



尼康A1+型共聚焦显微镜

快速操作手册

注：此手册旨在协助首次接触尼康共聚焦的用户快速上手操作，了解全部功能请参考官方完整版操作说明。

1. 开关机

按标签序号，顺序开机（倒序关机）



荧光亮度调节

荧光开关

显微镜开关

激光器
先开后面开关，
再转钥匙。

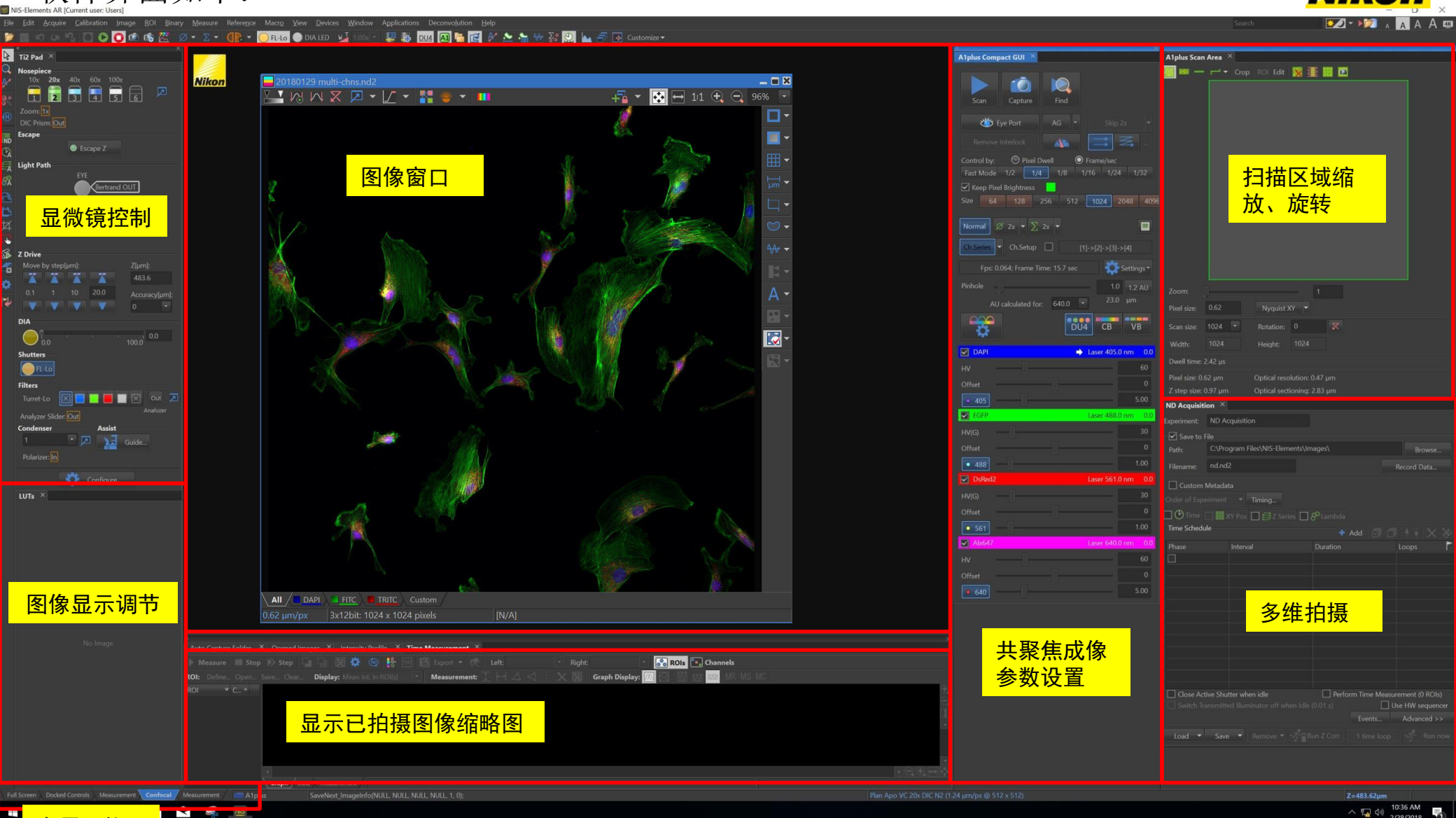
共聚焦开关
(位于左侧)



显微镜开关

2. 打开软件

软件界面如下:



图像窗口

显微镜控制

扫描区域缩放、旋转

图像显示调节

多维拍摄

共聚焦成像
参数设置

显示已拍摄图像缩略图

布局切换

3. “405/488/561/640” 多通道成像流程



The screenshot displays the Nikon NIS-Elements AR software interface. The main window shows a multi-channel image of cells. The left sidebar contains various toolbars and panels, including 'Ti2 Pad', 'Light Path', 'Z Drive', 'Shutters', 'Filters', 'Condenser', 'Polarizer', and 'LUTs'. The right sidebar contains the 'A1plus Scan Area' panel, which is used for setting acquisition parameters. The bottom of the interface shows the 'Auto Capture Folder' and 'Opened Images' panels.

3.1 勾选需要拍摄的通道。

3.2 点击“Eye Port”切换到肉眼观察，找好视野后再次点击“Eye Port”切换到共聚焦成像。

3.3 设置扫描速度、扫描分辨率。

3.4 点击“Find”，呈现预览图像。

3.5 边预览边调节图像焦点和视野

3.6 点击“Capture”自动获取多通道图像。

3.7 已拍摄图像出现在“Opened Image”面板中。

Tips: “在图像上滚动鼠标滚轮可以调焦；鼠标左键拖拽可以移动载物台（视野）。”

4. 成像参数设置

4.1 扫描速度，“1”为最快，往右速度渐慢。

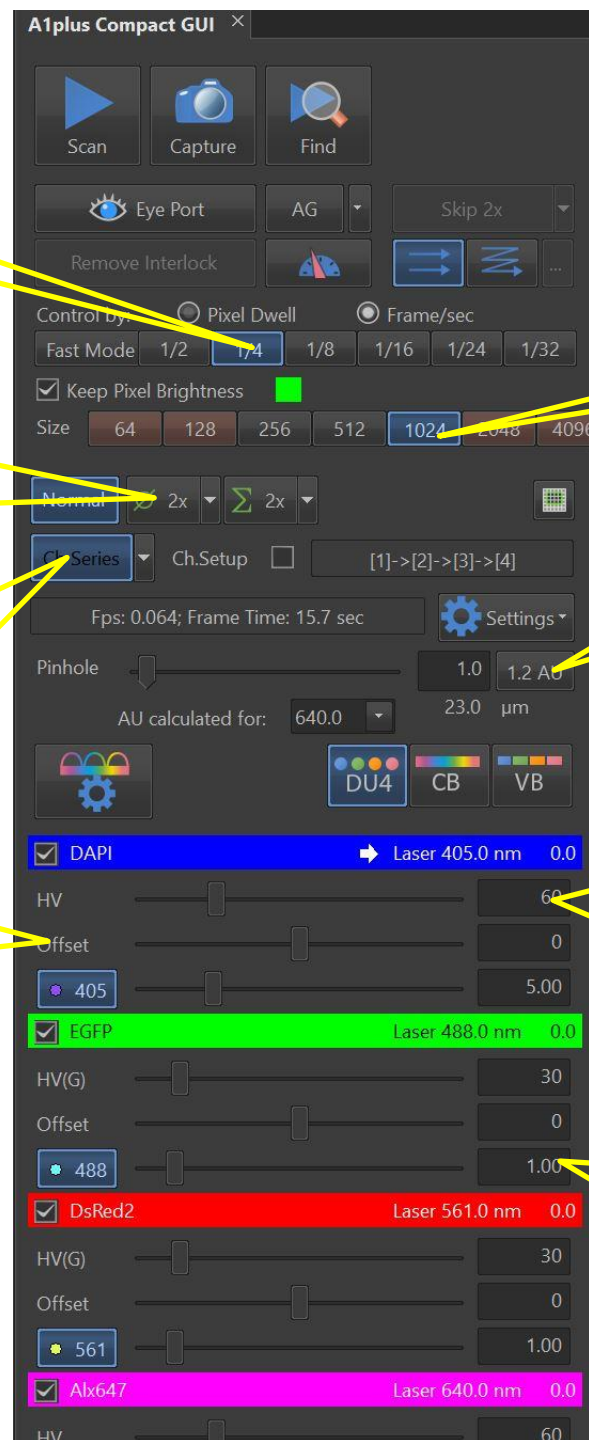
4.3 多次扫描然后作平均，下拉键可选择平均次数。点“Normal”则不作平均。

4.4 按下“Ch Series”表示多荧光通道顺次成像，否则多通道同时成像。通常按下此键以防止发生串色！

4.7 “Offset”不建议调整，推荐默认值“0”。

Tips:

“HV”“激光功率”调节时在滚动条上使用鼠标滚轮为微调，在滚动条上鼠标左键为粗调。



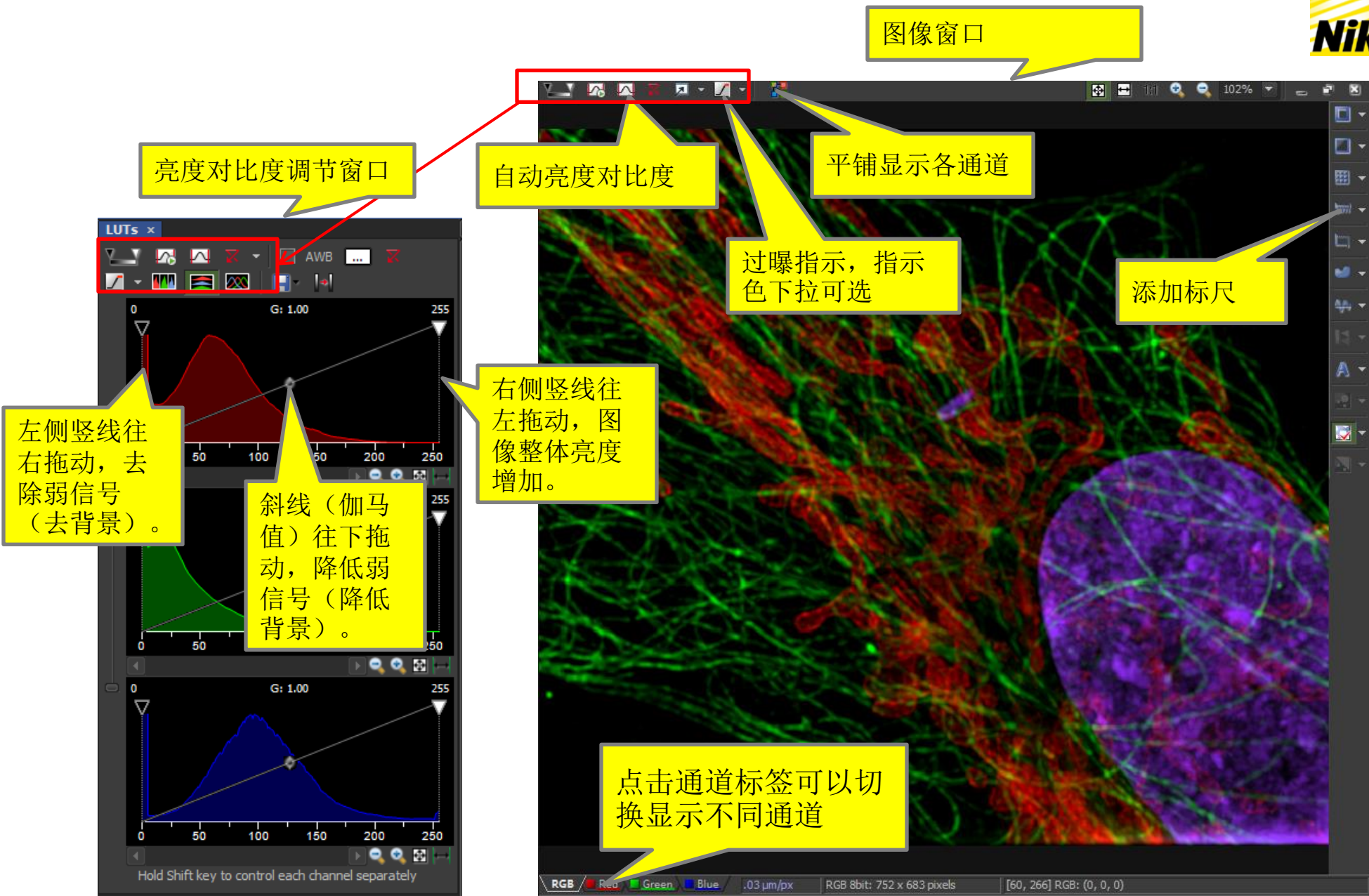
4.2 扫描分辨率，通常选择“1024”。

4.5 针孔，推荐选择“1.2AU”，或根据图像适当调节。

4.6 “HV”表示检测器的灵敏度，使用滚动条或直接输入数值进行调节。“HV”控制在100以下图像信噪比较好。

4.8 “488”表示激光功率，在保证图像良好信噪比的前提下越小越好。

5. 图像显示和调节



图像窗口

亮度对比度调节窗口

自动亮度对比度

平铺显示各通道

过曝指示，指示色下拉可选

添加标尺

左侧竖线往右拖动，去除弱信号（去背景）。

斜线（伽马值）往下拖动，降低弱信号（降低背景）。

右侧竖线往左拖动，图像整体亮度增加。

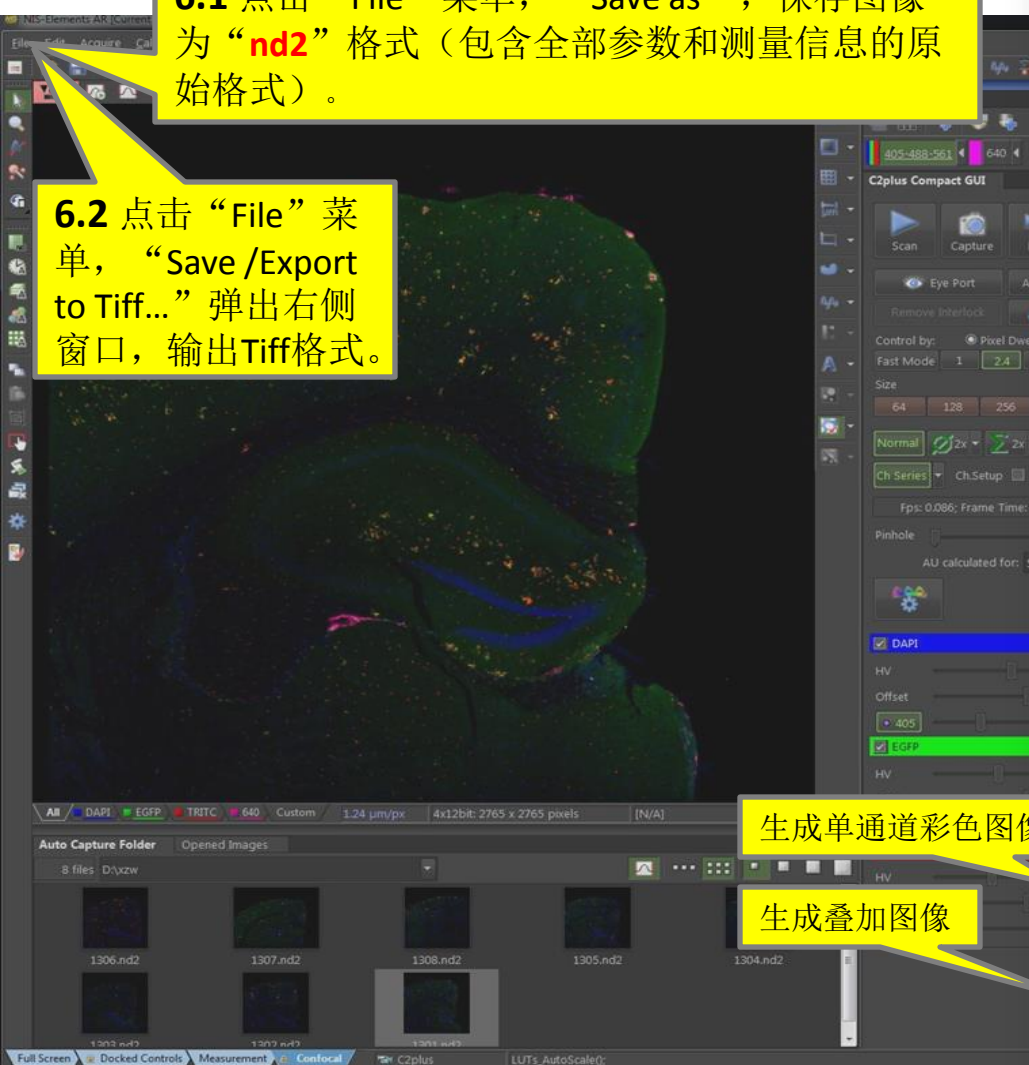
点击通道标签可以切换显示不同通道

RGB Red Green Blue .03 $\mu\text{m}/\text{px}$ RGB 8bit: 752 x 683 pixels [60, 266] RGB: (0, 0, 0)

6. 图像的保存和输出

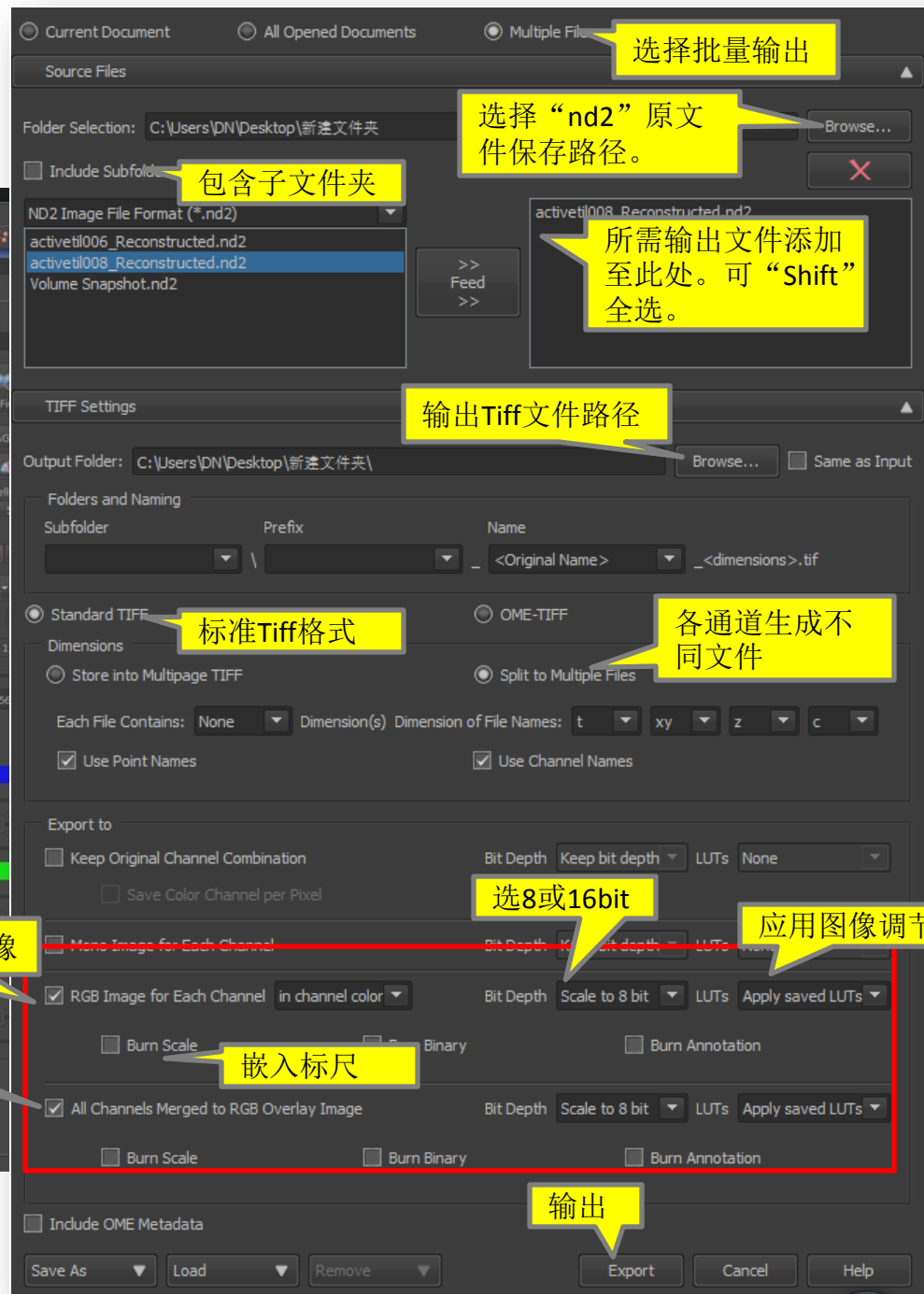
6.1 点击“File”菜单，“Save as”，保存图像为“**nd2**”格式（包含全部参数和测量信息的原始格式）。

6.2 点击“File”菜单，“Save /Export to Tiff...”弹出右侧窗口，输出Tiff格式。



生成单通道彩色图像

生成叠加图像



选择批量输出

选择“nd2”原文件保存路径。

包含子文件夹

所需输出文件添加至此处。可“Shift”全选。

输出Tiff文件路径

标准Tiff格式

各通道生成不同文件

选8或16bit

应用图像调节

嵌入标尺

输出

8. 多维图像拍摄之Z轴序列成像



8.2样品厚度范围。
往上调焦至样品最上层，点击Top，
往下调焦至样品最底层，点击Bottom。

8.1勾选Z轴拍摄标签。

Tips:

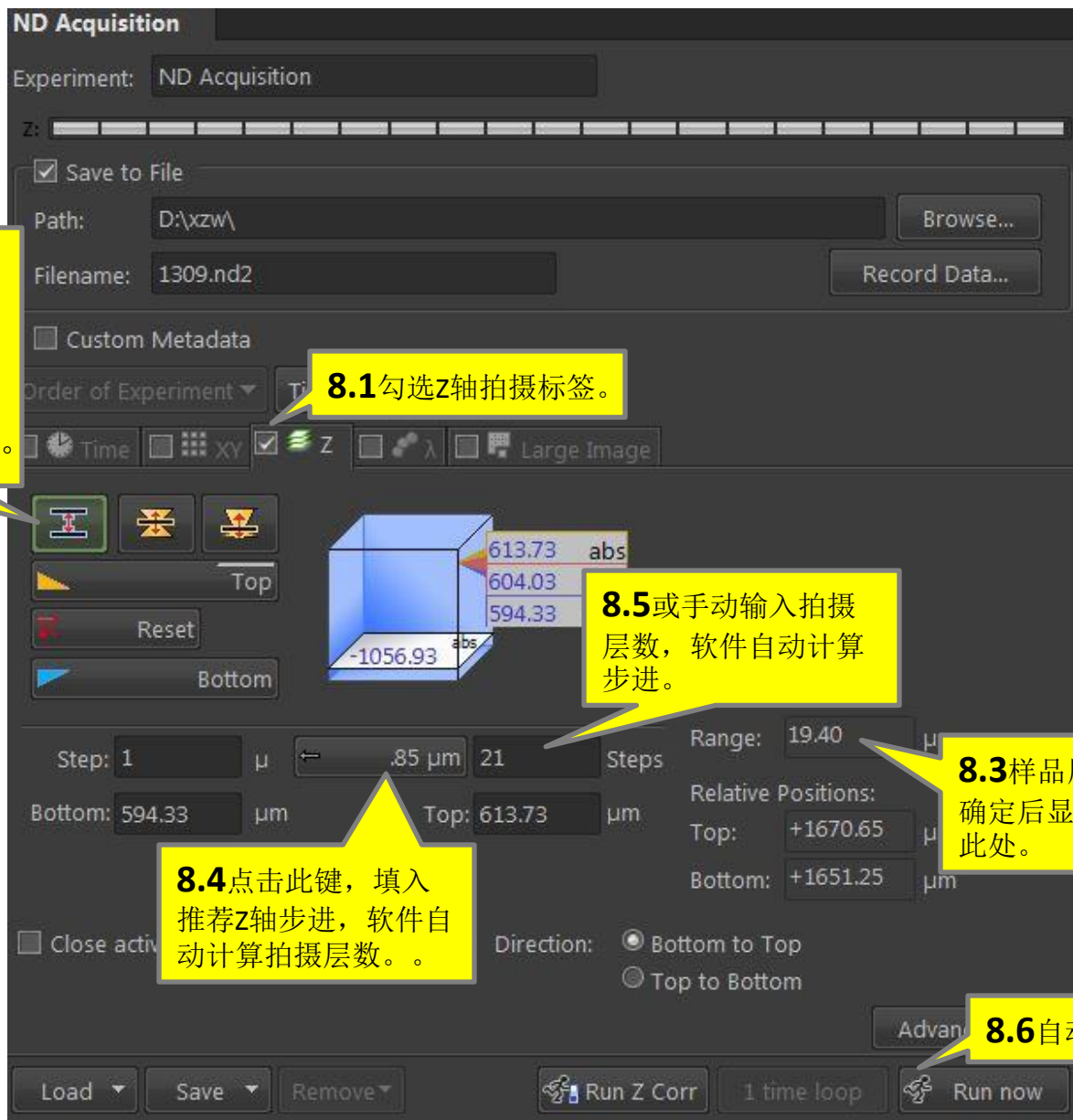
若对Z轴分辨率没有特别高的要求，可以在推荐层数基础上除以2至2.5左右，适当牺牲Z轴分辨率以换取成像速度。

8.5或手动输入拍摄层数，软件自动计算步进。

8.4点击此键，填入推荐Z轴步进，软件自动计算拍摄层数。

8.3样品厚度确定后显示在此处。

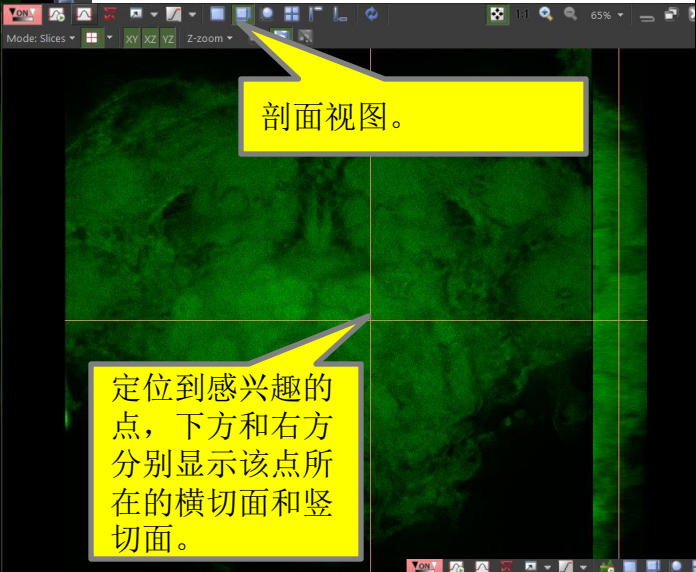
8.6自动拍摄Z轴序列图像。



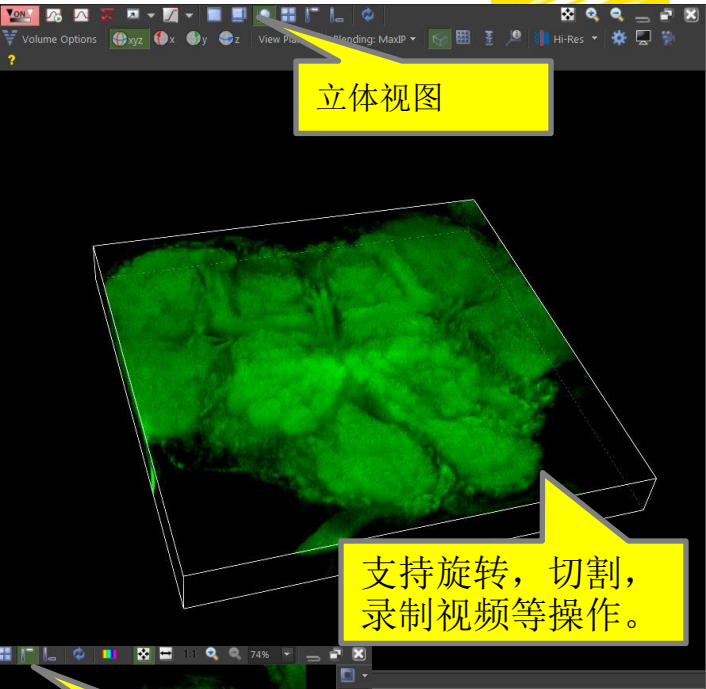
8. 多维图像拍摄之Z轴序列成像（Z轴序列图像显示）



Z轴图像序列，不同层面可以滚动显示或自动播放。



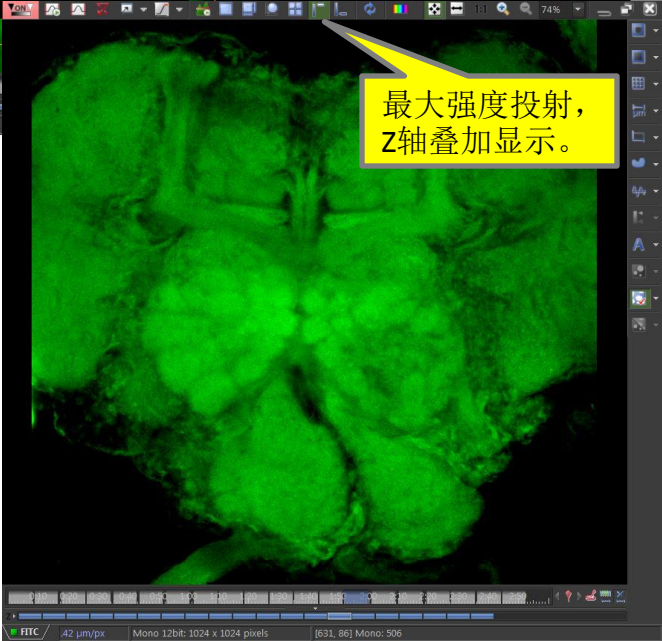
定位到感兴趣的点，下方和右方分别显示该点所在的横切面和竖切面。



支持旋转，切割，录制视频等操作。



Tips:
以上视图如需保存，“Edit”菜单“Creat view snapshot 8bit”，新生成“nd2”文件再另行保存。



9. 多维图像拍摄之大图拼接（需要电动载物台）



ND Acquisition

Experiment: ND Acquisition

λ :
L:

☒ Save to File

Path: D:\xzw\

Filename: 1309.nd2

☐ Custom Metadata

Order of Experiment

☐ Time ☐ XY ☐ Z ☒ λ ☒ Large Image

Scan Area:

☒ 3 x 3 fields ☐ 6.0 x 6.0 mm ☐ Pattern

Stitching:

☒ Stitch Use 1. 405-488-561(DAPI) for Stitching

☐ Do Not Stitch

Stitching is done on the first lambda channel, when the large image is acquired inside lambda loop

Overlap: 15 %

☒ Close active Shutter during Stage Movement

☐ Wait before each capture 10 [ms]

9.1勾选大图拼接标签。

9.2根据样品大小确定拼接视野。可以视野为单位或以实际长度为单位

9.3开始拍摄。

Tips:

必要时“Z”和“Large Image”等标签可同时勾选组合使用，获取多维图像。

10. 透射光“DIC”图像拍摄

NIS-Elements AR [Current user: Users]

File Edit Acquire Calibration Image ROI Binary Measure Reference Macro View Devices Window Applications Deconvolution Help

Ti2 Pad x

Nosepiece

10x 20x 40x 60x 100x

Zoom: 1x

DIC Prism: Out

Escape

Escape Z

Light Path

EYE Bertrand OUT

L100 R100 AUX

Z Drive

Move by step(μm): Z(μm): 483.6

0.1 1 10 20.0 Accuracy(μm): 0

DIA

0.0

Shutters

FL-Lo

Filters

Turret-Lo

Analyzer Slider: Out

Condenser

Assist

1

Polar In

LUTs

Configure...

Setting

Setting Mode

Sort by Emission

405 488 561 640

405,000 417-477 488,000 500-550 561,000 570-1000

405/488/561

447/60 525/50 56

Custom

OK Cancel

10.5 检偏镜移出光路 (Out)。

10.2 点击此处将透射光检测器移入光路

10.3 点OK确认。

10.6 选择DIC棱镜 N2 (10x物镜选N1)

10.7 预览，拍摄。

10.1 点击此处打开光路设置窗口。

10.4 透射光通道出现在通道列表中，勾选通道。

A1plus Compact GUI

Scan Capture Focus

Eye Port AG

Remove Interlock

Control by: Pixel Dwell Frame/sec

Fast Mode: 1/2 1/4 1/8 1/16 1/24 1/32

Keep Pixel Brightness

Size: 64 128 256 512 1024 2048 4096

Normal 2x 2x

Ch Series Ch Setup [1]->[2]->[3]->[4]

Fps: 0.064; Frame

Pinhole AU calcul

Width: 1024 Height:

Dwell time: 2.42 μs

Pixel size: 0.62 μm

Z step size: 0.97 μm

Optical res

Optical sect

ND Acquisition

Experiment: ND Acquisition

Save to File

Path: C:\Program Files\NIS-Elements

Filename: nd.nd2

Custom Metadata

Order of Experiment Timing...

Time Schedule

Phase Interval

Close Active Shutter when idle

Switch Transmitted Illuminator off wh

Load Save Remove

Auto Capture Folder x Opened Images x Intensity Profile x Time Measurement x

Measure Stop Step Export

Left: Right:

ROI: Define... Open... Save... Clear...

Display: Mean Int. in ROI(s)

Measurement: T F A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Graph Display: ROI

Full Screen Docked Controls Measurement Confocal Measurement A1plus

SaveNext_ImageInfo\NULL NULL NULL NULL 1, 0;

Plan Apo VC 20x DIC N2 (1.24 μm/px @ 512 x 512)

11. 光谱成像（CB模式）



11.7 点击“Capture”自动获取多通道图像。

11.1 点击切换“CB”模式

11.2 设置光谱成像的波长范围

11.3 设置光谱分辨率

11.4 预览图像，调节光谱检测器的HV

11.5 预览图像，调节各激光功率

11.6 边预览边调整图像焦点和视野

11.8 已拍摄图像出现在“Opened Image”面板中。

Tips: “在图像上滚动鼠标滚轮可以调焦；鼠标左键拖拽可以移动载物台（视野）。”

12. 光谱成像（VB模式）



12.6 点击“Capture”自动获取多通道图像。

12.1 点击切换“VB”模式

12.2 调节每个虚拟通道的波长范围

12.3 预览图像，调节光谱检测器的HV虚拟通道的增益和激光功率。

12.4 Offset可以不调，默认值0

12.5 边预览边调整图像焦点和视野

12.7 已拍摄图像出现在“Opened Image”面板中。

Tips: “在图像上滚动鼠标滚轮可以调焦；鼠标左键拖拽可以移动载物台（视野）。”