

活细胞工作站 ScanR 操作要点

1 开机

- 1.1 使用前以及使用后请在活细胞工作站使用群中拍照打卡。
- 1.2 开机时请按照 1 到 9 的顺序开机（若中途离开 3 小时以上，请将汞灯关闭），使用活细胞孵育装置请拧开二氧化碳气瓶。

2 使用

- 2.1 打开仓门，抬高显微镜，样品放入合适载具，盖上盖子。观察活细胞需要在水槽里加纯净水（<15ml），用油镜可以套上物镜保温套。显微镜复位，关上仓门。
- 2.2 打开软件-采集设备-设备设置，可查看光源信息。
- 2.3 右边点开显微镜控制，选择对应光源，右边滑块可调节光强。TPC 控制器面板确保 Shutter 开启。TPC 控制器面板右上角切换到眼睛，目镜下调焦。
- 2.4 样品台导航器调节位置更快。载入空文件。
- 2.5 显微镜控制-调节显示-勾选自动对比度。TPC 控制器面板右上角切换到相机，开启实时观察，调焦：**control+滚轮**(微调)，**control+shift+滚轮**(粗调)。8 位相机满镜 256，通过调节光强和曝光时间，将最大值控制在 100 以下（满镜容量前 1/3）。
- 2.6 四周有暗角，左边摄像控制-裁剪：一般 1800*1800，或更小。
- 2.7 预览完成后，关闭实时观察，采图前保存文件路径：流程管理-采集设置-流程/实验。设置每拍一个图的名称：文档名-流程/实验。定义实验名称。
- 2.8 多通道拍摄
 - 1) 添加通道，改变通道曝光时间后，需点“读取设置”更新或直接改曝光时间。
 - 2) 通道前的小相机符号表示当前拍摄通道。多通道预览时注意当前预览通道标识。点击“开始”，进行拍摄。
- 2.9 Z 轴拍摄
 - 1) 起点与终点模式：打开实时观察，设置跨越焦面的两个值。“建议步距”选择“应用”。
 - 2) 范围模式：范围输入一个值，其他设置同上。
 - 3) “扩展景深”建议应用到明场，荧光建议拍完后应用“最大亮度投影”。
 - 4) “通道前的 Z”，意思是先拍 Z、再换通道，建议固定样本勾选，相对较快。活细胞不建议勾选。
- 2.10 拼图和多点

- 1) 拍多点：左下角样品台导航器，调焦，右键添加当前样品台位置，即存储点。另一种方法：点加号，打开位置列表，点击添加的点，选择“移至位置”，调焦，更新 Z。
- 2) 拼图：样品台导航器，选“使用鼠标添矩形”，可放大缩小，点预览，调焦，更新 Z，多点聚焦右侧小三角下拉箭头选择密度，点右侧 AF 自动对焦，跳出对话框点“否”。注意对焦和信号强度。点 XY，点两边箭头确认自动对焦是否清楚。手动对焦：点箭头，调焦，即自动记录焦面，再点箭头手动对焦。关闭多点聚焦，勾上自动处理，点开始。

2.11 延时

- 1) 显微镜控制-ZDC 控件-点入，AF 选开，勾选“Z 漂移补偿”，单幅拍摄 ZDC 模式，如不拼图，就不勾选“多位置/图像拼接自动对焦”。XY 区域最后一个方块点亮，其他三个都不勾选。开启实时观察，添加点，对话框读取 ZDC 偏置，调焦，点确定，打开位置列表确认。
- 2) 设置时间间隔，勾选“尽可能快速”后，时间间隔为最小。生成的图带*表示未保存。

2.12 图片导出

- 1) 图片：文件-导出图像，可以选择拆分多通道，Z 可选层数，时间可选循环数。输出选 24 位 RGB 和映入信息（可带标尺），选择导出图像格式和保存路径。
- 2) 视频：文件-另存为选 AVI 格式，选项-选择播放帧数等。

3 关机

- 3.1 使用结束后，将物镜调到最小倍数 5 \times 。
- 3.2 关机时请按照 9 到 1 的顺序关机。使用油镜后需用擦镜纸擦干净，先用擦镜纸光面将大部分油去除，再用擦镜纸光面蘸取无水乙醇，从内到外画同心圆的方式，擦拭三遍以上，将油擦拭干净。
- 3.3 关机打卡，注意还需单独拍照汞灯，表明汞灯已关闭。**
- 3.4 将显微镜白色透明罩子关闭，防止灰尘进入。
- 3.5 将杂物（用过的擦镜纸，手套，样品等）全部带走。
- 3.6 离开房间前请关灯，并确认房间的门已经关好。

4 注意事项

- 4.1 汞灯的寿命是有限的，如果要长时间拍摄（如时间序列设置成过夜），可在选好视野，程序运行后，将汞灯关闭（汞灯只影响目镜观察，不影响四根激光管发射激光以及软件拍摄）。
- 4.2 处理数据只需开启电脑主机开关。
- 4.3 其他具体操作请参照抽屉中的操作手册。

5 经验

- 5.1 曝光值设定 50-100ms，不超过 200ms。选自动适配，鼠标分别放在细胞和背景上，观察右下角读数比值，大于 2 以上即可，否则可调光强。
- 5.2 使用 60 倍油镜，ZDC 不工作的话，可以去掉 AF，Z 轴扫描焦距上下 1um 范围 3 层，或 0.5um 扫 5 层。