**IVIS小动物活体成像系统实验操作和数据分析手册**

**一、实验流程**

1. 扫码上机，开电脑
2. 打开仪器电源（左后方）；检查成像室。
3. 打开桌面软件“Living image”，选择账号“PKI”，无密码登录软件
4. 打开软件“Activity window”后，点击 Initialize（初始化）
5. 初始化过程中，打开麻醉系统
6. 检查麻醉机剩余量
7. 打开氧气气瓶阀门
8. 打开麻醉机总开关（VAcuuM PUMP Master Switch）
9. 向上打开氧气开关（O2-Master Switch）
10. 打开OUT2开关（向下：1000 CC/min；向上：500 CC/min；中间为关闭）
11. 该麻醉机系统为多通道，可同时使用一个或任意通道。OUT3为体外气麻；OUT4通往麻醉盒；OUTA通往仪器室；OUTB为体外气麻。
12. 将小鼠放入麻醉盒内麻醉
13. 将麻醉后的小鼠放在仪器内的成像平台上
14. 观察操作面板。相机温度指示条变为绿色后，方可成像。
15. 选择成像模块：①Luminescent 生物发光：不需要激发光 仅需选择发射光波长

②Fluorescent荧光成像：选择激发光+发射光波长（需开荧光灯箱）

③Photograph 明场成像： 一般搭配①或者②使用

1. 调节曝光时间：一般不确定曝光时间，可调至AUTO 自动曝光。自动曝光后查看拍摄结果的曝光时间，自行选择合适的曝光时间。以此选择合适固定的曝光时间。Photograph默认自动曝光，不用调节。 注意： Fluorescent模块曝光时间最好不超过1分钟；Luminescent模块曝光时间最好不超过5分钟。
2. 调节Binning（像素）值：数字越大，像素格越大，清晰度越低，显示灵敏度越高。拍摄之前和之后都可调节。
3. 调节F/STOP：控制相机光圈的大小。数字越大，光圈越小，清晰度越高，灵敏度越低。
4. 调节成像视野的大小。A局部成像（不能用于Fluorescent成像）；B局部成像；C可拍一只小鼠；D可拍3只小鼠。
5. 点击Acquire开始拍摄。拍摄结束后，结果会自动弹出。

**二、数据分析**

1.查看结果。 可自行调整图片亮度、对比度、不透明度等。调节color bar最大值和最小值，扣除显示背景。 不同结果之间需要比较时，请保持以上图像参数一致。

2.单位选择：Luminescent成像结果请选择 Radiant Efficiency；Fluorescent成像结果请选择Radiance（Photons）

3.定量分析。下拉ROI，用圈圈（或其他形状）圈出需要定量分析的信号。（确保所有图片中，测量范围大小一致）。选择对应的单位后，点击EXPORT导出测量数据。