



ImageXpress HCS.ai 操作指南



目录

前言：仪器使用须知	2
1. 启动系统	3
1.1 开机及关机.....	3
2. 图像采集	3
2.1 打开图像采集设置界面.....	3
2.2 新建拍摄 Protocol.....	4
2.3 基础设置.....	4
2.4 基本拍摄设置.....	6
2.5 Z series 拍摄.....	10
2.6 Time series 设置.....	11
2.7 Quick ID 设置.....	11
3. IN Carta 分析步骤	15
3.1 打开实验数据.....	15
3.2 进入分析界面.....	16
3.3 编辑分析 Protocol.....	16
3.4 分析 Protocol 参数设置.....	17
3.5 结果展示及数据导出.....	18
3.6 SINAP 分析模块.....	19

前言：仪器使用须知

高内涵运行环境：

1. **工作温度：**推荐范围：18°C 至 25°C (64.4°F 至 77°F)
2. **相对湿度：**35% 至 50%，无冷凝。
3. **输入电压：**220 V AC, 50/60 Hz, 最大电流 6 A。必须在额定电压的 $\pm 10\%$ 以内。
4. **环境控制气体配置（选配）**
 - (1) 气体选择：
 - I. 压缩空气：无油、医疗级（纯度 $\geq 99\%$ ），来源可为气瓶、实验室管路或无油空压机。
 - II. CO₂：医疗级（纯度 $\geq 99\%$ ），来自气瓶（用于调节培养基 pH）。若使用有机缓冲液（如 HEPES），CO₂ 可非必需。
 - III. 选配气体（仅缺氧实验）：N₂：医疗级（纯度 $\geq 99\%$ ），来自气瓶或实验室管路。
 - (2) 气体压力：

必须调节在 0.8 bar 至 1.2 bar (11.6 psi 至 17.4 psi) 之间，理想值为 1.0 bar (14.5 psi)，切勿超过 1.2 bar (17.4 psi)，否则可能损坏仪器。
 - (3) 禁止使用的气源：预混气、杜瓦罐蒸发气、氮气发生器、非无油气体、非医疗级气体、压力不可调的气源，严禁连接纯 O₂。
 - (4) 连接配件：需准备两段式调压阀（气瓶用）或单段式管路调压阀（实验室管路用），以及 4 mm 内径/6 mm 外径的聚氨酯管、生料带、管夹等。
5. **环境控制湿盒：**添加无菌水，切勿超过水位线。活细胞使用后，打开湿盒硅胶密封口，用于平衡压力。



湿盒操作示意图

1. 启动系统

1.1 开机及关机

- 电脑工作站和显示器、登录电脑账号
- 开光源
- 开机器
- 打开 MetaXpress Acquire 软件 
- 使用完毕后请检查仪器内是否遗漏孔板耗材
- 关闭软件，关闭仪器电源

2. 图像采集

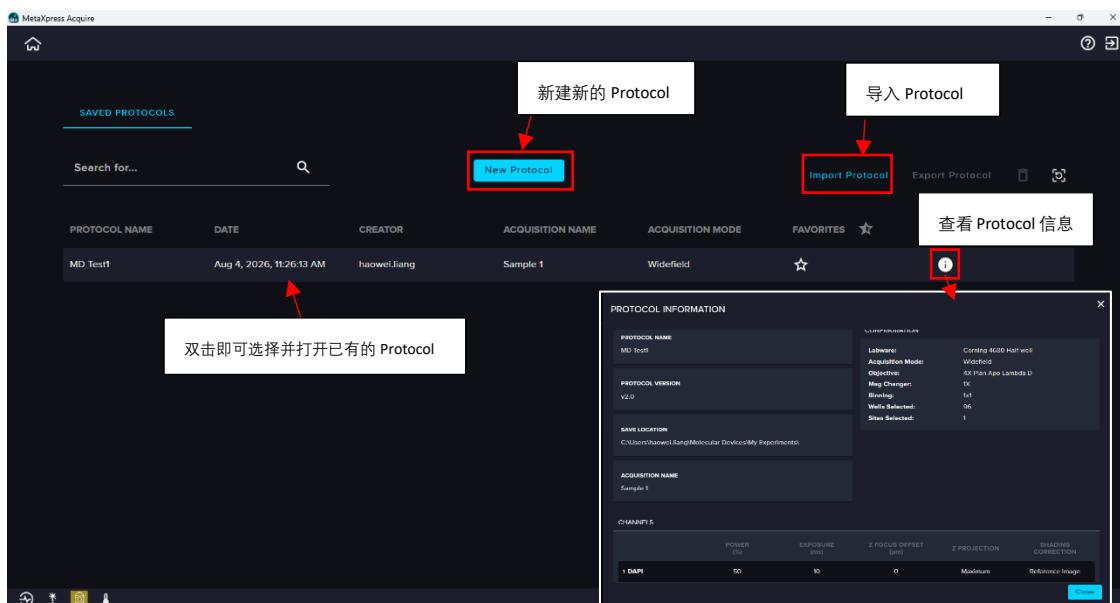
2.1 打开图像采集设置界面

点击 **Acquire**  即可进入图像采集设置界面。点击 **Experiments**  则可以查看已完成的拍摄任务。



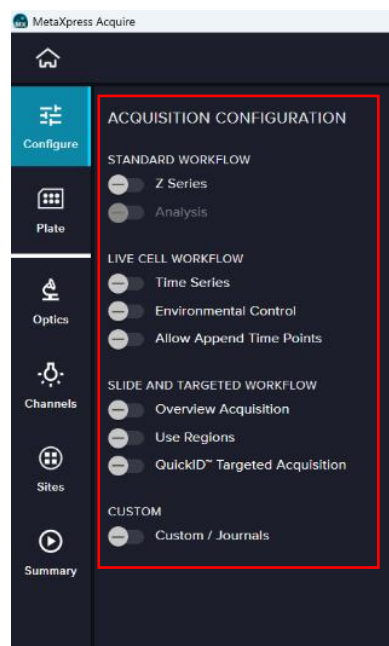
2.2 新建拍摄 Protocol

选择  后，可在 Protocol 创建视窗中选择已有拍摄 Protocol（Protocol 仅含有拍摄条件参数，不含实验数据），或新建拍摄 Protocol。



2.3 基础设置

进入  后，首先设置  完成基础拍摄设置，拍摄选项释义如下图。



选择打开需要使用的模块 **ACQUISITION CONFIGURATION**：

Z series：Z 轴层扫，以一定的步进对一定的 Z 轴空间进行扫描；

Analysis：提前部署 IN Carta 分析模板，拍摄结束后自动进行分析；

T-Series：延时摄影，以一定的时间间隔对一定的时间范围内进行多点成像；

Environment Control：对拍摄的培养环境参数进行设置；

Allow Append Time Points：可中断的延时摄影，可在实验中添加多个时间点生成一个连续的时间序列数据；

Overview Acquisition：设置一个快速预览的拍摄模式，可生成具有样本图样的预览区域；

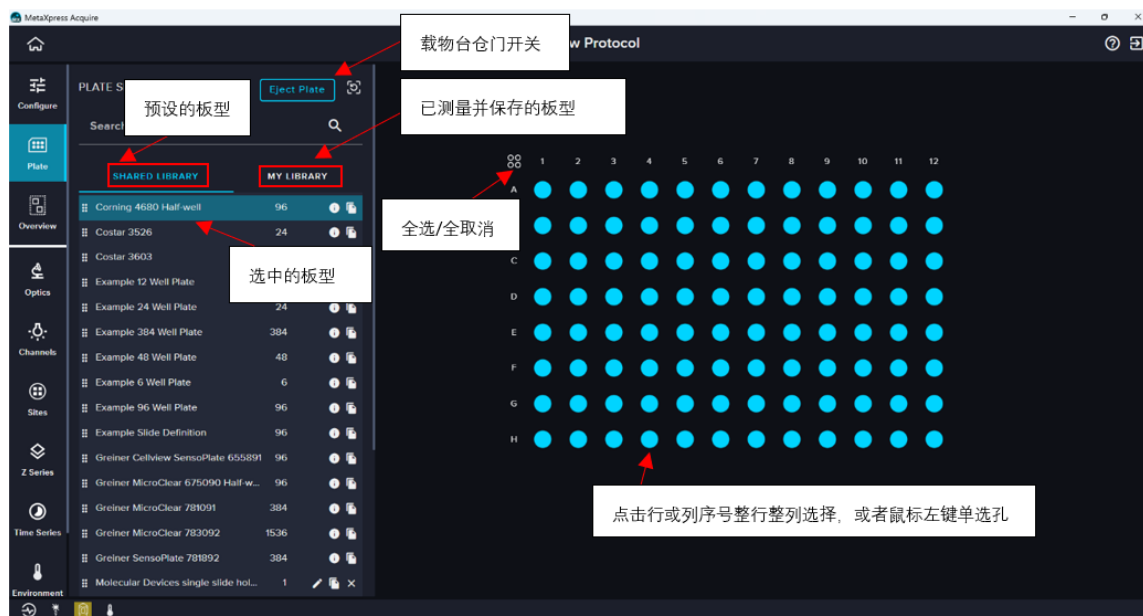
Use Regions：可在样本范围内绘制一个或多个预览区域，并可标记目标区域，以便在后续成像中快速找到感兴趣的区域；

QuickID™ Targeted Acquisition：使用较低的倍镜扫描较大范围，设置分析方法快速找到物体，再切换高倍镜拍摄；

Custom/Journals：高级模式，可使用 Journals 自定义拍摄流程与功能。

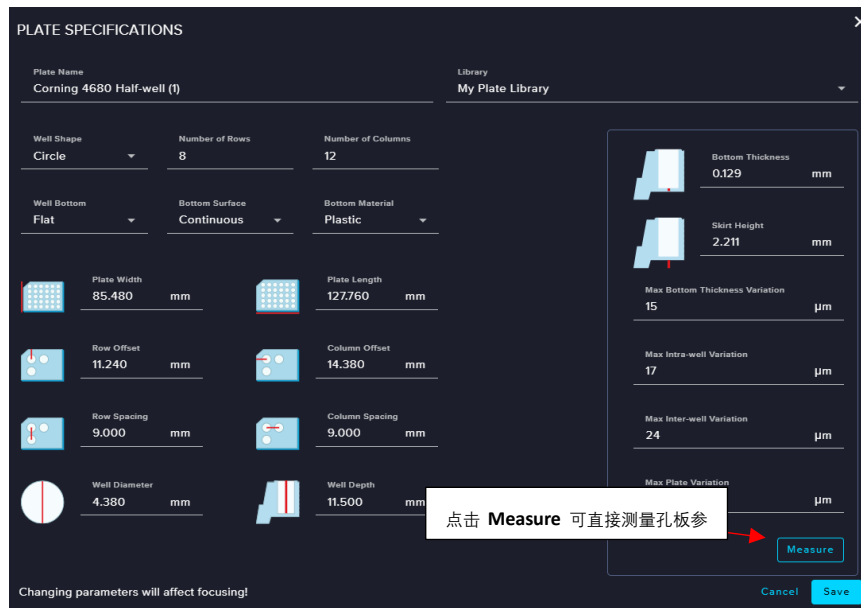
ImageXpress HCS.ai 操作指南

按照左侧的导航顺序，设置 **Configure** 后，选择 **Plate** 进行孔板设置。



如在 **LIBRARY** 中未出现现有孔板类型，可在 **SHARED LIBRARY** 中选择型号近似的孔

板类型*，点击  复制该板型，点击 **Measure** 测量板参数。



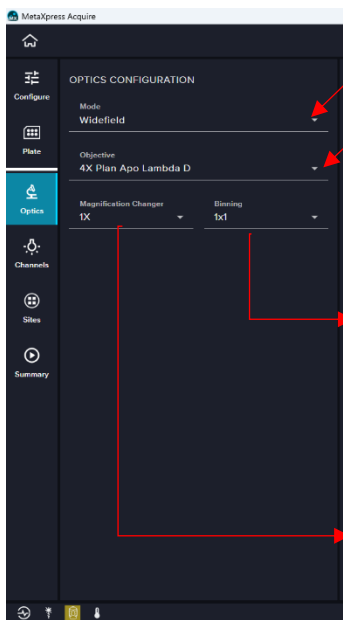
测量结束后，可修改 **Plate Name**，点击 **Save** 保存。即可在 **My PLATE LIBRARY** 找到设置好的板型，选择要采集图像的孔。

* 建议根据所使用孔板的品牌和型号，找到孔板的官方参数填入，再点击 **Measure** 进行测量。

2.4 基本拍摄设置

2.4.1 Optics 设置

在基本拍摄设置过程中，首先需要设置  选项以选择合适的成像硬件设置。



Mode 成像模式选择，可选择 Widefield 宽场成像或如 50 um Slit 、 60um Pinhole 等的共聚焦模式

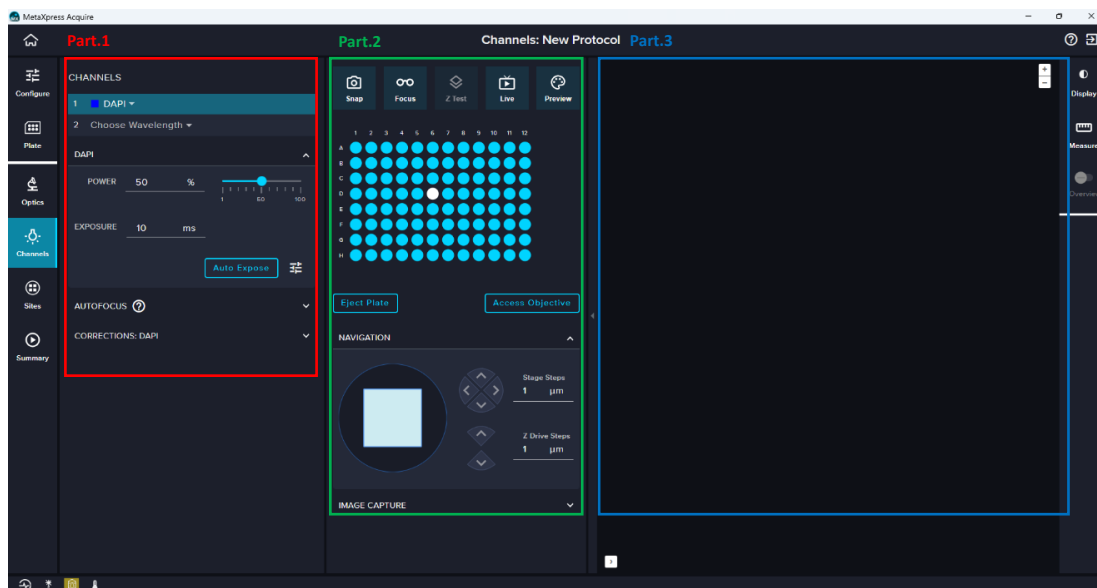
Objective 物镜选择，下拉即可查看仪器已配置的物镜选项，对于 LWD 字样的长工作距离物镜可根据提示调整校准环

Binning 选择，此选项可通过像素整合，降低图像质量来提高图像亮度和降低图片储存所需空间。

变倍体放大倍数选择，如果已配置变倍体，可在此处选择光学放大倍率。如：10x 物镜配合 1.5x 变倍，实际物镜放大倍率为 15x。

2.4.2 Channels 设置

在 **CHANNELS** 选项中，可按照操作顺序分为三个部分 **Part.1**: 预览位置与功能; **Part.2**: 成像通道参数设置; **Part.3**: 图像预览窗口。



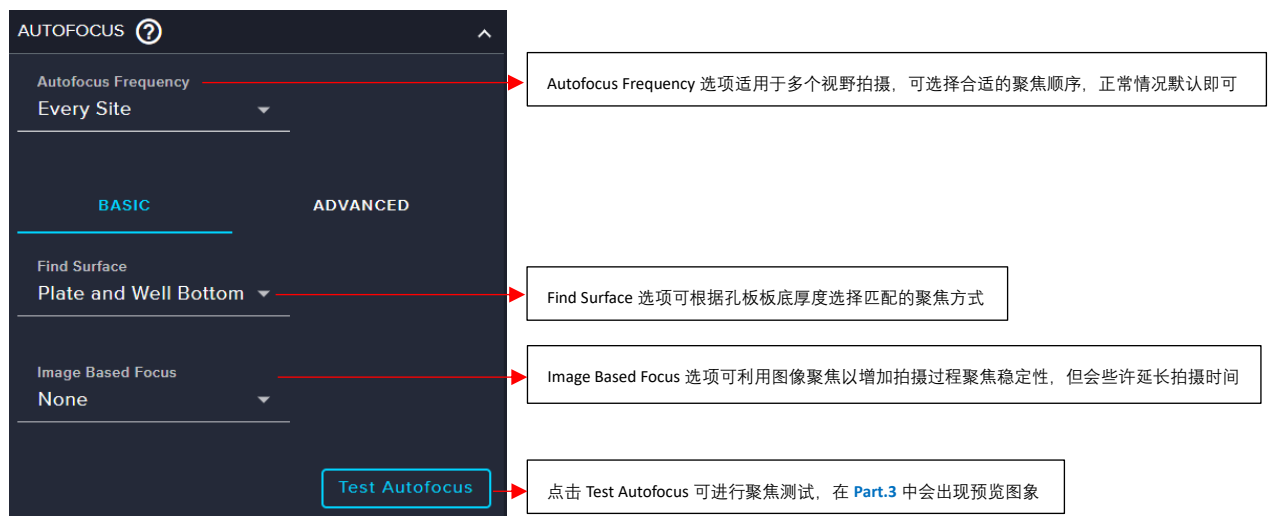
ImageXpress HCS.ai 操作指南

首先在 **Part.2** 中, 选择感兴趣的孔位置进行预览, 并进行后续 **Part.1** 成像参数设置。



在 **Part.1** 部分中, 可根据操作视窗从上到下依次设置需要拍摄的成像通道, 曝光条

件与聚焦参数。在聚焦参数 **AUTOFOCUS** 中, 各选项释义如下图所示。



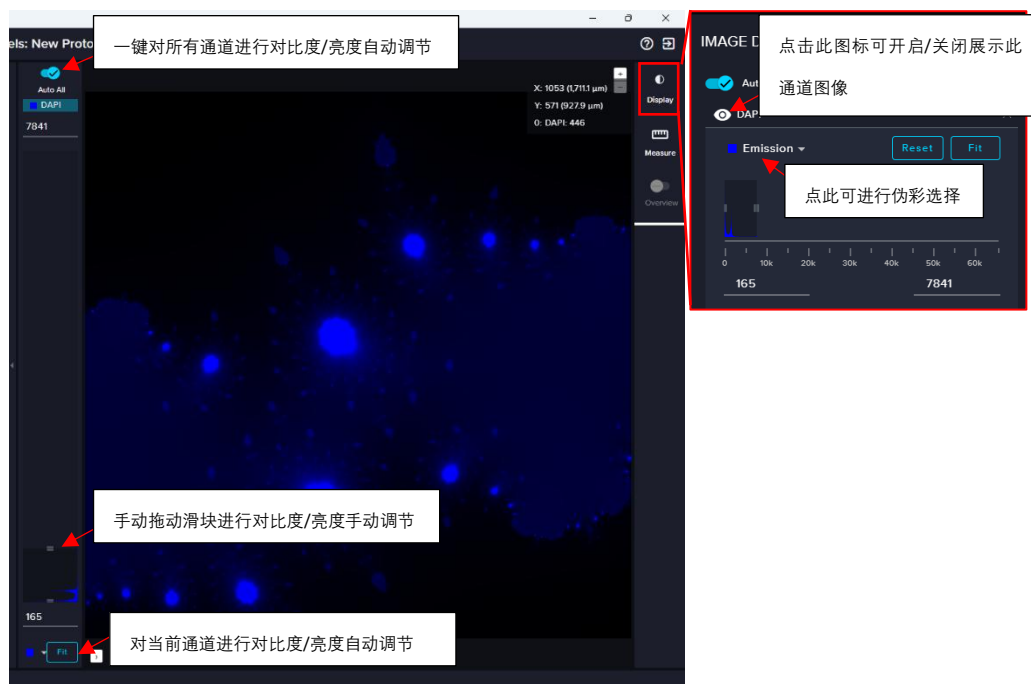
ImageXpress HCS.ai 操作指南

当点击 **Test Autofocus** 聚焦后得到的并不是最清晰的图像，可使用下方的 **CORRECTIONS** 工具栏进行调整。



当 **CORRECTIONS** 设置完成后，可在 **Part.2** 中点击 **Focus** 测试聚焦效果。

在 **Part.3** 中，可对拍摄的图像进行预览。



2.4.3 Site 设置

在  设置栏中，可在拍摄过程中对孔板中进行多个视野的成像。所设置的视野数量跟拍摄时使用的物镜放大倍数相关，拍摄的 Site 数量越多，图片数量及拍摄时间也越多。



蓝色部分为设置的拍摄 Site 位置和数量，鼠标左键点击可开启/取消

在此处设置每孔需要拍摄的 Site 数量

SITE SPACING:

1. **Tile:** 视野以紧邻的方式排列
2. **Overlap:** 视野之间以一定叠加比例重叠
3. **Fit to well:** 视野分散于整个孔
4. **Custom:** 自定义视野之间的间距

同时选择 Overlap 和 Stitch 后，可将多个视野拼接为一张单独的图片

2.4.4 Summary 设置

最后一项为实验的 Summary 设置，在  中，可设置和保存样本拍摄信息和拍摄 Protocol（仅含拍摄条件设置，无实验数据）



在此处可键入 Protocol 名称并点击右侧保存

在此处可键入本次拍摄任务名称

点击 Browse 可选择实验图片储存位置

点击 Run 即可 **开始拍摄**

此处显示根据成像设置，系统预估的拍摄时间

点击 Add Notes 可添加本次实验的注释文本

实验拍摄信息记录

CHANNELS	POWER (%)	EXPOSURE (ms)	FOCUS (µm)
1 DAPI	50	50	0

2.5 Z series 拍摄

在左侧设置栏中的 **Configure** 中勾选 **Z Series** 后，会出现 **Z Series** 选项，点击即可开启 Z 轴层扫拍摄 (Z series)。



Z SERIES

设置 Z 轴的层扫间隔

Step Size: 0.5 μm

Nyquist Sampling Step Size: 6.2 μm

Range: 8.5 μm

设置 Z 轴层扫的范围

将焦点作为层扫的中心

☐ Center Around Focus

Current position:

Set Top Set Bottom

将当前焦点设为 Z 轴层扫最底一层

将当前焦点设为 Z 轴层扫最顶层

Scroll to Focus Total Slices: 18

CHANNEL CONFIGURATION

Channels: DAPI

2D Projection ?

Z Series & Projection

Z Series & Projection ✓

Projection Only

Z Series Only

Single Plane

Maximum

Best Focus

Best Plane

Minimum

Maximum ✓

MONTAGE CONFIGURATION

Projection/Single Plane (Recommended)

Z Series (Will significantly increase acquisition time)

当前焦点位置，如无此图标，点击 **Focus**

可选择保存层扫每层单张、单张 & 叠加、层扫叠加的图像

Z-Series 完整流程：

1. 点击“Focus”找到样本焦点
2. 在合适的曝光条件下开启“Live”模式方便设置
3. 长按鼠标左键可拖动焦点位置移动，在合适的 Z 轴位置点击“Set Top”设置层扫最上层，点击“Set Bottom”设置层扫最下层。也可通过 NAVIGATION 导航栏点击步进箭头来移动焦点进行设定。
4. 根据样本选择合适的 Z 轴投影 (Projection) 方式

2D Projection 方式：

1. **Best Focus**：将每层图像拆分为很小的区域，并找出这些区域里面最清楚的一张，最后拼接为完整图像。
2. **Best Plane**：将每层图像进行“Focus scores”计算，最终生成一张最清晰的图像。
3. **Minimum**：以每层图像亮度最低的像素作为叠加对象，此方式更加适用于明场透射光成像。
4. **Maximum**：以每层图像亮度最高的像素作为叠加对象，此方式更加适用于荧光成像。

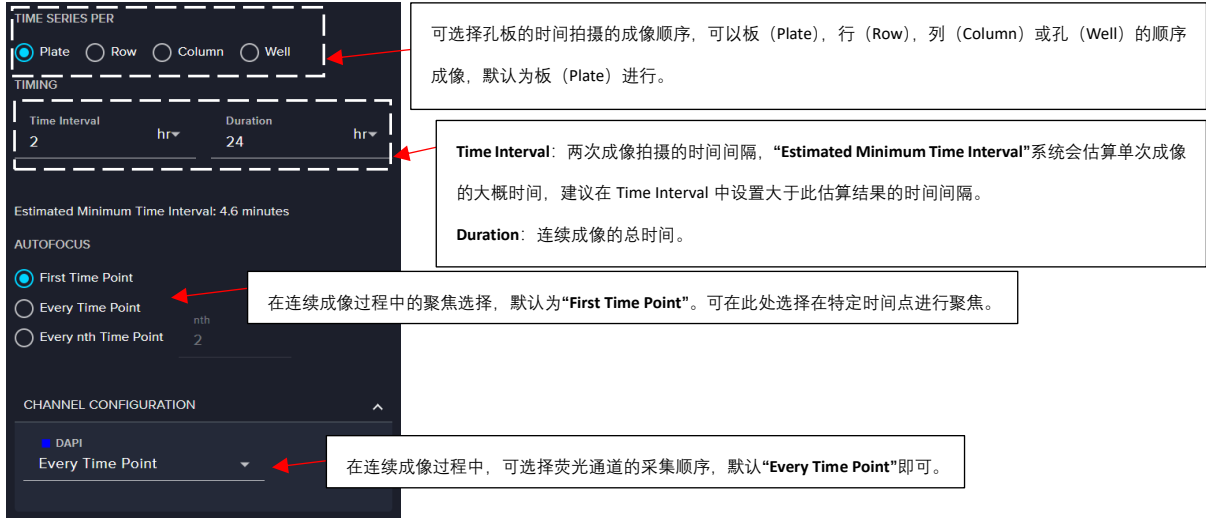
当同时选择 Z-series 和多 Site 拼接时，会出现 **MONTAGE CONFIGURATION** 选项：

Projection/Single Plane：当所有 Z 轴图像采集完成后，只对 Projection 后的图像进行拼接（默认）

Z-series：当所有 Z 轴图像采集完成后，将 Z 轴的每一层图像都进行拼接，此方法将耗费较长时间

2.6 Time series 设置

在时间序列成像过程中，通常需要配合环境控制（操作见 2.8），以维持细胞培养状态。在左侧设置栏中的  中勾选  后，会出现  选项，点击即可开启时间序列拍摄（Time series）。



可选择孔板的时间拍摄的成像顺序，可以板（Plate），行（Row），列（Column）或孔（Well）的顺序成像，默认为板（Plate）进行。

Time Interval: 两次成像拍摄的时间间隔，“Estimated Minimum Time Interval”系统会估算单次成像的大概时间，建议在 Time Interval 中设置大于此估算结果的时间间隔。

Duration: 连续成像的总时间。

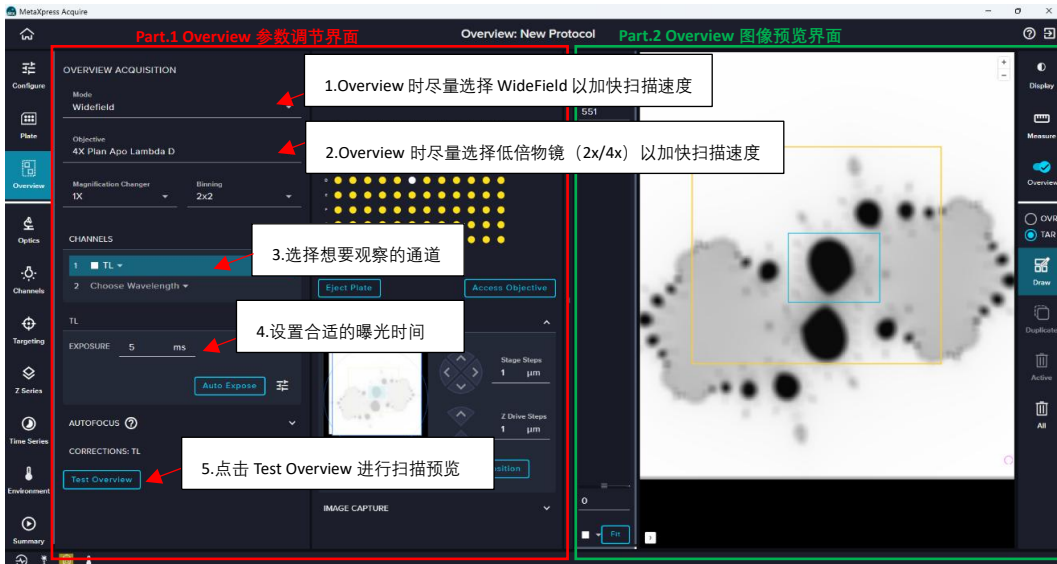
在连续成像过程中的聚焦选择，默认为“First Time Point”。可在此处选择在特定时间点进行聚焦。

在连续成像过程中，可选择荧光通道的采集顺序，默认“Every Time Point”即可。

2.7 Quick ID 设置

2.7.1 Overview 设置

当在  栏中打开  Overview Acquisition 即可出现此预览界面，左侧为 **Part.1** 可设置预览成像参数，预览以低倍物镜为主。预览参数设置完成后， 可查看如右侧 **Part.2** 部分的图像。



1. Overview 时尽量选择 WideField 以加快扫描速度

2. Overview 时尽量选择低倍物镜（2x/4x）以加快扫描速度

3. 选择想要观察的通道

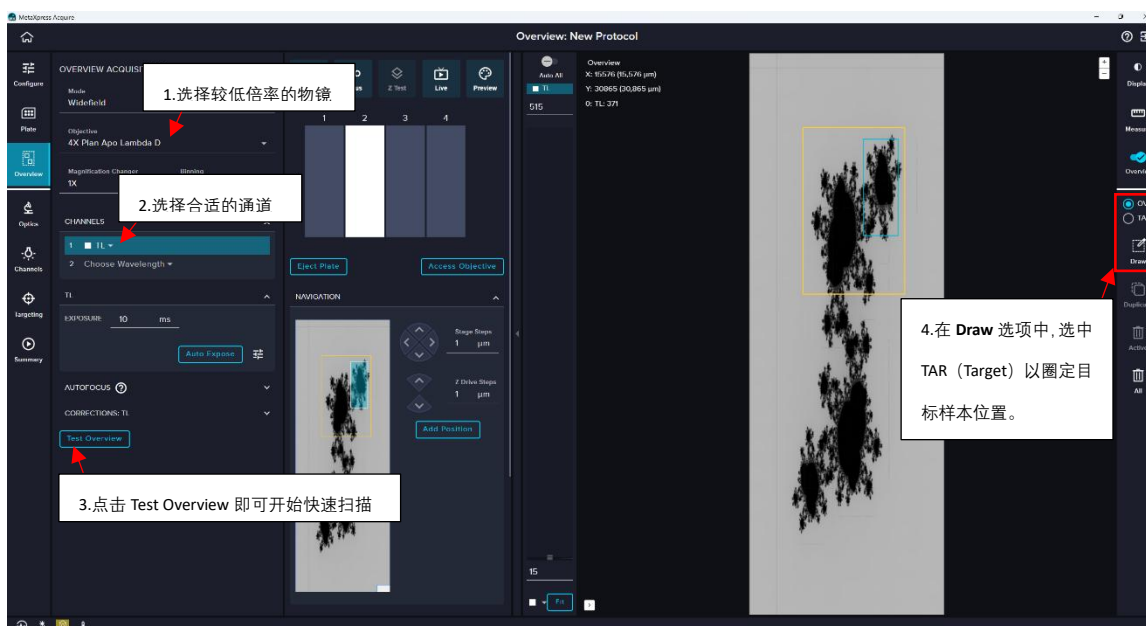
4. 设置合适的曝光时间

5. 点击 Test Overview 进行扫描预览

2.7.2 Overview 玻片扫描设置

可利用 **Overview** 对玻片进行快速扫描，以找到样本目标区域并生成可视化预览图。在 **Configure** 设置

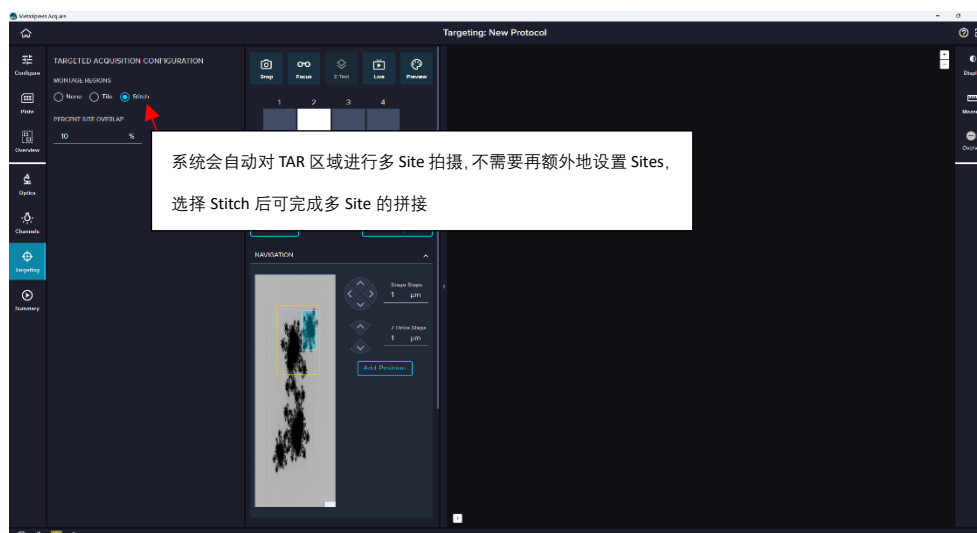
中，同时开启 **Overview Acquisition** 和 **Use Regions** 后，选择较低倍率的物镜（物镜放大倍数越低，视野越大），点击 **Test Overview** 进行快速扫描。



在左侧 **Draw** 选项中可圈选出目标样本的区域范围，在后续设置中可在导航视图 **NAVIGATION** 中

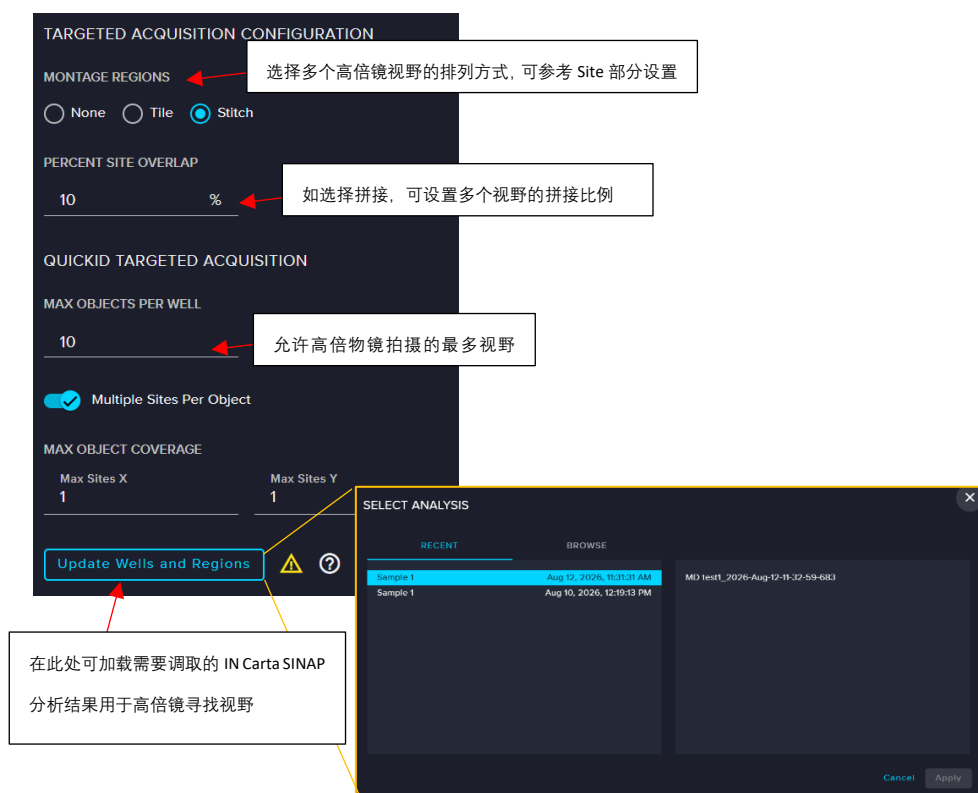
直接看到 Overview 扫描结果。完成 Overview 扫描后，可在 **Optics** 和 **Channels** 中分别设置高倍物镜或其

他拍摄通道。在 **Targeting** 界面中，针对已圈选的目标区域，可进行 **Stitch** 拼接。



2.7.3 Quick ID 设置

如果拍摄软件已激活 Quick ID 功能，即可点开 ，在任务栏左侧  启用 Quick ID 时需要首先使用低倍物镜进行区域扫描以获得较大范围的图像信息，并使用 IN Carta SINAP 功能对大区域图像进行分析，从中分割出目标区域，方法请参照第三章。在  中选择更高倍的物镜，并完成 Quick ID 设置。



加载已分析的 Protocol 后，即可在下面视图中选择需要拍摄的高倍物镜 Site



2.8 环境控制设置及水镜设置

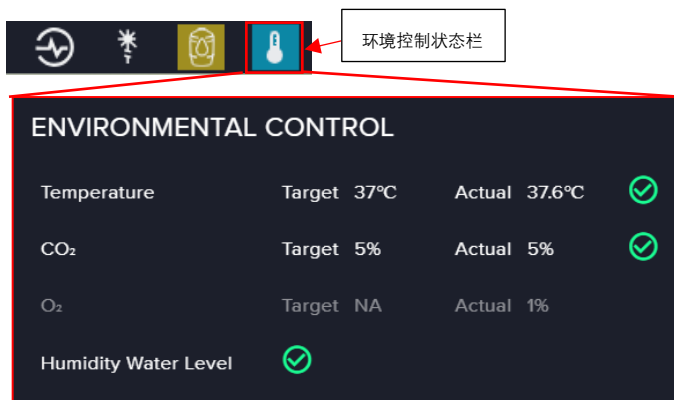
对于有环境要求的拍摄实验，需要在实验开始前准备仪器适配的气体并安装接通至仪器（详情

请见 [前言](#) 部分）。在 MXA 软件的导航窗口中选择 Environmental Control

环境控制。开启后在左侧任务栏即可点击  进行环境设置。



完成环境控制后，可以在 MXA 页面最下方仪器状态栏中查看实时环境。



在使用水镜的时候，需要在使用前对水镜进行水的预充，在 MXA 页面最下方仪器状态栏中选择水镜控制栏。

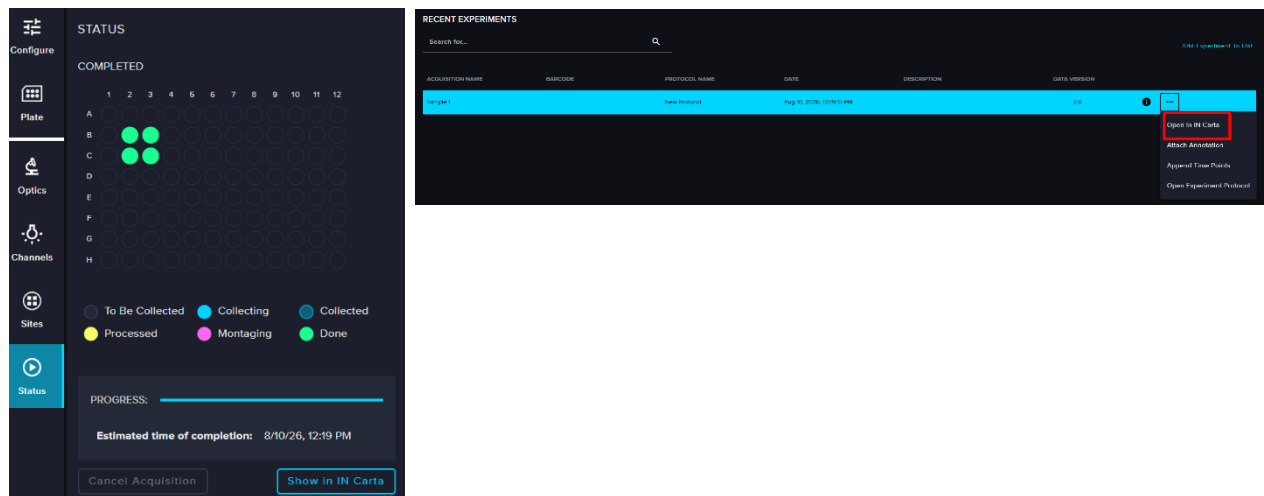


3. IN Carta 分析步骤

拍摄完成后，可由多种方式进入 IN Carta 查看并分析已拍摄的图像。方法 1：在 MXA 拍摄软件

完成拍摄后，点击  进入；方法 2：在 MXA 的主页选择 ，在拍摄任务的提示框

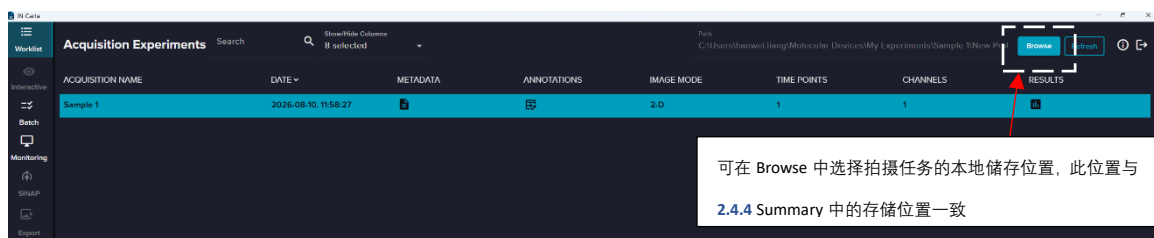
内选择  并选择“Open In IN Carta”进入；方法 3：直接点击桌面的  进入。



3.1 打开实验数据

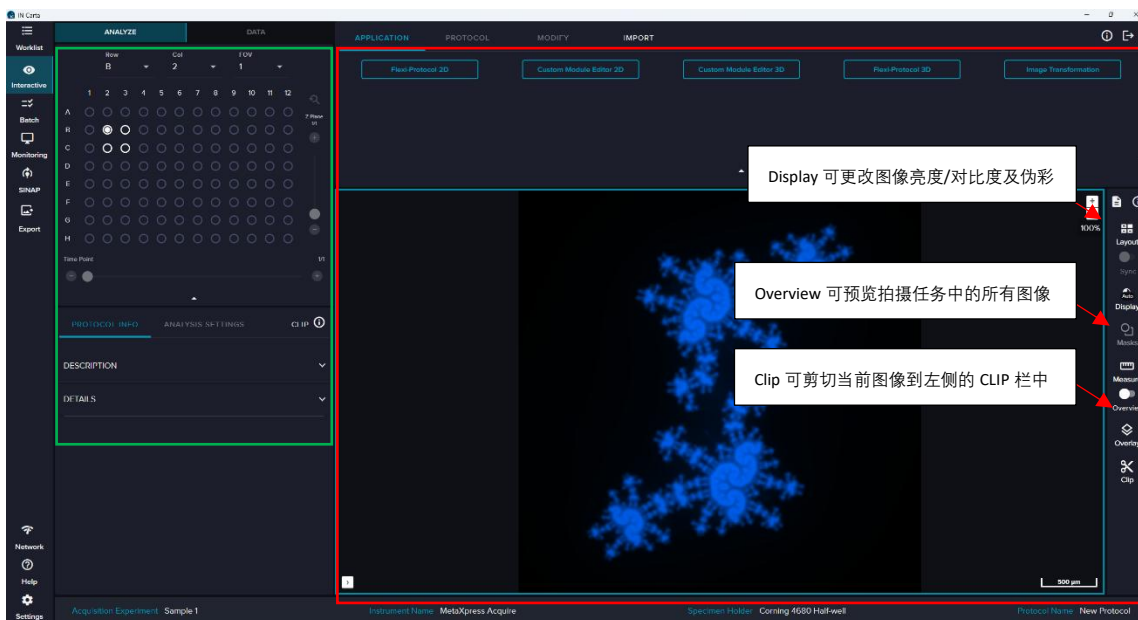
在 IN Carta 视窗中，可在  中查看已完成的拍摄任务，拍摄任务栏中记录了拍摄信息。可在

 选项中添加对此拍摄任务的备注。如果此拍摄任务已完成分析，会在“Result”栏出现  标志。鼠标左键点击需要分析的文件，可以打开实验数据进入分析界面。



3.2 进入分析界面

进入 In Carta 分析界面后，主要分为 2 个区域：**左侧**为任务栏及板位置选择区域；**右侧**为分析方法选择及图片预览区域，分析方法主要分为 Flexi-Protocol 和 Custom Module Editor (CME) 两类，并分别有适用于 2D 样本和 3D 样本两种。



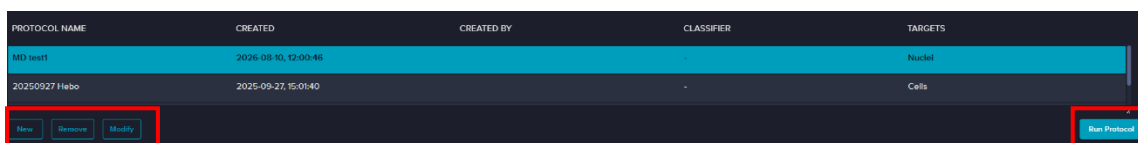
3.3 编辑分析 Protocol

以 Flexi-Protocol 2D 为例，进入 Flexi-Protocol 2D 的 Protocol 编辑界面。

若想新建分析方法，选择“**New**”；

若想编辑已建立的分析方法，选择“**Modify**”；

若想运行已有 Protocol，选择合适的 Protocol 后直接点击“**Run Protocol**”按钮即可。

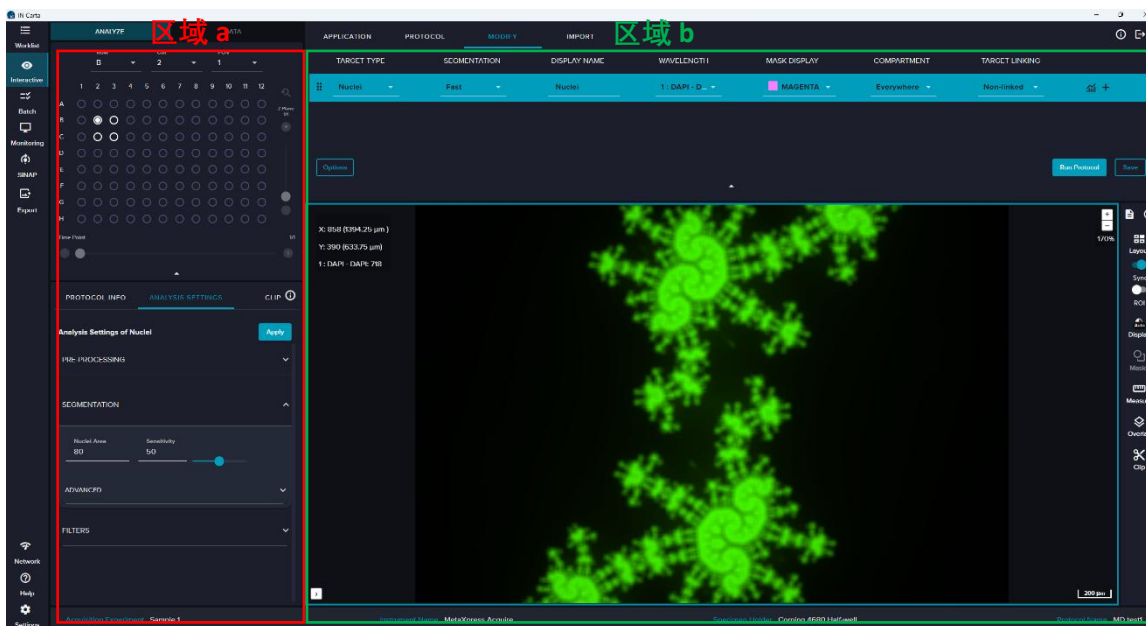


3.4 分析 Protocol 参数设置

选择 **New** 或 **Modify** 都可以进入 Protocol 编辑界面，此时会出现两个操作区域，分别是：

a.板位置选择和分析任务栏，分析设置；

b.分析方法选择及分析预览视图。



分析 Protocol 参考以下内容进行设置：

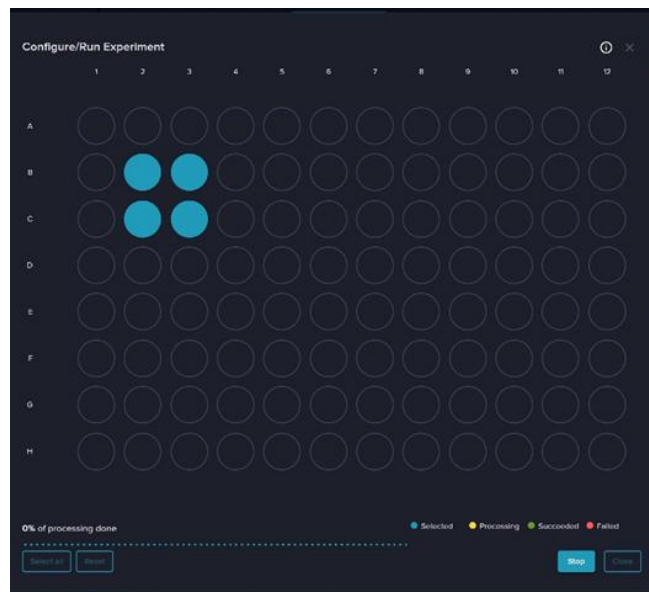
- 根据样本和通道选择“**TARGET TYPE**”目标类型”，例如分析细胞核选择 Nuclei 即可。
- 根据分割方式选择合适的“**SEGMENTATION**”分割”，如选择 SINAP 请参照“3.6 SINAP 分析模块”的内容，提前训练识别模型。
- 设置“**DISPLAY NAME**”显示名称”，可编辑此通道的数据结果名称。
- 选择 Protocol 中需要分析的拍摄通道，“**WAVELENGTH**”波长“
- 目标分割结束后会以一个 Mask 示意分割结果，选择“**MASK DISPLAY**”更改显示颜色“。
- 选择能够对目标进行细分，提高定位精度，限定特定目标的检测范围或检测区域的“**COMPARTMENT**”分区“。
- 选择定义目标与其他目标之间的关系“**TARGET LINKING**”目标链接“。可选择“父级”、“子级”或“未链接”。

ImageXpress HCS.ai 操作指南

- 点击 Protocol 编辑选项卡右侧的 Measures  按钮，选择分析所需的数据集内容。
- 点击 Protocol 编辑选项卡右侧的添加  按钮，新增分析目标与通道（可添加多个）。

APPLICATION	PROTOCOL	MODIFY	IMPORT						
TARGET TYPE	SEGMENTATION	DISPLAY NAME	WAVELENGTH	MASK DISPLAY	COMPARTMENT	TARGET LINKING			
 Nuclei	Fast	Nuclei	1 : DAPI - D...	 BLUE	Everywhere	Non-linked		+	
 Cells	Robust	Cells	2 : FITC - Fl...	 GREEN	Nuclei	Child		+	-

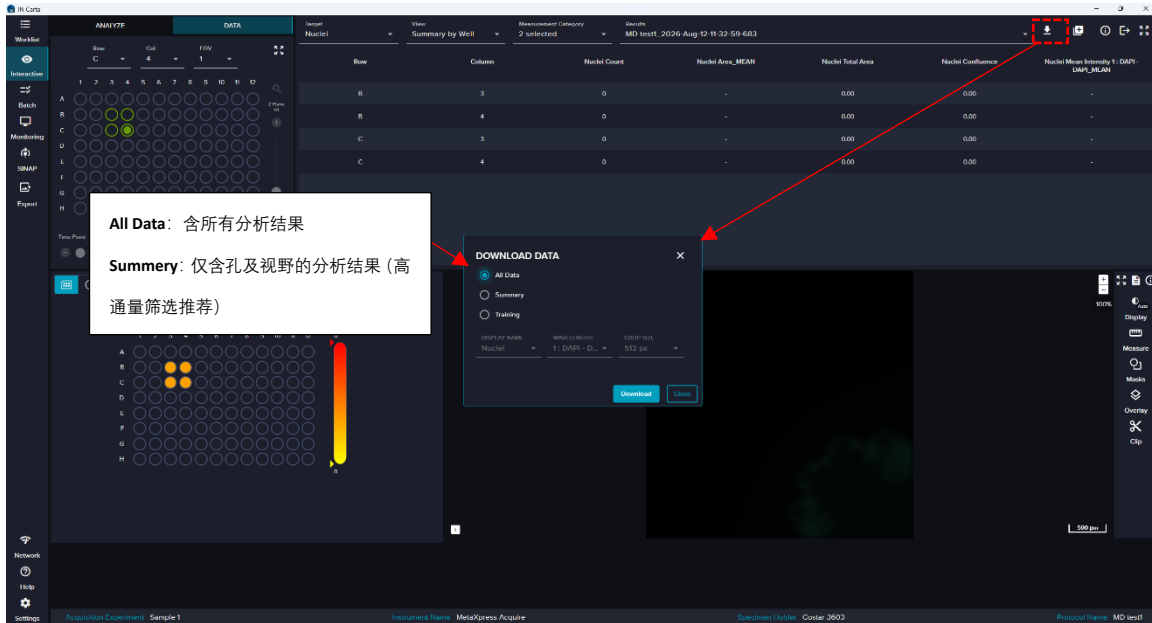
- 点击 Run Protocol 运行分析。软件会显示实时进度，直至最终完成分析。



3.5 结果展示及数据导出

当分析 Protocol 完成分析后，分析结果会以多种形式展示，包括左下方的图表（热力图，柱状图，点状图等等），以及右上方的每项具体数据。

点击右上方的“ Download”按钮，可以下载测量和定量的各项数据，文件以压缩包形式自动保存于电脑 Download 文件夹中，下载结果为 CSV 兼容模式，可使用 EXCEL 进行查看。



3.6 SINAP 分析模块

IN Carta SINAP 分析模块使用机器学习技术，利用多层神经网络来模拟人类大脑处理图像信息。它无需事先定义感兴趣的特定特征，因此在许多应用中，它都能超越传统的分割方法。简易操作流程如下：

- ① 点击 IN Carta 软件左边菜单栏  按钮，进入 SINAP 设置界面
- ② 在 SINAP 界面左上区域的图像选择区域，选择需要分析的通道以及图像所在的孔位和视野



- ③ 在界面右侧的菜单栏中，点亮 ROI 区域  划定工具，在图像显示框中长按左键拖动鼠标进行划分圈选。



- ④ 利用  画笔工具和  (Segmentation Anything Model) 工具对识别目标和图像背景进行圈选识别。

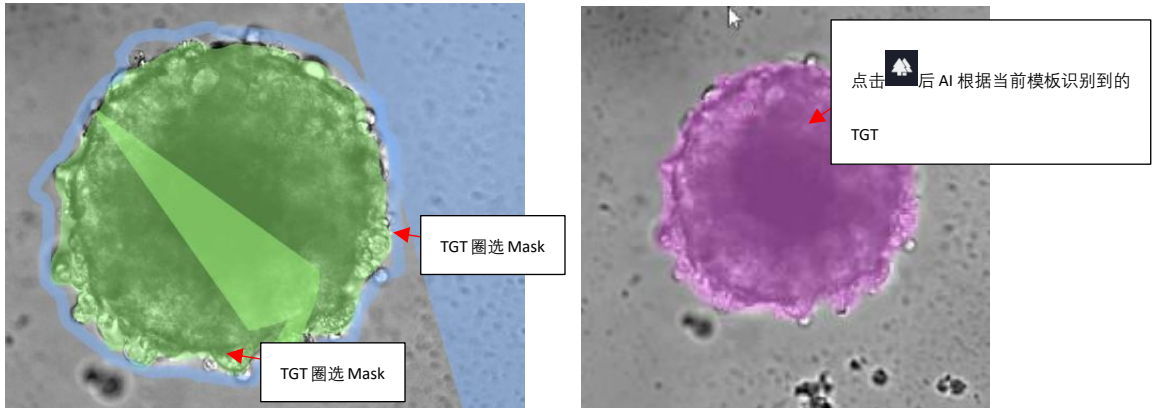
- ⑤ 在  选择后，会出现  的选择按钮，TGT 为 Target 要分割圈选的目标物，BKG 为 Background 在分割过程中作为背景的部分。

- ⑥ 在下方的工具栏中可选择  线条画笔，可在 ROI 区域中进行描线圈选； 折点工具，可在 ROI 中进行折线线段描线圈选； 规则多边形，可在 ROI 中创建多边形圈选； 自由形状工具，可在 ROI 中创建自由多边形圈选。

- ⑦ 选择合适的工具在 ROI 中进行目标 TGT 和背景 BKG 的圈选，圈选完成后点击  按钮，使 AI

ImageXpress HCS.ai 操作指南

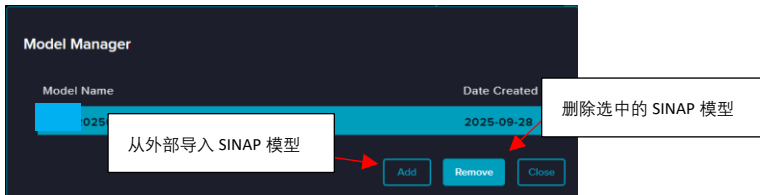
根据圈选的结果，筛选整个 ROI 符合圈选条件的其他 TGT，如下图所示。



⑧ 将上一步骤中识别后的 ROI 图像，点击左侧任务栏中的 **Add** 将此 ROI 图像添加到 AI 训练集中，建议每次训练需选取至少 5 个 ROI 训练图像以保证 AI 训练结果准确。

⑨ 添加适当数量的 ROI 图像后，点击左侧任务栏中的 **Train** 进行 AI 模型训练，训练结束后点击 **Save** 存储 AI 分析模板，并在 3.4 章节中设置 SINAP 分析模型。

⑩ 点击 **Manage** 进行管理。



⑪ 最后在 ANALYSIS 界面选择 SINAP 模型作为分析模型。并参照 3.5 部分导出结果。

