**小动物活体可见光三维成像系统操作规程**

**IVIS Spectrum**

1. 打开仪器电源。
2. 打开电脑，输入账号：administrative，密码：password。
3. 双击桌面上的软件Living Image软件，跳出窗口User ID选择PKI，点OK。
4. 点击软件界面右下角Initialize进行仪器初始化，待颜色从红色变成绿色代表初始化成功。（耗时10-15分钟）
5. 点击工具栏Acquisition选择Auto-save To设置文件存储路径：D盘-课题组负责人姓名-日期（全英文，无中文）。
6. 点击Image Wizard进行成像模式设置：

生物发光：选择点击 Bioluminescence ，点击Next→选择Open Filter模式，点击Next→在field of view根据实验需要选择成像区域（D：3-5只小鼠或1只大鼠；C：1-2只小鼠），点击Next。

荧光成像：选择Fluorescence ，点击Next→点击Filter pair，点击Next→在Name选择相应的荧光染料来选择对应的激发和发射光滤片（如果荧光探针不在列表中，选择input Ex/Em，然后手动输入该探针的激发和发射波长）点击Next→在field of view根据实验需要选择成像区域，点击Next。

1. 在动物舱中放入样本，关好舱门，点击Acquire sequence进行拍摄。
2. 在弹出的对话框中输入样本信息（user、group...），点击OK。
3. 拍摄结束后，清理动物舱，关闭电脑软件，带齐物品打扫卫生后离开。

**气体麻醉装置简要操作步骤**

1. 检查蒸发罐内异氟烷是否充足，在诱导麻醉盒中垫入两层卫生纸。
2. 打开空气泵开关。
3. 按下黑色按钮打开麻醉蒸发罐开关，调节刻度至2后，旋转打开旁边的流量计使其流量为2L/min左右。
4. 将小鼠放入诱导盒麻醉，待小鼠麻倒不动后等待2min取出放入动物舱。
5. 使用结束后关闭蒸发罐开关，流量计开关和空气泵开关，清理诱导麻醉盒。

**仪器操作注意事项**

1. 在操作电脑和打开仪器舱门放样品时，请实验者脱下手套。
2. 在进行荧光三维模式拍照（FLIT）和透射模式拍照情况下，载物台上不可放垫板。
3. 动物成像前一天请用剃毛刀剃毛。
4. 胃肠道食物可能会影响成像效果，可提前一天或者一晚上禁食，不需要禁水。
5. 可选择阴性对照组来避免动物自带荧光干扰。
6. 光谱分离（spectral unmixing）：去除皮肤自发荧光背景；拆分多种染料光谱信号。
7. 仪器配备UPS稳压电源，断电情况下可维持仪器运行7-8分钟。如果成像过程发生断电情况，请立即保存数据并断开仪器电源，否则下次开机会影响仪器运行。
8. 每次开软件必须对仪器进行初始化自检。
9. 载物台脏的时候可用鹿皮巾蘸75%的酒精擦拭（抹布挤干），内壁与侧壁也可擦拭，但切记上壁是镜头，不可擦拭。
10. 如果拍照过程中出现老鼠走丢的情况，选择表格左下的service功能：确保载物台上无其他异物，点击service→选择yes，载物台上升→竖起支撑杆抵住载物台确保安全，在载物台下取出老鼠或其他杂物如粪便→放下支撑杆，选择load，点击yes。
11. 异氟烷吸附滤网半年换一次，也可清洗后重复使用。
12. 在成像过程中切勿打开仪器舱门，此行为易会对仪器造成损坏。