

# Quick Guide for UMEX Viewer for Line Analysis

## <メイン画面・共通タブ>

**Update**  
最新Ver.をダウンロードできる。

**Build Date**  
パス名をクリックするとプログラムのフォルダーを開くことができる。

※ソフトを開く前に、FileをアイコンにDrag&Dropすることでも開くことができる。

**画像の基本情報**

**分析モード**

**Imageの左下を原点としたカーソル位置のXY座標を表す。**

**ファイル名表示欄**

- FileをDrag&Dropすると、File名が表示される。
- File名を右clickするとそのFileが入っているフォルダを開くことができる。

**Export Drift Data**  
結果をcsv.Fileとして書き出す。

### Filtering

Gaussian Smooth  
ぼかし具合をFactor値▲▼で調整する。

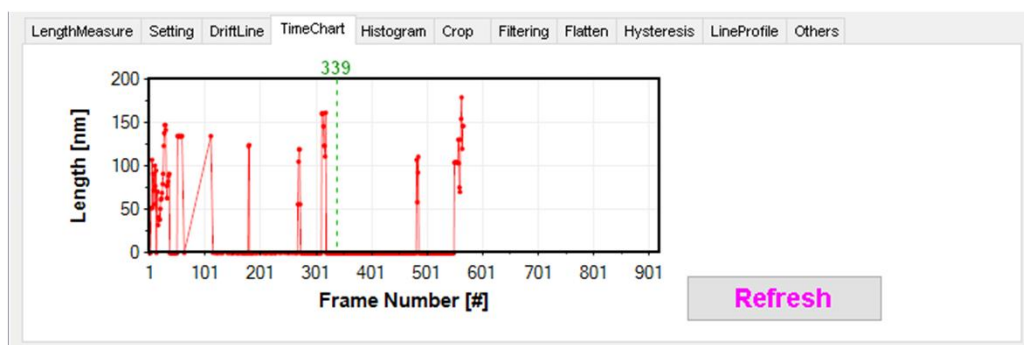
Slope Correction(nm)  
XYそれぞれの方向の基板の傾きを調整する。

Frame Average  
Frame間でデータを平均化することで滑らかにする。動きの小さなデータに効果的。  
(rectangularよりもtriangularの方が残像を抑えられる)

### Color Scaling Mode for Topo

Auto Setting...Peak Ref Modeで自動的に明るさを調整する。(平坦な表面が可視化されている時に有効)  
Autoでうまく調整できないときは、Modeを変えてみるとよい。

### Time Chart



データのあるフレームと測定値を可視化した図。  
・緑の点線をdragすることで目的のframeにjumpできる

## Others

### Display Image Setting

補間方法を設定する。  
(ノイズが多いデータの場合、  
不自然な画になるのでBilinear  
の方が良い。)

### Interpolation(Pre) ▼▲

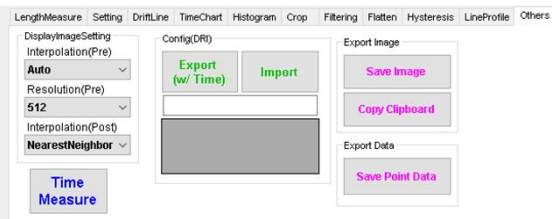
Auto…自動調整

NearestNeighbor…最寄りの点

Bilinear…縦横それぞれ2点

Lanczos2…4点

Lanczos3…6点



### Save Image

表示されている  
Frameを保存。

### Clipboard

表示されている  
Frameをクリップ  
ボードにコピー。

### Save Point Data

表示されている  
frameのデータを  
保存。

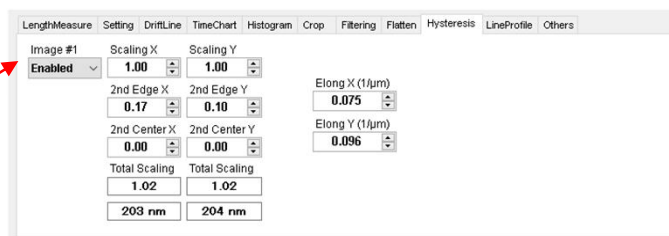
### Config(DRI)

パラメーターなどの設定をexport、importする。  
Export (w/Time) …時間入りの別名で保存する。  
Import…D&Dしたパラメータファイルを読み込む。  
☐ …importしたいFileをDrag & Dropする。

## Hysteresis

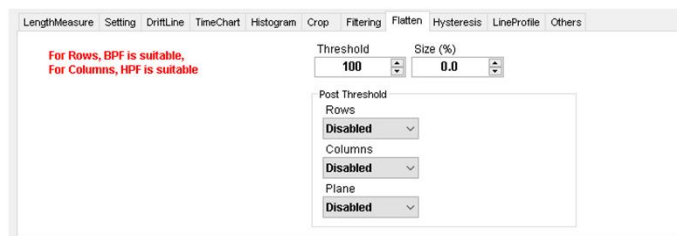
ピエゾのヒステリシスによる画像のゆがみやスケーリングを補正する。

1  $\mu$  m以上の大きなスキャン  
範囲のときに顕著となるので  
使用した方が良い。  
Enabledにすると補正される。



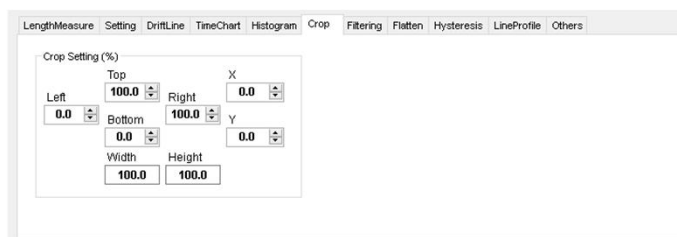
## Flatten

リングングを消すために使用する。



## Crop

イメージの一部のみを拡大表示するために使用する。

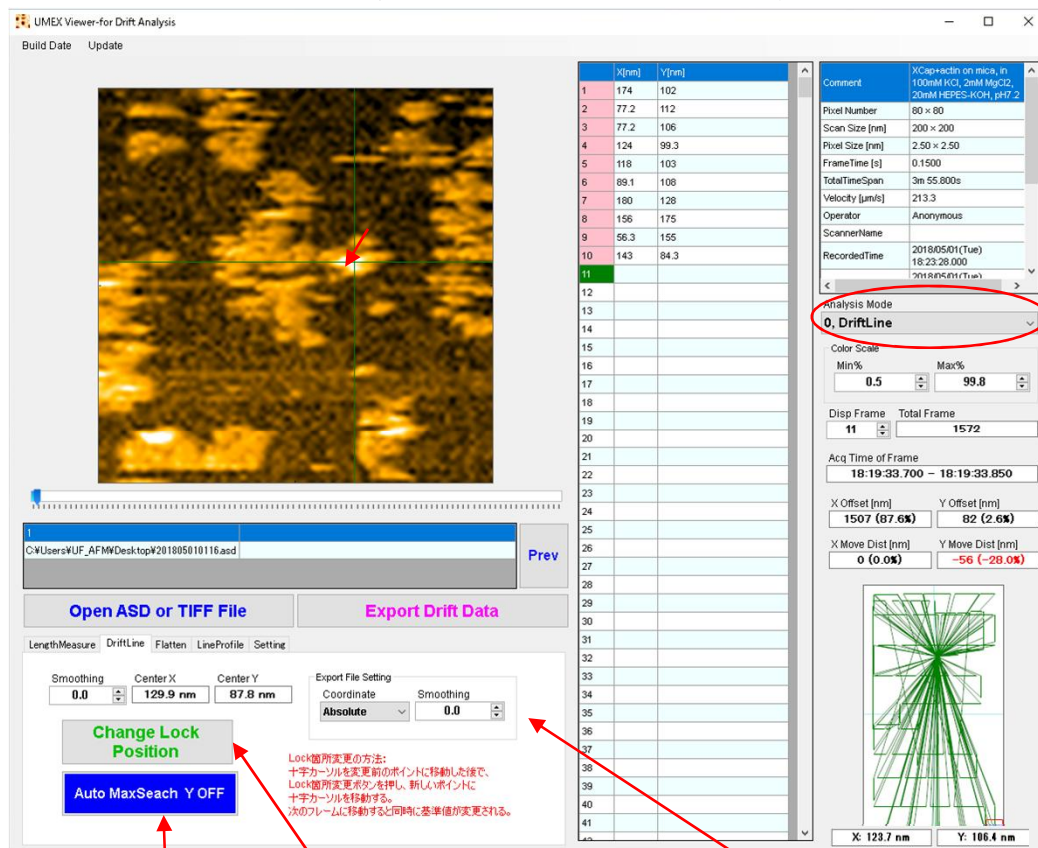


## < Analysis Mode 0\_Drift Line >

### Drift Line

Frameの左上を原点0としたXYの位置（座標）を測定する。

- ・フレームごとに緑の線の十字線の交点ポインタを動かすことによって得られる。
- ・フレームを移動するとその時の座標が上書きされていくので要注意。



#### Change Lock Position

個々の分子の軌跡ではなく、イメージ全体のドリフト変化を見積もる際に必要となる機能。追跡していた分子がイメージ外にフェードアウトした際に、別の分子に再ロックする際にボタンを押し、次のフレームへ移動すると、基準点をそちらに移動できる。

#### Auto MaxSearch Y ON

ONにすると、フレームを移動した時に同じY軸上での最高点上に自動で移動する。

#### Export File Setting

##### > Coordinate

書き出したCSVデータの座標として、右のテーブルの座標をそのまま保存するか、フレーム#1における座標を基準とした相対値を保存するかを指定。

##### > Smoothing

書き出したCSVデータのグラフを滑らかにする。

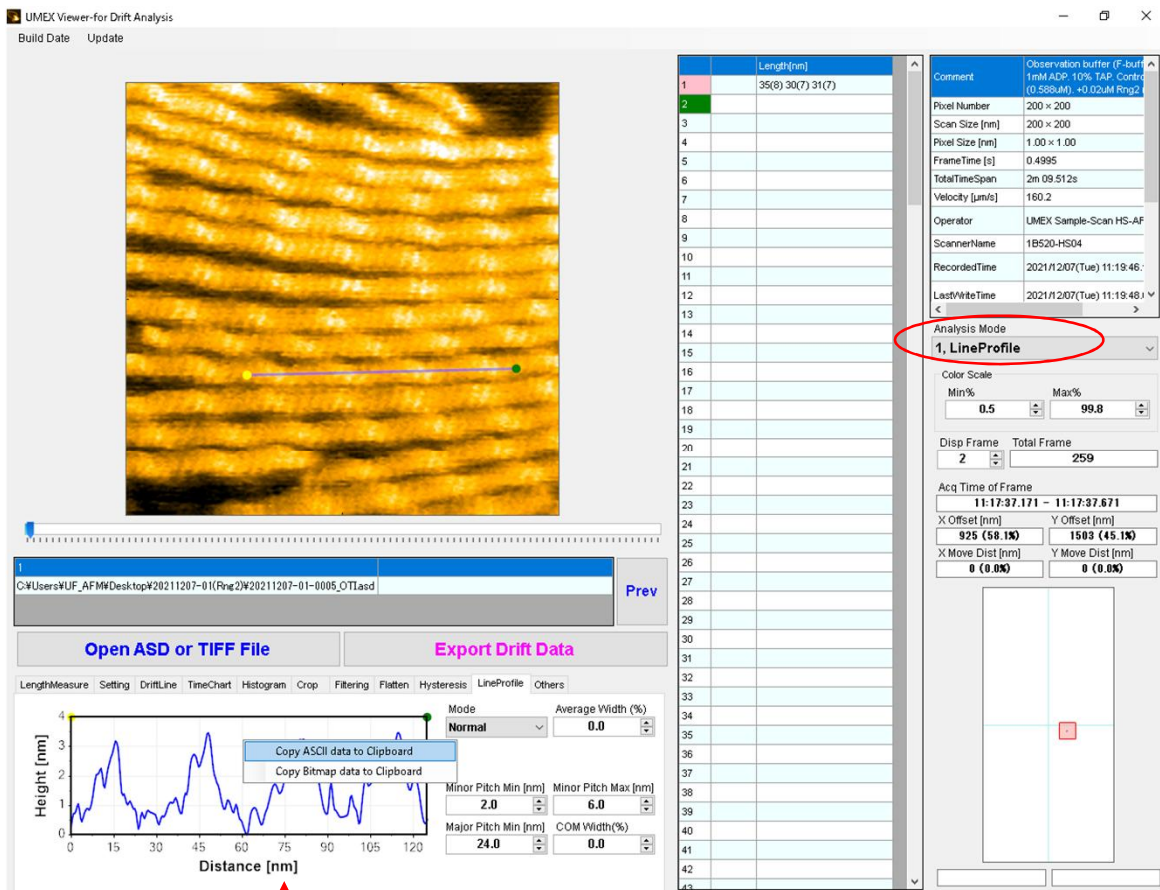
## < Analysis Mode 1\_Line Profile >

### Line Profile

Image上で指定したLineの高さと距離を得る。

→Analysis ModeをLineProfileにする。

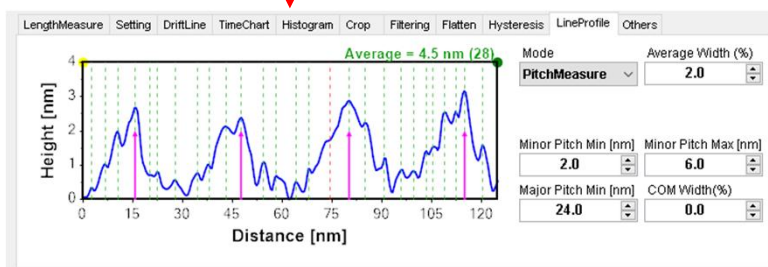
→測定したいところを指定する。(起点…左click、終点…右click、指定解除…ホイールclick)



### Mode

【Normal】…高さと距離を測定する。

【Pitch Measure】…メインピッチ(パープルライン)とその間にあるマイナーピッチ(グリーンライン)を検出し、メインピッチ間の距離とその間のピッチの数を測定する。



手でマイナーピッチライン(グリーンライン)を追加、消去する方法…ライン選択した状態でEnterキー、Deleteキー

※グラフ内で右clickするとコンテキストメニューが表示される。

Copy ASCII data to Clipboard

…起点からの距離と高さのデータをクリップボードにコピーする。

Copy Bitmap data to Clipboard

…Bitmapデータをクリップボードにコピーする。

### Average Width(%)

平均するライン幅を設定する。

### Minor Pitch Min(nm) 【典型値：2.0nm】

?

### Minor Pitch Max(nm) 【典型値：6.0nm】

?自動的に赤ラインで表示されるが無視してよい?

### Major Pitch Min(nm) 【典型値：24nm】

?

※ピッチを検出する幅の最大値や最小値を設定することで検出漏れを補うことができる。

### COM Width(%)

??



## < Analysis Mode 2 \_Length Measure >

### LengthMeasure

DNAなどの分子の長さや曲率、DNAに結合した分子の位置などの時間変化を解析する機能。  
データポイントを設定した後に、TimeChartやStatisticsで解析を行う。

Mode... Multi-Line Lengths、Adsorbate Position、CircularLine AdPosi、Multi-Angleから選択する。

次のFrameに移動するとデータが表示、保存される。  
(キーボードの←→、Disp Frameの▲▼、スライダーで移動)

396 nm

Frame	Length[nm]
1	393
2	393
3	396
4	393
5	401
6	403
7	403
8	396
9	391
10	388
11	390
12	389
13	391
14	391
15	383
16	390
17	390
18	393
19	393
20	391
21	391
22	388
23	389
24	387
25	399
26	392
27	395
28	392
29	390
30	390
31	390
32	380
33	379
34	379
35	378
36	389
37	389
38	393
39	393
40	393
41	393

Comment: Wt mDNA on DPTAP10% mem  
OnM (nM) NaCl, 10mM

Pixel Number: 100 x 100  
Scan Size [nm]: 150 x 150  
Pixel Size [nm]: 1.50 x 1.50  
FrameTime [s]: 0.1000  
TotalTimeSpan: 3m 20.000s  
Velocity [μm/s]: 300.0  
Operator: Kodera  
ScannerName:  
RecordedTime: 2016/02/25(Thu) 15:00:17.

Analysis Mode: **2. LengthMeasure**

Color Scale: Min% 0.5 Max% 99.8

Disp Frame: 3 Total Frame: 2000

Acq Time of Frame: 14:56:57.200 - 14:56:57.300

X Offset [nm]: 1140 (66.3%) Y Offset [nm]: 1623 (51.0%)  
X Move Dist [nm]: 0 (0.0%) Y Move Dist [nm]: 0 (0.0%)

Operation Manual

Operation	Description
Right Click	Add endpoint of DNA line
Left Click	Move point of DNA line
Right Click w/ Shift key	Move whole DNA line
Right Click w/ Ctrl key	Add DNA segment
Middle Click	Delete endpoint of DNA line
Middle Click w/ Shift key	Delete whole DNA line
Enter Key	Selecting point
Delete Key	Selecting point
Delete Key	Delete selected point of DNA line

#### Operation Manual

描画はオペレーションマニュアルに従い自由に変更できる。  
※Modeによりオペレーションは異なる。

#### Export Drift Data

csv.Fileとして書き出す。

#### Frame Open Mode

Restore Save Data

元のデータに戻る。(推奨)  
前に書いた描画が復元される。

Overwrite Save Data

現在の描画で上書きする。  
(まとめて修正するときに便利)

Shift-Key Lock OFF

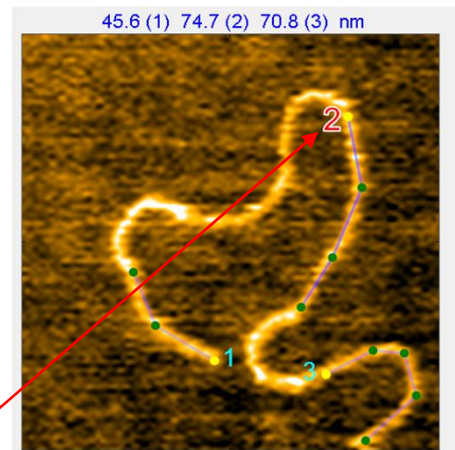
Shift-key をLock状態にするか  
しないかを操作する。

Shift-Key Lock ON

- **1. Multi-Line Lengths**

DNAの長さや曲率などの時間変化を解析するためのモード。

FrameごとにImage上にポイントし、DNA全体の長さを測定する。



複数の描画があるときは、起点（黄色点）をclickすると選択できる。  
この場合、描画2が選択されている。

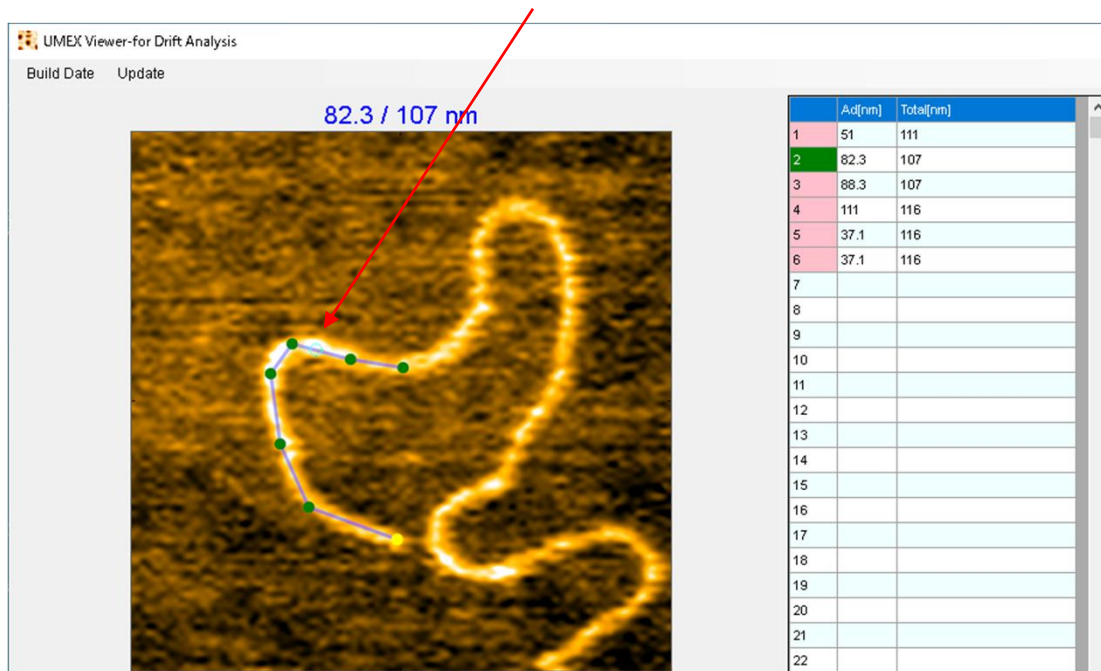
## 2. Adsorbate Position

DNAに結合した分子の位置の時間変化を解析するためのモード。

Frameごとに吸着物の位置を測定する。

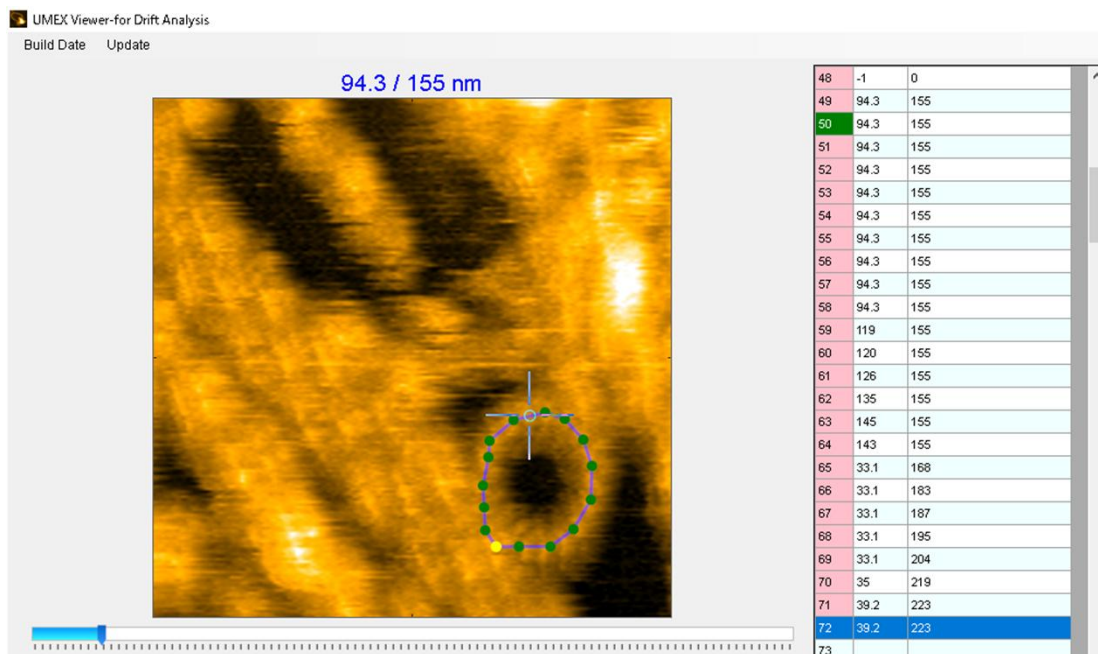
Image上にポイントし全長を描画した後、吸着物の位置を指定する。

吸着物の位置（水色○）は、起点（黄色点）からの距離で表される。



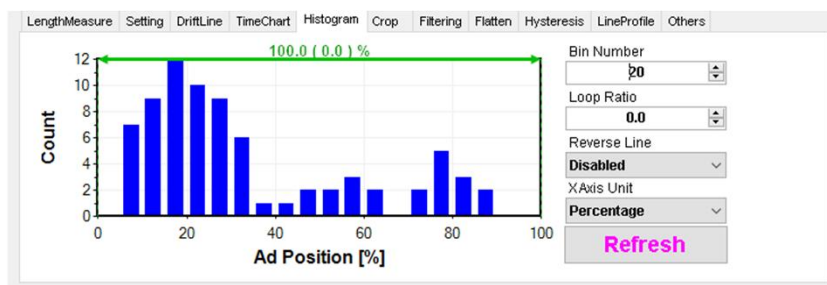
### 3. Circular Line 、 Circular Line AdPosi

プラスミドDNAの曲率変化や、DNAに結合した分子の位置などの時間変化を解析するモード。



#### Histogram

Adsorbateの位置の測定結果をHistogramで表示する。



Bin Number

Bin サイズを調整する。

Loop Ratio

?

Reverse Line

?

X Axis Unit

X軸の単位を指定する。

Refresh

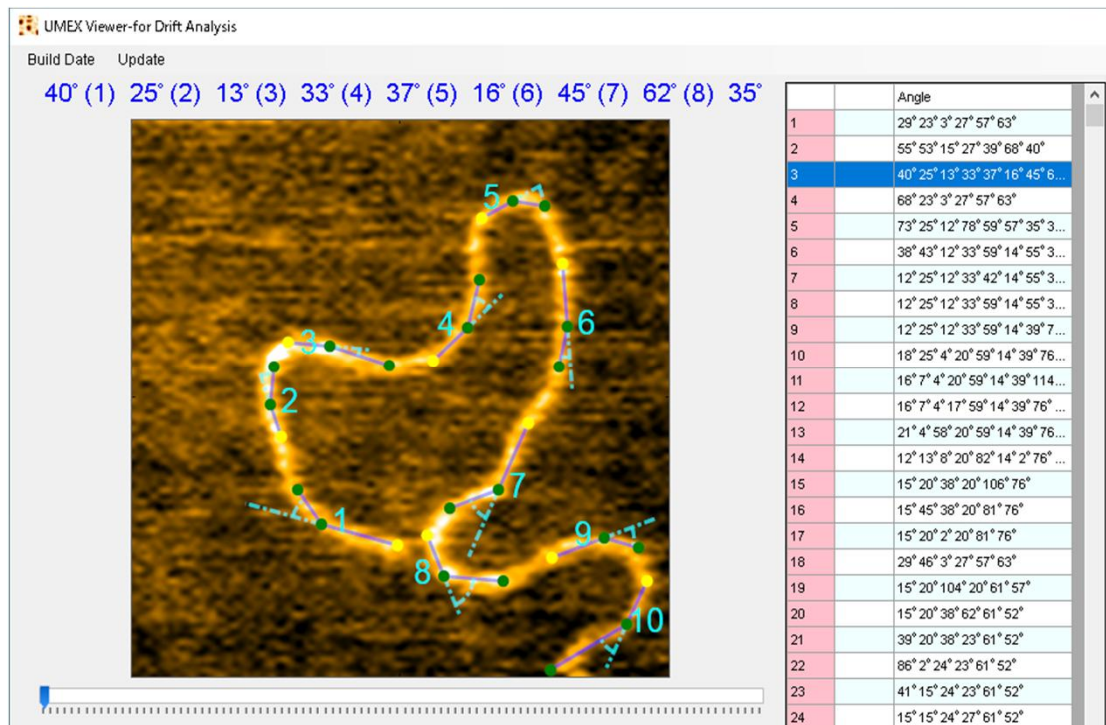
?



## 4. Multi-Angles

複数点における角度の時間変化を解析するためのモード。

3点を指定し、1、2点目を結ぶ直線を0度としたときの2、3点目を結ぶ直線との角度を測定する。  
※複数の描画があるときは、描画の起点をクリックすると選択できる。 選択中の描画は自由に変更できる。

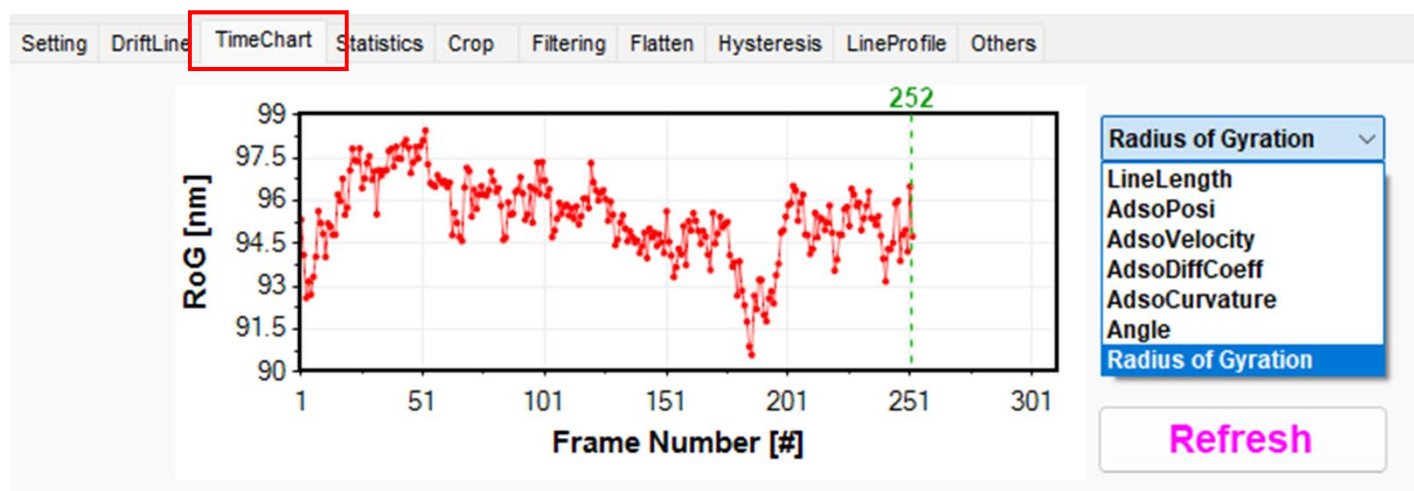


## Setting

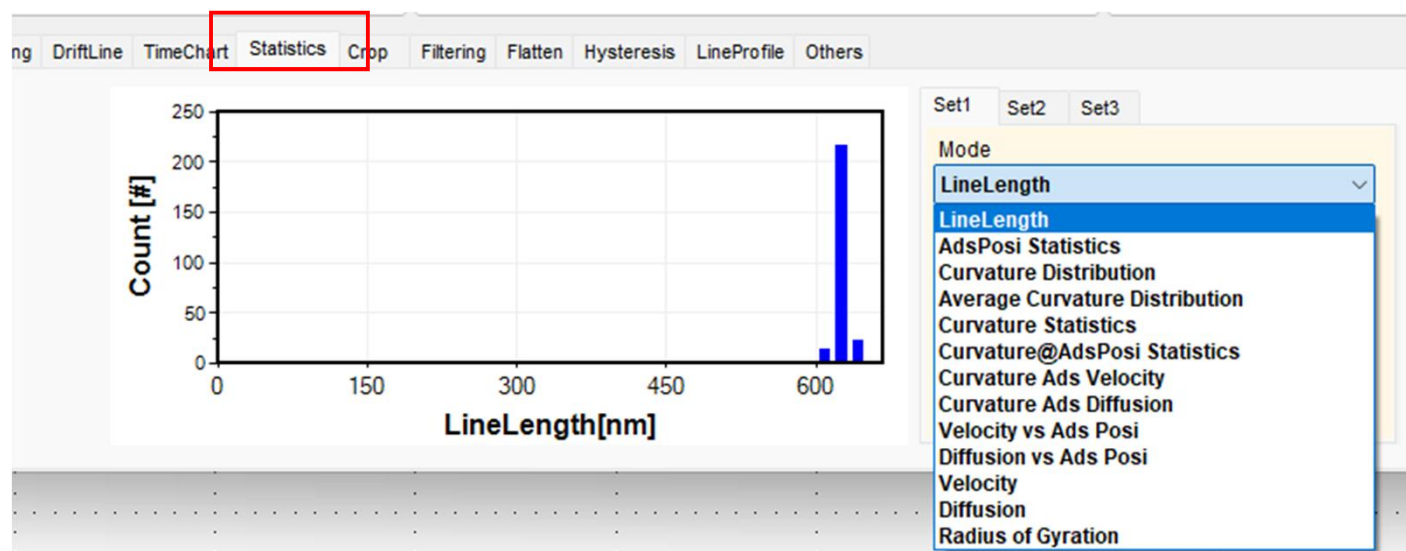
長さを固定して角度を測定することができる。  
→Fixed LengthをEnabledにし、長さを指定する。



## TimeChart



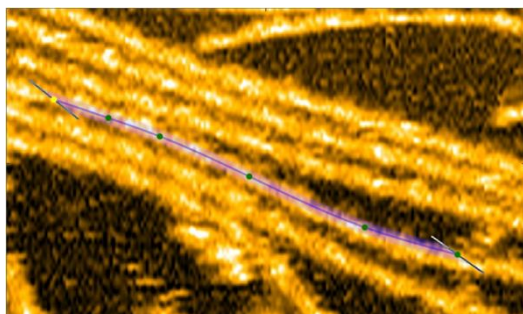
## Statistics



## Kymograph Analysis1

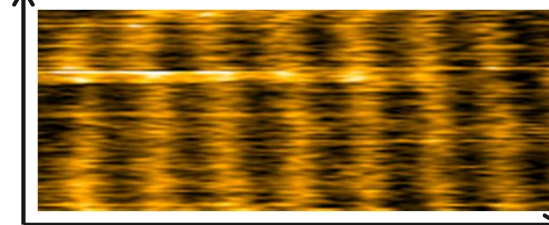
フレーム毎のラインプロファイルを縦方向にスタックすることで、横軸が距離、縦軸がフレーム数（時間）のカイモグラフィデータを生成する。データはPNGとESDファイル形式で保存される。

元のAFMイメージ

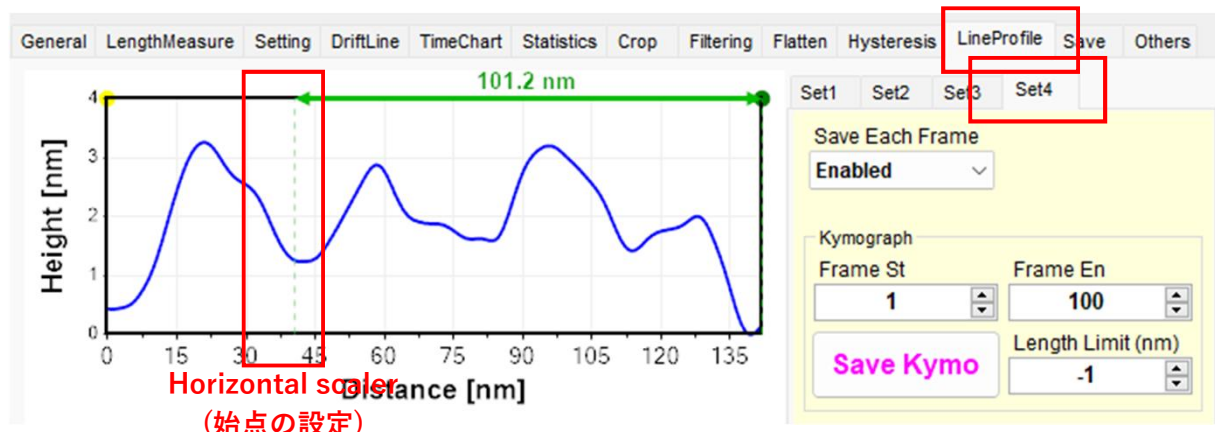


Frame (#)

カイモグラフィイメージ



Distance along profile (nm)



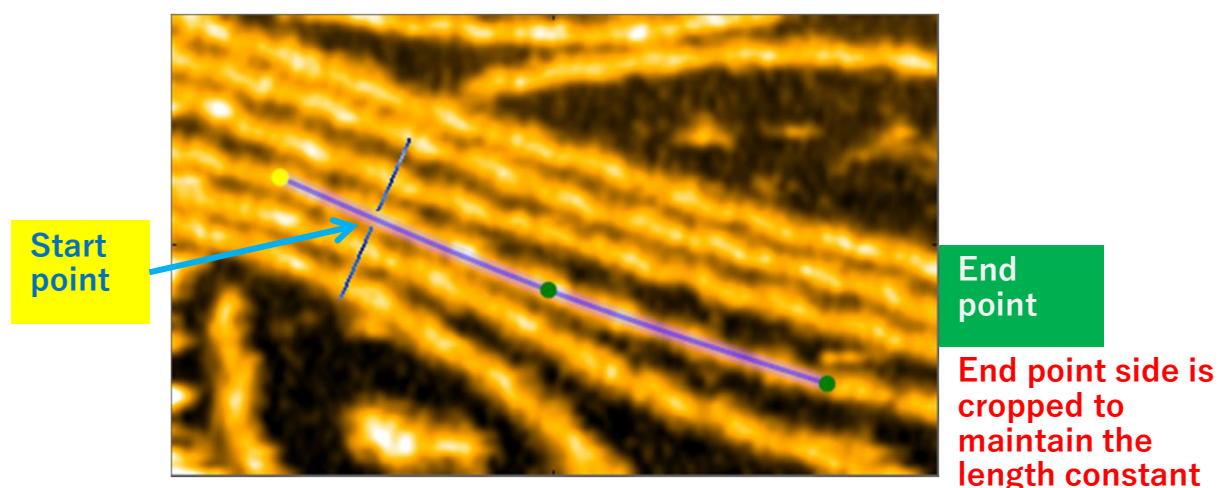
### Basic Operation

1. FlattenあるいはSlope Correctionを使って、解析したフレームにおいて、傾きがない状態に設定する。（カラスケーリングは設定する必要はない。） Gaussian Smoothingも必要なら設定する。
2. Analysis ModeをLineProfileに変更する。
3. LineProfileタブのSet4タブを開き、「Save Each Frame」をEnabledに変更する。これにより、フレーム毎のラインプロファイルが記録されるようになる。
4. カイモグラフィ解析したいそれぞれのフレームにおいて、ラインプロファイルを設定する。
5. 黄色の丸が始点を表し、それぞれのプロファイルの基準点となるため、フレーム毎に正確に設定する必要があるが、イメージ上で微調整するのは難しい。そのため、フレーム毎に、ラインプロファイル中に表示される左端のHorizontal Scalarをマウスドラッグで操作・設定することで、より正確に始点の設定を行う。
6. Frame StとFrame Enにそれぞれ、カイモグラフィ解析したいフレームの開始と終了フレーム数を入力する。
7. Save Kymoボタンを押すと、解析したデータが出力される。
8. 設定したラインプロファイルの位置情報は、OthersタブのConfig(DRI)でExportボタンを押すことで保存することができる。保存したデータは、ソフトウェアを再起動した後もImportボタンで復元することができる。

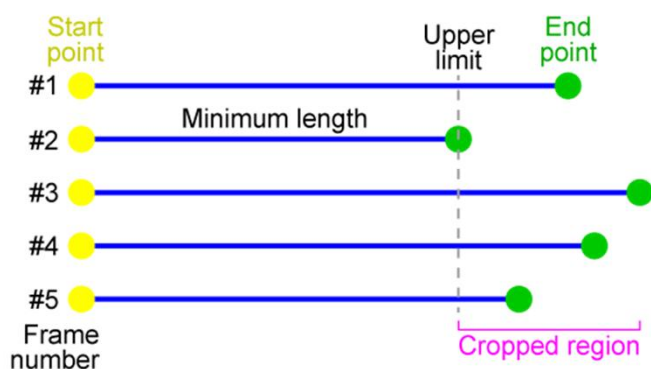
## Kymograph Analysis2

### Additional Operations

1. 記録したデータを消去したい場合には、一旦、「Save Each Frame」をDisabledにしてから、Enabledに戻せば良い。
2. カイモグラフデータはノイジーになりやすいため、Average WidthやGaussian Smoothingを設定しておくで見やすくなる。
3. デフォルトでは、Length Limit (nm)に-1が入力されており、解析したフレームのラインプロファイルの内、もっとも距離が短いものを上限として出力される。距離が長いラインプロファイルは、終点側がクロップされて出力される（黄色の丸が始点側を表す）。
4. Length Limit (nm)に数値を入力しておく、指定した距離を上限としてデータが出力される。論文やプレゼンで、異なる複数条件のカイモグラフを並べて表示する場合などには、上限値を設定した方がよい。
5. 出力した画像ファイルのアスペクト比を変えたい場合にはIllustratorを使うと無劣化で修正することができる。あるいはESDファイルをUMEX Viewerで開いて、HysteresisのScaling Yを調節すること修正することができる。



When Horizontal scaler is NOT set



When Horizontal scaler is set

