



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 激光台电源开关



② 激光台钥匙。

③ 共聚焦控制器开关



④ 显微镜开关



⑤ 荧光光源开关



⑥ 电脑工作站开关

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：



双侧：



Eyepiece-DIA:



左侧

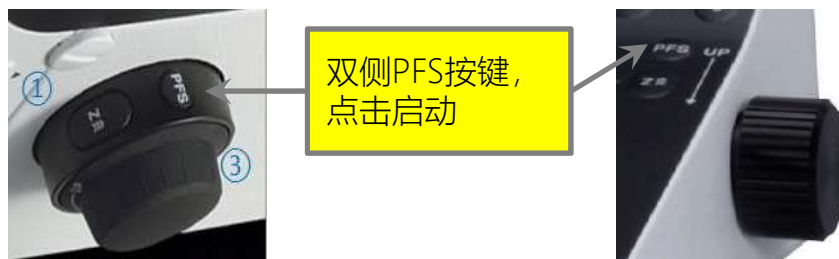
Eyepiece-EPI:



右侧

PFS:

但接近焦点时显微镜会有报警声提示



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

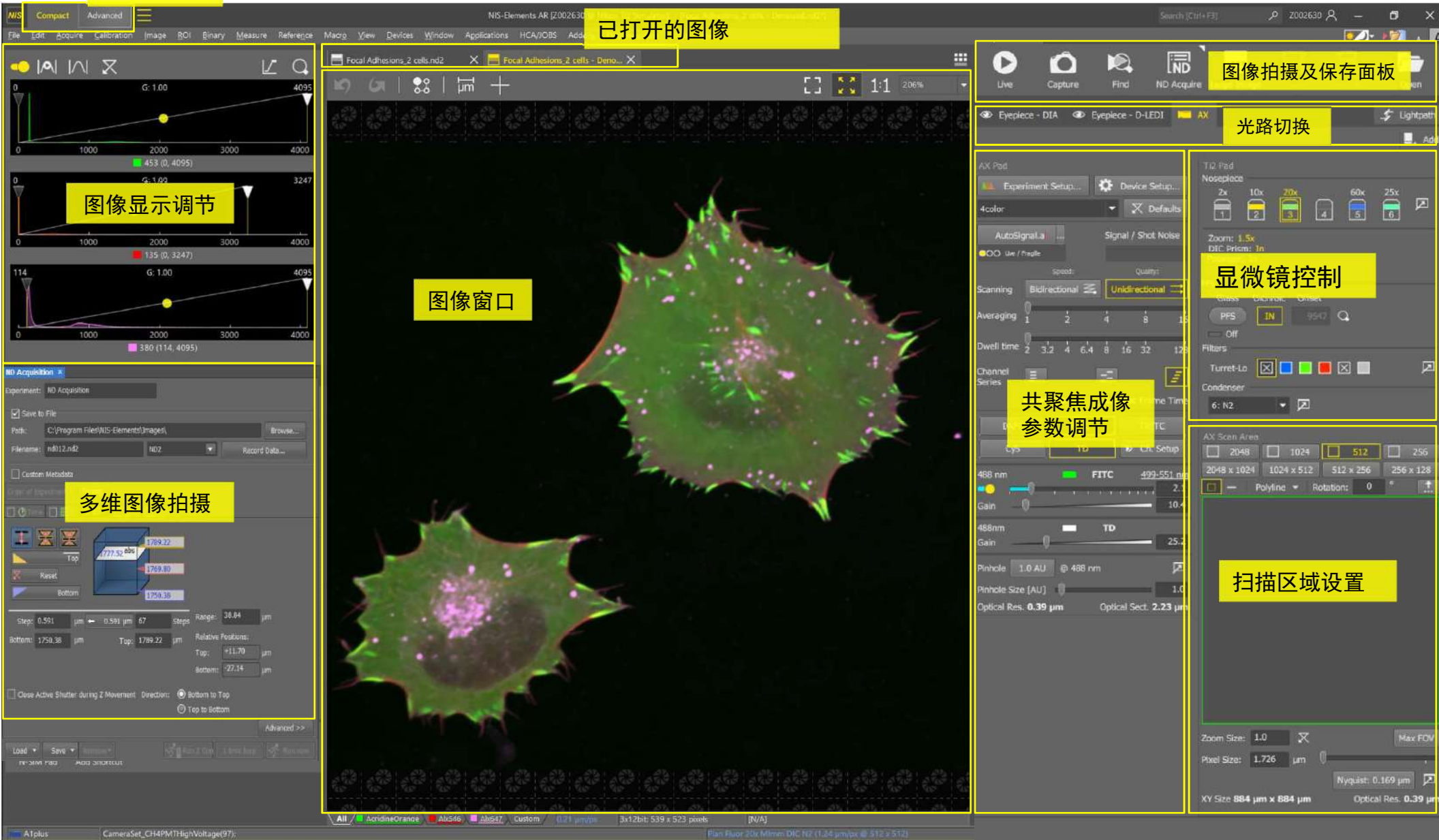
共聚焦成像
参数调节

扫描区域设置

图像显示调节

图像窗口

多维图像拍摄



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）。

3.12 已拍摄图像以标签形式依次排列于图像窗口上方。

3.9.1 Find模式可启动鼠标拖拽功能

3.2 点击“Eyepiece D-LED1”切换到肉眼荧光观察，或“Eyepiece DIA”肉眼明场观察，镜下找到样品。

3.4 选择成像设置，默认为4色荧光成像。

3.5 选择荧光通道。点亮的通道将被选择并显示在下方

3.9.2 Find模式下调整图像焦点和视野(如果图像太暗可先调高Gain显示图像，再进行调焦)

3.11 点击Capture自动获取多通道图像。

3.8 点击Find快速预览图像。

3.3 点击Nikon AX切换到共聚焦成像。

3.1 点击物镜图标选择物镜

3.7 选择扫描速度

3.6.1 扫描分辨率，通常选择1024。

3.6.2 点击此处显示更多分辨率选项

3.10 可根据图像需求调节针孔，通常为1.0AU

3.9.3 Find模式顺次预览并调节单个通道参数（详见下页4.成像参数设置）

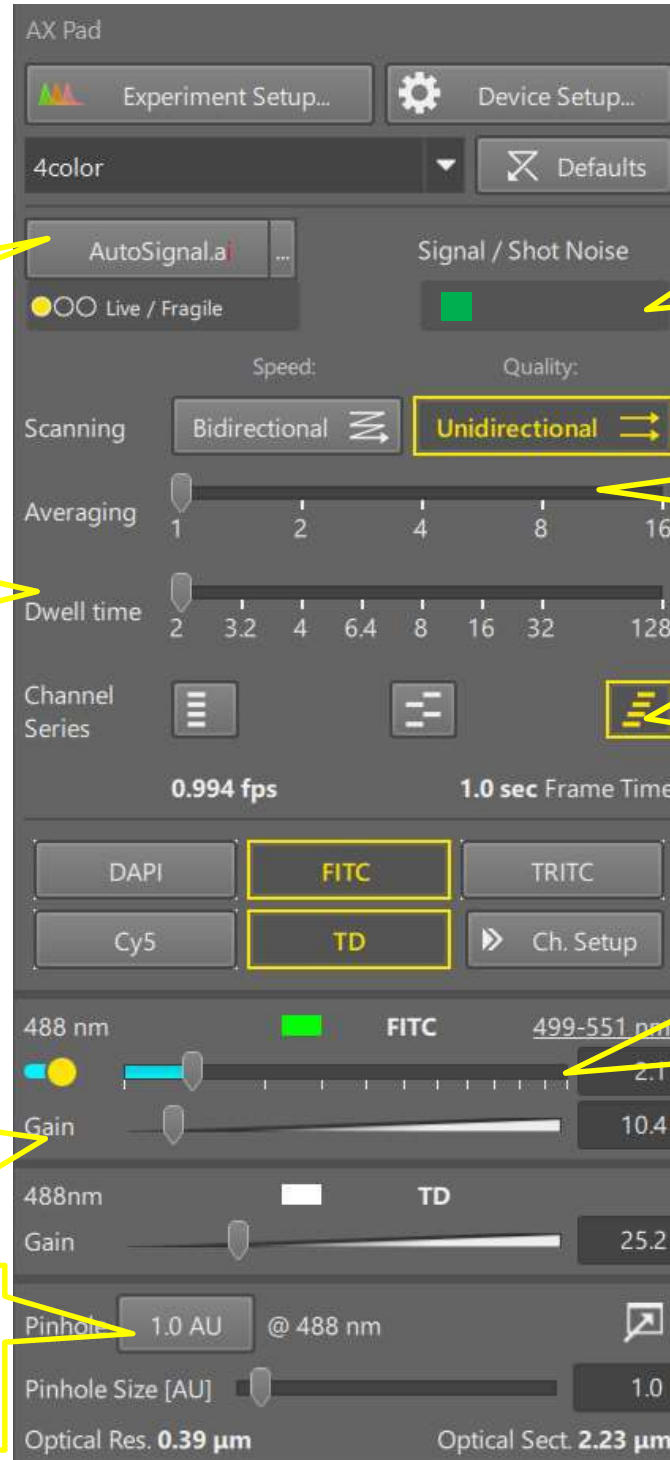
4. 图像参数调节

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。

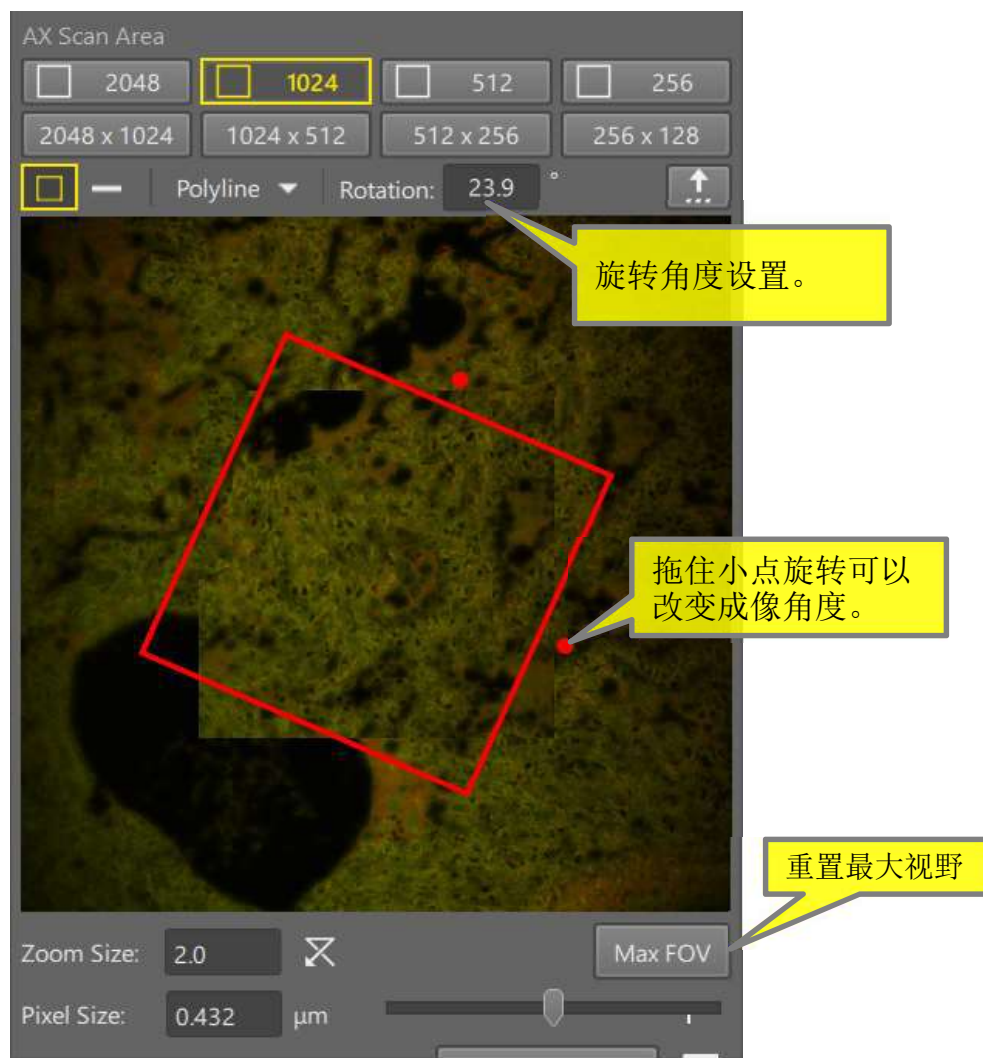
4.3 选择多通道成像模，从左至右依次为“所有通道同时成像”（速度优先），“相间通道同时成像”，“所有通道顺次成像”（画质优先）。推荐顺次成像以防止发生串色！

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:

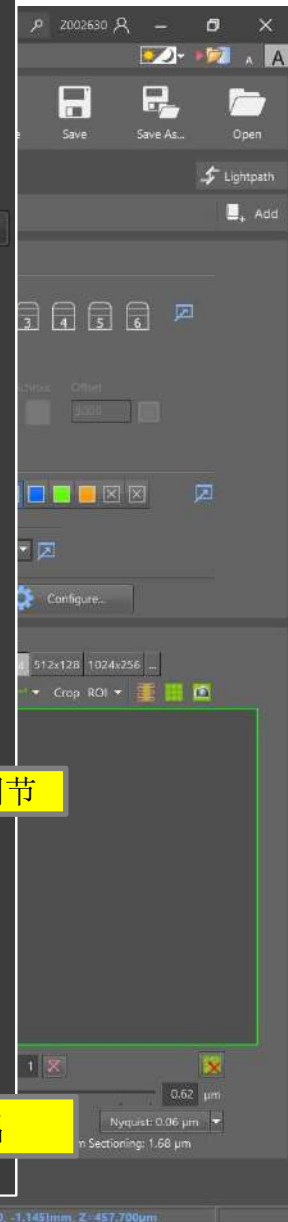
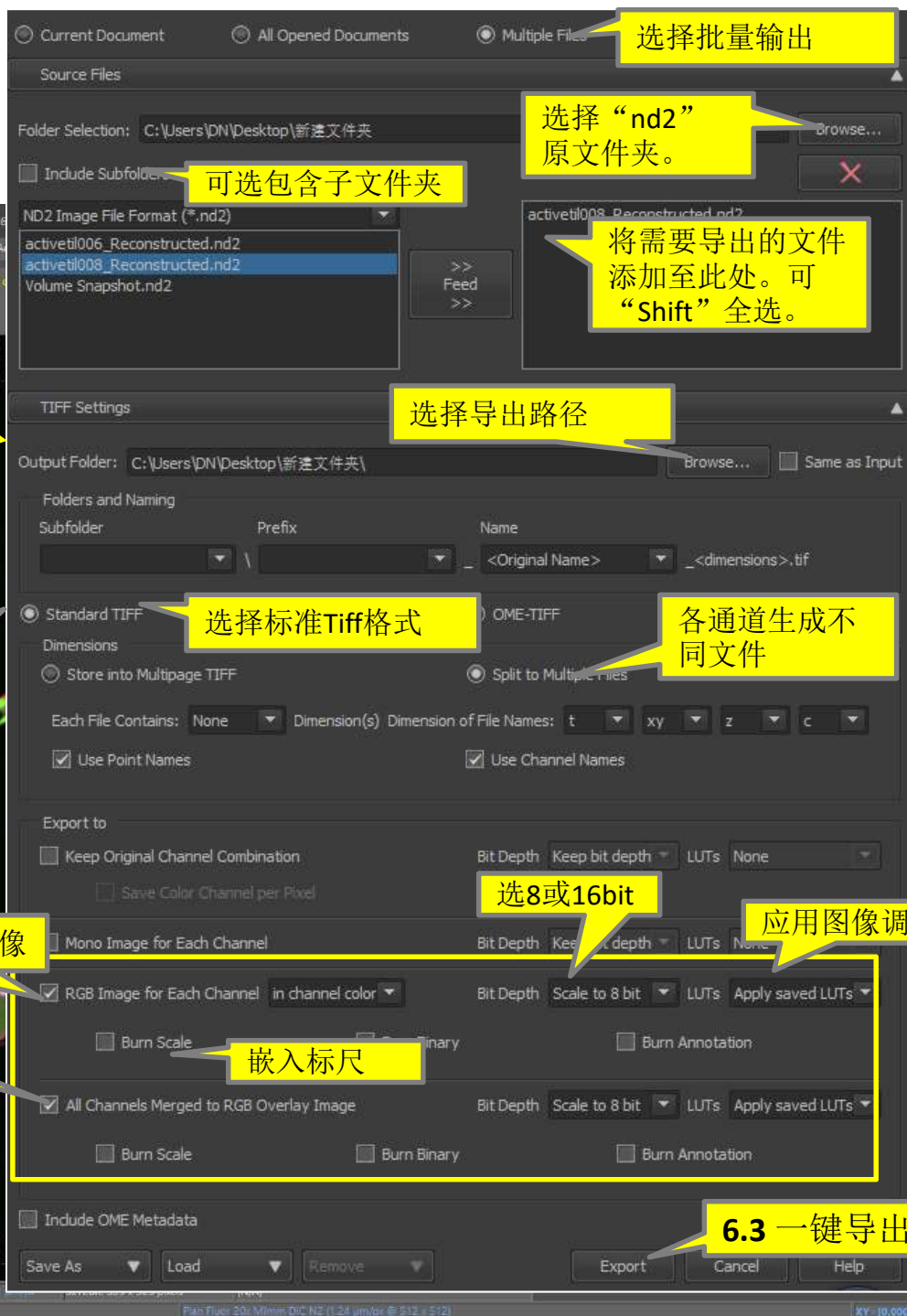
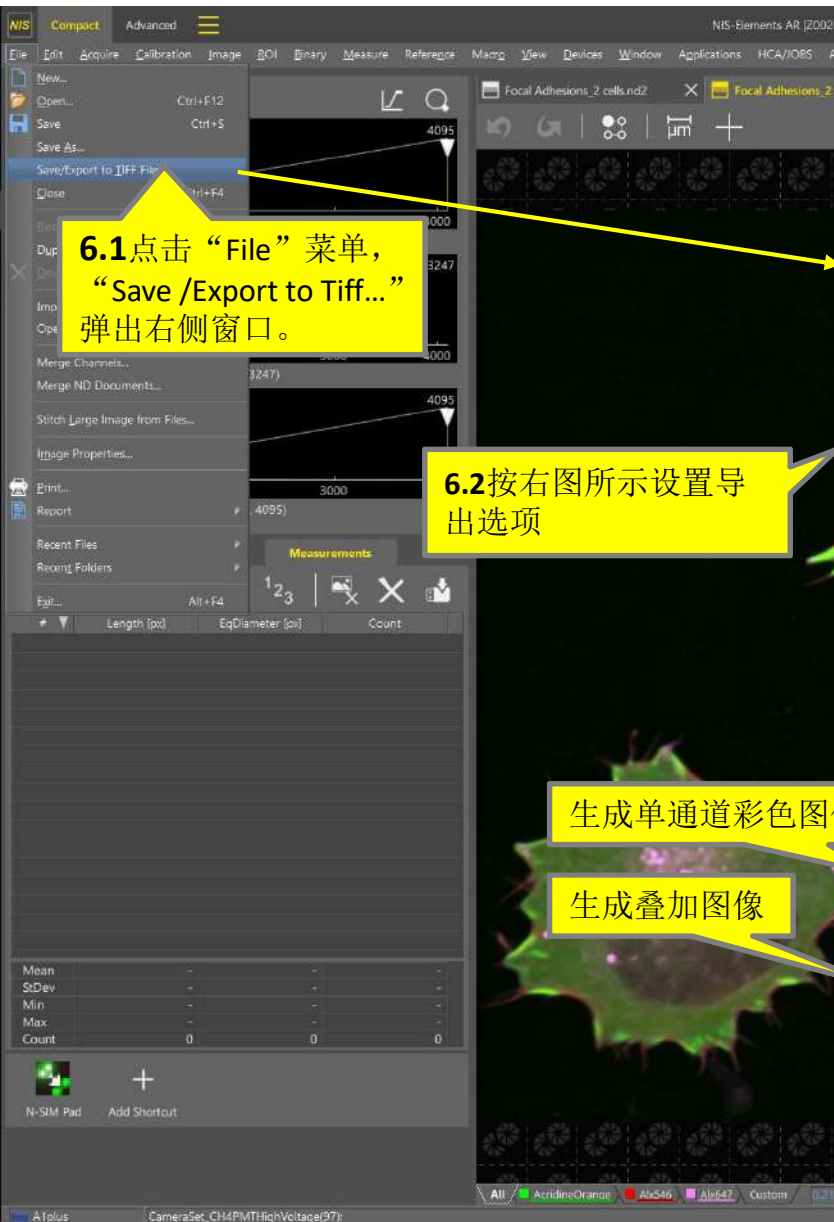
“Gain”“激光功率”调节时在滚动条上使用鼠标滚轮为微调，在滚动条上鼠标左键点击可大幅度调节。

5. 扫描视野设置



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。

8.1 点击多维拍摄按钮，调出多维拍摄弹窗。

8.2 勾选Z-stack选项

8.3 点击Z-stack标签，显示Z轴设置窗口

8.4 选择自动保存文件夹

8.5 选择通过设置上下边界确定厚度范围。

8.6 点击find预览图像。调焦至样品最上层，点击Top，反方向调焦至样品最底层，点击Bottom。点击find结束预览，减少荧光淬灭。

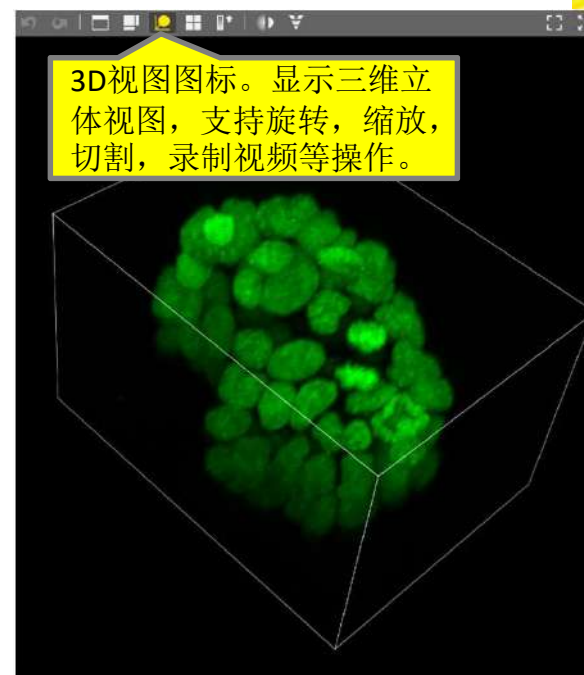
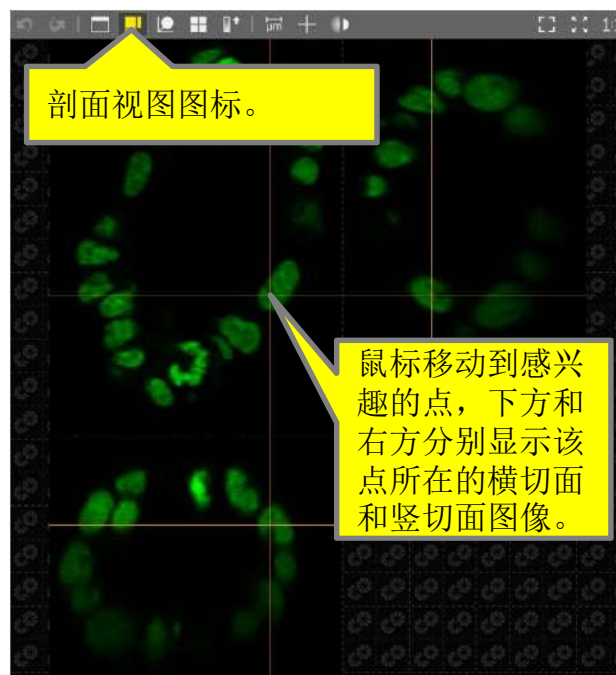
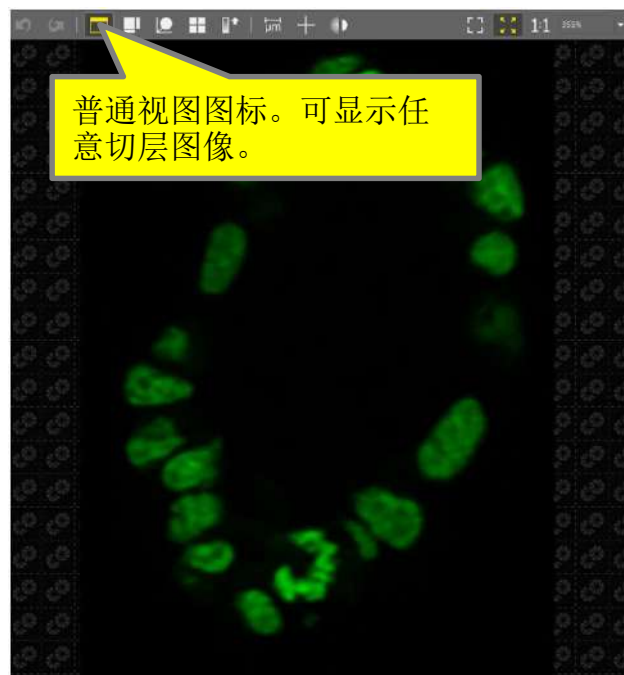
8.7 样品厚度确定后显示在此处。

8.8 点击此键，填入推荐Z轴步进，软件自动计算拍摄层数。

8.8 或手动输入拍摄层数，软件自动计算步进。

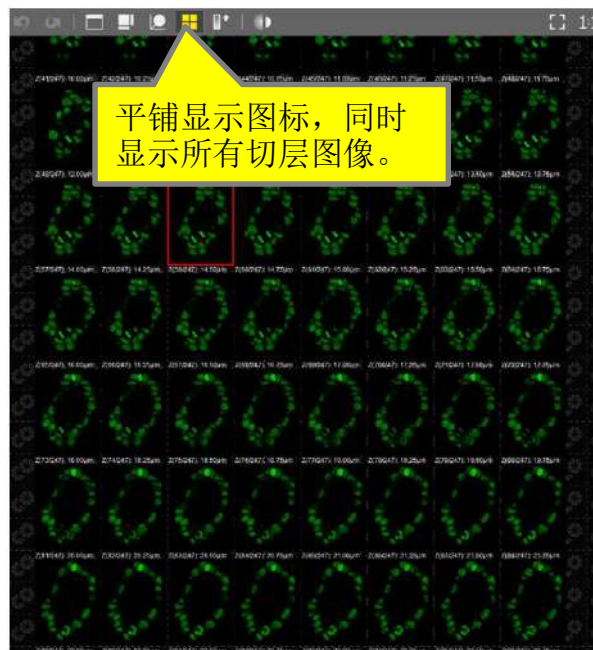
8.9 点击run开始自动拍摄Z轴序列图像。

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“Creat view snapshot 8bit”，新生成的图像可以直接另存为tiff文件。



右键，选择“Create New Document from Current View”生成相应图像。

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。



The screenshot displays the Nikon NIS-Elements AR software interface. The main window shows the 'ND Acquisition Wizard' dialog box, which is used to configure time-lapse acquisition parameters. The wizard includes sections for 'Acquisition Parameters', 'Timelapse', 'Multipoint', and 'Z-Stack'. The 'Timelapse' section is currently selected, showing a table with columns for 'Name', 'Phase', and 'Interval'. The table contains one entry: '#1' with 'Fixed Duration' phase and '10 sec' interval. The 'Run' button is highlighted, indicating the start of the acquisition process.

9.1 点击多维拍摄按钮, 调出多维拍摄弹窗。

9.2 勾选timelapse选项

9.3 点击timelapse标签, 显示Z轴设置窗口

9.4 选择自动保存文件夹

9.5 设置好拍摄时间长度, 拍摄间隔等参数。

9.6 点击run开始自动拍摄时间序列图像。

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。

10.1 点击多维拍摄按钮，调出多维拍摄弹窗。

10.2 勾选multipoint选项

10.3 点击multipoint标签，显示多点设置窗口

10.4 选择自动保存文件夹

10.5 预览图像，找到合适视野之后在白框处打勾。该视野的XY坐标被记录下来。

10.6 继续寻找并添加视野，多个位置的XY坐标会依次显示在列表中。

10.7 必要时勾选包含Z轴坐标，则XYZ的坐标都会被记录。

10.8 点击run开始自动拍摄。

Point Name	X [mm]	Y [mm]	Z [μm]
#1	-0.350	-0.794	457.700
#2	0.112	-0.282	457.700
#3	-0.723	0.181	457.700

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。



The screenshot displays the Nikon NIS-Elements AR software interface, specifically the 'Scanning Wizard' dialog box for large image stitching. The interface is divided into several panels and sections:

- Top Panel:** Contains icons for Live, Capture, Find, ND Acquire, and a 'Large Image' icon (highlighted by callout 11.1).
- Left Panel:** Shows ROI Statistics and Intensity Profile graphs.
- Scanning Wizard Dialog:**
 - 11.2:** 'Use Z for Focus Surface' checkbox is checked.
 - 11.3:** 'Save file(s) into folder' is selected, with the path 'C:\Program Files\NIS-Elements\Images'.
 - 11.4:** 'Shape' is set to 'M x N'.
 - 11.5:** 'Fields' are set to 4 x 2, and 'Overlap' is 10%.
 - 11.6:** 'Stitching via' is set to 'Blending'.
 - 11.7:** 'Run' button is highlighted.
- Right Panel:** Shows various acquisition parameters like Speed, Quality, Averaging, Dwell Time, Channel mode, and Filters.
- Bottom Panel:** Displays system information and a status bar with coordinates (X, Y, Z).

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。

