

共聚焦的操作手册

目录

共聚焦的操作手册	1
一、 开机	2
1. 部件介绍	2
2. 开机顺序	8
二、 显微镜找到需观察样品	8
三、 切换共聚焦模式预览、拍照、其他拍摄模式	9
1. 模式切换	10
2. 预览	10
3. 拍照	12
4. 调节图片	13
5. 其他拍照模式	13
四、 关机	19
五、 注意事项	19



- -、开机
- 1. 部件介绍









CBH 电源箱



汞灯电源箱





电动聚光镜



右按键面板





左按键面板



物镜转换器按键面板





电动载物台控制盒



激光箱体





共聚焦扫描箱体



2. 开机顺序

- 1. 长按 UPS 电源开关,听到蜂鸣声后说明 UPS 电源上电(如未配置 UPS 电源,请依次打 开激光器箱体上的电源按钮及水冷机电源按钮)。
- 2. 按下电脑主机电源键,使主机开机,并打开显示器。
- 3. 打开显微镜 CBH 电源开关, 使显微镜上电。
- 打开汞灯电源开关,使汞灯上电。(注意汞灯电源开启后保证运行时间不低于 2 小时, 否则影响汞灯寿命)
- 5. 如有电动载物台,打开电动载物台电源箱体按钮。
- 6. 电脑中打开共聚焦软件 CSIM V3.2,并点击确定进行自检。

二、显微镜找到需观察样品

如图根据样品选择观察方式,点击左光口切换至目镜观察状态,调节载物台将视野及显微镜 Z轴调整到需要观察的位置并清晰地显示样品。





三、切换共聚焦模式预览、拍照、其他拍摄模式

这里以 XY 扫描模式为例,其他模式请参照 CSIM IMAGE V3.2 软件说明书。



1. 模式切换



点击软件中模式切换按钮,将软件切换至共聚焦模式。

在共聚焦模式下软件全权接管显微镜控制,显微镜前面板将无法操作,如需操作,请在软件 中切换为显微镜模式。

单 PMT 通道选择 DAPI 0% 1 405 🗸 0 1 2 3 4 5 6 7 8 EGFP 2 488 0% 0 • 1 2 3 4 5 6 7 8 RFP 3 561 🗸 0% 12345678 Multi 4 <mark>640</mark> ~ 0% 0 12345678 DIC 0% 5 XYZ ХҮТ 0 同步预览 加载 累积扫 拍照 🐼 路径 预览 ()同步拍照

2.预览





- 1. 选择合适的激光器波段并调节好能量(一般 5%以内即可)、电压、扫描像素并点击预览。
- 解读:数字按钮对应的激光器下拉对话框,选择该通道对应的激光器;点击相应的滤光 镜下拉对话框,选择对应的滤光镜;通过拖动矩形按钮、输入百分百数值或在百分百数 值上滚动鼠标转轮,选择激光输出的功率;通过拖动圆形按钮、输入百分百数值或在百 分百数值上滚动鼠标转轮,选择 PMT 的工作电压(推荐范围 400~800)。



- 3. 调节合适的视野和焦面(显微镜焦面调节旋钮)。
- 解读:"置中"按钮,在图像显示窗口激活置中工具,通过点击鼠标左键,将置中工具 对准的位置自动移动至图像显示窗口中心(需要配合电动载物台使用),并可通过滚动 鼠标滚轮控制扫描倍率。



- 5. 调节合适的曝光时间、放大倍率。
- 6. 解读:"曝光时间"下拉对话框,选择每个像素的曝光时间。"倍率"下拉对话框,选择 扫描放大倍数。



- 7. 调节合适的自适应数值
- 解读:"自适应"对话框,设定拍照参数与预览参数的比例关系:"时长"下拉对话框设 定曝光时间的倍数关系,"功率"下拉对话框设定激光输出功率的倍数关系,"电压"对 话框设定 PMT 电压增加或减少的电压值。



- 9. 调节累积扫描和平均扫描
- 10. 解读:"加载",点击可调用之前的扫描条件。"累积扫描/平均扫描"下拉对话框,选择
 累积扫描方式或平均扫描方式,通过拖动圆形按钮,选择累积扫描/平均扫描的次数1~
 8次。

3. 拍照



调节好以上参数后,设置拍照的路径,点击路径选择相应的文件夹。选择好保存路径后,调



整合适的拍照分辨率,点击拍照。拍照的图片保存在设置的路径中,图片为黑白原始图片。

4. 调节图片





调节好图片显示范围, Merge 图片个数, 标尺, 另存为地址及图片名称后, 点击另存 (另存 图片为调节好显示范围后的彩色图片)。

解读:"显示范围"按钮,设定图像显示窗口显示亮度与原始数据的换算关系

Merge 对话框 1~5,点击选择将图像显示窗口显示的图像,在图像显示窗口 6 合成显示。标尺对话框:

- "添加标尺"按钮,点击则在所有图像显示窗口中添加标尺。
- "标尺颜色"按钮,选择标尺的显示颜色。
- "物镜"对话框,设定并显示当前使用的物镜倍率。
- "线宽"对话框,设定并显示标尺的粗细。
- "字体"对话框,设定并显示字体的大小。
- "长度"下拉对话框,设定标尺的长度。

5. 其他拍照模式

5.1 XY 模式成像

- 1. 停止预览后,选择 XY 扫描。
- 2. 选择适合的 XY 像素。
- 3. 调整"自适应"参数。



- 4. 选择各通道的累积/平均扫描的次数。
- 5. 点击"拍照",完成 XY 扫描成像。



5.2 XYZ 模式成像

- 1. 选择 XYZ 扫描。
- 在预览时,旋转调焦旋钮,使成像焦面降低至样品的下表面,点击"下限"按 钮;反向旋转调焦旋钮,使成像焦面上升至样品的上表面,点击"上限"按钮。
- 3. 在"步距"对话框中输入焦面的间隔距离。
- 4. 选择适合的 XY 像素。
- 5. 调整"自适应"参数。
- 6. 选择各通道的累积/平均扫描的次数。
- 7. 点击"拍照",完成 XYZ 扫描成像。



扫描成像 分析处理 系统设置 显微镜(仅显示) 标准模式 快扫模式 物镜 10X/0.40 \sim 共聚焦 上荧光转盘 ХҮ xyz ХҮТ XYZT МР 下荧光转盘 []____拍照___▶___预览_____徽___路径______ 左端光口 50% 上端光口 目镜观察 扫描参数 1024 🗸 Y像素 1024 X像素 汞灯光闸 开 2 × 扫描用时 0.30 fps 曝光时间 (µs) 偏光镜 进 Ш 倍率 (1.0~32.0) 1.0 ⊻ 1400.0µm×1400.0µm 明场光强 🛑 针孔 🔵 三维扫描设置 移动速度 物镜位置(µm) 自适应 时长 1 🗸 功率 1 🗸 电压 0 1988.15 1.0X 下限 上限 快扫调节 -1 0 +1 旋转 无变化 2035.9 1988.15 步 距(µm) 当前层级 通道选择 首 PM 5 总数 距离 1 405 🗸 5% DAPI 47.75 -9 610 剩余 12345 0 延时设置 2% EGFP 2 488 ~ 前次数 530 12345678 5% RFP 3 561 🗸 -00秒 0010 2345 2% Multi XY 优先 4 <u>640</u> 🗸 5.0 X 移动速度: 当前位置: X 0 Y 0 mn 12345678 0 扫描阵列: 0 5 DIC 2% 重合比例: X 0.000% 0.000% 300 同步预览 读取 X1 0 0 加载 累积扫 卖取 x4 0 0 同步拍照

北京世纪桑尼科技有限公司

5.3 XYT 模式成像

- 1. 停止预览后,选择 XYT 扫描。
- 2. 在"次数"对话框输入总的次数。
- 3. 在"间隔"对话框输入扫描成像的间隔时间。
- 4. 选择适合的 XY 像素。
- 5. 调整"自适应"参数。
- 6. 选择各通道的累积/平均扫描的次数。
- 7. 点击"拍照",完成 XYT 扫描成像。





5.4 XYZT 模式成像

- 1. 选择 XYZT 扫描。
- 在预览时,旋转调焦旋钮,使成像焦面降低至样品的下表面,点击"下 限"按钮;反向旋转调焦旋钮,使成像焦面上升至样品的上表面,点 击"上限"按钮。
- 3. 在"步距"对话框中输入焦面的间隔距离。
- 4. 在"次数"对话框输入总的次数。



- 5. 在"间隔"对话框输入扫描成像的间隔时间。
- 6. 选择适合的 XY 像素。
- 7. 调整"自适应"参数。
- 8. 选择各通道的累积/平均扫描的次数。

点击"拍照",完成 XYZ 扫描成像



5.5 MP 模式成像

1. 选择 MP 扫描。

2. 在预览时,旋转调焦旋钮,使成像焦面降低至样品的下表面,点击"下限"按钮;反向



旋转调焦旋钮,使成像焦面上升至样品的上表面,点击"上限"按钮。

- 在预览时,旋转载物台控制旋钮,使图像位于样品的左上角,点击"X1Y1 读取"按钮, 设定大视野的左上角;旋转载物台控制旋钮,使图像位于样品的右下角,点击"X4Y4 读取"按钮,设定大视野的右下角。
- 4. 在"扫描阵列"对话框输入大视野的阵列数——对应的重合比例不小于 10%。
- 5. 在"步距"对话框中输入焦面的间隔距离。
- 6. 选择适合的 XY 像素。
- 7. 调整"自适应"参数。
- 8. 选择各通道的累积/平均扫描的次数。
- 9. 点击"拍照",完成 MP 扫描成像。





四、关机

- 1. 关闭共聚焦软件 CSIM V3.2,并关闭电脑主机和显示器。
- 2. 长按 UPS 电源开关,听到蜂鸣声后说明 UPS 电源断电(如未配置 UPS 电源,请依次关闭激光器箱体上的电源按钮及水冷机电源按钮)。
- 3. 关闭显微镜 CBH 电源开关。
- 4. 如有电动载物台,关闭电动载物台电源箱体按钮。
- 5. 关闭汞灯电源开关(注意汞灯电源开启后保证运行时间不低于 2 小时,否则影响汞灯寿 命)。

五、注意事项

- 1. 拍照存储路径和另存为存储路径选择时需点击选择文件夹,请勿点击保存。
- 2. 在用荧光观察完样品时,及时关闭荧光光闸(FL SHUTTER),防止样品淬灭。