

Chemotaxis and Migration Tool Version 1.01
Visualization and data analysis of chemotaxis and migration processes
based on ImageJ

Inhaltsverzeichnis

Main panel.....	2
Restrictions.....	3
Import dataset.....	4
Plot feature.....	7
Sector feature.....	9
Angular sector.....	9
Circular sector	10
Diagram feature.....	11
Statistic feature.....	13
Series functions.....	13
Rayleigh Test.....	14
Rayleigh Test für Vektordaten.....	14
Settings.....	15
Definitionen.....	16
Installation.....	19
Referenzen.....	20
Anhang Diagramme und Plots.....	21

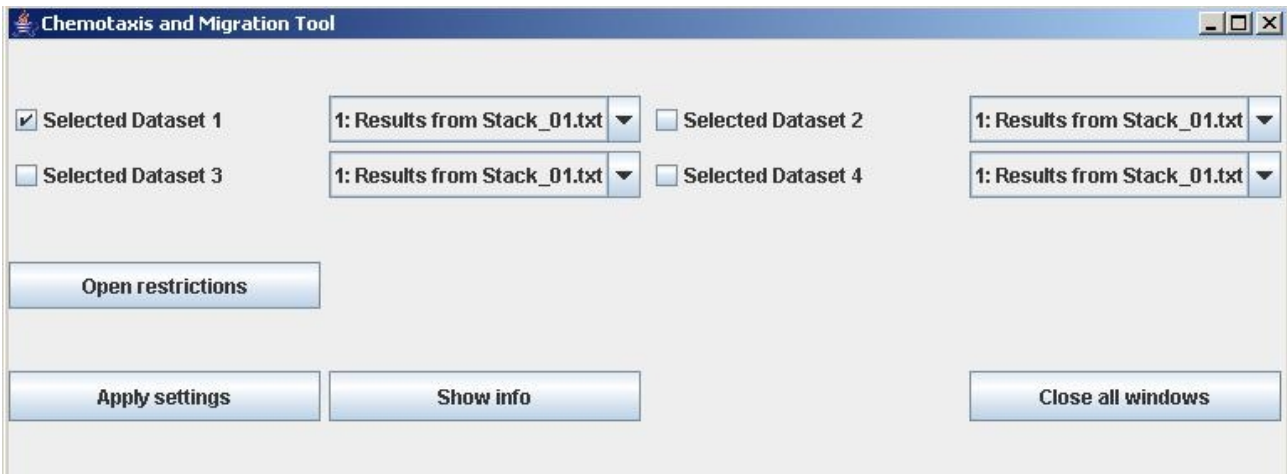


Abbildung 1: Main panel

Main panel

- Selected dataset:** Auswahl des Datensatzes. Bietet die Möglichkeit bis zu 4 Datensätze zu selektieren und diese gleichzeitig bearbeiten zu können. Mehrfachselektionen des gleichen Datensatzes sind nicht möglich. Alle Funktionen werden auf alle selektierten Datensätze angewandt, wodurch ein direkter Vergleich der Datensätze möglich ist.
- Open restrictions:** Öffnet ein Menü zum Einstellen verschiedener Grenzwerte, die auf alle selektierten Datensätze angewandt werden.
Siehe *Restrictions*
- Apply settings:** Übernimmt die aktuellen Einstellungen. Falls Einstellungen verändert werden müssen diese nochmals mit *Apply settings* bestätigt werden.
- Show info:** Wichtige Daten zum Datensatz bzw. zu den Datensätzen, falls mehr als ein Datensatz ausgewählt wurde.
Siehe *Abbildung 18*
- Close all windows:** Schließt alle geöffneten Fenster.

Abbildung 2: Restrictions

Restrictions

Split dataset: Auswahl von beliebigen Slices innerhalb des Datensatzes. Beispiel: Wird Slice 2 bis 20 eingegeben, werden nur diese verwendet.

Set threshold distance: Es werden nur Tracks verwendet, deren Pfad die gesetzten Einstellungen erfüllt. Auswahlmöglichkeit zwischen akkumulierter und euklidischer Distanz. Siehe *Abbildung 15*

Set threshold velocity: Es werden nur Tracks verwendet, deren Geschwindigkeit die gesetzten Einstellungen erfüllt.

Damit die Geschwindigkeit und der Weg richtig berechnet werden können, müssen unter *Settings* die richtigen Werte zur Aufnahme eingetragen werden. Wichtige Werte, um diese Funktionen richtig verwenden zu können, werden mit *Show Info* aufgerufen.

Bei Änderung der Einstellungen müssen diese mit *Apply settings* bestätigt werden.

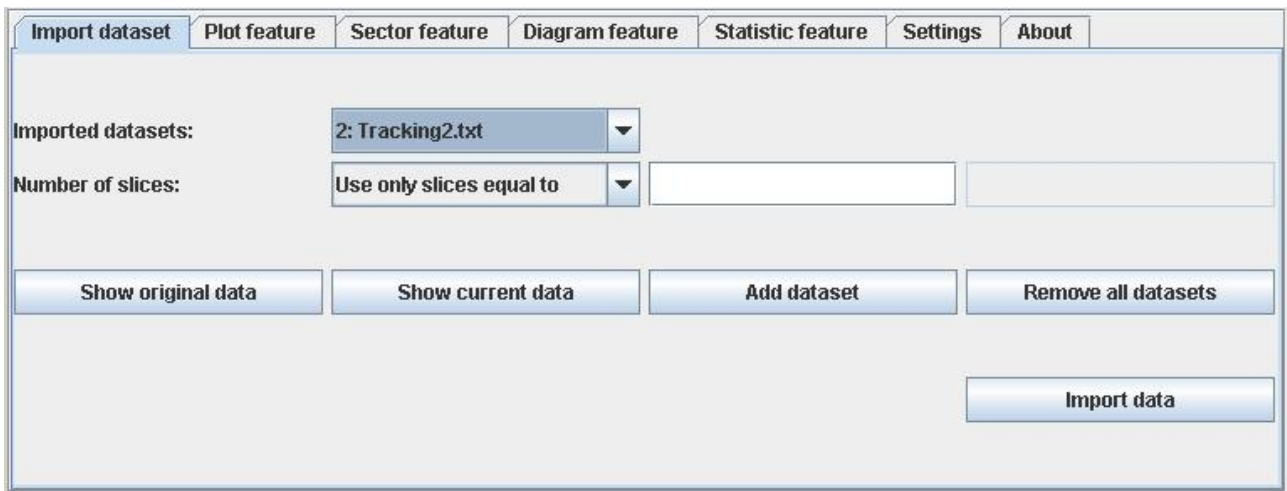


Abbildung 3: Import dataset

Import dataset

- Imported datasets:** Zeigt alle importierten Datensätze an.
- Number of slices:** Use only slices equal to:
Anzahl der Slices. Nur Tracks mit genau dieser Anzahl an Slices werden verwendet. Tracks die mehr oder weniger Slices besitzen werden nicht verwendet.
Use slices range from to:
Es werden alle Tracks verwendet, deren Anzahl von Slices zwischen der eingegebenen Grenze liegen.
Siehe *Abbildung 6*
- Show original data:** Zeigt die ursprünglichen Daten zum ausgewählten Datensatz an.
- Show current data:** Zeigt die aktuell verwendeten Daten zum ausgewählten Datensatz an.
- Add dataset:** Fügt den ausgewählten Datensatz zu *Selected dataset* hinzu.
Siehe *Main panel*.
- Remove all datasets:** Entfernt alle importierten Datensätze.
- Import data:** Importiert einen Datensatz. Dateien, die mit dem Manual Tracking Plugin erstellt wurden (<http://rsb.info.nih.gov/ij/plugins/manual-tracking.html>), können direkt importiert werden.
Siehe *Abbildung 4*

	n°	X	Y	Distance	
23	6	3	253	228	4.675
24	6	4	250	201	4.510
25	7	1	508	178	-1
26	7	2	464	186	7.424
27	7	3	472	197	2.258
28	7	4	498	200	4.345

Abbildung 4: Results table Manual Tracking

Dateien aus anderen Anwendungen müssen in folgendes Format konvertiert werden, um importiert werden zu können.

```
# beliebiger Text
1      1      346      305
1      2      401      404
1      3      473      310
1      4      378      226
2      1      504      276
2      2      516      340
2      3      550      382
2      4      532      429
3      1      440      317
3      2      502      284
3      3      494      238
3      4      397      200
4      1      550      308
4      2      508      368
4      3      428      369
4      4      429      316
5      1      190      225
5      2      241      304
5      3      250      280
5      4      252      256
6      1      449      318
6      2      429      385
6      3      348      381
6      4      316      305
7      1      210      256
7      2      236      309
7      3      305      298
7      4      330      238
```

Abbildung 5: Akzeptiertes Format

Die erste Zeile muss vorhanden sein, kann aber beliebige Zeichen enthalten. Alle weiteren Zeilen müssen folgenden, durch Tabulatoren getrennten Aufbau besitzen.

\tTrackNummer\tSliceNummer\tX-Wert\tY-Wert

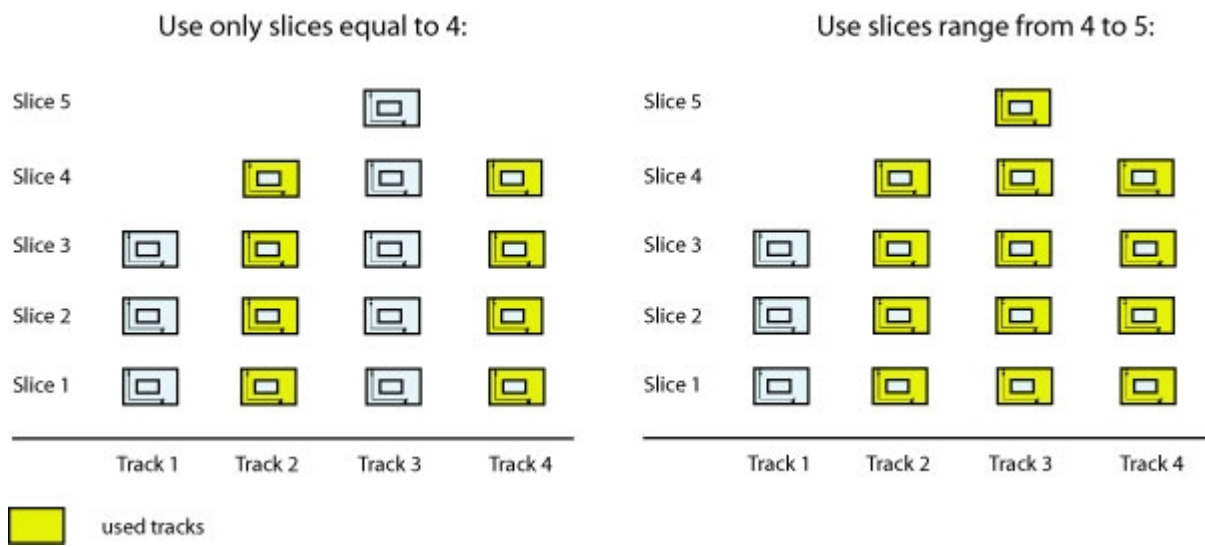


Abbildung 6: Auswahlmöglichkeit Slices

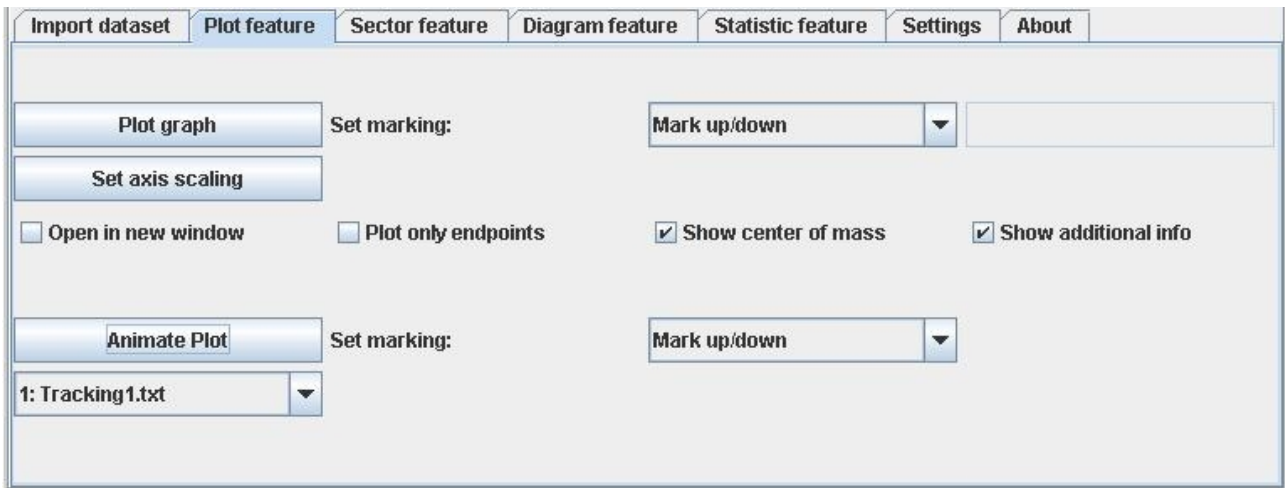


Abbildung 7: Plot feature

Plot feature

Plot graph: Zeichnet den Plot für den ausgewählten Datensatz. Falls mehr als ein Datensatz selektiert wurde, werden mehrere Plots geöffnet.

Set marking: Markiert die Daten im Plot je nach Einstellung.



Abbildung 8: Set marking

Mark more/less, *Mark faster/slower* und *Mark directionality* erfordern die Eingabe eines Grenzwerts.

Set axis scaling: Öffnet ein Fenster zur Skalierung der Plots. Die Skalierung kann entweder automatisch oder manuell eingestellt werden und wird auch für die Animation des Plots verwendet.

Open in new window: Falls aktiviert, werden neue Fenster geöffnet. Ansonsten werden die alten Fenster überzeichnet.

- Plot only endpoints:** Zeigt nur die Endpunkte der Trajektorien an.
- Show center of mass:** Zeigt den Massenschwerpunkt im Plot an.
Siehe *Definitionen*
- Show additional info:** Zeigt zusätzliche Informationen im Plot an.
- Animate plot:** Zeitliche Animation des Plots. Um die Animation zu starten muss im *ImageJ* Menü *Image->Stacks->Start animation* ausgewählt werden.
Um die Animation als Filmsequenz im avi Format zu speichern muss im *ImageJ* Menü *File->Save as->avi* ausgewählt werden.
Als Markierung der Daten im Plot ist *Up/Down* fest eingestellt.
- Set marking:** Markierung der Animation.
Folgende Möglichkeiten stehen zur Auswahl:
No marking
Mark up/down
Mark left/right

Sector feature

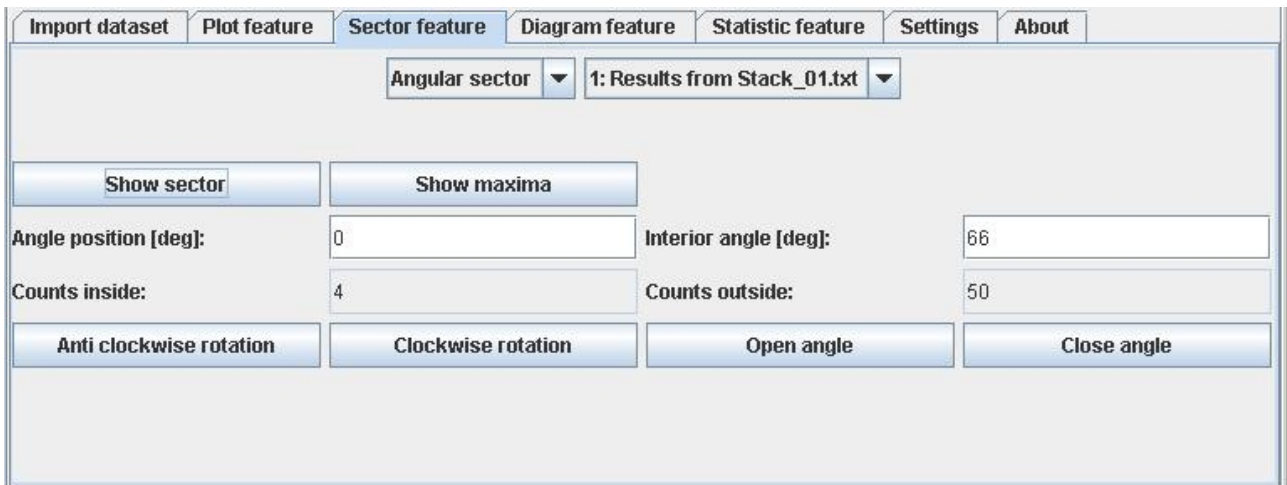


Abbildung 9: Angular sector

Angular sector

- Show sector:** Zeichnet das Winkelsektorfeld in den Plot. Siehe *Abbildung 20*.
- Show maxima:** Sucht zu einem gegebenen Innenwinkel des Winkelsektorfeldes nach Maxima an vorhandenen Endpunkten innerhalb dieser Begrenzung. Bei Vorhandensein mehrerer Maxima kann durch mehrfaches Klicken von *Show maxima* zwischen diesen gewechselt werden.
- Angle position:** Position des Winkelsektorfeldes. Siehe *Definitionen Abbildung 17*
- Interior angle:** Innenwinkel des Begrenzungsbereichs.
- Counts inside:** Anzahl der Endpunkte, die innerhalb des Winkelsektorfeldes liegen.
- Counts outside:** Anzahl der Endpunkte, die außerhalb des Winkelsektorfeldes liegen.

Es werden jeweils die Endpunkte der Trajektorien zur Berechnung verwendet.

- Anti clockwise rotation:** Drehen des Winkelsektorfeldes gegen den Uhrzeigersinn.

- Clockwise rotation:** Drehen des Winkelsektorfeldes im Uhrzeigersinn.
- Open angle:** Vergrößern des Innenwinkels des Winkelsektorfeldes.
- Close angle:** Verkleinern des Innenwinkels des Winkelsektorfeldes.

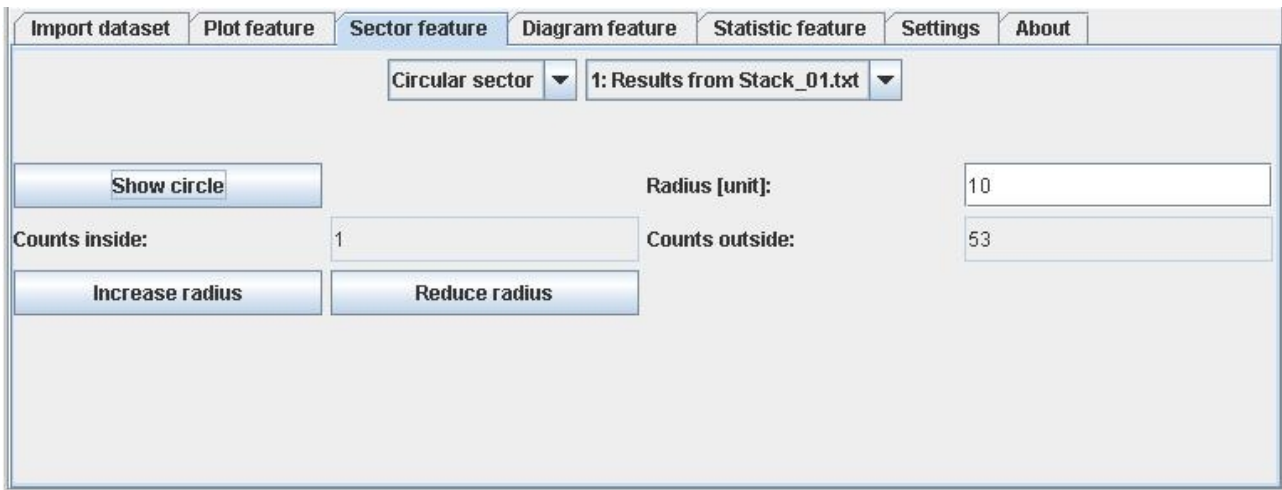


Abbildung 10: Circular sector

Circular sector

- Show circle:** Zeichnet den Begrenzungsbereich in Kreisform in den Plot. Siehe *Abbildung 20*.
- Radius:** Radius des Kreises.
- Counts inside:** Anzahl der Endpunkte, die innerhalb des Begrenzungsbereichs liegen.
- Counts outside:** Anzahl der Endpunkte, die außerhalb des Begrenzungsbereichs liegen.

Es werden jeweils die Endpunkte der Trajektorien zur Berechnung verwendet.

- Increase radius:** Vergrößert den Radius des Kreises.
- Reduce radius:** Verkleinert den Radius des Kreises.

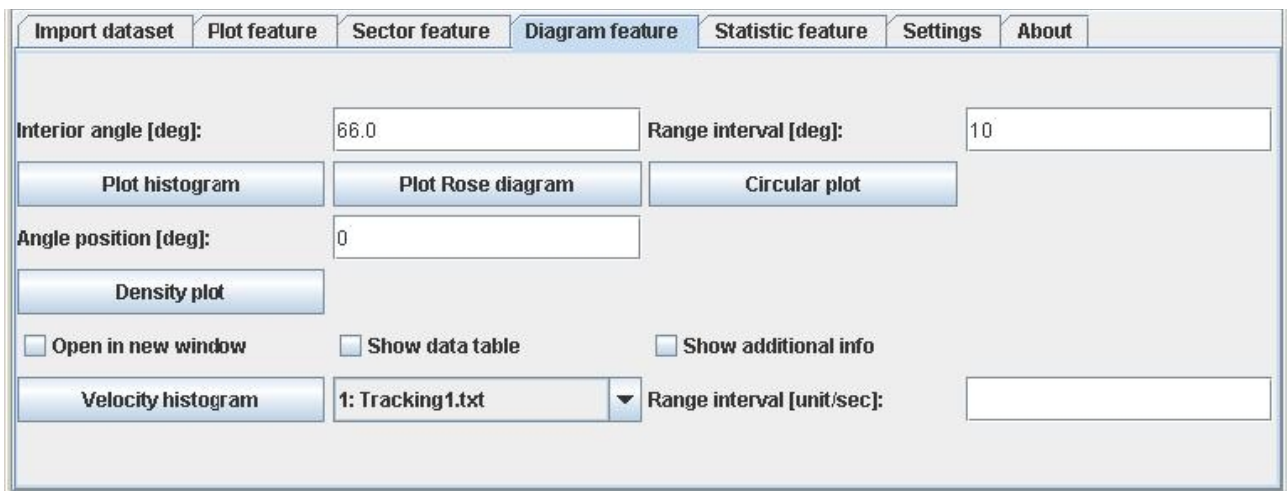


Abbildung 11: Diagram feature

Diagram feature

- Interior angle:** Dieses Feld bezieht sich auf die folgenden Plots und gibt den verwendeten Innenwinkel des Winkelsektorfeldes an. Siehe *Abbildung 17*.
- Range interval:** Größe des Intervalls für *Rose Diagram* und *Histogram*. Erfordert einen integer Wert. 360 muss durch *Range interval* ganzzahlig teilbar sein
- Plot histogram:** Histogramm Darstellung. Siehe *Abbildung 23*
- Circular plot [1]:** Circular plot Darstellung. Siehe *Abbildung 21*
- Plot Rose Diagram [1]:** Rose Diagram Darstellung. Siehe *Abbildung 22*
- Angle position:** Position des Winkelsektorfeldes für den *Density Plot*.
- Density plot:** Häufigkeits- Dichteverteilung. Unter *Angle position* wird die Position des Sektorfelds eingegeben. Der Plot zeigt eine Verteilung von *Counts im Sektor / Counts gesamt* über den Verlauf des Innenwinkels des Winkelsektorfeldes. Siehe *Abbildung 24*
- Open in new window:** Falls aktiviert, werden neue Fenster geöffnet. Ansonsten werden die alten Fenster überzeichnet.
- Show data table:** Zeigt die Daten zu den Diagrammen in einem Fenster.

- Show additional info:** Zeigt, falls vorhanden, zusätzliche Informationen im Plot an. Für *Density Plot* existieren keine zusätzlichen Informationen.
- Velocity histogram:** Histogramm Darstellung für Objektgeschwindigkeiten.
- Range interval:** Größe des Intervalls für das *Velocity histogram*. *Show Info* zeigt die maximale und minimale Geschwindigkeit an. Aus diesen Werten kann die Spannweite berechnet werden (*Max Velocity – Min Velocity*). Diese Spannweite muss durch den eingegebenen Wert ganzzahlig teilbar sein.

Statistic feature

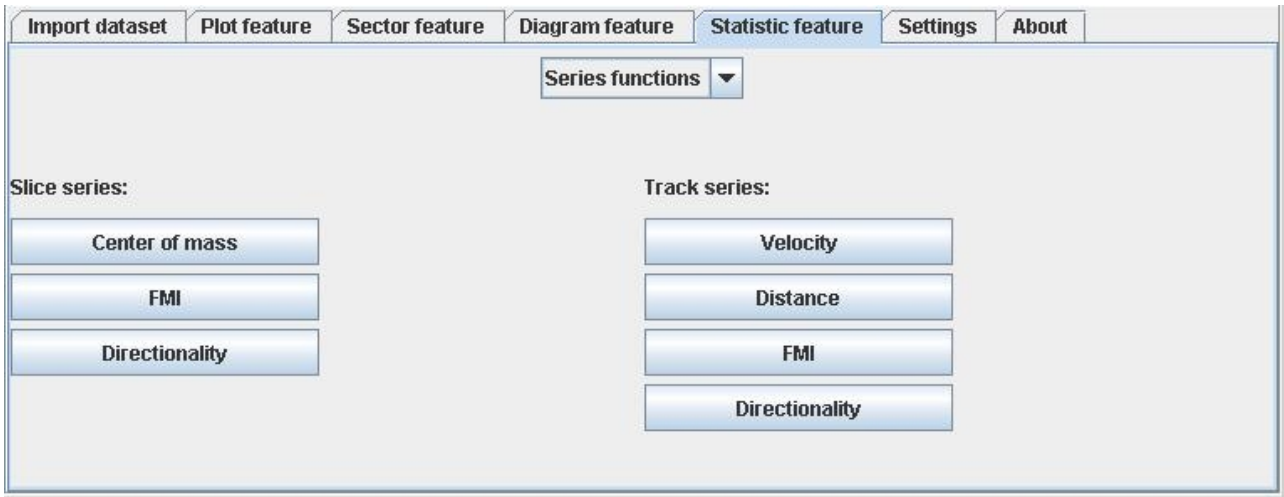


Abbildung 12: Statistic feature

Series functions

(Siehe Definitionen)

Slice series:

Verlauf der Werte über alle aktuell verwendeten Slices.

Center of mass:

Verlauf des Massenschwerpunkts über den gesamten Datensatz.

FMI:

Verlauf des *Forward Migration Index* über den gesamten Datensatz.

Directionality:

Verlauf der *Directionality* über den gesamten Datensatz.

Track series:

Angabe der Werte für jeden einzelnen Track.

Velocity:

Geschwindigkeitsangabe für jeden Track.

Distance:

Angabe des zurückgelegten Weges für jeden Track.

FMI:

Forward Migration Index für jeden einzelnen Track.

Directionality:

Directionality für jeden einzelnen Track.

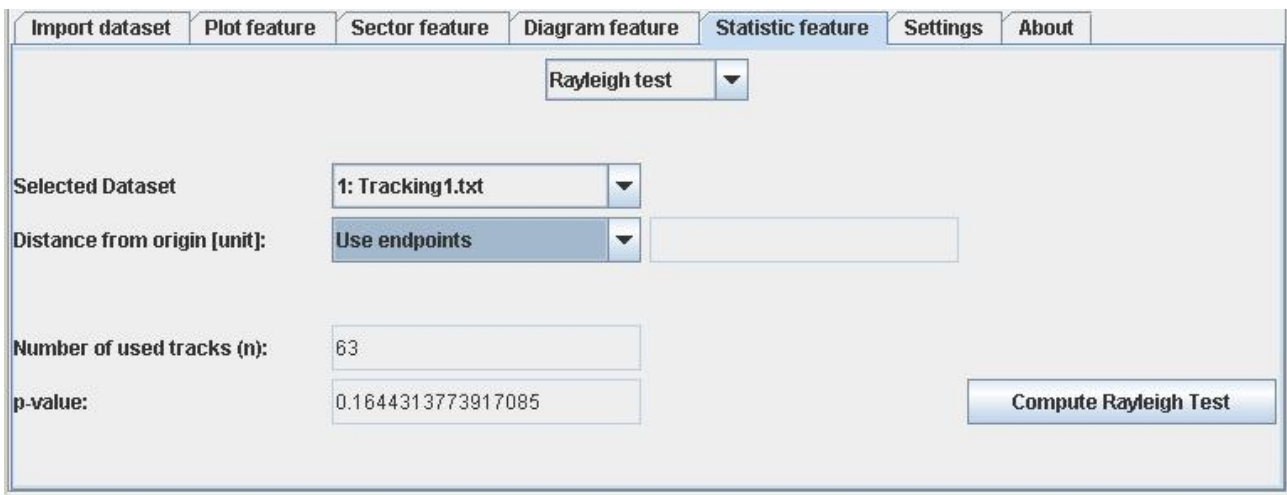


Abbildung 13: Rayleigh Test

Rayleigh Test

Selected Dataset: Auswahl des Datensatzes.

Distance from origin: Use endpoints:
Zur Berechnung werden die Endpunkte verwendet.

Endpoints with distance greater than:
Es werden nur Endpunkte verwendet, die einen größeren euklidischen Abstand vom Ursprung haben.
Erfordert die Eingabe eines Threshold Wertes.

First point with distance greater than:
Es wird der erste Punkt entlang der Trajektorie verwendet, der einen größeren euklidischen Abstand vom Ursprung besitzt.
Erfordert die Eingabe eines Threshold Wertes.
Siehe *Horizon Method* [4]

Number of used tracks: Anzahl der verwendeten Tracks.

p-value: Berechneter p-Wert.

Informationen über den verwendeten Rayleigh Test und die statistische Aussage des p-Werts. Siehe [3]

Rayleigh Test für Vektordaten

Modifikation des Rayleigh Tests für Vektor Daten. Siehe [5]

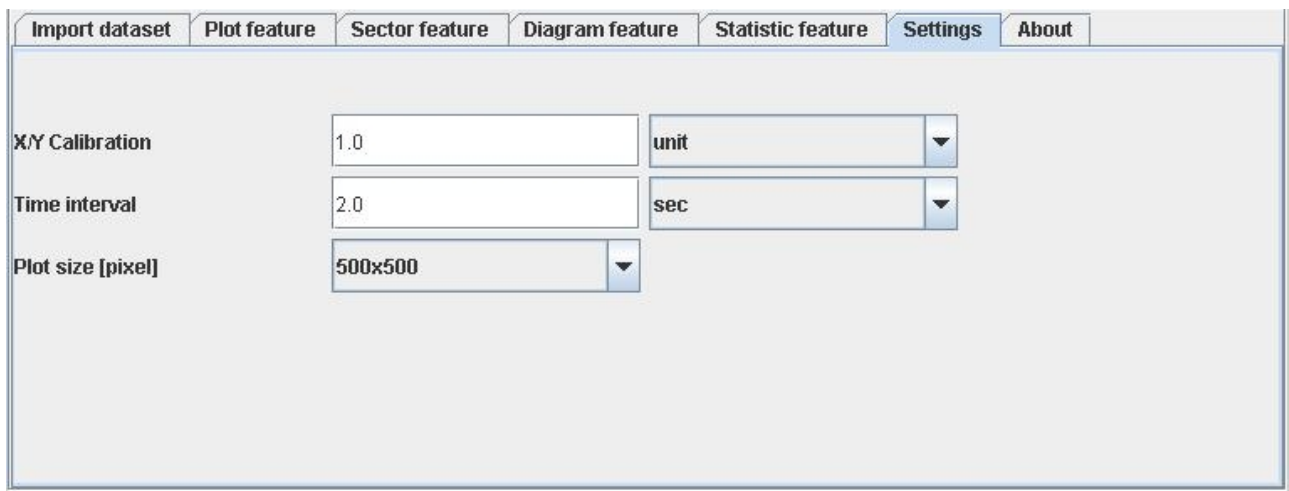


Abbildung 14: Settings

Settings

- X/Y Calibration:** Umrechnungsvariable von Pixel in Längenmaß. Abhängig von Mikroskopie- und Kameraparametern. Entspricht der Kantenlänge eines Pixels.
- Time interval:** Einstellung der Zeit zwischen den einzelnen Aufnahmen. Dieser Wert wird zur Berechnung der Geschwindigkeiten verwendet.
- Plot size:** Einstellung der Größe der Plots.

Definitionen

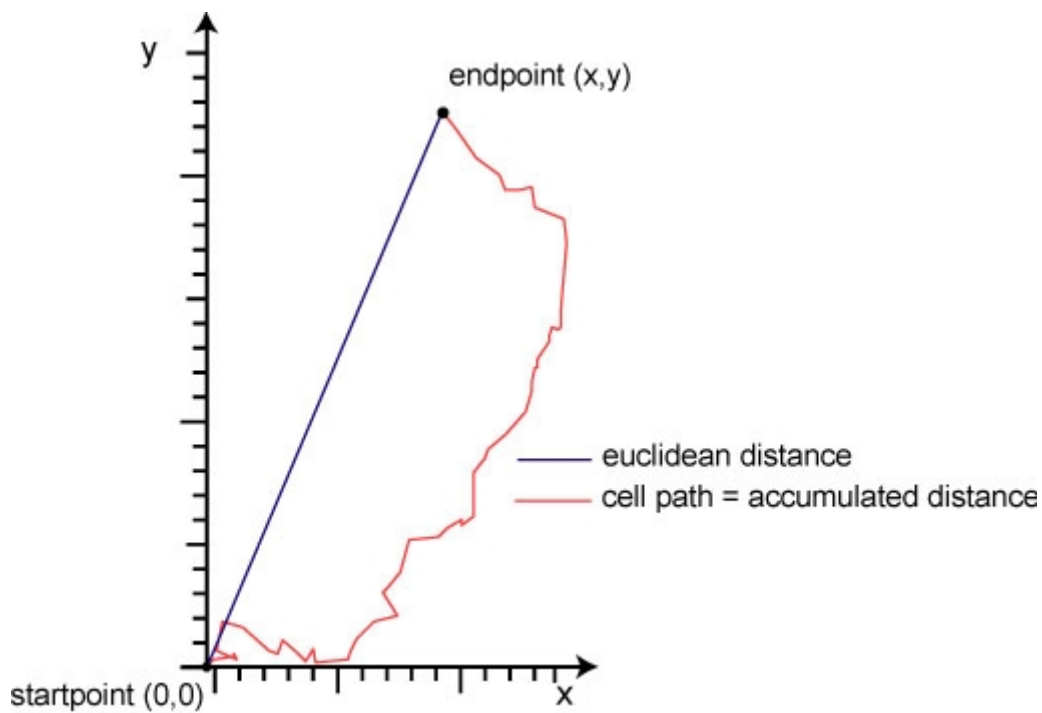


Abbildung 15: Accumulated and euclidean distance

Directionality:

Maß für die Geradlinigkeit der Bewegung.

$$Directionality = \frac{euclidean\ distance}{accumulated\ distance}$$

$Directionality \rightarrow 1$: stark geradlinige Bewegung

$Directionality \rightarrow 0$: nicht geradlinige Bewegung

Center of mass:

Schwerpunkt aller Endpunkte.

$$x = \frac{1}{n} \sum Endpoint\ x\ value$$

$$y = \frac{1}{n} \sum Endpoint\ y\ value$$

$$Length = \sqrt{x^2 + y^2}$$

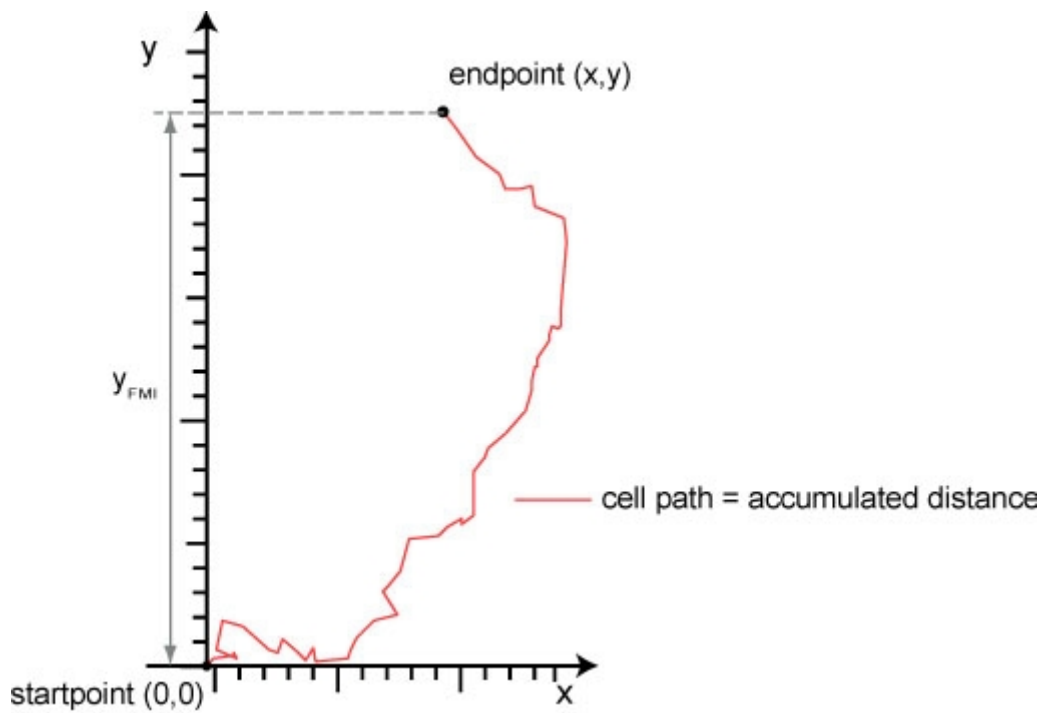


Abbildung 16: y FMI

FMI (Forward Migration Index): [2]

$$x \text{ FMI} = \frac{x_{FMI}}{\text{accumulated distance}} \quad y \text{ FMI} = \frac{y_{FMI}}{\text{accumulated distance}}$$

Position Winkelsektorfeld

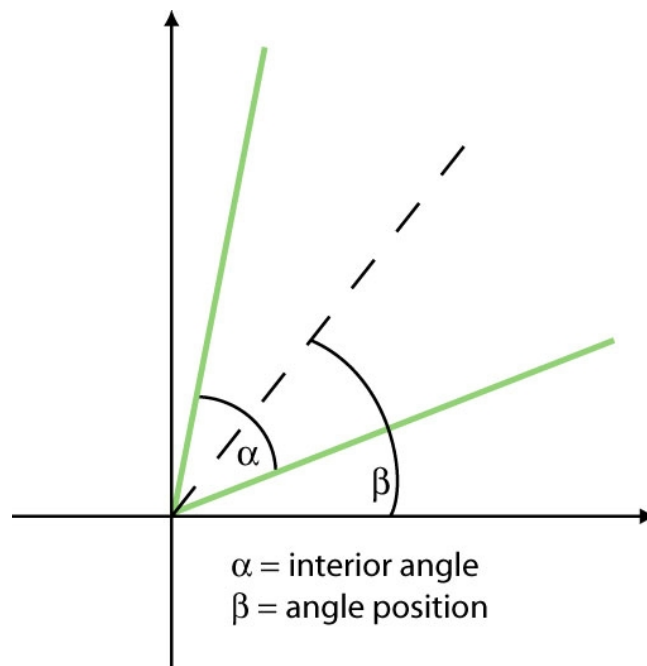


Abbildung 17: Position Winkelsektorfeld

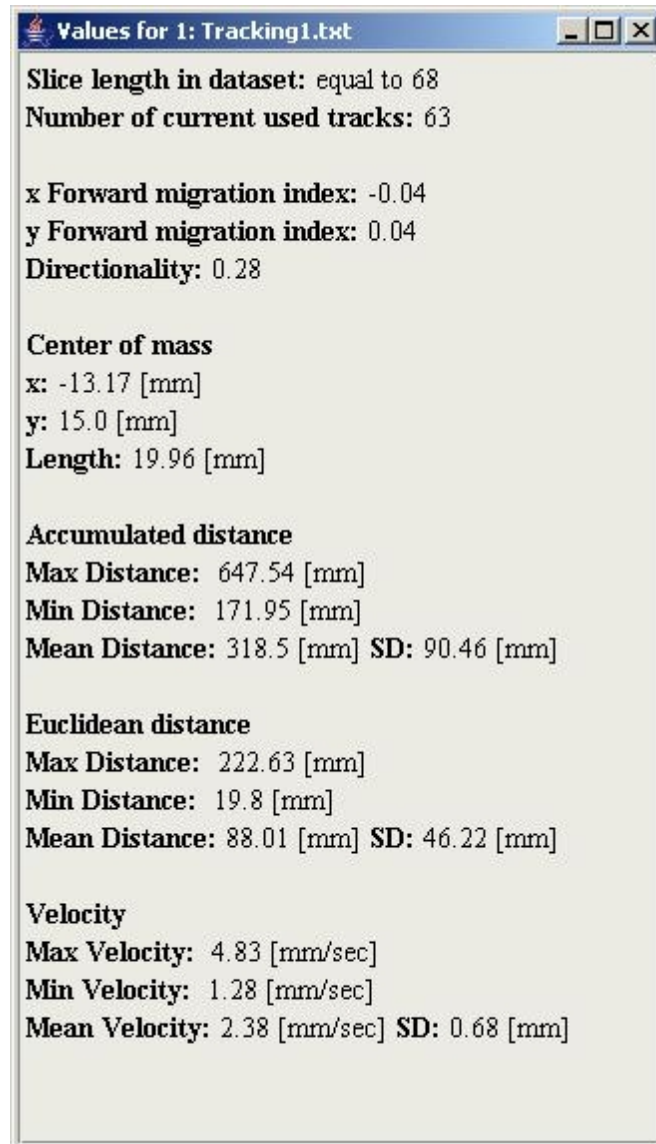


Abbildung 18: Show info

x/y Forward migration indices [2]: gemittelte Indizes über alle Tracks.

$$x \text{ Forward migration index} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x \text{ FMI}_i$$

$$y \text{ Forward migration index} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y \text{ FMI}_i$$

Directionality: gemittelter Index über alle Tracks.

$$\text{Directionality} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \text{Directionality}_i$$

SD: Standardabweichung.

Installation

1. chemotaxis_tool.jar Datei ins plugins Verzeichnis von ImageJ kopieren.
2. ImageJ neu starten.
3. Chemotaxis Tool kann nun über das plugins Menü von ImageJ gestartet werden.

Die aktuelle ImageJ Version kann unter <http://rsb.info.nih.gov/ij/> heruntergeladen werden.

Falls sich die Chemotaxis Anwendung nicht starten lässt, kann dies unter Umständen an der falschen ImageJ Version liegen. Als problemlos empfiehlt sich die erhältliche bundled Version mit Java.

Fragen und Anregungen bitte an <mailto:gtrapp@ibidi.de>

Referenzen

- [1] Mardia Kanti V., Jupp Peter E., 1999, Directional Statistics, Wiley Series
- [2] Foxman Ellen F., Kunkel Eric J., Butcher Eugene C., 1999, Integrating Conflicting Chemotactic Signals: The Role of Memory in Leukocyte Navigation, The Journal of Cell Biology, Volume 147, 577-587
- [3] N.I. Fisher, 1993, Statistical analysis of circular data
- [4] Zicha D., Dunn G., Jones G., 1997, Analyzing Chemotaxis Using the Dunn Direct-Viewing Chamber, Methods in Molecular Biology, Volume 75, 449-457
- [5] Moore BR., 1980, A modification of the Rayleigh test for vector data, Biometrika, Volume 67, 175-180

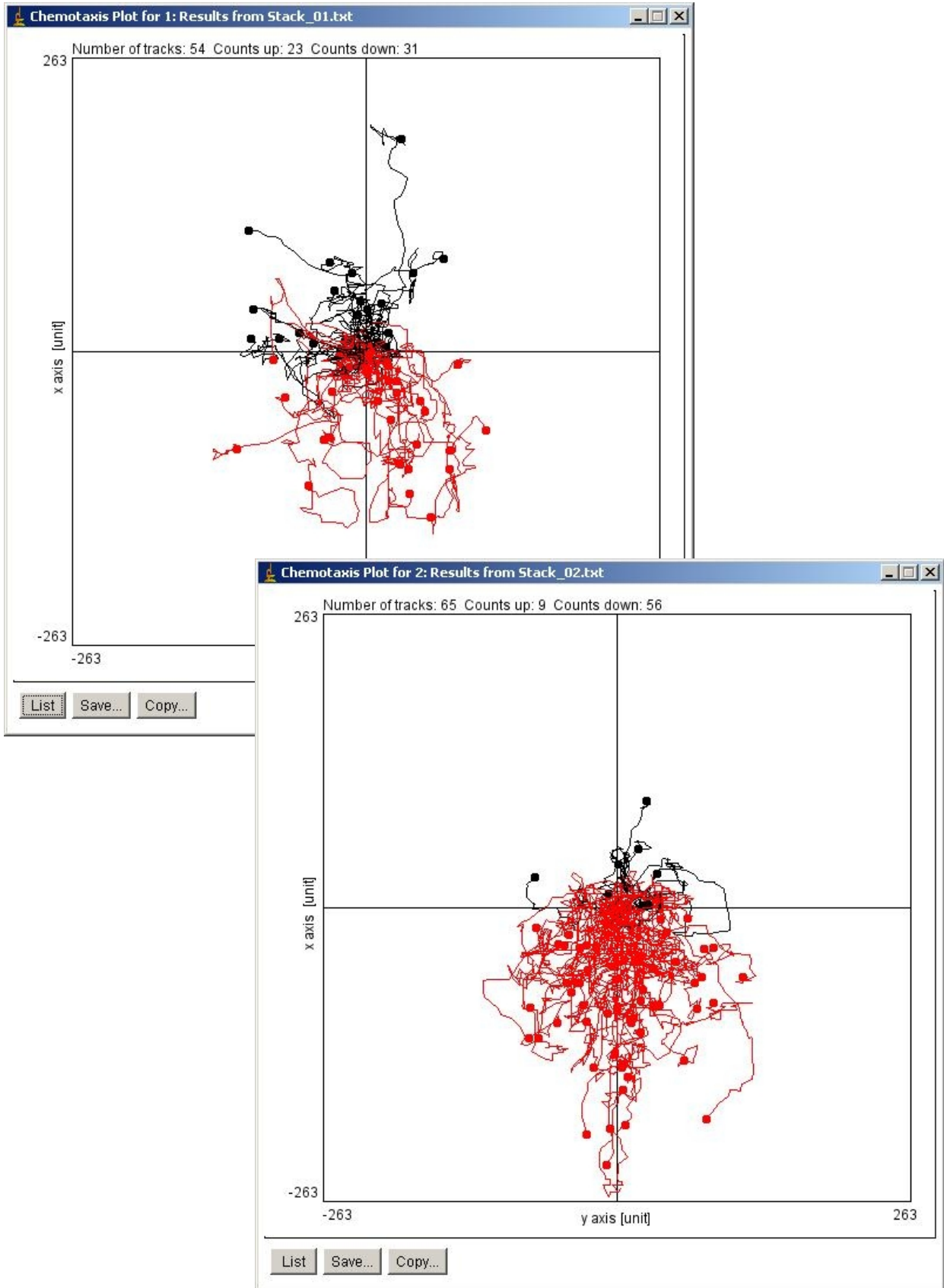


Abbildung 19: Vergleich zwischen 2 Datensätzen

Anhang Diagramme und Plots

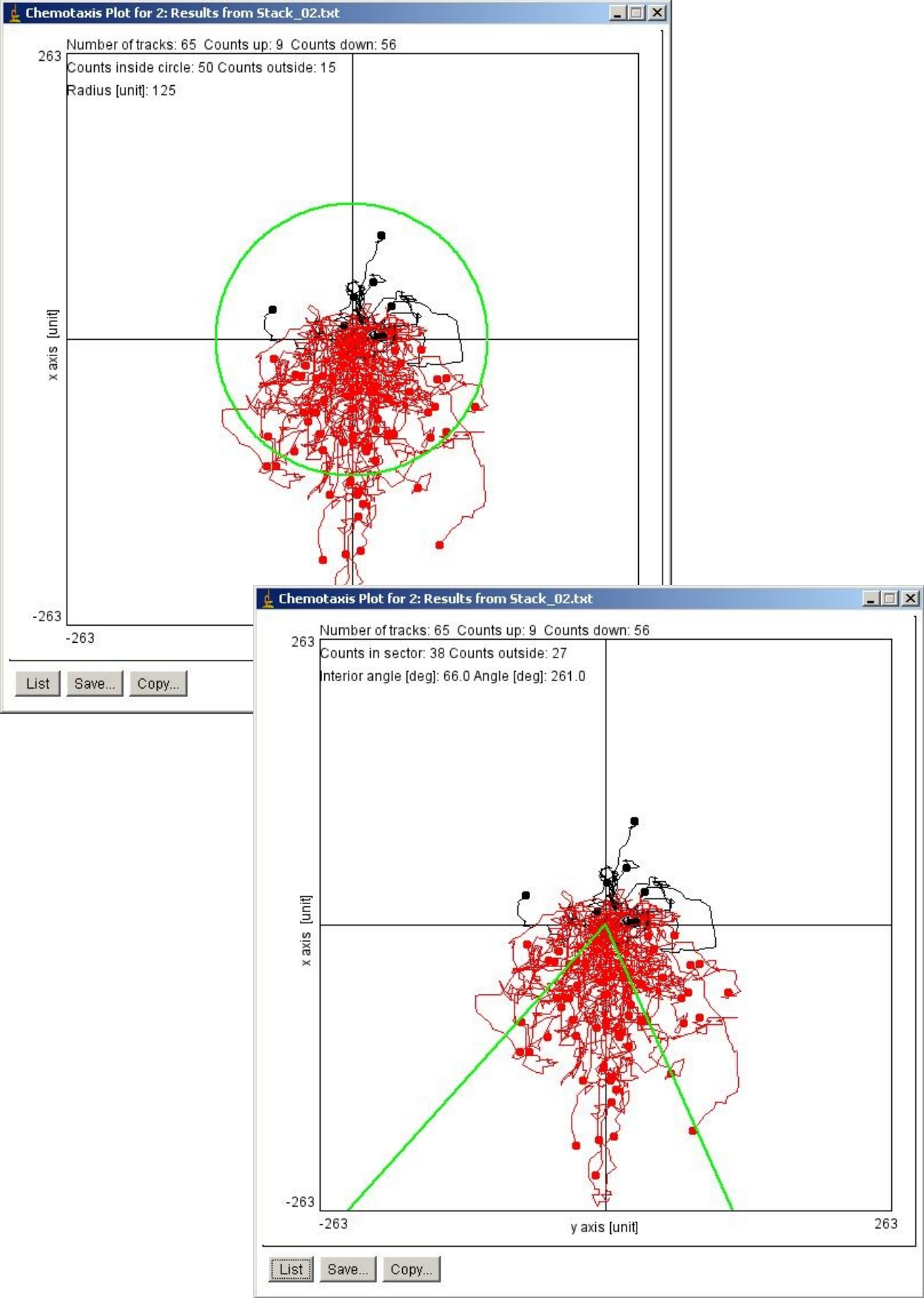


Abbildung 20: Sector feature

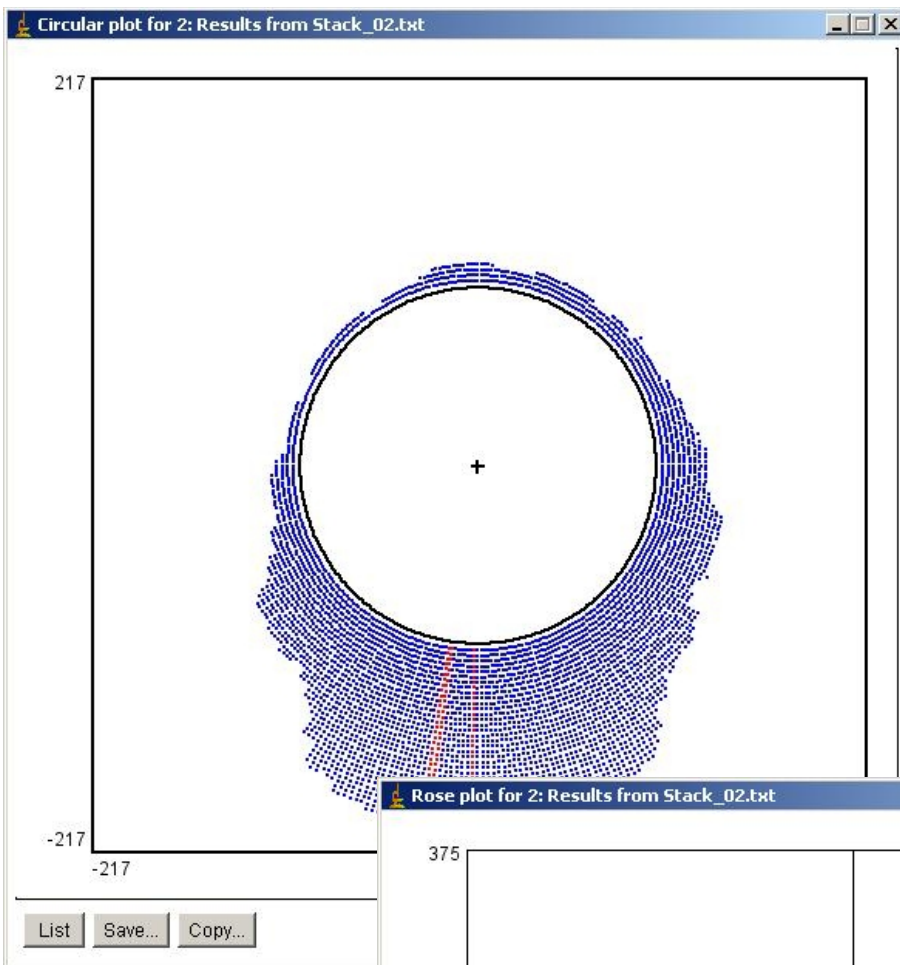


Abbildung 21: Circular plot

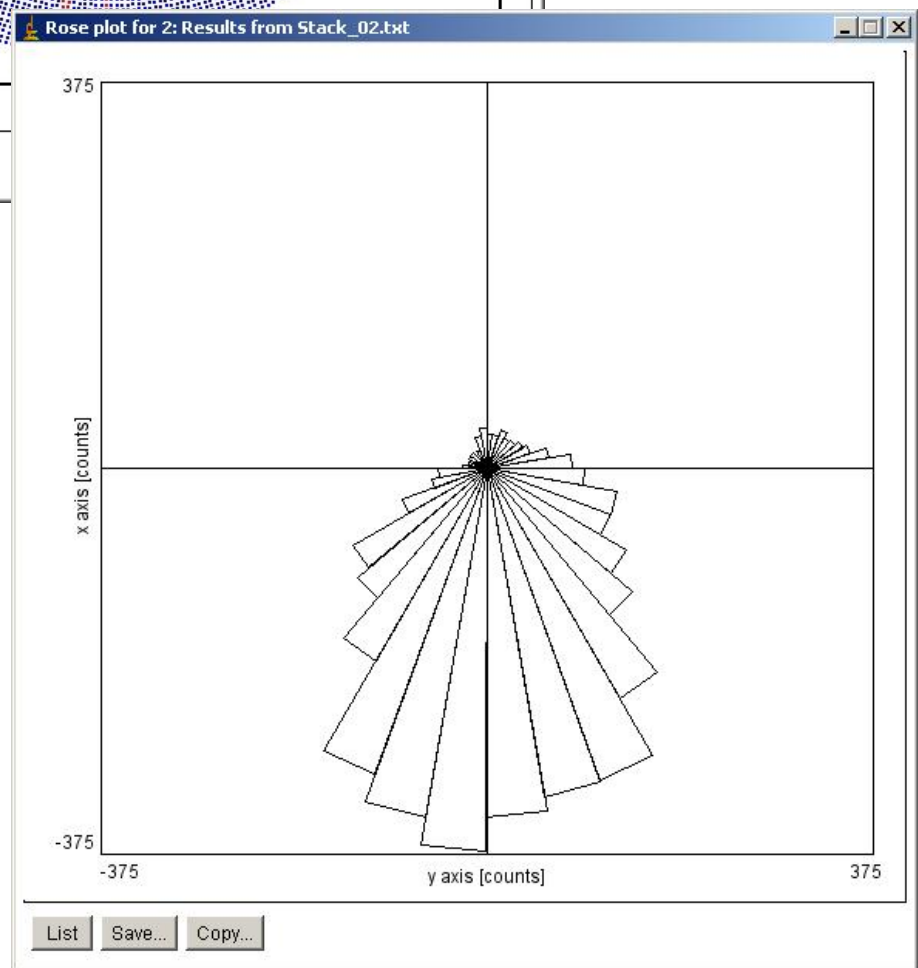


Abbildung 22: Rose plot

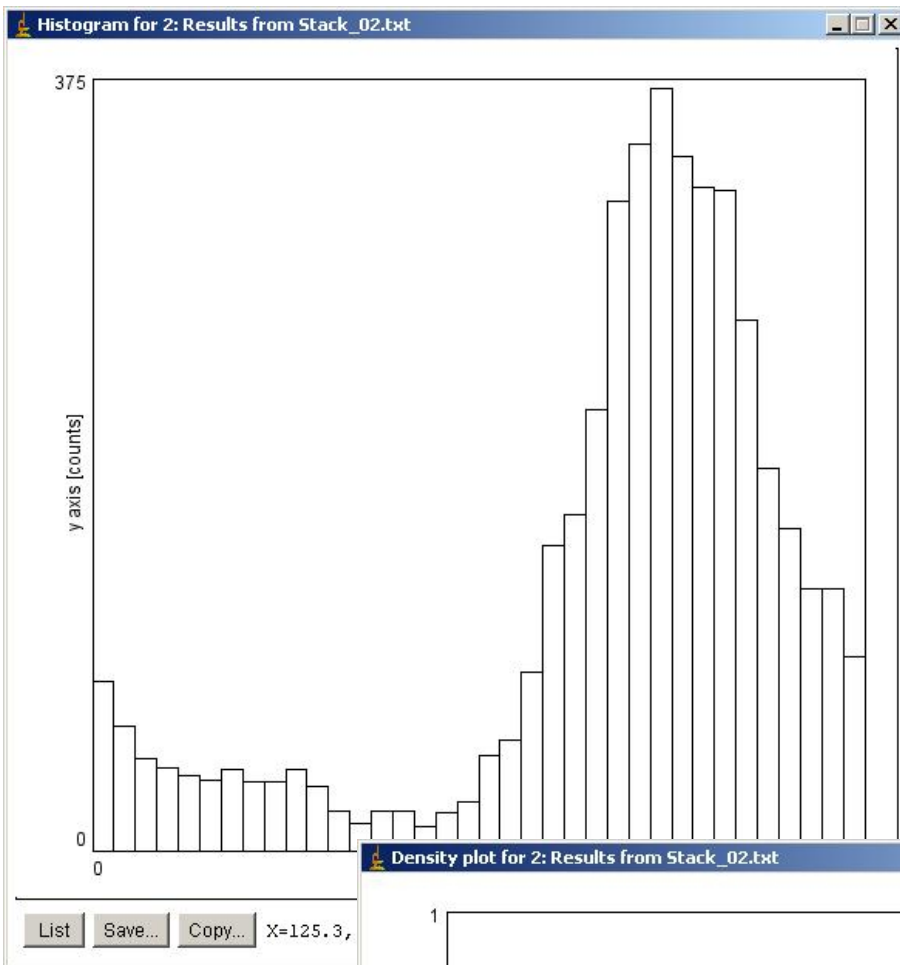


Abbildung 23: Histogram

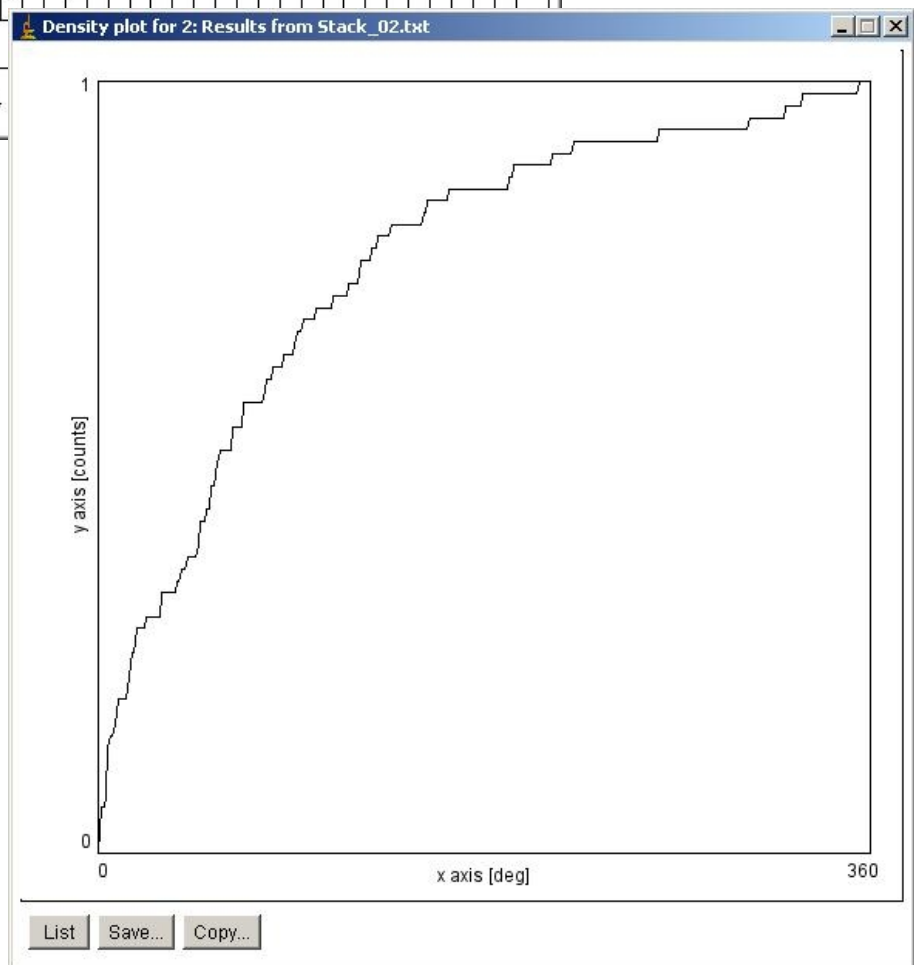


Abbildung 24: Density plot