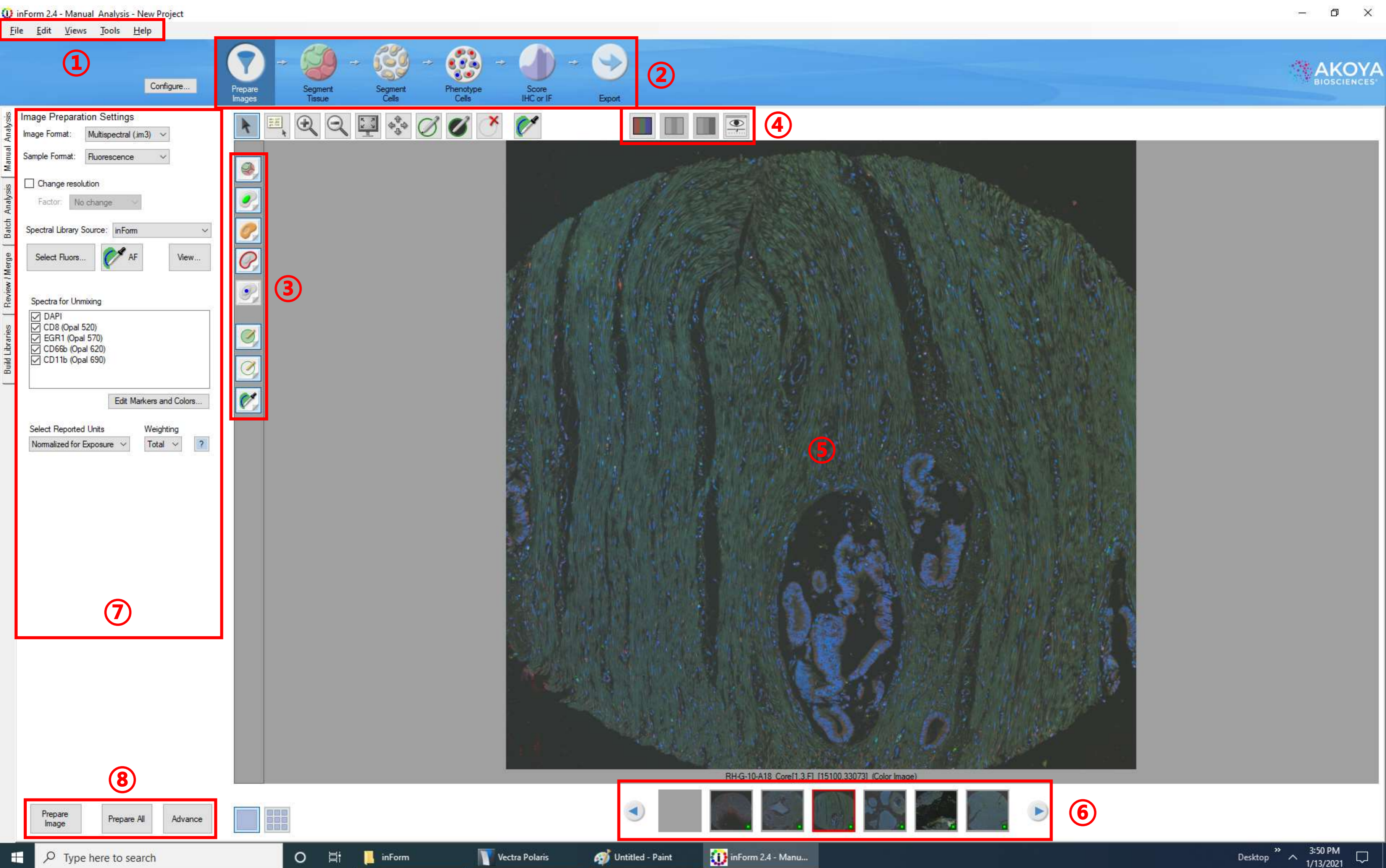


inForm定量分析软件操作说明

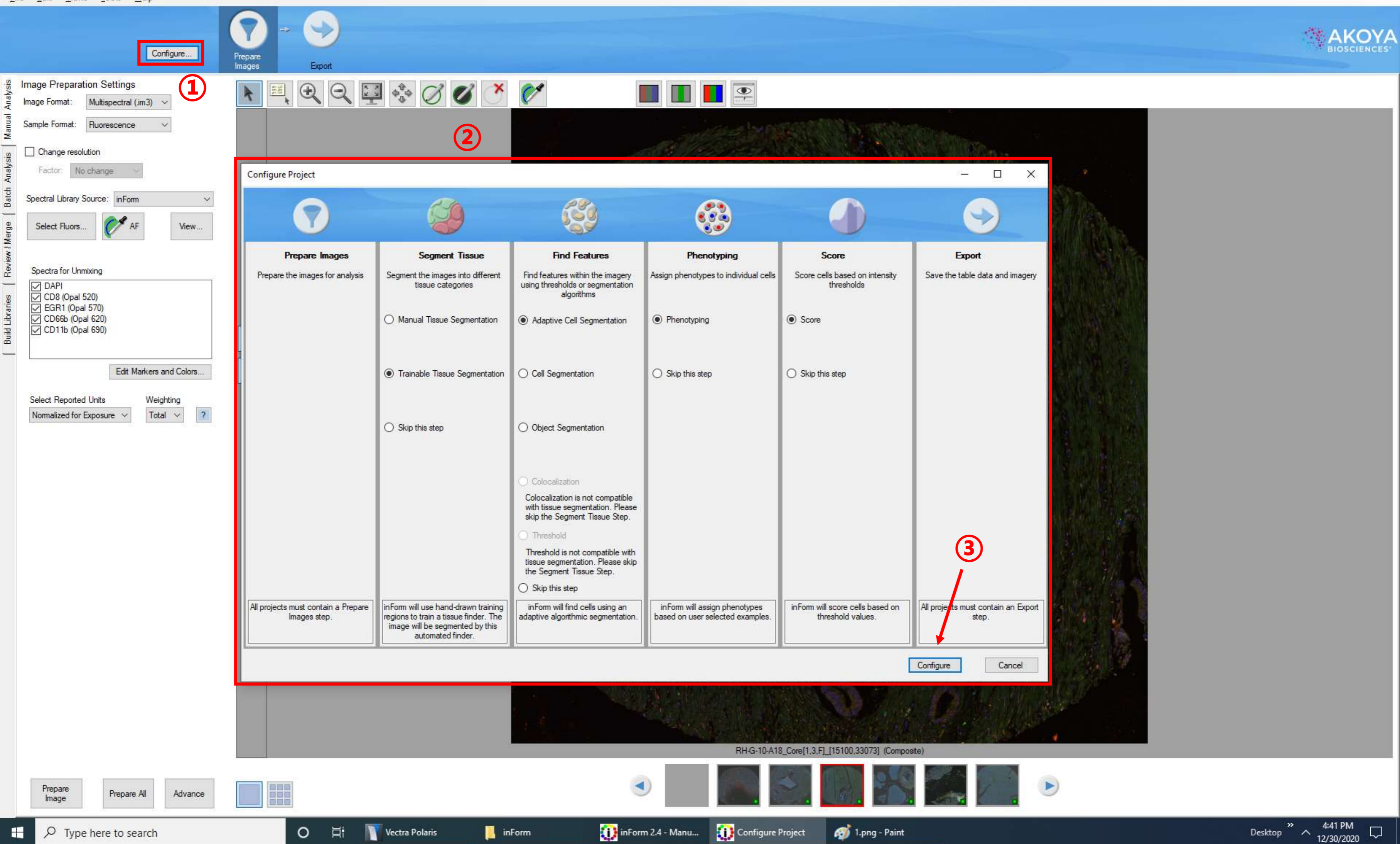
周龙文 技术支持

2023/5/18



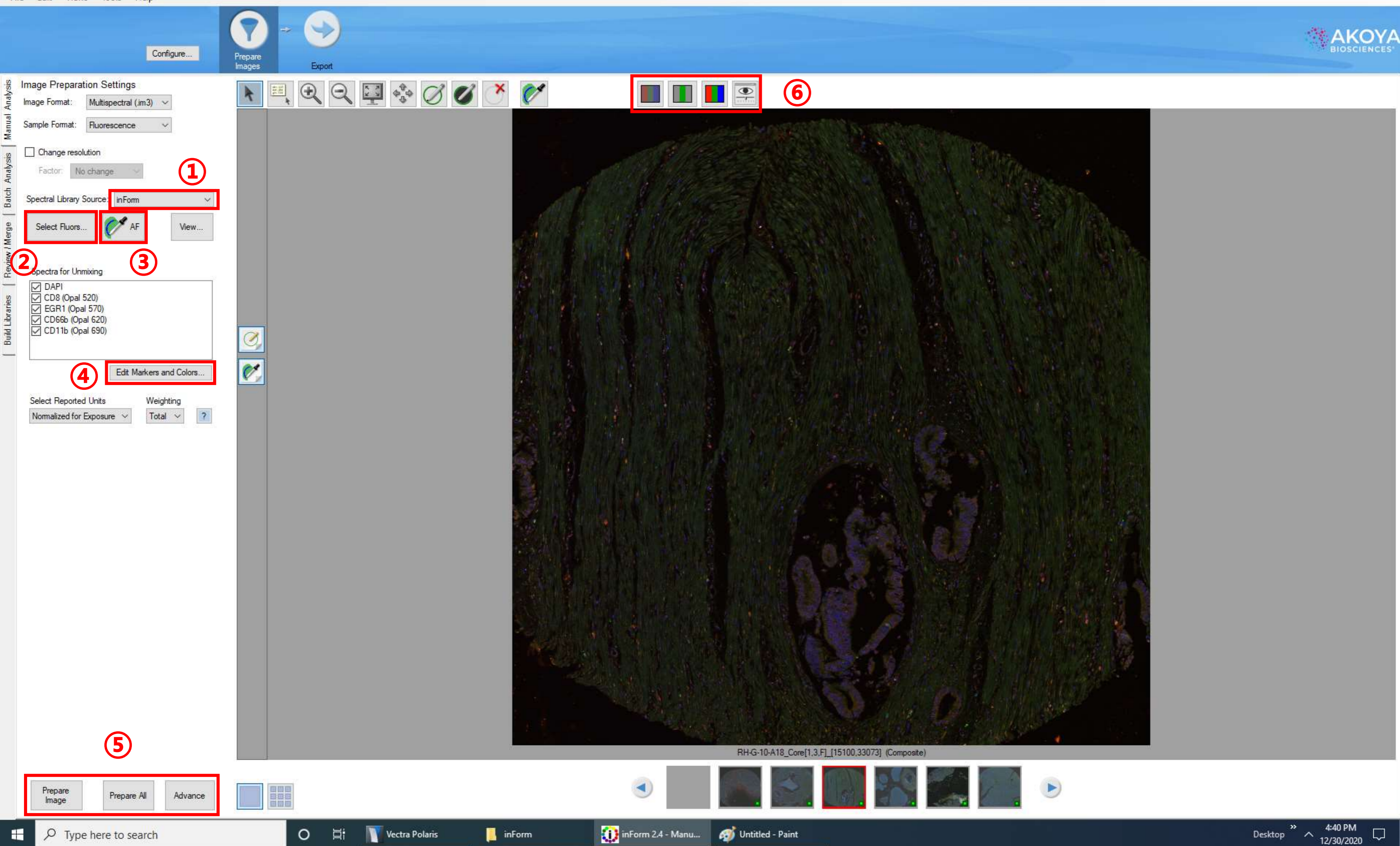
inForm界面说明：

- ①菜单栏，其中File中可打开/保存图片以及算法，Help中可看到详细的软件操作说明；
- ②展示所有的分析步骤及当前步骤，可单击在不同步骤中切换；
- ③显示/隐藏不同的分析图层，鼠标悬停在按钮上可显示详细信息；
- ④切换当前展示的信息类型，可展示图片及定量数据表格；
- ⑤当前分析的图片；
- ⑥打开的图片列表，可单击切换；
- ⑦定量分析参数设定区域；
- ⑧处理图片并进入下一步，每步分析参数设定完毕后都需点击处理图片方可进入下一步。



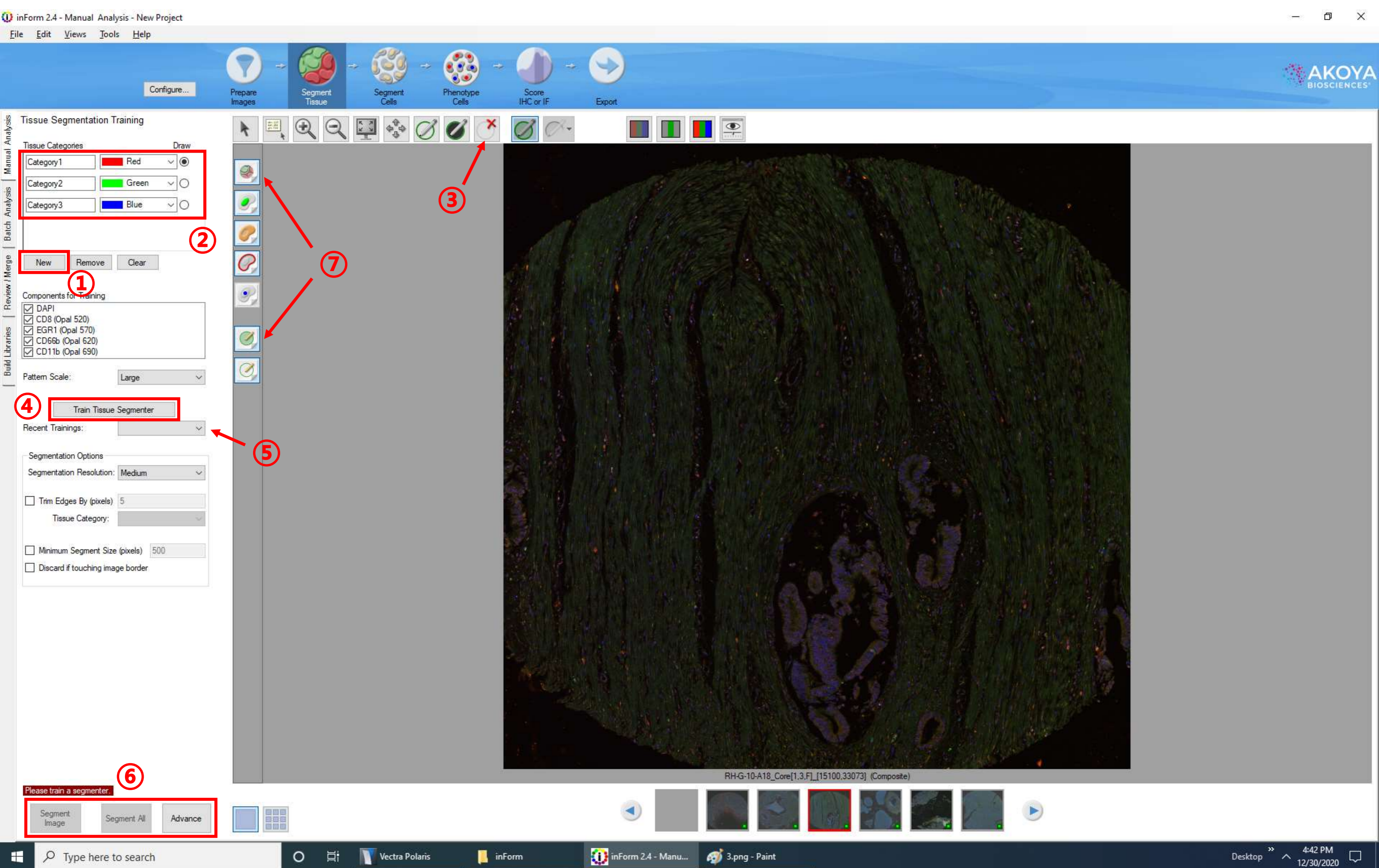
inForm操作说明：

- ① 点击**Configure**，选择需要进行的定量分析模块；
- ② 依次选择要进行分析的模块，从左到右依次为：
 - a) 光谱拆分及扣除自发荧光等图像处理；
 - b) 组织区域识别及拆分，可识别并拆分特定的组织区域，并给出面积占比、区域数量等定量数据，建议选择**Trainable Tissue Segmentation**（自动拆分）；
 - c) 细胞识别及拆分，可根据**DAPI**染色识别出每个单独细胞，并给出细胞个数的统计数据，建议选择**Adaptive Cell Segmentation**（自动拆分）；
 - d) 细胞类型拆分，可定义多种细胞类型，并通过软件自主学习将所有单个细胞归为某一类型，给出不同类型细胞数量的统计数据；
 - e) 阳性率分析，可分析任一蛋白的阳性细胞数量占比，并可根据信号强弱进行**4,10,50**级分级，此外还可分析任意两个蛋白的双阳性细胞数量占比；
 - f) 图片及表格数据导出；
- ③ 根据需要选择分析模块，不需要的模块选择**Skip this step**（其中细胞类型拆分以及阳性率分析需建立在细胞识别拆分的基础上），点击**Configure**。



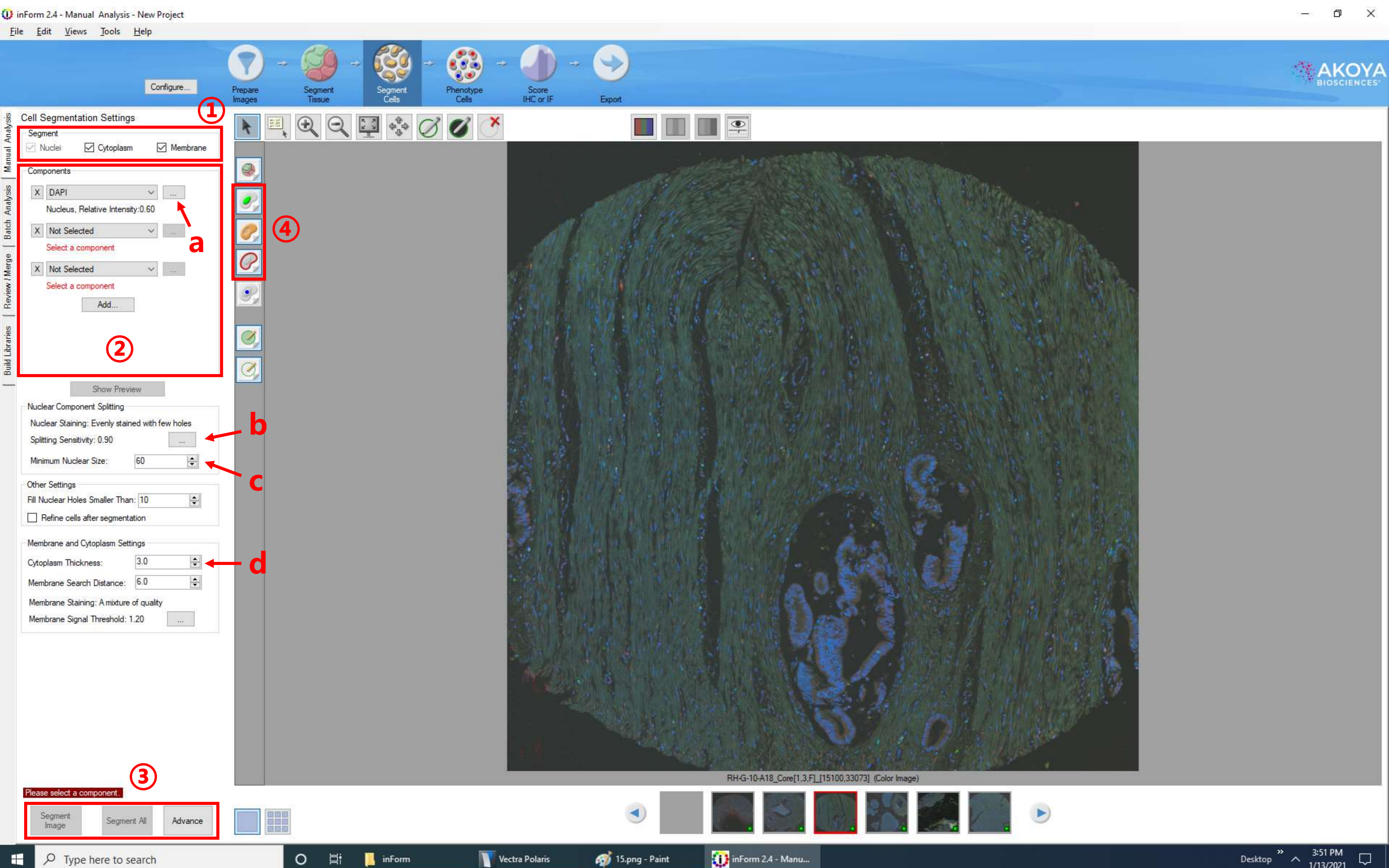
光谱拆分操作说明：

- ①选择光谱数据库，选择inForm；
- ②选择荧光染料，在弹出窗口中勾选染色中所用到的所有荧光染料，并点击确定；
- ③选择自发荧光区域，点中后鼠标变为画笔状，可在当前图像上进行自由划线选择，划线所经过的位置均被认为是自发荧光信号；
- ④编辑每个荧光染料的颜色及所对应的蛋白；
- ⑤处理当前图像/处理全部图像，并进入下一步；
- ⑥切换视图，从左到右依次为：原始图片，单通道明场图片，多色荧光图片，自定义展示。



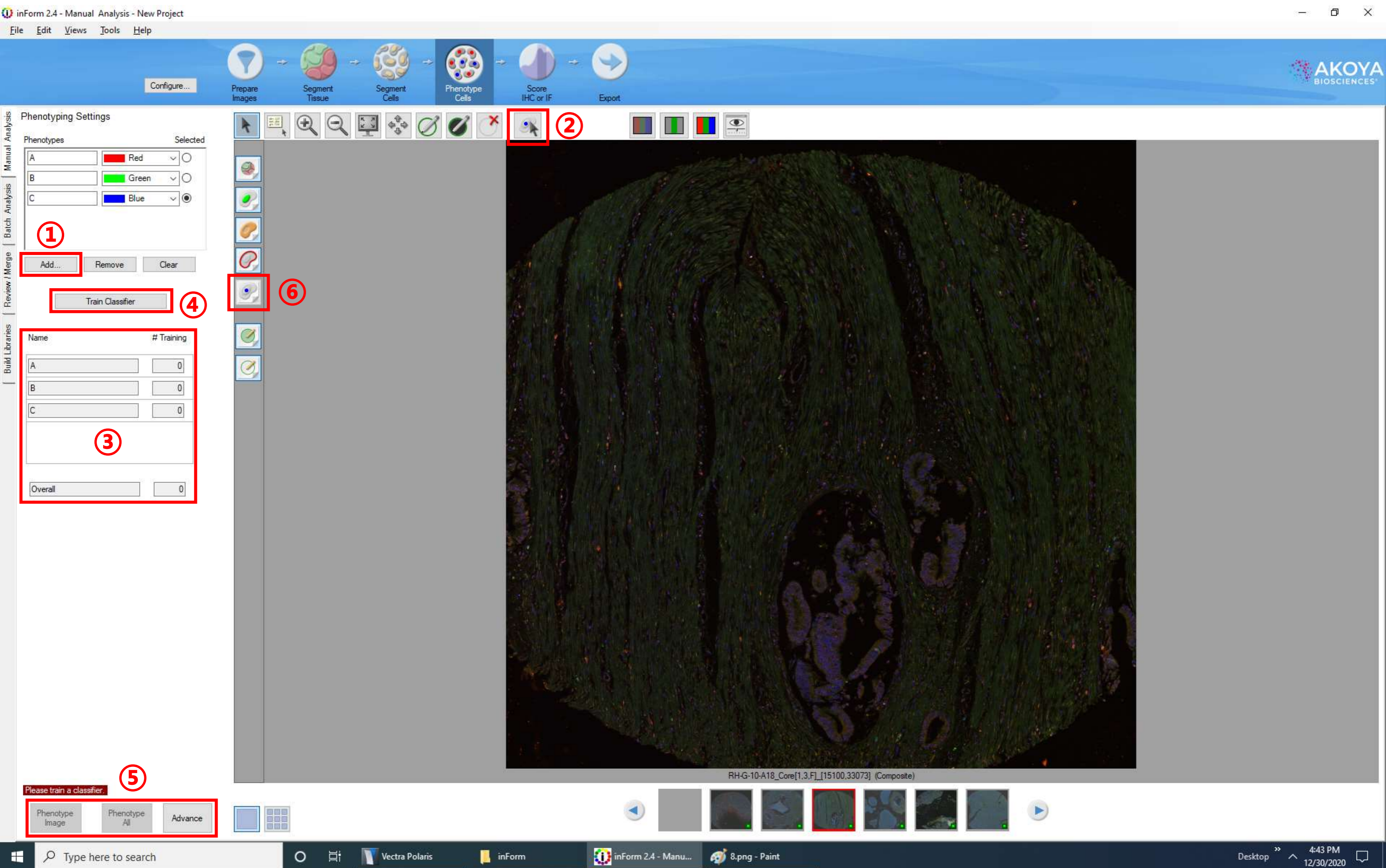
组织识别拆分操作说明：

- ① 点击New新建组织区域类型；
- ② 在框中可编辑不同区域的名称以及展示颜色，点击对应区域后方的圆点可在图片中圈选其对应的特征区域（可在不同图片中选择）；
- ③ 选择错误的区域可点击该键删除；
- ④ 点击Train Tissue Segmenter，等待软件自动学习，精确度达到90%以上即可；
- ⑤ 软件学习记录会显示在此处；
- ⑥ 处理当前图像/处理全部图像，并进入下一步；
- ⑦ 可分别隐藏组织拆分图层以及圈选出的特征区域。



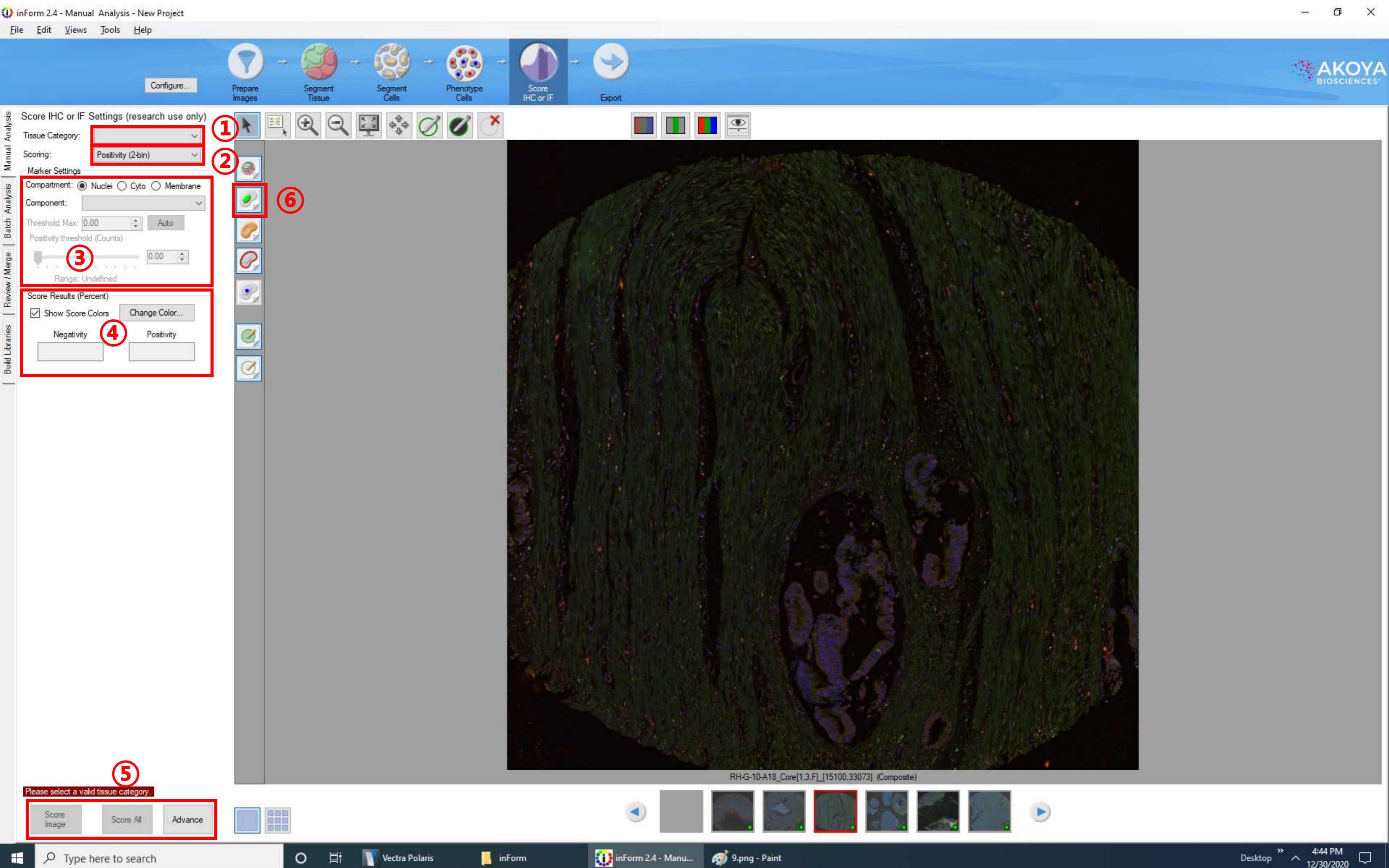
细胞识别拆分操作说明：

- ① 勾选需识别的细胞结构；
- ② 为每种细胞结构指定一种对应蛋白，全部指定完毕后图片上会显示预览窗口，分别调节以下几个参数以使细胞拆分更为精确；
 - a) 细胞核信号强度阈值；
 - b) 细胞核拆分灵敏度；
 - c) 细胞核大小阈值；
 - d) 细胞质厚度；
- ③ 处理当前图像/处理全部图像，并进入下一步；
- ④ 点击可分别隐藏/显示细胞核、细胞质和细胞膜。



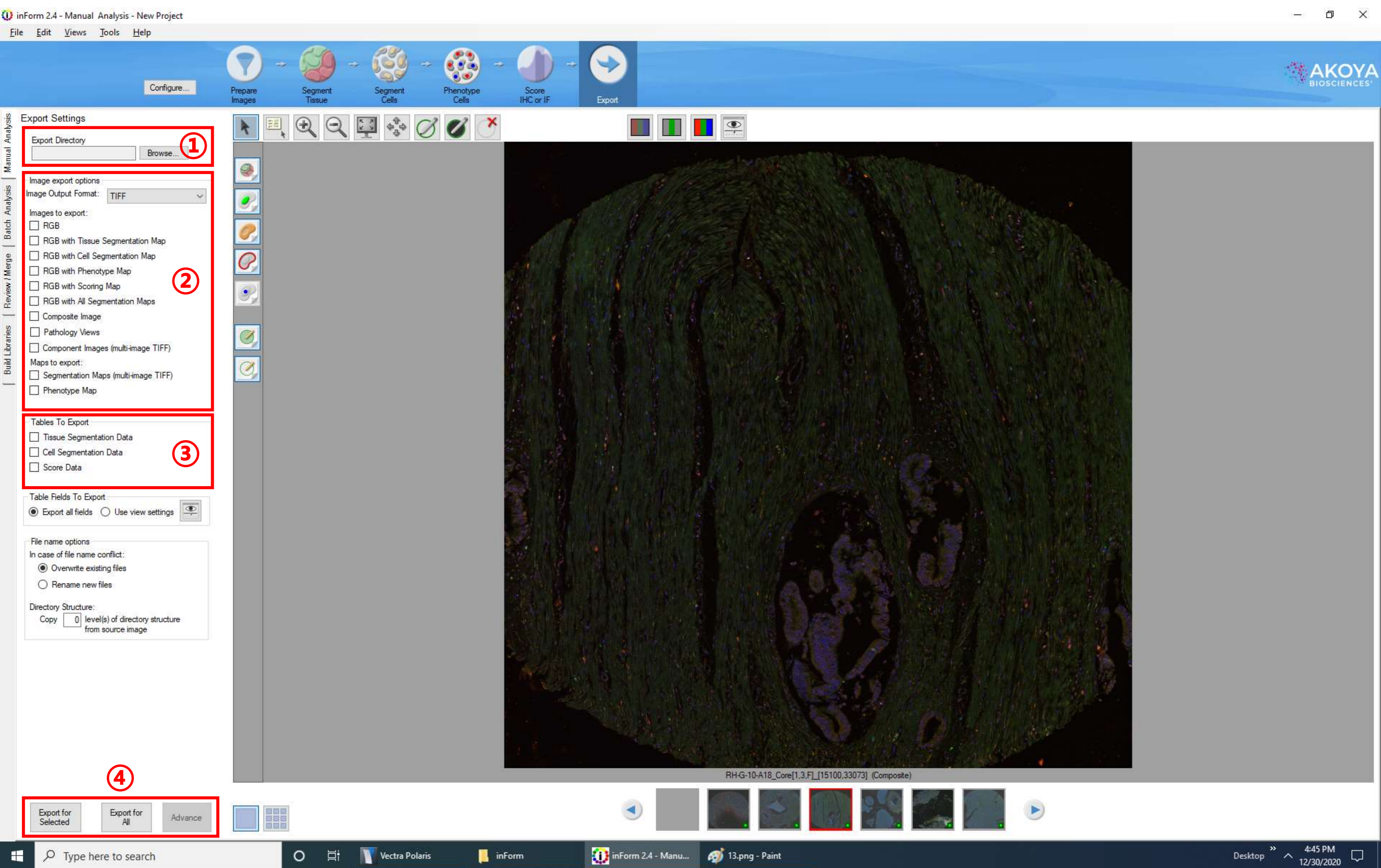
细胞类型拆分操作说明：

- ①点击Add新建细胞类型；
- ②点中该图标后可在图片上左键点击细胞核位置，并将该细胞定义为某种类型；
- ③所有选中的细胞数量会显示在此，每种类型细胞数量应不少于5个；
- ④点击Train Classifier，软件会根据选中的特征细胞进行学习，并将所有细胞进行归类；
- ⑤处理当前图像/处理全部图像，并进入下一步；
- ⑥该图标可显示/隐藏细胞类型拆分图层，或仅展示勾选中的细胞类型。



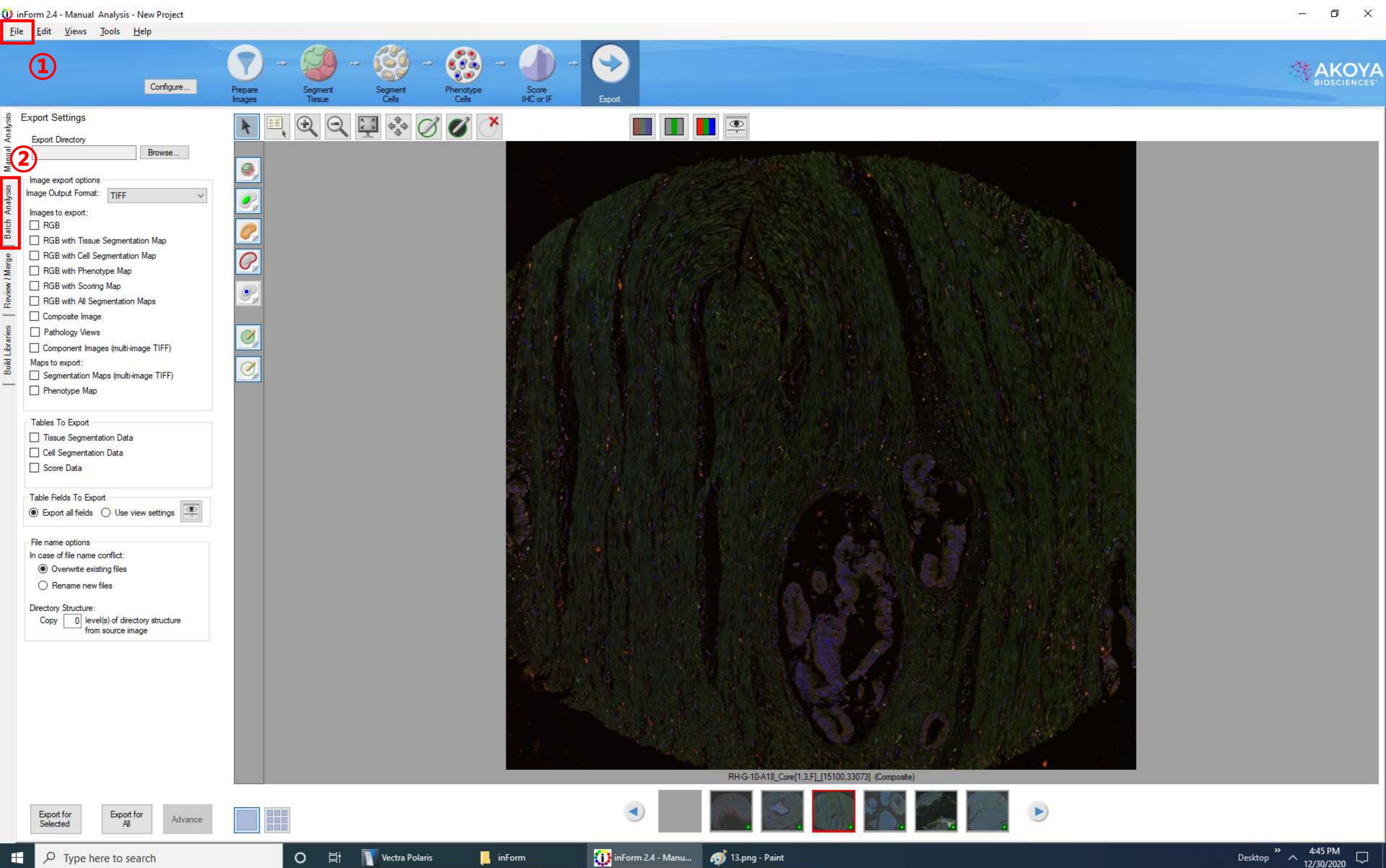
阳性率分析操作说明：

- ①选择分析区域，若需全图分析，则应在此前跳过组织区域拆分步骤；
- ②选择分析方式，下拉框中依次为单阳性率分析、双阳性率分析、单阳性率的分级分析（4,10,50级）；
- ③在此处分别选择要分析的蛋白及其表达位置，点击Auto后软件会自动划定阈值，信号强度高于此阈值的细胞被认为是阳性细胞，该阈值可根据病理医生的人工判断进行适当调整；
- ④该蛋白的阴性/阳性细胞占比会显示在此处，可点击Change Color更改其展示颜色；
- ⑤处理当前图像/处理全部图像，并进入下一步；
- ⑥点击可显示/隐藏阳性及阴性细胞图层；
- ⑦双阳性率分析与单阳性率类似，分别选择两种要分析的蛋白及其表达位置，分别点击Auto后软件会自动划定阈值。



数据导出操作说明：

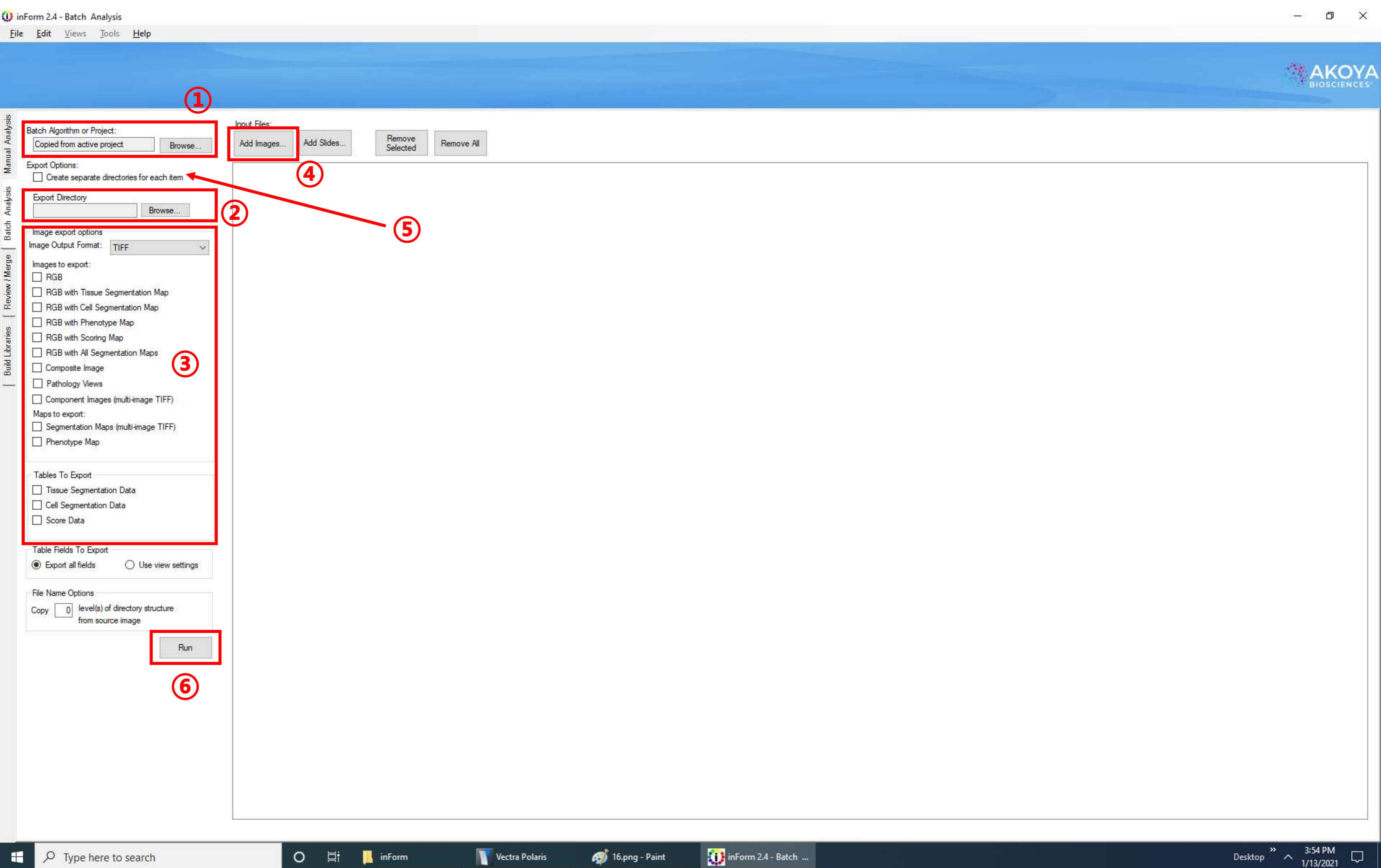
- ①选择数据输出文件夹（需为空的文件夹）；
- ②选择需导出的图片（将鼠标悬停于选项上可显示该选项具体描述）；
- ③选择需导出的表格（将鼠标悬停于选项上可显示该选项具体描述，表格为txt格式，可用Excel打开）；
- ④导出当前图像/导出全部图像。



批量分析操作说明：

① inForm具有批量分析功能，在单次分析完成后，点击File -> Save -> Algorithm，可保存当前分析算法；

② 点击Batch Analysis按钮，进入批量分析界面。



批量分析数据导出操作说明：

- ①选择批量分析所用算法；
- ②选择数据输出文件夹（需为空的文件夹）；
- ③选择需导出的图片及表格；
- ④添加需批量分析的图片；
- ⑤选中后软件会为每张批量分析的图片创建单独的文件夹；
- ⑥运行批量分析。