

# Leica DMI8 手动倒置荧光显微镜

## 快速操作手册



制作：广州市妇女儿童医疗中心光学显微镜平台

2025 年

# 目 录

1、 Leica DMI8 系统组成图 .....	3
2、 系统的使用 .....	3
2.1 开关机顺序 .....	3
2.2 软件界面简介 .....	6
2.3 在显微镜下观察样品 .....	7
2.3.1 选择物镜: .....	7
2.3.2 明场观察: .....	7
2.3.3 荧光观察: .....	7
2.4 采集共聚焦图像 .....	8
2.4.1 光路设置: .....	8
2.4.3 采集图像 .....	11
2.5 图像文件的保存及输出 .....	12
2.5.1 图像文件的操作: .....	12
2.5.2 图像文件的输出: .....	12
2.5.3 图像采集参数的观察及恢复: .....	14
3 系统的维护 .....	14

## 1、Leica DMI8 系统组成图



1. 显微镜主机	4. 电脑
2. 相机	5. 显微镜主机控制电源
3. 荧光照明光源（汞灯）	6. 手动载物台

## 2、系统的使用

### 2.1 开关机顺序

➤ 开机总原则：1、先硬件后软件；2、先周边后主机；

开机注意事项

汞灯注意：开关机间隔一般应 30min；

1.开汞灯前确认关闭时间，可用手触摸机箱，



如发烫或较热，则等待 10-15min，待恢复常温再打开；

2.如汞灯不出光，请检查 Intensity 非 0 档；

(1) 刷卡上机：

已有该仪器权限的实验人员根据自己的预约时间，在刷卡器上刷卡上机；

(2) 打开荧光激发光源：

如右图，如观察荧光样品，则按 power 按钮；如进行透射光观察，则不需打开荧光激发光源；



(3) 打开显微镜主机：

如右图，打开显微镜主机电源开关；



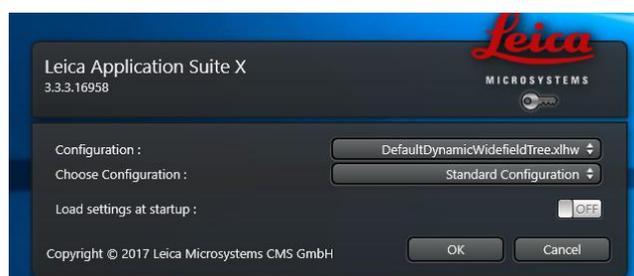
(4) 打开电脑及软件：

打开电脑主机电源并进入操作系统界面，双击电脑桌面“LAS X”图标启动操作软件；



(5) 软件配置选择：

进入配置选择界面后，在“Configuration”下拉菜单中选择需要的配置，正置显微镜选择 DefaultDynamic…配置；



(其中带有“simulator”字样的为模拟方式，该方式不控制显微镜硬

件，不能拍摄图像，适合处理数据)；“Choose Configuration:”菜单中选择“Standard Configuration”；图中“Load settings at startup:”选项为从头开始加载设置，在这里选择 OFF 即可，最后点击“OK”，系统继续启动。

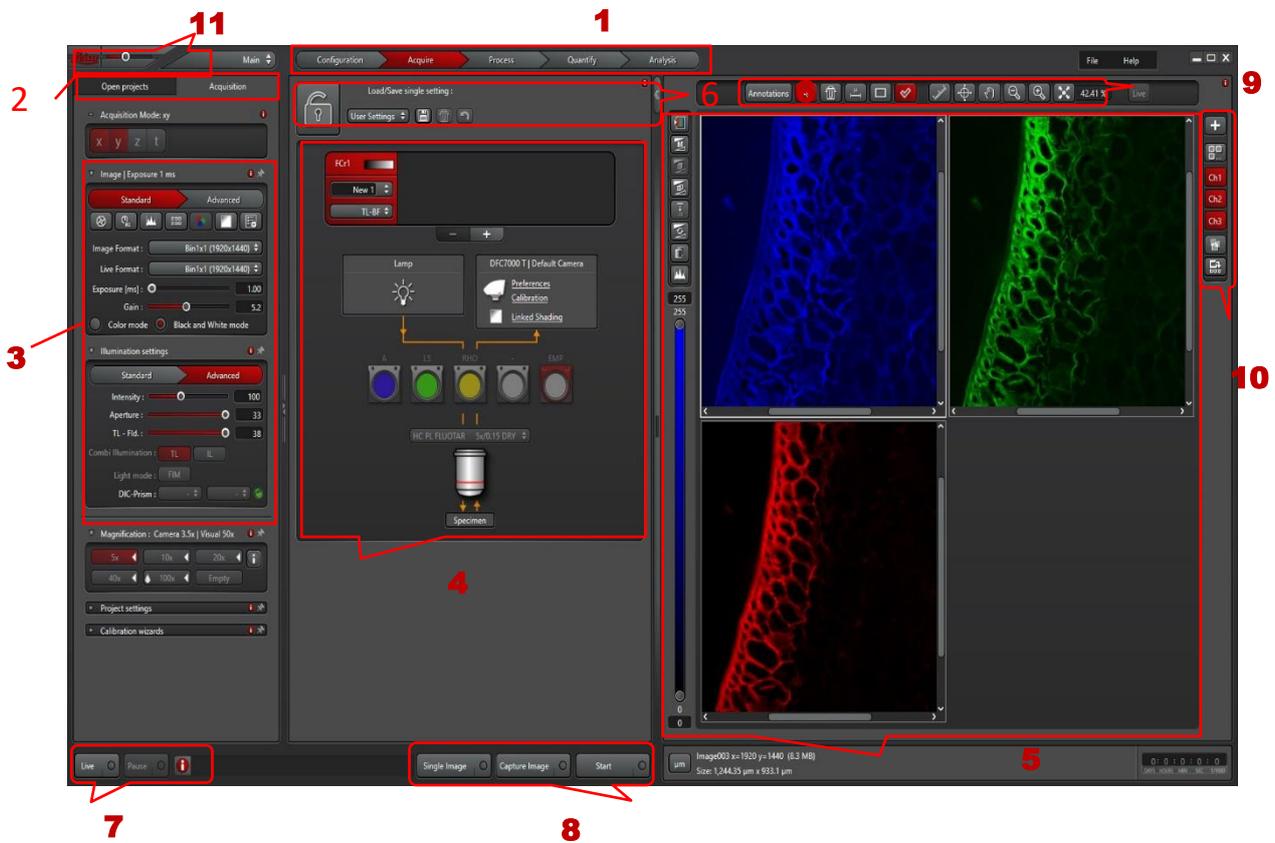
(6) 系统自检完后，进入 LAS X 操作界面。

➤ 关机顺序 与开机顺序相反，即关【软件】→【电脑】→【显微镜主机】→【汞灯】→【刷卡下机】

关机注意事项

- 1、物镜切换至 10X (或 5X/空位)；
- 2、若使用油镜，则按操作步骤擦拭油镜；(非油镜一般勿自行擦拭)
- 3、实验结束登记，盖上防尘罩。

## 2.2 软件界面简介



- 1** 功能界面切换：参数设定（Configuration）、扫描取图（Acquire）、图像处理（Process）、定量测量（Quantify）
- 2** 工具和文件管理界面切换：Open Projects 界面下显示当前拍摄和打开的图片，Acquisition 下显示的是当前功能界面的功能按钮和参数
- 3** 拍摄参数：包括图像像素 Format、曝光时间 Exposure、增益 Gain、光照强度 Intensity、孔径光阑 AP、视场光阑 FD 等。
- 4** 光路显示及设置区域，从上向下直观显示了荧光光路/白光光路的细节和关键设置
- 5** 图像显示窗口
- 6** 预设光路选择按钮
- 7** 预览按钮，可用于开始和停止预览
- 8** 拍摄图像按钮
- 9** 工具栏选择框
- 10** 叠加图像显示按钮，在使用两个或以上数量通道拍摄多色图像时，用于显示所有通道叠加后的图像
- 11** 界面缩放调节滑块，左右拖动可以调节界面项目的显示比例

## 2.3 在显微镜下观察样品

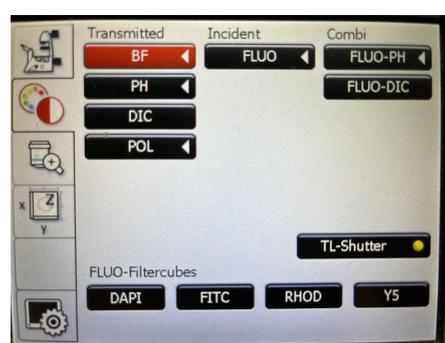
### 2.3.1 选择物镜：

对于手动倒置荧光显微镜，物镜可通过显微镜的物镜转盘进行选择（如右图），遵从由低倍到高倍逐步观察的原则。



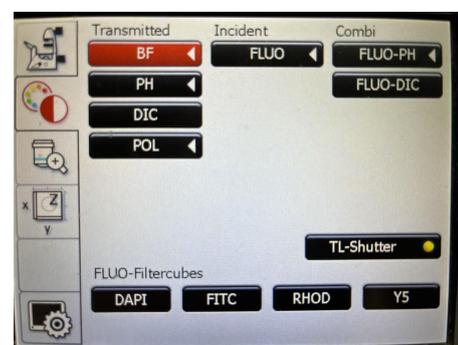
### 2.3.2 明场观察：

将样品置于载物台上，按显微镜主机面板上的 BF 选择明场观察，按 TL-Shutter 打开明场光路（如右图），在明场条件下选择合适的视野。通过调焦旋钮调节至合适的 z 轴平面，通过显微镜主机左侧的“INT”功能键调节光强。



### 2.3.3 荧光观察：

按显微镜主机面板的 FLUO 选择按钮切换至荧光观察光路（如右图所示），再按荧光光闸按钮（SHUTTER）打开荧光，进行样品的荧光观察。通过选择 Filtercubes 进行不同通道的荧光观察，DAPI 是蓝色通道，FITC 是绿色通道，RHOD 是红色通道。观察完毕后，按显微镜前面板上的“SHUTTER”按钮以保护样品。



## 2.4 采集共聚焦图像

### 2.4.1 光路设置：

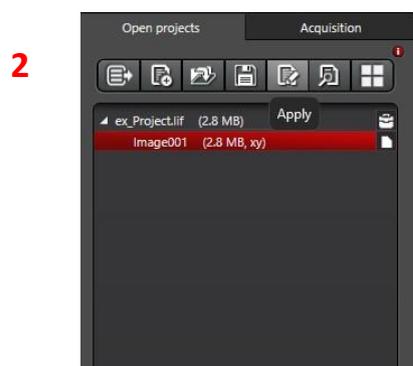
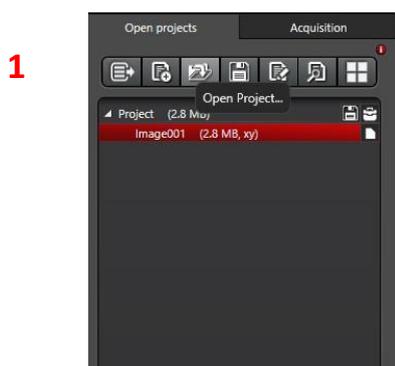
调用已有的设置：选择“Load/Save single setting”下拉菜单中已有的设置，选择观察的方式，曝光时间、增益 Gain、光强大小、视场光阑、孔径光阑等自动进行调用。选择某一设置后，可按样品的实际情况对参数进行优化，并以新的名称另外保存。（如右图）



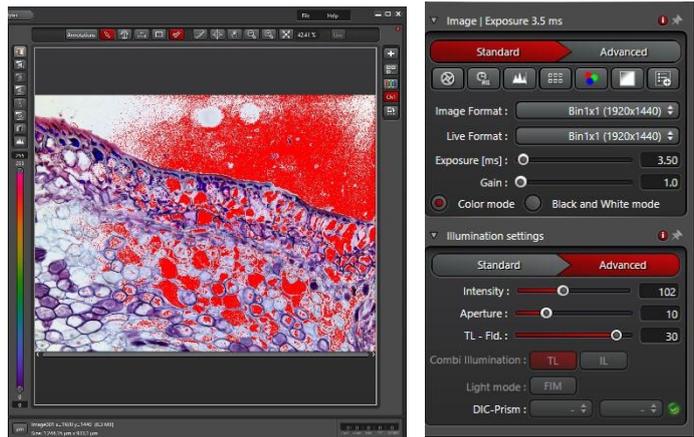
修改已有设置：可根据图像质量对曝光时间、增益 Gain、光强大小等参数进行优化，若需要保存该设置可点击 Save，输入新名称进行保存。

建立新的设置：也可从零开始建立新的设置。选择合适的曝光时间、增益 Gain 及光强大小进行保存即可。

调用已采集的图像参数：在“Open projects”菜单下选择“Open project...”按钮，根据提示打开已采集的图像，点“Apply”按钮即可调用该图像的参数设置。

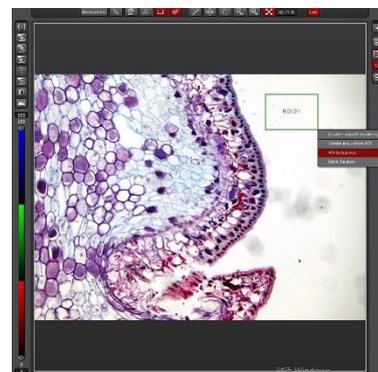


明场图像调节原则：采集明场图像时，保证所采集的图像亮度适中，清晰度最高。选择 under/over exposure 按钮显示当前图像是否过曝，红色点表示该像素已经过曝，明场图像不过曝的标准：过曝点（红



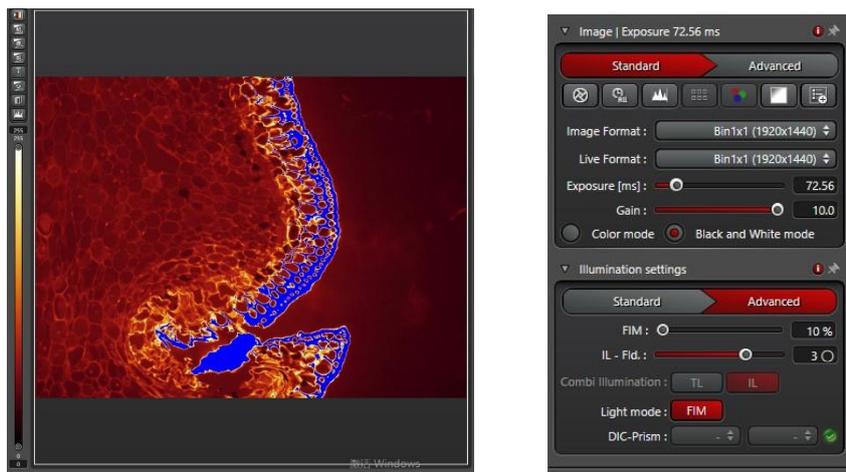
点) 存在但不会覆盖样品信号。调节参数原则：Intensity：光强大小，首先在镜下将光强调节到合适的亮度，切换到相机模式后不再改变光强大小；Exposure：曝光时间，相机拍摄图像所需的时间，增大或减小曝光时间使过曝点（红点）存在但不会覆盖样品信号；Gain：增益，信号放大的作用，增大则信号和噪音都增强，减小则信号和噪音均减小。

调节参数之后，观察软件图像与镜下图像之间是否存在色差，如存在色差则需进行白平衡处理。选择工具栏中矩形框工具，在图像空白处画一个矩形框，右键选择“White balance”即可。



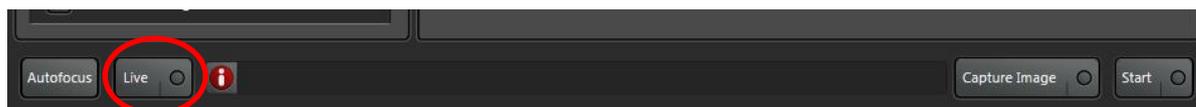
荧光图像调节原则：采集荧光图像时，同样保证所采集的图像亮度适中，清晰度最高。选择 under/over exposure 按钮显示当前图像是否过曝，蓝色点表示该图像此像素点过曝，绿色点表示此像素点过暗。荧光图像不过曝的标准：过曝点（蓝点）刚好消失不见，绿点可存在。调节参数原则：Intensity：光强大小，对于每个通道，需要灵活调节荧光的强度，荧光强度越高，则信号越强，同时标本更容易被漂白或淬灭，当曝光时间大于 900ms 时荧光图片亮度还是不够，可以考虑适当增加荧光强度；Exposure：曝光时间，

相机拍摄图像所需的时间，增大或减小曝光时间使过曝点（蓝点）刚好消失不见，曝光时间在 100~900ms 最好，太小捕捉不到荧光信号，太大造成拖影现象；Gain：增益，信号放大的作用，增大则信号和噪音都增强，减小则信号和噪音均减小，Gain 对信号的影响取决于相机的质量。荧光图像中 Gain 对背景噪音的影响较小，一般将 Gain 调节到最大值。

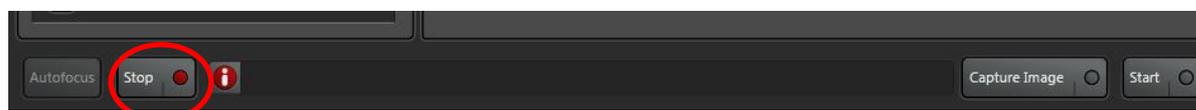


## 2.4.2 预览图像

点击软件 Acquire 界面左下方的“Live”按钮以预览图像（下图），图像将显示在右侧的显示屏上。



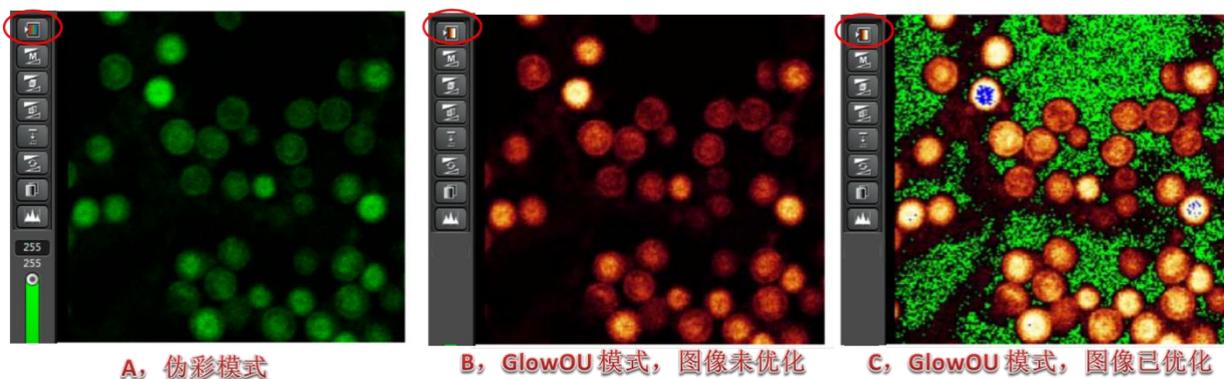
预览开始后，“Live”按钮变为“Stop”，点击“Stop”按钮可停止预览。



注意：一旦预览开始，荧光光源开始照射样品，为减少对样品的伤害，应快速操作，尽量减少预览的时间。预览应达到以下目的：①找到最适合观察的焦平面；②使图像亮度动态范围达到最佳。

图像亮度动态范围的判断方法：

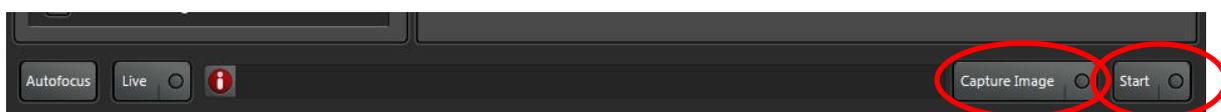
理想的荧光图像中应该只有少数像素点达到饱和，可通过位于图像左侧的 LUT 按钮进行观察。LUT 按钮（下图红圈）可在 LUT（即指定的荧光颜色，也称伪彩）、“Glow Over Under（GlowOU）”和灰度图三档之间切换。在 GlowOU 模式中，灰度值达到饱和的像素点显示为蓝色，而灰度值为 0 的像素点显示为绿色。调节 Exposure 的大小使图像中仅少数像素点呈蓝色，下图中 B 图亮度及背景值设置均未达最优化值，调节 Exposure 后，达到 C 图中的效果，部分信号呈蓝色，而背景呈绿色。对于荧光图像，其背景噪声较低，一般不需要调节 Gain 值，将 Gain 值调节到最大即可。



对透射光图像，同样可以调节透射光的 exposure 和 gain 来进行优化，在 GlowOU 模式中，灰度值达到饱和的像素点显示为红色，而灰度值为 0 的像素点显示为蓝色。调节 Exposure 和 gain 的大小使图像中空白区域像素点呈红色。

### 2.4.3 采集图像

对于单通道染色，或多通道染色同时扫描，单击“Capture Image”按钮采集图像。对于序列扫描，或多维图像扫描，单击”Start”按钮进行图像采集。（见下图）在此之前可改变扫描分辨率、线/面平均次数等扫描参数。

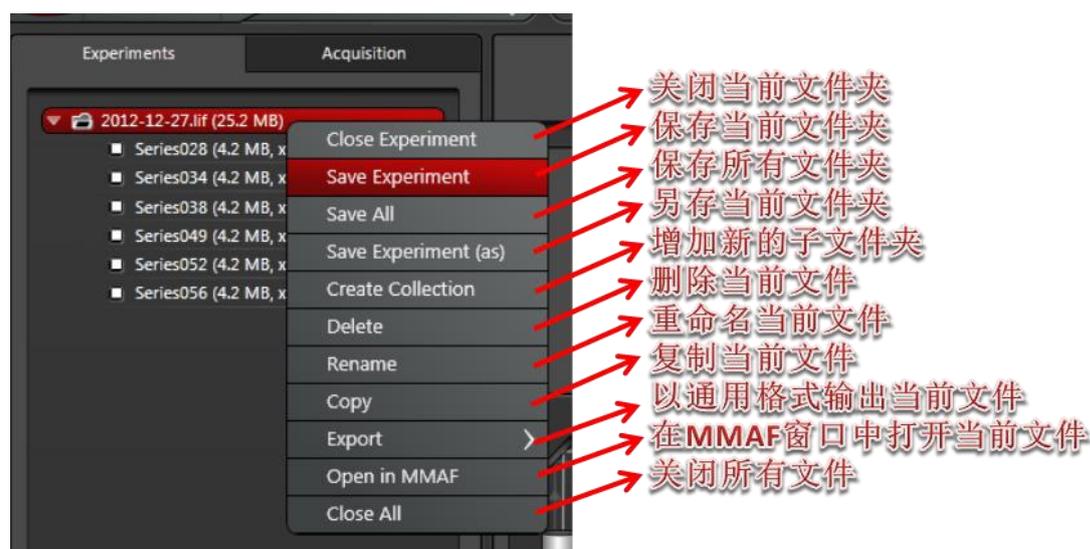


## 2.5 图像文件的保存及输出

### 2.5.1 图像文件的操作：

“Acquire”的” Experiment”下显示采集的所有图像文件名称，默认本次开机后采集的所有图像都放在一个文件夹下，右键点击文件名，可进行多种操作。

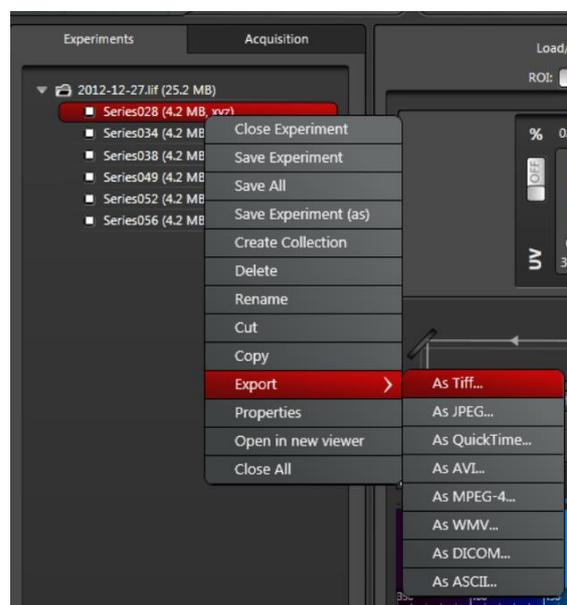
如下图：



选择“Save Experiment”即可将当前文件夹下的所有图片保存为一个文件，文件保存格式为\*.lif 原始文件，只能通过Leica LAS AF、LAS AF Lite 或其他专业图像数据处理软件打开。

### 2.5.2 图像文件的输出：

右键点击图像文件名，选择” Export”进行图像输出，可输出成图片 (.tiff 或.jpeg), 三维或多维图像还可输出成电影 (QuickTime、.avi、 MPEG-4、 WMV等)。



如右图。所得文件可用普通图像浏览软件打开。

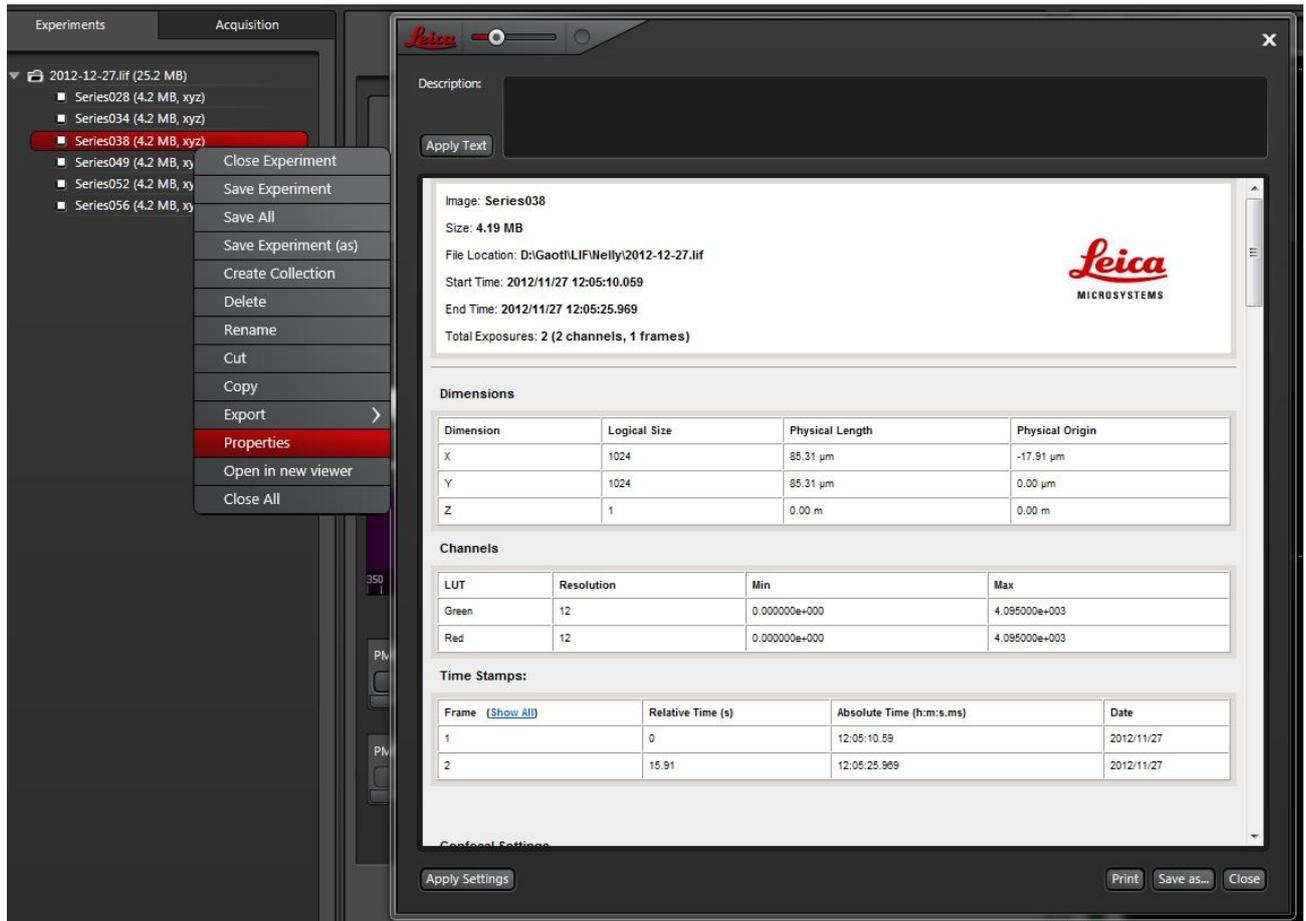
选择” As Tiff” 或” As JPEG”，出现如下图的对话框，可选择输出路径、所需标尺及位置等。确定后，点击” OK”，即可将图像输出至指定路径。



### 2.5.3 图像采集参数的观察及恢复：

右键点击图像文件名，选择” Properties of...”，即显示该图像采集时的所有参数设置信息，如图。

点击” Apply Settings”，即可恢复该图像采集时的参数设置。点击” Save as...”，可将所有参数信息输出成.xml文件并存至指定路径。



## 3 系统的维护

- (1) 保持室温为18-25°C，相对湿度40-60%，尽量保证室内环境的清洁。
- (2) 严格遵守激光器的开、关流程。
- (3) 如荧光光源为汞灯，则打开电源后需等10-15min方可使用；如荧光光源为金属卤素灯，则打开电源后可直接使用。无论哪种灯作为光源，打开后30min以上才能关闭。

(4) 如需用到“Mark and Find”、“Tile Scan”、“Matrix”等要求载物台精确定位的功能时，在启动软件后选择进行载物台初始化，否则也可不做初始化。在初始化过程中，载物台会向四周运动，因此需保证周围没有物品阻碍其运动。

(5) 若使用过油镜，需用蘸有无水乙醇的擦镜纸清洁此物镜；若使用过水镜，也需用干擦镜纸轻轻吸干上面的水渍。

(6) 关机前，尽量将当前物镜转换为低倍物镜并调至最低位，可最大程度保护物镜。

(7) 输出数据时，使用光盘刻录数据而非移动存储设备，可更好的防止电脑中毒。

(8) 避免空调直接对着显微镜吹风。

(9) 拍摄图像时，应避免震动、环境光线、手机信号等的干扰。