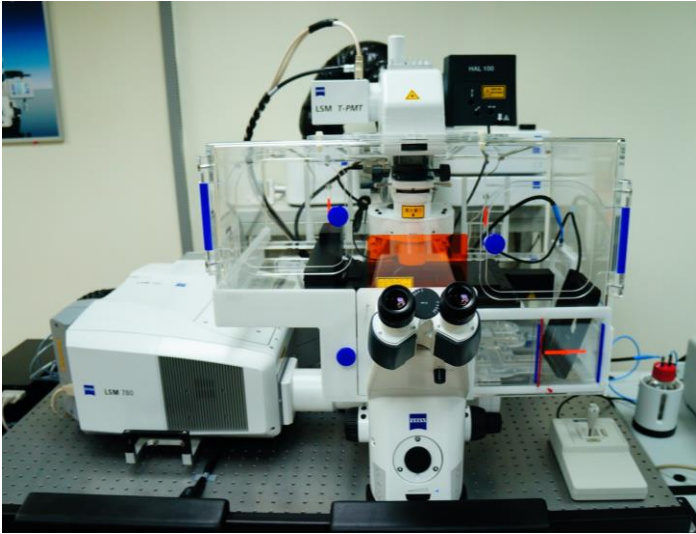


共軛焦顯微鏡簡易操作手冊

LSM 780 Takeoff Guide

ZEISS



Taiwan Instrument Company, 余雅倩

LSM 780/Axio Observer Z

ZEISS

總電源 開關機步驟

1. On/ Off

2. Turn Key On
(轉到水平)

3. On/ Off

4. On/ Off

開機1→7順序開啟
關機7→1順序關閉
(**開機時，步驟6結束後須
等待5 min 後再將步驟5的冷卻
系統Turn off)

(**為維護雷射使用壽命，如
果不是當天最後一個使用者，
請不要將系統關閉，只需清理
物鏡和環境)

Ar 雷射

5. On/ Off
(冷卻系統)

6. Turn Key On
(轉到水平)

7. 電腦主機與螢幕



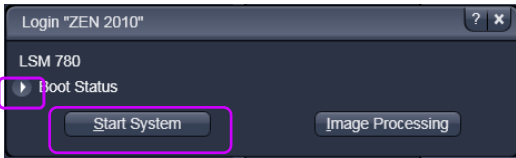
Taiwan Instrument Company, 余雅倩

1. 進入軟體ZEN

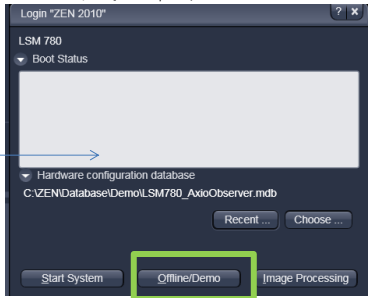


2. 開啟軟體與硬體連結

進
階
模
式



啟動機器掃描



*啟動軟體全功能，但不與硬體做連結，單純分析資料、沒有要操作機器請選此項。

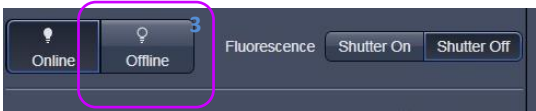
Taiwan Instrument Company, 余雅倩

3

3. 控制顯微鏡找到樣品焦距



- 1. Online，目鏡觀察，找到樣品焦距。
- 2. 利用Configuration, 切換不同螢光染劑或明視野尋找樣本。
- 3. 確認樣品位置後切換至Offline，即可進入LSM 影像擷取模式。



Online: 分光至目鏡
Offline: 分光至LSM，此時目鏡無法做觀測

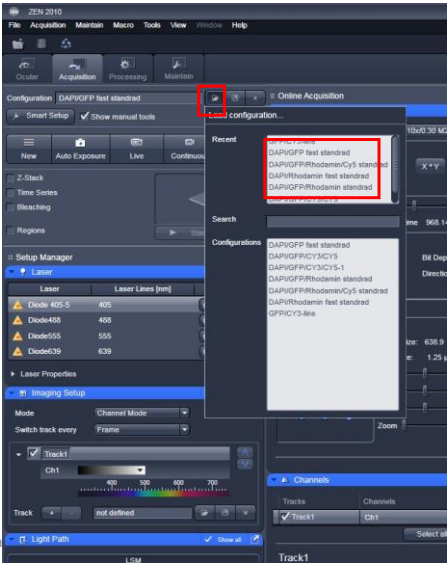
Taiwan Instrument Company, 余雅倩

4

4. Apply Configuration Setting



一般玻片掃描請選擇
“405/ 488/ 561/ 633
standard”，套用之後再
刪除沒有用到的track



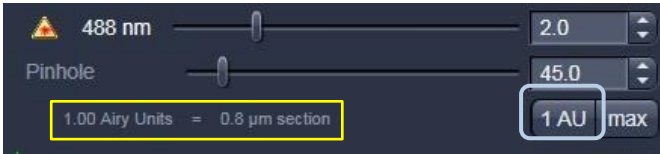
Taiwan

5

5. Acquisition setting



- Select all
- 1 AU或調整pinhole至相同的光學切片厚度

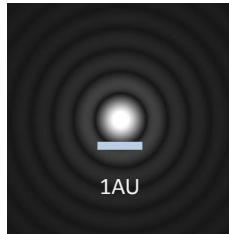


Taiwan Instrument Company, 余雅倩

6

5.1 :設定適當的Pinhole大小

ZEISS



Pinhole開啟1 Airy Unit此時光學切片厚度為0.8um

Pinhole設定:

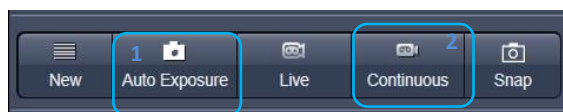
- 一般選擇1AU
- 亦可以設定成所有channel 為相同的um厚度，例如在高倍物鏡下可以統一選擇1um。

Taiwan Instrument Company, 余雅倩

7

6. 預覽掃圖

ZEISS



2 fine focus drive
細調節輪



1. Auto Exposure

- 試掃影像，系統會自動偵測影像為您自動先設置一個detector GAIN 值，
- 此步驟可以略過，直接進入下面說明的掃描參數值設定

2. LIVE & Continuous

- 按下LIVE進入高速預覽模式，同時使用focuse drive精調螢幕中影像焦距(高速掃描下，掃描頭易損壞，請少用，建議使用Continuous調整焦距與掃圖參數)

3. STOP

- 找到焦距後停止掃描

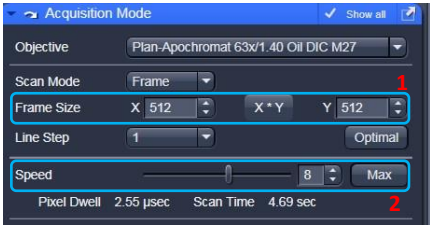


Taiwan Instrument Company, 余雅倩

8

ZEISS

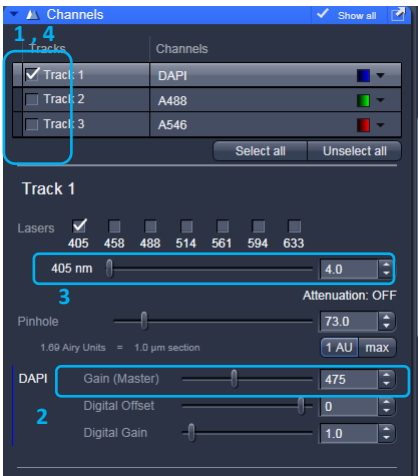
6.1 掃描參數值設定



- 於frame size 512*512畫素、speed 8下進行影像快速掃描，以方便即時預覽更改參數後的結果
- Continuous: 持續掃描，要按停止才會停止掃描
- Snap: 拍一張影像

ZEISS

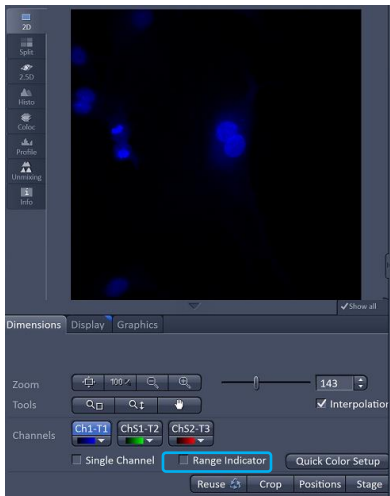
6.2 掃描參數值設定



1. 依序設定每個track的掃圖參數
2. 調整PMT gain值，數值越大訊號被放大得越多，影像越亮，可使用滑鼠中鍵滾輪滑動調整。
3. 調整 laser強度，數值越大，影像越亮。
4. 調整好後進行下一個track的設定，重複1~3步驟直到每個track都設定完畢。

ZEISS

6.3 掃描參數值設定



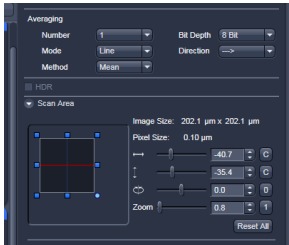
- 拍圖調整掃描條件時建議選取range indicator套色方式表現色彩，將有助於將顏色之intensity調到最佳分布。紅色表示飽和(調整detector gain和laser量)，background 深藍表示全黑(調整digital offset)
- 建議調整到全畫面當中訊號少部分飽和，background 部分為藍色。

Taiwan Instrument Company, 余雅倩

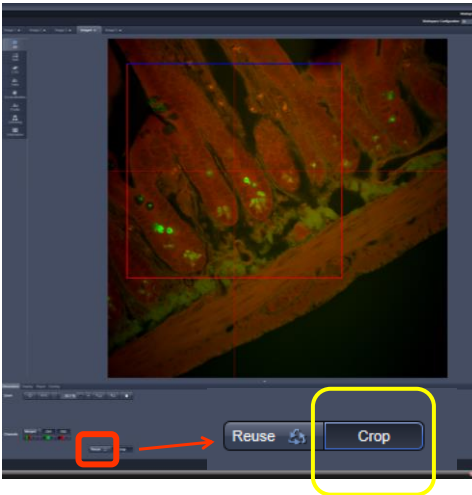
11

ZEISS

6.4 掃描參數值設定 ZOOM、掃描區域選擇



- Crop功能包含zoom in/ zoom out
- Zoom 勿過度使用,一般不會超過3 否則將造成bleach樣品的效果

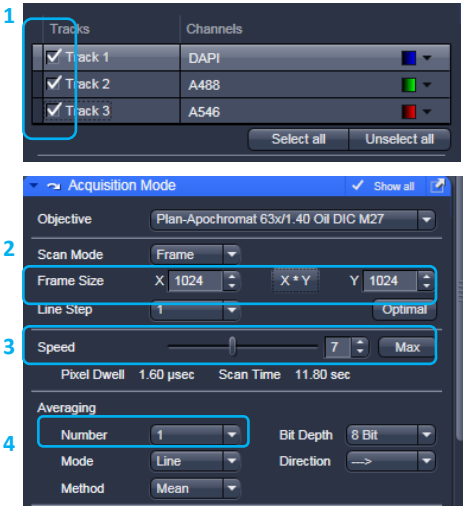


Taiwan Instrument Company, 余雅倩

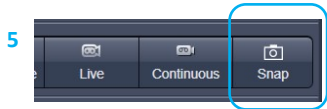
12

7. 正式掃圖:獲得高解析度影像

ZEISS



- 1. 將所有已經調整好參數的 track 都打勾
- 2. 選擇需要的畫素, 一般需要發表須要 1024*1024.
- 3. 調整掃圖至慢速度, 高品質影像建議 scan speed 為 5~7
- 4. 一般均設定 1, 若影像品質不佳可採用平均數次可以使影像品質提升, 降低雜訊
- 5. SNAP 拍一張, 獲得漂亮的 data!!

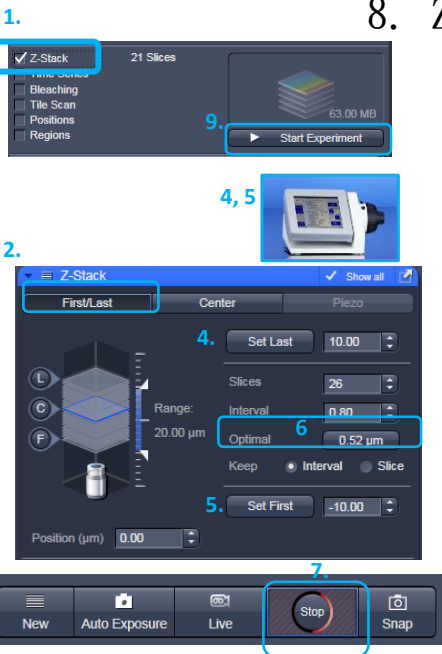


Taiwan Instrument Company, 余雅倩

13

8. Z stack

ZEISS



1. 進入 Z stack
2. 進入 Mark First/Last
3. Continuous scanning
4. 用 Focus drive 找到觀察樣品厚度之最高/低點 → mark first
5. 反方向轉動粗細調節輪找到欲觀察範圍的最高/低點 → mark last
6. 滑鼠按下 Optimal interval 建議值
7. 設定完畢後 stop, 避免樣品被 bleach
8. 回到掃圖設定成 1024*1024, speed 7~5
9. Start experiment 開始執行 Z section 拍照

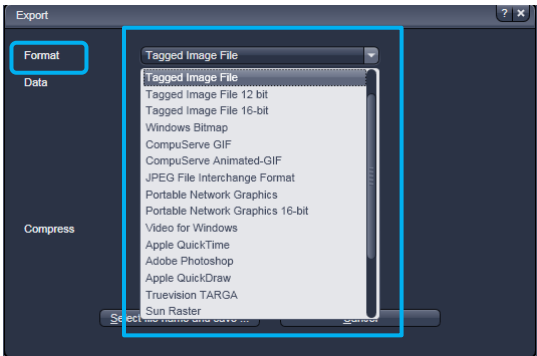
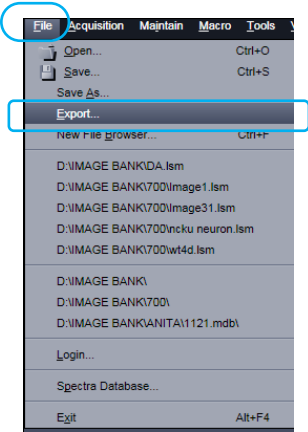
Taiwan Instrument Company, 余雅倩

14

9.存檔LSM 5—*.lsm完整檔案, 可以reuse!



File→ Export

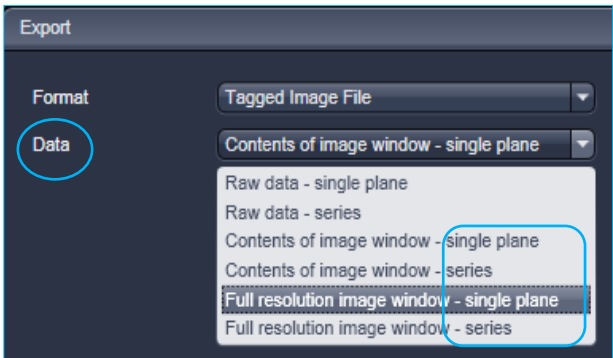


Format：下拉選擇欲存檔之類型（tif、jpg...），建議以tif檔儲存,減少壓縮損失，亦可儲存serial section 成動畫影片檔(.avi)

Taiwan Instrument Company, 余雅倩

15

10. 輸出成圖片檔或者影片檔



- Raw data：不含尺規,選擇要存的顏色，是否為灰階等等。
- Content of image window：存下室窗內的影像畫面，包含尺規。
- Full resolution：包含尺規依照拍照時的畫素存檔（建議使用！）

- 建議使用Full resolution 或者Contents of image window
- single plane：單張，目前所顯示的單層/單張影像。
- series：一系列圖，適用於Z stack，time series和movie檔。

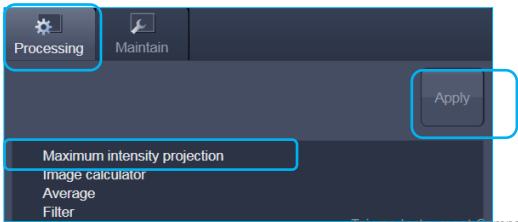
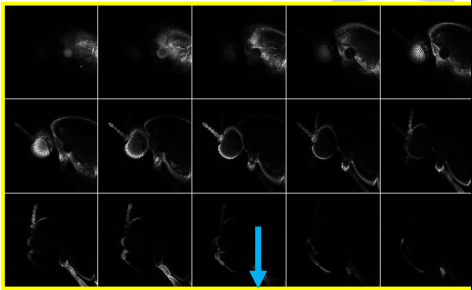
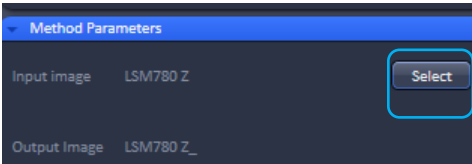
Taiwan Instrument Company, 余雅倩

16

11.把多張Z section疊成一張

ZEISS

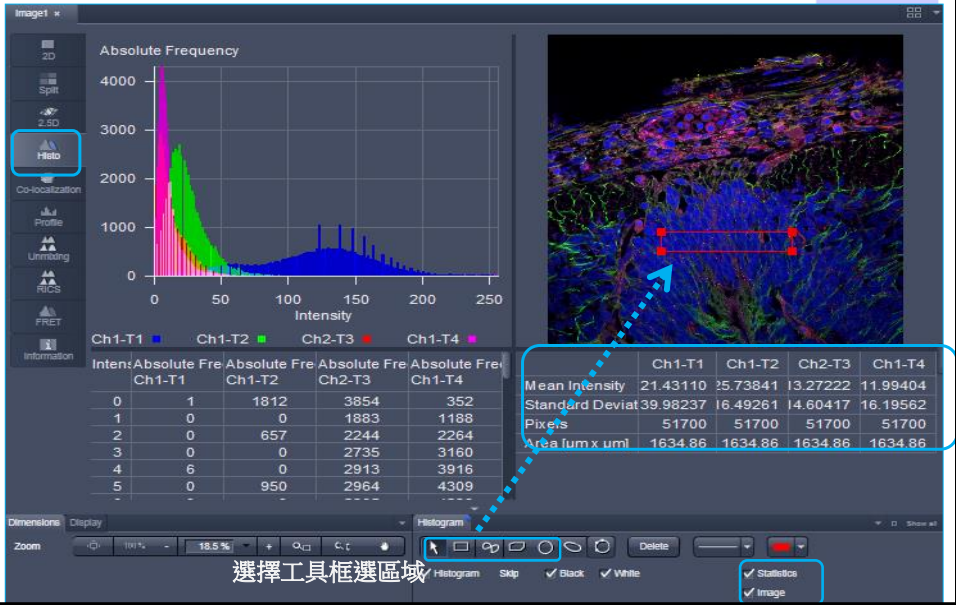
製造全景深影像: maximum intensity projection



Taiwan Instrument Company, 余雅倩

12. 測量intensity

ZEISS



選擇工具框選區域



余雅倩
台灣儀器行股份有限公司
科學儀器部門
TEL: 02-2772-3333 ext: 108
0963050417



台灣儀器行

We make it visible.