

## 活細胞影像系統 Leica AF6000 LX 操作注意事項：

### 1. 活細胞培養系統：

- 開啟 CO<sub>2</sub> 鋼瓶。
- 開啟溫度、CO<sub>2</sub> 控裝置。(約需 2 小時達穩定)
- CO<sub>2</sub> 經過的水瓶內換上乾淨的水
- 注意培養箱內水盤是否有水。

### 2. 開機：

打開 chamber 上蓋，鏡臂 往後推。

- 開啟 PC、OM(顯微鏡)、CCD、Focus、螢光光源。

注意鏡頭有無降至最低

注意：顯微鏡電動載物台 initialize 時易碰撞 chamber 邊緣。

### 3. 開啟軟體：

LAS AF → OK → initialize ? → yes

注意：顯微鏡電動載物台 initialize 時易碰撞 chamber 邊緣。

### 4. 放置 sample。

### 5. 軟體操作

**acquire**

**set up**

#### ● Optical zoom

切換物鏡倍率

找到 image

#### ● Experimental settings

- same intensity for same filter cubes
- use sequencer board
- use sequencer timestamp
- single image mode
- enable smartmove control during acquisition

#### ● Z move

- Lamda than Z (速度較慢，但 Z 較準)
- Z than lamda (速度較快)
- Apply relative focus correction (在不同 Fcr channel 設定不同的 focus)( Z 軸序列拍攝設定在"Z wide")

#### ● Sutter

- After each image

## Acquisition

- 設定 Fcr
  1. 選擇欲使用的對比模式 (TL-BF、TL-PH、TL-DIC、Fluo)  
若選擇 Fluo，請選 filter cube
    1. Tri – 再選 excitation filter 1 ( B, G, or R)
    2. Fu 2 –再選 excitation filter 2 ( 340, 380)
    3. Tx2
    4. Y5
  2. 軟體模擬套色
  3. Live preview，調整曝光時間及 CCD gain 值
    - Binning – 1x1, 2x2, 4x4 (可調整 camera 解析度、曝光時間及檔案大小)
    - Exposure – 設定 exposure time
    - EM gain – 調整 gain 值
    - FIM – Fluorescence intensity manager 調整螢光強度(調至 5)
      - Auto-exposure
      - Same exposure for all Fcr
      - Intensity vs. pixel 可調 gamma 來降低 background
    - RFC relative focus correction (在不同 Fcr channel 設定不同的 focus)  
(先 uncheck **experimental settings** 下的  **use sequential board** 並 check z movement 下之  **Apply relative focus correction** )
    - Camera configuration 請不要動
- 新增 Fcr(可以設定多種波長),重複上述步驟 1~3
- 4. Z 軸序列拍攝設定
- 5. 多點/拼圖拍攝設定
- 6. Autofocus 拍攝設定(若沒有 Z 軸序列拍攝設定)  
設定 – speed vs. accuracy
  - Global vs. local
  - Z wide
  - t – first vs. every cycle
  - position – first vs. every position
- 7. Single image, capture。拍攝單張影像。
- 8. 時間(T)序列拍攝設定。請先計算拍攝總檔案大小不可超過 2G。
- 9. Start (開始拍攝)
- 10. 存檔 (檔案一律存於 D:\user\month(年月)\date 年月日)。

## 6. 關機：

- Close LAF 軟體
- 資料燒錄 (請自行攜帶可讀寫式光碟片以儲存資料)
- 取下 Sample
- 將鏡頭降至最低，並清潔鏡頭(若使用油鏡)
- 關螢光光源、溫控裝置、CO<sub>2</sub> 裝置、OM(顯微鏡)、CCD、Focus、PC。