

冷光暨螢光影像處理系統

UVP AutoChemi Image System



中 文 操 作 手 冊

AutoChemi system 應用：

- 1.冷光測定分析(Chemiluminescence Detection)
- 2.螢光測定分析(Fluorescence Detection)
- 3.色光測定分析(Chromogenic Image)
- 4.底片影像測定分析(X-ray Film)
- 5.菌落計數分析(Colony Counting)
- 6.螢光薄層層析(TLC Analysis)

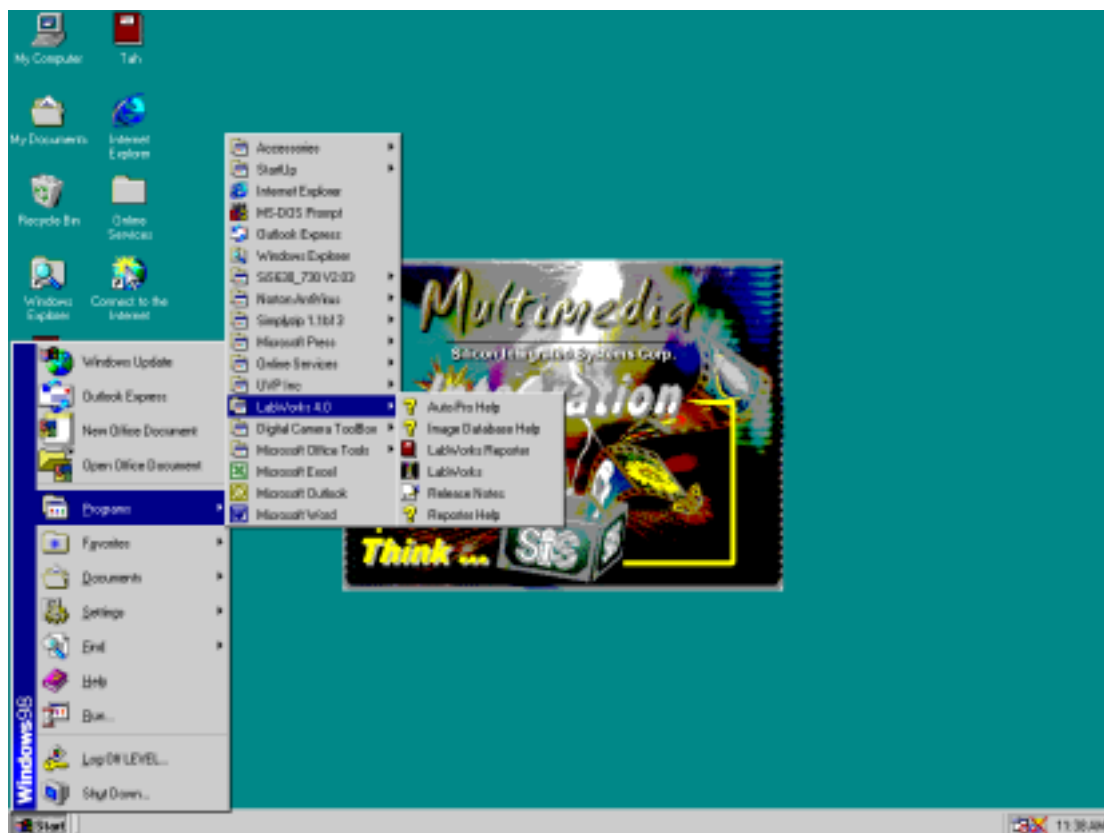


I . 啟動 AutoChemi System

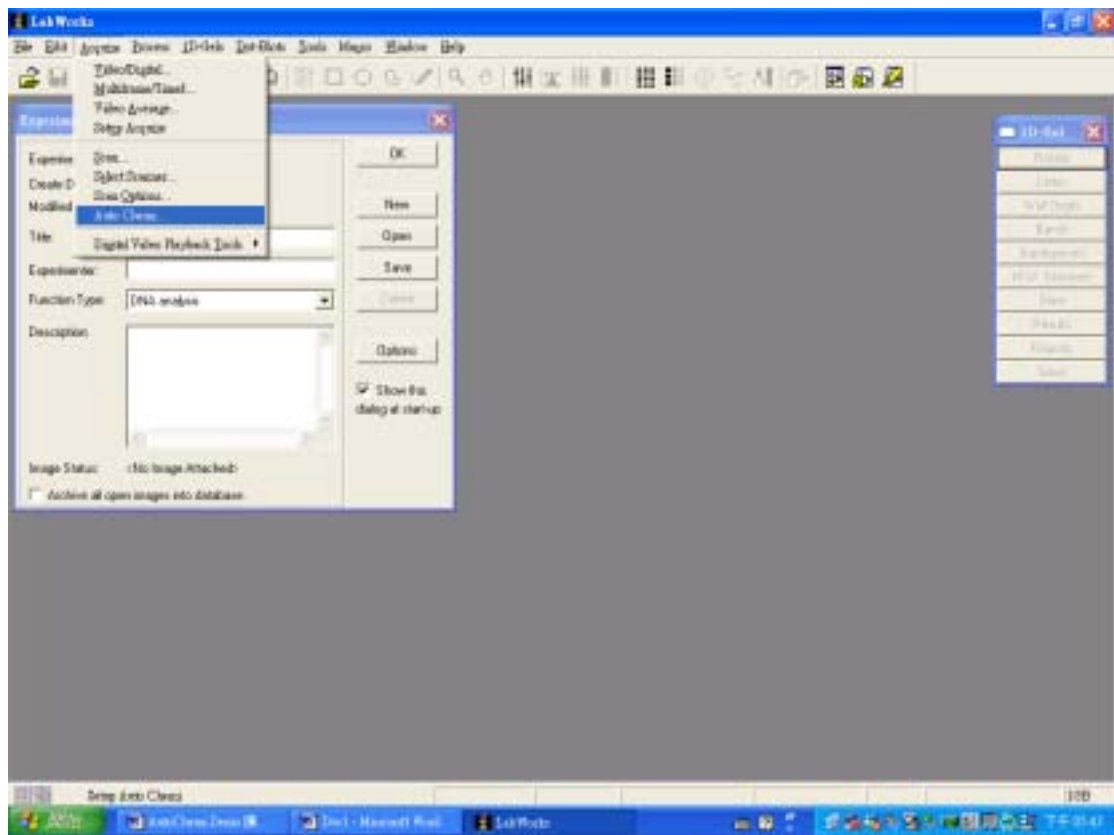


- 1、開啟電腦，待電腦進入 window 畫面後，再啟動 AutoChemi System（Power 鍵位於機器暗箱右側上方）。

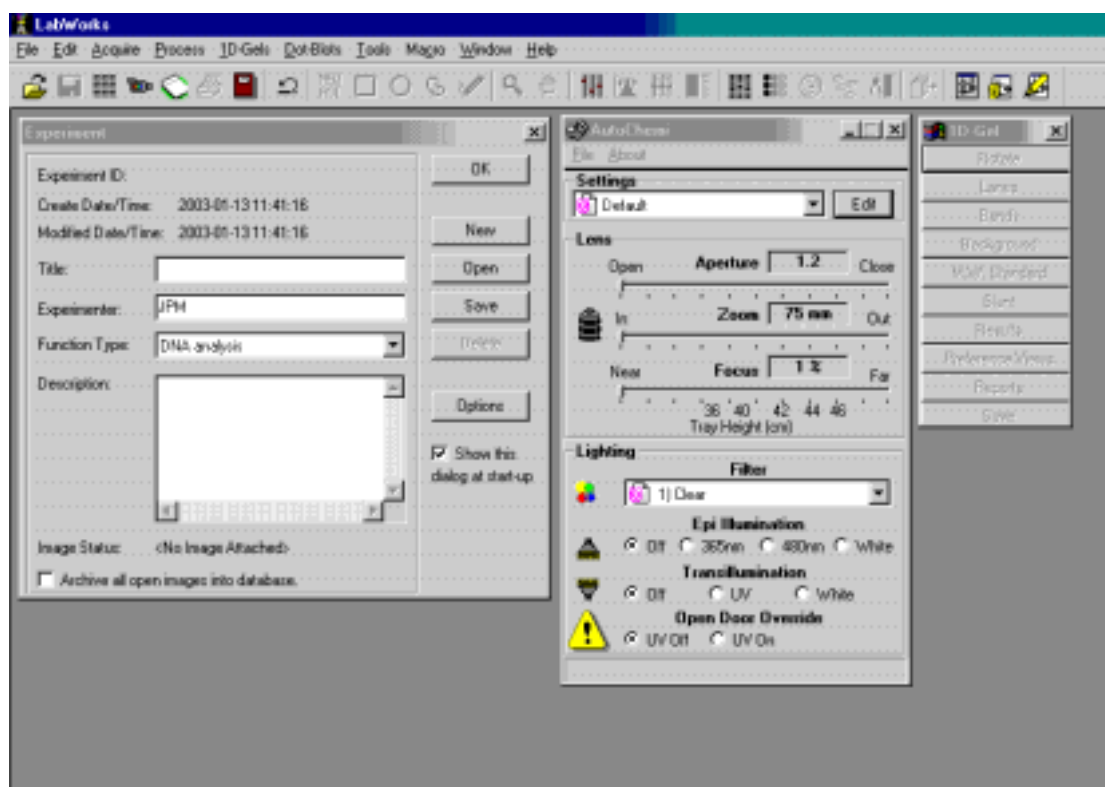
II. 開啟 LabWork Software and AutoChemi platform



- 1、 Window 畫面下，點選 `開始` 鍵，於 `程式集` 中點選 `LabWorks 4.5`，開啟 LabWork 軟體。



- 2、 開啟 LabWork 軟體之後，點選 Acquire 工具列中之
AutoChemi 選項，啟動 AutoChemi platform。

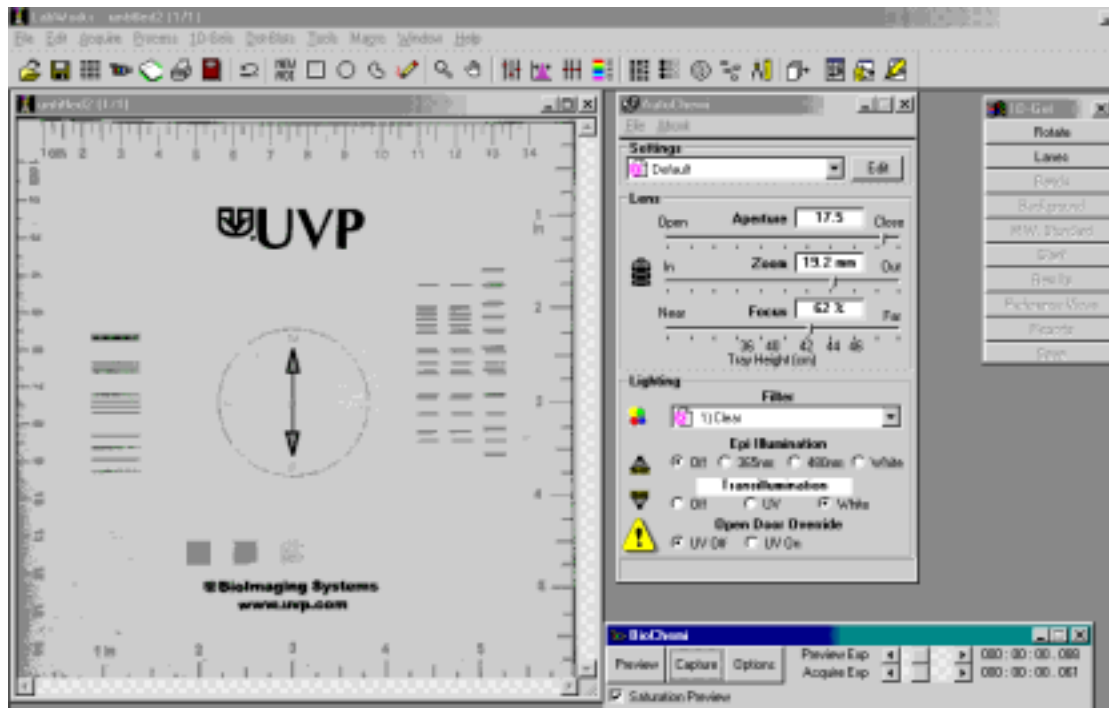


III. LabWorks 4.0 Software :

1. Experiment : 可記錄實驗主題、實驗者、實驗類別、日期、時間…等訊息。
2. 擷取影像 : 點選視窗上方工具列中的「攝影機」Icon, 即可進入擷取影像平台。

IV. AutoChemi Platform :

控制鏡頭光圈(Aperture), 景深(Zooms), 焦距(Fucos)以及暗箱頂層光源(Epi illumination), 下方透視光源(Transillumination)。

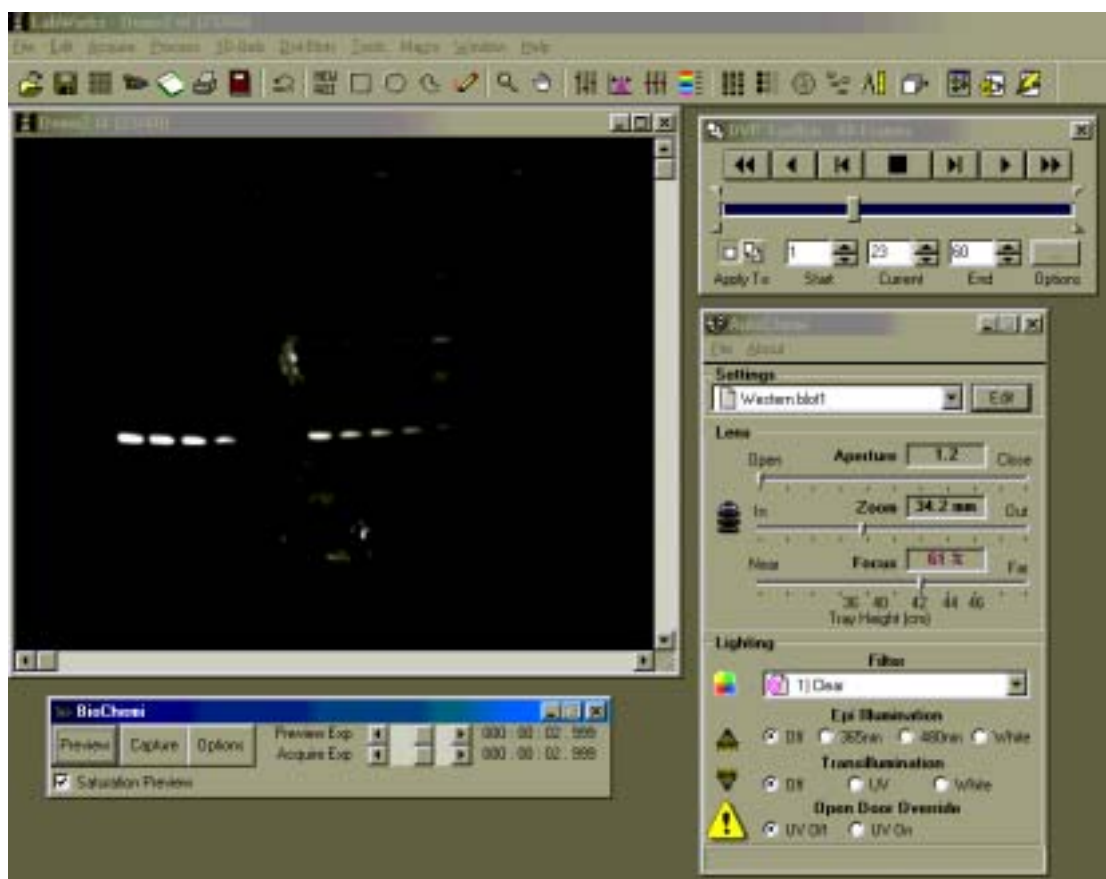


V. 影像預覽，影像擷取：

利用視窗中 `Hamamatsu Camera` Tool Bar，可調整影像預覽積分，及影像擷取積分條件，以便得到最佳影像。

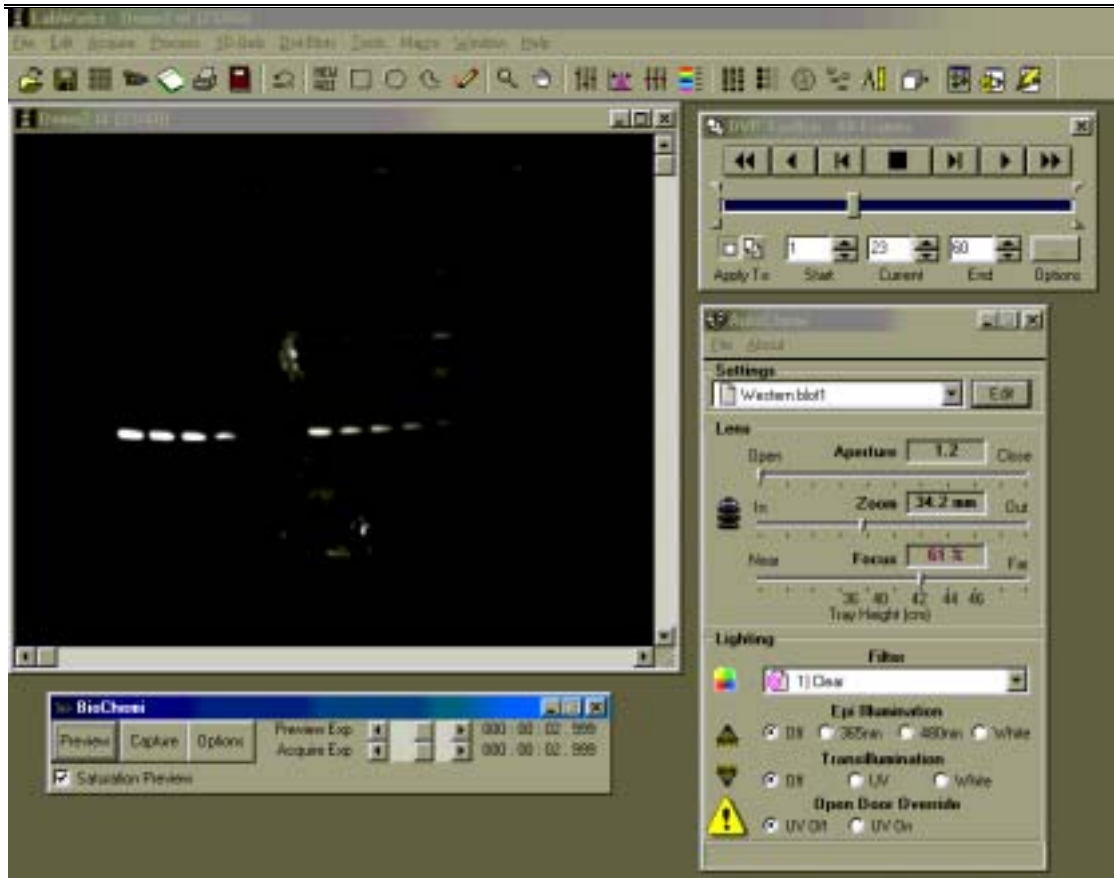
VI. 鏡頭調整及暗箱功能介紹：

1. 藉由 `AutoChemi platform` 中 Lens 功能，來調整 Aperture 光圈大小，Zoom 景深以及焦距遠近。
2. 藉由 `AutoChemi platform` 中 Lighting 功能，來選用適當濾鏡，以及所需光源。

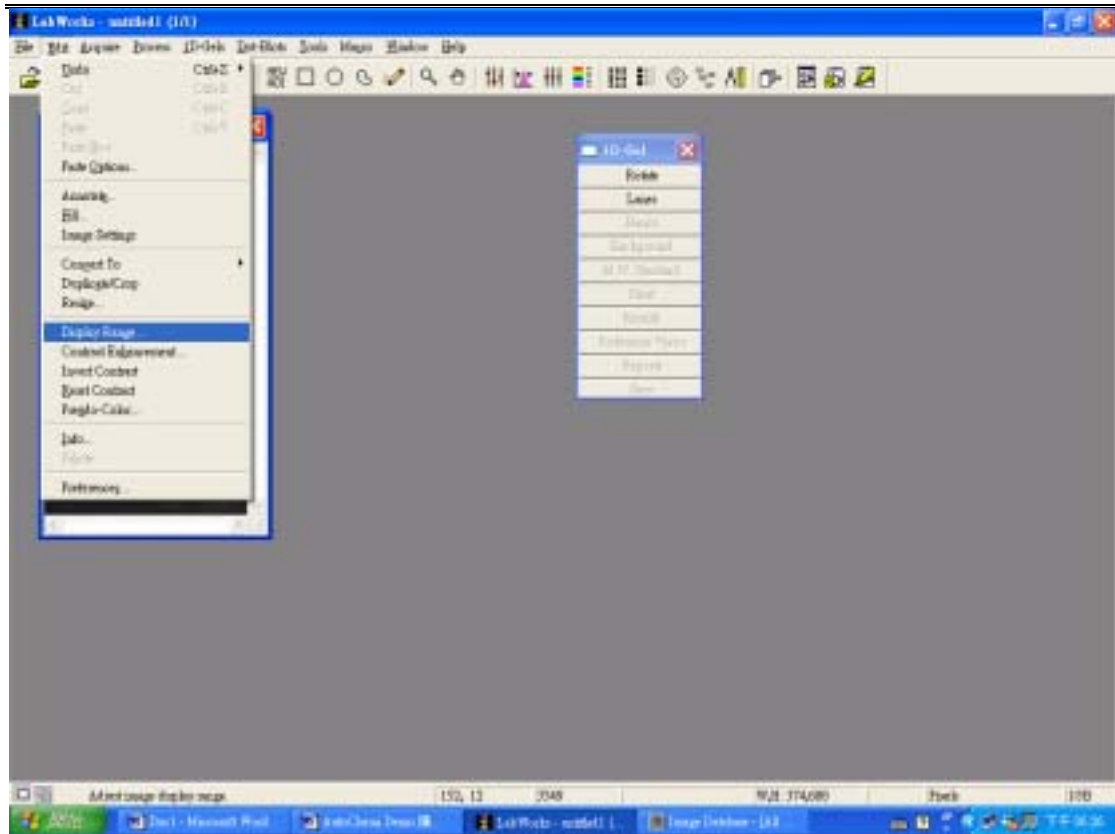


VII. Western Blue 冷光影像之擷取：

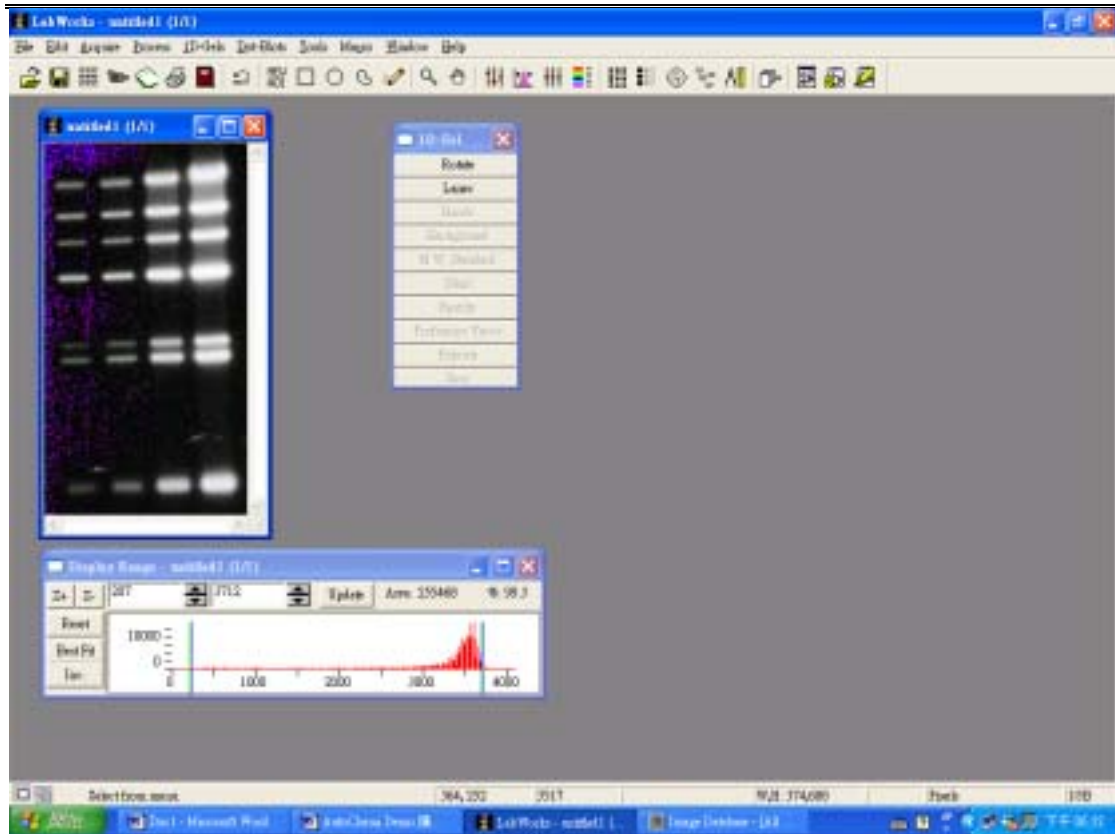
1. 將樣品置放平台，推放至適當高度(建議放置於最高位置)，將 Blot 置於平台中央位置。
2. 選用 `1)Clear` filter，並且將所有光源關閉。
3. 點選 `Hamamatsu Camera` Tool Bar 之 Preview 功能鍵，進行預覽。
4. 將 Blot 調整至預覽視窗中央。
5. 結束預覽，進入 Option 視窗，點選 Sequential Integration 功能，選取適當擷取條件或自訂曝光時間後，點選 Capture 鍵，進行影像擷取。



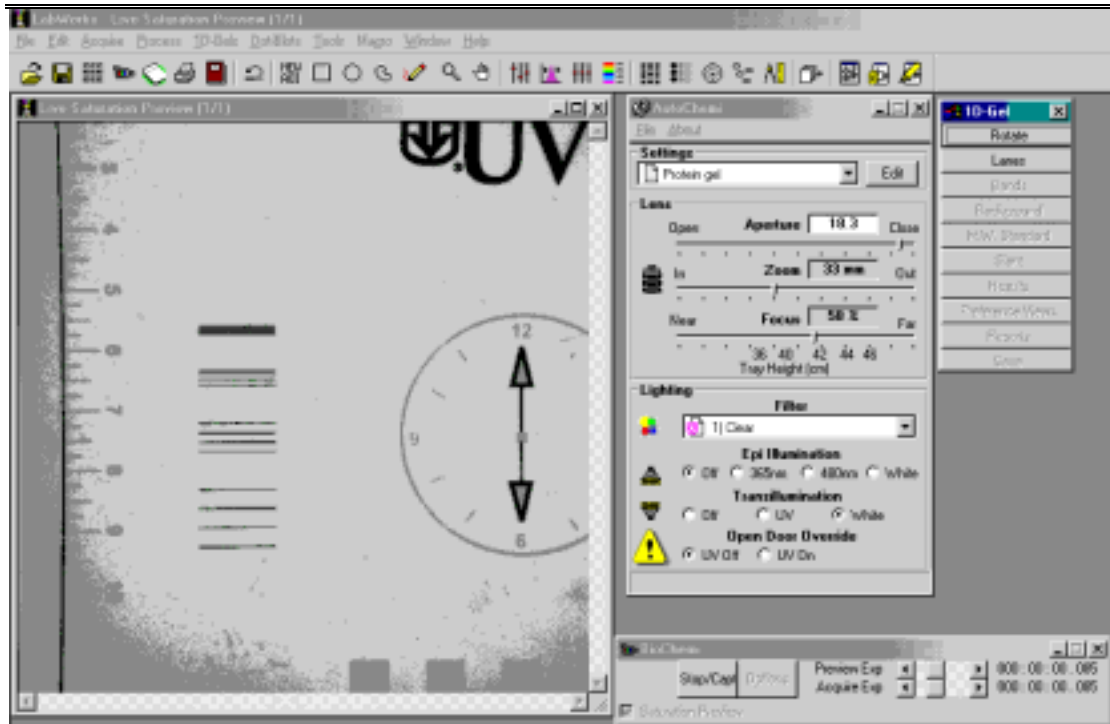
6. 影像擷取後，Digital Play Back(DVP) Toolbar 會自動出現於視窗中，利用 DVP 功能選取適當影像。



7. 點選 Edit 工具列之 Display Range 選項, 啟動 Display Range Toolbar。

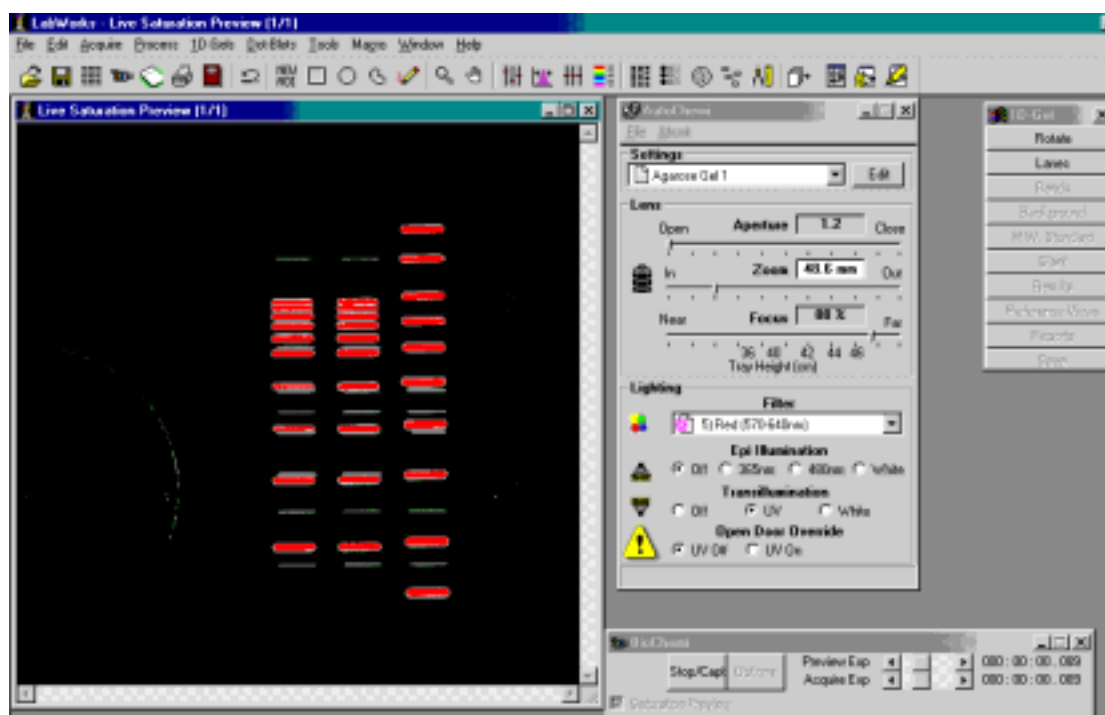


8. 利用 Display Range Toolbar 調整適當之灰階範圍，以便得到最佳影像；亦可利用 Toolbar 之 Invert 功能進行影像反白。



VIII. Protein Gel 影像擷取：

- 1、 將樣品置放平台，調整至適當高度，再將磷光板上蓋取下。
- 2、 將 Protein Gel 置於磷光板中央。
- 3、 選用 `1) Clear` filter。
- 4、 點選 `White` Transillumination 功能鍵，開啟磷光板光源。
- 5、 點選 `Hamamatsu Camera` Tool Bar 之 Preview 功能鍵，進行預覽。
- 6、 由影像預覽畫面得到最佳影像後，點選 `Hamamatsu Camera` Tool Bar 的 Stop/Capture 功能鍵，擷取影像。

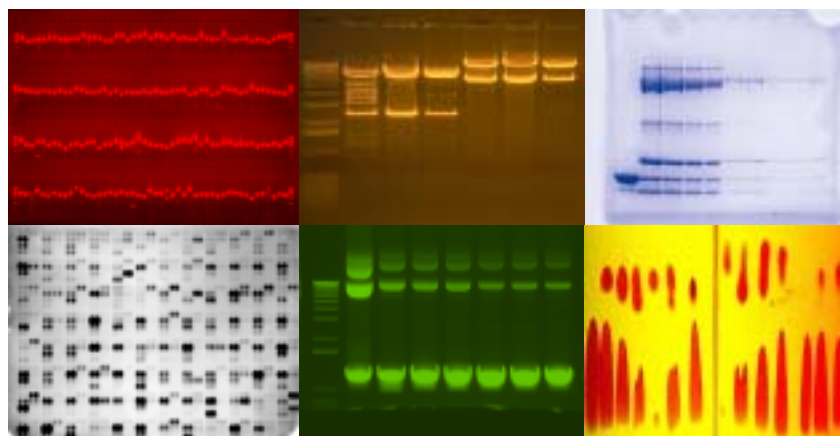


VIII. DNA / RNA Agarose Gel 影像擷取：

- 1、 將 Gel 置於 UV Transilluminator 上。
- 2、 選用 5) Red(570 640 nm) filter 濾鏡。
- 3、 開啟 UV Transilluminator。
- 4、 點選 `Hamamatsu Camera` Tool Bar 之 Preview 功能鍵，進行預覽。
- 5、 調整 Aperture (光圈)，Zoom (景深)，Focus (焦距)。
- 6、 由影像預覽畫面得到最佳影像後，點選 `Hamamatsu Camera` Tool Bar 的 Stop/Capture 功能鍵，擷取影像。

UVP LabWork 4.5 Software

一維影像分析軟體

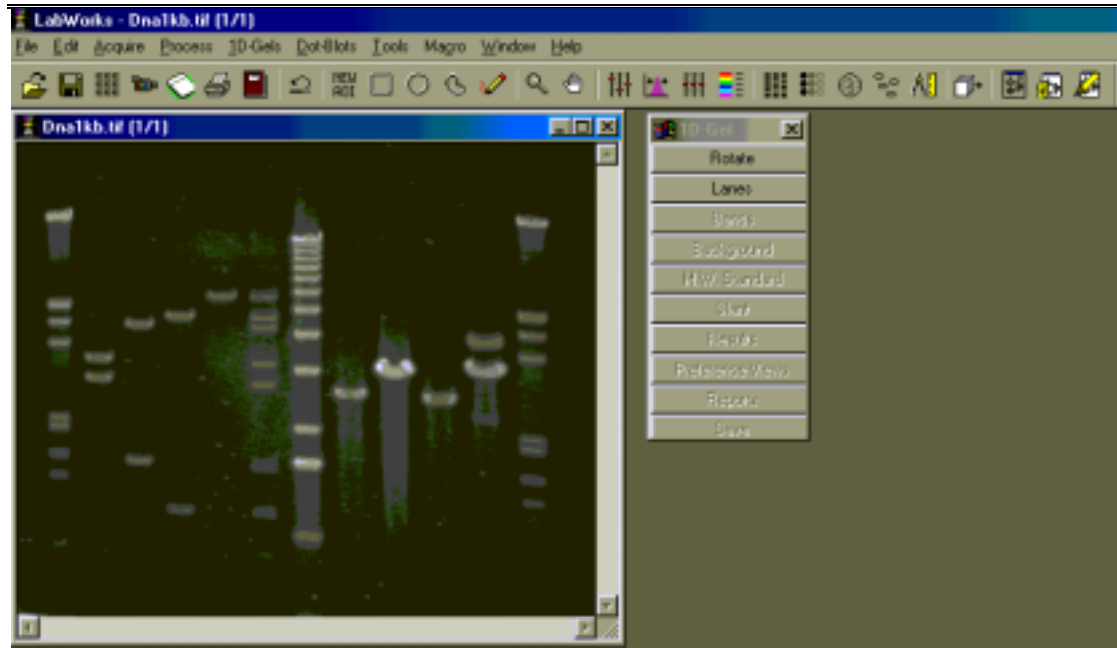


中文操作說明書

Using the 1D-Gels Tool Palette

1D-Gels 工具平台功能如下:

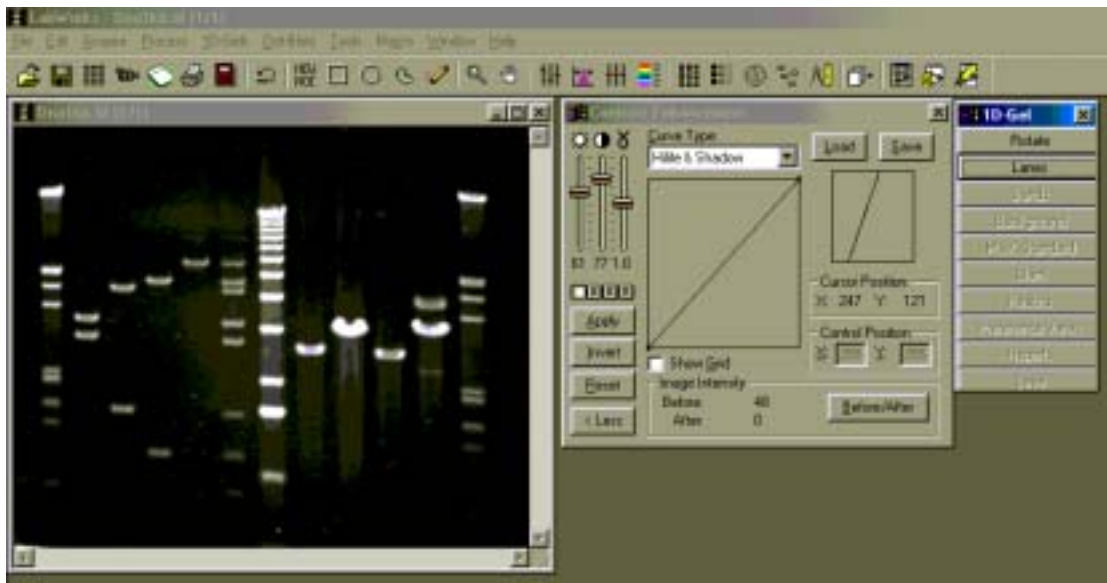
1. 旋轉影像 (Rotate)
2. 鑑別與標示直線(帶)或曲線(帶) (Lane and Bands)
3. 調整或修正背景(Background)
4. 定義標準分子量 (M.W. Standard)
5. 修正傾斜的影像 (Slant)
6. 計算數值與分子量資料 (Result)
7. 調整各項標示文字、數值、顏色等形式(Reference Views)
8. 將實驗資料與結果檔案紀錄至影像資料庫中(Save)



1. 首先打開欲編輯的影像檔：File → Open → Open File
2. 此時在畫面右邊顯示 1D-Gel 編輯功能的工具平台：1D gels → Show ToolBar

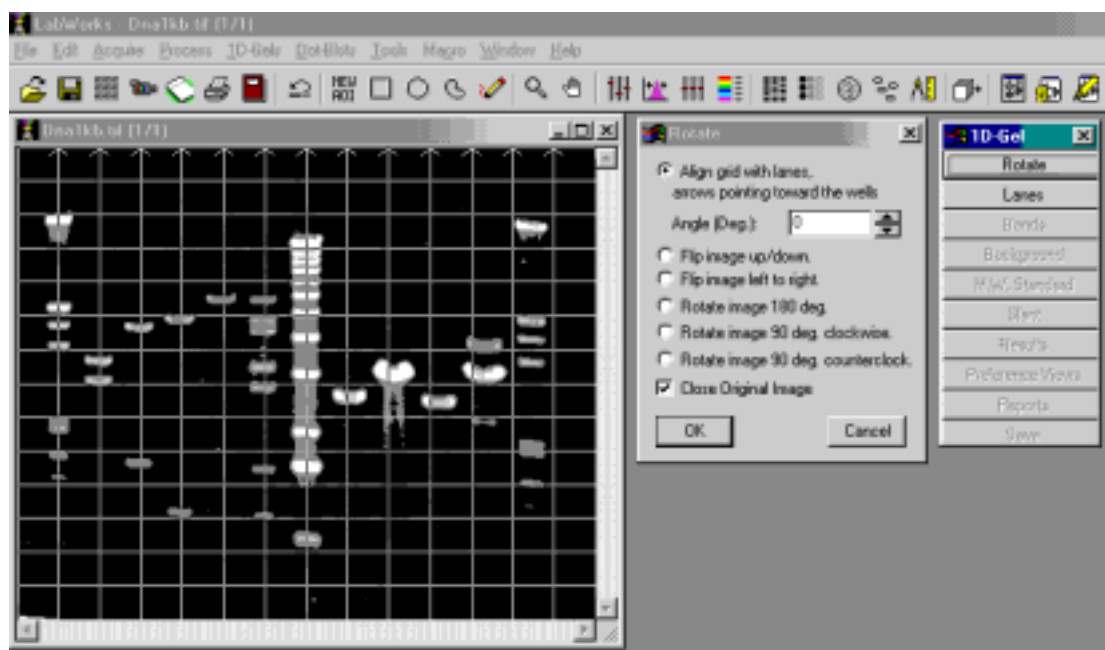
1D-Gels 工具平台功能如下：

1. 旋轉影像 (Rotate)
2. 鑑別與標示直線(帶)或曲線(帶) (Lane and Bands)
3. 調整或修正背景(Background)
4. 定義標準分子量 (M.W. Standard)
5. 修正傾斜的影像 (Slant)
6. 計算數值與分子量資料 (Result)
7. 調整各項標示文字、數值、顏色等形式(Reference Views)
8. 將實驗資料與結果檔案紀錄至影像資料庫中(Save)



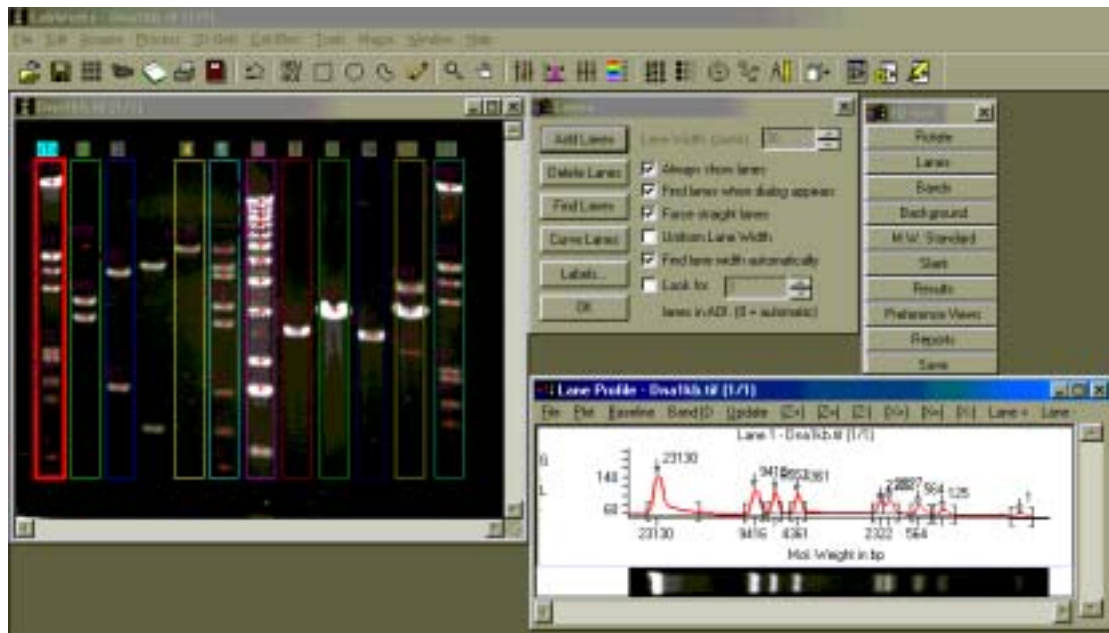
1. 當開啟之的影像檔，原始的影像檔若不是很清楚時,可利用 LabWork 軟體的一項自動功能，在上方的功能鍵”Optimize Image”(最適化的影像)中得到較適合的影像。如圖上左側之影像。
2. 假如此功能未能達到所需要的影像時，此軟體有另一功能為”Image Enhancement(增強影像)”進入此功能鍵後即在畫面上顯示”Contrast Enhancement(增強對比)”的對話盒，可手動調整所需的明亮度、背景及 Gamma 值。如上圖右側所示

To rotate an image 旋轉影像:



- 1.開啟欲編輯的影像檔
- 2.點選 1D-Gels 工具平台上的旋轉(Rotate)功能，出現旋轉影像的對話方塊，此時”格線”會出現在影像檔畫面上，這些格線將依照你的指示幫助你選擇和設定旋轉的角度。
3. 旋轉影像可依下列方式執行：
 - 點選”Align grid with lanes”功能，可在影像上以直接旋轉向拖拉出不同且平行的方框。
 - 點選”Align grid with lanes” 功能，進入旋轉功能方塊 Key in 想要的旋轉角度。
4. 點選”OK”鍵旋轉影像。假如選擇是”關閉最原始的影像”，一個新的旋轉影像將出現在畫面上。

Identifying Lane

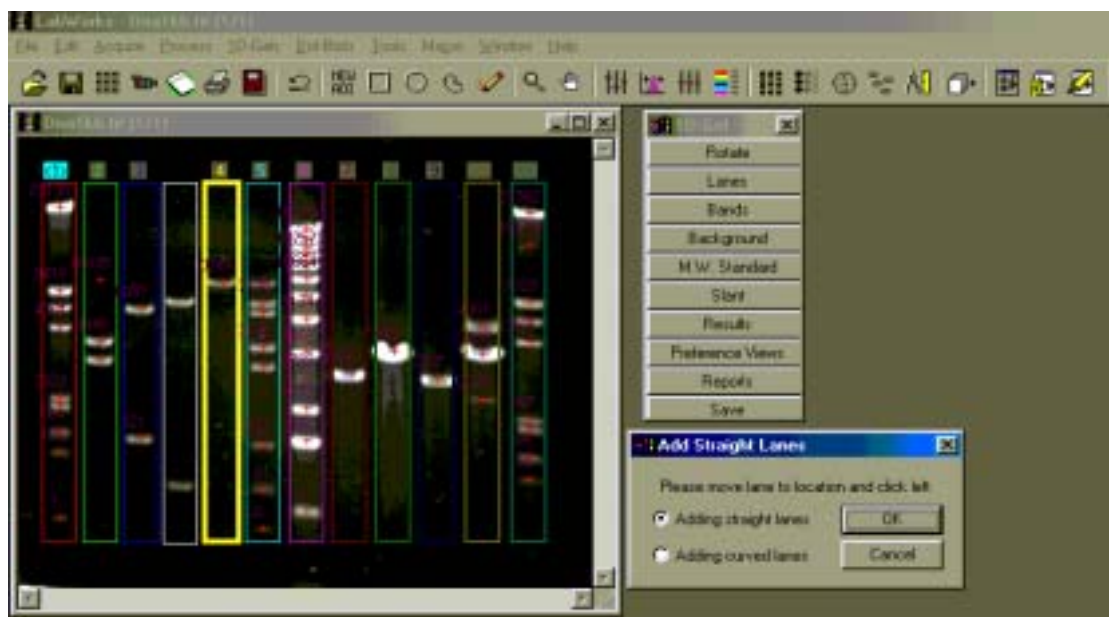


在你的實驗影像中去鑑定 Lands 和 Bands，從這 1D-Gels 工具平台上勾選”Lanes”，當你選擇這選項時 Lanes 對話盒將出現。

這對話盒將出現 Lanes，設定 Lane(in pixel)的寬度，增加或刪除 Lane，發現 Lane，曲線，和如何控制傾斜線的橫斷 Lane 。

Adding a lane

在這影像中假如已經自動定義一條或更多的 lane，你能用手動地記號去增加 Lane，在這 Lanes 的對話盒按在 Add Lanes 鈕，這對話盒將顯示”Add Straight Lanes”



選擇你想增加標示 Lane 的型式:直線或曲線

增加 straight lane：只要移動滑鼠至影像上，按滑鼠左鍵即可增加，重複上述動作可一再增加新的，結束時按”OK”即可回到主要對話盒。

增加 curved lane：需先回到主要對話盒完成影像的 define curve，按”curve lane”進入，然後按滑鼠左鍵調整影像上曲線節點，結束時按”OK”即可。

Deleting a lane

按”delete lane”進入，將滑鼠移動至欲刪除的 lane 上，滑鼠變成十字型後按左鍵即可刪除，亦可按”delete all lanes”刪除全部，結束時按”OK”即可回到主要對話盒。

Curving lanes automatically

若欲自動標示 Curve lanes，只要在主要對話盒上不勾選”force straight lanes’，然後勾選”find lanes width automatically”再按”find lanes’即可。

Curving lanes Manually

若欲手動標示 Curve lanes，影像上出現由五個小方塊連成一線的 Curve lanes，將滑鼠移動至欲 curve lane 的小方塊上可左右移動調整，按”OK”即可回到主要對話盒。

Changing the Width of Lanes

在這 Lanes 的主要對話盒裏右邊標示這”Uniform Lane Width”控制鈕，在這影像層疊或其它所有的 lane width 中，當你改變一條 lane maker’s width 時，相同地其它將會被影響。

改變相同的 lane maker’s width:

1. 確定是在”Uniform Lane Width”對話盒。
2. 將滑鼠移動至任何標示線上的位置，此時影像上出現雙箭頭符號可左右及上下移動調整所需要及正確的 Lane Width。
3. 將滑鼠按著和拖曳移動至欲任何標示 Lane Width 的位置，所有其它的 lanes 依據此方法調整。(你也可以使用 Lane Width(pixels)旋轉盒去調整相同的 lane widths)。

改變單一的 lane width:

1. 確定不是在”Uniform Lane Width”對話盒。
2. 將滑鼠移動至任何標示線上的位置, 此時影像上出現雙箭頭符號可左右及上下移動調整所需要及正確的 Lane Width。
3. 將滑鼠按著和拖曳移動至欲任何標示 Lane Width 的位置。

Changing Lanes Labels

在這 Lanes 的主要對話盒, 勾選”Labels”鈕後即出現”Lane and Band Labels”對話盒。

改變一個標示線:

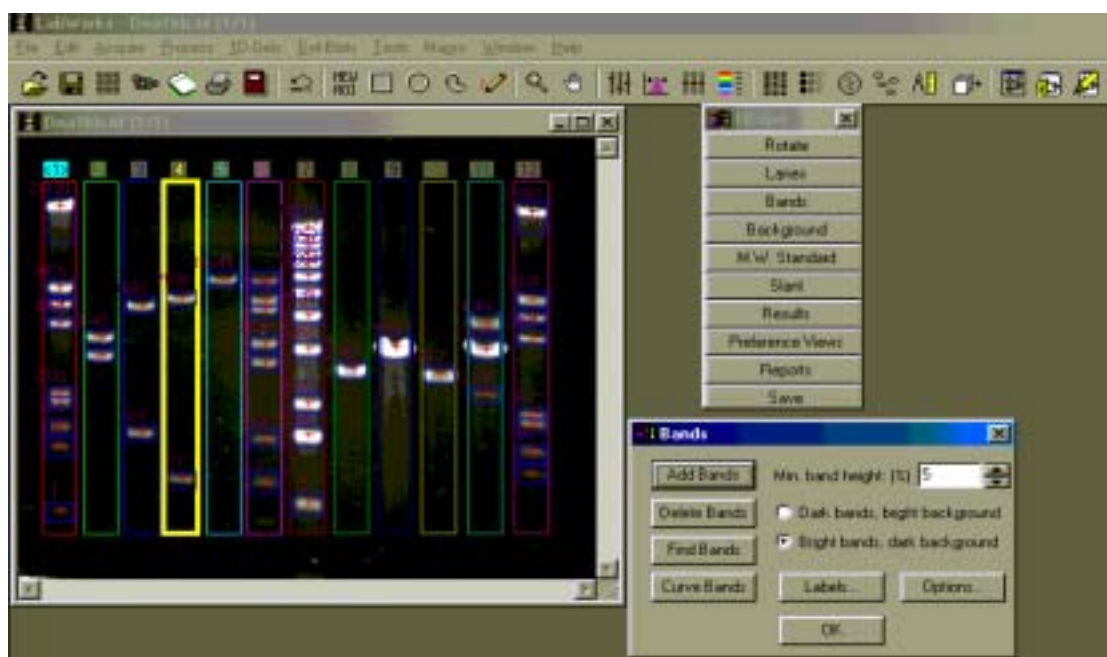
1. 在這影像中, 按著你想改變的標示 lane 上。
2. 在這 Label 主題盒, 進入這主題你想去使用標示的 lane。
3. 這 Label 經過”Place label to the”對話盒裏, 按下列成一表的目錄選擇需要放置的地方。
4. 按”OK”

LabWorks 顯示你新的 label lane 在適合的地方。

Changing Lanes Options

Always show lanes:這功能鈕控制為當 LabWorks 表現出或隱藏在這層疊標示 lane 上。

Find Lanes When Dialog Appears:當這 Lanes 對話盒第一次出現時, 這程式將可嘗試去自動找 lanes, 你也可以將此程式關閉而用手動方式增加標示 lane。



Identifying Bands

在你的實驗影像中去鑑定 Bands，從這 1D-Gels 工具平台上勾選”Bands”，這對話盒將出現 Bands，顯示出增加、刪除、發現、曲 Bands，指定不定的 bands 是表示這暗或亮區域。

Adding a band

若自動 identification function 無法完全標示出所有影像中的 bands，則可使用”Add bands’以手動來操作，點入對話盒的” Add bands”，滑鼠點至影像上增加欲標示的 bands 即可，（此時若勾選”find closest peak automatically”則會標示離滑鼠最近的區域，若不勾選，則相反），最後按 OK 結束(按 cancel 按鈕取消重做)。

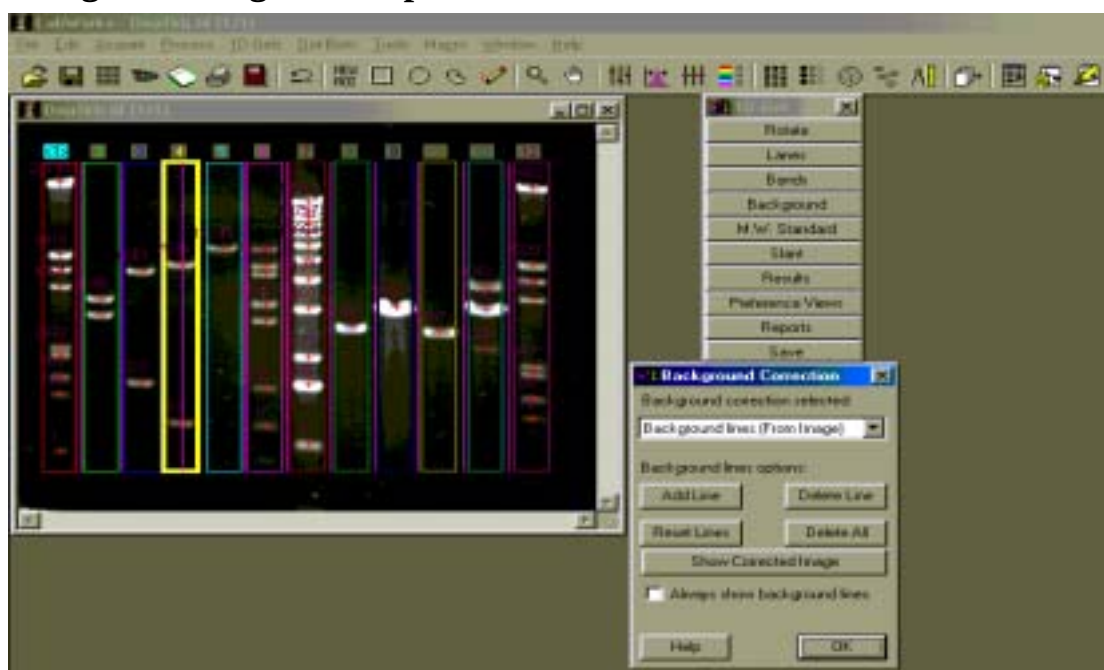
Deleting a band

點入”deleting band”，滑鼠移至影像上並變成十字型後，按左鍵即可刪除 band，按 OK 完成刪除動作並退出，亦可按 cancel 還原。

Curving a band

1. 點入”curve bands”按鈕，出現”band correction”畫面
2. 點入”add curves”，即可以滑鼠左鍵於影像上 add curves
3. curves 上會出現有三個控制節點的線
4. 按”OK”完成
5. 然後滑鼠可再度移到影像上，拉住線上的控制節點成一曲線以符合影像
6. 完成標示後按”done”退出”band correction”

Using the Background Option



1. 在 1D-Gels 工具平台上勾選”background”進入
2. 出現” background correction”對話盒
3. 於對話盒上方的” background correction selected”下拉式選單中選擇已列於表內的所需功能。這些選單經由 Lane Profile 視窗可應用在相同功能。且每個選單有完整地敘述，見在這章節之前的”Plotting Lanes”段。
4. 假如選擇”Background lines(From Image)”，按”Reset Lines”鈕，見到”Adding/Deleting Background Makers”

Adding/Deleting Background Makers

5. “From Image”背景修正技巧，使用直線在這 lanes 兩者之間去決定背景區域，” background correction”對話盒下的功能選項去設定你需要獨立的影像。

Reset Lines:當你按這鈕時背景線將會自動地定義增加這 lanes 兩者之間，假如 lanes 是曲的背景線也是依據地曲。

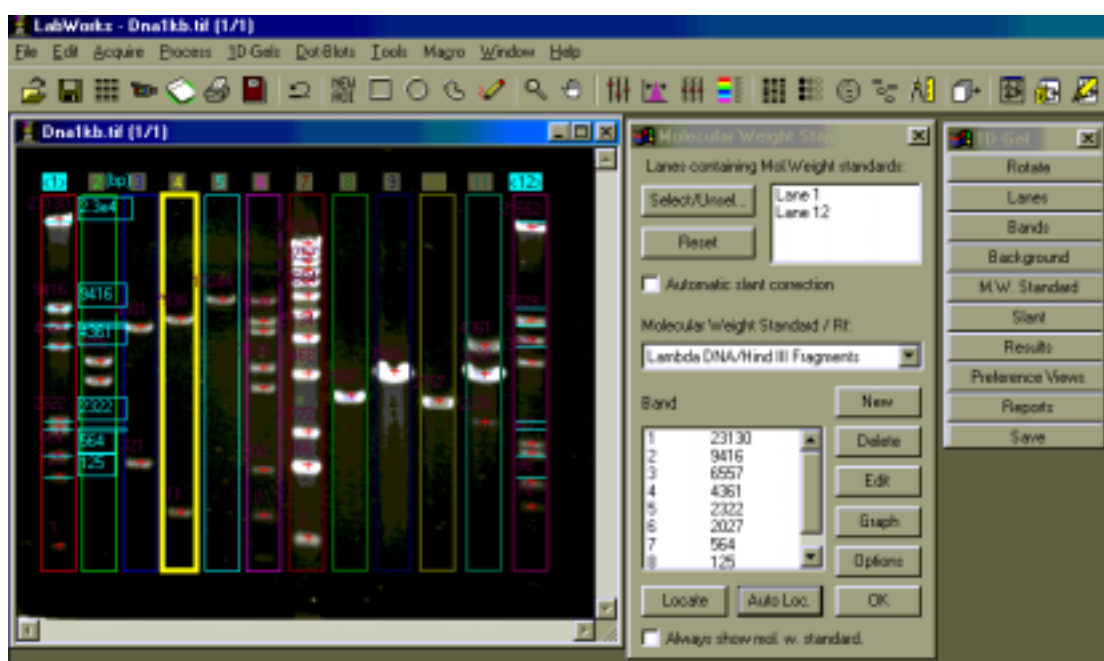
Add Line:當你按在 Add Line 鈕時，在這膠片影像上 Lane 與 Lane 之間出現十字四面箭頭符號時，按下滑鼠左鍵即可標示出背景直線。其它 Lanes 依據此拖曳標示後，按 OK。

Delete Line: 當你按在 Delete Line 鈕時，在這膠片影像上 Lane 與 Lane 之間出現十字符號時，按下滑鼠左鍵即可刪除背景直線，按 OK。

Delete All Line: 當你按在 Delete All 鈕時，在這膠片影像上將刪除所有背景線。

Viewing Your Image with the Background Subtracted

當你按在 Show Corrected Image 鈕時，將會出現一個新的扣除背景的影響。



Defining Molecular Weight Standards

1. 點選 1D-Gels 工作平台中的”M. W. Standard”功能按鈕，出現”molecular weight standards”對話盒
2. 基本上必須已完成標示 1 lane，如果此 lane 為 standard lane，則跳到步驟 3，若不是則使用”select/unselect”鈕進入去增加到”lanes containing Mol. Weight standards”清單中。
3. 從這 **Molecular Weight Standards/Rf** 按下清單選擇一個標準，假如你不想存在標準，你想去使用，就選擇 None(Rf)。
4. 假如你選擇 None(Rf)，按這”New”鈕去進入”Create New **Molecular Weight Standard**”對話盒，假如你選擇一個已存在標準，按”Edit”去進入”**Edit Molecular Weight Standard**”對話盒。

- 5.經由這 **Create New/Edit Molecular Weight Standard**”對話盒，在這標準 Lane(s)，指定這 bands 已知的分子量。
- 6.按 OK 當這分子量清單將反映真實 bands/weights 在你的影像上。
- 7.按 OK 在這標準分子量清單去引用你的標準到這影像上。

Graphing Your Molecular Weight Standard

從這 **Molecular Weight Standard** 對話盒裏的 **Graph** 鈕，進入可見到一個 semi-log 曲線圖表，從這膠片影像的頂端顯示不同分子量 bands 的距離。

因為這距離的移動是藉由一個 band 增加它分子量的指數功能，分子量的 semi-log 圖表與距離可能的一次方程式。

Specifying Molecular Weight Matching Options

從這 **Molecular Weight Standard** 對話盒裏的 **Option** 鈕，進入後可見到”Match standard bands and lane bands”的選單功能：

Manual Positioning Only:為非自動相配的試作，這標準能放置在修正的手動膠片 bands，藉由按 **Locate** 鈕。

Match Band For Band: 勾選此鈕其功能為在這膠片標準配對 bands 時，指定一個對一個。

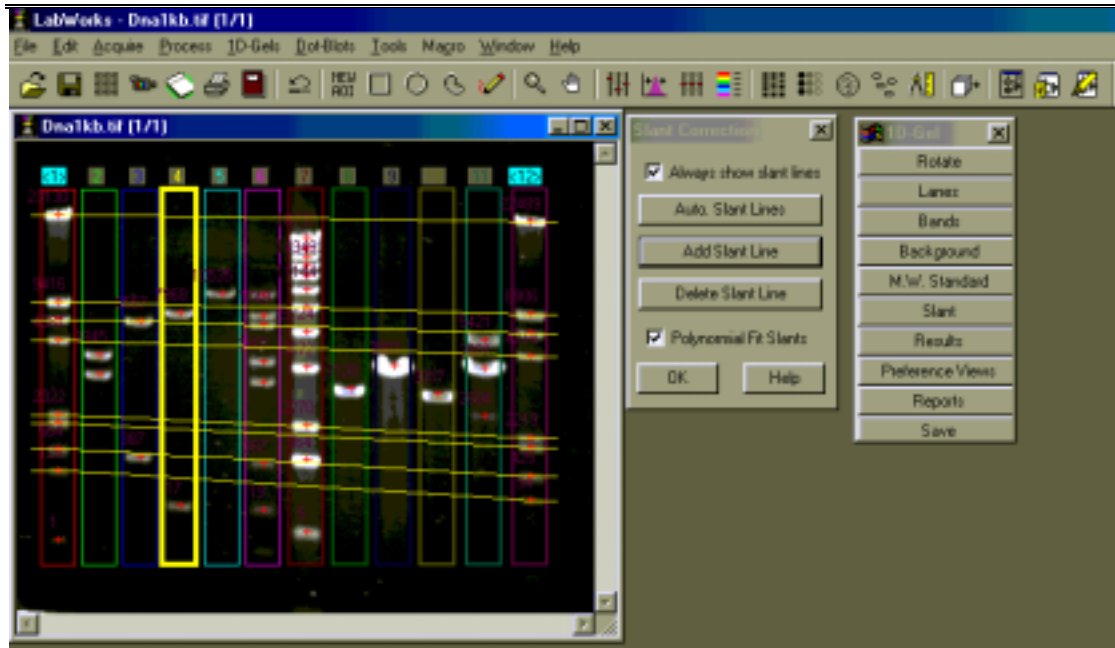
Allow One Missing Band:勾選此鈕其功能為允許一個錯失的 band，假如這 band 太弱將不會偵測到即無法顯示出。

Allow Two Missing Band: 勾選此鈕其功能為允許二個錯失的 band，假如這 band 太弱將不會偵測到即無法顯示出。

Positioning Molecular Weight Markers

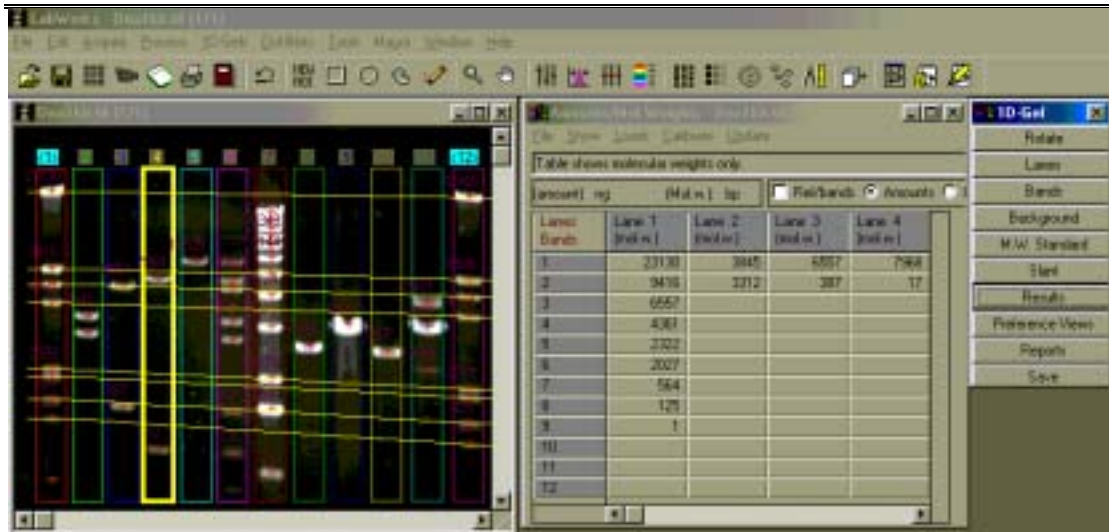
這 **Locate** 鈕為允許你在這設計的 lane 去調整標準提示，當你按在 **Locate**，你將看到 **Positioning Molecular Weight Standard** 對話盒。

去鎖住一個 Marker，拖曳 marker over a band 或按在 marker，一個藍色盒子環繞一個指示分子量值，這 marker 在這 band 上將被鎖住。按 **Detach All** 鈕允許你去移動所有 markers 上或下，**Reset** 將其它未鎖住的所有 marker 和改變它們的相對位置去確定到一個對數的級數，當你完成標準分子量的位置時，按 **OK** 鈕回到 **Molecular Weight Standard** 對話盒。



Slant :

如果有兩條同樣 marker 的 lane, 可用 slant 將其 band 對齊。按 **Add Slant Lines** ⇒ 出現 "Define Lines of Equal Molecular Weight" 視窗 ⇒ 將滑鼠拖曳到圖檔上 ⇒ 點選在兩道 marker 中相同 size 的 band ⇒ 一次一組 ⇒ 下一組按 **Next M.W** 新增 ⇒ 好了按 "OK" ⇒ 再選一次 "OK"



Result :

出現” Amount/ Mol. Weight.slant.tif ”的視窗，其中顯示出每個 lane 中 band 的分子量大小。若要分析每條 band 的量，則點選 **Calibrate**⇒**Standard Calibration Curve**⇒點選 marker 中已知其量的 band (可在 Band volume 看到此 band 的 volume) ⇒在 Band Amount 內輸入此 band 的量⇒在 Amounts in 中輸入單位，如 ng、μg⇒點選 ” OK ”⇒在 ” Amount/ Mol. Weight.slant.tif ” 視窗⇒點選 **Show**⇒**Both**⇒即可看到資料 (包括 band 的 size 大小與 amount)，若要存檔⇒點選 **File**⇒**Data to File**⇒選擇欲儲存的資料夾及鍵入檔案名稱，檔案類型為 txt 檔 (純文字檔)

Amounts/Mol.Weights - Data.kh.sl (1/1)

File Show Loads Calibrate Update

Amount in each band, in relation to amount loaded in each lane.

Amount: ng (Mol.w): bp ☒ Rel/bands ☒ Amount ☐ Rel.ab. ☐ % ☐ 100 ☐ max.OD

Lanes Bands	Lane 1 (mol.w)	Amount	Lane 2 (mol.w)	Amount	Lane 3 (mol.w)	Amount	Lane 4 (mol.w)	Amount	Lane 5 (mol.w)	Amount	Lane 6 (mol.w)	Amount
1	23180	37.968	3845	51.844	6557	57.346	7568	62.692	105.25	100	105.25	13.930
2	9418	15.461	3212	40.196	387	42.654	17	37.108			7749	17.966
3	6557	10.125									6381	15.133
4	4361	5.4470									3861	18.001
5	2322	5.4398									3217	16.219
6	2027	8.2114									387	10.531
7	564	5.7761									19	8.5895
8	125	3.5267										
9	1	3.0461										
10												
11												
12												
Sum		100		100		100		100		100		100
In Lane		100		100		100		100		100		100