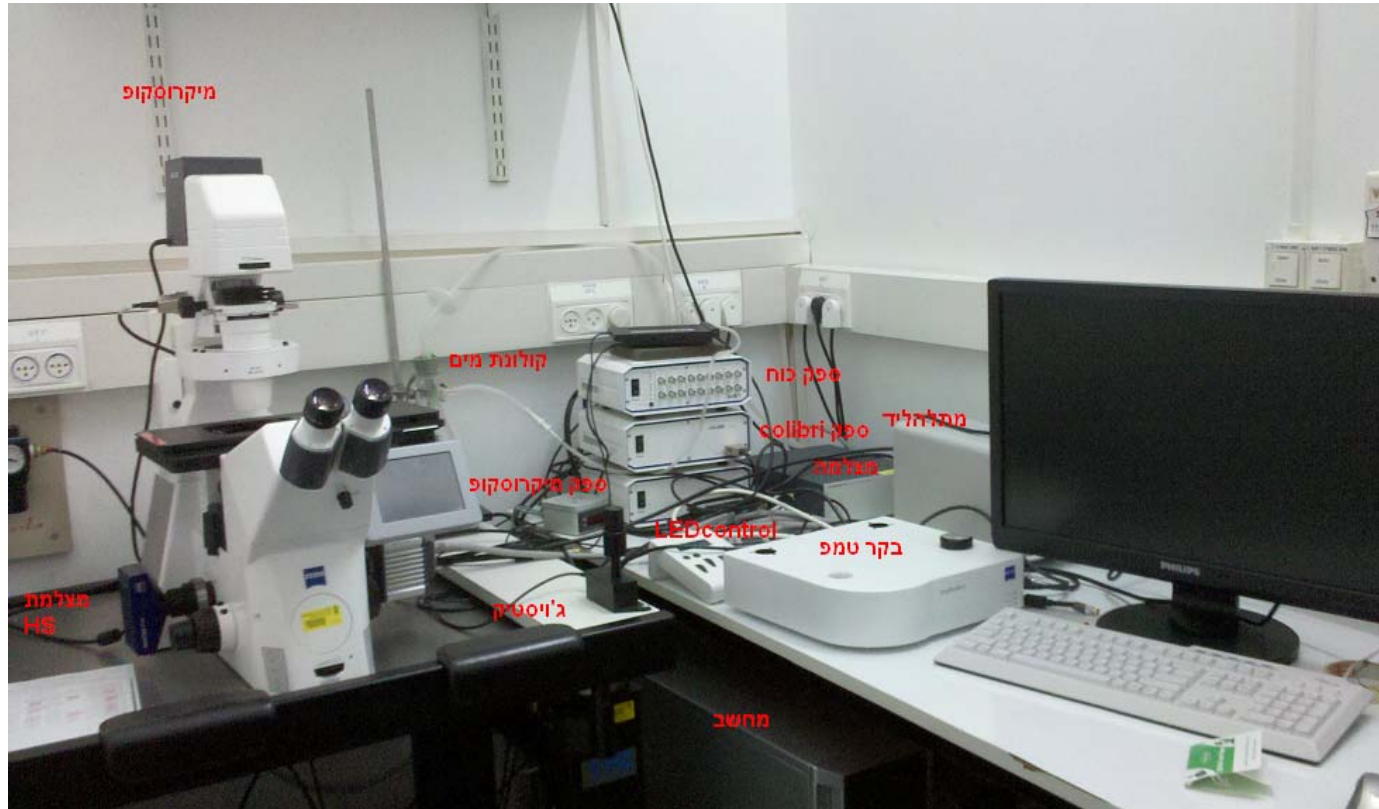


2016-02-09

INSTRUCTIONS TL2 ZEN 2016-02-09.DOCX

**הוראות למערכת Time lapse 2**



## חלקי המערכת

1. מיקרוסקופ inverted בעל שולחן ממונע
2. ספק כוח SVB1
3. ספק כוח COLIBRI
4. בקר מיקרוסקופ
5. נורת מתלהליד x-cite
6. COLIBRI
7. COLIBRI control panel
8. מסך מגע לשליטה במיקרוסקופ
9. ג'ויסטיק
10. מצלמה Hamamatsu (Orca CCD)
11. מצלמה High speed
12. מצלמת MRC5
13. קולונת מים
14. אינקובאטור – Temp module S
15. בלון גז – תערובת אוויר ו CO2
16. מחשב ומסך

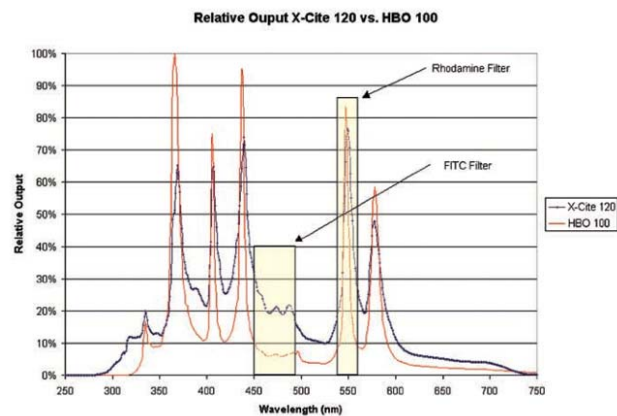
## מיקרוסקופ –

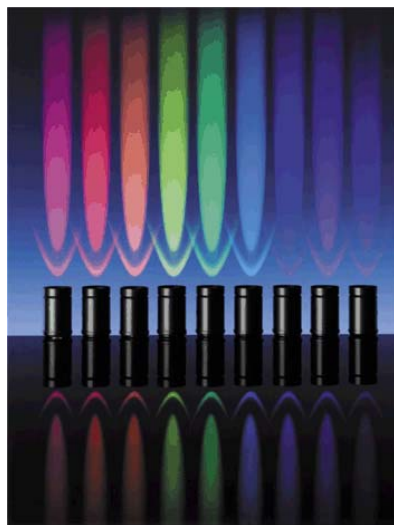
מיקרוסקופ Zeiss- Observer Z1 – inverted

## – תאורה –

Transmitted – הלוגן

LED COLIBRI -Reflected- מנורת מתלהליד - X-cite ומערכת נורות





### אורכי גל נורות ה LED

- 365 nm -
- 455 nm -
- 470 nm -
- 505 nm -
- 530 nm -
- 590 nm -
- 625 nm -

### גלגל פילטרים

צבענים	beamsplitter	Emission	excitation	שם הפילטר
DAPI, Hoechst	FT 395	BP 445/50	G 365	<b>Set 49</b>
Cy2, eGFP, Alexa 488	FT 455	BP 535/30	BP 436/20	<b>Set 48</b>
Dual mCherry- GFP	DFT 460+520	DBP 480/22+LP530	BP 445/25	<b>Set 59HE</b>
Dual YFP-CFP	DFT 495+605	DBP 527+647	BP 474/28 BP 585/35	<b>Set 61HE</b>
eGFP ,FITC	T495lpxr	ET525/50m	ET470/40x	<b>ET – EGFP (FITC/Cy2) 49002</b>
TRITC,Cy3	T570 LP	ET 620/20m	ET 545/30	<b>NC296538 ET DsRed</b>
Cy5, DRAQ5	T660LP XR	ET700/75m	ET620/60x	<b>NC296644 ET Cy5</b>



בשל תצורת המראות במערכת הקוליברי לא ניתן לשלב בין כל נורות הליד בו זמנית אלא רק בצירופים מסוימים:

Position 1	Position2	Position3	Position4
365 nm	445 nm or 470 nm	505 nm or 530 nm	590 nm or 625 nm
365 nm	445 nm or 470 nm	empty	505 nm or 530 nm
empty	365 nm	505 nm or 530 nm	590 nm or 625 nm

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.

## עדשות המיקרוסקופ

N.A	מרחק עבודה (mm)	עדשה		
0.16	18.5	EC Plan Neofluar	5x/0.16	Ph1
0.3	5.2	EC Plan Neofluar	10x/0.3	Ph1
0.8	0.55	Plan Apochromat	20x/0.8	DICII
0.75	0.71	EC Plan Neofluar	40x/0.75	DICII
1.4	0.19	Plan Apochromat	63x/1.4 oil	Ph3
1.3	0.2	EC Plan Neofluar	100x/1.3 oil	

## תחילת עבודה

### עבור ניסוי תאים חיים הדלק את חילקי האינקובטור כשעה לפני הניסוי

### פלטת החימום מתאימה לצלחות 35mm בלבד



א. בדוק את רמת הגז בבלון התערובת – אין לעבוד מתחת ל - 30-50bar בבלון. במידת הצורך יש לדאוג להחלפת בלון בעזרת אנשי הצוות בלבד.

ב. יש לפתוח את הברז הראשי בלבד, נא לא לגעת בווסת

ג. יש לוודא את כמות המים בקולונת ה- HUMIDIFIER

במקרה וחסרים מים נא לבקש מהצוות להוסיף מים



ד. הדלק את האינקובאטור – Temp module S  
ה. העבר לעדשה 10X וודא כי השולחן ממורכז והכנס את הצלחת לתושבת הנכונה. וודא כי הצלחת יושבת יציב בתושב השולחן.

### א. הפעלה

וודא שמפסק ההשהיה הנמצא בקיר נמצא במצב עבודה אם לא הפעל.

אם ברצונך להשתמש בנורת המתלהיד כמקור אור פלורוסנטי יש להדליק את ספק מנורת ה- HXP וודא את עוצמת הארה בגלגלת (נא לא לכבותה במהלך החצי שעה הראשונה, נא להדליקה ראשונה ולכבותה אחרונה)

הדלק מחשב + מסך (סיסמה 123456)

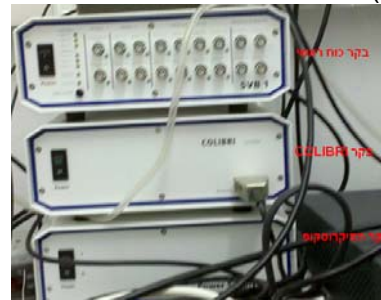
הדלק את בקר הכוח הראשי- קופסת ה- SVB1

הדלק את בקר ה- colibri

הדלק את קופסת בקר המיקרוסקופ power supply -

הדלק כפתור המיקרוסקופ OFF/ON הממוקם בצדו השמאלי התחתון של המיקרוסקופ.

אם ברצונך לצלם תכשיר פלורוסנטי הדלק את בקר המצלמה – Hamamatsu הנורה תתחלף מכתום לירוק



במערכת קיימות שתי מצלמות נוספות HS, MRc5, אותן אין צורך להדליק המחוברת למחשב בכבל firewire ניתן לברור בין המצלמות ע"י הכנסה/הוצאה של בורר המצלמה



### השמת תכשיר:

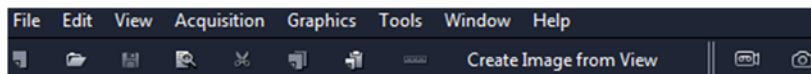
לפני הכנסת התכשיר עבור להגדלה הקטנה ומרכז את השולחן ביחס לעדשה. הכנס את התושבת המתאימה לתכשיר. שים תכשיר, העבר את מערך האור לעיניות באמצעות לוח המגע (Light path>eye) בחר עדשה בחר את סוג הארה המתאים ( במידה ואתה משתמש בתאורת Bright field כוון תאורת הלוגן- תאורת קולהר). מצא פוקוס. בדוק האם ה – Optovar נמצא בנתיב הארה. העבר את נתיב האור אל המצלמה בה תשתמש.

### **ב. תוכנה**

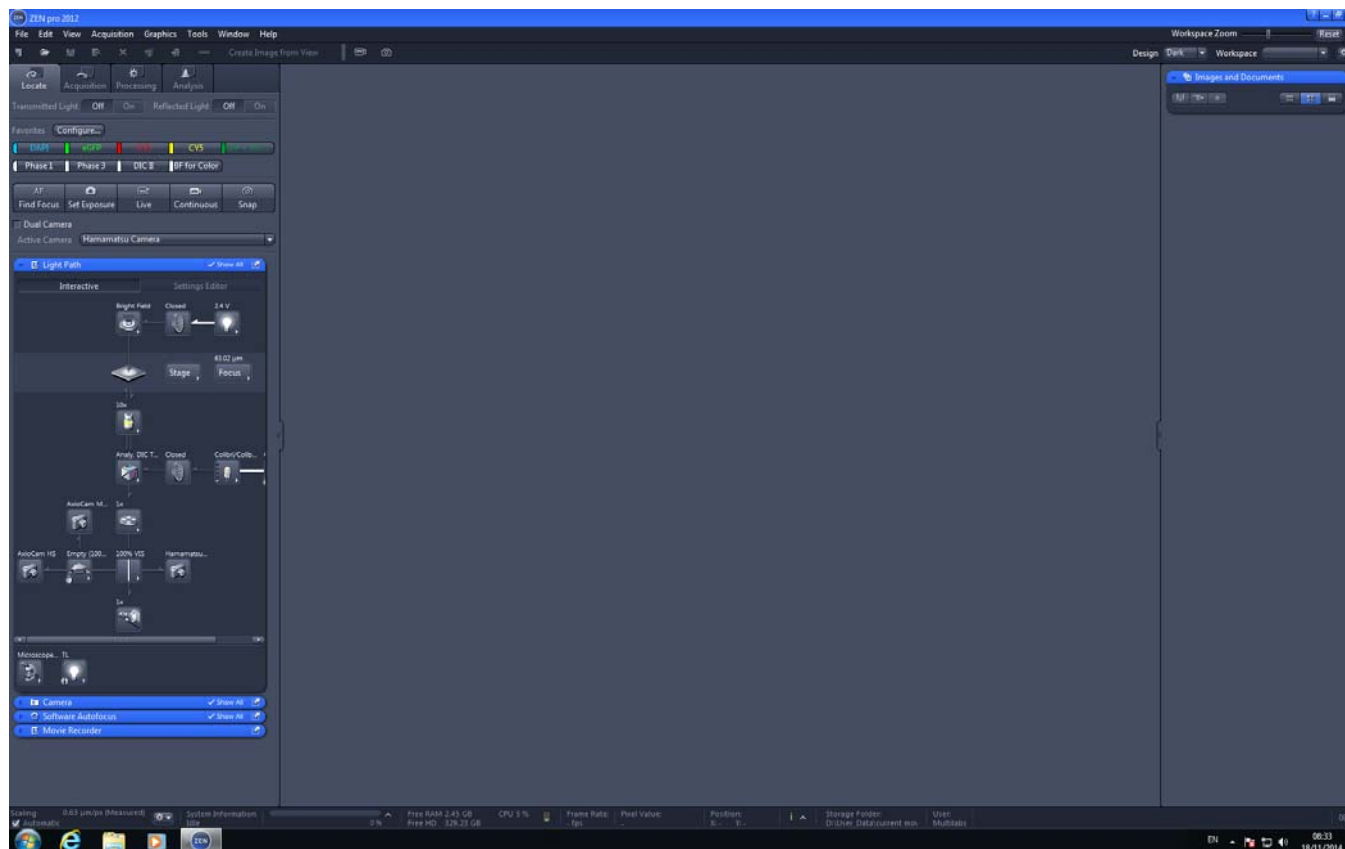
להפעלת התוכנה יש להזין את פרטי המשתמש בחלון תוכנת Bookitlab וללחוץ על **Activated Service**. תוכנת ZEN תעלה באופן עצמאי (במקרה והתוכנה כבה במהלך העבודה יש לחכות מספר שניות לפני הפעלתה מחדש).



מבנה התוכנה –




בחלקה העליון ניתן למצוא סרגל כלים אשר מכיל פקודות התוכנה העיקריות.

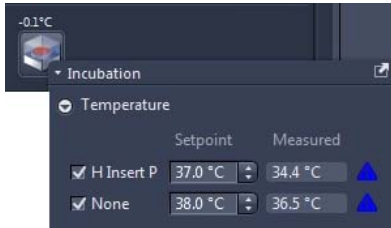


אזור שמאלי – בקרה.  
אזור מרכזי – התמונה  
החלק ימני – ניהול הקבצים  
ניתן לשנות את גודלם של החלונות ע"י הזזת מחוון  
ה- workspace zoom.




### אינקובטור לתאים חיים

במידה ומעוניינים להשתמש באינקובטור Temp module S ניתן להגדיר את הטמפ' של התושבת והחלק העליון דרך צג המגע, או בתוכנה במרחב העבודה  <בחלון Light Path – וודא שטמפ' של החלק העליון גדולה במעלה מהטמפ' של התושבת בכדי למנוע התעבות על הזכוכית.



### צילום בערוץ צבע אחד

במרחב העבודה  בחר את המצלמה שברצונך לצלם עמה.



בחלון  Camera עבור על הפרמטרים של המצלמה וודא:

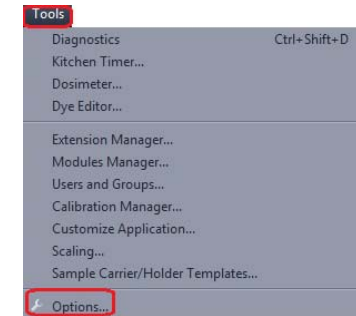
- עבודה במצב full frame רכישה ב binning 1X1
- רכישה במצב slow mode (למעט בשימוש במצלמת HS ליצירת צילום מהיר) ומספר ה-bit .
- במידה והצילום מתבצע במצלמת Hamamatsu בערוץ אינפרה רד יש לבחור את אפשרות NIR mode.
- בצילום במצלמה הצבעונית MRc5 יש לבצע White Balance. אופן הביצוע יפורט בהמשך.

### מצלמת HS

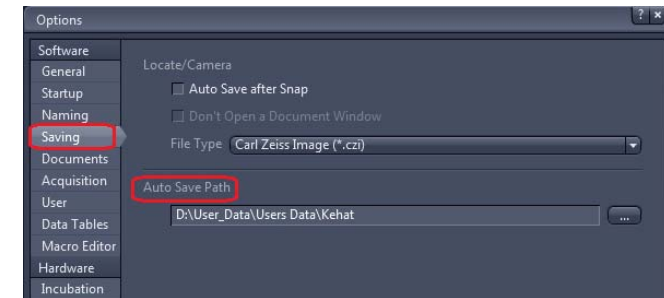
### מצלמת MRc5

### מצלמת Hamamatsu

בחלון Tools בחר Options.



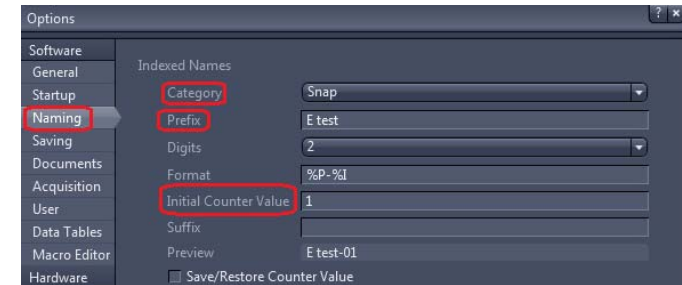
וודא מיקום שמירה בחלון saving. יש לשמור ב- D:\User\_Data\User Data\ Lab\Month\User

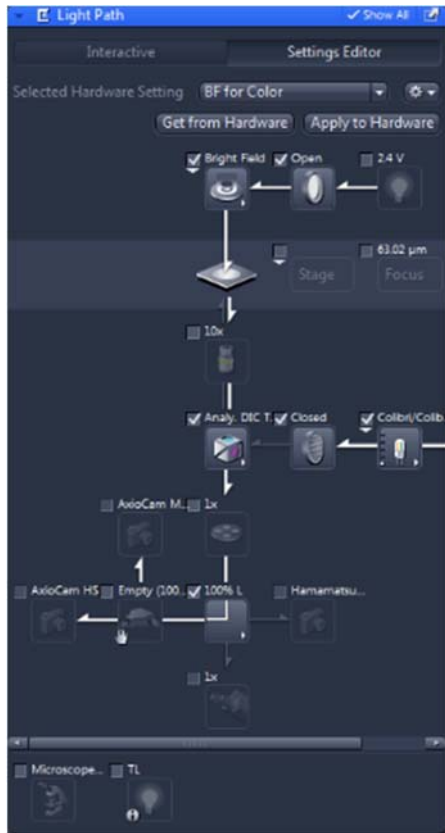


קבע שם לקובץ בחלון Naming – בחר:

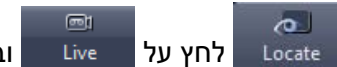
- Category>Snap
- Prefix> slide name

Initial Counter Value>1 -





בחר אחת מצלמיות האור



במרחב העבודה לחץ על

במידה ומעוניינים לשנות את מערך האור לא ע"פ הצלמיות, ניתן לשנות דרך צג המגע או לערוך שינויים מתאימים בחלון Light Path

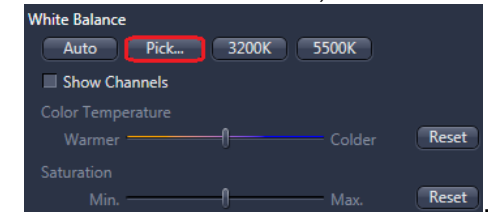
פקס את הדוגמה וקבע זמן חשיפה אופטימלי בחלון Camera -



ניתן לשלול מצב רוויה ע"י מעבר לתצוגת Range Indicator בה פיקסלים רוויים נצבעים באדום- יש לבחור את האפשרות בחלון התמונה בחלון Dimensions מתחת לתמונה

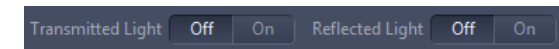


במקרה של צילום במצלמה הצבעונית יש לבצע White balance יש לבחור באפשרות ה- picker ולגעת באמצעותו באזור ללא דוגמה בתמונה, אשר תשמש כאזור עליו יתבצע חישוב האלגוריתם.



לצילום לחץ על צלמית

שים לב בתצורת עבודה זו בסיום הצילום תריסי התאורה אינם נסגרים והאור נשאר דולק יש לסגור באופן ידני או דרך התוכנה בעזרת הצלמית

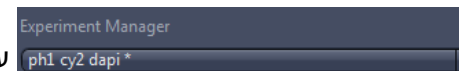


הקובץ שנוצר הוא בפורמט CZI

## צילום רב ערוצי



בחר במרחב העבודה



בחר תוכנית עבודה בחלון ע"פ המצלמה והעדשה בה תצלם.

במידה וצילמת במערכת תמונות בעבר וברצונך לחזור לאותה תוכנית עבודה ותנאים- פתח תמונה ולחץ על צלמית **Reuse** בחלון Dimensions מתחת לתמונה.

בחלון **Acquisition Mode** וודא את הפרמטרים של המצלמה ( פירוט מלא למעלה)

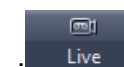
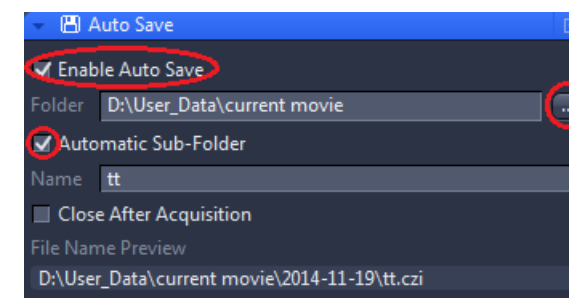
עבודה במצב full frame

רכישה ב 1X1 binning

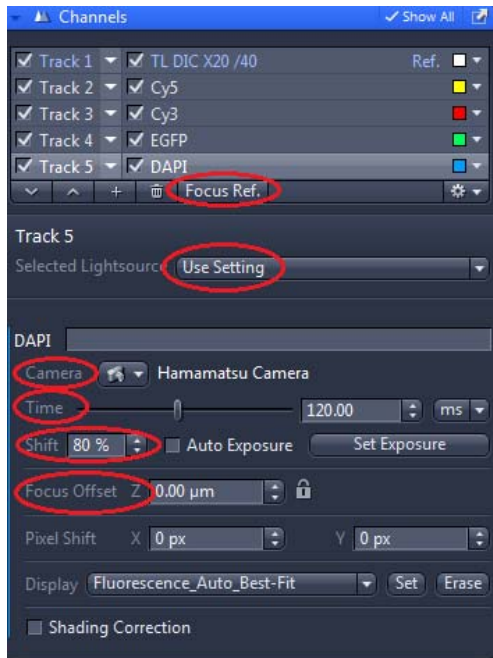
רכישה במצב slow mode (למעט בשימוש במצלמת HS ליצירת צילום מהיר) ומספר ה-bit .

במידה והצילום מתבצע במצלמת Hamamatsu בערוץ אינפרה רד יש לבחור את אפשרות NIR mode.

בחלון **Auto Save** וודא שמירה אוטומטית יש לשמור ב- D:\User\_Data\User Data\ Lab\Month\User



לחץ על צלמית

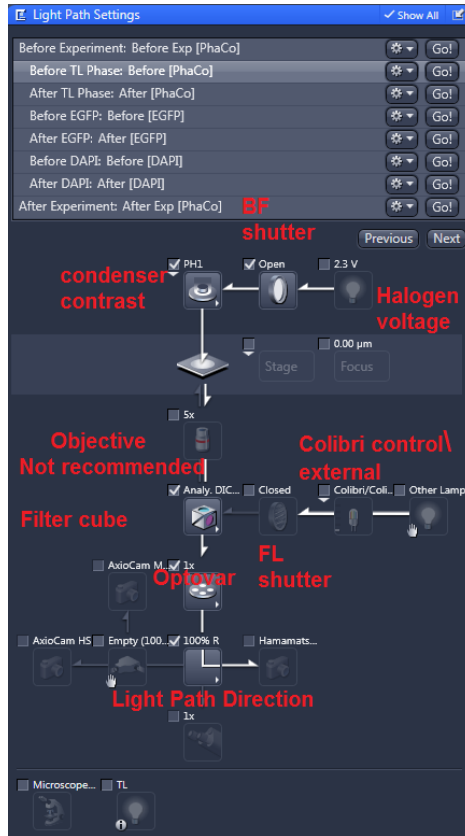



בחלון Channels עבור בין הערוצים השונים וודא זמן חשיפה פקס את הדוגמה .  
בחלון זה ניתן לקבוע פרמטרים נוספים:

- קביעת ערוץ עליו תבצע אסטרגיית פוקוס שתיבחר. יש לעמוד על הערוץ המבוקש וללחוץ Focus Ref.
- ניתן לקבוע offset לכל ערוץ כאשר הערוץ הראשי משמש כ- 0 ( חשוב לציין שפעולה זו תבצע רק במקרים בהם רוצים לצלם תמונה ייצוגית ולא למטרות אנליזה).
- וודא את הגדרת המצלמה בה תצלם.
- וודא שערך הפרמטר Shift – נמוך מ- 100% ( עם המלצה ל- 80%) כדי למנוע רוויה מידית של המצלמה.
- וודא שכל ערוץ בפרמטר Selected Light source -באפשרות Use Setting -במצב עבודה זה על כל ערוץ יוכל מערך האור שנקבע בחלון Light Path Settings בו ניתן שנות כל אחד מרכבי האור ולקבוע אילו רכיבים במערך האור ישתנו בכל אחד מהשלבים. להלן פירוט האפשרויות בחלון זה-

מהאפשרויות הבאות New /

הקובץ שנוצר בפורמט .CZI.



- ניתן ליצור ערוץ צבע חדש ע"י לחיצה על צלמית  בחלון Channels בחר באחת Duplicate (שנה את מרכיבי האור על פי ההתאמה לערוץ האור שברצונך ליצור)





ביווט בתמונה ואפשרויות תצוגה ועריכה.

את האפשרויות ניתן גם למצוא בפתיחת הקבצים בתוכנת ZEN LE.

פריסת התמונה –

צלמיות משמאל לתמונה

2D – תמונת merge

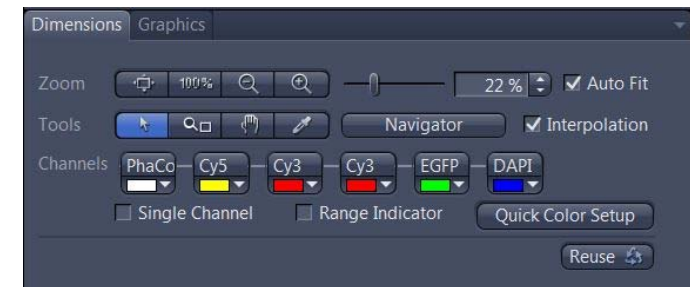
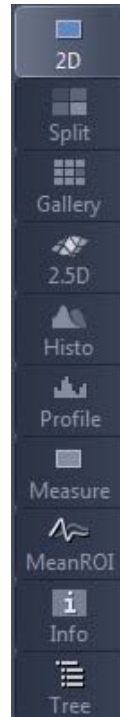
Split - פיצול לערוצים השונים,

Gallery – במצבים בהם נרכש ממד (t, z) נוסף ניתן לפצל

Histo, Profile, Measure, Mean ROI – קבלת נתונים מספריים של מדידות ו- Intensity.

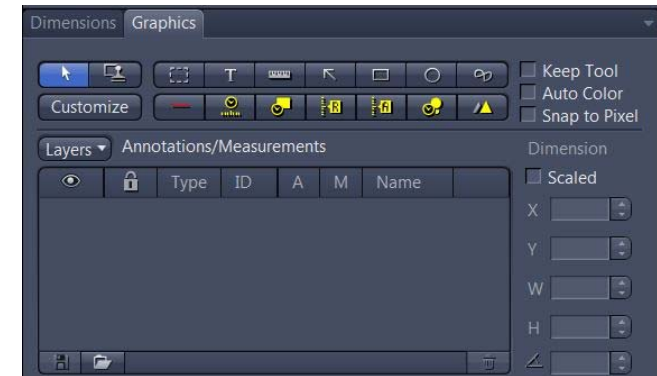
צלמיות מתחת לתמונה-

Dimensions - Zoom in\ out, color on\ off



– Graphics  
בחלון זה ניתן להוסיף :

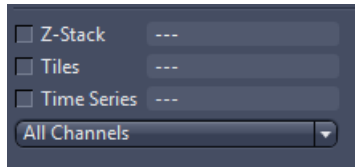
Scale Bar, Annotations, Shapes, Relative Time, etc.



– Display

בחלון זה ניתן לבצע שינויים בטבלת ה-LUT של הערוצים –  
Contrast & Brightness enhancement

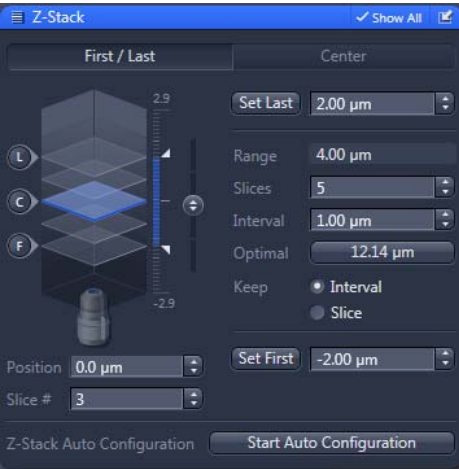


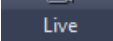
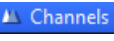


## צילום רב ממדים -

לצילום רב ממדי יש לסמן את האפשרות הרצויה המאפשר הוספת חלון עבודה-

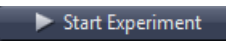
## - Z-Stack



לחץ על צלמית  לחץ על אחד מערוצי הצבע בחלון Channels , פקס את הדוגמה

כאשר מעוניינים להגדיר צילום בציר Z לנקודה ללא תלות בממדים נוספים ניתן להגדיר את אופן ביצוע החתכים בשתי דרכי עיקריות-

- בלשונית First/Last-הגדר את הגבול העליון של הדוגמה לחץ Set First הגדר את הגבול התחתון של הרקמה ולחץ Set Last. קבע את האינטרוול בין החתכים, ניתן להשתמש באינטרוול האופטימלי המחושב ע"י התוכנה בהתאם לעדשה בה עובדים.
- בלשונית Center-ניתן להגדיר חתך אמצע ולהגדיר את כמות החתכים והאינטרוול

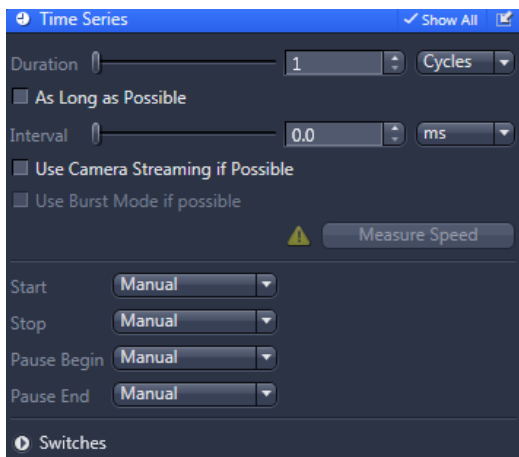
 לחץ לצילום

## - Time Series

לכל סוג של רכישת נתונים ניתן להוסיף את ממד הזמן- בחלון סמן את משך זמן הניסוי ואת האינטרוול הרצוי.

במקרה של ניסוי מהיר ניתן להשתמש במקום קביעת אינטרוול

במהירות העברת הנתונים המקסימלית של המצלמה-  Use Camera Streaming if Possible .



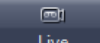
## - Tile & Positions



### האפשרויות קיימות בחלון Tile

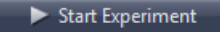
#### - Tile -


באפשרות זו ניתן לבחור עבודה ללא/עם הגדרה וכיול סוג הצלחת / תכשיר.

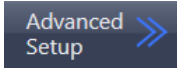
#### ללא הגדרה וכיול-

במצב עבודה  מרכז את האזור אותו ברצונך לצלם ופקס.

בחלון העבודה לחץ  והגדר את מספר השורות והטורים. (ניתן לצלם כמה שדות ע"י לחיצה חוזרת על ).

לצילום לחץ .


במעבר לבארית נוספת ואו תכשיר אחר מחק את נקודות הציון לפני רכישה נוספת. לחץ .

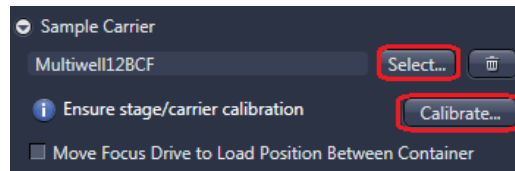
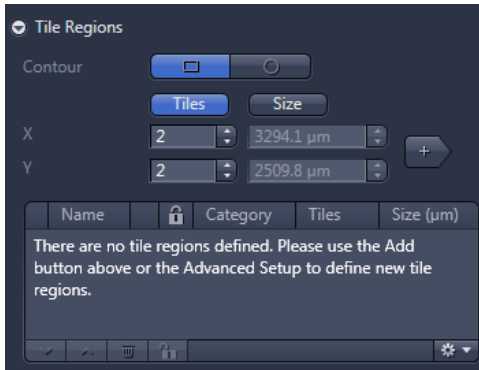
ניתן להגדיר את אזור הסריקה ולעבוד עם הגדרות מתקדמות דרך חלון  ללא כיול הצלחת על פי

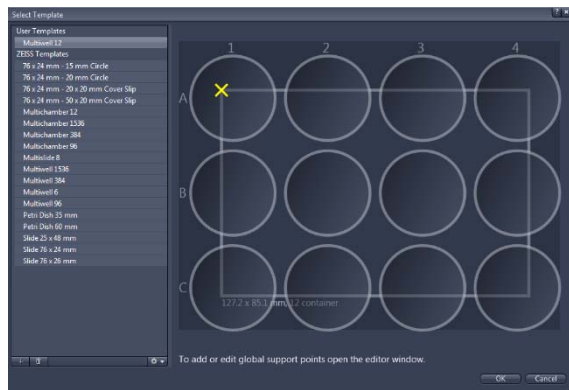
הרשום בחלק הבא.

#### הגדרת צלחת וכיול -

להגדרת סוג הצלחת – בלשונית Sample Carrier לחץ על צלמית Select.

בחלון בחר את סוג הצלחת או הגדר צלחת חדשה ע"י לחיצה על צלמית .





New Sample Carrier Template

Name: Slide

Category: Slide

Size

Width: 76.00 mm

Height: 24.00 mm

Container

Type: No Container

Columns: 0

Rows: 0

Width: 0.00 mm

Height: 0.00 mm

Distance X: 0.00 mm Center to Center

Distance Y: 0.00 mm Center to Center

Container Area

Centered in X

Centered in Y

Reference Point

Location Mode: Center

Position X: 38.00 mm

Position Y: 12.00 mm

Active Camera: Hamamatsu Camera

- AxioCam HS
- AxioCam MRc5
- Hamamatsu Camera

להגדרת צלחת חדשה יש למלא את ממדי הצלחת השונים עפ"י דרישות בחלון העבודה. בסיום הגדרת סוג הצלחת יש לבצע כיוול של שולחן המיקרוסקופ וגבולות הצלחת.

**דוגמה לכיוול Multiwell :**

לחץ בחלון Tiles>Sample Carrier על צלמית Calibrate... יש לוודא לפני תחילת הכיוול שבחלון



המצלמה הרצויה מסומנת

ונתיב האור מופנה אל המצלמה (ניתן לשנות את מערך האור מצג המגע במיקרוסקופ או בחלון Light Path בתוכנה).

**שלב הארה-**

בחלון כיוול הצלחת וודא נתיב הארה וקבלת תמונה ברורה ומפוקסת של הצלחת. בסיום ומעבר לשלב הבא לחץ Next.

Sample Carrier Calibration Wizard

1/6 Setup Illumination

Transmitted Light: Off On Reflected Light: Off On

Light Path  Show Full Light Path

Bright Field Open 2.0 V

Next

**שלב כיוול שולחן המיקרוסקופ -**

בחלון זה בחר באפשרות הכיוול האוטומטי - Calibrate

וודא שאין דבר המגביל את תנועת השולחן ואשר בהודעת ההתרעה את התחלת כיוול השולחן.

בסיום התהליך ומעבר לשלב הבא לחץ Next

2/6 Calibrate Stage

Back

To be able to relocate x/y positions, you need to calibrate the coordinate system and therefore set the zero position of the stage either manually or automatically.

The manual mode sets the current x/y position to zero. The automatic mode sets the zero position by means of a reference movement to the mechanical end positions of the stage drive. In addition, a reference point can be located on a calibration slide (e.g. the home slide).

VY Position: Set Zero Calibrate Calibrating Stage...

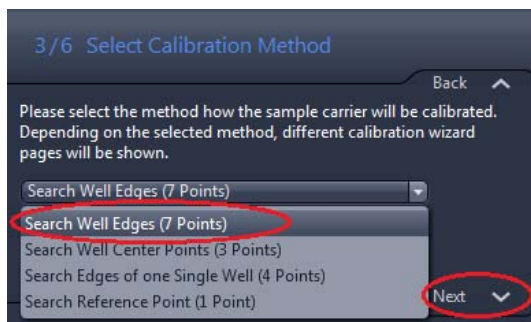
Next

Messages

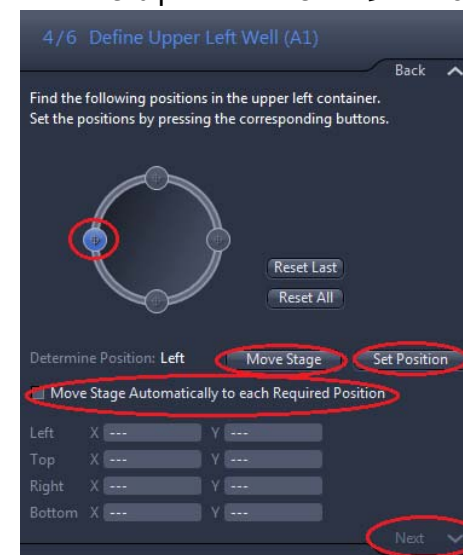
? Stage calibration requested.

Please ensure that the full travel range of the stage is in no way limited by any objects.

Ok Cancel



שלב בחירת סוג כיוול הצלחת –  
 בחר בין האפשרויות הבאות (השיטה המועדפת היא שיטת 7 הנקודות).  
 בסיום ומעבר לשלב הבא לחץ Next.



שלב הגדרת בארית שמאלית עליונה –

עבור בעזרת הג'ויסטיק אל הבארית השמאלית העליונה ומקם בעזרת תמונת ה-Live בתוכנה את מרכז גבול הבארית השמאלי. לאישור לחץ על הסימון בדיאגרמה או על צלמית

Set Position למעבר לנקודה הבאה יש ללחוץ על צלמית Move Stage או לאשר את אפשרות

להעביר את השולחן באופן עצמאי. Move Stage Automatically to each Required Position אפשרות זו תאפשר את מעבר השולחן באופן אוטומטי בין הנקודות השונות, לאחר אישור כל נקודה ללא צורך

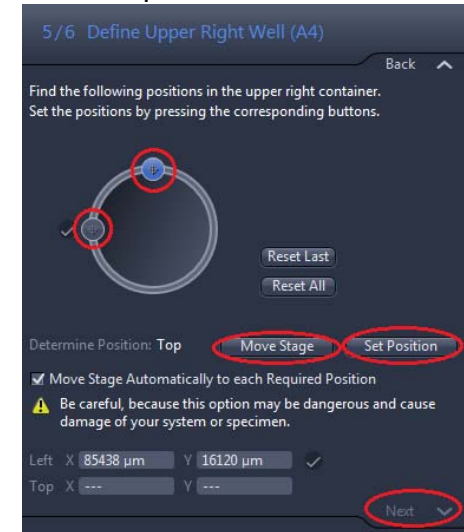
שום לב שתנועת השולחן האוטומטית מהירה מאוד ויש לשקול שימוש באפשרות זו על פי אופי הדוגמה.

עבור בין הנקודות השונות בצע תיקון מיקום בעזרת חלון ה-Live עבור כל נקודה ואשר

בסיום שלב זה ומעבר לשלב הבא לחץ Next.

### שלב הגדרת הבארית הימנית העליונה-

למעבר לבארית ניתן לזוז ידנית או ללחוץ על צלמית Move Stage (זכור שהתנועה האוטומטית מהירה מאוד ובמקרים מסוימים עלולה להשפיע על הדוגמה). עבור בין הנקודות השונות בצע תיקון מיקום בעזרת חלון ה- Live אשר כל נקודה. בסיום ומעבר לשלב הבא לחץ Next.

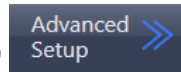
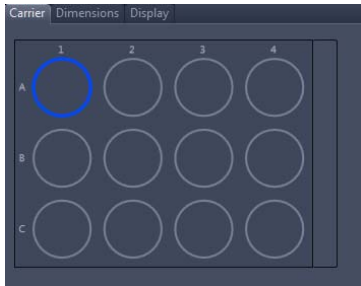


### שלב הגדרת הבארית הימנית התחתונה-

למעבר לבארית ניתן לזוז ידנית או ללחוץ על Move Stage (זכור שהתנועה האוטומטית מהירה מאוד ובמקרים מסוימים עלולה להשפיע על הדוגמה). מקם את הנקודה האחרונה בצע תיקון מיקום בעזרת חלון ה- Live ואשר את הנקודה.

בסיום כיוול כל הנקודות השונות לחץ **Finish** בתחתית החלון. (בכל שלב ניתן לחזור אחורה ע"י לחיצה על צלמית **< Back** או לבטל את התהליך בלחיצה על צלמית **Cancel**)

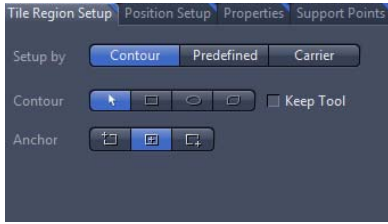




לפתיחת חלון עבודה. כעת הצלחת מכוילת וניתן לעבור לרכישת Tile מורכב, לחץ על צלמית בעת פתיחת החלון שים לב שהצלחת אותה הגדרת מופיעה בצורה גרפית בחלון הראשי. סמן את הבאריות ( או התאים) עליהם תבצע את הצילום (ע"י לחיצה עכבר שמאל וגרירה, או Ctrl + לחיצה עכבר שמאל על הבארית הרצויה).

בלשונית Tile Region Setup תבחר את השיטה בה תעבוד כל הגדרה אותה תבצע בשלב זה תוחל על כל הבאריות שבחרת.

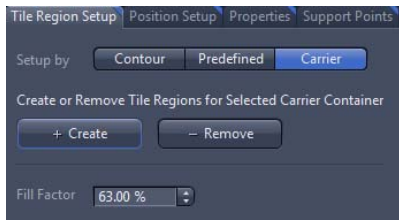
Countour – יצירת ROI בתוך הבארית הרצויה לפי גודלו התוכנה תחלק את השטח למספר ה-tiles.



Predefiend - הגדרת מספר הטורים והשורות.

Carrier - הגדרת אחוז שטח ה-tile בתוך הבארית. ליצירה לחץ Create.

בארית בה הוגדר ניסוי תשנה את צבעה לצהוב בתצוגה.



יצירת תמונת Preview

קיימת אפשרות לבחון את גודל איזור הצילום בעדשה קטנה ויצירת תמונת Preview עליה ניתן יהיה לבצע תיקונים של איזור הסריקה באחת השיטות שהוגדרו לעיל.

צור הגדרת איזור Tile חדש בחלון Tile או פתח והגדר בחלון Advanced Setup

בחלון Advanced Setup בחר בחלון Preview scan. בחר בעדשה X5.

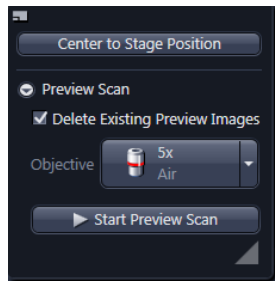
במצב עבודה Live פקס את הדוגמה והגדר זמן חשיפה בחלון ערוצי הצבע.

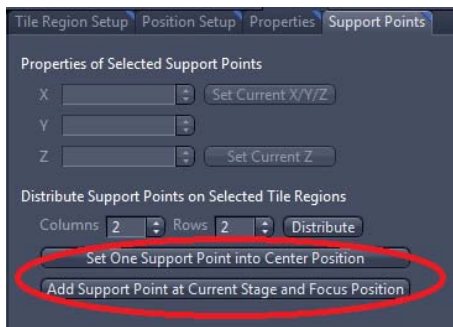
לחץ על צלמית Start Preview Scan להתחלת הצילום.

בסיום הצילום בחן ושנה עלפי הצורך את מיקום ושטח אזור ה-tile.


עבור לעדשה בה אתה מעוניין לצלם, גודל הסריקה ומספר ה-Tile ישתנה באופן רלטיבי בהתאם לעדשה שנבחרה




במצב עבודה Live התפקס על הדוגמה ושנה זמן חשיפה בחלון ערוצי הצבע.

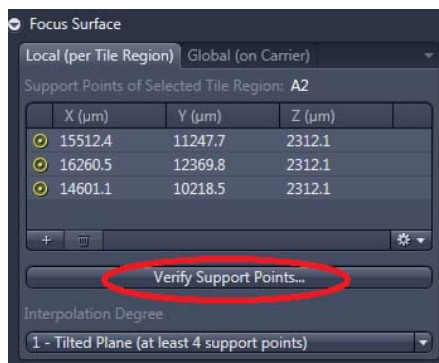
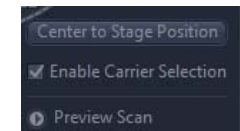






ניתן להגדיר לכל Tile נקודות פוקוס תומכות שעל פיהן התוכנה תשנה את הפוקוס במרחב. הכנס ללשונית Support Points בחלון Advanced Setup.

ניתן להגדיר נקודת פוקוס אחת במרכז התמונה או מספר נקודות שונות על פי בחירתך. במצב עבודה  בחר את האיזור ב-Tile המסומן בחלון הראשי ופקס את הדוגמה לקביעת הנקודה לחץ על

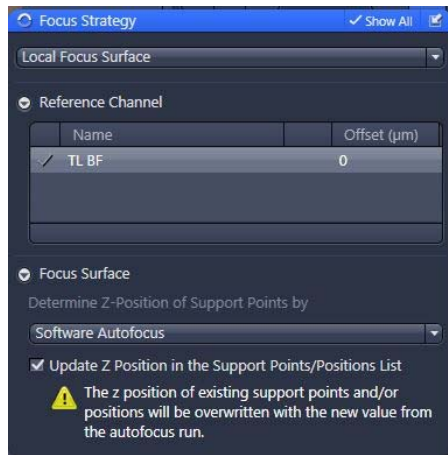
 במקרה והנקודה ממוקמת באמצע איזור ה-Tile.  או על  כאשר יש ברצונך להגדיר נקודות שאינן במרכז. במקרה בו אינך מוצא את מיקומך (את חלון ה-Live) בדיאגרמת הצלחת או הדוגמה בחלון הראשי לחץ Center to Stage Position והאיזור בו אתה ממוקם ימורכז בדיאגרמה.



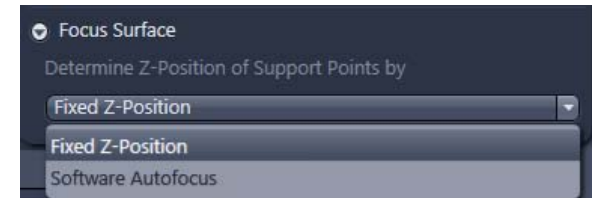
לאחר קביעת הנקודות השונות נוצרת רשימת נקודות הציון בחלון Focus Surface.

לאישור הנקודות לחץ על צלמית   במצב עבודה. עבור בין הנקודות השונות, שנה את הפוקוס. במקרה הצורך ואשר את הנקודות – Set Current Z.



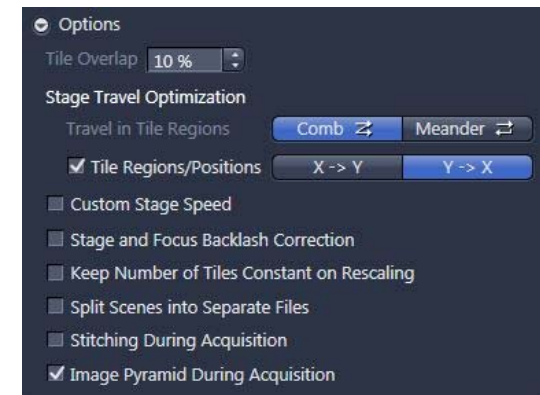


הגדר את שיטת הפוקוס:  
 בחר באפשרות Local Focus Surface הגדר ערוץ עליו יבוצע תהליך הפוקוס,  
 הגדר האם יבוצע אוטופוקוס בידי המערכת לפני צילום או צילום על פי פוקוס הנקודות אותן הגדרת.

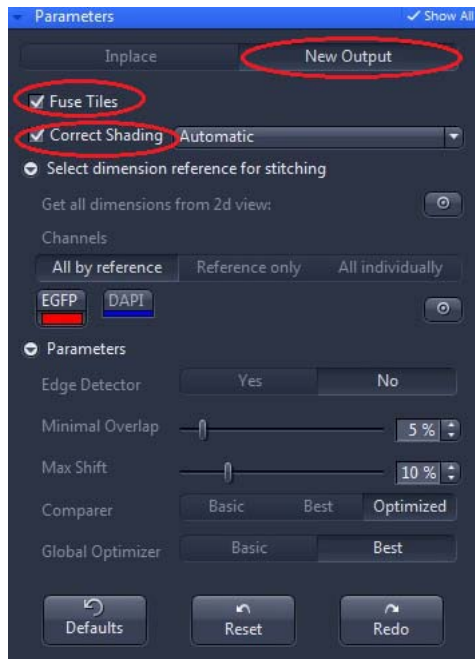


במקרה של בחירה באפשרות האוטופוקוס ניתן לאפשר למערכת לשנות את הפוקוס של הנקודות ברשימה על פי החלטת המערכת.

יש לעבור על הפרמטרים בלשונית Options בחלון Tile לשנות במידת הצורך ליצירת צילום Tile בצורה מיטבית מומלץ לבחור בפרמטרים הבאים:



לצילום לחץ ▶ Start Experiment






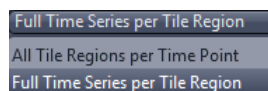
ניתן לבצע Stitching לתמונות ה-Tile -  
 עבור למרחב העבודה Processing בחר Geometric בחר < Stitching  
 לחץ ובחר תמונת Input Input תמונת Image Parameters  
 בלבד בחר גם באפשרות - Correct Shading  
 לביצוע לחץ Apply  
 יש לבצע שמירה של הקובץ שנוצר. - לחץ על בחלקה הימני של התוכנה (ניהול הקבצים).  
 בחר באפשרות New Output , סמן Fuse Tiles ובמקרה של תמונת Transmitted Light

## Positions -

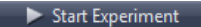
באפשרות זו ניתן לבחור עבודה ללא/עם הגדרה וכיול סוג הצלחת / תכשיר.

### ללא הגדרה וכיול-

במצב עבודה  מרכז את האזור אותו ברצונך לצלם ופקס. בחלון Position בחר **Single Positions** ולחץ . (ניתן לצלם כמה שדות ע"י לחיצה חוזרת על .



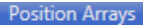
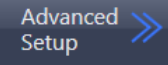
במקרים בהם מוגדר גם ממד הזמן יש לבחור את אחת מאפשרויות הצילום הבאות

לצילום לחץ 

במעבר לבארית נוספת ואז תכשיר אחר מחק את נקודות הציון לפני רכישה נוספת. לחץ .



### הגדרת צלחת וכיול –

להגדרת סוג הצלחת – בחלון Sample Carrier לחץ על צלמית Select. (יש להגדיר את הצלחת על פי ההוראות המופיעות בסעיף Tile ).

בסיום תהליך ההגדרה בחר בחלון **positions** . לחץ על צלמית  בעת פתיחת החלון שים לב שהצלחת אותה הגדרת מופיעה בצורה גרפית בחלון הראשי.

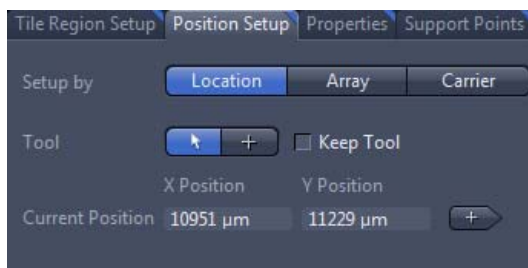
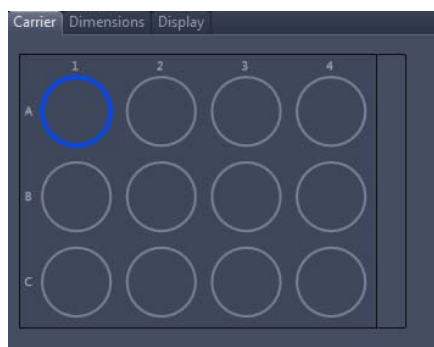
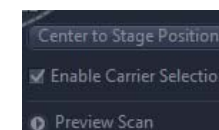
סמן את הבאריות (או התאים) עליהם תבצע את הצילום (ע"י לחיצה עכבר שמאל וגרירה, או Ctrl + לחיצה עכבר שמאל על הבארית הרצויה).

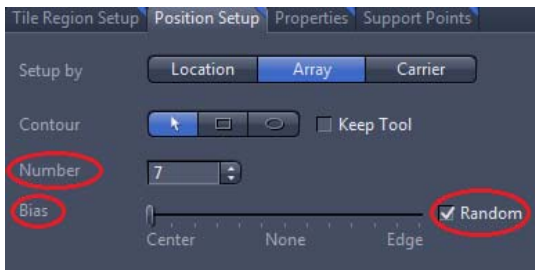
בלשונית Position Setup בחר את השיטה בה תעבוד:

**Location** – במצב עבודה  בחר בארית בדיאגרמה הקטנה של הצלחת. בחר נקודה בבארית הרצויה, פקס את הנקודה ולחץ .

עבור לנקודה הבאה וחזור על אותן פעולות.

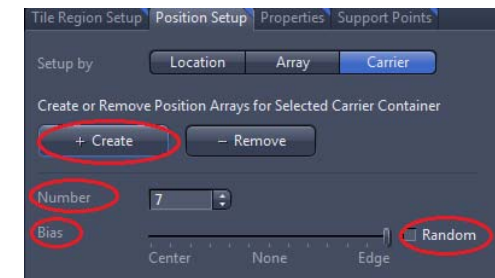
במקרה ואינך מוצא את מיקומך בדיאגרמת הצלחת ניתן ללחוץ על **Center to Stage Position**

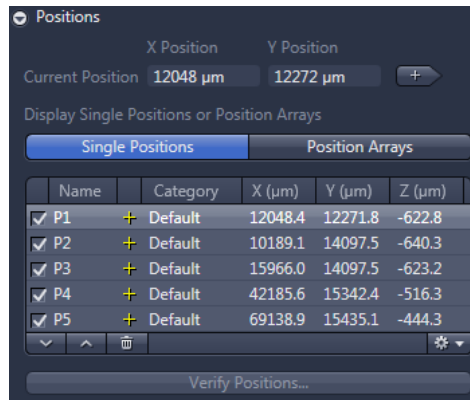




**Array** – בחירה באפשרות זו תיצור מספר נקודות על פי בחירה באזור שיוגדר (ROI) עם תבנית פיזור שאותה ניתן להגדיר מראש. בחר בארית אחת או יותר כדיאגרמת הצלחת. בחר את מספר הנקודות, בחר את אופן הפיזור והאם הפיזור יהיה רנדומלי. בחר את אחד מכלי יצירת ה- Contour וצייר בעזרתו ROI בבארית.

**Carrier** – בחירה באפשרות זו תיצור מספר נקודות בבארית ללא הגדרת אזור (ROI) עם תבנית פיזור שאותה ניתן להגדיר מראש. בחר בארית אחת או יותר כדיאגרמת הצלחת. בחר את מספר הנקודות, בחר את אופן הפיזור והאם הפיזור יהיה רנדומלי. ליצירת הנקודות לחץ **+ Create**



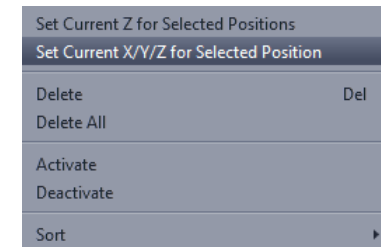


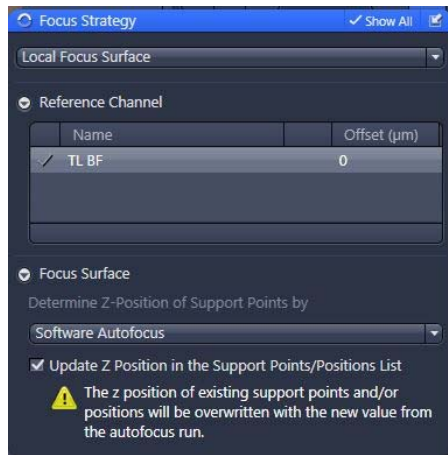
לאחר קביעת הנקודות השונות נוצרת רשימת נקודות הציון בחלון. Positions.

לאישור הנקודות לחץ על צלמית **Verify Positions**. בחלון במצב עבודה **Live** עבור בין הנקודות השונות, שנה את הפוקוס. במקרה הצורך. אשר את הנקודות – Set Current Z.



ניתן לשנות את הקורדינטות של כל נקודה (XYZ) ע"י לחיצה בעכבר ימין על הנקודה בחלון Positions ובחירת האפשרות המתאימה.





### הגדר את שיטת הפוקוס:

בחר באפשרות Local Focus Surface הגדר ערוץ עליו יבוצע תהליך הפוקוס, הגדר האם יבוצע אוטופוקוס בידי המערכת לפני כל צילום או צילום על פי הפוקוס המוחלט של הנקודות אותו הגדרת.



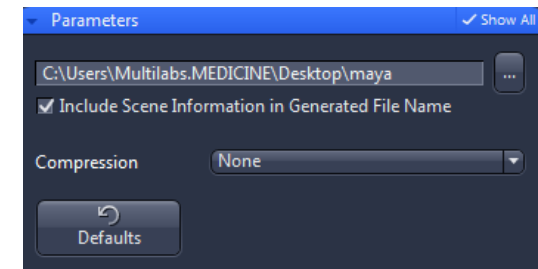
במקרה של בחירה באפשרות אוטופוקוס ניתן לאפשר למערכת לשנות את פוקוס הנקודות ברשימה על פי החלטת המערכת.

לצילום לחץ **Start Experiment**

בסיום הצילום נוצר קובץ המכיל את כל הנקודות יחדיו. כדי לפצל את הקובץ לנקודות השונות.

עבור למרחב העבודה **Processing** בחר **Split Scenes (Write files) < Utilities**. בחלון image Parameters בחר את הקובץ (Input).

בחלון Parameters בחר את יעד השמירה, סמן אפשרות **Include Scene Information in Generated File Name**.



לאישור לחץ **Apply**