

PerkinElmer IVIS Lumina III 活体成像系统操作步骤

IVIS 系统开机

1. 启动计算机和机器电源
2. 点击 Living Imaging 软件启动程序，并点击 Initialize 初始化 IVIS 系统
3. 初始化时，IVIS Acquisition Control Panel 中的温度状态灯为红色，当温度状态灯绿色时可进行成像

Living Imaging 软件操作步骤

生物发光和荧光单张图像获取操作步骤：

1. 将预麻醉的小鼠放入成像箱，小鼠头部置于麻醉玻璃面罩内，轻轻关门
2. IVIS Acquisition Control Panel 中选择成像模式：Luminescent（生物发光）或 Fluorescent（荧光）
3. 选择曝光参数，默认值为 Auto（注：也可手动调节成像参数，包括 Exposure Time 曝光时间，Binning，f/stop 光圈）
4. 确保 Photograph 和 Overlay 选项被勾选
5. 选择成像视野大小：ABCD。A 适用于小鼠局部成像，D 可同时成像 3 只小鼠
6. 选择小鼠成像高度（Subject height）为 1.50 cm
7. 对于生物发光成像，Excitation Filter 默认为 Block，Emission Filter 默认为 Open，对于荧光成像，需依据目标荧光染料或探针选择合适的激发（Excitation Filter）和发射（Emission Filter）滤光片
8. 点击 Acquire 按钮获取成像图片，在自动弹出的 Image Labels 中对图片进行命名和注释
9. 获取图片后，点击 Tool Palette 中的 Image Adjust，将 Individual 勾选框去掉，使得 Color Scale 可以显示出来，点击 Tool Palette 中的 ROI Tools，选取 Circle，Square，Free Draw 或 Grid 进行 ROI 圈选
10. 点击 Measure ROIs，获取 ROI 区域的定量数值，对于生物发光成像，定量单位为 Radiance（photons），对于荧光成像，定量单位为 Radiant Efficiency

生物发光和荧光序列图像（Sequence）获取操作步骤：

1. 将预麻醉的小鼠放入成像箱，小鼠头部置于麻醉玻璃面罩内，轻轻关门
2. IVIS Acquisition Control Panel 中点击 Imaging Wizard，点击选择 Luminescence 或 Fluorescence

3. 对于生物发光成像，选择 Luminescence-Open Filter 后点击 Next，在弹出的窗口中选择成像物体（Imaging Subject）和拍照参数（一般默认值为 Auto），点击 Next，然后在 IVIS Acquisition Control Panel 中点击 Acquire Sequence
4. 对于荧光成像，选择 Fluorescence 后，点击 Filter Pair，选择合适的荧光染料或染料对应的激发/发射滤光片对，点击 Next，在弹出的窗口中选择成像物体（Imaging Subject）和拍照参数（一般默认值为 Auto），点击 Next，然后在 IVIS Acquisition Control Panel 中点击 Acquire Sequence
5. 如要进行连续动态拍摄，勾选 Time Series Study，输入所需拍照数量（Total number of segments）和拍照间隔时间（Delay between segments）

荧光光谱分离步骤（Manual）：

1. IVIS Acquisition Control Panel 点击 Imaging Wizard，并选择 Fluorescence
2. Fluorescence-Spec Unmix/Filter Scan 窗口中选择探针类型和扫描滤光片组后点击 Next，在弹出的窗口中选择成像物体（Imaging Subject）和拍照参数（一般默认值为 Auto），点击 Next，在 IVIS Acquisition Control Panel 中点击 Acquire Sequence 获取序列光谱扫描图像
3. 在 Tool Palette-Spectral Unmixing-Analyze 中选择 Manual，点击 Start Unmixing
4. 用铅笔图标手动在混合光谱叠加图中画选需要光谱分离的成分：包括背景荧光点（TissueAF）和目标信号点
5. 通过 Computer the pure spectrum 图标计算出目标信号的纯光谱
6. 点击 Unmix，获取光谱分离成像结果