

中国科学院分子细胞科学卓越创新中心 动物实验技术平台 标准操作规程	文件编号	CEMCS-ACF-SOP-3-04-2023
	第 1 页	共 4 页
	第 1 版	第 0 次修订
小动物活体光学成像仪标准操作规程	实施日期	2023 年 4 月 15 日

1、前言

建立标准的小动物活体光学成像仪操作规程。

2、适用范围

适用于使用此设备进行实验操作的实验人员及设备管理员。

3、主体内容

3.1 使用资格：实验人员所进行的动物实验必须经过中心动管会审核通过，实验操作人员需要经过本单位动物实验培训并取得上岗证。操作人员必须经过仪器设备使用操作培训并取得使用操作许可。

3.2 使用前预约：使用小动物活体光学成像仪需至少提前 1 个工作日与仪器设备管理员线下预约，管理员审核批准后方可使用。

3.3 设备简介：小动物活体光学成像仪可用于肿瘤、免疫、糖尿病、心血管疾病、感染性疾病、基因和细胞治疗，药物研发等领域的研究。例如：1. 利用萤火虫荧光素酶（Firefly Luciferase）或荧光蛋白作为报告基因，通过转基因技术体外标记细胞而直接观测疾病的发展变化，或标记特定基因而研究疾病相关基因在疾病发展中的作用；2. 通过外源注射功能性荧光探针，观测疾病发展过程中的分子事件，进而反映疾病的发展变化。

3.4 操作方法

3.4.1 启动

启动电脑，打开 Living Image 软件，选择用户名 PKI 后点击 OK 进入应用。

3.4.2 初始化

点击 initialize 按钮，初始化小动物活体成像系统，等待 CCD 降温至工作温度（温度颜色条将变成绿色），预计耗时 10 分钟。

3.4.3 启动麻醉机

打开氧气瓶，启动麻醉机废气回收泵，打开氧气供给阀。

3.4.4 实验动物准备

(1) 生物发光成像：小鼠腹腔注射荧光素酶底物；注射 7-8 分钟后，动物进行气体麻醉（2-3 分钟），将麻醉后的小鼠放入成像仓中，将动物按照所需要的角度和目标部位摆放

在呼吸面罩位置，切换麻醉通气管路为成像仓，关闭成像仓门。绝大多数模型中，荧光素在注射后 10-15 分钟时生物发光强度达到峰值进入平台期。

(2) 荧光成像：裸鼠为最优选择。有毛小鼠则需在成像目标部位进行剃毛，麻醉后将小鼠放入成像仓中，将动物按照所需要的角度和位置摆放，关好成像仓门。

3.4.5 成像模式选择

(1) 生物发光成像：

- a. 选择生物发光成像模式
- b. 确认激发滤光片和发射滤光片分别被设置为“Block”和“Open”。
- c. 设置 binning 值和 F/Stop（光圈）值：一般建议使用默认的 binning 值和 F/Stop 值，偶尔可依据生物发光成像的具体实验情况设置新的 binning 值和 F/Stop 值。
- d. 设置曝光时间：使用默认的自动曝光时间或依据生物发光成像的具体实验情况设置新的曝光时间，一般不超过 60 秒。
- e. 设置 FOV：调节成像视野（FOV），从 FOV 下拉条中选择适合的值，一般选择 D 位置，可每次成像 5 只小鼠。
- f. 备注：在成像前可以先拍一张明场照片（去掉“luminescent”或“fluorescent”的勾选框，在“Photographic”和“Auto”勾选框内打勾，点击“Acquire”进行拍照），用于观察动物在成像仓内的状态。
- g. 点击“Acquire”获取图像。若要取消图像获取过程，点击“Stop”。

(2) 荧光成像：

- a. 选择荧光成像模式。
- b. 对于 IVIS Spectrum：若希望使用底部激发成像，请选择透射成像模式；若使用顶部激发成像，不要选择透射成像模式。
- c. 滤光片锁定（Filter Lock）模式下，从激发滤光片下拉条中选择激发滤光片，软件会自动选择适当的发射滤光片。
- e. 确认荧光光源的位置被设置为 High。
- f. 设置 binning 值和 F/Stop（光圈）值：使用默认的 binning 值和 F/Stop 值或依据荧光成像的具体实验情况设置新的 binning 值和 F/Stop 值。

- g. 设置曝光时间：使用默认的自动曝光时间或依据荧光成像的具体实验情况设置新的曝光时间。
- h. 设置 FOV：调节成像视野（FOV），从 FOV 下拉条中选择适合的值。
- i. 备注：在成像前可以先拍一张明场照片（（去掉“luminescent”或“fluorescent”的勾选框，在“Photographic”和“Auto”勾选框内打勾，点击“Acquire”进行拍照），用于观察动物在成像仓内的状态。
- j. 点击“Acquire”获取图像。若要取消图像获取过程，点击“Stop”。

（3）荧光断层成像

- a. 在控制面板上点击“Sequence Setup”，进入序列采集模式，弹出序列编辑器窗口。
- b. 在控制面板中勾选“Fluorescent”，然后勾选“Transillumination”并设置荧光成像参数（曝光时间，binning, F/stop, 激发波滤光片，发射滤光片）。
- c. 对明场成像自定义设置并确保勾选“Reuse”。
- d. 在控制面板中，点击“Setup”，“Transillumination Setup”窗口会弹出。
- e. 软件会提示更新照片，点击“Yes”获取新的明场照片。
- f. 在“Transillumination Setup”窗口中，在信号光源区域周围选择 12-15 个点。
- g. 在序列编辑器中，“Transillumination Setup”窗口弹出时点击“Add”，获取图像的参数会加入到该窗口中。在窗口中的每一行代表一个透射成像点。每一个被选择的成像点可获取一张图片。
- h. 动物表面结构重建基于获取的明场图像。在序列编辑器窗口中的“Structure”栏下，点击相应的行，会弹出一个“Yes/No”的勾选框。在“Structure”中选中该勾选框获取序列图像中的一张光学结构图像。
- i. 点击控制面板中的“Acquire”获取图片
- j. 在图像上方的“Units”下拉菜单中转换到校准单位“NTF Efficiency”。

3.4.6 导出数据和结果

保存图片及相关数据。关闭软件程序，无需关闭电脑及仪器主机。

3.5 场地清理：实验结束后，及时清理实验场所，清洁仪器设备。

3.6 使用登记：使用完毕后进行填写《设备使用登记表》，填写使用人员、所属课题组、使用时间、实验数量（时长）、仪器状态等。

3.7 严格禁止改动仪器参数、电脑设置及电脑内所存放的实验数据资料等

3.8 保养计划：

保证设备运行及存放环境符合设备要求：温度 21-23℃；湿度 40-60%。一般情况下仪器和关联电脑处于持续开机状态，遇到停电或长假期的情况需提前关机并切断电源。定期检查并按时更换仪器所需要的耗材：荧光成像设备需要检查麻醉剂（容量是否处于最高及最低刻度之间）、氧气（压力过低时更换）、废气回收罐（增重 50g 后更换）、背景纸（每 50 只动物更换）。荧光成像设备要求每年度由公司技术人员进行一次仪器校验，以最大程度保证实验数据可靠性。

3.9 应急预案：

发生故障或异常情况时，应立即关闭主机电源并记录设备故障现象及显示屏所显示信息。取出实验样品，上报设备管理员，如管理员无法自行处理，则需要向平台负责人通报情况并联系代理商对设备进行维修。待故障排除并经测试正常后，方可重新投入使用。

4、附则

4.1 设备安置地点新生化大楼 1614 室。仪器设备管理员：康康，联系方式：

kangkang@sibcb.ac.cn。电话：54921452\13585929344

4.2 维保方：珀金埃尔默医学诊断产品（上海）有限公司