

LSM 700簡易操作手冊

LSM 700 Takeoff Guide

ZEISS



Taiwan Instrument Company, 余雅倩

1

1. 總電源(延長線上)



2. 螢光燈源



3. 電腦電源



1. 開關機步驟

開機1→4順序開啟
關機4→1順序關閉



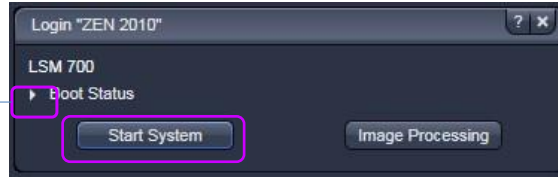
Taiwan Instrument Company, 余雅倩

2

2. 進入軟體ZEN

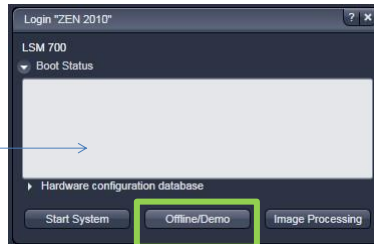


開啟軟體與硬體連結



進階模式

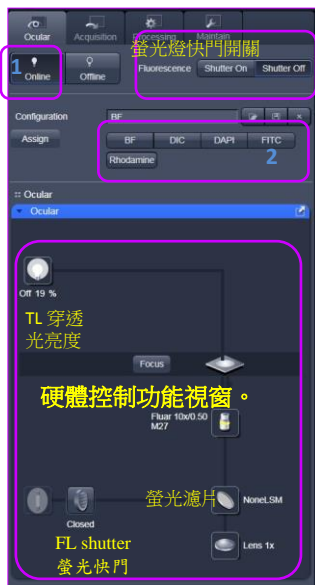
啟動機器掃描



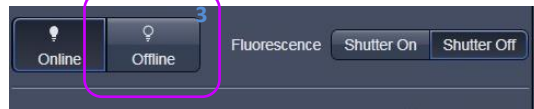
*啟動軟體全功能，但不與硬體做連結，單純分析資料、沒有要操作機器請選此項。

Taiwan Instrument Company, 余雅倩

3. 控制顯微鏡找到樣品焦距



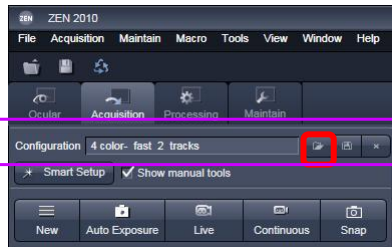
- 1. Online，自目鏡觀察，找到樣品焦距。
- 2. 利用configuration切換各濾光片組與穿透光設定。
- 3. 確認樣品位置及焦距後切至Offline，即可以進入LSM 影像擷取模式。



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. Apply Configuration Setting



請不要將存入各自的configuration, 也不要將**standard**的configuration刪除。
如果想要保有此掃描方式, 可以之後打開舊檔案**Reuse**

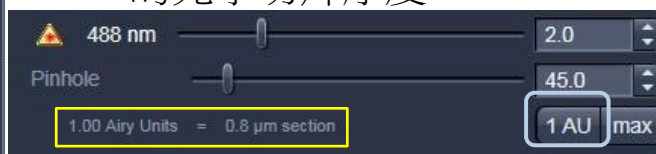
一般玻片掃描請選擇“**standard**”的configuration, 套用之後再刪除沒有用到的track, 例如: Cy5

Taiwan Instrument Company, 余雅倩

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



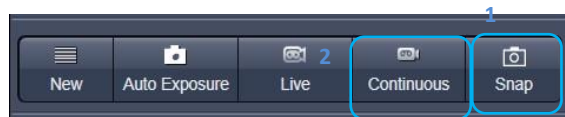

Pinhole設定:

- 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

2 fine focus drive
細調節輪



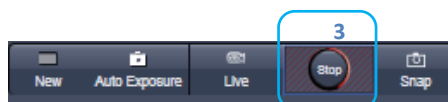
1. Snap 試拍一張

2. Continuous

– 按下Continuous後進入預覽模式，同時使用focus drive精調螢幕中影像焦距

3. STOP

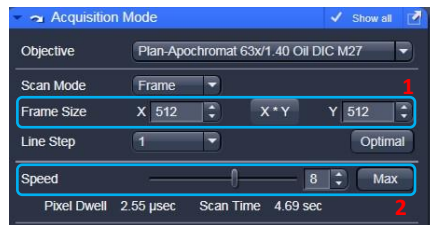
– 找到焦距後停止掃描



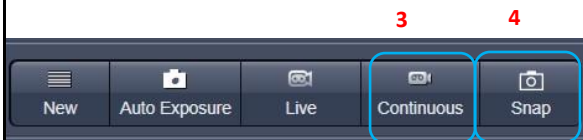
Taiwan Instrument Company, Vanessa

8

6.1 掃描參數值設定

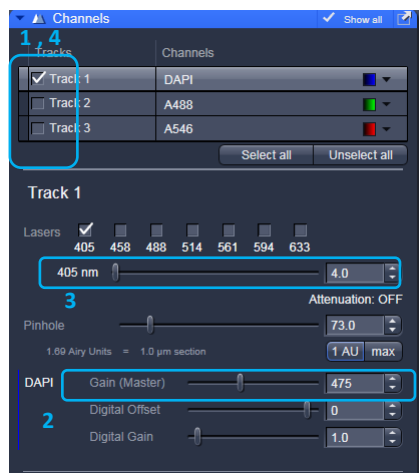
- 1&2. 於frame size 512*512 畫素、speed 8下進行影像快速掃描，以方便即時預覽更改參數後的結果
- 3. Continuous: 持續掃描，要按停止才會停止掃描
- 4. Snap: 拍一張影像



Taiwan Instrument Company, 余雅倩

9

6.2 掃描參數值設定

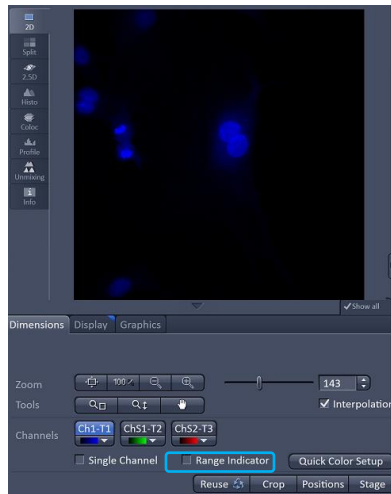
- 1. 依序設定每個track的掃圖參數
- 2. 調整PMT gain值，數值越大訊號被放大得越多，影像越亮，可使用滑鼠中鍵滾輪滑動調整。
(建議數值600-750)
- 3. 調整 laser 強度，數值越大，影像越亮。
- 4. 調整好後進行下一個track的設定，重複1~3步驟直到每個track都設定完畢。

Taiwan Instrument Company, 余雅倩

10

6.3 掃描參數值設定

ZEISS



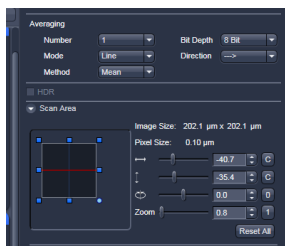
- 拍圖調整掃描條件時建議選取range indicator套色方式表現色彩，將有助於將顏色之intensity調到最佳分布。紅色表示飽和(調整detector gain和laser量)，background 深藍表示全黑(調整digital offset)
- 建議調整到全畫面當中訊號少部分飽和，background 部分為藍色。

Taiwan Instrument Company, 余雅倩

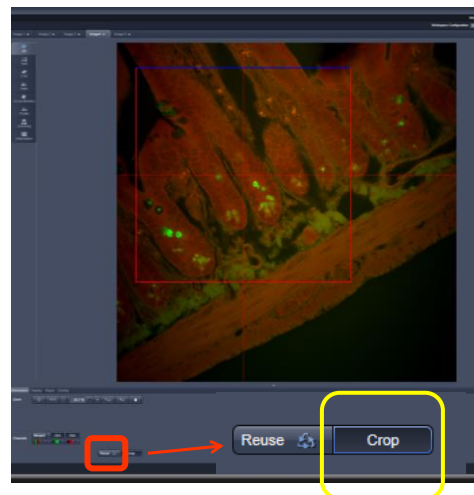
11

6.4 掃描參數值設定 ZOOM、掃描區域選擇

ZEISS



- 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

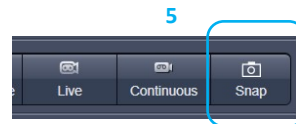
12

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!!

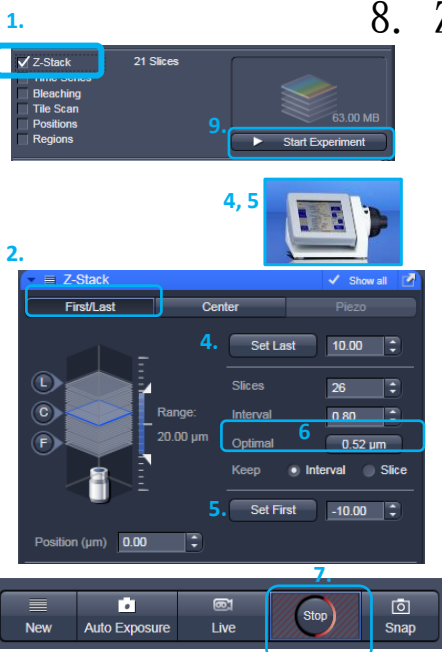


Taiwan Instrument Company, 余雅倩

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

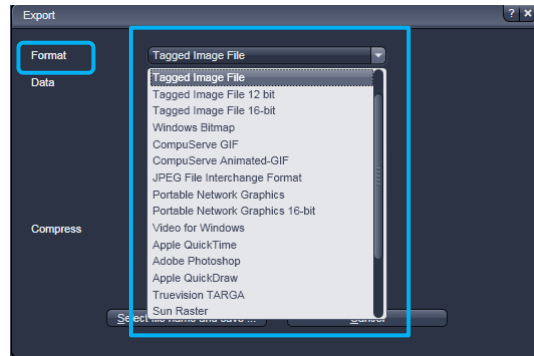
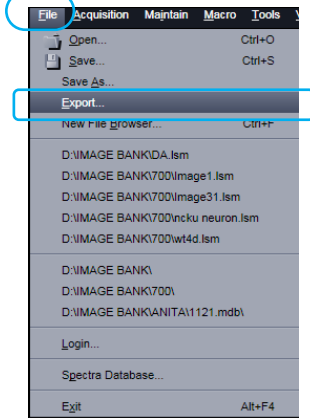
ment Company, 余雅倩

14

9. 存檔—*.ism完整檔案, 可以reuse!



File → Export

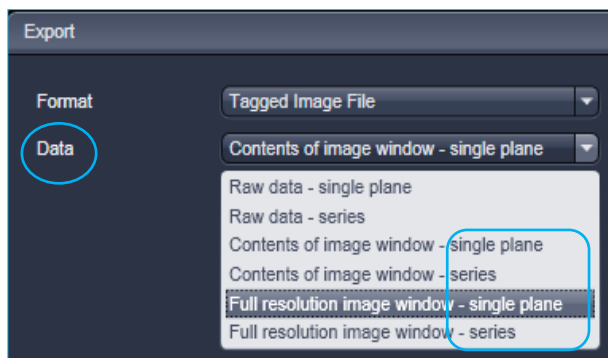


Format : 下拉選擇欲存檔之類型 (tif、jpg...) , 建議以tif檔儲存,減少壓縮損失,亦可儲存serial section 成動畫影片檔(.avi)

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。

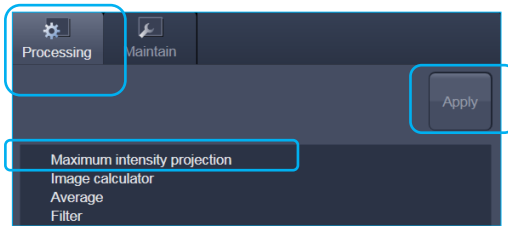
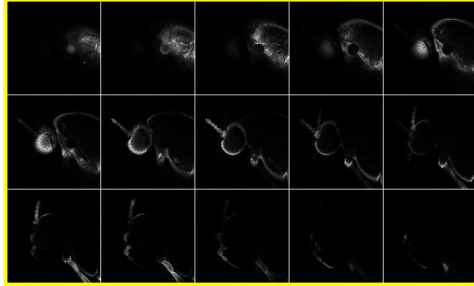
Taiwan Instrument Company, 余雅倩

16

11. 把多張Z section疊成一張



製造全景深影像: maximum intensity projection



Taiwan Instrument Company, 余雅倩

17

12. 測量intensity



	Ch1-T1	Ch1-T2	Ch2-T3	Ch1-T4
Mean Intensity	21.43110	35.73841	13.27222	11.99404
Standard Deviat	39.98237	16.49261	14.60417	16.19562
Pixels	51700	51700	51700	51700
Area (um x um)	1634.86	1634.86	1634.86	1634.86

選擇工具框選區域



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



台灣儀器行

We make it visible.

Taiwan Instrument Company, 余雅倩

19