



HUMAN HEALTH | ENVIRONMENTAL HEALTH

IVIS Spectrum imaging system 3D非侵入式活體分子影像系統 中文簡易操作說明

J & H

博克科技有限公司

連絡電話:0800-898-178

XGI-8 氣麻使用

- ① 測量並記錄活性碳罐(圖a)的重量，一旦增加50g就表示該更換。
- ② 確認isoflurane足夠(圖b)，需維持液面在兩條白線之間。
- ③ 打開氧氣鋼瓶調整氣壓至4 kg/cm²
- ④ 打開氣麻機總開關(圖c)確認氣壓大於6LPM。
- ⑤ 打開氧氣供應開關(圖d)
- ⑥ 打開Chamber或IVIS Flow的開關，Chamber的量一開始可以調整至1.5 LPM，若一次需麻醉多隻老鼠可以調整至4 LPM。IVIS Flow調整至1.5 LPM。

a. 活性碳罐



- ⑦ 關機
 - a. 先關閉Isoflurane及氧氣鋼瓶
 - b. 打開Chamber及Chamber開關
 - c. 等到Chamber氣壓降到零後關閉所有開關

b.



c.

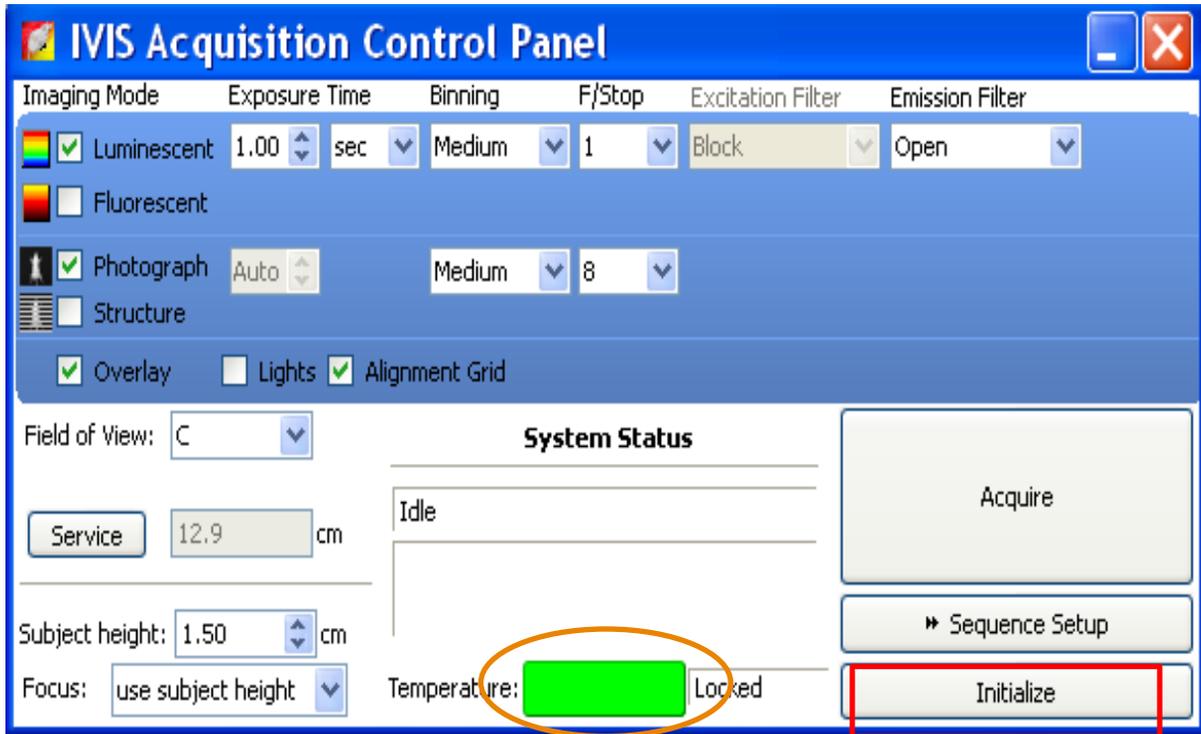


d.



系統開機

- ① 開啟電腦
- ② 開啟儀器電源
- ③ 在電腦桌面，點兩下開啟Living image 軟體
- ④ 選擇個人ID，按OK進入。或是輸入三個英文字母當作新的ID。
- ⑤ 畫面出現control panel (如下圖)



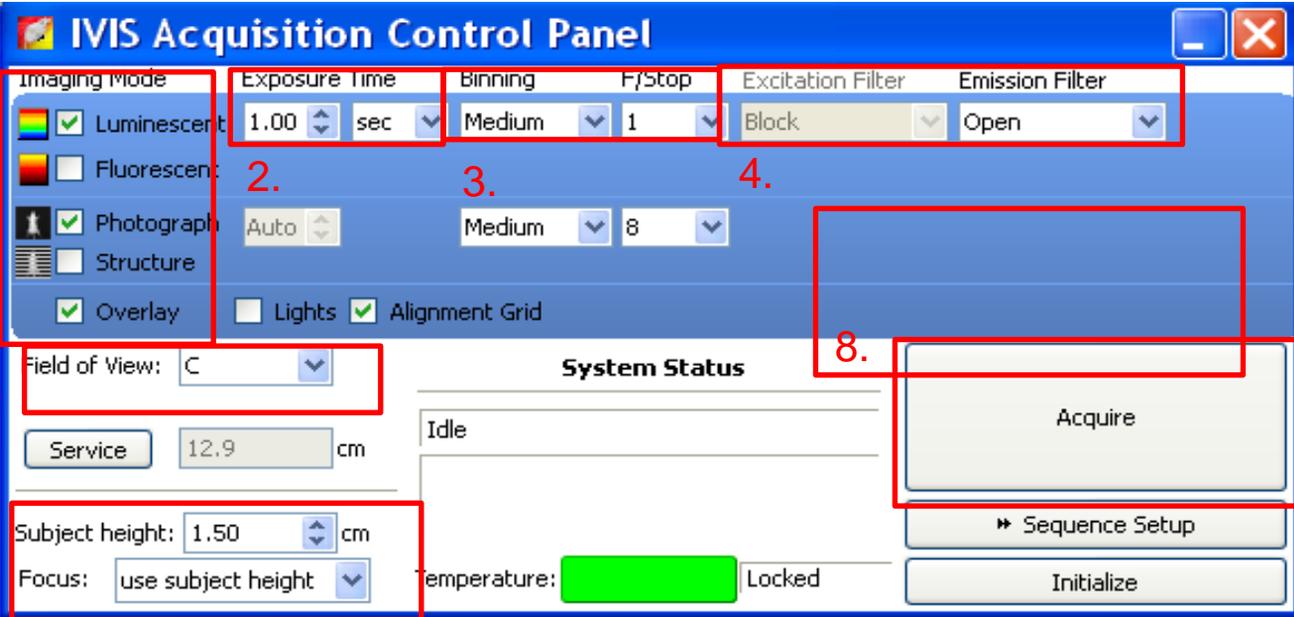
- ⑥ 按右下角的initialize 來啟動IVIS系統。
- ⑦ 待機器完成initialize後，等到control panel中的Temperature燈號由紅色變成綠色，就表示CCD已完成降溫，可以開始進行影像擷取。
(Temperature處可看到載台及camera實際溫度)

System Status		
	Demand	Measured
Camera Temp:	-90	-90°
Stage Temp:	37.0	37°
Temperature:		Locked

Living image 軟體操作-基本影像擷取

基本影像擷取

1. Initilize 並等溫度燈號成綠燈就可開始拍照
2. 在Control panel中設定各項參數:
 - ① 螢冷光模式選擇
軟體會自動勾選photograph及overlay
 - ② 設定曝光時間, 也可選擇auto expose
 - ③ 軟體自動選擇binning及F/Stop, 也可手動改變
 - ④ 冷光excitation 預設block, emission filter是預設open, 基本上冷光不需調整。
螢光需選擇激發及發散濾片
 - ⑤ 選擇Field of View(下頁有FOV圖示參考), 調整拍照視野大小
 - ⑥ subject height輸入小鼠高度一般小鼠subject height約1.5cm
 - ⑦ Focus: 系統會根據FOV及Subject height去對焦
 - ⑧ 按Acquire系統就會根據剛設定的參數條件拍照



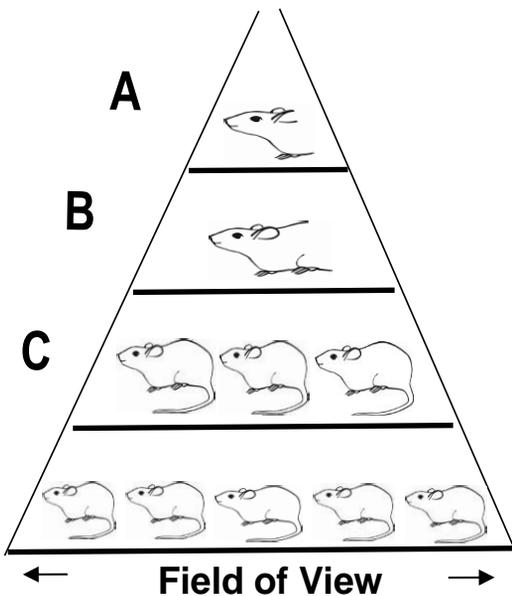
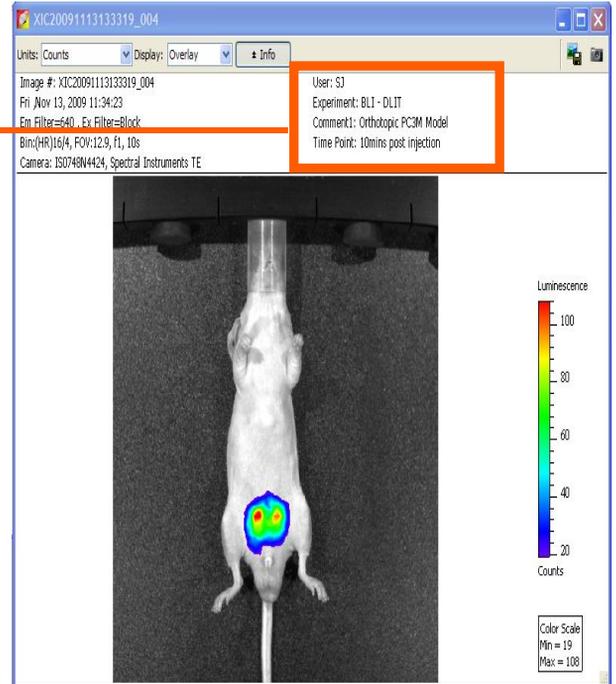
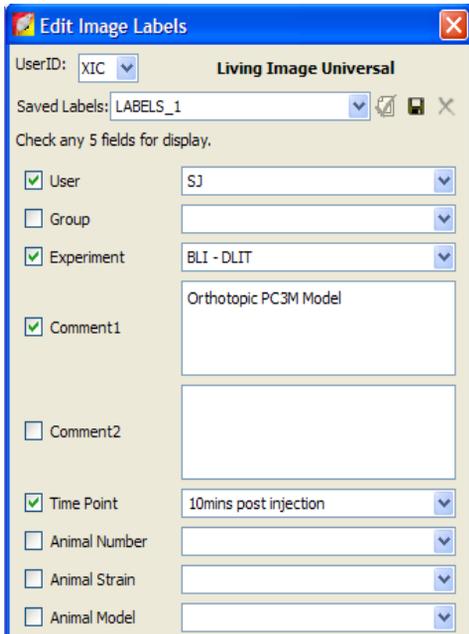
The screenshot shows the IVIS Acquisition Control Panel interface. The following table summarizes the settings highlighted by the numbered callouts:

Callout	Setting / Control
1.	Imaging Mode: Luminescent (checked), Photograph (checked), Overlay (checked)
2.	Exposure Time: 1.00 sec
3.	Binning: Medium
4.	F/Stop: 1
	Excitation Filter: Block
	Emission Filter: Open
5.	Field of View: C
6.	Subject height: 1.50 cm
7.	Focus: use subject height
8.	Acquire button

Additional visible settings include: Service (12.9 cm), System Status (Idle), and Temperature (Locked).

Living image軟體操作

- ⑨ 在Edit Image Labels 輸入影像資訊，拍完照會出現在影像上方(也可之後再輸入這些資訊)



FOV視野大小參考

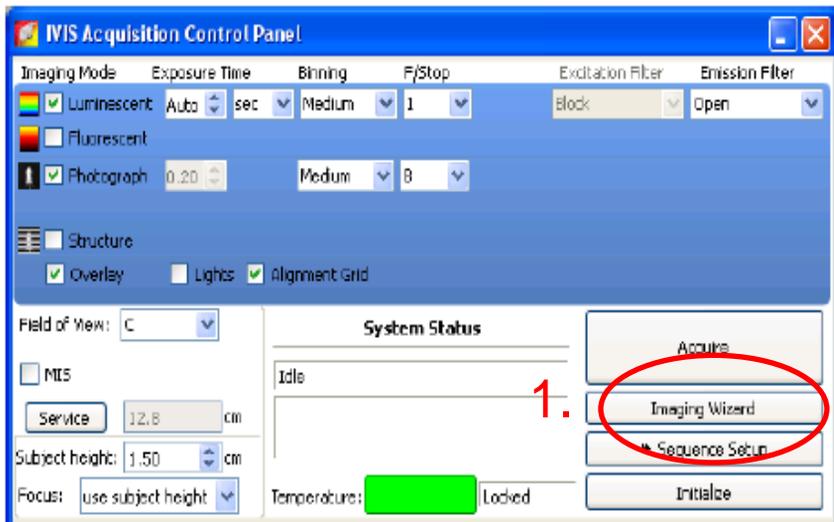
Living image 軟體操作-imaging wizard

Imaging wizard 的用途在於：

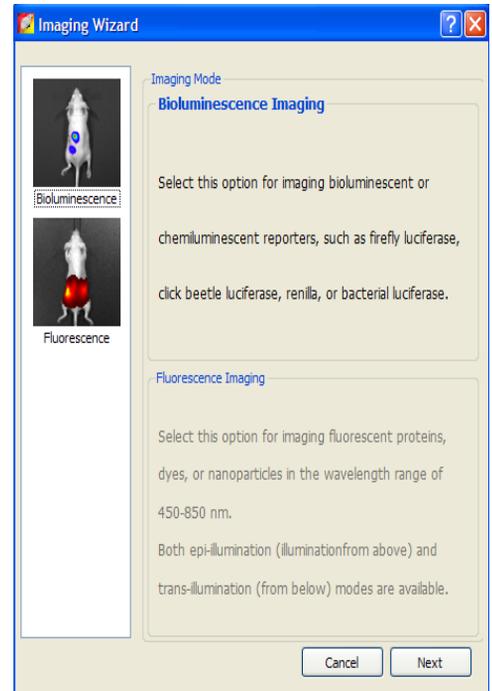
- 引導式拍照參數設定
- 進行 Spectrum unmixing 等進階拍照功能

步驟：

- ① 點選 control panel 的 imaging wizard
 - ② 選擇螢光或冷光拍照, 按 next
 - ③ 選擇拍照模式, 選擇後按 next
- 冷光有三種模式:
 - Open Filter
 - Spectral Unmixing
 - DLIT
 - 螢光有三種模式:
 - Filter Pair
 - Spectral Unmixing/Filter Scan
 - FLIT
 - 在螢光模式下, 按 next 會需要選擇正確的螢光波長, 利用已知的 database 或使用 Filter Config 自行選擇



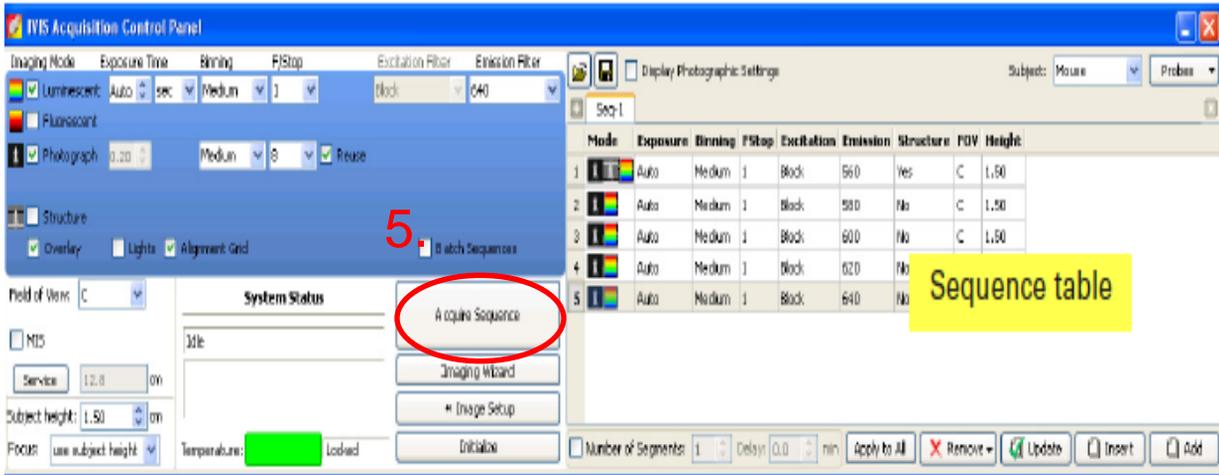
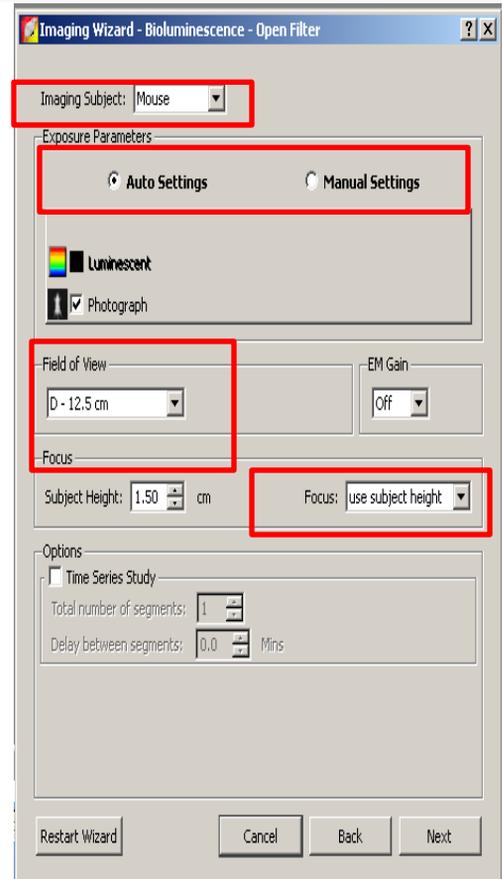
2.



Living image 軟體操作-imaging wizard

- ④ 依序選擇以下參數後按next
- Imaging subject
 - 曝光參數
 - 視野(Field of View)
 - Focus
- ⑤ 設定完後，到control panel按下acquire sequence系統即開始拍攝。

4.

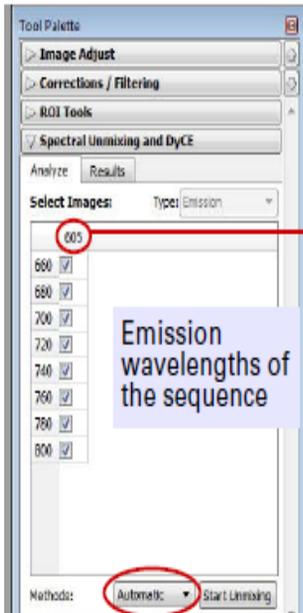


Living image 軟體操作-spectrum unmixing

建議利用 Living image 4.3 以上版本分析結果最佳

- ① 先利用 imaging wizard 拍攝 Spectral Unmixing 影像
- ② 拍攝後出現 sequence image，
- ③ 在 tool palette 選擇 spectral Unmixing
- ④ 選擇要做 unmixing 的 method，若不知 probe 位置可選 Automatic (圖一)，然後按下 Start Unmixing；若有 positive control 或知道位置，可選擇 manual
- ⑤ 若選擇 automatic，會出現 auto unmix 視窗，在 probe information 會自動出現要 unmix 的 probe，也可自行增加
- ⑥ 調整 threshold (圖二) 選出要 unmix 的部分 (紫色部分)
- ⑦ 選擇 subject 及 background signal
- ⑧ 按 finish，就會出現 unmixing 的結果視窗
- ⑨ 選擇要分析的圖點兩下，就會出現新視窗，可進行進一步分析

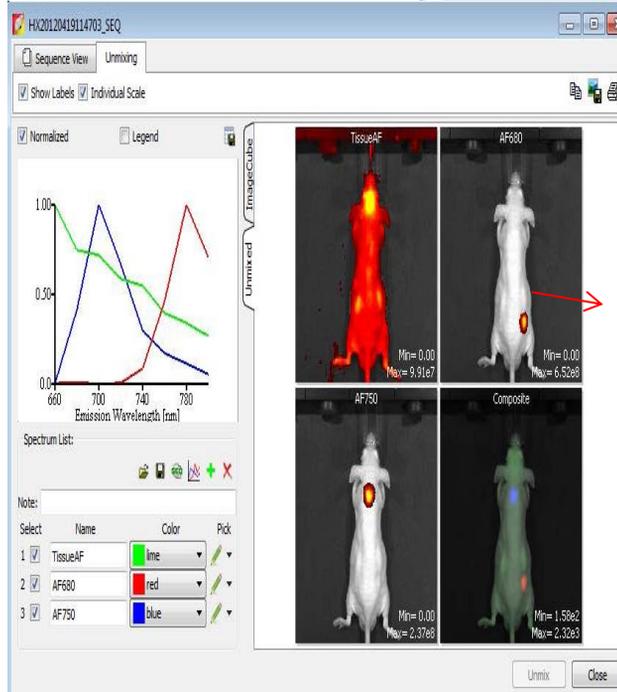
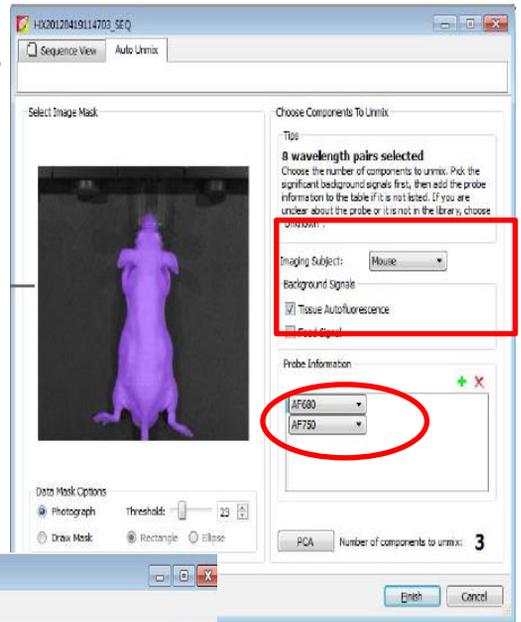
圖一



Excitation wavelength

Emission wavelengths of the sequence

圖二



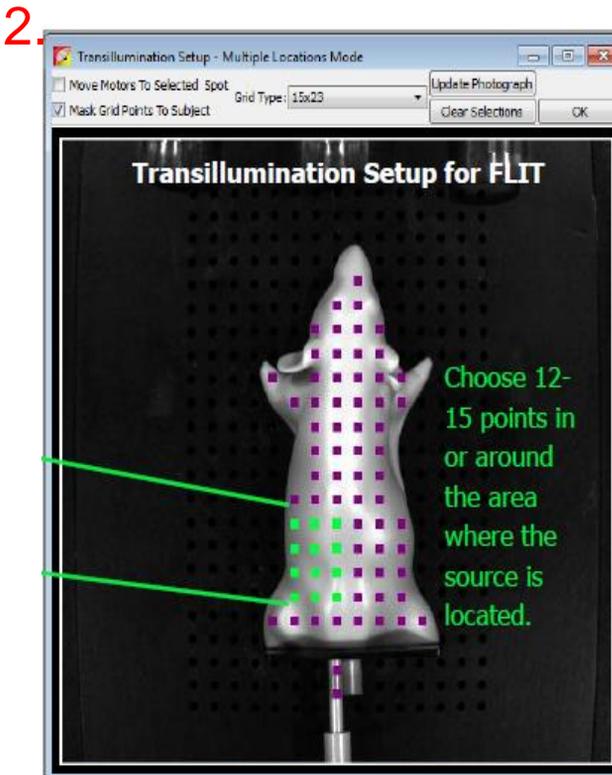
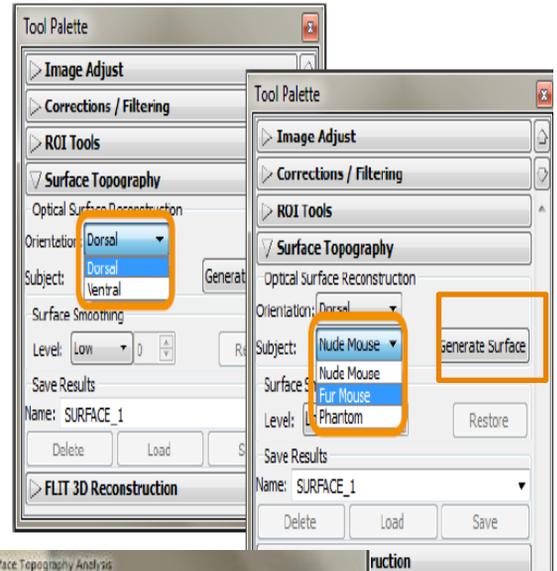
兩下放大此圖分析

Living image 軟體操作-FLIT(DLIT)

建議利用 Living image 4.3 以上版本分析結果最佳

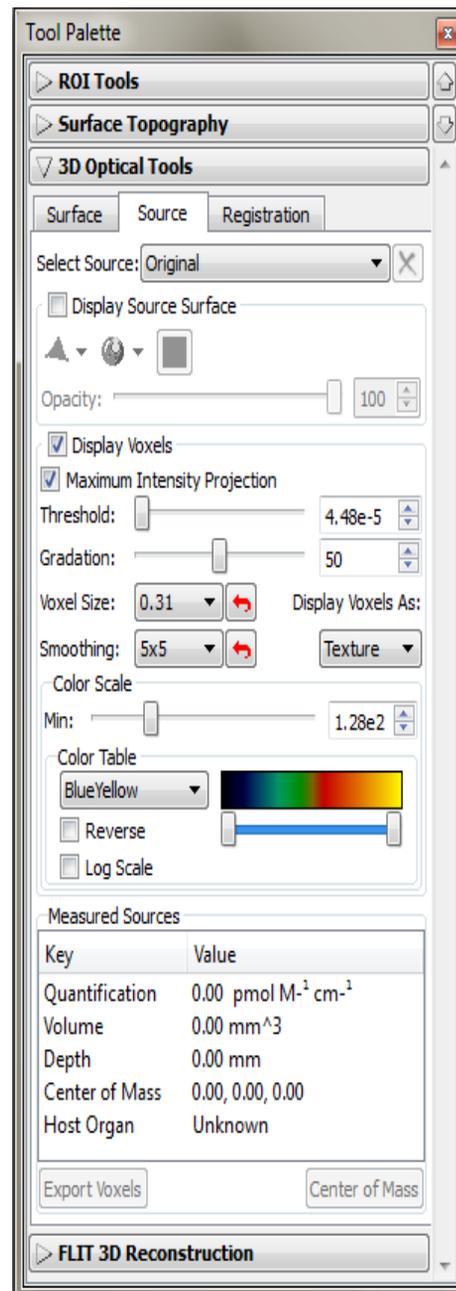
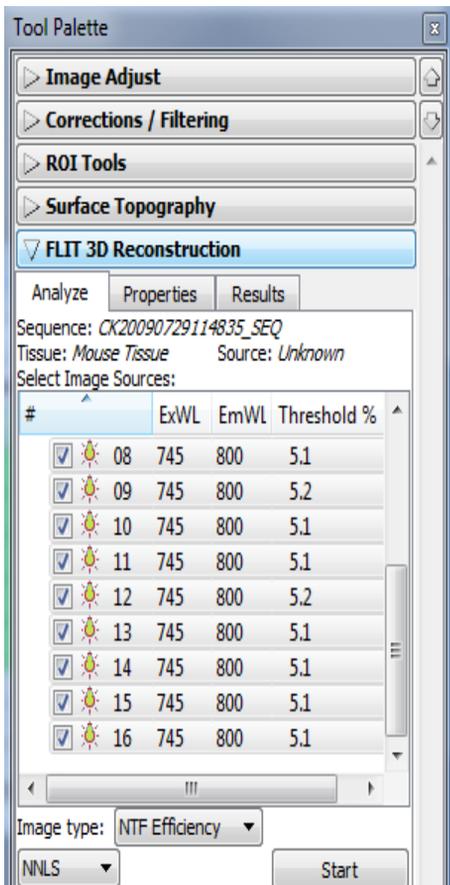
- ① 利用 imaging wizard 拍攝 FLIT(DLIT) 影像(怎麼用 imaging wizard 請參考 p.6)
- ② 若拍螢光，在 image wizard 最後一部，選擇 transillumination setup (冷光不用此步驟及下一步驟)
- ③ 在有興趣的地方選擇 12-15 個點，按 ok 進行拍攝
- ④ 看影像右側的 scale bar，signal 是否落在 600-60,000 counts.
- ⑤ 將 unit 改成 NTF Efficiency
- ⑥ 打開 Tool Palette 的 Surface Topography
- ⑦ 選擇 Orientation 跟 subject
- ⑧ 按 Generate Surface
- ⑨ 將老鼠區域圈出來按 Next
- ⑩ 用 thresholding tool 畫出老鼠部位
- ⑪ 按 finish

◆ 選擇 Orientation 跟 subject



Living image 軟體操作-FLIT(DLIT)

- ① 打開Tool Palette 的FLIT 3D Reconstruction
- ② 在Analyze tab下選擇要做3D reconstruction的transillumination images
- ③ Image Type 選擇NTF
- ④ 按Start
- ⑤ 出現Data Preview視窗，可調整image的threshold
- ⑥ 調整好按Reconstruct
- ⑦ 命名並按save儲存
- ⑧ Save後就會出現3D optical tool



影像存檔及讀取

•Autosave

當你拍了第一張影像後，系統會自動出現autosave的視窗，按確定後，這次拍照的所有image data就會自動存取。

若要更改儲存的目的地，可到上方工具列的Acquisition → Auto-Save去更改



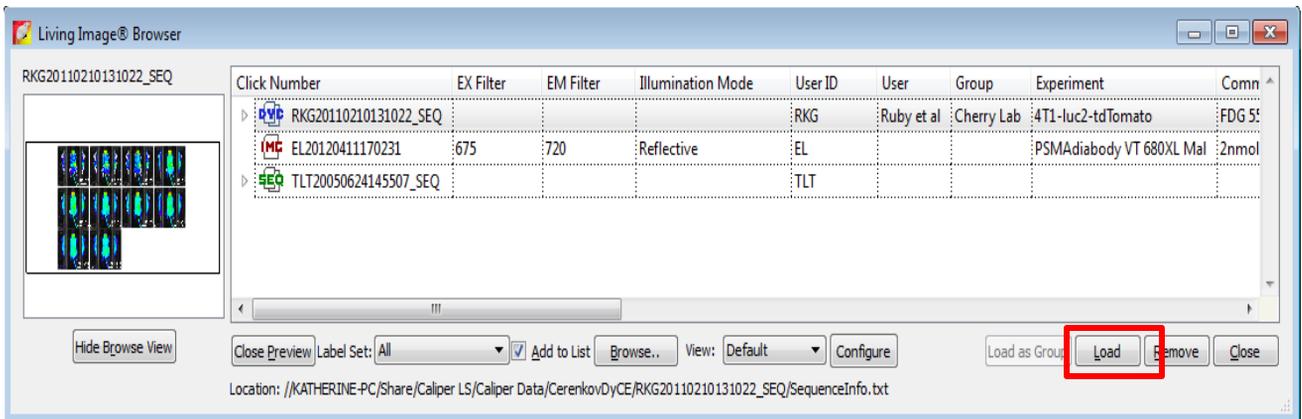
•Manual save

若想手動存檔

- 1.先去Acquisition 將Auto Save 旁的打勾去除
2. 每次擷取完影像後，到File → Save儲存
3. 選擇存檔目的地後按OK.

•讀取:

1. 到上方工具列選擇File → Browse，會出現下圖的browser
2. 點選下方Browse，選擇你要打開的檔案然後按OK.
3. 點兩下要打開的檔案，或是選擇檔案後再按右下角的load。



影像分析: 畫ROI及定量

- ① 在Image左上方選擇好unit, 冷光選擇Radiance, 螢光選擇radiance efficiency
- ② 在tool palette的ROI Tools選擇type: measurement ROI
- ② 選擇ROI形狀, 有Circle, square, contour, grid
(Contour為軟體沿著訊號邊緣去圈選, Grid格狀適用於微量多孔盤)
- ③ 選擇要幾個ROI並手動移到訊號處, 或者選擇auto讓軟體去依照訊號圈選
- ④ 可利用滑鼠游標去移動ROI位置及大小
- ⑤ 若選擇Contour button, 軟體就會自動延著訊號邊緣去圈選, 這時可利用下方 auto ROI parameters 調整threshold%來改變ROI範圍
- ⑥ 按Measure ROIs 會顯示ROI Measurements table
- ⑦ 可將table export成.csv或.txt檔, 或選擇有興趣的行列直接copy

選擇unit

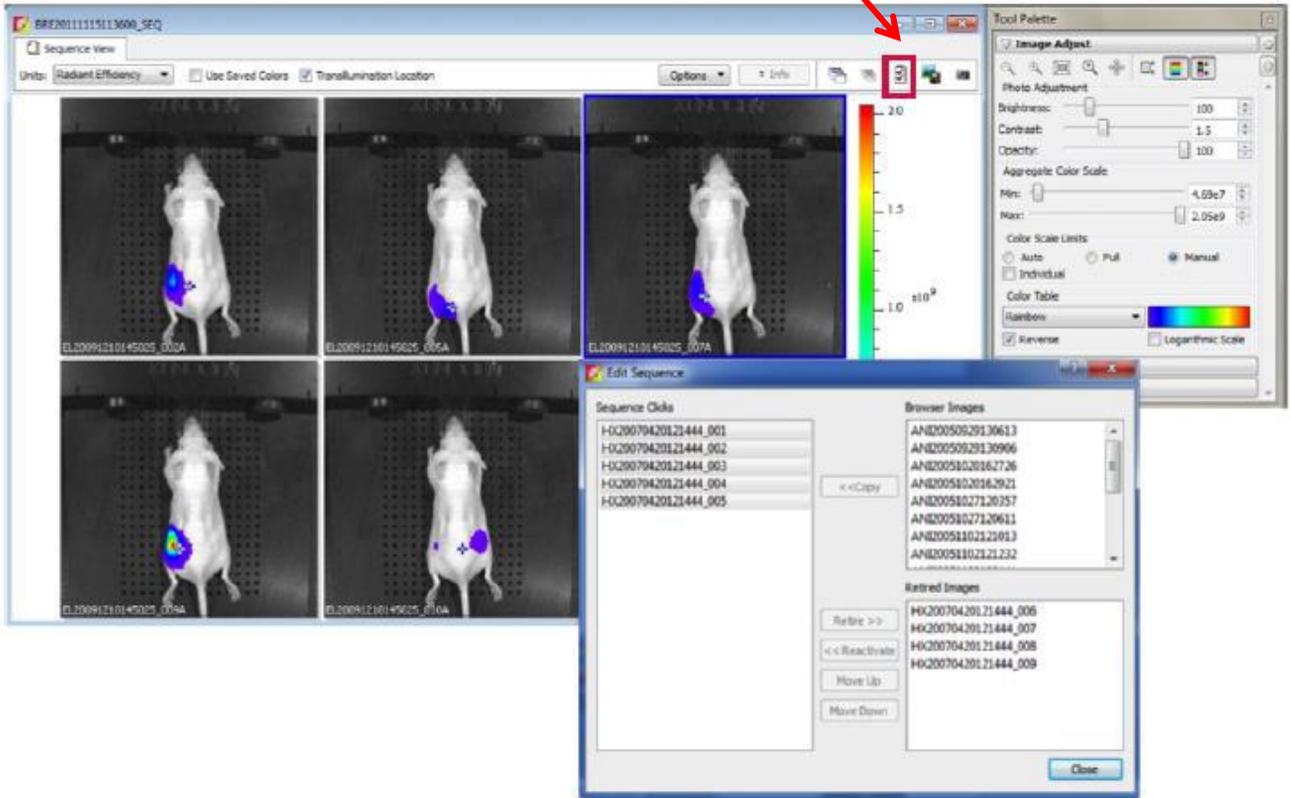
選擇ROI形狀

移除ROI

Export

Image Number	ROI	Image Layer	Total Count	Avg Count	Stdev Count	Min Count	Max Count
TLT20050624145507_001	ROI1	Overlay	6.536e+03	2.334e+02	4.395e+01	1.725e+02	3.301e+02
TLT20050624145507_002	ROI2	Overlay	2.653e+04	6.982e+02	1.402e+02	4.730e+02	9.393e+02
TLT20050624145507_003	ROI3	Overlay	8.290e+05	2.961e+04	5.807e+03	2.209e+04	4.290e+04
TLT20050624145507_003	ROI4	Overlay	2.687e+05	4.405e+03	9.302e+02	3.042e+03	6.048e+03
TLT20050624145507_004	ROI5	Overlay	1.621e+06	4.053e+04	8.599e+03	2.976e+04	5.899e+04
TLT20050624145507_004	ROI6	Overlay	7.273e+05	8.456e+03	1.784e+03	6.007e+03	1.159e+04

4. 若想新增或移除其中一張影像，按右上角edit sequence 符號，



4. 可以利用move up或move down去調整sequence clicks中影像的順序，用retired移除某張影像，或`是用copy從browser images中新增影像到sequence clicks

