



Carl Zeiss LSM 700 / ZEN black

Quick Guide



開關機步驟

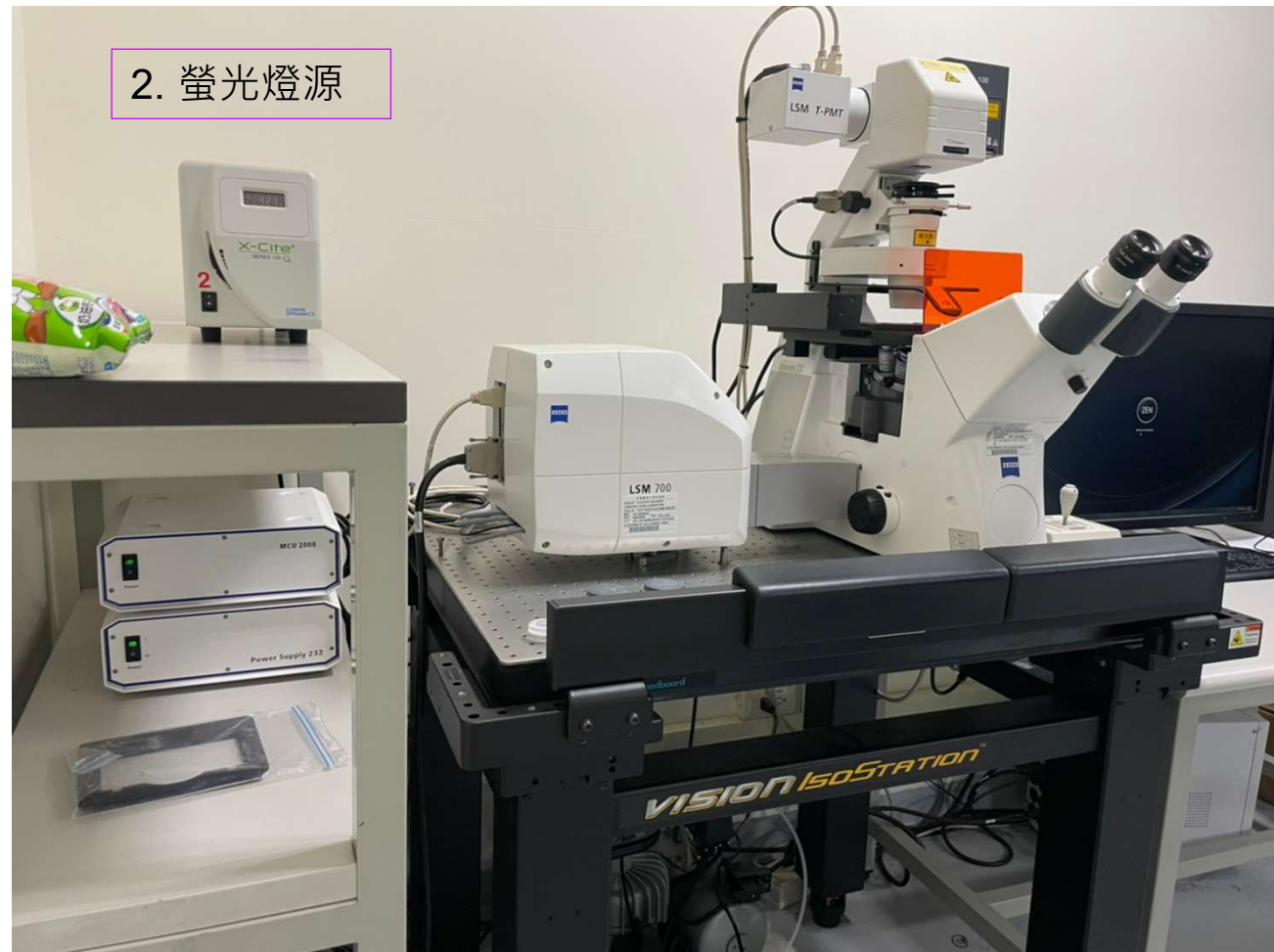
開機1→4順序開啟
關機4→1順序關閉



1. 總電源(延長線上)



2. 螢光燈源



3. 電腦電源



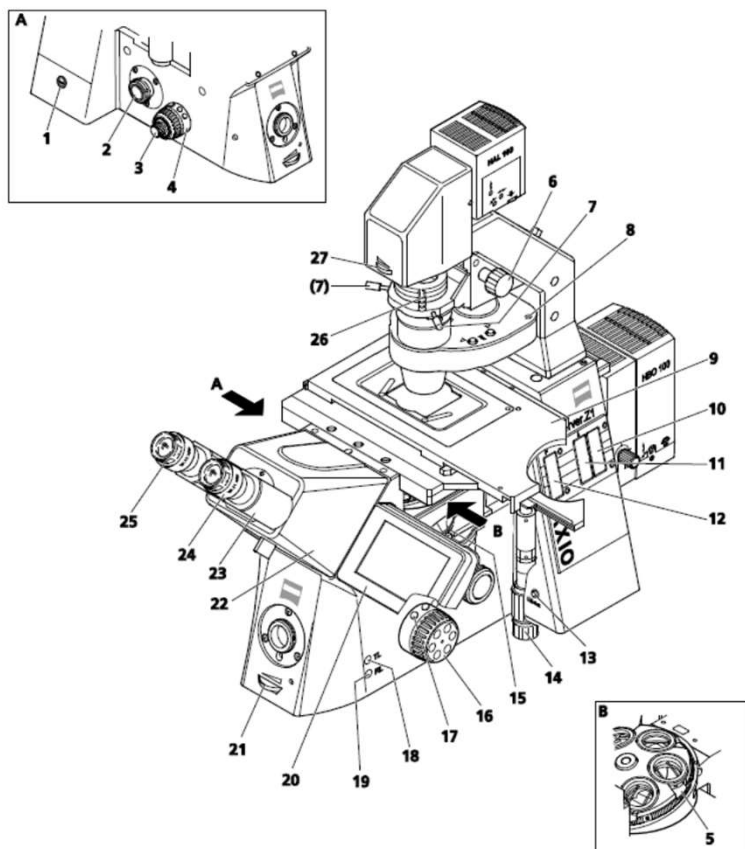


Fig. 4-3 AxiObserver.Z1 components and controls (motorized)

- 1 Standby button
- 2 Left Sideport
- 3 Focus drive coarse / fine (left side)
- 4 Control ring, left
- 5 Objective nosepiece
- 6 Vertical adjustment knob for condenser
- 7 Condenser centering screw
- 8 Condenser (manual or motorized)
- 9 Microscope stage
- 10 3-position filter slider slot
- 11 Slot for iris stop slider as reflected light aperture stop or FL attenuator
- 12 Slot for iris stop slider as reflected light luminous-field stop
- 13 LM set button
- 14 Drive knobs for controlling XY positioning of the mechanical stage
- 15 Reflector turret (coded or motorized)
- 16 Coarse / fine focus drive with fine drive, flat (right side)
- 17 Control ring, right
- 18 TL button for switching the transmitted light halogen illuminator on and off or for opening and closing the transmitted light shutter
- 19 RL button for switching the reflected light shutter on and off
- 20 TFT display
- 21 Halogen illumination intensity control
- 22 Binocular tube
- 23 Binocular section of the binocular tube
- 24 Eyepiece
- 25 Eyepiece adjustment ring
- 26 Polarizer D with 2-position filter changer or 3-position filter changer
- 27 Luminous-field stop control

開關機步驟



開機1→4順序開啟
關機4→1順序關閉

4. Fluorescence
lamp電源

3.
Microscope電源

2.
laser開關，key
轉橫向為開啟，
指示燈亮

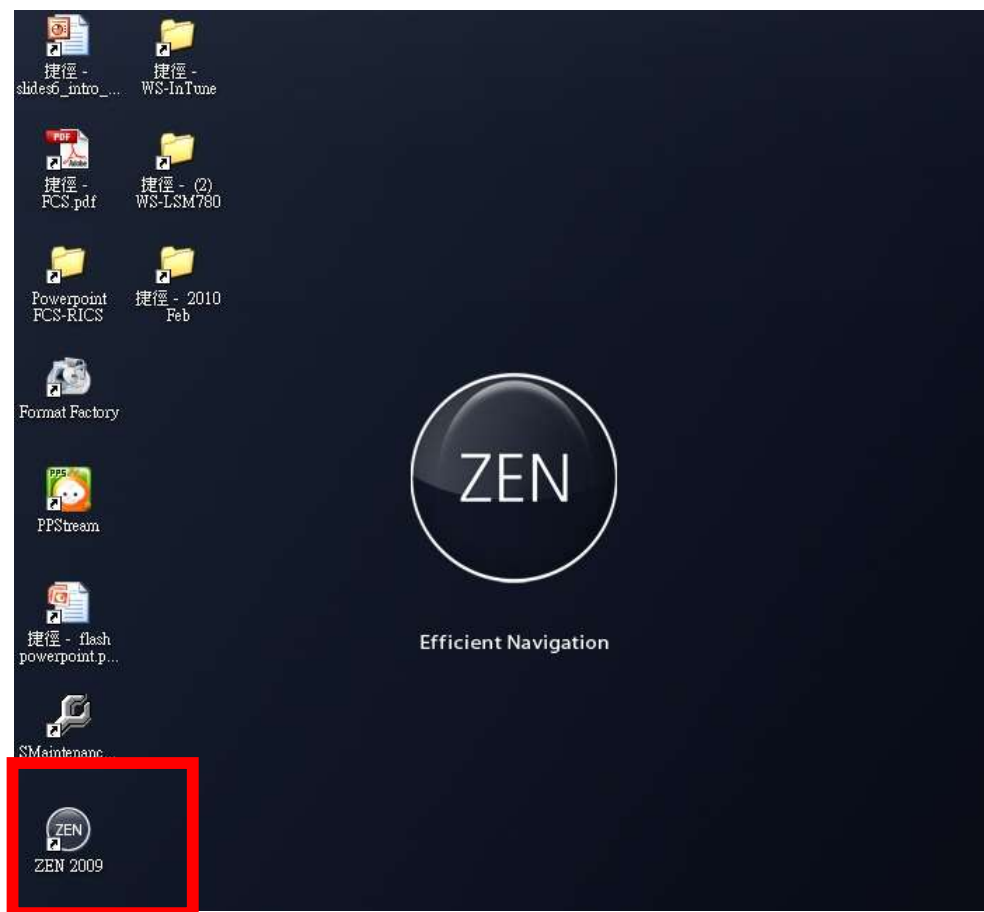
1.
總電源(延長線
上)



4.
電腦電源

1.進入軟體

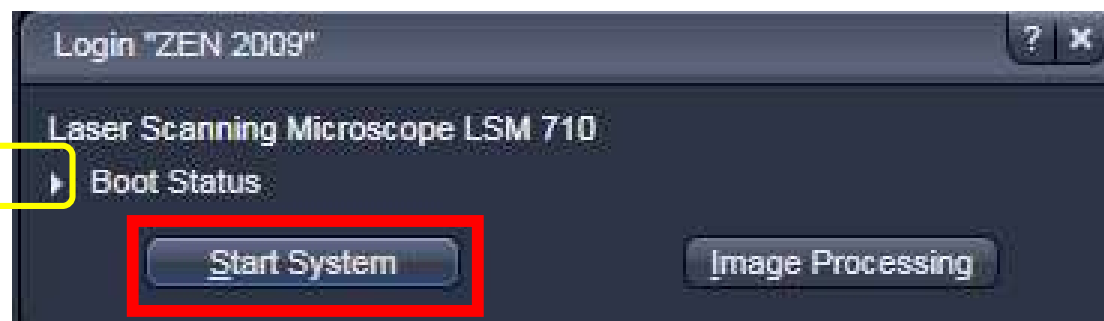
ZEN 2009/ ZEN black



2. 開啟軟體與硬體連結



一般模式



看圖模式

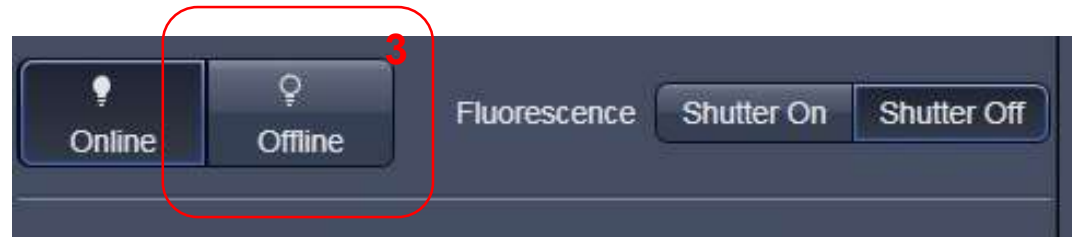


啟動軟體全功能，但不與硬體做連結，單純分析資料沒有要操作機器請選此項。

3.控制顯微鏡找到樣品焦距



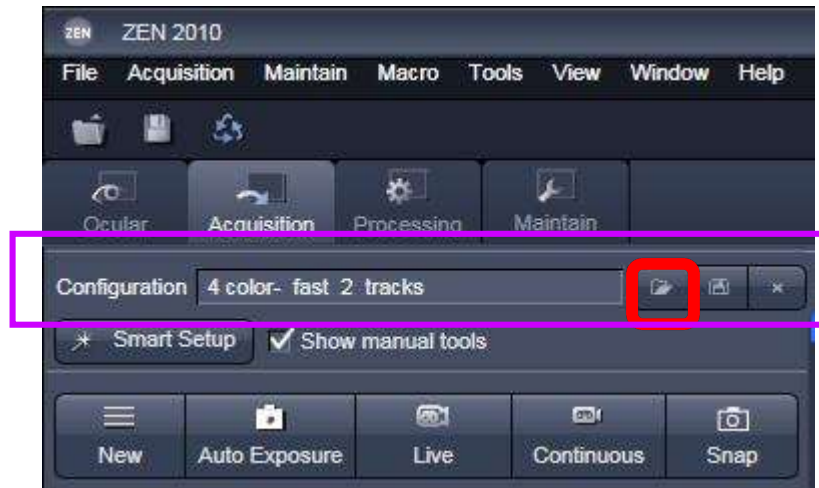
1. Online，自目鏡觀察，找到樣品焦距。
2. 利用configuration切換各螢光濾片組與穿透光設定。
3. 確認樣品位置及焦距後切至Offline，即可以進入LSM影像擷取模式。



Online: 分光至目鏡

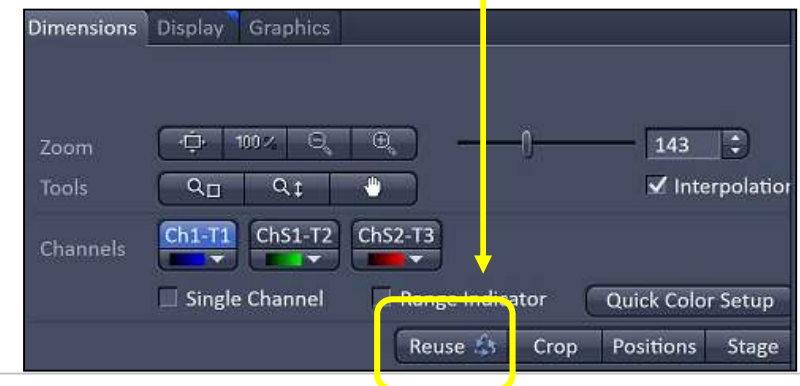
Offline: 分光至LSM，此時目鏡無法做觀測

4. Apply Configuration Setting



- 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

- 依所需套用configuration
- 勿刪除**standard**的configuration。
- 此為系統預設公用參數，個別實驗室需求建議以開啟舊檔方式**Reuse**



5. Acquisition setting

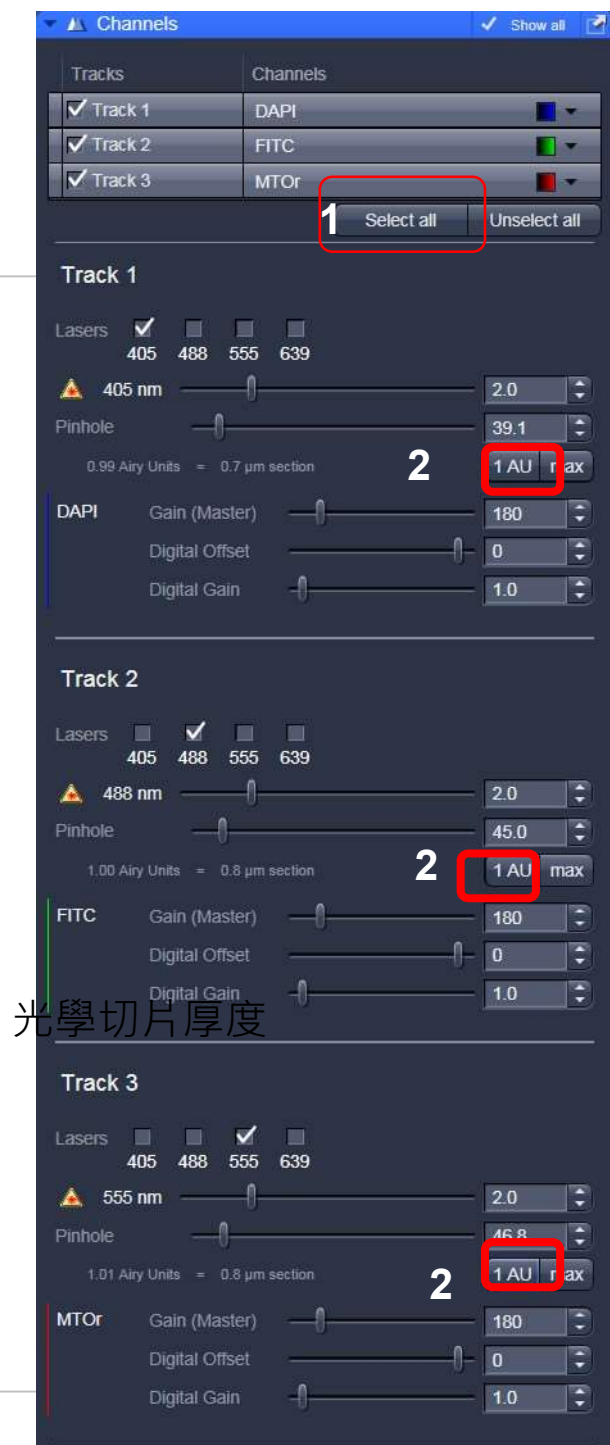


Select all
1 AU

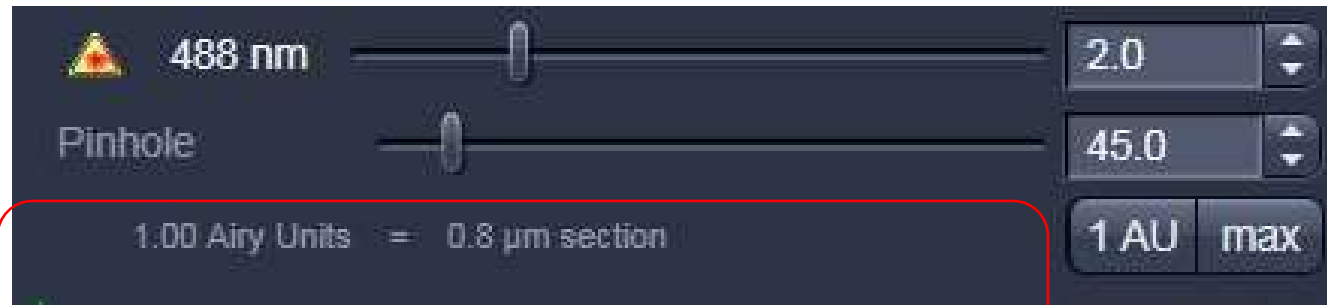
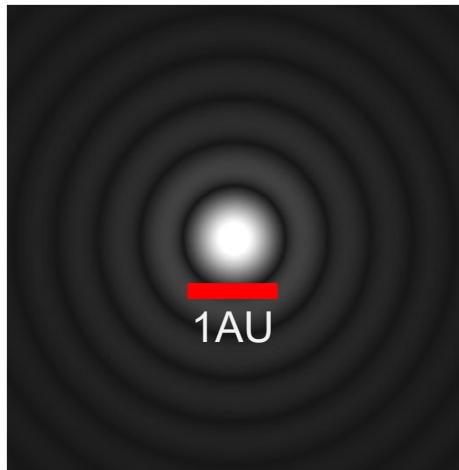


光學切片厚度

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



5.1 設定適當的Pinhole大小



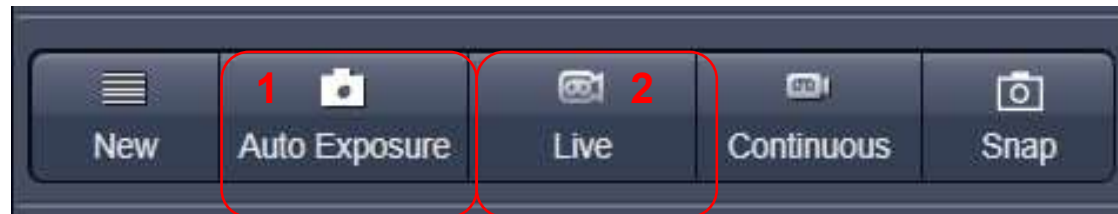
Pinhole開啟1 Airy Unit此時光學切片厚度為0.8um

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。

6. 畫面預覽



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

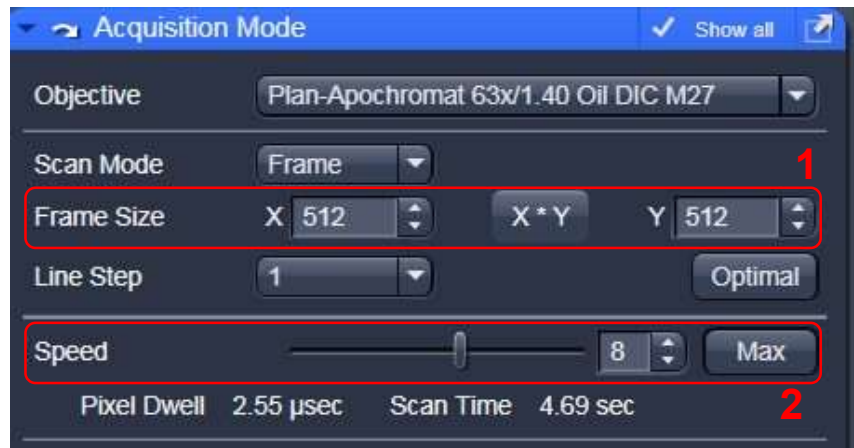
- 按下LIVE進入高速預覽模式，同時使用focuse drive精調螢幕中影像焦距

3. STOP

- 找到焦距後停止掃描



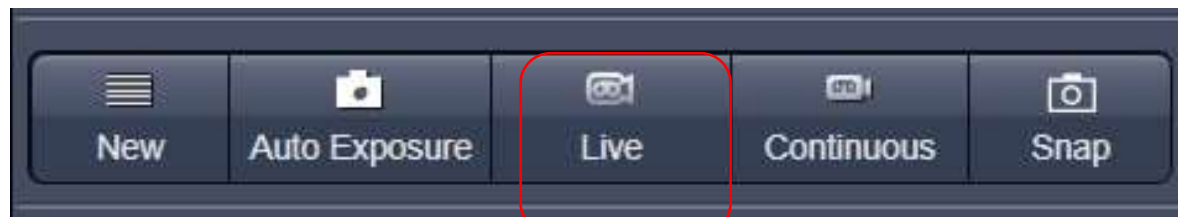
6.1 掃描參數值設定



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

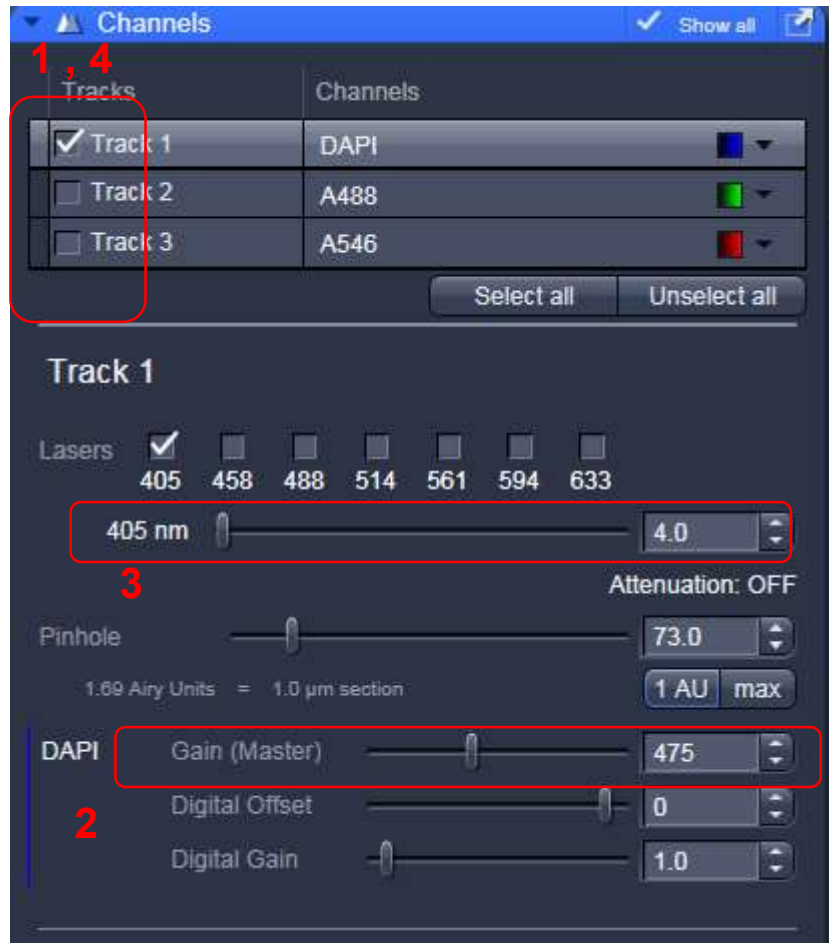
- **LIVE:** (建議少按)持續高速掃描於512*512 frame size，Speed 9之下
- **Continuous:** 持續掃描，要按停止才會停止掃描
- **Snap:** 拍一張影像

3



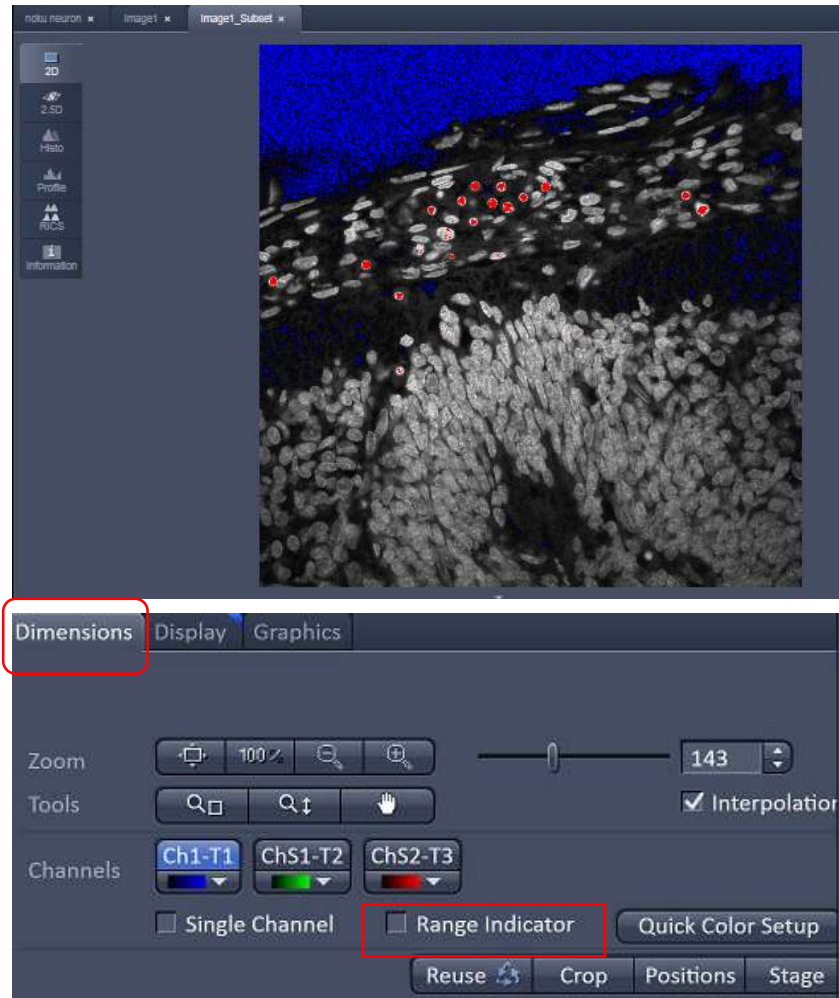
X 建議少按

6.2 掃描參數值設定



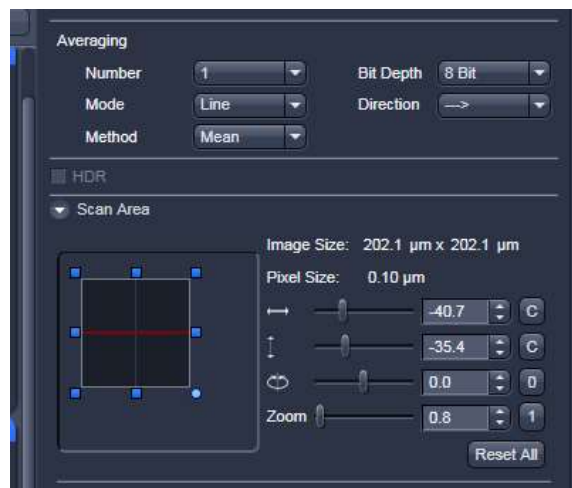
1. 依序設定每個track的掃圖參數
2. 調整PMT gain值，數值越大訊號被放大得越多，影像越亮，可使用滑鼠中鍵滾輪滑動調整。(建議數值600-750)
3. 調整 laser強度，數值越大，影像越亮。
4. 調整好後進行下一個track的設定，重複1~3步驟直到每個track都設定完畢。

6.3 掃描參數值設定

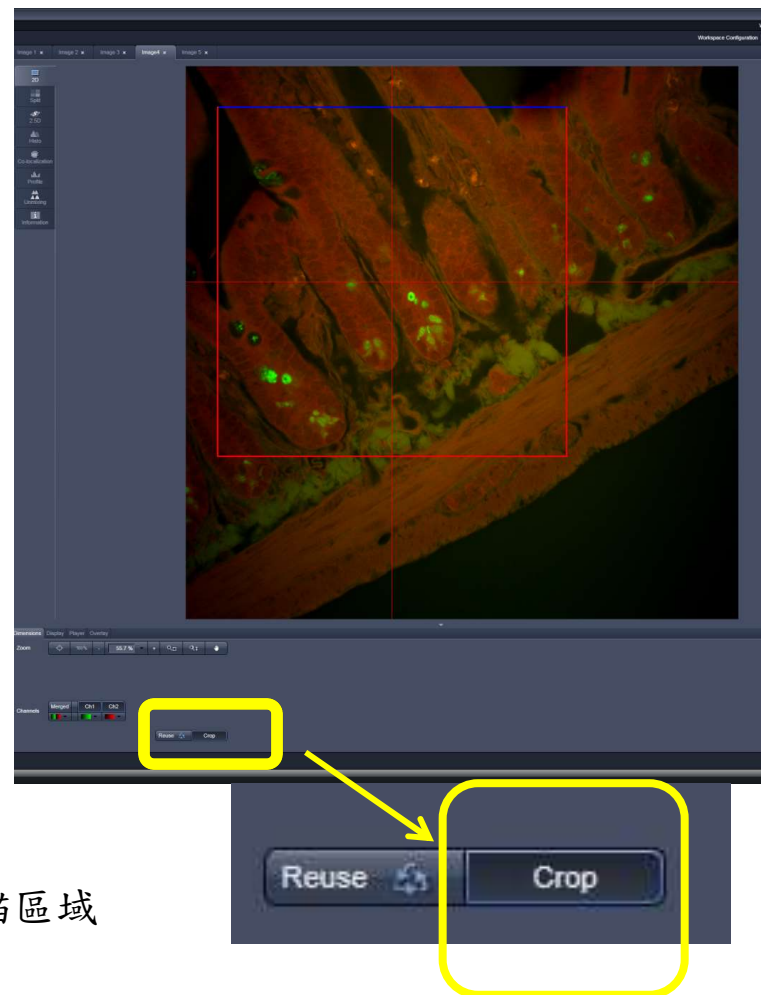


- 調整掃描條件時以range indicator套色方式。
- 紅色表示飽和，background 深藍表示全黑
- 建議調整到全畫面當中訊號少部分飽和
- 如果背景無雜訊，background 部分為藍色。

6.4 掃描參數值設定 Scan Area _ Zoom、掃描區域選擇



- Corp功能包含Zoom in/ Zoom out(視野放大縮小)
- Zoom 勿過度使用, 超過解析力極限為無效放大
- Zoom一般不會超過3 , 過度使用將造成bleach掃描區域



7.正式掃圖 獲得高解析度影像



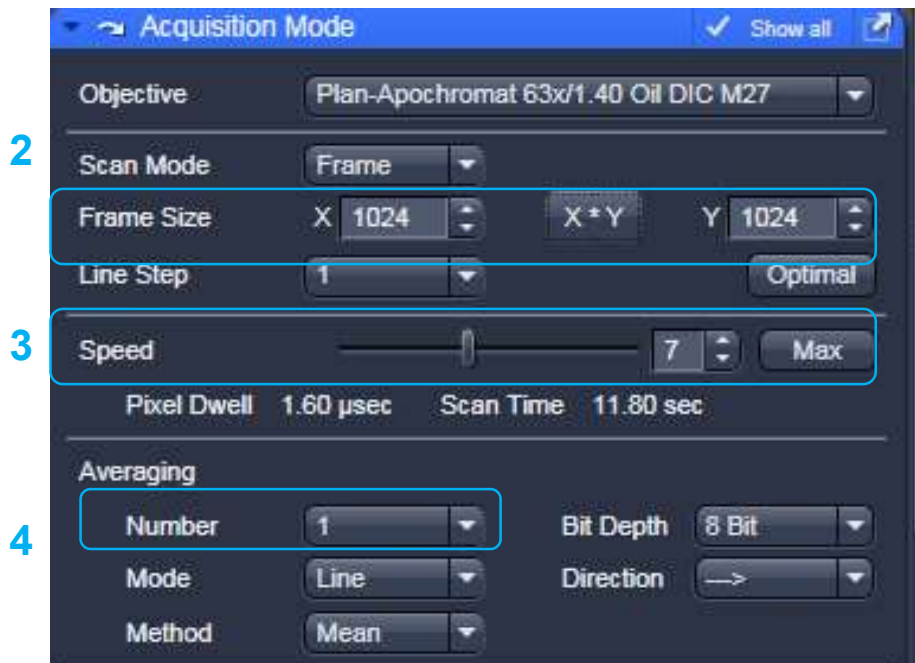
1. 將所有已經調整好參數的track都打勾

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!!



8. Z stack

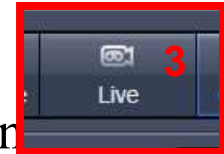


1.



1. 進入Z stack

2. 進入 Mark First/Last



3. LIVE /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. Optimal interval，或者於interval中鍵入1~2倍optimal建議值

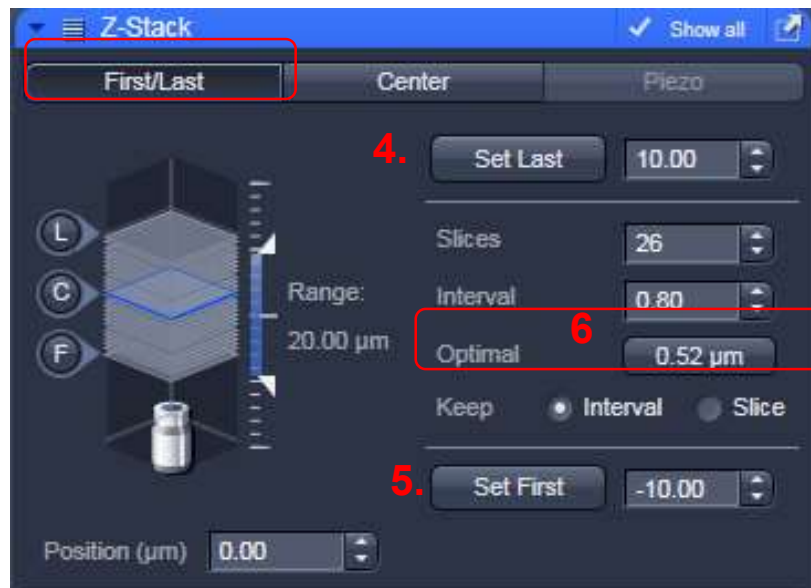
7.設定完畢後stop, 避免樣品被bleach

8.回到掃圖設定成1024*1024，speed 7~5

9. Start experiment 開始執行Z section拍照

2.

4, 5



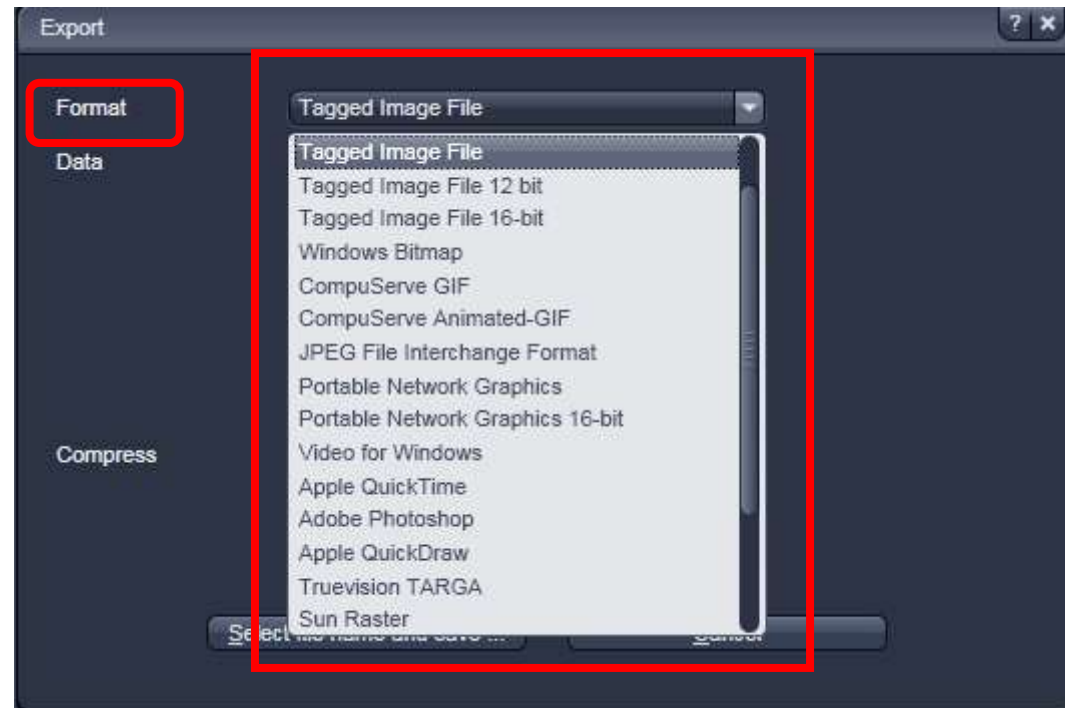
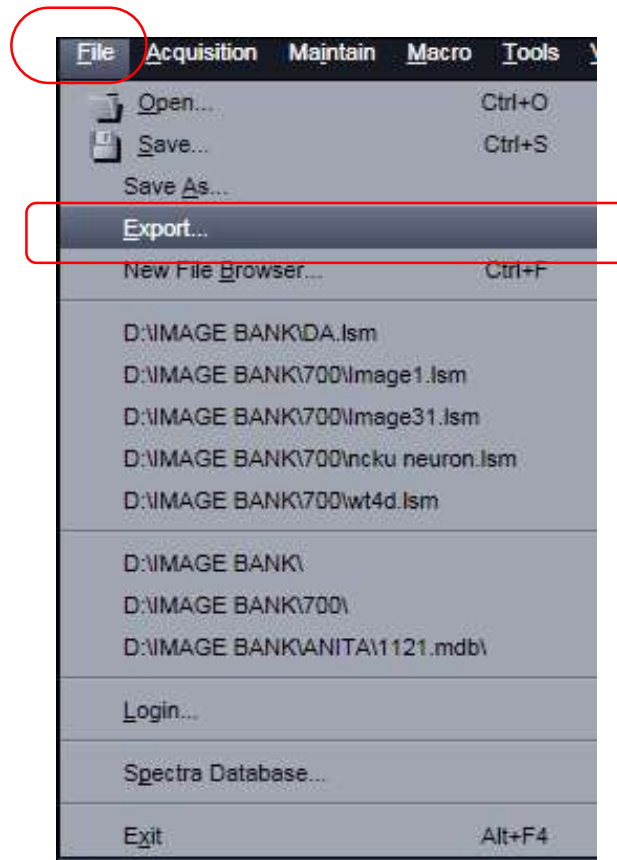
7.



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)

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。

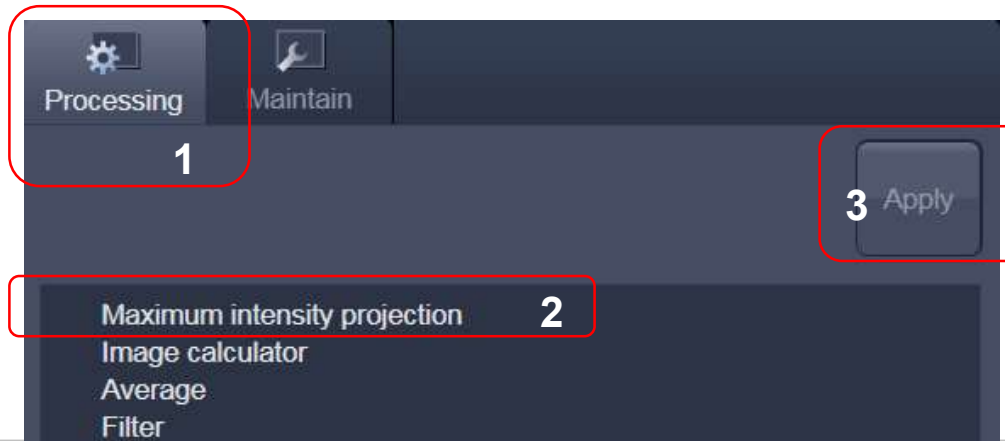
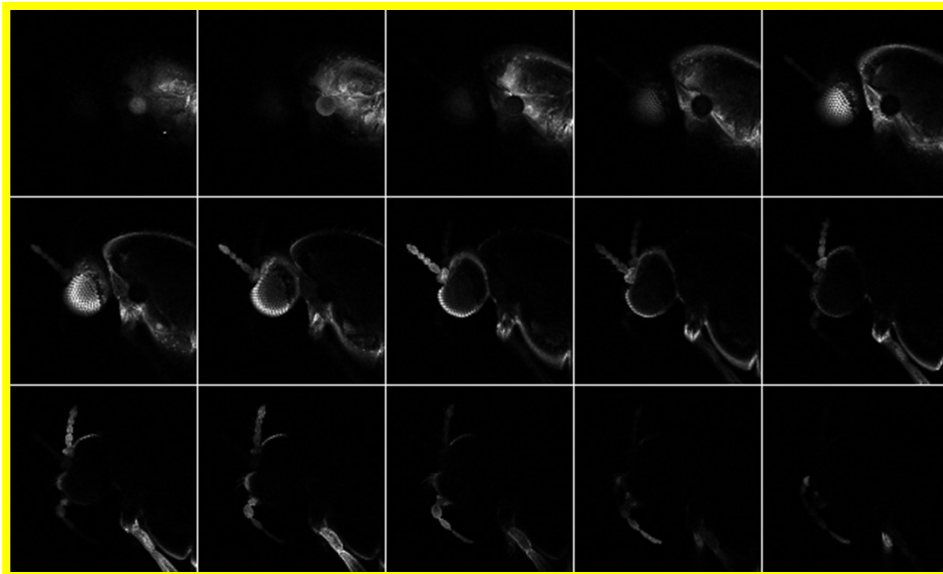
- Full resolution：包含尺規依照拍照時的畫素存檔（建議使用！）

- 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。

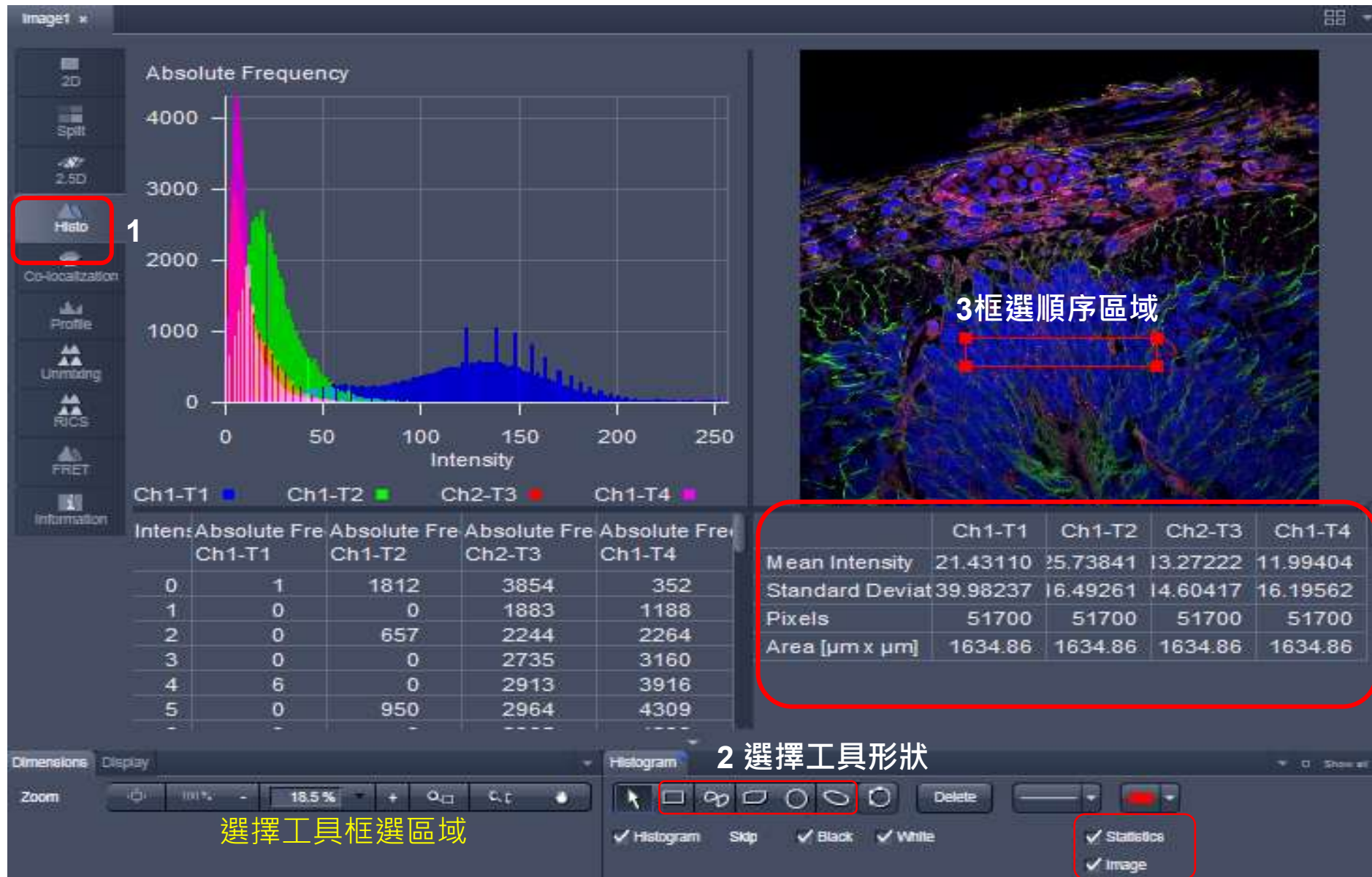
11. 把多張Z section疊成一張 添加尺規



製造全景深影像: Maximum intensity projection

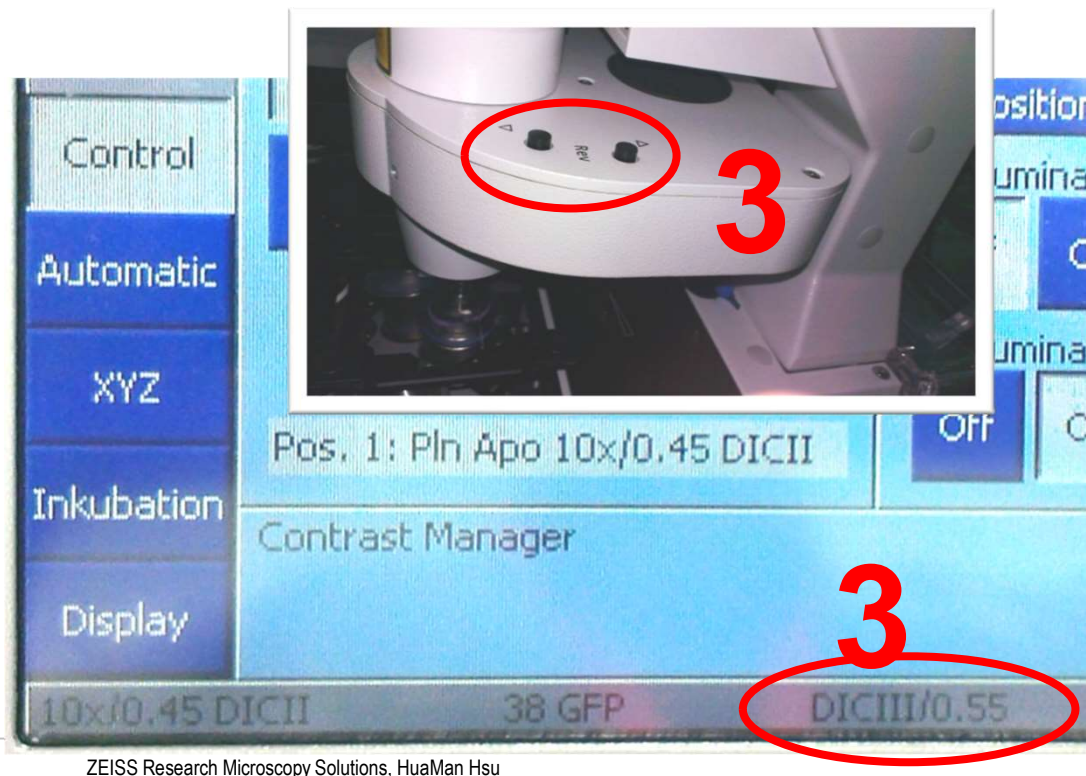


12. 測量intensity

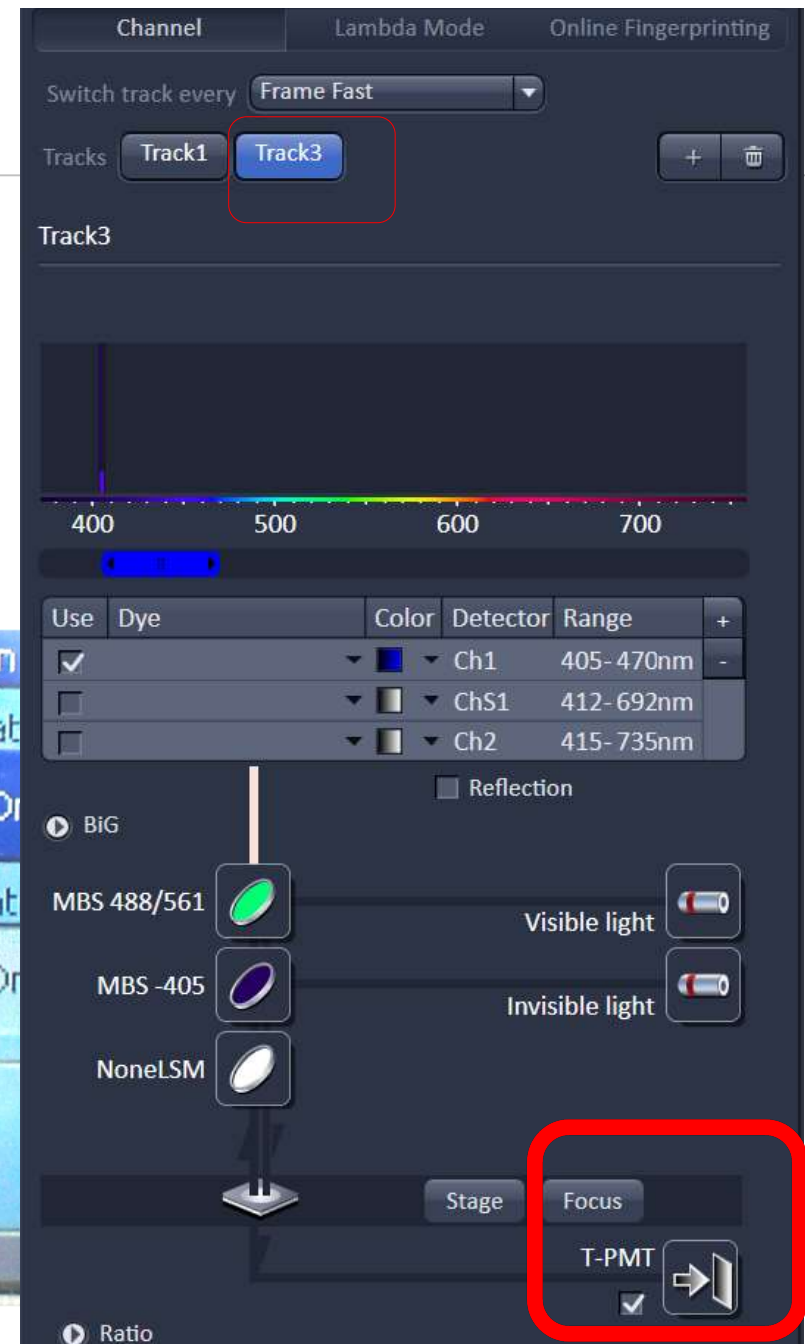


13.拍圖補充：倒立顯微鏡 加拍明視野/DIC 影像-1

1. 如果講求完美效果克拉校正要先做好!
2. 可選取任一個Track還合併拍攝透光DIC，右圖中示範合併至Track3中
3. 確認一下聚光鏡轉盤位置是否在BF/DICII (10x& 20x) 或DICIII (油鏡，40x以上)，可以在觸控面板上卻認並以聚光鏡右方之按鍵調整位置 (見下圖)



ZEISS Research Microscopy Solutions, HuaMan Hsu



13.拍圖補充:加拍DIC 影像-2

1



選取任一個Track還合併拍攝穿透光
DIC/BF · T-PMT

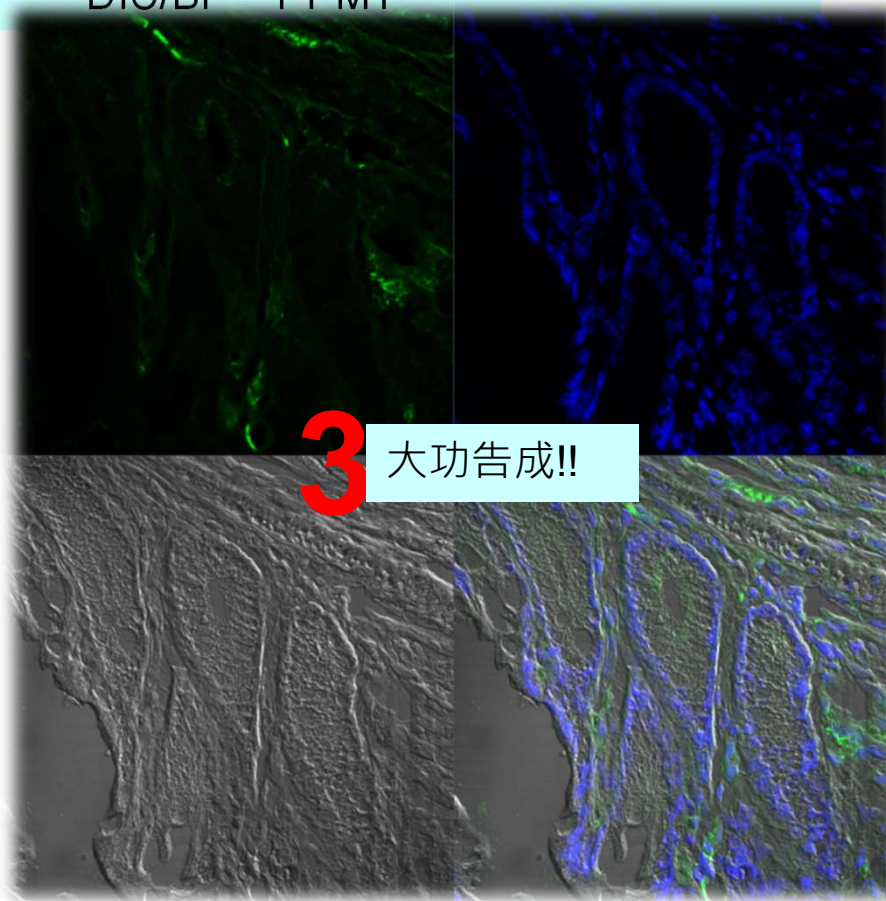


2

調整master Gain值，使影像有合適亮度

3

大功告成!!



14.補充: 使用ZEN blue輸出圖檔 (可以大量轉檔 省時省力)



Image Export *.ism檔 *.czi檔→ 圖檔(*tif, *.jpg)

1. 註冊帳號，下載 ZEISS ZEN blue lite，註冊認證信請注意可能被移至垃圾信件
 - <https://www.zeiss.com/microscopy/int/products/microscope-software/zen-lite/zen-lite-response.html> (輕薄版本)
 - <https://www.zeiss.com/microscopy/int/products/microscope-software/zen/free-60-day-version-of-zen-blue-edition.html#trial> (60天全功能版本 含多種影像處理功能)

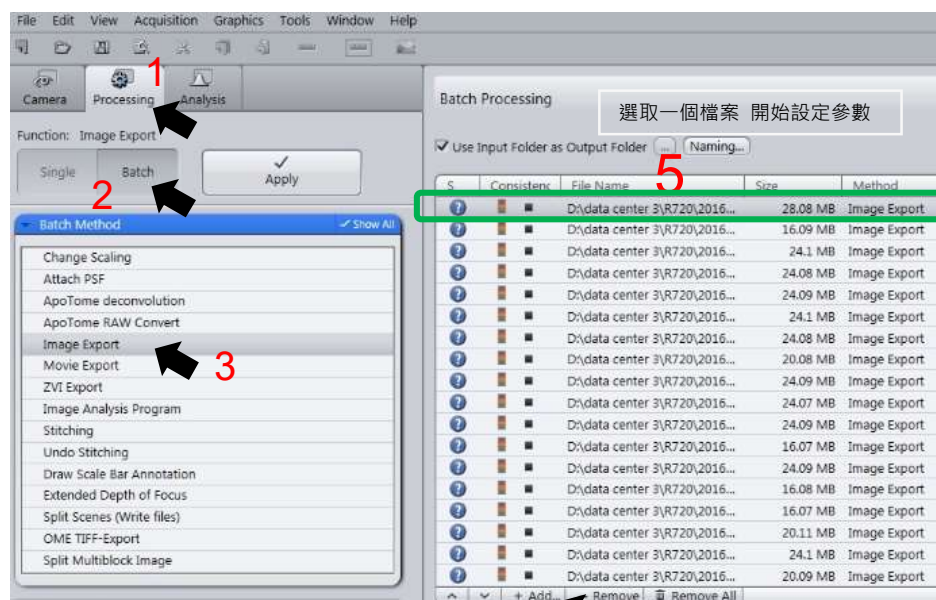
2. 轉檔教學影片

<https://drive.google.com/file/d/1B8MJXjVi1yHP85s8CGMxJPTaGNuM3NG4/view?usp=sharing>

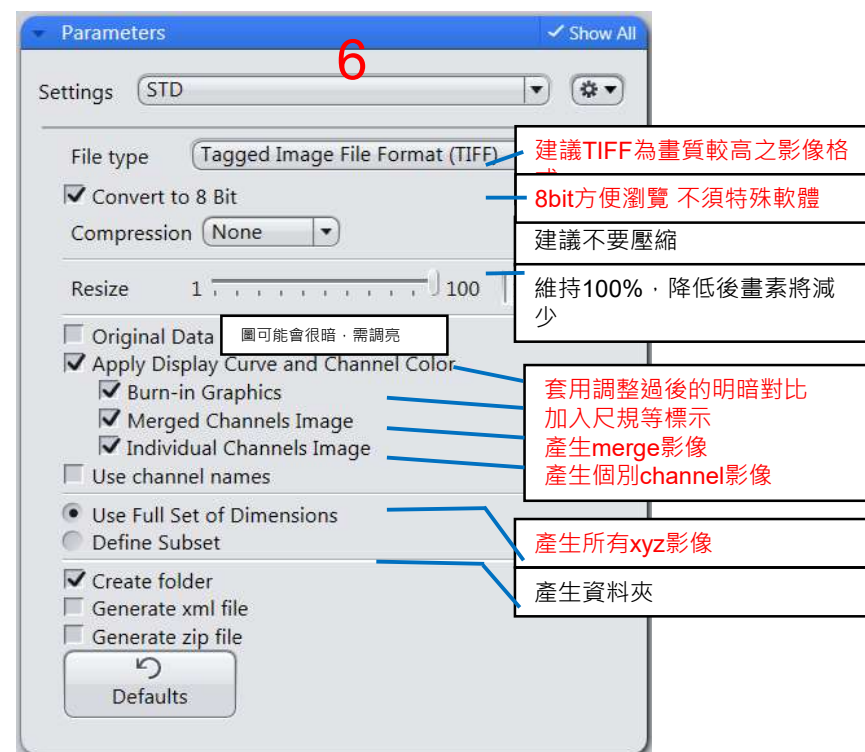


14.1 補充: 使用ZEN blue批次輸出圖檔

Image Export *.ism檔 *.czi檔→ 圖檔(*tif, *.jpg)



4 Add 加入你所想要轉檔的項目



建議TIFF為畫質較高之影像格

8bit方便瀏覽 不須特殊軟體

建議不要壓縮

維持100%·降低後畫素將減少

圖可能會很暗·需調亮

套用調整過後的明暗對比

加入尺規等標示

產生merge影像

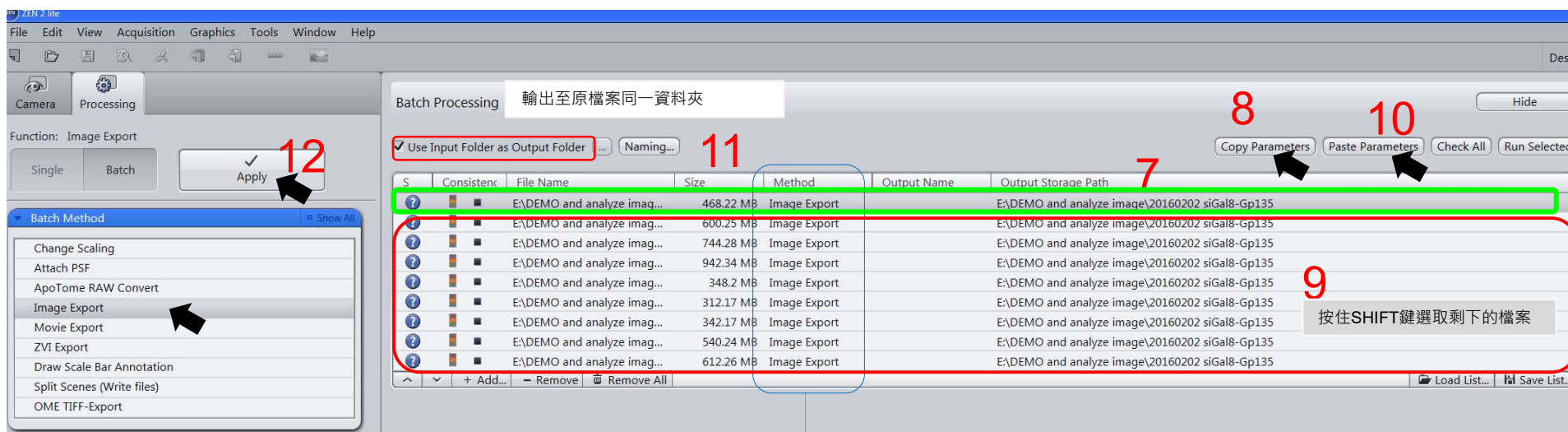
產生個別channel影像

產生所有xyz影像

產生資料夾

14.2 補充: 使用ZEN blue批次輸出圖檔

Image Export *.ism檔 *.czi檔→ 圖檔(*tif, *.jpg)



- 注意Method皆指定Image Export!!
- 7~10 將設訂好的參數貼至其餘檔案當中，若沒有做paste parameter的動作，可能會失敗!!