

小动物活体成像拍摄、分析基础

一、注意事项

- 1、如仅需要进行图像分析，无需打开硬件开关，只需双击打开软件即可。
- 2、如需进行图像获取，须先打开仪器的所有硬件开关，再打开软件。
- 3、关闭仪器前必须先关闭软件！处理数据可以重新打开软件，不做初始化“Initialize”。
- 4、如果使用频繁可以不关闭软、硬件和电脑（关闭软件，相机即停止工作并升温。使用间隔超过 1 小时，关闭软件可以减少相机损耗）。每天最后使用的人，用完必须关闭电脑。
- 5、请用 LIMS 系统上传数据或光盘刻录数据，不允许使用 U 盘进行数据拷贝。
- 6、实验设计推荐用生物发光。如用荧光，请做好对照并优先选择长波长探针。黑色小鼠不能做三维成像。建议在正式实验开始前做预实验优化条件。

二、开机

- 1、打开稳压电源（SANTAK）
- 2、打开电脑，登录。用户名：administrator，密码：password。
登录 LIMS 系统。
- 3、打开仪器开关：仪器开关位于右侧背后中间的位置。
- 4、检查仪器正面的待机键处于打开状态（请保持在此位置，仪器关机时也无需关闭）

三、仪器初始化

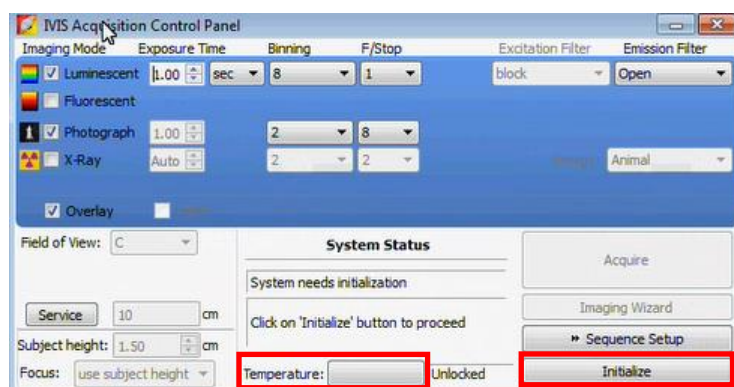
1、确保仪器内未放置样品。



- 2、双击电脑桌面 IVIS 软件图标
- 3、出现用户和密码提示框，User ID 选择“CLS”，不输入 Password，点击“OK”进入拍摄界面



4、点击右下角“Initialize”仪器开始初始化，当温度显示条为绿色才可进行数据采集（等待约 5~10 分钟）



注：

初始化（Initialize）作用：（1）相机降温；（2）对仪器载物台、滤光片轮、镜头等进行自检。

点击温度条，可以看到相机温度和载物台温度。相机应降温至-90℃，载物台升温至 37℃保证小鼠体温，降低死亡率。

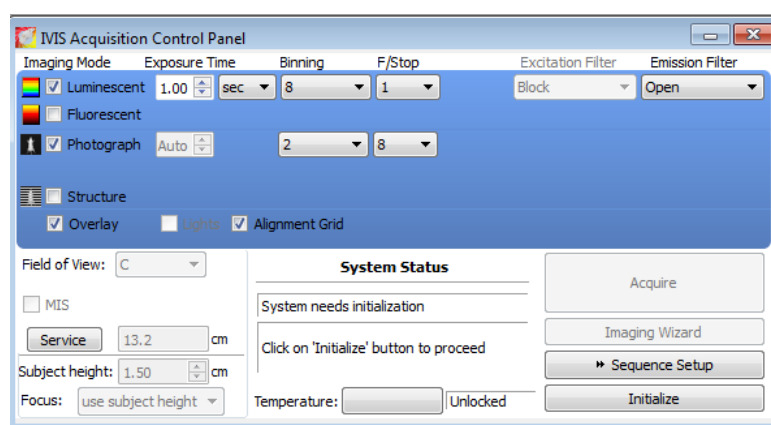
如果相机降温时间太久（超过 15 分钟），请联系平台工作人员更换冷却液。

小动物活体成像仪在工作状态下，环境温度必须在 25℃以下，夏天运行机器必须开空调。

四、手动式拍摄流程

拍摄前建议设置自动存储路径，在“Acquisition → Auto save to”中设定。不更改路径、不关软件的情况下，原始数据都会存在该文件夹下。

（一）生物发光图像拍摄参数设置



1、Imaging Mode (拍摄模式): 勾选 “Luminescent (发光)” 和 “Photograph (白光)”。

2、Luminescent 详细参数

(1) Exposure Time (曝光时间): 可以选择 Auto (自动); 也可以手动设置时间。

(2) Binning (像素合并): 可以通过牺牲像素提高灵敏度的操作。

IVIS SPECTRUM 小动物活体成像仪的检测器芯片为 420 万像素, 即含有 2048×2048 个像素点。

若 Binning 选择 “8”, 意思是将横向 8、纵向 8 共 64 个像素点作为一个像素应用, 单位像素点面积提高 64 倍。单位像素面积与灵敏度成正比, 所以灵敏度提高 64 倍, 曝光时间减少; 但像素点数目减少 64 倍, 所以分辨率降低 64 倍。灵敏度和像素互相制衡。

生物发光信号比较弱, 拍摄以检测到信号为第一目的, 一般生物发光 Binning 选择 “8”, 信号较强时可以选择 “4” 或 “2”。

(3) F/Stop (光圈系数): 含 1、2、4、8 四个选项。

光圈系数数值越小, 光圈越大, 进光量越大。生物发光一般选 “1”。

(4) Excitation Filter (激发滤光片) 和 Emission Filter (发射滤光片)

生物发光不需要外界光源激发, Excitation Filter (激发滤光片) 为关闭状态 (Block)。生物发光的 Emission Filter (发射滤光片) 为 “OPEN” (全开) 状态。

3、Photograph: 生物发光不用设置, 勾上即可, 用默认值。

4、Structure (结构成像): 通常用向导式拍摄, 手动模式下不考虑。

5、Overlay: 拍摄的图像以叠加形式出现。

6、Lights: 机箱中的 LED 灯, 室内环境较暗可以勾开, 照明, 方便放动物。

7、Alignment grid: 绿色光在机器载物台打出的视野线

8、Field of View (FOV, 视野): A、B、C、D 四个视野。

如果选 C 视野, 机器载物台上绿光显示的方框即 C 视野, 动物要放在绿色框内才能拍得到。

C 视野: 约放 3 只小鼠;

D 视野：约放 5 只小鼠；

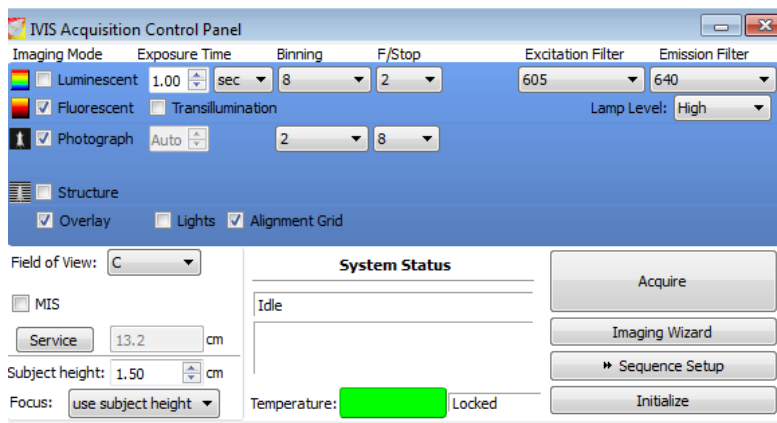
D→A：成像视野范围越来越小，放大倍率越来越大。可以根据具体实验需求选择相对应的视野。

9、其他

参数设置好可以点击“Acquire”拍摄。左下角其他按钮一般不需要动，用默认值即可。

可能用到的有“Service”：拍摄过程中老鼠醒了，移动到看不到的位置，点“Service”，台子会升起来，可以抓老鼠。

（二）荧光图像拍摄参数设置



1、Imaging Mode（拍摄模式）：勾选“Fluorescent（荧光）”和“Photograph（明场）”。

2、Fluorescent 详细参数

（1）Exposure Time（曝光时间）、Binning（像素合并）、F/Stop（光圈系数）与生物发光的设置原理一致。

（2）Excitation Filter（激发滤光片）和 Emission Filter（发射滤光片）根据探针或荧光蛋白的波长选择。设备有 10 张激发滤光片和 18 张发射滤光片，均有带宽（约±15 nm，带宽 30 nm）。

选择原则：激发和发射滤光片波长一般间隔 40 nm 以上，如果两者波长太相近，互相之间会有串扰。大部分探针或蛋白以发射光为基础描述，选择波长范围最接近的发射光滤片，发射光波长减去 40 nm 做激发。

激发光能量：都用 High，即最高值。

3、Photograph、Structure、Overlay、Lights、Alignment grid、Field of View

等参数设置参考生物发光参数设置。

五、向导式（Imaging Wizard）拍摄流程

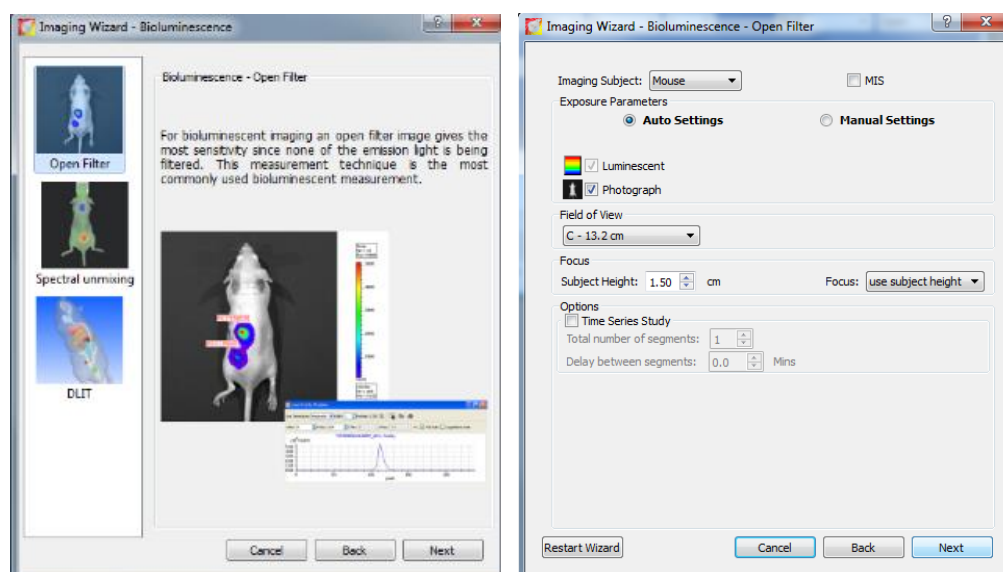
拍摄前建议设置自动存储路径，在“Acquisition → Auto save to”中设定。不更改路径、不关软件的情况下，原始数据都会存在该文件夹下。

点击“Imaging Wizard”，在弹出的窗口选择 Bioluminescence(生物发光)、Fluorescence（荧光）或 Cherenkov（同位素）。

每次点开的面板都是最后一次的操作参数，点“Restart Wizard”（左下角）返回主面板从头重新设置。

（一）生物发光拍摄流程

生物发光通常用到两个模式：Open Filter（二维）和 DLIT（三维），中间的 Spectral unmixing（生物发光的光谱拆分）通常不用。



1、生物发光二维图像拍摄流程

拍摄小鼠腹部，小鼠躺着拍；拍摄小鼠背部，小鼠趴着拍。

拍生物发光成像时将垫纸垫上。

(1) Imaging Wizard → Bioluminescence → Next → Open Filter（单标生物发光成像） → Next

(2) 在 Open Filter 面板设置参数

①Imaging Subject（成像样品类型）：根据实际情况选择 Mouse（小鼠）/Phantom-XFM（模型鼠）/Well Plate（孔板）/Other（组织等其他样本）

②Exposure Parameters（曝光参数）：

一般推荐设定 Auto Settings（自动曝光）。

Manual Settings（手动曝光）可以自己设定如曝光时间、Binning 等参数，一般不需要。

③Photograph：通常勾选，拍摄白光图片

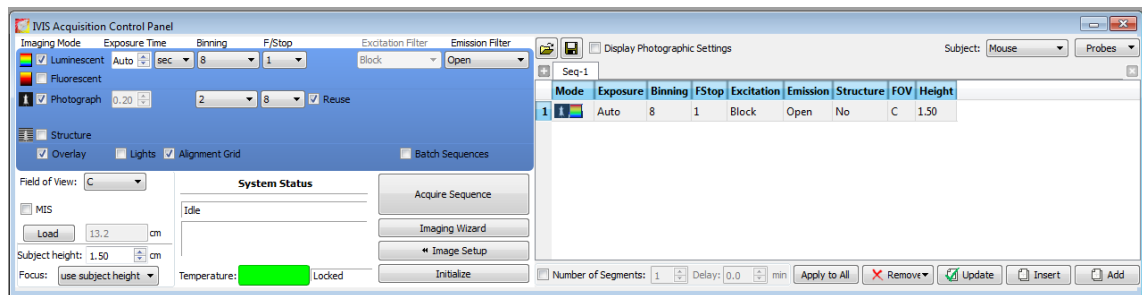
④Field of View (FOV, 视野范围)：A、B、C、D 四个视野，视野是正方形，可以看到每个视野的边长。

⑤Focus：一般选择默认值。

⑥Options-Time Series Study（时间序列拍摄）

勾选后可以设总共拍摄多少时间点、间隔多长时间。适合代谢非常快的发光成像。

（3）设置完全部参数，点 Next。



在手动窗口旁出现新的向导式拍摄窗口，执行的命令来自于这个新窗口。改动手动拍摄窗口的参数不能被执行，在新的向导式拍摄窗口双击参数才能更改执行的命令。

曝光时间会以强的信号为基准计算，弱信号可能不能捕捉到。如果需要捕捉弱信号，可以自行更改曝光时间。

点击“Acquire Sequence”获取图像。

填写 Edit Image Labels，即电子版的实验记录，含实验内容、时间点、动物编号等。

2、生物发光三维图像拍摄流程

做三维成像生物发光应用较多也更方便，图像也更好一些。

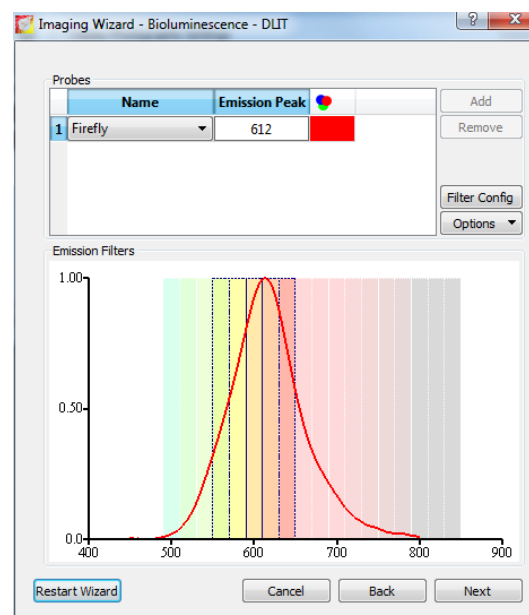
三维成像不能做小鼠，因为三维成像过程需要参考小鼠表面拓扑结构，但激光偏振成像不能区分黑色的小鼠和黑色的台面，除非将小鼠全身脱毛。

(1) Imaging Wizard → Bioluminescence → Next → DLIT (生物发光三维成像) → Next

(2) 在 Probes 下拉菜单选择所应用的荧光素酶 (不同的荧光素酶对应波长不同)。

2D 生物发光成像只需要用 Open Filter, 但三维成像系统会自动推荐一系列发射光滤片进行成像。这意味着如果 2D 成像信号非常弱、难以拍摄, 三维成像会更加艰难。

(3) 设置曝光参数, 点击 “Acquire Sequence” 拍摄图像。



(二) 荧光拍摄流程

荧光主要分 Filter Pair (二维)、Spectral Unmixing (光谱拆分) 和 FLIT (三维) 三种拍摄方式。

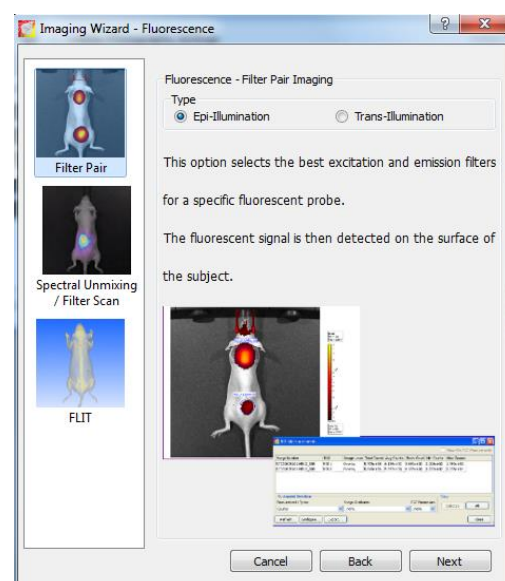
1、二维荧光图像拍摄流程

常用的二维荧光拍摄模式有 “Epi Illumination” (反射) 和 “Trans Illumination” (透射) 两种。大部分信号用反射模式拍摄, 较深层的信号再考虑透射模式。

荧光的背景噪音较强, 在注射荧光探针前, 应拍摄一张动物图片, 了解动物的自发荧光。

拍摄小鼠腹部, 小鼠躺着拍; 拍摄小鼠背部, 小鼠趴着拍。

拍二维成像时将垫纸垫上。



A. 荧光二维反射拍摄模式

(1) Imaging Wizard → Fluorescence → Next → Filter Pair → Epi - Illumination → Next

(2) 选择滤片

①可以在 Probes-Name 的下拉菜单（荧光染料库）中选择荧光染料，除个别有错误（CY7），大部分都是正确的。

可以手动更改滤光片（双击选中，双击取消）。

②库里没有的染料可以选择“Input Ex/Em”，将染料说明书的激发光和发射光的峰波长手动输入，软件会智能选择滤片，使发射光滤片和激发光滤片稍有距离。

如果需要进行荧光背景扣除，也可以选择相对应的较短波长的激发滤光片做背景滤光片，后期用“Tools → Image Math...”扣除荧光背景。

设定结束后点击“Next”

(3) 设置 Imaging Subject、Exposure Parameters、Field of View、Focus 等参数，参考生物发光拍摄流程。

(4) 点“Acquire sequence”开始拍摄图像

填写 Edit Image Labels。

先拍对照组，再拍实验组。可以直接关闭拍摄好的图片，因为已经设定了自动保存路径。实验组与对照组参数相同。不用担心曝光时间，因为最后单位是均一化的，与曝光条件无关，设置条件不一致可以一起处理。

B. 荧光二维透射拍摄模式

应用范围：①反射成像没有拍出信号，信号位置较深；②拍摄荧光 3D 成像前，要用二维的透射成像先扫描一遍，因为 3D 成像也是用透射模式，如果二维不能拍出信号，后面的实验可以不做。

反射是整个面成像，透射有透射板（逐点激发）。做透射成像要把机器中黑色的垫纸去掉，可以看到透射点。

(1) Imaging Wizard → Fluorescence → Next → Filter Pair → Trans - Illumination → Next

(2) 选择滤片/染料名称

(3) 设置曝光参数

①Imaging Subject、Exposure Parameters、Field of View、Focus 等参数，参考生物发光拍摄流程。

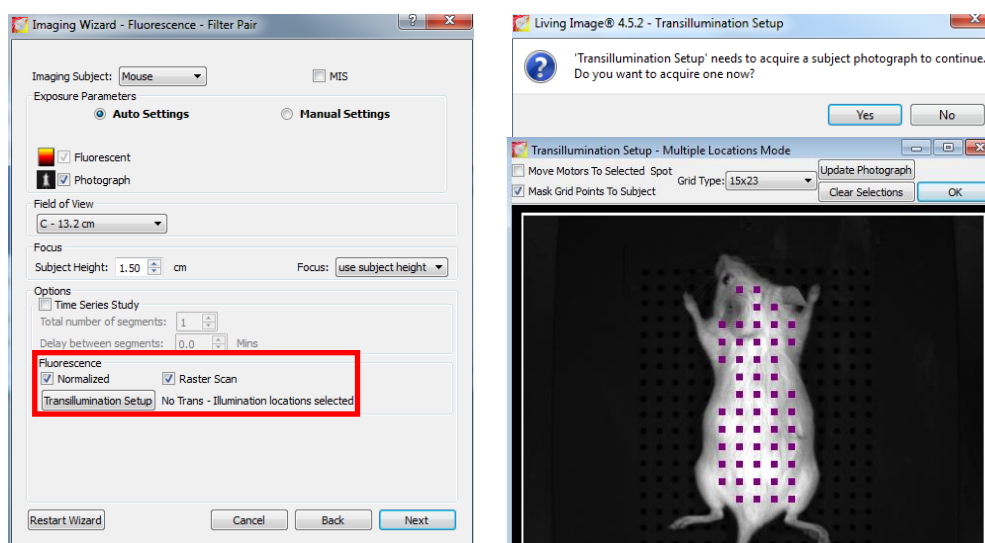
②Fluorescence: 勾选 Normalized 和 Raster Scan

此时会对每个透射点进行两次成像，软件会对两次成像的数据进行自动校正。

③Transillumination Setup: 选择透射扫描点

弹出面板显示要拍摄一张白光图像，点 “Yes”。或点击 “Update Photograph”，更新明场图像。

在拍完的白光图像的左上角有 “Mask Grid Points To Subject” 按钮，点击可以控制显示全部点或是只显示小鼠身上的点。如果不了解信号在哪里，可以把小鼠身上全部的点选上。但是注意不能选择一半在小鼠身上、一半不经过小鼠的点，也不能选完全不在小鼠身上、完全没有遮挡的点。因为激发光太强，直接打到检测器上会损伤机器。如果大概知道信号在哪里，为了节省时间，可以只选择一定范围的点。



选好透射点后点击 “OK”，点击 “Next”。

(4) 点 “Acquire sequence” 开始拍摄图像

二维荧光的透射成像，激发光一个点一个点的透过，检测器一个点一个点扫描，每个点出一个图像，全部扫描结束才会生成最终图像，比反射成像慢很多。

2、荧光三维图像拍摄流程

三维成像不能做小黑鼠，因为三维成像过程需要参考小鼠表面拓扑结构，但激光偏振成像不能区分黑色的小鼠和黑色的台面，除非将小鼠全身脱毛。

Imaging Wizard → Fluorescence → Next → FLIT (荧光 3D 成像) → Next → 选择滤片/染料 → Next → 设置曝光参数 (Fluorescence 下方要勾选上 Normalized) → Transillumination Setup 选透射点 (Update Photograph 获得更新的白光图像) (三维荧光一般做 9-16 个点就可以, 二维透射可以多选一些点。所以先做二维透射成像找到目的信号位置, 三维成像时就可以缩小选点范围。) → Next → 扫描

3、荧光光谱拆分

如果使用的探针为短波长荧光探针, 会造成自发荧光背景比较高。或者使用多色荧光探针进行同时标记。这时就需要使用荧光成像中的光谱拆分功能。

应用前提: 先拍摄一张 Epi Illumination 图像, 发现信号较弱拍不出来, 或者虽然获得信号, 但旁边有很多杂信号去不掉。

正常做光谱分离一定要拍标准品。例如: 拍一张只有小鼠皮肤信息的对照; 旁边用 96 孔板放一点探针, 拍只有探针的荧光信号。获得标准品的标准光谱, 再以此为依据进行拆分。标准光谱可以保存, 后续实验可以直接调用, 就不必每次都做光谱拆分。

基本拍摄流程为: Imaging Wizard → Fluorescence → Next → Spectral Unmixing → Epi Illumination (光谱拆分一定要是 Epi Illumination 模式, Trans Illumination 结合光谱拆分时间特别长而且很难拆分) → Next → 选择染料 (软件会自动推荐相对应的激发和发射滤光片, 也可以单击鼠标左键添加或去除滤光片。如果有多色荧光标记, 也可以点击 “Add”, 增加另外一组荧光染料探针; 也可以点击 “Remove” 去除。可以点击 “Filter Config” 来确认选中的激发和发射滤光片组) → Next → 设置曝光参数 → Next → Acquire Sequence。

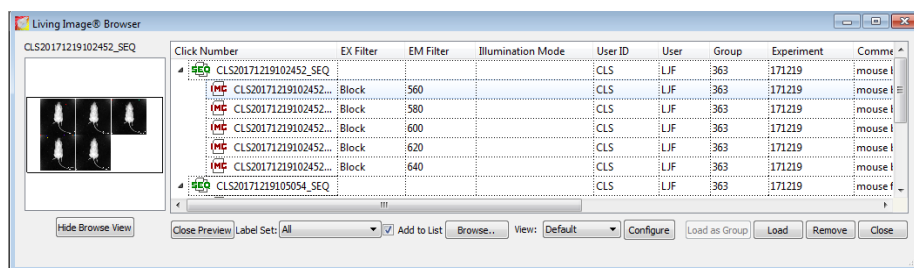
光谱分离拍摄的图像张数不是固定的, 仪器会根据波长自动选择。

六、图像分析

打开图像, 一定要用菜单栏的  按钮打开文件, 不要用 。

如果想统一处理数据, 可以将全部文件存入同一文件夹, 直接打开文件夹做批量处理。文件存储路径不能有中文。

打开一些文件后，如果想继续添加文件，可以勾选界面下方的“Add to List: Browse”按钮添加文件。



可以一次打开一个绿色的“_SEQ”文件，点击“Load”显示一组中的多个数据。也可以按住“Ctrl”键，选择不同组中的单张“IMG”子文件，点击右下方“Load as group”打开分析。含有子文件的多个序列文件不能同时“Load as group”。

（一）二维图像分析

1、改单位

将之前拍摄过程中的 Exposure Parameters、Binning 等参数标准化，可以进行不同组间的定量分析和比对。

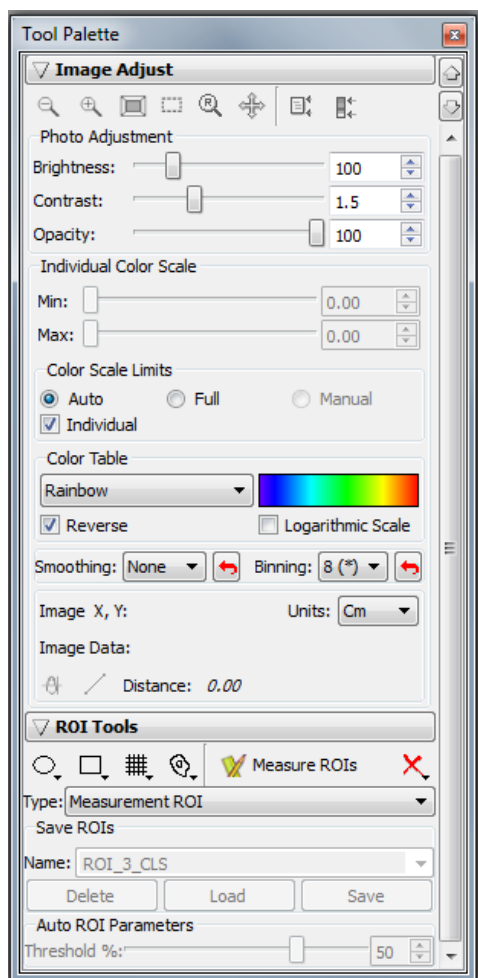
（1）生物发光的单位改为“Radiance (Photons)”，意思是光子数每秒每平方厘米每个弧度。

（2）荧光的单位选择“Radiant Efficiency”，意思是在之前的基础上，将激发光强度均一化。

2、统一光强度标尺

打开图像，Tool Palette（编辑框）自动显示，一栏是图像调节(Image Adjust)，一栏是定量(ROI Tools)。

在图像调节栏，把“Individual”去掉，多个图像的标尺即统一。



3、图像调节

图像调节栏的功能，自上而下：

(1) Photo Adjustment (白光调节)：一般不用调节。(亮度、对比度、不透明度)

(2) Min、Max (最小值、最大值)：一定要有对照，调节才有意义。


将对照组的背景调节为不显示信号是比较合适的最小值。调节最小、最大值的意义是看图可以看到信号强弱之间的差异。不会影响后期计算。

(3) 伪彩色

生物发光一般选择“Rainbow”，把“Reverse”加上，从紫色到红色信号强度递增。荧光一般选择“YellowHot”，把“Reverse”去掉，从黑色到黄色代表信号强度递增。

(4) 不推荐 Smooth 平滑化处理，会影响后

期计算。

4、输出图像：图片右上角， (图像输出和保存按钮)，点击可以选择图像格式，可以理解为截屏，一张图片可能包含多组信息。为了排版，建议使用单张保存，双击每张图片打开，逐张保存。

5、图像定量：在 ROI Tools (ROI, regions of interest) 中进行。所用到的工具是 ROI Tools 中的最上面一排，从左到右依次为画图形状、测量、删除 ROI。

Type 选“Measurement ROI”。

圈选想要分析的区域，例如点击圆圈，在所有图像中都出现一个圆圈。分析过程中圆圈的大小、形状应当一致，以保证相同的背景值。“Load as group”后，圈选 ROI，按住“Ctrl”键，挪动圆圈，多个图像上的圆圈会同时移动，大小也会同时改变。松开“Ctrl”，可以在单张图片上调节位置。

位置确定后，点击“Measure ROIs”。新出现的面板可能没有数值出现，原

因是左下角的测量类型（Measurements Types）要设定，要选择与定量类型一致的单位，生物发光选择“Radiance”，荧光选择“Radiant efficiency”。选择“Measurements Types”后，可以看到面板出现数值，包括“Total、Average”等，一般看“Average”就可以。标准差、最小最大值没有意义，用不到。

输出点击左下角的 Export（输出），输出格式可以选“.csv”，即 Excel 表格。可以点左下角“Configure”，在弹出的面板上自定义定量的一些参数，如实验内容、小鼠编号等都可以添加，然后输出。

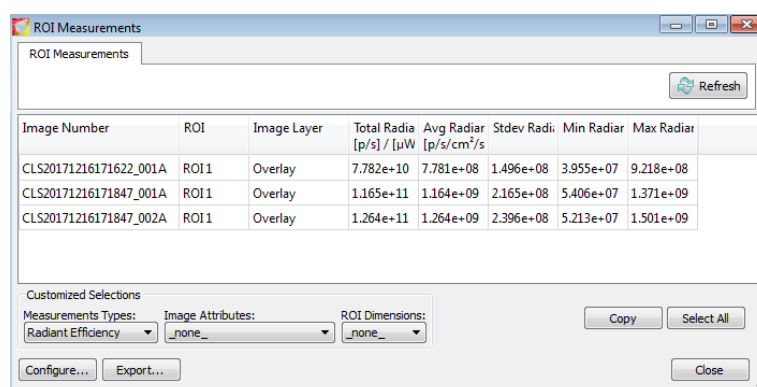


Image Number	ROI	Image Layer	Total Radia [p/s] / [μW]	Avg Radiar [p/s/cm²/s]	Stdev Radia	Min Radiar	Max Radiar
CLS20171216171622_001A	ROI1	Overlay	7.782e+10	7.781e+08	1.496e+08	3.955e+07	9.218e+08
CLS20171216171847_001A	ROI1	Overlay	1.165e+11	1.164e+09	2.165e+08	5.406e+07	1.371e+09
CLS20171216171847_002A	ROI1	Overlay	1.264e+11	1.264e+09	2.396e+08	5.213e+07	1.501e+09

Customized Selections
 Measurements Types: Radiant Efficiency
 Image Attributes: _none_
 ROI Dimensions: _none_
 Buttons: Configure..., Export..., Copy, Select All, Close

6、荧光背景扣除

(1) Image Math 荧光背景扣除

用于扣除小鼠自发背景荧光。

首先获得两张小鼠原始图片。以 Cy5.5 为例，一张图像是 Cy5.5 的最佳激发滤光片，另一张图像是用比 Cy5.5 最佳激发波长稍短的背景滤光片。

用“Tool Palette → ROI Tools → ROI 圈选工具”在小鼠体表非信号区域选择位置，用于后期计算。

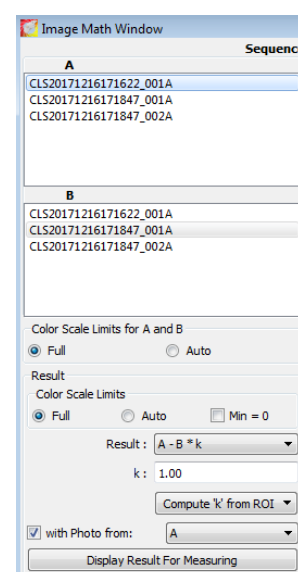
选择“Tools → Image Math...”，在新面板 A 的下方点击 Cy5.5 激发滤光片对应的原始图像，在 B 的下方选 Cy5.5 背景滤光片对应的图像。

“Color Scale Limits for A and B”可以选 Full 或 Auto，并不影响后期背景扣除。

“Result”计算方式一般选择第二种。

计算 k 值，“Compute ‘k’ from ROI”选择第一张或第二张图片计算的 k 值是一样的。

勾选上“with Photo from”，选择第一张——Cy5.5 的



原始图片。

点击“Display Result For Measuring”

(2) 自适应荧光背景扣除

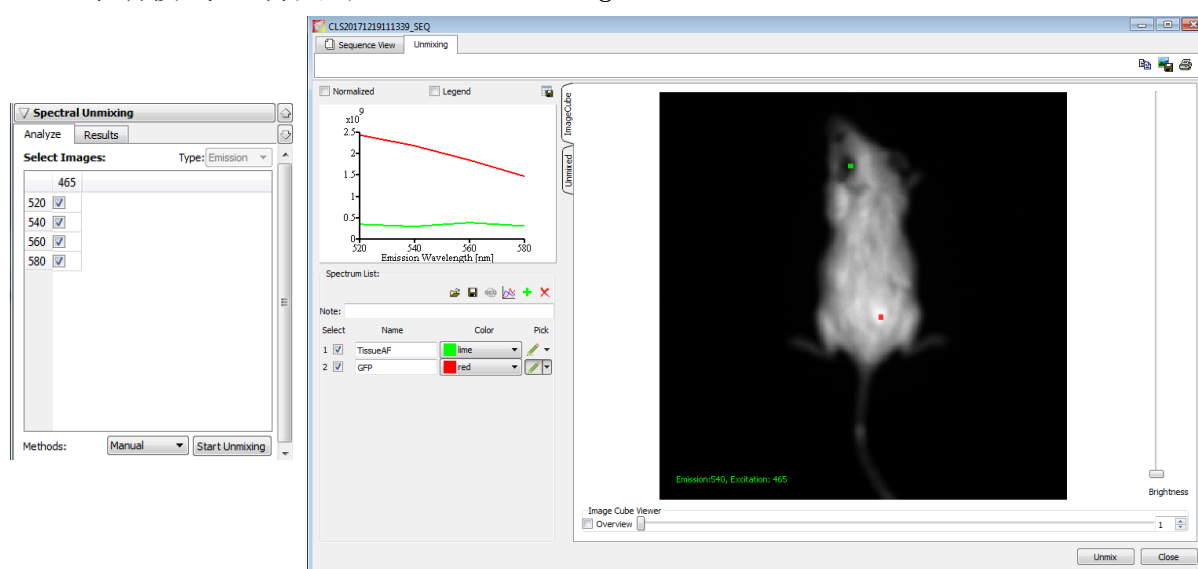
用以校正去除小鼠体表以外的自发背景荧光。

双击打开单张图片，在“Tool Palette → Corrections”，勾选“Adaptive FL Background Subtraction”，拖动“Threshold”的滑动条，使指示的区域尽量覆盖小鼠体表，点击“Set”。

7、光谱拆分

以样本有杂信号污染、杂信号强度比真信号强度更大为例说明。没有拍摄标准品的情况下，试进行光谱分离将杂信号去掉。分析处理流程如下：


在“Tool Palette”面板选“Spectral Unmixing”，在 Method 中选择 Manual（手动模式），再点击“Start Unmixing”。



在新面板上，如果勾上图像左下角的“Overview”，显示的是所有通道荧光信号的叠加图；勾掉“Overview”，拖动下方滑动条，可以查看单个原始图片。




鼠标指在小鼠不同位置，会在左侧面板显示该位置的光谱曲线。建立标准光谱的过程如下：


① 建立动物组织自发荧光的标准光谱

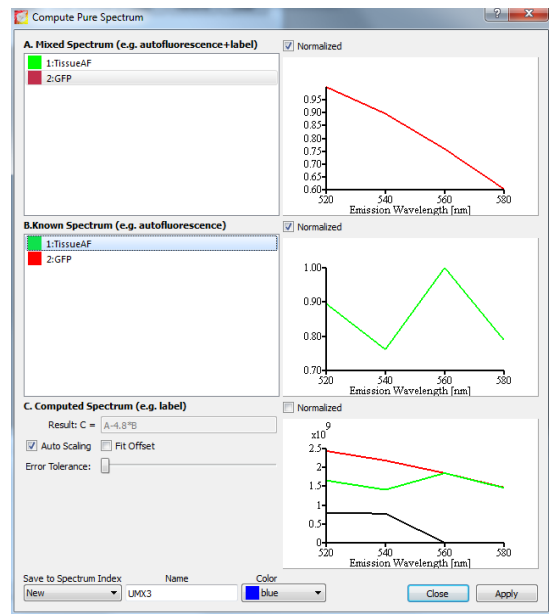
点击 **1** ☒ **TissueAF** 后的  按钮，在小鼠身上没用样本的地方选一个点，根据经验，建议选择小鼠耳朵区域以获取小鼠自发背景荧光的光谱特征。

尾静脉注射全身都有信号，只能旁边放一只对照组小鼠选定谱线。

②获得探针标准光谱

示例中信号为 GFP。如果旁边有 96 孔板放置 GFP 表达细胞，选  2  GFP 后的  按钮，点 GFP 表达细胞所在位置获得标准光谱。

如果没有设荧光标记的标准品，可以选择小鼠身上标记信号集中的位置获得光谱。这时的光谱不是标准光谱，因为该位置同时存在探针信号光谱和动物组织光谱，所以要做计算。点 ，调出“Compute Pure Spectrum”面板。在 A 中选择混合光谱，在 B 中选小鼠背景荧光光谱，点击“Apply”，计算得到的新的光谱就是荧光标记（GFP）的纯光谱。



③获得杂信号光谱

将亮度调低，获得杂信号的中心点，点击获得新的光谱。杂信号也包括杂质和小鼠体表皮肤的光谱，也要计算获得杂信号的纯光谱。

④点击“Unmix”，进行光谱拆分。

⑤点击目标信号所在的图像，微调，保存。（黑色垫纸可以去噪音，可以添加一个背景板子的第四个光谱，再拆分更干净）。

（二）三维图像分析：（完善中）。

1、动物表面结构与信号源重构

生物发光和荧光三维信号重建过程基本一致。

在 Tool Palette 面板下点击“DLIT/FLIT 3D Reconstruction”，一键重构。

2、3D Optical Tools

三维分析大部分重建功能在“Tool Palette”面板的“3D Optical Tools”中，该界面下用于重建的有“Surface”、“Source”、“Registration”三个部分。

（1）“Surface”：显示样品表面、表面类型或不透明度。

（2）“Source”

两种信号源显示方式。一种是“Display Source Surface”，显示信号源表面。但如果想对信号进行定量分析，必须选择“Display Voxels”。

可以调节“Color Table”下方的滑动条，调节显示信号的范围。

也可以点击“Voxel Selection Tool”按钮，在需要测定的信号周围画一个封闭的矩形框。被选择的信号将会变成蓝色。在“Tool Palette → Measured Source”可以看见被选择信号的测定数值。

点击“Tool Palette → Center of Mouse”，再点击图像上方的标尺按钮，可以看到信号源质量中心以直线向外扩展到达最近的小鼠表面的距离。

(3) “Registration”：小鼠器官模拟图，对信号源及表面进行叠加。

点击“Display Organs”，软件会将全部脏器虚拟添加到小鼠上，但实际并不需要太多脏器。所以先选择全部去除（右下角），再选择关注的脏器，如骨骼。这时添加的骨骼和表面不会完全重合，需要点击“自动对位”按钮。也可以通过拖动选择骨骼的透明化程度，避免虚拟脏器挡住信号。另外，可以手动局部修改骨骼形态，可以移位置或放大、缩小骨骼，也可以旋转。（点击键盘上的 Table 可以切换矩形框调整的类型）

脏器根据小鼠体表结构模拟，因为小鼠内脏位置相对固定，虽然不可能完全重合，但大致位置相差不大。想获得真正的内脏信息需要将这台机器和一台 Micro CT 结合使用。

3、ROI Tools：三维信号定量

对图像定量，最常用是对体积定量。Tool Palette → ROI Tools

点击 3D ROI，将会出现一个三维的 ROI 矩形框，鼠标移动位置。点击键盘上的“Table”按钮，切换调整 ROI 矩形框的不同类型。

ROI 的位置、形状、大小确定后，点击“Measure 3D ROIs”。在新面板（ROI Measurements）的“3D ROI Measurements”栏，设定“Data Types”。点击“Export”导出 ROI 测量数值。也可以在“Configure”里选择自定义添加参数，把信号体积、深度等信息一起导出。

七、关机

1、关闭拍摄软件（**关硬件前必须先关闭软件!**）。

2、关闭仪器背后的开关。

3、退出 LIMS 系统，关闭电脑（如果需要处理数据可不关闭电脑）。

八、其他

成像可以做双标，即同时应用生物发光和荧光，例如以生物发光标记肿瘤细胞，用荧光标记药物，看两者共定位。

小动物活体成像软件 Living Image 可以在 PE 官网申请试用版，一台电脑能试用一个月。2D 图像较易处理，笔记本可以带动。3D 图像对计算机要求较高，可能需要高配电脑或图形工作站。

内容参考 PerkinElmer 公司相关材料。