

2009 年 6 月

目录:

1 系统的组成

系统组成及光路示意图

实物照片说明

2 系统的使用

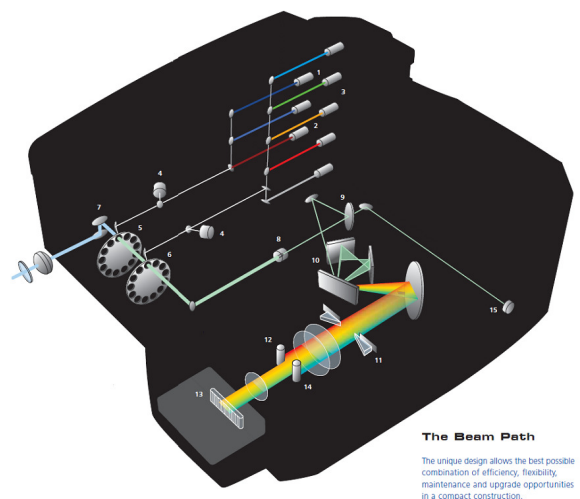
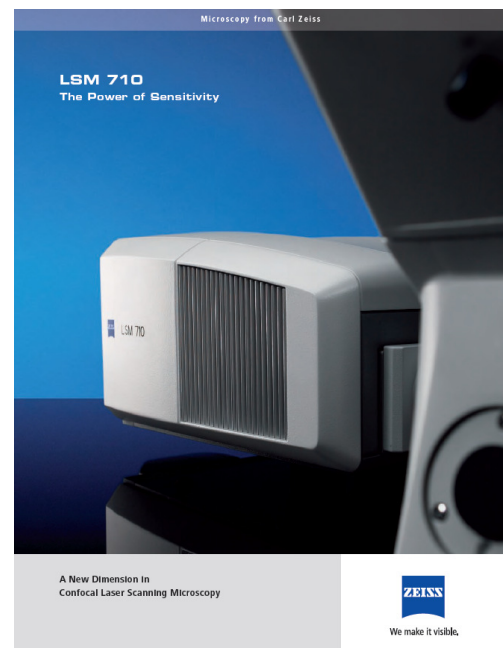
2.1 开机顺序

2.2 软件的快速使用说明

2.3 显微镜的触摸屏控制

2.4 关机顺序

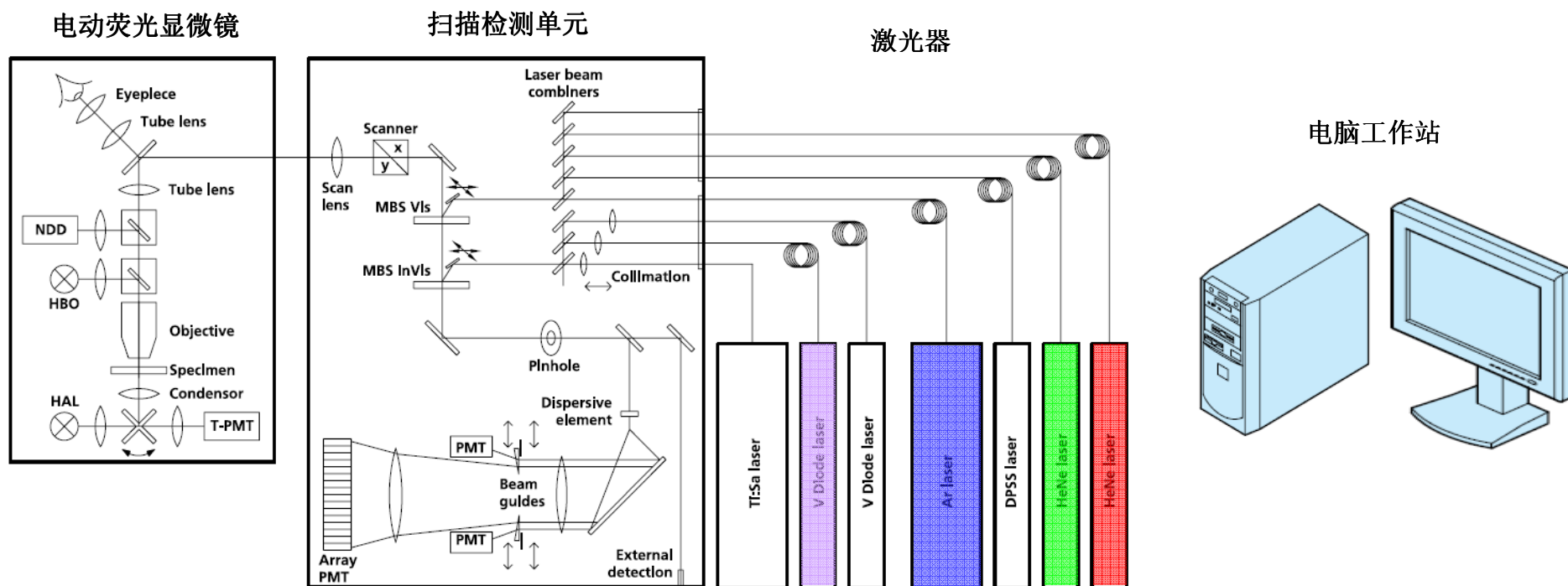
3 系统的维护



1 系统的组成

激光扫描共聚焦显微镜系统主要由：电动荧光显微镜、扫描检测单元、激光器、电脑工作站及各相关附件组成。

系统组成及光路示意图：



实物照片说明：

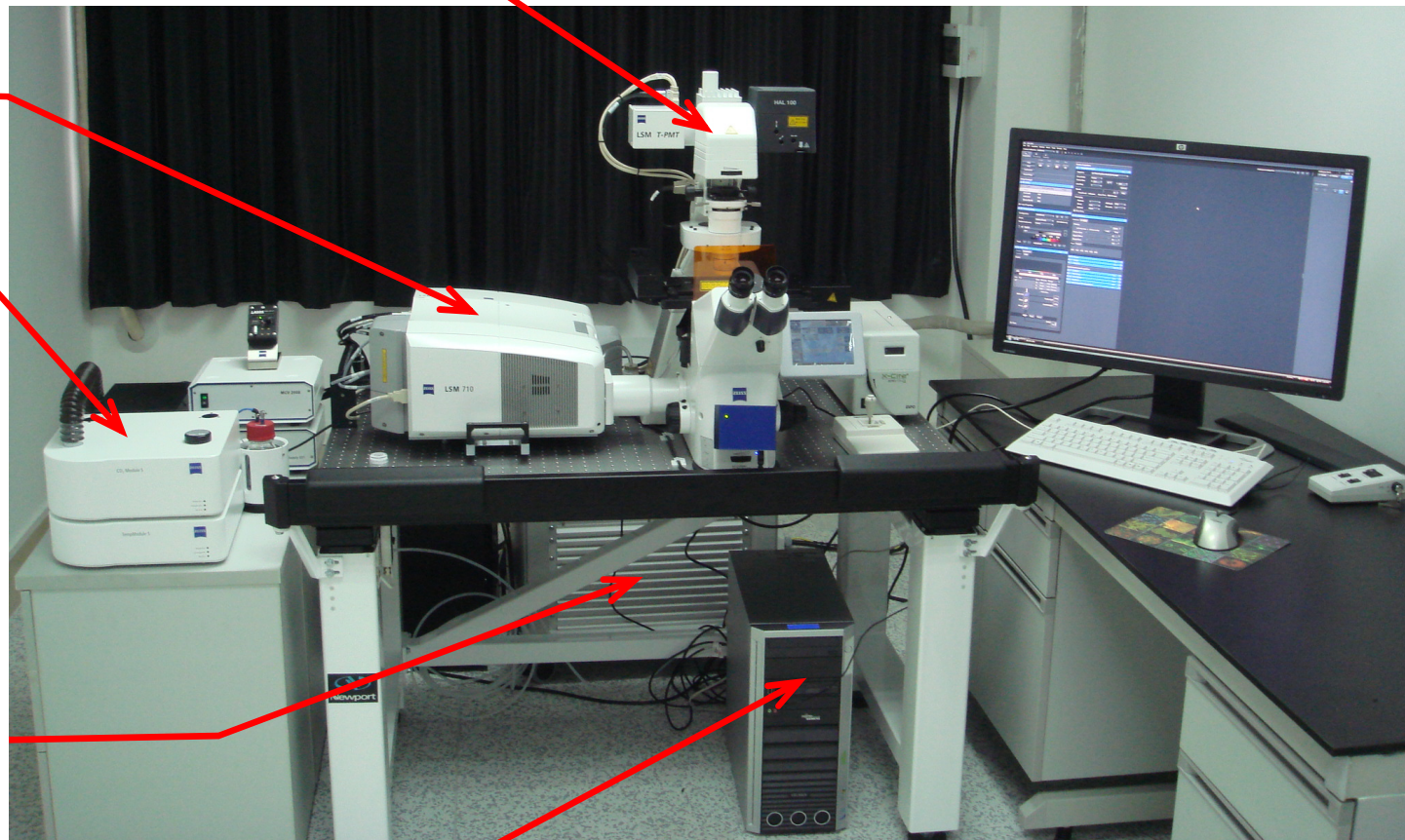
电动荧光显微镜

扫描检测单元

CO₂ 培养系统控制器

激光器

电脑工作站



2 系统的使用

2.1 开机顺序

(1) 打开稳压电源（绿色按钮）

等待 2 分钟（电压稳定）后，再开其它开关



(2) 主开关 [MAIN SWITCH] “ON”

电脑系统 [SYSTEMS/PC] “ON”

扫描硬件系统 [COMPONENTS] “ON”



(3) 打开 [电动显微镜开关]

打开 [荧光灯开关]

（注：具有 5 档光强调节旋钮）



(4) Ar 离子激光器主开关 “ON”

顺时针旋转钥匙 至 “—”

预热等待约 15 分钟，

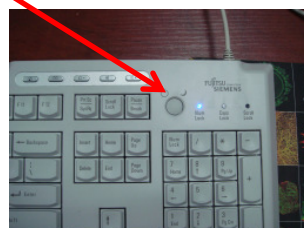
将激光器 [扳钮] 由 “Standby” 扳至

“Laser run” 状态，即可正常使用



(5) 打开 [电脑开关]，进入操作系统

注：键盘上也具有 [电脑开关]



2.2 软件的快速使用说明

(1) 电脑开机进入操作系统界面后，双击桌面共聚焦软件 ZEN 图标



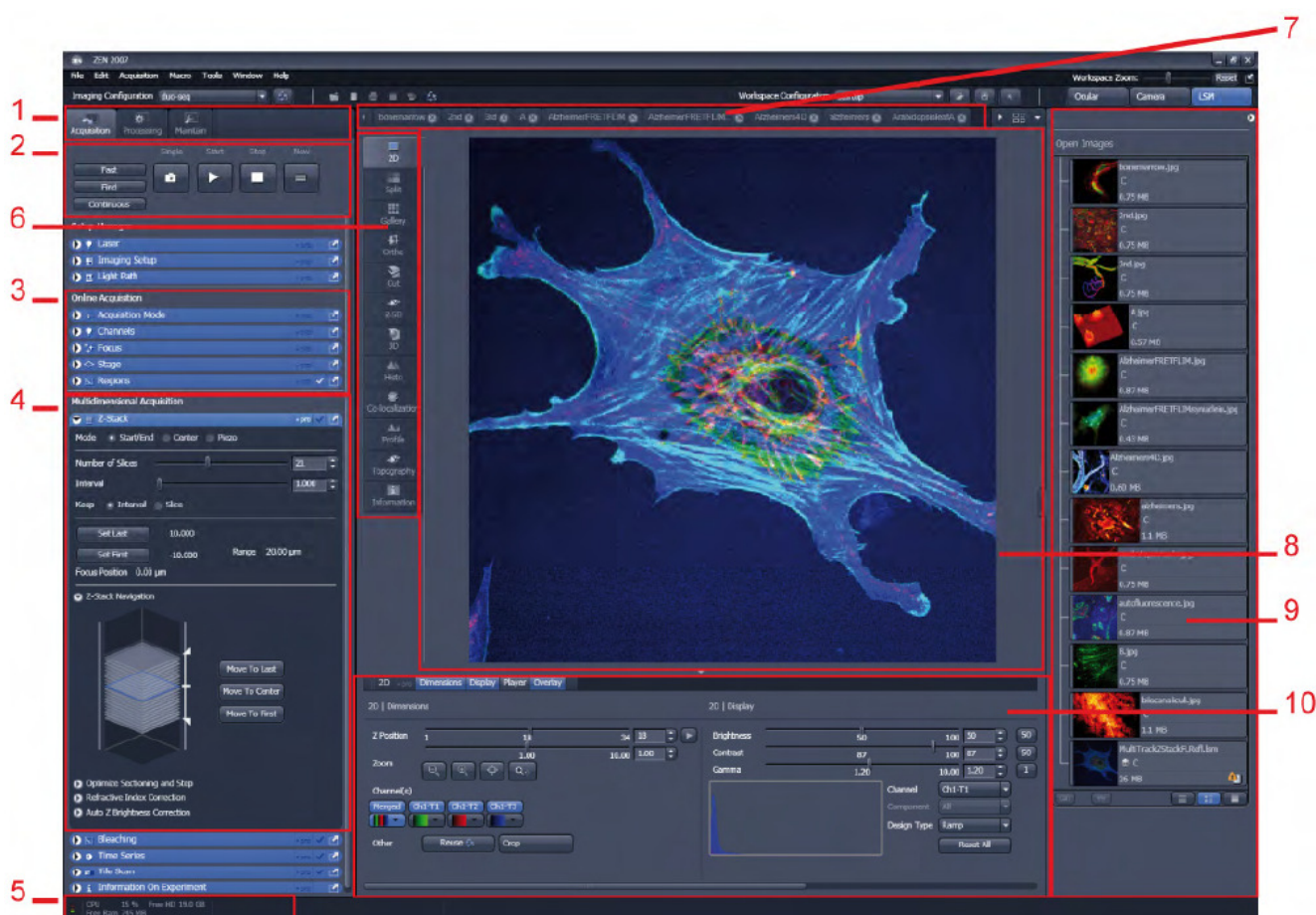
(2) 进入 ZEN 界面，弹出对话框：

“Start System”——初始化整个系统，用于激光扫描取图、分析等。

“Image Processing”——不启动共聚焦扫描硬件，用于已存图像数据的处理、分析。



(3) 软件界面：



1 功能界面切换：扫描取图（Acquisition）、图像处理（Processing）、维护（Maintain）

（注：Maintain 仅供 Zeiss 专业工程师使用）

2 动作按钮；3 工具组（多维扫描控制）；4 工具详细界面；5 状态栏；6 视窗切换按钮；

7 图像切换按钮；8 图像浏览/预扫描窗口；9 文档浏览/处理区域；10 视窗中图像处理模块

动作按钮:

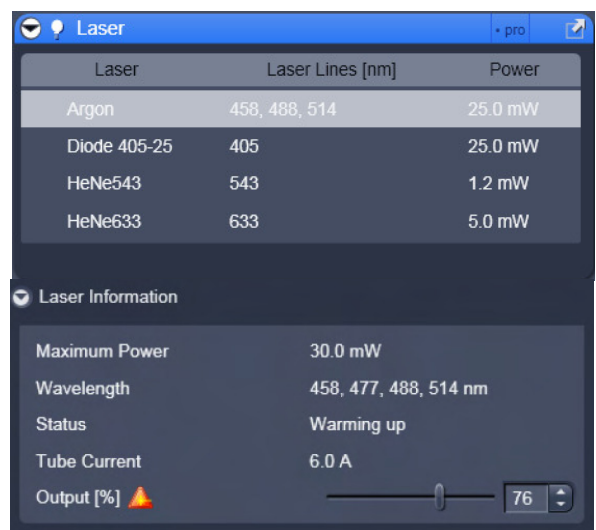
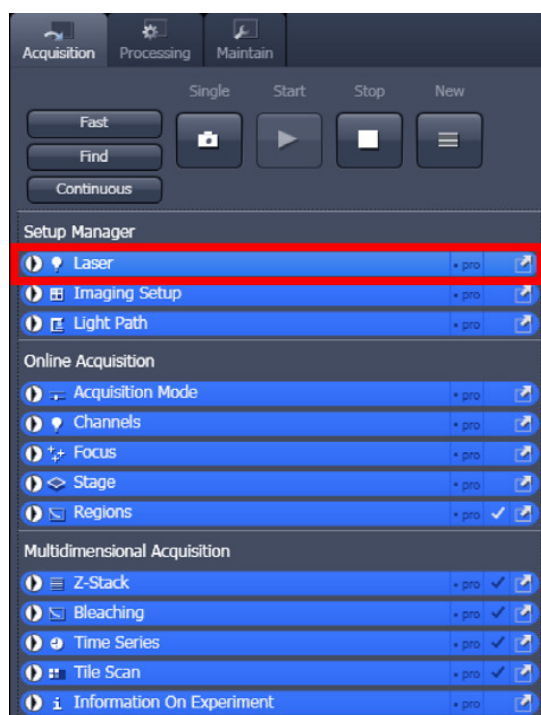
Single  ——扫描单张图片、并在图像预览窗口显示。

Start  ——开始扫描单张图片或一个实验流程（1组图片，如XYZ、XYT等）。

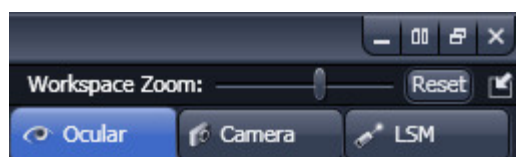
Stop  ——暂停/结束扫描。

New  ——建立一个新图像扫描窗口/文档。

激光连接状况检查



眼睛观察/相机/共聚焦 LSM 光路切换（ZEN 软件界面右上角）：

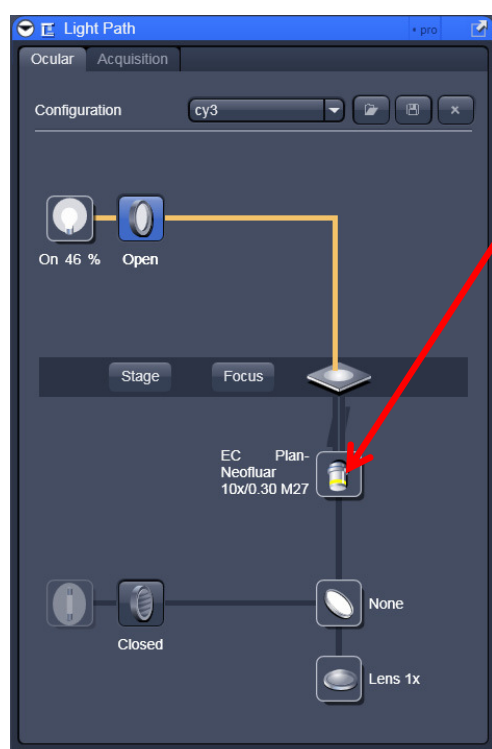


Ocular ——通过观察筒用眼睛观察。（激光安全保护装置自动阻断激光、保护眼睛。）

Camera ——光路切换至相机。

LSM ——共聚焦扫描成像光路。

显微镜设置：



“Ocular” ——>

“Light Path” ——>

点击物镜图标，选择物镜——>
样品聚焦。

透射光控制（Transmitted Light Control）

反射光光闸控制（Reflected Light Shutter）

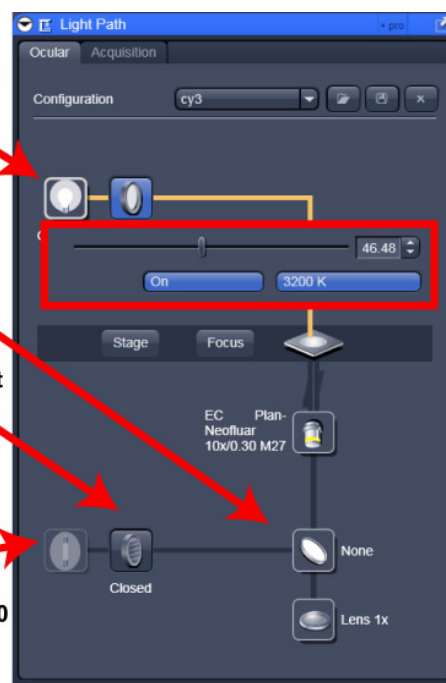
荧光激发块选择（Reflector）

Transmitted Light Control

Reflector

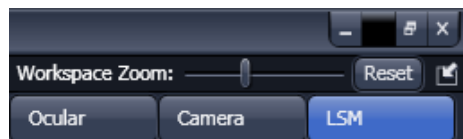
Reflected Light Shutter

Reflected Light Source (X-Cite 120 or HBO 100)



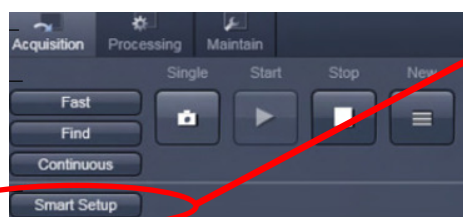
共聚焦 LSM 扫描设置

点击“LSM”（ZEN 软件界面右上角），系统切换至共聚焦扫描光路：



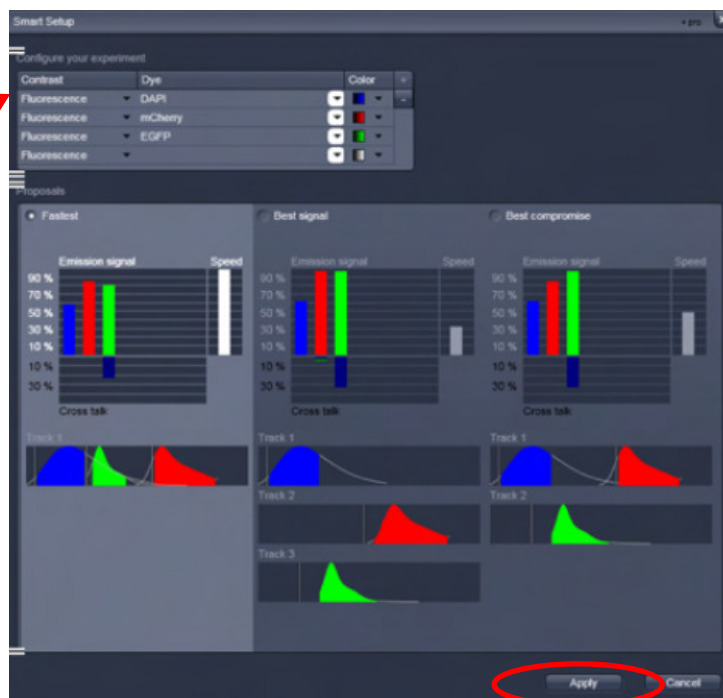
光路设置：

Smart Setup —— 自动预设光路

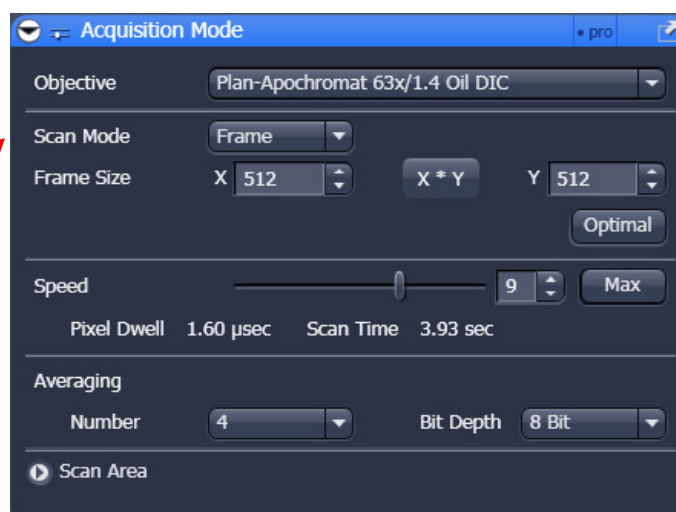
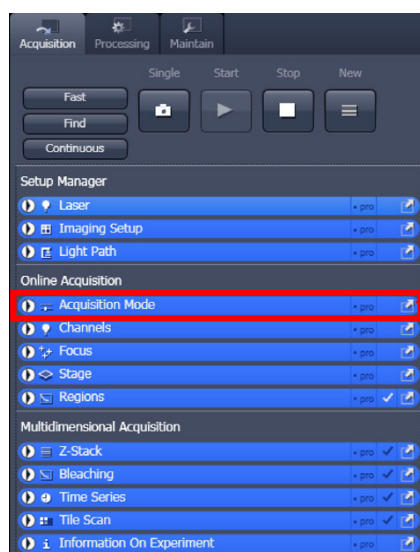


选取“荧光探针”、“颜色”、扫描方法，应用“Apply”。

（注：**Fastest** 为最快速扫描，多条激光谱线同时扫描。**Best signal** 为最佳信号扫描，多条激光谱线顺序扫描。**Best compromise** 为兼顾速度与信号的折中式扫描。）



扫描图像参数设置：



每个通道的精细调节：

包括：

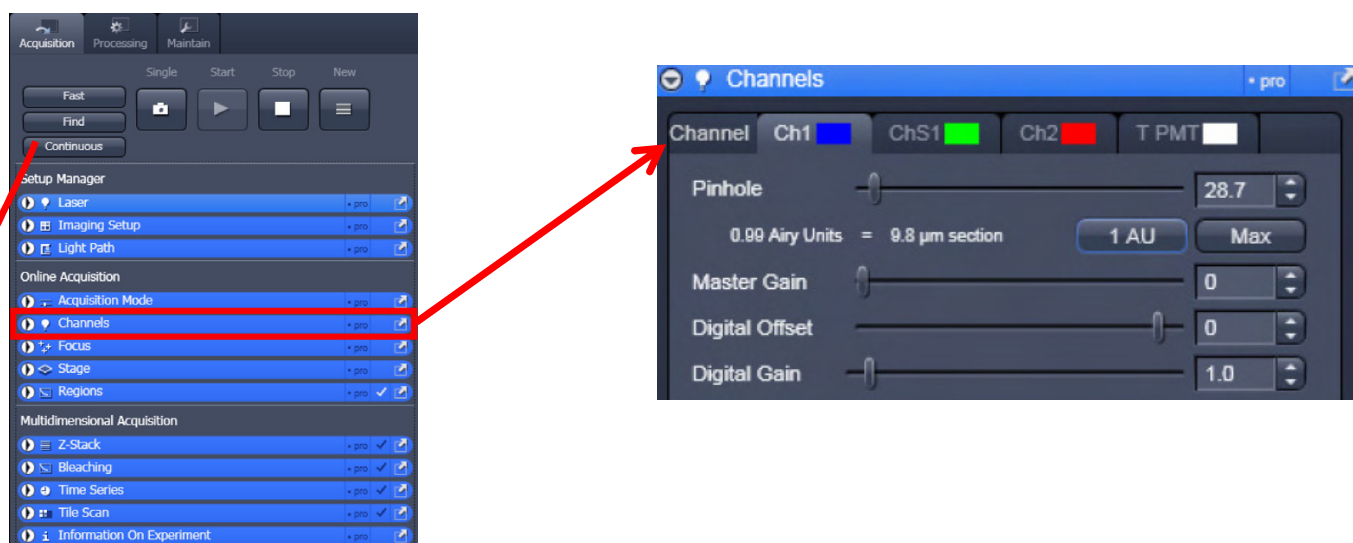
(1) Pinhole 的调节（一般设为 **1AU**。该值越大，则信号越强，但共聚焦图像效果会降低。原则上，在保证图像质量的前提下，该值越接近于 **1AU** 越好）；

(2) Master Gain 的调节（增大则信号和噪音都增强，减小则信号和噪音均减小。原则上，在保证图像质量的前提下，**Gain** 值越小越好）；

(3) Digital Offset 的调节（可扣除背景噪音，但标本信号也有一定程度的扣除。原则上，在保证图像质量的前提下，**Digital Offset** 值越接近于 **0** 越好）；

(4) Digital Gain 的调节（增大则信号和噪音都增强，减小则信号和噪音均减小。原则上，在保证图像质量的前提下，**Gain** 值越接近于 **1.0~1.2** 越好）；

(5) 另外，对于每个通道，需要灵活调节激光的强度（激光强度越高，则信号越强，但噪音也相应增强，同时标本更容易被漂白或淬灭。原则上，在保证图像质量的前提下，激光强度越低越好。）



选择 **Continuous** 可连续扫描、一边预览图像效果、一边精细调节各个通道的扫描参数。

如果预览图像的效果可以，则先“Stop”



，再点击“Single”

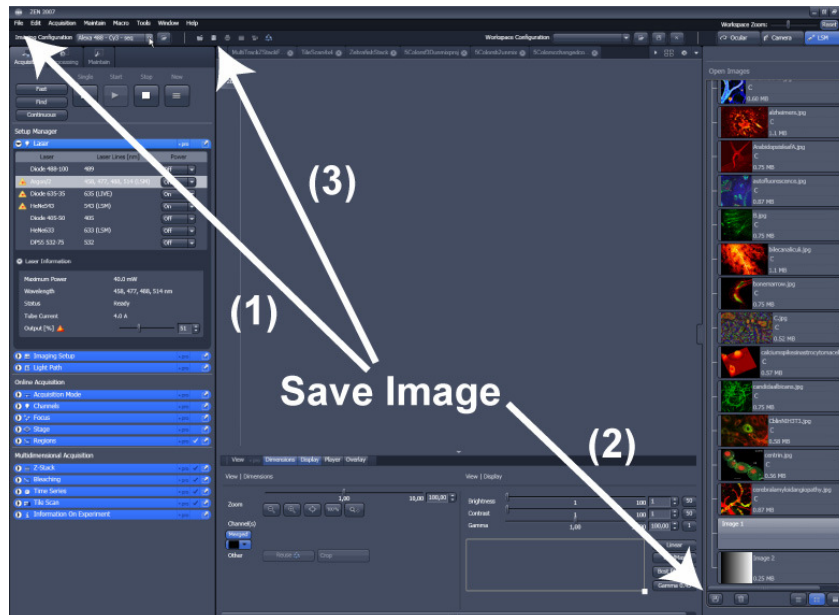


或“Start”



即可完成图像的扫描。

图像的保存:



三种方法:

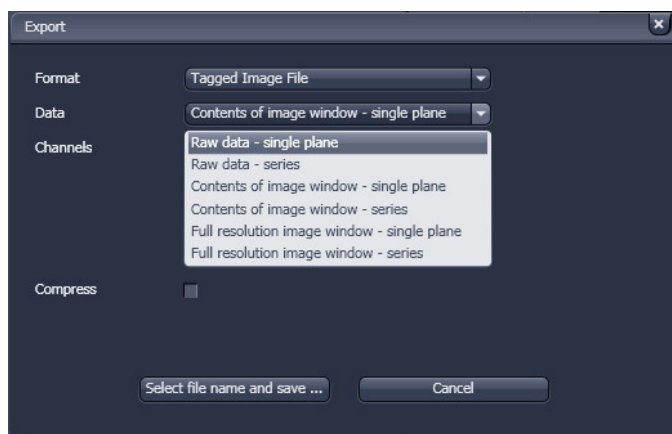
(1) “File” 菜单下, “Save” 或者 “Save AS”。

(2) 点击右下角按钮 。

(3) 点击工具栏按钮 。

(如图所示)

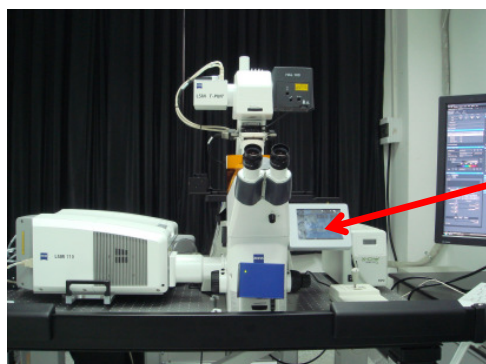
另外, 通过 “File” 菜单下的 “Export”, 也可将图像以其它格式输出。



2.3 显微镜的触摸屏控制

显微镜可由 TFT 液晶触摸屏进行控制：

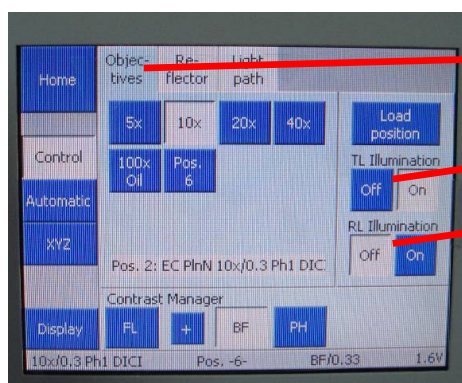
由触摸屏“Home/主页”进入“Control/显微镜控制”界面，



TFT 触摸屏控制

直观、便捷。

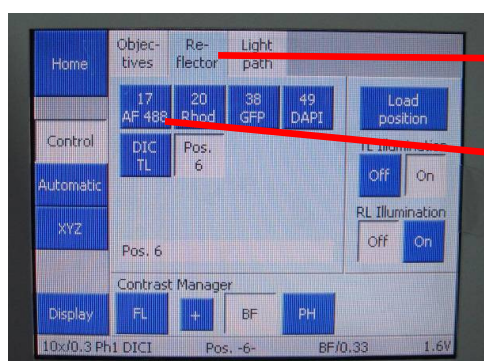
触摸屏常用控制界面：



Objectives 物镜控制

TL 透射光光闸

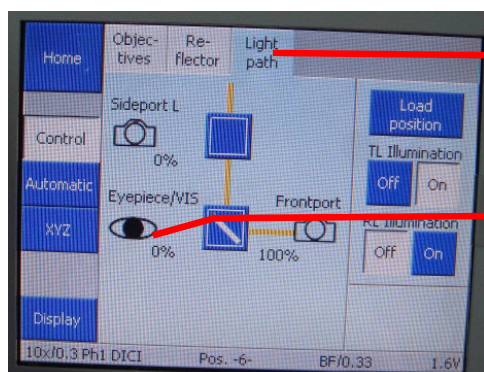
RL 反射光光闸



Reflector 荧光激发块控制

荧光观察时，需要选择相应的
荧光激发块

（或者激发波长、发射波长相
近的荧光激发块）



Light path 光路设置

触摸控制，可将光路切换至“**Eyepiece**”
目镜观察筒，或者将光路切换至左侧共聚
焦光路“**Sideport L**”，或者将光路切换至
前侧“**Frontport**”相机。

2.4 关机顺序：

(1) 关闭软件：主菜单 “File” ——> “Exit”，退出共聚焦软件 ZEN。

(2) 关闭主电脑操作系统、显示器电源。

(3) 关闭 [荧光灯电源]。

(4) 关闭 [电动显微镜电源]。

(5) 关闭 Ar 激光器：

先将 [扳钮] 从 “Laser run” 扳到 “Standby” 状态；

再将 [钥匙] 逆时针从 “—” 旋转到 “O” 状态；

等待约 8-10 分钟、激光器风扇停止转动后（切记！）

将 主开关 按钮按到 “OFF”。



(6) 扫描硬件系统 [COMPONENTS] “OFF”

电脑系统 [SYSTEMS/PC] “OFF”

主开关 [MAIN SWITCH] “OFF”



(7) 等 [灯箱] 充分冷却后，再放防尘罩。

(8) 如果系统长时间（超过 5 个小时）不使用，则关闭稳压电源。

3 系统的维护

主要注意事项如下：

- (1) 打开稳压电源时，应等待 2 分钟（电压稳定）后，再开其它开关。
- (2) 严格遵守**[激光器]**的开、关流程（详见“2.1、2.4 开/关机顺序”）。
- (3) 如果使用过**[油镜]**，或者物镜表面较脏，则需用**[擦镜纸]**擦干净物镜的前表面（清洁液使用无水乙醇和无水乙醚的混合液，混合比例：无水乙醇 30%、无水乙醚 70%）。
- (4) 不使用荧光时，不打开**[荧光灯]**。避免频繁开/关荧光灯。
- (5) 必须等灯箱充分冷却后，再小心地盖上**[防尘罩]**。
- (6) 显微镜可由**[TFT 触摸屏]**控制，使用触摸屏时注意：
 - ①手指保持清洁、干燥状态，并且为了保证他人使用安全，触摸时严禁配戴有可能接触污染物或危险样品的手套；
 - ②触摸屏已足够灵敏，不要大力按压触摸屏；
 - ③不要旋转、插拔触摸屏。
- (7) 刻录图像数据资料：应使用刻录光驱刻录，实验前应准备好刻录光盘。

切记：为了防止计算机病毒，严禁在共聚焦电脑上使用 U 盘、硬动硬盘或者上网!!!
- (8) 未经授权，严禁自行安装任何软件!!!
- (9) 实验室温度应保持在 $22^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，湿度 40%-60%。
- (10) 避免空调直接对着显微镜吹风。
- (11) 整个实验过程应注意保持显微镜周围环境清洁。