

一、开机

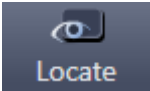
1. 打开电动载物台 SMC2009 开关；
2. 打开显微镜 Power Supply 开关和显微镜机身左侧开关按钮；
3. 若观察荧光，打开荧光激发光源 X-cite 的电源开关，显示屏显示累计使用时间，可根据需要自行调节其上的激发光强度档位。注意开关间隔不小于 30min。

二、观察方式

(一) 透射光 (TL) 观察 (光源: HAL)

1. 明场观察

- 1) 将聚光镜下方圆形转盘拨到"BF"处，并将物镜上方的荧光滤块转盘（触控屏  界面）调至 DIC 位；
- 2) 将机身右侧 TL 按钮打开或触控屏 TL 点击 On，适当调节其下方旋钮至合适光强；（前

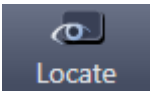
2 步中电动元件可以直接利用软件  界面下的快捷键 BF 完成）

- 3) 选择合适物镜观察样本，聚焦并调至视野中央。

2. 微分干涉 (DIC) 观察

首先确认哪一个物镜配置了 DIC：物镜上方插槽中是否插入 DIC 棱镜。

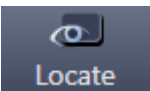
- 1) 将聚光镜下方圆形转盘拨到匹配的"II/III"处（标记的 2 或 3），并将物镜上方的荧光滤块转盘（触控屏  界面）调至 DIC 位；
- 2) 将机身右侧 TL 按钮打开或触控屏 TL 点击 On，适当调节其下方旋钮至合适光强；（前

2 步中电动元件可以直接利用软件  界面下的快捷键 BF 完成）

- 3) 选择合适物镜观察样本，聚焦并调至视野中央。

(二) 反射光/荧光 (RL) 观察 (光源: X-cite)

- 1) 根据样品的荧光染料类型，选择物镜上方荧光滤块转盘中对应的染料名称；
- 2) 将机身右侧 RL 按钮打开或触控屏 RL 点击 On，TL 关闭；

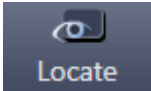
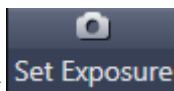
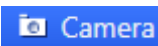
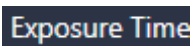
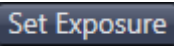
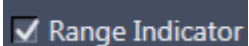
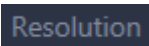
前 2 步可直接利用软件  界面下的染料快捷键 DAPI/GFP/Rhod 完成。

3) 选择合适物镜观察样本，聚焦并调至视野中央。

三、图像采集

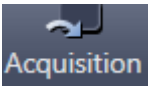
将显微镜上方拉杆调至相机采集档位，双击桌面“ZEN”蓝色图标，打开软件。

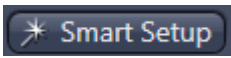
(一)单张图片采集

1. 在  界面下，点击  进行图像预览，点击  或者展开下方  蓝色对话框，在  一项中选择  进行自动测光，也可以手动输入曝光时间或者移动滑块调节；（可将图像下方  菜单中  前打勾以作曝光时间参考，红色代表过曝的点，注意如果荧光图片需要强度测量请保证图片不要过曝光。）
2. 预览速度一般选择 slow，并选择合适的  ；
3. 若选择相机的  模式，需要调节白平衡，有两种方法：1 将视野移至空白区域或将样品移出光路，点击 Automatic 进行自动白平衡 或者 2 找好视野后，先点击  ，然后点击  ，将鼠标移至预览图片上，此时鼠标变成采样符号，点击图片中的非样品区域，完成手动白平衡；推荐拍摄荧光图片选择相机 B/W 模式，此模式下不需调节白平衡。

4. 点击  完成拍图。
- 若为黑白模式 MRm 拍摄的荧光图像，在拍摄好的图片下方的  菜单下展开  框，选择  中相应的颜色。

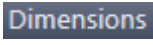
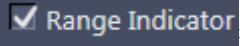
(二)多通道图片采集

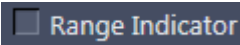
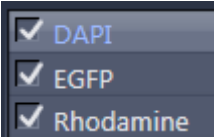
 界面下已设好几个常用设置选项，请依需选择。

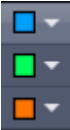
如不使用上述预设的实验设置方案，请选择  ，设计通道类型，点击  ，通道添加成功后将在  窗口下显示。

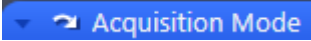
- 1、 点击  进行预览，在  下选择要预览的染料行，此行将高亮展示，

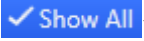
拖动下方  进行曝光时间的

调节（在预览图片下方的  窗口下  打勾，此时图片过曝的地方将以红色指示，一般调节到刚要有红点显示即可），依次手动调节好各通道曝光

时间后，  去掉勾，在要拍的通道前  打勾（如需修

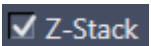
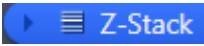
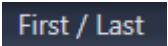
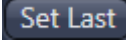
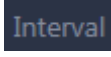
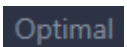
改颜色，展开后方  选择颜色），点击  完成拍图；

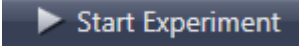
- 2、 相机其他参数调节如白平衡等在  窗口下，按照前面所说的单张图片采集方法完成调节即可。

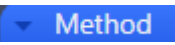
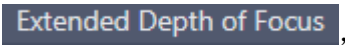
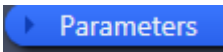
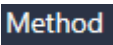
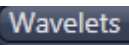
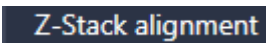
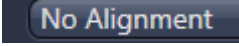
（注意：各蓝色对话框上的  前面打勾，以使所有功能展示。）

(三)Z 轴序列图片采集及景深扩展

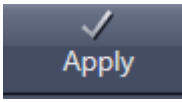
1. 按（二）多通道图片采集方法调节好各通道参数；

2.  前打勾，展开  对话框，  界面下 live 过程中通过调细焦调节旋钮，分别定义样品的上限和下限，到达上/下限后分别点击  / ，  代表层数，  代表 Z 轴的步进（层与层的间隔），一般选择 ，完成设置；

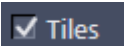
3. 结束预览，点击 ，完成 Z 轴序列图片采集；

4. 完成采集后，进入  界面，  对话框中 ，  对话框中  选择 ，  选择 。  对话框默认加入当前打开

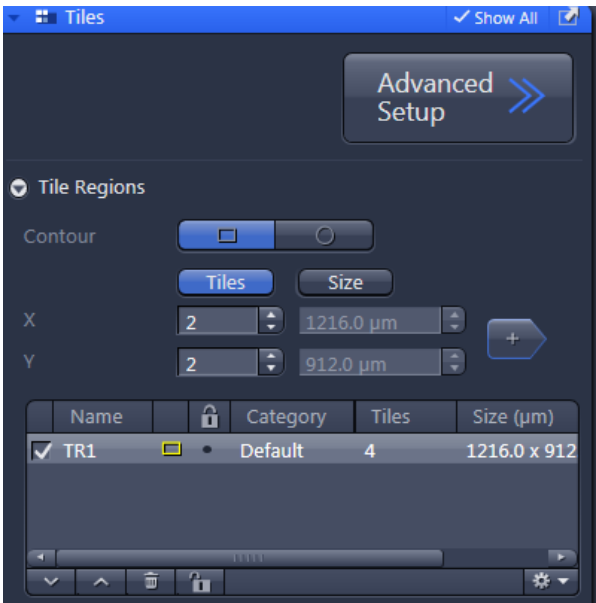
窗口图片（也可点击输入图片上的箭头更改图片）；

5. 点击  完成景深扩展。

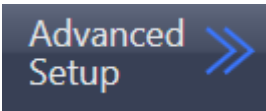
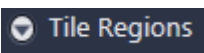
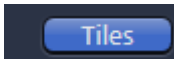
(四)自动拼图和多点采集

1.  界面下按单张/多张图片采集方法设好拍摄参数后，将  打勾，展

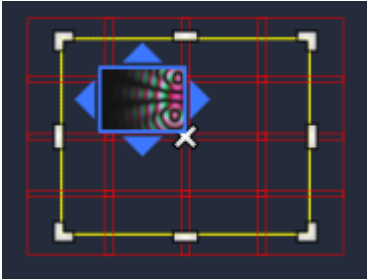
开  ，



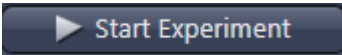
点 击

 ，进入预览界面， 下方设置  规格，

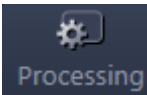
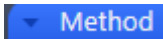
点 击  添加到预览图片中，根据实时预览图片，调整



的大小，直至完成目标区域的预览，点击



进行拼图。

2. 拼图完成后，要进行处理。 界面下，展开  ，选择

  **Geometric** -- **Stitching** , 展开  **Parameters** , 选择  **New Output** ,
 **Fuse Tiles** 打勾, 其他参数一般为默认;

3. 展开  **Input** 框确认输入图片是否为待处理图片, 点击  **Apply** 完成处理。
4. 拼图完毕若要进行图片的剪裁, 展开图片下方 **Graphics** 窗口,  选择感兴趣区域后
右键选择  **Create Subset Images from ROI** , 生成 ROI 图片。

- 由于拼图需要对载物台和相机的相对位置进行精确校正, 所以在显微镜操作过程中
不要碰撞载物台和随意拧动相机)

(各蓝色对话框上的  **Show All** 前面打勾, 以使所有功能展示。)

- ❗ **注意:** 各通道请使用同一相机模式拍图, 也不能将不同相机拍摄的同一视野图片进行
merge, 因为信息不同导致加标尺或 **merge** 错误。

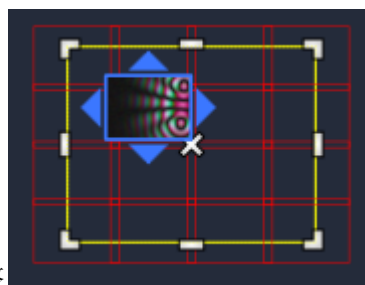
(五)多点采集

1.  **Acquisition** 界面下按单张/多张图片采集方法设好拍摄参数后, 将  **Tiles** 打勾, 展
开  **Tiles** , 展开  **Positions** , 移动载物台  **Current Position** 选择  添加所
需要采集视野的坐标;
2. 点击  **Start Experiment** 进行多点采集。

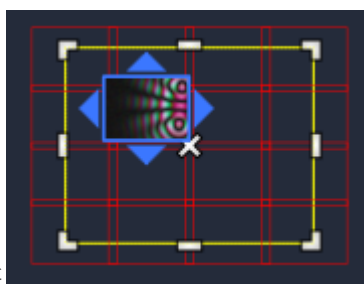
(四) 和 (五) 可以一起设定, 在一个实验流程中完成拼图和多点的采集。

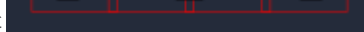
(六)Z 轴序列+拼图

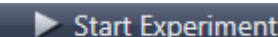
1. 进入软件  **Acquisition** 界面, 将  **Z-Stack** 和  **Tiles** 打勾;
2. 选择低倍物镜, 先按照(一)单张/多张图片采集方法设好拍摄参数后, 展开
 **Z-Stack** 对话框, 在其  **First / Last** 界面下设定样品的上下限;

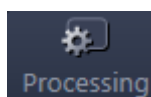


3. 展开  Tiles，根据实时预览图片，调整  的大小；
4. 将放大倍数调高所需拍摄倍数，可发现上一步骤中的红色框定区域数目随所调倍数实时

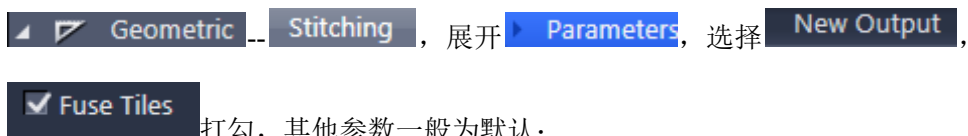


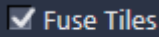
变大，可再次根据实时预览图片，调整  的大小；

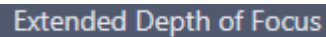
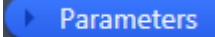
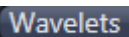
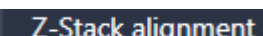
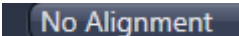
6. 再次展开  Z-Stack 对话框，Interval 一般选择 Optimal，完成设置；
7. 点击  进行采集；

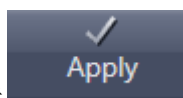


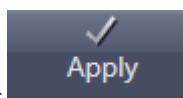
8. 采图完成后，要进行处理。Processing 界面下，展开  Method，选择

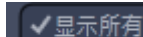


 Fuse Tiles 打勾，其他参数一般为默认；

9. 在新生成的拼接图片窗口，Processing 界面下  Method 对话框中选择  Extended Depth of Focus， Parameters 对话框中 Method 选择  Wavelets， Z-Stack alignment 选择  No Alignment（默认值）。



10. 点击 ，完成图片处理。

（注意：各蓝色对话框上的  显示所有 前面打勾，拍摄图片下方的  显示所有 之前打勾，以使所用功能展示。）

四、图像处理及优化

1. 加标尺

在图像下方 **Graphics** 菜单栏中选择 **Scale Bar** 将自动添加标尺，双击



空白区域，可在弹出的对话框中对标尺及字体的粗细、线型及颜色进行调节等。

2. 标注及测量

展开 **Graphics** 菜单栏，在  里选择所用的工具类型，若需更多的工具类型点击 **Customize**，展开 **Customize Tools** 对话框，选择更多的工具。

◆ 自定义测量工具的测量参数

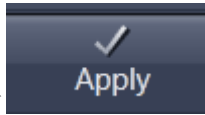
进入软件 **Analysis** 界面，展开 **Interactive Measurement**，第一行 **Feature Set** 中选择 **Define**，**Feature Selection** 中的 **Selected Features** 显示该工具目前包含的测量参数，若想加入更多的测量参数，请从后方参数框中选择并双击加入，若想删除测量参数，选中该参数后点击下方  完成删除。注意：**Display** 显示中对应的勾打与不打表示该测量参数在图片中显示与否。

3. 图库功能

若将多通道图像合成一张 2D 图，选择图片左侧标签栏中的 **Gallery**，此时图像下方工具栏中会出现 **Gallery Tools**，选择 **Create image from** **Gallery View** **Create** 的 **新建**，则生成一个新图片窗口。 **Gallery Appearance** 下方工具可依需调节图之间的间隔及背景。

4. 多个单通道图像手动 merge

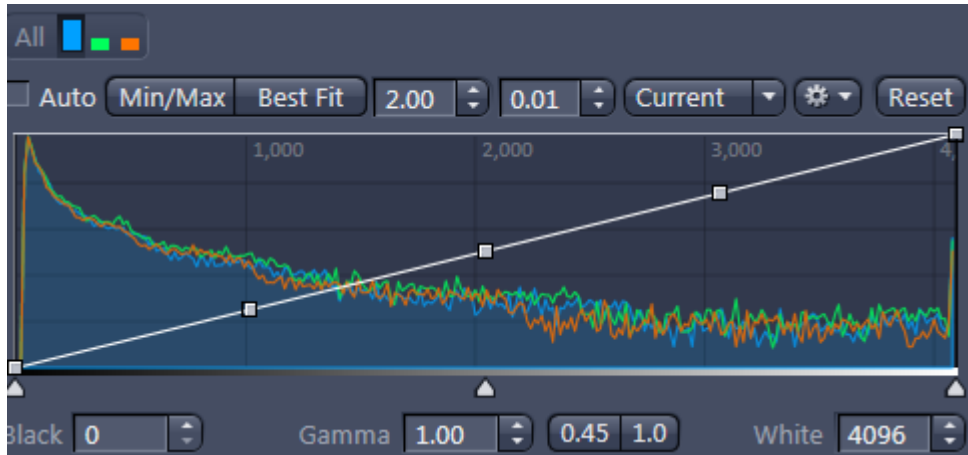
在 **Processing** 界面下 **Search** **add channels**，其下方工具栏 **Add Channels** 将以高亮显示，展开下方 **Input** 蓝色框，有 2 个图片添加框，其中第一个添加框默认加入当前展开图片，也可以点击右下角箭头以更改图片，同样在第二个添加框中加入需 merge 图片。



点击上方完成叠加。此法只能对两张图像进行 merge，若>2 张，需在 merge 图片的基础上再进行叠加。

5. 图像优化

拍好图片下方展开如下窗口



拖动图中白线来依次调节图片的亮度、对比度等。荧光推荐 Gamma 值为 1.0。

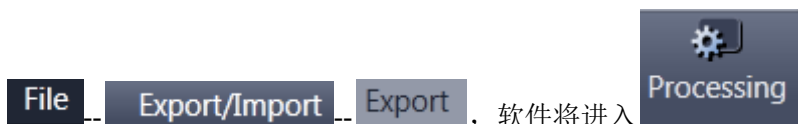
五、保存及导出

1. 保存

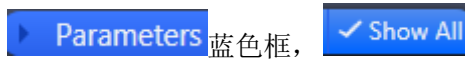


，推荐选择保存类型为 czi 格式，该格式包含了此图片的原始信息。

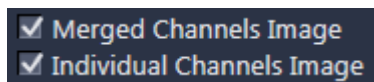
2. 导出



，软件将进入 Processing 界面，展开



蓝色框，前打勾，选择 Filetype 即导出文件类型，若导出图片需加有注释或标尺，务必在 ☒ Burn-in Graphics 前打勾，注意多通道图片导出时

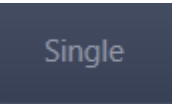
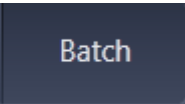
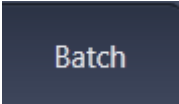
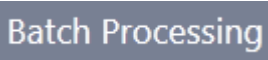


选择的区别，选择导出路径 Export to ，如需要为导出图

片单独设立文件夹需在 ☒ Create folder 前打勾， Prefix 一栏中输入导出图像名称，点



击完成导出；

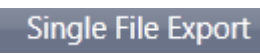
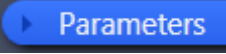
- 如需要**批量导出**，点击   的 ，软件主界面显示  进入批处理功能。（注意此方法只能适用于已保存的图片。）

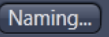
S	Consistent	File Name	Size	Method	Output Name	Output Storage Path
Select function first; Add Files by pressing the '+' button.						
^	v	+ Add...	- Remove	Remove All	Load List...	Save List...

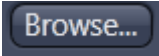
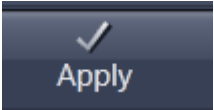
选择  添加需要批处理的图片，图片将依次加入上方表格中，

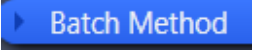
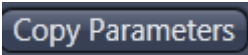
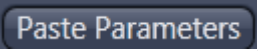
S	Consistent	File Name	Size	Method	Output Name	Output Storage Path
?		C:\Users\Public\Pictures\Sa...	298.37 kB	Change Scaling		C:\Users\Public\Picture...
?		C:\Users\Public\Pictures\Sa...	26.26 kB	Change Scaling		C:\Users\Public\Picture...
?		C:\Users\Public\Pictures\Sa...	581.33 kB	Change Scaling		C:\Users\Public\Picture...
^	v	+ Add...	- Remove	Remove All	Load List...	Save List...

单击选中其中一行，此行将高亮显示，在左侧  中选择所需的方法，

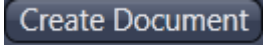
以选择  为例，展开 ，类似单张图像导出方法完

成设置。点击表格上方    中的

 为图像选择导出路径。其他行按此方法操作。最后点击  导出。

若对其他的图片进行相同的  操作，按 ctrl+A 或 shift+ 完成多选，统一选择批处理方法后，单击其中一行，设好参数，若对其他图片进行同样的参数设置，请选择已设好参数的一行，点击 ，再选择需要用相同参数的图像（点击 shift 进行多选），再点击  完成参数复制。如果需要相同的导出路径，选中多行后点击表格上方  为图像统一选择导出路径。选择  完成批量导出。

3. 测量数据的保存

选择图像左侧菜单中的 ，图像下方将展开  一栏，点击 ，测量数据表格将在新窗口界面展开，在此界面上选择  --

 Save /  Save As..., 选择文件保存类型为 xml 格式（可用 excel 打开），完成数据导出。

六、关机

- 1、关闭软件。
- 2、关闭荧光激发光源 X-cite 的开关。（注意开关间隔）
- 3、关闭电动载物台开关；
- 4、关闭显微镜 power supply 开关。

安全注意及保养

1. 物镜使用

(1) 切换物镜应遵循从低到高的原则；

(2) 在使用物镜拍摄时，避免聚焦的速度太快或更换样品而使样品与物镜碰撞损坏物镜；

(3) 显微镜使用结束后，应该调高显微镜物镜与载物台距离，物镜切换到低倍物镜下；

2. 测量的计算机不要使用很多 U 盘去拷贝数据，建议使用专门的 U 盘拷贝数据或者使用光盘刻录数据，以免电脑中毒；

3. 平时注意周围环境灰尘，使用完显微镜以后待卤素灯箱冷却后一定要盖上防尘罩；

4. 所有（功能）切换，动作要轻，要调节到位，以免影响显微镜的正常工作。

5. 不要用手直接触摸光学部件的表面（如物镜，模块，目镜等），以免留下手指印在上面，影响观察效果。

6. 关机或者暂时离开显微镜时要将亮度调到最小，并关闭预览窗口。

7. 实验室温度应保持在 $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，湿度 40%-60%；

8. 实验室内要求保持洁净、干燥、通风良好，工作台无震动并远离震源。

9. 实验室的电压为 $220\text{V} \pm 10\%$ 、50Hz，电源应稳定，要有良好的接地保护，建议单独配置稳压电源。

10. ZEISS 显微镜应有专人负责保管，应配置显微镜使用记录，以此及早发现问题，以免延误维修的时间，造成不必要的损失。