



徕卡激光共聚焦拍照实验报告

一、实验器材及试剂

1、实验器材

名称	厂家	型号
激光共聚焦	徕卡	STELLARIS 5

二、适用样本类型

按照组织取材，包埋，石蜡切片，冰冻切片，免疫荧光（IF），原位杂交（荧光 FISH）等实验的 SOP 制备相应的组织切片、细胞爬片等样本。

三、共聚焦拍照操作步骤

1. 徕卡激光共聚焦拍照

1.1.依次间隔 10s 接通激光发生器、显微镜主机、以及电脑开关，启动“LASX”软件，将制备好的切片或者共聚焦小皿放置在载物台上。

1.2.通过触摸屏调整物镜倍数，在目镜 10×，物镜 10×镜下观察样本情况，选择成像物镜，微调 Z 轴焦距至出现荧光信号，使用操作杆操作，定位到拍照区域后，在染料库中根据需检测样本的染料信息选择适当的激发波长以及设置对应波段的检测器，默认模式为 xyz 扫描；

1.3.使用 512×512 分辨率，点击“Fast Live”预览微调焦距至清晰后，点击“Start”获取图像；

1.4.导出图像，源文件以 tif 文件格式进行保存。

2. 徕卡激光共聚焦 3D 成像

2.1.执行 1.1~1.3 的步骤，使用 Z 轴层扫模式决定 Z 序列图像的获取范围，使用调焦手轮微调设置 Top 和 Bottom，并获取图像；

2.2.导出图像，源文件以 tif 文件格式进行保存。

3. 徕卡微分干涉相差 DIC 明场成像

3.1.执行 1.1~1.2 的步骤，选择 DIC 检测器浏览；

3.2.使用 512×512 分辨率，点击“Fast Live”预览微调焦距至清晰后，调整浮雕角度选择成像效果，点击“Start”获取图像；



3.3.导出图像，源文件以 tif 文件格式进行保存。

4. 徕卡激光共聚焦全景扫描成像

4.1.执行 1.1~1.2 的步骤，进入全景扫描系统后，使用 512×512 分辨率或更低，点击“Fast Live”

预览样本全景范围，圈出组织，对组织进行局部视野焦距定位；

4.2.选择成像分辨率，点击“Start”获取图像；

4.3.导出图像，源文件以 tif 文件格式进行保存。

仅供科研用途，不可用于临床诊断！