体视荧光显微镜 Zeiss AXIO ZOOM V16

1. 打开光源：2个脖颈式顶光源，1个底光源（用于透明样品）；顶底光源转换：顶光源接口处的圆形旋钮。光源强度可用面板上的旋钮调节。
2. 打开X-CITE荧光光源（只用于荧光观察）。打开电脑旁边的控制器。打开电脑。
3. 遥控手柄：左右：放大倍数

上下：调焦

手柄上部两个旋钮：左边粗调，右边细调焦距

1. 打开电脑软件：ZEN
2. “跳过校正”：因为没有电动载物台
3. 透射光：直接用顶光源/底光源；选择“BF”;

最大倍数：1倍物镜：1×7×16（物镜放大）=112倍

2.3倍物镜：2.3×7×16=16.1×16=257.6倍

1. 荧光：FITC, RHD, DAPI，光路已经调好，注意观察时要盖上滤光片护眼
2. 相机：“定位”
   1. 拍摄明场照片：
      1. 用白底拍摄，调节顶光源/底光源照亮样品；
      2. 目镜观察；
      3. 在电脑上观察，选择“预览”；
      4. 调节“曝光时间”，一般明场为20~30ms;
      5. 调节“白平衡”，先点击“3200K”（这是色温的标尺）,还原初始值颜色，标准化，然后调节，有以下两种方式：
         1. 点击“挑选”，鼠标变成笔，在图片应该是白色的地方点一下
         2. 挪出样品，在白场中点击“自动”，然后把样品放进来
      6. 点击“拍摄”，采集单通道图像
   2. 拍摄荧光照片：
      1. 用黑底拍摄；
      2. 将顶光源/底光源 shutter关闭；
      3. 选择相应的荧光：FITC, RHD, DAPI
      4. 选择“预览”，注意荧光没有白平衡（因为黑底，但要点3200K还原初始值），只有曝光时间；
      5. 图像对比度可先调节：Gamma值调为1.0；
      6. 点击“拍摄”，图像对比度可调节：最大/最小 或 最佳；
3. “定位”里拍摄单通道，“采集”拍摄多通道：

选中多个通道，然后一个通道一个通道依次调节曝光时间，最后点击“拍摄”

1. 保存图像：

a) 单个图像保存：“文件”→“另存为”

“处理”→“参数Tiff”→“嵌入图形”→“应用”

“输入”→“设置自动输入 打钩”

b) 多个图像：“批处理”→“单个文件导出”→“+添加”

调节一张图像的参数后应用到其他图像：“复制参数”→“粘贴参数”→“导出文件夹”→“应用”

1. 采集Z图像：

明场：“采集”：

“Z轴序列”：设置结束点/开始点，层高，Interval；

点击“开始实验”

“处理”→“扩展焦深”

“参数”→“小波算法”

“z-stack alignment”：单根光路，“无对齐”或者“正常”

点击“应用”

景深分析：边缘白线，可以截图去掉（ctrl→放在新窗口）