一、按照红色标贴顺序开机





④激光器控制器









二. Ti2显微镜操作 (务必使用软件Lightpath切换观察模式)





光路设置

相机参数设置

显微镜控制

四、软件操作

1. 显微镜光路和通道切换(lightpath)

1) Eyepiece-DIA: 目镜下透射光(白光)观察

- 2) Eyepiece-EPI: 目镜下荧光观察
- 3) Fusion BT-DIA: (白光) 宽场成像
- 4) Fusion BT-EPI: 相机荧光宽场成像
- 5) Fusion BT-N-SIM超分辨成像

光路切换到2),选择荧光通道,肉眼找到标本; 光路切换到5),切换荧光通道,预览和拍照。

2. 显微镜控制(Ti2 Pad)

2.1 物镜切换

40x为空气镜,不需要加油 5号物镜为100x油镜,平场性更好 6号物镜100x油镜,极限分辨率更高 推荐使用6号位物镜拍摄SIM图像

2.2 PFS焦点稳定系统

点击PFS图标开关焦点稳定装置

3. 相机设置(Fusion BT-Pad)

只需设置曝光时间,其他参数无需更改。

Acquisition ×						
		Large Image	Save	Save As	Open	
	no nequire	Lange Innage		ourc / lotti	open	
●1E epiece - DIA ●2E ye	epiece - EPI 🛛 🕅	弓 Pusion BT - D	IA 👍 Fusio	n BT - EPI		
Fusion BT - N-SIM					🗲 Lightp	bath
					∎_+	Add
Fusion BT Pad		Ti2 Pad				
Format For Live 16-bit - N	lo Binning 🔽	!	40x	100x	100x	
Format For Capture 16-bit - N	lo Binning 🔽	1	2 3	4 5	6	2
Auto Exposure 200 ms		Zoom: 1 DIC Pris	lx m: Out			
Set Exact FPS 25	< 3.5	PFS				
Scan Mode Ultra-qui	et 🗖	Glass	Dichroic O)ffset		
🗹 ROI (102 4 x1024)	ROI Size	▼ PFS		7811 Q		
🗌 Denoise.ai		Filters	Or Range			
Temperature -8.0 °C	Commands	Turret-l	տ 🖂 🗖		\boxtimes	Ø
D-I EDI Pad		Turret-l	.0 🖂 📘	\times \boxtimes \square	\times	Ø
· · · ·	0, 95	EM Whe	eel1 🛞 🔵 🤇		$\otimes \otimes$	Ø
🙆 EPI 🔅 Configure	2					

五、SIM图像拍摄

1点击"Live"预览,预览模式选择"Moving"。 2 点击图像窗口上方的的" 🌆"按钮(自动调节图像亮度对 比度),可以看到标本和移动的条纹照明。 3调节图像的视野(在视野上鼠标拖拽),调焦(在视野 上鼠标滚轮)。 4调节图像亮度(分别调节曝光时间和激光功率)。 5 调节图像亮度时,务必以"Histogram"窗口中的亮度值作为 依据(推荐红色框所示值调节至4000到10000左右)。 6 完成图像调节后,点"Capture"拍照,选择"2D SIM"模式拍 摄9张原图,只提高XY方向分辨率,选择"3D SIM"模式拍摄 15张原图、同时提高XY方向和Z方向分辨率。

7 点击 "Reconstruct Slice", 重构SIM图像。

8可在"LUTs"中手动调节图像的亮度对比度,优化显示效果。





六、拍摄多通道SIM图像

1 按照前面所述方法,分别预览和调节好各个通道的图像,注意各个通道的SIM成像模式(2D SIM/3D SIM)要一致。

2 在"ND Acquisition"面板拍摄中勾选多通道标签。 3 勾选需要拍摄的通道,点击面板右下角"Run now",系统开始自动拍摄多通道原图; 4 如果开启了显微镜PFS,在此面板也要勾选PFS。 5 多通道SIM图像重构的方法和单通道SIM图像相 同。

ND Acquisiti	ion ×								
Experiment:	ND Acquisition								
λ:									
Save to File									
Path:	D:\DATA\wxf\20230606-sim Browse								
Filename:	kongbai003.nd2			ND2		Record	Data		
Custom	Metadata								
Order of Exp	eriment 🔻 🛛 Timing			1					
🔲 🕑 Time		26	Z &°∧ [🛛 🐺 Large Ima	ige				
Setup					🕂 Ado	90	🛉 🕴 🗙 🏷		
Opt. Conf.			Name		Comp. Colo	r	Focus Offset		
Fusion B	T - N-SIM:405		405				X		
Fusion B	T - N-SIM:488		488			· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	0		
Fusion B	T - N-SIM:561		561			-	0		
Fusion B	T - N-SIM:640		640				0		
			<mark>-</mark>						
L							<u> </u>		
Close Ad	tive Shutter during I	Filte	r Change		۷Ľ	Ise PFS			
🗌 Use Rati	Define Ratio								
							Advanced >>		
Load 👻	Save - Remov						🛷 Run now		

七、拍摄三维SIM图像

1 分别预览和调节好各个通道的图像,注意所有通 道的SIM成像模式(2D SIM/3D SIM)要一致。 2 在"ND Acquisition"面板拍摄中勾选Z序列拍摄标 签(红框所示),如果拍摄多通道Z序列图像,则 同时勾选多通道标签。 3定义Z轴范围,设置Z轴步进,使用固定推荐步进 0.125(最佳分辨率)、0.2(速度更快)。成像层

数需≥7。点"Run now"开始自动拍摄Z轴序列原图; 4 使用"N-SIM Pad"上的"Reconstruct Stack"进行Z轴 序列图像的重构,得到Stack 3D-SIM图像。

