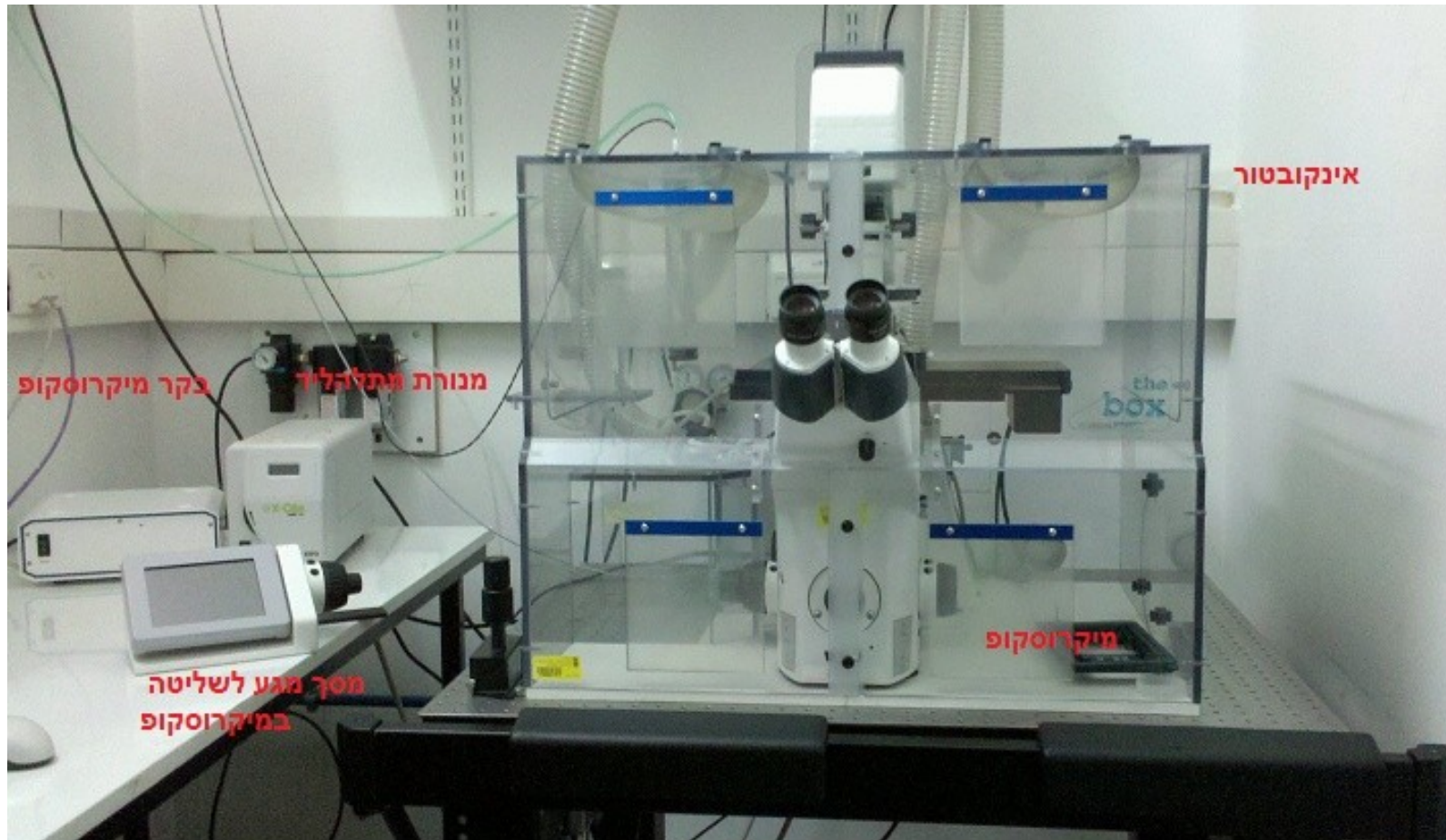


2014-05-04

Instructions TL1 20140504.docx

הוראות למערכת 1 Time lapse



www.medicinelab.org.il

Tel. 972 4-8295347/61 | Fax. 972 4-8295363 | Email: ediths@tx.technion.ac.il

ת.ד. 9649 בת-גלים, חיפה 31096 | 1 Efron St., Bat-Galim, P.O.B 9649 Haifa 31096, Israel

חלקי המערכת

1. מיקרוסקופ inverted בעל שולחן ממונע
2. בקר מיקרוסקופ
3. נורת מתלהליד X-Cite
4. מסך מגע לשליטה במיקרוסקופ
5. ג'ויסטיק
6. BRICK – מערבול גזים.
7. CUBE – בקר טמפ'
8. HUMIDIFIER
9. אינקובטור חיצוני
10. אינקובטור Mini-Chamber
11. בלוני גזים – N_2 , Air, CO_2 הממוקמים מחוץ לחדר
12. מחשב ומסכים

מיקרוסקופ –

- מיקרוסקופ Zeiss- Observer Z1 – inverted
- תאורה –

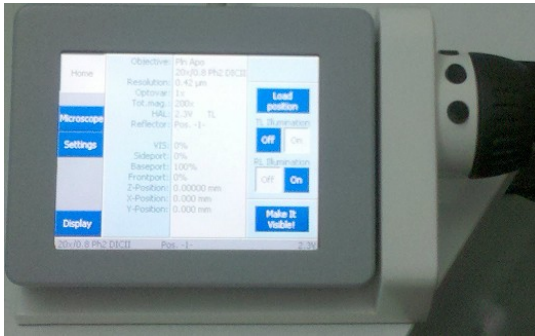
Transmitted – הלוגן

Fluorescence- מנורת מתלהליד - X-Cite

צבענים	Beamsplitter	Emission	Excitation	שם הפילטר	מיקום
				DIC analyzer	1
Cy5, DRAQ5	FT 660	BP 690/50	BP 640/30	Set 50	2 (opt.)
Cy3, Rhodamin, Alexa 561	FT 560	BP 607/80	BP 546/12	Set 20HE	3
Cy2, eGFP, Alexa 488	FT 495	BP 525/50	BP 470/40	Set 38HE	4
DAPI, Hoechst	FT 395	BP 445/50	G 365	Set 49	5
				optovar	6

מסך מגע לשליטה על המיקרוסקופ –

ניתן לשלוט על פעולות המיקרוסקופ הן מהתוכנה והן ממסך זה: החלפת פילטרים, פתיחת תריסי התאורה החלפת עדשות הגלגלת המחוברת למסך משמשת לשינוי הפוקוס.



1. רכישת תמונה בדידה במספר ערוצי צילום באופן אוטומטי

תחילת עבודה

א. הפעלה

- לתאורה פלורוסנטית יש להדליק את ספק המנורה X-Cite וודא שהגלגלת נמצאת על עוצמת הארה נמוכה (נא לא לכבותה במהלך החצי שעה הראשונה, נא להדליקה ראשונה ולכבותה אחרונה)
- הדלק בקר מיקרוסקופ



בקר מיקרוסקופ

ספק נורת מתלהליד

גלגלת לקביעת עוצמה



- הדלק כפתור המיקרוסקופ OFF/ON וסגור את הדלת הקטנה.

- הדלק מחשב + מסך (סיסמה 123456)
- בדוק מקום פנוי על ה-hard disk כונן C

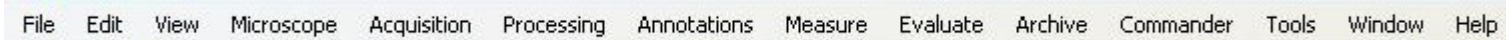
- בדוק האם תיקיית Current movie בכונן C ריקה (שם נשמר הניסוי: current movie: users data\my documents\C)
- העבר לעדשה 10X וודא כי השולחן ממורכז והכנס צלחת בתושבת הנכונה. וודא כי הצלחת יושבת יציב בתושב השולחן

ב. תוכנה



לחץ על צלמית תוכנת Axiovision 4.8 (במקרה והתוכנה נכבית במהלך העבודה יש לחכות מספר שניות לפני הפעלתה מחדש).
מבנה התוכנה –

בחלקה העליון ניתן למצוא סרגל כלים אשר מכיל את כל פקודות התוכנה.



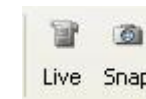
ומתחתיו נמצאות צלמיות אשר משמשות כקיצורים לפקודות להלן מספר דוגמאות:



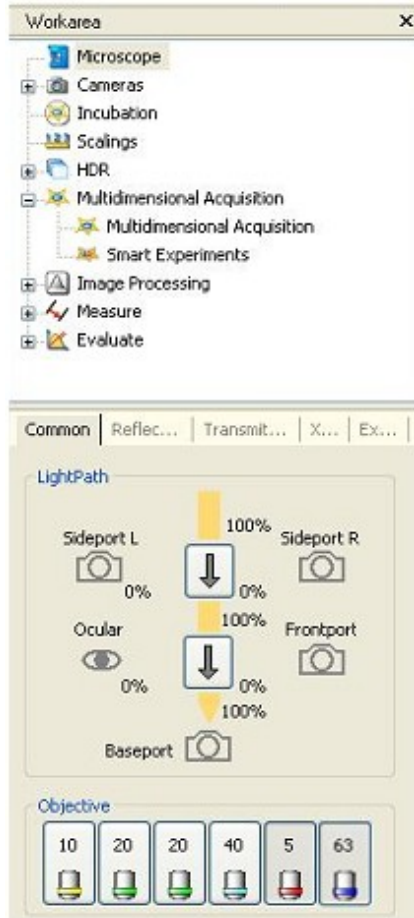
- צלמיות הארה



- צלמיות נתיב הארה



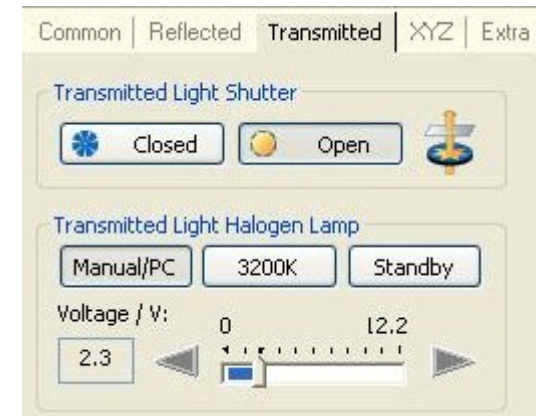
- צלמיות צילום



מורכב ממספר לשוניות ובכל לשונית מספר הגדרות, בחירה בלשונית מציגה את ההגדרות. החלק המרכזי של התוכנה משמש כאזור הצגת התמונה הנרכשת. בנוסף הפעלת פונקציות מסוימות בתוכנה פותחת חלונות שיח להגדרות הניסוי. כגון חלון Smart Experiment חלון Extended Parameters ועוד.

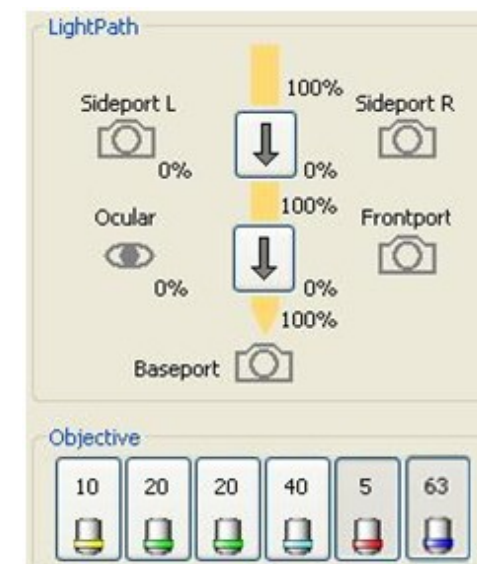


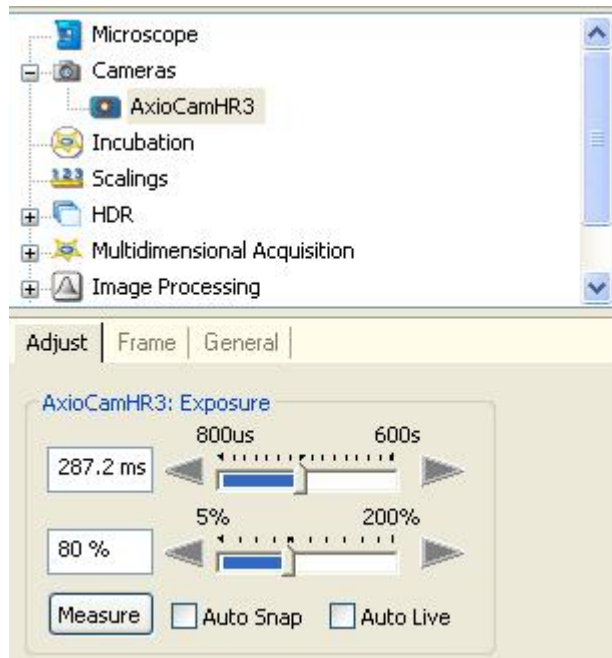
Microscope **הכנס ללשונית** - קבע עוצמת אור ל-3V



סוג הצלחת	N.A	מרחק עבודה (mm)	עדשה
תחתית זכוכית	0.95	0.25	Apochromat 40x/0.95 Corr Ph 3
	0.8	0.55	Apochromat 20x/0.8 Ph 2
	1.4	0.19	Plan-Apochromat 63x/1.4 Oil Ph 3
תחתית פלסטיק	0.4	7.9 at cover glass 0.75	Plan-Neofluar 20x/0.4 Corr Ph 2
	0.3	5.2	EC Plan-Neofluar 10x/0.3 Ph 1
	0.16	18.5	EC Plan-Neofluar 5x/0.16 Ph 1

העבר לעיניות לחץ על צלמית ocular, בחר שדה, בצע Kohler illumination, וודא התאמת העדשה לקונדנסור ולסוג הקונטראסט הרצוי

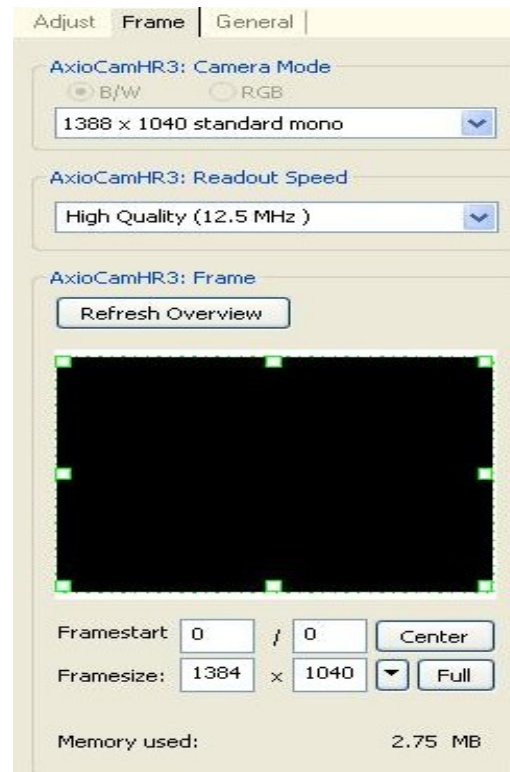


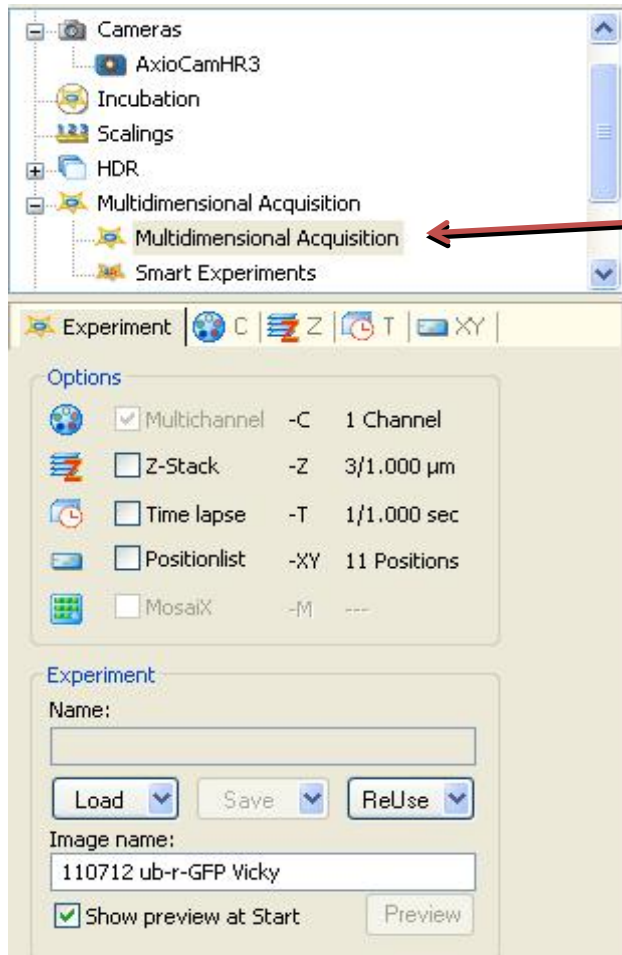


– לחץ על live, לחץ על אחת המצלמות –
 exposure בתחתית חלון ה-live

בדוק את הפרמטרים של המצלמה – בלשוניות adjust, frame

בלשונית adjust בדוק זמן חשיפה בלשונית frame וודא – high quality full frame, no binning,





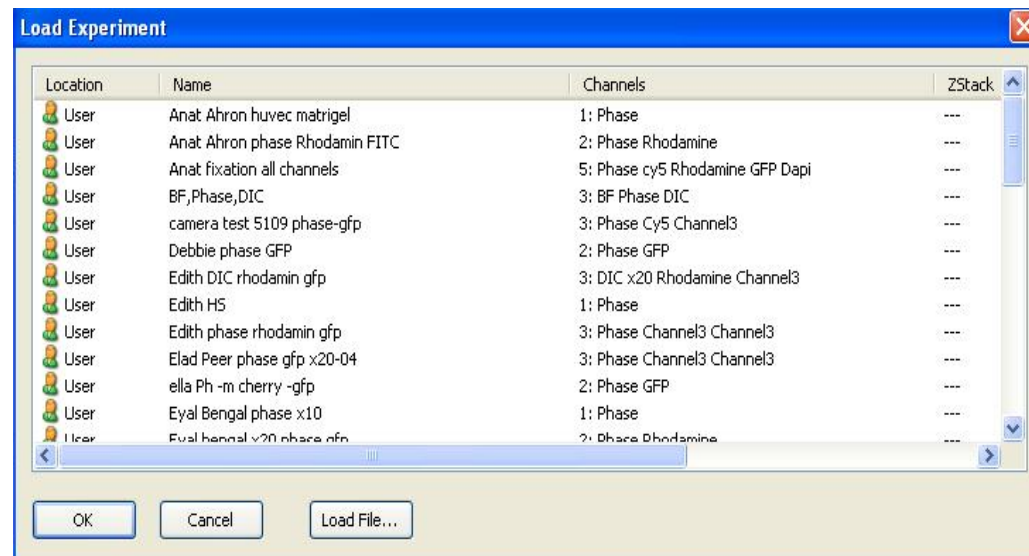
בחר Multidimensional Acquisition - ושוב Multidimensional Acquisition

Experiment - **בלשונית**

קבע Image name בדרך כלל שם ניסוי, נסיין ותאריך

פתח קובץ ניסוי: load -

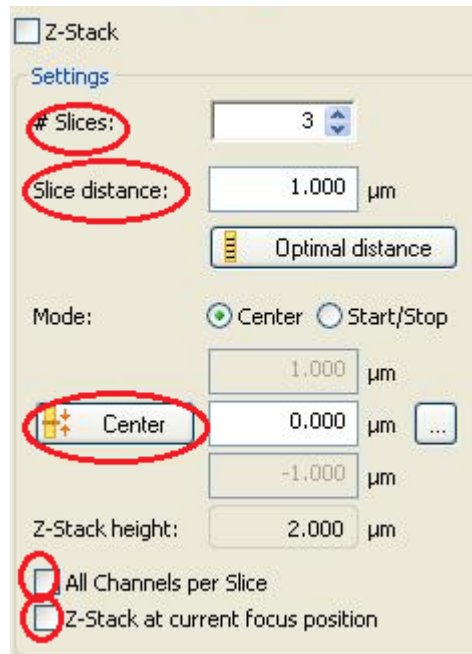
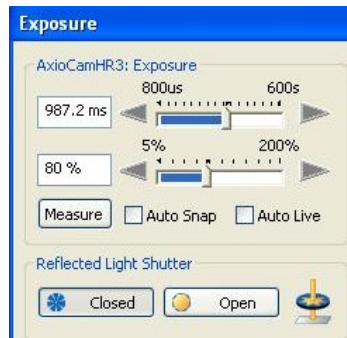
בחר קובץ עבודה מהרשימה בהתאם לצבענים בתכשיר או בקש מאנשי הצוות יצירת קובץ חדש



לפתיחת הערוצים יש לבחור בערוץ פעיל וללחוץ Extended parameters ..

הגדר זמן חשיפה לכל ערוץ

לחץ על Exposure Time [ms] 40



לקביעת חתכים ב-Z עבור ללשונית Z

קבע מספר חתכים ואת המרחק ביניהם. ניתן להגדיר את אופן רכישת ה-Z במספר תצורות: מהפוקוס שקבענו בנקודות העניין, מנקודת מרכז אותה ניתן להגדיר, או מנקודת התחלה לנקודת סוף. בנוסף יש להגדיר האם יצולם Z מכל הערוצים באותו חתך או כל החתכים מאותו ערוץ

לאחר קביעת כל הפרמטרים בניסוי, יש לחזור ולוודא בלשונית Experiment | אילו מימדים מסומנים Start לחץ

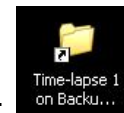
גיבוי נתונים:

אין להשתמש ב-disk on key

לאחר שמירת הקבצים יש לגבותם אל שרת היחידה באופן הבא:



על שולחן העבודה לחץ על Enable



אל השרת



העבר את קבציך מתיקיית

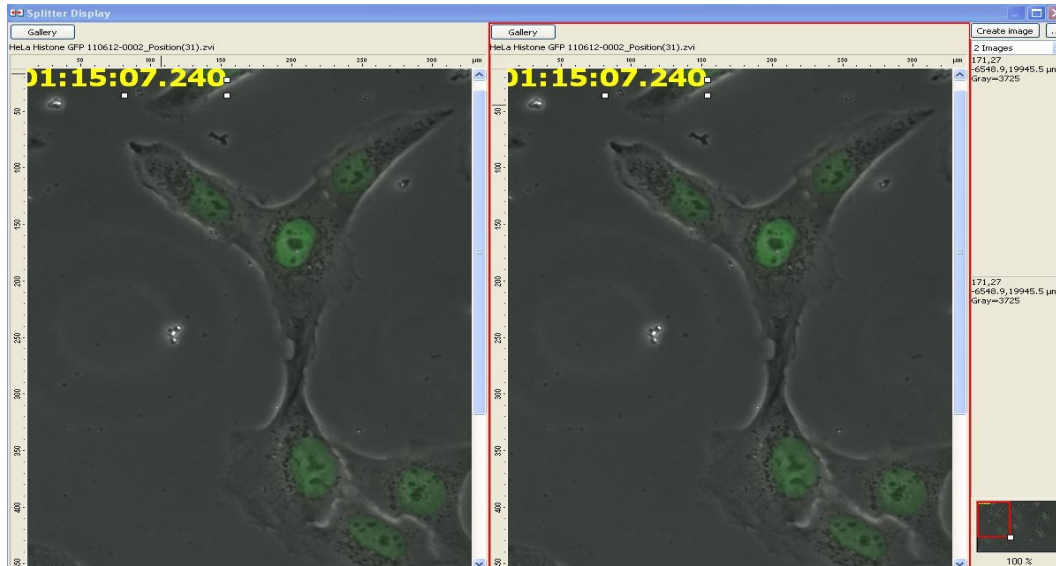
יש לקבוע את שם התיקייה המדויק במחשב לפני העברה לשרת (אין אפשרות מחיקה ושינוי שם של קבצים בשרת עצמו).

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

אין להשאיר חיבור לשרת פעיל בסיום העברת הקבצים.

סגירת המערכת

1. כוון הגדלת המיקרוסקופ ל – 10X
2. מרכז שולחן העבודה ביחס לעדשה
3. הוצא צלחת תאים, תכשיר
4. צא מתוכנת Axiovision
5. כיבוי מחשב + מסך
6. כיבוי בקר מיקרוסקופ.
7. כיבוי מנורת מתלהליד
8. סגירת תאורת חדר



2. תוכנה: עיצוב, מדידות, אנליזה

Splitter – פתח מגלריית הסרטים סרטים שונים

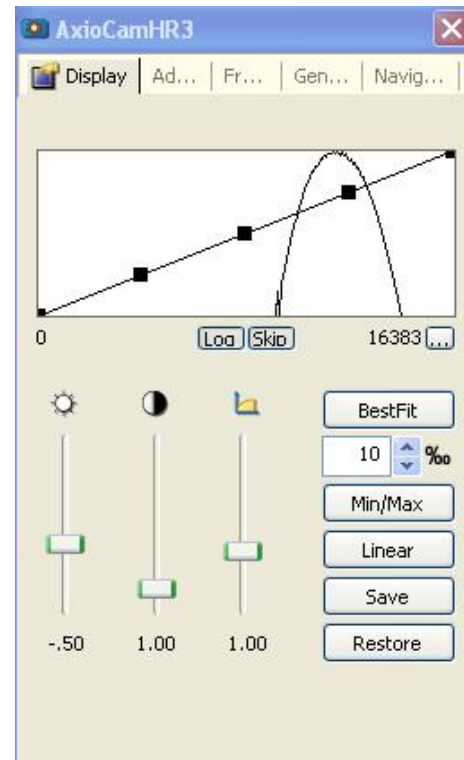


לחץ על צלמית בחר סרטים להשוואה.

ניתן ליצור תמונה מחלון זה בה יוצגו הסרטים שנבחרו בו זמנית

Annotations הוספת כיתוב חופשי, זמן,

scale bar הוספת ומדידות גאומטריות



עיבוד תמונה

ניתן להגדיר עקומת LUT ולשנות ניגודיות ובהירות של התמונה.

ניתן לשמור את קובץ השינויים וליישמו על עוד תמונות

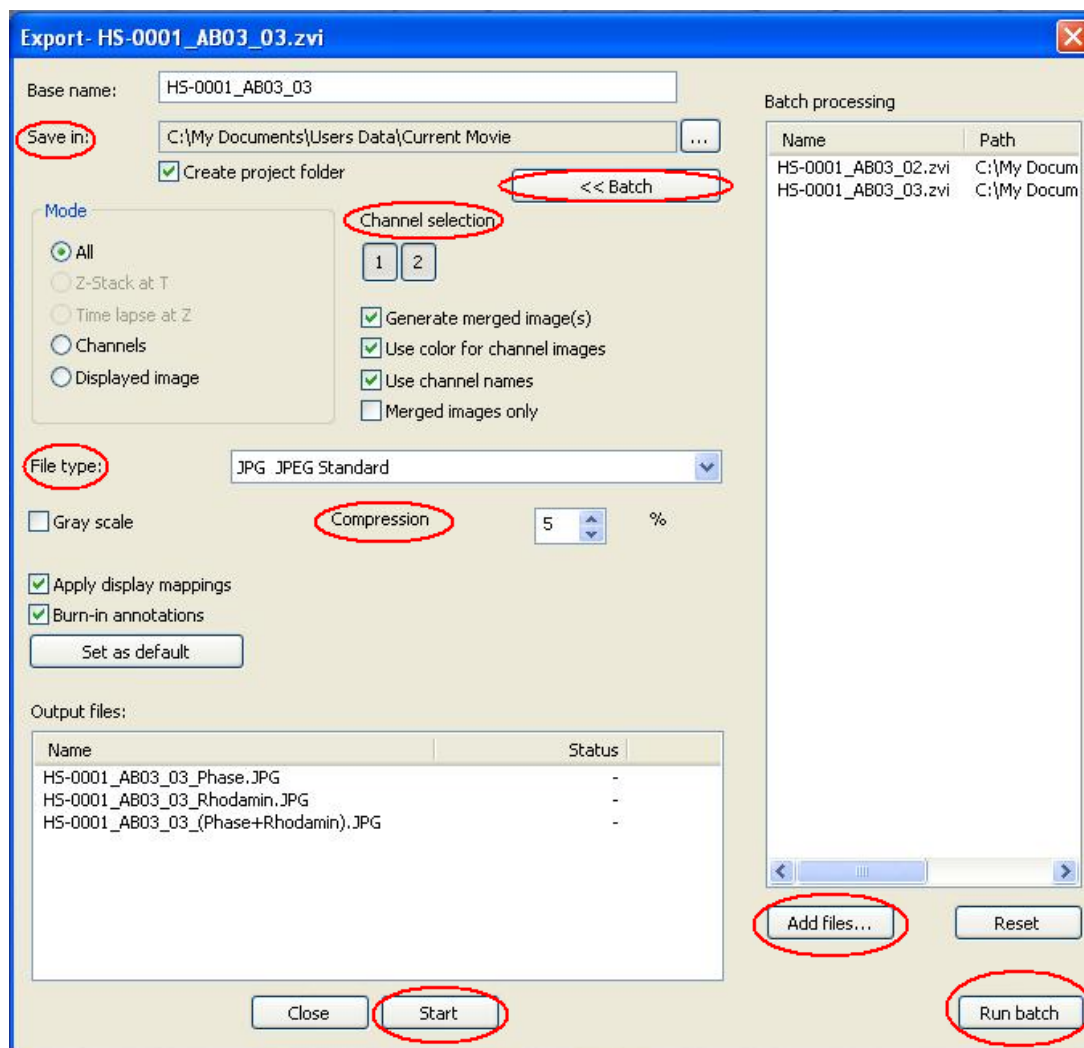
המרת קבצים:

בסרגל הכלים כנס ללשונית **File** ובחר ב **Export** בחלון שנפתח יש לברור בין מספר אפשרויות:

מיקום השמירה, אלו ערוצים יעברו המרה אלו תמונות תתקבלנה (תמונות merge), האם יופיע הצבע של הערוצים, אלו ערוצים יופיעו) ניתן לקבוע את סוג הקובץ שיתקבל בסוף ההמרה ואת מידת הדחיסה. במקרה והוספנו כיתוב בתמונת המקור ניתן לבקש את הוספתו בתמונה לאחר המרתה.

להמרת הקובץ יש ללחוץ על צלמית **Start**

ניתן להמיר כמה תמונות או סרטים בבת אחת ע"י לחיצה על צלמית **Batch >>** יש לסמן את הקבצים להמרה על ידי לחיצה על **Add files...** בסוף בחירת הקבצים יש ללחוץ על **Run batch** צלמית **Run batch** ישמרו אוטומטית לאחר המרתם בתיקייה אותה הגדרנו.

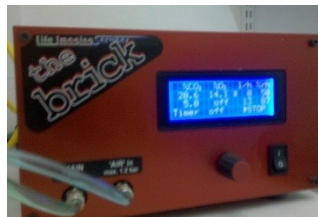


3. ניסוי תאים חיים

- א. יש לבדוק את רמת הגז בבלונים – אין לעבוד מתחת ל - 30-50bar בבלון האוויר. במידת הצורך יש לדאוג להחלפת בלון בעזרת אנשי הצוות בלבד.
ב. יש לפתוח את ברזי הבלונים השחורים, נא לא לגעת בברזים האחרים.



- ג. יש לוודא את כמות המים בקולונת ה- HUMIDIFIER במקרה וחסרים מים נא לבקש מהצוות להוסיף מים



- ד. פתח את ה- BRICK לאחר כמה דקות בדוק ערכים – CO_2 , O_2 , flow, humidity בשורה התחתונה הנו הערך שהוגדר למערכת, שורה עליונה המצב העכשווי.

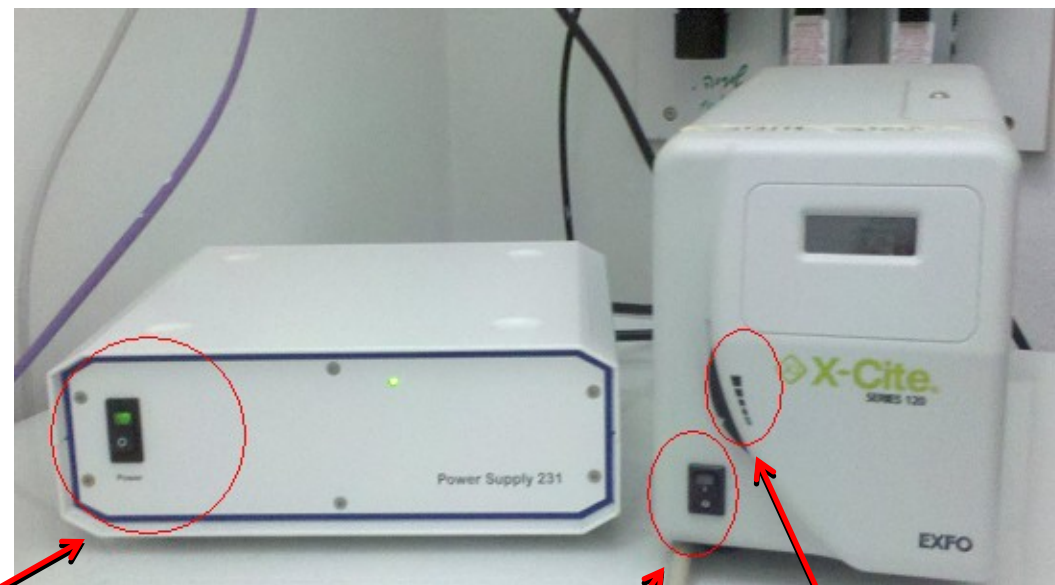
- ה. יש לוודא שהטמפ' ב-37°C CUBE.



תחילת עבודה

ג. הפעלה

- לתאורה פלורוסנטית יש להדליק את ספק המנורה X-Cite וודא שהגלגלת נמצאת על עוצמת הארה נמוכה (נא לא לכבותה במהלך החצי שעה הראשונה, נא להדליקה ראשונה ולכבותה אחרונה)
- הדלק בקר מיקרוסקופ



בקר מיקרוסקופ

ספק נורת מתלהליד

גלגלת לקביעת עוצמה



- הדלק כפתור המיקרוסקופ OFF/ON וסגור את הדלת הקטנה.

- הדלק מחשב + מסך (סיסמה 123456)

- בדוק מקום פנוי על ה-hard disk כונן C

- בדוק האם תיקיית Current movie בכונן C ריקה (שם נשמר הניסוי C:\my documents\users data\current movie)
- העבר לעדשה 10X וודא כי השולחן ממורכז והכנס צלחת בתושבת הנכונה. וודא כי הצלחת יושבת יציב בתושב השולחן.

ד. תוכנה

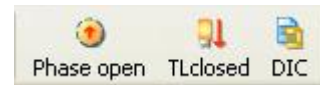


לחץ על צלמית תוכנת Axiovision 4.8 (במקרה והתוכנה נכבית במהלך העבודה יש לחכות מספר שניות לפני הפעלתה מחדש).
מבנה התוכנה –

בחלקה העליון ניתן למצוא סרגל כלים אשר מכיל את כל פקודות התוכנה.



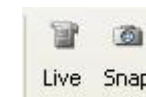
ומתחתיו נמצאות צלמיות אשר משמשות כקיצורים לפקודות להלן מספר דוגמאות:



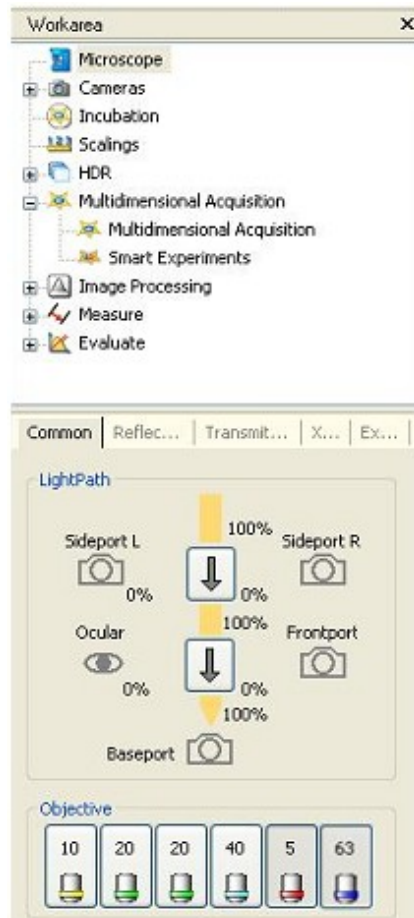
צלמיות הארה -



צלמיות נתיב הארה -



צלמיות צילום -

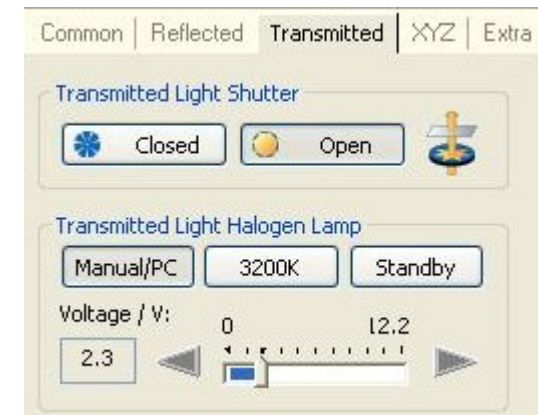


- מורכב ממספר לשוניות ובכל לשונית מספר הגדרות, בחירה בלשונית מציגה את ההגדרות. החלק המרכזי של התוכנה משמש כאזור הצגת התמונה הנרכשת. בנוסף הפעלת פונקציות מסוימות בתוכנה פותחת חלונות שיח להגדרות הניסוי. כגון חלון smart experiment חלון extended parameters ועוד.

התחלת ניסוי -

- הכנס **ללשונית** Microscope

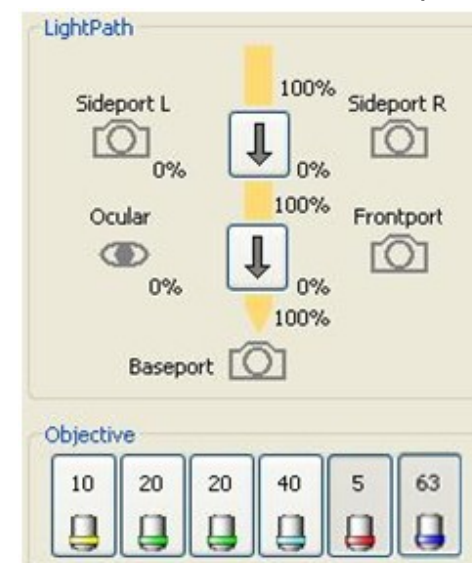
קבע עוצמת אור הלוגן ל-3V, הארה נמוכה שומרת על חיות התאים לאורך זמן.

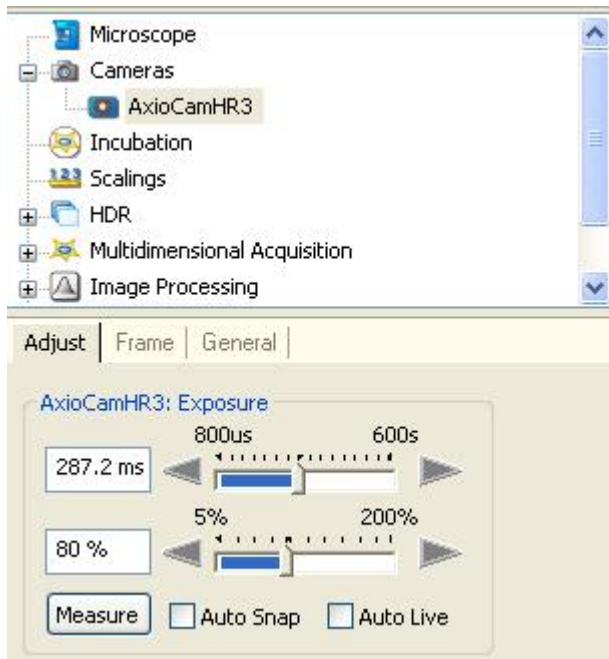


בחר עדשה:

סוג הצלחת	N.A	מרחק עבודה (mm)	עדשה		
תחתית זכוכית	0.95	0.25	Apochromat	40x/0.95	Corr Ph 3
	0.8	0.55	Apochromat	20x/0.8	Ph 2
	1.4	0.19	Plan-Apochromat	63x/1.4 Oil	Ph 3
תחתית פלסטיק	0.4	7.9 at cover glass 0.75	Plan-Neofluar	20x/0.4	Corr Ph 2
	0.3	5.2	EC Plan-Neofluar	10x/0.3	Ph 1
	0.16	18.5	EC Plan-Neofluar	5x/0.16	Ph 1

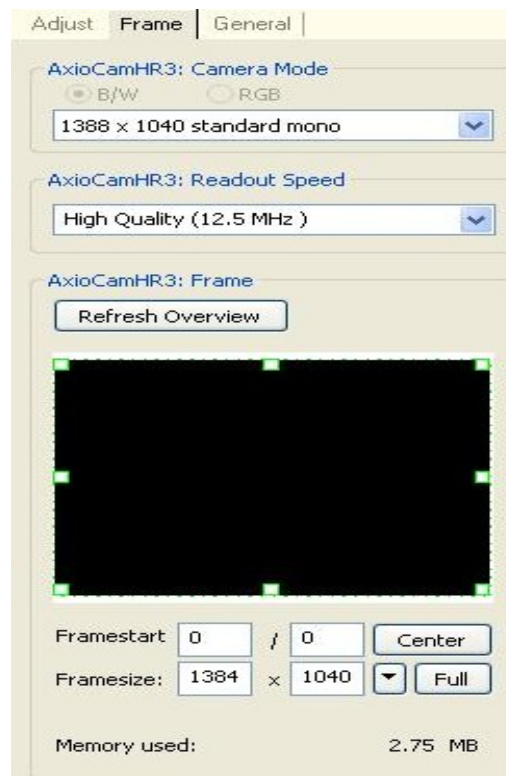
העבר לעיניות לחץ על צלמית ocular, בחר שדה, בצע Kohler illumination, וודא התאמת העדשה לקונדנסור ולסוג הקונטראסט הרצוי





פתח חלון live לחץ על צלמית אחת המצלמות – HS/HRM וקבע exposure time

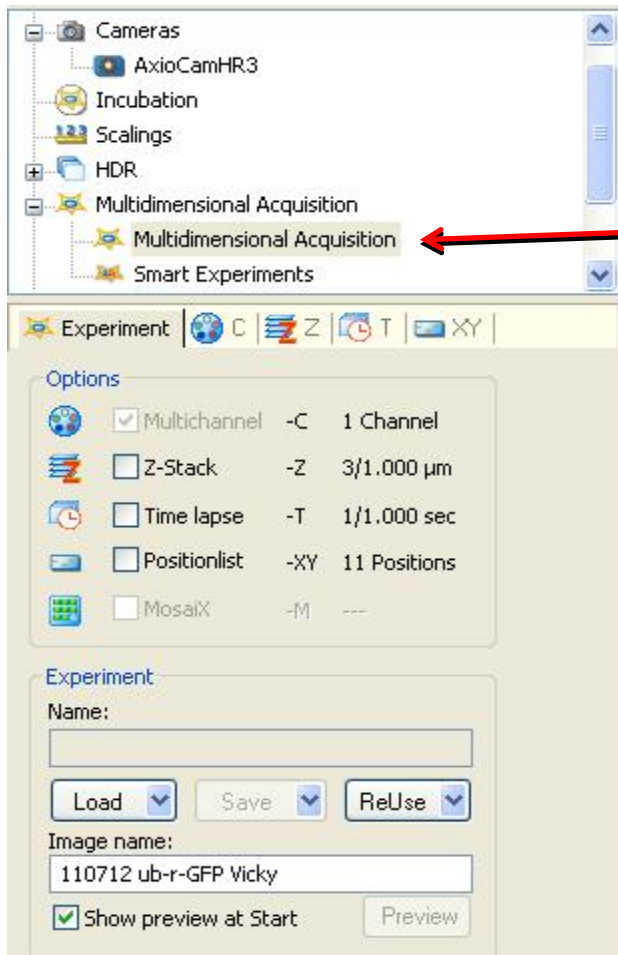
בדוק את הפרמטרים של המצלמה – full frame , binning



בסרגל הכלים בחר **Tools** הכנס ל-Options

בחר **Acquisition** ואשר שמירה האוטומטית

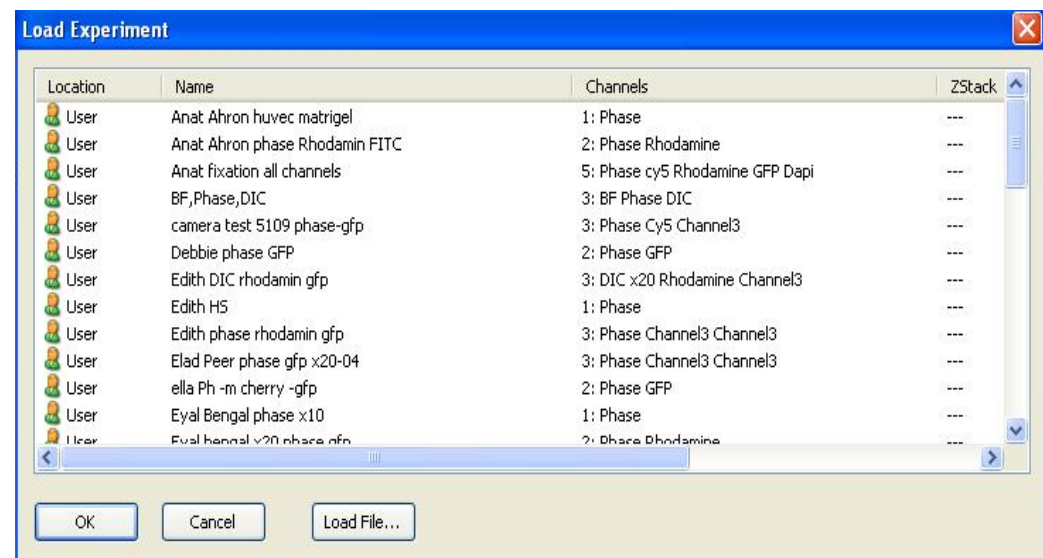
עבור ללשונית **Display** ובחר Constant Update



בחר Multidimensional Acquisition- ושוב Multidimensional Acquisition

- **בלשונית** Experiment

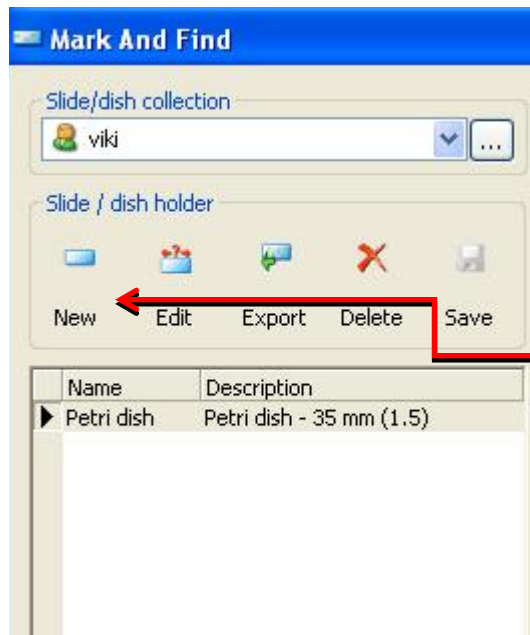
קבע image name : שם ניסוי, שם נסיין ותאריך
 פתח קובץ ניסוי ע"י load בחר קובץ עבודה מהרשימה.



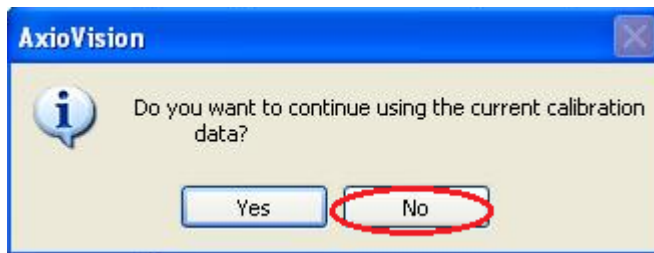
- בלשונית XY
לחץ על צלמית – mark and find



בחר user או צור חדש

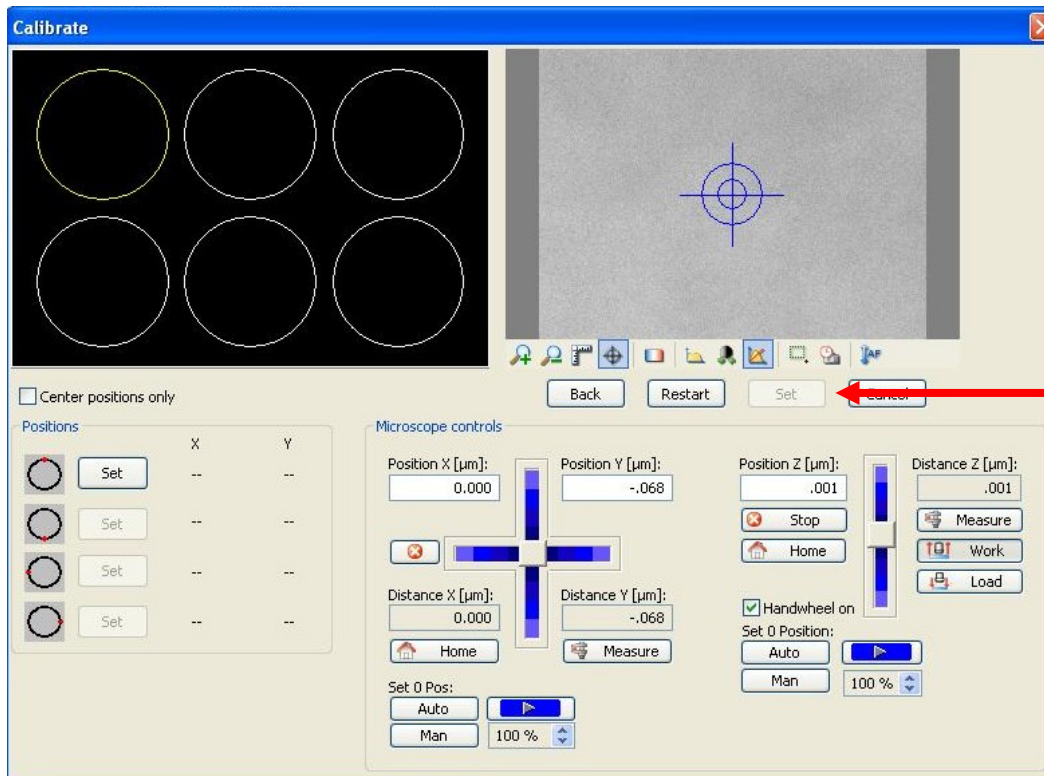


בחר סוג הצלחת ע"י NEW – add new carrier – משם – type ובחירה מהרשימה.

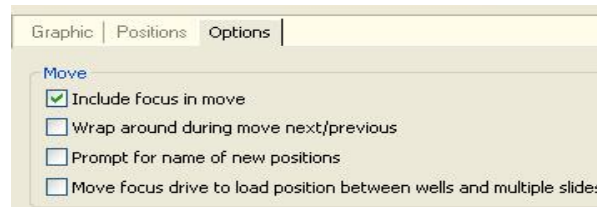


במידה ומשתמשים ב - multiwell הפעל תוכנית כיול wizard calibration ע"י לחיצה על צלמית

יש לבטל את הכיול הקודם



בתחילת הקליברציה יש להביא פיזית את הצלחת למיקום הראשון ולאשר ע"י לחיצה על SET, יש להמשיך לאשר את מיקום הצלחת לאחר בדיקה כי אכן הצלחת הגיעה למקום המתאים. לבסוף יש ללחוץ SET.



- היכנס ללשונית options נתק את include focus in move

לחץ (double click) על הבארית הרצויה.




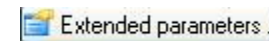
בלשונית graphic בחר נקודות סמן ושמור אותן בעזרת אחד מתגי הצבע.

בסוף הפעולה יש להיכנס שוב ל - options ולסמן שוב את include focus in move.

בלשונית position list חזור לנקודה הראשונה ובדוק בכל נקודה את הפוקוס. במידת הצורך לחץ על צלמית  לעדכון הקורדינטות. לבסוף יש

לשמור את הנקודות ב-save

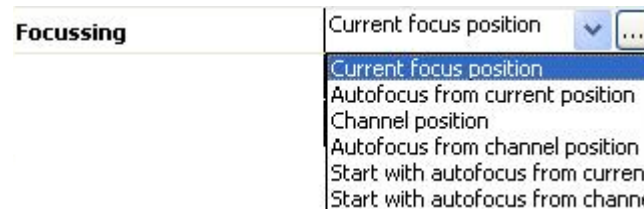
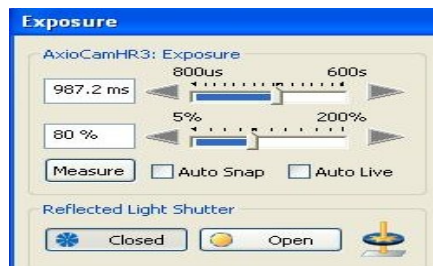
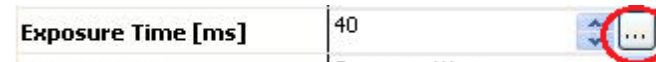
- עבור ללשונית  Multidimensional Acquisition – בחלון



לפתיחת הערוצים יש ללחוץ

הגדר זמן חשיפה לכל ערוץ

לחץ על



יש להגדיר גם את מצב ה - focus

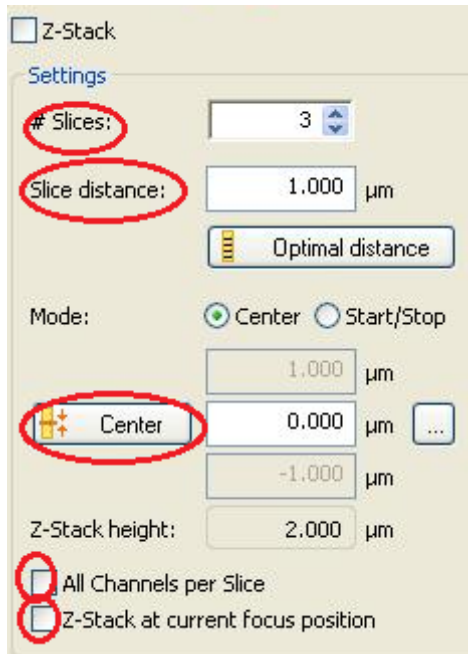
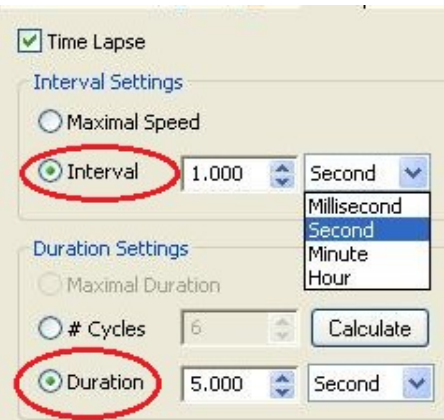
האם המערכת תבצע autofocus או התמונה

תירכש רק מגובה ה - Z אותו קבענו

- עבור ללשונית T

הגדר אינטרוול ומשך הניסוי. שים לב ליחידת הזמן.




- לקביעת חתכים ב-Z עבור ללשונית Z



קבע מספר חתכים ואת המרחק ביניהם. ניתן להגדיר את אופן רכישת ה - Z במספר תצורות: מהפוקוס שקבענו בנקודות העניין, מנקודת מרכז אותה ניתן להגדיר, או מנקודת התחלה לנקודת סוף. בנוסף יש להגדיר האם יצולם Z מכל הערוצים באותו חתך או כל החתכים מאותו ערוץ.

- לאחר קביעת כל הפרמטרים בניסוי יש לחזור ולוודא שבלשונית Experiment | כל הממדים שבחרנו מסומנים, פריט שאינו מסומן לא יבוצע בניסוי
- להפעלת הניסוי לחץ **Start** מומלץ לחכות ולראות את 2 נקודות הזמן הראשונות.
- בסיום הניסוי לכל נקודה ייווצר סרט, מסוג avi ניתן לשמור או לייצא לתצורת avi

ה. סיום עבודה

- **גיבוי נתונים:**
- אין להשתמש ב-disk on key
- לאחר שמירת הקבצים יש לגבותם אל שרת היחידה באופן הבא:
- 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, לחץ על עכבר ימין, בחר Disable.
- אין להשאיר חיבור לשרת פעיל בסיום העברת הקבצים.

סגירת המערכת

9. כוון הגדלת המיקרוסקופ ל – 10X

10. מרכז שולחן העבודה ביחס לעדשה

11. הוצא צלחת תאים

12. צא מתוכנת Axiovision

13. כיבוי מחשב + מסך

14. כיבוי בקר מיקרוסקופ.

15. כיבוי מנורת מתלהליד

16. כיבוי Brick

17. סגירת ברזיי גזים.

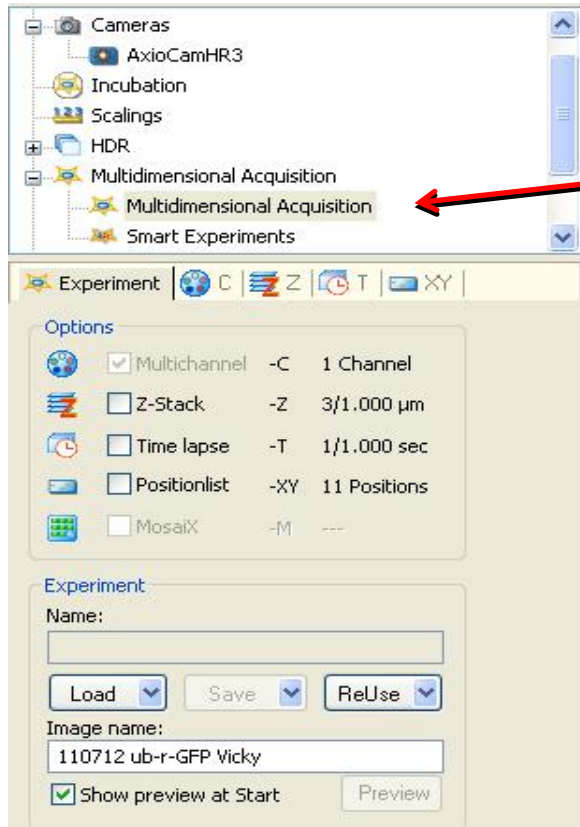
18. סגירת תאורת חדר

חשוב: נא לא לכבות את בקר הטמפ' (the cube)

4. ניסוי High speed עם מצלמת HS

60 F/s -ב full frame בזמן חשיפה של 1 מילישנייה

במידה ומצלמת HS אינה מותקנת במערכת יש לבקש את התקנתה מצוות המיקרוסקופיה

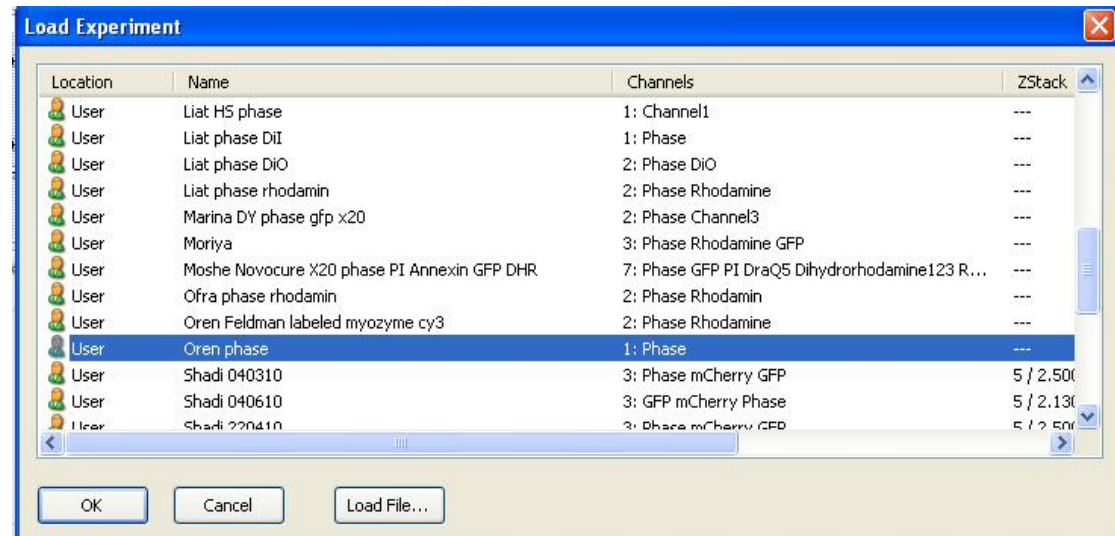


- בחר Multidimensional Acquisition ושוב Multidimensional Acquisition

- בלשונית Experiment

קבע image name בדרך כלל שם ניסוי, נסיון ותאריך

פתח קובץ - load -בחר מהרשימה את Oren phase exp

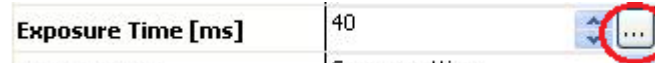
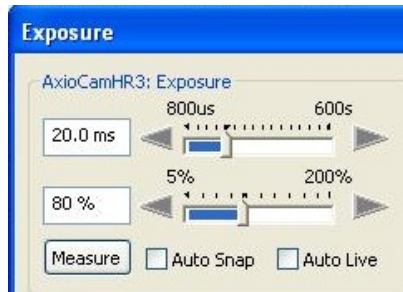


- עבור ללשונית -

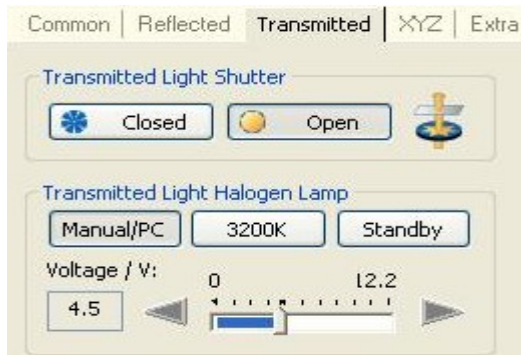
Extended parameters .. לפתיחת הערוצים יש לעמוד על ערוץ פעיל וללחוץ

הגדר זמן חשיפה קטן מ- 10ms

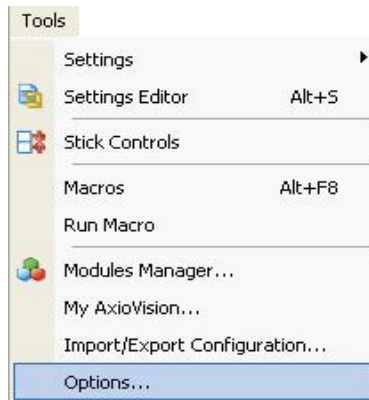
לחץ על:



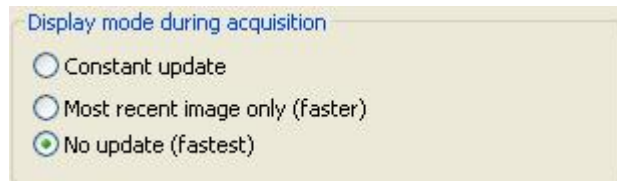
- כנס ללשונית ה- Microscope | בחר בלשונית Transmitted | כוון את עוצמת נורת ההלוגן כך שזמן החשיפה לא יעלה על $\approx 10\text{ms}$



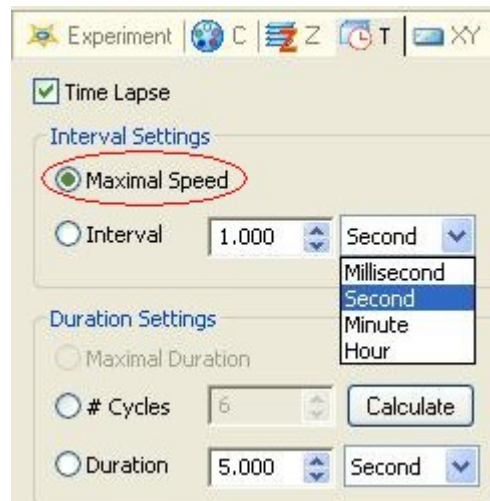
לחץ על צלמית מצלמת HS וכוון את הפוקוס על נקודת ענין ב- slow mode בסיומ העבר את המצלמה למצב fast mode



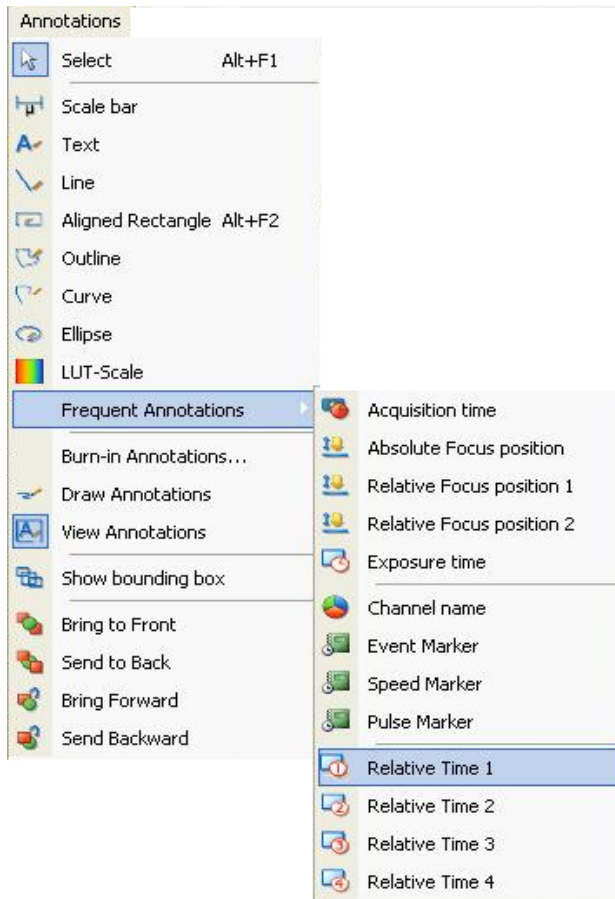
- בסרגל הכלים בחר **Tools** וכנס ללשונית Options
- בחר **Acquisition** ובטל שמירה אוטומטית



- עבור ללשונית **Display** ובחר **OK** לחץ על



- בניסוי עבור **ללשונית** **T** ובחר באפשרות maximal speed הגדר מספר cycles או duration



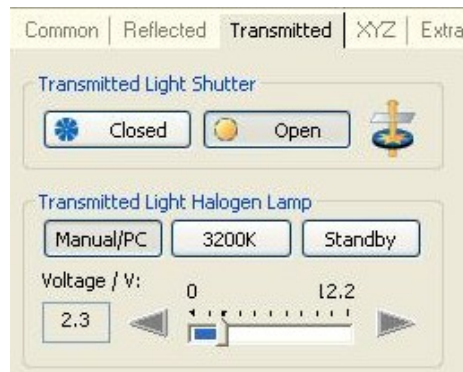
בכדי להגביר את מהירות הצילום ניתן להיכנס להגדרות המצלמה להקטין את גודל השדה ולהשתמש ב – binning

יש לסגור את חלון ה – live של המצלמה – מגדיל את זמן רכישת התמונות. ולבטל את הצגת חלון ה- preview ע"י הסרת הסימון בחלון experiment Show preview at Start

בסיום הניסוי ניתן לפני שמירתו להוסיף time overlay - ע"י בחירה ב- Annotations: בסרגל הכלים היכנס ללשונית Frequent Annotations ובחר Relative Time כאשר נמצאים בנקודת הזמן הראשונה בסרט

סגירת המערכת

יש לחזור ולשנות את תנאי המערכת למצבם ההתחלתי: הכנס ללשונית Microscope והחזר את עוצמת נורת ההלוגן (2.3V-3V)



בסרגל הכלים בחר Tools הכנס Options

בחר Acquisition ואשר שמירה האוטומטית

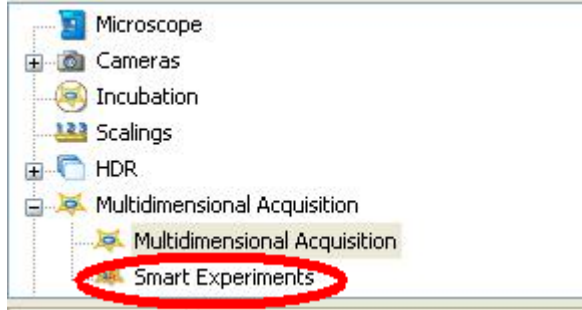
עבור ללשונית Display ובחר constant update

הכנס להגדרות המצלמה והגדל את גודל השדה ובטל binning במידה ונבחר לחץ OK

כבה את המערכת על פי פרוטוקול סגירת המערכת שלעיל

מודל זה מאפשר יצירת ניסוי מורכב הבנוי מכמה סגמנטים כאשר לכל סגמנט ניתן להגדיר משך ואינטרוול, ערוצי צבע שונים, Z ופרמטרים נוספים.

- בחר Multidimensional Acquisition ושוב Multidimensional Acquisition הגדר ניסוי באופן הרגיל הגדר ערוצי צבע, זמן חשיפה, ופרמטרים נוספים הגדר צלחת ונקודות עניין שמור את תנאי הניסוי ואת נקודות העניין.



- כנס ל smart experiment –

חלון הניסוי שנפתח מחולק לשני אזורים עיקריים – אזור העלאת הניסוי עם תיאור גרפי של הניסוי ואזור הגדרת הניסוי

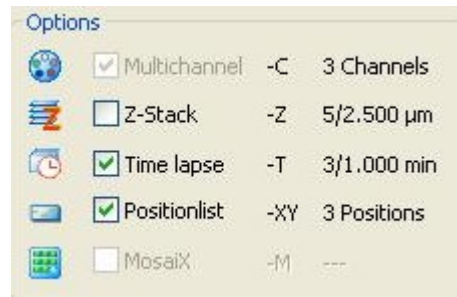
- לחץ על צלמית והעלה את שם הניסוי אותו שמרת, בשלב זה יופיע ייצוג גרפי של הניסוי

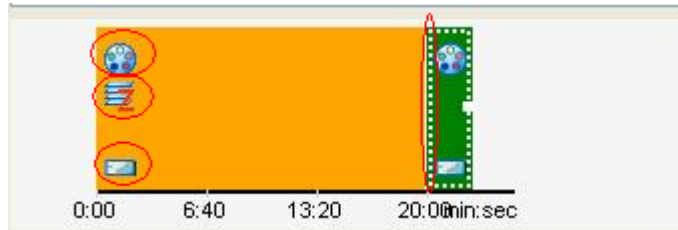
כנס אל **לשונית** והעלה את הצלחת עם נקודות העניין אותה שמרת.

כנס אל **לשונית** רשום את משך הניסוי והאינטרוול. במידת הצורך קבע Z בלשונית המתאימה

כנס אל לפתיחת הערוצים יש ללחוץ ובדוק את זמני החשיפה

יש לוודא בחלקו הימני של החלון שכל הפרמטרים מסומנים בניסוי –





כל פרמטר יופיע כסימון על הסגמנט בחלק הגרפי

ערוצי הצבע

Z

זמן יופיע כאורך הסגמנט

ובמקרה ויש נקודות עניין יופיע סימון

בחלק הגרפי ניתן לשנות אורך הניסוי ע"י משיכת גבול הסגמנט (קו לבן מקווקו כפי שמופיע בתמונה).

לאחר קביעת הניסוי ניתן להכפילו ע"י לחיצה על צלמית או להעלות ניסוי אחר מרשימת הניסויים. בין הניסויים ניתן לקבוע הפסקה ואת

Calculated Duration
25:18.000

משכה, בחר . משך הניסוי הכולל יצוין בחלון

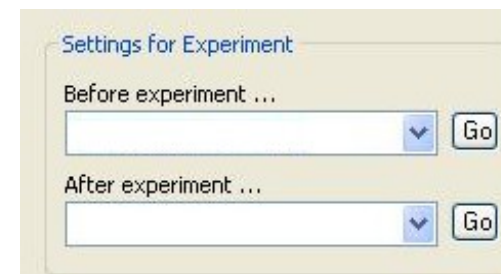
ניתן לשנות את הסדר של הסגמנטים ע"י בחירתם וגרירתם למקום הרצוי

ניתן לקבוע מספר חזרות של כל הניסוי

ניתן לראות תמונה בעת רכישה

Experiment

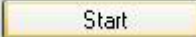
ישנה אפשרות לקבוע את מצבי החומרה לפני תחילת הסגמנט בלשונית





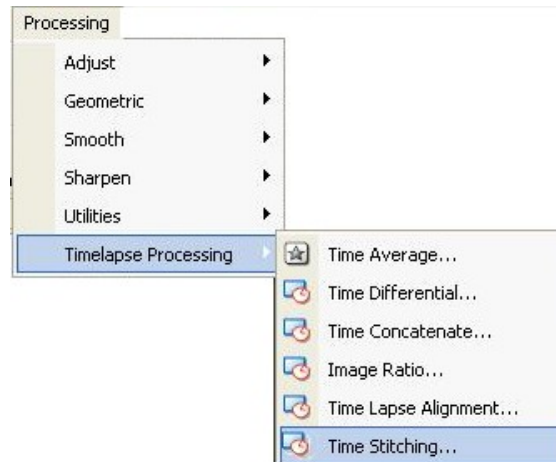
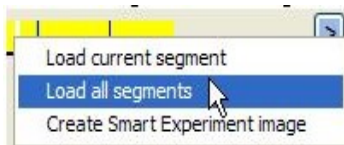
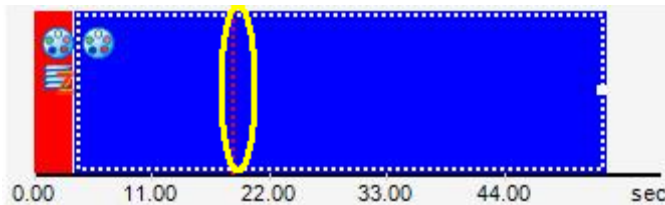
ניתן לבקש separate images – יצור סרט לכל חזרה בנפרד לדוגמה במקרה של 3 ערוצים ו-5 חזרות ייצור סרט ZVI לכל חזרה 15 סרטים סה"כ

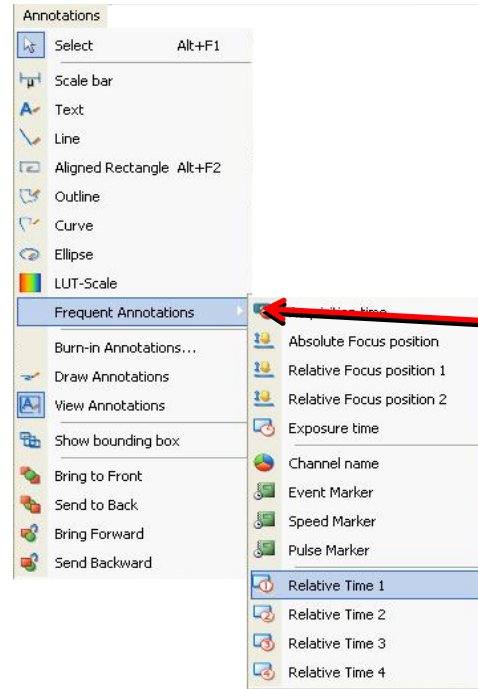
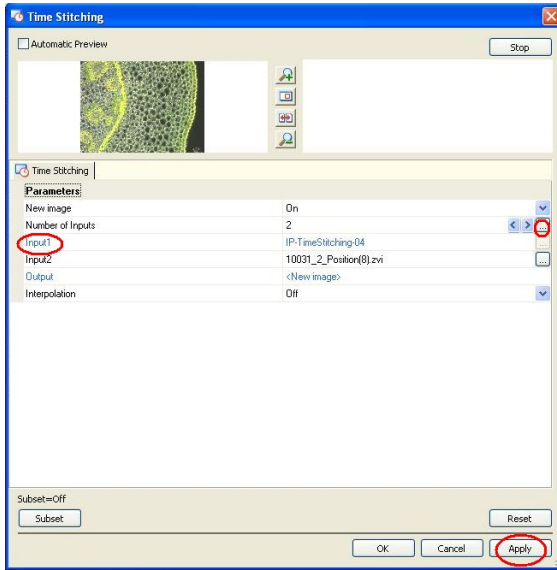
ניתן לקבוע שם ל – smart experiment ולשומרו כתבנית הניתנת לשימוש חוזר ע"י save

להתחלת הניסוי יש ללחוץ על צלמית 

בעת רכישת התמונות ניתן לראות את התקדמות הניסוי ע"י קו המתקדם על דיאגרמת הניסוי

בסוף הרכישה מתקבלים סרטי ZVI לכל סגמנט בניסוי וקובץ נוסף מסוג ZVHI המאפשר גישה לכל סרט על פי הסגמנט כולל תיזמון נכון של ההפסקות. לחיצה על סגמנט בעכבר ימין ניתן לבחור העלאת סרט לכל הסגמנטים או רק לנוכחי. לאחר העלאת הסגמנטים כסרטים בידיים לכל מיקום ניתן לאחותם לידי סרט אחד ע"י בחירה בסרגל הכלים ב-





יש לבחור בחלון שנפתח לכל מיקום את הסגמנטים השונים לפי
 סדר רכישתם כל סגמנט כ- input
 ולאשר ע"י לחיצה על
 - ניתן להוסיף לסרט תיאור זמן, ע"י בחירה בסרגל הכלים ב-
 annotations
 להיכנס ללשונית frequent annotations
 ולבחור relative time. יש לעמוד על נקודת הזמן הראשונה בעת
 הקביעה.
 הזמן יוכנס לקובץ ZVHI. בהעלאת תמונות ה- ZVI יופיע הזמן
 בצורה נכונה על פני כל הסגמנטים כולל חישוב ההפסקות



במידה והניסוי כלל נקודות עניין יופיע בקובץ ה- ZVHI סרגל נוסף
 במידה והיו נקודות עניין שונות בין הסגמנטים לא ייווצר קובץ ZVHI.
בסיום הניסוי יש לסגור את המערכת לפי הפרוטוקול הרשום לעיל.