Imaging and Microscopy Center Biomedical Core Facility



מרכז דימות ומיקרוסקופיה מרכז תשתיות ביורפואי

The Ruth & Bruce Rappaport Faculty of Medicine Technion-Israel Institute of Technology

הפקולטה לרפואה ע"ש רות וברוך רפפורט הטכניון - מכון טכנולוגי לישראל

2014-05-04 Instructions TL1 20140504.docx

Time lapse 1 הוראות למערכת



www.medicinelab.org.il **Tel.** 972 4-8295347/61 | **Fax.** 972 4-8295363 | **Email:** ediths@tx.technion.ac.il 1 Efron St., Bat-Galim, P.O.B 9649 Haifa 31096, Israel | 31096 חיפה 9649 א.

<u>חלקי המערכת</u>

- 1. מיקרוסקופ inverted בעל שולחן ממונע
 - 2. בקר מיקרוסקופ
 - 3. נורת מתלהליד X-Cite
 - 4. מסך מגע לשליטה במיקרוסקופ
 - 5. ג'ויסטיק
 - .6. BRICK מערבל גזים.
 - CUBE .7 בקר טמפ'
 - HUMIDIFIER .8
 - 9. אינקובטור חיצוני
 - 10. אינקובטור Mini-Chamber
- 11. בלוני גזים N₂, Air, CO₂ הממוקמים מחוץ לחדר 12. מחשב ומסכים

<u>מיקרוסקופ –</u>

- Zeiss- Observer Z1 inverted מיקרוסקופ
 - <u>תאורה –</u> -

הלוגן – Transmitted

Fluorescence- מנורת מתלהליד - X-Cite



<u>גלגל פילטרים</u>

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

<u>מסך מגע לשליטה על המיקרוסקופ –</u>

ניתן לשלוט על פעולות המיקרוסקופ הן מהתוכנה והן ממסך זה: החלפת פילטרים, פתיחת תריסי התאורה החלפת עדשות

הגלגלת המחוברת למסך משמשת לשינוי הפוקוס.





р. З

1. רכישת תמונה בדידה במספר ערוצי צילום באופן אוטומטי

<u>תחילת עבודה</u>

- 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





- הדלק מחשב + מסך (סיסמה 123456) -
- C בדוק מקום פנוי על ה- hard disk כונן -
- (C:\my documents\ users data\current movie: בדוק האם תיקיית Current movie בכונן C ריקה (שם נשמר הניסוי -
- העבר לעדשה 10X וודא כי השולחן ממורכז והכנס צלחת בתושבת הנכונה. וודא כי הצלחת יושבת יציב בתושב השולחן -

ב. תוכנה



(במקרה והתוכנה נכבית במהלך העבודה יש לחכות מספר שניות לפני הפעלתה מחדש).

۲

מבנה התוכנה –

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

File Annotations Measure Evaluate Archive Commander Tools Window Help Edit Microscope Acquisition Processing View

ומתחתיו נמצאות צלמיות אשר משמשות כקיצורים לפקודות להלן מספר דוגמאות:









Workarea

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 Extended Parameters חלון Smart Experiment נעוד.

> - הכנס ללשונית Microscope קבע עוצמת אור ל-∨3

Common	Reflected	Transmit	ted XYZ E	ktr
Transmit	ted Light Sh	utter		
*	Closed	🔵 Ope	en 👗	
-				
Transmit	ted Light Ha	logen Lam	p	
Manua	I/PC 3	200K	Standby	
Voltage	/ V: 0		12.2	
2.3	-	5	<u>•••</u>	
2.3)		

- Microscope	
🗄 🙆 Cameras	
- 🛞 Incubation	
Scalings	
😠 🍋 HDR	
😑 🀱 Multidimensio	nal Acquisition
Multidime	nsional Acquisition
Smart Exp	periments
A Image Proces	ising
Measure	
🗄 🔟 Evaluate	
LightPath Sideport L 0% Ocular 0%	100% Sideport R
baseport	
Objective	
10 20 2	
/ / / / /	

x

Workarea



Imaging and Microscopy Center Biomedical Core Facility The Ruth & Bruce Rappaport Faculty of Medicine Technion-Israel Institute of Technology

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





לחץ על live, לחץ על אחת המצלמות – HS/HRM ולחץ exposure בתחתית חלון ה-

adjust ,frame בדוק את הפרמטרים של המצלמה –בלשוניות

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

Adjust Frame	e Ger	neral	1	
AxioCamHR3	: Camei	ra M :GB	ode	
1388 × 104) stand	ard	mono	~
AxioCamHR3	: Reado	out s	speed	
High Quality	y (12.5	MHz	:)	~
Framestart	0	1	0	Center
Framesize:	1384	×	1040	Full
Memory use	d:			2.75 MB









Imaging and Microscopy Center Biomedical Core Facility The Ruth & Bruce Rappaport Faculty of Medicine Tachaina Irad Institute of Tachanlowy

Technion-Israel Institute of Technology www.medicinelab.org.il

🕲 C – עבור ללשונית הגדרת ערוצי רכישת התמונות

לפתיחת הערוצים יש לבחור בערוץ פעיל וללחוץ 🔄 Extended parameters

הגדר זמן חשיפה לכל ערוץ





לקביעת חתכים ב- Z עבור ללשונית 🕎

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 לרכישת תמונה לחץ Start

# Slices:	3 🛟	
Slice distance:	1.000	μm
	Optimal (distance
Mode:	Center OS	Start/Stop
	Center () 9	itart/Stop
Center	Center () 9 1,000 0,000	itart/Stop μm μm
	Center 05 1,000 0.000 -1,000	start/Stop μm μm μm

Z-Stack



<u>גיבוי נתונים:</u>

disk on key-אין להשתמש ב

העבר את קבציך מתיקיית

לאחר שמירת הקבצים יש לגבותם אל שרת היחידה באופן הבא:





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.



<u>סגירת המערכת</u>

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



2. תוכנה:עיצוב, מדידות, אנליזה

פתח מגלריית הסרטים סרטים שונים – <u>Splitter</u>

-לחץ על צלמית ^{בחר סרטים} לחץ על אמית ניתן ליצור תמונה מחלון זה בה יוצגו הסרטים שנבחרו בו זמנית



Annotations הוספת כיתוב חופשי, זמן, הוספת scale bar ומדידות גאומטריות



עיבוד תמונה

ניתן להגדיר עקומת LUT ולשנות ניגודיות ובהירות של התמונה. ניתן לשמור את קובץ השינויים וליישמו על עוד תמונות

Imaging and Microscopy Center **Biomedical Core Facility** The Ruth & Bruce Rappaport Faculty of Medicine Technion-Israel Institute of Technology Biomedical Core Facility www.medicinelab.org.il



המרת קבצים:

בסרגל הכלים כנס ללשונית 📲 ובחר ב בחלון שנפתח 🞾 Export יש לברור בין מספר אפשרויות:

מיקום השמירה, אלו ערוצים יעברו המרה אלו תמונות תתקבלנה (תמונת 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 יש לסמן את הקבצים להמרה על ידי לחיצה על 📒 Batch >> צלמית Add files... צלמית Add files... Run batch הקבצים 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- HUMIDIFIERבמקרה וחסרים מים נא לבקש מהצוות להוסיף מים



ד. פתח את ה- BRICK

לאחר כמה דקות בדוק ערכים – CO₂ , O₂ , flow ,humidity הערך בשורה התחתונה הנו הערך שהוגדר למערכת, שורה עליונה המצב העכשווי.











<u>תחילת עבודה</u>

- 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





- הדלק מחשב + מסך (סיסמה 123456)

Axiovision 4.8 לחץ על צלמית תוכנת

C בדוק מקום פנוי על ה- hard disk - בדוק מקום פנוי על ה



- 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. <u>וודא כי הצלחת יושבת יציב בתושב השולחן.</u>

ד. תוכנה



(במקרה והתוכנה נכבית במהלך העבודה יש לחכות מספר שניות לפני הפעלתה מחדש).

Phase open TLclosed DIC

מבנה התוכנה –

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

File Edit View Microscope Acquisition Processing Annotations Measure Evaluate Archive Commander Tools Window Help

ומתחתיו נמצאות צלמיות אשר משמשות כקיצורים לפקודות להלן מספר דוגמאות:

<u>צלמיות הארה</u> -	8 RLclosed	e CY5	e Rhodamin	GFP	DAPI	
<u>צלמיות נתיב הארו</u>	<u>- 7</u>			amHR	Axioca	Gculars
- צלמיות צילום			Snap	Live		



- 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.

<u>התחלת ניסוי -</u>

- הכנס ללשונית Microscope -

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

Transmit	ted Light Sh	utter	1
	Closed		ר 🖈
			- -
Transmit	ted Light Ha	ilogen Lamp	
Transmit Manua	ited Light Ha	ilogen Lamp 200K	itandby
Transmit Manua Voltage	ited Light Ha al/PC 3 / V: 0	ilogen Lamp 200K S	itandby





Imaging and Microscopy Center
 Biomedical Core Facility
 The Ruth & Bruce Rappaport Faculty of Medicine
 Technion-Israel Institute of Technology
 www.medicinelab.org.il

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







Adjust Frame General AxioCamHR3: Camera Mode ● B/W RGB 1388 × 1040 standard mono ~ AxioCamHR3: Readout Speed High Quality (12.5 MHz) ~ AxioCamHR3: Frame Refresh Overview Framestart 0 10 Center Full × 1040 Framesize: 1384 Memory used: 2.75 MB

binning , full frame – בדוק את הפרמטרים של המצלמה

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

הכנס ל-Options	Tools	ל הכלים בחו	בסרג
ירה האוטומטית	ואשר שמ	Acquisition	בחר
ובחר Constant Update	Display	ללשונית	עבור





Multidimensional Acquisition ושוב Multidimensional Acquisition

😹 Experiment - בלשונית

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

ocation	Name	Channels	ZStac
User	Anat Ahron huvec matrigel	1: Phase	1.
User	Anat Ahron phase Rhodamin FITC	2: Phase Rhodamine	(())
User	Anat fixation all channels	5: Phase cy5 Rhodamine GFP Dapi	(1 111))
User	BF,Phase,DIC	3: BF Phase DIC	02223
User	camera test 5109 phase-gfp	3: Phase Cy5 Channel3	2 <u></u> 2
User	Debbie phase GFP	2: Phase GFP	
User	Edith DIC rhodamin gfp	3: DIC x20 Rhodamine Channel3	07770
User	Edith HS	1: Phase	
User	Edith phase rhodamin gfp	3: Phase Channel3 Channel3	8. 6
User	Elad Peer phase gfp x20-04	3: Phase Channel3 Channel3	()
User	ella Ph -m cherry -gfp	2: Phase GFP	(.)
User	Eyal Bengal phase ×10	1: Phase	822273
Hoor	Eval bendal v20 obace afo	2: Dhace Dhodamine	







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.





Imaging and Microscopy Center
 Biomedical Core Facility
 The Ruth & Bruce Rappaport Faculty of Medicine
 Technion-Israel Institute of Technology
 www.medicinelab.org.il

- הי
לו
בי
בס
בל ל <i>ו</i>
ע -
לכ
לו
יע ח 24

האם המערכת תבצע autofocus או התמונה

תירכש רק מגובה ה – Z אותו קבענו

עבור **ללשונית ד** -

הגדר אינטרוול ומשך הניסוי .שים לב ליחידת הזמן.



# Slices:	3 🝣	
Slice distance:	1.000	μm
(Optimal	distance
Mode: 🧿	Center OS	5tart/Stop
Mode: 🧿	Center 09	5tart/Stop
Mode:	Center OS 1,000 0.000	5tart/Stop µm µm
Mode:	Center 0 9 1,000 0,000 -1,000	Start/Stop µm µm µm



לקביעת חתכים ב- Z עבור ללשונית 🗾

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 🗮 🐣 כל הממדים שבחרנו מסומנים, פריט שאינו מסומן לא יבוצע בניסוי
 - להפעלת הניסוי לחץ Start מומלץ לחכות ולראות את 2 נקודות הזמן הראשונות.
 - avi בסיום הניסוי לכל נקודה ייווצר סרט, מסוג zvi אותו ניתן לשמור או לייצא לתצורת -

ה. סיום עבודה

- גיבוי נתונים:
- disk on key-אין להשתמש -

העבר את קבציך מתיקיית

לאחר שמירת הקבצים יש לגבותם אל שרת היחידה באופן הבא:



Enable על שולחן העבודה לחץ על - על שולחן העבודה לחץ על -





- Current Movie
- נוס Time-lapse 1 on Backu... 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

- כוון הגדלת המיקרוסקופ ל 10x
- 10. מרכז שולחן העבודה ביחס לעדשה
 - 11.הוצא צלחת תאים
 - Axiovision צא מתוכנת.
 - 13. כיבוי מחשב + מסך
 - 14. כיבוי בקר מיקרוסקופ.
 - 15. כיבוי מנורת מתלהליד
 - Brick כיבוי.16
 - .17 סגירת ברזיי גזים
 - 18. סגירת תאורת חדר
- (the cube) 'חשוב: נא לא לכבות את בקר הטמפ



High speed עם מצלמת HS. ניסוי 4

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

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

- בחר Multidimensional Acquisition בחר Multidimensional Acquisition
 - בלשונית Experiment
 - קבע image name בדרך כלל שם ניסוי, נסיין ותאריך

Oren phase exp פתח קובץ - load - בחר מהרשימה את

ocation	Name	Channels	ZStack
User	Liat HS phase	1: Channel1	
User	Liat phase DiI	1: Phase	
User	Liat phase DiO	2: Phase DiO	1000
User	Liat phase rhodamin	2: Phase Rhodamine	<u>112</u>
User	Marina DY phase gfp x20	2: Phase Channel3	022
User	Moriya	3: Phase Rhodamine GFP	
User	Moshe Novocure X20 phase PI Annexin GFP DHR	7: Phase GFP PI DraQ5 Dihydrorhodamine123 R	
User	Ofra phase rhodamin	2: Phase Rhodamin	
User	Oren Feldman labeled myozyme cy3	2: Phase Rhodamine	
User	Oren phase	1: Phase	
User	Shadi 040310	3: Phase mCherry GFP	5 / 2.50
User	Shadi 040610	3: GFP mCherry Phase	5/2.13
Hear	Shadi 220410	3: Dhace mCherry CED	5/250
			>



🚊 🝈 Cameras

Options

2

0

5-1

Experiment Name:

Load 💙

Image name:

110712 ub-r-GFP Vicky
Show preview at Start

→ Incubation → Wei Scalings ⊕ C HDR

AxioCamHR3

🚊 😹 Multidimensional Acquisition

Mart Experiments

Z-Stack

Time lapse

Positionlist

MosaiX

😹 Multidimensional Acquisition

🐱 Experiment 🞲 C 📴 Z 🔀 T 📼 XY

Multichannel -C 1 Channel

-Z 3/1.000 µm

-T 1/1.000 sec

-XY 11 Positions

ReUse 💙

Preview

-M ----

Save 😽

~

עבור ללשונית– 🗅 🚱

לפתיחת הערוצים יש לעמוד על ערוץ פעיל וללחוץ 🔤 Extended parameters



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







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
- 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

Common Reflected Transmitted XYZ Extra

3200K

Open

.

Standby

12.2

Transmitted Light Shutter

Closed

Manual/PC

Voltage / V:

2.3

Transmitted Light Halogen Lamp

n

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
 - constant update עבור ללשונית ^{Display} ובחר -
- הכנס להגדרות המצלמה והגדל את גודל השדה ובטל binning במידה ונבחר
 - לחץ OK -
 - כבה את המערכת על פי פרוטוקול סגירת המערכת שלעיל





Smart Experiment 'U

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 עיקרים – אזור העלאת הניסוי עם תיאור גרפי של הניסוי ואזור הגדרת הניסוי

> על צלמית <mark>▼ Add Experiment |</mark> 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 🖾 Extended parameters 🖬 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 🛄



או להעלות ניסוי אחר מרשימת הניסויים. בין הניסויים ניתן לקבוע הפסקה ואת

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

Calculated Duration

25:18.000

לאחר קביעת הניסוי ניתן להכפילו ע"י לחיצה על צלמית Duplicate

משכה, בחר Pause . 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

ישנה אפשרות לקבוע את מצבי החומרה לפני תחילת הסגמנט בלשונית Experiment

Derore experiment		-
	*	G
After everyiment		
Arter experiment.		_

Core Facility Www.medicinelab.org.il



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

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

להתחלת הניסוי יש ללחוץ על צלמית 🔰 Start

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

בסוף הרכישה מתקבלים סרטי ZVII 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 בדידים לכל מיקום

ניתן לאחותם לידי סרט אחד ע"י בחירה בסרגל הכלים ב-

Repeat	1	-	Times	
Show F	review al	t Start		
Separa	te Images			
Vame:				
×				
Load 💌	Save	•	ReUse	0
esult Prefix				
1				









P	Annotations	
	Select Alt+F1	
Dn V 2 C V [PT-moStaching-04 C 1030]_2_Polition(8],svi <th>Scale bar A Text Line Aligned Rectangle Alt+F2 Outline Curve Ellipse LUT-Scale</th> <th>יש לבחור בחלון שנפתח לכל מיקום את הסגמנטים השונים לפי סדר רכישתם כל סגמנט כ- input ולאשר ע"י לחיצה על <u>א</u>פור - ניתן להוסיף לסרט תיאור זמן, ע"י בחירה בסרגל הכלים ב- annotations</th>	Scale bar A Text Line Aligned Rectangle Alt+F2 Outline Curve Ellipse LUT-Scale	יש לבחור בחלון שנפתח לכל מיקום את הסגמנטים השונים לפי סדר רכישתם כל סגמנט כ- input ולאשר ע"י לחיצה על <u>א</u> פור - ניתן להוסיף לסרט תיאור זמן, ע"י בחירה בסרגל הכלים ב- annotations
Resot OK Cancel (Apply)	Frequent Annotations Image: Annotations Burn-in Annotations Image: Annotations Draw Annotations Image: Annotations View Annotations Image: Annotations Show bounding box Image: Annotations Bring to Front Image: Annotations Send to Back Image: Annotations Bring Forward Image: Annotations Send Backward Image: Annotations Relative Time Image: Annotations Relative Time	frequent annotations להיכנס ללשונית frequent annotations ולבחור relative time. יש לעמוד על נקודת הזמן הראשונה בעת relative time ולבחור הקביעה. הקביעה. גימן יוכנס לקובץ ZVII. בהעלאת תמונות ה ZVHI יופיע הזמן בצורה נכונה על פני כל הסגמנטים כולל חישוב ההפסקות





Relative Time 4



Stop

Time Stitching Automatic Preview

🐻 Time Stitching Parameters New image

Number of Inputs

Input1 Input2

Output

Interpolation

Subset=Off Subset