### IVIS Spectrum小动物活体成像系统简明操作规程

**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**

**生物发光和荧光二维成像步骤：**

1. 将麻醉的小鼠放入成像箱并关门。
2. IVIS Acquisition Control Panel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（也可手动调节成像参数，包括Exposure Time曝光时间，Binning，f/stop光圈）。
4. 勾选Photography，Overlay和Alignment Grid选项。
5. 选择成像视野大小： A适用于小鼠局部成像，D可同时成像5只小鼠。
6. 选择小鼠成像高度（Subject height）为1.50 cm。
7. 选择激发（Excitation Filter）和发射（Emission Filter）滤光片。
8. 注：生物发光成像Excitation Filter选择Block，Emission Filter选择Open。
9. 点击Acquire按钮获取成像图片。
10. 获取图片后，点击Tool Palette中的ROI Tools，选取Circle，Square，Free Draw 或Grid进行ROI圈选。
11. 点击Measure ROIs，获取ROI区域的定量数值。

**荧光光谱分离步骤（Automatic）：**

1. IVIS Acquisition Control Panel点击 Imaging Wizard，并选择Fluorescence。
2. Fluorescence-Spec Unmix/Filter Scan选择探针类型，并选择波长扫描方式和成像物体（Imaging Subject）。
3. 点击Acquire Sequence 获取序列图像。
4. Tool Palette选择Automatic，并点击Start Unmixing。
5. 选择需要光谱分离的成分，点击Finish，获取光谱分离成像结果。

**生物发光三维重构成像:**

1. IVIS Acquisition Control Panel 点击Imaging Wizard， 并选择Bioluminescence。
2. Imaging Wizard-Bioluminescence 选择DLIT，点击Next，选择生物发光类型和成像物体（Imaging Subject）。
3. 点击Acquire Sequence 获取序列图像。
4. 获得序列图像后，Tool Palette 点击Surface Topography，选择小鼠成像姿势（Orientation）和物体类型（Subject），并点击Generate Surface。
5. Single View Surface Topography Analysis获取表面拓扑区域，并点击Finish，获得小鼠表面拓扑成像图像。
6. Tool Palette点击DLIT 3D Reconstruction，Analyze选择拓扑成像所需滤光片，Properties选择光源类型（Source Spectrum），并点击Start，并接下来点击Reconstruct获取生物发光三维图像。

**荧光三维重构成像：**

1. IVIS Acquisition Control Panel 点击Imaging Wizard， 并选择Fluorescence；
2. Imaging Wizard-Fluorescence 选择FLIT，点击Next，选择类型和成像物体（Imaging Subject）。
3. Imaging Wizard-Fluorescence-FLIT点击Transillumination Setup，选择荧光透射区域并点击OK。
4. 点击Next，并点击Acquire Sequence获取序列图像。
5. 获得序列图像后，Tool Palette 点击Surface Topography，选择小鼠成像姿势（Orientation）和物体类型（Subject），并点击Generate Surface。
6. Single View Surface Topography Analysis获取表面拓扑区域，并点击Finish，获得小鼠表面拓扑成像图像。
7. Tool Palette点击FLIT 3D Reconstruction，Analyze选择拓扑成像所需滤光片，Properties选择组织类型（Tissue Properties），并点击Start，并接下来点击Reconstruct获取荧光三维图像。