

## הוראות שימוש במערכת החדשה במעבדות 204 ו-207

הקדמה:

המערכת נועדה לשימוש מעבדות ההוראה. אין להשתמש בה למחקר ללא היתר מהאחראית על המעבדות ד"ר אלה מזרחי-אביב וללא הדרכה אין להכניס DOK (Disk On Key) כונני Flash למיניהם למחשבים. אסור לגלוש באינטרנט לשום מטרה

רכיבי המערכת, על שולחן המפעיל:

מיקרוסקופ Leica, DM2500 עם מצלמה. תכונות המיקרוסקופ: BF (אור), DF, פאזות, אור מקוטב ופלוואורסנציה (GFP ו-DAPI). אובייקטיבים: X2.5, X5, X10, X20, X40, X100. פילטרים: מימין על בסיס המיקרוסקופ: פונה אלינו: בפנים, רחוק, בחוץ. DLF (אור יום): משנה גוון התמונה מצהוב לכחלחל. N16: מוריד 1/16 מהאור ו:grun: ירוק.

סטראומיקרוסקופ עם מצלמה, תאורה תחתית ומראה מתכווננת, תאורת LED עליונה עם אפשרות להארה חלקית מכיוונים שונים, צמצם לשינוי עומק שדה. תחום הגדלות: X100-X8. אפשרות לבחור בין מעבר רציף בין הגדלות ומעבר לא רציף. האחרון עדיף אם רוצים להשתמש ב scale bar במדויק. המעבר ע"י הזזת הכפתור על בורר ההגדלות מצד ימין, כאשר בורר ההגדלות באחד הקצוות מינימום או מקסימום.

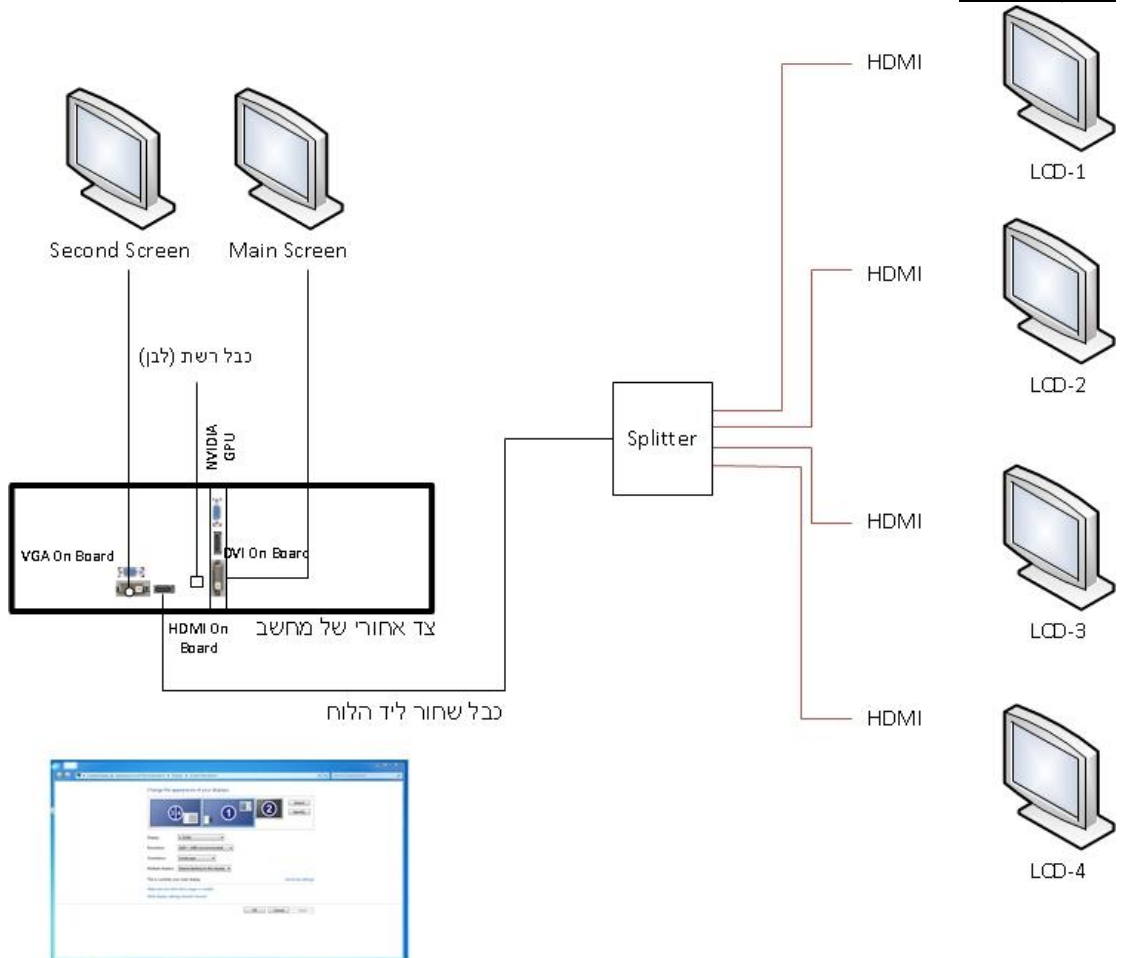
תכנה: Leica Application Suite LAS

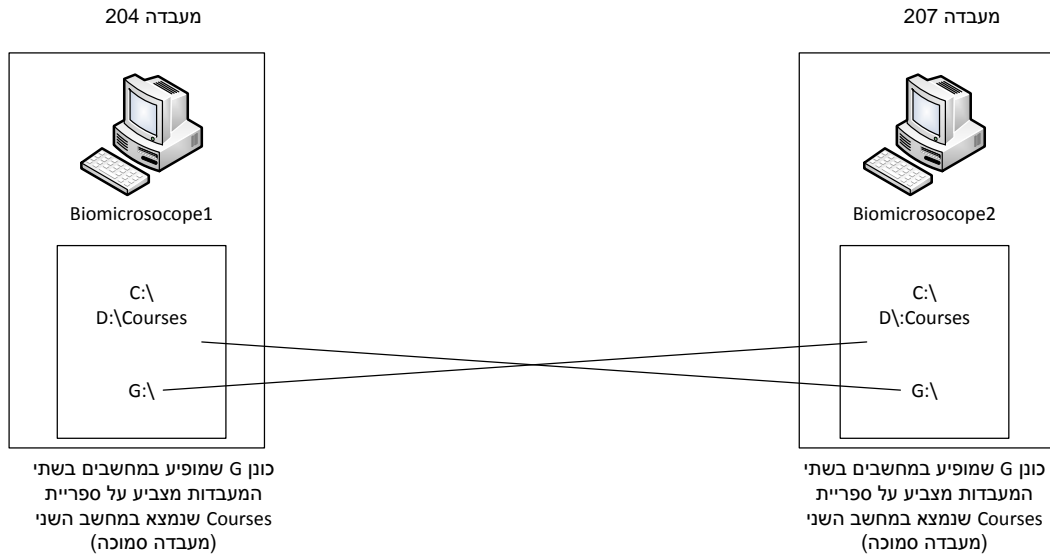
מוניטור מפעיל ראשי, מוניטור מפעיל משני (מראה מה שיראה במסכי הסטודנטים). טלוויזיות LED

מחשב ב-204: BioMicroscope1

מחשב ב-207: BioMicroscope2

### ארגון המערכת





**לשם שימוש באפשרות צפייה זו, שני המחשבים צריכים להיות דלוקים ומחוברים לרשת.**

כניסה ל- Miclab ספרייה שנמצאת ברשת (Biostorage1) המחלקתית. ב- My Computer או בקיצור דרך שנמצא בשולחן העבודה ניתן להגיע לכונן H ולהעביר תמונות/חומר למרצים או לשימוש אחר. בהזדהות מול הכונן H יש לרשום את שם המשתמש בצורה הבאה:

**bgu-users\%useranem%**

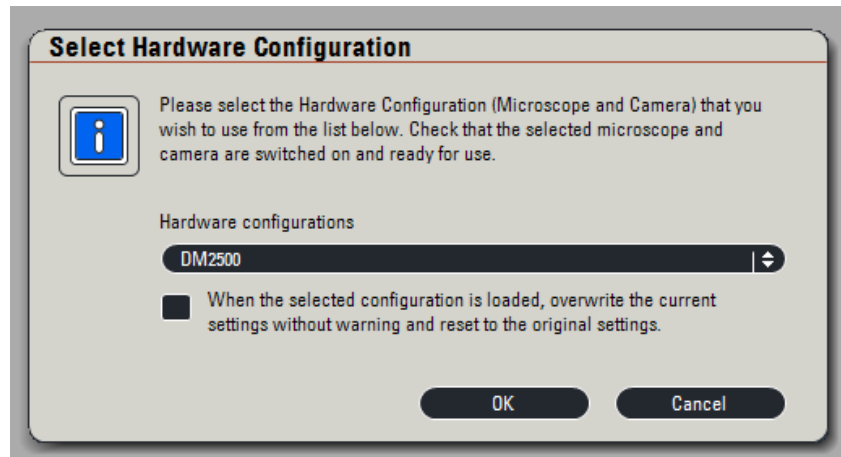
כאשר %username% הוא שם המשתמש שלכם ברשת האוניברסיטאית. שימו לב שהלכנס הינו הפוך - "\".

1. הוציאו את שולחן המערכת והציבו אותו קרוב לשולחן עליו יוכל לעמוד המוניטור המשני (זמני). בעתיד תהיה המערכת קבועה בארון ניח).
2. הפעילו את הטלוויזיות (מוניטורי הסטודנטים) בעזרת שלט רחוק.
3. חברו חיבור HDMI (שחור, על הקיר) למחשב. חברו כבל רשת (לבן) למחשב וכבל ראשי לחשמל (המכשירים נשארים בד"כ מחוברים לסרגל השקעים).
- יש להקפיד לחבר בצורה שלא תשאיר כבלים על הרצפה באזורי מעבר אנשים. הדליקו מחשב. ידלק רק המוניטור הראשי. השני ידלק אחר כך.
4. יש לבדוק מדי פעם סוללות בשלט, עכבר ומקלדת.
5. מוניטור ראשי (מסומן במדבקה כחולה) עומד על שולחן המערכת. מוניטור משני על שולחן סמוך. המקלדת והעכבר משותפים. מעבר העכבר פשוט אם המשני עומד משמאל לראשי. כדי לקבל פירוש של סמלילים בעמידה עליהם, יש להקיש במקש שמאלי בכל מקום שהוא אחרי מעבר ממוניטור למוניטור.
6. כווננו את המיקרוסקופ לפי ההוראות המתאימות. יש לשים לב לפונקציות ולצמצמים.

## הפעלה:

1. במוניטור הראשי, לבחור "Microscope" ובמסך הבא לפתוח "Las V 4.1".  
\*יש להחליט בשלב זה באיזה מכשיר תשתמשו יותר. במכשיר הנבחר תוכלו לבחור בכל פעם את האובייקטיב בו אתם משתמשים, ואז ה- **scale bar** יראה גודל נכון. יש הבדל קל בין שני המכשירים בגלל חיבור המצלמה השונה. חוסר הדיוק מתבטא ב **scale bar**. אם תרצו דיוק, המעבר הוא דרך כניסה מחדש לתכנה.

**LasV4.1→Hardware configuration→Options→Select hardware configuration**



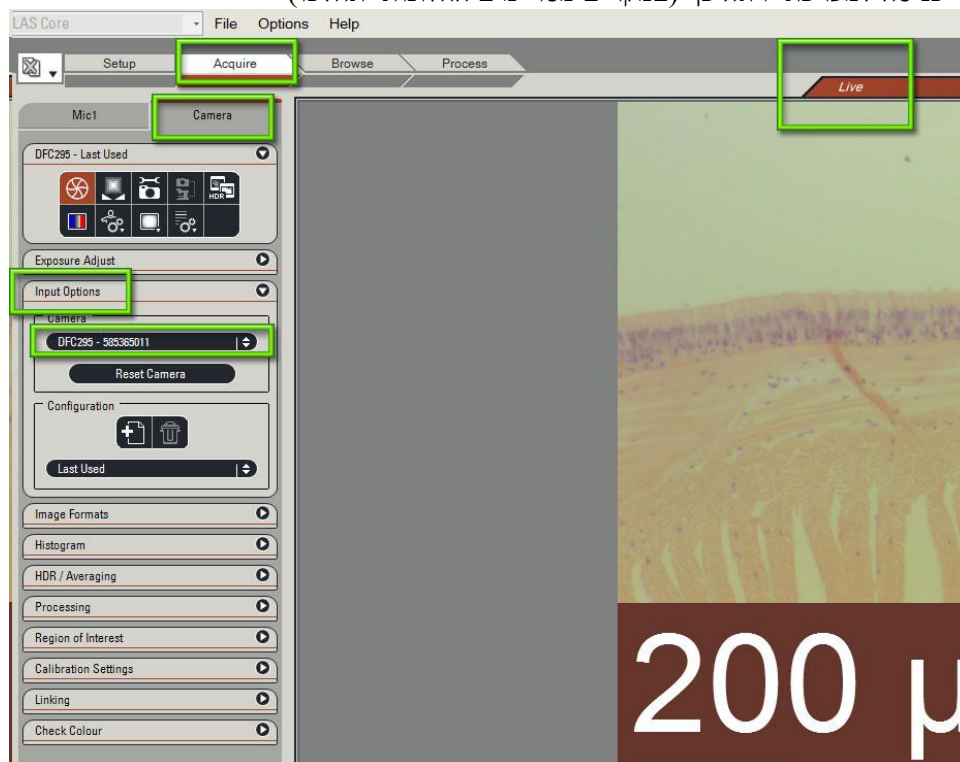
\*יש לבחור DM2500 עבור מיקרוסקופ

\*יש לבחור standard עבור סטראומיקרוסקופ

2. יש לסמן "OK" ולפתוח את התכנה: **LAS core** (באותה שורת תפריטים)

**Hardware configuration→Leica application Suite**

3. מסך כניסה למערכת יראה כך (במקרים מסויימים החלונות יתחלפו)

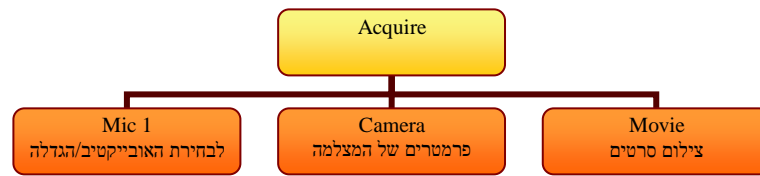


\*יש לבחור את המצלמה המחוברת למכשיר בו תשתמשו (מיקרוסקופ/סטראומיקרוסקופ). אין אפשרות לקבל input משתי המצלמות יחד. בחירת מצלמה מתבצעת בעזרת פקד Input Options בתפריט Camera. מספרי המצלמות בטבלה למטה.

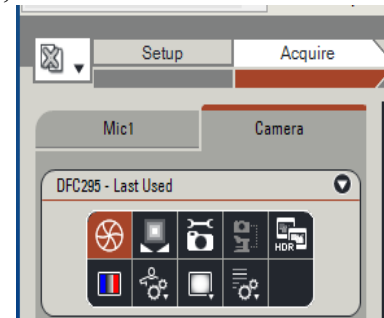
מס' מצלמה	מכשיר	מעבדה
DFC295-585405011	סטראומיקרוסקופ	204
DFC295-585365011	מיקרוסקופ	204
DFC295-587150112	סטראומיקרוסקופ	207
DFC295-587160112	מיקרוסקופ	207

אם המחשב אינו מזהה את המצלמה: ראה פתרון בעיות בסוף המסמך. עבודה עם התוכנה ותפעול כללי

שורה של פקדים משמאל לימין. נשתמש רק בשני האמצעים: browse-1 acquire

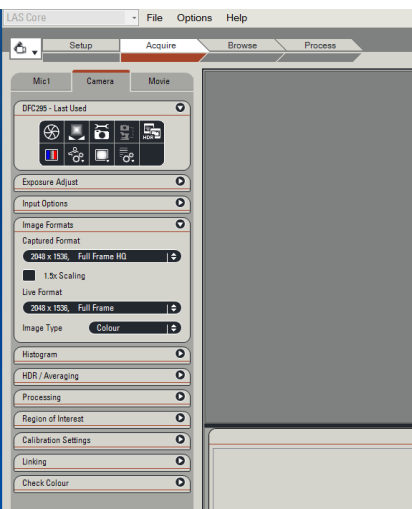


1. תגית Acquire משמשת להצגת תמונה מהמצלמה במצב אמת (live) ולצילום תמונות.
  - 1.1 Mic1 פותח אפשרות לסמן את האובייקטיב שבשימוש
  - 2.1 Camera שולט על המצלמה (פירוט למטה)
  - 2.3 Movie משמש לצילום סרטים ויתכן שלא יופיע (אפשר לפתוח אותו בעזרת החץ הקטן משמאל) הערה חשובה: כאשר Movie נראה, נעלמות חלק מאפשרויות. יש לסלק אותו לאחר השימוש

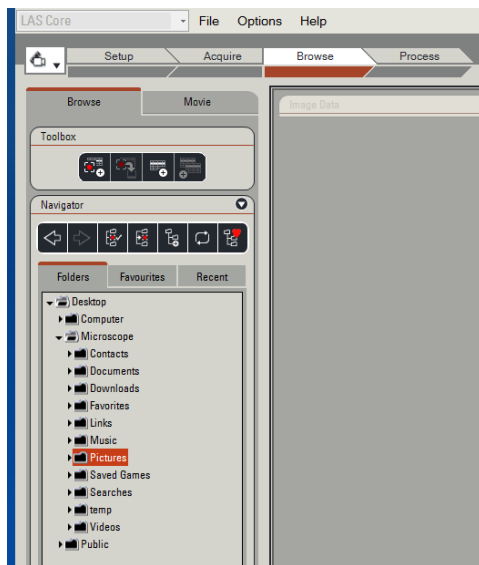


### 2.1 Camera (איור למעלה)

- שתי שורות סמלילים למעלה: הראשון למעלה משמאל הוא לחשיפה אוטומטית והשני מימינו הוא WB (White balance) אוטומטי. לא אוטומטי, יש להקיש מקש שמאלי בעכבר על מקום לבן בתמונה, לצייר מרובע ולבחור WB. למטה מזה Camera: טור תפריטים (איור משמאל). החשובים בהם:
- 2.1.1 Exposure adjust בהתחלה כדאי להשתמש באוטומטי ואחרי שמתרגלים למערכת לכוון ידני. בכיוון ידני, רצוי שהחשיפה תהא תהיה נמוכה (ואז צריך תאורה חזקה) וכך רענון המסך יהיה מהיר ולא נראה "גרירה" בהזזת הדגם.
  - 2.1.2 input options. שם עוברים ממצלמה למצלמה.
  - 2.1.3 Processing: אם התמונה על המסך הפוכה ממה שרואים במיקרוסקופ: Camera → processing → flip horizontal or vertical (לפי הצורך)



## Browse .2



Browse מראה לנו את התמונות השמורות, שם בוחרים איפה נשמור תמונה מצולמת ומשם אפשר להראות תמונות מהמחשב. רצוי לבחור לפני העבודה איפה ישמרו התמונות. לפתוח פקד navigator ולהיעזר בשורת הסמלילים למעלה (set capture location). נקודה אדומה מסמנת את התיקיה בה ישמרו התמונות. אם עוברים ל-Browse ולא רואים דבר גם אחרי כמה שניות, יש לבדוק אם לא עבר למסך השני (אפשר להחזיר בגרירה) או לפתוח דרך כונן D בו ישמרו התמונות.

## 3. צפיה וצילום

מה שנראה במסך המשני נראה גם על מוניטורי הסטודנטים. בתחילת העבודה, נראה הכל במסך הראשי. להעברה למשני ולמוניטורי הסטודנטים: Options → Dual screen לסמן. רואים במשני. אפשר גם ע"י F7. כדי להעביר לראשי (אם רוצים להתארגן בלי שיראה על המסכים), יש לבטל את Dual screen

במצב acquire להכין משהו לראות. רואים live במוניטור הראשי, מסך שלם. אם רואים רק אור לבן, יתכן שהתאורה במיקרוסקופ חזקה מדי. להחליש. לעשות WB. להתאים אובייקטיב ב1mic. צילום ושמירה:

שורת סמלילים מימין במסך התמונה. אפשר לבחור הערות, תאריך ו-scale bar (פירוט למטה) 3.1 לוחצים על acquire image (למטה משמאל או דרך Options)

3.2 יפתח הלון Confirm Microscope Settings

יש רשימה של אובייקטיבים או הגדלות לסטראומיקרוסקופ. לוודא שהנכון מסומן. אם נכנסנו לתוכנה דרך הסטריאו מיקרוסקופ, יופיעו ההגדלות שלו, שאינן רציפות. כדי להשתמש בהגדלות לא רציפות, יש להגיע בכפתור zoom לאחד הקצוות ולהזיז את המלבן הבולט למעלה או למטה.

ללחוץ Acquire

3.3 יפתח הלון Save as

אפשר לוודא שהתמונה נשמרת במקום הנכון. המקום בו ישמרו התמונות מסומן בנקודה אדומה. לתקן שם (תמיד יופיע האחרון) ולוודא שסוג התמונה נכון- tiff או jpeg

3.4 אם רוצים לשנות את השם אחר כך, אפשר דרך ה-image data. אם רוצים למחוק תמונה, יש להכנס דרך כונן D, לסמן אותה ואז ללחוץ delete במקלדת. כל מחיקה דרך windows היא חלקית.

4. מסך מחולק (dual viewer)

השני מלמטה בטור הסמלילים מימין על מסך התמונה, מאפשר לנו לבחור ב dual viewer, שתי תמונות באותו מסך (למשל, הגדלה קטנה וגדולה של אותו דבר). אבל כמובן, רק תמונה אחת יכולה להיות live והשניה מהזיכרון דרך (Browse). או שתיהן מהזיכרון.

כדי להראות שתי תמונות יחד, בחרו ב dual viewer והתמונה שעל המסך תעבור לצד שמאל שלו כשהיא מסומנת בקו חום. קו זה מסמן את המסך הפעיל באותו רגע. כדי להוסיף תמונה נוספת, הקישו בצד ימין והקו החום יעבור לשם. בחרו תמונה והיא תופיע, רק שהמיקום יתחלף. בצורה זו אפשר לשנות דברים בכל תמונה לחוד-הכל בטור הסמלילים בימין. דוגמאות:

Fit to screen: מראה את כל התמונה

Pixel to pixel: כל פיקסל במצלמה מיוצג ע"י פיקסל במסך. זה מקסימום zoom in בlive.

Scale bar – אפשר לבחור אם רוצים שיופיע. יהיה נכון רק אם האובייקטיב מסומן נכון. אם מגדירים גודל קבוע, אפשר יהיה לראות את ההבדל בהגדלות השונות. merge ימזג אותו בתמונה. אם מוסיפים אחר כך תמונה ב live זה יבטל את המסך המחולק ואם רוצים, צריך לבחור בו מחדש. 4. פלואורסנציה

הפעלה:

להפעיל ספק כח (קופסה שחורה) ומסך שליטה (קופסה שטוחה).

405 nm DAPI (UV)

570 nm GFP

הדלקה: כפתור משמאל למטה על המסך. בחירת מנורה והפעלתה. התאמת הפילטר המתאים

במיקרוסקופ: פילטר 1 BF. 2: GFP 3 DAPI

בהפסקה במשך היום, לכבות רק את המנורה, כל השאר יכול להישאר מופעל.

צמצמים (מימין למעלה): F צמצם מנורה, A צמצם קונדנסר. הקטנים: לצמצום האור. אין צורך בד"כ

#### בעיות ופתרונות

אם אחת המצלמות אינה מזוהה

All programs → Leica digital cameras → select Leica firewire driver → yes

מזהה מצלמות, לסגור]

אם זה לא עובד, יש בעיה פיזית בחיבור המצלמות למחשב. יש לנתק ולחבר את חיבור כבל המצלמה

למחשב. אם גם זה לא עוזר, restart למחשב

אם אין רואים תמונה בהפעלת Aquire: אור חזק מדי, אור חלש מדי, מצלמה לא תואמת למכשיר

בשימוש, פילטר פלורסנציה בפנים ולא BF, מקטב בפנים, קונדנסר במצב phase ולא BF

אם לא מצליחים להגיע לתמונה שדומה למה שיש במיקרוסקופ, להתחיל מחשיפה אוטומטית. זה יתן

משהו מקורב ואז אפשר לבטל את האוטומט ולנסות לכוון משם. לפעמים יש צורך להשתמש ב

Histogram (בתפריט המצלמה) אם כל התמונה נמצאת בתחום לא נכון מבחינת כהות.