

# BX53 正置荧光显微镜操作步骤

1. 开机：开机顺序 1-2-3-4，刷卡开始实验
  - 1、 控制器开关 2、 显微镜开关
  - 3、 荧光光源（用到荧光就开）：打开 HGLGP 光源背后开关至“I”位，点正面右下方按钮，蓝色指示灯亮即打开光源，调节光强调节旋钮
  - 4、 电脑开关：开启电脑，打开 Cellsens standard 软件。

## 2. 观察样本

### 2.1 明场观察（BF）

- a. 确认光路切换拉杆是未拉出状态，打开视场光阑盖；
- b. 在明场下找出目标并聚焦，调节合适的光强度（推荐使用 PRESET，将 LBD 滤光片推进光路，通过 ND6 、 ND25 减光片改变亮度），使样本观察最佳；
- c. 检查和调整科勒照明；
- d. 拉出视频调节钮，可在电脑上看到明场图像并拍照。

### 2.2 微分干涉观察（DIC）

- a. 将样本放在载物台上；
- b. 选择相应倍数的 DIC 物镜和聚光镜内的 DIC 环；
- c. 将起偏器、检偏器、DIC 滑块移入光路；
- d. 经过粗、细准焦螺旋聚焦得到清晰的图像。

## 2.3 荧光观察 (FL)

- a. 将减光片移出光路;
- b. 经2.1明场观察找到清晰图像;
- c. 将明场光源关闭, 或用挡光板将光挡住;
- d. 将荧光激发块转盘旋转至所需激发块;
- e. 打开荧光快门“Shutter”, 看到有荧光从物镜射出;
- f. 移动样品, 细准焦微调聚焦观察荧光;

\*FUW: UV 激发, 观察蓝色荧光

FBW(A); Blue 激发, 观察绿色荧光

FGW(A); Green 激发, 观察红色荧光

## 3. 拍照、保存数据

### 3.1 图像的采集及保存

- a. 点击“实时观察”按钮;
- b. 调节曝光时间, 建议先点击“自动曝光”找到样本, 再通过“手动曝光”适当调节;
- c. 在进行BF /DIC观察时, 可点击白平衡按钮, 在图像空白区域点击一下, 可看到图像的背景色自动去除;
- c. 点击拍摄按钮进行照片采集;
- d. 保存图片, 建议tif 格式。

### 3.2 显微图像处理

- a. 添加标尺: 在预览时点击“视图”-“标尺”; 随后点击“拍

照”，再点击“图像”-“印入信息”，并选择“是”之后再对该图像进行保存，标尺信息就会印在该图像上。

b. 测量：“视图”-“工具窗口”-“计测”；

c. 计数：“视图”-“工具窗口”-“对象计数”；

d. 彩色通道叠加：打开多张荧光图像，“图像”-“组合彩色通道”

#### 4. 关机

a. 退出Cellsens standard 程序，关电脑；

b. 关闭显微镜开关（包括汞灯开关）；关总电源；（注意：关闭汞灯开关：持续按住on/off键，蓝灯消失，待300s倒计时结束，关闭后边的电源开关）

c. 清洁物镜、载物台等；

d. 待灯室温度降至室温，盖上防尘罩。

#### 5. 其他

##### 5.1. 柯勒照明的调节

a. 将样品放到载物台上，10×物镜聚焦清晰；

c. 将视场光阑调到最小；

d. 转动聚光镜高度调节钮至合适高度（视场中出现一正多边形）；

e. 转动两个聚光镜对中螺丝，将视场光阑图像移到视场中心；

- f. 逐步顺时针打开视场光阑，使正多边形图像与视场相切；
- g. 将视场光阑打开至最大，完成调节。

## 5.2. 注意事项

- a. 明场光源请将光强调节至最小后关闭；
- b. 荧光观察的汞灯开与关之间均需间隔**30** 分钟以上，切忌短时间内频繁开关。
- c. 关机后，待灯室冷却到室温后再盖防尘罩，切记！