

XENOVEN

Discovery in the Living Organism™

XENOVEN IVIS System

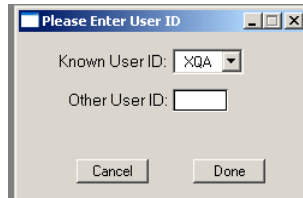
非侵入式活體分子影像系統
中文簡易操作手冊



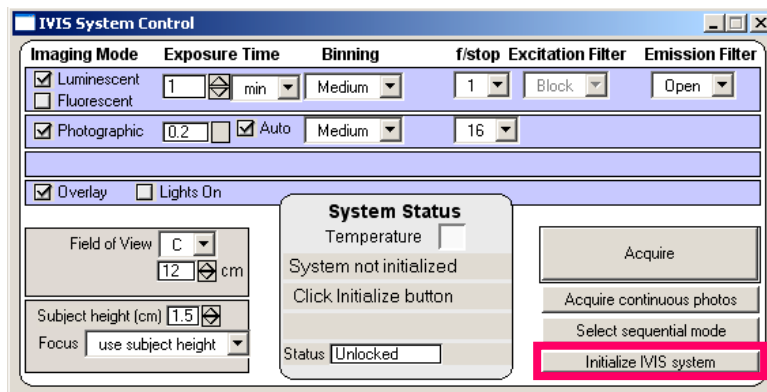
進階生物科技股份有限公司
LEVEL BIOTECHNOLOGY INC.

IVIS 200系統開機

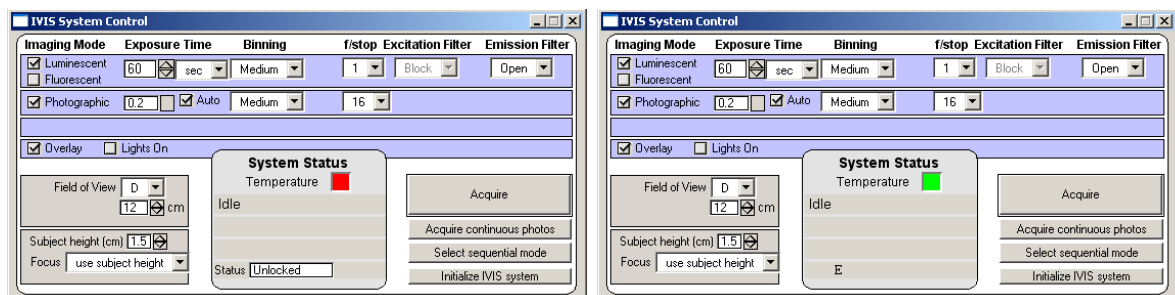
1. 啟動電腦
2. 開啟主機電源（為在imaging chamber後方）
3. 電腦開啟後，點選桌面上 Living Image圖示  Living ImageR，啟動程式。
4. 啟動程式後，系統會要求點選個人ID進入。若為新使用者，請鍵入三的英文字母作為ID名稱。



5. 畫面出現control panel（如圖）



6. 按下「initialize IVIS system」，啟動整套IVIS系統。若沒有進行initialize，系統無法進行任何影像擷取作業！
7. 待機器完成啟始動作後，因為IVIS 200採用電冷式CCD晶片，control panel中的溫度狀態燈號為紅色，等候約5-10分鐘後溫度降低，燈號轉綠就可進行影像擷取作業，此外按下溫度燈號也可以觀測目前CCD的溫度及設定載台溫度。

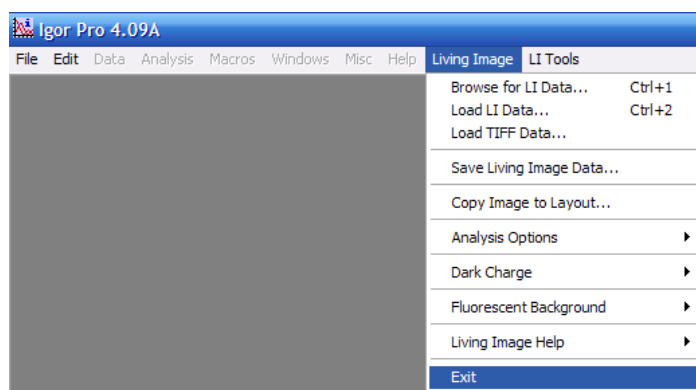


IVIS 200系統關機

一般不建議作關機動作，因為軟體會進行每天的背景值偵測作業，所以電腦及主機都不建議關閉。除非有長時間不會使用到機器，才建議作關機作業。

- 關機作業程序：

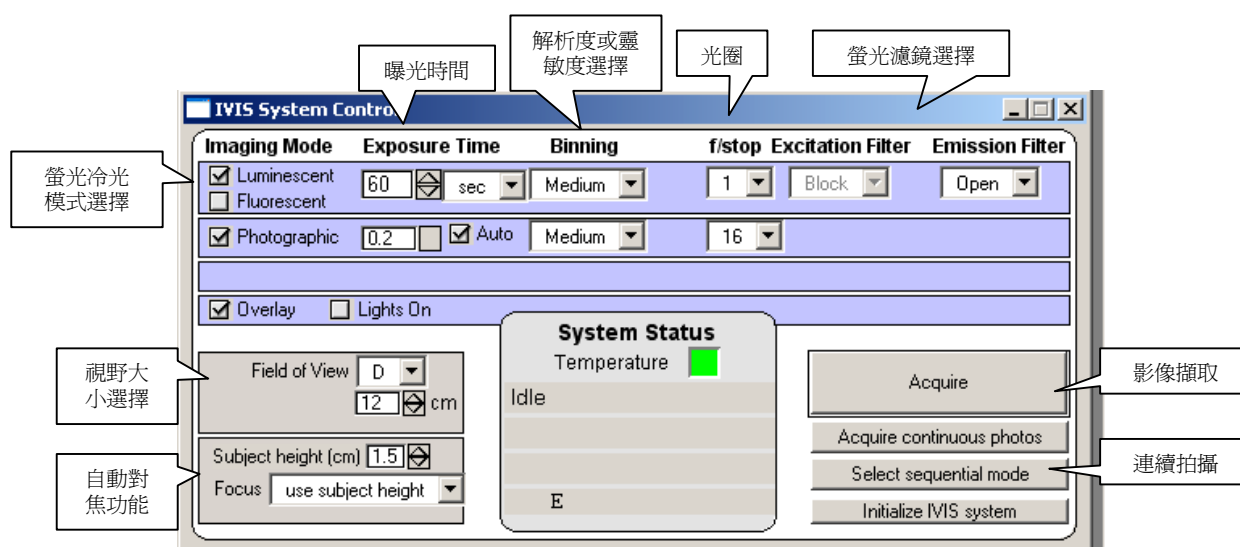
1. 關閉軟體：請點選主畫面中「Living image」中的「Exit」。如圖：



2. 關掉電腦及主機電源：待軟體關閉後，則照一般電腦關機關機程序關閉電腦，及關閉主機電源。

Living image軟體操作

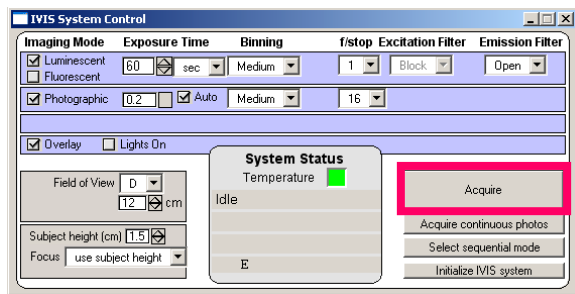
1. 完成系統啟始後，才能進行影像擷取作業！
2. 將老鼠或樣品放入觀察箱中關上門後，調整control panel中的參數設定。如下



3. **冷光螢光模式選擇**：依照樣品種類選擇。唯有選擇螢光模式時，螢光濾鏡的功能才能啟動。
4. **Exposure Time**：單位有sec及min可選擇。可利用滑鼠或是數字鍵更改數字。
5. **Binning**：有三種模式可選擇：High resolution (low sensitivity); medium; High sensitivity (low resolution)。依所需影像畫質選擇。
6. **f/stop光圈**：光圈大小：1>2>4>8
7. **Field of view**：視野大小選擇，共有ABCDE四種高度選擇。選擇後，系統會自動調整載台高度。
8. **自動對焦**：系統已經對載台高度 ABCDE進行對焦調整，使用者可不需再自行調整。除非物體的高度超過焦距範圍，才建議使用此項功能。
9. **連續拍攝**：設定請見下頁。

如何擷取影像

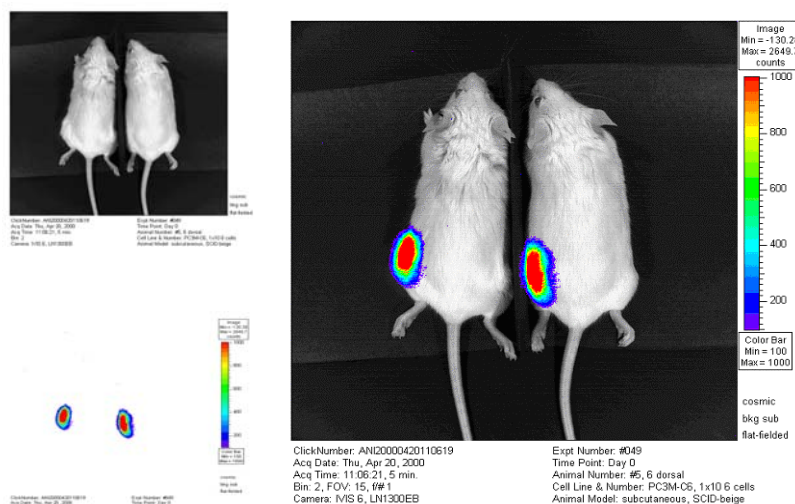
- 設定影像擷取參數後，請按下「Acquisition」，系統及自動進行可見光及冷/螢光影像擷取。



- 系統在進行擷取時，請勿打開箱門！因為本系統採用高敏感度CCD晶片，若大量光源進入，會降低CCD晶片壽命！
- 系統會先進行可見光影像擷取，在進行冷/螢光影像擷取。完成後，系統會先要求使用者是否要輸入影像資訊，這些資訊會自動顯示於影像下方，方便使用者辨識影像來源。完成輸入後，系統會自動將可見光及冷光影像進行重疊作業(如圖)。



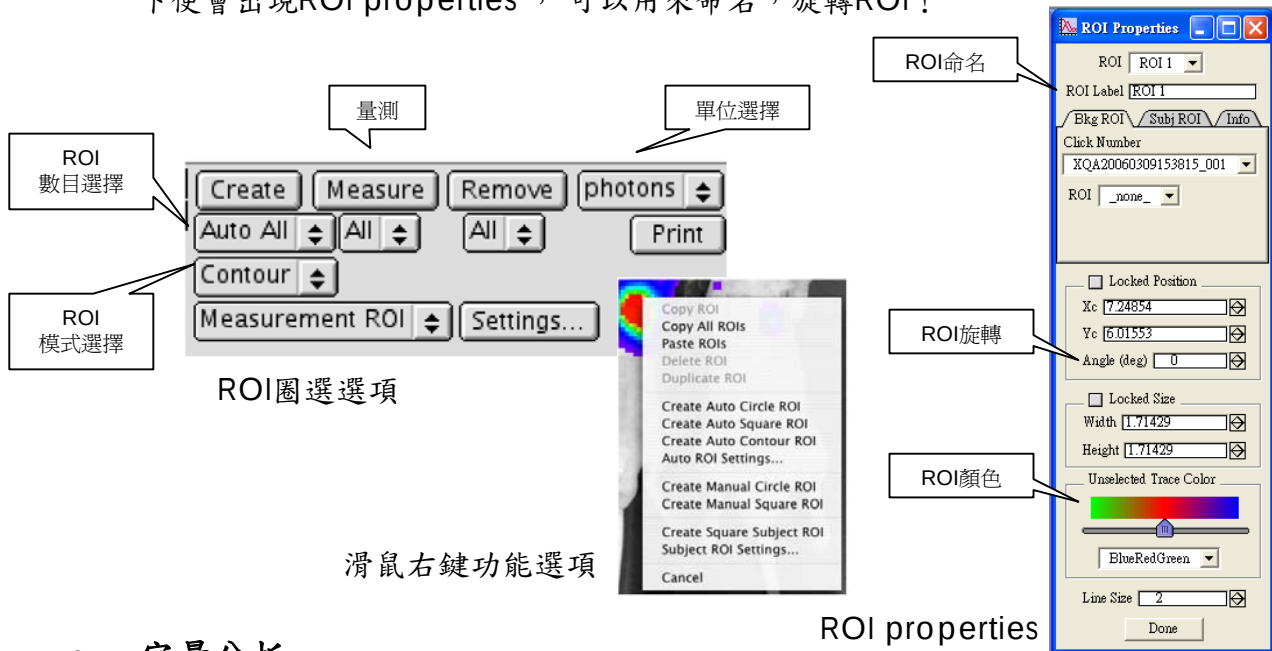
輸入影像資料



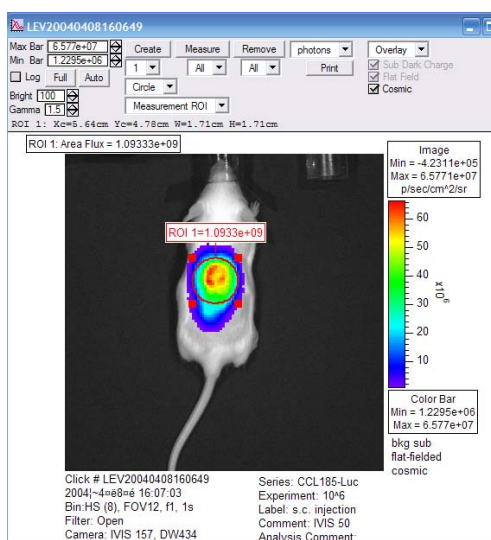
影像重疊

如何分析影像

- **ROI, region of interest的圈選**
- 先選擇ROI的形狀：有四種ROI可供選擇：Circle, square, contour, grid (Contour為電腦自動圈選，Grid格狀適用於microtiter plate)
- 按下「Create」鍵。就會在影像上出現ROI圈選區，可利用滑鼠調整ROI的大小及位置。
- 若要複製以調整好的ROI，可按下滑鼠右鍵，工具列中的「copy」，之後同樣按下滑鼠右鍵工具列中的「paste」，畫面上就會出現同樣大小的ROI。點選ROI兩下便會出現ROI properties，可以用來命名，旋轉ROI！



- **定量分析**
- 選擇好ROI區域之後，請先選擇photon的單位，之後按下「measure」鍵。系統自動計算各ROI區域之光子強度並表示於影像上。
- 註：本系統有兩種顯示單位：
- Counts：為CCD接受到來自物體的訊號數
- Photon：經系統校正後的光子數。

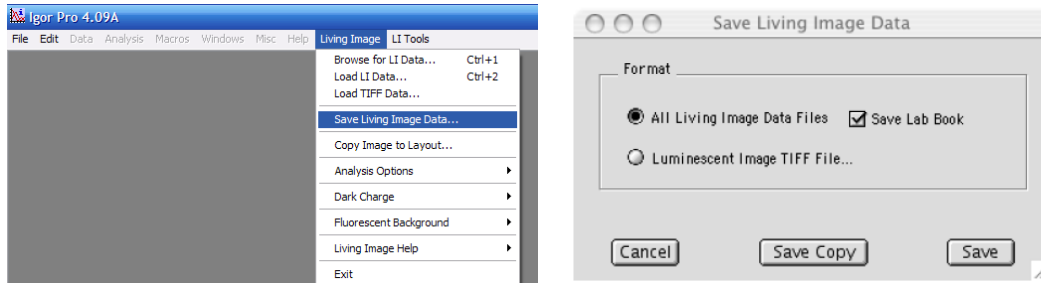


數值會直接呈現於影像上及「measurement」視窗

Click Number	ROI	Total Flux (p/s)	Date and Time
LEV20040408160649	ROI 1	1.09333e+09	2004/4/8 16:07:03

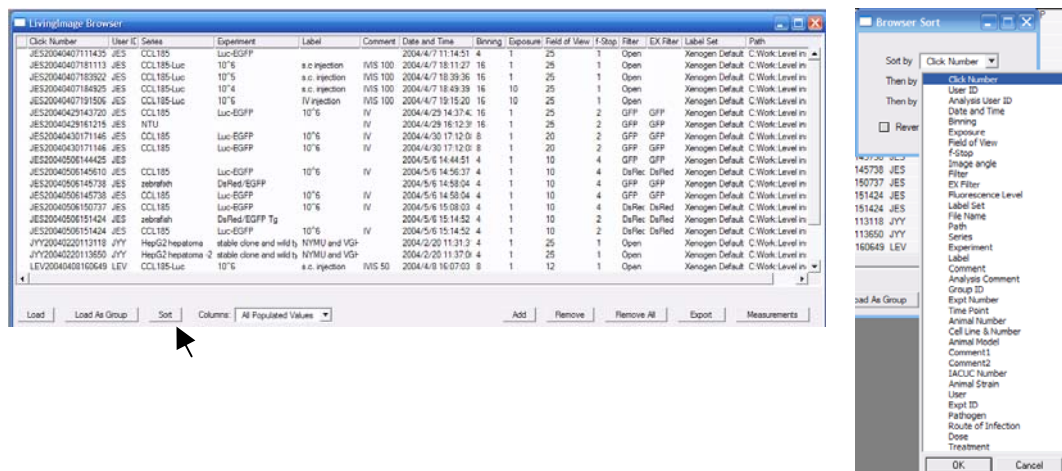
如何存取影像

- **儲存**
- 當您完成影像擷取後，需儲存檔案，請利用工作列中的「Living image」下的「Save Living Image Data」。



- 之後系統會跳出如下對話視窗如下，建議選擇「All Living Image Data Files」，此為raw data，會儲存未經任何修改的檔案模式，方便後續定量分析作業。

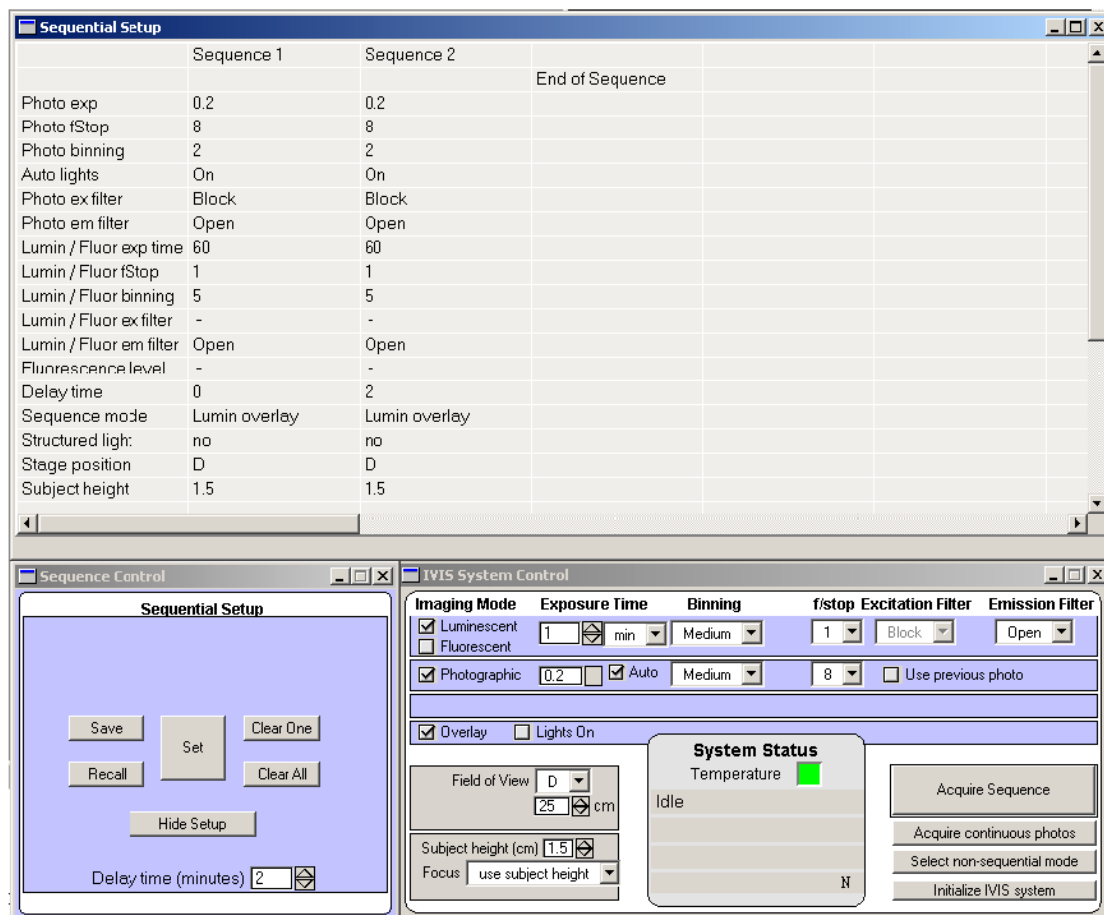
- **讀取**
- 若要讀取之前的影像，請利用請利用工作列中的「Living image」下的「Browse LI Data」。之後選擇欲讀取的檔案路徑，系統便會將該檔案夾當中的LI檔排列出來如圖，另外可使用「sort」功能將檔案進行排列順序，方便搜尋檔案。



- 利用滑鼠雙重敲擊該檔案，即可讀取。

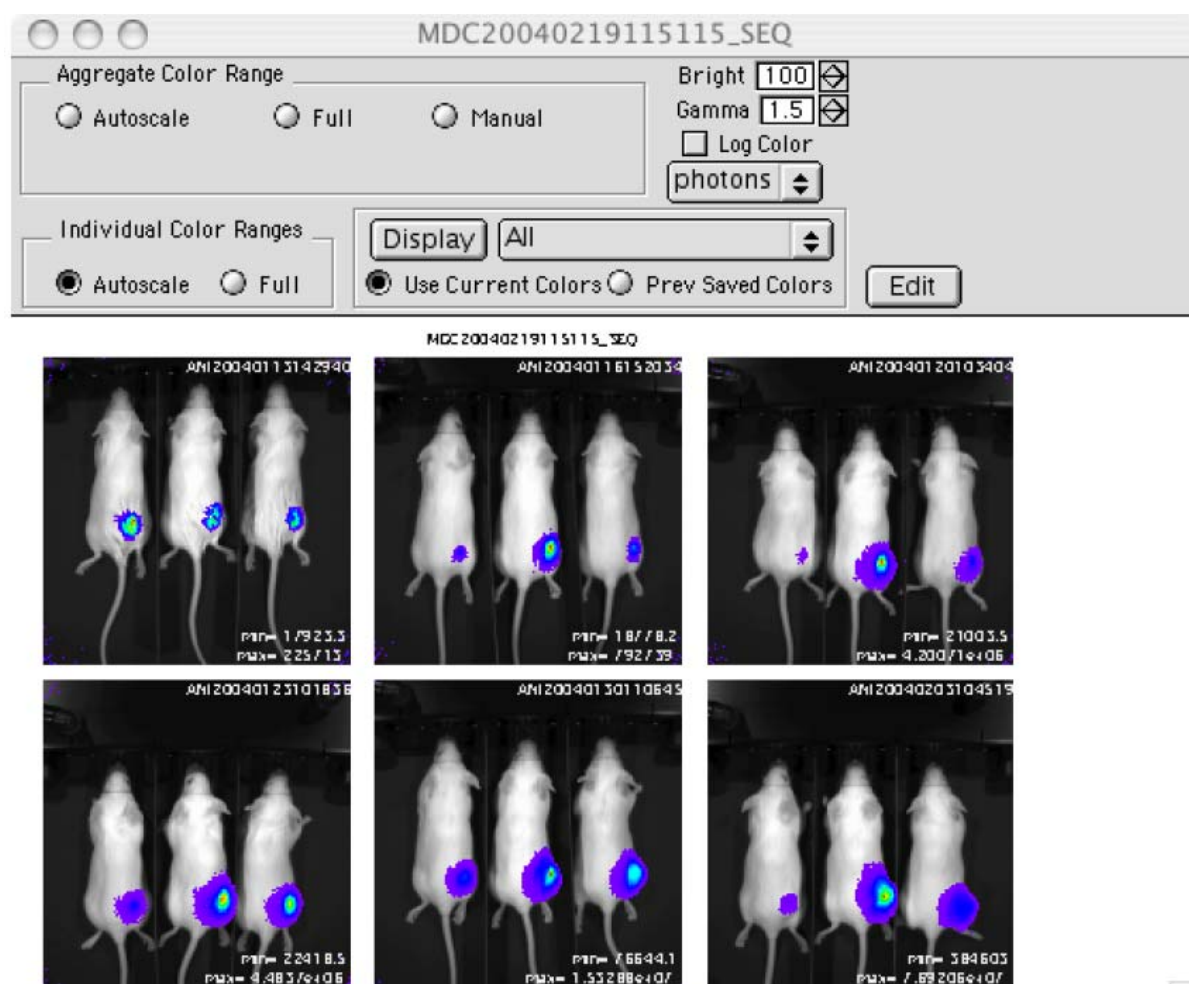
如何操作sequential mode

- Sequential mode的用途在於：
- 1. 可設定系統於特定時間拍攝影像
- 2. 或是使用不同的設定（如濾鏡）連續拍攝
- 操作方式：
- 按下control panel中的「select sequential mode」，畫面會跳出如下的設定視窗。
- 先在control panel中選擇欲拍攝的所有參數，例如光圈，曝光時間等等，再按下「sequential control」中的「set」鍵。所有的設定就會出現在sequential setup視窗上
- 接下來，在設定第二的影像的參數設定。
- 而每個影像拍攝的間隔時間就在「Delay time」上做設定。
- 依序設定以下的影像拍攝。
- 待設定完後，只要按下control panel中的「Acquire Sequence」，系統就自動按照設定進行拍攝。



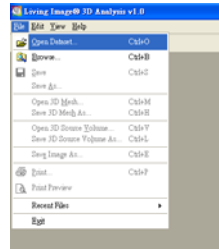
如何操作sequential mode

- 系統完成影像擷取後，呈現視窗如下：
- 若要個別將影像叫出，只要從「Display」旁的下拉選單挑出要的檔案，再按下Display就可以了。

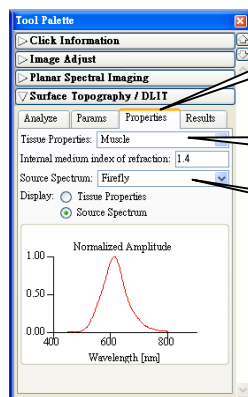


如何進行 3D 分析

- 先以單張拍攝以測試最佳的拍攝條件與角度。
- 調整好小鼠的拍攝角度並放置在載台的中央，以sequence mode拍攝6個連續波長的照片(560nm, 580nm, 600nm, 620nm, 640nm, 660nm)，第一張照片需勾選「structure Line」與「photographic」
- 進行影像儲存
- 打開3D分析軟體「Living Image 3D」
- File → Opendataset叫出之前存的檔案
- Load「Sequenceinfo.txt」



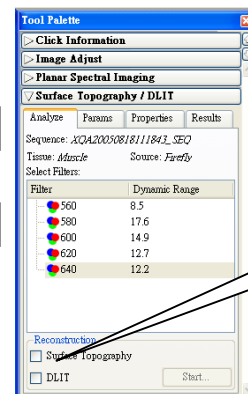
- 選取Surface Topography/DLIT選單
- 在Properties中選取Tissue Properties與Source Spectrum
- 在Analysis中選取所有照片並勾選「Surface Topography」「DLIT」然後按「Start」



Properties

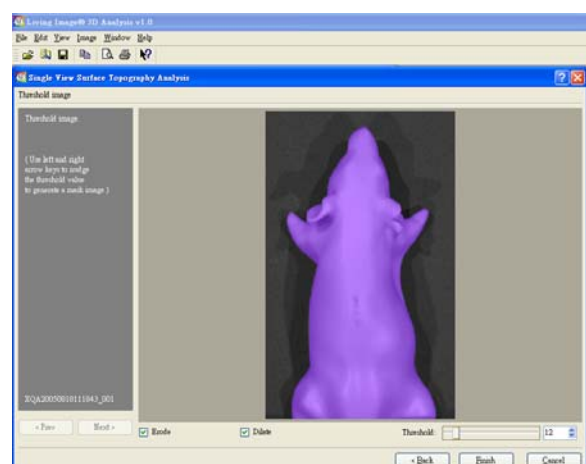
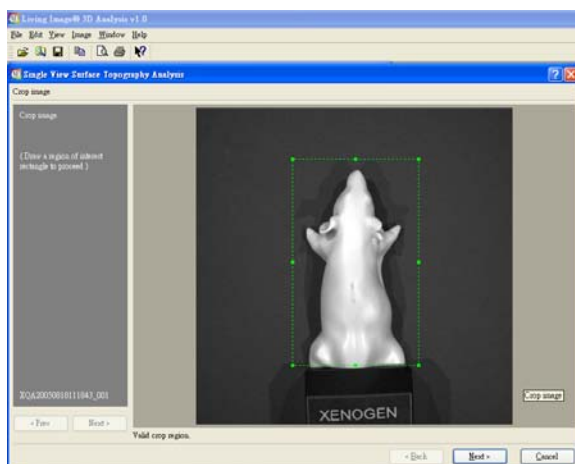
Tissue Properties

Source Spectrum



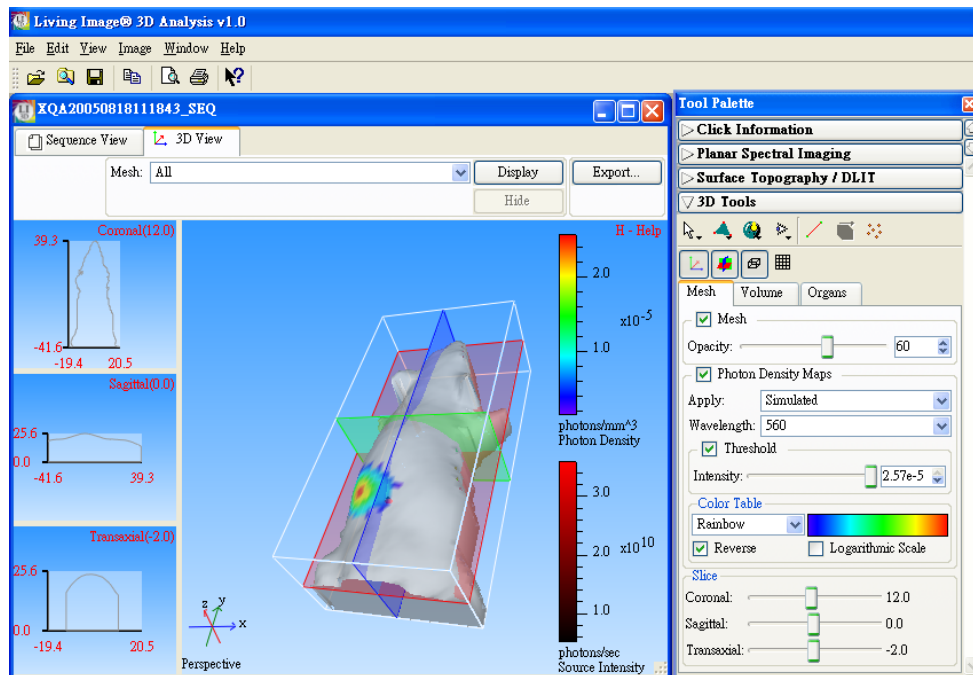
Surface Topography
DLIT

- 選擇要分析的區域與Threshold，然後按「Finish」



如何進行 3D 分析

- 選取「3D tool」進行影像分析



- 選取「Mesh」
- 選取「Slice」調整X Y Z切面，進行光源位置定位
- 選取「cursors」量測距離
- 選取「Measure Voxel」進行光源選擇
- 選取「Volume」觀看光源強度測量
- 選取「Organs」進行器官套圖
- 選取「Transform」進行器官套圖與影像疊合
- 選取「Files」「Save Imaging As」儲存影像(.bmp檔)

