

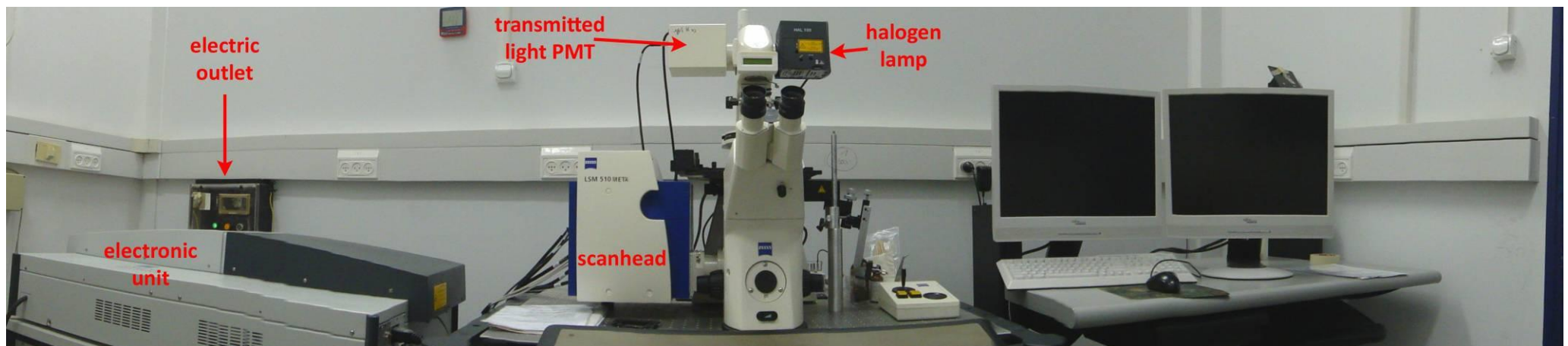
## LSM 510 META – מערך הדרכה

כל פרויקט חדש יש להפנות לעדית. אין לבצע הדרכה ללא שיחה מקדימה עם עדית.

חובה בתחילת ההדרכה להבין את השאלה המחקרית של המשתמש, סוג התאים, תכשיר וצביעות, סוגי הצבענים במדויק. המשתמש צריך להביא עמו עקומות עירור ופליטה של הצבענים בהם הוא משתמש. יש בנוסף לוודא כי המשתמש מכין את כל הביקורות הדרושות

ביקורות:

- (1) תכשיר ללא צביעה לאחר כל תהליכי הקיבוע,
  - (2) תכשיר עם נוגדנים שניוניים בלבד ביחד וכל אחד בנפרד
  - (3) בצביעות משולבות יש בתחילת כל ניסוי חדש, לבדוק כל צביעה בנפרד, ביקורת של כל הנוגדנים השניוניים יחד כנגד כל ראשוני.
- המערכת מורכבת ממערכת קונפוקלית המחוברת למיקרוסקופ inverted פלורסנטי מדגם Axiovert 200 M המצויד בשולחן ממונע.



**1. Electronic Unit**

בתוך יחידה זו נמצאים ארבעת הלייזרים, (AOTF) acoustic-optic tunable filter אשר קובע את אורך הגל והעוצמה של כל קו לייזר, חלקי אלקטרוניקה ומחשב.

**סוגי לייזרים**

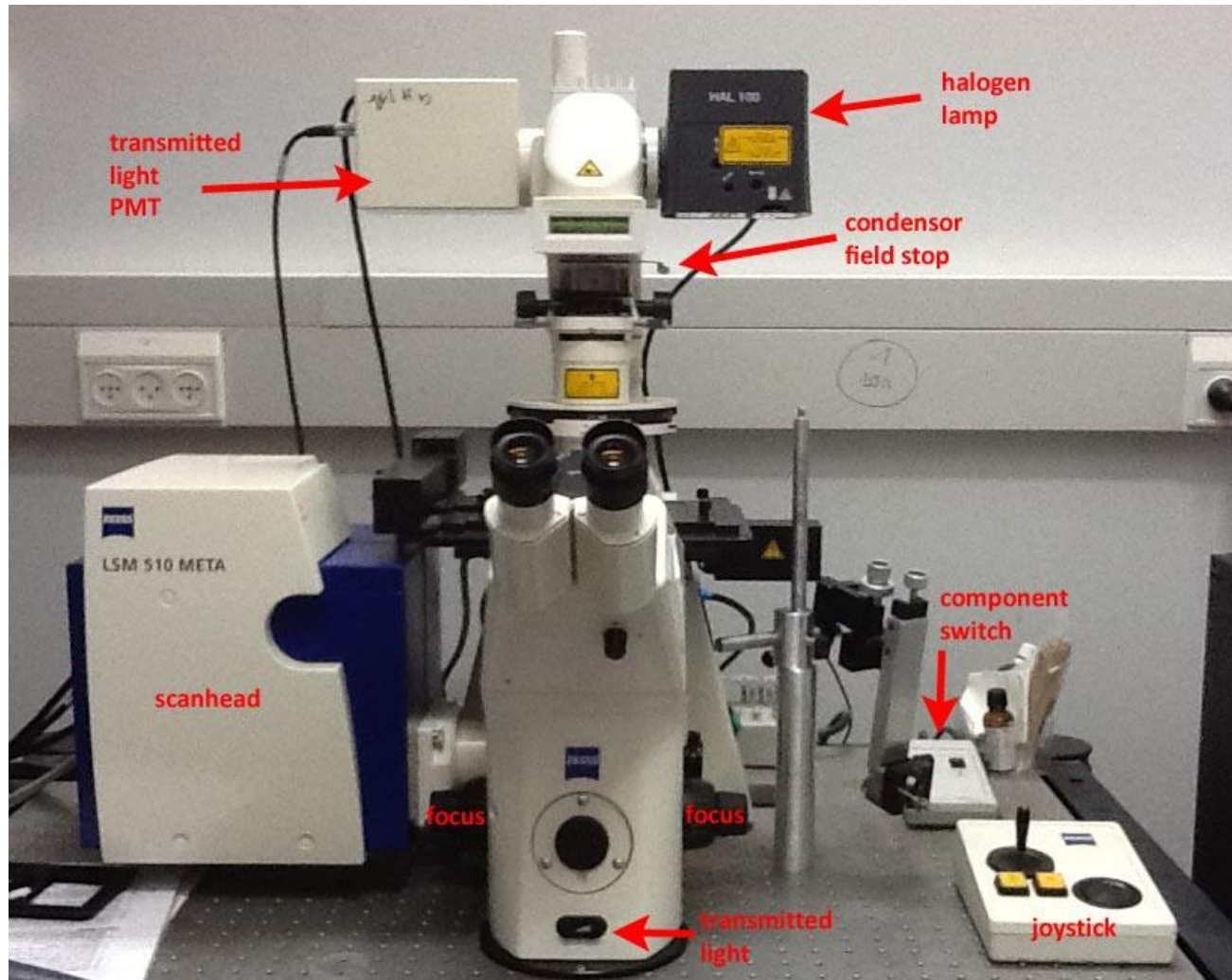
הספק	אורכי גל nm	
30mW	458, 477, 488, 514	Multiline Argon
10mW	561	Diode-pumped solid-state
5mW	633	Helium-Neon
30mW	405	UV Diode

לשלושת הלייזרים בתחום האור הנראה יש סיב אופטי ו-AOTF נפרד מהלייזר של ה-UV. הסיבים האופטיים נכנסים ל-Scanhead.



## 2. Scan head

רכיב זה הינו החלק המרכזי במערכת. הוא כולל בתוכו סדרת מראות דיכרואיות פילטרי אמיסיה , מראות סריקה (גלוונומטרים), 3 חרירים קונפוקלים וגלאים (PMT - photomultiplier). המערכת שלנו כוללת 3 PMT ו-meta detector שהיא מערכת המורכבת מ-32 PMT ומאפשרת הפרדה בפליטה כל 10.7nm. אפשר להפעיל באותה תכנית עד 8 מתוך 32 ערוצים אלו. גלאי זה מבדיל בין צבענים עם פליטה קרובה זה לזה - spectral unmixing.



א. עדשות

Immersion	DIC קונדנסור	עובי זכוכית	מרחק עבודה	NA	הגדלה	
Air	DIC I	0.17 mm	18.5 mm	0.15	x5	EC Plan Neofluar
Air	DIC I	-	5.2 mm	0.3	x10	EC Plan Neofluar
Oil Glycerin Water	DIC II	0-0.17 mm	0.21-0.17 mm	0.8	x25	LCI Plan Neofluar
Oil	DIC III	0.17 mm	0.21 mm	1.3	x40	EC Plan Neofluar
Oil	DIC III	0.17 mm	0.19 mm	1.4	x63	EC Plan Aplanachromat

ניתן להוסיף למערכת

Water		0.14-0.19 mm	0.28 mm @ cover glass 0.17	1.2	x40	C Aplanachromat
-------	--	--------------	----------------------------	-----	-----	-----------------

ב. תאורה

הלוגן לאור transmitted  
מנורת מטל-הליד ל-epifluorescence

ג. גלגל פילטרים משמש להסתכלות דרך העיניות. עירור באמצעות מקור אור מסוג מטל הליד (300-700nm).

קוביית פילטר	עירור	מראה דיכרואית	פליטה	דוגמאות לצבענים
Zeiss Filter set 49	G 365	FT 395	BP 445/50	DAPI, Hoechst
Zeiss Filter set 38	BP 470/40	FT 495	BP 525/50	Cy2, GFP, Alexa 488
Zeiss Filter set 20	BP 546/12	FT 560	BP 575-640	Cy3, Rhodamin, Alexa 561
Zeiss Filter set 48	BP 436/20	FT 455	BP 535/30	CFP/YFP FRET
DIC Analyzer				

אפשר להחליף קוביות פילטר ע"י לחיצה על כפתורים בצד ימין של המיקרוסקופ (Reflector) או דרך התוכנה.

ד. שולחן ממונע

השולחן (stage) ממונע ע"י ג'ויסטיק וגלגלת עבור תזוזות עדינות.

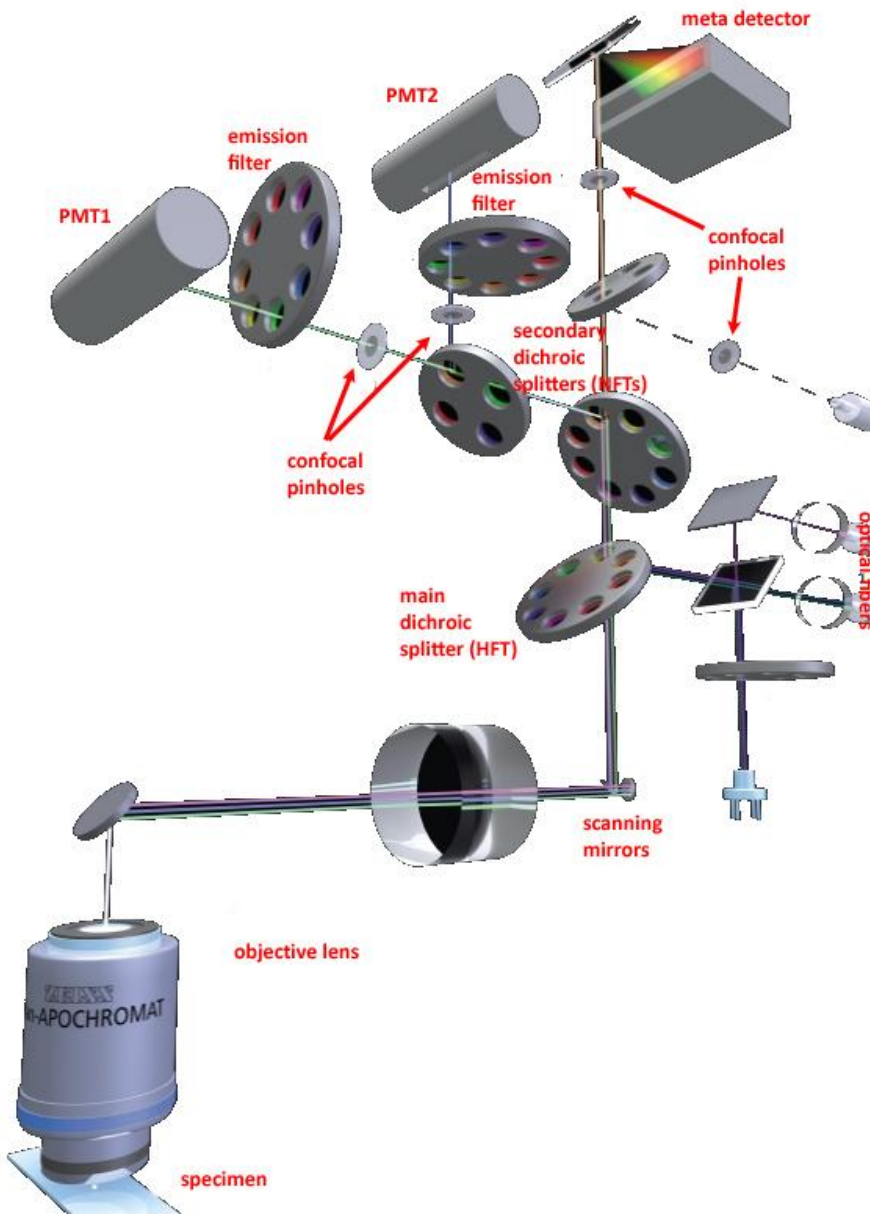




**4. גלאי (PMT) לאור (Transmitted)**  
**5. מחשב + תוכנת LSM 510.**

חשוב לציין, על מחשב Analiza 3 מותקנת תוכנה זהה –offline.

**מסלול האור:**



קרן אור הלייזר מועברת מה- electronic unit באמצעות סיבים אופטיים אל יחידת ה-scanhead. UV עובר בסיב משלו. כל לייזר עובר דרך מראה דיכרואית ראשונית המאפשרת רק מעבר של קווי הלייזר אל התכשיר. ניתן להחליף את המראה הדיכרואית בתכנה. קרן הלייזר ממשיכה ועוברת דרך 2 מראות הגלוננומטר המניעות את הקרן על הצירים X ו-Y ומאפשרות את סריקת התכשיר. אור העירור עובר דרך העדשות ומגיע אל התכשיר. כתגובה מתרחשת פליטה מהתכשיר. הפוטונים הנפלטים כתגובה לעירור עוברים דרך העדשה אל ה-scanhead: דרך המראה הדיכרואית הראשונית (מחזירה את קווי הלייזר ומעבירה את הפליטה) אל מראות דיכרואיות שניוניות אשר מפצלות את אור האימיסיה למסלולים שונים. אור האימיסיה עובר דרך חריר קונפוקלי ודרך פילטרים אשר בוררים אורכי גל רצויים אל הגלאים.

כל פוטון שפוגע בגלאי פוגע בפוטוקטודה אשר מפיקה כתוצאה אלקטרון. הזרם החשמלי (אלקטרונים) מוגבר ומועבר אל-Analog to digital converter. הזרם נדגם ומועבר למספרים דיגיטלים אותם המחשב והתוכנה יכולים לעבד. התוכנה תבטא את הנתונים כתמונה המורכבת מפיקסלים כאשר פיקסל מייצג כמות הפוטונים שנפלטו באותו איזור בכל יחידת זמן. הנחת העבודה היא שערך העוצמה בכל פיקסל יחסית לכמות הפוטונים הפוגעת בגלאי יחסית לעצמת הפליטה מאותו איזור.

בשתי המערכות מעוררים לכל עובי הדוגמא. ב-wide-field דוגמים סיגנל פלורוסנטי מכל עובי הדוגמא, דבר הגורם לטשטוש בתמונה בשל scattered light משכבות אופטיות שונות בדוגמא. ב-confocal העירור נעשה גם לכל העומק הדוגמא, אך דגימת הפליטה מתקבלת מחתכים אופטיים של הדוגמא. יתרון זה מאפשר קבלת מידע מדויק וייצוג מפורט ונקי של חלקי התא. בנוסף יתרון זה מקנה את קביעת מיקומם המדויק של סיגנלים פלורוסנטיים מעומק התא או הרקמה ולכן ניתן לענות על שאלות ביולוגיות רבות כגון קולוקליזציה/טראנסלוקציה. עובי החתך הנדגם נקבע על פי קוטר החריץ. קוטר החריץ קובע את עוצמת הסיגנל ותלוי בשאלה הביולוגית ובאיכות הצביעה.

סוג הארה: לייזר בקונפוקל לעומת מנורת מטל-הליד ב-wide-field. ללייזר יתרונות בולטים: קו עירור קוהרנטי, עם אורך גל מוגדר, עוצמה חזקה, אפשרויות סריקה מגוונות.

עבודה:

סדר הדלקת המערכת

סדר הדלקה וכיבוי המערכת קבוע וחשוב מאוד לשמר תקשורת בין רכיבי המערכת. הוראות עבודה נמצאות ליד המיקרוסקופ.

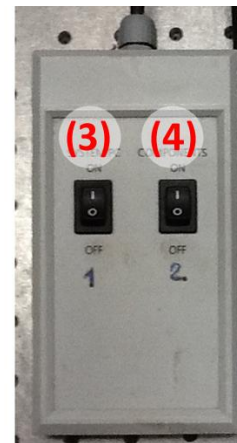
- בצע ON להזמנה במערך ההזמנות.
- וודא שהמזגן דולק ומכוון ל-23-24°C
- וודא לפני תחילת העבודה שהנורית הנמצאת על לוח החשמל שבקיר נמצאת במצב עבודה (ירוק). אם הכפתור הדלוק כתום יש ללחוץ על הכפתור הירוק בצד ימין.
- סובב את מתג ההפעלה של ה-electronic unit רבע סיבוב עם כיוון השעון.
- הדלק את המחשב והמסכים. שם משתמש – Multilabs – סיסמה – 123456.
- הדלק את מתג 1 ואז 2 בקופסת המתגים על השולחן, המתגים מאפשרים הדלקת המיקרוסקופ ורכיבים נוספים.
- הדלק את נורת המטל-הליד שמתחת לשולחן במידת הצורך.



electric outlet

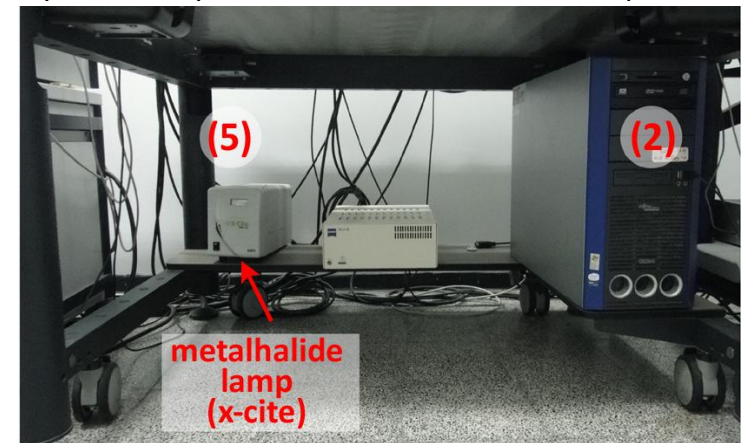


(1)



(3)

(4)



(5)

(2)

metal halide lamp (x-cite)

# תוכנה

לחץ על צלמית ZEN 2009.  
בתוכנה קיימים 2 מצבי עבודה:

- עיבוד נתונים קיימים – Image Processing
- רכישת נתונים חדשים – Start System

יש לבחור Start System ולחכות להעלאת התוכנה. בשלב זה אין לגעת במערכת עד העלאת התוכנה במלואה.

התוכנה מחולקת לשלושה חלקים עיקריים

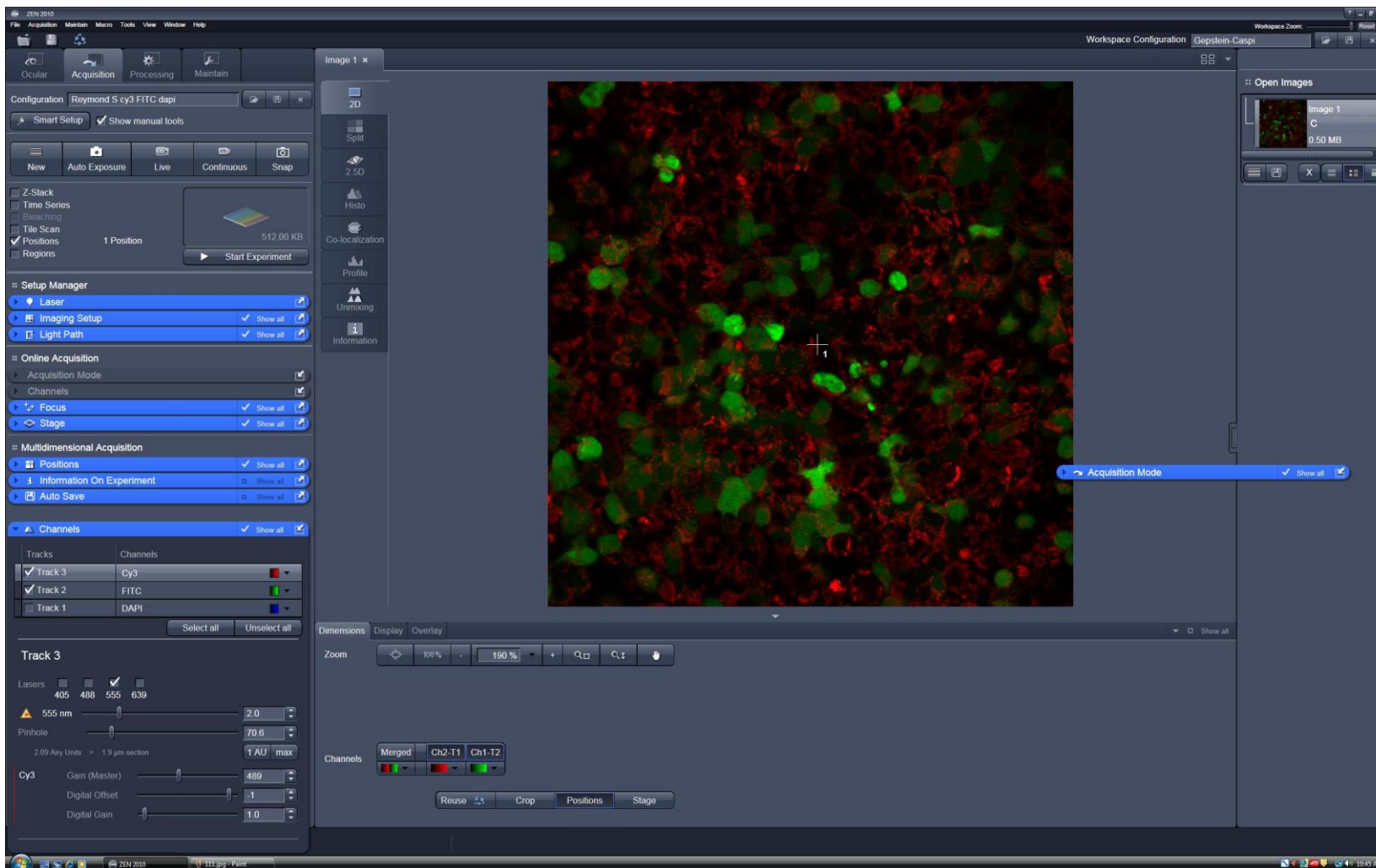
איזור שמאלי –

חלונות הפעלת מערכת,

איזור מרכזי – התמונה,

איזור ימני – ניהול הקבצים.

ניתן לשנות את גודלם של החלונות  
ע"י הזזת מחוון ה- Workspace  
zooom. כמו כן ניתן לשמור את מופע  
החלונות ולייבא את הקובץ על פי  
דרישה.



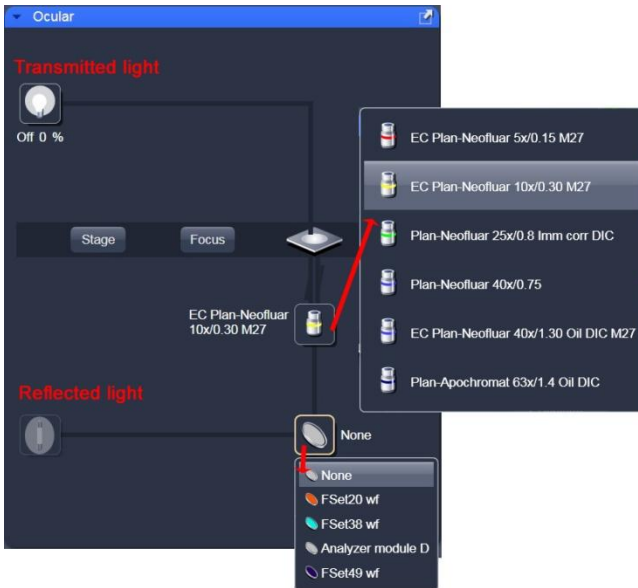


## חלונות הפעלת מערכת - ארבע לשוניות: Ocular, Acquisition, Processing, Maintain



**Ocular** – מאפשר הסתכלות דרך העיניות ושליטה על חלקי המיקרוסקופ השונים. להסתכלות והפעלה ידנית של המיקרוסקופ יש ללחוץ על Online. (ב-Offline המערכת במצב רכישת תמונה).

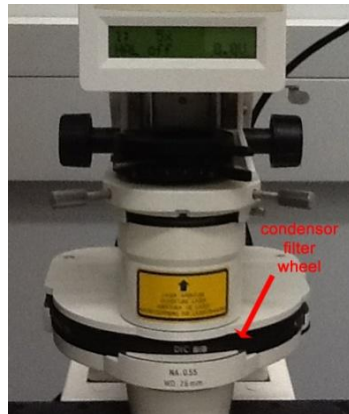
עמדה	קוביית פילטר	עירור	מראה דיכרואית	פליטה	דוגמאות לצבענים
FSet49	Zeiss Filter set 49	G 365	FT 395	BP 445/50	DAPI, Hoechst
FSet38	Zeiss Filter set 38	BP 470/40	FT 495	BP 525/50	Cy2, GFP, Alexa 488
FSet20	Zeiss Filter set 20	BP 546/12	FT 560	BP 575-640	Cy3, Rhodamin, Alexa 561
אופציה	Zeiss Filter set 48	BP 436/20	FT 455	BP 535/30	CFP/YFP FRET
Analyze	DIC Analyzer				



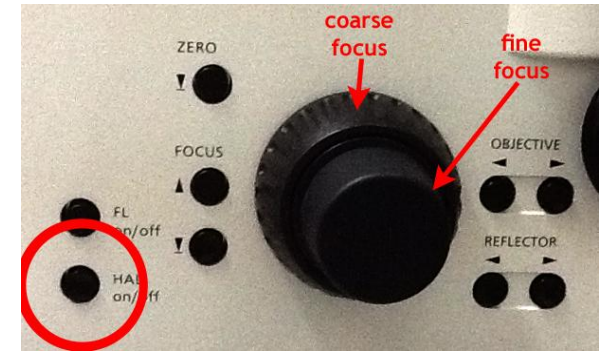
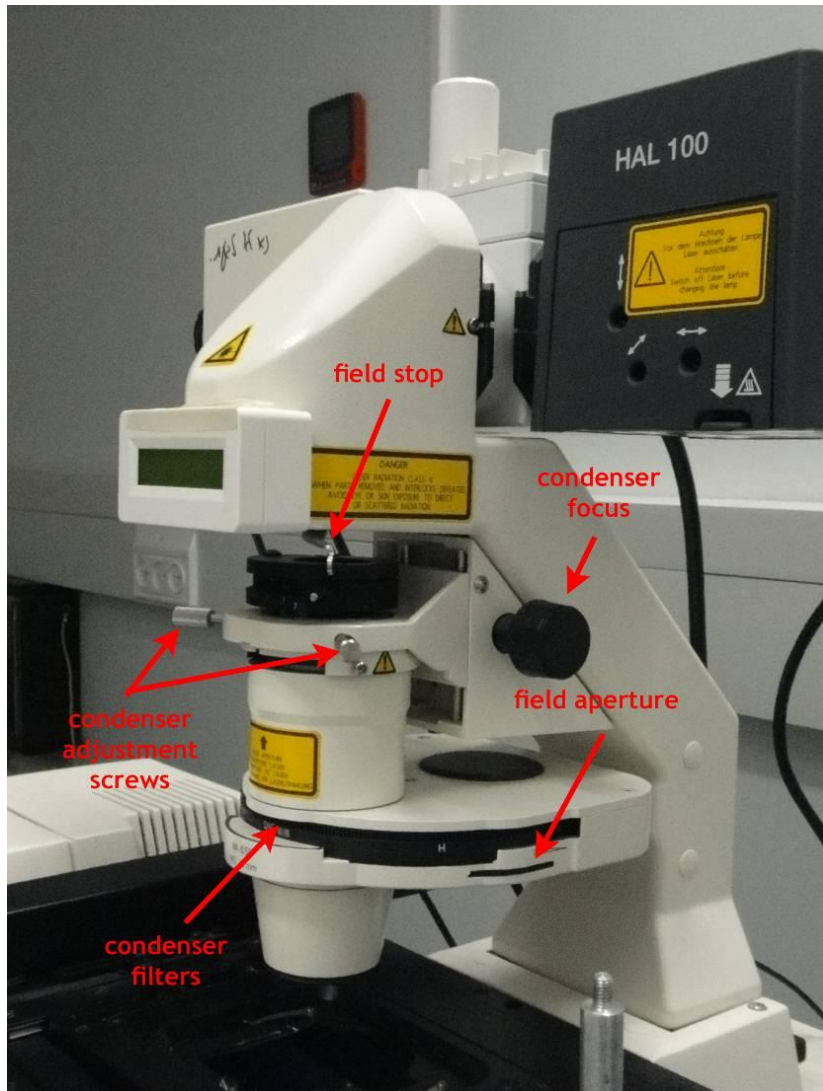
## אור Transmitted

ניתן להגביר עוצמת נורת ההלוגן במיקרוסקופ (ע"י כפתור בקדמת בסיס המיקרוסקופ) או דרך התוכנה (העבר את מצב נורת ההלוגן - Transmitted - למצב ON וכוון את עוצמת האור).

בחר בצריח ה-reflector יש לבחור פילטר D Analyzer module  
 כוון את הקונדנסור (גלגלת מעל ה-condensor) למיקום הנכון לפי העדשה ולפי שיטת הקונטרסט, נא ראה טבלא בעמוד 4.

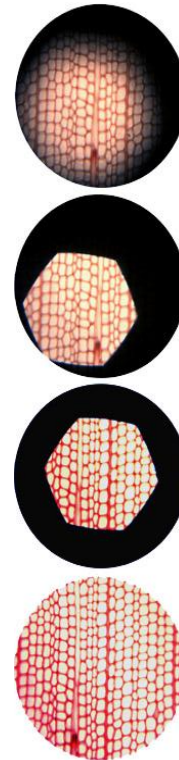






## תאורת Kohler

1. נורת ההלוגן נדלקת עם הדלקת המערכת (את הכפתור בצד ימין של המיקרוסקופ יש להשאיר תמיד ב-ON) עוצמת האור נשלטת ע"י כפתור בקדמת בסיס המיקרוסקופ. פקס את התכשיר
2. העבר גלגל פילטרים של קונדנסור ל-H או ל-DIC המתאים לעדשה
3. סגור field stop (העבר אחורה את הידית הכסופה)
4. הרם או הורד את הקונדנסור בעזרת הגלגל כדי לפקס את המצולע מרכז את המצולע בעזרת שני הפינים הכסופים
5. פתח את ה-field stop עד קבלת גבולות המצולע בכל שדה הראיה
6. כוון את ה-field aperture בקונדנסור לשיפור התמונה ( $\approx 70\%$  פתוח).



## Differential Interference Contrast - DIC

שימוש בקיטוב של האור ליצירת קונטרסט בעזרתו ניתן לראות מבנים תלת ממדיים ותצורה טובה יותר. ארבעה רכיבים דרושים:

- Polarizer
- עדשה בעלת פריזמת DIC
- פריזמת DIC בקונדנסור תלוית numerical aperture
- Analyzer שהוא polarizer בכיוון ההפוך מהראשון

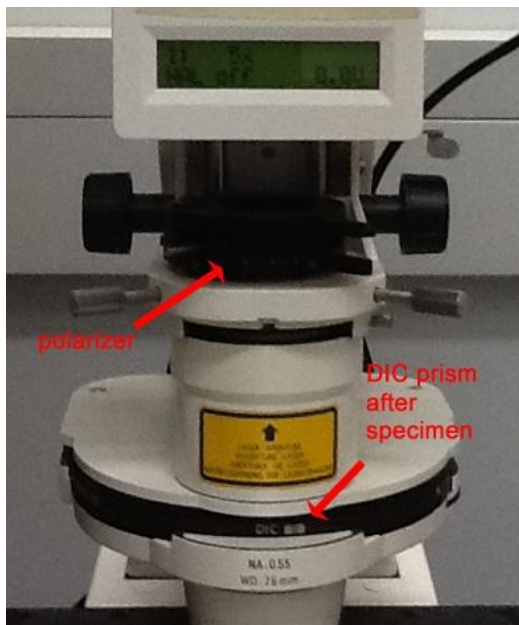
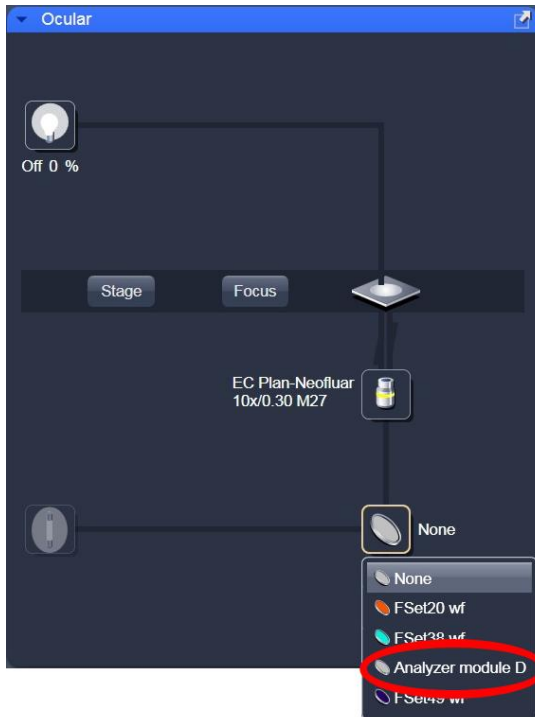
יש להשתמש בזכוכית נושא, זכוכית מכסה או כלי אחר עם תחתית מזכוכית

סדר מרכיבים לפי מיקום במסלול האופטי, 2 לפני התכשיר ו-2 אחרי:

א. בצריח ה-reflector בחר Analyzer

ב. פריזמת DIC בעדשה

ג. ודא כי ה-polarizer ב- $0^\circ$



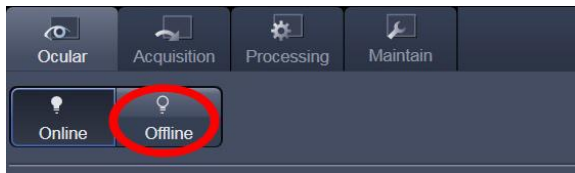
לפני רכישת תמונת DIC באמצעות הלייזרים יש לבצע תאורת Köhler ולבצע אופטימיזציה לקבלת DIC בעיניות.

שים לב הלייזר הינו מקוטב ולכן יש להתאים מיקום המקטב העליון בהתאם.

הגדלה	NA	מיקום גלגלת פילטרים קונדנסור
X25	0.8	DIC II
X40	1.3	DIC III
X63	1.4	DIC III

## Acquisition - לרכישת תמונה

בחוצץ **Ocular** מעבירים את ה-turret ל-None ועוברים ל-offline



עוברים לחוצץ **Acquisition Setup Manager** בתיקיית

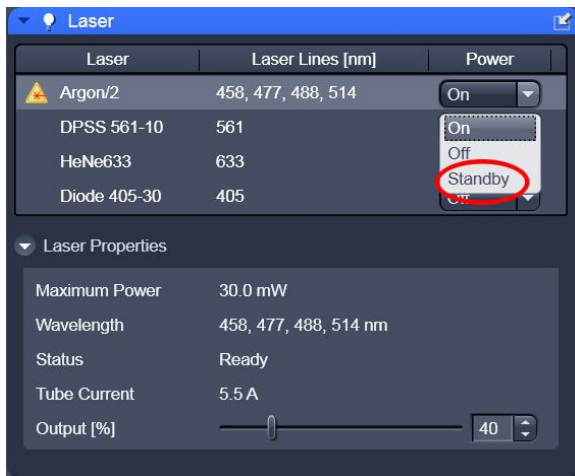
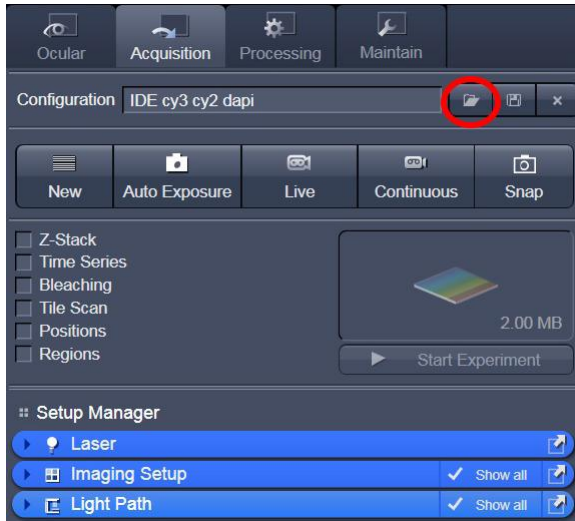
בחלון ה-**Laser** הדלק את הלייזרים בהתאם לצבענים/ניסוי חשוב:

את לייזר הארגון וה-UV יש להדליק ולכבות דרך Standby. רק כאשר מצוין Ready אפשר להעביר ל-On יש להעביר את עוצמת לייזר הארגון ל-40%.

העלה את קונפיגורצית העבודה דרך אחת האפשרויות הבאות:

1. **Configuration** – העלאת תוכנית עבודה קיימת מרשימת תוכניות עבודה שמורות.

2. **Reuse** – פתיחת תמונה שנרכשה בעבר ולחיצה על ה- Reuse (ממוקם בחלון התמונה למטה בחוצץ Dimensions, חומרה ותוכנה נקבעות לפי הגדרות אותה התמונה).



# בדיקת התכנית והתאמתה לניסוי, יש לקרוא לאיש צוות לאישור התוכנית בתחילת כל ניסוי חדש

יש לפתוח את החלונות הבאים:

בתיקיית **Setup Manager** בחר ב- **Imaging setup** ו- **Light path**

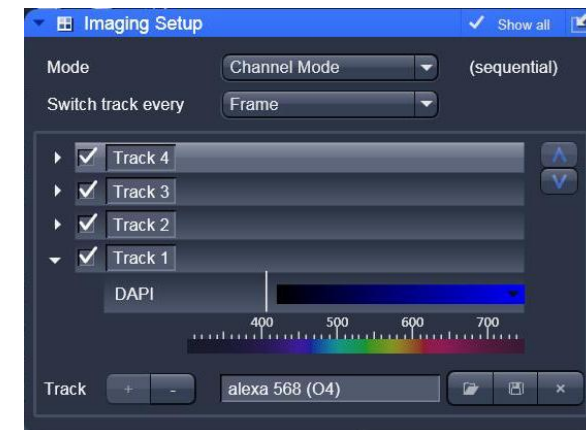
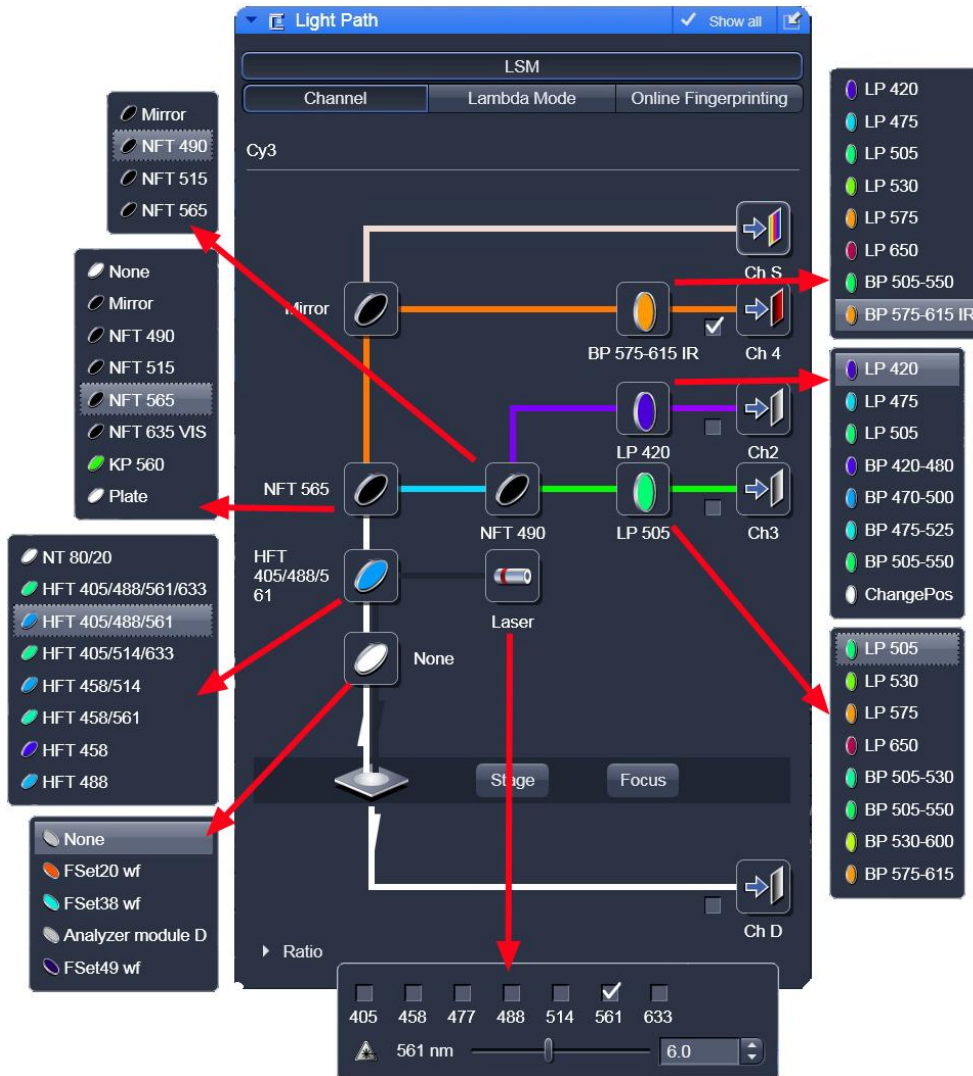
וודא שמוסמן בחלונות שנפתחו Show all או בחר בתפריט View - show all global

**Imaging setup** - בחלון זה ניתן לראות ולשנות את סדר סריקת הערוצים, להוסיף ולהוריד ערוצים ולראות את מסלול האור של כל ערוץ.

בדוגמאות מקובעות בד"כ בוחרים Channel mode ו-Switch track every Frame

**Light path** - בחלון זה מוצג מסלול האור של ערוץ הסריקה שנבחר ב- **Imaging setup**, המראה הידערואית הראשונית (HFT), ה-PMT שנבחר, ה-pseudo color, ופילטריי פליטה - כל רכיב ניתן לשינוי.

במידה ורוצים ליצור גם תמונת Transmitted יש לסמן את-Ch D באחד הערוצים, רצוי בעל אורך הגל הארוך ביותר.





## רכישת תמונה

בחוץ **Acquisition mode** + **Channels** יש לבחור ב- **Online acquisition**

**Acquisition mode** – חלון זה מכיל את נתוני הסריקה:

**Objective** – ניתן לברור עדשות גם מחלון זה.

**Scan mode**, להלן הסבר ההגדרות השונות, ערכים מומלצים לשימוש מסוכמים בטבלא הר"מ.

**Line** – סריקת קו בודד בצירים XY.

**Frame** – סריקת כל הדוגמא.

**Frame size** – יש ללחוץ על איקון X\*Y ולבחור את גודל התמונה הרצוי.

**Speed** – מהירות סריקה איטית איכותית יותר, זמן חשיפה ללייזר ארוך יותר

**Averaging** – חזרות על הסריקה (מיצוע) מפחיתות רעש אלקטרוני אקראי,

**Number** – מספר חזרות

**Mode** – Frame מתאים לדוגמאות מקובעות

**Line** מתאים ל-live cell

**Method** – בחירת מיצוע או סכימה של החזרות על אותה סריקה

**Bit Depth** – 8 bit (256=)  $2^8$  – 12 bit (4096=)  $2^{12}$  גווני אפור. 12 bit מתאים לקולוקוליזציה ואנליזה כמותית.

הקבצים משמעותית גדולים יותר.

**Direction** – כיוון סריקה – בכיוון אחד או הלוך חזור

כיוון סריקה אחד רצוי בד"כ. הלוך חזור מעלה את קצב הסריקה (מתאים לתאים חיים או דוגמאות שעוברות

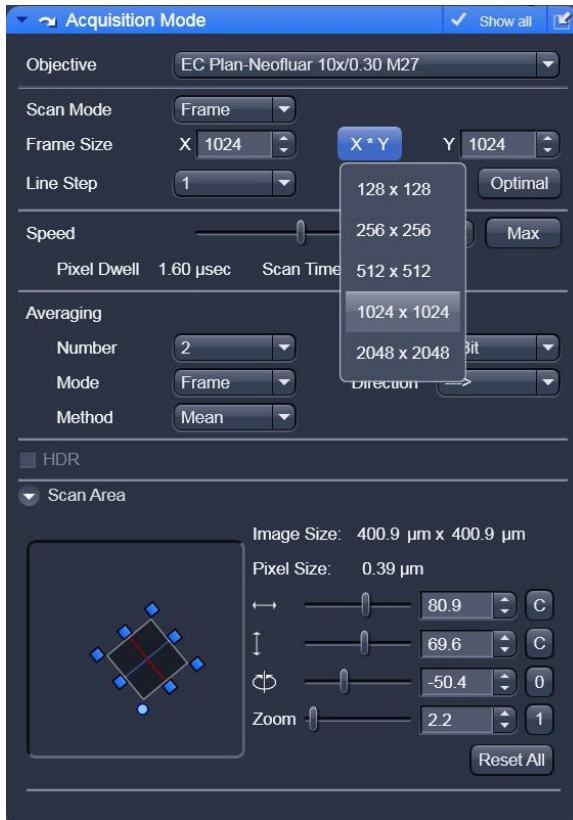
bleaching מהיר) ועלול לגרום להטיה בציר שיש לתקן אחר כך.

**Scan Area**

**Zoom** – מדובר בזום אופטי שהופך בהגדלות גדולות לדיגיטלי.

בעדשה של 60 זום 3 הינו דיגיטלי, בעדשה-25 זום 4

ניתן לשנות את זווית הסריקה (rotation) וע"י כך להטות את דימות האוביקט לכיוון הרצוי



תנאי סריקה כלליים מומלצים

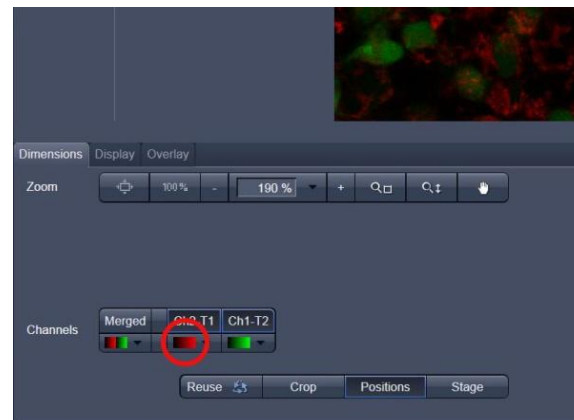
סריקה ע"י	מספר פיקסלים	מספר חזרות	מהירות סריקה	
 Continuous	512x512	1	8	סריקה מקדימה
 Snap	1024x1024	2-4	6	תמונה בדידה
 Start Experiment	1024x1024	2	7	Z-stack

## Channels – מכיל את נתוני כל הערוצים.

יש לקבוע תנאי דגימה אופטימליים לכל ערוץ בנפרד. את הערכים יש לקבוע במהלך סריקה מקדימה על דוגמא חיובית (positive control) לאחר קביעה זו יש לבדוק את הביקורות השליליות באותם תנאים.

ב-**Channels** מבטלים סימון כל הערוצים פרט לאחד, אותו צריך לסמן ע"י לחיצה נוספת לקבלת צבע אפור בהיר יותר. בחלון התמונה יש ללחוץ על צבע הערוץ בתחתית התמונה כדי לשנות את הצגת הנתונים לגונוי אפור, פיקסלים ברוויה ייוצגו באדום, פיקסלים בערך מינימאלי בכחול.

קביעת אחוז הלייזר. יש להשתדל לעבוד באחוז לייזר נמוך ככל שאפשר למניעת פגיעה בדוגמא. **Pinhole** - גודלו קובע את גודל ה-optical slice. תלוי בשאלה הביולוגית ובאילו מבנים רוצים להבחין בדוגמא. Optical slice ( $\mu\text{m}$  section) צריך להיות זהה בכל הערוצים. **Gain (Master)** – הגברת סיגנל ע"י PMT. לא רצוי לעבור את ה-700 (רעש מערכתי) **Digital Offset** – ערכי ה-offset תלויים בערך ה-gain, מתחת לערך הדיטקציה המצוין ערך הפיקסל אפס (שחור) ומעל לערך מקסימאלי הסיגנל ברוויה – פיקסל אדום. **Digital Gain** – הוספת הגברה לתמונה לאחר רכישתה. בדרך כלל אין צורך להשתמש (=1).



## שמירת קבצים

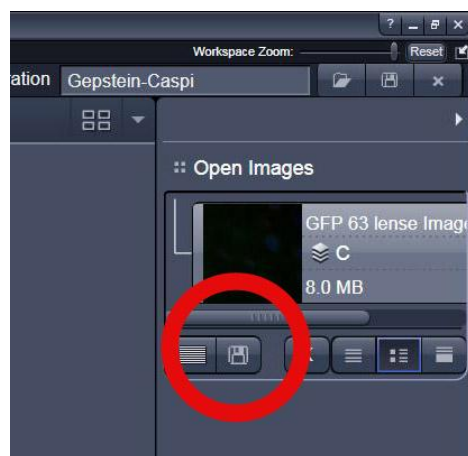
לאחר רכישת תמונה יש לשמור אותה בתיקיה על שם הנסיין בתוך תיקיה ע"ש מנהל המעבדה (PI).

הנתונים שמורים בתיקיה לפי חודש-שנה ב:-

**C:\Users\Multilabs\Documents\LSM USERS DATA**

גיבוי קבצים ראה פרוט בהמשך

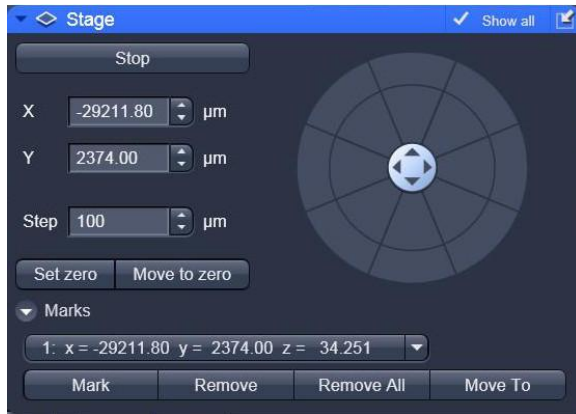
בתחילת כל חודש על המשתמש הראשון ליצור תיקיה חדשה לאותו חודש.



**Stage** – הזזת ה-Stage ב-XY באמצעות התוכנה.

**Focus** – הזזת ה-Stage בציר ה-Z באמצעות התוכנה.

Mark - פונקציה זו מאפשרת סימון קורדינטות בתכשיר בעדשה קטנה ולחזור אליהן בעדשה בעלת הגדלה גדולה יותר. יש לבחור את המיקום מתוך הרשימה שנוצרה וללחוץ על MoveTo. פונקציה זו מביאה את Stage למיקום הרצוי



בחוצץ ה-Dimensions בלחיצה על Stage מופיע צלב (crosshair) במקום החץ של העכבר.

הזזה ולחיצה על הצלב ימרכזו את ה-Stage למרכז הצלב.



# רכישת תמונות בציר ה-Z (Z-stack)

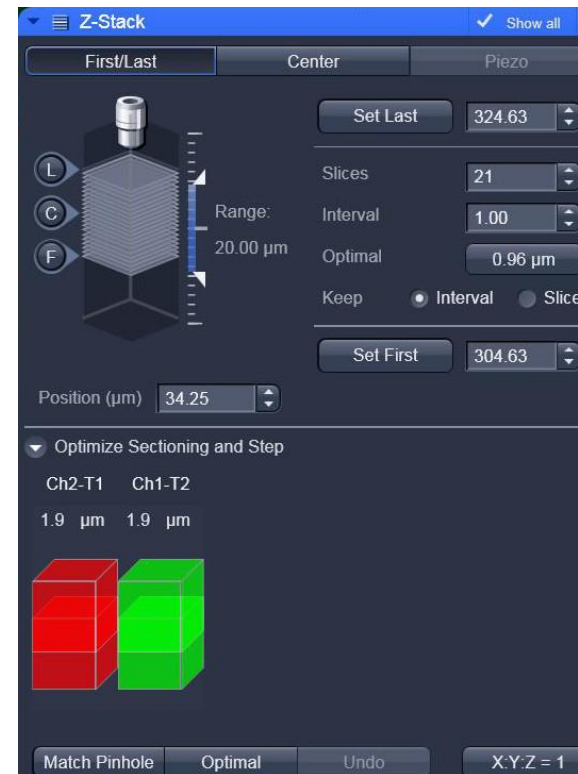
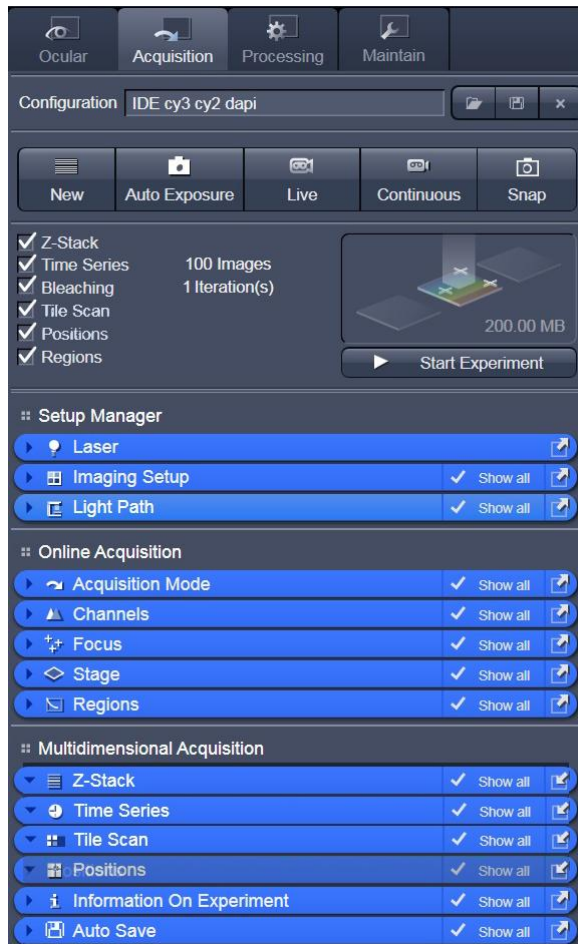
יש לסמן את אפשרות Z Stack לקבלת חלון ה-Z-stack בחלק **Multidimensional Acquisition**

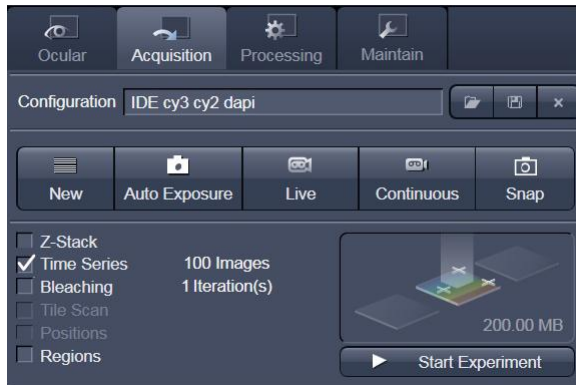
יש לסרוק בערוץ אחד, במהירות גבוהה ללא מיצוע תוך שינוי הפוקוס עד מציאת גבול עליון של הדוגמא וללחוץ על Set First ולסרוק עד למציאת הגבול תחתון של הדוגמא וללחוץ על Set Last. יש לקבוע את האינטרוואל. ניתן להשתמש בהמלצת המערכת ב-Optimal. לחיצה על קביעה זו תייבא את האינטרוואל האופטימלי שהוא חצי מעובי ה-optical slice שנקבעת ע"פ גודל החרייר הקונפוקלי.

ניתן בחלון זה ללחוץ על חוצץ Optimize sectioning and step וע"י לחיצה על איקון Match pinhole ליצור התאמה של עובי החתך בכל הערוצים ואח"כ קביעת אינטרוואל אופטימלי לכולם.



לרכישת החתכים בחר במהירות 7, בחר מספר מיצועים ורזולוציה ולחץ על



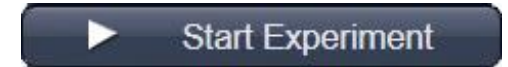


# Time Series

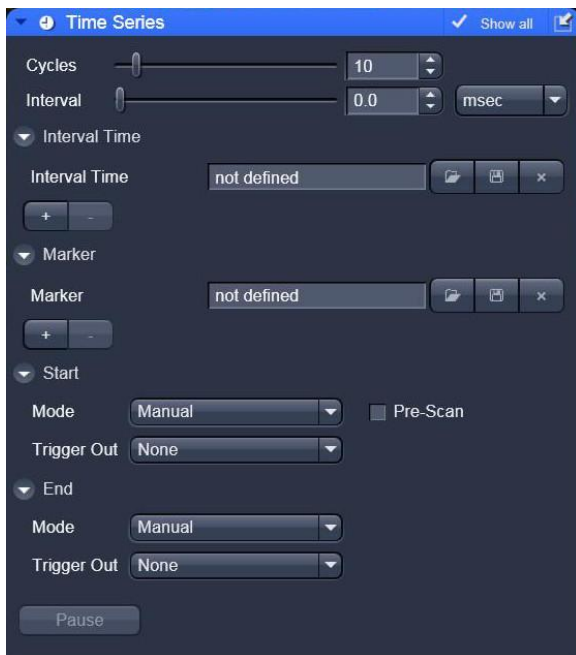
יצירת סדרת דגימות רפטיבית לאורך זמן

יש לסמן את אפשרות Time Series לקבלת חלון ה-**Time Series** בחלק **Multidimensional Acquisition**.

ויש לקבוע את הפרמטרים: מספר חזרות ואינטרוול הזמן בין כל חזרה לחזרה, להפעלת הניסוי יש ללחוץ על.



לביצוע ניסוי זה ממספר אזורים או ב-TILE יש להפעיל מקרו (Multi Time Series) MTS

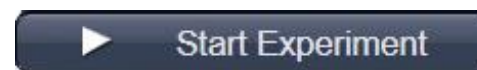


## Tile scan

סריקת מספר שדות צמודים וחיבורם לקבלת תמונה נרחבת של התכשיר ברזולוציה גבוהה.

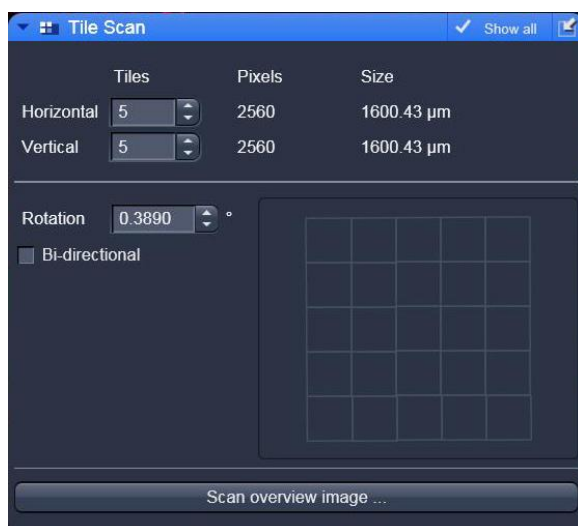
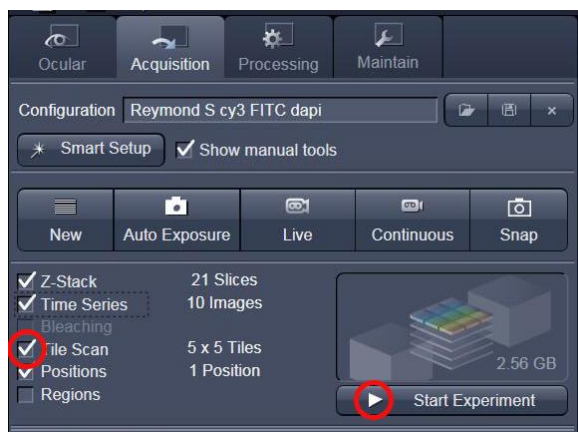
יש לסמן את אפשרות Tile Scan לקבלת חלון ה-**Tile Scan** בחלק **Multidimensional Acquisition**.

יש להביא את הדוגמא למרכז האזור ולקבוע את מספר השדות לסריקה בצירים X ו-Y מסביב לשדה בו היינו.



לאחר קביעת הפרמטרים יש ללחוץ על

מומלץ לבצע סריקה מקדימה של האזור במהירות גבוהה על ידי **scan overview image**, שים לב להגדרות העדשות והמהירות



# Positions

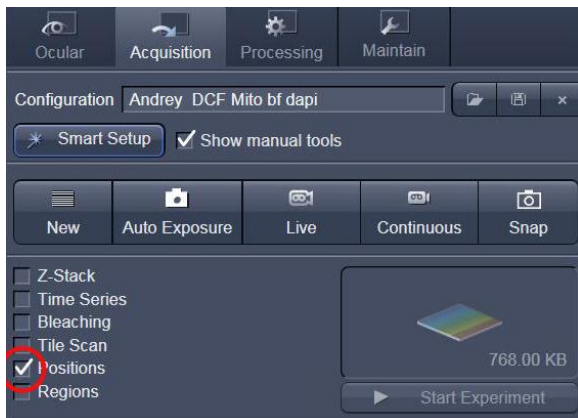
ניתן לסמן מיקומים שונים בתכשיר לסריקה אוטומטית של כל המיקומים שהוגדרו.

יש לסמן את אפשרות Positions לקבלת חלון ה-Positions בחלק Multidimensional Acquisition.

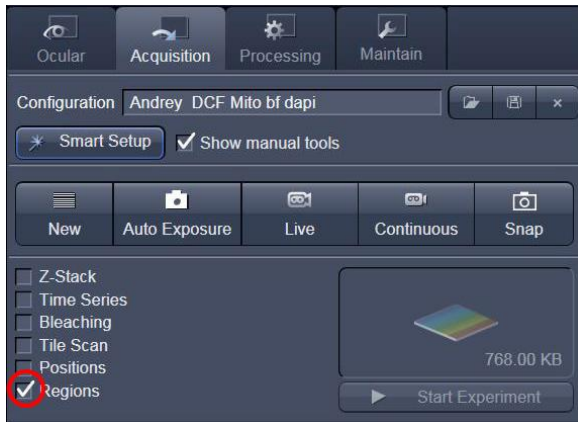
לחיצת Add מוסיף את מרכז השדה הנוכחי לרשימת Positions. ניתן לחזור למיקום מוגדר ע"י Move to.

ניתן לקבוע Position גם ע"י Mark בחלון ה-Stage.

בלחיצת Positions בחוצץ Dimensions מקבלים צלב (crosshair) במקום החץ של העכבר, לחיצה על הצלב יוסיף את הנקודה לרשימת ה-Positions







# Regions of Interest - ROI

יש לסמן את אפשרות Regions לקבלת חלון ה-Regions בחלק Multidimensional Acquisition.

ניתן לסמן ROI בשדה ולבצע רכישת תמונה רק עבור מכלול ROI's אלו.

רכישת תמונה (בדידה, Z section, Time Series) תחול על כל ה-ROIs.

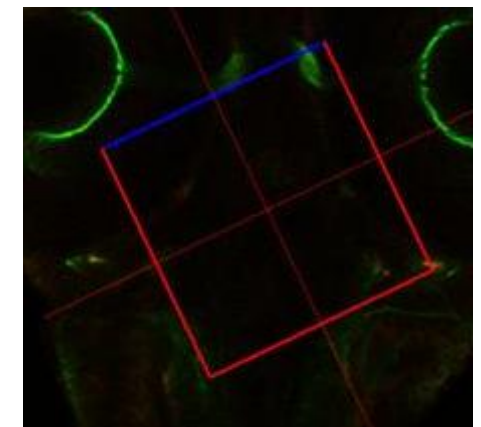
יש לוודא סימון Acquisition עבור כל ROI.

לסריקת אך ורק האזורים המסומנים כ-ROI יש לסמן Fit frame size to bounding rectangle of regions. הפעולה מבצעת zoom על אזור ה-ROI.

קביעת ROI יכול לחסוך זמן סריקה תלוי בפיזורם בשדה.

משמש לסריקת תהליכים פיזיולוגיים, ל-photobleaching, ל-FRAP, uncaging, photoactivation ואנליזה.

ניתן גם לקבוע zoom ו-rotation של השדה הנסרק ע"י לחיצה על Crop בחוצץ Dimensions. על התמונה בסריקה מופיע ריבוע אותו אפשר להזיז, לשנות גודל וזווית.




## גיבוי נתונים

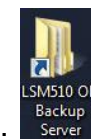
אין להשתמש ב-disk on key



אין להשאיר חיבור לשרת פעיל בסיום העברת הקבצים.

אין להשתמש בדפדפן לגלישה באינטרנט. המחשב פועל ללא Firewall וללא Live anti virus.

על שולחן העבודה לחץ על  - קליק כפול מבצע Enable



העבר את קבציך מתיקיית אל השרת . יש לקבוע את שם התיקייה המדויק במחשב לפני העברה לשרת (אין אפשרות מחיקה ושינוי שם של קבצים בשרת עצמו).



בסיום העברת הקבצים לשרת יש לבטל את החיבור לרשת: בחר שוב ב- לחץ על עכבר ימין, בחר Disable.

אין להשאיר חיבור לשרת פעיל בסיום העברת הקבצים.

## גיבוי הקבצים למחשב הנסיין הינם באחריות הנסיין.

יחידת הצב"מ אינה אחראית על גיבוי הנתונים. את הקבצים יש להעתיק בהקדם לשרת היחידה ומשם למחשב המעבדה. חשוב – השרת/המחשבים ביחידת הצב"מ אינם מהווים גיבוי. נתונים נמחקים מהם כל 3 חודשים.

## סגירת המערכת

- נא לנקות עדשות שמן ולהשאיר את המיקרוסקופ על עדשה  $\times 10$  ו-stage ממורכז
- נא לבדוק אם המשתמש הבא מגיע בשעה הקרובה. במידה ולא, ניתן להמשיך בכיבוי
- יש לכבות לייזרים מתוך התוכנה לפני יציאה מהתוכנה
- נא לצאת מהתוכנה.
- הכיבוי נעשה בסדר הפוך מההדלקה
- חשוב - יש להמתין עד שמאוורר לייזר הארגון נכבה לפני סגירת ה-Electronic Unit
- יש לבצע OFF להזמנה באתר ההזמנות