



尼康共聚焦显微镜AX

NIS-Elements 6.0快速上手指南

注：此手册旨在协助新用户快速上手操作，更多功能介绍详见完整操作说明或联系您所在地的尼康员工。

1. Ti2-E 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:

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



界面布局切换

已打开的图像

图像显示调节

样品导航

简易测量工具

快捷功能键

图像显示

图像预览和拍摄区

光路切换

实验（通道）设置

显微镜控制

共聚焦参数调节

扫描区域设置

图像打开和保存

Save

Open

NIS Compact Advanced Wide

File Edit Acquire Calibration Image ROI Binary Measure Reference Macro View Devices Window Applications Assays HCA/JOBs Add-ons NIS.ai Deconvolution Help

20231205 multi-chns.nd2* Captured 1 - Denoised... Captured 6.nd2*

11 91%

1000 20000 30000 40000 50000 60000 G: 1.00 564

0 10000 20000 30000 40000 50000 60000 G: 1.00 338

76 (8, 1252) 20 (0, 920)

Sample Navigation Stage Document

TI2-S-HU, Universal Holder: Slide Focus Position Set Reset

No data Scan for Sample Overview

Focus 1800 1600 1400 1200 500 Escape

ROI Statistics Intensity Profile Measurements

Length [px] EqDiameter [px] Count

Mean StdDev Min Max Count

0 0 0 0

Capture and Store Pad M

ActivateDocument("Captured 1 - Denoised.nd2");

AX GREEN ABD (0.048) 2x26bit: 2048 x 2048 pixels [N/A]

Plan Apo VC 20x DIC N2 (1.73 μm/px @ 512 x 512)

XY = [0.787, -0.048] μm, Z = 483.880 μm

ENG 9:35 AM INTL 12/6/2023

Live Capture Find AutoSignal Autofocus Short Autofocus Large ND ND Large Image

DIA D-LED AX AX NSPAC

Experiment: Search Sample Channels: Blue Green

AX Pad AutoSignal.ai Auto Laser Off Denoise.ai Speed: Quality: Scanner Resonant Galvano Averaging: 1 2 4 8 16 32 64 Dwell time: 1 1.6 2 3.2 4 8 16 32 64 Channel Series 0.286 fps 3.5 sec Frame Time 405 nm Blue 430-475 nm Gain: 3.0 50.0

561 nm Red 571-625 nm Gain: 10.0 0.8

640 nm Far Red 663-738 nm Gain: 0.3 5.0

Pinhole 1.0 AU @ 640 nm Pinhole Size [AU] Optical Res. 0.47 μm Optical Sect. 2.88 μm

AX Scan Area 2048 1024 512 256 2048 x 1024 1024 x 512 512 x 256 256 x 128 Polyline Rotation: 0

Zoom: 1x Focus Sample Swap Escape

DIGI Processor: Glass Dichroic Offset PES IN 9557

Filters Turret: 7: Shutter Configure...

Condenser

Max FOV

Zoom Size: 1.0 Max FOV

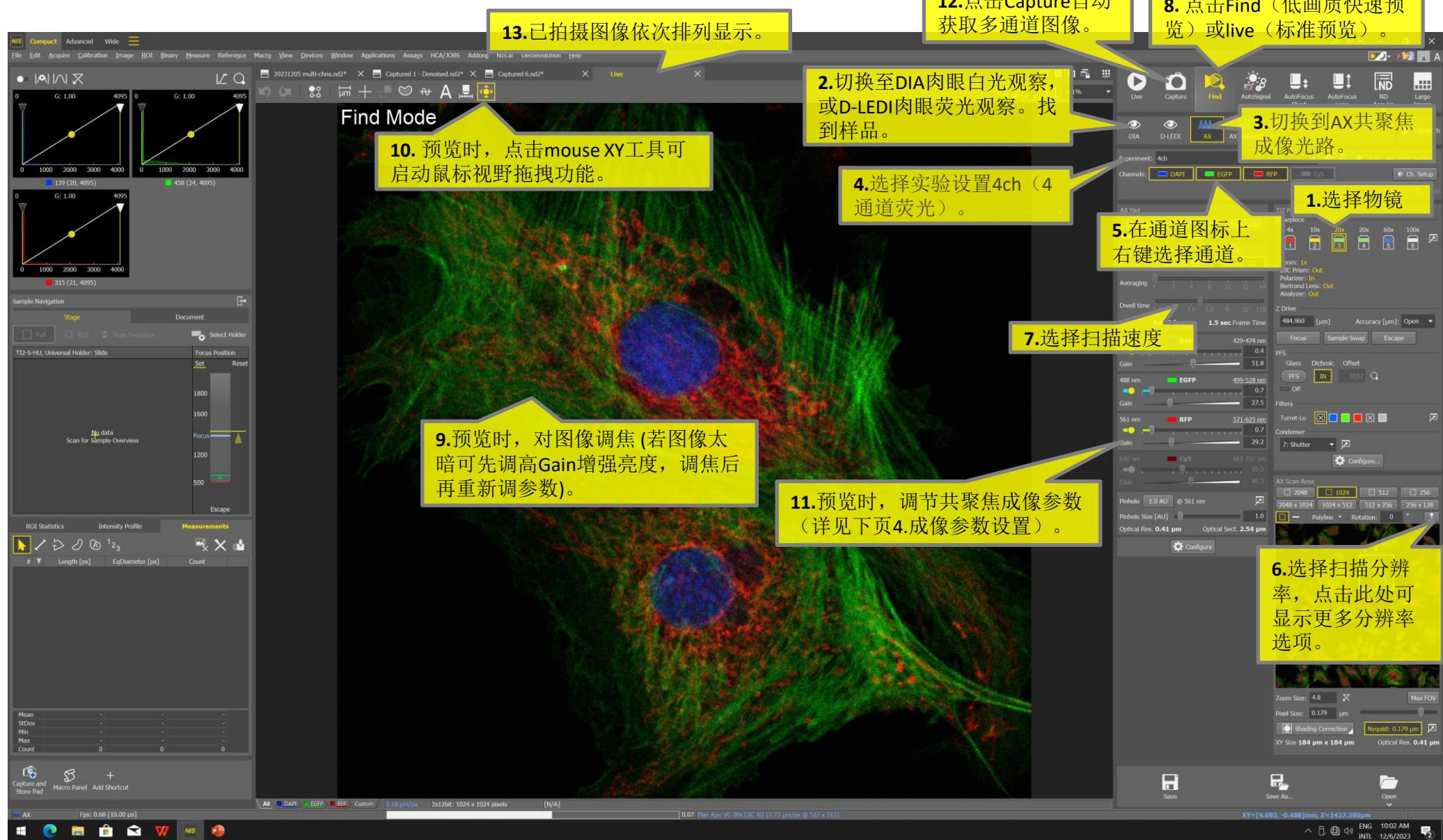
Pixel Size: 0.863 μm Nyquist: 0.205 μm

Shading Correction XY Size 884 μm x 884 μm Optical Res. 0.47 μm

3. 多通道荧光成像



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



4. 图像参数调节

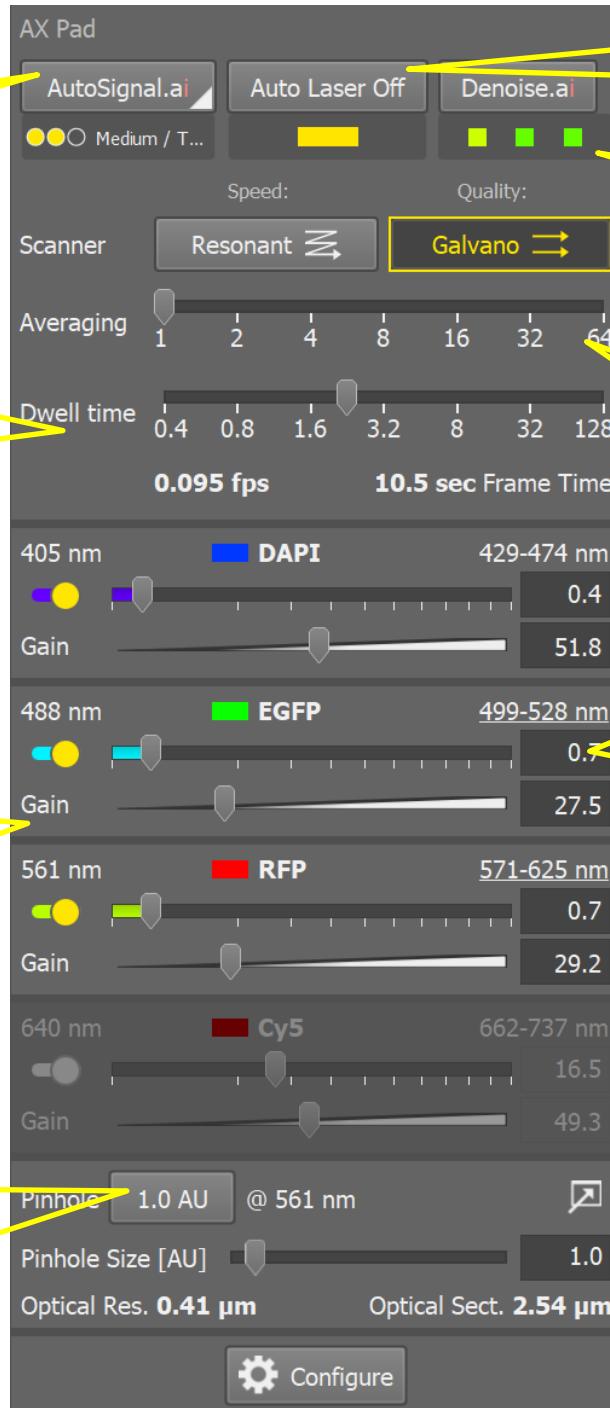


6. 根据需要点击AutoSignal.ai按钮进行共聚焦参数全自动调节。旁边的三角按钮可以预设样品类型以匹配参数调节偏好。

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. 调节Gain值（边预览边调），表示检测器的灵敏度，数值越大图像越亮，噪声越高。

5. 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”。



7. 按需要打开自动激光关闭功能。预览标本时若长时间无操作激光自动关闭。

8. 色块分别代表每个通道的图像信噪比，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。

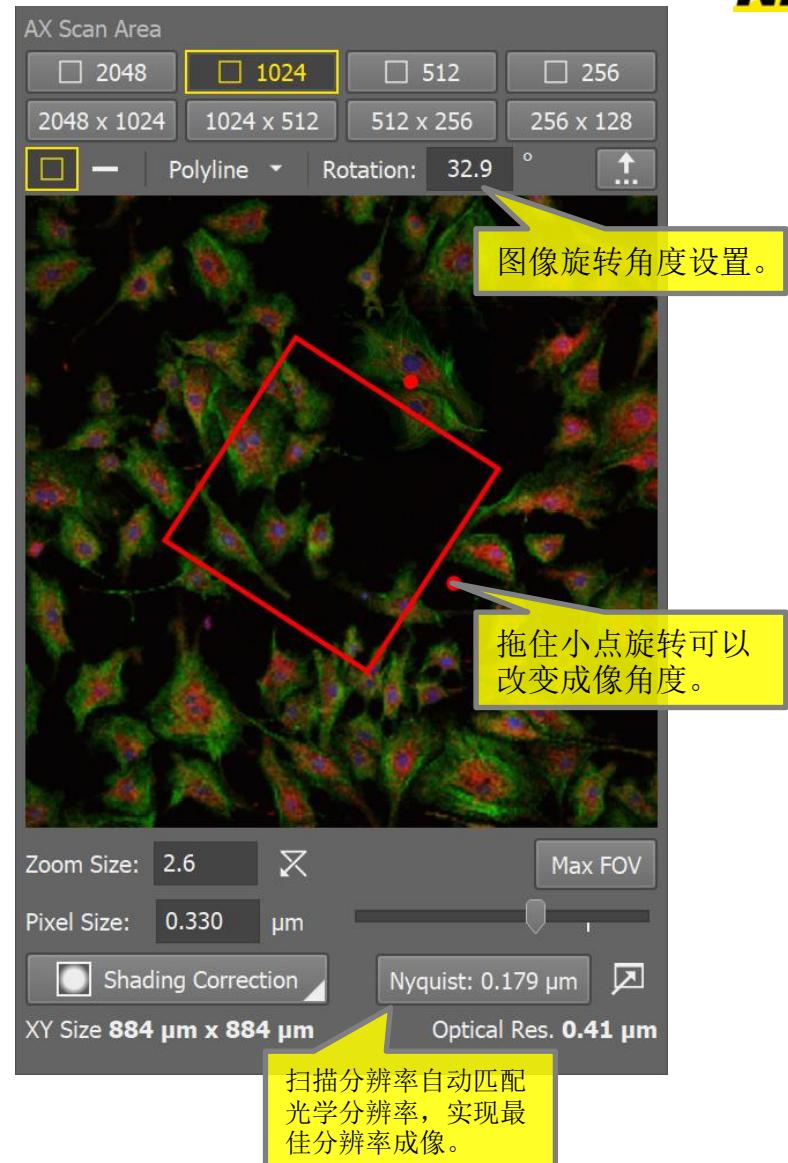
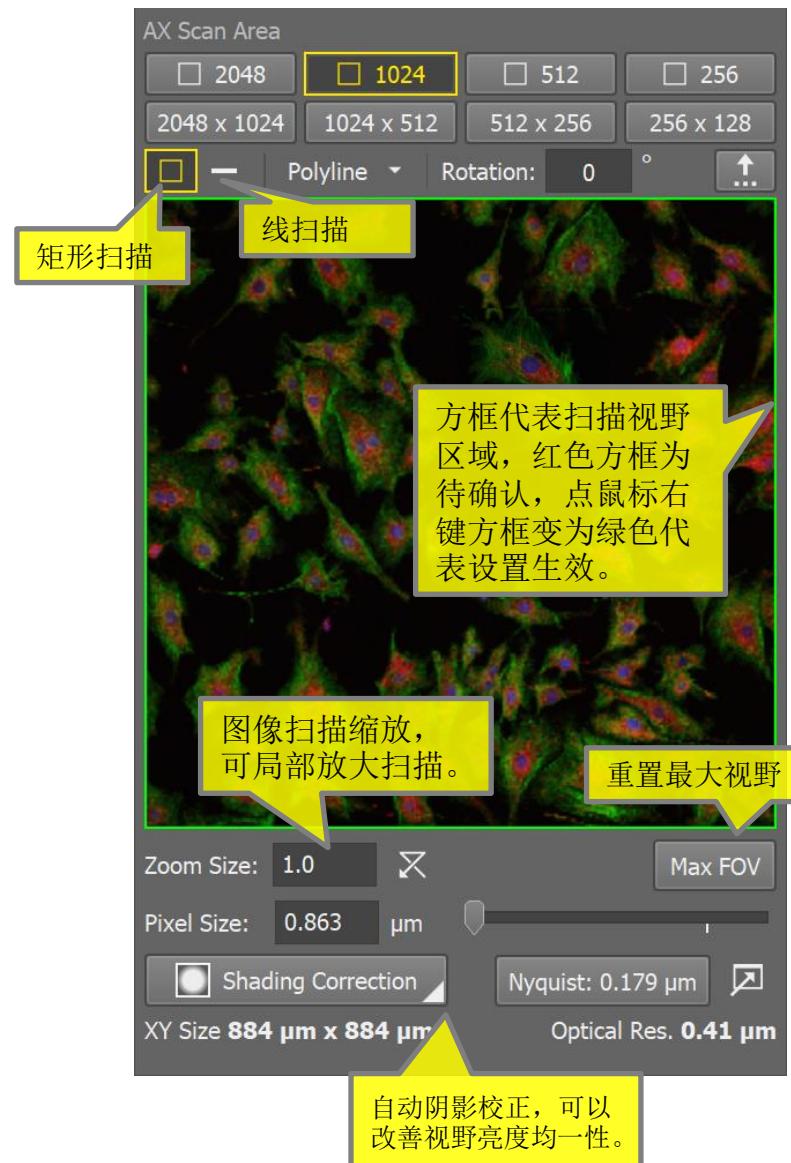
1. 选择扫描平均次数。通常为1，标本信号弱时可适当增加平均次数降低图像噪声。

3. 激光功率调节（边预览边调），增加激光功率可以提高图像亮度，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:

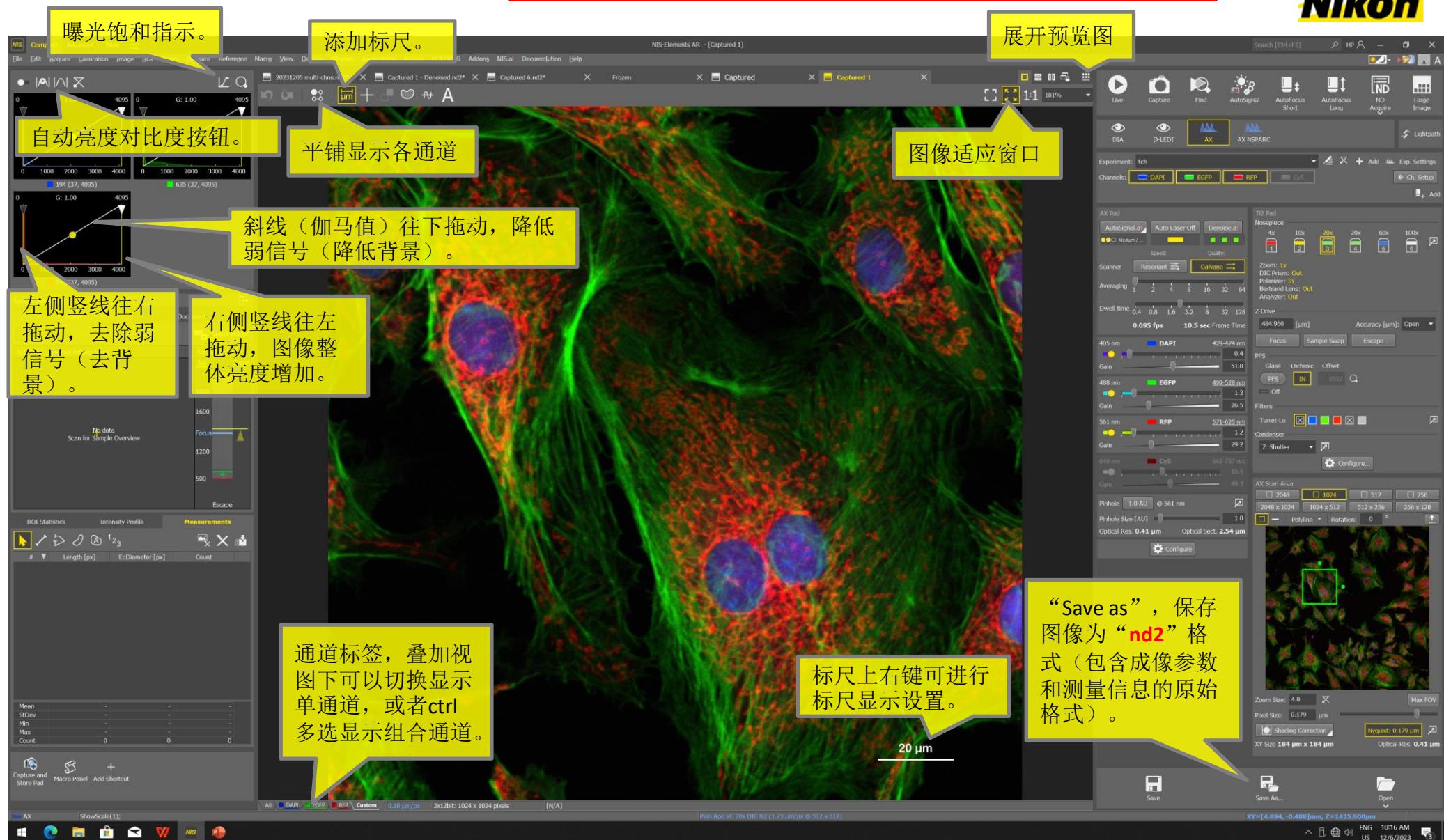
“Gain” “激光功率”调节时在滚动条上使用鼠标滚轮为微调，在滚动条上鼠标左键点击可大幅度调节。

5. 扫描视野设置



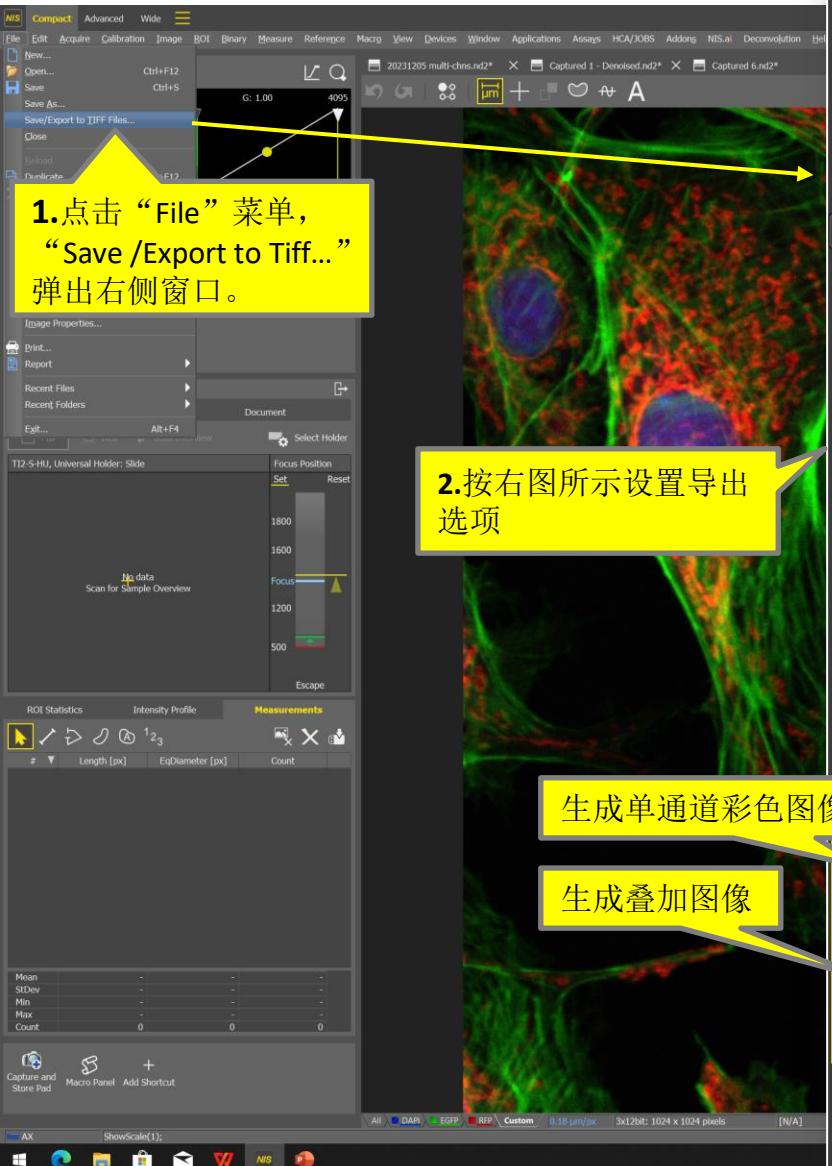
6. 图像的显示，调节和保存

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。

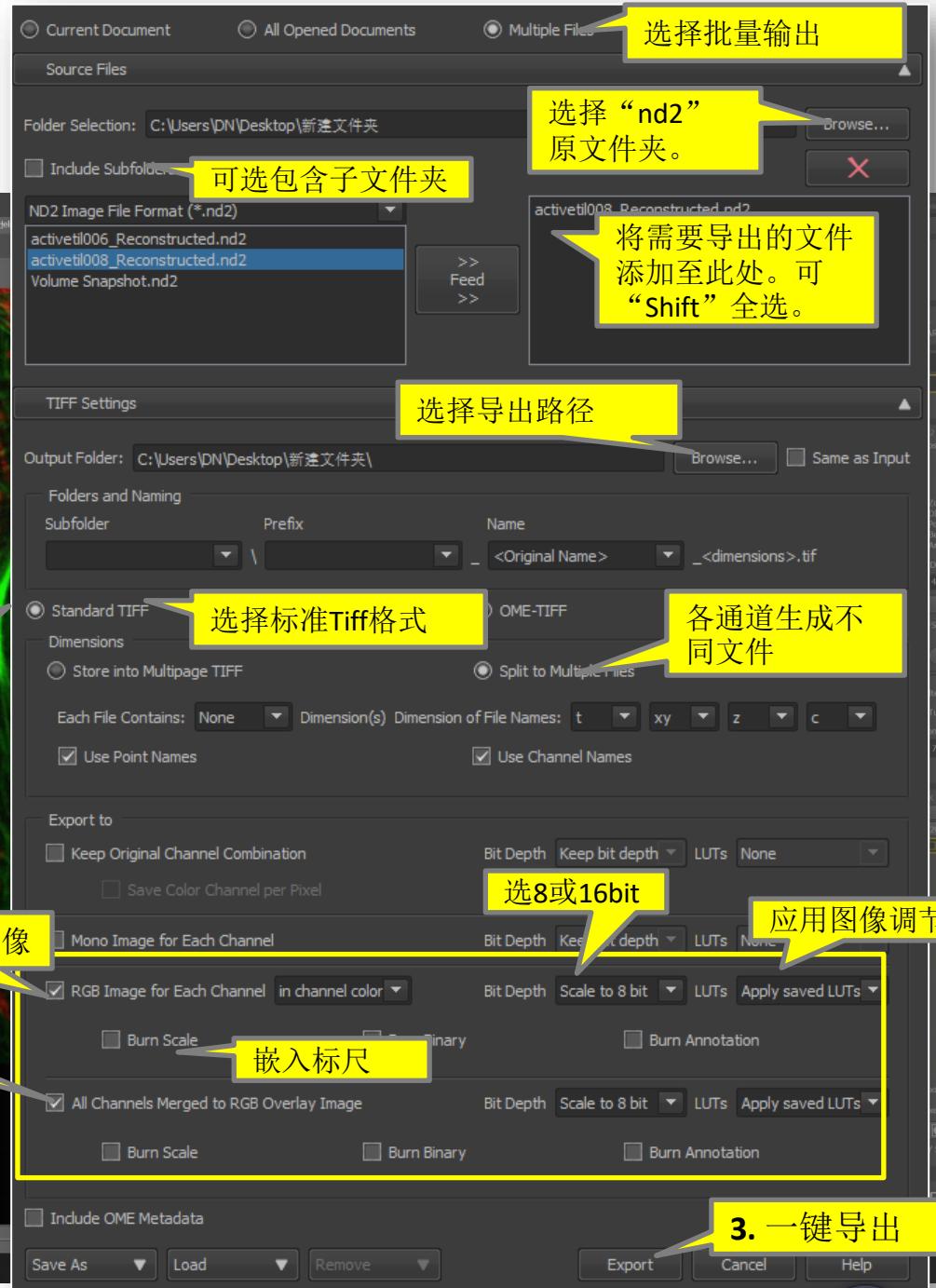


1. 点击“File”菜单，“Save / Export to Tiff...”
弹出右侧窗口。

2. 按右图所示设置导出选项

生成单通道彩色图像

生成叠加图像



选择批量输出

选择“nd2”
原文件夹。

可选包含子文件夹

将需要导出的文件
添加至此处。可
“Shift”全选。

选择导出路径

Output Folder: C:\Users\DN\Desktop\新建文件夹\

Browse... Same as Input

Folders and Naming

Subfolder

Prefix

Name

<Original Name>

_<dimensions>.tif

Standard TIFF

OME-TIFF

Dimensions

Store into Multipage TIFF

Split to Multiple Files

Each File Contains: None

Dimension(s) Dimension of File Names: t

xy

z

c

Use Point Names

Use Channel Names

Export to

Keep Original Channel Combination

Bit Depth Keep bit depth LUTs None

Mono Image for Each Channel

Bit Depth

Keep bit depth

LUTs

None

RGB Image for Each Channel in channel color

Bit Depth

Scale to 8 bit

LUTs

Apply saved LUTs

Burn Scale

Burn Binary

Burn Annotation

All Channels Merged to RGB Overlay Image

Bit Depth

Scale to 8 bit

LUTs

Apply saved LUTs

Burn Scale

Burn Binary

Burn Annotation

Include OME Metadata

Save As

Load

Remove

Export

Cancel

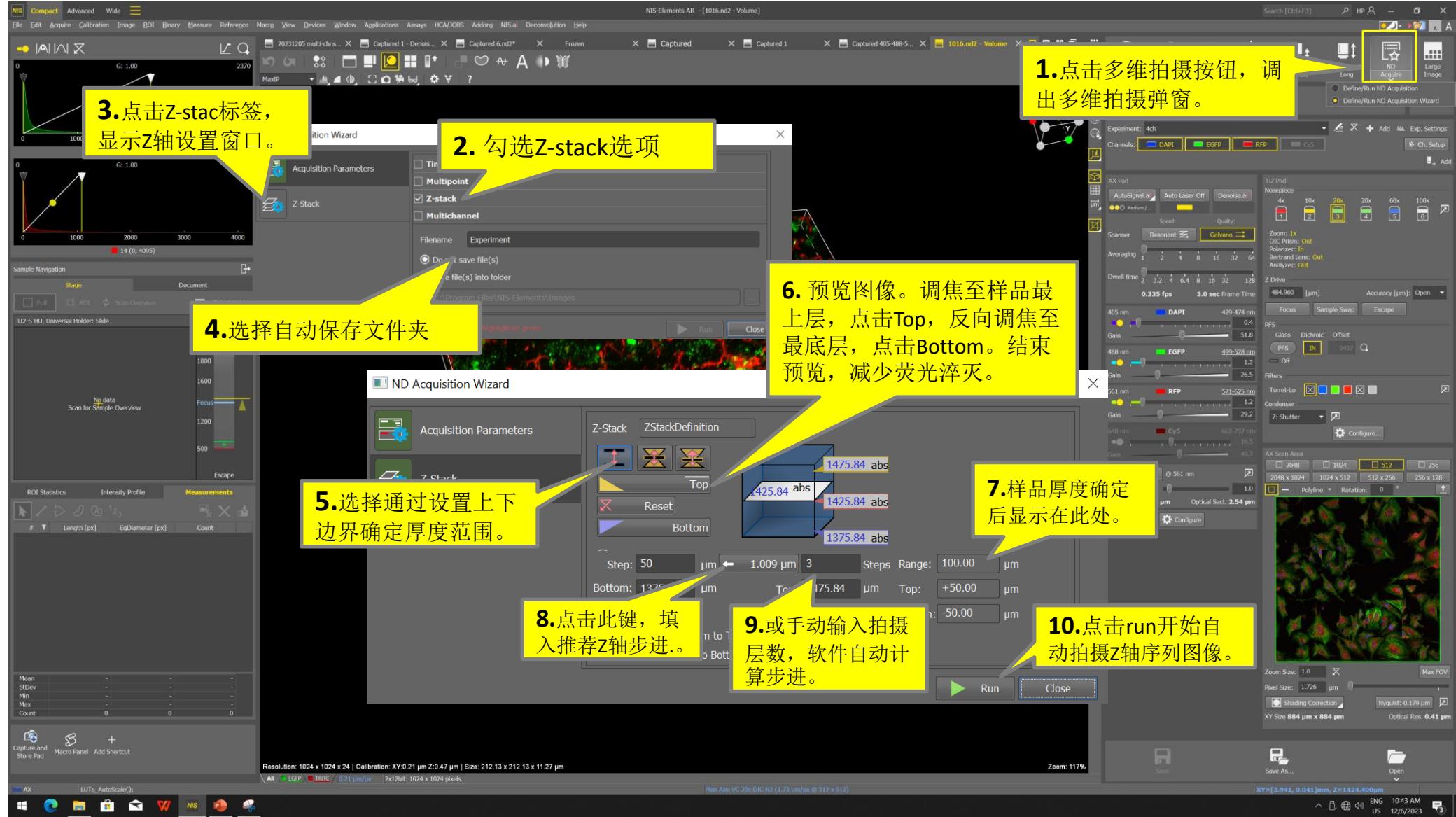
Help

3. 一键导出

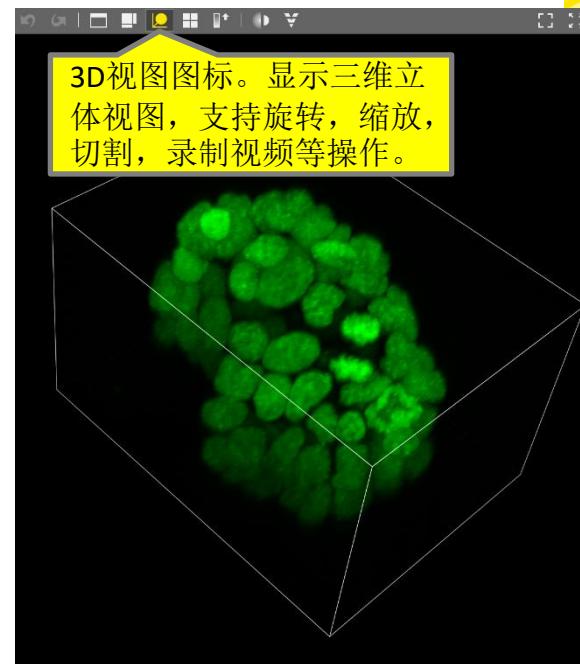
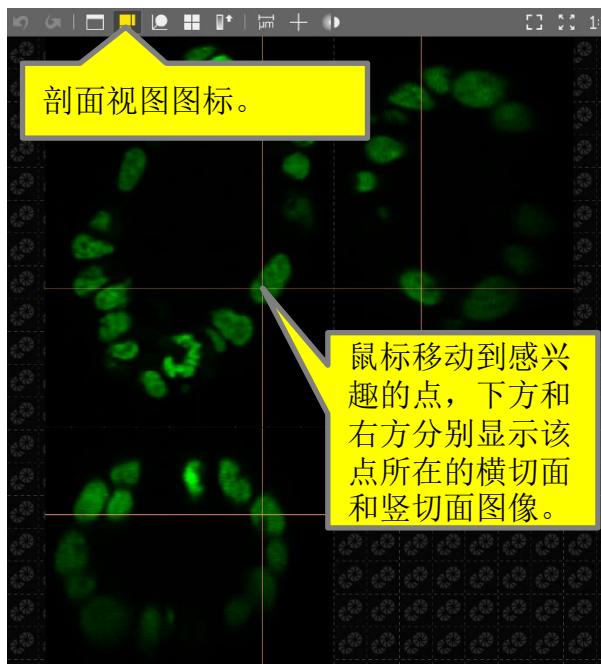
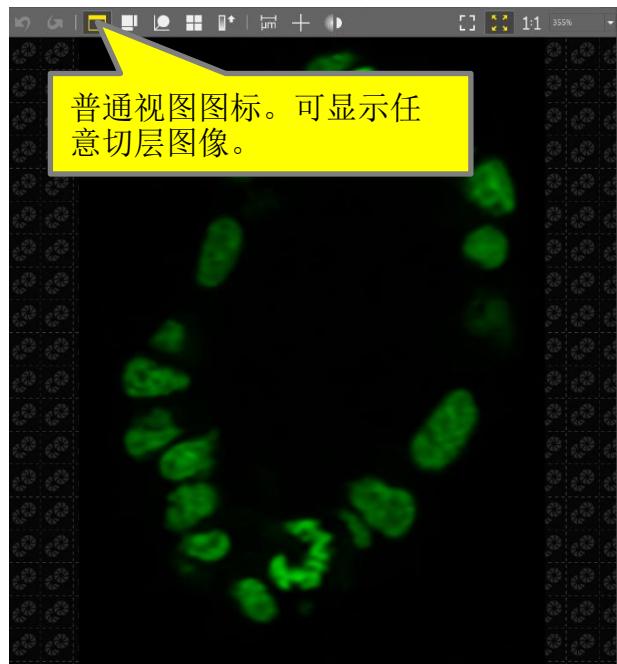


8. 多维图像拍摄之Z轴序列拍摄（Z轴序列图像获取）

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。

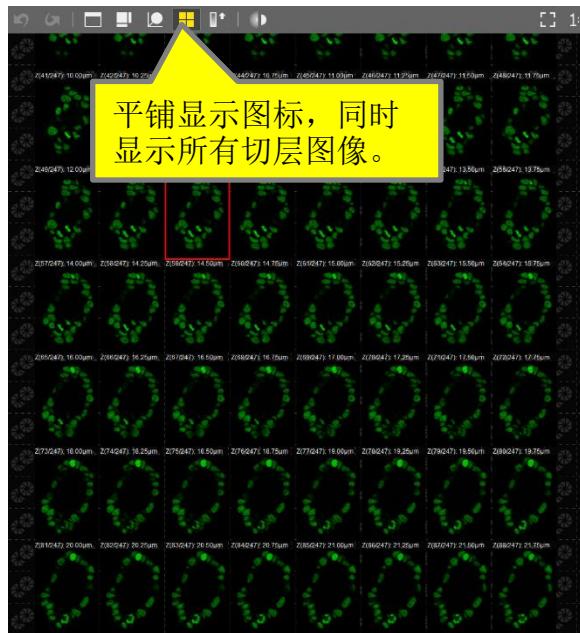


8. 多维图像拍摄之Z轴序列成像（Z轴序列图像显示）



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。



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

Nikon

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: 动态成像务必打开完美对焦系统PFS, 防止焦点漂移。



2. 点击多维拍摄按钮, 调出多维拍摄弹窗。

3. 勾选timelapse选项

4. 点击timelapse标签, 显示Z轴设置窗口

5. 选择自动保存文件夹

6. 设置好拍摄时间长度, 拍摄间隔等参数。

7. 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。



1. 打开PFS完美对焦系统，之后预览样品并调焦。

2. 点击多维拍摄按钮，调出多维拍摄弹窗。

3. 勾选Timelapse和multipoint选项

4. 选择自动保存文件夹

5. 点击Timelapse标签，设置好延时拍摄参数。

6. 点击multipoint标签，显示多点设置窗口。

7. 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。

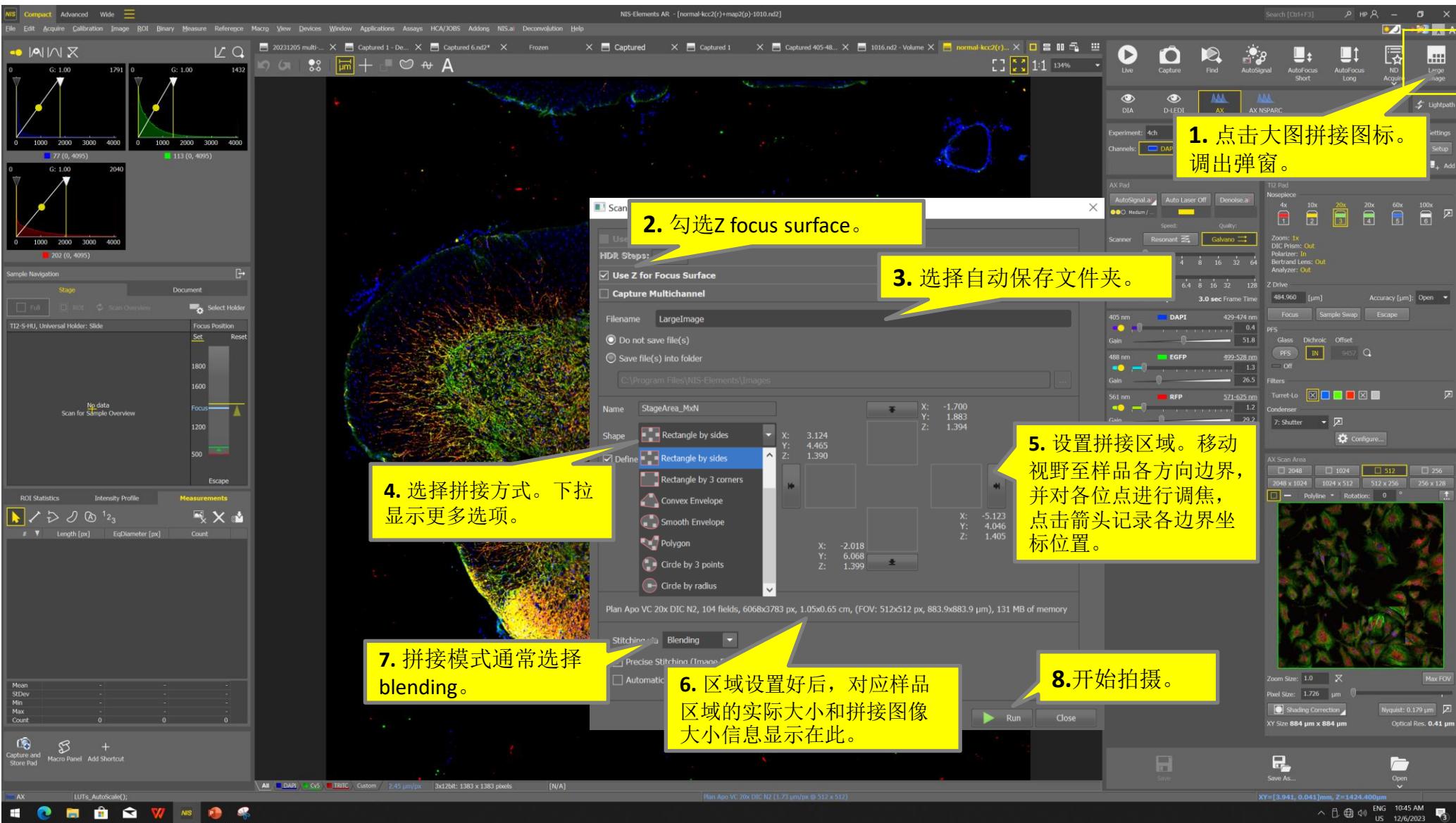
8. 必要时勾选包含Z轴坐标，则XYZ的坐标都会被记录。

9. 点击run开始自动拍摄。

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。

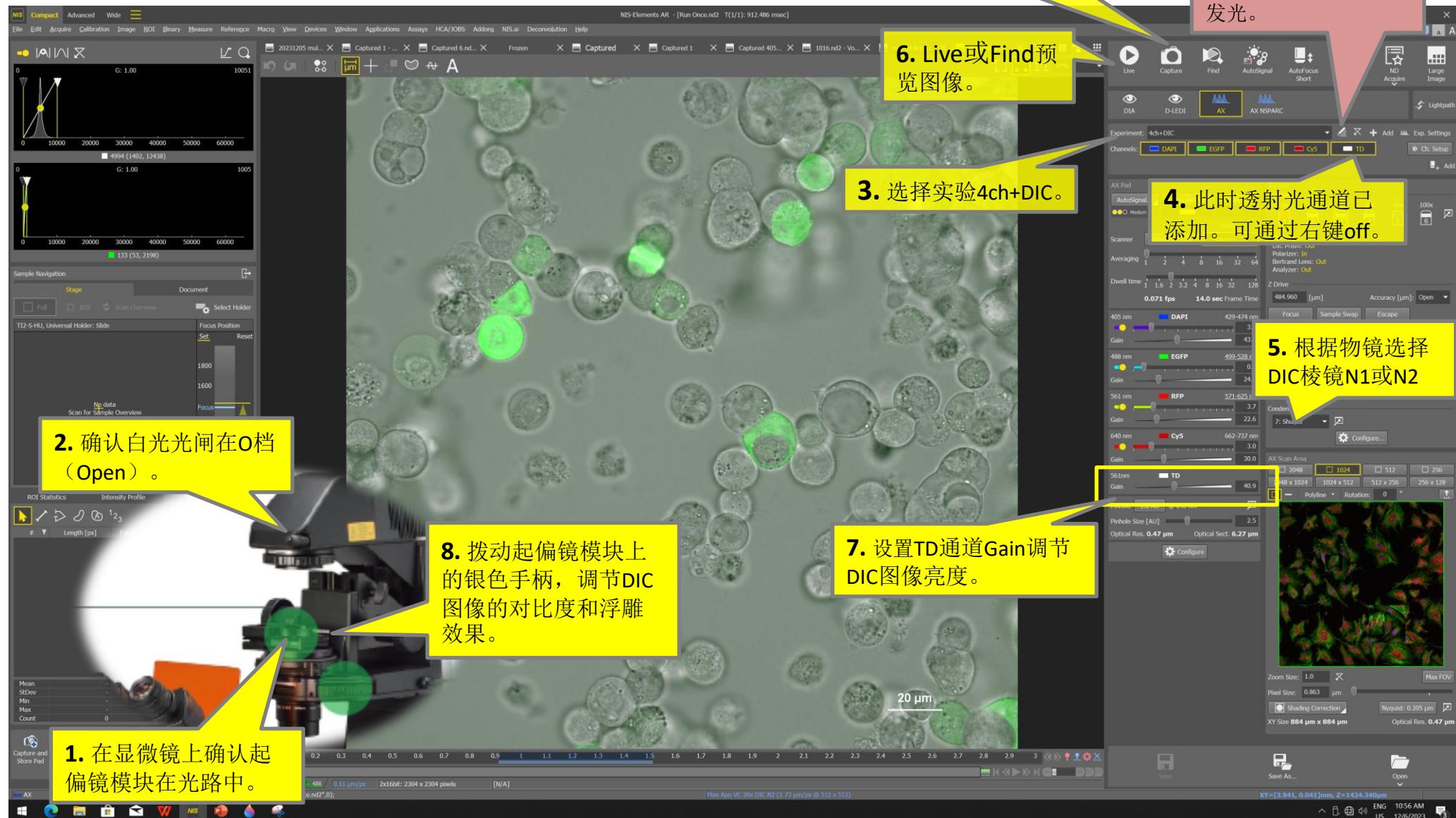


12. 透射光DIC（微分干涉相差）图像拍摄

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。通常10x物镜选N1，20x及以上选N2。

9. 点击“Capture”获取荧光和DIC叠加图。

Tips: TD通道默认使用488激发，因此488激光功率也会影响DIC图像亮度。点击此处修改可修改TD通道激发光。



选配功能 —— ER高分辨率成像

此功能仅限配置了ER分辨率增强模块的系统使用

Tips: 请移除物镜下DIC棱镜，否则会影响分辨率。



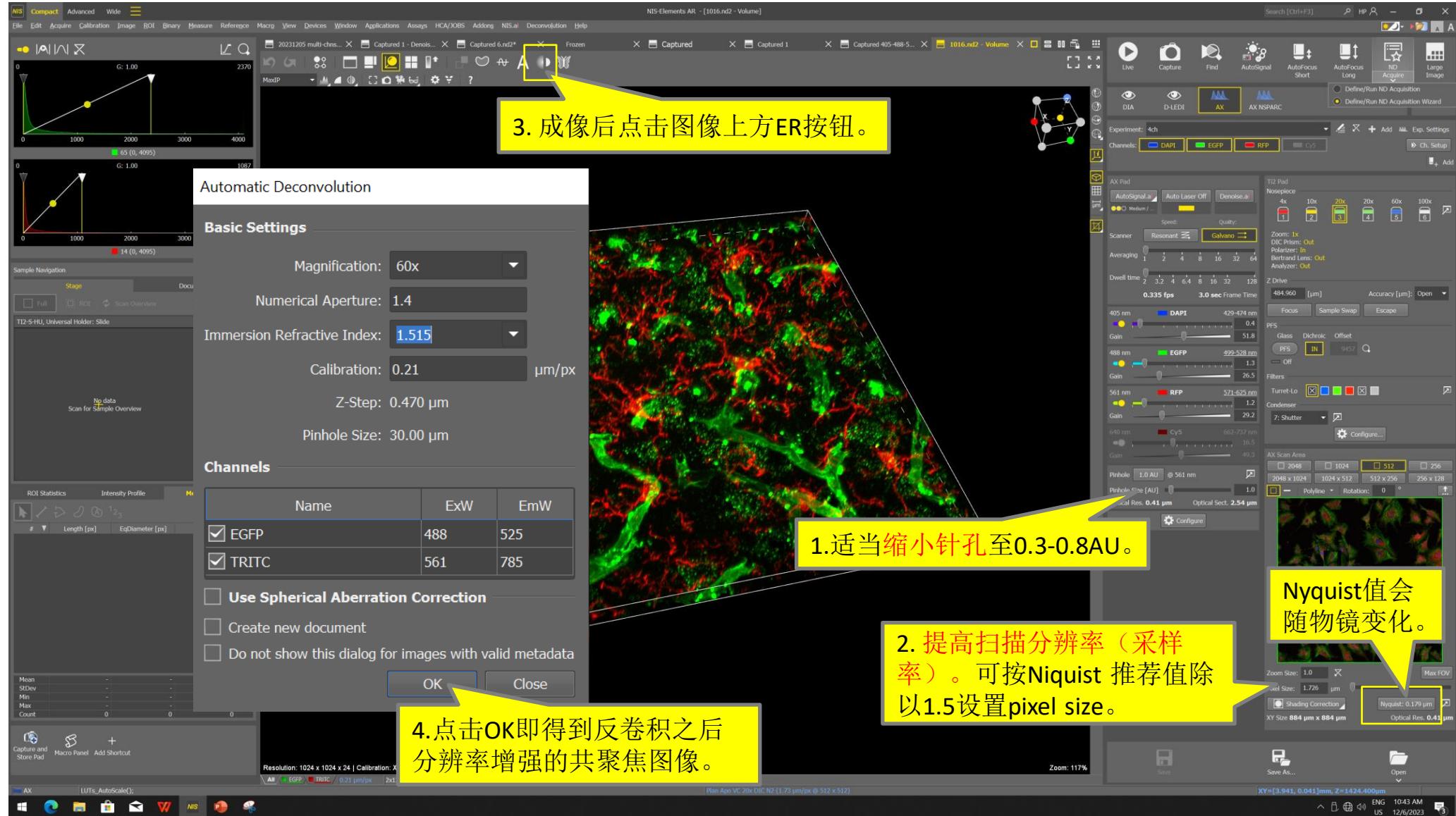
3. 成像后点击图像上方ER按钮。

1. 适当缩小针孔至0.3-0.8AU。

2. 提高扫描分辨率（采样率）。可按Niquist推荐值除以1.5设置pixel size。

4. 点击OK即得到反卷积之后分辨率增强的共聚焦图像。

Nyquist值会随物镜变化。



选配功能——光谱成像



此功能仅限配置了光谱型检测器的系统使用

The screenshot shows the NIS-Elements AR software interface with various panels and controls for spectral imaging.

1. 点击实验“full spectra”。
2. 设置光谱成像的波长范围
3. 设置光谱分辨率
4. 选择激发光
5. 预览图像，调节激光功率和Gain值。
6. 预览，调整图像焦点和视野。
7. 点击“Capture”自动获取全光谱图像。
8. 原LUTs窗口自动生成光谱曲线图。
9. 平铺显示所有光谱通道。

Key interface elements visible include:

- Top menu bar: File, Edit, Acquire, Calibration, Image, ROI, Binary, Measure, Reference, Macro, View, Devices, Window, Applications, Assays, HCA/JOBs, Addons, NIS.ai, Deconvolution, Help.
- Left panel: Sample statistics (Mean, StDev, Min, Max, Count), ROI Statistics, Intensity Profile, Measurements, Capture and Store Pad, Macro Panel, Add Shortcut.
- Middle panel: A grid of optical images showing different spectral channels. Labels for channels include 405, 415, 425, 435, 445, 455, 465, 475, 485, 495, 505, 515, 525, 535, 545, 555, 565, 575, 585, 595, 605, 615, 625, 635, 645, 655, 665, 675 nm.
- Right panel: Control panel for the spectrometer, including Speed (Scanner, Resonant, Galvo), Quality (Averaging 1, 2, 4), Dwell time (2, 3.2, 4, 6.4), Frame rate (0.994 fps), Emission [nm] (400 to 750), Resolution (20), Live Channel (405 nm, 561 nm, 640 nm), Gain, Pinhole (1.0 AU @ 640), Pinhole Size (AU), Optical Res., Focus, Sample Swap, Escape, PFS (Glass, Dichroic, Offset), Filters, Turret-Lo, Condenser, XY coordinates (4.039, 0.090 mm, Z=1419.820 μm), and camera settings (484.960 [μm], Accuracy [μm]: Open).
- Bottom status bar: 1.24 μm/px, 30x12bit: 512 x 512 pixels, [N/A], Plan Apo VC 20x DIC N2 (1.73 μm/px @ 512 x 512), XY=[4.039, 0.090]mm, Z=1419.820μm, ENG, 1:18 PM, US, 12/6/2023.