

Abbelight 3D 超分辨系统开关机指南

开机顺序

1. 激光器部分
 - a. 开启 640,561,488 和 405 nm 四通道激光器主控开关【开关编号 1】
 - b. 开启 4 通道合束激光安全盒钥匙，安全盒右侧“shutter”默认保持“open”【开关编号 2】
 - c. 750 nm 激光器开关，打开开关并转动开关钥匙【开关编号 3】，若实验无需使用此波段抗体则无需开启
2. 打开红色框中两个相机开关【开关编号 4】
3. 电脑主机与电路控制器
 - a. 开启系统电路控制器开关与按钮（蓝色亮开启）【开关编号 5、6】
 - b. 开启电脑主机与显示器【开关编号 7】
4. 显微镜部分
 - a. 打开显微镜控制器 SSU 和 CBH 控制盒开关【开关编号 8、9】
 - b. 打开显微镜控制屏后侧开关，屏幕启动后，点击“Start Operation”即可【开关编号 10】
5. 打开桌面 750 nm 激光器软件，依次点击“on”和“Activate”，界面显示功率读数后说明已经开启完成。
6. 四通道激光器控制软件 激光器控制软件为桌面“Oxxius”的软件，打开后点击连接，等所有激光显示如下图所示绿色“Laser on”状态后说明激光器预热已经完成，可以进行实验。
7. Neo 采集与分析软件 桌面上“Neo-Liveimaging”和“Neo-Analysis”分别为系统的数据采集与数据分析软件。

关机顺序

1. Abbelight 组件顺序依次为：
 - a. 关闭采集和数据处理软件
 - b. 关闭电脑主机
 - c. 关闭 2 个激光器安全盒，激光器电源以及安全钥匙
 - d. 关闭相机
 - e. 关闭系统电路控制器
2. Olympus 显微镜系统顺序依次为：
 - a. 点击控制屏“off”选项，待屏幕显示 Olympus logo
 - b. 关闭控制器 SSU 和 CBH 控制盒开关
 - c. 关闭控制屏后侧的开关。

Abbelight 3D 超分辨系统 NEO 软件指南
数据采集

1. 上样

锁焦部分： a. 根据样品类型选择样品架，滴加镜油后上样， b. 在显微镜控制主屏上点击“Continuous AF”，切换至锁焦模式，点击“FINE” 按键，确保“FINE”为蓝色，此时点击“START”，系统开始自动锁焦。c. 更换样品需要取消锁焦，点击“Focus”即可取消。

2. 打开 NEO_Live imaging 软件；

3. 用“Project”选项建立实验内容的文件夹与子文件夹

当你使用新的样品观测，选择“New Experience”，创建一个新的子文件夹

4. 确定使用仪器参数，点击“System”，点击“Validate”确认。

5.采集参数设定

a. 点开“imaging”选项；

b. 点击“start preview”，就可以直接从相机处看到图像；

c. 点击“Settings”，调整的参数：激光的激发强度，采集的部分参数，和存储选项；

d. 数据采集：

确定相机的曝光时间 (Exposure)，AF647 用 50ms；

确定总采集帧数(Number of frame)，默认 60000 帧即可；

确定采集视野 (ROI size) 可以在此处修改，也可以通过选择感兴趣的区域 (绿色框中的区域也即 ROI，点击一角拖动即可) 改变区域大小；常规采集时使用相机全版面，也即 2048*2048，如果需要进行快速采集，当采集速度快于 15ms 时，版面调整为 1024*1024，如果采集速度快于 5ms 时，版面调整为 512*512，不建议采集速度快于 2ms。

e: 激光强度设定：打开激光，用较低的光强寻找细胞，慢慢提高光强。同时可以使用视野大小缩放滑块 (scale 滑块) 改变光照区域，当调至最小的时候激光应汇聚在视野的中央，调整 TIRF 角度，得到最好的闪烁效果，修该 Threshold，调整背景阈值，调整范围为 0.5-2；

f.左侧为相机全部采集视野，右侧实际采集区域。

5.开始数据采集。

a. 点击屏幕左下角的 START 键，开始采集；

b. 可以将屏幕右上角的不同采集信息图像拖动至中间实时观测：你选取感兴趣的区域 (“ROI”，绿色框区域) ,相机全部的采集范围 (“Camera”)，2D 和 3D 的微观区域图像重建，相关参数报告；

c. 右下侧可以看到一些实时的参数 (漂移校正的信息等)

d. 可以随时点击“stop”停止数据采集或者等待采集完全结束 (例如初始设定为 15000 帧)

6. 采集结束可以关闭激光

7. 若采集未结束，可继续采集 a. 采集另一个区域，回到 2.d.,重新采集一次； b. 采集另一个样品，回到 2.c.,重新采集一次

8. 数据分析： a. 可以在存储文件夹找到所有数据； b. “ROI.tif”是原始数据； c. “Snap_Snapshot*.tif”是采集时截图的保存结果； d. “.txt”或者“.csv”是所有的数据采集实时的坐标文件表格，“stable”或 “drifted”是考虑和不考漂移的结果； e. “image.tif”文件是计算重建成的图像，可以用 ImageJ 打开。