



尼康共聚焦显微镜AX

NIS-Elements 5.4快速上手指南

注：此手册旨在协助新用户快速上手操作，全部及详细功能介绍详见完整版操作说明。



开关机

按标签序号，顺序开机，倒序关机。



1. Ti2显微镜操作 (务必使用软件Lightpath切换观察模式)

以下仅标注常用的操作功能，其他功能可能倒置光路混乱（可使用软件切换LightPath修复）

通用操作：

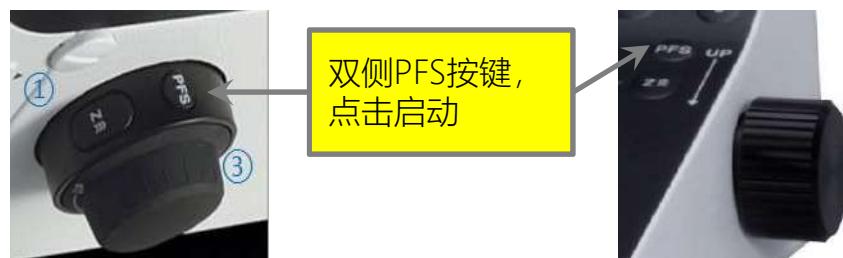


Eyepiece-DIA:



PFS:

但接近焦点时显微镜会有报警声提示



Eyepiece-EPI:



PFS指示灯闪烁——未锁定焦点
PFS指示灯常亮——锁定焦点
如偏离焦点，使用调焦旋钮继续调焦！

2. 软件界面



布局切换

已打开的图像

图像显示调节

图像窗口

多维图像拍摄

图像拍摄及保存面板

光路切换

显微镜控制

共聚焦成像参数调节

扫描区域设置

NIS-Elements AR [Z002630] Search [Ctrl+F3] Z002630 X

Compact Advanced

File Edit Acquire Calibration Image ROI Binary Measure Reference Macro View Devices Window Applications HCA/OBS Add

Focal Adhesions_2 cells.nd2 Focal Adhesions_2 cells - Deno... X

1:1 206%

Live Capture Find ND Acquire

Eyepiece - DIA Eyepiece - D-LED1 AX Lightpath

AX Pad Experiment Setup... Device Setup... 4color Signal / Shot Noise

AutoSignal Use / Unuse Speed Quality

Scanning Bidirectional Unidirectional

Averaging 1 2 4 8

Dwell time 2 3.2 4 6.4 8 16 32 128

Channel Series

cys 10 TC Setup

488 nm FITC 499-551 nm

Gain 10.4

488nm TD Gain 25.2

Pinhole 1.0 AU @ 488 nm

Pinhole Size [AU] 1.0

Optical Res. 0.39 μm Optical Sect. 2.23 μm

TIRF Pad Nosepiece

Zoom: 1.5x DIC Prism: In

Class Chromatic Offset

PPS IN 950

Filters

Turret-Lo Turret-Hi

Condenser

6: N2

AX Scan Area

2048 1024 512 256

2048 x 1024 1024 x 512 512 x 256 256 x 128

Polyline Rotation: 0

Zoom Size: 1.0

Pixel Size: 1.726 μm

XY Size 884 μm x 884 μm

Optical Res. 0.39 μm

All AcridineOrange Alexa488 Alexa547 Custom 0.21 μm/pix 3x12bit: 539 x 523 pixels [N/A]

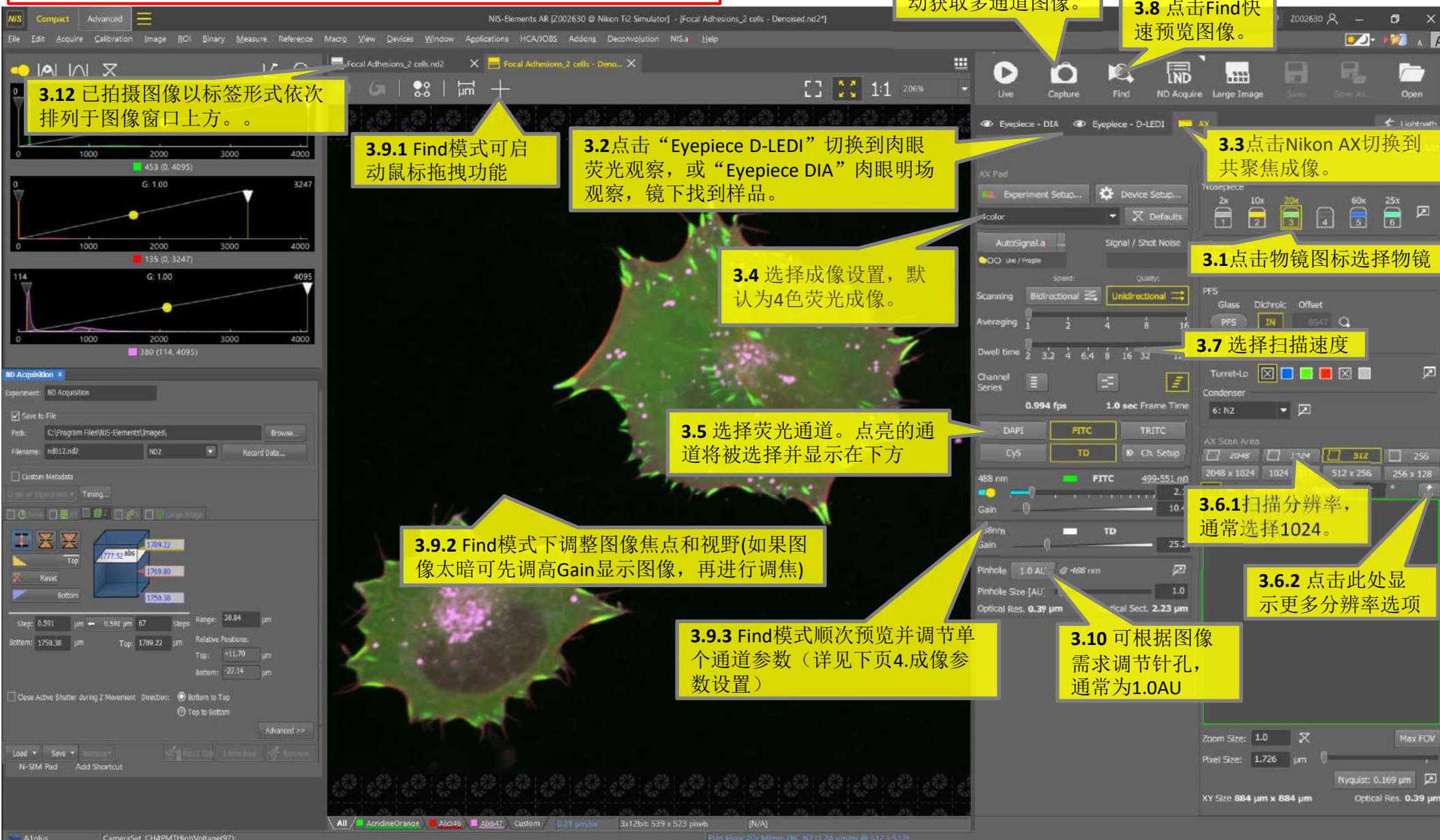
Plan Fluor 20x MmM DIC N2 (1.25 μm/pix @ 512 x 512)

A1plus CameraSet_CH4PM/HighVoltage(97%)

3. 多通道荧光成像流程



Tips: 在预览图像上滚动鼠标滚轮可以调焦；
预览图像用鼠标左键拖拽可以移动载物台（视野）。





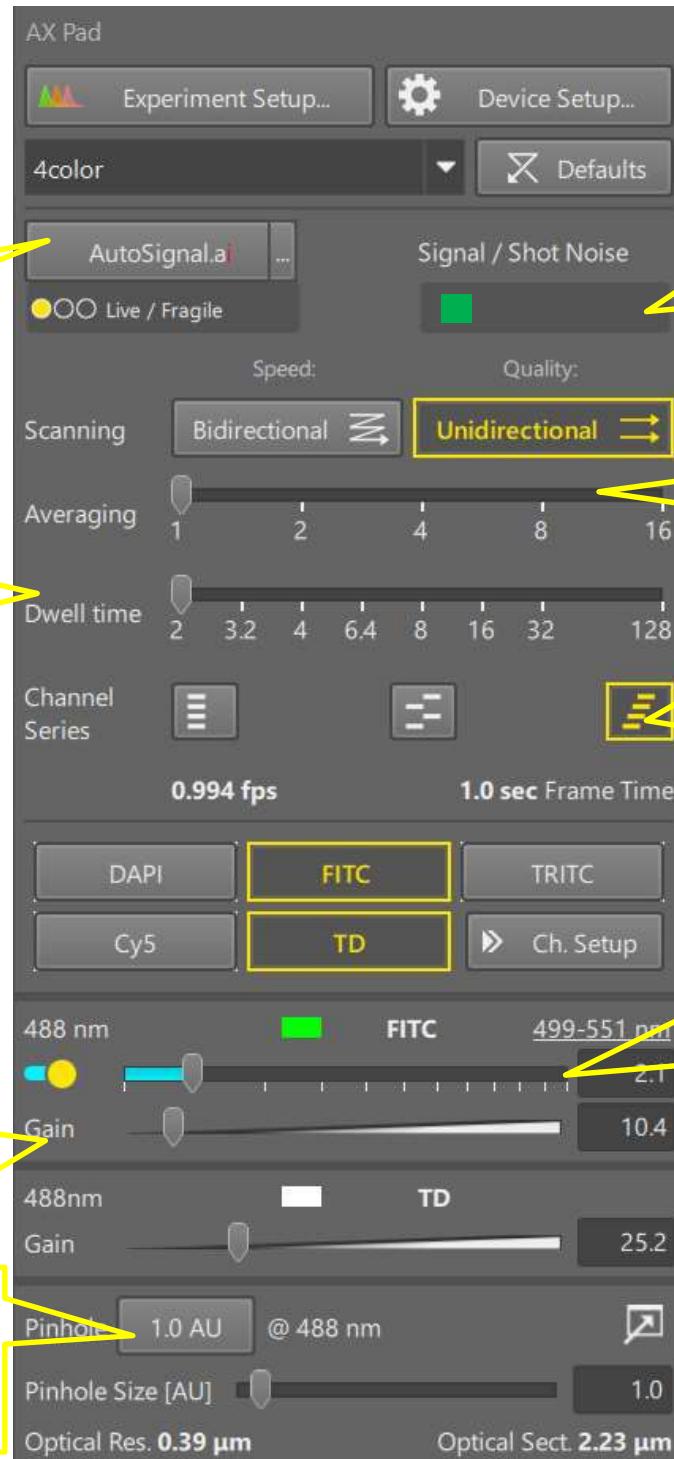
4. 图像参数调节

4.5 根据需要点击AutoSignal.ai按钮进行共聚焦参数全自动调节。旁边的...按钮可以预设样品类型以匹配参数调节偏好。

4.2 扫描速度（点扫描曝光时间），从左往右速度渐慢。根据样品情况确认合适的扫描速度以平衡成像速度和图像信噪比。

4.4.2 调节Gain值（边预览边调）表示检测器的灵敏度，使用滚动条或直接输入数值进行调节。“HV”控制在100以下图像信噪比较好。

4.4.3 针孔调节（边预览边调），加大针孔可以增加共聚焦光学切片厚度，从而获得更明亮的图像，但会降低图像分辨率。通常选择“1.0AU”，或根据图像适当调节。



4.4. 此处色块分别代表各个通道图像信噪比，信噪比从高到低，色块由绿色渐变至红色。可为参数调节提供参考。

4.1 选择扫描平均次数。适当增加平均次数可以降低弱荧光标本的图像噪声。

4.3 选择多通道成像模，从左至右依次为“所有通道同时成像”（速度优先），“相间通道同时成像”，“所有通道顺次成像”（画质优先）。推荐顺次成像以防止发生串色！

4.4.1 激光功率调节（边预览边调），使用滚动条或直接输入数值进行调节。增加激光功率可以提高图像信噪比，也可能造成更多荧光淬灭，因此在保证图像良好信噪比的前提下越小越好。

Tips:

“Gain”“激光功率”调节时在滚动条上使用鼠标滚轮为微调，在滚动条上鼠标左键点击可大幅度调节。

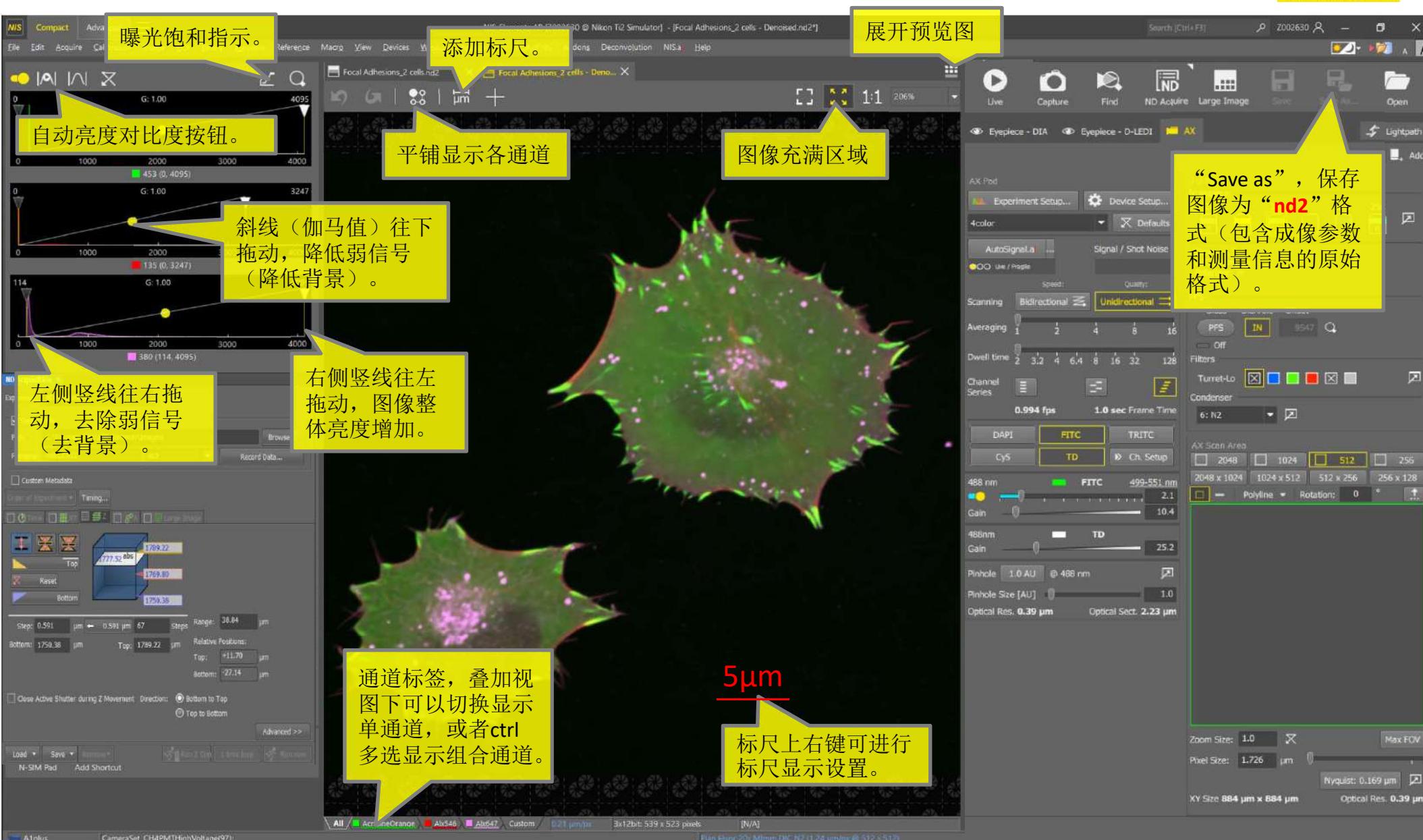


5. 扫描视野设置



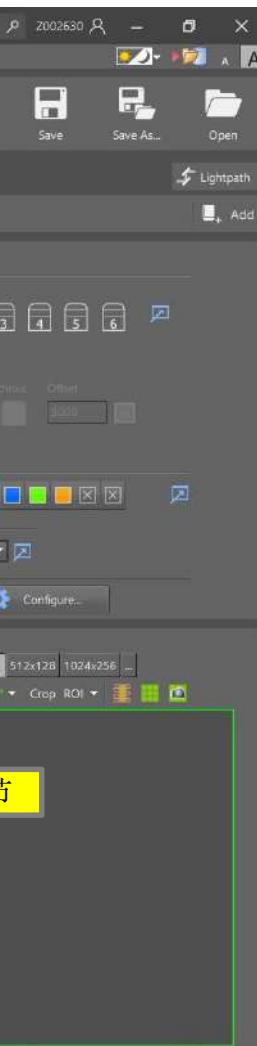
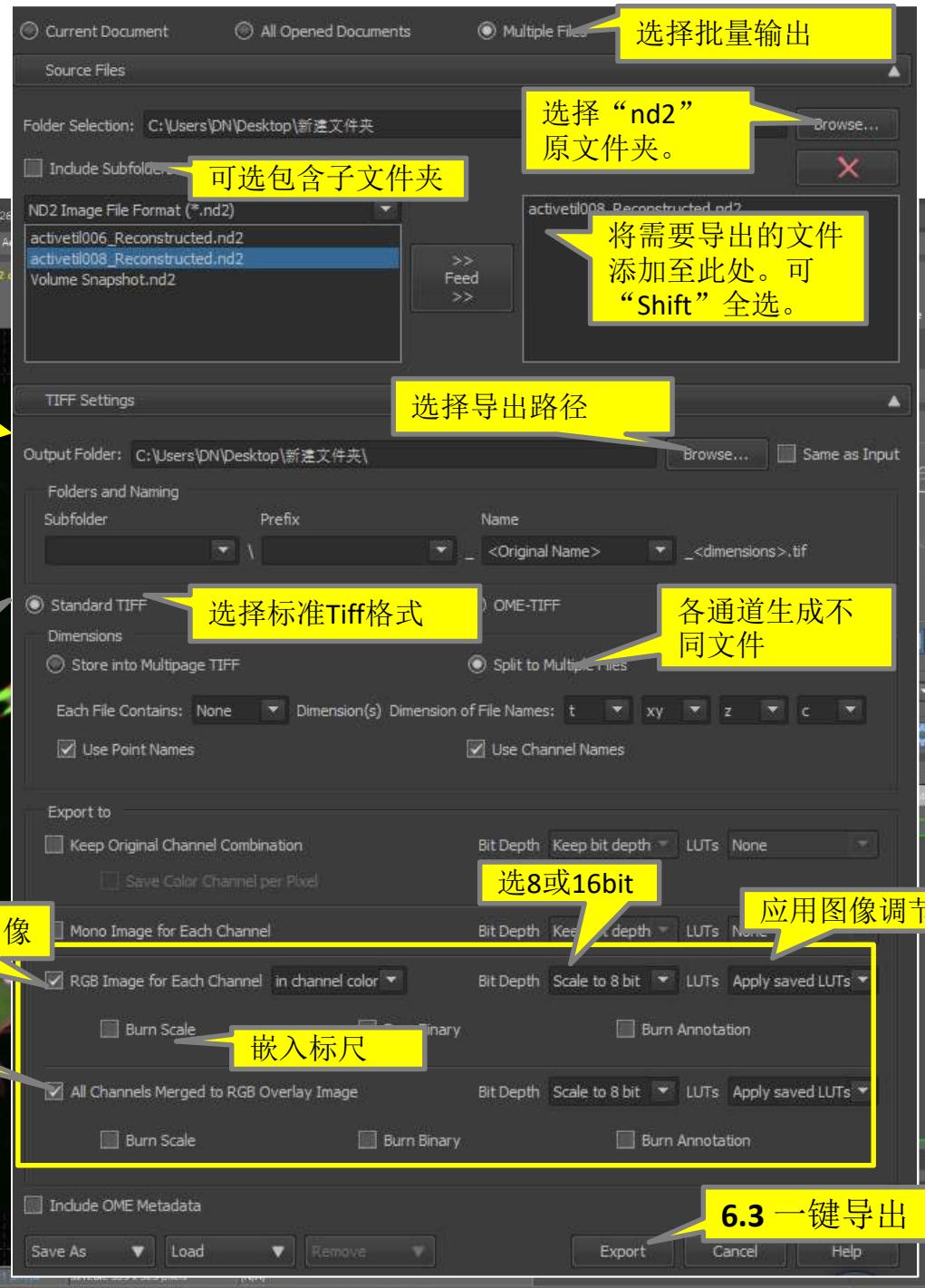
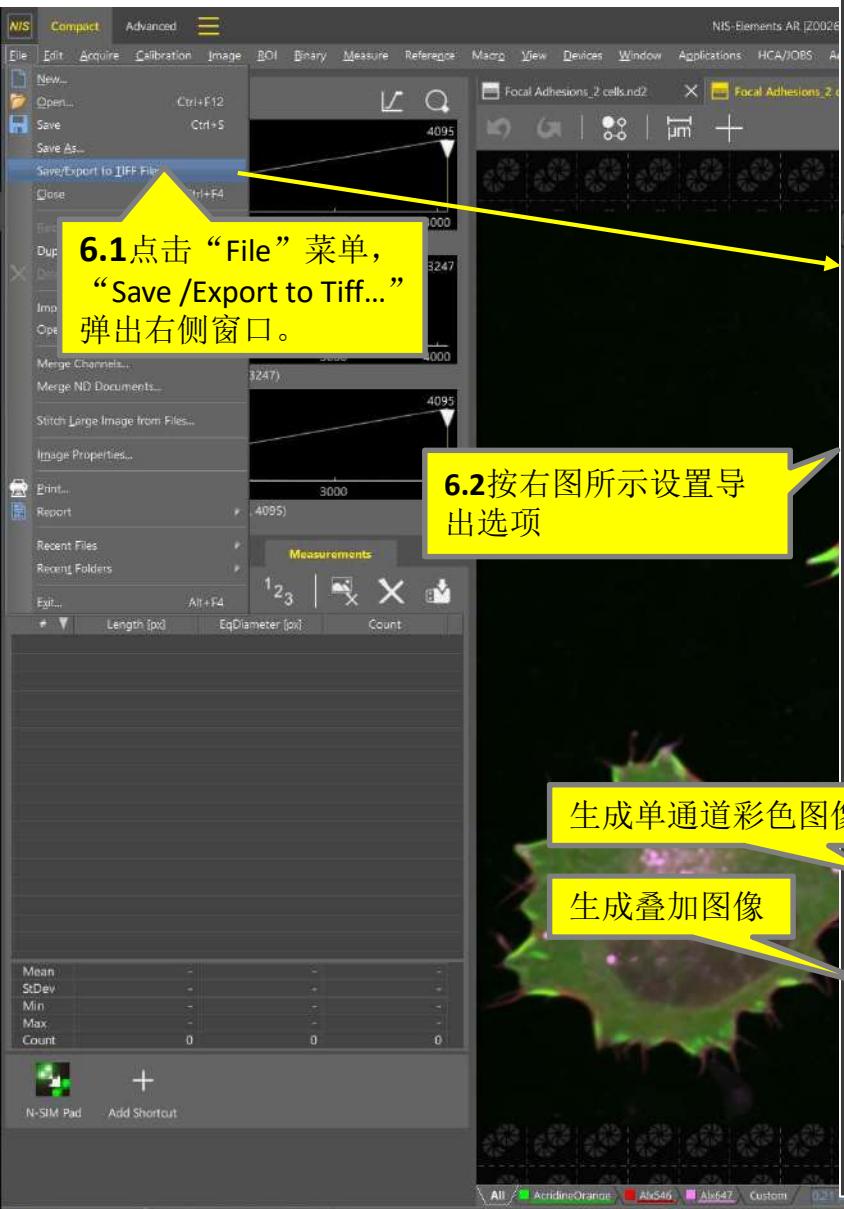
6. 图像的显示, 调节和保存

Tips: 平铺多通道视图如需保存, “Edit”菜单“Create view snapshot 8bit”, 新生成的图像可以直接另存为tiff文件。



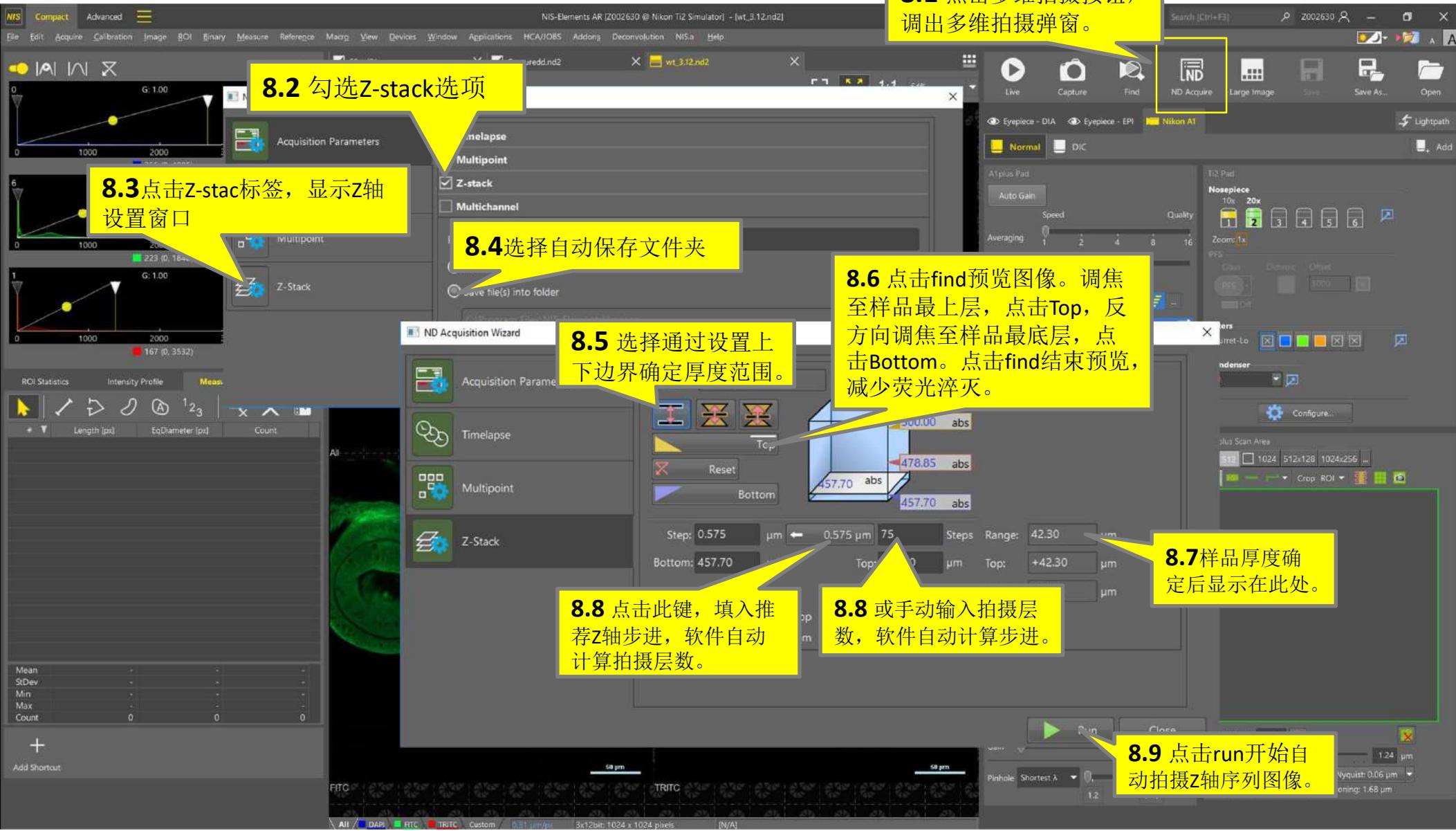
7. 输出Tiff格式图像

Tips: 推荐先保存所有nd2原始数据，再批量一键导出tiff。

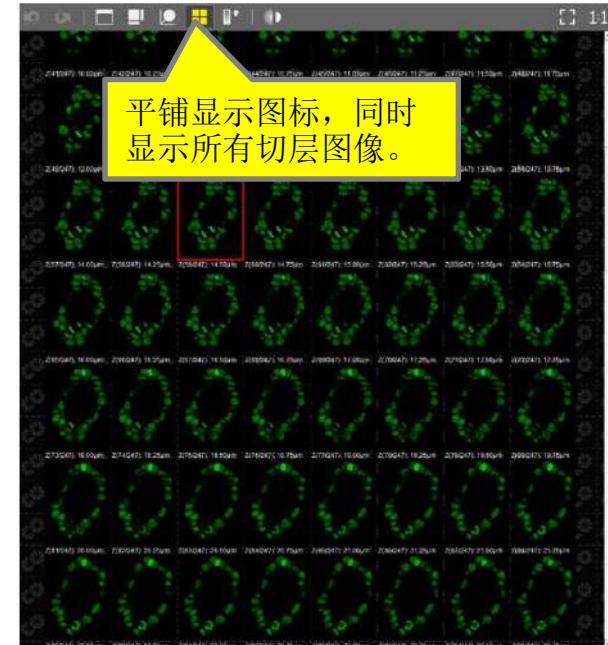
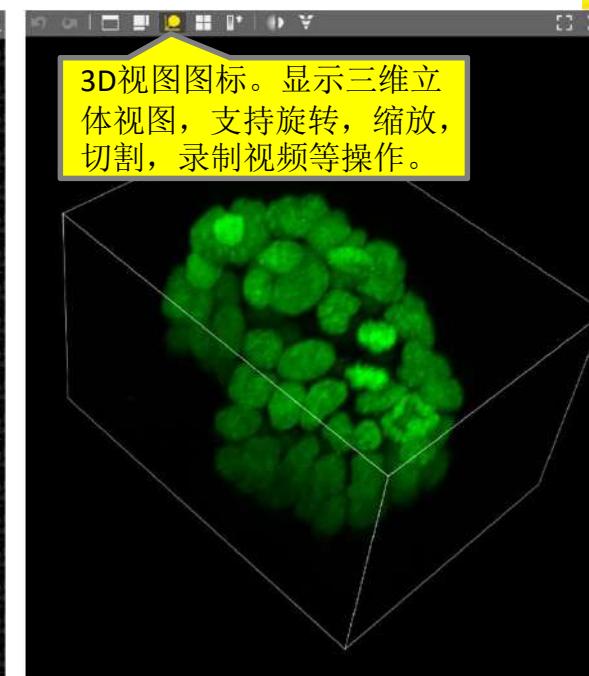
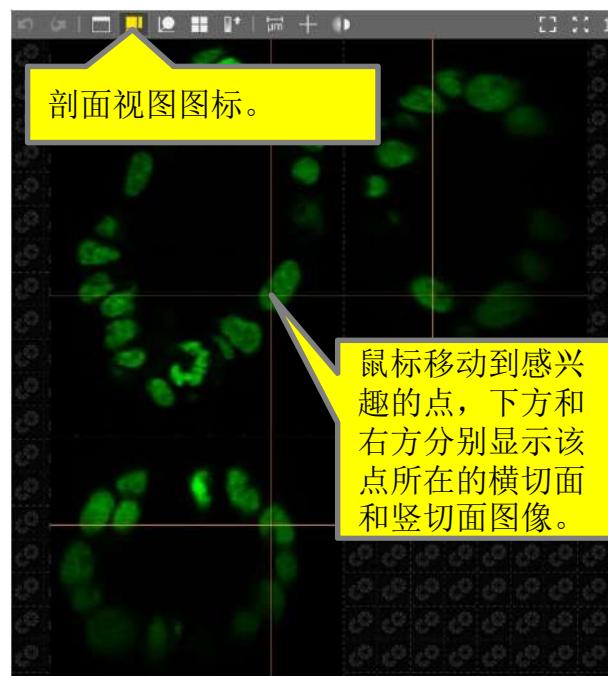
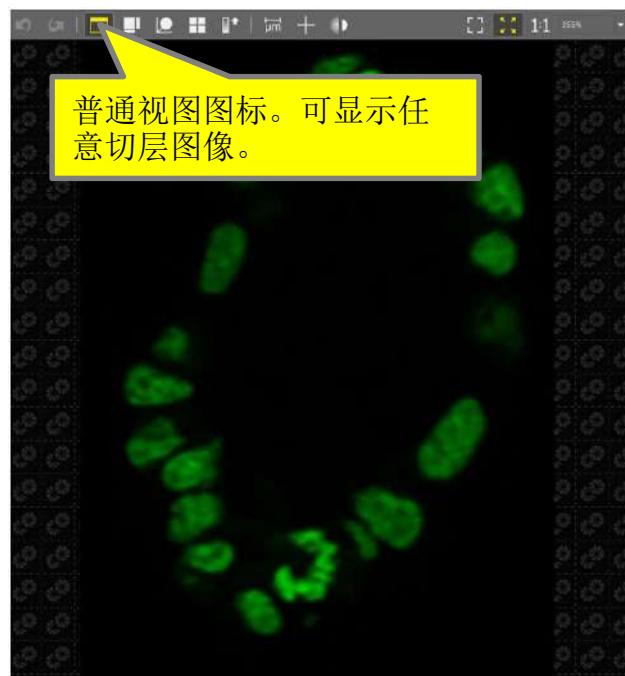


8. 多维图像拍摄之Z轴序列拍摄 (Z轴序列图像获取)

Tips: 若对Z轴分辨率没有极致的要求，可以在软件推荐层数基础上除以2至2.5左右，减少成像数提高成像速度。



8. 多维图像拍摄之Z轴序列成像（Z轴序列图像显示）



Tips:

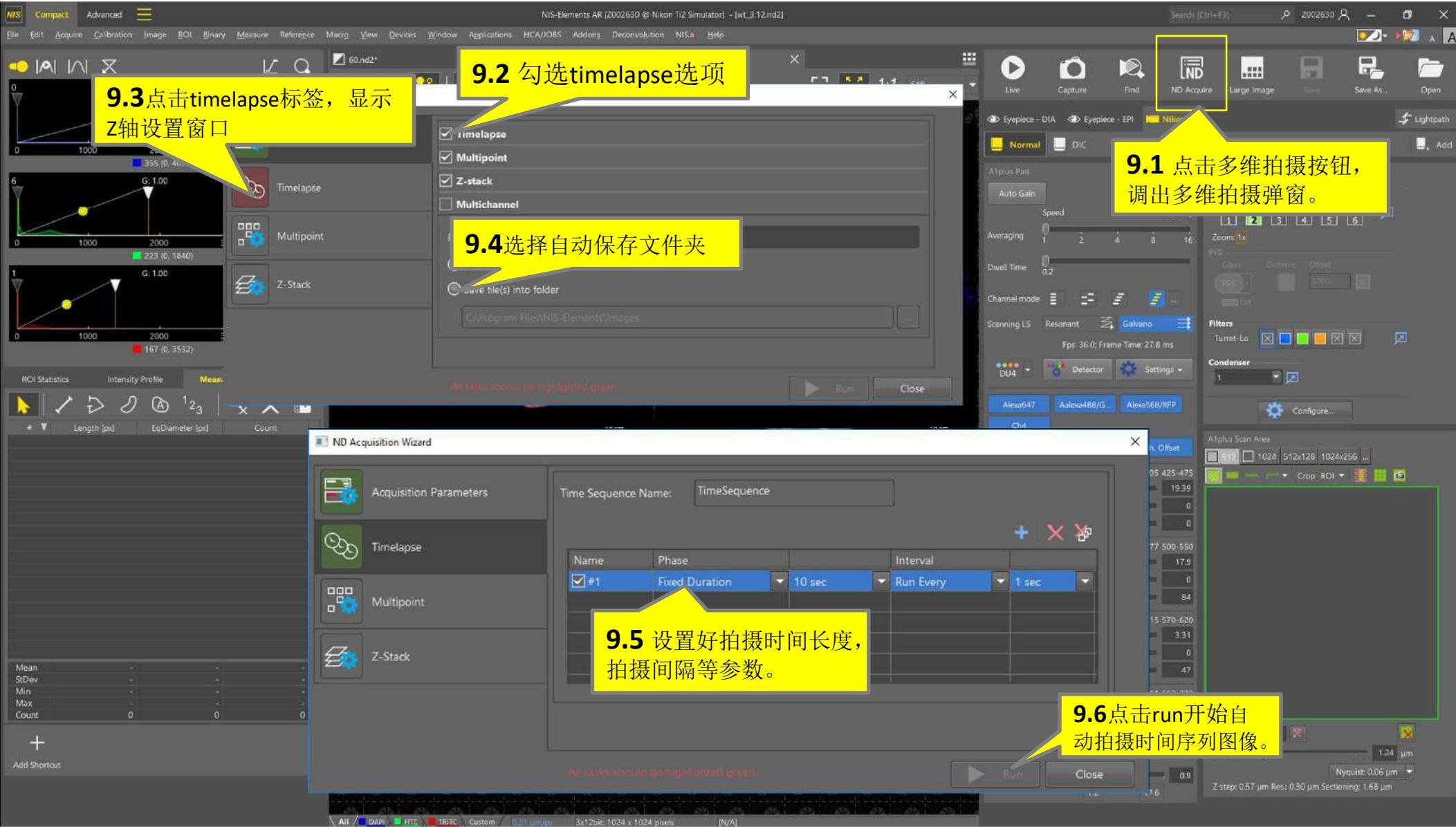
以上视图如需保存，“Edit”菜单“Create view snapshot 8bit”，新生成的图像可以直接另存为tiff文件。



9. 多维图像拍摄之时间序列成像

Tips: 多维拍摄窗口中的timelapse, Z-stack等同时勾选, 可以拍摄多维图像, 最多支持6维。

Tips: 动态成像建议打开完美对焦系统PFS, 防止焦点漂移。

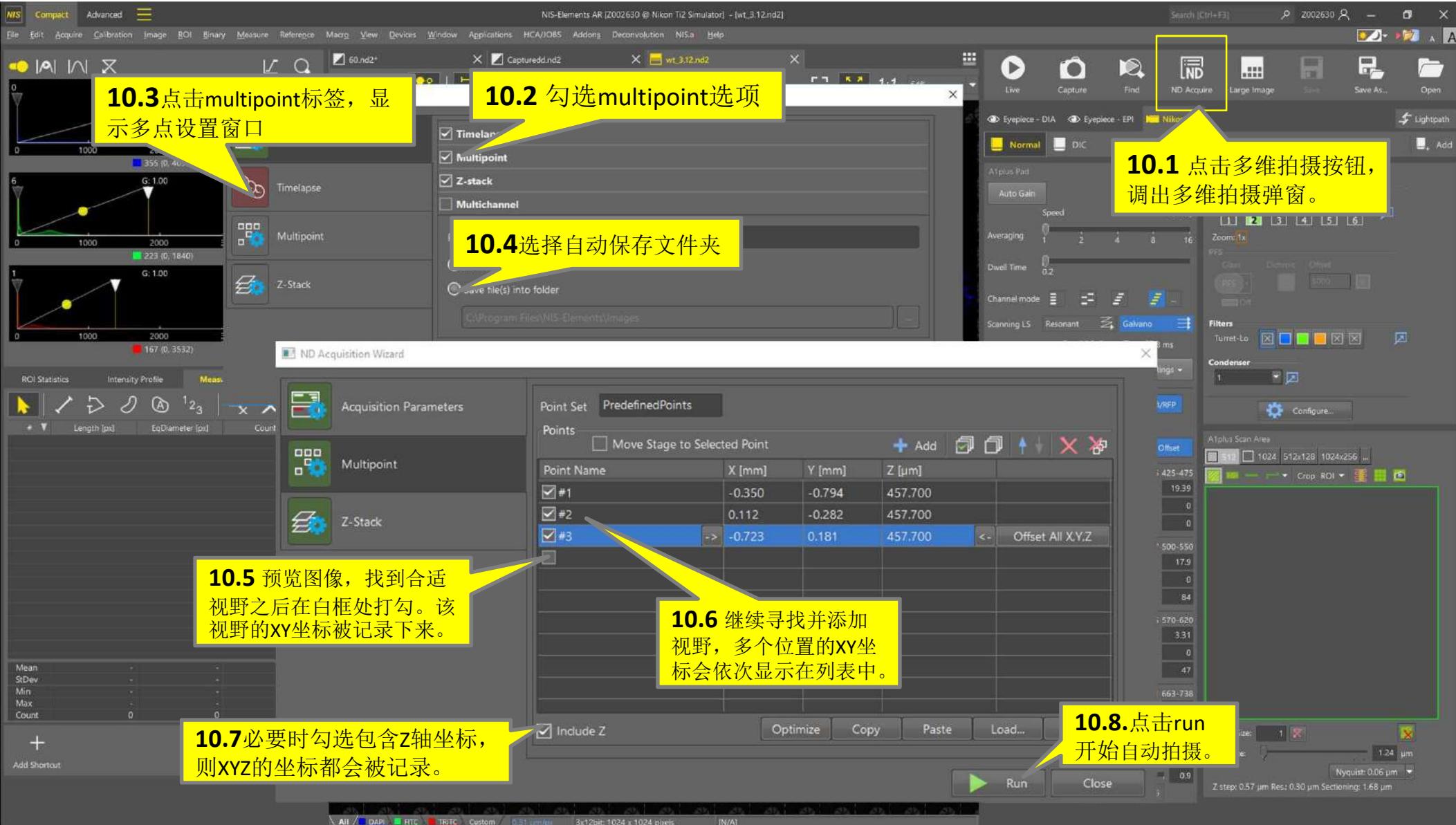


10. 多维图像拍摄之多点成像



Tips: 多点成像和时间序列成像同时勾选，可提高单位时间内的拍摄通量。

Tips: 多点成像和Z轴序列成像同时勾选，设置好之后可以自动拍摄多个样品的三维图像。



11. 多维图像拍摄之自动大图拼接（需要电动载物台）

Tips: 如果不关注大图像的细节，可以适当降低扫描分辨率，提高拼接速度。



11.1 点击大图拼接图标。调出弹窗。

11.2 勾选Z focus surface。

11.3 选择自动保存文件夹。

11.4 设置拼接区域。下拉可以选择不同定义方式。比如以视野为单位 MxN扩展，或者定义样品边界来设置成像区域。

11.5 区域设置好后，对应样品区域的实际大小和拼接图像大小信息显示在此。

11.6 拼接模式通常选择blending。

11.7 开始拍摄。

The screenshot shows the NIS-Elements AR software interface. A central window titled 'Scanning Wizard' is open, specifically the 'Large-Image' tab. It contains several checkboxes: 'Use HDR', 'Use Z for Focus Surface' (which is checked), and 'Capture Multichannel'. Below these are options for saving files: 'Do not save file(s)' and 'Save file(s) into folder', with the latter selected and pointing to 'C:\Program Files\NIS-Elements\Images'. A text box labeled 'Name' contains 'StageArea_MxN'. Under 'Shape', there's a dropdown menu set to 'M x N' with a red grid preview. To the right, there are fields for 'Fields' (set to 4) and 'Overlap' (set to 10%). A large green rectangular ROI is drawn on the preview image. At the bottom left of the wizard, there's a 'Stitching via' dropdown set to 'Blending', with other options like 'Precise Stitching (Image Registration)' and 'Automatic Shading Correction'. A status bar at the bottom shows 'Fluor 20x M1mm DIC N2, 8 fields, 1894x973 px, 2.35x1.21 mm, (FOV: 512x512 px, 636.4x636.4 μm), 14 MB of memory'. On the right side of the interface, there's a main control panel with various tabs like 'Live', 'Capture', 'Find', 'ND Acquire', and 'Large-Image' (which is highlighted with a yellow box). Other controls include 'Speed', 'Averaging', 'Dwell Time', 'Channel mode', 'Scanning LS', 'Detector', 'Settings', and a list of channels (DAPI, FITC, TRITC, CyS) with their respective gain, offset, and zoom settings. The bottom right corner shows a preview window with a green crop ROI.

12. 透射光DIC（微分干涉相差）图像拍摄

Tips: 鼠标悬停在物镜图标上，会显示该物镜信息，可以确认该物镜匹配N1或N2棱镜。

