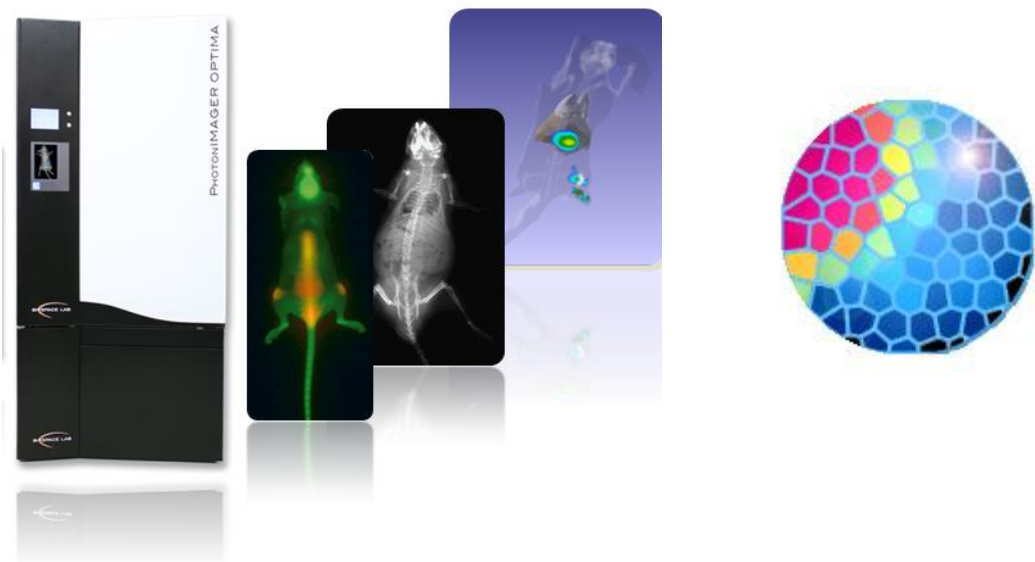


# 操作手册



仪器概况-----2

## 第一部分 光学信号的采集

一. 开机、待机并关机-----4

二. 动物设施准备-----5

三. 光学信号采集-----6

## 第二部分 3D 5D模块的使用

一. 4-VIEW和3D-----12

二. 5D-----15

## 第三部分 M3vision 分析软件的使用

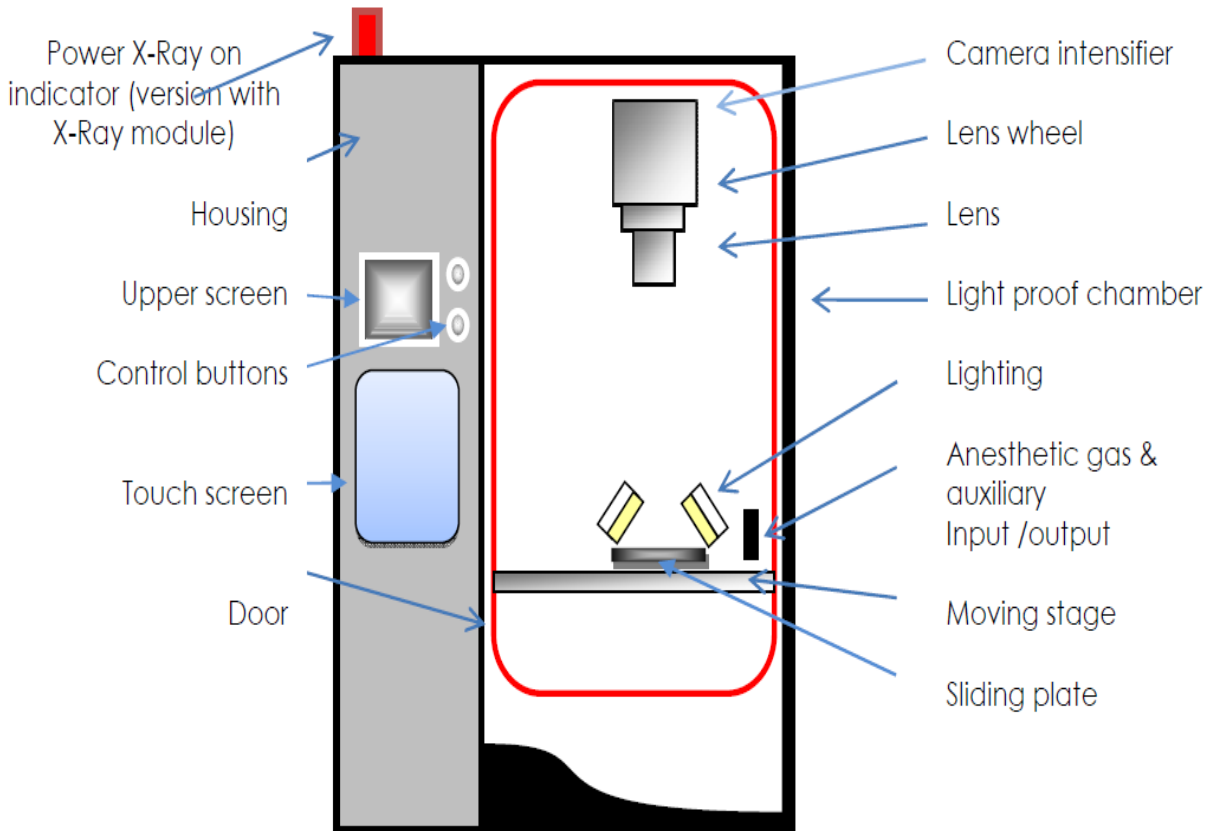
一. 打开及存储图像 -----25

二. 更改图像显示 -----26

三. 量化感兴趣区域（ROI） -----33

### 仪器概况：

#### 1. Photon IMAGER™ OPTIMA硬件



### 注意事项：

即使设备未通电，也应避免将照相机暴露在强光下，如手电筒。  
在运输之前，建议从镜头轮上卸下任何镜头并分开运输。

#### 2. Photon IMAGER™软件

- **Photo Acquisition:** 用于光学信号采集
- **M3 Vision:** 分析软件用于处理，量化和输出采集结果。

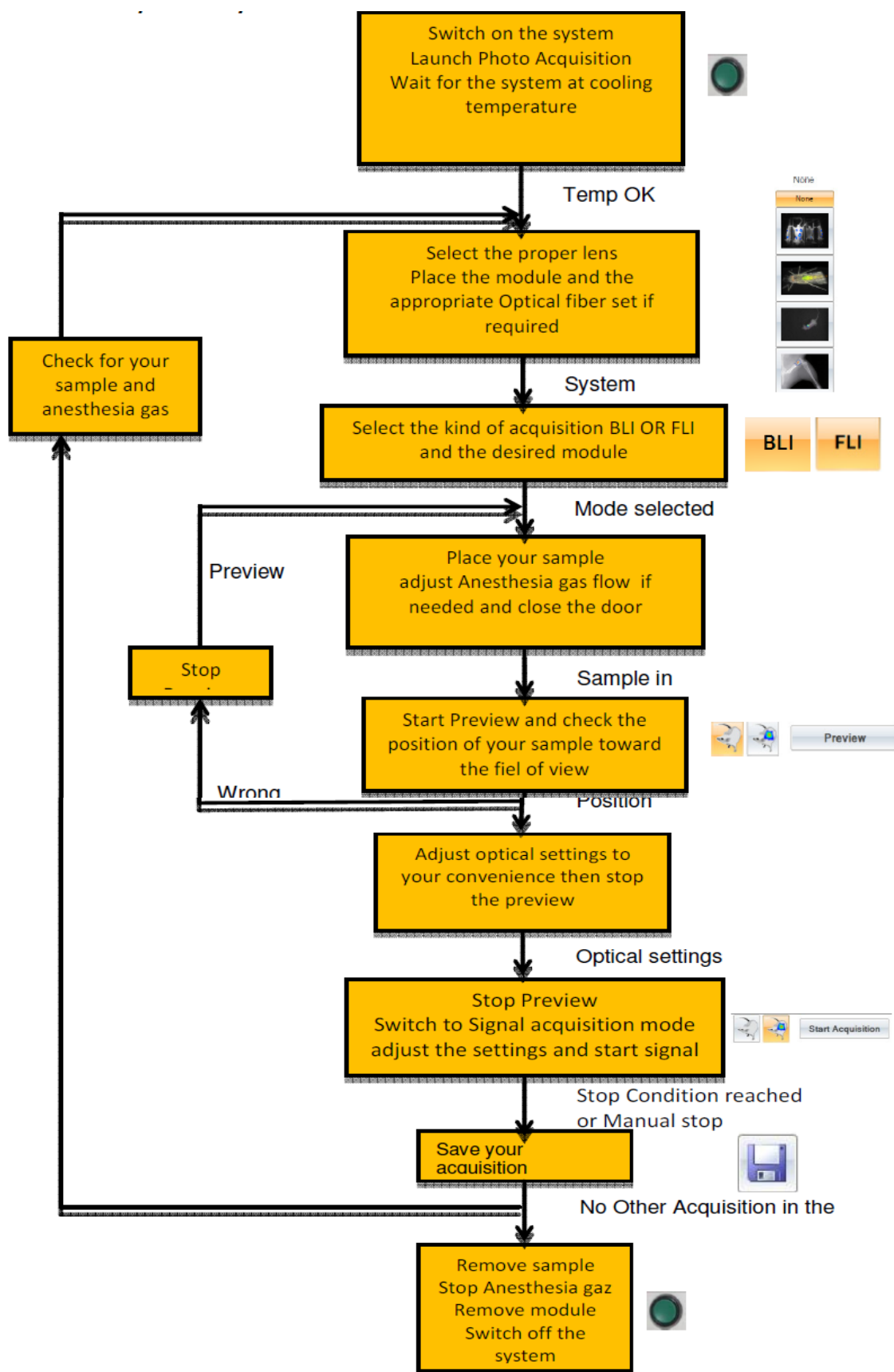
#### 3. 环境条件

Photon IMAGER OPTIMA系统及其控制电脑应保持稳定的温度，温度的变化可能会影响光电倍增管的冷却效率。

工作温度范围是：15°C–24°C， 湿度：<70%。实验室面积需大于8立方米。

#### 4. 清洁

Photon Imager的内室可以用乙醇清洗。使用干布清洁外壳。



## 一. 开机、待机并关机

### 1. 开机

按照屏幕前面的初始化程序进行操作。一旦初始化，需要10到15分钟才能达到冷却的温度。

您可以随时打开电脑, 打开程序。但在OPTIMA初始化完成之前，不能启动采集（照片采集）。

**关机/电源线拆卸后：**

打开仪器左侧面板背面的main power switch，打开主仪器。

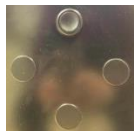
**休眠后：**

按一次initialization, 启动重新初始化。

### 2. 待机并关机

**待机**

请按一下initialization按钮。



在上面的屏幕上，您将看到低温恒温器的温度（CCD温度）逐渐达到室温，系统将自动切换到休眠模式。在休眠期间，电力消耗减少。

**完全关闭**

一旦进入休眠模式，系统可以通过main power switch完全关闭。

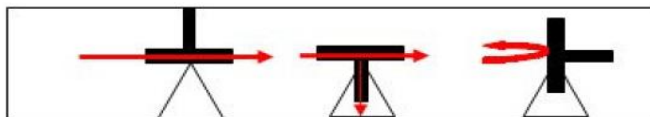
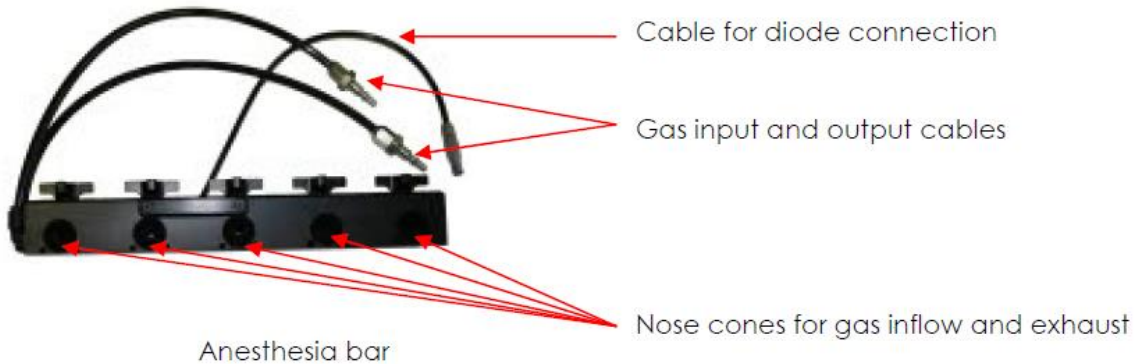


Main power switch

## 二. 动物设施准备

### 1. 麻醉连接

麻醉台包括5个鼻锥，以允许最多5个动物同时成像。



### 麻醉气体连接

把气体输入和输出连接到暗室内气体输入和输出面板上相应的连接器。连接是通过简单的压力获得的；断开电缆，只需按下侧面的按钮即可。

## System

### 2. 载台温度设定：



Door open

Cryostat temperature: -25.0°C

Stage temperature: 25.0°C

34

Apply

### 3. 动物放置

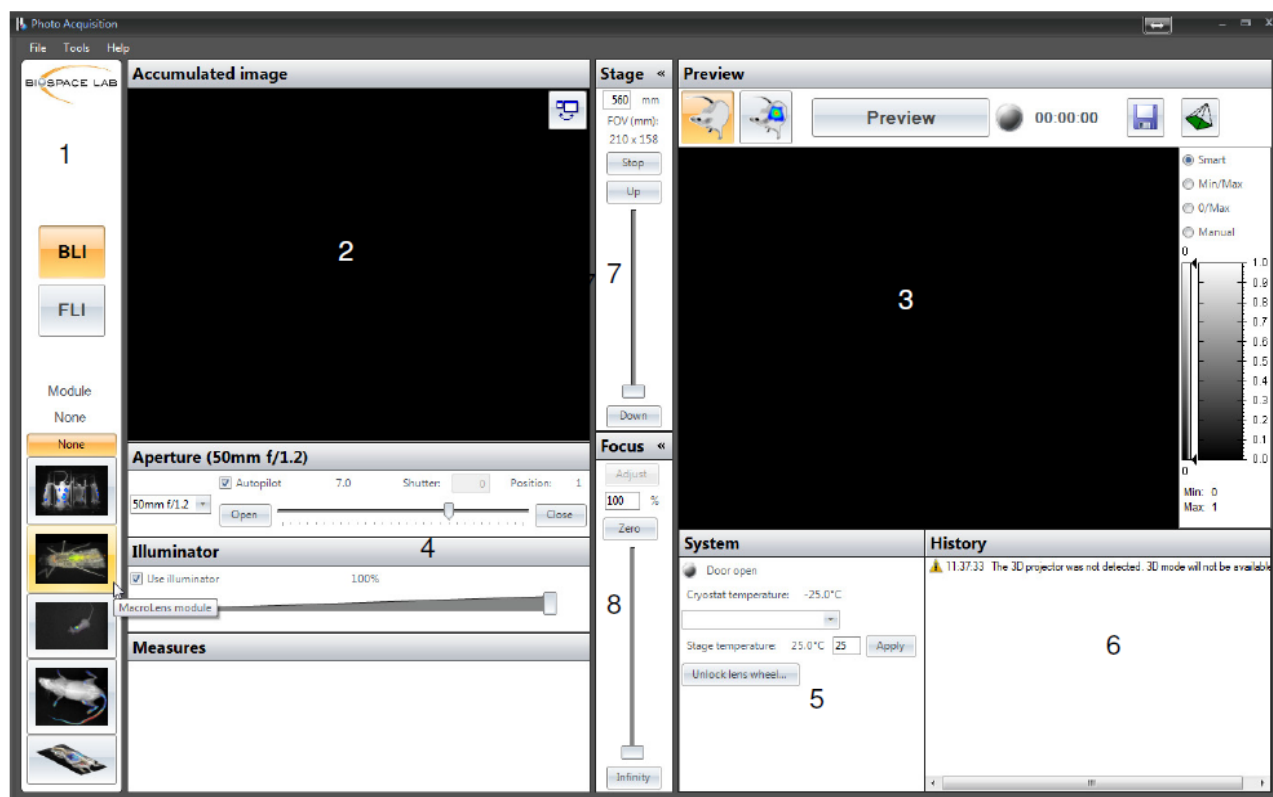
拉出载台并放置动物。如果使用气体麻醉，请确保动物的鼻子正确地放在麻醉棒的适当鼻锥上，以使气体流向这些锥体。拉回载台，关闭系统的门。

若为生物发光，请提前进行底物注射：将荧光素（或生物发光反应的适当底物）注射到您的动物。

### 三. 光学信号采集

照片采集软件界面

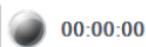
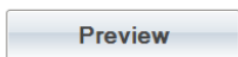
- 1: 菜单      2: 累积窗口      3: 实时显示窗口  
4: 光学参数      5: 系统状态      6: 历史窗口  
7: 载台高度控制      8: focus控制



1. 使用工具栏上的按钮，选择BLI/FLI模式

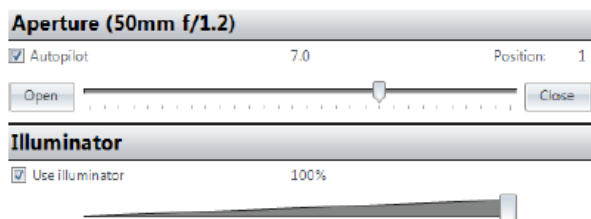
若有相应的模块，在放置模块并连接好后，可自动显示模块。3D和in actio模块参见相关章节

## 2. Preview: 用 按钮选择预览模式。



Launch and save an acquisition

**Preview:** 提供动物或样品的白光视频。 它可以用来检查动物的位置，载台的位置和focus焦点。 这也是用来改变载台高度和焦点的模式。采集的时间也显示出来；预览模式也提供了使用特定波长的照明和发射滤光片的可能性。除非用户专门用按钮保存照片图像（.trp文件），否则不会从预览模式记录数据。



Preview mode

### Stage «

560 mm

FOV (mm):

210 x 158

Stop

Up

Down

Stage height control

### Focus «

Adjust

100 %

Zero

Infinity

Focus control

## 2.1 aperture光圈

对于标准采集，f / 1.2（光圈打开） - f / 15.3（光圈关闭）；

**Aperture auto-pilot:** 建议在任何时候使用auto-pilot选项以避免饱和，同时确保最佳的灵敏度。它会自动将光圈设置为与信号强度对应的最佳值。

## 2.2 Illumination

在视频和荧光模式下，照度建议设置在0到30%之间。

**注：强烈的照明设置可能会损坏检测器。照明器功率必须逐渐增加。**

## 2.3 载台高度控制: 改变FOV

可以通过移动光标或者按下“up”和“down”按钮来移动位置。当移动光标时，对应于目标阶段位置的以下参数被更新并显示在控制窗口之上。

只有当游标释放后，载台才会移动。它在几秒钟内到达新的位置。

“stop”按钮可以在载台移动时停止载台。

## 警告！

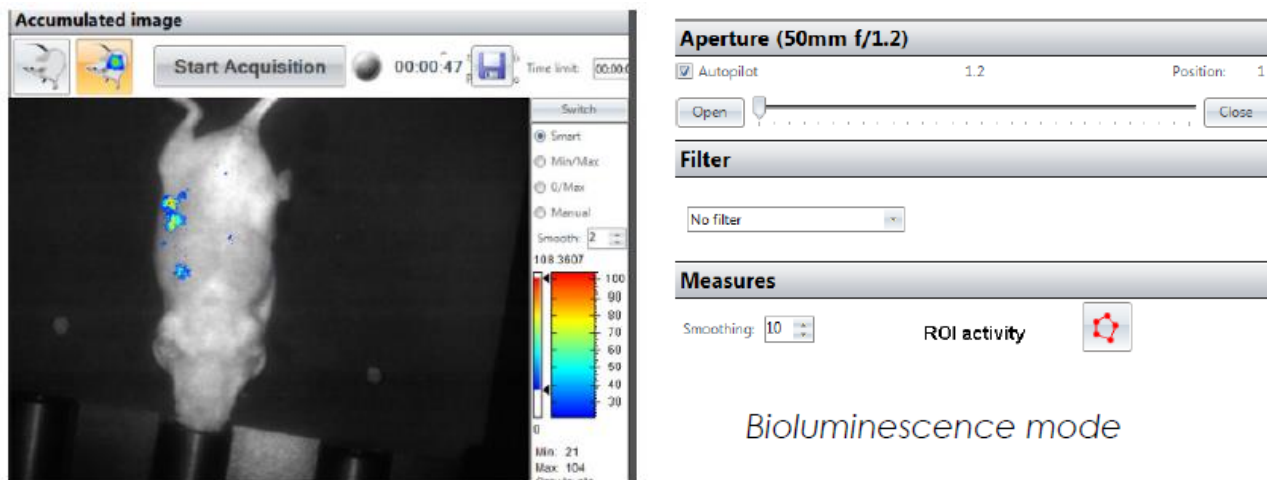
在移动载台之前，请确保没有任何东西可以撞到暗室内的镜头或任何模块。

## 2.4 focus控制

焦点根据载台的位置自动调整；

要手动改变焦点，请移动焦点控制的光标。焦点的值以0（光标的上部位置，对于非常近的对象）和100%（光标的下部位置，对于非常远的对象）之间的百分比给出。

### 3：生物发光信号采集



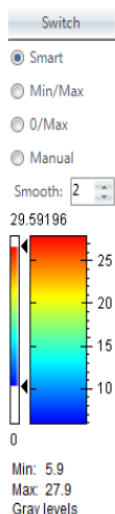
3.1 当您对preview图像满意时，点击信号选项卡  
根据需要定义停止条件。



点击“start acquisition”按钮。

采集开始，信号在检测和积累窗口中实时显示。

如果您没有定义停止条件，要停止采集，请在采集开始后单击“stop acquisition”按钮。



### 3.2 smart scales智能自动缩放

使用算法自动调整缩放比例的最大值和最小值，以提供良好的对比度。

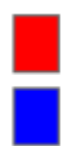


Create a new ROI



☒ ROI 1

☒ ROI 2



Delete this ROI

### 3.3 ROI

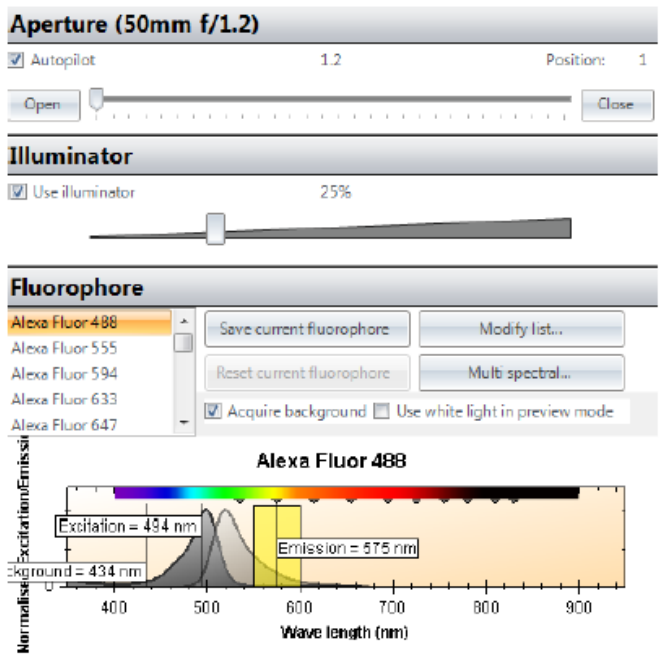
采集过程中可以实时显示一个或多个感兴趣区域的信号动力学。

要创建这样的ROI(s)，请按下ROI创建按钮。然后通过点击polygone的每个点，然后双击最后一个点来创建ROI。

每个ROI将有不同的颜色。您只需点击一下鼠标就可以移动和修改您的ROI的形状，并拖动每个点。

按下面的按钮去除ROI。

### 4：荧光信号采集



Fluorescence mode

#### 4.1 选择荧光团

一般情况下，系统预置常用荧光团，您只需要找到目的荧光团，并选中即可。

激发和发射波长选择：自动选择高通滤光片作为最接近发射波长的截止波长的滤光片。

注意：激发波长和发射滤光片不应太靠近，以避免反射问题。建议这两个波长之间的偏移大于80 nm。

背景波长帮助消除自发荧光信号。背景波长设置为低于激发波长的50nm。

Reset current fluorophore

您可以随时通过按  
回到原始荧光设置。一旦您更改荧光基团的默认设置，此按钮将被激活。

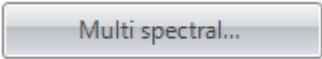
重要提示：请注意，荧光采集包括采集背景图像的步骤，前提条件是Acquire background选项打勾（默认设置）。

4.2 光谱分离

如果要在一个动物中成像两个或更多个荧光团，则可以选择该选项以便在一个过程中为每个荧光团获得单独的图像，而不需要为每个荧光团分别进行采集和定义条件。

在多光谱采集期间，软件通过预定义的波长范围、扫描次数进行扫描，以便为每个荧光团选择最佳的激发/发射对。因此，它给出每个荧光团的最终图像和背景的图像。

一旦激活了FLI模式，荧光选项窗口中出现的按钮  
Mutispectral选项。一旦激活，出现以下窗口：



激活

Multi spectral acquisition

Action

☐ Acquisition only

☐ Spectral unmixing on existing files Select the files... 0 files selected.

☒ Acquisition and spectral unmixing

Acquisition

Lambda min (nm) Lambda max (nm) Step (nm) Number of acquisition

Excitation range:    15

Emission range:

Acquisition duration per image:  min  sec

Shutter/aperture autopilot: ☒ ON ☐ OFF ☐ First acquisition only

Destination file names:

Browse... C:\Data\multispectral\_XXX\_XXX\_exc.bvr

☒ Acquire a Picture (TRP file)

Spectral unmixing

Number of fluorophores:  ☐ Autofluorescence

Max number of iterations:

Quantization noise variance:

Number of random initializations:

Number of iterations for one initialization:

Image resampling for NMF initialization:

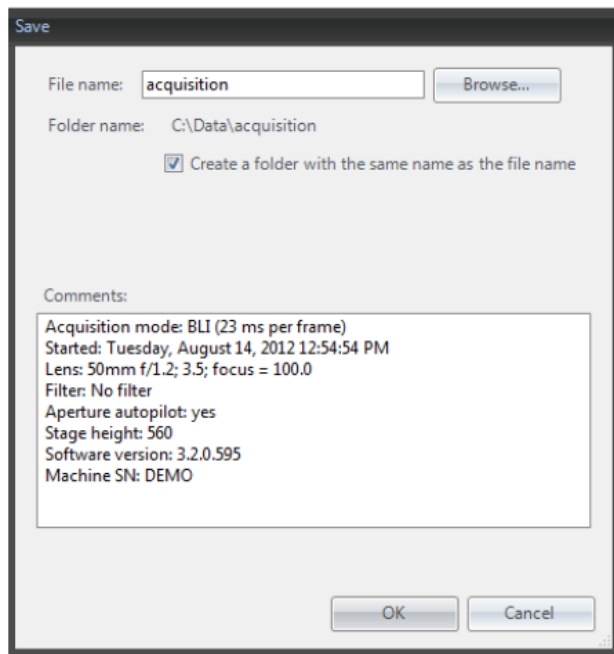
Destination file names:

Browse... C:\Data\fluorophore\_x.bvr

Status:

Start Close

在右边的光谱分离窗口中，定义要进行成像的荧光团的数量。  
根据待成像的荧光团，激发和发射波长范围需要在左侧的采集窗口中预定义。  
一旦定义了采集的所有条件，按开始键开始光谱分离。



### 5. 采集保存

在采集结束时，“Saving process”窗口有助于定义采集的属性和选项以进行保存。

这个对话框可以定义下列参数和选项：

-文件名称：它定义了要保存的文件名称。不同的文件将被保存为相同的名称和不同的扩展名（**bvr**为信号文件，**cri**为临时信息，**trp**为图片图像等）。按钮“Browse”可用于选择一个新的目录夹。

- Create a folder with the same name as the file name: **强烈建议使用此选项**，因为采集总是生成多个文件，并且由于文件应该全部位于同一个文件夹中，以便分析软件正确地将不同的文件和他们的信息。

除了自动添加到注释字段的图像属性之外，还可以添加注释。

当两个图像（信号和照片）具有相同的文件名（只有扩展名不同）时，在分析软件M3 Vision上自动overlap覆盖。

在打开Photon Imager的门前，等待系统完成获取图像。 这些文件保存在选定的文件夹中，现在可以使用分析软件M3 Vision进行分析。