



陕西师范大学
SHANXI NORMAL UNIVERSITY

研究生教育教学改革研究项目
(研究生优质课程项目)

生物实验室安全及大型仪器应用

激光共聚焦显微镜技术

主讲教师 李忠岐

生命科学学院实验教学中心





1

激光扫描共聚焦显微镜的发展历史

2

激光扫描共聚焦显微镜的结构

3

激光扫描共聚焦显微镜工作原理

4

激光共聚焦显微镜使用操作方法

激光扫描共聚焦显微镜的发展历史

传奇的认知科学家和人工智能先驱

Marvin Minsky

1957年，Marvin Minsky提出了共聚焦显微镜技术的某些基本原理，获得了美国的专利。





激光扫描共聚焦显微镜的发展历史

- ◆ 1967年，Egger和Petran成功地应用共聚焦显微镜产生了一个光学横断面。
 - ◆ 1977年，Sheppard和Wilson首次描述了光与被照明物体的原子之间的非线性关系和激光扫描器的拉曼光谱学。
 - ◆ 1984年，Biorad为公司推出了世界第一台商品化的共聚焦显微镜，型号为SOM-100，扫描方式为台阶式扫描。
 - ◆ 1986年MRC-500型改进为光束扫描，用作生物荧光显微镜的共聚焦系统。
 - ◆ 1987年White和Amos在英国《自然》杂志发表了“共聚焦显微镜时代的到来”一文，标志着LSCM已成为进行科学研究的重要工具。
 - ◆ 随后Zeiss、Leica、Meridian、Olympus等多家公司相继开发出不同型号的共聚焦显微镜，产品的性能不断改进和更新，应用的范围也越来越广。
-



激光扫描共聚焦显微镜的发展历史

目前激光共聚焦显微镜的发展类型：

- ◆ 高分辨与超高分辨率激光共聚焦显微镜
 - ◆ 转盘式激光共聚焦显微镜
 - ◆ 双光子激光共聚焦显微镜
 - ◆ 白激光共聚焦显微镜
 - ◆ 激光共聚焦显微镜+扫描电镜结合
-



激光扫描共聚焦显微镜的发展历史

激光扫描共聚焦显微镜的发展背景

激光扫描共聚焦显微镜（Laser scanning confocal microscope）是20世纪80年代中期发展起来并得到广泛应用的高新技术，它是激光、电子摄像和计算机图像处理等现代高科技手段与传统的光学显微镜结合产生的先进的细胞分子生物学分析仪器，在生物及医学等领域的应用越来越广泛，已经成为生物医学实验研究的必备工具。

传统荧光显微镜使用荧光物质标志细胞中的特定结构，不仅图像与背景的对比如增强，而且由于许多荧光显微镜的光源使用短波长的紫外光，大大提高了分辨率($\delta=0.61 \cdot \lambda/NA$)。缺点：

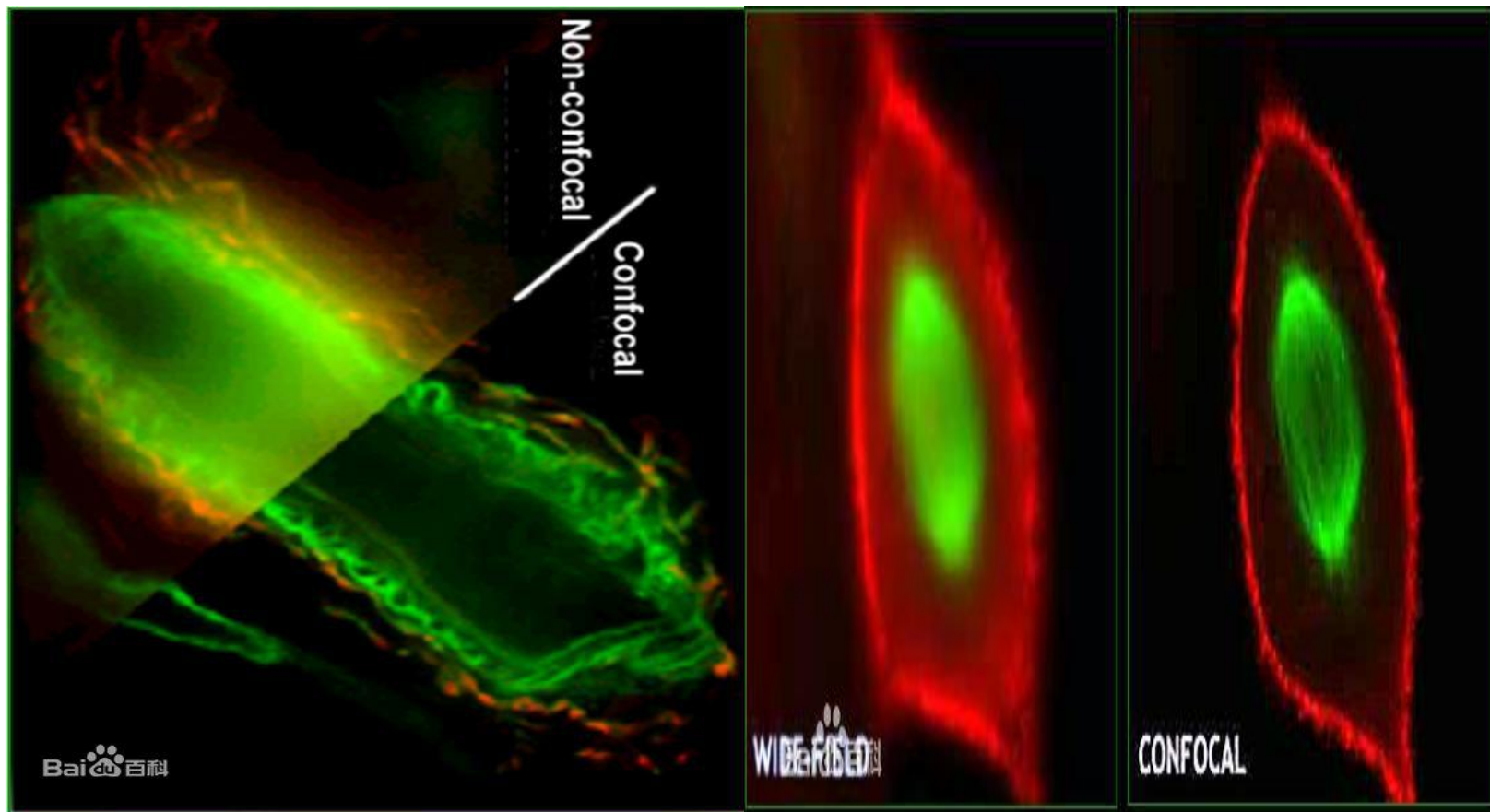


激光扫描共聚焦显微镜的发展历史

- ❖ **1、** 观察的荧光标本稍厚时，焦平面以外的荧光结构模糊、发虚，分辨率大大降低。原因是假若荧光标记的结构在不同层次上都有分布，且重叠在一起，荧光显微镜不仅从焦平面上收集光量，而且来自焦平面上方或下方的散射荧光也被物镜所接收
 - ❖ **2、** 荧光具有强散射性，造成图像实际清晰度不高
 - 3、** 荧光漂白很快，荧光图像的拍照有困难
 - 4、** 若荧光滤片选配不当，多荧光标记样品易形成光谱交叉，图像串色现象。
-

激光扫描共聚焦显微镜的发展历史

共聚焦与普通荧光显微镜图像对比





激光扫描共聚焦显微镜的发展历史

激光扫描共聚焦显微镜是在传统光学显微镜基础上用激光作为光源（方向性好，单色性好，亮度高，偏振性，光谱不连续性），采用共轭聚焦原理和装置（图像清晰度高），并利用计算机对所观察的对象进行数字图像处理观察、分析和输出。其特点是可以对样品进行断层扫描成像（轴向和侧向分辨率高），观察和分析细胞的三维空间结构。不仅可观察固定的细胞、组织切片,还可以对活细胞的结构、分子、离子及生命活动进行实时动态观察和检测，是形态学、分子细胞生物学、神经科学、药理学、遗传学等领域中新一代强有力的研究工具，极大地丰富了人们对细胞生命现象的认识。



激光扫描共聚焦显微镜的发展历史

激光扫描共聚焦显微镜的局限性

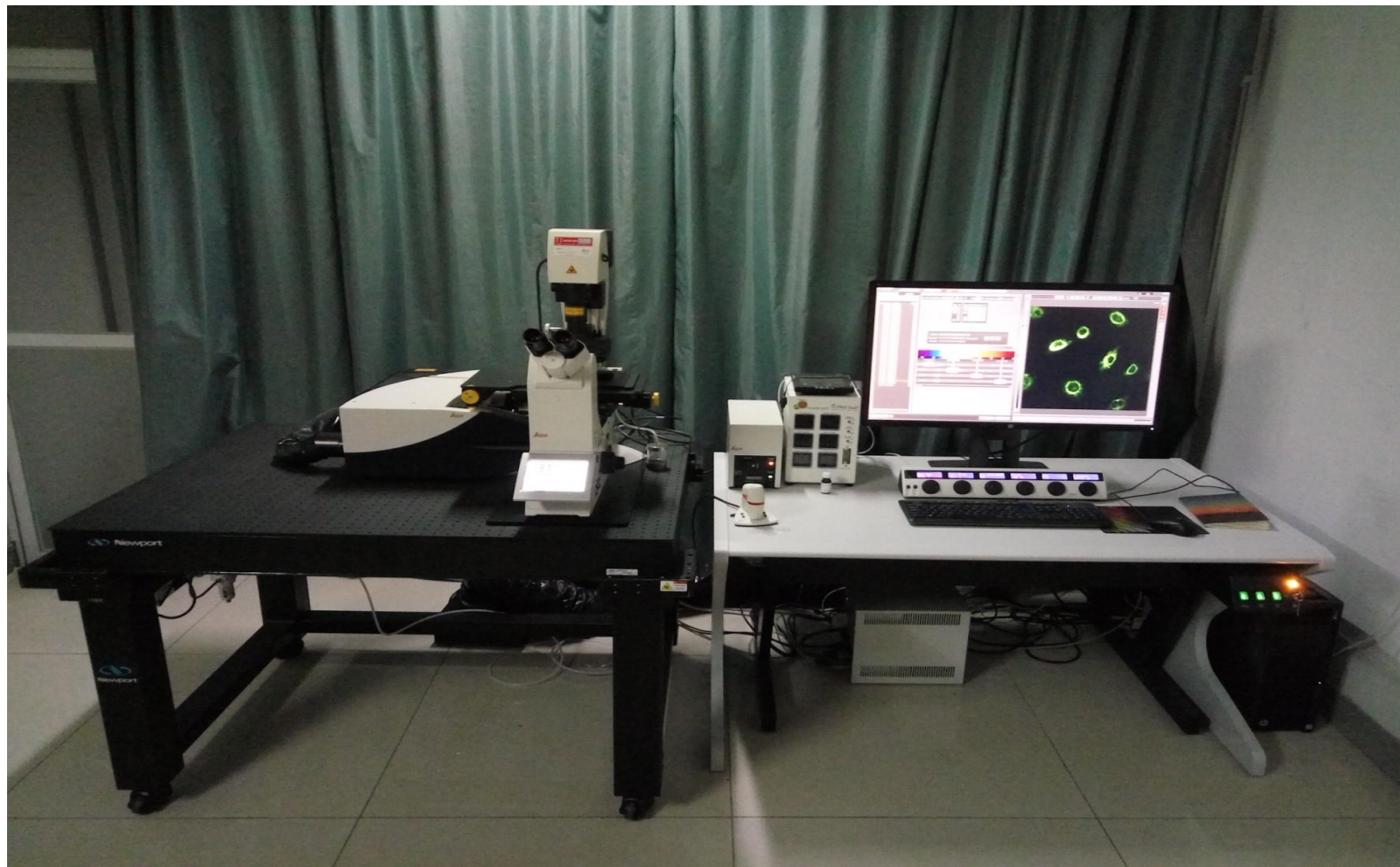
1、标记染料的光漂白：

为了获得足够的信噪比必须提高激光的强度；而高强度的激光会使染料在连续扫描过程中迅速褪色

2、光毒作用：

在激光照射下，许多荧光染料分子会产生单态氧或自由基等细胞毒素。

Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜的结构



Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜的结构

激光扫描共聚焦显微镜主要由以下几部分组成：

1、激光光源

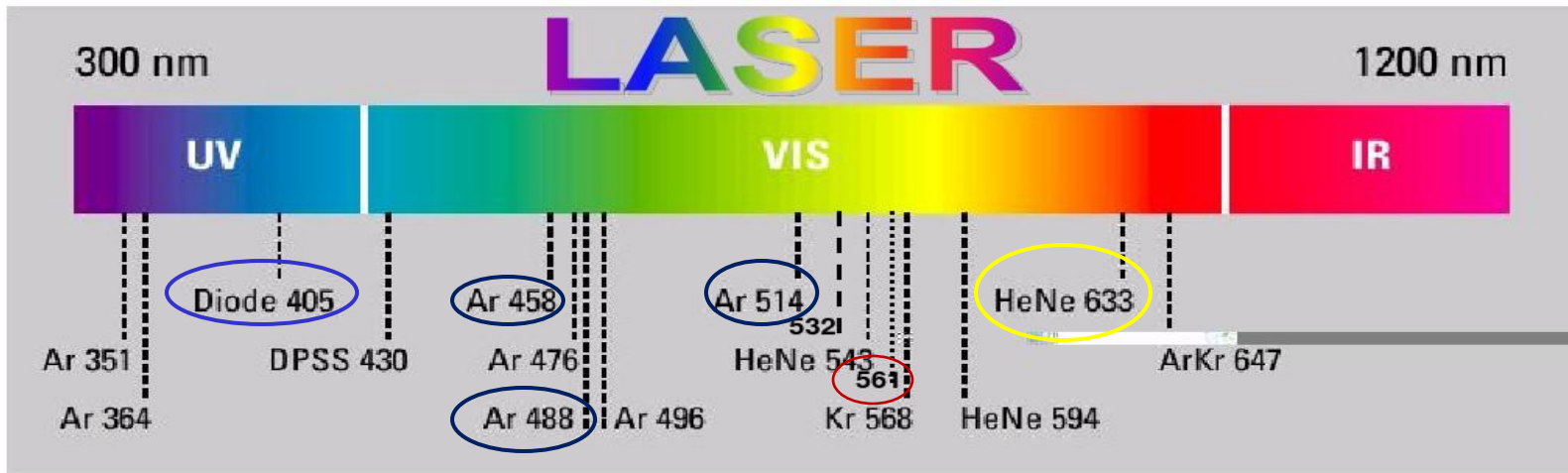


Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜的结构



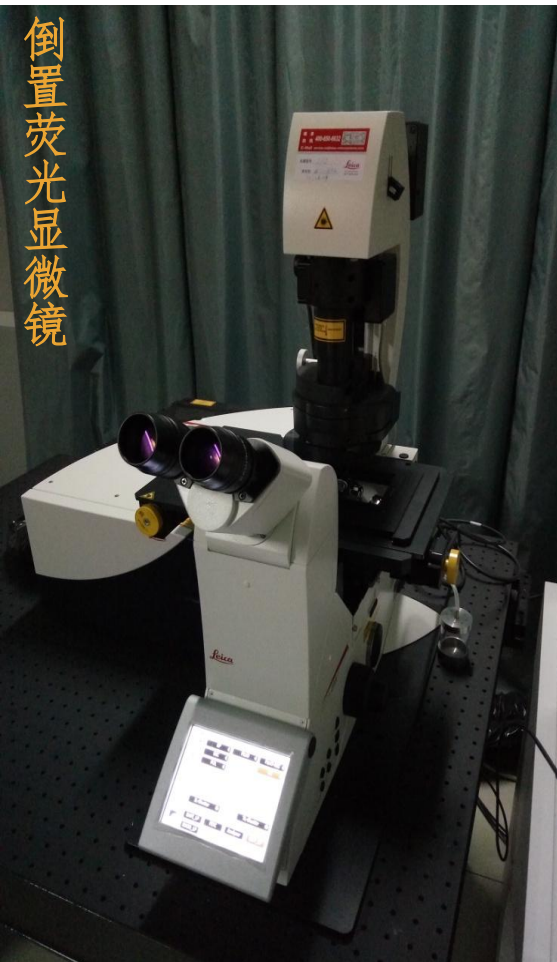
Living up to Life

激光



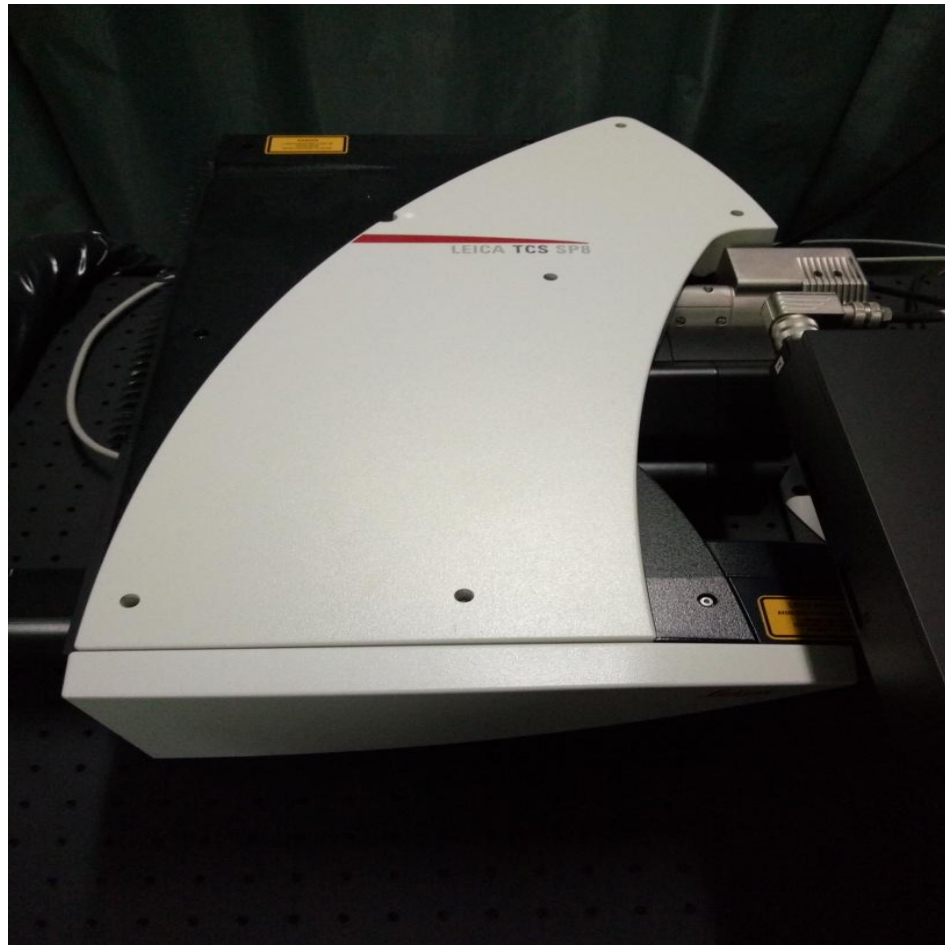
Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜的结构

2、荧光显微镜系统



Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜的结构

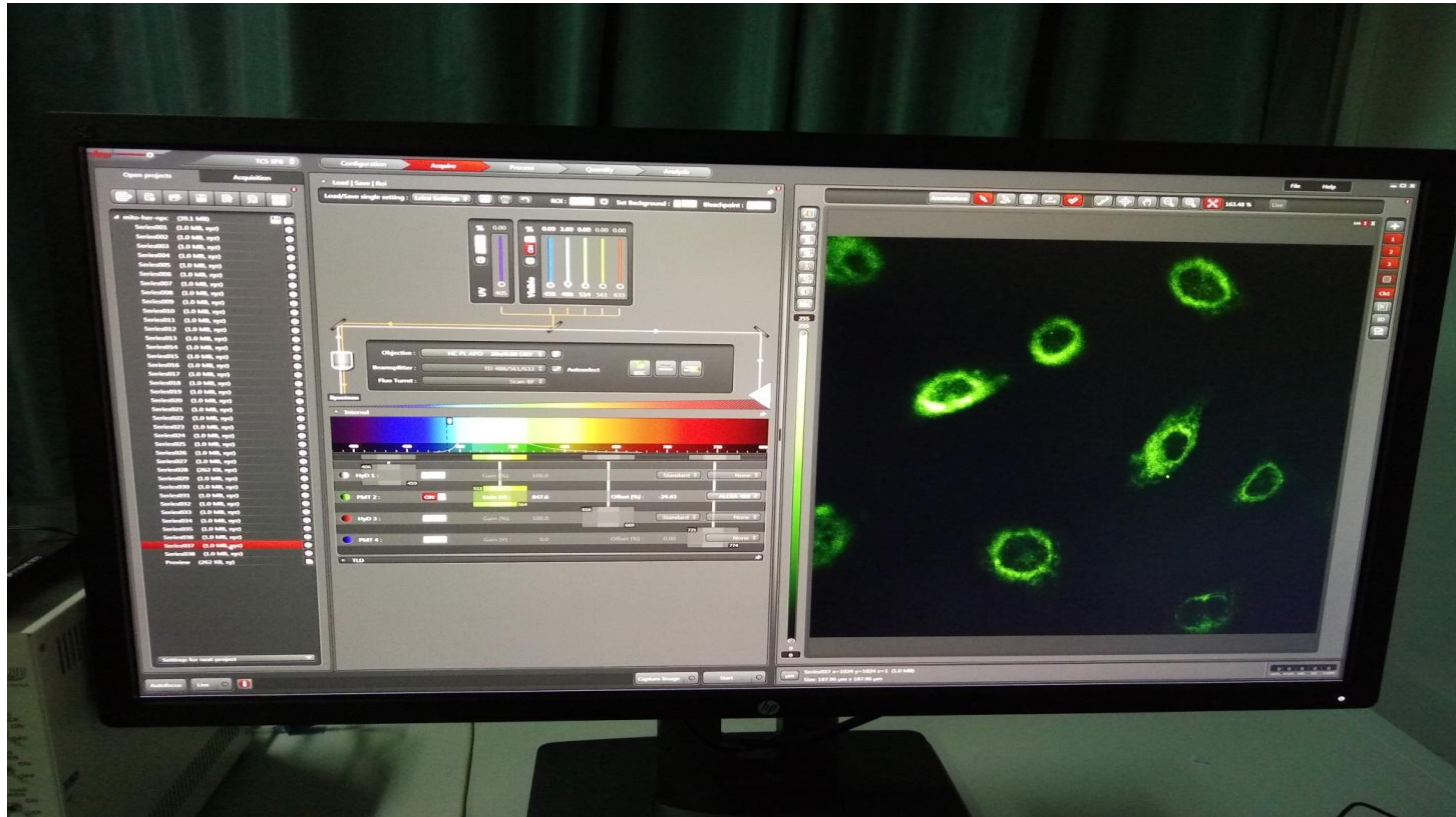
3、扫描与检测器（针孔光栏、分光镜、发射荧光单色器和检测器）



Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜的结构

4、光学装置

5、计算机存储和处理及控制系统



Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜的结构



Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜的结构

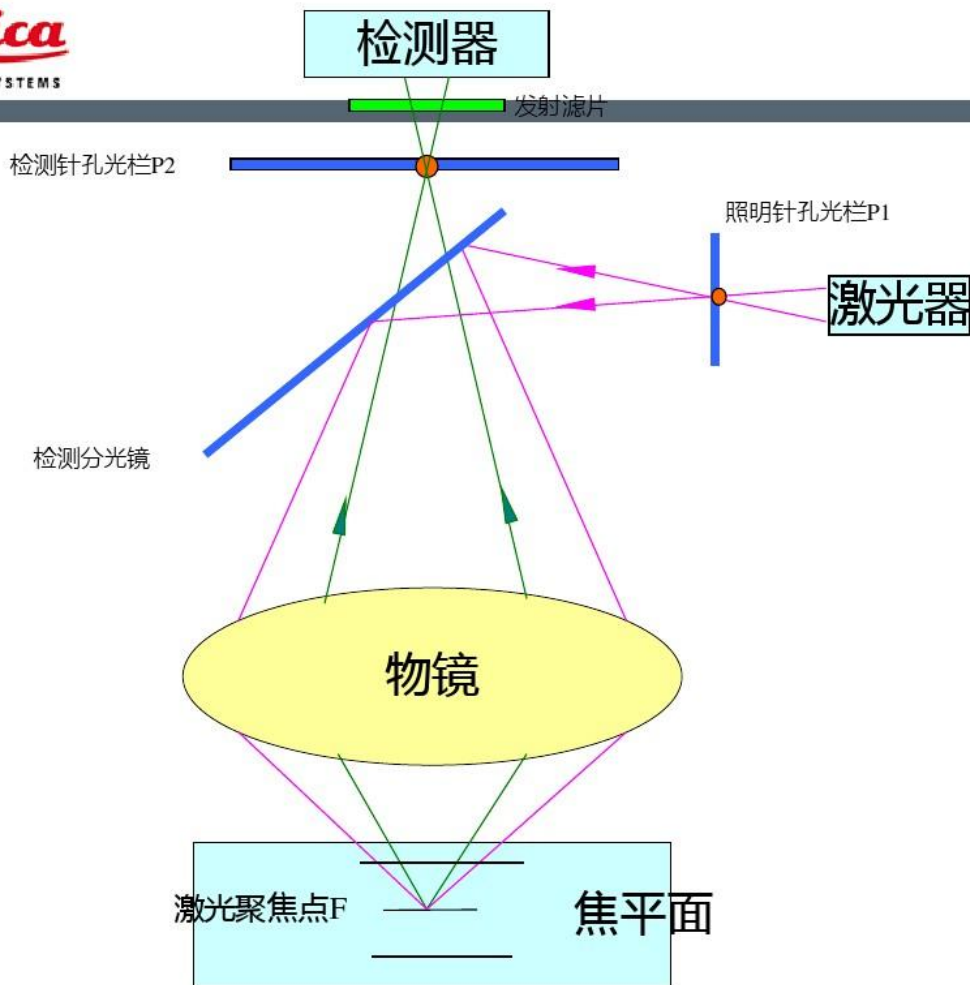
细胞孵育箱



Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜工作原理

Leica
MICROSYSTEMS

Living up to Life



由激光器发射的一定波长的激发光（点光源），由物镜聚焦于样品的焦平面上，样品上相应的被照射点受激发而发射出的荧光，通过检测针孔光阑后，到达检测器并成像。这样由焦平面上样品的每一点的荧光图像组成了一幅完整的共焦图像，称为光学切片。在激光扫描过程中，某一瞬间只有焦平面上的被扫描点同时聚焦于照明针孔光阑和检测针孔光阑并被检测器记录，



Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜工作原理



激光扫描共聚焦显微镜技术

Living up to Life

原理小结:

Confocal 利用放置在光源后的**照明针孔**和放置在检测器前的**探测针孔**实现**点照明**和**点探测**，来自光源的光通过照明针孔发射出的光聚焦在样品焦平面的某个点上，该点所发射的荧光成像在探测针孔内，该点以外的任何发射光均被探测针孔阻挡。照明针孔与探测针孔对被照射点或被探测点来说是共轭的，因此被探测点即为**共焦点**，被探测点所在的平面即为**共焦平面**。计算机以像点的方式将被探测点显示在计算机屏幕上，为了产生一幅完整的图像，由光路中的扫描系统在样品焦平面上**扫描**，从而产生一幅完整的共焦图像。只要载物台沿着Z轴上下移动，将样品新的一个层面移动到共焦平面上，样品的新层面又成像在显示器上，随着Z轴的不断移动，就可得到样品不同层面连续的光切图像。

Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜工作原理



激光扫描共聚焦显微镜技术

Bringing up to Life

- 分辨率

- 1. 光学分辨率

- 只与物镜的数值孔径NA和检测波长有关

- xy分辨率比传统显微镜小1.4x

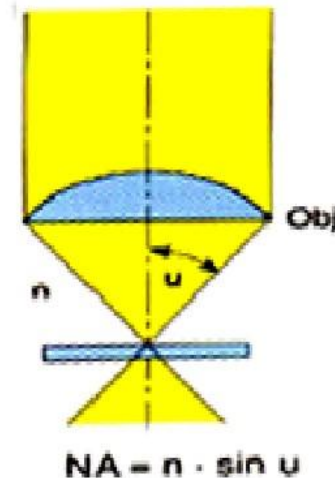
- 传统显微镜: $R_{xy} = 0.61\lambda / NA$ (0.25 μm)

- Confocal: $R_{xy} = 0.4\lambda / NA$ (0.18 μm)

- 2. 采样分辨率

- 固定物镜倍率下, Zoom相同时, 无论采样密度大小, 采样面积是固定的。

- 理论上, 固定面积下, 采样密度越高, 即采样点越多, 图像越细腻。但是, 采样密度越高, 扫描一幅图像的速度越慢, 荧光强度越低, 样品也越容易被淬灭。



提高显微镜光学分辨率的方法：

- 1、降低波长 λ 值，使用短波长光源。
 - 2、增大介质 n 值以提高 NA 值（ $NA = n \sin u / 2$ ）。
 - 3、增大孔径角 u 值以提高 NA 值。
 - 4、增加明暗反差。
-

Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜工作原理



激光扫描共聚焦显微镜技术

Living up to Life

- 图像亮度
 1. 与物镜NA有关。

物镜镜像亮度与数值孔径的平方呈正比，与总放大率的平方呈反比。

$$L = NA^2 / M^2$$
，NA大小相同，倍率越高，镜像亮度越低
 2. 与pinhole大小有关。 $M^2 = (M_1 \times M_2)^2$

Pinhole大小的选择
理论上，最佳Pinhole=Airy Disk=1
 3. 与激发光强度有关。
 4. 与接受发射荧光波长的带宽有关

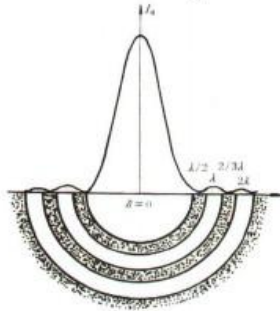
Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜工作原理



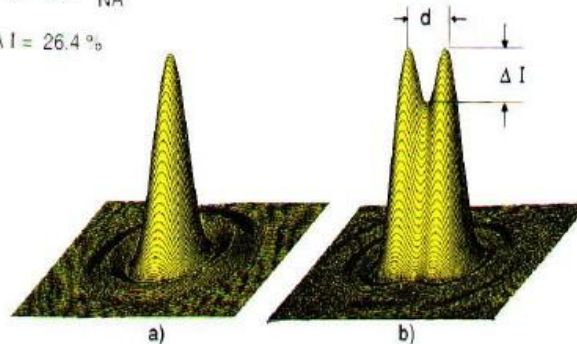
Living up to Life

激光扫描共聚焦显微镜技术

- **Pinhole**（探测针孔）大小影响：
 - 1) 图像的亮度
 - 2) 光学切片的厚度
- **Pinhole**大小的选择
理论上，最佳**Pinhole = Airy Disk = 1**



$$d = 0.61 \cdot \frac{\lambda}{NA}$$
$$\Delta I = 26.4\%$$



实际上，应根据样品标记的实际情况来选择**Ph**的大小。



Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜工作原理

激光扫描共聚焦显微镜测样的两个重要参数：最大激发光波长和发射光波长

1、荧光的概念：

- ❖ 某些物质被一定波长的光照射时，会在较短时间内发射出波长比入射光长的光（入射光的一部分能量被该物质吸收，使得发射出来的光较原来的光能量低、波长长），这种光就称为荧光。
-

2、荧光的产生

- ❖ 光照射到某些原子时，光的能量使原子核周围的一些电子由原来的轨道跃迁到了能量更高的轨道，即从基态跃迁到第一激发单线态或第二激发单线态等。第一激发单线态或第二激发单线态等是不稳定的，所以会恢复基态，当电子由第一激发单线态恢复到基态时，能量会以光的形式释放，所以产生荧光。
-

Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜工作原理

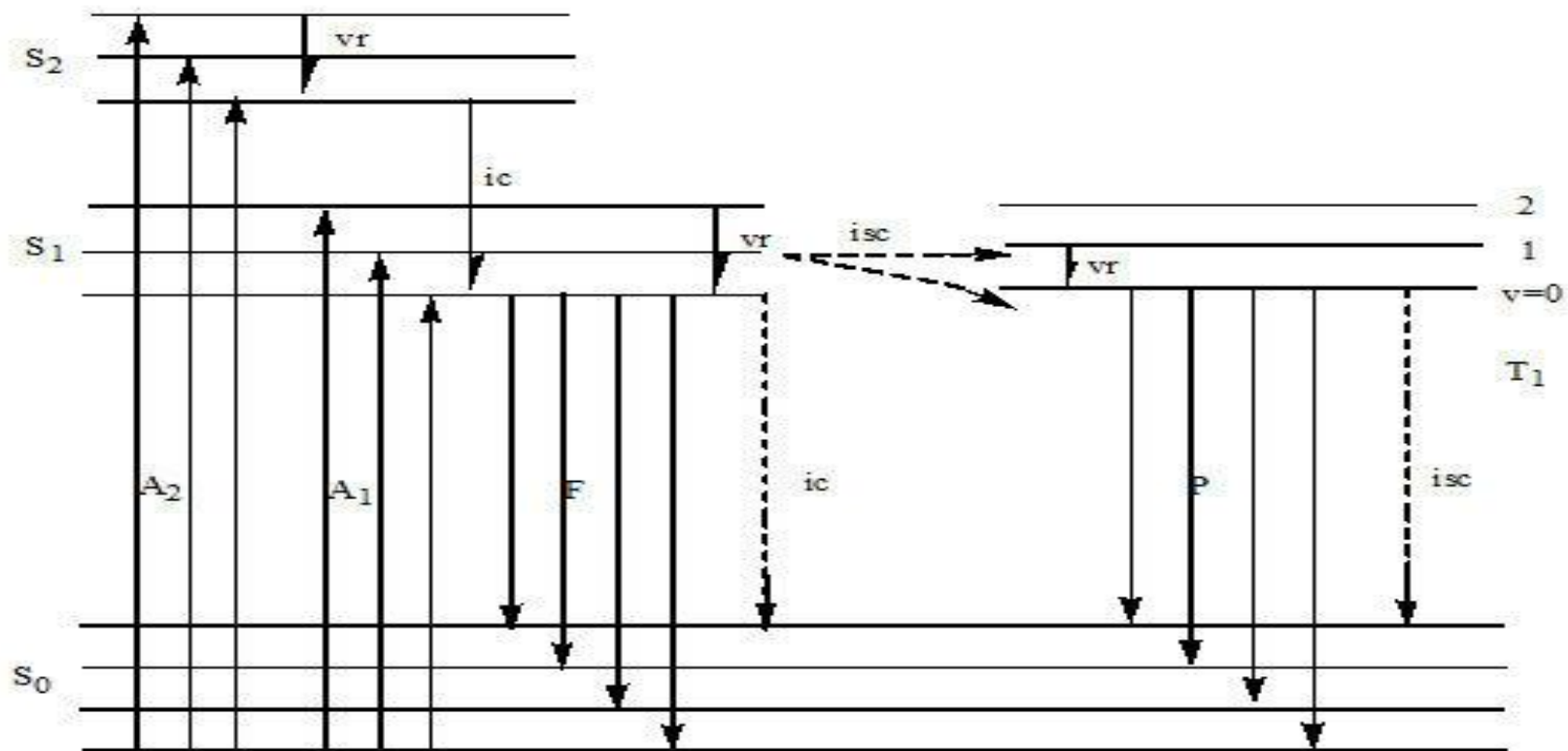


图 1-1 荧光的产生

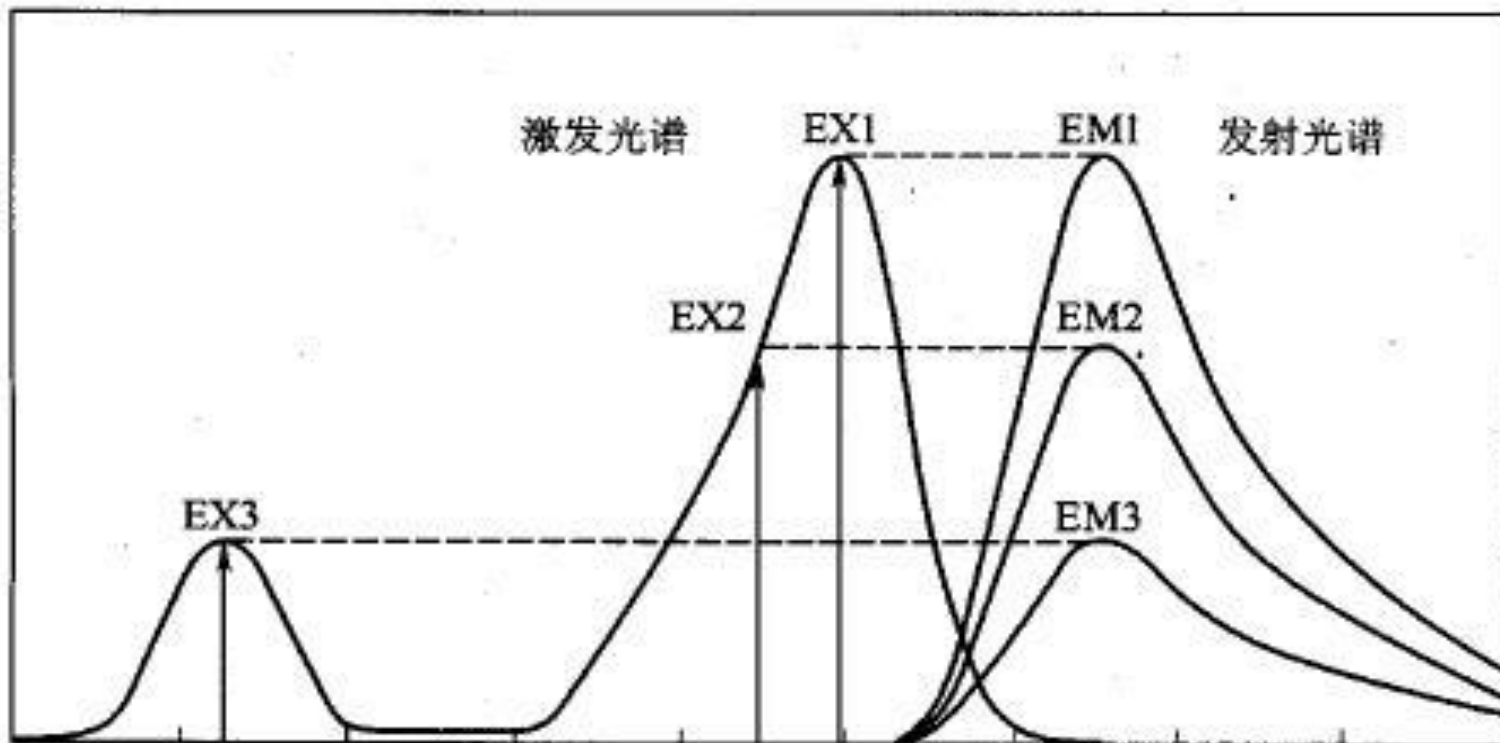
F: 荧光; P: 磷光; A_1, A_2 : 吸收; ic: 内转换;

isc: 系间串跃; vr: 振动松弛

Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜工作原理

3、激发光谱与发射光谱

吸收强度越大，被激发到高能级的粒子数越多，则向下跃迁产生的荧光越强

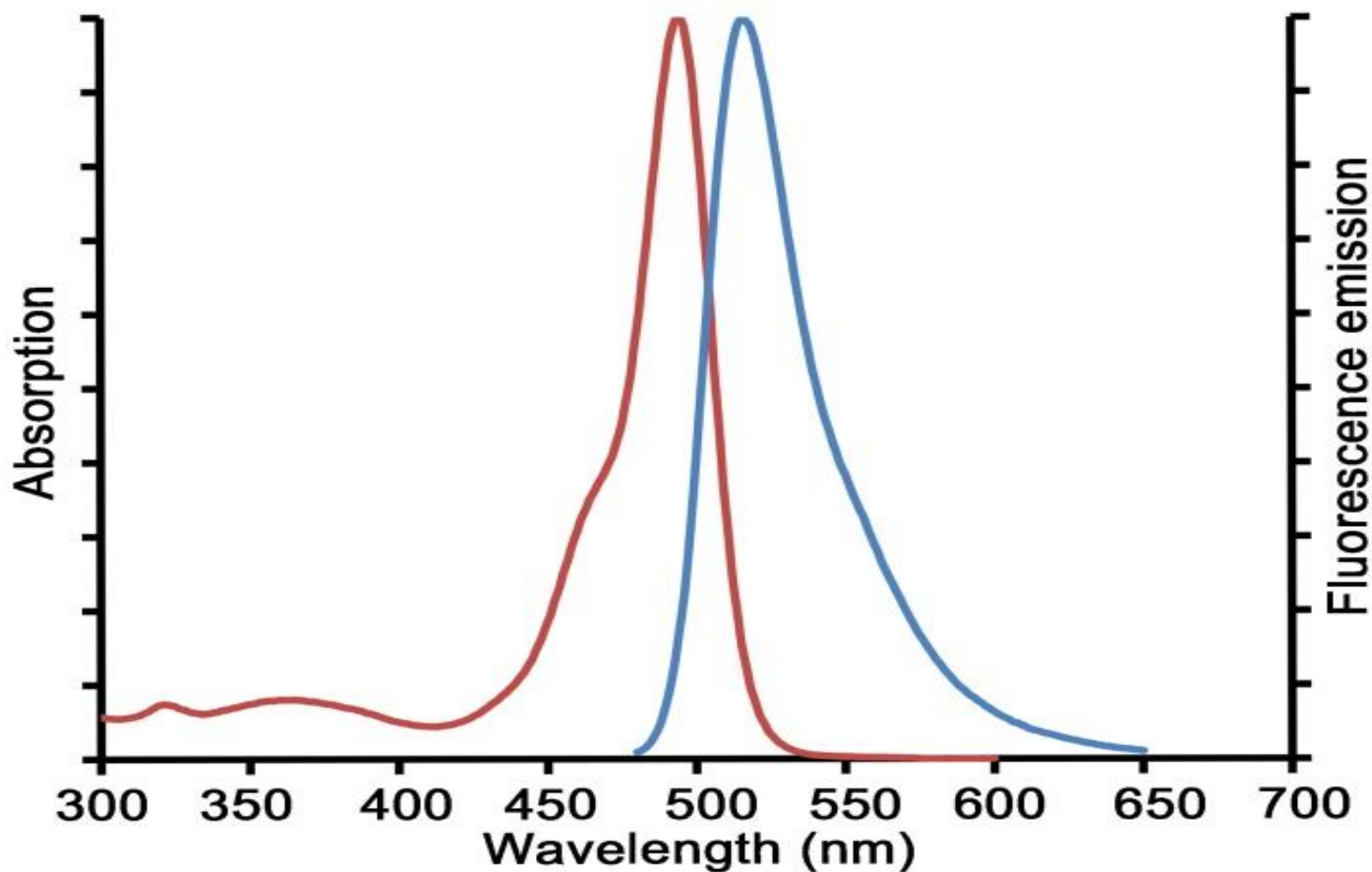


荧光探针激发与发射波长 Stokes 位移示意

Leica SP8型激光扫描共聚焦显微镜工作原理

钙离子浓度探针: **Fluo-4 AM**

最大激发波长**494nm**, 最大发射波长**516nm**





样品要求

- ❖ 1、样品经荧光探针标记；
 - ❖ 2、固定的或活的组织；
 - ❖ 3、固定的或活的贴壁培养细胞应培养在**Confocal**专用小培养皿或盖玻片上；
 - ❖ 4、悬浮细胞，甩片或滴片后，用盖玻片封片；
 - ❖ 5、载玻片厚度应在**0.8~1.2mm**之间，盖玻片应光洁，厚度在**0.17mm**左右
 - ❖ 6、标本不能太厚（**1-2mm**），如太厚激发光大部分被消耗，而物镜直接观察到的部位不能被充分激发；
 - ❖ 7、尽量去除非特异性荧光信号；
 - ❖ 8、封片剂多用甘油：**PBS混合液（9：1）**
-



激光扫描共焦显微镜的应用

- 1、形态结构观察：**在不损伤细胞的前提下对活的组织、细胞或者细胞器的形态结构进行观察，这种功能对于细胞培养、转基因研究尤为重要。这可以说是L S C M最大的优势
 - 2、细胞物理化学测定：**对细胞形状、周长、面积、平均荧光强度等参数进行测定；对细胞的溶酶体、线粒体、内质网、细胞骨架、结构性蛋白质、**DNA**、**RNA**、酶和受体分子等细胞内特异结构的含量、组分及分布进行定量、定性、定位测定。
-

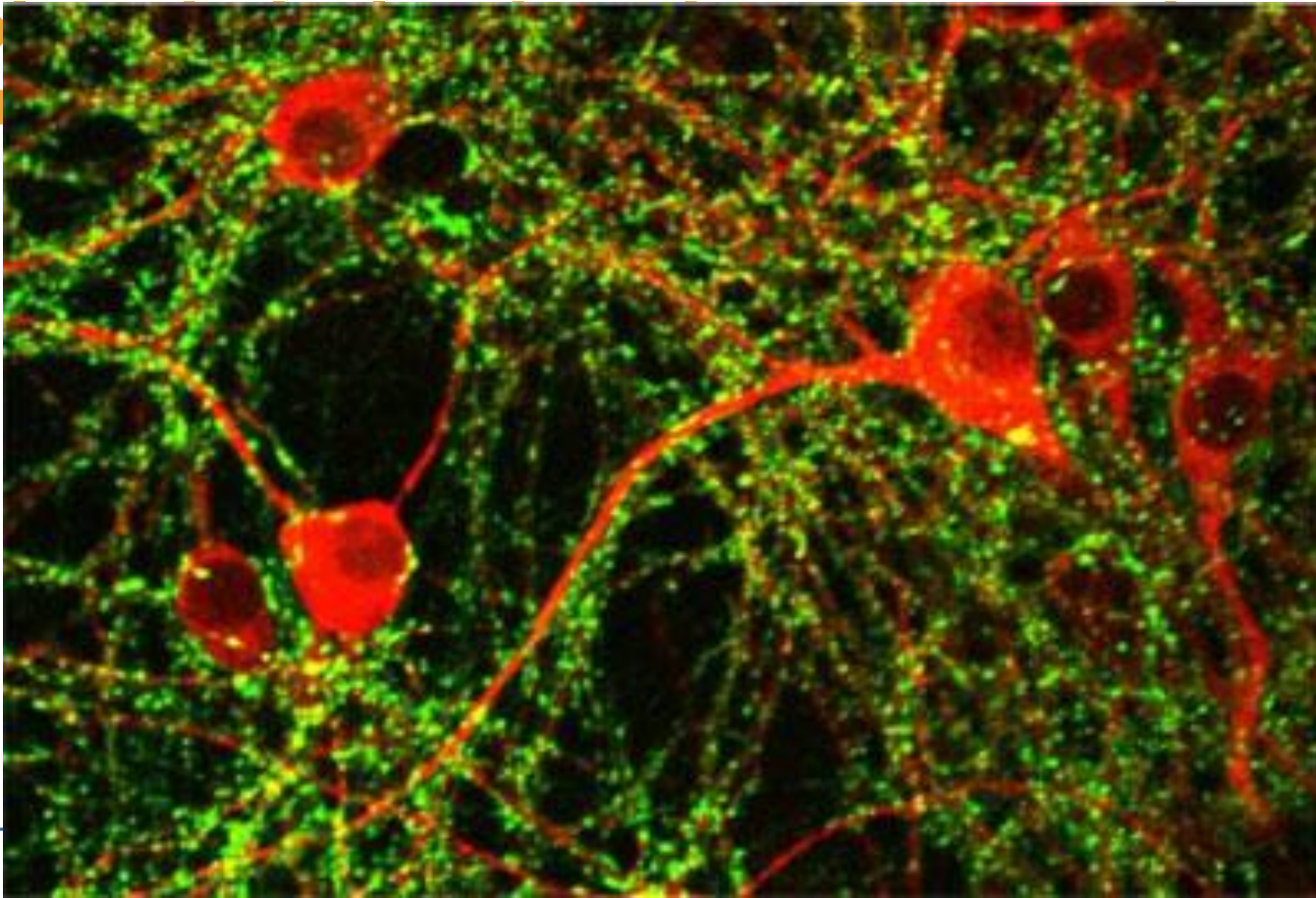


激光扫描共焦显微镜的应用

- 3、动态观察和测量：**观察和测量细胞内 **pH** 和多种离子 (**Ca²⁺**、**K⁺**、**Na⁺**、**Mg²⁺**) 在活细胞内的浓度及变化。
 - 4、三维图像的重建：**可以对样品的立体结构分析，直观地进行形态学观察,并揭示其结构的空间关系。
 - 5、荧光漂白恢复：**可通过观察已发生荧光漂白细胞其荧光恢复过程的变化量来分析细胞内蛋白质运输、受体在细胞膜上的流动和大分子组装等过程。
 - 6、长时程观察细胞迁移和生长**
-

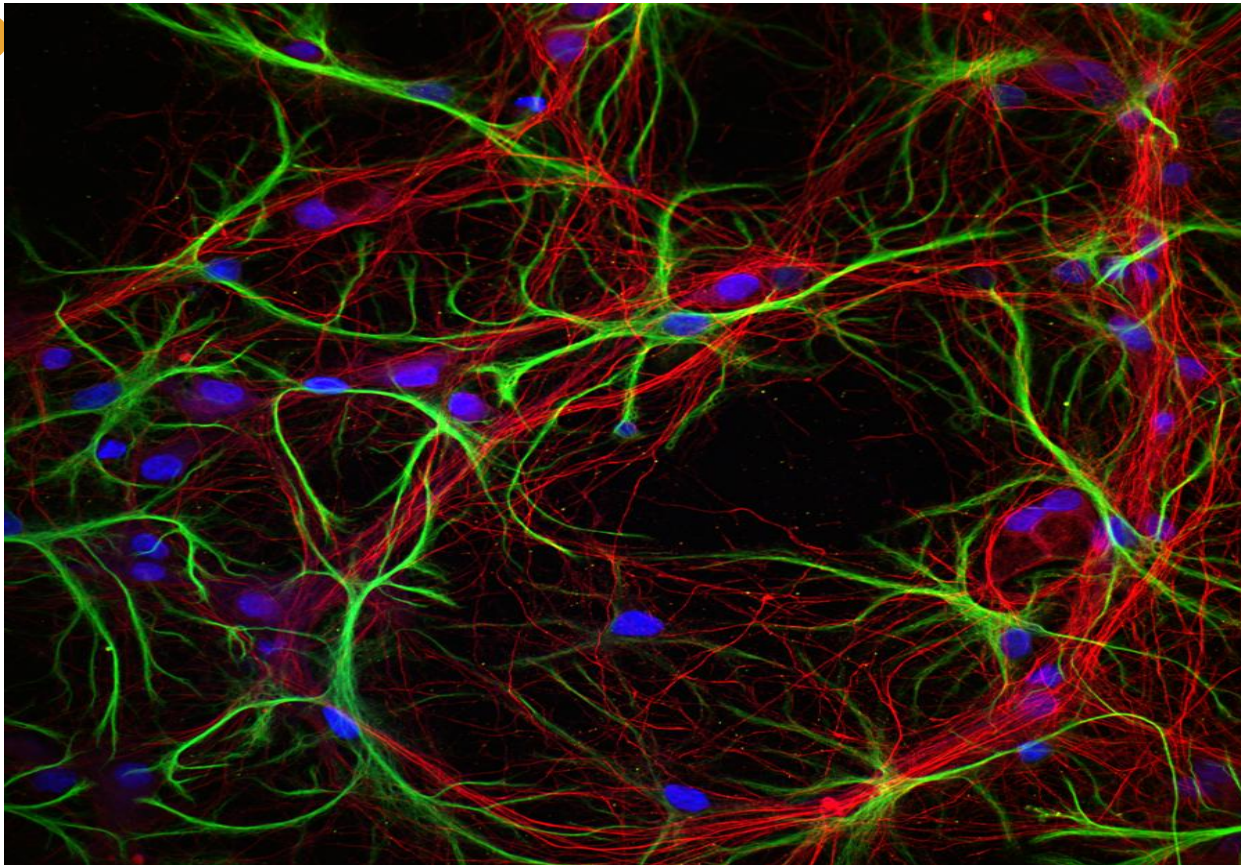
共聚焦图片赏析

Live hippocampal neurons stained with Lucifer Yellow. (Courtesy of Elena Popugaevu, St. Petersburg State Po
Ru



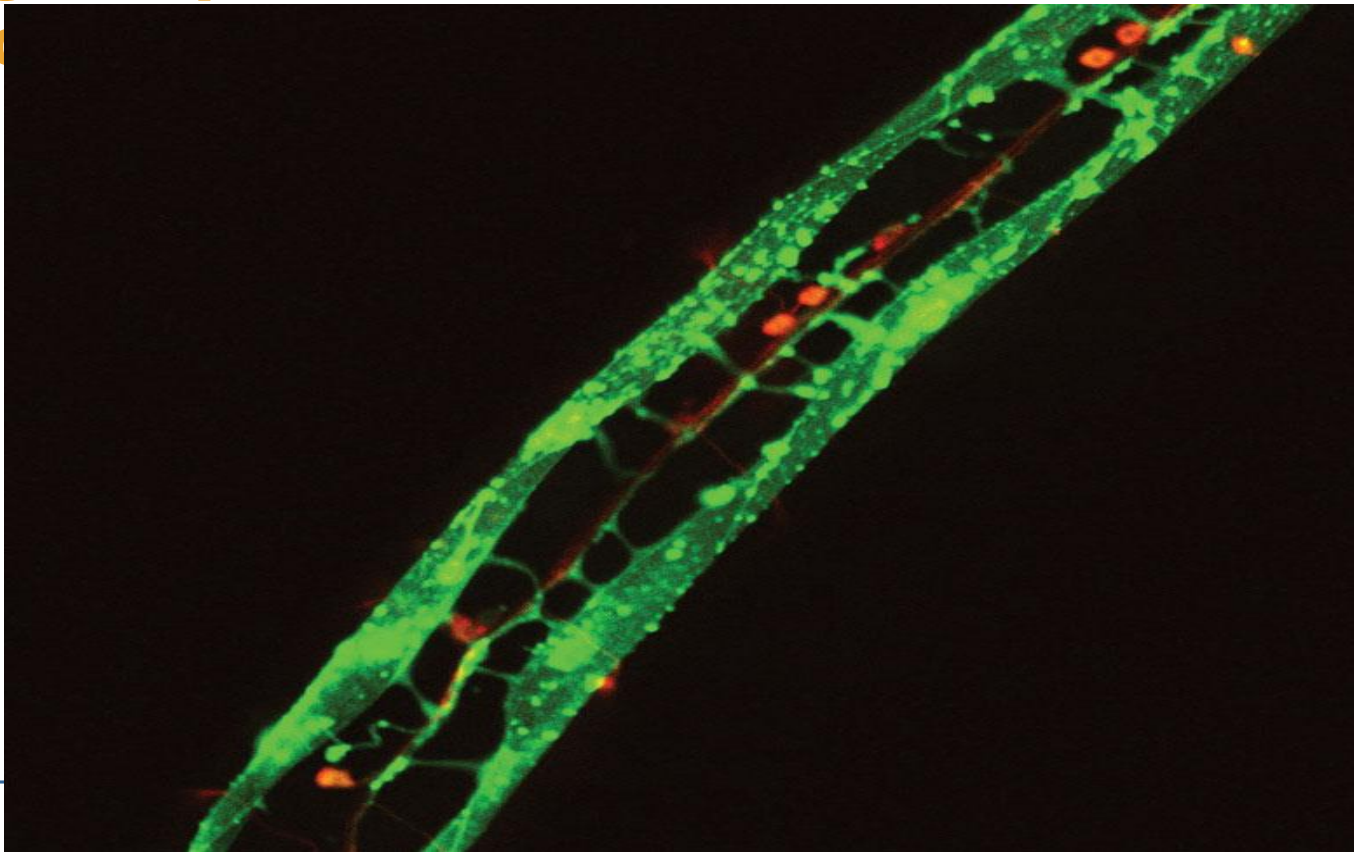
共聚焦图片赏析

Neuro filament (red), Glia Cells (Green),
and Nuclei (Blue) in a Rat
Hip



共聚焦图片赏析

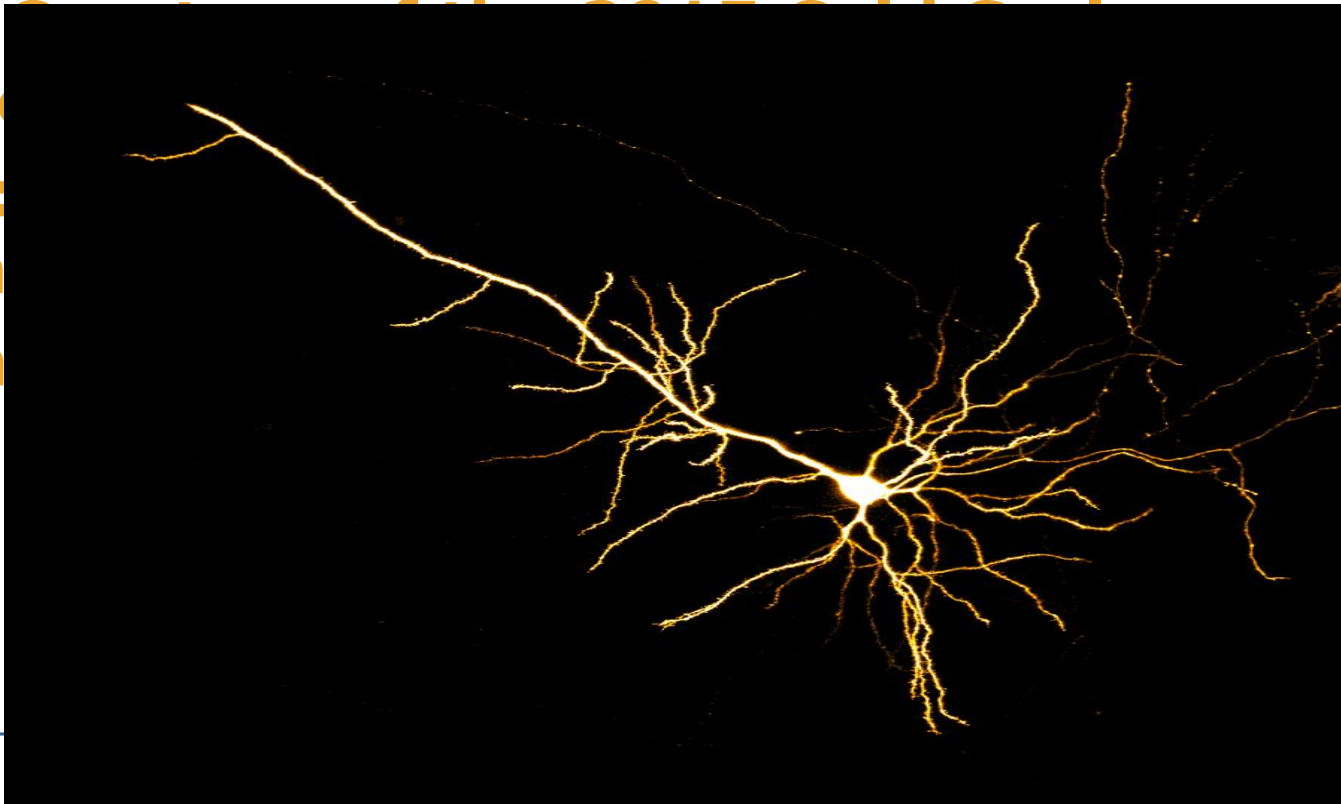
C. elegans motor neurons and muscle arms.
The figure shows the C. elegans strain, trIs30, expressing YFP in body wall muscles (green) and DsRED2 in the ventral nerve cord.



共聚焦图片赏析

Hippocampal Mouse Neuron Labeled with GFP
Taken Using
a 40X, 0.8 NA
Objective. Excitation Wavelength: 488nm.

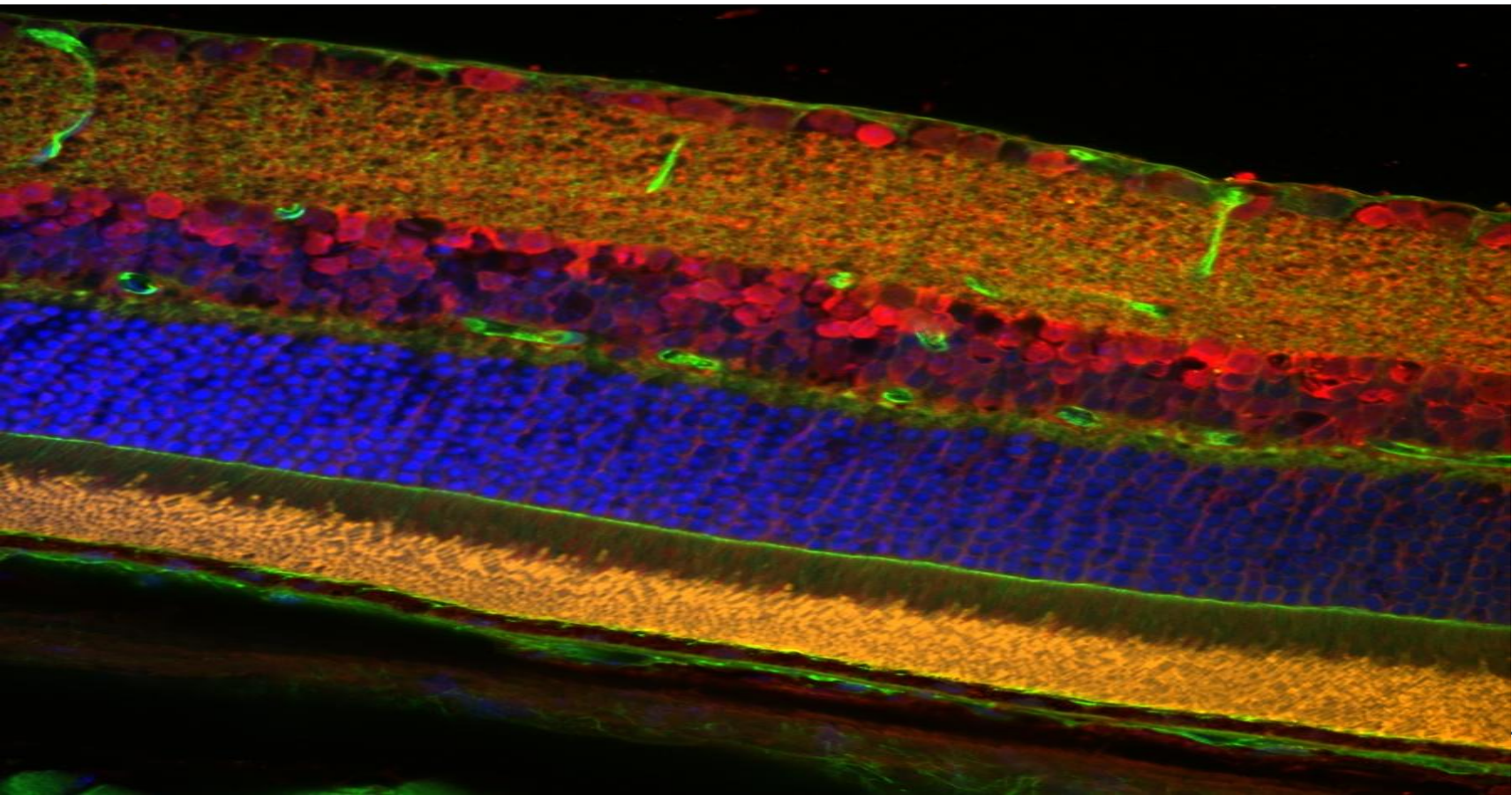
Image
Harbo
course:
the n
system



共聚焦图片赏析

Confocal Image of Cell Layers a Mouse Retina Sample

Courtesy of Robert Fariss, Biological Imaging

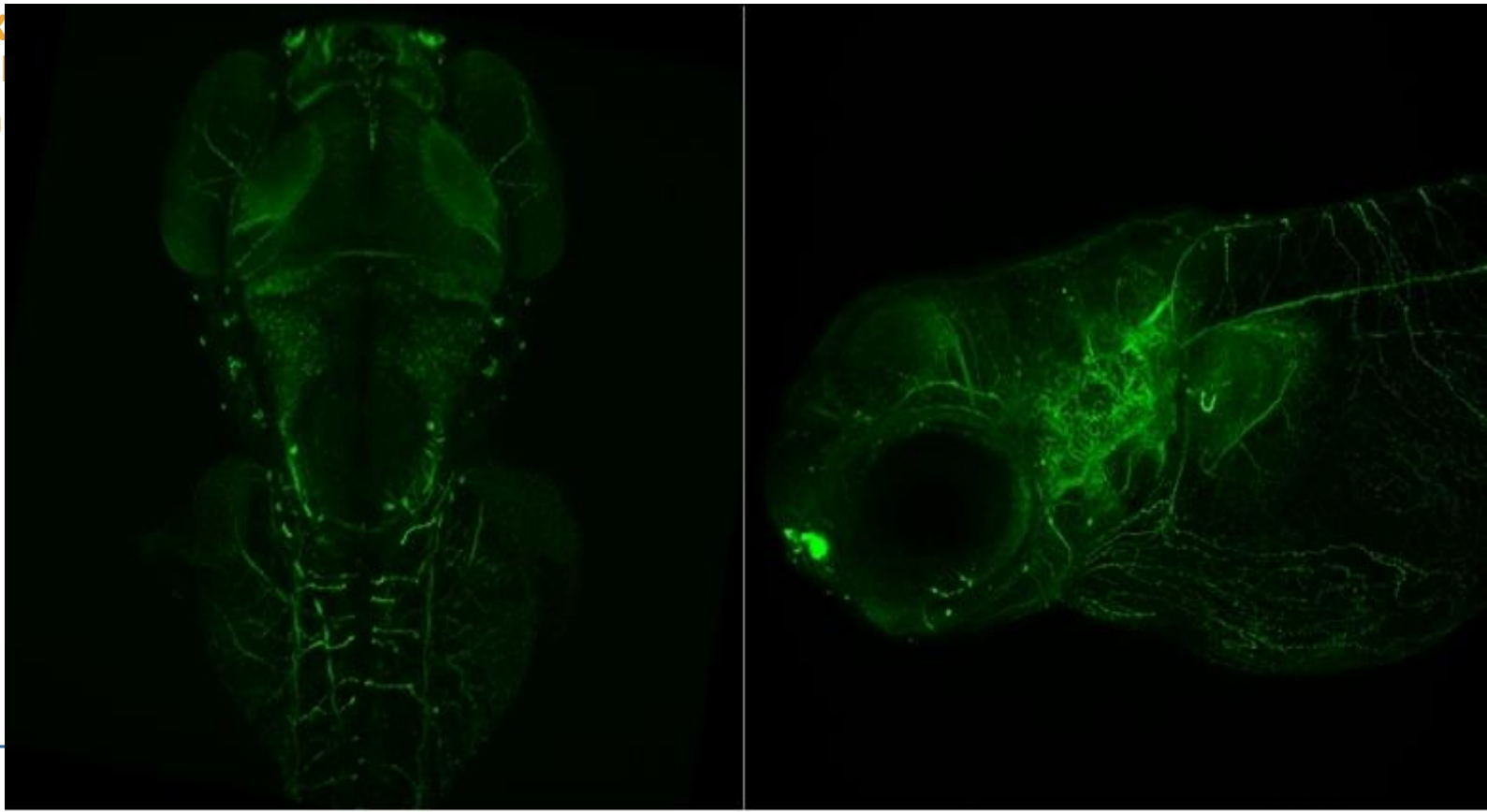


共聚焦图片赏析

Maximum projection (dorsal and lateral, respectively) of zebrafish embryos, 48 hrs postfertilization, showing developing neurons. Neurons are labeled with Alexa 488 against acetylated tubulin. The fluorophore was excited using a 488 nm laser and imaged with an Olympus

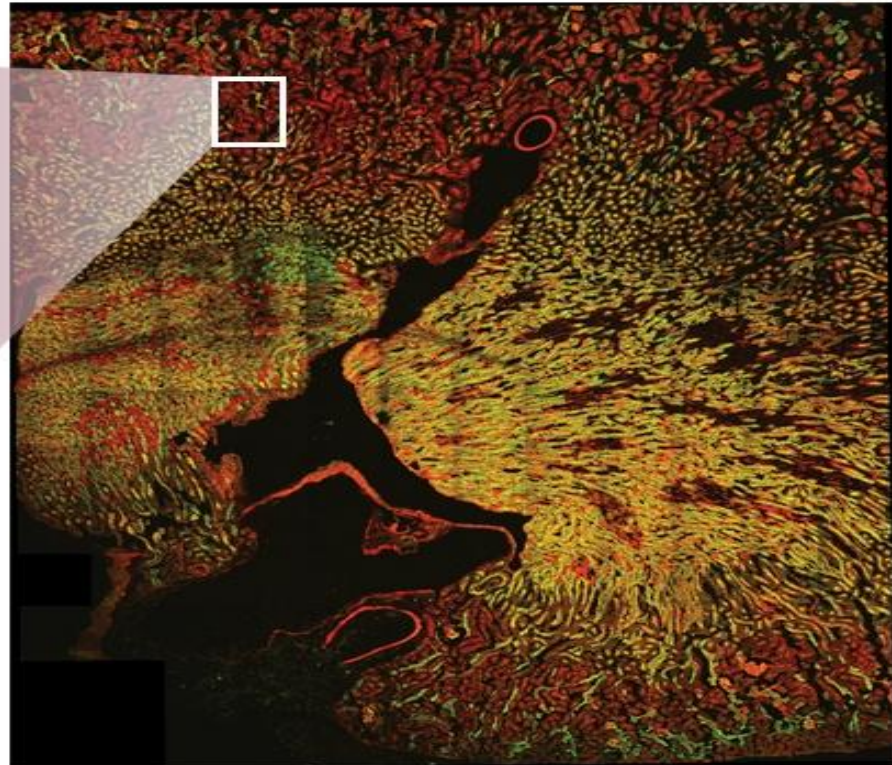
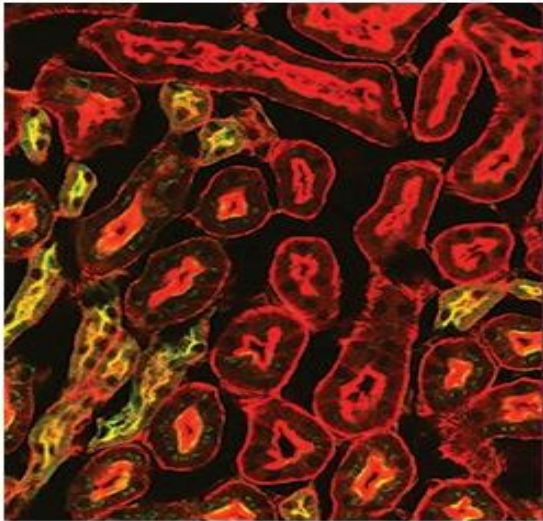
20X

Sch



共聚焦图片赏析

An image of a mouse kidney. The large image to the right was created by stitching together many individual images obtained using our confocal microscopy system. A single frame is shown in the zoom to highlight the level of contrast



共聚焦图片赏析

This image of a fly head was created by stitching six images together using the ThorImageLS[®] software.



激光共聚焦显微镜使用操作方法

一、开机

- 1、打开电脑桌右侧的“PC Microscope”圆形按钮
- 2、输入用户名和密码登录
- 3、依次打开“Scanner Power”及“Laser Power”两个圆形按钮，然后将“Laser Power”按钮右侧的激光开关钥匙（Laser Emission）顺时针旋转 90度至“ON”位置



激光共聚焦显微镜使用操作方法

4、打开荧光电源



EL6000 荧光电源

- 1.电源开关;
- 2.使用时间显示;
- 3.光闸;
- 4.光强控制

激光共聚焦显微镜使用操作方法

5、双击电脑显示屏桌面上的“LAS AF”图标启动徕卡共聚焦软件。



LAS AF 图标

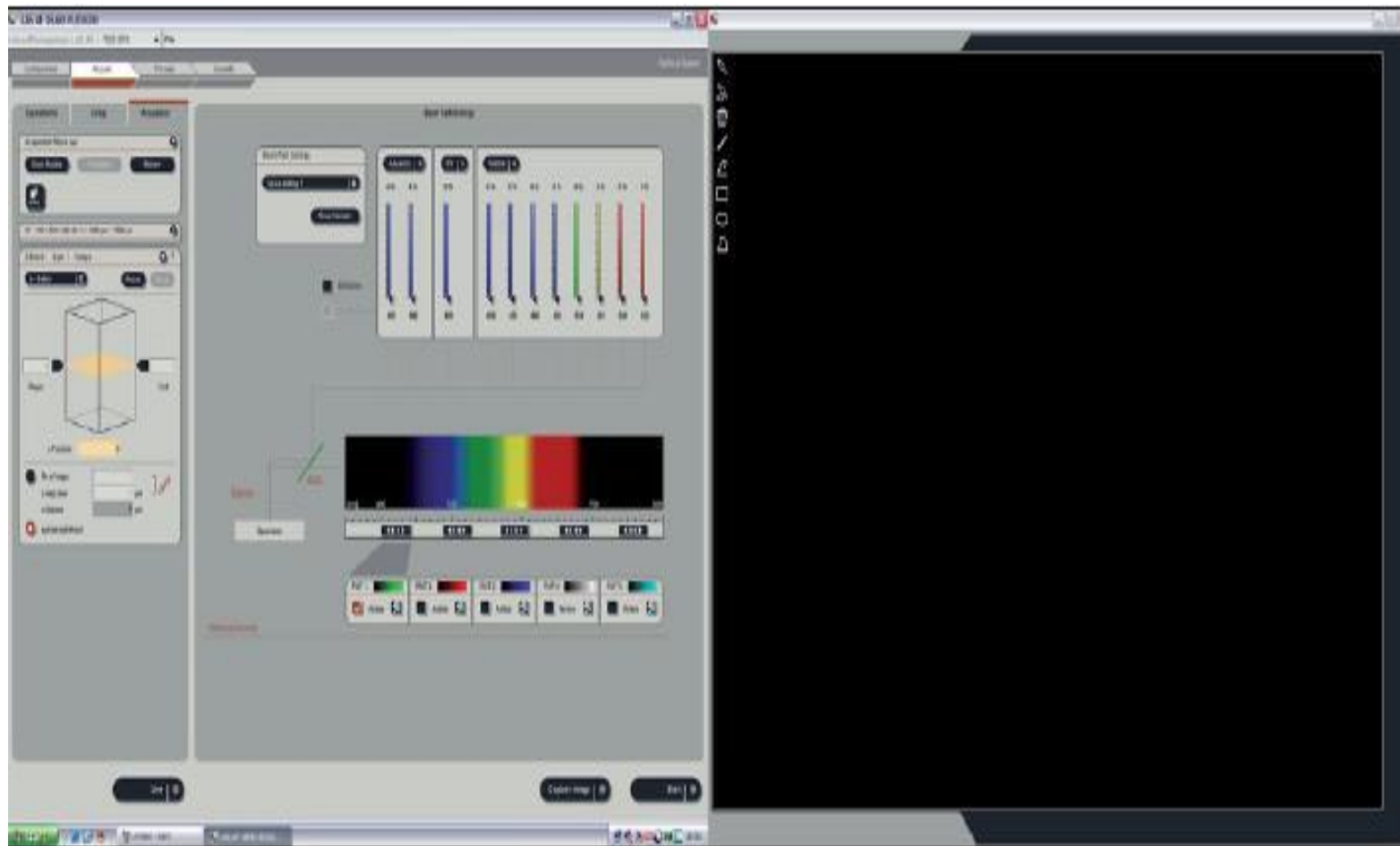
激光共聚焦显微镜使用操作方法

6、点击“OK”以打开软件。



激光共聚焦显微镜使用操作方法

7、系统自检完毕后，显示 LAS AF 基本界面。



二、在显微镜下观察样品

- 1、将样品置于载物台上，选择合适的物镜，选择合适的视野，调节焦距和亮度，直至观察到明亮清晰的图像。
- 2、倒置荧光显微镜相关功能开关和按钮说明

AP - 孔径光栏 (明场)

FD-视场光栏

INT- 明场或荧光光照强度

TL/IL- 投射光和反射光转换

ChangTL- 明场模式转换

(BF、DIC、POL)

FLUO - 转换荧光

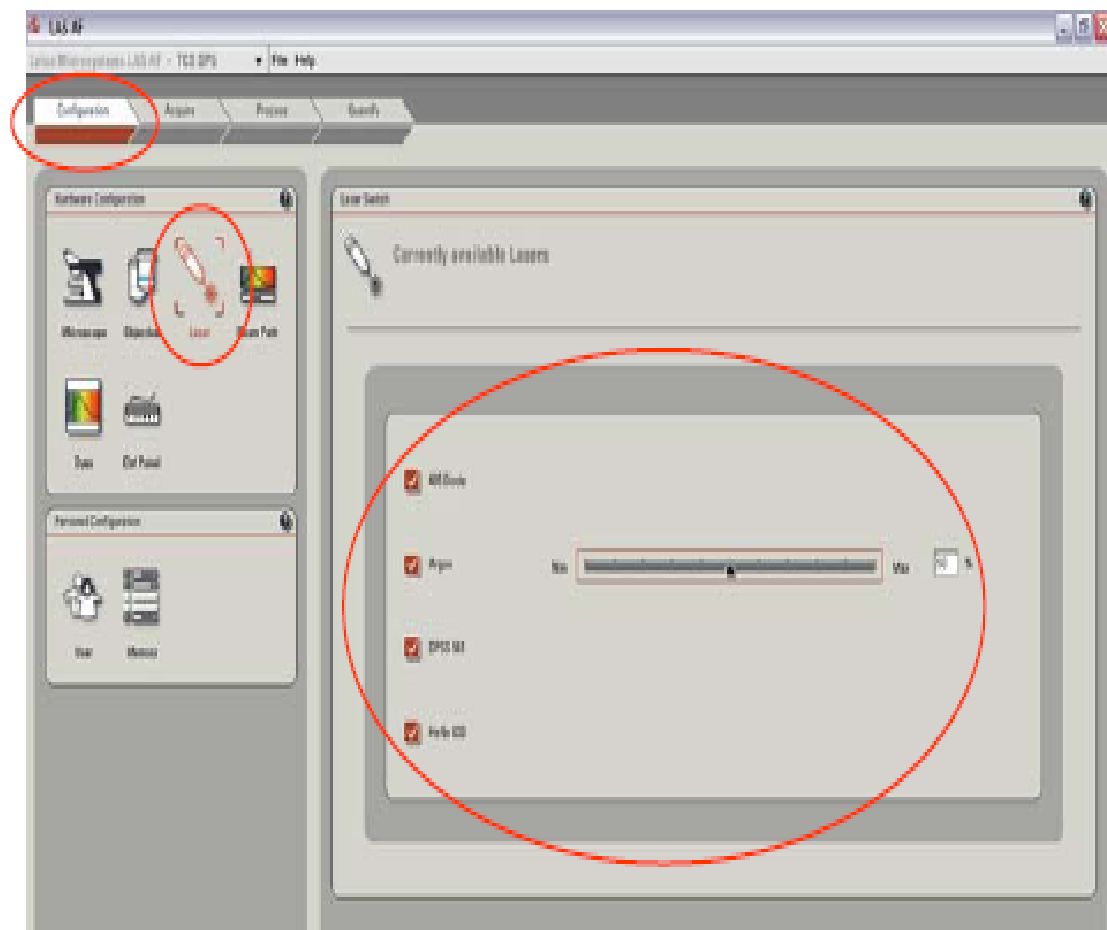
ChangCB- 荧光滤块转换

SET- 焦平面设置

DRY/IMM- 干油镜转换

三、采集共聚焦图像采集方法

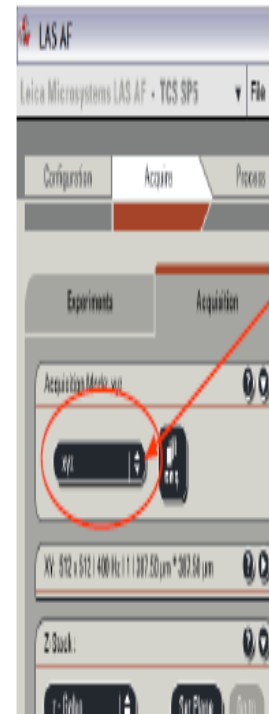
1. 点击工具栏下方的“Configuration”，再点击“Laser”，打开所需激光。如需使用Ar离子激光，拖动滑块调节激光输出功率。



激光共聚焦显微镜使用操作方法

2. 选择扫描模式

在“Acquire”菜单栏的“Acquisition”中选择扫描模式 (Acquisition Mode)，默认模式为 xyz 扫描，是最常用的扫描模式，可用于 xy 扫描和 z 轴层切(xyz 扫描)。还可在下拉菜单中选择由 x, y, z, t (时间)以及 λ (波长)组合而成的多维扫描模式。



点击并在下拉菜单中选择扫描模式

激光共聚焦显微镜使用操作方法

3. 点击“Acquire”进行光路设置

调用已有的设置：选择“Load/Save single setting”下拉菜单中已有的设置(激光及其输出功率、分光镜、检测波长范围、PMT gain 及 offset)，常用的荧光染料都已包含在内。选择某一设置后，可按样品的实际情况对参数进行优化,并以新的名称保存。

The screenshot shows the LAS AF software interface with several red annotations pointing to specific features:

- Acquire**: The main control button at the top left.
- Load/Save single setting**: A dropdown menu for selecting existing configurations.
- Power sliders**: A set of sliders for adjusting laser output power.
- PMT detection range sliders**: Sliders for adjusting the detection range of each PMT, with a note that double-clicking shows wavelength range values.
- PMT color palette**: A color bar representing the emission spectra of different PMTs.
- Fluorophore list**: A table of pre-saved fluorescent dyes with their corresponding emission wavelength ranges.
- Activate PMT**: Checkboxes to turn on or off specific PMTs.

可选择的激光光源 (●开 ●关)

已有设置

调节激光输出功率的滑块

调节各PMT检测范围的滑块 (双击可显示波长范围数值)

PMT所用伪彩 (单击可改变当前选项)

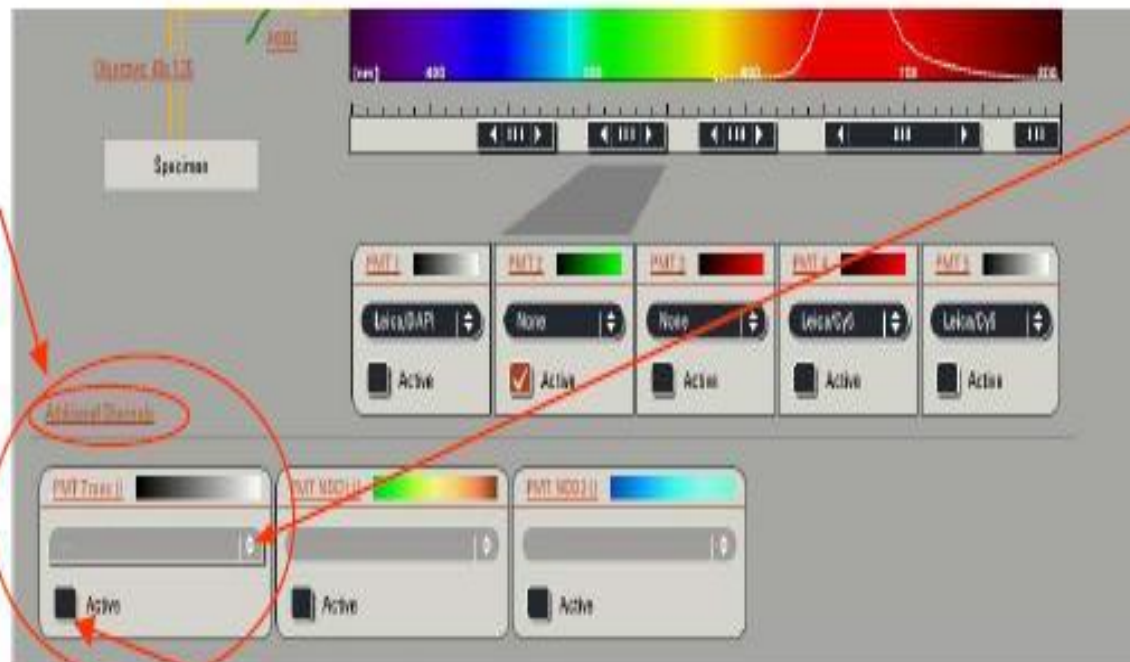
系统已保存的荧光染料名称, 选择后可显示发射波长范围

用 激活所需PMT

激光共聚焦显微镜使用操作方法

4. 透射光检测器的选择

单击“Additional Channels”以显示透射光检测器 (PMT Trans)，选择观察方法(BF、DIC等)。点击并在下拉菜单中选择。



点击并在下拉菜单
中选择观察方法



点击(✓)以激活透射光检测器

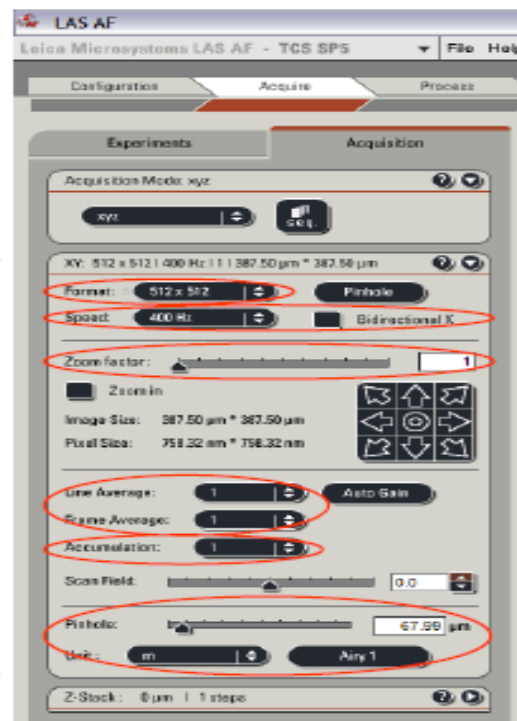
激光共聚焦显微镜使用操作方法

5、设置扫描参数

在“Acquire”菜单栏的“Acquisition”中设置扫描参数，包括分辨率 (format)、扫描速度(speed)、针孔大小 (pinhole size)、线平均 (line average)、面平均(frame average)、累加(accumulation)及放大倍数 (zoom)等。



单击箭头以显示完整菜单



各参数设置界面

激光共聚焦显微镜使用操作方法

6、预览图像

点击“Live”以设定的扫描参数预览图像，图像将显示在右侧的显示屏上。

7、优化扫描参数

预览图像时，调节 z 轴位置找到最适合观察的焦平面，并调节 PMT 的电压值 (Smart gain)及偏移值 (Smart offset)，或激光输出功率，使图像达到最佳。可通过控制面板上相应旋钮调节以上参数，图像调至满意后，单击“Stop”终止预览过程。



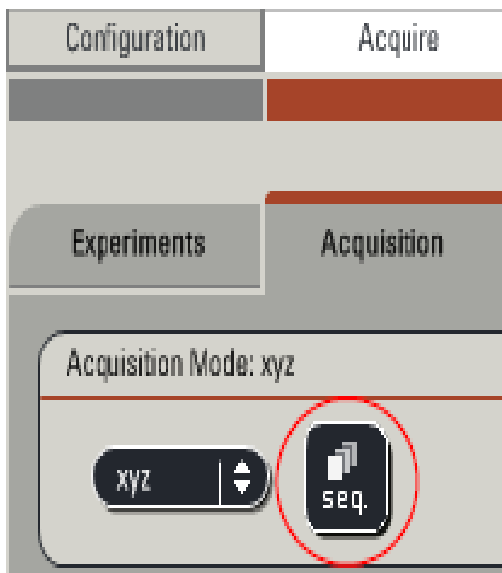
8、采集图像

对于单通道染色，或多通道染色同时扫描，单击“**Capture Image**”采集图像。对于序列扫描，或多维图像扫描，单击” **Start**”进行图像采集。

四、序列扫描

如果样品采用两种或以上荧光染料标记，为避免串色对实验结果的影响，可采用序列扫描的方式。

1、单击“Acquisition”中的“seq”按钮，如图 4-1，软件界面中将出现如图 4-2 的序列扫描菜单，可通过“+，-”添加或者减少扫描序列。





激光共聚焦显微镜使用操作方法

2、调用所需的单一采图设置，预览并优化参数至满意后，
点击

“Scan1”将参数定义至第一扫描序列。

3、同法定义“Scan 2”及更多的序列。

4、点击“Start”进行序列图像的采集。

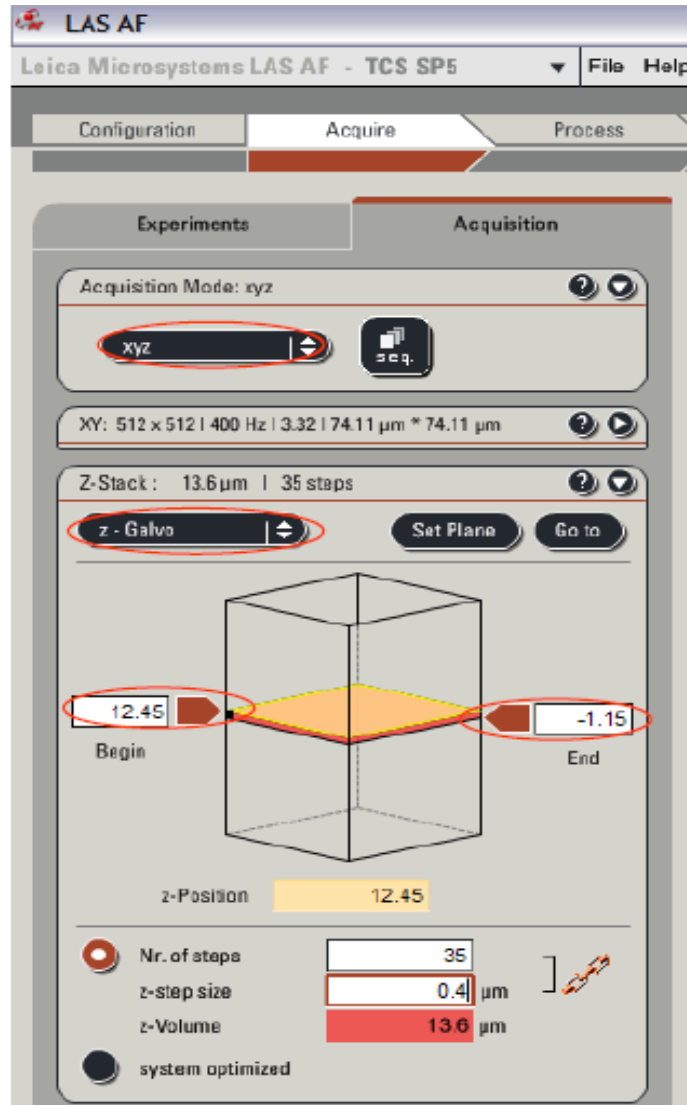
5、可保存序列扫描的设置以便将来调用。

五、z 轴层切 (xyz 扫描)

z 轴层切用于观察样品中目标的空间分布。

- 1、xyz 扫描模式为默认采图模式。如图 5-1。
 - 2、设置采图参数，方法同前。
 - 3、点击“Live”进行图像预览。用控制面板的“Z-Position”旋钮调节 z 轴至层切所需的起点，点击“Begin”上方的黑色箭头定义层切起点(箭头变为红色表示已定义)；调节 z 轴至层切所需的终点，点击“End”上方的黑色箭头定义层切终点。
 - 4、点击“Stop”终止图像预览。
 - 5、此时 xyz 层切菜单中显示的“z-step size”(相邻两个光切面的间距)和“Nr. of steps”(层切数目)为系统的优化值(“system optimized”)。也可点击“Nr. of steps”左侧的按钮，然后对相邻光切面间距或层切数目进行自定义。
 - 6、点击“Start”进行 xyz 图像的采集。
 - 7、采图完毕后，应点击“Begin”和“End”上方的红色箭头，使其变为黑色，将层切数目改为 1，重新处于未定义状态。
-

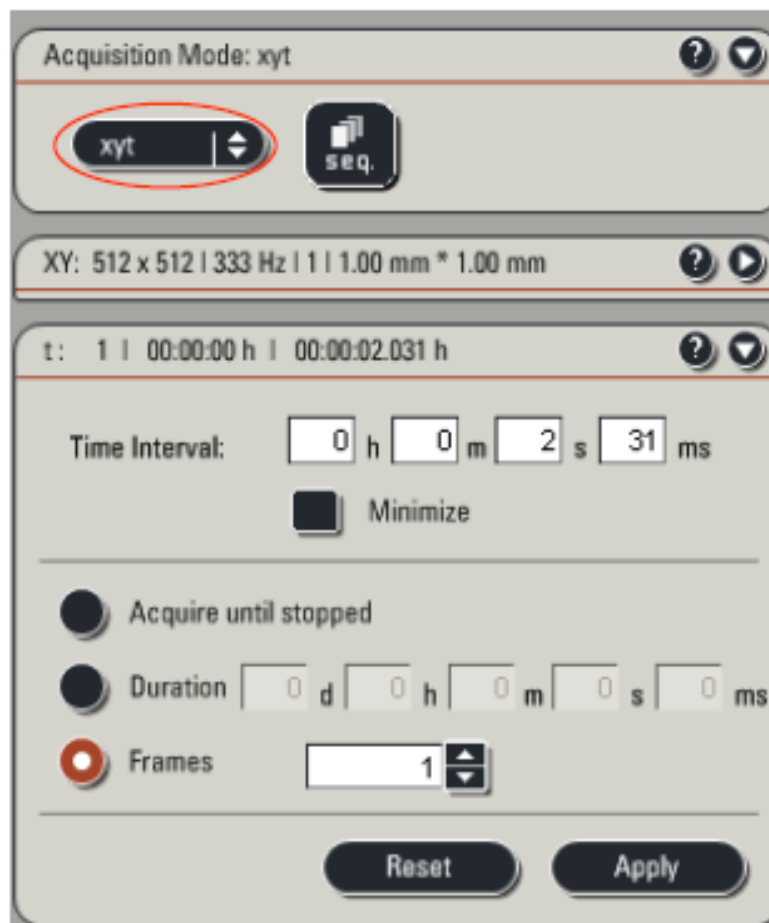
激光共聚焦显微镜使用操作方法



六、时间序列扫描 (xyt 扫描)

时间序列扫描多用于活细胞成像，记录动态过程。

- 1、在“Acquire”菜单栏的“Acquisition”中选择 xyt 扫描模式后，将出现 xyt 扫描菜单，如图 6-1。
- 2、设置采图参数，方法同前。
- 3、定义“Time Interval”，即采集相邻两帧图像所需的时间间隔，也可选择最小值“Minimize”。





激光共聚焦显微镜使用操作方法

4、按采图需要选择 “Acquire until stopped”、 “Duration” 或 “Frames”。

若选择 “Acquire until stopped”，则图像将持续采集，直至手动终止。

若选择 “Duration”，可定义采图所需的总时间。

若选择 “Frames”，可定义所需的图像帧数。


5、点击 “Apply”确定。

6、点击 “Start”进行时间序列图像的采集。

激光共聚焦显微镜使用操作方法

七、图像文件的保存及输出

1、图像文件的操作：“Acquire”的” Experiment”下显示采集的所有图像文件名称，右键点击图像文件名，可进行多种操作。



The screenshot displays a software interface with two tabs: "Experiments" and "Acquisition". Under the "Experiments" tab, a file tree shows a folder named "test.lif (242.9 MB)". Inside this folder, several files are listed, including "Image004 (4.2 MB, xyz)", "Series020 (13.1 MB, xyz)", "Series020_ProjMax001 (16.0 MB, xyz)", "Series020_ProjMax002 (26.7 MB, xyz)", "Series027 (21.0 MB, xyz)", "Series029 (21.0 MB, xyz)", "Series027Snapshot1 (2.6 MB, xyz)", "Series029Snapshot1 (2.6 MB, xyz)", "Series032 (52.4 MB, xyz)", "Series034 (52.4 MB, xyz)", "zebra (13.4 MB, xyz)", and "Series034_ProjMax001 (17.4 MB, xyz)". A context menu is open over the "Image004" file, listing various actions. Red lines connect these actions to their corresponding Chinese descriptions on the right.

Action	Chinese Description
Close Experiment "test.lif"	关闭当前文件夹
Save Experiment "test.lif"	保存当前文件夹
Save All	保存所有文件夹
Save Experiment "test.lif" As	另存当前文件夹
Create Collection	增加新的子文件夹
Delete "Image004"	删除当前文件
Rename "Image004"	重命名当前文件
Cut "Image004"	剪切当前文件
Copy "Image004"	复制当前文件
Export "Image004"	以通用格式输出当前文件
Properties of "Image004"...	当前文件的采图参数
Open in new viewer	在新的图像窗口打开当前文件



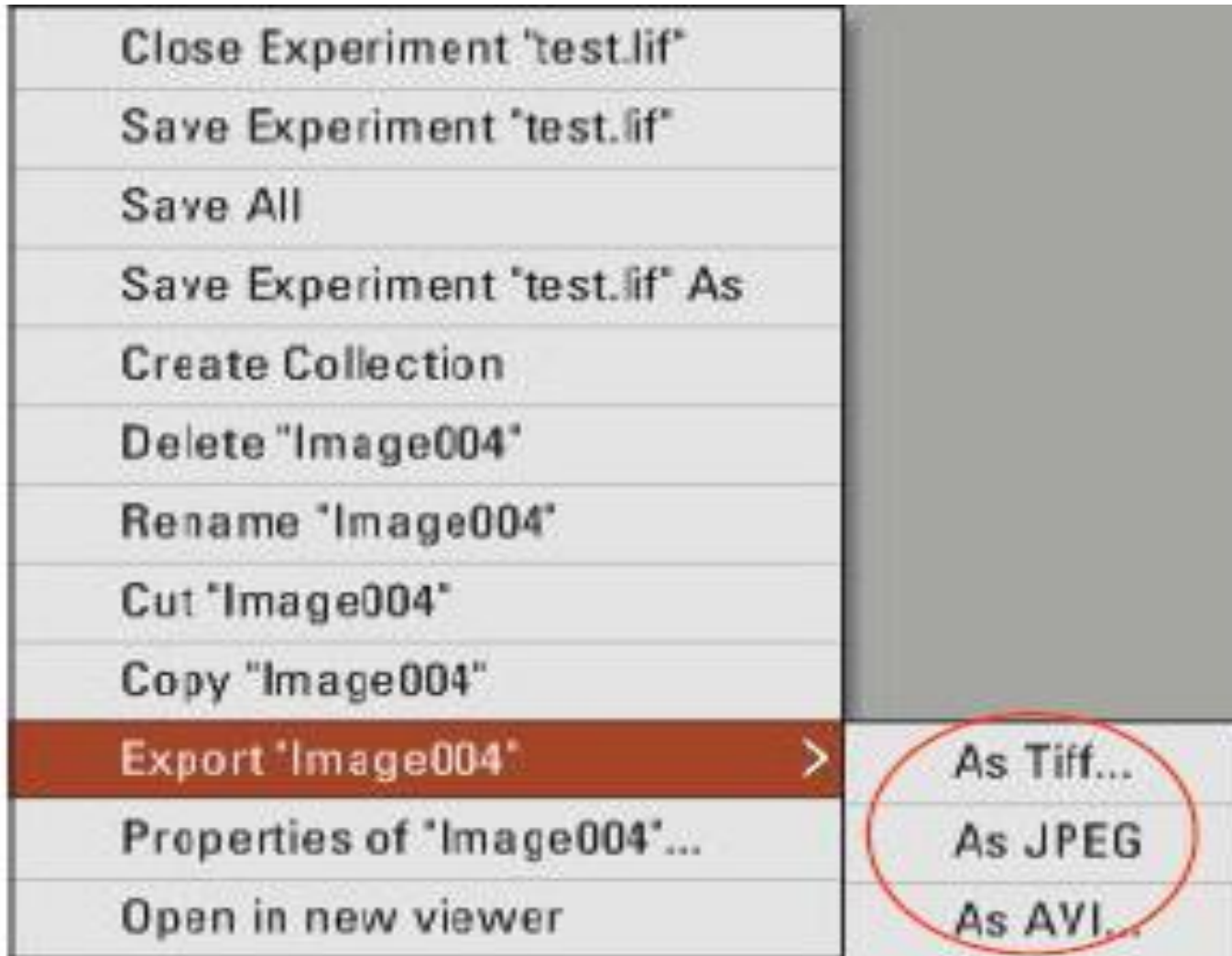
激光共聚焦显微镜使用操作方法

文件保存:右键点击图像文件名, 选择并点击”Save Experiment test.lif As”保存到新创建的文件夹。

2、图像文件的输出: 右键点击图像文件名, 选择 ”Export Image ***”进行图像输出, 可输出成图片(.tiff 或 jpeg), 三维或多维图像还可输出成电影(.avi)。如图 7-2。

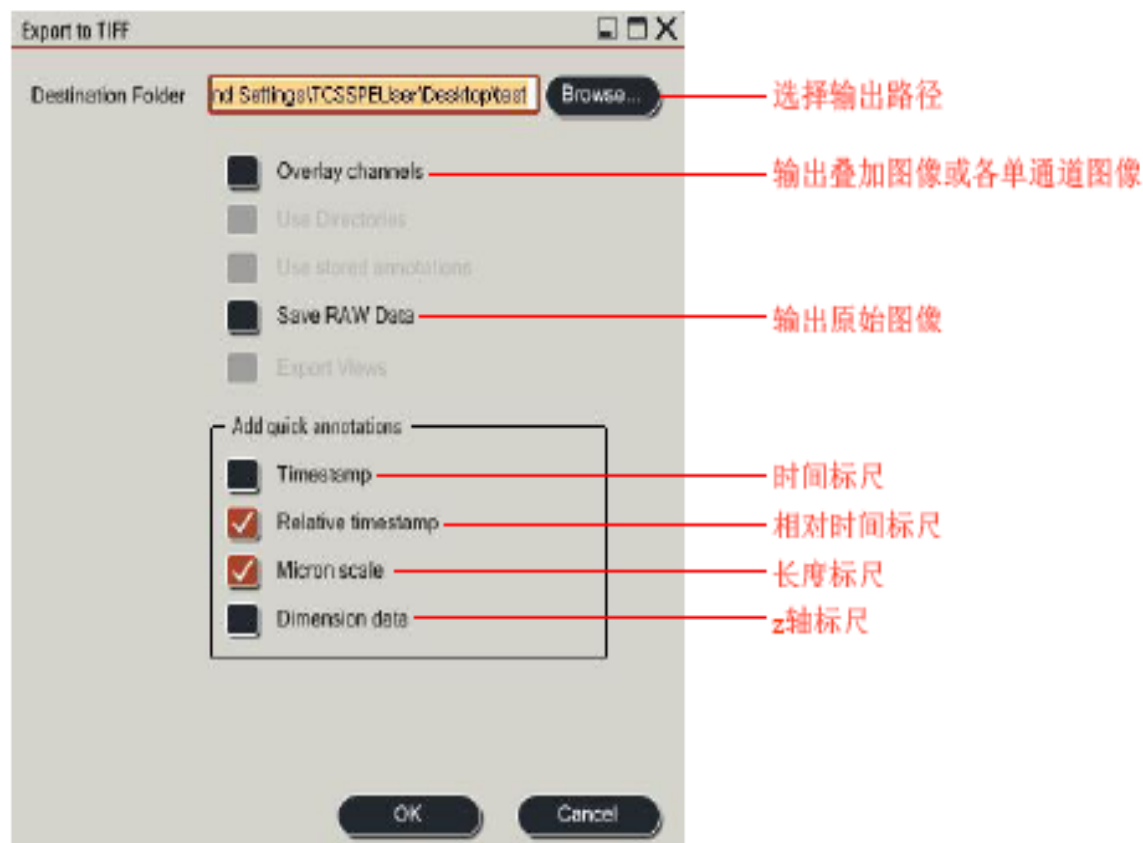
所得文件可用其他图像浏览软件打开, 选择输出路径, 输出叠加图像或各单通道图像。

激光共聚焦显微镜使用操作方法



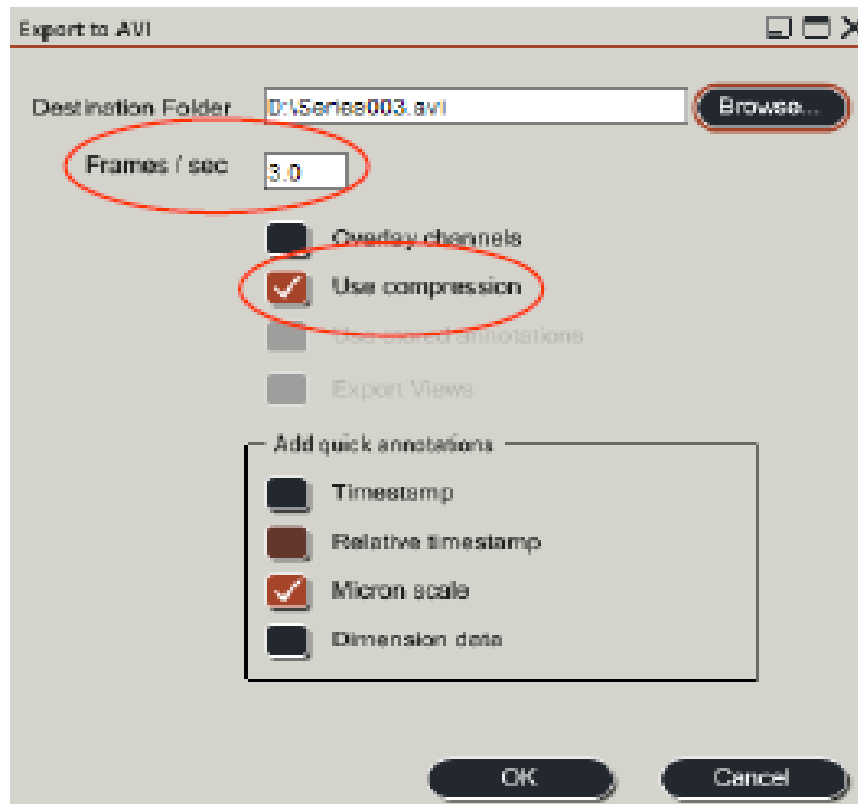
激光共聚焦显微镜使用操作方法

选择” As Tiff”或” As JPEG”，出现下图的对话框，可选择输出路径、输出方式（Use Directions为荧光或透射光图像，Overlay channels为叠加图像）、所需标尺等。确定后，点击” OK”，即可将图像输出至指定路径。



激光共聚焦显微镜使用操作方法

选择” As AVI”，出现下图对话框，除可选择路径、标尺等参数外，还可设定 avi 电影的播放速度 (Frame/sec)，以及是否进行压缩 (Use compression)。



八、实验结果的上传及下载

打开桌面上的浏览器图标，进入“陕西师范大学大型科学仪器开发管理平台”，输入用户名、密码，登陆。点击“数据保存”，浏览并上传数据（压缩数据），如下图。

激光共聚焦显微镜使用操作方法

陕西师范大学 大型科学仪器开发管理平台
生科·药用资源与天然药物化学教育部重点实验室

平台首页 仪器预约 预约列表 仪器培训 成果展示 交流平台 网络课堂 数据下载 仪器维修 中心网站

推荐仪器

- 激光共聚焦扫描显微镜
- 液相色谱仪6 (双三元)
- 液相色谱仪5 (半制备)
- 液相色谱仪4 (DAD+U...)
- 液相色谱仪3 (UV+Flu)
- 液相色谱仪2 (UV)
- 液相色谱仪1 (DAD+U...)
- 微透析、电化学分析系统
- 荧光分光光度计
- 流式细胞仪
- 细胞分析/计数仪
- 超微量微孔板分光光度计
- 全自动化学发光图像分...
- 蛋白互作分析
- 轮转切片机
- 荧光体视显微镜

用户登录

zhongqili1

登录 注册

公告通知

- 全自动化学发光图像分析系统培训
- 3111仪器平台正常预约使用
- 3111仪器平台暂停使用预约
- 真空冷冻干燥机和大容量高速离心机...
- 激光共聚焦显微镜技术培训报名通知
- 正置荧光显微镜免费试用
- 超微量微孔板分光光度计维修结束
- 实时荧光定量PCR使用通知
- 数字PCR培训通知
- 关于化学发光检测仪(单孔)投入使用...

最新预约

点仪器查看预约信息 本年度: 4580人次 本月: 222人次 本日: 4人

预约人	仪器编号	仪器名称	预约时间段	预约状态	受理人
杨旭	20102954	超微量微孔板分光光度计	2017-11-13 10:37 至 2017-11-13 11:00	自主测样	系统受理
IQBAL JA...	15173475	微量快速核酸定量仪	2017-11-13 09:36 至 2017-11-13 09:54	自主测样	系统受理
IQBAL JA...	1607823s	实时荧光定量PCR 2016 (...)	2017-11-13 09:47 至 2017-11-13 11:55	自主测样	系统受理
卢芳芳	16102615	正置荧光显微镜	2017-11-13 10:06 至 2017-11-13 11:30	自主测样	系统受理

激光共聚焦显微镜使用操作方法



陕西师范大学

大型科学仪器开发管理平台（生科）

平台首页 仪器预约 预约列表 仪器培训 成果展示 交流平台 网络课堂 数据下载 仪器维修 中心网站

当前位置：首页 > 我的数据

我的数据

* 文件描述：

* 选择文件：

浏览... 未选择文件。

上传

取消

⚠ 数据上传须知：

- 1、单次上传数据大小必须在4M以下；
- 2、个人存储空间为20M，请及时清理；
- 3、多文件上传时建议打包后再上传；
- 4、禁止上传与实验无关的数据，一经发现该用户将被删除！

编号	文件名称	文件描述	文件大小	上传时间	删除
1	20170612.rar		189539790	2017-6-12 11:46:49	删除

Copyright © 2015 陕西师范大学生命科学院实验中心 All Rights Reserved

版权所有：陕西师范大学生命科学院实验中心 联系电话：85310546

蔡德翠 15991262362 黄爱霞

九、关机

- 1、保存已采集的图像。
 - 2、关闭显微镜荧光电源。
 - 3、若使用过油镜，需用无水乙醚与无水乙醇混合液 (体积比 7: 3) 或无水乙醇清洁镜头。
 - 4、关闭 LAS AF 软件。
-



激光共聚焦显微镜使用操作方法

- 5、将电脑桌右侧 “Laser Power”按钮右侧的激光开关钥匙 (Laser Emission)逆时针旋转90 度至 “On-0”位置。
 - 6、关闭 “Scanner Power”按钮
 - 7、在电脑上进行图像数据的输出。注意：使用空白光盘刻录，不得使用任何其他形式的移动存储介质。
 - 8、下机并关闭电脑后，关闭 “PC Microscope”按钮。
 - 9、风扇停止后(关闭激光开关钥匙约 5 分钟后) ，关闭 “Laser Power ”按钮
-



激光共聚焦显微镜使用操作注意事项

使用激光共聚焦显微镜必须注意以下几点：

- 1、用户穿实验服进入激光共聚焦显微镜室，不得佩戴金属首饰,特别是不准携带手机操作仪器，进入房间后须先穿上鞋套，并冲洗拖把备用。
 - 2、检查空调工作是否正常，仪器工作温度应保持在 $18-22^{\circ}\text{C}$ 的恒温状态，注意实验前开启除湿机。
 - 3、严格按照仪器开关机顺序和使用规程操作仪器，不得随意更改操作程序。
-



激光共聚焦显微镜使用操作注意事项

- 4、具有高度的责任意识，严禁携带无关人员或默许他人进入仪器平台，确保大型仪器安全和工作环境稳定。
 - 5、不得注视激光束，也不能爆漏在激光辐射中。
 - 6、实验数据及时保存并上传至指定的下载区域并及时下载，管理员会定期对存储的数据进行清理，如遇设备或网络故障无法上传、下载数据时，及时告知管理员，以防实验数据丢失，否则造成的损失自负。
 - 7、严禁使用自带存储设备考取实验数据，一经发现，立即取消用户该仪器使用权限。
-



激光共聚焦显微镜使用操作注意事项

- 8、测试结束后，镜头回归最低倍数，在软件中关闭激光器，关闭金属卤素灯开关。整理台面，设备归位。
 - 9、每次使用后，要做好清洁工作，及时清理物镜、目镜等易污染的光学部件。用提前准备好的拖把清理地面，严禁使用带水的拖把擦地板。
 - 10、认真填写实验记录，记录试验开始及结束的时间，试验前、中、后的仪器状况，有问题及时报告管理人员，否则出现的仪器故障或损坏由当次用户负责并永久取消使用权限。
-



激光共聚焦显微镜使用操作注意事项

11、未经管理员同意，不得将使用权转借他人。一经发现，立即取消用户该仪器使用权限。

12、用户经培训并考核合格后由管理员授予其自主测样权限。



Thank You !