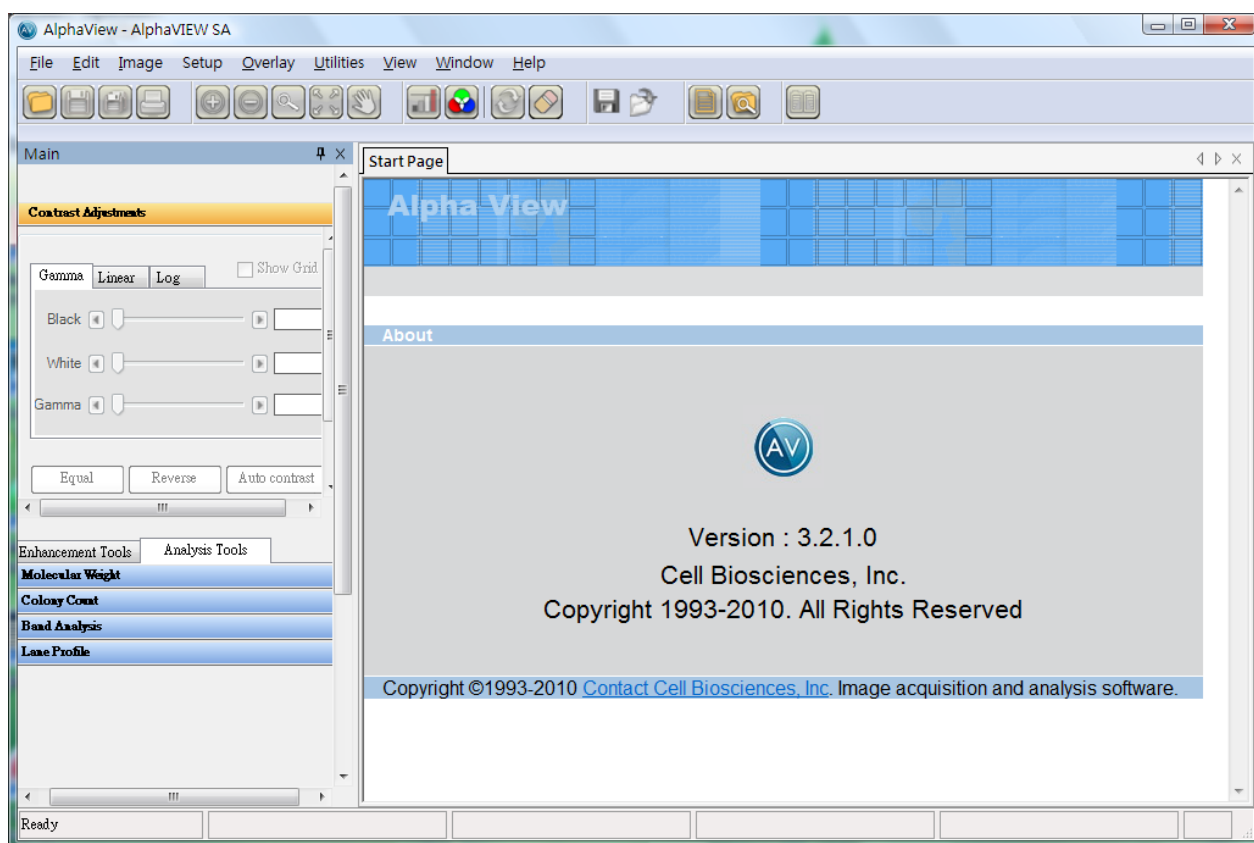


# ProteinSimple AlphaImager HP System

## 中文操作手冊







騰達行企業股份有限公司  
[www.unimed.com.tw](http://www.unimed.com.tw)



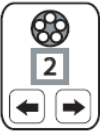
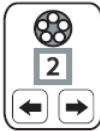

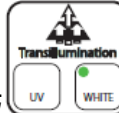
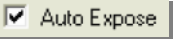

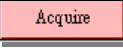
# AlphaMager Series

## 數位化影像分析系統簡易操作法

### A. 開啟軟體：

1. 開啟軟體 
2. 點選主工具列  鈕，開啟影像擷取視窗
3. 開啟側邊日光燈 
4. 手動調整樣品位置，鏡頭焦距與影像大小 

### B. 影像擷取：

設定	螢光質染色 DNA/Protein 膠片	X 光底片、蛋白質膠片
樣品放置	放置 UV 燈面板上	放置在白光板上
濾光鏡片位置		
打開燈源	UV 燈 	白光板 
再次調整光圈，Zoom 與焦距	見即時顯示之影像，如有需要則手動微調	見即時顯示之影像，畫面太亮則須縮小光圈
點選		
點	 鈕	
選	 鈕完成影像拍照	


### C. 影像調整：

調整 **Black, White, Gamma** 調整影像之明暗與對比

### D. 儲存影像：

點選主工具列  可儲存影像檔案

### E. 列印：

按  即可列印影像



# 目 錄 ----- 3

## Basic System Operation

工具列功能說明 -----	5
基本影像擷取步驟 -----	7
基本影像處理功能 -----	9
影像對比調整	
影像方位調整	
影像裁切	
文字注釋	
存檔方式	

## Enhancement Tools

The Zoom Tool -----	11
The Rotate / Flip Tool -----	12
Histogram -----	13
Annotations -----	14
False Color -----	16
Image Filters -----	17
Movie Mode -----	19

## Analysis Tools

Band Analysis -----	20
Lane Profile Analysis -----	24
Molecular Weight Calculation -----	32
Colony Auto Count -----	35
Manual Count -----	37
Analyzing Arrays -----	38
The Scoring Function -----	40
The Ruler Function -----	41

故障排除 -----	42
------------	----

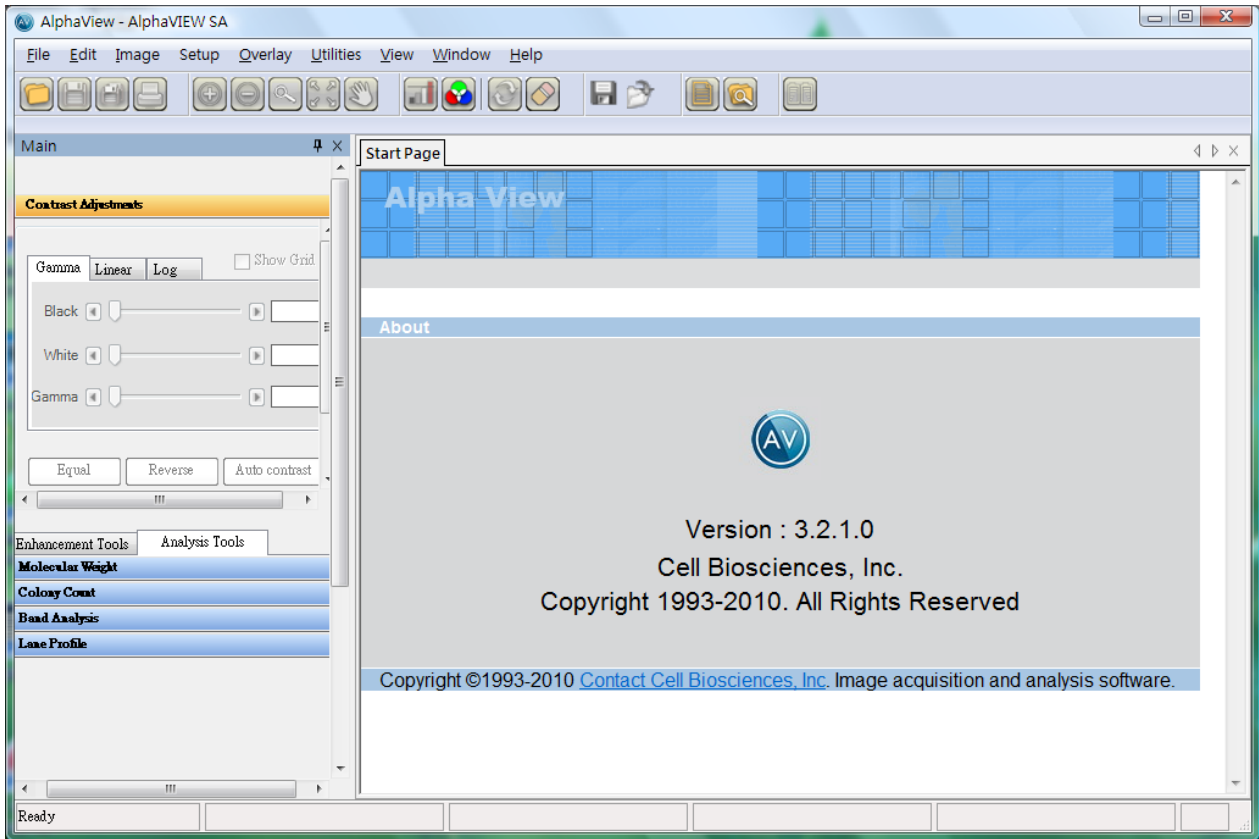
日常保養與注意事項-----	43
----------------	----



## Basic Imaging Functions



軟體開啟後，顯示 Alphamager HP 軟體主畫面：



工具列功能說明：

### **Contrast Adjustments**: 調整影像之明暗與對比

**Show Grid**: 將窗格圖加附於影像，用於調整物件的位置時，以便於對齊之用

**Gamma**:

**Black**: 調整全影像的黑色階，(ex.值為 50 表示 0-50 的 pixel 值皆定義為黑色)

**White**: 調整全影像的白色階，(ex.值為 150 表示 150-255 的 pixel 值皆定義為白色)

**Gamma**: 調整全影像的亮度線性

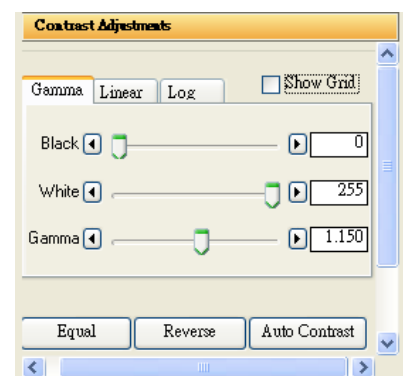
**Linear**: 將影像之灰階值以直線線性關係方式調整

**Log**: 將影像之灰階值以對數線性關係方式調整

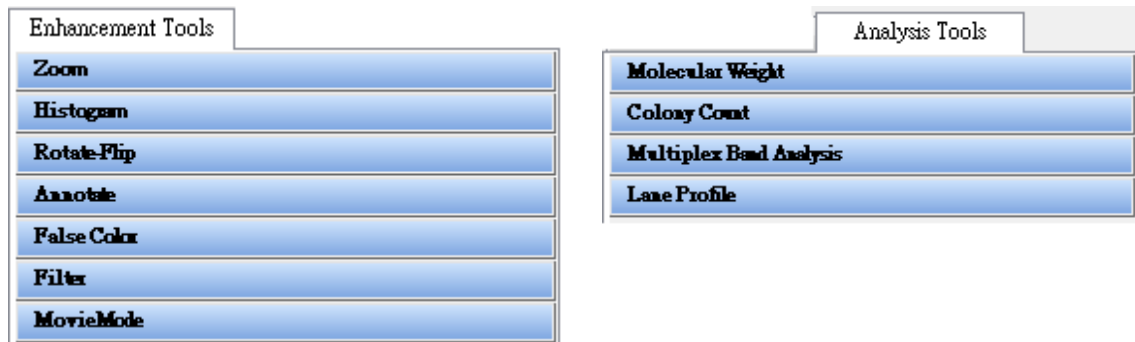
**Equal**: 自動調整影像於最大對比狀態，顯示最弱之 band

**Reverse**: 將原有影像之灰階值，黑白轉換

**Auto Contrast**: 自動調整影像之最佳灰階值與對比



**Tool Box:** Enhancement Tools & Analysis Tools 主要分析工具箱，請見後頁說明




工具列主選單:

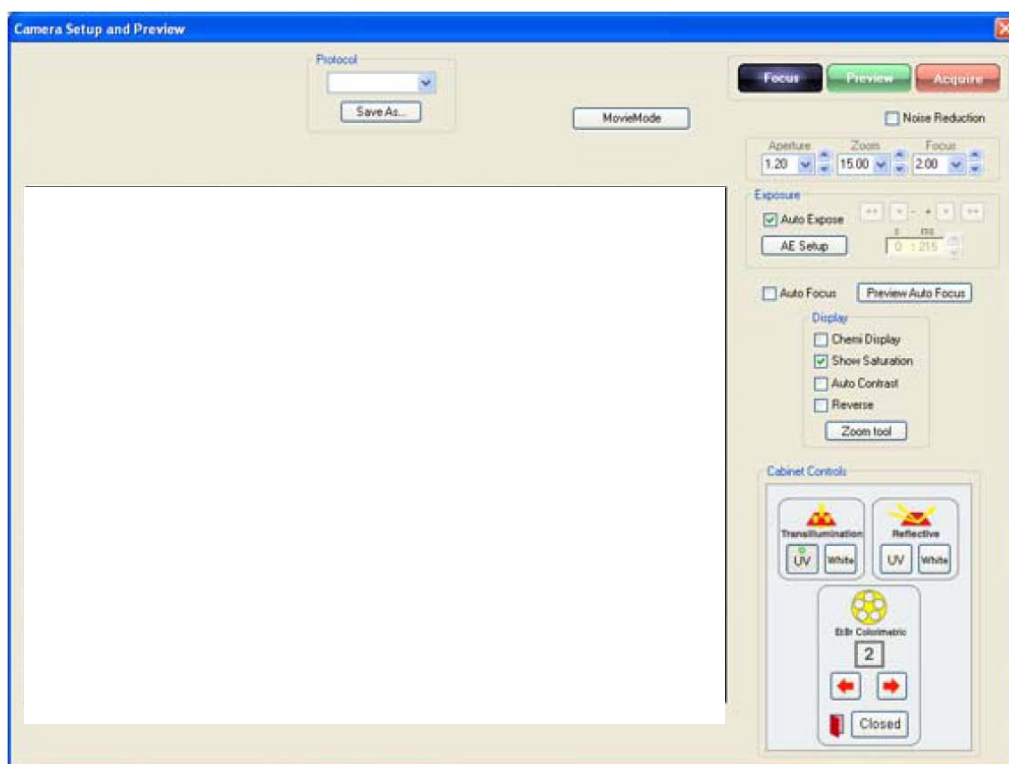


- |   |                          |   |            |
|---|--------------------------|---|------------|
|    | 開啟檔案                     |    | 列印影像       |
|   | 儲存檔案                     |   | 全部儲存       |
|  | 放大影像                     |  | 縮小影像       |
|  | 影像原始大小顯示                 |  | 影像符合螢幕大小顯示 |
|  | 影像畫面移動工具                 |  | 影像畫素飽和檢視   |
|  | multi-channel 多重螢光影像重疊顯示 |   |            |
|  | 影像之灰階值與大小回歸預設值           |   |            |
|  | 清除影像上所註記之文字與進行的分析紀錄      |   |            |
|  | 連結並開啟記事本程式               |   |            |
|  | 開啟檔案管理程式                 |   |            |
|  | 多重影像視窗開啟                 |   |            |



## 基本影像擷取步驟

點  鈕開啟影像擷取視窗



### 擷取影像之基本流程：

#### EtBr、SYBR Green 等螢光染色電泳膠片

- ⇒ 點選 Focus 模式
- ⇒ 開啟暗箱之日光燈
- ⇒ 將物件置於 UV 燈箱之上
- ⇒ 見螢幕上顯示之即時影像, 調整物件位置
- ⇒ 點視窗上 Aperture, Zoom & Focus 鈕, 調整鏡頭之光圈, 影像大小與對焦
- ⇒ 關閉暗箱之日光燈與暗箱門, 確認 Filter 位置指向 2 號
- ⇒ 打開 UV 燈
- ⇒ 點選 Expose preview 模式, 見螢幕上顯示之即時影像
- ⇒ 調整 Expose time 曝光時間與光圈, 或直接點選 Auto Expose 由軟體選擇最佳曝光時間
- ⇒ 點選 Acquire Image 擷取影像, 畫面回到主視窗
- ⇒ 調整 Black/White/Gamma 值, 調整灰階與對比
- ⇒ 儲存影像檔案
- ⇒ 點 Print 可列印

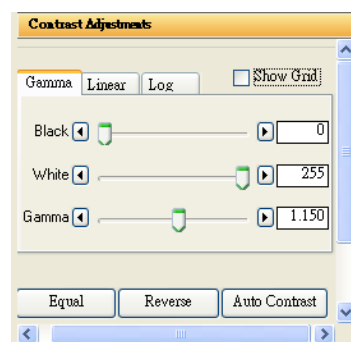
## X 光底片、蛋白質電泳膠片等

- ⇒ 點選 Focus 模式
- ⇒ 翻下暗箱內之白光板，將物件置於白光板之上
- ⇒ 打開白光板燈源
- ⇒ 見螢幕上顯示之即時影像，調整物件位置，Zoom, 光圈與對焦
- ⇒ 關閉暗箱門
- ⇒ 點選 Expose preview 模式，直接點選 Auto Expose 由軟體選擇最佳曝光時間
- ⇒ 或不點選 Auto Expose, 見螢幕上顯示之即時影像，手動調整 Expose time 曝光時間與光圈
- ⇒ 點選 Acquire Image 擷取影像，畫面回到主視窗
- ⇒ 調整 Black/White/Gamma 值，調整灰階與對比
- ⇒ 儲存影像檔案
- ⇒ 點 Print 可列印

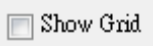


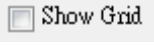
## 基本影像處理功能：

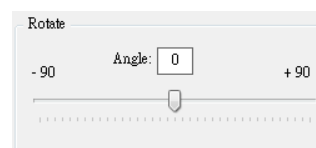
### 1. 影像對比調整：

- (1) 點選工具 Contrast Adjustment
- (2) 分別調整 Gamma, White, Black 三個值，影像視窗同步顯示調整後的對比
- (3) 或直接點 Auto Contrast 軟體自動調整對比



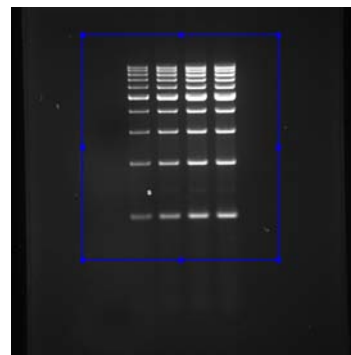
### 2. 影像方位調整：

- (1) 先以滑鼠勾選 Contrast Adjustment 工具列中的 ，此時影像畫面出現紅色格線
- (2) 然後點選 Enhancement tools 工具列中的 Rotate-Flip 工具
- (3) 以滑鼠拖曳調整旋轉角度
- (4) 點  可左右翻轉，點  可上下翻轉
- (5) 再次點  則可關閉格線顯示





### 3. 影像裁切：


- (1) 點選上方主選單 Edit/Edit Activation
- (2) 然後以滑鼠拖曳在影像之上劃出一藍色的方框，框選欲留下的影像
- (3) 接著點選上方主選單 Edit/Crop
- (4) 裁切後的影像另開啟一影像子視窗顯示



### 4. 文字註釋：

- (1) 點選 Enhancement tools 工具列中的 Annotate 工具 
- (2) 以滑鼠點選  之後，再點於影像之上即可出入文字，輸入完成後按滑鼠右鍵使之回復箭頭指標
- (3) 此時圖上的文字可以滑鼠拖曳移動位置
- (4) 對文字方塊點兩下，可以修改文字內容  
(其他文字功能詳見 toolbox 之說明)


### 5. 存檔方式：

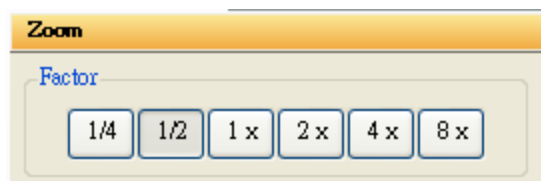
- (1) 直接存檔，保留原始檔案－直接點選上方工具列  鈕存檔，儲存格式為 TIFF
- (2) 儲存 JPEG 格式：點選上方主選單 File/Save Modified / Save Modified Grayscale，然後選擇檔案格式為 JPEG 即可
- (3) 儲存影像如影像視窗所顯示且融合文字同時儲存為單一個檔案：點選上方主選單 File/Save Modified，可選擇灰階或彩色影像，格式可選擇 TIFF, JPEG 或 BMP 等



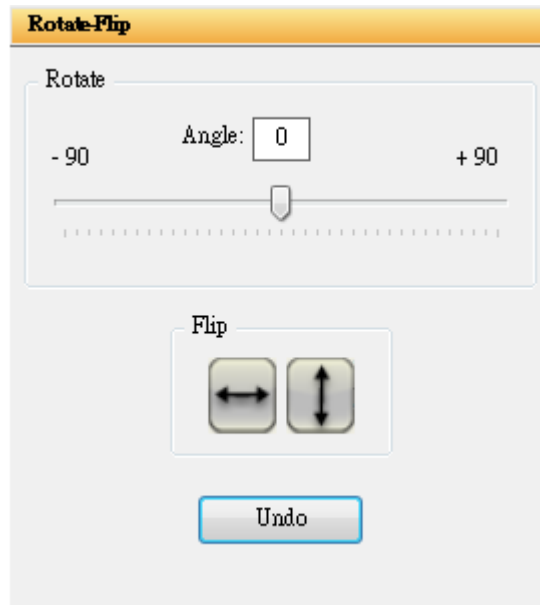
## ToolBox: Image Enhancement Tools



- Zoom: 可放大影像 1x、2x、4x、8x 等四種倍數, 與縮小 1/2x、1/4x 等二種倍數; 影像放大時, 可以滑鼠移動 toolbox 中影像全畫面中之綠色方框至所欲觀察之部位, 或點選工具列之  鈕, 即可以滑鼠於影像畫面隨意移動放大後之影像。

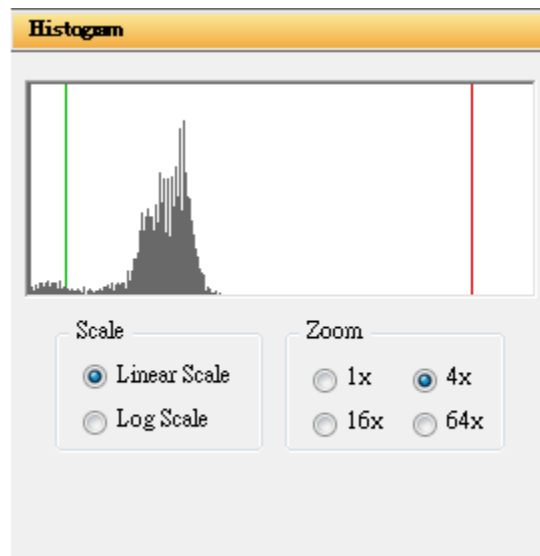


- Rotate/Flip: 調整影像之角度

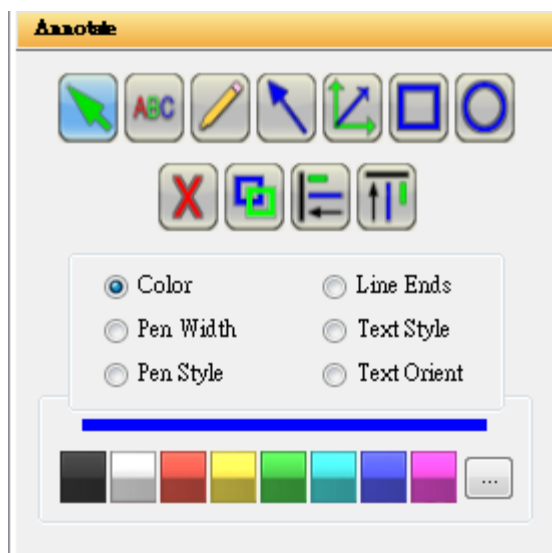


- Rotate: 可旋轉影像，(+) 值表示順時針方向，(-) 值表示逆時針方向。每次最小及最大的旋轉角度為 1 度和 90 度，可依實際的需求作任意角度之旋轉 (範圍為  $\pm 90$  度)，以滑鼠於刻度上點一下，可作  $\pm 1$  度的旋轉。
- Flip: 可翻轉影像。(↑) 表示上下 180 度的翻轉，(↔) 表示左右 180 度的翻轉
- Undo: 還原至未執行旋轉動作之前的影像。

- Histogram: 將全影像的灰階圖素 (pixel) 值，作統計圖顯示並將每一灰階圖素 (pixel) 數目，以線性 (linear scale) 或對數 (log scale) 方式顯示於座標上，縱軸表示圖素數量，橫軸則表示灰階度，並且可以放大刻度至 1、4、16 及 64 倍。



- **Annotate:** 註解功能，可於影像之上加入文字、線條、框線等註記，亦可作文字與線條顏色、粗細、及形式的設定，文字字型的設定，文字旋轉的設定。註解文字的上下或左右對齊的設定。基本的繪圖工具，複製與修改皆不影響原始影像的性質。



作圖工具列: 以滑鼠點選工具之後, 就可在影像上進行標示



文字輸入, 滑鼠點選後再點於影像上任意位置, 即可輸入文字



任意線條



任意角度直線



45 度角倍數之角度直線



方形



圓形或橢圓形

以上工具以滑鼠點選後即可於影像上任意位置作標示



刪除



複製: 先點選要刪除或複製的物件, 再點選此項工具即可

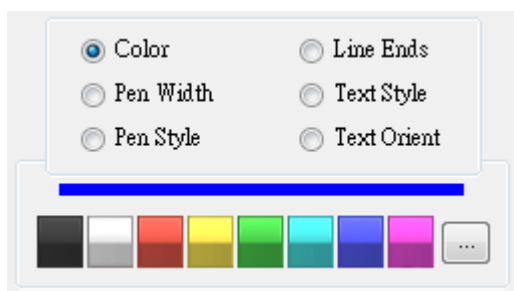


物件對齊: 先以滑鼠多選要做對齊的物件, 再點選此項工具即可

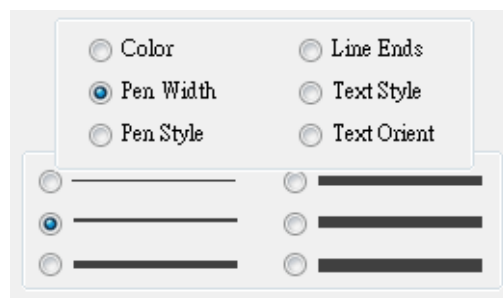


在任何模式下, 點選此工具可使滑鼠回復指標模式

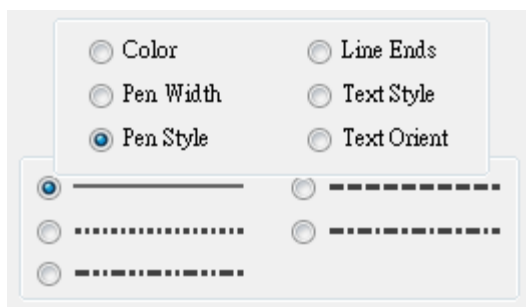




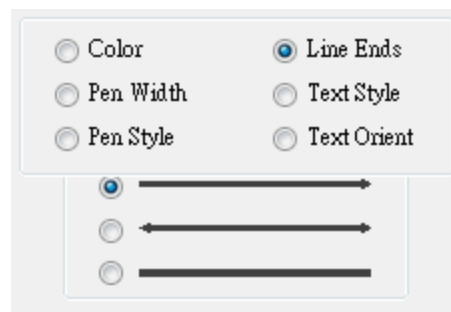
文字與線條之顏色選擇



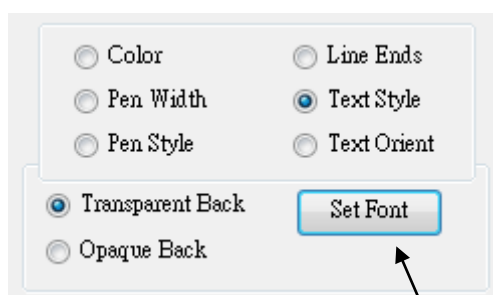
線條粗細之選擇



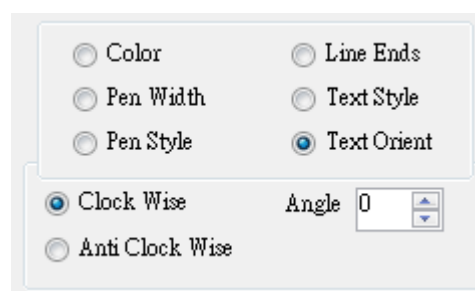
線條形式選擇



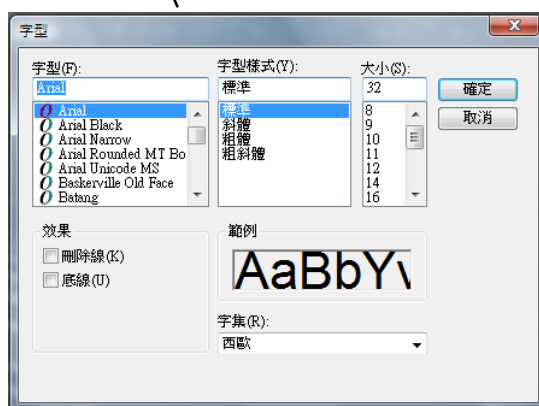
線條端點 (箭頭) 選擇



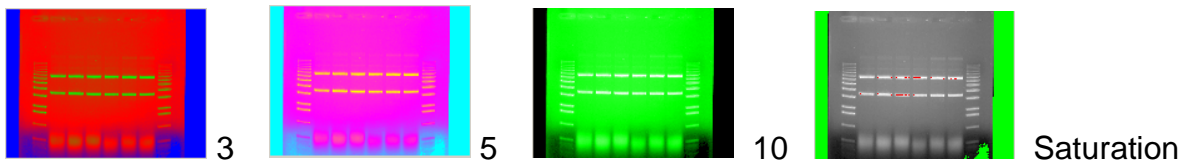
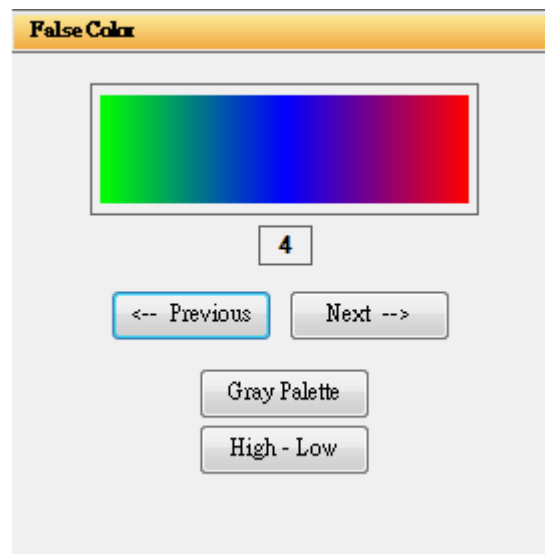
文字字型與大小之選擇  
點選 Set Font 可修改字型



文字旋轉角度之選擇



- False Color: 影像灰階顯示，飽和點顯示，與其他顏色顯示



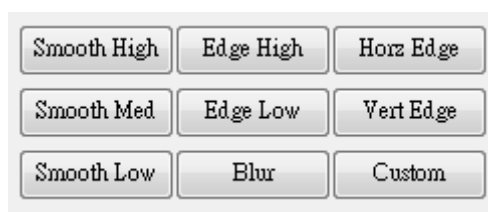
- Gray Palette: 初始設定值或是標準灰階圖素 (pixel) 值 (0-255)。
- High - Low: 將灰階影像中之黑色值 (0) 以綠色顯示，白色值 (255) 以紅色顯示，綠與紅色用來表示影像中有哪些圖素 (pixel) 值過飽和或不在灰階線性區內 (只灰階值是 0 或 255 圖素之值)，而影像圖素之值落在線性區內則以 0-255 灰階表示出。
- <-- Previous    Next -->: 可反覆的選取不同的調色盤。另有十組不同彩色為主的灰階轉映射，功能為適合不同螢光染色劑的特性而定，例如 Coomassie-stained protein gel 適用 Palette 9 將之以藍色顯示，SYBR-Green I-stained protein gel 適用 Palette10 將之以綠色顯示，EtBr-stained gel 適用 Palette 11 將之以褐色顯示

- **Filters:** 作過影像濾除後，會將原始影像初始設定改變，建議先儲存原始影像檔案後再作濾除動作。



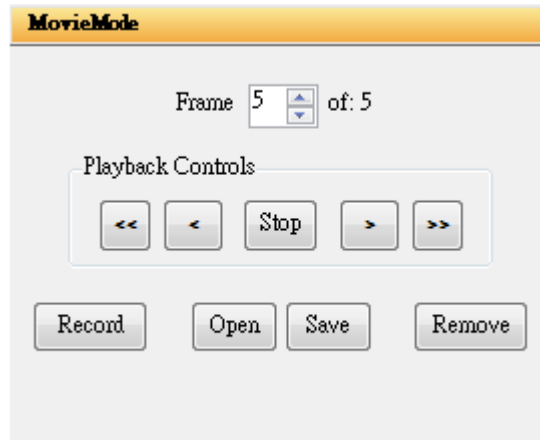
- **Sharpen:** 加強影像的銳利度 (sharpness) 及邊界的對比，亦可能提高了影像雜訊。
- **Noise:** 去除不規則的影像雜訊以及影像經處理後所產生的模糊影像。(例如去除 gel 上的雜質亮點等)
- **3-D:** 使膠片影像有立體 3D 的感覺，最適合用來找尋膠片影像中微弱或不清晰的 band。
- **Undo:** 將經處理後的影像回復至原始的影像。

More:












- **Smooth:** 此功能用來減低影像中的雜訊並同時改變 (減低) 影像明暗度。
- **Edge:** 將在區域中有固定的明暗度或線性漸增明暗度的影像圖素設定為黑色，而區域中快速改變的明暗度之影像 pixel 則相對的被強調顯示出來，建議作 edge 處理後的影像最好再調整白色階的 pixel 值。
- **Horizontal Edge:** 將增強水平邊界的亮度，可以幫助精確顯示出 band 的位置，建議作了 Horizontal Edge 處理後，可能出現較黑的背景值，所以可以減少白色階值，可的較佳的影像。
- **Vertical Edge:** 將增強垂直邊界的亮度，如同上述之方法調整白色階值可得較佳的影像。
- **Custom Filter:** 提供使用者作有效的濾除處理，使用者可自行訂定加權值得矩陣濾除運算元。(提供給影像專業人員使用)

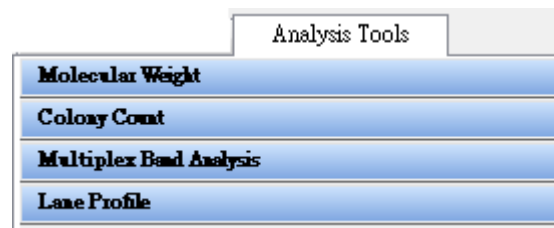
- **Movie:** 可播放所擷取到的連續影像檔。



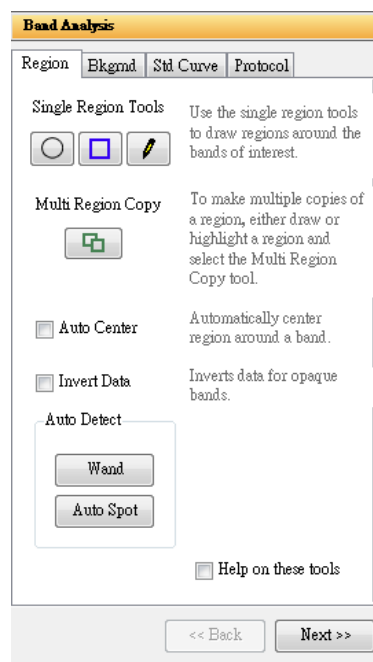
#### Movie Function:

-  : 快速倒轉影像至第一張。
-  : 倒轉方式撥放影像。
-  : 停止撥放。
-  : 正向撥放影像。
-  : 快速撥放影像。
-  : 連結至連續影像擷取之設定畫面，開始抓取影像。
-  : 從影像緩衝記憶體中清除所有連續影像。
-  : 開啟已儲存之連續影像檔。
-  : 儲存連續影像檔。

## ToolBox: Image Analysis Tools



### ▪ Multiplex Band Analysis:




步驟：

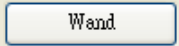
⇒ Invert Data: 若影像為白色之背景則請點選，將黑與白階互相轉換

⇒ Single Region Tools    手動框選工具：

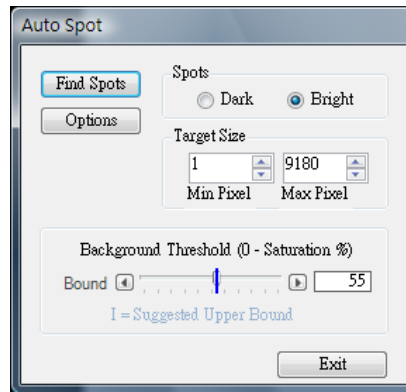
點選後即可以圓形、橢圓或方形及自由框取方式，手動框選標的物

⇒ 複製標的框: 點工具列 “” 後以滑鼠點於目標區域即可，按滑鼠右鍵可結束

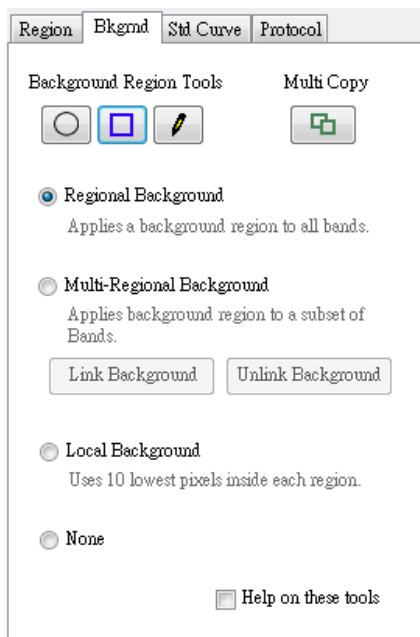
⇒ Auto Detect 自動框選工具：

 : 自動框選單一標的物方式，點選後出現一子視窗，選擇偵測 band 之方式及靈敏度，滑鼠指標則呈魔術棒圖形，將之點於欲框選之 spot 或 band 之上即可，點滑鼠右鍵，可重複前次動作

**Auto Spot**：自動偵測框選區域內物件之方式，點選後出現如下子視窗，以滑鼠於影像中框選欲分析之區域，選擇偵測 band 之形式 (亮或暗點)，然後點 **Find Spots** 即自動偵測，可調整偵測之靈敏度，再點一次 **Find Spots** 可再次偵測，點選 **Exit** 即關閉子視窗即可



⇒ 背景校正工具：



手動框選背景區域，點選後即可以圓形、橢圓或方形及自由框取方式，手動框選標的區域

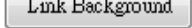
背景校正方法：


- ☒ **Regional Background**  
Applies a background region to all bands. : 所有標的指定扣除單一指定背景區

☒ Multi-Regional Background

Applies background region to a subset of Bands.

:可指定部分標的扣除指定背景區

⇒ 將背景框格與標的物框格皆選取，再點 ，則各別的標的物會自動被扣除同一背景值

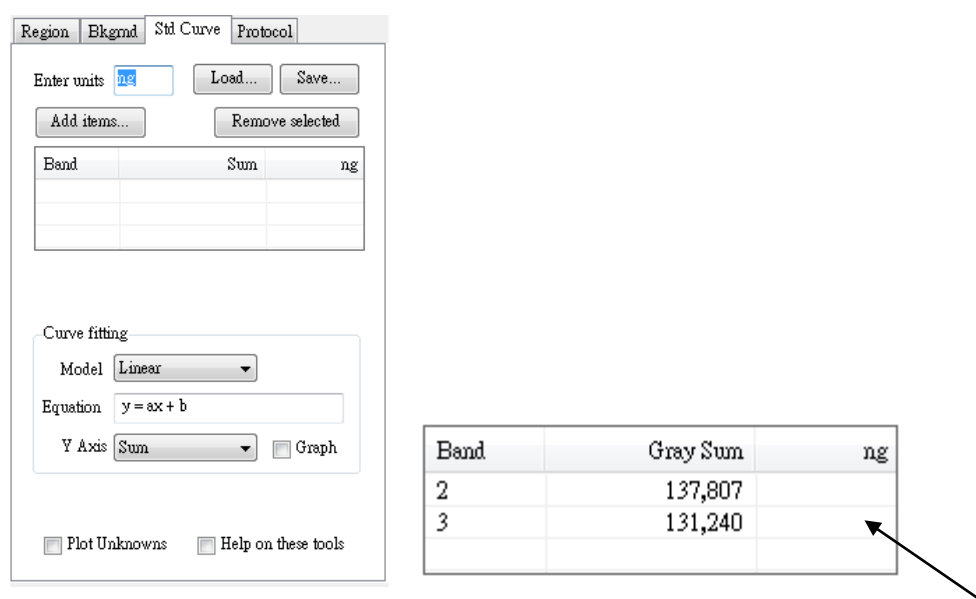
⇒ ：取消所有相關於標的物的背景值扣除，使其還原為原始值

☒ Local Background

Uses 10 lowest pixels inside each region.


:自動將所框選之區域的背景值算出，並且資料視窗中顯示出來，而且背景值也自動的被扣除

**定量標準值指定：**可用來分析影像中 spot 或 band 的濃度，可單點已知點計算或作出標準曲線計算



Band	Gray Sum	ng
2	137,807	
3	131,240	

⇒ 輸入計量單位 (註記使用，其單位與計算結果無關聯)

⇒ 點選  後以滑鼠點選一已知的標準標的物，在單位一欄輸入已知的量值

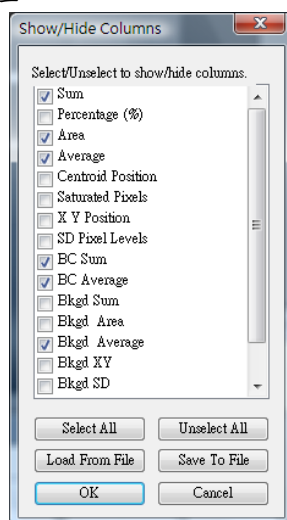
⇒ Curve fitting 點選運算方式 “Log Linear”

運算結果顯示於 Band analysis results 子視窗:



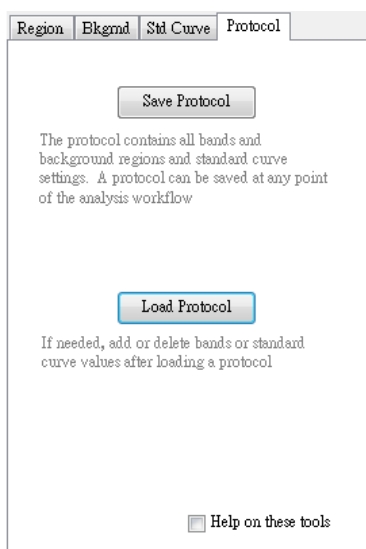
Band analysis results							
Export				View			
Band	Sum	Area	Average	BC Sum	BC Average	Bkgd Average	ng
2	137,807	1,083	127	60,914	56	71	-
10	55,583	230	242	39,253	171	71	79.92
11	60,668	256	237	42,492	166	71	85.49
12	38,417	165	233	26,702	162	71	56.44
13	53,032	222	239	37,270	168	71	76.93
14	106,151	765	139	51,836	68	71	-
15 s	76,227	705	108	26,171	37	71	100.00
16 s	17,106	690	25	-31,884	-46	71	5.00

⇒ View: 可更改資料顯示欄位

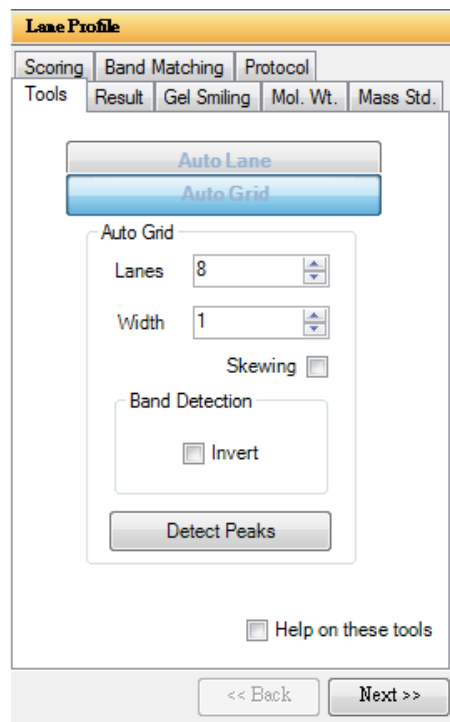


⇒ Export: 可將數據列印或儲存

⇒ Protocol 可將 Band Analysis 分析設定參數與步驟儲存



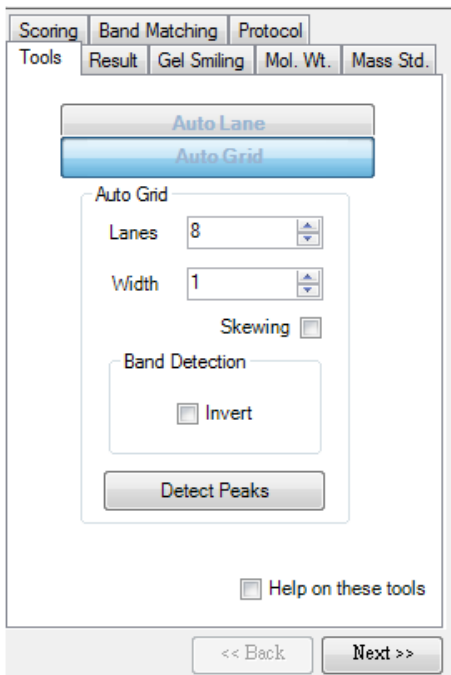
- Lane Profile



具兩種偵測方式：

- Auto Grid: 將所選取 (設定) 之窗格的明暗度計算出來，其原理以綠色線中的影像圖素值作一平均值，而標於座標圖上，經 scan 後的所有資料及影像均會顯示於同一螢幕上。
- Auto Lane: 點選後，先於畫面上框出欲分析之範圍，點選 Find lanes 隨即顯示經自動搜尋掃描後的所有資料及影像，均會顯示於同一螢幕上。

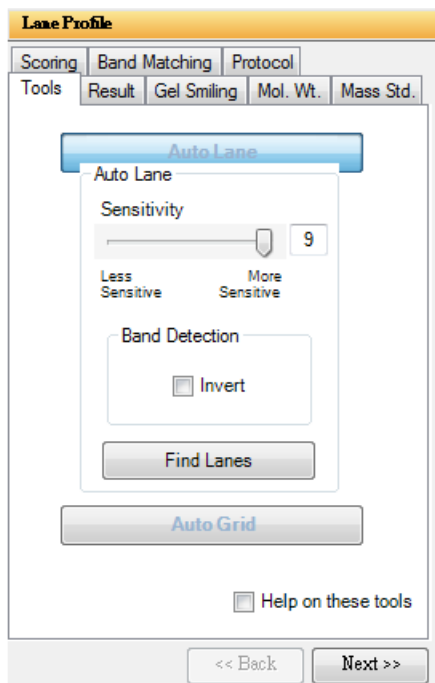
## Auto Grid:



### 步驟：

- ⇒ Lanes: 調整欲掃描 lane 的數目，紅色框線為 lane 之範圍。
- ⇒ 可以滑鼠按住窗格以調整其大小及位置。
- ⇒ Skewing: 點選之後可以改變窗格四角的內縮或外擴以配合不規則之影像。
- ⇒ Width: 調整紅色框線內綠線之寬度，其之間的寬度為計算 pixel intensity 之範圍。
- ⇒ 若影像為白色之背景則請點選 ☐ Invert，將黑與白階互相轉換。
- ⇒ 然後點  即可掃描並計算。

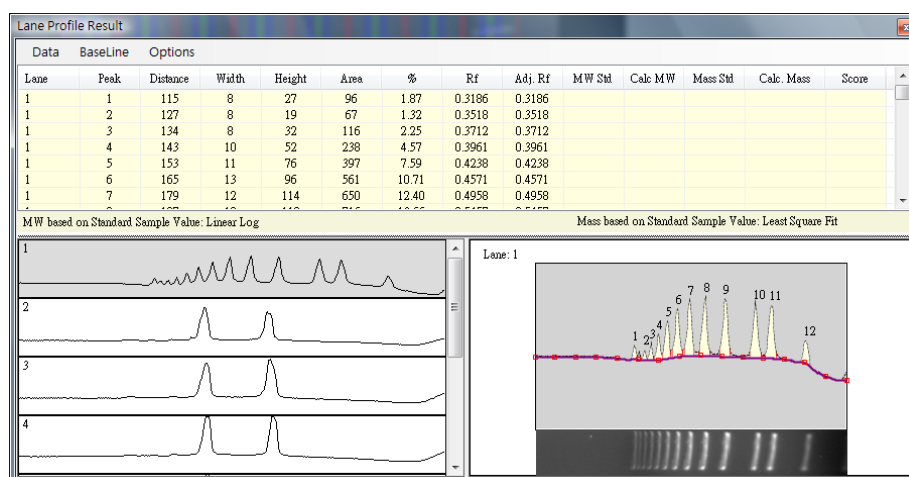
## Auto Lane:



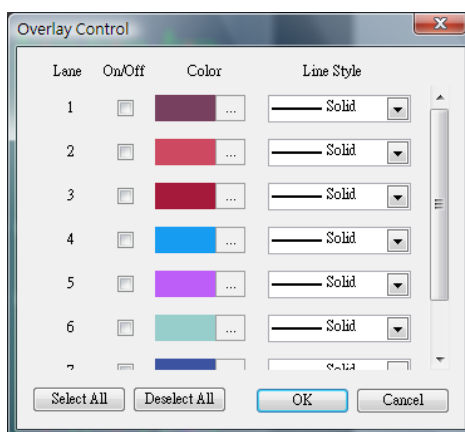
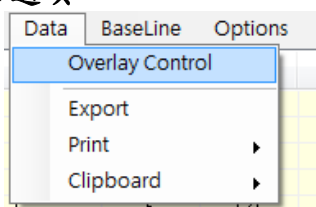
### 步驟：

- ⇒ 點選 Auto Lane 之後出現如上圖顯示
- ⇒ 於畫面上以滑鼠框出所欲偵測之範圍
- ⇒ 若影像為白色之背景則請點選 ☐ Invert 黑與白階互相轉換
- ⇒ 點  即可自動搜尋 Lane 與 Band 之位置

## ⇒ Results 子視窗

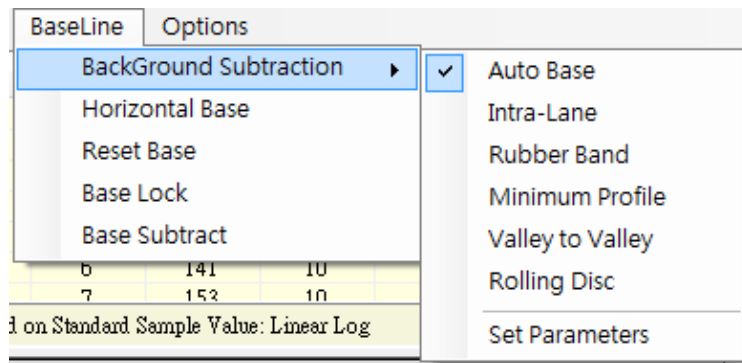


## Data 選項：



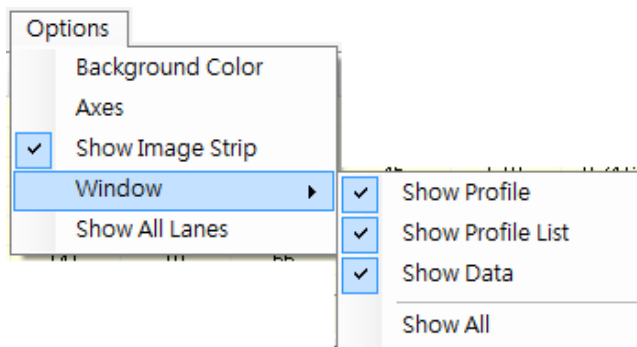
- **Overlay Control:**
  - On/Off 可點選 lane 之 curve 圖形重疊顯示
  - Color 可改變各 lane 之波圖線條顏色
  - Line Style 可改變各 Lane 之波圖線條型式
- **Export:** 可將計算資料列印出或儲存
- **Print:** 列印計算結果或圖形
- **Clipboard:** 可將分析結果之數值及圖形暫存於剪貼簿程式，直接於其他應用程式貼上即可

## Base Line 選項:



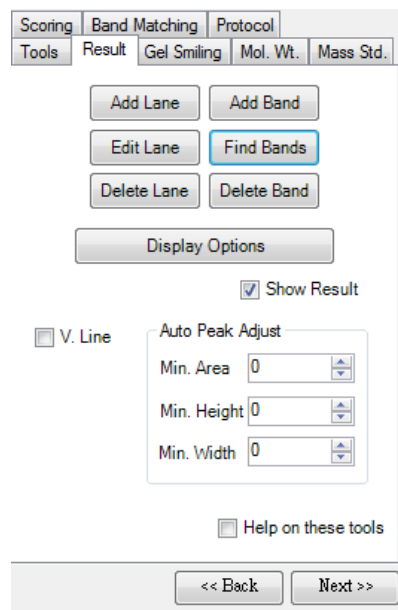
- **BackGround Subtraction:** 提供多種背景消除之方法
- **Horizontal Base:** 出現一水平的基準線，可在水平基線上，上下的移動至所需的位置。
- **Reset Base:** 將一平直的線設定在圖素的明暗度為 0 的位置。
- **Base Lock:** 當設定好一 lane 的基準線後，選擇此項即可自動亦設定此一基準線應用到所有的 lanes。解除此一設定則再點選一次即可解除。
- **Base Subtract:** 將一基準線移動至所需位置，再按此一設定後，則 peak 的圖線往下移動，因為 peak 的圖線全部減去基準線的直使然。

## Option 選項:

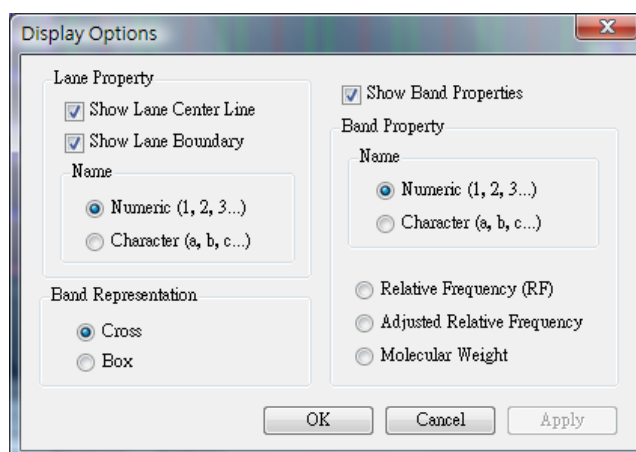


- **Background Color:** 設定 peak 圖線的背景顏色。
- **Axes:** 顯示 lane graph 之座標
  - X-axis 代表圖素圖現在 lane 中位置。
  - Y-axis 代表每一圖素明暗度值。
- **Show Image Strip:** 於 lane graph 中顯示所選取之 lane 影像，其中的 band 對應到圖線中的每一 peaks。
- **Windows:** 選擇顯示哪些子視窗
- **Show All Lanes:** 於 Profile list 子視窗中顯示所有 lane

## Lane & Band Edit 步驟:



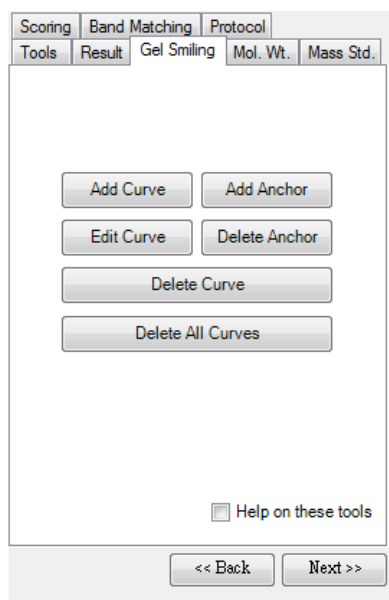
- ⇒ Add Lanes: 可於原先框選區域中增加 lane，點選此按鈕後，滑鼠移至影像上方則出現長方框，以滑鼠置於影像上欲加入 lane 之位置即可增加一 lane
- ⇒ Edit Lanes: 點選此按鈕後可移動 lane 之中線，用以修正 lane 之歪曲
- ⇒ Delete Lane: 點選此按鈕後將滑鼠點於欲刪除之 lane 上即可刪除
- ⇒ Add Band: 點選此按鈕後點於欲增加之位置即可加入條帶
- ⇒ Find Bands: 更改 sensitivity 與 lane 之後點選之，重新偵測 band
- ⇒ Delete Band: 點選此按鈕後點於欲刪除之 band 上即可刪除之
- ⇒ Display Options: 可更改顯示於影像上之形式



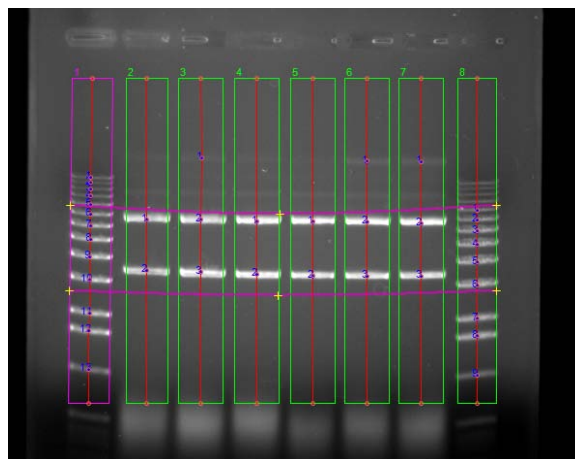
- Lane Property
  - Show Lane Center Line: 顯示 lane 之中間線
  - Show Lane Boundary: 顯示 lane 之邊界框

- Name: Lane 之編號顯示, 數字 (Numeric) 或 字母 (Character)
- Band representation: 偵測所得 band 之外框, 十字 (Cross) 或 方框 (Box)
- Show Band Properties: 選擇可顯示 Band 之性質, 編號, Rf 值或分子量

Gel Smiling: 此工具可校正因電泳時電流不均所造成的影像歪斜

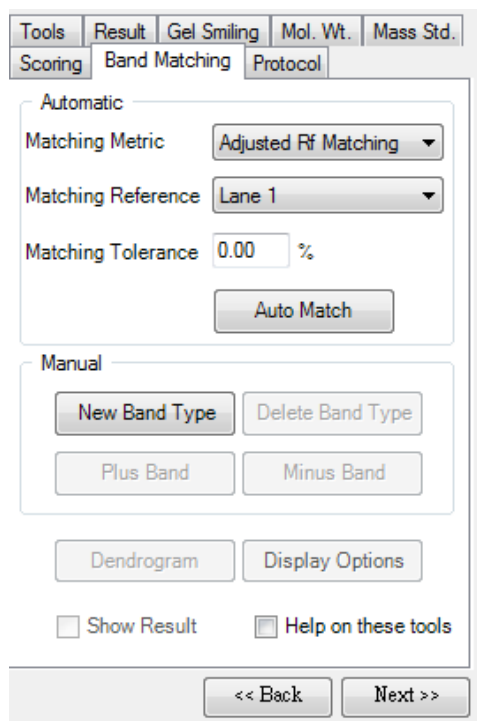


- 點選 **Add Curve**, 以滑鼠點於影像中, 欲增加校正線之位置即可新增一條校正線
- 點選 **Edit Curve**, 以滑鼠按住十字標記可將之移動位置修改校正線曲度
- 如欲增加彎曲節點, 點選 **Add Anchor** 後點於校正曲線之任意點即可
- 刪除彎曲節點: 點選 **Delete Anchor** 後點於十字標記之上即可
- 刪除校正曲線: 點選 **Delete Curve** 將滑鼠指標移至校正曲線之上即可
- 再點選 Rf Curve Tools, 可關閉校正曲線之顯示, 但保留校正曲線之設定



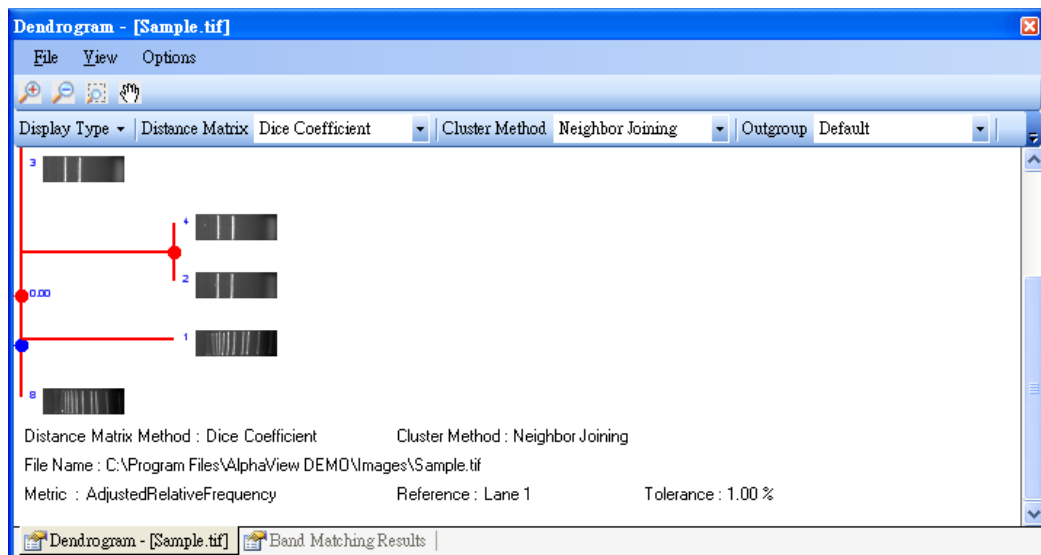
## 樹狀圖作圖

⇒ 點選 Band Matching

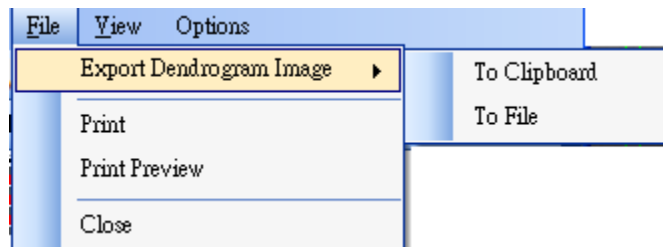


- ⇒ Matching Metric: 選擇 Adjust Rf Matching 作為位置配對之依據
- ⇒ Matching Reference: 點選位置配對之參考 lane, 可選擇標準株之 lane
- ⇒ Matching Tolerance: 設定 band 位置之可容忍範圍, 表示其 band 與 reference lane 之 band 之位置差異程度於此數值範圍內, 則視為同一 band type
- ⇒ 點 Auto Match 即可
- ⇒ Manual 手動修正工具中:
  - New Band type: 可新增 band type, 以滑鼠點選此按鈕後點於影像上即可
  - Delete Band type: 可刪除 band type, 以滑鼠點選此按鈕後點於影像上之 band type 紫色橫線即可
  - Plus Band: 可將 band 指定為某一 band type, 以滑鼠點選此按鈕後, 先點 band type 之紫色橫線, 再點欲指定之 band 即可
  - Minus Band: 可將 band 移除而不為 band type, 以滑鼠點選此按鈕後再點欲移除之 band 即可
- ⇒ 點選 Dendrogram 可計算並產生樹狀圖與相似係數





- ⇒ Distance Matrix: 相似係數之演算方法有 Dice coefficient, Jaccard coefficient, Pearson coefficient, Frequency Similarity 等
- ⇒ Cluster Method: 樹狀圖作圖方式有 Neighbor Joining, UPGMA, WPGMA, Single Linkage, Complete Linkage, Ward, Median, Centroid 等
- ⇒ 點選 Options / Display Matrix, 可顯示相似係數子視窗
- ⇒ 點選 File/ Export Dendrogram Image 可將樹狀圖輸出, 暫存於剪貼簿, 可轉貼至其他應用程式, 或以圖形格式儲存



- **Molecular Weight:** 輸入已知參考標準值得分子量，用以決定同一膠片上未知的 band 之分子量。

步驟：

- ⇒ 點選 **Set Well Pos.** 滑鼠指標則出現黃色橫線，點於影像 well 之位置或起點處。
- ⇒ 點選 **Set Dye End** ，滑鼠指標則出現黃色橫線，點於影像 Dye 之位置或終點處。
- ⇒ 若影像為白色之背景則請點選 ☐ **Invert** ，將黑與白階互相轉換。
- ⇒ 點選 **Get Markers** ，可自 Library 中選擇以建立之 Marker 資料檔案，選擇檔案後點 **Open**，出現 Auto Load 確認子視窗，點選 **Yes** 之後，出現黃色垂直線，以滑鼠點於 Marker 之 Lane，軟體自動搜尋 band 位置並將結果顯示於子視窗中，若選擇 **No**，則滑鼠指標呈紅色游標而且有文字說明於右上角，可自由標定 Marker lane 上的每一參考標準之 band。或
- ⇒ 點選 **Add Marker** ，滑鼠指標呈紅色游標，手動點於 Marker 之位置，則出現數值輸入子視窗，輸入相對應之分子量後，點 **OK**，重複至所有 Marker 均已標定完成。
- ⇒ 點選 **Save Markers** ，可將此一標準值以 \*.mwm 為副檔名儲存，建立 Marker 資料檔案
- ⇒ 點選 **Next >>** 進行下一步驟 Query 選項計算未知 band 之分子量

Markers Query Graph Protocol

Detection  
☐ Snap To Peak ☐ Invert

Query  
 Add Band Auto Query  
 Delete Band Clear Queries

Molecular Weight Cursor		
Position	Mol. Weight	Relative Freq.
316	485.000	0.738

Show Band  
☒ Number ☐ Mol. Weight

☐ Help on these tools

<< Back Next >>

⇒ 點選

Add Band

: 手動點選於未知 band 上，其分子量則會出現於子視窗上

Auto Query

: 自動點選黃色垂直線所選定的 lane 上所有 band

**Snap To Peak:** 此功能被點選後，滑鼠游標會自動標定在灰階值有較高落差的 band 上。若 band 與 band 之間太靠近，則可能無法辨別時，建議關閉此功能，完全由使用者自行選定 band 的位置與分子量的大小。

⇒ 點選

Next >>

進行下一步驟 Graph 選項顯示標準曲線與分子量計算方式

Markers Query Graph Protocol

Calculation Method  
☐ Least Square Fit ☒ Show Graph  
☒ Point To Point Fit

Molecular Weight Cursor		
Position	Mol. Weight	Relative Freq.
290	565.714	0.669

Show Band  
☒ Number ☐ Mol. Weight

☐ Help on these tools

<< Back Next >>

- **Least Squares Fit:** 當有標定之未知的 band 超出所選用之參考標準值的位置，依然可用外插法計算出未知的 band 之分子大小。
- **Point-to-Point:** 以內插法方式計算出未知 band 的分子量大小。分子量明顯在 marker 之外的未知 band 的分子量因無法計算出而以 N/A 表示之。
- **Show Graph:** 以半對數圖顯示出分子量標準值之作圖的結果。

⇒ 點選

Next >>

進行下一步驟 Protocol 選項可儲存分子量計算標準步驟

Markers Query Graph Protocol

**Save Protocol**

The protocol contains all markers applied and queries generated. A protocol can be saved at any point of the analysis workflow.

**Load Protocol**

If needed, Add/Delete markers and queries as needed after loading your protocol.

☐ Help on these tools

<< Back Next >>

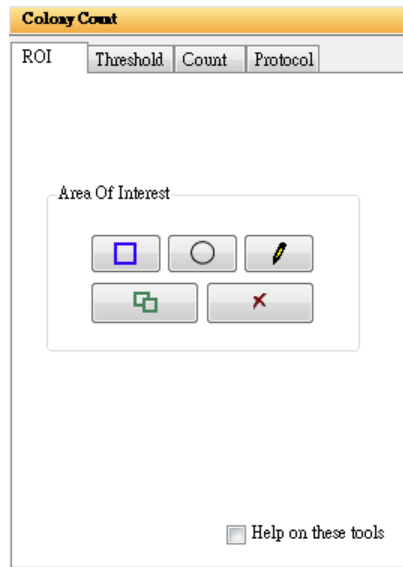
- **Save Protocol** : 儲存以上分析條件與步驟, 可套用任何圖形。
- **Load Protocol** : 選取已儲存的 protocol 直接套用。

■ 運算結果子視窗

Molecular Weight Results				
Export				
MARKERS				
Band	Position	Mol. Weight	Rf	
11	313	500.00	0.730	
12	332	400.00	0.780	
13	371	300.00	0.882	
QUERIES				
Band	Position	Mol. Weight	Rf	
1	217	950.00	0.478	
2	218	940.00	0.480	
3	272	627.27	0.622	

- Expert: 可直接將資料列印或以純文字或 Excel 方式儲存

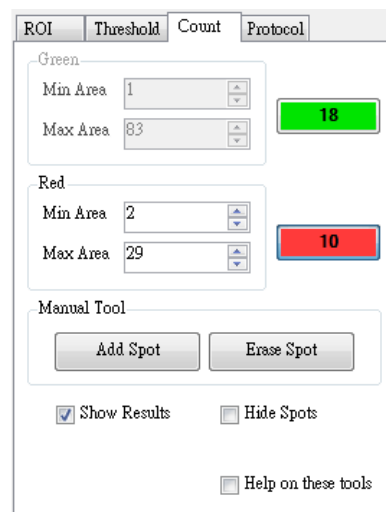
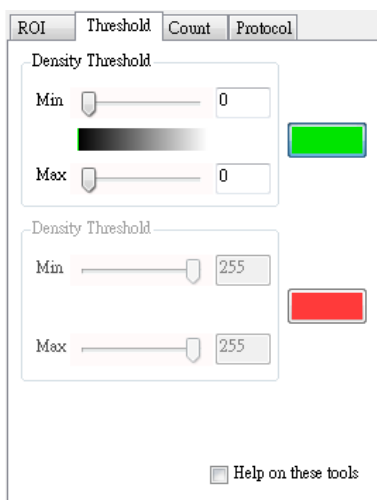
- Colony Count: 自動計算 spot 數目



⇒ ROI: 點於    手動框選目標區域，可以滑鼠框選之

Next:

⇒ Threshold: 設定偵測標的物之閾值，調整其 Min 與 Max 直至欲偵測之白點呈紅色及欲偵測之黑點呈綠色。



⇒ 點 Count 即可計算點之數目

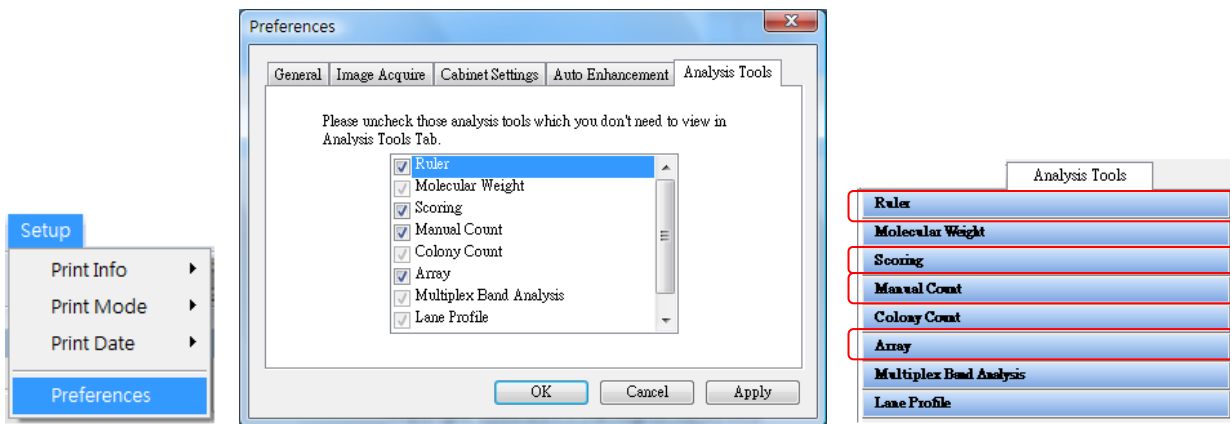
- 可設定有興趣的區域中最大 Max area 及最小 Min area 的 pixel 數目，只要標的大小落於此範圍內即可被計入。
- Add Spot: 點選此一功能後，滑鼠點於欲加入之點即可
- Erase Spot: 點於欲刪除之點，再點選此一功能後即可

⇒ 計算結果子視窗

- **View:** 顯示計算結果，以不同顏色表示不同群落，可標出點的座標 (X, Y)，佔有總面積數的百分比
- **Export:** 可直接將資料列印出或儲存成檔案

[illegible]

以下的工具列預設為隱藏，先於主選單點選 Setup/Preference -> 然後點選 Analysis Tools 選項，勾選需要顯示的分析工具，點 OK 回到主畫面，重新啟動軟體即可



- Manual Count: 手動計數 spot 點數



- Count:** 以紅色“+”和綠色“x”符號來表示兩種被取點的不同，以滑鼠箭頭點選紅色或綠色為指示顏色並且顯示計算結果，滑鼠左右鍵可轉換紅綠色標記。若欲取消點選，則將滑鼠箭頭移至已選之點再點一次即可消除。
- Sensitivity:** 指箭頭指定區域範圍半徑大小，數值越大表示指示範圍半徑越大而不一定精準指向標的物。
- Hide:** 可將已算出的數值隱藏起來。
- Reset:** 將已計算的點數歸零。

- **Array:** 分析有效區域中選取標的物的相關灰階值。可設定水平及垂直的標的物之數目，矩陣標的物數目最大可選用為 100x100 (HxV)。同時選擇標的中心圓孔的直徑大小以及圓外圍直徑的大小。另外可由選定之有效區域的四角作內縮或外擴而形成不規則的圖樣。

#### Wells Count:

- ⇒ **Horizontal:** 選擇標的物水平列之數目。
- ⇒ **Vertical:** 選擇標的物垂直列之數目。

#### Radius:

- ⇒ **Outer:** 調整外圍直徑之大小。
- ⇒ **Center:** 調整內圓之直徑大小。

- ⇒ **Invert:** 若影像為白色之背景則請點選，將黑與白階互相轉換。

- ⇒ **Use Squares** **Use Circles**: 可將掃描之標的框選轉換為正方形或圓形。

- ⇒ **Skewing:** 點選後可由選定之有效區域的四角作內縮或外擴，調整掃描區域配合不規則的圖樣。

- ⇒ **Scan**: 掃描之後每一標的物的灰階值，均可計算出並顯示出來。

- ⇒ **Export Data**: 可直接將資料以 Text 純文字方式列印出或儲存。

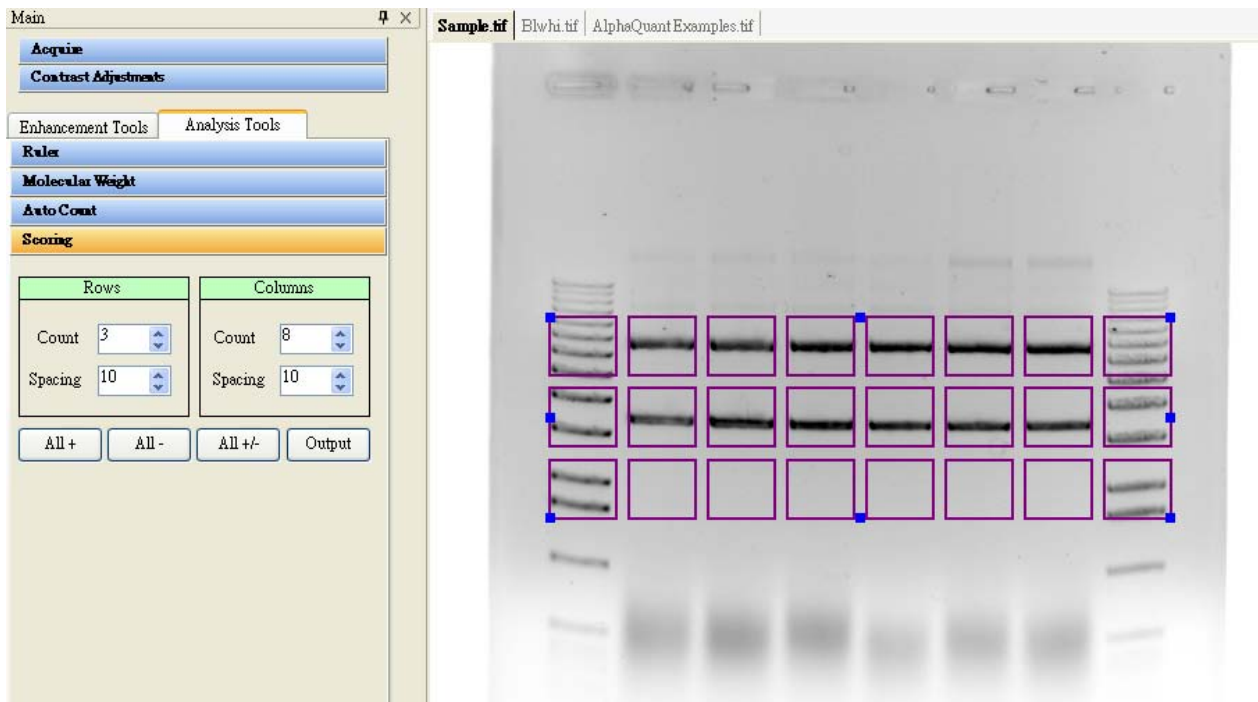


⇒  : 繼續執行 Array 運算

 :

- ⇒ 先擷取一未盛接樣品之容器影像，作為背景之校正用
- ⇒ 以此張影像，如前所述調整 array 標的物位置
- ⇒ 點 Scan Blank，所得之值則為背景值
- ⇒ 執行過後，Scan Blank 則轉成 Clear Blank 標示，此後再掃描標的物，則將自動扣除背景值。

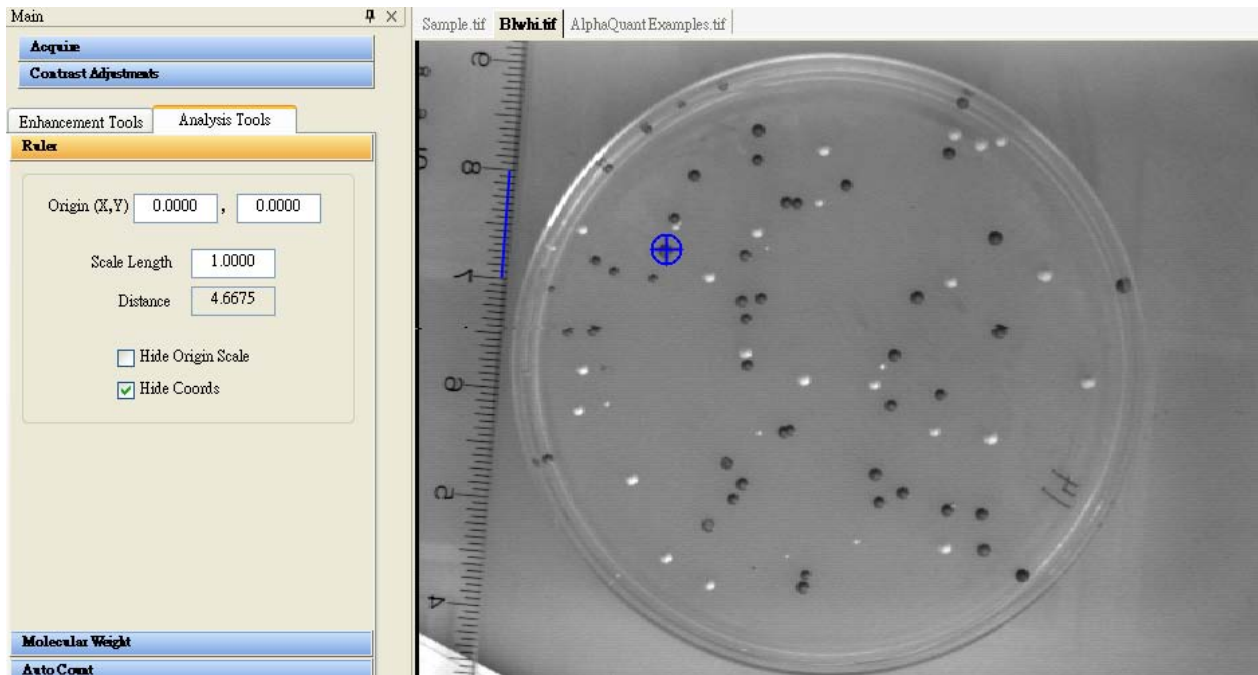
- **Scoring:** 用於標定影像中特定之位置上，並且可設定列與欄之數目及其之間的間隔 (spacing)，以符合所欲分析之影像圖譜，以三種計分符號表示結果：“+”表示 positive，“-”表示 negative，“+/-”表示不確定之標記。



- **ROWS** 設定橫排數目及間距
- **COLUMNS** 設定直排數目及間距
- **All +:** 所有框位標示為 positive 符號 “+”
- **All -:** 所有框位標示為 negative 符號 “-”
- **All +/-:** 所有框位標示為不確定符號 “+/-”
- **Output:** 將資料以純文字方式列印或儲存，其格式如下：

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	+/-	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-

- Ruler: 可計算物件之絕對或相對之距離



- 將綠線移置於影像之上之度量尺或相對用之長度，調整其寬度為標準單位長度
- Scale Length: 輸入標準長度值，並按鍵盤 enter
- 將圓形置於原點/起始點
- 滑鼠所到之位置與原點之距離則顯示於 Distance 一欄

## 故障排除辦法

### 硬體問題

症狀	可能造成原因	排除方法
影像畫面為全黑	光圈	確認光圈全開，確認側邊燈源已開啟 確認軟體 "Focus" 按鍵已經呈被點選模式，若已呈反灰色，則在點選 "Focus" 模式
在 Focus 模式下，影像亮度太低		確認光圈全開 開啟側邊白光燈
影像顯示慢	Auto Expose 功能已點選	取消 Auto Expose 模式，回復曝光時間為 8ms，或調整時間到影像亮度足夠觀看
使用白光板擷取的影像有暈開現象	+2 diopter 鏡片被移除了	+2 diopter 鏡片應安裝於最外位置
影像出現雜點	鏡頭或 UV 面板上有灰塵	放入名片或紙張，變動鏡頭 zoom，光圈與對焦，檢視影像上的雜點是否隨之變動 ->是，則請清潔 UV 面板或擦拭光學鏡頭 ->否，則請連絡工程師
軟體不能控制電動鏡頭	電動鏡頭電源未開 RS232 接線鬆脫	確認鏡頭的電源供應器已接妥 確認 RS232 接線接妥
軟體不能控制暗箱	啟動順序錯誤	先關閉軟體與暗箱主電源，然後先開暗箱主電源，再啟動軟體

### 列印問題

症狀	可能造成原因	排除方法
列印出現格線	AlphaView 軟體之列印設定	將 AlphaView 軟體之列印模式設定為 "Image window" (setup -> print mode -> image window)
文字位移	AlphaView 軟體之列印設定	將 AlphaView 軟體之列印模式設定為 "Image window" (setup -> print

	影像縮小模式下標示	mode -> image window) 將影像以 1X 顯示再做文字標示
影像資訊未一同列印出	AlphaView 軟體之列印設定 顯示器設定  印表機驅動程式設定不對	將 AlphaView 軟體之列印模式設定為 "bottom" (setup -> print info -> bottom) 將印表機列印輸出設定為 1280x1280, Landscape (控制台 -> 印表機 -> 內容 -> paper size)
列印顯示與螢幕所見不同	印表機驅動程式設定不對	調整印表機之 black/white/gamma 設定 (控制台 -> 印表機 -> 內容 -> properties...)
AlphaView 軟體無法執行列印	印表機驅動程式設定不對	將印表機設定為預設的印表機 重新安裝印表機驅動程式
印表機無列印輸出		確認印表機電源 接妥印表機之接線 列印測試頁 重新安裝印表機驅動程式

## 日常保養與注意事項

1. 紫外燈啟動時請設定在Hi 模式, 如有需要使用Low模式, 則在Hi模式下待燈管點亮後再轉為Low模式
2. 拍照結束後, 請確認紫外光燈箱電源關閉, 並以擦拭紙抹乾水分, 然後噴上70%酒精, 以拭鏡紙擦拭乾淨
3. CCD鏡頭上方請留空間, 接線需固定, 勿擾動影響訊號傳輸