

# 激光共聚焦显微镜操作规程



## 一、仪器名称




FV1000 激光共聚焦显微镜，日本 Olympus 公司

## 二、仪器功能

本仪器主要应用于细胞生物学、生物化学、药理学、遗传学和材料学等领域，可进行平面扫描（xy）、时间扫描（xyt）、三维扫描（xyz）及三维重建等，具备三个荧光共聚焦通道和一个高反差 DIC 透射光通道，同时具备一体化全内反射显微镜模块（TIRF）。

## 三、操作规程

- 1 打开稳压电源机箱后部按钮，长按机箱前部 **On** 按钮，启动稳压电源。
- 2 依次打开扫描单元控制器，电动载物台和激光器（请根据染料的激发波长选择合适的激光器，有钥匙的激光器应接通开关、再打开钥匙）。
- 3 打开电脑，双击启动 Fleoview 软件 ，进入用户界面。
- 4 将样品置于显微镜载物台上，使用手控面板  选择物镜放大倍数，点击  图标，进行标本聚焦。
- 5 点击染料选择按钮 。在下拉列表中，双击选择用于观察的荧光染料，点击 **Apply** 进行应用，点击 **Close** 按钮关闭控件。
- 6 最多可同时选取三种应该染料，若要同时得到荧光图像和 DIC 图像，勾选 **TD1** 按钮。
- 7 点击软件中的  图标，选择荧光滤色片，进行荧光观察。
- 8 选择 **AutoHV**，并选择扫描速度。
- 9 点击 **Focus×2**，进行快速扫描预览按钮，鼠标滑块调节测器的灵敏度 **HV** 及背景补偿值 **Offset**。
- 10 点击 **Stop** 按钮停止扫描。
- 11 点击 **XY Repeat** 按钮取得一幅图像，右击图像，选择另存为保存该幅图像。
- 12 获取 3D 图像：重复如上步骤 1-8。
- 13 点击 **StepSize** 和 **Slices**，输入扫描厚度及扫描层数
- 14 点击  和  按钮上移焦点位置。当图像显示到达上限时，点击 **Set** 按钮确定。
- 15 点击  和  按钮下移焦点位置。当图像显示到达下限时，点击 **Set** 按钮确定。
- 16 点击 **Stop** 按钮停止扫描
- 17 选择 **Depth** 按钮，点击 **XYZ** 按钮取得图像。

- 18 点击 **SeriesDone** 按钮,“3D View-LiveImage(x)” 3D 界面就出
- 19 图像分析: 双击资源管理器中要选择打开的文件。
- 20 点击按钮  并选择 , 点击按钮 , 点击图像的同时, 拖放此比例尺到一个特定的位置。
- 21 点击手柄的左端或右端, 移动鼠标, 选择比例尺并右击选择属性的设置, 设置具体的比例尺属性。
- 22 要保存此图像, 右击此图像, 选择 **Save Display** 并命名。
- 23 拷贝实验结果, 退出软件。
- 24 关闭光管电源(先关钥匙, 后关开关), 多线氩离子激光器一定先关钥匙, 让风扇继续工作散热, 待风扇自动停止后方可关闭电源开关。
- 25 依次关闭扫描单元控制器、电脑及稳压电源。
- 26 关闭电源, 关闭门窗, 填写使用记录, 打扫室内卫生, 经实验管理人员确认后方可离开。

#### 四、注意事项

1. 预约时, 请注明激发波长、样品信息、联系电话等, 如样品有其他不稳定情况请事先说明。
2. 样品载体厚度一般为 0.17mm 盖玻片。
3. 操作仪器前, 需详细阅读使用说明书, 并通过专业培训方可独立上机操作。若实验过程中出现异常情况, 请及时联系本实验管理人员。