

Tutoriel IMOD Travail effectué au sein du groupe de travail " Analyses d'images 3D " du réseau RIME

Michaël Trichet, Francois Orange

▶ To cite this version:

Michaël Trichet, Francois Orange. Tutoriel IMOD Travail effectué au sein du groupe de travail "Analyses d'images 3D " du réseau RIME. 2022. hal-04923291

HAL Id: hal-04923291 https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-04923291v1

Submitted on 31 Jan 2025 $\,$

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers. L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Tutoriel IMOD

François Orange, Michaël Trichet et le groupe de travail « Analyses d'images 3D »

Contact : <u>francois.orange@univ-cotedazur.fr</u>, <u>michael.trichet@sorbonne-universite.fr</u>

Ce document n'a pas pour but de remplacer l'aide officielle de IMOD, qui est disponible en ligne, mais de fournir un exemple de méthodologie et des petites astuces.

N'hésitez pas à nous signaler toute erreur ou question !

Index de l'aide officielle IMOD : <u>https://bio3d.colorado.edu/imod/doc/index.html</u>

Installation

Ce paragraphe décrit l'installation sur un PC (Windows 10) et sur Mac (OS supérieur à 10.11). Pour les autres configurations (Linux), la procédure d'installation est décrite sur le site d'IMOD (<u>https://bio3d.colorado.edu/imod/doc/quide.html</u>). L'installation sur PC n'est peutêtre pas la partie la plus simple à faire (il y a quelques petites étapes techniques), ni la plus simple à décrire (mes excuses par avance). L'avantage, c'est qu'il n'y a besoin de le faire qu'une seule fois. Ensuite, on est tranquille. L'installation sur Mac est plus simple puisqu'il s'agit de l'environnement Unix dont IMOD a besoin.

Plusieurs configurations sont possibles, et sont décrites sur le site (voir lien ci-dessus). Personnellement, sur PC, j'utilise IMOD par le biais de Cygwin. Pour cela :

1) Pour <u>PC uniquement :</u>

- La première étape est de télécharger et installer Cygwin qui émulera un environnement Unix. Récupérer l'*Installer 64* ou *32 bits* à ce lien : <u>https://bio3d.colorado.edu/imod/doc/guide.html#SettingUpWindows</u>
- Suivre les différentes étapes de l'installation, et les instructions de la page web qui s'ouvre. Il est conseillé de renommer le dossier de destination de *cygwin64* en *cygwin*, et de le mettre directement sur le disque C:\ (*C:\cygwin*). A l'étape *Select Package*, modifier *Default* en *Install*, comme précisé. Demander à ce qu'un icone soit mis sur le bureau (c'est ce qui servira à lancer IMOD ensuite !)
- 2) Pour <u>PC et Mac</u> :
 - Télécharger et installer IMOD (<u>https://bio3d.colorado.edu/imod/download.html</u>, rubrique Latest Stable Release Packages Windows ou Mac, cliquer sur full clickable installer ou clickable installer).
 - Pour rappel, sur Mac IMOD n'a pas besoin de Cygwin
 - Quelle version de CUDA choisir ? CUDA n'est requis que pour les ordinateurs équipés d'une carte graphique NVIDIA, à ma connaissance ce n'est pas le cas pour les Mac. Pour l'écriture de ce tutoriel, j'ai pris la version avec CUDA le plus élevé, sur un PC qui n'est plus tout jeune, et il n'y a pas eu de soucis.
 - Normalement, ça s'installe tout seul

Vérification de l'installation

IMOD se lance en lignes de commandes à partir de **Cygwin** (PC) ou du **Terminal** (Mac : Applications/Utilitaires/Terminal)



Pour PC

- Dans le dossier C:\cygwin\home, il doit y avoir un dossier à votre nom ou au nom de votre ordinateur (par exemple : *C:\cygwin\home\Francois*)
 - Un conseil : créer un raccourci de ce dossier sur le bureau et le renommer Dossier IMOD, pour un accès plus facile. C'est le dossier où iront toutes les images que vous souhaitez aligner / segmenter / modéliser, et où seront sauvegardés les résultats
- Dans ce dossier, créer un dossier Test
- Sur le bureau, lancer le *Cygwin64 terminal*
- Rentrer la ligne *cd Test*



(<u>010)</u>		×
		~
	_	- 0

 S'il y a une erreur, vérifier que les variables d'environnement sont bien définies (c'est-à-dire là où cygwin pense qu'est votre dossier d'image, où est IMOD...). Tout est expliqué ici :

<u>https://bio3d.colorado.edu/imod/doc/guide.html#InstallingWindows</u>, (paragraphe *After installation at the command line*)

Pour Mac

- Pour tester l'installation sur Mac il suffira de lancer les commandes *etomo* ou *3dmod* dans le terminal
- Normalement les fenêtres respectives se lancent. Je n'ai jamais eu d'erreurs, je préconiserais de redémarrer le Mac, voire de réinstaller IMOD en cas de problème.

A noter qu'il est possible de changer simplement le dossier à l'aide d'un « glisser/déposer » dans le terminal : rentrer la ligne **cd** puis prendre et glisser le dossier cible depuis la fenêtre vers la fenêtre du Terminal :



Le dossier de travail d'IMOD est automatiquement modifié pour celui que vous avez sélectionné, pratique !

	背 michaeltrichet — -bash — 80×24
Last login: Wed Aug 11 MTrichet-MacBook:~ mic CCM/Groupe\ 3D/Tuto	11:10:35 on ttys000 haeltrichet\$ cd /Users/michaeltrichet/Documents/RIME∖ -∖ R

Workflow

Le traitement des images avec IMOD inclut les étapes suivantes :

- La préparation du stack d'images
- L'alignement des images
- La segmentation (= tracer les contours des structures à modéliser)
- La modélisation

Préparation du stack

Il s'agit de mettre ensemble et dans l'ordre dans un stack l'ensemble des images qui ont été acquises au MEB ou au MET, et d'en profiter pour faire les ajustements nécessaires (inversion des couleurs, suppression des mauvaises images, recadrage...)

Cette partie-là ne se fait pas dans IMOD

Dans ImageJ / Fiji :

- Faire un stack avec les images dans l'ordre
- Faire toutes les modifications jugées utiles (recadrage, inversion des couleurs, enlever les barres d'échelle, normalisation du contraste, suppression des sections en mauvais état...)

NB : s'il manque des sections, ce n'est pas grave. Il sera toujours possible de rajouter une section vide à la place ensuite, et IMOD se débrouille très bien pour modéliser un objet même s'il manque quelques sections.

- Sauvegarder au format .tif.
 - Conseil : Appeler toujours le stack *Stack.tif*. Ca simplifiera beaucoup les choses ensuite. Pour ceux qui n'ont pas envie de suivre ce conseil, il faudra IMPERATIVEMENT éviter les espaces et accents dans les noms de fichier.
- Placer le stack dans un nouveau dossier dans votre dossier IMOD (*C:\cygwin\home\VotreNom\Nouveau_Dossier*). Dans le but de ce tutoriel, je crée un dossier *Tutoriel*

<u>Alignement</u>

Avec **ImageJ/Fiji** : le **plugin Linear Stack Alignment with SIFT** (Plugin/Registration) **est automatique** et s'en sort en général bien (donc pas toujours) avec les réglages par défaut. Attention, ce plugin ne gère que les translations et rotations, pas les déformations/étirements, ce qui peut être un souci pour l'alignement d'images faites par Array Tomography.

Avec **IMOD**, **l'alignement est semi-automatique**. IMOD va d'abord chercher à aligner les images, paire par paire. Il faudra ensuite vérifier cet alignement et corriger les erreurs, avant de redemander à IMOD de refaire un alignement. Ces itérations peuvent être faites autant de fois que nécessaire, mais de manière générale, la séquence "Alignement automatique > Vérification manuelle > Alignement automatique" est suffisante.

La dernière étape sera la fabrication du stack aligné

L'utilisation de IMOD implique de rentrer des lignes de commande. **Pas de panique, ce sont toujours les mêmes !** Dans la fenêtre de cygwin, vous pourrez retrouver les commandes précédemment rentrées avec les flèches haut et bas.

Lancement de etomo

 Sur le bureau, lancer Cygwin avec l'icône Cygwin Terminal (PC), ou Terminal (Mac)



- Sélectionner le bon dossier, ici : *cd Tutoriel*
 - NB : Pour remonter dans l'arborescence des dossiers : *cd* ..
- Convertir le stack en .mrc : *tif2mrc Stack.tif Stack.mrc*
 - Le .mrc est le format qu'utilise IMOD pour les stacks
- Lancer etomo : etomo
- Cliquer sur Align Serial Sections / Blend Montage



- Charger *Stack.mrc* et cliquer sur OK





E

La fenêtre de paramétrage de l'alignement s'ouvre

Onglet Align (onglet par défaut quand on lance etomo)

L'aide complète est ici : https://bio3d.colorado.edu/imod/doc/serialalign.html#Aligning

Il y a différentes possibilités pour paramétrer l'alignement automatique. **Ce qui suit est un exemple de méthodologie.**

Il est tout à fait possible, pour commencer, de laisser les paramètres tels quels et de cliquer sur Initial Auto Alignement

Quelques explications sur les paramètres :

- Find initial shifts with cross correlation : facultatif, va juste essayer de superposer les images successives sans jouer sur les rotations / translations / grandissements.
 Peut-être utile en préalable ou pour certains alignements rapides. Je ne l'utilise pas en général.
- Choix entre Rotation / Translation Rotation / Translation / Magnification - Full Linear Translation.
 Pour les deux premiers, ça fait ce que ça dit : ça essaye de superposer les images en jouant sur la rotation, la translation voire le grandissement. Pour la Full linear translation, ça ajoute l'étirement des images dans une direction.
- A mon avis, c'est le Full Linear Translation qui est le plus approprié pour la Array Tomography, car il y aura des distorsions liées à la coupe à compenser. Pour du SBF, ce serait plutôt l'une des deux premières options

tack - Etomo	>
<u>T</u> ools <u>V</u> iew <u>O</u> ptions <u>H</u>	elp
reating aligned stack	
done	Kill Process
erial Sections	
nitial Blend Align Ma	ike Stack
Open	Stack
Auto Alignment Paramet	ers
Sigma for low-frequency	filter: 0.0
Cutoff for high-frequency	filter: 0.35
Sigma for high-frequency	/ filter: 0.05
Apply Sobel filter	
🔲 Find initial shifts with	cross-correlation
Search For:	
Full linear transforma	ition
Rotation/translation/n	nagnification
Rotation/translation	
- Warping	i
Find warping transfo	ormations
Correlation patch size in	1 X: Y:
Use boundary mode	Create/View Boundary Model
Limits to shifts in X:	Y:
Sections to skip:	
Fraction to ignore on edg	es: 0.05
Binning in search:	2
Binning in Midas:	1
Initial Auto Alignment	Revert Auto
Midas	Alignment to Midas
Refine with Auto Alignment	Transforms

- A priori pas besoin de modifier les autres options, hormis **Fraction to ignore on edge** éventuellement (valeur par défaut : 0.05, ce qui veut dire qu'il zappe 5% de l'image au bord, ça marche bien, voire mieux avec 0.10 ou 0.15, à essayer)
- Warping : possibilité de faire des déformations locales. Je n'ai pas compris comment ça marche de manière efficace par contre. Donc ce n'est pas la peine de s'embêter avec dans un premier temps
- Dans la rubrique *Search For*, choisir entre *Rotation / Translation Rotation / Translation / Magnification Full Linear Translation*
- Lancer Initial Auto Alignement. Ca va prendre entre quelques secondes à quelques minutes suivant la taille du stack. Quand done est affiché dans la barre en haut de la fenêtre, c'est terminé

Image: Contemporary Contemp	– = ×	¢	電 Stack - Etomo <u>F</u> ile <u>T</u> ools <u>V</u> iew <u>O</u> ptions <u>H</u> elp	(<u> </u>)		×
Initial xfalion			Starting Serial Sections interface	-		-
Elansed time: 0:02	Kill Process		done		Kill Proces	s
r Serial Sections			Serial Sections	7		-

<u>Midas</u>

Midas est le nom du module qui permet de vérifier la qualité de l'alignement automatique, et de le corriger.

- Une fois l'alignement terminé, cliquer sur *Midas*



Par défaut, Midas superpose deux sections successives, l'une en vert, et la seconde en rouge. Si l'alignement a été bien fait, les couleurs s'additionnent et donnent du noir (image de gauche). Si l'alignement a été mal fait, ça se voit tout de suite (image de droite), et il faut corriger manuellement.



Pour naviguer dans Midas, utiliser les petites flèches de la case **Reference Sec.** en haut à gauche. Les deux cases **Reference Sec.** et **Current Sec.** affichent les sections qui sont comparées. Par défaut, ce sont deux sections successives, mais cela peut être modifié.

En cliquant et décliquant **Toggle Ref/Cur**, on ne superpose plus les images en rouge/vert, mais on affiche alternativement les deux images (très pratique !). Pour revenir à l'affichage rouge / vert, cocher **Overlay view**.

- Faire défiler le stack dans Midas pour comparer toutes les paires d'images
- Si nécessaire, ajuster manuellement l'alignement entre les paires d'images.
 - Pour cela, utiliser les outils dans la colonne de gauche pour ajuster la position (*X/Y translation*), la *rotation*, le grandissement (*magnification*) ou l'étirage (*stretch*)
 - Pour des petits ajustements, cela se fait assez simplement.
 - On peut utiliser la souris (*click gauche enfoncé*) pour corriger la *X/Y translation*



 Si eTomo a fait n'importe quoi, ça peut être très compliqué. Pour s'y retrouver, regarder les déformations appliquées dans la colonne de gauche. Dans la plupart des cas, eTomo a fortement modifié le grandissement (valeur de *Magnification* très différente de 1). Pour s'en sortir, remettre cette valeur proche de 1, et éliminer un éventuel étirement

- Important : après chaque modification, cliquer sur S pour sauvegarder. Un petit message s'affiche
- Une fois toutes les corrections faites, fermer Midas
- Cliquer sur **Refine with Autoalignement**, pour refaire un alignement avec les modifications apportées dans Midas
- Vérifier à nouveau dans Midas que tout va bien

Dans la pratique, on peut s'arrêter là la plupart du temps. Mais rien n'empêche de faire autant de cycles Alignement automatique / Vérification sur Midas que l'on veut.

- Si jamais on veut tout recommencer : cliquer sur Revert to No Transform
- En haut de la fenêtre, cliquer sur l'onglet *Make Stack* pour passer à la suite

Onglet "Make stack"

Maintenant que l'alignement est fait, cet onglet sert à paramétrer la fabrication du stack aligné.

Il y a différentes options : Local Fitting / Remove trends in translation / Remove trends in translation & rotation / Global alignement. Pour les différences entre chaque, je vous renvoie à l'aide officielle

(https://bio3d.colorado.edu/imod/doc/serialalign.html#Images). Contrairement à ce qui est mis dans l'aide, j'ai une préférence personnelle pour l'option **Global alignement**, qui semble donner les meilleurs résultats. Mais je recommande également d'essayer les autres options, pour voir ce qui fonctionne le mieux.

nitial xfalign	-
done	Kill Process
erial Sections	
Initial Blend Align	Make Stack
Stack alignment trans	forms
 Local fitting (retain 	trends)
O Remove trends in t	ranslation
	Tansiadon
Remove trends in t	ranslation & rotation
 Remove trends in t Global alignments (ranslation & rotation (remove all trends)
Remove trends in t Global alignments (Reference section	ranslation & rotation (remove all trends)
 Remove trends in t Global alignments (Reference section 	ranslation & rotation (remove all trends)
Remove trends in t Global alignments (Reference section ize in X:	ranslation & rotation (remove all trends) for alignment:
Remove trends in t Global alignments (Reference section tize in X:	ranslation & rotation (remove all trends)
Remove trends in t Global alignments (Reference section dize in X: difference reference section dize in X: difference difference	ranslation ranslation & rotation (remove all trends) for alignment:
Remove trends in t Global alignments (Reference section tize in X: tining: 1-	ranslation ranslation & rotation (remove all trends) for alignment:

- Data file: C:\cygwin\home\Francois\Tutoriel\Stack.ess
- Avec le *Global Alignement*, il est possible de mettre une image de référence. La plupart du temps, ce n'est pas spécialement utile.
- Size in X Y : taille en pixel du stack final : ne pas hésiter à mettre une taille plus grande que les images initiales pour être sûr de ne rien perdre (par exemple 1500 x 1500 pixels pour des images d'origine à 1280 x 1280 pixels)
- Cliquer sur *Make Aligned Stack*

🖻 Stack - Etomo — 🗆 🗙	🗟 Stack - Etomo —	
<u>File Tools View Options Help</u>	<u>File Tools View Options Help</u>	
Creating aligned stack	Creating aligned stack	^
82% ETC: 0:00 Kill Process	done	Kill Process
Serial Sections Initial Blend Align Make Stack	Serial Sections	:k

- Pour ouvrir le stack aligné, cliquer sur **Open Aligned Stack**
 - Le stack aligné est sauvegardé sous le nom *Stack_ali.mrc*

Une nouvelle fenêtre s'ouvre :

- Pour lancer et arrêter le défilement automatique : *clic droit*
- Pour naviguer entre les sections : page précédente / page suivante

Comment s'assurer que l'alignement est bon ?

C'est une très bonne question ! En cherchant dans la littérature et les études utilisant l'Array Tomography (la technique la plus à même de produire des biais d'alignement), je n'ai pas vu que les auteurs utilisaient des critères spécifiques pour vérifier et justifier la qualité de l'alignement. Par défaut, je dirais donc que c'est une question de ressenti (« Est-ce que l'alignement vous semble bon ? »).

Dans IMOD, un moyen simple peut-être d'utiliser les vues orthogonales (sur le stack aligné Image > XYZ, en ayant auparavant rentré l'échelle en Z avec Edit > Model > Header, voir partie suivante sur la segmentation pour plus de détails sur ces fonctions), en regardant par exemple si des objets qui doivent être ronds (vacuole, vésicule, mitochondrie) le sont bien sur les vues orthogonales.

Transition alignement / segmentation

Dans l'absolu, il est possible d'enchainer directement alignement puis segmentation en segmentant le stack aligné **Stack_ali.mrc**

Mais vous pouvez aussi avoir envie :

- De vous arrêter là, et exporter le stack aligné
- De faire des modifications sur ImageJ sur le stack aligné (par exemple insérer des images vides dans le stack pour remplacer les sections qui ont pu être perdues).
- Pour exporter les images au format tif, il faut taper la ligne de commande : mrc2tif Stack_ali.mrc Stack_ali.tif s mc2tif Stack_ali.mrc Stack_ali.tif s mc2tif Stack_ali.mrc Stack_ali.tif

Seul petit défaut de cette commande, le stack est exporté sous formes d'images individuelles. Les fichiers sont sauvegardés dans le dossier IMOD.

- Une fois les modifications faites, sauvegardez les résultats sous un stack *Stack.tif*, et placez ce stack dans un nouveau dossier.

De manière générale, je conseillerais de faire la segmentation dans un nouveau dossier : s'il n'y a pas de modification à apporter au stack aligné, il suffit de copier/coller le fichier **Stack_ali.mrc** dans le nouveau dossier, et de le renommer **Stack.mrc**

Segmentation

<u>Principe</u>

Sur chacune des sections, il s'agit de tracer les contours des objets à modéliser en 3D. La segmentation et la modélisation se feront avec 3dmod, un des modules de IMOD

Interface 3dmod

Pour ouvrir 3dmod, taper la commande suivante : *3dmod Stack.mrc* (PC), *ou 3dmod* (Mac). Dans ce second cas une fenêtre s'ouvrira dans laquelle vous pourrez sélectionner vos fichiers (le .mrc dans Image file et le .mod dans model file).

			3dmoi	d Startup
		Start program as	image windows 'iew window only	Use cache, set to: Sections Megabytes Cache images as tiles or strips
		Image file(s): Model file: Piece file(s):	Select Select	Fill cache upon startup Image files form a pyramid at multiple resolutions Filp Y and Z sizes by rotating around X
<pre>~/Tutoriel_segmentation François@Francis_PEC ~ \$ cd Tutoriel_segmentation/ François@Francis_PEC ~/Tutoriel_segmentation \$ dimed Stack.mrc François@Fran7ois_PEC ~/Tutoriel_segmentation \$</pre>	- 🗆 X	Angle file: Piece file is a metadata autodoc (.m	doc) file	Load non-byte data in as 16-bit integers Show RGB images as grayscale
		Load image subset (numbered from 0) X from: to: Y from: to: Z from: to: Bin by 1 in X/Y, 1 in Z	Open XYZ window Model View Zap window Slicer	Load single-image files as separate times, not sections Load montage as single frames Load model without scaling coordinates Load FFT without mirroring data on left side Show images as montage Overlap pieces in X: [d] in Y by Model View window size
		Scale image intensities: 1 to (When files must be scanned), to 255 to find scaling and max min and max mean and SD from scan K C4	

- Dans l'interface de 3dmod, il y a la fenêtre principale où est affiché le stack, et une petite barre d'outils



- Quelques fonctions utiles :
 - Pour naviguer entre les images : touches *page précédente / page suivante*
 - Pour faire lancer / arrêter le défilement les images : *click droit* de la souris
 - Pour zoomer / dézoomer : + / -
 - Pour se déplacer : maintenir le *click gauche enfoncé* et bouger

- Les fonctions principales qui peuvent servir dans les différents menus :
 - *File*
 - Open Model / Save Model : pour ouvrir un modèle enregistré et pour le sauvegarder
 - Set Snap Dir : pour sélectionner le dossier où iront les captures d'écran (par défaut : dans le dossier où se trouve le stack)
 - o **Edit**
 - Model > Header : pour définir l'épaisseur (en pixel) entre chaque section
 - Exemple : pour les images du tutoriel, j'ai des coupes de 50 nm et un barre d'échelle qui dit 1 μm = 1000 nm = 267 px
 - Donc les coupes font 13.35 px d'épaisseur. Je rentre cette valeur à la ligne *Total Z Scale* (attention, bien un « . » et pas « , »)

🛅 3dmod: Stack —		🛅 3d —		×
File Edit Image Special He	lp	Draw model	7.ccale	
Object 1 1 X 1 Contour x /0 Y 1 Point 7 21	· / 1280 · / 964 · / 28	Z/X pixel size ratio = Added Z-scale	= 1.000	
Black 15 White 251	Mode Movie Movie	Drawing resolution	3 1 pixels	
mage size 1200 x 904, 20 securits 3dmod 4, 11.5 Copyright 1994-2021 Regents of the Univ. of Colo.		Set Pixel Size fro	m Image Help	

- Object > Type : dans ce menu, on peut choisir si l'objet est ouvert ou fermé (Object type Open / Closed), et de quel côté est la surface d'intérêt
- Object > Color, et Object > Delete vont aussi servir
- Contour > Delete et Point > Delete vont aussi servir
- o Image
 - ZaP : pour afficher la fenêtre avec le stack (ce qui est le cas par défaut) si par exemple, vous l'avez fermée par erreur
 - XYZ : vues orthogonales (peut être un moyen de vérifier la qualité de l'alignement)
 - Model View : pour afficher le résultat de la modélisation. On y reviendra plus tard
- Special
 - Drawing Tools : les différents outils qui vont rendre la segmentation (un peu) plus facile

🧱 Edit 🛛 —	
Edit Object Object name:	Properties <u>?</u> # 1
Draw object	1
Copy from Object	: 1 🛨
Object type	Front face
Closed	 Outside
C Open C Scattered	C Inside
Start new conti	our at new Z
Points per contour Symbols	No limit 📩
None T	Filled
priorie	- I mea
Mark ends	Arrow at end
Mark ends	Arrow at end
Mark ends	Arrow at end
Size	Arrow at end
Size Shere radius for p Show spheres (Line width 1 ÷	Arrow at end 3 points 0
Mark ends Size Sphere radius for p Show spheres (Line width 1 ÷ V Draw labels	Arrow at end 3 points 0 *** on-section only Size Default *** time values
Imark ends Size Sphere radius for p Show spheres of Line width 1 ✓ Draw labels Contours have Filled contours in	Arrow at end 3 points 0 ** on-section only Size Default ** time values Zap
Mark ends Size Sphere radius for p Show spheres of Show spheres of Une width 1 = Draw labels Contours have Filled contours in Fill transparency	Arrow at end 3 opints 0 * on-section only Size Default * time values Zap
Image: Control of the second seco	Arrow at end 3 3 3 3 3 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5

Outils pour la segmentation

Il y a (heureusement) des outils pour rendre la segmentation plus facile. De manière générale, **un** <u>**Object**</u> est composé de <u>**Contours**</u> qui sont composés de <u>**Points**</u>. Les numéros d'object, de contour et de point sont affichés dans la fenêtre de 3dmod.

Difficile d'expliquer par écrit le ressenti de la segmentation sur IMOD, ou de décrire toutes les options. Ce paragraphe inclut les principes généraux et quelques astuces. Tout deviendra plus clair avec de la pratique

- Pour commencer la segmentation, ouvrir le menu Special > Drawing Tools
- Les différentes options sont :
 - *Normal* : on trace le contour avec la souris
 - Sculpt : on trace un rond, dont on pousse les limites pour créer le contour
 - *Livewire* : 3dmod devine les contours
- Pour tracer, ça se fait avec en cliquant avec la molette
 - Ce n'est pas le plus pratique : si besoin, il y a la possibilité de modifier les commandes de la souris en allant sur *Edit > Options >* onglet *Mouse*
- Pour revenir en arrière : *Ctrl Z* (en cas d'erreur sur un contour, ne pas hésiter à l'effacer et recommencer)
- Pour sélectionner un contour : *click gauche* dessus

💽 D. X ? -Drawing Tools Drawing Mode: -Normal [1] Warp [2] Sculpt [3] C Join [4] C Livewire [5] The Wand [6] Eraser [7] Measure [8] Model in Slicer Modify Contours: Reduce [R] Smooth [E] Mouse / Keyboard Actions Settings

Exemple d'une mitochondrie :

- En mode *Normal*, il s'agit de tracer le contour en maintenant la molette enfoncée.
 C'est loin d'être l'option la plus précise ou la moins laborieuse. Avec juste, un clic de la molette, on trace un point (ça servira plus loin)
- En mode *Sculpt*: on trace un rond avec le clic molette, on peut modifier la taille du rond en roulant la molette. Ensuite, en maintenant la molette enfoncée, on « pousse » le contour pour l'adapter au limite de la structure que l'on souhaite segmenter (une vidéo sera sans doute plus parlante, je vous conseille celle-ci: <u>https://youtu.be/BsNSVLIQ-cE</u>)



- En mode *Livewire*, 3dmod devine le contour. Il suffit de cliquer avec la molette en différents points du contour pour tracer le trait. Clore le contour en revenant au point de départ. Il y a différentes options :
 - What are you tracing : pour le MET (ou des images equivalent MET), Middle of a dark region est approprié
 - *Binning* : plus le binning est faible, plus la ligne est flexible
 - Apply smoothing iterations : lisse le contour (peu d'itérations = lissage modéré ; beaucoup d'itérations = lissage fort)
 - Préférence personnelle pour binning faible ou inexistant, avec un peu de smoothing (2 itérations).
 Jouer un peu avec ces paramètres pour trouver le meilleur réglage

🛅 Livewire Optio	ns ? >	
Help livewire by sele	cting from these options.	
what are you traci	ng?	
 (a) the middle of 	f a dark region	
(b) the middle of	f a light region	
\bigcirc (c) the edge of	a region	
binning:	bin by 2	•
noise reduction:	median _	•
	¥2	
livewire color:	yellow _	•
☞ apply smoothing	iterations: 2 =	•
This algorithm was develop Click here for video demo &	ed by Jeffrey Bush . I source code.	
🖌 do not show aga	in (I know what I'm doing)	
Cancel	Okay	

 Ma préférence : tracer les contours de manière préliminaire avec *Livewire*, puis affiner / corriger avec *Sculpt*

Quel que soit le mode de tracé choisi, une fois qu'un contour est terminé sur une section, on peut passer à la section suivante, et recommencer : un nouveau contour sera créé automatiquement. On peut aussi faire, si nécessaire, un deuxième contour (et un troisième...) sur une même section. Les numéros des contours importent peu.

Cas particulier des objets ouverts :

- Pour les objets ouverts (c'est-à-dire dont les contours ne se ferment pas car ils ne sont pas inclus en entier sur les images : exemple du noyau), le principe de la segmentation est grosso modo le même
- La seule différence est liée aux contours : le fait qu'ils ne soient pas fermés peut entrainer un certain nombre de petites contraintes sur 3dmod (comme le besoin de créer manuellement un nouveau contour à chaque section)

- Une fois qu'un objet est entièrement segmenté, on peut passer au suivant :

- Edit > Object > New (pas nécessaire pour le premier objet)
- Faire attention aux contours vides : vérifier s'il y a des contours qui n'ont aucun point (avec un -x- à la place du nombre de point), et les supprimer (*Edit > Contour > Delete*), ou faire le ménage avec la fonction *Edit > Object > Clean*

Citye, I	1	+	
Contour	5	+	/5
Point	x	÷	/0

- Pour sauvegarder le modèle : File > Save Model As
 - Utiliser un nom qui se termine par .mod : Model.mod par exemple

Modélisation

 Pour voir les différents contours tracés (et le modèle): *Image > Model View*

On voit les différents contours qui ont été tracés. On peut faire pivoter la vue en maintenant la molette enfoncée, et en bougeant la souris

Options qui peuvent servir :

- File
 - Snap Tiff As... : pour faire une capture d'écran
 - *Movie / Montage* : pour faire des animations de ce qui a été modélisé
- Edit
 - *Objects* : voir plus bas
 - Image : permet d'afficher les sections et les vues orthogonales (en cliquant sur View X/Y/Z image), et de les faire défiler avec les tirettes en dessous
 - View > Invert Z : pour inverser l'échelle en Z, si jamais 3dmod n'oriente pas la série de sections dans le bon sens





Pour la modélisation

- Edit > Objects : le module pour modéliser les surfaces
 - Sélectionner l'objet à modéliser
 - *Meshing*, et cliquer sur *Mesh One*





- C'est le moment de vérifier le résultat. S'il y a eu des bugs de la modélisation : vérifier et corriger au niveau de la modélisation. Puis revenir au modèle, et cliquer à nouveau sur *Mesh One* pour prendre les corrections en compte.
- Pour revenir en arrière : Draw > Contours
- Cliquer sur Skip s'il manque des sections et modéliser malgré les intervalles

Pour la modélisation du sommet des objets :

- Il y a l'option *Cap* que l'on peut utiliser. Le problème, et que ça fermera aussi les trous dus au début et fin de stack
- La solution la moins pire pour clore un objet est de placer un point en haut de la structure que l'on veut fermer (*Drawing Tools > Normal*). Et refaire *Mesh One*

