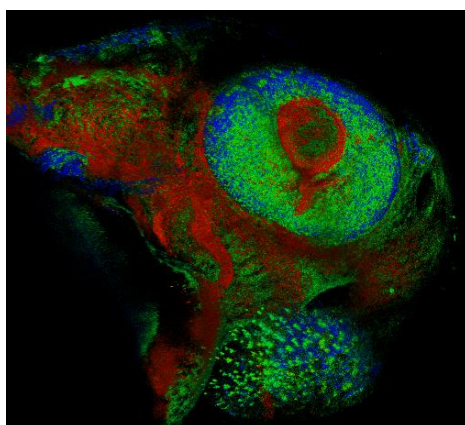


From Eye to Insight

Leica THUNDER DMI8

快速操作手册



徕卡显微系统（上海）贸易有限公司

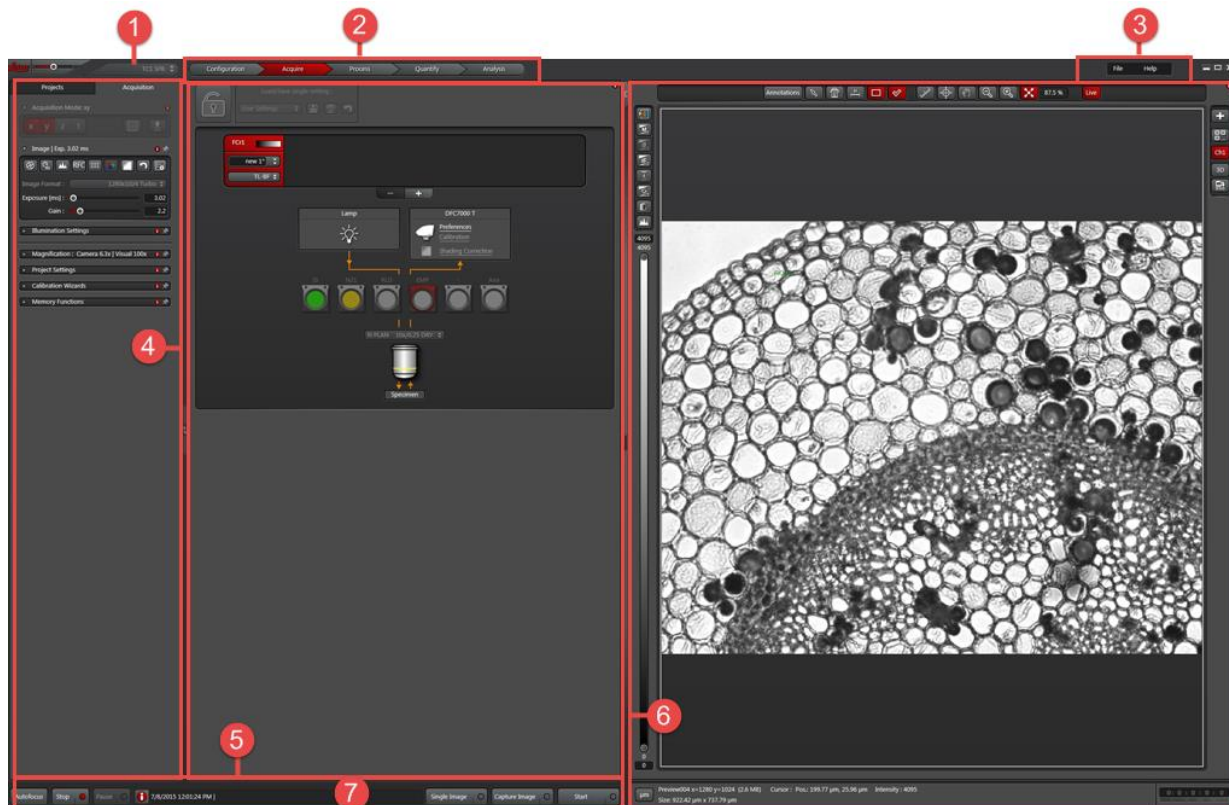
2020年01月

常规使用

1、开机顺序

①显微镜主机 CTR 机箱开关 ②电脑电源 ③EL6000 荧光光源电源（开关要求，打开光源半小时后才能关闭，关闭半小时后才可以打开，如果不拍摄荧光可以不开 EL6000）。

2、打开 LAS X 软件，使用默认设置进入软件



①拍摄参数设置界面

②观察方法选择和荧光通道选择

③预览视图，通过 over/under exposure 观察曝光是否正常，避免过曝发生

3、拍摄参数设置



①Acquisition Mode 选择拍摄模式；Z——3D 拍摄，T——时间序列

②Image Format 成像图像格式，在荧光较亮和明场下使用最大分辨率拍摄；当荧光较弱时，可使用 Binning 像素融合模式拍摄；

③Live Format 预览图像格式；

④Exposure[ms]曝光时间

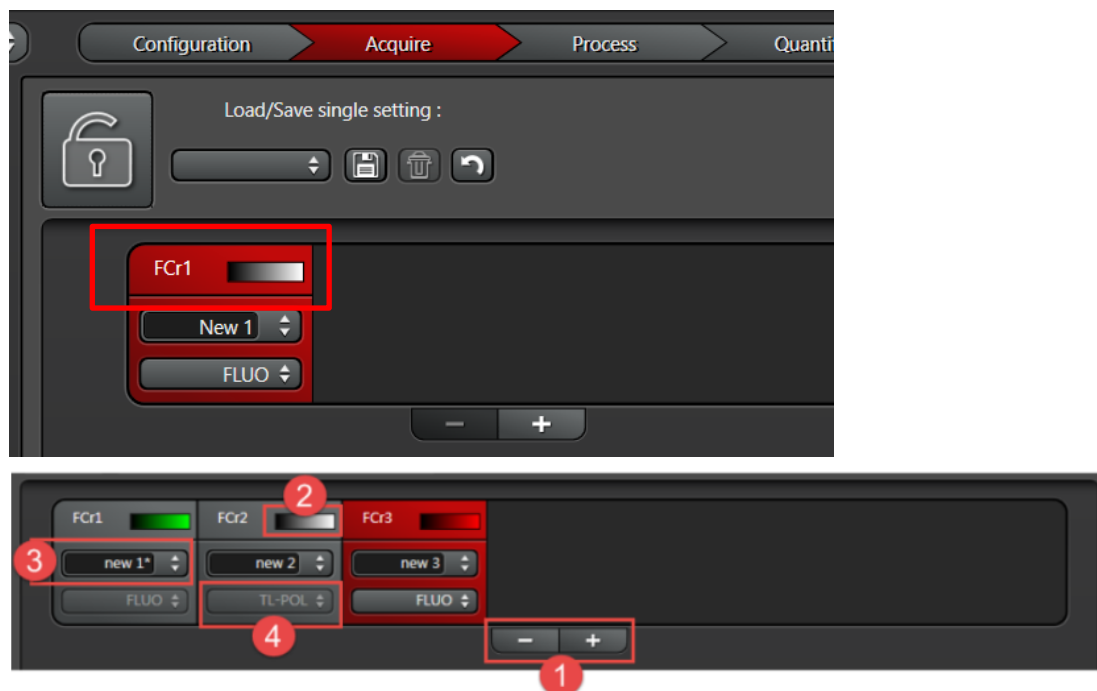
⑤Gain 增益，增益可以提高相机灵敏度，但是不会提高图像信噪比，因此在荧光样本信噪比高的情况下可以通过提高增益来提高图像亮度；

⑥Color Mode and Gray Mode，明场下推荐使用彩色模式，荧光图像推荐使用黑白模式，

通过添加伪彩区分不同荧光通道。

⑦Projects 保存图像的 Lif 文件并导出 TIFF 格式图像。

4、单通道与多通道荧光图像采集设置



①单击+按钮添加新通道。最多可以使用 8 个通道。单击-按钮删除当前选择的通道。FCr 作为图像采集的一部分，您可以为每个通道配置单独的拍摄参数，包括曝光时间、增益、激发光强度。

②双击渐变色彩条可以更改当前通道伪彩。

③单击下拉列表可以加载之前保存的通道设置。

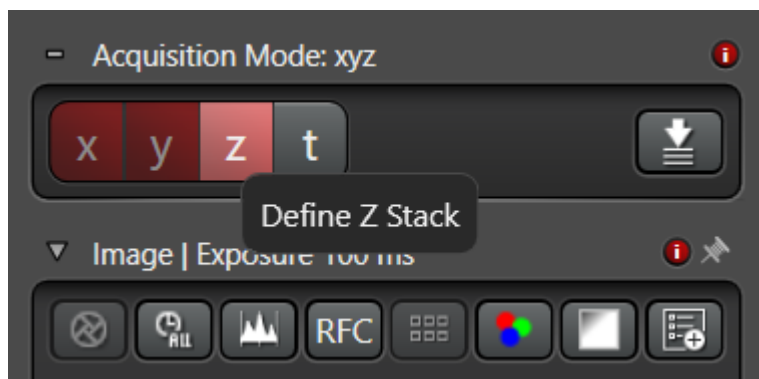
④单击下拉列表可以选择不同的观察方法(明场(BF)、相差(PH)、偏光(POL)、荧光(FLUO))。可用的观察方法的类型和数量取决于系统及其配置。

THUNDER 参数设置：



THUNDER 参数设置部分，三种方法
Instant Computational Clearing 适合快速成像，可去除非焦信号，提高信噪比；
Small Volume Computational Clearing 适合单层细胞样本，可以同时提高图像信噪比和分辨率，可以识别精细结构；
Large Volume Computational Clearing 适合有厚度的组织切片样本，可拍摄较深的信号，可以同时提高图像信噪比和分辨率。
 Mounting Medium 为封片介质，勾选实际使用的介质。

5、Z Stack 数据设置采集

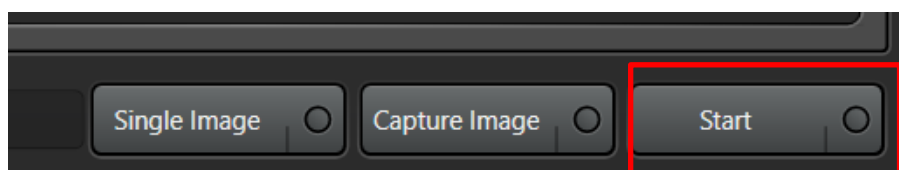


在 Acquisition Mode 下选中 Z 模式



使用 Smart Move 调节 Z 轴位置，定义需采集样本上下焦平面分别为 Begin、End。

Z-size 显示当前设置下需要拍摄的 Z 轴长度。Z 轴步进尺寸使用系统默认配置——System Optimized。



点击 **Start** 开始采集 Z Stack 数据；Single Image 只采集当前焦面单通道图像；Capture Image 只采集当前焦面所有通道图像。

6. 图像文件的保存及输出

6.1 图像文件的操作：

“Acquire”的“Project”下显示采集的所有图像文件名称，默认本次开机后采集的所有图像都放在一个文件夹下，右键点击文件名，可进行多种操作。如下图：

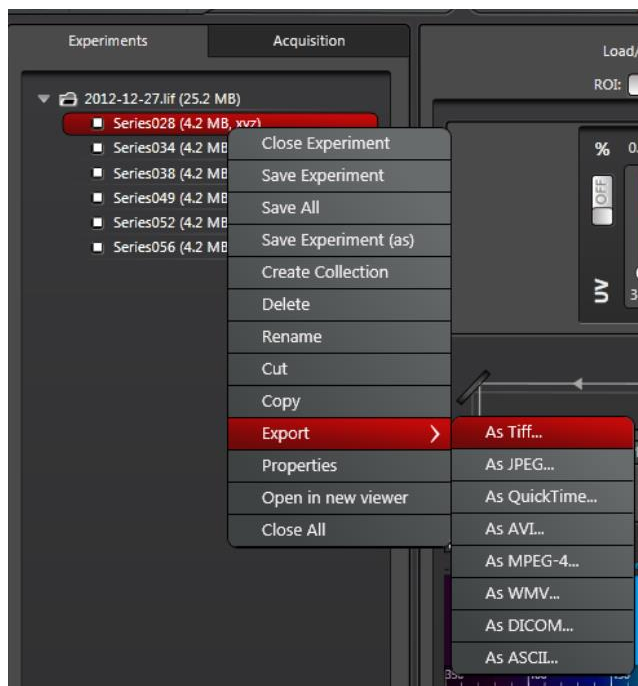


选择“save Project”即可将当前文件夹下的所有图片保存为一个文件，文件保存格式为*.lif 原始文件，只能通过Leica LAS X或其他专业图像数据处理软件打开。

6.2 图像文件的输出:

右键点击图像文件名,选择”Export”进行图像输出,可输出成图片(.tiff或.jpeg),三维或多维图像还可输出成视频(QuickTime、.avi、MPEG-4、WMV等)。如右图。所得文件可用普通图像浏览软件打开。

选择”As Tiff”或”As JPEG”,出现如下图的对话框,可选择输出路径、所需标尺及位置等。确定后,点击”OK”,即可将图像输出至指定路径。

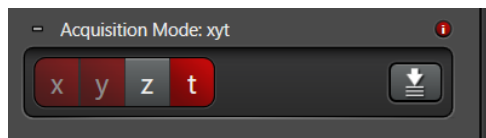


单色图和merge图需要分两次导出,勾选overlay即导出merge图,不勾选即单色图。

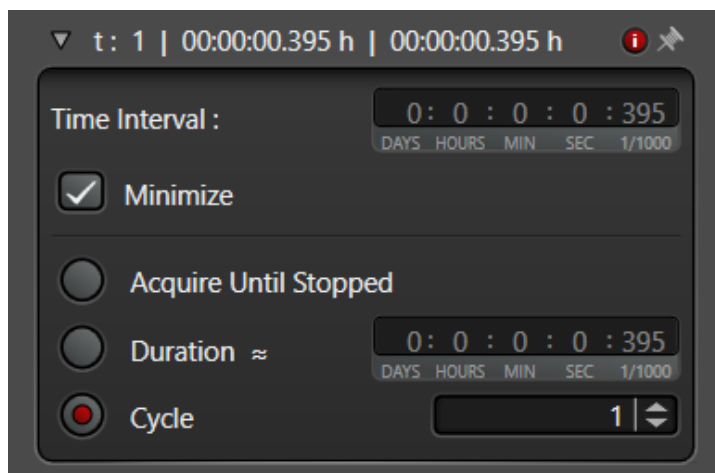
7、关机顺序：①显微镜物镜切换至最小倍物镜，载物台降到最低位 ②关闭电脑，关闭 CTR 电源 ③关闭 EL6000

高端应用

1、时间序列数据采集



在 Acquisition Mode 下选中 **t** 模式



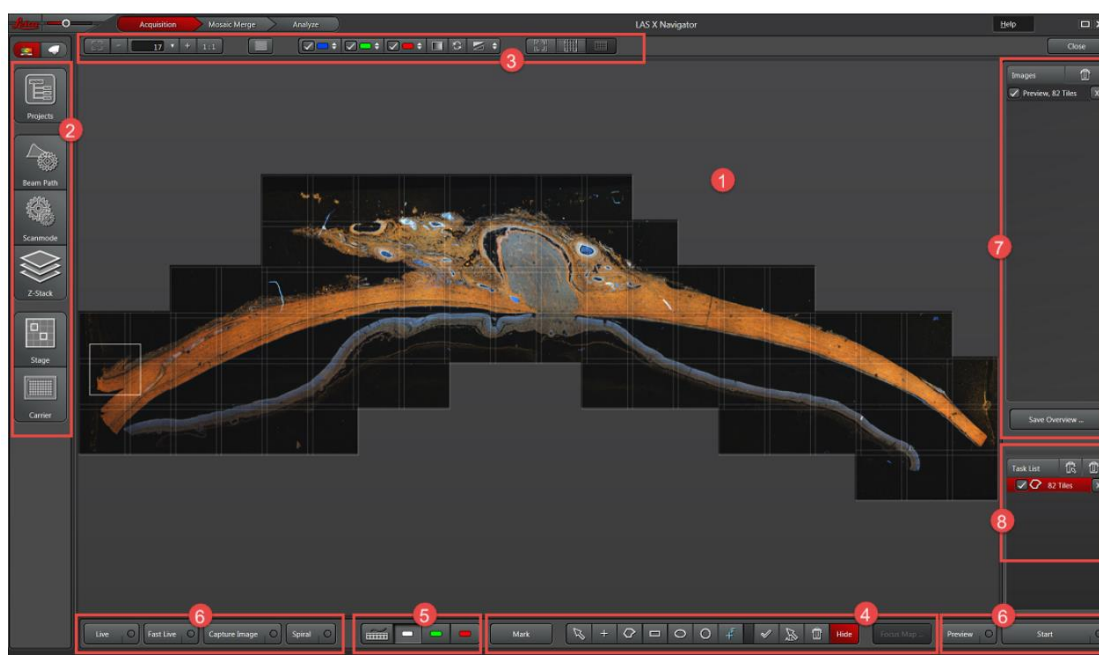
Time Interval 选中 Minimize 右侧显示的时间为拍摄所有通道所需的最小时间。如需拍摄间隔时间 5min, 则将 min 改为 5;

Duration 拍的时间序列总时间

设置完成，点击 Start 开始拍摄时间序列数据

2. 拼图/多点实验 (Navigator)

1.1 界面介绍



- 1 图像显示界面：使用鼠标滚轮放大缩小；左键双击预览当前视野
- 2 采集模式、光路等设置缩略图

- 3 图像显示参数调节
- 4 点、拼图区域选择、focus map 设置
- 5 控制面板参数设置
- 6 图像采集
- 7 图像列表
- 8 任务列表

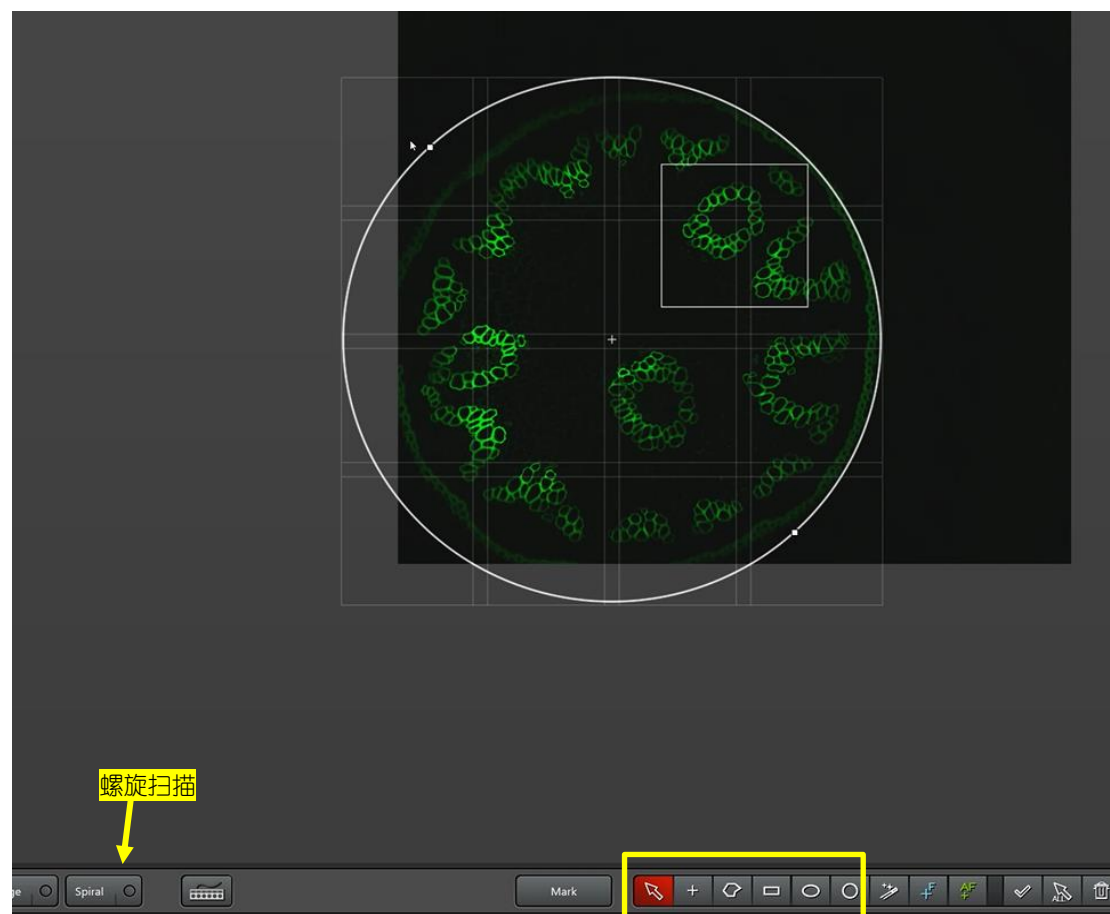
1.2 拼图功能

1.2.1 在 acquire 中设置好光路和参数

1.2.2 使用螺旋扫描找到目标区域

1.2.3 选择感兴趣区域，可使用矩形、圆形、不规则形状等进行选择

1.2.4 修改采图参数，start。可到 project 中查看拼好的图像。可以修改拼接算法对拼图结果进行修正。



1.3 Focus map 功能

如果样品不平，可使用 focus map 功能进行调整。

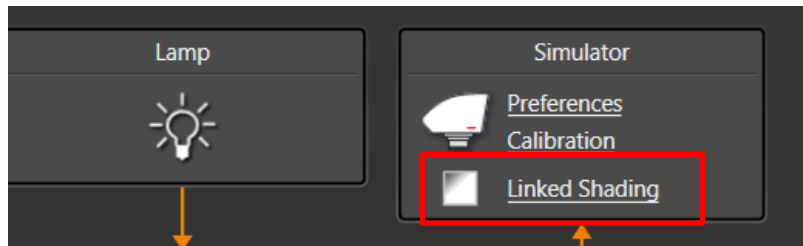
1.3.1 选择拼图区域

1.3.2 使用+F 键选择需要调整 Z 轴的视野

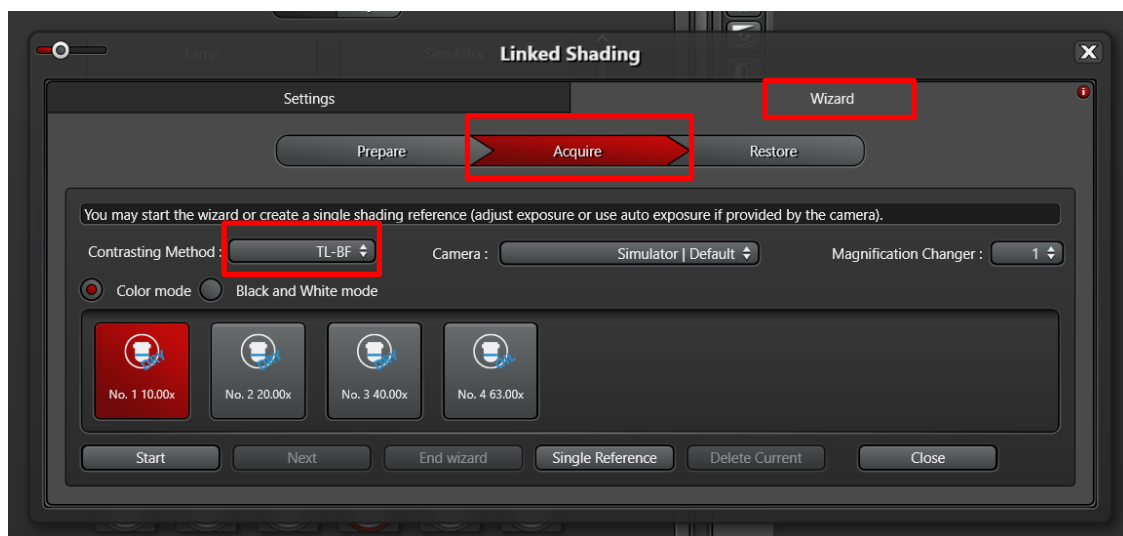
1.3.3 选择 focus map，双击条目，live，调整 Z 轴使焦面清晰，set Z 使系统记住当前焦面。如有多个位置可依次添加，或使用 autofocus 选项。



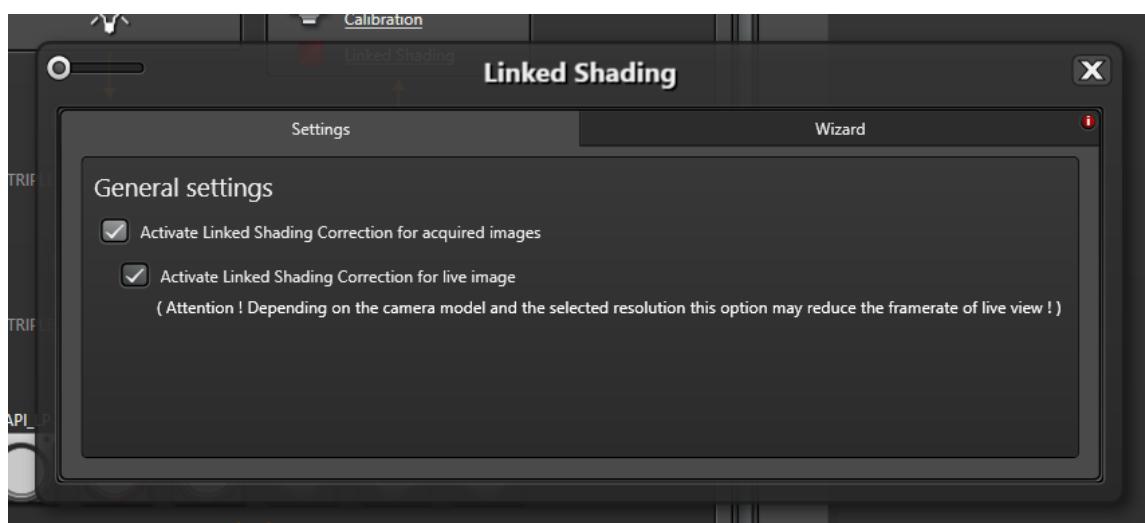
3、拼图阴影校正



点击 **Linked Shading** 进入阴影校准界面，选择 **Wizard**——**Acquire**——**TL-BF**，选择需要校准物镜，在 **Live** 模式下调节曝光和 **Gain** 使图像处于低曝光值，点击 **Single Reference** 开始阴影校准。校准完成物镜显示绿色亮点



开始 **Navigator** 拼图前，打开 **Linked Shading** 勾选 **Activate Linked Shading Correction for acquired images**。且 **Linked shading** 图标显示绿色



注意：荧光阴影校准需要**CHROMA**专用标准荧光玻片。