu, ale ne na okrajích. V případě chybně nalezeného vzájemného posunutí nebudou snímky sedět v žádné části kombinovaného obrazu. Po zadání chybné oblasti složení se ještě objeví dotaz, zda známe správné hodnoty pro složení. Neúspěšné složení je způsobeno nalezením falešného maxima, opravný prostředek funguje tak, že oblast falešného maxima vymaže ze zobrazení fázové korelace a je označeno druhé nejjasnější maximum. Dosavadní zkušenosti naznačují, že pokud není nalezeno správné maximum pěti opakováními opravného cyklu, nedojde k nalezení správného maxima vůbec.

FazKor DAPI hromadně a FazKor Alexa Fluor hromadně

Tyto skripty byly vytvořeny pro hromadné zpracování většího množství snímků naráz. Snímky by měly být vloženy do složky asociované s prostředím MATLAB. Snímky je třeba převést do formátu tiff a pojmenovat je následujícím způsobem:

číslo_fluo.tiff pro fluorescenční snímky (5_fluo.tiff)

číslo_holo.tiff pro holografické snímky (5_holo.tiff)

Číslovat je nutné od jedné do celkového počtu. Po spuštění je uživatel dotázán, zda chce složení provést individuálně, tedy automaticky jednu dvojici po druhé, nebo dohromady s použitím statistiky. Statistický přístup umožňuje zcela vyřešit problém chybně určeného poměru velikostí a vzájemného pootočení, ale lze ho použít jen při skládání **více než 20 dvojic** snímků z jednoho pozorování a za předpokladu, že nedocházelo k výraznému přeostřování v průběhu pozorování!

Při zvolení statistického přístupu je uživatel požádán o poskytnutí horního odhadu poměru velikostí mezi obrazy a vzájemného pootočení (radši zadat hodnotu o něco vyšší než nižší). Hodnota funguje následovně: při zvolení 1.10 budou eliminovány všechny hodnoty, které se nenacházejí v intervalu (0.90,1.10). Je nutné také zadat počet dvojic snímků. Procedura nejprve určí hodnoty všech poměrů velikostí a vzájemného pootočení snímků a zpracuje je. Ve výstupu uživateli nabídne několik možných hodnot správných parametrů složení. Po výběru uživatele je spuštěno ověření složení. Pokud dopadne dobře, jsou všechny dvojice snímků složeny dle stejných nalezených parametrů. Pokud dojde k výběhu špatných hodnot, má uživatel možnost výběru znovu. Sesazené a kombinované snímky budou exportovány do stejné složky, jako byly nahrány snímky původní.