TVT - Thermal Video Tracking操作マニュアル

# 作業場所へのファイルのコピー

TVTフォルダ内のdataフォルダに、セッションごとの作業フォルダを作成し、csqファイルを置く。ファイルのパス名に日本語や空白が含まれているとDeepLabCut (DLC)の処理がうまくいかないので注意する。

# ファイルのロード

1. TVTを起動＊。
   * 起動する際に、作業状態ファイルが存在する場合は、状態を復元するかを聞かれる。('Load last state': 'Retrieve the last working state?'）
     + TVTでは、ウィンドウを閉じる際（正常終了時）に作業状態が、TVT/config/last\_working\_sate-0.plkファイルに自動的に保存される。’Yes'を押せば、前回終了時の状態から始めることができる。
     + 状態ファイルは、過去5回分まで保存されている。
     + 'File'メニューの'Save working state'（Ctrl+S'）で現在の作業状態を保存でき、Load working state'（Ctrl+L）で保存されている作業状態を読み込むことができる。
2. 中央のパネルの上にある"Load thermal data"（水色のボタン）を押してcsqファイルを選択。
   * csqファイルから温度データを抽出する進行状況が表示される。データサイズとPCの処理速度によって数分〜１時間かかるので、しばらく待つ。抽出が完了するとデータが別ファイル（\*\_meta.pkl, \*\_raw.pkl）に保存される。この処理は最初の読み込み時にだけ必要。
3. Thermal dataファイルの読み込みが完了したら、パネルの上にある"Export as video"（黄色のボタン）を押して、温度画像をビデオファイル（.mp4）として出力。記録時間とPCの処理速度によって数分〜数時間かかるので、しばらく待つ。この処理は最初のみ必要。
4. ビデオファイルの出力が完了したら、出力ファイルをビデオデータとして読み込むかを尋ねるダイアログが表示されるので、‘Yes’を押してロードする。右側のパネルに白黒のビデオが表示される。
   * 手動でビデオファイルを選択する場合は、右パネルの上の"Load Video data"（水色のボタン）を押して、ファイルを選択。
   * 温度画像とビデオ画像の時間解像度と録画時間が同じ場合、２つの画像は自動的に同期して表示される。時間解像度や録画時間の異なるビデオとの同期を行う場合は、「８温度画像とビデオ画像の時間同期」を参照。

# DLCによるビデオ画像の位置追跡

DLCによるビデオの位置追跡処理のインターフェースが、メニューバーのDLCにある。

処理手順は、Nath et al., (2019)の記述に準じているので、詳細が必要な場合はそちらを参照。

Nath, T., Mathis, A., Chen, A.C., Patel, A., Bethge, M., Mathis, M.W., 2019. Using DeepLabCut for 3D markerless pose estimation across species and behaviors. Nat Protoc.

1. DLCプロジェクトの作成

メニュー：DLC->New projectでプロジェクトを作成。

既にプロジェクトを作成している場合は、メニュー：DLC->-Load configでプロジェクトフォルダ内にあるconfig\_rel.yamlを選択。

1. deeplabcut GUIの起動

メニュー：DLC-> deeplabcut GUIで設定編集ダイアログが開く。

‘Load Project’で１）で作成したプロジェクト（e.g., TVT/data/\*\_thermo-TheralVideoTracking-\*\*\*\*-\*\*-\*\*/config.yaml）を選択。（config\_rel.yamlではなくconfig.yaml）

1. Manage projectタブでEdit config.yamlを押す

Bodypartsを編集。’Value’をダブルクリックで編集。右クリックでInsert、Delete。Saveで完了。

1. Extract framesタブ

訓練データとして抽出するフレームの数を指定。デフォルトの20で，まずは問題ない。20で不十分な場合，後の再評価の手順でサンプルを追加できる。Extract Framesを押し、訓練画像を抽出する。

1. Label framesタブでLabel Framesを押す

Lebeled-data以下の\*\_thermoフォルダを選択。

napariウィンドウが開く。

‘2’を押すとポイントモードでカーソルが十字になる。

追跡場所をクリックして設定。追跡部位が映っていないフレームは飛ばす。

完了したら、メニュー->File->Save Selected Layer(s)…で保存し、napariウィンドウを閉じて終了。

1. Create training dataset タブでCreate Training Datasetを押す
2. Train networkタブで 訓練の開始。Train Networkを押す

ネットワーク訓練の完了には相当な時間（数時間）がかかる。

1. Evaluate network タブ

ネットワークの訓練が完了したらEvaluate Networkを押す

1. Analyze videosタブ

Select videosを押し、ビデオファイル（e.g., videos/\*\_thermo.mp4）を選択

Seve result(s) as csvとFilter predictionsにチェックを入れる

Analyze Videosを押す

完了したらビデオファイルと同じフォルダに“\*\_filtered.csv”というファイルができている。

1. 外れ値の抽出（オプション）

TVTで読み込んだ時に、追跡結果が良くなかった場合には、ネットワークの再訓練を行う。

deeplabcut GUIの起動

メニュー：DLC-> deeplabcut GUIで設定編集ダイアログが開く。

‘Load Project’でプロジェクト（e.g., TVT/data/\*\_thermo-TheralVideoTracking-\*\*\*\*-\*\*-\*\*/config.yaml）を選択。（config\_rel.yamlではなくconfig.yaml）

Extract outlier framesタブ

Select videosでビデオファイル（e.g., videos/\*\_thermo.mp4）を選択

Extract framesを押す

Labeling GUIを押す

Merge dataを押す

2)の５−７を繰り返す。

# DLC追跡点の読み込み

* メニュー：DLC->Load tracking positions

\*flitered.csvを選択。Likelihood threshold（0-1の範囲）を設定。追跡確度の高い時点のみを読み込む場合は高い値（e.g., 0.95）に設定。

左にある'Tracking points'パネルのPointに追跡点が追加される。

* Radiusで追跡点の領域の半径（pixel）を設定。
* Aggregationで領域のデータのまとめ方（mean/median/min/max）を設定。
* 'Tracking points'パネルの下部にある‘Plot all time points’で追跡点の温度データを、すべてのフレームに対して取得する。
* TVTウィンドウ下部のグラフに、追跡点の温度変化が表示される。表示されていない部分は追跡ができなかったフレーム。

# 時間マーカーの設定

温度追跡を行う時間範囲を決めるためや、実験条件の印をつけるための時間マーカーを設定する。範囲を決めずに可能な点をすべて追跡する場合や、実験条件の印が不必要な場合は行う必要はない。

* 温度変化のグラフを参考に、スライダーを使ってフレームを移動し、実験開始または終了フレームなどに移動。
* 左上の'Time marker'パネルで、'Name:'に適当な名前を入力し、'Add'ボタンを押すと、現在のフレームに時間マーカーが設定される。下のグラフで時間マーカーの位置が、縦線で表示される。
* マーカーはフレームに対して設定され、名前は任意のもので構わない（名前によるマーカーの区別はTVTでは行われない）。
* 「７追跡点の温度データの出力」で述べる出力ファイルには、マーカーのフレームと名前が記録されるので、後の解析に便利なものを適当に設定する。

# 追跡点の編集

## 時間マーカー区間ごとの追跡点の削除

* + 左にある'Tracking points'パネルの'Point:'で追跡点を選択。

1. 'Time marker'パネル（左上）の'Jump next'、'Jump previous'でマーカー位置のフレームに移動できる。
2. 'Tracking points'の'Edit range:'を設定
   1. 'Current'；現在の表示フレームのみ
   2. 'PrevMark -> Current'；前のマーカーから、現在の表示フレームの前まで（マーカー位置は含まない）。
   3. 'Current -> NextMark'；現在の表示フレームから、次のマーカーまで（マーカー位置は含まない）。
   4. '0 -> Current'；始めから、現在の表示フレームの前まで。
   5. 'Current -> End'；現在の表示フレームから、最後まで。
3. 'Tracking points'の'Erase'ボタンで、'Edit range'内の追跡点が消去される。

編集後は'Edit range'が'Current'に戻るので、その都度'Edit range'を設定する。

1. 'Tracking points'パネルの'Point:'で追跡点を選択し、上記を繰り返す。

取り消しができないので、まめに状態の保存（Ctrl+S）をしておく。

## 追跡点の手動微調整

* 'Tracking points'の'Color'で、追跡点の色を見やすいものに設定。
* 点の移動

追跡点が置かれたフレームでは、温度画像とビデオ画像上に追跡点の円が表示される。円の内部をクリックしてドラッグまたは、画像の位置をダブルクリックすれば、追跡点を移動できる。フレームごとに位置を微調整する。

* キー操作でのフレームの移動とマーカーの削除
  1. ウィンドウ内の空白部分（画像の下など）をクリック（キー操作がボタンや値の入力部に取られないように）。
  2. '.'または右カーソルキーで１フレーム進む。','または左カーソルキーで１フレーム戻る。Shiftキーを押しながら操作すると、１秒単位で移動する。
  3. ‘delete’または’backspace’キーで、マーカーを削除。

操作パネルのフォーカス位置によってキー操作が効かないことがある。キー操作が効かない場合は、ウィンドウ内の空白部分をクリックすると、フォーカスが戻りキー操作が効くようになる。

* 追跡点がないフレームに点を追加するには、画像を右ダブルクリックすれば、現在'Tracking points'で選択されている点がクリック位置に置かれる。
* 新規の追跡点の追加

DLCで追跡しなかった点を追加する必要がある場合、シフト＋左ダブルクリックすれば、新規の追跡点が追加される。

* 追跡点の削除

'Tracking points'の'Delete this tracking point'（赤いボタン）を押すと、追跡点（全フレームのデータ）が削除される。

# 追跡点の温度データの出力

* 左下にある"Export data'（青いボタン）を押して、出力ファイル名を設定。
* 追跡点の温度データと'Time marker'がcsvファイルとして保存される。
* フレーム番号、時間は全て温度画像に対応。

ファイルのフォーマット

一列目：フレーム番号（０から開始）

二列目：時間 (ms)

三列目：マーカー

四列目以降：追跡点の座標（x，ｙ）と温度

* ここで出力したデータは、メニュー：DLC->Load tracking positionsで読み込むこともできる。

# 温度画像とビデオ画像の時間同期（オプション）

時間解像度の異なるvideo dataを用いる場合、温度画像との同期を手動で行う必要がある。

* ビデオ画像の時間表示を参考に、温度画像とビデオ画像が同じ時点の画像を表示している場所を探す。
* 温度画像とビデオ画像の時間を画像下部のボタン（真ん中の２つはフレーム単位で移動、端の２つは秒単位で移動する）で移動させて、同じ時点の画像を表示させる。
* 手順例
  1. まず、ビデオ画像の開始フレームに表示されている時間に合わせてフレームを移動し、ビデオ画像下の'Sync video to thermo'ボタンを押す。
  2. 中央下のスライダーを動かして、大きな動きがあるフレームを探す。

中央下のスライダーは温度画像と同期しており、温度画像とビデオ画像が同期している時（ビデオ画像下の'Sync video to thermal'ボタンが押されている [青色になっている] 時）はビデオ画像も同期して移動する。

* 1. 位置ずれが目立つフレームに来たら、'Sync video to thermal'ボタンを解除して、それぞれでフレームを移動して、ずれを修正。
     + 画像をクリックして表示される黒い点は、温度画像度とビデオ画像で同じ位置に表示されるので、位置合わせの参考にする。
     + 温度画像とビデオ画像で時間解像度が異なる場合、時間解像度が低い方を固定して、高い方の画像をフレーム単位で微調整すると合わせやすい。
  2. 同じ時点のフレームが両方に表示されている状態で、'Sync video to thermal'ボタンを押す。
  + 何度でもやり直しできるので、全体を見ながら、ずれが目立つ時点で止め、「'Unsync video to thermal'ボタンを解除」―＞「フレーム単位で微調整」―＞「'Sync video to thermal'ボタンを有効」を繰り返し、調整する。
  + ビデオ画像と温度画像で、時間解像度とサンプリングのタイミングが異なる場合、完全に合わないこともある。追跡点の位置は、手動で微調整できるので、ある程度の誤差は許容する。ただし、誤差が大きいと、手動での調整の手間が大きくDLCの利点が失われる。