

# Leica LMD6500

# Leica LMD7000

激光显微切割

中文操作手册

Living up to Life

**Leica**  
MICROSYSTEMS

# 版本说明

对于此文件的所有权力都属于徕卡显微系统有限公司Leica Microsystems CMS GmbH.

徕卡激光显微切割LMD6500/7000 通常情况下在产品抵达客户处时都已经预先设置好。所有的硬件组件，比如激光和摄像头，都已经预先安装调试完成。激光显微切割软件LMD也已经安装完成。

改变设置、升级软件或者改变电脑和摄像头都需要重新设置软件或者重装软件

您可以在随机的CD光盘中找到所有的软件。

**! 重要提示:**

如果有早期版本的徕卡软件 (Leica Application Suite (LAS), microdissection software) 安装在您的电脑上，那么您要再安装新版软件就需要把前面的旧版删除。

如果有更新内容恕不另行通知，请参考徕卡显微系统有限公司网站

版本号1，日期May 2010:

徕卡显微系统  
Ernst-Leitz-Straße 17-37  
D-35578 韦茨拉尔 (德国)

---

# 目录

快速启动 .....	4
操作步骤 .....	6
启动 .....	7
开启显微切割软件 .....	8
操作步骤 .....	9
安插PCR离心管到收集器中 .....	9
连接数据库 .....	10
选择收集管盖/孔 .....	11
选择画图模式 .....	12
创建切割模式 .....	13
切割 .....	14
检查切割结果 .....	17
测量 .....	18
储载体物台位置 .....	21
荧光模式操作步骤 .....	21
图标和对话框说明 .....	24
问题和解决方案 .....	25

# 快速启动LMD7000

## 主要功能:

全自动激光显微切割系统在显微镜下通过激光对非均一性样品进行特定分选、收集。该仪器满足DNA、RNA研究及蛋白质组学的各项研究工作，最大程度地避免混合样本对实验结果造成的干扰或误导，从而得到最精确的实验结果。该仪器能够切割病理切片组织、细胞集落、单细胞、染色体以及活细胞等微小样本，同时具备明场、相差、荧光等多种观察方式下激光切割的能力。

## 主要部件:

显微镜主机DM6500B;

显微镜控制箱CTR6000/6500;

激光控制箱 (Explorer 349 LASER SYSTEM);

电脑 (预装软件LMD v6.7),

荧光光源EL6000

## 简明步骤

### 1. 启动控制箱

1) 打开Leica CTR6000/6500 电子控制箱开关



2) 控制箱开机后，绿灯亮启，表示启动正常，当初始化完成后，Leica面板显示显微镜设置



### 2. 启动电脑

**注意:** 电脑会自动识别显微镜，如果此时显微镜控制箱未开，会显示报错

### 3. 启动激光模块

1) 打开激光模块后面电源开关



2) 打开激光模块前面钥匙



激光模块预热时间5-10分钟，此时左边指示灯显示橙色，右边指示灯暗；当左边和右边指示灯同时显绿色时，表示预热结束，可以操作激光。此时激光可由软件控制

**注意:** 请不要反复启动激光模块，影响使用寿命

### 4. 启动荧光模块 (按需要)

打开荧光光源Leica EL6000的电源



**注意:** 请不要短时间内反复启动荧光模块，影响使用寿命

本中文使用说明仅供参考，一切具体步骤以产品使用说明书 (Leica LMD7000/Laser Microdissection System/Instructions) 为准

软件使用请参照软件使用手册: Leica LMD7000/Laser Microdissection System/Microdissection Software/Version 6.7

# 快速启动LMD6500

## 主要功能:

全自动激光显微切割系统在显微镜下通过激光对非均一性样品进行特定分选、收集。该仪器满足DNA、RNA研究及蛋白质组学的各项研究工作，最大程度地避免混合样本对实验结果造成的干扰或误导，从而得到最精确的实验结果。该仪器能够切割病理切片组织、细胞集落、单细胞、染色体以及活细胞等微小样本，同时具备明场、相差、荧光等多种观察方式下激光切割的能力。

## 主要部件:

显微镜主机DM6500B;

显微镜控制箱CTR6000/6500;

激光控制箱;

电脑 (预装软件LMD v6.7),

荧光光源EL6000

## 简明步骤

### 1. 启动控制箱

1) 打开Leica CTR6000/6500 电子控制箱开关



2) 控制箱开机后，绿灯亮启，表示启动正常，当初始化完成后，Leica面板显示显微镜设置



### 2. 启动电脑

**注意:** 电脑会自动识别显微镜，如果此时显微镜控制箱未开，会报错

### 3. 启动激光模块

1) 打开激光模块后面电源开关



2) 打开激光模块前面钥匙



激光模块预热时间5-10分钟，此时左边指示灯显示橙色，右边指示灯暗；当左边和右边指示灯同时显绿色时，表示预热结束，可以操作激光。此时激光可由软件控制

**注意:** 请不要反复启动激光模块，影响使用寿命

### 4. 启动荧光模块 (按需要)

打开荧光光源Leica EL6000的电源



**注意:** 请不要短时间内反复启动荧光模块，影响使用寿命

本中文使用说明仅供参考，一切具体步骤以产品使用说明书 (Leica LMD6500/Laser Microdissection System/Instructions) 为准

软件使用请参照软件使用手册: Leica LMD6500/Laser Microdissection System/Microdissection Software/Version 6.6

# 操作步骤

所有设置都储存在激光显微切割程序下。您可以在启动激光显微切割软件之后就能进行激光切割，而不需要任何预设参数。



## 注意事项:

所有参数在激光显微切割软件退出是都会被记录下来，如果用户想自己定义参数，也可以另存设置为一个文件，然后在需要使用时调出（菜单名称

## Restore Application Configuration）

- >> 开启开关
- >> 打开激光显微切割软件LMD6.7/7.0
- >> 安插PCR离心管到收集器中
- >> 连接数据库
- >> 选择收集管盖/孔
- >> 选择画图模式
- >> 创建切割模式
- >> 切割
- >> 检查切割结果
- >> 测量
- >> 荧光模式操作步骤

# 开机

- 打开徕卡电子控制箱CTR6000/6500开关。当开启时控制箱灯会变成绿色。所有的电子控制元件会开始自动初始化。当初始化阶段结束后，徕卡显示屏/触控屏会显示当前显微镜设置。
- 启动电脑。



## 注意事项

维修插头必须被正确插入插座

- 打开激光器。  
激光器电源首先被开启，然后旋转钥匙，启动激光器。  
激光器进入预热状态（大约5—10分钟）。位于左边的状态LED灯显示橙色，而右边的LED灯不亮。
- 在预热阶段结束后，两个LED灯都同时变成绿色。此时激光器可以正常使用了，当按下按钮后激光可以被激发出来。当这个激活状态结束后，右边的LED灯会显示红色。
- 请注意当不使用激光的时候，激光器会自动回到非激活状态。右边的状态LED灯显示绿色。激光器处于激活状态时，右边的状态LED灯会变成绿色。如果这时候再次激活激光，激光器会自动变成激活状态，而不需要经过像开机时的预热状态。这种机制保证了激光的长时间使用寿命。

## 其他激光使用状态:

激光可以通过软件来控制激活或非激活状态，当然也可以使用激光器上的开关键来控制。为了实现电脑控制，电脑的序列界面需要和RS232端口连接，此端口位于激光控制器的前部。并且，激光显微切割软件的选项菜单激光连接PC（**Laser connected to PC**）需要被选中，这个菜单路径是在 **Options\Settings\Misc**。这样，激光可以在切割时自动被激活，而不切割时可以自动转到非激活状态。激光暂停功能可以在路径 **Options\Settings\Misc** 的对话框中被设置。

- 使用荧光功能:

打开荧光光源EL6000的开关。.

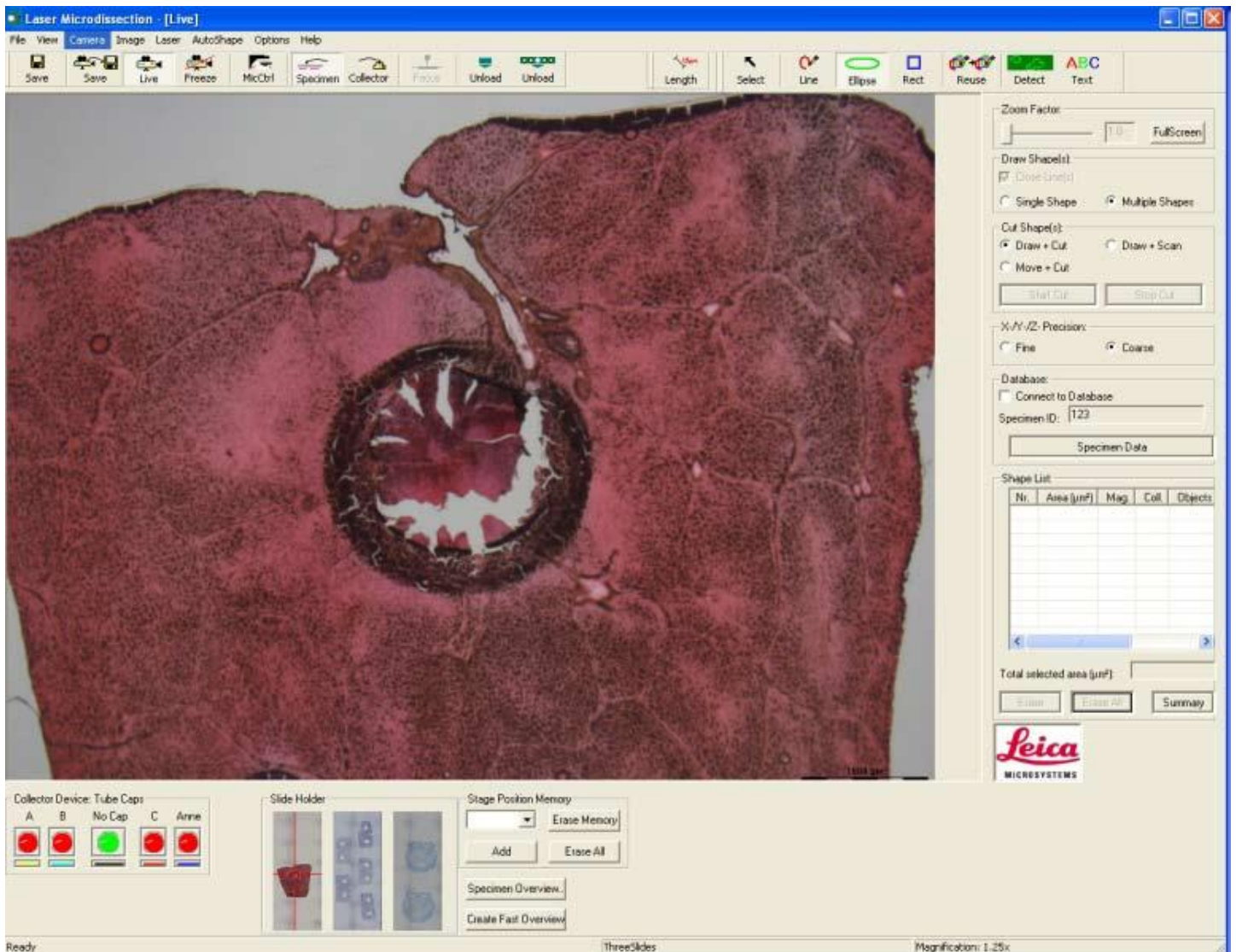


注意.:

徕卡应用套装软件Leica Application Suite (LAS)可以“自我学习”载物台行程，以防在z轴方向上的碰撞， 因为样品和物镜间的间隔非常小，所以这个功能极有帮助。载物台的最大移动行程根据每个物镜不同点做了相应调整，详情请见：设置操作行程 **Setup operating range**.

## 开始使用Microdissection软件

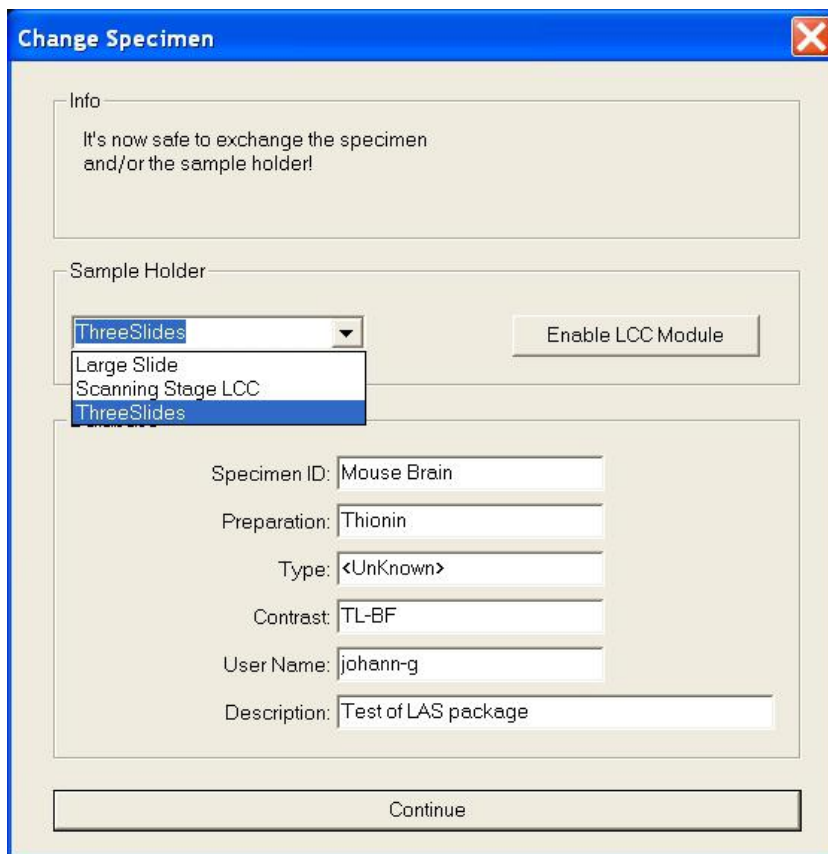
- 在开始菜单中或在桌面上双击软件**Leica Laser Microdissection**， 其工作窗口如下：



- 点击Tool标签中的**Unload**图标， 可将样品夹退出， 这时候可以将样品放入样品夹， 或者替换一个新的样品夹



新的载玻片类型在以下对话框中选择， 其他的载玻片数据也可以输入进去。



以下步骤是以膜载玻片membrane slides为例子：

- 在样品夹 **Sample holder** 选项中选择大载玻片 **Large Slide** 或者三片载玻片 **Three Slides** 选项.
- 在样品夹中装入膜载玻片membraneslide， 注意组织样品面朝下。 .
- 随后只需要点击继续按钮 **Continue**， 样品夹会随着载物台自动退到工作区域。 .



### 注意点：

有时候载物台退入的位置和原来移出的位置有细微的偏差。



# 工作步骤

常规模式下这里有多步操作需要说明，根据不同的应用方向会有不同的操作步骤，以下是主要的操作流程以供参考。

- 将PCR离心管、8连管8-wellstrips或者培养皿Petridishes安插入其对应的收集器中
- 将样本装入对应的样品夹中  
请参见设定操作工作范围**Setup operating range**，以调整样品或样品夹的工作行程。
- 点击连接数据库 **Connect to database**，将自动化数据库启动
- 选择画图模式**drawingmode**  
单个图形或多个图形**Single Shape/Multiple Shapes**
- 选中收集盖或收集孔**cap/well**
- 用鼠标创建切割目标区域或者用自动识别模式识别目标区域 **automatic cell recognition software(AVC)**
- 点击切割**Cutting**
- 点击tool菜单中的**Collector**按钮，检查激光切割结果
- 可选功能：测量**Measurements**  
长度和面积测量**Length and Area Measurement**  
目标数量**Number of objects**

## 将PCR离心管安装到收集器中

### 电动台Motor stage

- 将PCR离心管安插入收集器的开口中，注意从下方进入。
- 移动PCR管盖到末尾处，直到卡住不能移动为止。
- 将PCR管的尾部卡到收集器下方处。



## Insert PCR Tubes into the Collection Device

- 将4个收集杆都安插到收集器中。



- 将收集器collection device 插入载物台的适当位置。

### 扫描台Scanning stage

- 将PCR离心管安插入收集器的开口中，注意从上方进入。
- 移动PCR管盖到末尾处，直到卡住不能移动为止。
- 将PCR管的尾部向回折，卡到收集器下方处。



- 将收集杆都安插到收集器中。



- 点击tool中的“unload”按钮，将收集器退入载物台



对话框“改变收集器装置” **Change Collector Device** 会随后显示，当收集器放入载物台后点击对话框，载物台会随后自动退入显微镜机身的原来位置。

### 在收集器collection device中插入8联管8-well strips

- 在收集器中插入8联管8-well strip.
- 将收集器放入载物台上对应的插槽中.
- 点击鼠标，将收集器退入激光切割载物台中.



#### 注意:

对于扫描台的收集器来说，有特殊的收集装置可供选择，“1微升反应体系”（lab on a chip device）。如果你选择“1微升反应体系”收集装置，需要在装置类型**Device Type** 中选择对话框 **Change Collector Device** ，再选中按钮**Lab on a Chip**.

## 连接数据库Database

在使用数据库功能前，请确认已经安装 IM 1000 软件.

- 在**Connect Database**前打勾，启动数据库，其窗口在右边打开

激光显微切割的数据一般会直接存在数据库文档里面，称为 **LMDDB**.

- 打开对话框窗口后，双击**Specimen Data**，写入样品数据

## Selecting a Cap/Well

样品的名称 (**Specimen ID**) 和对话框 **Change Specimen** 相对应。后者是点击 **Unload** 按钮后弹出窗口。一个数据表会随后建立，数据库 **LMDDb** 会对每一个样品都有存档。

当多个样品一同加载在样品夹中的时候，比如扫描载物台上 (**scanning stage only**)，数据是根据当前操作的样品而建立的，所以每个样品都可以有一个单独的名称。

当数据库建立起来后，样品图像也是同时自动被保存下来，而拍照时的显微镜数据，拍摄日期和时间等基本参数也一起保存下来。

在路径 **Options/Database/Capture** 的对话框中(图像视野拍摄 **Image capture**) 可以拍摄图像并且自定义图像

并且，也可以直接点击工具栏中的 **Save** 图标来保存图像

当关闭显微切割程序时，数据库也同时关闭。

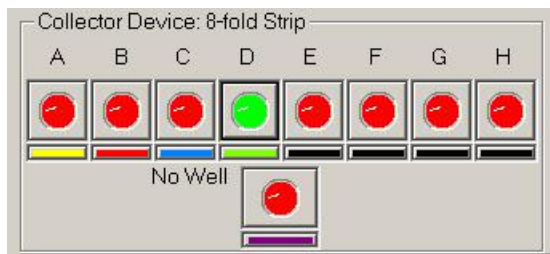
请参考 **IM 1000 database software** 使用手册来进一步了解操作细则。

# 选择收集盖/收集孔

点击工作区域下方的圆形按钮，选中收集盖，这时被选中的收集盖变成绿色。



当使用8连管的时候，也是同样选中圆形收集孔即可

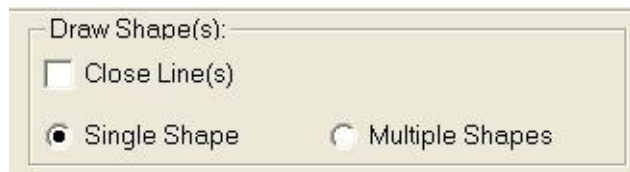


每个收集盖或收集管都可以设置成一种特别的颜色，只要点击圆圈下方的横条上即可。请注意盖子颜色的位置。

由于画图模式的选择不同，一般在未切割之前选择无盖子或无孔的位置 **No Cap** or **No Well**，等要切割时在需要选择需要的盖子或孔的位置。

盖子或孔的名字也可以根据需要输入(**renaming a collector device**)。

# 选择画图模式



您可以选择单个形状模式 **Single Shape** 或者多个形状模式 **Multiple Shapes mode**.

在单个形状模式下 **Single Shape mode**, 只有一个切割的图形可以被画出来。而在多个形状模式下 **Multiple Shapes mode**, 一次可以画多个切割图形。

如果需要一次在多个视野中画图形, 这些不同视野中的图形可以被收集到同一个收集盖/孔中。只要您先选取某个收集盖/孔, 后面的收集步骤都可以在切割模式下自动完成。



注意.:

图像预览 **overview image** 可以事先创建, 便于操作者达到一个整体的切割方案。

# 创建切割模式

## 单一图形模式 **Single Shape mode**

- 在工作界面的右上角画图菜单 **Draw Shape(s)** 中 选择单一图形按钮 **Single Shape mode**.  
如果您需要的图形需要自动形成闭合曲线, 请选取闭合曲线按钮 **Close Line(s)**

- 在工具栏中单击按钮 **MicCtrl**, 打开显微镜控制对话框 **Microscope Control**



选择观察方式, 比如明场. **TL-BF**.

这时实时采图的窗口就会出现

- 选取合适的放大倍数 **magnification 5x, 6.3x 或 10x**, 然后移动当前视野来找到需要的目标。选中目标后移动到要激光切割的物镜。
- 在图形菜单 **drawbar** 中单击 **Line** 或者右键选中 **Draw** 选项, 这时可以用鼠标画一个任意的图形。  
还可以单击椭圆形 **Ellipse** 图标或长方形 **Rectangle** 图标来创建一个椭圆形或长方形的切割目标。如果您要画一个正圆形, 只要按 **Shift** 键的同时点击 **ellipse** 来画图。



- 如果您没有选取收集盖/孔的位置 (收集器中间位置标着 **No Cap/No Well**), 您会被弹出窗口询问。您如果在画图前已经选取了某个收集盖/孔, 那么就没有弹出窗口, 当前收集盖/孔就会当前收集器。
- 为了便于辨认收集管和切割目标的对应关系, 您可以方便地通过收集管下方的颜色和画图的颜色对应关系来判断。每种收集管都可以定义颜色, 对应的图形颜色也是一一对应。
- 当按住的鼠标放开时, 画图功能自动关闭, 图形的末端和起始端会自动闭合 (前提是您先选中 **Close Line(s)**)。
- 图形可以被重复使用, 只要您点击 **Reuse** 按钮, 然后在选中要重复画的图形。

### 多个图形模式 Multiple Shapes mode

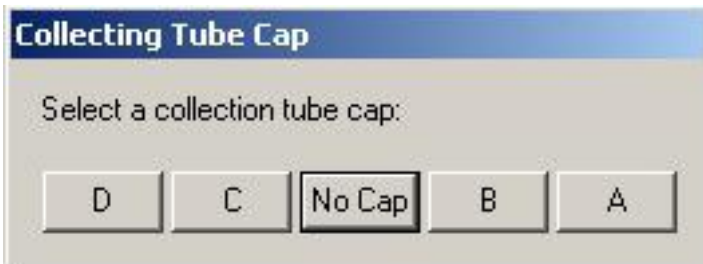
- 在工作界面的右上角画图菜单**Draw Shape(s)** 菜单中选中多个图形按钮**Multiple Shapes**。  
如果您需要的图形需要自动形成闭合曲线，请选取闭合曲线按钮 **Close Line(s)**。

- 在工具栏中单击按钮 **MicCtrl**， 打开显微镜控制对话框**Microscope Control**



选择观察方式， 比如明场. **TL-BF**.  
这时实时采图的窗口就会出现

- 选取合适的放大倍数magnification 5x, 6.3x或10x， 然后移动当前视野来找到需要的目标。选中目标后移动到要激光切割的物镜。
- 如果您希望把每个切割目标都掉入不同的收集管中，请精确地选择切割目标对应的收集管，默认的收集位置**No Cap/No Well** 是没有收集管的，您需要在以下对话框中选择。



您只要点击需要的收集盖/孔就可以了。



#### 注意:

当前切割模式下的切割线颜色是和 **No Cap/No Well** 一样。当您定义了切割目标到特定的收集盖/孔时，切割线颜色会相应改变。

收集盖/孔的名字可以由用户自己定义。(重命名 collector device)

如果您前面已经选择了收集管位置，那么当您完成切割后，不会有弹出窗口来询问您要用哪个收集管，切割的目标也就相应掉入前面选中的收集管中。

- 在图形菜单**drawbar**中单击**Line** 或者右键选中 **Draw** 选项，这时可以用鼠标画一个任意的图形。  
还可以单击椭圆形 **Ellipse** 图标或长方形 **Rectangle** 图标来创建一个椭圆形或长方形的切割目标。如果您要画一个正圆形，只要按 **Shift** 键的同时点击 **ellipse** 来画图。



- 为了便于辨认收集管和切割目标的对应关系，您可以方便地通过收集管下方的颜色和画图的颜色对应关系来判断。每种收集管都可以定义颜色，对应的图形颜色也是一一对应。

- 当按住的鼠标放开时，画图功能自动关闭，图形的末端和起始端会自动闭合（前提是您先选中 **Close Line(s)**，然后您可以继续画图。

- 您可以通过以下步骤删除部分或全部图形。

首先请在右下方的**Shape List** 中点击需要修改的图形，然后选择**Erase All**；或者，单选一个图形然后点击 **Erase** 按钮，这样只删除单个图形。

您可以用点击右键来找到 **Erase/Erase All** 功能按钮。

- 图形可以被重复使用，只要您点击**Reuse** 按钮，然后在选中要重复画的图形。



注意:

您可以通过点击工作区域中的 **Shape List** 来选中某个图形。



注意.:

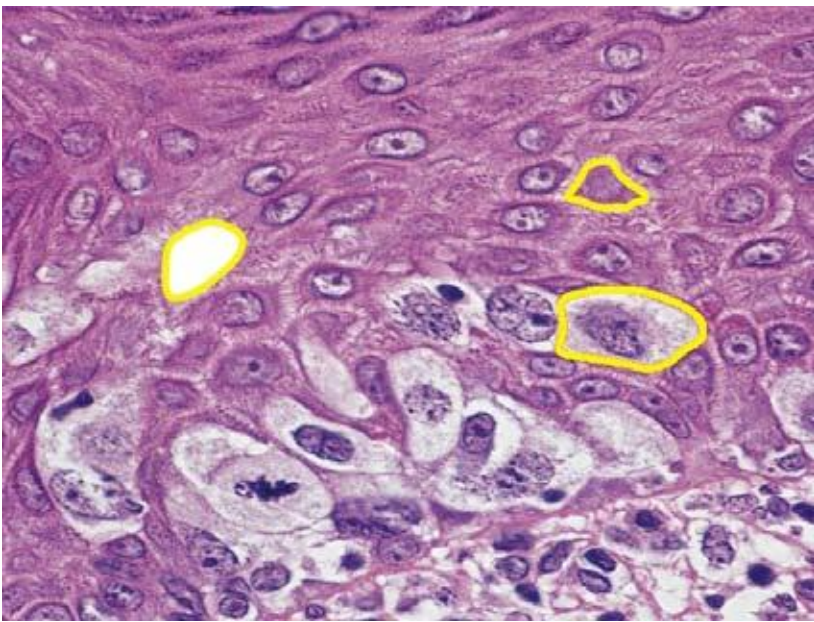
图形被选中后可以用鼠标来拖动，这项功能在 **Single Shape** 和 **Multiple Shapes** 当中都可使用，当然您还可以通过拖动来改变图形的大小。



注意:

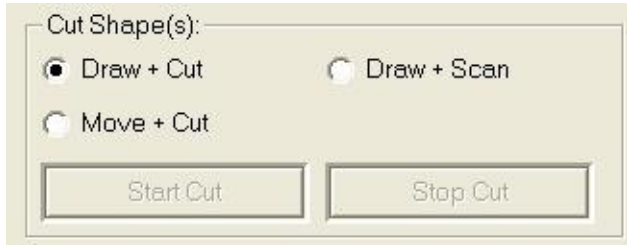
使用自动寻找模式 **AVC** 可以自动通过寻找条件的定义来寻找不同的目标细胞。

有多个切割图形的样本



# 激光切割

- 在 **Cut Shape(s)** 中选中切割模式。您有三个切割模式可以选择 **Draw + Cut**, **Draw + Scan** 和 **Move + Cut**。



注意:

在 **Draw + Cut** 模式中，切割图形先被画出，然后进行激光切割；在 **Move + Cut** 模式下，激光束实时地沿着画的线移动，图形被实时地切割下来。



注意:

**Draw + Scan** 模式不适用于切割在膜上制备的样品，这种模式是根据图形，激光进行一个迂回的切割路线。这种迂回路线的相邻距离可以在激光控制面板 **Laser Control dialog** 中调节。

- 点击 **Start Cut** 按键，就开始使用 **Draw + Cut** 模式了，也可以在选中图形后点击右键开始切割。切割时，点击 **Stop Cut** 可以暂停切割过程。

在多个图形模式 **Multiple Shapes mode** 中，所有的程序都可以自动完成。



注意:

如果您在 **Options/Settings/Misc** 对话框中选中 **Delete shapes after cut**，那么，在您点击 **Stop Cut** 后，图形自动被删除。



注意:

选中图形后，点击右键，选中连续切片切割模式 **Serial Section Cutting**，那么您就可以在不同的样片上切割相同的位置上的目标了。

重新切割 **Re-working cuts** 详情请见"问题和解决" **Problems and solutions**。



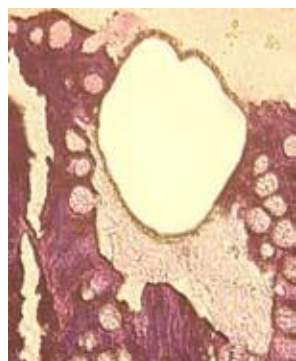
# 检查激光切割结果

- 在工具菜单中点击 **Collector**



- 预先自动记忆的收集盖/孔(Learn Inspection Mode).

- 切割后的样品查看时的对焦.



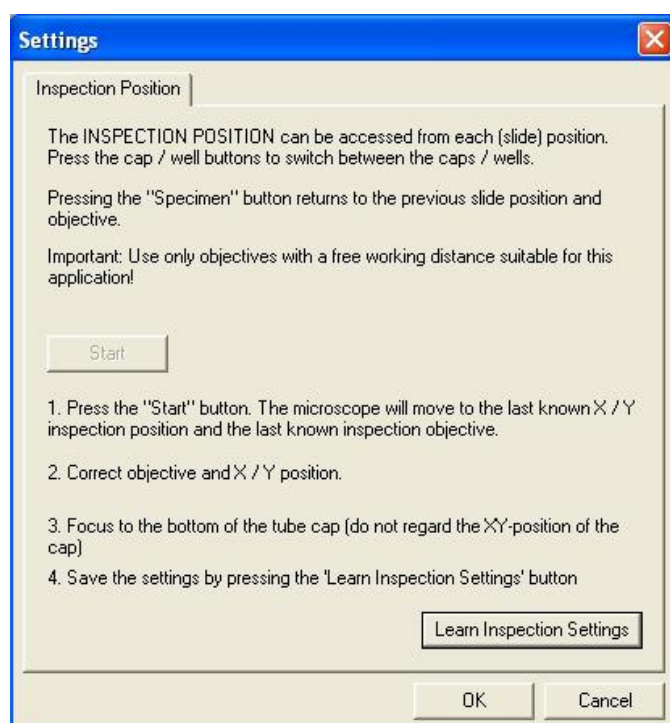
组织样品在切割前和切割后  
切割后的样品小片 (PCR 离心管中)

- 点击样品按钮 **Specimen** 回复以前记忆的收集盖/孔位置



注意:

如果在 **Collector** 模式下, 您可以让系统自动记忆z轴位置并且可以用一个物镜对应特定的一个收集盖/孔. 这个功能可以在**Options** 菜单中设定. **Settings**.



## Inspecting the Result

调节图像清晰度并点击 **Learn Inspection Settings**, 当前模式是 **Inspection mode**, 不需要先点击 **Start**, 所以**Start** 按钮是灰的.

点击**OK**, 储存下新的值, 或者点击**Cancel**, 不储存新值, 关闭对话框



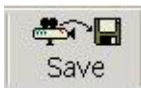
注意:

如果选项"自动在检查模式下转换2倍镜" **Automatically switch to 2x magnification cube in inspection mode**被选中, (路径 **Options\Settings\Misc**), 点击 **Microscope Control\TL Control**对话框下的**Enable M2X**, 这时M2X滤块会自动移动到查看模式下的光路中, 当查看模式结束后, M2X滤块会自动移出.



注意:

当点击**Save image**时, 您可以保存当前图像



或者, 您可以用右键菜单点击保存图像.

如果数据库是在激活状态, 图像可以直接在数据库中保存; 如果没有激活的数据库, 那么可以直接在另存图像的时候命名该图像.

实时成像的图像可以通过点击**ABC**, 叠加文字. 如果点击**Save overlay with image files** (路径**Options/Settings/Misc**), 这些文字可以被保存进入图像中, 而且切割的图形也可以被保存进去.

## 测量

任何情况下, 包括切割前或者切割后, 都可以在图像上进行测量.

您可以根据以下步骤来进行:

- 长度测量 Length measurement
- 面积测量 Area measurement
- 目标数量 Numberofobjects

### 长度测量 Length measurement

首先, 在**View** 菜单下的 **Measuring bar** 必须是被激活的. 这时的按钮 **Length**是可以使用的.



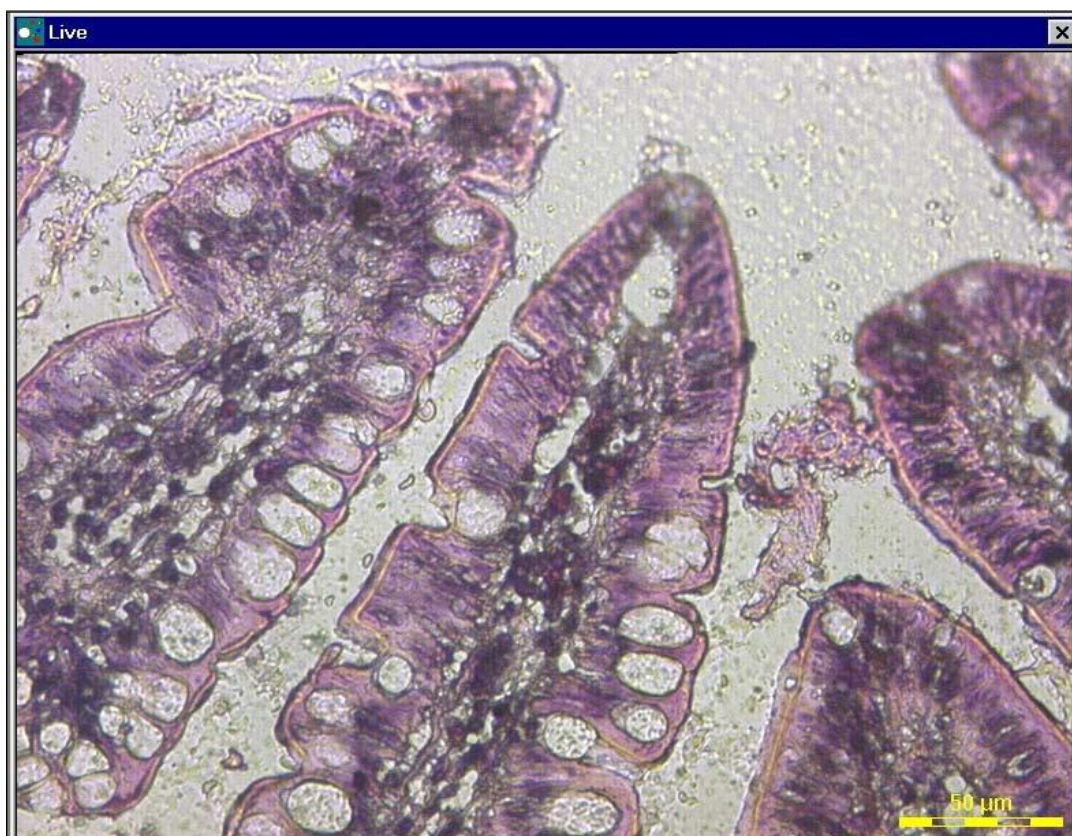
点击**Length** 移动鼠标到你想要测量的起始点, 左键一直按住, 拉动鼠标到达您想要测量的末端, 此时, 测量出的长度 (微米) 就立即显示出来, 而这时的放大倍数已经自动被考虑进去了.



如果你选中画图工具 **drawing tool** 或者移动载物台, 这个测量数据就会自动消除.

测量线的颜色和当前使用的收集盖/孔是一致的.

在菜单**View**中点击 **Scale**, 标尺就可以显示出来.



这里标尺也是同样显示的是当前收集盖/孔的颜色.

### 面积测量 Area measurement

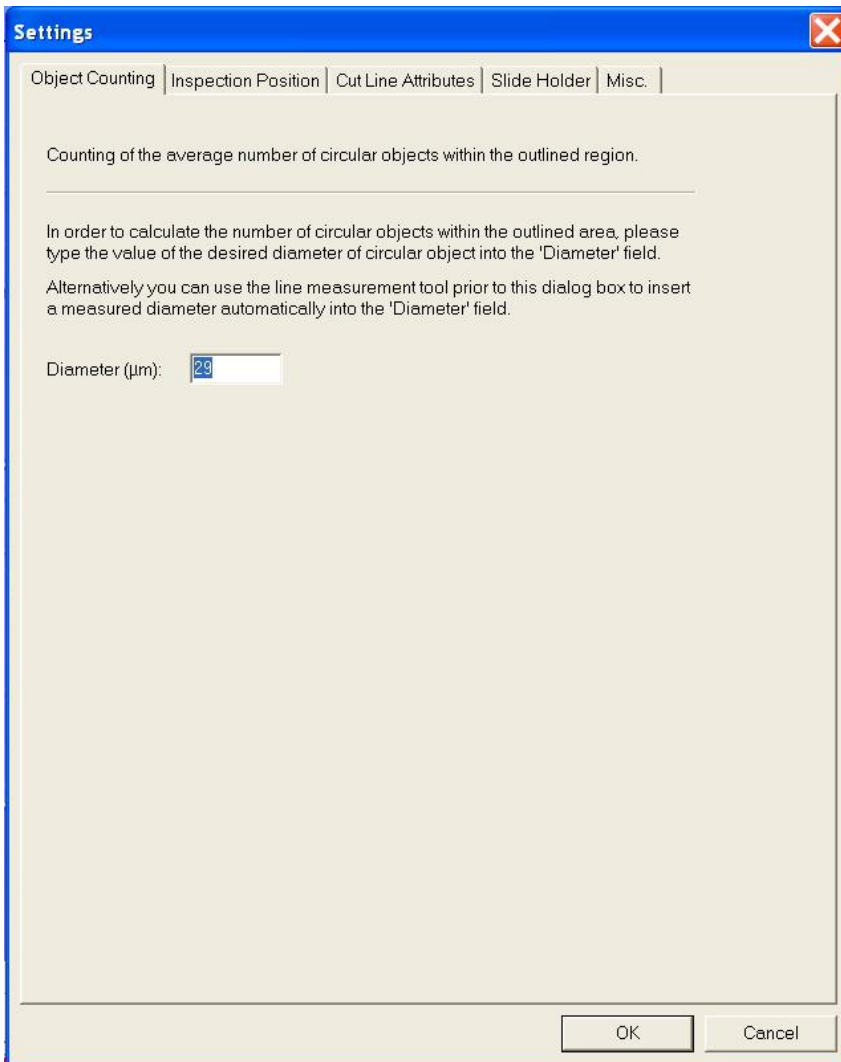
在形状表单 **Shape List** 中，单一图形面积会显示出来。所有画的图形的总面积也会显示出来，就在列表下方的区域中 **Total selected area**。

### 目标数量 Number of objects

被切割的目标数量会在列表 **Shape List** 中显示出来。

每一个的目标的平均直径 (用微米  $\mu\text{m}$  显示) 显示在 **Diameter** 区域中 (路径为 **Options/Settings/Object Counting**)

另外还有一种显示距离的按钮 **Length**，也可以显示出来 (修改路径 **Options/Settings/Object Counting** 中选择 **OK**)

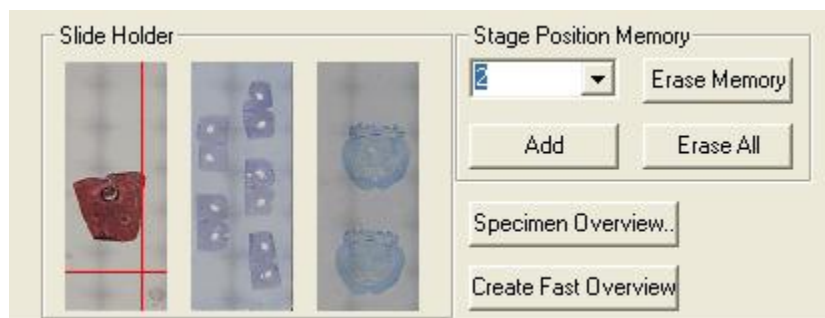


#### 注意:

当激光切割完成后，数据会保存在列表 **Summary** 中，形成一个图形列表清单 **Shape List**。这个列表可以输出后另存，以供以后分析使用。如果切割的目标选取的收集管位置是 **No Cap/No Well**，那么就没有数据会在 **summary** 列表中形成。

# 储存载物台位置

载物台的任何一个位置都可以储存下来。



- 移动视野到某一个位置.
- 点击 **Add**, 储存当前位置, 这里的储存位置可以增加到一定数量 (数量限制请见当前软件版本).
- 如果点击一个储存好的位置名称, 载物台就会移动到相应的地方.
- 如果想删除一个储存好的位置, 只要选中然后点击 **Erase Memory**.
- 如果想删除所有的储存位置, 只要点击 **Erase All**.

只有在实时采图界面下才能够进行载物台的位置储存和重定位. 另外, 您也可以通过点击图像窗口来移动载物台.

# 荧光观察操作流程

明场下的操作步骤

在收集器中插入PCR 管/8联管  
 连接数据库database  
 选中收集盖/管 cap/well  
 选择画图模式 drawing mode  
 创建切割模式 cutting pattern  
 激光切割 Cutting  
 检查结果 Inspect result  
 测量 Measurements

荧光fluorescence mode下的操作模式和明场下类似.

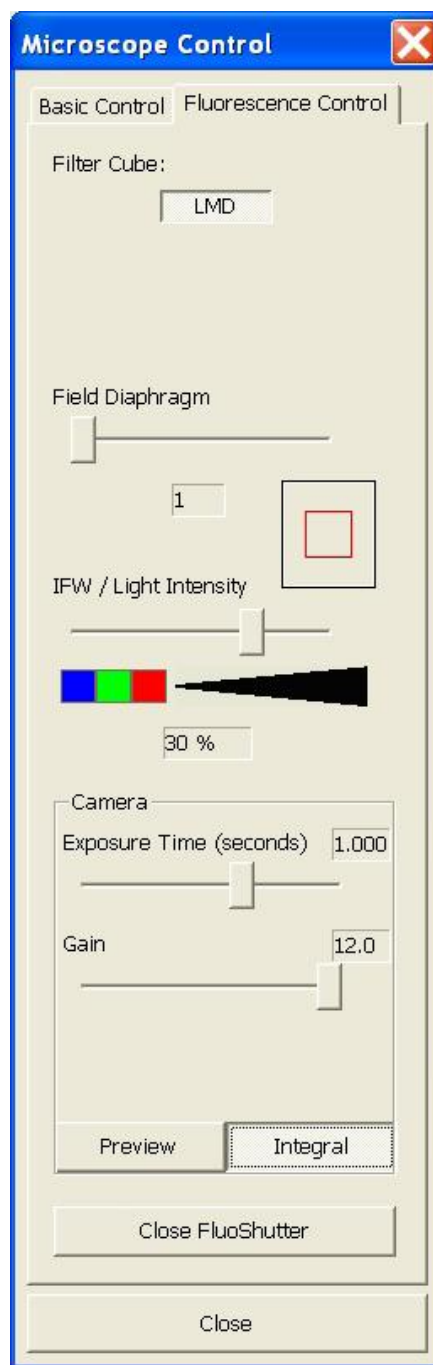
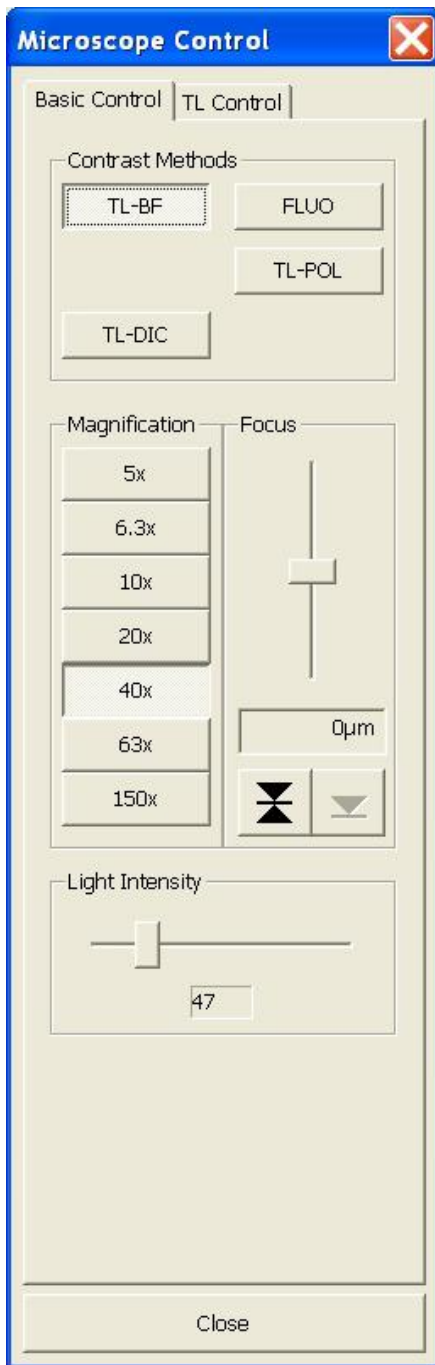
荧光参数设置您可以在 **Setting the fluorescence parameters** 中设定.

荧光成像步骤如下:

- 点击 **MicCtrl** 按钮.



一个对话框 **Microscope Control\Basic Control** 会马上打开.



- 选择荧光观察方式 **Fluorescence**, 点击 **FLUO** 按钮, 然后调节 **Fluorescence Control** 下的选项.

实时成像模式这时会开启, 并且荧光挡板 **Fluorescence shutter** 自动打开. 这时请注意荧光光源 **EL6000** 的挡板都是开启状态.

- 在对话框 **Microscope Control/Fluorescence Control** 中, 所有可用的荧光滤块都可以显示出来, 选择你需要的荧光滤块.
- 在这个时候您可以选择合适的视场光阑, 并且可调节内部荧光转轮 **internal filter wheel(IFW)**.
- 点击预览 **Preview**, 调节曝光时间.
- 选择样品区域并且对准焦平面.

- 转换到整合模式 **Integral mode**. 如果这时的图像可以符合要求, 那么就可以点击冻结图像 **Freeze**.



自动荧光挡板这时自动关闭, 这样可以保护样品不受长时间荧光的损害.

- 您可以像在明视野下一样, 用激光切割样品.



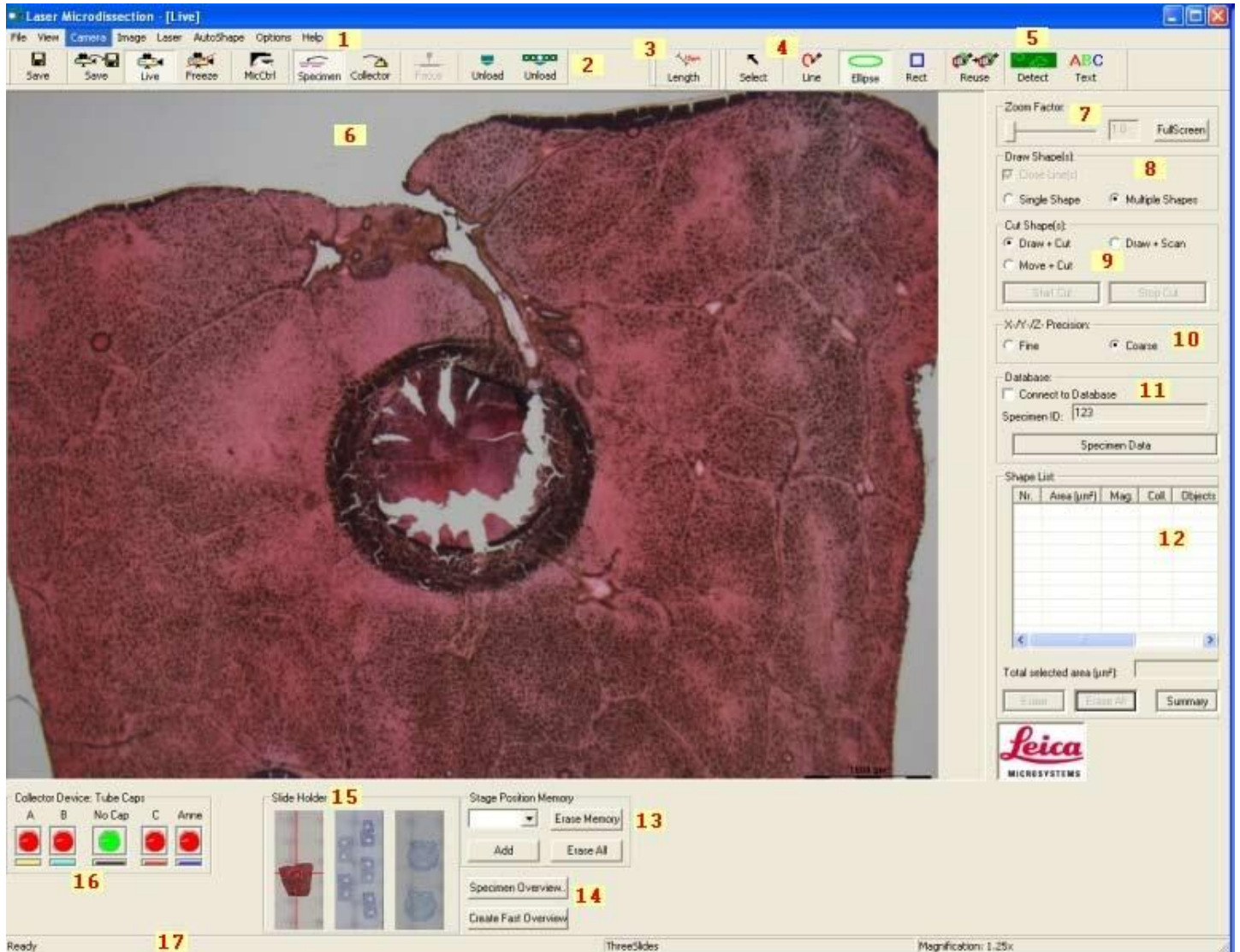
**注意:**

荧光挡板会在切割时自动关闭. 其修改路径在 **Options/Settings/Misc**, 可以关闭 **Fluo-Shutter during cut**.

# 菜单和对话框注解

## 工作窗口

当您打开激光显微切割的软件时，以下界面会呈现在您面前。  
上次使用的设定都会被保存下来，如果您愿意，也可以重新载入以前保存的参数。  
请查看**File** 菜单中的 **Restore Application Configuration**



工作界面包含以下部件:

- |  |  |
|--|--|
| (1) 菜单 Menu bar  | (10) 载物台对焦时间设定 Stage/focus speed setting (X-Y-Z-Precise) |
| (2) 工具栏 Toolbar  | (11) 数据库界面 Database interface                            |
| (3) 测量栏 Measuring bar  | (12) 图形列表 Shape list                                     |
| (4) 画图栏 Drawbar  | (13) 载物台位置记忆 Stage position memory                       |
| (5) 自动细胞识别模块 (可选)<br>Automatic cell recognition (optional)     | (14) 创建样品预览 Create specimen overview                     |
| (6) 图像窗口 Image window  | (15) 样品选择 (样品夹) Specimen selection (Slide Holder)        |
| (7) 实时成像数码放大<br>Digital zoom into live image (放大因子Zoom Factor) | (16) 收集盖/孔选择 (收集器)Cap/well selection (Collector Device)  |
| (8) 画图选项 Drawing options                                       | (17) 状态栏 Status bar                                      |
| (9) 切割选项 Cutting options                                       |  |



---

# 问题和解答

以下的信息供您在使用中参考，对常见的一些问题做了解释和如何修复。

## 激光不工作

请检查

- 维修插口service plug正常
- 钥匙口转到位置I,
- 背部电源开启
- UV保护罩位置正确
- 激光、电子控制箱和显微镜的连线都正确

## 请注意:

样品进出请使用 **Unload** 按钮.

## 对焦键focus不起作用

请确认自动对焦键 autofocus 在Leica Application Suite.中设置正确

## 载物台重定位速度慢并且不准.

请检查Track Length设置 (路径 **Options/Settings/Cut Line Attributes**). 对重定位来说, 设置的值越高, 精度越高 (速度也越慢).