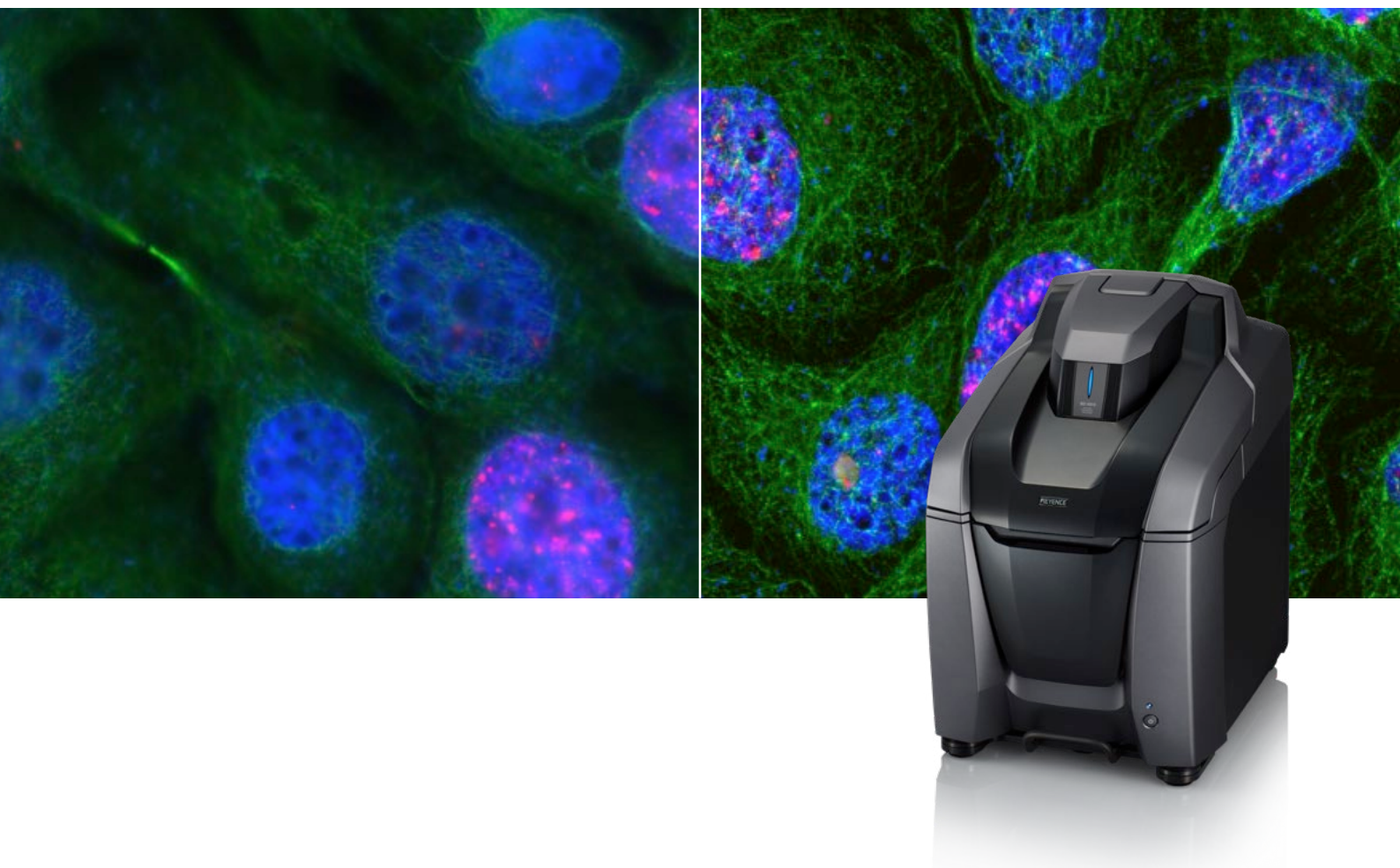


一体化荧光显微成像系统
BZ-X 系列

切片拍摄的成功推荐



目录

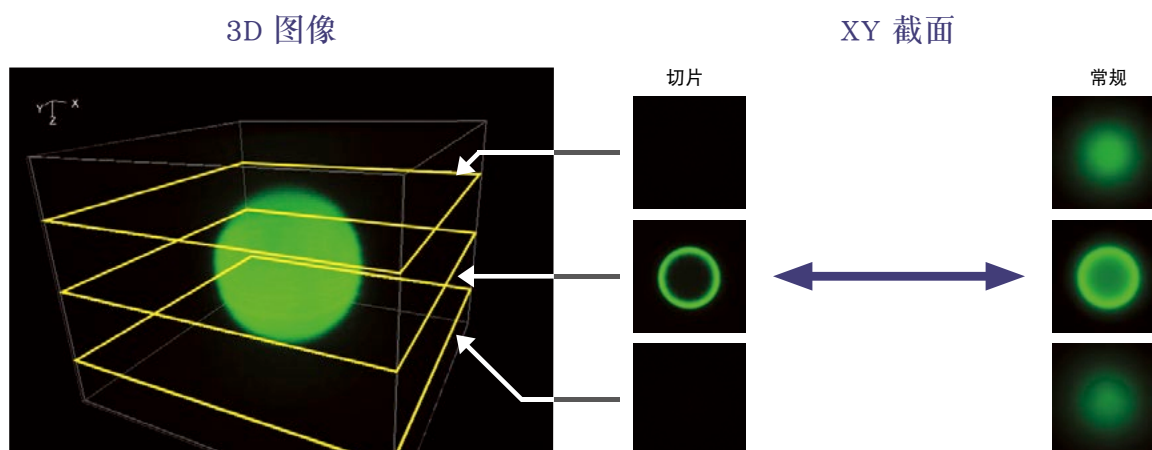
光学切片	3
方法类型	3
原理	4
SIM 的特征	6
论文信息	7
操作步骤	8
基本	8
调节亮度	9
调整参数	12
故障排除	14
过亮	14
过暗	14
亮度变化不自然	14
在其他软件中较暗	15
关于 z 栈的节距	15

光学切片

拍摄标本断层图像的方法。

由于是仅映射焦平面的光学系统，因此不会残留没有对焦的模糊图像。

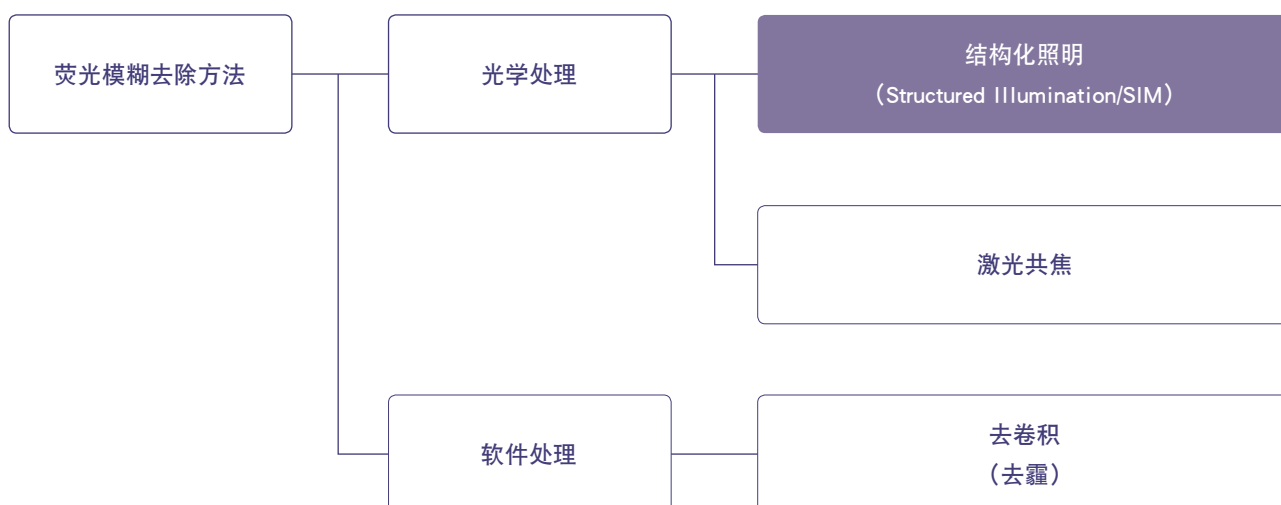
可拍摄无荧光模糊的清晰图像。



常规观测会残留非焦平面图像，即使在空无一物的地方，也会模糊发亮。

切片从光学的角度去除了该荧光模糊。

方法类型

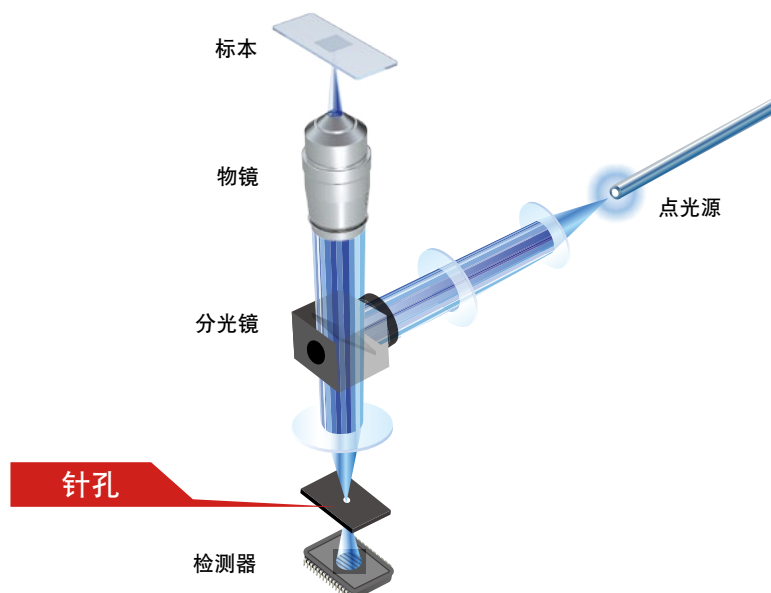


去除荧光模糊的方法包括光学处理和软件处理。在 BZ 中通过被称为结构化照明（SIM）的光学处理去除荧光模糊。其他类似方法还包括激光共聚焦。

原理

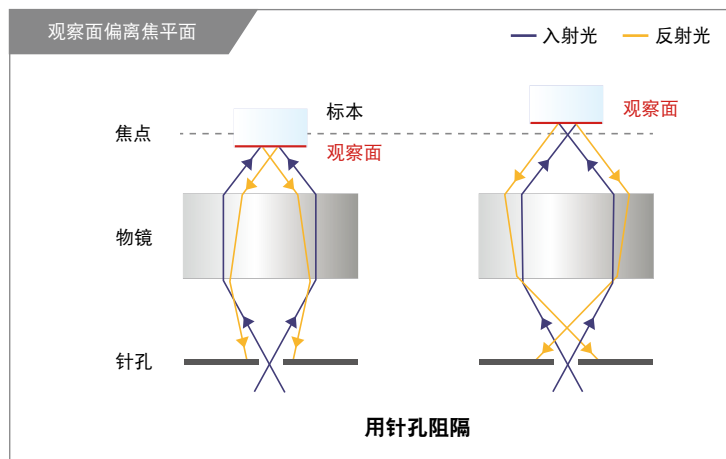
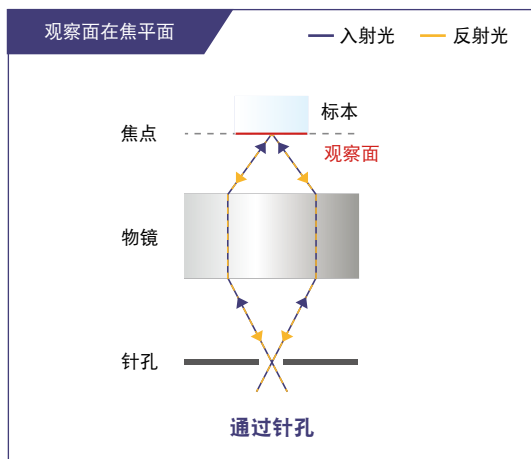
(参考) 激光共聚焦

激光共聚焦显微镜通过在光学系统中加入针孔，可去除标本焦平面以外的散射光。



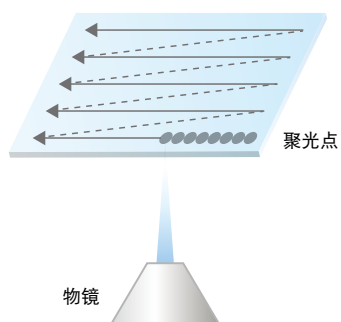
在共聚焦中……

通过插入光学系统中的针孔，切断不在焦点面的光。



在共聚焦中……

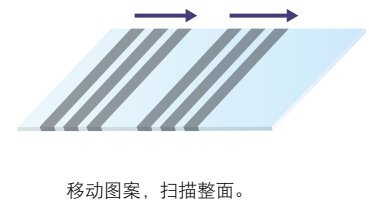
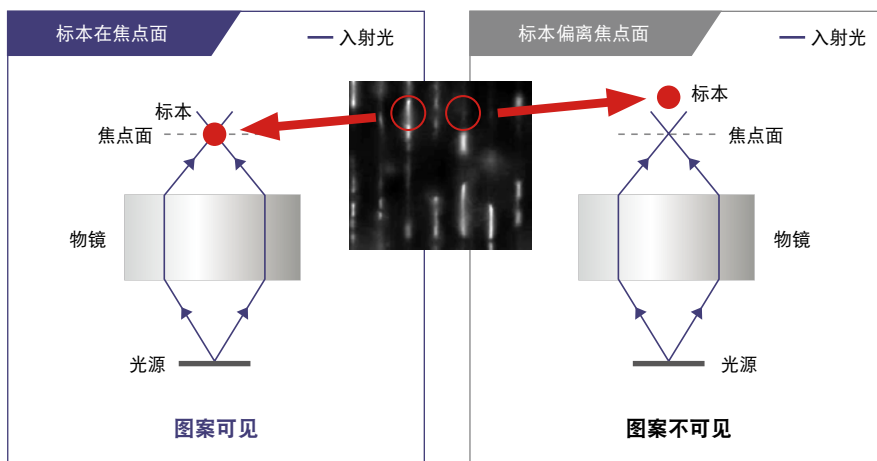
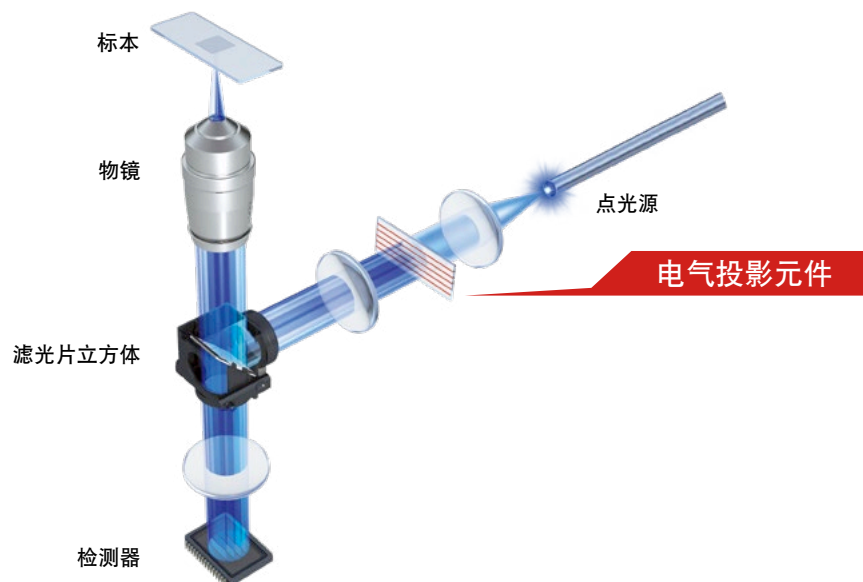
由于一次只能看到 1 点，
因此，在 XY 方向上扫描视野范围。



结构化照明 (SIM)

BZ 通过在光路中加入电气投影元件，可将图案投影到标本。

图案可清晰看到的位置即是焦平面的信号。



在结构化照明中……

从常规图像去除检测到的荧光模糊成分，抽取信号。

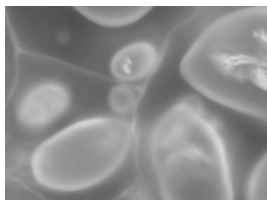
信号

仅当图案光线照射时发高强度光。

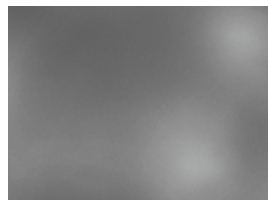
荧光模糊

图案光扫描时亮度无变化。

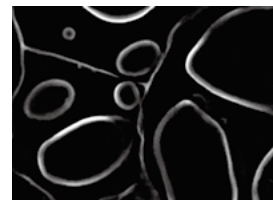
常规图像



荧光模糊成分



焦点面的信号

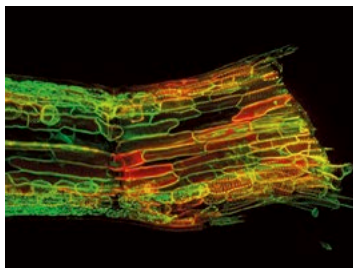


SIM 的特征

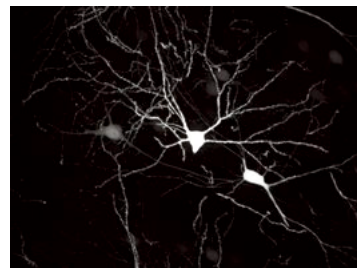
较厚的标本同样可清晰拍摄

由于不会拍摄到焦平面以外的模糊图像，因此较厚的样品同样能清晰拍摄。

拟南芥导管



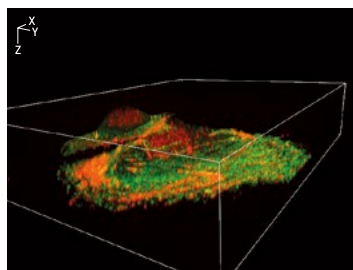
小鼠脑神经（透明标本）



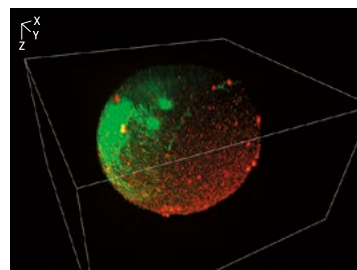
准确分析三维定位

拍摄 Z 栈时，各 Z 栈可精确拍摄，因此亦可精确构建三维图像。

肌球蛋白 II 压住细胞的情形

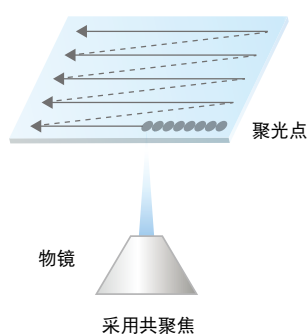
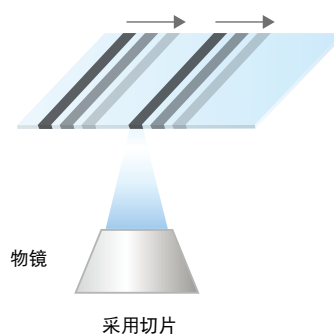


海鞘卵



高速拍摄

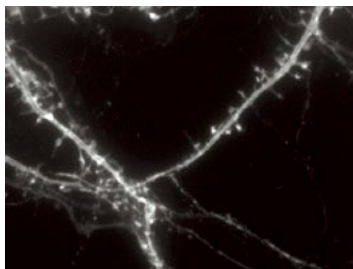
图案同时照射多个部位。与 1 点扫描相比，整面扫描所用的时间较短，因此可高速拍摄。



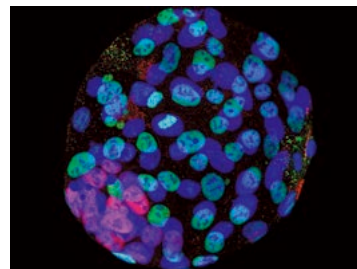
减少淬灭或光毒性

使用工作温度为 -25°C 的黑白制冷 CCD 进行高灵敏度检测，可在观察时将标本的损伤降至最小。

脊柱 ($\times 100$)



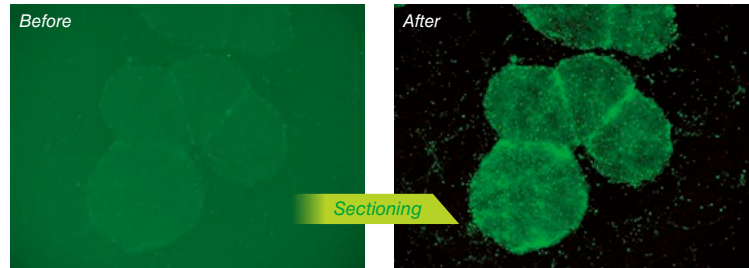
小鼠初期胚



无论何种容器均可拍摄

无需复杂的设定，不仅能直接拍摄载玻片及玻璃底培养皿，而且还可直接拍摄塑料培养皿以及多孔培养板等厚底容器。

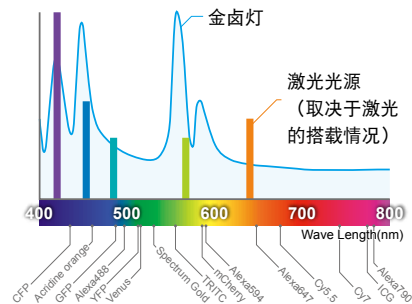
塑料培养皿上的 T-iPS 细胞



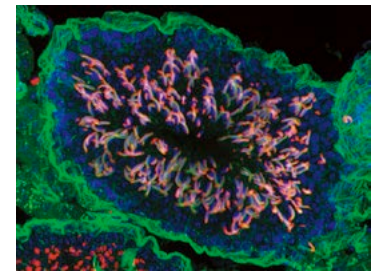
供图 / 京都大学 再生医学科学研究所 再生免疫学领域 河本宏研究室 增田 乔子 助教

可用于大波长范围

仅需改变滤镜，即可用于从紫外波长到近红外波长的所有波长区域。可选择适合实验的荧光试剂。



精囊



供图 / 京都大学研究生院 医学研究科 药物研究医学讲座 特聘副教授 Thumkeo Dean 先生

论文信息

以下论文涉及使用切片的观察报告。

【北里大学】

刊载杂志：Nature

A new approach for analyzing an adhesive bacterial protein in the mouse gastrointestinal tract using optical tissue clearing

<https://www.nature.com/articles/s41598-019-41151-y>

【大阪大学/理化学研究所】

刊载杂志：ADVANCED SCIENCE

Cascade Reaction in Human Live Tissue Allows Clinically Applicable Diagnosis of Breast Cancer Morphology

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/advs.201801479>

【大阪大学】

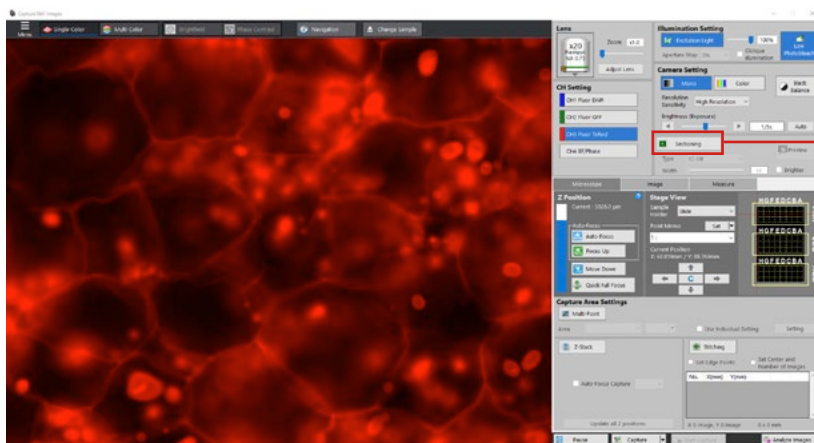
刊载杂志：PLOS ONE

Stagnation of histopathological improvement is a predictor of hepatocellular carcinoma development after hepatitis C virus eradication

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0194163>

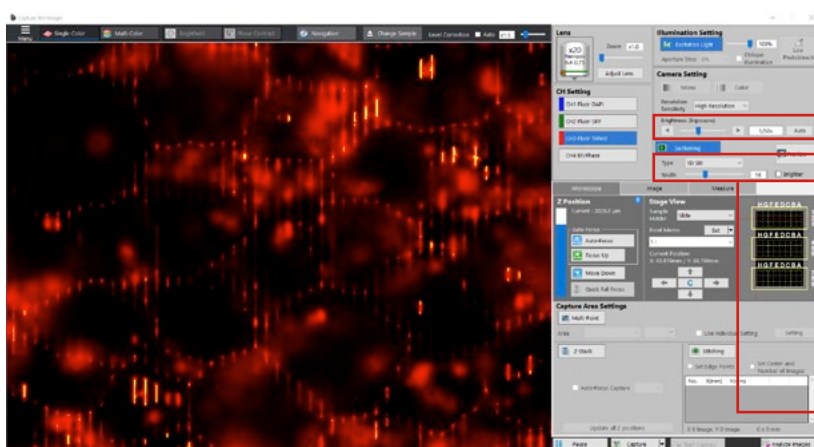
操作步骤

基本



Sectioning

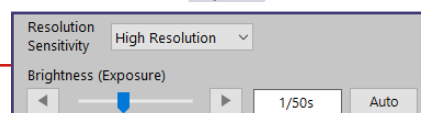
观察画面中视野对焦后，点击 [Sectioning] 按钮。



在切片模式中，条纹图样投影到样品。在这种状态下调节亮度等设定。

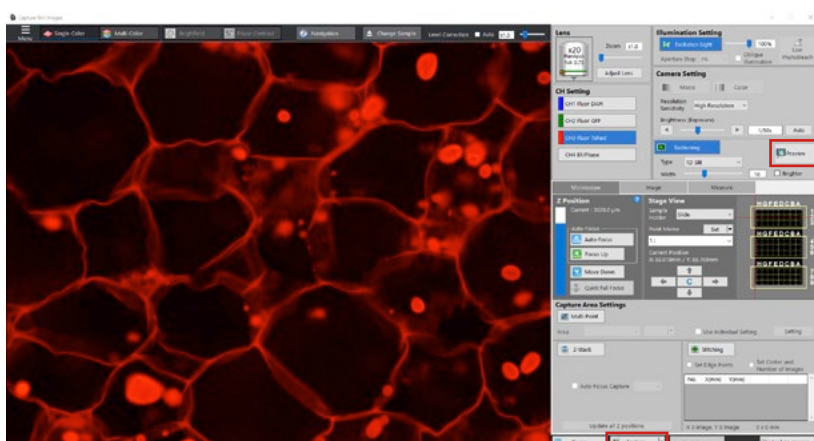
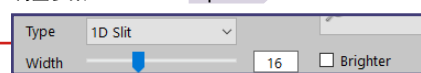
调节亮度

p.9



调整参数

p.12



Preview

最终图像在点击 [Preview] 按钮后即可确认。

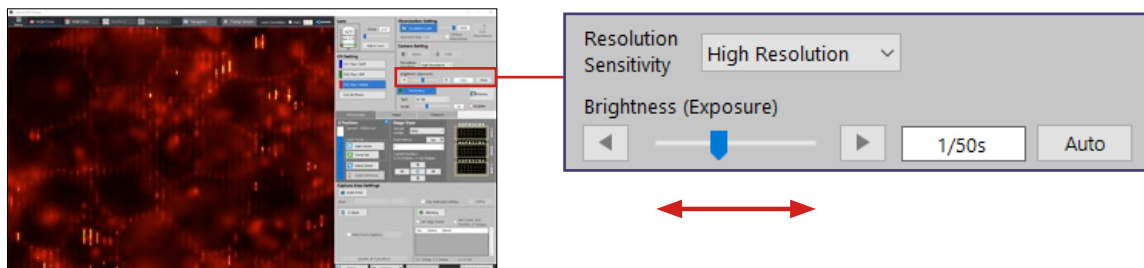


Capture

保存图像时，点击 [Capture] 按钮。

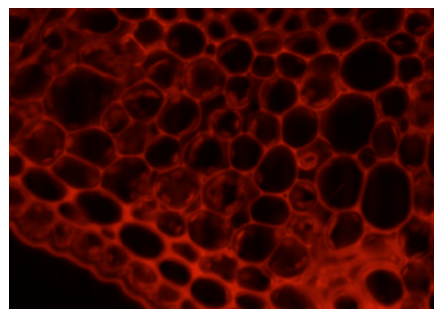
调节亮度

调整曝光时间

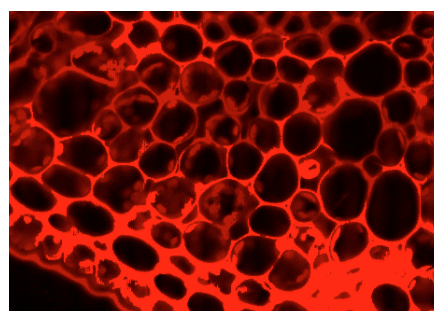
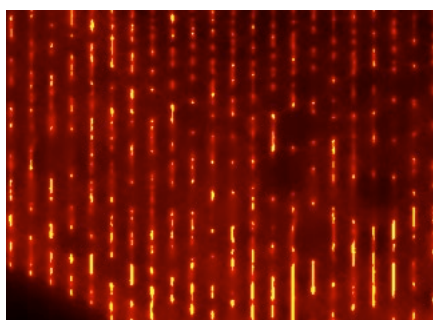


图像较暗，看不到条纹时，通过 [Brightness (Exposure)] 调节亮度。
在没有高亮显示条纹图样的范围内，尽可能亮地调节亮度。

OK

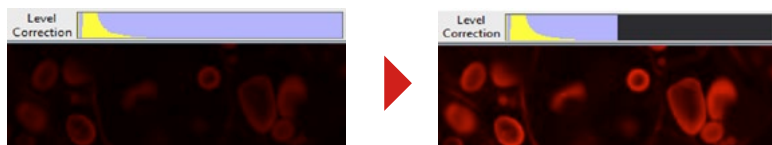


NG



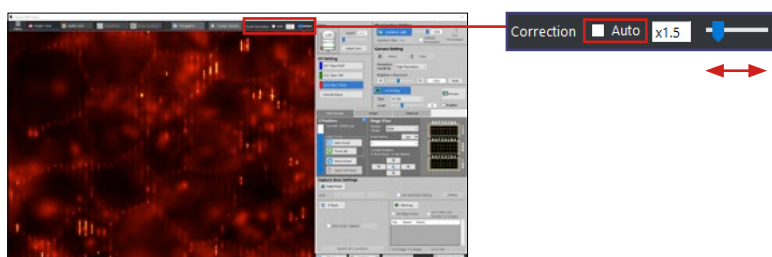
高亮显示条纹图样的位置为像素亮度值饱和的位置。
如果饱和，将无法准确地检测出条纹图样，图像变得不正常。

色阶



由于切片图像的亮度较低，分析应用程序打开后
即会自动应用色阶。

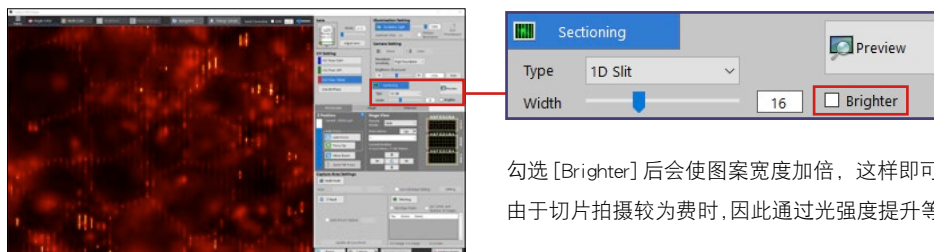
使用分析应用程序打开时的色阶值可以在进行切片摄影时设定。



勾选 [Auto] 后，即会根据图像的亮度保存较佳的色阶值。

注意：如果图像拼接等多部位图像亮度相对值较为重要时，请取消勾选 [Auto]。

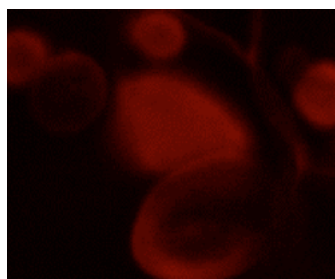
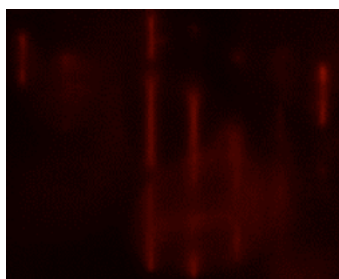
光强度提升



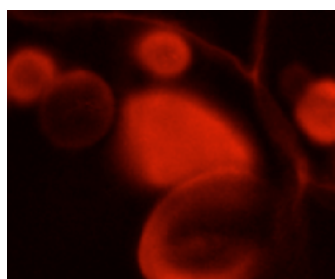
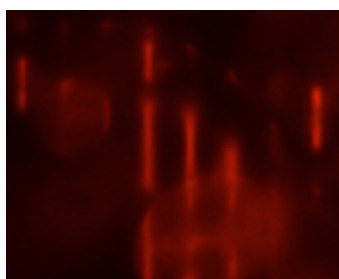
勾选 [Brighter] 后会使图案宽度加倍，这样即可拍摄明亮图像。

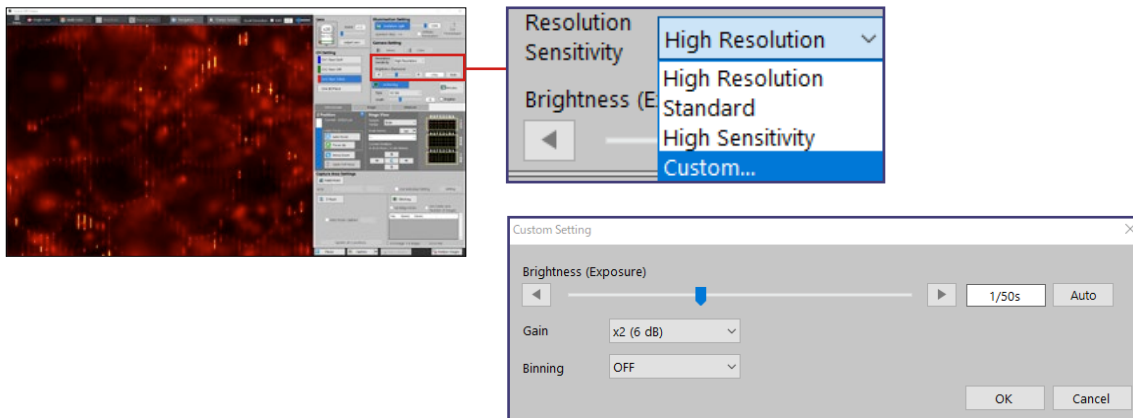
由于切片拍摄较为费时，因此通过光强度提升等方式提高亮度，可有效缩短曝光时间。

常规



光强度提升





通过调整相机设定中的 [Resolution Sensitivity]，可调节图像的亮度。

设定画质	增益	Binning (像素融合)
高分辨率	6 dB	OFF
标准	6 dB	2 × 2
高灵敏度	6 dB	3 × 3
定制	0 至 24 dB	OFF 至 12 × 12

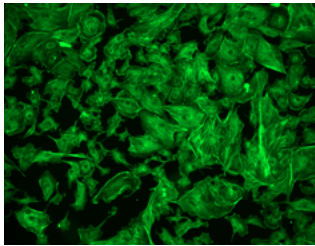
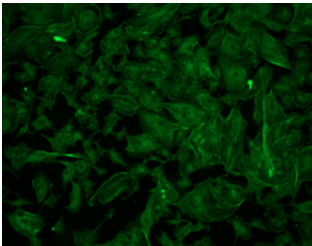
增益

放大各像素的信号，提高亮度。电气干扰也会增大。

1	1	0	1
0	0	1	0
1	1	8	1
1	0	0	0



2	2	0	2
0	0	2	0
2	2	16	2
2	0	0	0



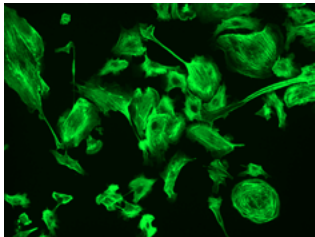
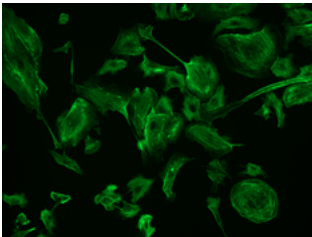
Binning (像素融合)

将相邻的像素视为 1 个像素，提高灵敏度。分辨率下降。

1	1	0	1
0	0	0	0
1	1	1	0
1	0	0	0



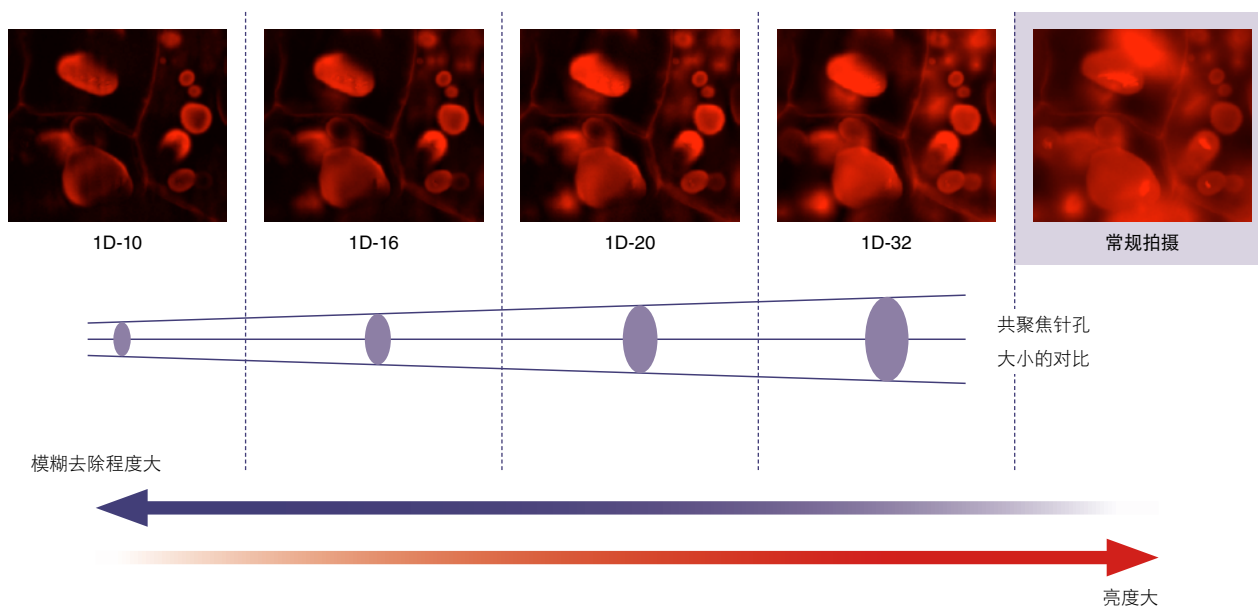
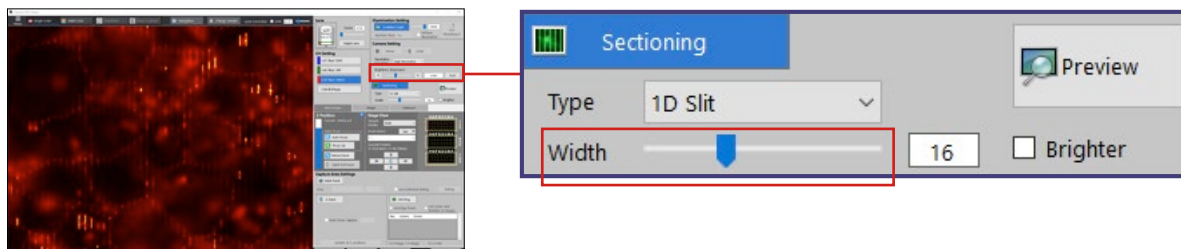
2	1
3	1



使用 2x2 像素融合的例子

调整参数

宽



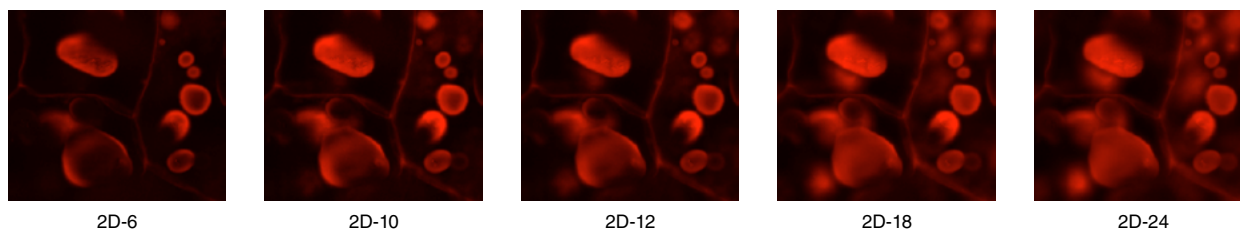
[Width] 的设定相当于共聚焦显微镜的针孔大小的设定。

[Width] 值越大，在焦点面 Z 位置之外残留荧光会越模糊。

[Width] 值增加越大，就越接近常规拍摄的图像（Wide Field）。

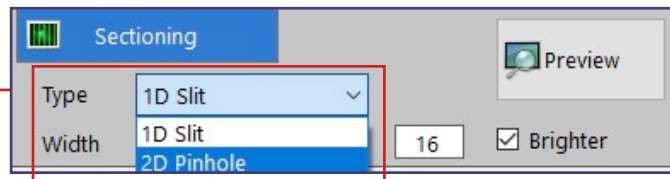
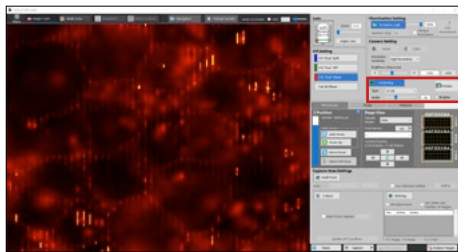
要较大程度地获得荧光模糊的去除效果时，就要降低 [Width] 值。

而另一方面，如果 [Width] 值较小，图像就会变暗，易出现干扰。

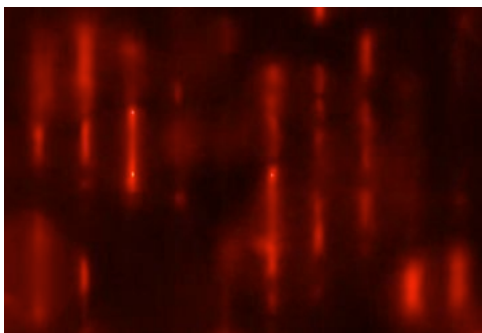


2D 中的 [Width] 也具有同样效果。

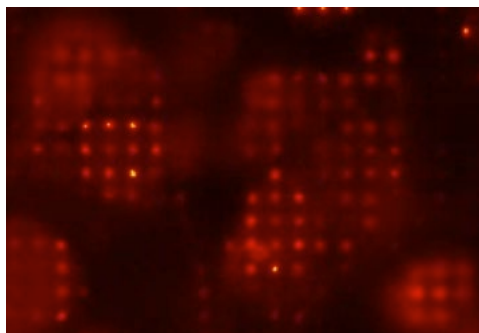
类型 (1D / 2D)



切片的类型可以选择 [1D Slit] (1D) 和 [2D Pinhole] (2D)。



1D



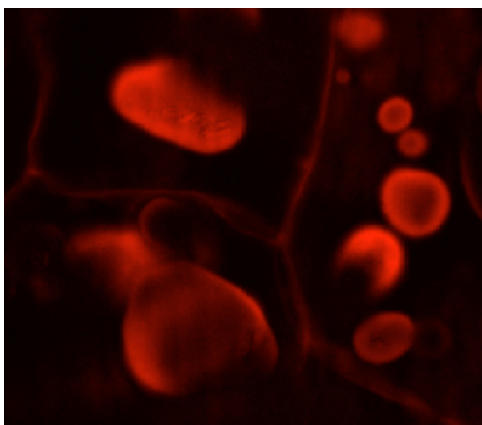
2D

投影的图案变为线状或点状。

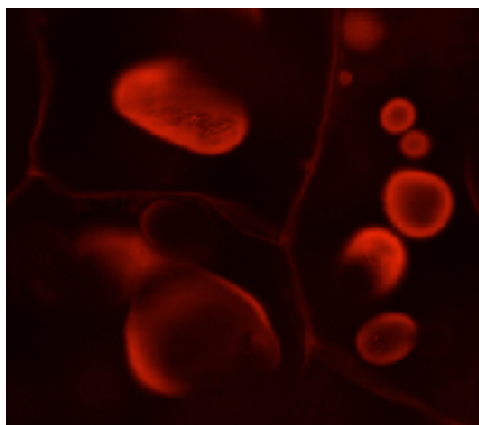
1D 时，仅在 X 方向扫描图案，而 2D 时，会在 XY 方向扫描。

因此，2D 可以更有效地去除模糊。

但却会出现图像变暗，拍摄费时的情况。



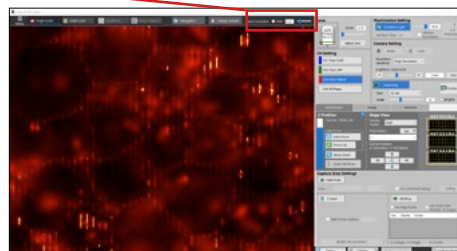
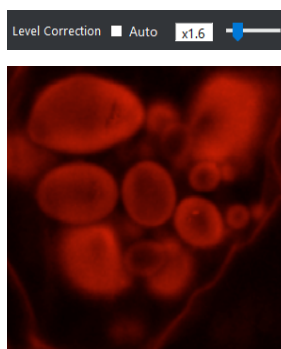
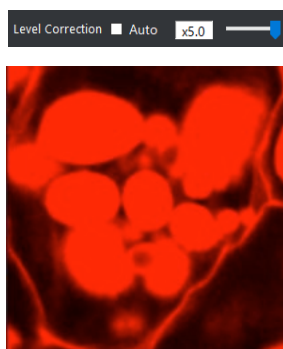
1D-10



2D-6

故障排除

过亮

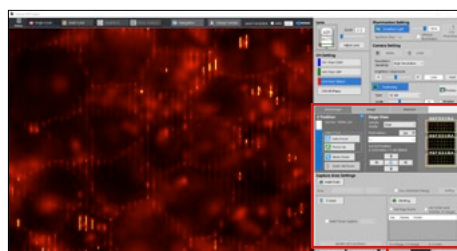
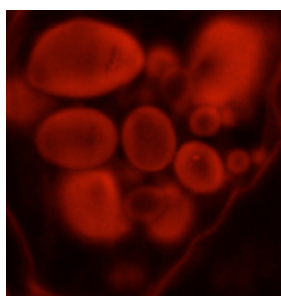
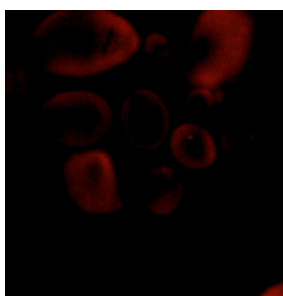


请确认色阶的设定是否正常。

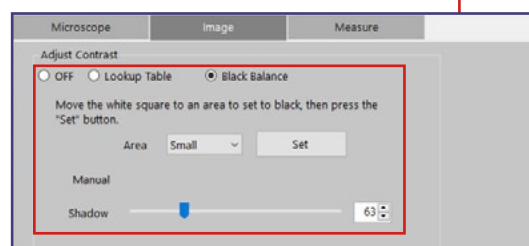
有时也会由于色阶设定的原因而造成过暗。

如勾选色阶中的 [Auto]，可将当前图像调节成较佳值。

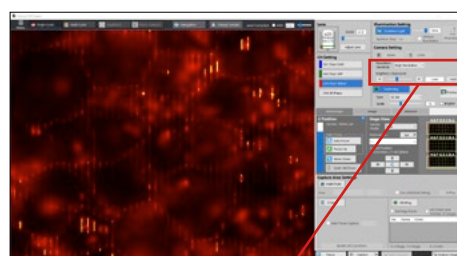
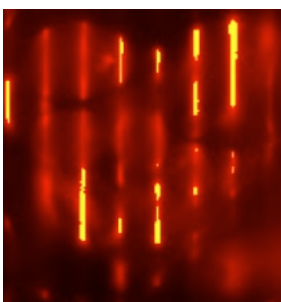
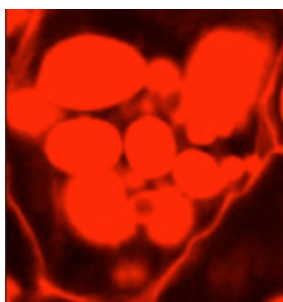
过暗



如果 Image 选项标签中的 [Black Balance] 或 [Lookup Table] 为 ON 时，请设成 OFF。

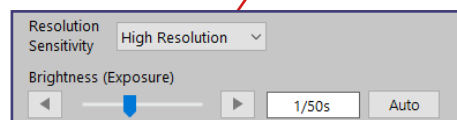


亮度变化不自然

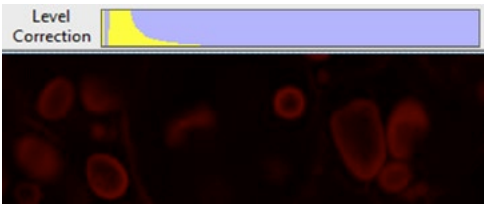


原因是在图案投影时存在饱和的位置。

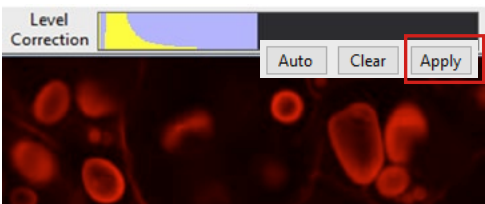
请调节曝光时间或灵敏度等因素，以确保没有高亮的饱和像素存在。



在其他软件中较暗



在其他软件中的显示

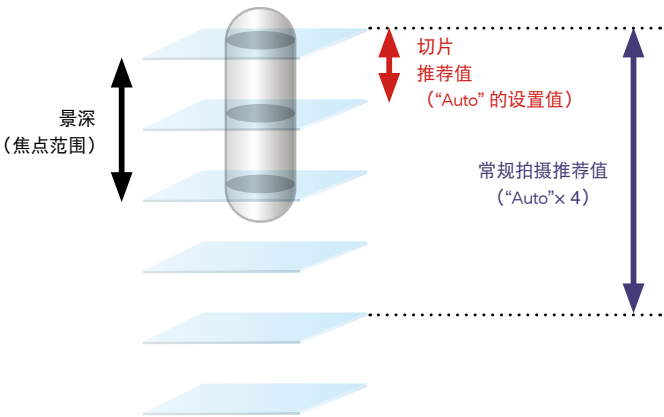


分析应用程序

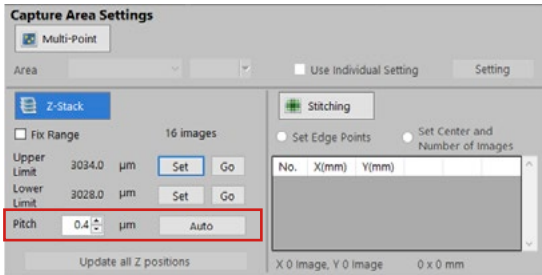
虽然用分析应用程序打开切片图像后就会自动应用色阶，但在其他软件中则不能运用色阶。如果希望其他软件的显示和分析应用程序相同时，请按上色阶的 [Apply] 按钮，保存应用后的图像。

BZ-X 系列

关于 Z 栈的节距



切片是一种拍摄标本断层图像的方法，因此经常和 Z 栈组合使用。



拍摄模式	推荐节距	意义
光学切片	用“Auto”设定的节距	景深的一半左右
常规拍摄	用“Auto”设定节距的 4 倍	景深的 2 倍左右

通过 Z 栈中的“Auto”确定的节距值大约是景深（物镜的对焦范围）的一半。这是精确获取 Z 栈图像的设置值，因此切片观察中最好使用该值。

而进行常规拍摄时，由于还会残留景深外的荧光模糊，因此无论将节距缩小到多少，都没有明显效果。此时，可使用景深 2 倍左右的值，即“Auto”设定值 4 倍的值。



www.keyence.com.cn

电子邮件: info@keyence.com.cn

基恩士(中国)有限公司

最新发售情况, 请咨询就近的基恩士

200120 上海市浦东新区世纪大道100号上海环球金融中心7楼

电话: 021-5058-6228 传真: 021-5058-7178

【关于产品的咨询,请致电】

电话: 021-3357-1001 传真: 021-6496-8711

显微镜 / 形状测量专线 4008-215-686

日本語ダイヤル: 021-5058-7128



最新信息

登录微信关注
基恩士公众号



安全方面的注意事项

为了安全使用商品, 请务必在
使用之前仔细阅读《使用说明书》。