

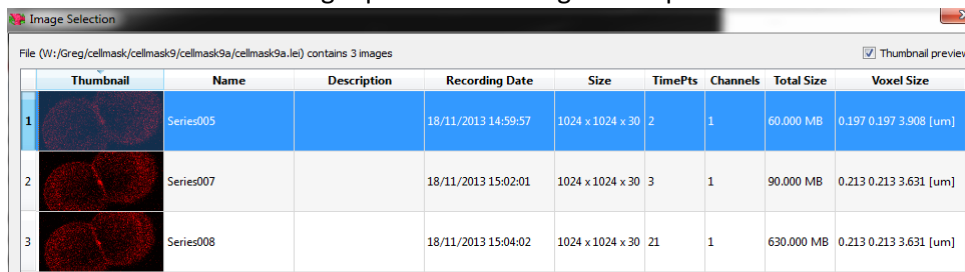
# Protocole de segmentation manuelle des images

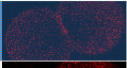
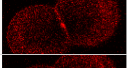
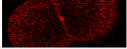
Matériels :

- ✓ Microscope confocal
- ✓ Echantillon avec marquage fluorescent
- ✓ Stack d'images
- ✓ Logiciel Imaris (x64 7.7.2)

Méthodes :

- 1- Ouvrir le *fichier LEI* sur Imaris en le glissant sur la fenêtre Imaris
- 2- Sélectionner la série d'image que vous allez segmenter puis *ok*



	Thumbnail	Name	Description	Recording Date	Size	TimePts	Channels	Total Size	Voxel Size
1		Series005		18/11/2013 14:59:57	1024 x 1024 x 30	2	1	60.000 MB	0.197 0.197 3.908 [um]
2		Series007		18/11/2013 15:02:01	1024 x 1024 x 30	3	1	90.000 MB	0.213 0.213 3.631 [um]
3		Series008		18/11/2013 15:04:02	1024 x 1024 x 30	21	1	630.000 MB	0.213 0.213 3.631 [um]

- 3- Vérifier que les tailles des voxels sont bien renseignées :  
*Edit<Images properties>Geometry* puis voir au niveau de *Voxel Size*

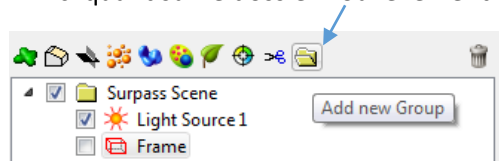
NB : la taille correcte des voxels est indiquée dans le fiche texte fourni avec les données brutes. Dans ce document sont indiquées pour chaque série d'image les tailles de voxels donc veillez à se référer à la série d'image correspondante.

- 4- Sélectionner le temps voulu (t1, t2, t3...) en déplaçant le curseur sur l'échelle de temps en bas de la fenêtre Imaris

Par exemple placer le curseur sur 8 pour afficher le temps 8 comme la figure ci-dessous :

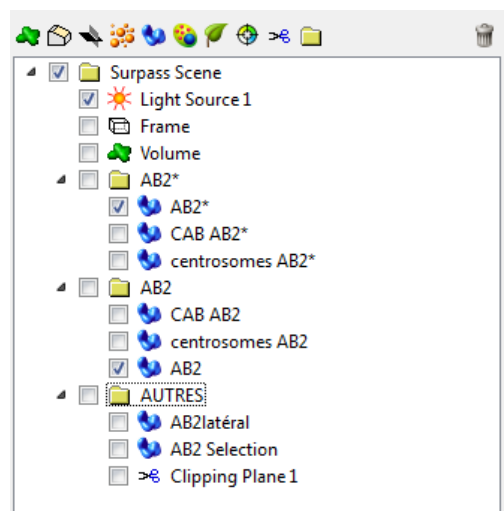


- 5- Cliquer sur *Add new group* pour créer un dossier dans lequel se trouvera l'ensemble des objets réalisés pour un temps donné, une cellule donnée ou autre. Le nommer en double cliquant sur le dossier nouvellement créé.

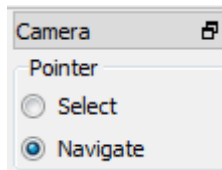


Si vous souhaitez ranger un élément dans un dossier en particulier, vous devez glisser le nom de l'élément sur le dossier.

Voici un exemple d'arborescence:



- 6- Orienter l'image selon les conventions. Pour orienter une image cliquer sur *Navigate* dans la fenêtre *Camera* en haut à droite.

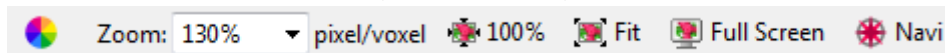


NB : utiliser le click gauche de la souris pour faire des rotations de l'objet et le click droit pour faire des translations.

Par exemple pour un développement embryonnaire au stage 2 cellules par convention on place les globules polaires en face et les CAB (centrosome attracting body) en bas :



- 7- Fixer le zoom environ à 130% : (en bas à droite)



NB : le *Fit* sert à centrer l'objet

- 8- Cliquer sur *Add new surfaces* pour réaliser la segmentation
- 9- Nommer l'objet qui va être réalisé en double cliquant sur l'élément appelé par défaut *Surface 1, 2, 3...*
- 10- Quitter le mode segmentation automatique en cliquant sur *skip automatic creation, edit manually* (fenêtre en bas à gauche)
- 11- Paramétrer la segmentation : (fenêtre en bas à gauche)  
 Dans l'onglet *draw<contour<Board:*
- Orientation : XY
  - Visibility : Sélectionner *None* de préférence afin de visualiser uniquement le tracé en cours.
  - Résolution : Sélectionner *Manual*, placer le curseur à 205 pour des contours fins (exemple ; contour cellule) et à plus de 500 pour des contours épais et pas très précis (exemple ; CAB)
  - Slice Position : sélectionner le numéro de slice sur lequel on veut travailler
- 12- Désélectionner le volume en haut à gauche afin d'améliorer la visibilité lors du traçage.
- 13- Cliquer sur *Select* dans la fenêtre *Camera* en haut à droite
- 14- Débuter le tracé en appuyant sur les touches du clavier CTRL+SPACE
- 15- Réaliser le tracé. Pour qu'un tracé soit pris en compte il est nécessaire qu'il soit fermé, c'est à dire que le dernier point doit rejoindre le premier point.

Nb : pour chaque tracé il est possible de faire plusieurs manipulations avec les commandes de la fenêtre *Selection* à savoir :

- Le copier (*Copy*)



- Le coller (*Paste*) sur un autre plan par exemple
- Le couper (*Cut*)
- Le lisser (*Smooth*)
- Le supprimer (*Delete*)

16- Déplacer le curseur *Slice position* pour continuer à segmenter l'objet sur un autre plan

17- Cliquer sur *Create Surface* une fois que vous jugez qu'il y'a suffisamment de tracés pour réaliser l'objet.

NB : Pour modifier la couleur et/ou la transparence de l'objet, sélectionner l'objet, et cliquer sur l'onglet *Color* dans la fenêtre en bas à gauche :

