

True Confocal Scanner
Leica TCS SP2

Benutzerhandbuch

Leica

MICROSYSTEMS

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	2
Allgemeines	5
Benutzung dieses Manuals	5
Neu in der Beschreibung der Einzelfunktionen	6
Konfokale Bildgebung	6
Hilfe über das Internet	8
Rechtliche Hinweise	9
Sicherheitshinweise	11
Starten des Betriebssystems	25
Einrichten von Benutzern	30
Inbetriebnahme des Konfokalsystems	31
Einstellen der Köhlerbeleuchtung	40
Pflege und Reinigung	42
Die Leica Confocal Software: Ein Überblick	44
Öffnen und Speichern von Datensätzen	46
Menüfunktionen	47
Dateiformate LCS	50
Spezifikation des Dateiformats „Lei“ (Version beta 2.000)	52
Vorgehensweisen und Übungen zu ausgewählten Prozessen	61
Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen	61
Aufnahmeparameter mit der Bedienkonsole einstellen	67
Benutzerdefinierte Aufnahmeparametersätze (IPS) erzeugen	72
Raumbildserien aufnehmen	77
Zeitbildserien aufnehmen	86
Lambdaserien (Spektralbildserien) aufnehmen	96
Sequentielle Bildserien aufnehmen	102
Bildaufnahmen von Auswertungsbereichen (ROI-Scan)	113
Allgemeines	117
Einführung in die Hilfe der Leica Confocal Software	117
Kontextsensitive Hilfe öffnen	118
Datenaufnahmefunktionen	119
Strahlengang einstellen	119
Akusto-optischen Strahlteiler (AOBS) einstellen (optional)	121
Objektiv auswählen	123
Detektoren einstellen	124
Elektronischer Zoom	125
Vergrößerte Aufnahme eines Bildausschnitts	126
Detektionslochblende einstellen	127
Scanformat auswählen	128
Scanmodus auswählen	129
Scangeschwindigkeit auswählen	130
Zeitserie einstellen	131
Einmal-Scan starten	132
Endlos-Scan starten	132
Dialogfenster Series Scan Overview	133
Anfangspunkt einer räumlichen Serie definieren	134
Anfangspunkt einer Wellenlängenserie definieren	134
Endpunkt einer räumlichen Serie definieren	135
Endpunkt einer Wellenlängenserie definieren	136
Anzahl der räumlichen Schnitte bestimmen	136
Anzahl der Wellenlängenschritte bestimmen	137
Serien-Scan starten	138
Aufnahmesequenzen konfigurieren	139
Definition eines Bleichexperiments	142
Unidirektionalen oder Bidirektionalen Scan auswählen	143
Phase einstellen	144
Scanfeld drehen	145

Aufnahmeparameter eines Experiments übernehmen	146
Bildaufnahme einer Linie im Mittelungsverfahren.....	146
Bildaufnahme im Burstbetrieb	147
Bildaufnahme im Mittelungsverfahren	147
Bildaufnahme im Akkumulationsverfahren	148
Bildaufnahme mit einer digitalen Auflösung von 8 Bit oder 12 Bit.....	148
UV-Linsenrad einstellen (option)	149
Laserlinie für Bildhintergrund auswählen (ROI Scan)	149
Laserlinien für einzelne Auswertungsbereiche auswählen (ROI Scan)	150
XY-Objekttisch steuern	150
Datendarstellungsfunktionen.....	153
Ansichtsfenster Viewer	153
Aufnahmen als Miniaturansicht im Experiment Browser anzeigen	155
Dialogfenster Viewer Options	156
Anzeigen der Detektionskanäle	165
Bild(er) im Ansichtsfenster Viewer zoomen.....	166
Farbzuordnungstabellen (LUT) auswählen	166
Einzelbild anzeigen.....	168
Mehrfachbild anzeigen.....	168
Überlagerungsbild anzeigen	169
Darstellung von Bildserien	170
Projektionen	173
Erzeugung von 3D-Ansichten	184
Datenverarbeitung.....	187
3D Projektionen und Animationen von Bildserien (optional)	187
Arithmetische und Boolesche Operationen	191
Konvertierung der Bitauflösung von Bildern	196
Verbinden oder Trennen von Bildausschnitten, Bildern und Bildserien	197
Einstellen von Helligkeit, Kontrast und Gammakorrektur	201
Erweiterter Fokus durch Projektionen von Bildstapeln auf ein Einzelbild	204
Lineare Filter und Morphologische Filter (optional)	206
Nivellieren und Filtern von Oberflächenaufnahmen (optional)	212
Reduzieren von Überschneidungen zwischen Detektionskanälen	216
Segmentierung von Bildstrukturen (optional)	218
Mess- und Analysefunktionen	222
Histogramm berechnen	222
Messen eines Profils innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI).....	223
Messen eines Profils entlang einer Strecke	224
Messen von Oberflächen und Volumen	226
Quantifizierungsgraphen in die Präsentationsseite kopieren	227
Quantifizierungsgraphen drucken.....	227
Quantifizierungsdaten exportieren.....	228
Auswertungsbereich (ROI) als Ellipse definieren	228
Auswertungsbereich (ROI) als Polygon definieren.....	229
Auswertungsbereich (ROI) als Rechteck definieren.....	230
Auswertungsbereich (ROI) automatisch definieren	230
Auswertungsbereich (ROI) markieren und verschieben.....	231
Auswertungsbereich (ROI) verschieben und drehen	232
Auswertungsbereiche (ROI's) löschen	232
Datendokumentation	234
Präsentationsseite anlegen	234
Bild in die Präsentationsseite kopieren.....	234
Linie in die Präsentationsseite zeichnen	235
Rechteck in die Präsentationsseite zeichnen	235
Textfeld in die Präsentationsseite einfügen.....	236
Drucken.....	236
Datenhandling	238
Datei öffnen.....	238
Datei speichern	238
Datei speichern unter.....	238

Alle Dateien speichern.....	239
Benutzerspezifische Anpassungen	240
Funktionen über die Bedienkonsole steuern	240
Experiment anlegen.....	241
Ansichtsfenster Viewer als Vorlage abspeichern	241
Optionale Softwarepakete.....	243
Materials	243
Rauhigkeitsmessungen innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI)	244
Anhang	246
Anpassungsfunktion zur Korrektur von Trendverläufen	246
Funktionsweise der Booleschen Verknüpfungen	248
Glossar	249
Spezifikationen	253
Maße und Dimensionen Leica TCS SP2.....	253
Index.....	254

Allgemeines

Benutzung dieses Manuals

Zu diesem Handbuch

Dieses Handbuch wurde gleichzeitig als Tutorial wie auch als Referenzhandbuch für das Leica TCS SP2 konzipiert und richtet sich ebenso an den unerfahrenen wie auch an den erfahrenen Benutzer. Falls Sie noch keine Erfahrung mit diesem Gerät haben, sollten Sie mit dem Kapitel "Arbeiten mit der LCS-Software" beginnen, die Software einige Zeit lang verwenden und anschließend die übrigen Kapitel des Handbuchs lesen. Erfahrene Benutzer können die Kapitel, das Inhaltsverzeichnis und den Index durchsehen, wenn sie Erläuterungen zu einem bestimmten Thema wünschen.

Dieses Handbuch erläutert auch, wie die Leica Confocal-Software und das Leica Mikroskop interagieren.

Wie dieses Handbuch verwendet wird

Wir empfehlen Ihnen, dieses Handbuch nicht nur zu lesen, sondern es als Arbeitsbuch zu verwenden. Darüber hinaus können Sie es als Tutorial einsetzen, um sich mit der Leica Confocal-Software vertraut zu machen. Es erläutert eine ganze Reihe von Aufgaben und ihre Ausführung. Gehen Sie die Anweisungen schrittweise durch, um einen möglichst großen Lernerfolg zu erzielen. Anweisungen zum Ausführen bestimmter Aufgaben sind in diesem Handbuch durch eine andere Überschrift kenntlich gemacht.

Ausführen von Aufgaben

Nach der einleitenden Überschrift wird Ihnen entweder die Vorgehensweise zum Ausführen der gewünschten Aufgabe erläutert (d.h. durch schrittweise Anleitungen), oder es werden Ihnen verschiedene Optionen aufgezeigt, unter denen Sie wählen können:

1. Numerierte Absätze wie dieser enthalten schrittweise Anleitungen. Befolgen Sie sie, um die Funktionsweise der Tools zu lernen.
2. Wenn mehrere Menübefehle nacheinander auszuwählen sind, erscheint zwischen den einzelnen Menübefehlen ein Pfeil: **File** → **Save** bedeutet beispielsweise, dass Sie auf File (Datei) klicken und in dem angezeigten Pulldown-Menü die Option Save (Speichern) auswählen sollen.

In der Regel wird eine Abfolge von Schritten angegeben. Führen Sie den oder die angegebenen Schritte aus, um die gewünschte(n) Aktion(en) auszulösen.

Wir empfehlen Ihnen, dieses Handbuch noch einmal durchzulesen, nachdem Sie bereits eine Weile mit dem Leica TCS SP2 gearbeitet haben. Sie werden beim zweiten Lesen auf nützliche Funktionen stoßen, die Sie beim ersten Mal übersehen haben.

Online-Hilfe

Das Leica TCS SP2 ist mit einem kontextsensitiven Hilfesystem ausgestattet, das Ihnen die verschiedenen Funktionen des Systems erläutert.

So suchen Sie über das Inhaltsverzeichnis der Online-Hilfe nach bestimmten Hilfethemen:

Klicken Sie auf **Help** → **Contents**. Die Online-Hilfe wird aufgerufen und zeigt das Dialogfeld CONTENTS (Inhalt) an. Dieses Dialogfeld enthält das Inhaltsverzeichnis in Form eines Verzeichnisbaumes, der expandiert oder reduziert werden kann. Doppelklicken Sie auf einen Eintrag des Inhaltsverzeichnisses, um die entsprechenden Informationen anzuzeigen.

So suchen Sie mittels eines Stichworts nach bestimmten Hilfethemen:

Klicken Sie auf **Help (Hilfe)** → **Index**. Die Online-Hilfe wird aufgerufen und zeigt das Dialogfeld INDEX (Index) an. Geben Sie den Begriff ein, nach dem Sie suchen möchten. Die Online-Hilfe zeigt Ihnen das Stichwort an, das dem angegebenen Begriff am ähnlichsten ist.

So suchen Sie mittels der Volltextsuche nach bestimmten Hilfethemen:

Klicken Sie auf **Help (Hilfe)** → **Search (Suchen)**. Die Online-Hilfe wird aufgerufen und zeigt das Dialogfeld SEARCH (Suchen) an. Geben Sie den Begriff oder Ausdruck ein, nach dem Sie suchen möchten, und klicken Sie auf die Schaltfläche LIST TOPICS (Themen anzeigen). Es wird Ihnen nun eine hierarchisch gegliederte Liste der Themen angezeigt. Rechts neben dem Feld, in das Sie den Begriff oder Ausdruck eingeben haben, befindet sich ein Menü, in dem Sie die Volltextsuche unter Verwendung von booleschen Operatoren durchführen können.

Neu in der Beschreibung der Einzelfunktionen

3D-Projektionen und Animationen von Bildserien (Kapitel Datenverarbeitung, Seite 121)
Akusto-optischen Strahlteiler (AOBS) einstellen (Kapitel Datenaufnahmefunktionen, Seite 121)
Arithmetische und Boolesche Operationen (Kapitel Datenverarbeitung, Seite 191)
Konvertierung der Bitauflösung von Bildern (Kapitel Datenverarbeitung, Seite 196)
Verbinden oder Trennen von Bildausschnitten, Bildern und Bildserien (Kapitel Datenverarbeitung, Seite 197)
Einstellen von Helligkeit, Kontrast und Gammakorrektur (Kapitel Datenverarbeitung, Seite 201)
Erweiterter Fokus durch Projektionen von Bildstapeln auf ein Einzelbild (Kapitel Datenverarbeitung, Seite 204)
Lineare Filter und Morphologische Filter (optional) (Kapitel Datenverarbeitung, Seite 206)
Nivellieren und Filtern von Oberflächenaufnahmen (optional) (Kapitel Datenverarbeitung, Seite 212)
Reduzieren von optischem Übersprechen zwischen Detektionskanälen (Kapitel Datenverarbeitung, Seite 216)
Segmentierung von Bildstrukturen (optional) (Kapitel Datenverarbeitung, Seite 218)
Aufnahmen als Miniaturansicht im Experiment Browser anzeigen (Kapitel Datendarstellung, Seite 155)
Funktionen über die Bedienkonsole steuern (Kapitel Benutzerspezifische Anpassungen, Seite 240)
XY-Objektisch steuern (Kapitel Datenaufnahme, Seite 150)

Konfokale Bildgebung

Was ist konfokale Mikroskopie?

Bereits 1953 in der Planungsphase, hat sich die konfokale Laser Scanning Mikroskopie erst in den vergangenen 10 Jahren zu einer in der Praxis häufig eingesetzten Technik entwickelt. Heute kommt sie in der biologischen Forschung, chemischen Analyse und Materialprüfung bevorzugt zum Einsatz. Ein Gerät dieser Art vereint in sich die Ergebnisse jahrelanger Forschung und Entwicklung in vielen verschiedenen Bereichen: Mikroskopie, Lasertechnologie und Optik für kohärentes Licht, Videotechnologie, Elektronik und Computertechnologie.

In der konfokalen Mikroskopie werden Strukturen erkannt, indem das von einer Probe emittierte oder reflektierte Licht aus einer einzigen Fokalebene gebündelt und sämtliches Licht, das nicht aus dieser Ebene stammt, unterdrückt wird.

Bei einem konfokalen Punktscanner fokussieren die Linsen des Mikroskops das Laserlicht auf einen einzelnen Punkt der Probe (der **Fokalpunkt**). Der Laser tastet die Probe nun Punkt für Punkt ab und erzeugt so das gescannte Bild. Fluoreszenzlicht und Reflexionslicht der Probe werden durch das Objektiv zurückgeleitet.

Das Mikroskop und das optische System des Scan-Moduls fokussieren das vom Fokalpunkt emittierte Licht auf einen zweiten Punkt, den **Konfokalfunkt**. Durch die am Konfokalfunkt befindliche winzige Öffnung (sog. Pinhole), kann das Licht vom Fokalpunkt in den Detektor gelangen. Außerfokales Licht gelangt nicht durch die Öffnung.

Das konfokale Prinzip wird für die Epifluoreszenzmikroskopie schematisch dargestellt.

Wie bei konventionellen Epifluoreszenzmikroskopen wird eine Linse ebenso als Kondensor wie auch als Objektiv verwendet. Der große Vorteil ist, dass die Notwendigkeit, zwei Linsen exakt miteinander abzugleichen und gemeinsam auszurichten, entfällt. Ein kollimierter und polarisierter, durch eine Apertur geleiteter Laserstrahl wird von einem Strahlenteiler (einem dichroitischen Spiegel) in den hinteren Teil der Objektivlinse reflektiert und auf die Probe fokussiert. Das von der Probe zurückreflektierte Licht wird durch dieselbe Linse zurückgeleitet. Der Lichtstrahl wird durch das Pinhole (d.h. die Konfokalöffnung) fokussiert, um auf diese Weise alles außerfokale Licht, d.h., Licht, das von anderen Bereichen der Probe unterhalb oder oberhalb der Fokalebene abgegeben wird, zu unterdrücken. Das Volumen der optischen Schnitte, hängt von verschiedenen Parametern wie dem (variablen) Durchmesser der Öffnung und der Wellenlänge ab. Die innerfokalen Daten jedes Punktes auf der Probe werden von einem lichtempfindlichen Detektor (z.B. einer Photodiode), der hinter der Konfokalöffnung angeordnet ist, aufgezeichnet. Das analoge Ausgangssignal wird digitalisiert und an einen Computer weitergeleitet.

Bei dem Detektor handelt es sich um einen Punktdetektor, der nur das Licht von einem Punkt der

Probe empfängt. Daher kann mit dem konfokalen Mikroskop - im Gegensatz zum konventionellen Mikroskop, bei dem ein größerer Bereich der Probe zu sehen ist - zu einem Zeitpunkt immer nur ein Punkt der Probe beobachtet werden. Ein Gesamtbild der Probe ergibt sich daher erst durch das punktweise Abtasten der Probe, wobei entweder der Lichtpunkt oder die Probe verschoben wird. Diese beiden Möglichkeiten haben zu der Entwicklung von zwei unterschiedlichen Typen von konfokalen Mikroskopen geführt:

Mikroskope mit beweglichem Objektstisch (Stage-scanning): Der Objektstisch mit der Probe wird nach jeder angefertigten Aufnahme ein Stück weitergefahren, während das optische System bei diesem Scannen stehen bleibt.

Mikroskope mit Strahlen- oder Spiegeltechnik: Der Lichtpunkt wandert über die feststehende Probe und tastet sie mit Hilfe von kleinen, schnellen, mit Galvanometern betriebenen Spiegeln, wie sie von LEICA verwendet werden, Punkt für Punkt ab.

Das LEICA TCS SP2-System ermöglicht es, eine einzelne Fokalebene wie auch eine ganze Reihe von Ebenen – horizontal oder vertikal – abzubilden. Ein einziger vertikaler Schnitt, oder xz-Scan, ermöglicht eine Seitenansicht der Probe.

Wird eine Abfolge von optischen Schnitten durch die Probe zu einem Bildstapel zusammengesetzt und anschließend digital verarbeitet, hat das den Vorteil, dass aus diesem mehrdimensionalen Datensatz entweder ein berechnetes zweidimensionales Bild (Projektion) erstellt oder eine verkleinerte 3D-Darstellung der Probe auf einem geeigneten Computer erzeugt werden kann.

Optisches Auflösungsvermögen

Der Begriff Auflösung bezieht sich auf die Fähigkeit, feinste Details in einer Struktur zu unterscheiden. Bei einem idealen Mikroskop wäre das optische System vollkommen frei von jeder Art von Aberration. In einem solchen hypothetischen Instrument würde das Auflösungsvermögen lediglich durch die Beugung begrenzt. Man kann dies ausdrücken als den kleinsten Abstand zwischen zwei Punkten in einer Probe, bei dem sie noch immer als zwei getrennte Punkte gesehen werden (Rayleighkriterium). Über diese Grenze hinaus verschmelzen die beiden Punkte miteinander (d.h. ihre Beugungsscheibchen überlappen ganz oder teilweise) und können nicht mehr als zwei unterschiedliche Punkte erkannt werden. Dieser Abstand lässt sich aus der Größe Beugungsbildes eines unendlich kleinen Punktes der Probe berechnen. Er entspricht dem Radius des ersten Minimums in diesem Beugungsbild. Dies wiederum hängt mit den numerischen Aperturen des Objektivs und des Kondensors zusammen. Die numerische Apertur wird durch den Brechungsindex der Linse und die Größe des Lichtkegels definiert, der eindringen kann.

Analog zu der oben geführten Argumentation kann die axiale Auflösung definiert werden als der Radius des ersten Minimums entlang der Mikroskopachse des Beugungsbildes eines Punktobjekts. Entsprechend der Theorie für derartige 3D-Beugungsbilder, ist das optische Auflösungsvermögen entlang der z-Achse um den Faktor 2 geringer als das laterale optische Auflösungsvermögen. Die optische Auflösung entlang der z-Achse beträgt damit etwa die Hälfte der Auflösung innerhalb der Fokalebene.

Bei dem LEICA TCS SP2-Mikroskop handelt es sich um ein echtes Punkt-Scanning-System mit extrem hoher Empfindlichkeit und theoretischer x-, y- und z-Auflösung, das keine Kompromisse eingeht.

Die Scan-Auflösung bezieht sich auf die Bildschärfe, die durch Anzahl und Größe der Pixel bestimmt wird. Je größer die Anzahl Pixel und je größer das Scanformat gewählt wird, um so leichter können zwei nah beieinander liegende Objekte unterschieden werden. Die Scan-Auflösung ist auf das maximale optische Auflösungsvermögen beschränkt.

Detektion

Das konfokale Abbilden, genauer, das Messen der optischen Eigenschaften sehr kleiner Mengen einer Probe, wird nicht nur durch die optische Qualität des Mikroskops beschränkt. Andere Beschränkungen sind:

- Kontinuierliche Proben werden (aufgrund von Probenentnahme und digitaler Verarbeitung) nur in getrennten kleinen Probemengen gemessen.
- Die Exaktheit mit der diese kleinen Mengen definiert sind, wird durch den Scan-Mechanismus bestimmt.
- Die Stärke der Lichtquelle in Relation zum Reflexionsvermögen der Probe.
- Die Empfindlichkeit und das Rauschen des Detektors.

Auch der Detektor ist eine zentrale Komponente im konfokalen Mikroskop. Aufgrund ihres sehr hohen Signal-zu-Rauschverhältnisses, setzt LEICA Microsystems Heidelberg Photomultiplier als Detektoren ein.

Bildbearbeitung

Bei den ersten konfokalen Mikroskopen war der Detektor an ein Oszilloskop mit nachleuchtendem

Phosphor angeschlossen, und das Bild wurde so angezeigt, wie es gescannt wurde. In den heutigen Geräten wird das Signal zunächst digital verarbeitet und dann von einem Computer aufgezeichnet. Dadurch besteht nun die Möglichkeit, das angezeigte Bild auf vielfache Weise zu verändern.

Folgende Möglichkeiten bestehen:

- Verstärken der Kontraste durch Schwellwerte, lineare Kontraststreckung und Gammakorrektur (Kursenverlauf des Bildintensitätswertes vs. graphische Darstellung der Quellenintensität).
- Doppelbelichtung von Bildern in Experimenten.
- Digitales Filtern zum Vergrößern von Kanten, zum Glätten, Entstören etc.
- Rekonstruktion von 3D-Ansichten mit Hilfe von zu Bildstapeln zusammengesetzten optischen Schnitten. Dies ermöglicht beispielsweise, die Rekonstruktion eines Bildes einer xz-Ebene anhand von Bildstapeln von xy-Ebenen. Zudem können vollständige 3D-Modelle der Probe erstellt und aus jeder beliebigen Richtung untersucht werden.
- Zusammenstellung von digitalen Filmen anhand von mit dem Mikroskop aufgenommenen Zeitserien.
- Quantisierung und Messungen

Diese Art der Bildbearbeitung erhöht nicht die Qualität der gesammelten Daten; sie dient jedoch dazu, die Sicht zu verbessern und die qualitative Interpretation der Daten zu erleichtern.

Lichtquelle

Laser eignen sich in der konfokalen Mikroskopie hervorragend als Lichtquellen, da sie sehr helles Licht abgeben und der Strahl nur eine geringe Abweichung aufweist. Darüber hinaus sind sie sehr einfach zu fokussieren und stabil in der Intensität. Gerade diese Stabilität ist bei quantitativen Messungen von Bedeutung.

Integration

Das Leica TCS SP2 wurde als ganzheitliches System konzipiert. Alle optischen und mechanischen Elemente arbeiten nahtlos mit der Computer-Hardware und -Software zusammen. Die dazugehörige Leica Confocal Software unterstützt den gesamten Prozeß der Bilderstellung, angefangen beim optischen Schneiden über die Bildverarbeitung und -analyse (die Hauptanwendung in der Software) bis hin zum Ausdrucken des erstellten Bildes auf einem Drucker.

Hilfe über das Internet

Bitte wenden Sie sich bei Problemen zuerst an Ihre Leica-Niederlassung oder Ihren Leica-Vertragshändler vor Ort.

Falls Sie Informationen zu Leica Microsystems Heidelberg GmbH und zur konfokalen Mikroskopie wünschen, erhalten Sie diese auf unserer Website unter

<http://www.confocal-microscopy.com>

Oder senden Sie uns eine E-Mail an lit.support@leica-microsystems.com.

Rechtliche Hinweise

Version 2.1, 20.02.02, Hergestellt in der Bundesrepublik Deutschland.
© Copyright 2001/2002, Leica Microsystems Heidelberg GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

Diese Publikation darf ohne die ausdrückliche Genehmigung der Leica Microsystems Heidelberg GmbH weder ganz noch teilweise auf elektronischem oder mechanischem Weg reproduziert oder weitergegeben werden. Dies schließt auch das Fotokopieren, Aufzeichnen oder Speichern auf einem abrufbaren System sowie die Übersetzung in eine andere Sprache ein.

EIGENTÜMERRECHTE

Die in diesem Dokument enthaltenen Daten sind Eigentum der Leica Microsystems Heidelberg GmbH und stehen ausschließlich den Kunden dieses Unternehmens zu ihrer Sicherheit sowie für einen effizienten Betrieb und die korrekte Wartung des hierin beschriebenen Produktes zur Verfügung. Die Verwendung oder Weitergabe von Daten, die Eigentum der Leica Microsystems Heidelberg GmbH sind, mit dem Zweck, sie zur Herstellung oder Reproduktion des hierin beschriebenen Produktes oder eines ähnlichen Produktes zu verwenden, ist verboten, und die Aushändigung dieses Dokumentes stellt auch keinerlei Lizenz oder implizite Genehmigung dazu dar.

ÜBERARBEITUNGEN UND VERÄNDERUNGEN

Leica Microsystems Heidelberg GmbH behält sich das Recht vor, dieses Dokument zu überarbeiten und/oder die hierin beschriebenen Produkte jederzeit und ohne vorherige Ankündigung oder sonstige Verpflichtung weiterzuentwickeln und zu verbessern. Die Informationen und technischen Spezifikationen in diesem Handbuch können jederzeit und ohne vorherige Ankündigung geändert werden.

GARANTIE

Leica Microsystems Heidelberg GmbH stellt diese Publikation ohne Mängelgewähr und ohne Gewähr jedwelcher Art, weder explizit noch implizit, einschließlich aber nicht beschränkt auf die implizite Gewähr der Handelbarkeit oder der Eignung für einen bestimmten Zweck, zur Verfügung. Bei der Erstellung dieses Dokumentes wurden alle angemessenen Sicherheitsmaßnahmen getroffen, einschließlich der Durchführung einer Überprüfung der technischen wie nichttechnischen Aspekte. Leica Microsystems Heidelberg GmbH übernimmt keinerlei Gewähr für eventuelle Fehler oder Auslassungen. Ebenso ist Leica Microsystems Heidelberg GmbH nicht verantwortlich für direkte, zufällige oder Folgeschäden, die sich aus der Verwendung des in diesem Dokument enthaltenen Materials ergeben können.

SCHUTZMARKEN UND WARENZEICHEN

In diesem Handbuch werden Warenzeichen genannt. Statt der Anbringung eines Warenzeichensymbols (™) an jedem genannten Warenzeichen erklären wir hiermit, dass wir diese Namen lediglich in redaktioneller Art und Weise und - zum Nutzen des Warenzeicheninhabers - ohne die Absicht einer Warenzeichenverletzung verwenden.

SICHERHEIT



Die verwendeten Begriffe der Lasersicherheitsklasse beziehen sich auf das Normenwerk EN 60825-1. Für den Geltungsbereich der CDRH ist im Text die Laserklasse 4 durch IV, die Laserklasse 3B durch IIIb, die Laserklasse 3A durch III A, die Laserklasse 2 durch II sowie die Laserklasse 1 durch I zu ersetzen.

Dieses Gerät wurde konzipiert und hergestellt, um die geltenden Leistungsnormen für Laserprodukte der Klasse 3B zu erfüllen, wie sie durch die Normen und Vorschriften der USHHS CDRH/FDA, OSHA und EN definiert werden, die zum Zeitpunkt der Herstellung als gültig bekannt waren.

Da nicht jede mögliche Gefahrensituation vorausgesehen werden kann, obliegt es dem Anwender, bei Installation, Betrieb und Wartung des Produktes sorgfältig und mit gesundem Menschenverstand vorzugehen und alle geeigneten Sicherheitsmaßnahmen zu treffen, die für Laser der Klasse 3B sowie für elektrische Hochspannungsgeräte gelten.

Es empfiehlt sich nicht, von den veröffentlichten Betriebs- oder Wartungsvorgängen abzuweichen. Jegliches Abweichen von den vorgegebenen Betriebs- und Wartungsvorgängen geschieht ausschließlich auf Risiko des Benutzers.

SOFTWARELIZENZ

Die in diesem Dokument beschriebene Software unterliegt einer Lizenzvereinbarung, die im Produkt eingeschlossen ist. Diese Vereinbarung erläutert die Bedingungen, unter denen die Verwendung des Produktes erlaubt bzw. verboten ist.

Sicherheitshinweise

Der folgende Abschnitt erläutert die standardmäßigen Sicherheitsmaßnahmen, Warnungen und Sicherheitshinweise.

Allgemeine Sicherheitsanweisungen

Ihre Sicherheit steht an erster Stelle. Lesen und beachten Sie daher alle in diesem Handbuch sowie die auf dem Gerät angebrachten Warnungen und Sicherheitshinweise, bevor Sie Leica-Geräte in Betrieb nehmen. Wenn Sie die Sicherheitswarnungen und Sicherheitshinweise nicht beachten, kann dies zu schwerer Körperverletzung sowie zu erheblichem Sachschaden am Gerät und an den Daten führen.

Übernahme des Risikos für den Betrieb der Geräte

Der Bediener oder Eigentümer des Produktes übernimmt das Risiko für den Betrieb des Gerätes. Der Eigentümer oder Bediener ist voll haftbar für alle Folgen, die sich ergeben können, wenn das Gerät von anderen als autorisierten Leica-Kundendienstmitarbeitern geöffnet wird, wenn es nicht ordnungsgemäß gewartet oder repariert wird oder wenn es zu anderen als den in der begleitenden Dokumentation oder der Online-Hilfe genannten Zwecken eingesetzt wird. Leica Microsystems Heidelberg GmbH haftet für keinerlei Schäden, die aus der Nichtbeachtung der oben genannten Informationen resultieren. Die oben genannten Informationen modifizieren in keiner Weise, weder implizit noch explizit, die Gewährleistungs- und Haftungsklauseln, die in den allgemeinen Geschäftsbedingungen der Leica Microsystems Heidelberg GmbH enthalten sind.

Warnhinweise, Sicherheitshinweise und Hinweise

Die in diesem Handbuch enthaltenen Warnhinweise, Sicherheitshinweise und Hinweise sind wie folgt gekennzeichnet.



Eine solche **Warnung** macht Sie auf einen Betriebsvorgang, ein Verfahren, eine Bedingung oder eine Anweisung aufmerksam, die strikt beachtet und eingehalten werden muss, da andernfalls Gefahr für Leib und Leben der Personen besteht, die mit dem Gerät arbeiten.



Ein solcher **Sicherheitshinweis** macht Sie auf einen Betriebsvorgang, ein Verfahren, eine Bedingung oder eine Anweisung aufmerksam, die strikt beachtet und eingehalten werden muss, da es andernfalls zu schwerem Sachschaden am Gerät oder den Daten oder zu einem Datenverlust kommen kann.



Hinweise enthalten entweder zusätzliche Informationen zu einem bestimmten Thema oder besondere Anweisungen zur Handhabung des Produktes unter einer bestimmten Bedingung oder einer Kette von Umständen.

Besondere Bedingungen des Aufstellortes

Wenngleich die Einhaltung der Grenzwerte bezüglich der Emission elektromagnetischer Strahlung (EMV) durch dieses Gerät getestet wurde, kann ein Restrisiko der Beeinflussung anderer Geräte nicht ausgeschlossen werden.



Dieses Gerät darf nicht in einem Raum mit medizinischen Geräten, die der Lebenserhaltung dienen, aufgestellt werden.



Vor jeder Ortsänderung des Konfokalsystems, sollte dieses gründlich gereinigt werden. Gleiches gilt auch für die Entfernung von Teilen. Dies betrifft insbesondere Systeme, die sich in biologisch-medizinischen Forschungslabors befinden.

Dies ist nötig, um eine evtl. vorliegende Kontamination zu beseitigen und damit eine Verschleppung gefährlicher Substanzen und Erreger und eine damit einhergehende Gefährdung von Personen zu vermeiden. Achten Sie dabei nicht nur auf Oberflächen sondern insbesondere auch auf Ventilatoren und Kühleinrichtungen, da sich dort besonders häufig Staub ansammeln kann.



Die Benutzung des Gerätes zu anderen als den angegebenen Zwecken sowie das nichtautorisierte Öffnen des Gerätes kann zu einer Gefährdung durch elektrische Spannung sowie durch Laserstrahlung führen.



Die verwendeten Begriffe der Lasersicherheitsklasse beziehen sich auf das Normenwerk EN 60825-1. Für den Geltungsbereich der CDRH ist im Text die Laserklasse 4 durch IV, die Laserklasse 3B durch IIIb, die Laserklasse 3A durch III A, die Laserklasse 2 durch II sowie die Laserklasse 1 durch I zu ersetzen.

Laser-Klasse

Dieses Gerät wurde konzipiert und hergestellt, um die Leistungsnormen für Laser-Einrichtungen der Klasse 3B zu erfüllen, wie sie durch die Normen und Vorschriften der USHHS, CDRH/FDA, OSHA, EN 60825-1 und Unfallverhütungsvorschriften VBG 93 definiert wurden, die zum Zeitpunkt der Herstellung gültig waren.

Da nicht alle möglichen Gefahrensituationen vom Hersteller vorhersehbar sind, obliegt es dem Anwender, bei Installation, Betrieb und Wartung des Produktes sorgfältig und mit gesundem

Menschenverstand vorzugehen und alle geeigneten Sicherheitsmaßnahmen zu treffen, die für Laser der Klasse 3B sowie für elektrische Hochspannungsgeräte gelten. Abweichen von den vorgegebenen Betriebs- und Wartungsvorgängen geschieht ausschließlich auf Risiko des Benutzers. Das Leica TCS SP2 ist harmlos sofern es gemäß den Anweisungen verwendet wird



Für die Einhaltung der geltenden Sicherheitsbestimmungen ist der Betreiber verantwortlich. Aus Sicherheitsgründen ist der Aufenthalt im Laserbereich nur eingewiesenem Leica Servicepersonal zulässig.

Technische Sicherheitsmaßnahmen

Gemäß den Verordnungen zur Laser-Sicherheit, EN 60825 (europäische Norm) und CDRH (US-Norm), ergreift Leica Microsystems Heidelberg GmbH verschiedene Sicherheitsmaßnahmen. Warnetiketten wurden an allen Öffnungen oder entfernbaren Teilen angebracht, an denen es möglicherweise zu einem Austritt von Laserlicht kommen kann. Darüber hinaus wurden mehrere **Laser-Sicherheitsschalter** montiert.

Beachten Sie die Vorgabe der Norm EN 60825-1: "Sicherheit von Laser-Einrichtungen, Teil 1. Geräteklassifikation, Anforderungen und Benutzerhandbuch", wonach für Installationen, in denen Geräte der Klasse 3B verwendet werden, ein Beauftragter für Laser-Sicherheit (Laser Safety Officer) oder ein Laserschutz-Berater (Laser Protection Advisor) zu ernennen ist. Es liegt in der Verantwortung des Betreibers, geeignete Kontrollen für den Einsatz des Gerätes festzulegen und diese zu überarbeiten.



Sehen Sie niemals direkt in einen Laserstrahl oder eine Reflexion des Laserstrahls. Setzt man sich einem Laserstrahl aus, kann dies das Sehvermögen irreparabel schädigen. Ein reflektierter Laserstrahl ist ebenso intensiv wie ein direkter Strahl.

Der Benutzer ist jederzeit für den sicheren Betrieb und die sichere Wartung dieses Gerätes verantwortlich. Die Einstufung als Laser-Einrichtung der Klasse 3B und die Erfüllung der Vorschriften zur elektrischen Sicherheit ist nur dann gewährleistet, wenn alle Sicherheitsvorrichtungen, -verriegelungen und -systeme zum Einschließen des Lasers in betriebsbereitem Zustand sind und arbeiten. Durch deaktivierte oder beschädigte Sicherheitsvorrichtungen oder -systeme das Personal einer Laserstrahlung der Klasse 3B ausgesetzt werden die stark genug ist, um schwere Augenverletzungen, Verbrennungen oder Sachschäden zu verursachen.

Jeglicher Eingriff in eines der Sicherheitssysteme und/oder einer der Sicherheitsverriegelungen oder jegliche Deaktivierung eines der Sicherheitssysteme und/oder einer der Sicherheitsverriegelungen hat zur Folge, dass der Garantieanspruch verfällt.

Anschlusskabel

Das im Lieferumfang Ihres Gerätes enthaltene Set von Anschlusskabeln erfüllt die Anforderungen des Landes, in dem Sie das Gerät erworben haben. Falls Sie das Gerät in einem anderen Land einsetzen, müssen Sie Anschlusskabel verwenden, die die Anforderungen des entsprechenden Landes erfüllen.

Folgende Beschaltung ist vom Hersteller vorgeschrieben:

Das Anschlusskabel des Mikroskops muss in die mitgelieferte Steckerleiste eingesteckt werden. Falls eine Hg-Hochdrucklampe verwendet wird, so sollte diese an einem separaten Netzanschluss angeschlossen werden. Dies verhindert, dass sie ständig gemeinsam mit dem Steuerrechner und der Scanelektronik ein- und ausgeschaltet wird und erhöht somit die Lebensdauer der Beleuchtungsquelle.



Dieses Gerät wurde für den Anschluss an eine geerdete Steckdose konzipiert. Der Erdungsstecker ist eine wichtige Sicherheitsfunktion. Um Risiken wie elektrische Schläge oder Sachschäden zu mindern, darf diese Funktion nicht deaktiviert werden.



Um Risiken wie Brandgefahr und elektrische Schläge zu mindern, darf das Gerät niemals Regen oder Feuchtigkeit ausgesetzt werden. Öffnen Sie auf keinen Fall das Gehäuse. Die gesamte Wartung darf ausschließlich von einem von Leica autorisierten Techniker ausgeführt werden.

Es darf keinerlei Flüssigkeit in das Gerätegehäuse eindringen, noch dürfen die elektrischen Komponenten mit Flüssigkeit in Kontakt kommen. Das Gerät muss vollständig trocken sein, bevor Sie es an das Stromnetz anschließen oder es einschalten.

Allgemeine Sicherheitshinweise

In Übereinstimmung mit den allgemeinen Sicherheitsverordnungen sowie den Sicherheitsverordnungen bezüglich Lasergeräte sollten Sie folgende Anweisungen befolgen:

Beachten Sie die Anweisungen für den Betrieb des Gerätes!

Verwenden Sie dieses Produkt nur gemäß den in diesem Handbuch sowie in der Online-Hilfe der Leica Confocal Software enthaltenen Informationen. Lesen Sie erst alle Anweisungen für den Betrieb des Gerätes sorgfältig durch, bevor Sie das System starten. Als Vorbereitung auf die einzelnen von Ihnen auszuführenden Arbeitsschritte sollten Sie sich immer zuerst die entsprechende Beschreibung der Funktion in der Online-Hilfe durchlesen und vor allem die Sicherheitsvorschriften beachten, die die Handhabung des Systems betreffen. Eine Übersicht über die einzelnen Funktionen finden Sie im Inhaltsverzeichnis der Online-Hilfe.

Verwenden Sie dieses Produkt ausschließlich für die in diesem Handbuch sowie in der Online-Hilfe der Leica Confocal Software beschriebenen Zwecke.

Das System wurde für das Erstellen von konfokalen Laser Scan-Bildern und quantitativen Messungen im Bereich der Werkstoffkunde ausgelegt. Jeglicher Einsatz des Leica TCS SP2 zu anderen Zwecken oder in anderen Anwendungen gilt als unsachgemäßer und unzulässiger Gebrauch. Der Benutzer übernimmt das volle Risiko für alle Experimente, die mit diesem System durchgeführt werden, sowie

für die Folgen, die sich aus diesen Experimenten ergeben. Dies gilt vor allem dann, wenn das Gerät vom Benutzer geöffnet oder modifiziert wurde.

Befolgen Sie die Wartungsanweisungen.

Bitte lesen Sie hierzu das Kapitel 'Pflege und Reinigung' in diesem Handbuch durch.

Führen Sie an dem Gerät keine Eingriffe durch, die nicht in diesem Handbuch oder nachträglich zugestellter Handbuchergänzungen beschrieben sind.

Ausschließlich von Leica Microsystems Heidelberg GmbH autorisierten Kundendiensttechnikern ist es erlaubt, Reparaturen und Serviceeingriffe auszuführen.

Schließen Sie an das Produkt nur solche elektrischen Geräte an, die in dieser Begleitdokumentation genannt werden. Schließen Sie niemals andere, in dieser Dokumentation nicht genannte Geräte an.

Wenden Sie sich bitte, bevor Sie an das Produkt irgendeines dieser Geräte anschließen, an Ihre Leica-Serviceagentur vor Ort oder direkt an Leica Microsystems Heidelberg GmbH.

Verwenden Sie keinen Mikroskopkondensor S70.

Durch den großen Arbeitsabstand und die geringe numerische Apertur des S70-Kondensors, könnte es im ungünstigen Fall unter Umgehung von Sicherheitshinweisen (siehe "Besondere Sicherheitshinweise für Benutzer) zu einer unzulässig hohen Laserstrahlenbelastung kommen. Verwenden Sie daher nur die Leica Kondensoren S1 und S23.

Besondere Sicherheitshinweise für Benutzer

Leica Microsystems Heidelberg GmbH hat durch spezielle Sicherheitsmaßnahmen gemäß verschiedenen Sicherheitsverordnungen alles nur mögliche unternommen, um die Sicherheit des Benutzers zu maximieren und Gesundheitsrisiken zu minimieren.

Der Benutzer hat das TCS SP2 gemäß den Anweisungen zu betreiben, um seine eigene Sicherheit zu gewährleisten. Im folgenden werden verschiedene wichtige Punkte aufgeführt:

Objektive niemals während eines Scan-Vorgangs austauschen

So tauschen Sie Objektive korrekt aus:

Vergewissern Sie sich, dass der Scan-Modus ausgeschaltet ist. Stellen Sie sicher, dass sich kein Laserlicht in der Fokalebene befindet.

Drehen Sie den Objektivrevolver, so dass sich das auszutauschende Objektiv außerhalb der optischen Achse befindet und nach außen zeigt. Gehen Sie vorsichtig vor und üben Sie keine Kraft auf den Objektivrevolver aus, da dies bei Objektivscannern dauerhaft zu einer Verminderung der Auflösung führen kann.

Schrauben Sie das neue Objektiv ein, und drehen Sie den Objektivrevolver, so dass es wieder innerhalb der optischen Achse zu liegen kommt.

Alle unbenutzten Positionen auf dem Objektivrevolver sind mit einer Abdeckung zu versehen!

Niemals während des Scan-Vorgangs Objekte in den Strahlengang des Lasers halten!

Legen Sie die Probe ordnungsgemäß in den Probenhalter!

Niemals die Probe während eines Scan-Vorgangs austauschen!

So tauschen Sie die Probe korrekt aus:

Vergewissern Sie sich, dass der Scan-Modus ausgeschaltet ist. Stellen Sie sicher, dass sich kein Laserlicht in der Fokalebene befindet. Schließen Sie die Sicherheitsklappe am Tubus.

Tauschen Sie nun die Probe aus.

Laser-Sicherheit

Bei dem Begriff 'LASER' handelt es sich um ein aus **L**ight **A**mplification by **S**timulated **E**mission of **R**adiation gebildetes Kunstwort. Der erste Laser wurde 1960 vorgestellt und arbeitete mit einem Rubin als Lasermedium. Laser werden mittlerweile in sehr vielen verschiedenen Bereichen eingesetzt, in der Chirurgie ebenso wie bei Strichcodelesern an Supermarktkassen, in Laser Pointern, Laserdruckern oder in CD-Spielern.

Laser können einen sehr intensiven und sehr feinen (kollimierten) Strahl elektromagnetischer

Strahlung in einem Wellenlängenbereich von 150 nm bis 1 mm erzeugen. Diese Strahlung zeigt sich in der Regel in Form eines sehr intensiven Lichts. Da es sich beim Laserlicht nicht um einen ionisierenden Strahlungstyp handelt, verläuft die Interaktion mit Materie in der Regel an der Oberfläche. Das Auge und die Haut sind Organe, die sehr empfindlich reagieren, wenn sie der Laserstrahlung ausgesetzt werden. Die Auswirkungen der Laserstrahlen auf diese beiden Organe variieren dabei und hängen vom Typ des Lasers (Wellenlänge der Strahlung) und der Leistung des Strahls ab. Eine Laserenergie mit entsprechender Wellenlänge und Leistung kann von der Linse des Auges auf die Retina fokussiert werden und dort zu schweren, irreparablen Verletzungen führen. Wenn die Leistung der Laserstrahlung hoch genug ist, kann es, wenn Gliedmaßen oder andere Körperteile dem Laserstrahl ausgesetzt werden, zu Verbrennungen der Haut kommen. Die nachfolgende Tabelle faßt die verschiedenen Bereiche des von Lasern produzierten elektromagnetischen Spektrums zusammen und zeigt auf, welche Organe beim Kontakt mit dem Laserstrahl gefährdet sind.

Spektralbereich	Wellenlänge	Betroffenes Organ
	UV-C 100 nm bis 280 nm	Vollständig absorbiert von Kornea und Konjunktiva
Ultraviolett	UV-B 280 nm bis 320 nm	Fast vollständig absorbiert von Kornea (Hornhaut) und Konjunktiva (Bindehaut)
	UV-A 320 nm bis 380 nm	Linse (Linsentrübung)
Sichtbar	380 nm bis 760 nm	Retina (Netzhaut)
	IR-A 760 nm bis 1400 nm	Retina, Linse, Haut
Infrarot	IR-B 1400 nm bis 3000 nm	Kornea und Haut
	IR-C 3000 nm bis 10^6 nm	Kornea und Haut

Lasers werden häufig nach Art des Lasermediums gekennzeichnet. Die Unterteilung in Laser-Gefahrenklassen richtet sich nach der/den Wellenlänge(n), der maximalen Dauer der Bestrahlung und der durchschnittlichen Leistung des Lasers.

Laser-Gefahrenklassen



Direktes Hineinschauen in den Laserstrahl sollte grundsätzlich vermieden werden, gleichgültig, um welchen Lasertyp es sich handelt und wie niedrig die Leistung des Lasers sein mag.

Klasse 1

Ungefährliche Laser (meist gekapselt).

Klasse 2

Sichtbare Laser mit niedriger Leistung, die aufgrund des Lidschutzreflexes normalerweise ungefährlich sind, es sei denn, man blickt direkt in den Laserstrahl.

Klasse 3A

Laser, die bei zufälligem, kurzzeitigem Hineinschauen in den Laserstrahl normalerweise ungefährlich sind; diese Laser können jedoch dann eine Gefahr darstellen, wenn eine Kollektroptik verwendet wird.

Klasse 3B

Laser, die beim direkten Hineinschauen in den Laserstrahl oder beim Hineinschauen in den spiegelnd reflektierten Strahl Augenverletzungen verursachen können.

Klasse 4

Laser, die beim Hineinschauen in den direkten Strahl, den spiegelnd reflektierten Strahl oder in die diffuse Reflexion (Streuung) Augenverletzungen oder Hautverbrennungen verursachen können. Es kann Brandgefahr entstehen.

Gekapselte Systeme

Laser-Einrichtungen oder Lasersysteme der Klassen 2, 3A, 3B oder 4, die in einem Schutzgehäuse untergebracht sind und in einem niedrigeren Klassifizierungsmodus betrieben werden, können in einer niedrigeren Klasse eingestuft werden. Es können besondere Kontrollmaßnahmen erforderlich werden, um diese niedrigere Klassifizierung beizubehalten.

Von Lasern ausgehende Gefahren

Die Gefahren, die von Laser-Einrichtungen ausgehen können, lassen sich in folgende Hauptgruppen unterteilen:

1. Augenverletzungen, z.B. Verbrennungen der Retina oder Kornea.



VERLETZUNGEN DER RETINA SIND IRREPARABEL

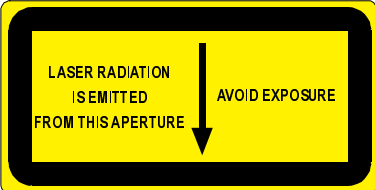
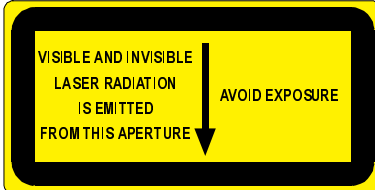
2. Hautverletzungen, z.B. Verbrennungen.
3. Elektrische Gefahren, die von Hochspannungsgeräten ausgehen.
4. Brand- und Explosionsgefahr.

Spezifikation der verwendeten Laserstrahlung

Lasertyp	Wellenlänge [nm]	Maximale Lichtleistung am Laserausgang [mW]	Maximale Lichtleistung in der Fokalebene [mW]	Pulsdauer
Ar-UV	351, 364	< 50	< 2.5	continuous wave (un gepulst, Dauerstrich)
Diode	405	< 25	< 4	continuous wave (un gepulst, Dauerstrich)
Diode	430	< 10	< 4	continuous wave (un gepulst, Dauerstrich)
HeCd	442	< 30	< 3	continuous wave (un gepulst, Dauerstrich)
ArKr	488, 568, 647	< 125	< 10	continuous wave (un gepulst, Dauerstrich)
Ar	458, 476, 488, 514	< 200	< 50	continuous wave (un gepulst, Dauerstrich)
HeNe	543	< 1.5	< 0.5	continuous wave (un gepulst, Dauerstrich)
Kr	568	< 25	< 5	continuous wave (un gepulst, Dauerstrich)
HeNe	633	< 15	< 4	continuous wave (un gepulst, Dauerstrich)

Folgende Lasersicherheitskennzeichen werden verwendet

1. an allen Öffnungen, aus denen Licht austreten kann	
Für Laser, die im sichtaren Spektralbereich emittieren (Ar/ ArKr/ Kr/ HeNe/ HeCd/ Diode)	Für Laser, die im ultravioletten Spektralbereich emittieren (Ar-UV)

	
---	--

2. an allen Gehäuseteilen, die mit Werkzeugen geöffnet werden können und aus denen Laserstrahlung austreten kann

Für Laser, die im sichtaren Spektralbereich emittieren
(Ar/ ArKr/ Kr/ HeNe/ HeCd/ Diode)

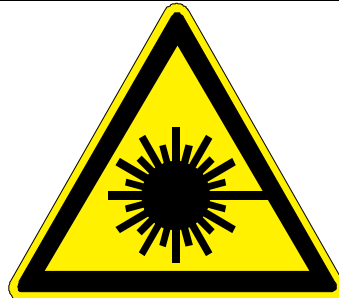
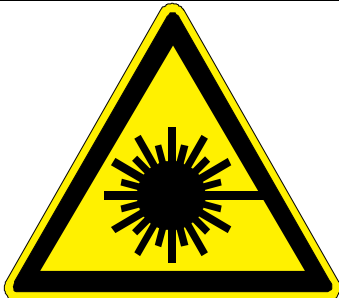
Für Laser, die im ultravioletten Spektralbereich emittieren
(Ar-UV)



3. auf dem Deckel der Versorgungseinheit

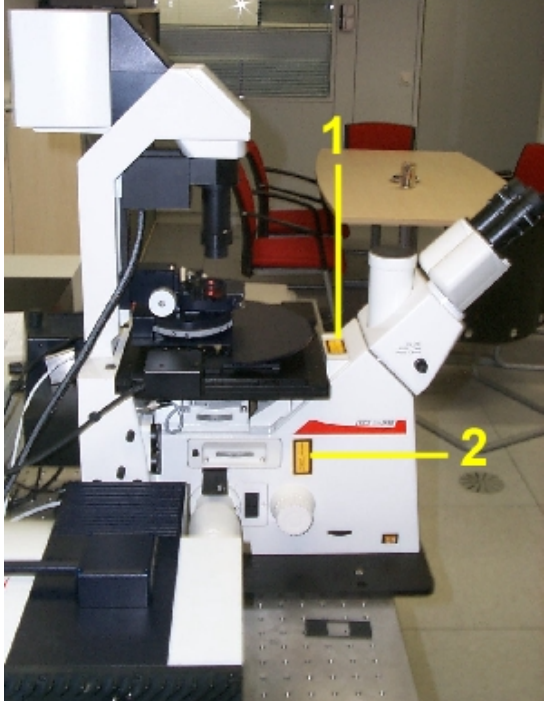
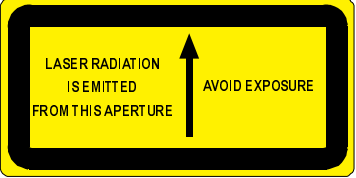
Für Laser, die im sichtaren Spektralbereich emittieren
(Ar/ ArKr/ Kr/ HeNe/ HeCd/ Diode)

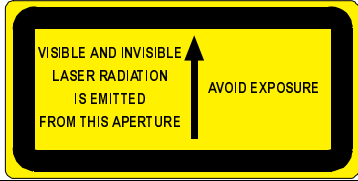
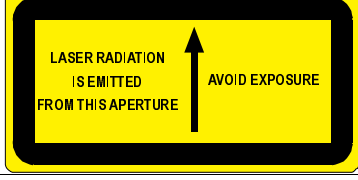
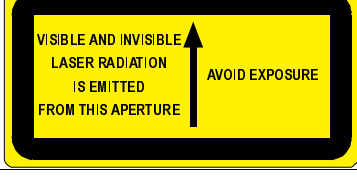
Für Laser, die im ultravioletten Spektralbereich emittieren
(Ar-UV)


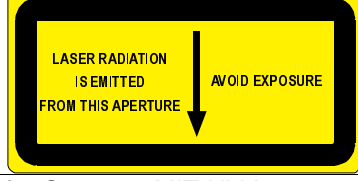


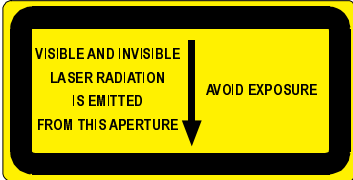
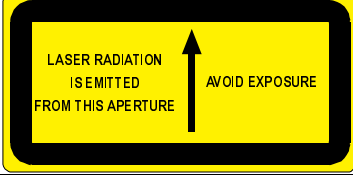
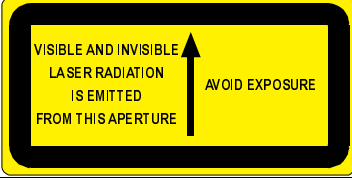
<p>LASER RADIATION AVOID DIRECT EXPOSURE TO BEAM < 400 mW KRYPTON 568 nm CLASS IIIb LASER PRODUCT</p>	
<p>LASER RADIATION AVOID DIRECT EXPOSURE TO BEAM < 500 mW Ar-Kr-HeNe 457-633 nm CLASS IIIb LASER PRODUCT</p>	
<p>LASER RADIATION AVOID DIRECT EXPOSURE TO BEAM < 500 mW Ar-Kr-HeNe-HeCd 442-633 nm CLASS IIIb LASER PRODUCT</p>	


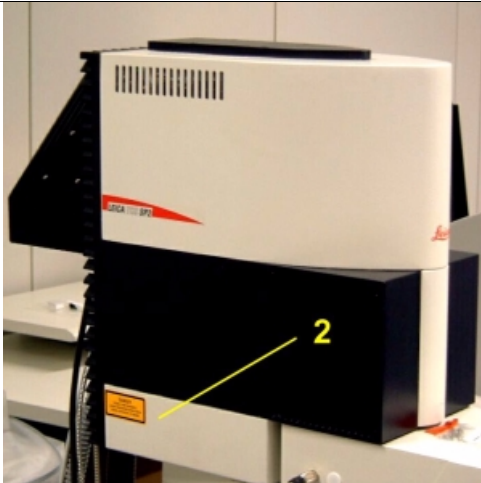


Position der Lasersicherheitskennzeichen

<p>1. Inverses Mikroskop</p>	
	
<p>Position 1</p>	<p>für System OHNE UV-Laser</p>
	
	<p>für Systeme MIT UV-Laser</p>

	
Position 2	für Systeme OHNE UV-Laser
	
	für Systeme MIT UV-Laser
	


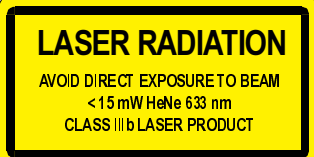
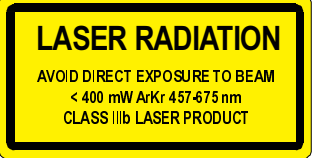


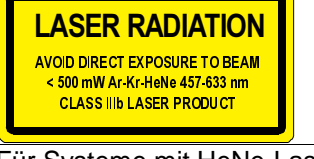
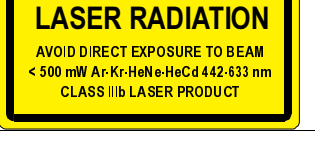
2. Aufrechtes Mikroskop	
	
Position 1	für Systeme OHNE UV-Laser
	
	für Systeme MIT UV-Laser

	
Position 2	für Systeme OHNE UV-Laser
	
	für Systeme MIT UV-Laser
	

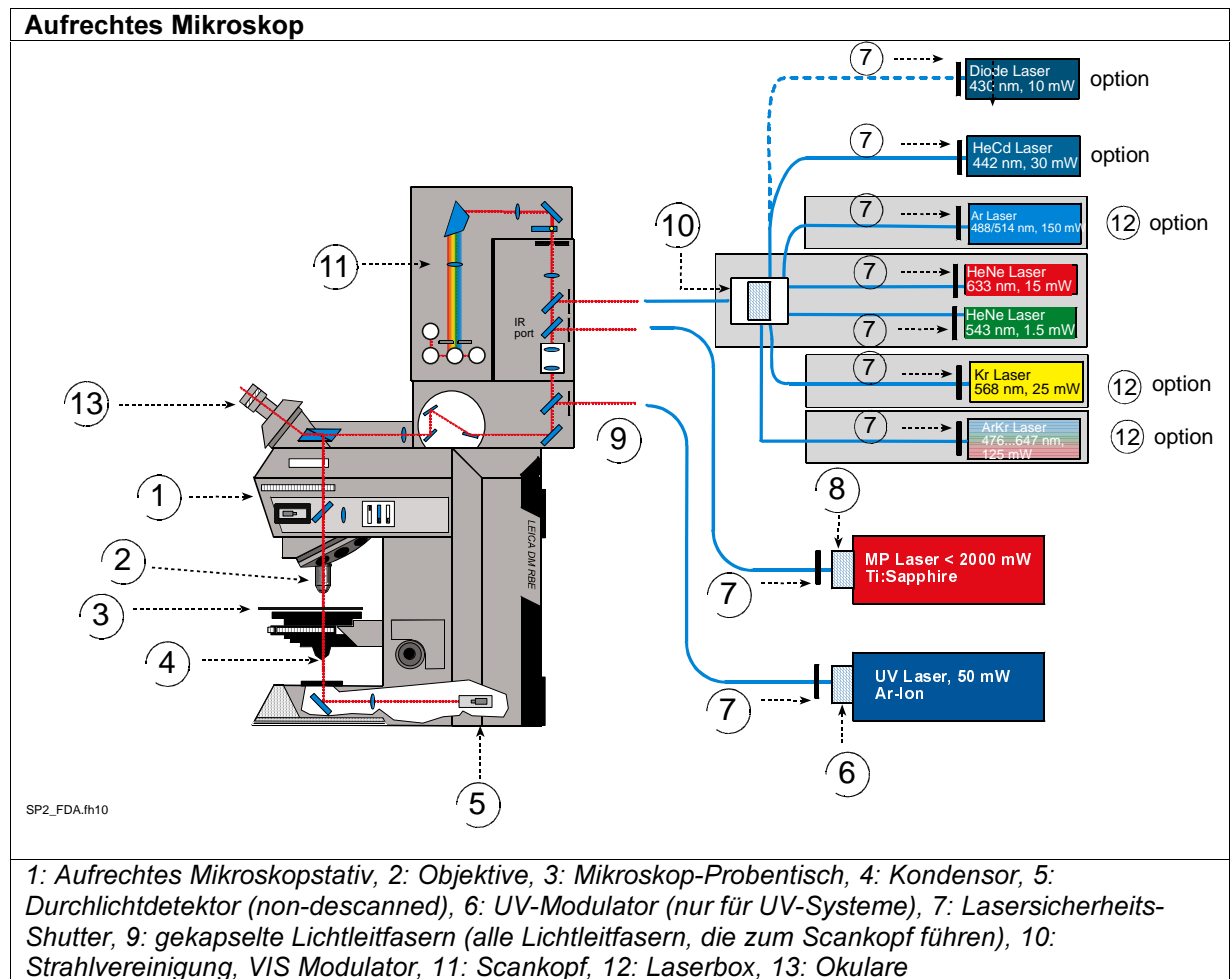
3. Scankopf	
	
Position 1 und 2	für Systeme OHNE UV-Laser
	
	für Systeme MIT UV-Laser
	

4. Versorgungseinheit (Deckel)

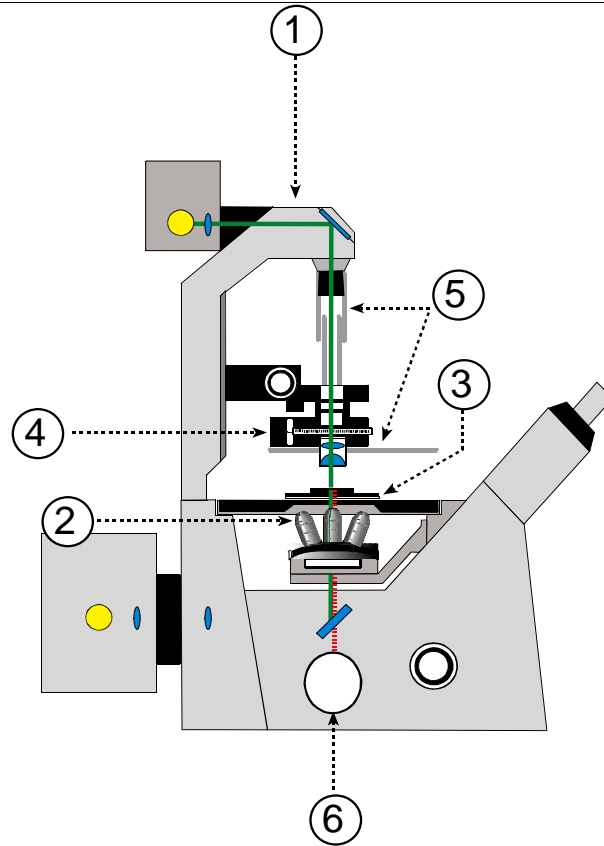


Position 1	
	für Systeme mit HeNe-Laser
	
	Für Systeme mit ArKr-Laser
	
	Für Systeme mit Ar-Laser
	
	Für Systeme mit Kr-Laser
	
	Für Systeme mit HeNe-Laser, Ar-Laser und Kr-Laser
	
	Für Systeme mit HeNe-Laser, HeCd-Laser, Ar-Laser und Kr-Laser
	

Systemüberblick



Inverses Mikroskop



FDAlnverted.FHS

1: Inverses Mikroskopstativ, 2: Objektive, 3: Mikroskop-Probentisch, 4: Kondensator, 5: Aluminiumscheibe als Strahlfänger, Schutzhülse zwischen Kondensator und Durchlichtdetektor, 6: Anschluß für Scankopf (Scankopf derselbe wie beim aufrechten Mikroskopstativ)

Starten des Betriebssystems

Das Betriebssystem wird automatisch gestartet, sobald Sie Ihren PC einschalten. Als erstes sehen Sie einen Begrüßungsbildschirm.

Melden Sie sich nun bei Ihrem Computer an. Wie Sie den Anweisungen in dem angezeigten Dialogfeld entnehmen können, melden Sie sich durch gleichzeitiges Herunterdrücken der Tasten **Ctrl**, **Alt** und **Delete** beim System an.

Sobald Sie die Tasten Ctrl, Alt und Delete gedrückt haben, öffnet sich das Dialogfeld **Login Information**.

Geben Sie hier Ihr Kennwort ein, mit dem Sie sich als gültiger Benutzer dieses Computers identifizieren.

Der Standardbenutzername für das Leica TCS SP2 System lautet "TCS_User".

Ein Standardkennwort ist nicht eingestellt. Es empfiehlt sich, für jeden Benutzer eine eigene Benutzer-ID einzurichten (Systemadministrator). Es werden dabei persönliche Verzeichnisse angelegt, die nur vom jeweiligen Benutzer gelesen werden können. Da die LCS-Software auf der Benutzerverwaltung des Betriebssystems aufbaut, werden auch für die Verwaltung benutzerspezifischer Profile der LCS Software eigene Dateien angelegt. Zum Einrichten von Benutzern sei auf das Kapitel "Einrichten von Benutzern" in diesem Handbuch verwiesen. Sobald Sie sich mit ihrer Benutzer-ID angemeldet haben, können Sie Ihr Kennwort ändern. Drücken Sie hierzu die Tasten **Ctrl**, **Alt** und **Delete** gleichzeitig.

Klicken Sie anschließend auf **Change password**. Es öffnet sich das Dialogfeld **Change password**. Geben Sie im Feld **Old Password** Ihr aktuell gültiges Kennwort ein (das Feld zur Kennworteingabe ist Groß-/kleinschrift-empfindlich, achten Sie daher darauf, ob Sie Groß- oder Kleinbuchstaben verwenden). Drücken Sie anschließend die Tabulator-Taste. Durch Drücken der Tabulator-Taste springt der Cursor in das nächste Feld.

Geben Sie nun Ihr neues Kennwort ein, und drücken Sie anschließend noch einmal die Tabulator-Taste. Geben Sie das neue Kennwort nun zur Bestätigung ein zweites Mal ein. Auf diese Weise werden Tippfehler ausgeschlossen. Dies ist vor allem deshalb sehr wichtig, weil die Zeichen, die Sie eintippen, auf dem Bildschirm nur als Sternchen erscheinen.



Falls Sie das Kennwort bei der Bestätigung falsch eingegeben haben, wird nun eine Warnung angezeigt. Versuchen Sie es noch einmal.

Klicken Sie anschließend auf OK. Wenn Sie sich das nächste Mal anmelden, ist Ihr neues Kennwort wirksam.



Beachten Sie: Wenn Sie ein Kennwort eingegeben haben, dürfen Sie es auf keinen Fall vergessen! Ohne das korrekte Kennwort haben Sie keinen Zugriff mehr auf Ihren Computer.

Es wird nun das Dialogfeld Welcome angezeigt. Nehmen Sie sich einen Moment Zeit, um den Tip "Did you know..." zu lesen, und klicken Sie dann auf die Schaltfläche **Close**, um mit der Arbeit mit dem Betriebssystem zu beginnen.

Arbeiten mit der Maus

Um das Betriebssystem wirklich effizient verwenden zu können, benötigen Sie eine Maus. Folgende Maus-Aktionen müssen Sie kennen:

Zeigen Sie auf bedeutet, dass Sie den Cursor (der bei Bewegungen mit der Maus die Form eines Pfeils annimmt) auf das angegebene Objekt setzen sollen, indem Sie die Maus bewegen. Die Spitze des Pfeils muss das Objekt berühren.

Klicken Sie auf bedeutet, dass Sie den Cursor wie oben beschrieben auf ein angegebenes Objekt setzen und dann die Maustaste einmal kurz herunterdrücken und wieder loslassen sollen. Sofern nicht anders angegeben, verwenden Sie dazu immer die linke Maustaste (andernfalls werden Sie beispielsweise angewiesen, mit der rechten Maustaste zu klicken). Indem Sie ein Objekt anklicken, wählen Sie es normalerweise aus.

Doppelklicken Sie auf bedeutet, dass Sie den Cursor wie oben beschrieben auf ein angegebenes Objekt setzen und dann zweimal kurz hintereinander die Maustaste herunterdrücken und wieder loslassen sollen. Durch Doppelklicken wird ein Objekt in der Regel aktiviert.

Ziehen Sie bedeutet, dass Sie den Cursor auf ein Objekt setzen, die Maustaste herunterdrücken und die Maus, während Sie die Maustaste gedrückt halten, an eine andere Stelle bewegen sollen. Sofern nicht anders angegeben, verwenden Sie dazu immer die linke Maustaste (andernfalls werden Sie beispielsweise angewiesen, mit der rechten Maustaste zu ziehen).

Die Benutzeroberfläche des Betriebssystems

Die Basis-Benutzeroberfläche des Betriebssystems wird als "**Desktop**" bezeichnet. Der Desktop bildet den Hintergrund für die darin enthaltenen Objekte.

Die Ausgangsobjekte auf dem Desktop ermöglichen es dem Benutzer, mit dem System auf logische Art zu interagieren und die Objekte des Systems anzuzeigen.

Der Hintergrund, vor dem alle Bilder und Dialogfelder abgebildet sind, wird als Desktop bezeichnet. In der Task-Leiste werden alle gegenwärtig aufgerufenen Fenster und Programme angezeigt. Sie können zwischen den einzelnen Fenstern und Programmen wechseln, indem Sie auf den entsprechenden Namen in der Task-Leiste klicken.

Die Schaltfläche Start öffnet ein Menü, über das Sie die gewünschten Programme starten. Klicken Sie auf die Schaltfläche Start. Das sich öffnende Menü enthält verschiedene Menüoptionen mit einzelnen Untermenüs. Klicken Sie auf die gewünschte Option.

Weiterhin stehen Ihnen auf dem Desktop einige Symbole zur Verfügung. Sie aktivieren ein solches Symbol, indem Sie darauf doppelklicken.

Im folgenden werden kurz die einzelnen Objekte erläutert, die Sie auf dem Desktop sehen.

Zu den Standardobjekten auf dem Desktop gehört das Symbol **My Computer**. Wenn Sie auf dieses Symbol **doppelklicken**, öffnet sich das Fenster My Computer.

Über das Fenster 'My Computer' haben Sie leichten Zugriff auf die Hauptkomponenten Ihres Computersystems oder Ihrer Arbeitsstation, so z.B. auf die Festplatte(n) oder die Diskettenlaufwerke. Wenn Sie beispielsweise auf das Symbol **Hard disk [C:]** doppelklicken, wird Ihnen der Inhalt der Festplatte Ihres PC angezeigt. Auf diese Weise hat der Benutzer die Möglichkeit, lokale Ressourcen als Objekte anzuzeigen. Außerdem können Sie vom Fenster 'My Computer' auch auf die Systemsteuerung (Symbol Control Panel) und den Drucker des Steuerrechners zugreifen, falls ein Drucker installiert wurde. Falls Sie während der Installation eine der lokalen Zusatzanwendungen wie 'Dial-Up Networking' installiert haben, erscheint diese auch im Fenster 'My Computer'.

Über das Symbol **Control Panel** im Fenster My Computer können Sie zudem jede beliebige Systemkomponente anzeigen und verändern. Das Fenster Control Panel enthält seinerseits ebenfalls zahlreiche Symbole, die es Ihnen ermöglichen, Ihr System zu steuern. Möglicherweise sehen Sie auf Ihrem PC noch andere, hier nicht erläuterte Symbole. Der Grund dafür kann sein, dass Sie z.B. eine andere Hardware installiert haben oder dass Sie eventuell an ein Modem oder ein Netzwerk angeschlossen sind. Ein weiterer Grund kann auch sein, dass Sie andere Betriebssystem-Optionen installiert haben.

Wenn Sie auf das Symbol **Network Neighborhood** doppelklicken, öffnet sich das Dialogfeld Network Neighborhood und zeigt Ihnen an, wer und welche Geräte mit Ihrer Arbeitsstation verbunden sind. Dieses Dialogfeld stellt einen sehr einfachen Mechanismus dar, um durch die Netzwerksysteme und Ressourcen zu blättern, zu denen Sie unabhängig vom jeweiligen Netzwerkhersteller eine Verbindung herstellen können. Wenn früher ein System mit verschiedenen Netzwerktypen gleichzeitig verbunden werden sollte, musste man sich beim Anschließen des Systems und Anzeigen des Netzwerks immer nach den Vorgaben des jeweiligen Herstellers richten. Das Betriebssystem dagegen ist in der Lage, eine allgemeine Ansicht des gesamten Netzwerks zu liefern, selbst dann, wenn das Netzwerk Ressourcen von Windows NT, Novell NetWare, Banyan Vines oder anderen enthält.

Das Symbol **Inbox** wird verwendet, wenn Microsoft Exchange auf Ihrem System aktiv ist. Das Betriebssystem verfügt über einen integrierten E-Mail-Dienst, der auf Microsoft Mail (MS Mail) und Microsoft Exchange basiert. Falls sich in dem Netzwerk, an das Ihr System angeschlossen ist, bereits ein MS Mail Postoffice befindetet, kann der Mail-Client des Betriebssystems direkt eine Verbindung

dazu aufbauen. Über das Symbol Inbox können Sie auf Ihre Nachrichten zugreifen. Das Symbol **Recycle Bin** (der Papierkorb) stellt das Depot für gelöschte Objekte dar. Solange sich eine Datei in diesem Papierkorb befindet, kann sie, falls sie versehentlich gelöscht wurde, schnell und einfach wiederhergestellt werden. Das Betriebssystem behält Dateien solange in diesem Depot, bis das System über keinen freien Plattenplatz mehr verfügt. In diesem Fall beginnt das Betriebssystem den Inhalt des Papierkorbs (Recycle Bin) zu löschen, wobei die ältesten Dateien nach dem FIFO-Prinzip (First-in First-out) zuerst gelöscht werden.



Dateien, die überschrieben wurden, weil zwei verschiedene Anwendungen eine Datei mit demselben Namen verwendet haben, werden nicht im Papierkorb gespeichert.

Durch Doppelklicken auf das Symbol Recycle Bin zeigen Sie den Inhalt des Papierkorbs an. Wenn ein leeres Fenster angezeigt wird, ist dies die Bestätigung, dass sich keinerlei Objekte im Papierkorb befinden.

Das Startmenü

Durch einen einzelnen Klick mit der linken Maustaste auf die Schaltfläche Start wird das Startmenü geöffnet. Darin werden Ihnen sieben Hauptkategorien von Optionen angezeigt, über die Sie die Arbeit mit dem System aufnehmen können.

Durch einen einzelnen Klick mit der rechten Maustaste öffnet sich ein kleines Steuermenü, in dem die Optionen Open, Explore und Find enthalten sind.

Die Funktionsweise wird im folgenden beschrieben.

Starten von Programmen

Das Startmenü enthält verschiedene Kategorien, in denen Ihre Anwendungen und Ihre Arbeit gespeichert sind. Sie können sich die einzelnen Untermenüs anzeigen lassen, indem Sie mit der Maus auf die gewünschte Option zeigen. Dadurch wird automatisch das jeweils nächste Untermenü angezeigt. Hierbei brauchen Sie nicht mit der Maus zu klicken!

Die Option **Programs** öffnet das Untermenü zu Programs. In diesem Menü sind alle installierten und Ihnen zur Verfügung stehenden Anwendungen aufgeführt. Einige Optionen sind mit einem Pfeil markiert. Dieser Pfeil zeigt an, dass ein weiteres Untermenü folgt. Zeigen Sie z.B. mit der Maus auf die Option **Accessories**, um sich das dazugehörige Untermenü anzeigen zu lassen. Im Untermenü zu Accessories wird eine Liste der im Betriebssystem integrierten Programme angezeigt.

TIP: Wenn Sie ein Objekt entweder vom Desktop oder Windows Explorer mit der Maus auf die Schaltfläche Start ziehen (drag) und dort absetzen (drop), wird automatisch eine Verknüpfung erstellt. Dieses Objekt erscheint ab sofort im Startmenü und kann nun darüber aufgerufen werden.

Sie haben mehrere Möglichkeiten, um ein Programm zu starten. Die im folgenden beschriebene Methode ist die einfachste:

1. Klicken Sie auf die Schaltfläche Start.
2. Klicken Sie auf Programs.
3. Klicken Sie auf die Gruppe, die das Programm enthält, das Sie starten möchten (z.B. LCS).
4. Klicken Sie auf das Program, das Sie starten möchten (z.B. Leica LCS).

Außerdem können Sie ein Programm starten, indem Sie ein Dokument, das Sie mit dem betreffenden Programm erstellt haben, öffnen. Das Programm wird automatisch gestartet, wenn das Dokument geöffnet wird. Doppelklicken Sie auf eine Dokumentendatei im Fenster My Computer oder im Windows Explorer, um sie zu öffnen. Statt dessen können Sie auch auf die Schaltfläche Start klicken und im Menü Documents ein kürzlich verwendetes Dokument auswählen.

Weiterhin haben Sie die Möglichkeit, ein Programm zu starten, indem Sie auf das Programmsymbol (sog. Shortcut) auf dem Desktop doppelklicken. Shortcuts sind Verknüpfungen zu anderen Dateien. Wenn Sie auf einen Shortcut klicken, verfolgt Windows die Verknüpfung zurück bis zur ursprünglichen Datei.

Wenn Sie ein Dokument oder ein Programm sehr häufig verwenden, möchten Sie möglicherweise einen entsprechenden Shortcut erstellen, der auf dem Desktop zur Verfügung steht. Dazu müssen Sie mit der Maus auf das gewünschte Objekt zeigen, die rechte Maustaste herunterdrücken, gedrückt halten und das Objekt aus dem Fenster Windows Explorer oder My Computer herausziehen. Wenn Sie nun die Maustaste loslassen, erscheint ein Menü. Wählen Sie in diesem Menü die Option Create Shortcut(s) Here. Einige Programme erstellen während ihres Installationsvorgangs automatisch einen

Shortcut.



Das Betriebssystem verfolgt die Verknüpfung zwischen einem Shortcut und dem Original nicht aktiv zurück. Das bedeutet: Wenn Sie beispielsweise einen Shortcut für ein Programm erstellen und dann das Original in einen anderen Ordner verschieben (und nicht kopieren), kann es vorkommen, dass der Shortcut nicht mehr funktioniert.

Der Ordner Startup hat eine besondere Funktion: Alle Programme, die sich in diesem Ordner befinden, werden automatisch gestartet, sobald Sie das Betriebssystem starten. Im Menü Documents sind die Namen der letzten 15 von Ihnen erstellten Dateien aufgeführt. Sie können jede dieser Dateien und gleichzeitig die damit verbundene Anwendung öffnen, indem Sie einfach in diesem Menü auf den Namen der Datei klicken.



Alle Dokumentendateien, die von einer Anwendung aus geöffnet wurden (in der Regel werden dazu in der jeweiligen Anwendung die Menübefehle File/Open gewählt), sind hier nicht aufgeführt. In dieser Liste sind nur all die Dokumente enthalten, die direkt vom Desktop aus geöffnet wurden.

Das Menü Settings enthält drei Befehle, über die Sie Änderungen an den Einstellungen Ihres Systems vornehmen können. Über dieses Menü können Sie direkt auf die Systemsteuerung und den Drucker zugreifen. Außerdem öffnen Sie hierüber das Fenster Task Properties.

Die Möglichkeit, auf diese Weise die wichtigsten Dienstprogramme der Systemkonfiguration aufrufen zu können, ist vor allem dann sehr hilfreich, wenn eine Anwendung bereits geöffnet und im Vordergrund aktiv ist und Sie schnell eine Änderung vornehmen möchten.

Die Option Find bietet Ihnen eine sehr einfache Möglichkeit, nach Systemressourcen zu suchen. Im Untermenü dieser Option können Sie drei Arten von Suchen durchführen.

Die Task-Leiste

Die Task-Leiste – die sich am unteren Bildschirmrand befindet – zeigt konstant an, welche Anwendungen derzeit auf dem System ausgeführt werden. Darüber hinaus stellt sie eine einfache Möglichkeit dar, um zwischen den einzelnen Anwendungen zu wechseln. Sobald Sie eine weitere Anwendung öffnen, werden die minimierten Ansichten der bereits geöffneten Programme in der Task-Leiste angepaßt, so dass auch die minimierte Ansicht der neuen Anwendung in der Task-Leiste Platz findet. Auf diese Weise wird sichergestellt, dass immer alle geöffneten Anwendungen in der Task-Leiste sichtbar sind. Um von einem laufenden Programm zu einem anderen zu wechseln, brauchen Sie nur in der Task-Leiste auf die minimierte Ansicht des gewünschten Programms zu klicken. Zudem stellt Ihnen die Task-Leiste konstant Zusatzinformationen und -funktionen zur Verfügung. So z.B. die Systemzeit und die Lautstärkeregelung, falls Sie eine Sound-Karte installiert haben. All diese Funktionen können vom Benutzer nach Belieben geändert und angepaßt werden.

Einstellen von Datum und Uhrzeit

Sie haben die Möglichkeit, das aktuelle Datum, die Uhrzeit und die Zeitzone über das Symbol Date/Time im Fenster Control Panel einzustellen. Diese Einstellung ist sehr wichtig, da das Betriebssystem alle Ihre Dateien mit einem Datum und einer Uhrzeit versieht, sobald Sie sie erstellen oder Änderungen daran vornehmen. Sie können die beiden Optionen auswählen, indem Sie auf die entsprechende Registerkarte klicken.

So ändern Sie Datum und Uhrzeit

Klicken Sie auf das gewünschte Datum, oder verwenden Sie die Steuerschaltflächen, um den angezeigten Monat und das Jahr zu ändern. Die Uhrzeit kann außerdem auch verändert werden, indem Sie zunächst die digitale Anzeige auswählen und die Zeit dann mit Hilfe des nach oben und

des nach unten zeigenden Pfeils einstellen.

So ändern Sie Zeitzone

Wählen Sie aus der Dropdown-Liste am oberen Rand des Dialogfeldes die entsprechende Zeitzone aus. Achten Sie darauf, ob die Option zur automatischen Umstellung der Uhr auf Sommer- bzw. Winterzeit ausgewählt ist. Auf einigen Systemen können Sie außerdem den markierten Bereich auf die Weltkarte ziehen und an der korrekten Stelle absetzen.

Wenn Sie im Betriebssystem Änderungen an den Datums- und Uhrzeiteinstellungen vornehmen, wird dadurch die batteriebetriebene CMOS Uhr in Ihrem System aktualisiert.



Je nach Konfiguration kann es vorkommen, dass Systeme, die an ein Netzwerk angeschlossen sind, bei jedem Anmelden eine Datums- und Uhrzeitaktualisierung vom Netzwerk-Server erhalten. Wenn die Uhrzeit im Server falsch ist, dann ist auch die Uhrzeit Ihrer Arbeitsstationen inkorrekt. Bitte informieren Sie in diesem Fall Ihren Netzwerk-Administrator

Aufrufen der Hilfe

Das Betriebssystem enthält ein umfangreiches und leistungsstarkes Hilfesystem. Zusätzlich zu den Hilfemenüs, die Ihnen in jedem Fenster zur Verfügung stehen, gibt es für das Startmenü noch eine eigenständige und in sich abgeschlossene Hilfe. Um sie aufzurufen, müssen Sie mit der Maus auf die Schaltfläche Start und anschließend auf Help klicken.

In diesem Dialogfeld stehen Ihnen drei Registerkarten zur Verfügung: Contents, Index und Find. Die Registerkarte Contents (Inhalt) liegt zuoberst auf. Die anderen Registerkarten können Sie aufrufen, indem Sie einfach darauf klicken.

Contents

Die Registerkarte Contents zeigt die einzelnen Hilfethemen an. Die Hilfethemen sind in Kategorien unterteilt und werden durch kleine Buchsymbole dargestellt. Doppelklicken Sie auf eines der Bücher, um es zu öffnen. Es werden nun die darin befindlichen Bücher und Dokumente angezeigt.

Doppelklicken Sie auf eines der Bücher oder Dokumente, um es zu öffnen.

Index

Die Registerkarte Index enthält einen Index mit allen zur Verfügung stehenden Themen. Geben Sie den Begriff ein, den Sie nachschlagen möchten. Während Sie die ersten Buchstaben eingeben, wird in der Liste geblättert und der entsprechende Teil in der alphabetisch aufgebauten Index-Liste angezeigt. Doppelklicken Sie, wenn Sie das gewünschte Hilfethema in der Liste gefunden haben, auf das Thema, um es anzuzeigen.

Find

Die Registerkarte Find bietet Ihnen statt der Suche nach Kategorien die Möglichkeit der Volltextsuche. Geben Sie den Begriff oder Ausdruck, zu dem Sie ein Thema in der Hilfe suchen möchten, in das Textfeld ein. Das Textfeld ist mit einer Wörterliste in Ihren Hilfedateien verknüpft. Alle Begriffe oder Ausdrücke, die den von Ihnen eingegebenen Begriffen oder Ausdrücken entsprechen, werden angezeigt. Sie können mehr als einen Begriff eingeben, indem Sie die einzelnen Begriffe durch ein Leerzeichen voneinander trennen. Falls Sie die Suchoption ändern möchten, rufen Sie dazu die Menüoption Options auf. Wenn Sie das erste Mal auf diese Registerkarte klicken, gibt Windows die Meldung aus, dass Sie zunächst eine Liste erstellen müssen. Klicken Sie auf Next und anschließend auf Finish, um die Liste zu erstellen. Sie sehen nun die Hauptregisterkarte Find. Geben Sie den gesuchten Begriff in das obere Textfeld ein. Klicken Sie dann im mittleren Feld auf ein Wort, um die Suche einzugrenzen. Sehen Sie sich zuletzt die am unteren Rand angezeigte Liste mit Hilfethemen durch, und doppelklicken Sie auf das Thema, das Sie lesen möchten.

Wenn Sie sich das Thema durchgelesen haben, können Sie entweder auf Help Topics klicken, um zum Hauptbildschirm der Hilfe zurückzukehren, oder auf Back, um zum vorhergehenden Hilfethema zurückzukehren. Klicken Sie auf die Schaltfläche Close, um die Hilfe zu verlassen.

Verlassen des Betriebssystems (Shutdown)

Klicken Sie grundsätzlich immer erst auf den Befehl **Shut Down**, bevor Sie Ihren PC ausschalten. Über den Befehl Shut Down wird das Betriebssystem korrekt beendet (heruntergefahren). Gleichzeitig stellen Sie damit sicher, dass auch alle übrigen noch laufenden Prozesse ordnungsgemäß

angehalten und Daten, die sich gegebenenfalls im Cache befinden, vom Cache auf die Festplatte übertragen werden. Es stehen Ihnen verschiedene Optionen zur Verfügung, wenn Sie das System herunterfahren.



Wenn Sie den Computer ausschalten, ohne ihn vorher ordnungsgemäß herunterzufahren, kann dies zu erheblichen Datenverlusten führen.

Einrichten von Benutzern

1. Einloggen als Administrator

Melden Sie sich an als Administrator. Verwenden Sie dazu die ID: "Administrator" und das Passwort:"Admin"

2. Öffnen Sie den User-Manager

Wählen Sie **Start**→**Programs**→**Administrative Tools**→**User Manager**

3. Definieren Sie einen neuen Benutzer

Geben Sie dazu in dem geöffneten Dialogfenster mindestens folgende Angaben ein:

1. Username

2. Password (muss in der folgenden Zeile zur Bestätigung noch einmal eingegeben werden)

Wählen Sie von den Checkboxen folgende beiden aus:

a.) "User must change password at next logon" (Damit kann der neu angelegte Benutzer sein eigenes Passwort beim Einloggen definieren)

b.) "Password never expires" (Damit hat ein einmal definiertes Passwort solange Gültigkeit, bis es entweder im User Manager geändert oder der Benutzer gelöscht wird)

Wählen Sie in der Fusszeile des Dialogs die Option "Profiles" aus. Hier geben Sie im Feld "Local path" nun den folgenden Pfad zum Ablegen der benutzerspezifischen Dateien an:

d:\users\username ("username" ist ein Platzhalter. An seiner Stelle muss der tatsächlich definiertes Benutzername angegeben werden.]



Werksseitig eingebaute Festplatten werden mit 2 Partitionen (C:\ und D:\) geliefert. Das Benutzerverzeichnis soll auf der Partition D:\ angelegt werden.

Inbetriebnahme des Konfokalsystems

1. Prüfen Sie, ob der Software-Kopierschutzstecker auf der parallelen Druckerschnittstelle ihres Rechners vorhanden ist.

Ohne den Kopierschutzstecker können Sie die LCS Software NICHT starten.

2. Schalten Sie das oder die Mikroskop(e) und die Lichtquellen ein.

Alle manuellen Leica Mikroskopstative (DM-LM, DM-IRB, DM-R, DM-LFSE) lassen sich an den seitlich am Stativ angebrachten Schaltern ein- und ausschalten.

Alle automatisierten Leica Mikroskopstative (DM-LFSA, DM-RXA, DM-RXA2, DM-RE, DM-IRBE) lassen sich an den seitlich am Stativ angebrachten Schaltern ein- und ausschalten.

Die Leica Mikroskopstative DM-LFSA, DM-IRE2 und DM-RXA2 lassen sich an der separaten Elektronikeinheit (LEICA CTR MIC Electronics box) ein- und ausschalten.



Alle Fluoreszenzlampen sind mit einem eigenen Netzteil ausgerüstet. Sie lassen sich deshalb auch nur an diesem Netzteil ein- und ausschalten.

3. Schalten Sie nun am Bedienpult die Schalter für den Steuerrechner (PC), den Konfokalscanner (Scanner) und die Laser (Lasers) ein



4. Melden Sie sich am Rechner an

Wenn für Sie bereits eine eigene Benutzer ID erzeugt wurde, verwenden Sie bitte diese. Damit ist sichergestellt, dass benutzerspezifische Einstellungen auch tatsächlich nur für Sie abgespeichert und bereitgehalten werden. Falls der Systemadministrator für Sie noch keine eigene Benutzer-ID angelegt hat, melden Sie sich an als "TCS_User". Ein Passwort ist keines einzugeben.

5. Starten Sie das LCS-Programm

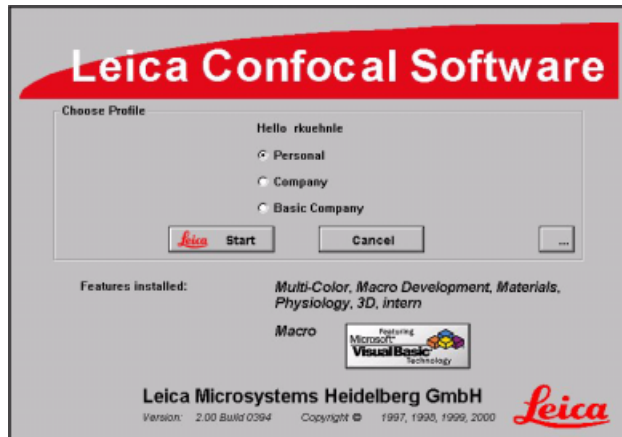
Klicken Sie dazu auf das Programmsymbol auf dem Desktop des Rechners.



Leica

6. Wählen Sie nun ein Softwareprofil aus

Für jeden Benutzer lässt sich ein eigenes Profil erstellen, das sowohl den Aufbau der graphischen Benutzeroberfläche als auch die Definition benutzerspezifischer Einstellungen des Konfokalsystems beinhaltet.



Warten Sie mit dem nächsten Schritt, bis die Initialisierung der Hardwarekomponenten komplett abgeschlossen ist.

7. Legen Sie eine Probe auf und richten Sie die Probe im konventionellen Mikroskopiermodus ein.

Fokussieren Sie zunächst auf eine Stelle in Ihrer Probe die Sie beobachten wollen. Stellen Sie danach die Köhlerbeleuchtung ein (siehe Kapitel "Köhlerbeleuchtung" Seite 40)).

a.) Einstellen auf konventionelle Beobachtung bei den aufrechten Mikroskopen der Baureihe DM-Rxxx, DM-LFxx



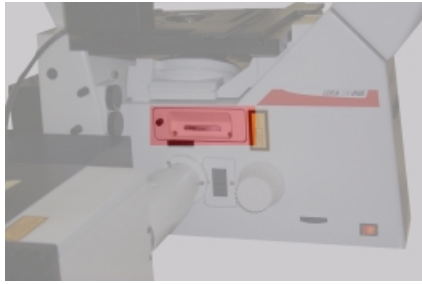
DM_Rxx Mikroskopreihe:

Schaltstange auf "VIS" stellen und Fluoreszenzfilterrad auf entsprechenden Filterwürfel drehen
Pos.: 1 DAPI (optional), Pos2: TRITC, Pos3: FITC, Pos4: Leerposition (Scan)



DM-LFSx Mikroskopreihe:

b.) Einstellen auf konventionelle Beobachtung bei den inversen Mikroskopen der Baureihe DM-IRxx



DM_IRxx Mikroskopreihe:

Linksseitige Schaltstange vollständig herausziehen (entfernt und Fluoreszenzfilterrad auf entsprechenden Filterwürfel drehen

Pos.: 1 DAPI (optional), Pos2: TRITC, Pos3: FITC, Pos4: Leerposition (Scan) Rechtsseitige Schaltstange vollständig einschieben

Im Falle eines UV-Systems: Drehen Sie die Tubuslinse in die Position "Scan"



DM_IRxx Mikroskopreihe:

Rechtsseitiges Tubuslinsenrad auf "Scan" stellen.

8. Wechseln Sie nun in den Konfokalbetrieb

a.) Umstellen auf Konfokalbeobachtung bei den aufrechten Mikroskopen der Baureihe DM-Rxxx, DM-LFxx



DM_Rxx Mikroskopreihe:

Schaltstange und Fluoreszenzfilterrad auf "Scan" stellen



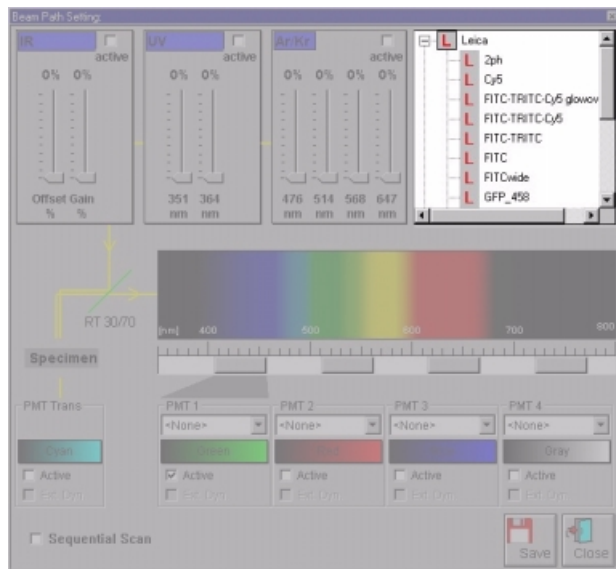
DM-LFSx Mikroskopreihe:

9. Auswahl eines spezifischen Satzes von Aufnahmeparametern (Applikation)

Drücken Sie die Taste "Beam" im Arbeitsschritt "Acquisition"



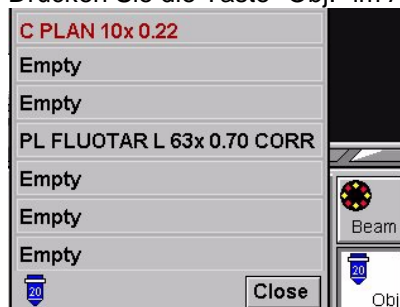
Wählen Sie in dem geöffneten Dialogfenster "Beam Path Setting" eine Methode aus (rechtes oberes Fenster)



Unter Methode wird ein Satz von Hardwareeinstellungen (IPS: Instrument Parameter Setting) verstanden, der spezifisch für eine bestimmte Ausnahmetechnik und ein spezielle Art der Probenpräparation ist. Die Bezeichnung FITC/TRITC bezeichnet beispielsweise die Einstellungen für ein Zweikanalaufnahme (simultan) für die beiden Fluoreszenzfarbstoffe FITC und TRITC). Neben den firmenseitig vorgegebenen Methoden können selbstverständlich auch eigene Methoden definiert und abgespeichert werden. Siehe hierzu das Kapitel "Benutzeranpassungen Software".

10. Auswahl des Mikroskopobjektivs

Drücken Sie die Taste "Obj." im Arbeitsschritt "Acquisition"



Wählen Sie aus dem geöffneten Dialogfenster das Objektiv, das Sie verwenden wollen.



Bei automatisierten Mikroskopstativen, wird das ausgewählte Mikroskopobjektiv automatisch in den Strahlengang gebracht.

Für andere Stative muss dies manual erfolgen.

11. Auswahl des Scanverfahrens

Drücken Sie die Taste "Mode" zur Auswahl des Scanverfahrens

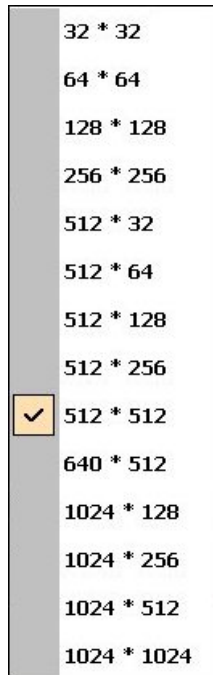


Mit dem Scanverfahren stellen Sie ein, welche Art von Datenstapel aufgenommen werden soll. Sie können wählen zwischen

- a.) räumlichen Scanverfahren (xyz, xzy)
- b.) zeitlichen Scanverfahren (xt, xyt, xzt, xyzt)
- c.) spektralen Scanverfahren (xyλ, xzλ)

12. Auswahl des Scanformats

Drücken Sie die Taste "Format" zur Auswahl des Scanformats



Mit dem Scanformat legen Sie die Anzahl von Rasterpunkten fest, mit der Scanner das Scanfeld abtastet.

13. Optimierung der Aufnahmeparameter im Endlosscan

Drücken Sie die Taste "Continuous." zum Starten des Endlosscans



Sobald der Endlosscan läuft, können Sie mit der Bedienkonsole und den darauf definierten Aufnahmeparametern die Bildqualität optimieren.

Zu den Optimierungsparametern gehören:

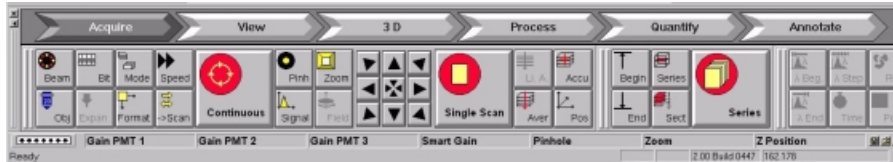
- die genaue Z-Position innerhalb der Probe
- der Verstärkungsfaktor des ausgewählten Detektors
- den Durchmesser der Detektionslochblende
- den Zoomfaktor

14. Aufnahme eines dreidimensionalen, räumlichen Datensatzes (3D-Serie)

14.1. Suchen Sie sich die obere Begrenzung des Datensatzes den Sie aufnehmen wollen. Benutzen Sie dazu den entsprechenden Knopf zur Z-Positionseinstellung der Bedienkonsole.



Standardmässig befindet sich die Einstellung der Z-Position auf Position 7 der Bedienkonsole



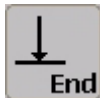
Standardbelegung der Bedienkonsole (unterer Bildrand)

14.2. Drücken Sie die Taste "Begin" zur Definition des Startpunktes der 3D-Serie



14.3. Suchen Sie sich die untere Begrenzung des Datensatzes den Sie aufnehmen wollen. Benutzen Sie dazu den entsprechenden Knopf zur Z-Positionseinstellung der Bedienkonsole.

14.4. Drücken Sie die Taste "End" zur Definition des Endpunktes der 3D-Serie



14.5. Stoppen Sie nun den Endlosscan indem Sie die Taste "Cont." noch einmal drücken.

14.6. Drücken Sie die Taste "Sect." zur Definition der Anzahl optischer Schnitte.



Weitere Details zu dieser Funktion können Sie der Onlinehilfe entnehmen

14.7. Drücken Sie die Taste "Aver." zur Definition der Anzahl von Mittelungsvorgängen (Frame-Average)



Gemittelt werden bei diesem Verfahren immer Aufnahmen eines einzelnen optischen Schnittes

14.8. Drücken Sie nun die Taste "Series" zur Aufnahme der 3D-Serie



15. Abspeichern der Bilddaten

Wählen Sie aus der Menüzeile **File->Save as** zum Abspeichern des Datensatzes



Weitere Details zum Thema Abspeichern von Datensätzen und zu Speicherformaten, siehe Kapitel „

Öffnen und Speichern von Datensätzen

“ Seite 46

Einstellen der Köhlerbeleuchtung

Was ist die Köhlerbeleuchtung?

In einem mikroskopischen Bild kann immer nur ein bestimmter Bereich einer Probe abgebildet (Bildfeld). Die Köhlerbeleuchtung erlaubt es, genau diesen Bereich zu beleuchten. Der Hintergrund für die genaue Ausleuchtung des Bildfeldes ist folgender:

Wenn der ausgeleuchtete Bereich kleiner ist als das Bildfeld, wird der vom Objektiv wahrgenommene Lichtkegel und damit die numerische Apertur kleiner. Da das optische Auflösungsvermögen direkt von der numerischen Apertur abhängt, wird bei geringerer Ausleuchtung auch das optische Auflösungsvermögen verringert - was in den meisten Fällen nicht gewollt ist.

Wenn der ausgeleuchtete Bereich größer ist als das Bildfeld, führt dies zu vermehrtem Streulicht. Dies führt wiederum zu einer Verringerung des Bildkontrastes. Dies kann zu Folge haben, dass optisch aufgelöste Strukturen des mikroskopischen Bildes nicht mehr beobachtet werden können. Die Köhlerbeleuchtung stellt einen Kompromiss zwischen maximalem Kontrast und maximalem Auflösungsvermögen dar. Die leistungsfähigsten Mikroskopobjektive erreichen oft nur bei exakt eingestellter Köhlerbeleuchtung ihr bestes optisches Verhalten.

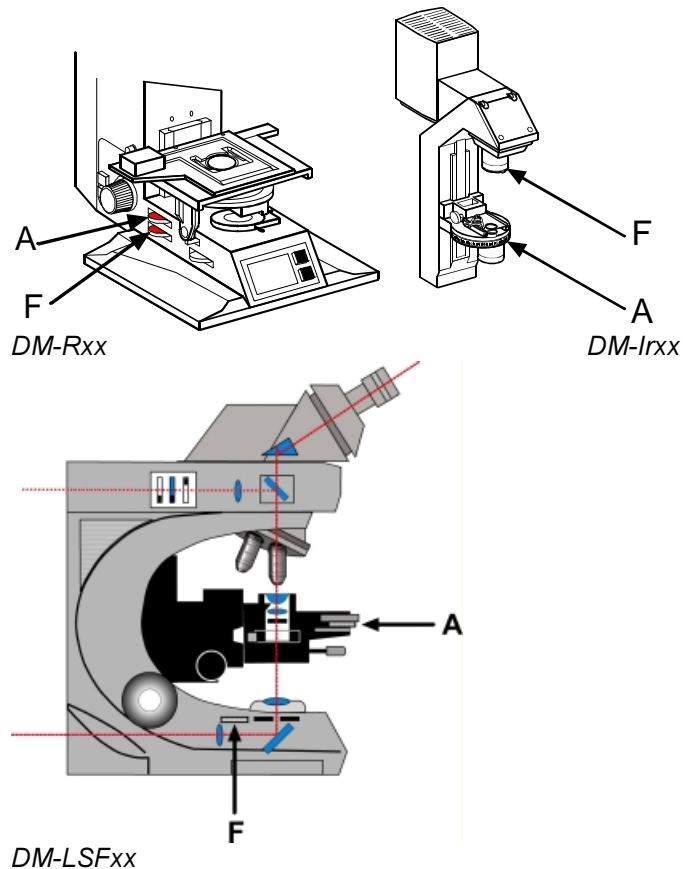
Einstellen der Köhlerbeleuchtung

1. Fokussieren

Stellen Sie einen Bereich Ihres Präparates scharf ein, der für Sie von Interesse ist. Achten Sie dabei noch nicht auf die Bildqualität.

2. Öffnen der Aperturblende

Öffnen Sie die Aperturblende vollständig. Diese wird später wieder soweit geschlossen werden, bis der gewünschte Kontrast erreicht ist.



A: Aperturblende, F: Feldblende

3. Schließen der Feldblende

Das Bildfeld wird dadurch in den meisten Bereichen dunkel werden. Sie werden einen unscharfen, unfokussierten Lichtfleck sehen. Falls dieser Lichtfleck beim schließen der Feldblende aus dem Gesichtsbereich verschwindet, ist die Feldblende zu zentrieren. In diesem Fall sollten Sie die Feldblende soweit zu öffnen, bis der Lichtfleck am Rand des Gesichtsfeldes zu sehen ist.



Falls kein Lichtfleck zu sehen ist, ist der Kondensator möglicherweise auf die falsche Höhe eingestellt. Verstellen Sie deshalb die Höhe des Kondensators, bis Sie die Feldblende sehen können.

4. Fokussieren

Stellen Sie den Rand des Lichtflecks nun scharf ein, in dem Sie die Höhe des Kondensators verändern.

5. Zentrieren

Drehen Sie die Zentrierschrauben des Kondensators solange, bis der Lichtfleck in der Mitte des Gesichtsfeldes zentriert ist. Das Zentrieren geht etwas einfacher, wenn Sie die Feldblende etwas öffnen um den Lichtfleck zu vergrößern.

6. Öffnen der Feldblende

Öffnen Sie die Feldblende nun so weit, bis der Lichtfleck gerade am Rand des Bildfeldes verschwindet.

7. Schließen der Aperturblende

Schließen Sie die Aperturblende so weit, bis Sie den gewünschten Bildkontrast erreicht haben (Öffnen auf ca. 70% des maximalen Durchmessers).

8. Wenn Sie das Objektiv wechseln

Es kann vorkommen, dass Sie nach Objektivwechsel die Köhlerbeleuchtung nachjustieren müssen.

Pflege und Reinigung

Informationen zu Wartung und Pflege des konventionellen Leica Forschungsmikroskops finden Sie in den entsprechenden Handbüchern.

Anweisungen und Zusatzinformationen, die die Komponenten des konfokalen Systems TCS SP2 betreffen, sind im folgenden zusammengefasst.

Standortwahl

Setzen Sie das System niemals Zugluft aus. Es sollte dafür gesorgt werden, dass das TCS SP2 niemals in der Nähe von Aufzügen, Klimaanlage oder anderen Ein- und Auslässen aufgestellt wird.

Planen Sie deshalb den Aufstellungsort genau.

Mikroskop vor Staub und Fett schützen

Wenn Sie das System nicht verwenden, sollten Sie es immer mit einer Kunststoffolie (im Lieferumfang enthalten) oder einem sauberen Baumwolltuch abdecken. Das System sollte in einer so weit wie möglich staub- und fettfreien Umgebung betrieben werden. Befinden sich keine Objektive im Objektivrevolver, sollten die freien Positionen immer mit Staubschutzkappen versehen werden.

Aggressive Chemikalien unter großer Vorsicht verwenden

Gehen Sie äußerst Vorsichtig vor, wenn Sie bei Ihrer Arbeit mit Säuren, Laugen oder anderen aggressiven Chemikalien zu tun haben. Achten Sie darauf, diese Substanzen von den optischen und mechanischen Komponenten des Systems fernzuhalten.

Reinigen des optischen Systems

Das optische System des Mikroskops muss sich stets in gereinigtem Zustand befinden. Auf keinen Fall sollten Sie die optischen Komponenten mit den Fingern oder etwas Staubigem oder Fettigem berühren.

Entfernen Sie Staub mit einem feinen, trockenen Haarpinsel. Falls dies nicht ausreicht, können Sie ein sauberes, mit destilliertem Wasser angefeuchtetes Tuch verwenden. Hartnäckige Verunreinigungen lassen sich mit reinem Alkohol, Chloroform oder Naphtha von den Glasoberflächen entfernen.

Falls eine Objektivlinse zufällig durch ungeeignetes Immersionsöl oder durch die Probe kontaminiert wird, wenden Sie sich bitte an Ihre nächste Leica-Vertretung. Dort berät man Sie gern über die Verwendung bestimmter Lösungsmittel zur Reinigung. Lassen Sie sich unbedingt bei der Wahl der geeigneten Lösungsmittel beraten, da einige Lösungsmittel den Klebstoff, mit dem die Linse angebracht wurde, lösen können.



Niemals die Objektive zum Reinigen öffnen!

Die Immersionslinsen sollten direkt nach der Verwendung vom Immersionsöl befreit werden. Entfernen Sie das Immersionsöl zunächst mit einem sauberen Tuch. Legen Sie, nachdem Sie den größten Teil des Immersionsöls entfernt haben, ein feines für Linsen geeignetes Tuch über die Immersionsseite der Linse. Bringen Sie nun einen Tropfen des Lösungsmittels auf, das man Ihnen hierfür empfohlen hat, und wischen Sie sanft mit dem Tuch über die Linsenoberfläche. Wiederholen Sie diesen Vorgang, bis die Linse vollständig gereinigt ist. Verwenden Sie dazu jedes mal ein neues, sauberes Linsentuch.

Reinigen der Mikroskopoberfläche

Verwenden Sie ein Baumwoll- oder ein Ledertuch (mit Naphtha oder Alkohol angefeuchtet), um die Oberfläche des Mikroskopgehäuses oder des Scanners (lackierte Teile) zu reinigen.



Niemals Aceton, Xylol oder Nitro-Verdüner verwenden, da sie den Lack angreifen!

Alle LEICA-Komponenten und -Systeme wurden sorgfältig und mit den modernsten

Produktionsmethoden hergestellt. Falls Sie trotzdem mit Ihrem Gerät Probleme haben sollten, versuchen Sie bitte nicht, die Geräte oder Zubehörteile selbst zu reparieren, sondern wenden Sie sich bitte an Ihre Leica-Vertretung.



Vor jeder Ortsänderung des Konfokalsystems, sollte dieses gründlich gereinigt werden. Dies betrifft insbesondere Systeme, die sich in biologisch-medizinischen Forschungslabors befinden.

Dies ist nötig, um eine evtl. vorliegende Kontamination zu beseitigen und damit eine Verschleppung und eine Gefährdung anderer Personen zu vermeiden. Achten Sie dabei nicht nur auf Oberflächen sondern insbesondere auch auf Ventilatoren und Kühleinrichtungen, da sich dort besonders häufig Staub ansammeln kann.

Die Leica Confocal Software: Ein Überblick

Starten der Software

Voraussetzungen zum Starten der Software

Die LCS Software verfügt über ein Schutzsystem, das es gewährleistet, dass jede verkaufte Softwarelizenz nicht auf zwei Computern gleichzeitig läuft. Des Weiteren werden über dieses Schutzsystem auch sämtliche zusätzlich gekaufte Applikationspakete freigeschaltet. Das Schutzsystem besteht aus einem Hardwarestecker (ein sog. Dongle), der auf die parallele Schnittstelle des Steuerrechners aufgesteckt wird. Die Funktionalität der parallelen Schnittstelle (z.B. Druckeransteuerung o.ä.) wird dadurch nicht beeinträchtigt. Sollten Sie einen separaten Rechner mit einer Zweitinstallation betreiben wollen, so ist der Schutzstecker auf die parallele Schnittstelle des Zweitrechners aufzustecken.



Sobald Sie den Schutzstecker vom Steuerrechner des Konfokalsystems abgezogen haben, kann die Software nicht mehr gestartet werden. Das bedeutet, dass das Konfokalsystem nicht mehr zu betreiben ist.

Die LCS Software kann in zwei Modi gestartet werden, dem Hardwaremode und dem Simulationsmode. Im Hardwaremode werden sämtliche Hardwarekomponenten von der Software angesprochen und initialisiert. Aus diesem Grund sollten Sie beim Start im Hardwaremode die Hardware zuerst und nach ca. 20 Sekunden die Software starten.

Im Simulationsmode läuft die Software komplett ohne Hardware. Diese Betriebsart empfiehlt sich bei Zweitinstallationen auf einem weiteren Rechner und ist z.B. für Schulungen oder Offline-Analyse von bereits aufgenommenen Datensätzen geeignet.

Vorgehensweise beim Start der Software

Wählen Sie **Start|Programs|Leica Confocal Software**.. Es öffnet sich der Startbildschirm der Leica Confocal Software. In diesem Fenster können Sie nun aus drei Profilen wählen.

Company

Mit dieser Option wird die Leica Confocal Software mit werksseitig vorgegebenen Einstellungen gestartet. Das bedeutet, dass die Konfiguration und die Position der Toolbars fest vorgegeben ist. Diese Einstellungen können nicht geändert werden.

Personal

Mit dieser Option wird ein benutzerspezifisches Einstellungsprofil verwendet. Der Benutzername wiederum hängt davon ab, unter welchem Account sich eine Person am Betriebssystem anmeldet. Wenn beim ersten Start durch einen Benutzer noch kein persönliches Einstellungsprofil vorliegt, wird automatisch die werksseitige Standardeinstellung als persönliches Profil verwendet.

Last Exit

Mit dieser Option wird das zuletzt verwendete Einstellungsprofil verwendet.

Für Fortgeschrittene:

Wenn Sie über mehrere Einstellungsprofile verfügen, können Sie diese beim Start laden, wenn Sie mit dem Mauszeiger auf die Schaltfläche mit den drei kleinen schwarzen Punkten drücken (befindet sich am rechten unteren Rand der Profilooptionen). Hier können Sie auch Ihr aktuell eingestelltes persönliches Einstellungsprofil wieder auf das werksseitige Standardprofil zurücksetzen.

Nach Drücken der Start-Schaltfläche wird die Leica Confocal Software mit dem entsprechenden Einstellungsprofil gestartet.



Die Software startet nach einer gewissen Zeit unter Benutzung des ausgewählten Einstellungsprofils auch selbst.

Das experimentelle Konzept der Software

Die Leica Confocal Software erlaubt es, Bilddaten oder Ergebnisse von Bildverarbeitungsschritten zu Gruppen zusammenzufassen. Je eine Gruppe wird "Experiment" genannt und in einem speziellen Datenformat (*.lei) abgespeichert. So können originale experimentelle Bilddaten gemeinsam mit Bildarstellungsdaten abgelegt werden. Weitere Details entnehmen Sie bitte dem Kapitel "Datenorganisation durch Gruppieren von Experimenten"

Prinzipieller Aufbau der Benutzeroberfläche

Das Aussehen der graphischen Benutzeroberfläche - im Folgenden kurz GUI (**G**raphical **U**ser **I**nterface) genannt - hängt sehr stark vom verwendeten Einstellungsprofil ab. Dennoch verfügt das GUI über eine Reihe von Standardelementen.

Das GUI verfügt über folgende Standardelemente:

Die Menüleiste

In ihr befinden sich die Kategorien **F**ile, **V**iew, **M**acro, **T**ools, **W**indow sowie **H**elp. Innerhalb dieser Kategorien finden Sie Befehle und Informationen zur allgemeinen Darstellung, Einstellung sowie zur Anpassung an den Benutzer. Sie enthält keine Funktionen zur direkten Steuerung von Scanfunktionen. Diese befinden sich im TCS-Menü (**V**iew → **M**enu → **TCS-Menu**). Die Menüleiste selbst kann nicht konfiguriert werden.

Das Ansichtsfenster (TCS_Viewer)

In ihm werden Bilddaten, experimentelle Bedingungen sowie Angaben zum Benutzer angezeigt. Das Bildfenster kann konfiguriert werden (siehe Kapitel "Modifikation der Benutzeroberfläche und Definition benutzerspezifischer Einstellungen"). Das Bildfenster zeigt nicht nur konfokale Bilddatensätze, sondern auch experimentelle Daten wie Systemeinstellungen. Ein Bildfenster für ein neues Experiment kann geöffnet werden über **File** → **New**.

TCS-Menü (TCS_Menu)

Das TCS Menü enthält die Schaltflächen zu den einzelnen Funktionen des Gerätes. Es ist unterteilt in einzelne Arbeitsschritte. Je nach Softwareausstattung kann die Anzahl der Arbeitsschritte unterschiedlich sein. Der Standardsatz von Arbeitsschritten besteht aus der Datenaufnahme (Acquire), der Bilddarstellung (View), der Oberflächenrekonstruktion (3 D), den Messfunktionen (Quantify), den Bildverarbeitungs- und Analysefunktionen (Process) sowie den Dokumentationsfunktionen (Annotate). Falls das TCS Menü im aktuellen Einstellungsprofil nicht angezeigt wird, können Sie es über **View** → **Menu** → **TCS Menu** ein- und ausschalten.

Schaltflächenbereich (Toolbar)

In diesem Bereich können einzelne Tasten (Funktionsbuttons) eingefügt und benutzerspezifisch eingerichtet werden. Der Vorteil des Schaltflächenbereichs liegt vor allem darin, dass er sich mit dem gesamten Inhalt an Schaltflächen ein- und ausschalten lässt. Gehen Sie hierfür wie folgt vor: **View** → **Menu** → **Container**.

Ansichtsfenster für Dokumente (Experiment Overview)

In ihm werden die aufgenommenen Experimente sowie deren Inhalte in einem Verzeichnisbaum dargestellt. Das Ansichtsfenster kann geöffnet werden über **View** → **Experiment Overview**.

Statusleiste (Statusbar)

Die Statusleiste befindet sich am unteren Rand der Benutzeroberfläche der Leica Confocal Software. In ihr werden angezeigt:

- Der Fortschritt beim Laden von Bilddaten (Progressbar)
- Die Versionsnummer der Software
- Die Bezeichnung der Maschinenkonfiguration (Systemtyp).

Details über Einzelfunktionen können Sie dem Kapitel "Die LCS Softwarefunktionen" entnehmen.

Öffnen und Speichern von Datensätzen

Lesbare Dateiformate

Folgende Dateiformate lassen sich in der Leica Confocal Software öffnen und darstellen

Experimente (*.lei):

Es handelt sich hierbei um ein Leica-spezifisches, binäres Datenformat. Dieses Format ist für Daten von kompletten Experimenten vorgesehen.

TIFF-Dateien (*.tif):

Es handelt sich dabei um Leica Bilddateien im Single- und Multi-TIFF-Format. Es können sowohl Bilddateien in früher verwendeten TCS Formaten als auch externe Dateien im RGB-TIFF-Format eingelesen werden.

Annotation (*.ano):

Es handelt sich hierbei ebenfalls um ein Leica-spezifisches, binäres Datenformat. In ihm werden Präsentationsseiten (Annotations) abgespeichert. Die auf den Präsentationsseiten vorhandenen Elemente wie Bilder, Texte und Grafiken liegen jeweils als einzelne Objekte vor.

Beim Lesen der Dateien werden nicht nur die Bilddaten sondern auch die experimentellen Einstellungen geladen.

Automatische Übernahme von Aufnahmeparametern

Mit der Leica Confocal Software können die Hardwareeinstellungen, die mit Experimenten oder Einzelbildern abgespeichert wurden, für ein neues Experiment übernommen werden. So kann die Aufnahme von verschiedenen Experimenten unter gleichbleibenden Einstellungen vorgenommen werden. Zur Übernahme aktivieren Sie das Ansichtsfenster des Datensatzes, dessen Einstellungen Sie übernehmen wollen. Drücken Sie danach die Schaltfläche "Apply" (befindet sich bei dem werkseitigen Einstellungsprofil im Schaltflächenbereich [Toolbar]).



*Falls Sie die Schaltfläche "Apply" nicht in einem der angezeigten Fenster vorfinden, können Sie die Taste in ein beliebiges Fenster laden mit **Tools**→**Customize**. Wählen Sie in dem angezeigten Dialogfenster das Register "Commands", Kategorie: File. Klicken Sie mit der linken Maustaste auf die Taste "Apply", halten die linke Maustaste gedrückt und ziehen Sie diese in das Fenster Ihrer Wahl. Lassen Sie die linke Maustaste los um die Taste an der aktuellen Position einzufügen.*

Speichern von Bildern

Einzelbilder und Experimente lassen sich in denselben Datenformaten abspeichern wie sie bereits im Abschnitt " Lesbare Dateiformate " beschrieben sind.

Speichern können Sie Ihre Bilder und Experimente mit **File** → **Save**. Beim erstmaligen Speichern eines Experimentes, wird automatisch die "Save as"-Funktion verwendet, die Sie zur Eingabe eines Dateinamens auffordert. Neben der Definition eines geeigneten Dateinamens können Sie hier auch das Dateiformat wählen. Experimente können nur im Leicaspezifischen *.lei-Format. Beim Speichern von Experimenten können sie evtl. vorhandene Einzelbilder im *.tif oder *.raw-Format abspeichern.



*Hatten Sie das Experiment oder das Bild bereits einmal abgespeichert, werden bei jedem weiteren Speichervorgang die alten Daten überschrieben. Wenn Sie dies nicht wollen, und die neuen Daten unter einem anderen Namen abspeichern wollen, sollten Sie **File** →**Save as** wählen.*

Datenorganisation durch Gruppieren von Experimenten

Das Konzept der Leica Confocal Software erlaubt es, Einzelbilder, Bildserien sowie Ergebnisse von Bildverarbeitungsschritten zu einer Gruppe - einem Experiment - zusammenzufassen. Sie erhalten einen Überblick über die geladenen Experimente im Experimentenansichtsfenster (Experiment Overview). Falls das Experimentenansichtsfenster geschlossen ist, können Sie es mit **View** → **Experiment Overview** öffnen. Mit **File** → **New** und **File** → **New(Template)** wird ein neues Experiment angelegt. Ebenso werden bereits abgespeicherte Dateien, die Sie öffnen, als separate Experimente verwaltet.

Zusammenstellen von Experimenten

Nachdem Sie mit **File**→**New** oder **File**→**New(Template)** ein neues Experiment definiert haben, können Sie dieses sukzessive mit Daten füllen.



Bilder, die mit der Endlos-Scan-Funktion (Continuous scan) aufgenommen wurden, werden beim nächsten Scanstart automatisch überschrieben. Wollen Sie eine Einzelaufnahme dauerhaft als Teil eines Experimentes behalten, sollten Sie die Einmal-Scan-Funktion wählen.

Teil eines Experiments sind Daten, die mit der "Einmal-Scan-" bzw. mit der "Serien-Scan"-Funktion aufgenommen wurden. Führen Sie an einem Datensatz Bildverarbeitungsfunktionen durch, können Sie die Ergebnisse ebenfalls als Bestandteil des Experimentes abspeichern. Wählen Sie sich dazu durch einen Doppelklick das gewünschte Einzelbild bzw. die Serie aus dem Experimentenansichtsfenster. Führen Sie nun die Bildverarbeitungsfunktionen durch (z.B. Maximumsprojektion oder Topologiebild o.ä.). Markieren Sie den Bereich innerhalb des Ansichtsfensters (Viewer), den Sie als Teil des Experimentes aufbewahren wollen. Über die rechte Maustaste (Kontextmenü) wählen Sie **Send to**→**Experiment**. Die Option **Selection (raw)** legt eine Kopie der Rohdaten des ausgewählten Objektes als neuen, separaten Bestandteil des Experimentes an. Die Option **Selection (snapshot)** legt ein RGB-Bild (keine 3D-Daten, reines Photo) des ausgewählten Objektes als neuen Bestandteil des Experimentes an.

Menüfunktionen

Folgende Funktionen stehen über die Menüzeile zur Verfügung:

File-Menü

New:

Diese Option öffnet ein neues Experiment in einem neuen Ansichtsfenster. Für die Darstellung des Ansichtsfensters wird die aktive Voreinstellung verwendet (siehe dazu Kapitel "Voreinstellungen und Vorlagen").

New (Template):

Diese Option öffnet ein neues Experiment in einem neuen Ansichtsfenster. Die Art der Darstellung des Ansichtsfensters kann aus einem Satz von Vorlagen gewählt werden.

Open:

Diese Option öffnet ein bereits abgespeichertes Experiment oder einen einzelnen Datensatz (Bild- oder Annotationsdaten). Für die Darstellung des Ansichtsfensters wird die aktive Voreinstellung verwendet (siehe dazu Kapitel "Voreinstellungen und Vorlagen").

Open (Template):

Diese Option öffnet ein bereits abgespeichertes Experiment, einen einzelnen Datensatz oder Dokumentationsdateien Präsentationsdateien. Die Art der Darstellung des Ansichtsfensters kann aus einem Satz von Vorlagen gewählt werden.

Close:

Diese Option schließt das aktuell aktive Experiment. Dabei wird das Experiment nicht automatisch vorher gespeichert.



Es wird nicht nachgefragt, ob das Experiment vor dem Schließen gespeichert werden soll.

Close all:

Diese Option schließt alle Experimente. Dabei wird das Experiment nicht automatisch vorher gespeichert.



Es wird nicht nachgefragt, ob das Experiment vor dem schließen gespeichert werden soll.

Save:

Speichert das aktuelle Experiment.

Save as:

Speichert das aktuelle Experiment unter einem anderen Namen.

Recent files:

Öffnet eine der zuletzt geöffneten Dateien.

Print:

Öffnet einen Dialog zum Drucken des Inhaltes des aktuell aktiven Fensters.

Exit:

Beendet das Programm.

View-Menü**Menus:**

Mit dieser Option können das TCS-Menü und der Schaltflächenbereich (Toolbar) ein- oder ausgeschaltet werden.

Statusbar:

Diese Option schaltet die Darstellung der Statuszeile am unteren Rand der Benutzeroberfläche der LCS Software ein bzw. aus.

Experiment Overview:

Diese Option öffnet ein Fenster, in dem die einzelnen Experimente und deren Bestandteile (Datensätze, Graphen etc.) baumartig dargestellt werden. Durch Doppelklick auf den gewünschten Experimentbestandteil innerhalb des Experiment-Overview-Fensters, wird das entsprechende Ansichtsfenster in den Vordergrund gestellt.

Viewer Options:

Mit dieser Option können verschiedene Einstellungen für die Darstellung von Datensätzen im Ansichtsfenster vorgenommen werden (z.B. Darstellungswinkel und Berechnungsmethoden zur Darstellung der Bilddaten u.a.).

Macro-Menü**Macros:**

In Abhängigkeit von der installierten Software können mit dieser Option entweder Makros direkt editiert oder nur aufgezeichnet und gestartet werden.



Nur wenn die komplette integrierte VBA- Entwicklungsumgebung (IDE) installiert wurde,

können Makros auch editiert und modifiziert werden.

Record a New Macro:

Startet den Makrorecorder zur automatischen Aufzeichnung eines Makros.

(Weitere Details entnehmen sie bitte der zur optionalen Makroentwicklungsumgebung mitgelieferten Dokumentation.)

Pause Recording:

Unterbricht die automatische Aufzeichnung eines Makros.

Stop Recording:

Stoppt die automatische Aufzeichnung eines Makros.

Visual Basic Editor (optional):

Startet die Software zur Entwicklung von Makros und Programmen auf der Basis von Visual Basic for Applications (VBA). Hier können Makros editiert, modifiziert und sogar ganze Programme entwickelt werden.

Tools-Menü

Legend Info:

Diese Option öffnet das Dialogfenster zur Eingabe benutzerspezifischer Angaben. Diese Angaben (z.B. Institutsname, Bezeichnung der Probe etc.) werden mit jedem Datensatz abgespeichert und können in der Legende neben den aufgenommenen Bildern angezeigt werden.

Objective:

Diese Option öffnet das Dialogfenster zur Definition der verwendeten Objektivs. Die von ihnen verwendeten Objektivs können aus der in dem Dialogfenster verfügbaren Liste per "Drag and Drop" kopiert und damit der Software kenntlich gemacht werden.



Die richtige Angabe des Objektivs ist wichtig, da einige berechnete Größen davon abhängen (z.B. Scanfelddimensionen), automatische Anpassung der Detektionslochblende.

Microscope:

Diese Option ermöglicht die Auswahl des verwendeten Leica Mikroskops. Diese Auswahl beeinflusst die Art und Weise der Ansteuerung des Mikroskops (z.B. des motorisierten Objektivrevolvers).

Settings:

Diese Option ermöglicht die Auswahl von Hardwareeinstellungen, die beim Öffnen eines bereits gespeicherten Datensatzes übernommen werden sollen.

License:

Mit dieser Option können Lizenzen nachinstalliert werden. Eine Lizenz wird üblicherweise dann nachinstalliert, wenn ein optional angebotenes Softwarepaket nachträglich hinzugekauft wird.

Window-Menü

New Window:

Diese Option öffnet ein neues Ansichtsfenster innerhalb desselben Experimentes. Damit kann beispielsweise ein- und derselbe Datensatz in unterschiedlichen Darstellungen gleichzeitig angezeigt werden (z.B. Topo- + Overlaydarstellung)

Help-Menü

Contents:

Öffnet das Inhaltsverzeichnis der Onlinehilfe.

Search:

Startet die Volltextsuche innerhalb der Onlinehilfe.

Index:

Öffnet das Schlüsselwortverzeichnis der Onlinehilfe.

Dateiformate LCS

Formate benutzerspezifischer und geräteabhängiger Daten

Die LCS Software verfügt über folgende Dateiformate für benutzerspezifische Daten:

	Verzeichnis: Leica	Verzeichnis: User
Instrumentenwerte (Instrument P arameter S ettings)	*.IPS	*.IPS
Makros	Company.mac	User.mac
Vorlagen für Bedienkonsole	*.pbo	*.pbo
Benutzerprofile	CompanyProfile.pro	PersonalProfile.pro LastExitProfile.pro LastRecent.lst
Vorlagen	*.prt	*.prt
Kalibrierdaten	Machine.lhw	
Farbzuordnungstabellen	*.lut	
benutzerspezifisches Profil wie es bei der letzten Benutzung definiert war		*.lst

Im Einzelnen beinhalten die verschiedenen Dateiformate:

*.IPS

In diesem Format werden Instrumentenparameter abgespeichert. Darunter fallen hardwarenahe Einstellungen wie die Intensität der einzelnen Laserlinien, die Anzahl von simultan benutzten Kanälen, die Art des benutzten Hauptstrahlteilers, die Position und Bandbreite der einzelnen Spektrophotometerblenden sowie die Sensitivität der Detektoren. Es gibt sowohl werksseitig definierte unveränderliche Standardsätze von Instrumentenparametern, die eine sehr schnelle Einstellung der Hardware ermöglichen. Des Weiteren kann sich jeder Benutzer Instrumentenparametersätze in seinem eigenen Benutzerverzeichnis abspeichern. Hiermit können Sie die für Ihr Anwendungsgebiet typischen Instrumentenparameter abspeichern und reproduzierbar für andere Experimente bereitstellen.

*.mac

In diesem Format werden Makros abgespeichert. Makros beinhalten VBA (**V**isual **B**asic for **A**pplication)-Programmcode. Die einzelnen Programmobjekte zur Steuerung des Konfokalsystems werden von Leica in einem Objektmodell bereitgestellt. Weitere Einzelheiten zur Entwicklung von Makros zur Steuerung des Konfokalsystems entnehmen Sie bitte dem Kapitel "Die LCS Makrosprache".

Mit der Software werden werksseitig bereits vordefinierte Makros mitgeliefert, die Sie sowohl unverändert verwenden als auch selbst modifizieren können. Die selbsterstellten bzw. modifizierten Makros werden im jeweiligen benutzerspezifischen Verzeichnis abgespeichert.

*.pbo

In diesem Format werden Vorlagen für die Belegung der Bedienkonsole gespeichert. Mit diesen Vorlagen wird definiert, welcher Scanparameter durch welchen Drehknopf kontrolliert wird. Auch hier gibt es werksseitige Voreinstellungen, die sich für die meisten Standardanwendungen als sinnvoll herausgestellt haben. Selbstdefinierte Vorlagen werden im benutzerspezifischen Verzeichnis gespeichert.

*.pro

In diesem Format werden spezifische Profile der Benutzeroberfläche abgespeichert. Dazu gehört, welche Taste sich in welcher Position in welcher Toolbar befindet. Des Weiteren können neue Toolbars definiert bzw. bereits definierte Toolbars aus und eingeblendet werden. Auch die Position der Toolbars - ob eingebettet oder frei beweglich - wird in einem Profil festgehalten. So kann sich jeder Benutzer seine eigene Benutzeroberfläche gestalten. Systemverantwortliche können mit diesem Werkzeug beispielsweise für jede Kenntnisstufe des Benutzers (Einsteiger, Fortgeschrittenere, Experte) eine eigene Benutzeroberfläche gestalten.

***.lst**

Im Benutzerverzeichnis wird neben den einzelnen benutzerspezifischen Profilen auch noch das Profil der letzten Benutzung sowie eine Liste mit den vier letzten vom Benutzer benutzten Datensätzen abgespeichert.

***.prt**

In diesem Format werden Vorlagen für das Ansichtsfenster "Viewer" gespeichert. Damit kann das Aussehen und die Art der dargestellten Informationen spezifisch festgehalten werden. Eine Erklärung der einzelnen Konfigurationsmöglichkeiten erhalten Sie im Kapitel "Ansichtsfenster Viewer".

***.lhw**

In diesem Format werden Kalibrierdaten und Hardwareeinstellungen des Konfokalsystems festgehalten. Diese Datei ist ausschliesslich von Servicepersonal, das von Leica Microsystems Heidelberg zertifiziert ist, zu bearbeiten.



Veränderungen in dieser Datei können schwerwiegende, unter Umständen irreparable Schäden am Konfokalsystem nach sich ziehen. Schäden, die nachweislich durch Modifikation dieser Datei durch Benutzer zustande kommen, haben einen Verlust der Garantie für das Gesamtsystem zur Folge.

***.lut**

In diesem Format werden Farbuordnungstabellen abgespeichert. Mit ihnen werden die von den Detektoren gemessenen Intensitätswerte jeweils einer Farbe zugeordnet. Damit können neben der reinen Farbdarstellung, bestimmte Intensitätsbereiche herausgehoben werden. Nähere Einzelheiten entnehmen Sie bitten dem Kapitel "Farbuordnungstabellen auswählen".

Feststehende Leica spezifische Datenformate

Folgende Dateiformate lassen sich in der Leica Confocal Software öffnen und darstellen

Rohdaten (*.raw)

Das RAW-Format speichert Daten als lineares zweidimensionales Array im INTEL Format. Der Spaltenindex des Arrays entspricht der schnellsten Abtastdimension (meist die x-Achse), der Zeilenindex entspricht der langsameren Abtastdimension (meist die y-Achse). Bei einer 8-Bit-Aufnahme wird jede Messgröße als einzelnes Byte abgespeichert. Bei einer 12-Bit Aufnahme werden 2 Bytes verwendet, wobei gemäß dem INTEL-Format (littel endian) das erste Byte die höherwertigen Bits enthält. Jeder optische Schnitt wird für jeden Kanal in einer separaten Datei mit der Dateierdung .raw gespeichert. Die Namenskonvention lautet: *Name des Experiments_Name des Datensatzes_Kanalnummer_z-Dimension_Nummer des optischen Schnittes.raw*

Experimente (*.lei)

Es handelt sich hierbei um ein Leica-spezifisches, binäres Datenformat. Dieses Format ist für Daten von kompletten Experimenten vorgesehen.

In diesem Dateiformat wird eine Dateibeschreibungen gespeichert, die auf eine Serie von Bilddateien im TIFF-Format oder im RAW-Format verweist.

TIFF-Dateien (*.tif)

Es handelt sich dabei um Leica Bilddateien im Single- und Multi-TIFF-Format. Es können sowohl Bilddateien in früher verwendeten TCS Formaten als auch externe Dateien im RGB-TIFF-Format eingelesen werden.

Annotation (*.ano)

Es handelt sich hierbei ebenfalls um ein Leica-spezifisches, binäres Datenformat. In ihm werden Präsentationsseiten (Annotations) abgespeichert. Die auf den Präsentationsseiten vorhandenen Elemente wie Bilder, Texte und Grafiken liegen jeweils als einzelne Objekte vor.



Ob es sich bei der gespeicherten Messgröße um einen Intensitätswert oder um einen Höhenwert handelt, wird in der zugehörigen LEI-Datei gespeichert.

2 ⁷	2 ⁶	2 ⁵	2 ⁴	2 ³	2 ²	2 ¹	2 ⁰	2 ¹⁵	2 ¹⁴	2 ¹³	2 ¹²	2 ¹¹	2 ¹⁰	2 ⁹	2 ⁸
Niederwertiges Byte laut INTEL-Format								Höherwertiges Byte laut INTEL Format							

Darstellung einer 12-Bit Zahl im INTEL-Format

Spezifikation des Dateiformats „Lei“ (Version beta 2.000)

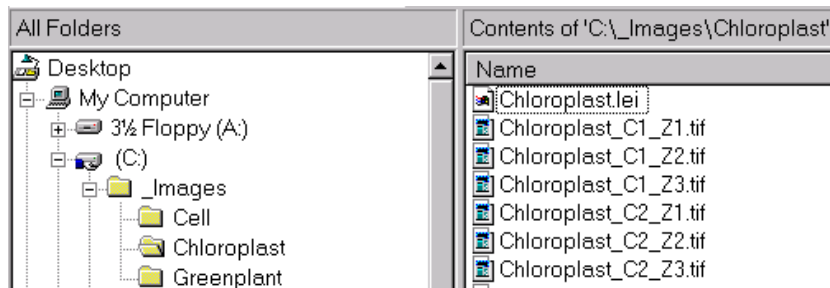
Sobald in der LCS Software eine Datei gespeichert wird, wird ein zuerst ein Unterverzeichnis zum aktuellen Verzeichnis angelegt.

In dieses Unterverzeichnis wird abgespeichert:

1. Eine Beschreibungsdatei; deren Aufbau wird im folgenden beschrieben. Sie dient der Interpretation der Daten eines Experimentes durch die LCS Software

2. Die einzelnen Bilddateien; die Namensgebung der Bilddateien folgt der folgenden Logik:

NAME_Kanalnummer_dimensionIndex. So bedeutet z.B. Chloroplast_C1_Z1, dass der vom Benutzer angegebene Name des Datensatzes "Chloroplast" ist, dass das Bild dem ersten optischen Schnitt eines dreidimensionalen Datenstapels (Z1) entspricht, und dass die Daten im ersten Detektionskanal (C1) aufgenommen wurden.



Beispiel zum Abspeichern eines Experiments im "Lei"-Format

Struktur der Beschreibungsdatei

Die Beschreibungsdatei ist nur für die LCS Software zu lesen.

Sie besteht aus einer Sammlung verschiedener Tabellen und besitzt folgende Struktur

Headertabelle

Byte	Bedeutung	Mögliche Werte
0 ... 3	Byteanordnung	0x49494949 Intel LSB 0x4D4D4D4D Motorola MSB
4 ... 7	Identifikation für Leica "Lei" Format	0x016033F0
8 ... 11	Versionsnummer	aktuell: =x20000000
12 ... 15	Adresse der Verzeichnistabelle A	jede mögliche Adresse im Bereich der Gesamtlänge der Datei

Verzeichnistabelle A

Adresse	Bedeutung	Datentyp des
---------	-----------	--------------

		Eintrags
Adresse von A = A	Anzahl von Einträgen in dieser Tabelle	DWORD
A+4	Index des ersten Eintrags (Gibt einen logischen Speicherblock wieder, z.B. Aufnahmeparameter ("Hardwaresettings") oder Bildparameter ("Dimensionen"))	DWORD
A+8	Adresse A1 des 1.Eintrags	DWORD
A+12	Index des ersten Eintrags (Gibt einen logischen Speicherblock wieder, z.B. Aufnahmeparameter ("Hardwaresettings") oder Bildparameter ("Dimensionen"))	DWORD
A+14	Address A2 des 2.Eintrags	DWORD
...

Die Länge der Verzeichnistabelle hängt davon ab, wieviele Bilder und Bilddaten in einem Experiment gespeichert werden sollen (Aufnahmeparameter, Anzahl Kanäle, Anzahl optischer Schnitte etc.). Jeder Eintrag in der Verzeichnistabelle entspricht dabei einem logischen Speicherblock.

Blocktabelle Xn

Adresse	Bedeutungg	Datentyp
A1 bzw. A2 bzw. A3.....A _i	Prüfziffer	DWORD
A _i + 4 Bytes	Beschreibung des Inhaltes der Blocktabelle (wird derzeit nicht benutzt)	DWORD
A _i + 8 Byte	Version des Eintrags	DWORD
A _i + 12 Byte	Größe des Eintrags	DWORD
A _i + 16 Byte	Beginn des Eintrags	Der Datentyp hängt vom Typ des Eintrags ab

Folgende logischen Speicherblöcke sind verfügbar:

const DWORD	ID_SERIES	=	10;
const DWORD	ID_IMAGES	=	15;
const DWORD	ID_DIMDESCR	=	20;
const DWORD	ID_FILTERSET	=	30;
const DWORD	ID_TIMEINFO	=	40;
const DWORD	ID_SCANNERSET	=	50;
const DWORD	ID_EXPERIMENT	=	60;
const DWORD	ID_LUTDESC	=	70;

Für den Datentyp DWORD ist ein Speicherplatz von 32 Bit definiert

Speicherblock ID_SERIES

Dieser Datenblock beinhaltet Informationen über die Größe der kompletten, in einem Experiment zusammengefassten Datenserie. Dieser Datenblock kommt immer genau ein einziges mal pro Experiment auf. Der Datenblock ist folgendermaßen aufgebaut:

Größe [byte]	Datentyp	Symbol	Beschreibung
4	int		interne Versionsnummer
4	int	nSE	Anzahl von Bildserien
4	int	nIm	Länge eines Dateinamens in wchar
4	int	nExt	Länge der Dateiendung der Bilddatei in Bytes
nExt	wchar		Dateiendung der Bilddatei

Speicherblock ID_IMAGES

Dieser Block beinhaltet alle Dateinamen aller Bilddateien, die zu einer Serie gehören. Der Datenblock ist folgendermaßen aufgebaut:

	4	int	nFiles	Anzahl der Einzelbilder der Serie
	4	int		Breite eines Einzelbildes
	4	int		Länge eines Einzelbildes
	4	int		Bits / Datenpunkt (Auflösung der Aufnahme)
	4	int		Datenpunkte / Pixel (Auflösung der Darstellung)
Für die nächsten n Bilddateien				
	nIm * 2	wchar		Name des nächsten Bildes

Speicherblock ID_DIMDESCR

Dieser Block beschreibt, die wie ein Bild im n -dimensionalen Raum beschrieben wird.

	Größe [byte]	Datentyp	Symbol	Beschreibung
	4	int		interne Versionsnummer der VOXEL-Beschreibung
	4	int		Voxeltyp.z.B. RGB oder GRAY (siehe folgende Tabelle VOXEL-TYPEN)
	4	DWORD		Bytegröße eines Pixels Typisch: (1 oder 2) oder (3 oder 6 für RGB)
	4	DWORD		Auflösung der Scandaten (8, 12 oder 16 Bit)
	4	int	nTC	Länge der folgenden Zeichenkette length in wchar (wchar = w ide ch aracter; Textzeichenformat, das im Gegensatz zum ASCII-Format (1 Byte) eine 2-Byte-Codierung der Textzeichen verwendet.
	nTC * 2	wchar		Maximaler Wert der Messgröße (Intensitätswert oder Längenwert einer Strecke) für ein Voxel.
	4	int	nTC	Länge der folgenden Zeichenkette in wchar
	nTC * 2	wchar		Minimaler Wert der Messgröße (Intensitätswert oder Längenwert einer Strecke) für ein Voxel.
	4	int	nTC	Länge der folgenden Zeichenkette in wchar
	nTC * 2	wchar		Kennzeichnung der Messgröße ("I" für Intensität, "z" für Längenwert)
	4	int		interne Versionsnummer
	4	int	nDims	Dimension des Bildes z.B.x_y_ch_z = 4
Für die nächsten n Dimensionen				
	4	DWORD		Identifikationsnummer (ID) der Dimension (siehe folgende Liste "Identifikationsnummern (ID) für Bilddimensionen")
	4	DWORD		Größe der Dimension (z.B. 512 Pixel)
	4	DWORD		Abstand zwischen Sub-Dimensionen (z.B. Byte-Abstand zwischen den Bildserien zweier aufeinanderfolgender Kanalnummern)
	4	int	nTC	Länge der folgenden Zeichenkette in wchar
	nTC * 2	wchar		Physikalische Länge mit Längeneinheit z.B. 10 μ m
	4	int	nTC	Länge der folgenden Zeichenkette in wchar
	nTC * 2	wchar		Physikalische Startposition mit Längeneinheit z.B. 10 μ m
	4	int	nTC	Länge der folgenden Zeichenkette in Bytes
	nTC	wchar		Name der Bildserie
	4	int	nTC	Länge der folgenden Zeichenkette in Bytes
	nTC	wchar		Beschreibung der Bildserie

Identifikationsnummern (ID) für Bilddimensionen

Folgende Identifikationsnummern sind möglich:

ID (dezimal)	Bedeutung
0	undefiniert

120	x
121	y
122	z
116	t für Zeitdimension
6815843	Kanalnummer
6357100	Wellenlänge
7602290	Rotation
7798904	x-wide für den motorisierten xy-Tisch
7798905	y-wide für den motorisierten xy-Tisch
7798906	z-wide für den z-Tisch
4259957	user1 (nicht spezifiziert)
4325493	user2 (nicht spezifiziert)
4391029	user3 (nicht spezifiziert)
6357095	Grauwert z.B. von Histogramm
6422631	Grauwert1 z.B. von Histogramm
6488167	Grauwert2 z.B. von Histogramm
6553703	Grauwert3 z.B. von Histogramm
7864398	logisches x (nicht physikalischer sondern logischer Positionswert)
7929934	logisches y (nicht physikalischer sondern logischer Positionswert)
7995470	logisches z (nicht physikalischer sondern logischer Positionswert)
7602254	logisches t (nicht physikalischer sondern logischer Positionswert)
7077966	logischer Wellenlängenwert (nicht physikalischer sondern logischer Wert)
7471182	logischer Rotationswert (nicht physikalischer sondern logischer Wert)
5767246	logischer x-wide-Wert (nicht physikalischer sondern logischer Wert)
5832782	logischer y-wide-Wert (nicht physikalischer sondern logischer Wert)
5898318	logischer z-wide-Wert (nicht physikalischer sondern logischer Wert)

Speicherblock ID_FILTERSET

Dieser Speicherblock beschreibt die Hardwareeinstellungen wie beispielsweise Pinholedurchmesser oder die ausgewählten Filte. Der Speicherblock beginnt mit einem SAFEARRAY header, der die Menge und die Größe der Einträge beschreibt. Eine vollständige Beschreibung der SAFEARRAY-Struktur, siehe Anhang 1.

Von der SAFEARRAY -Struktur werden derzeit lediglich drei Einträge benutzt:

1. sa.cDims:

sollte = 1 sein. Es werden derzeit nur eindimensionale Datenfelder (Arrays) benutzt.

2. sa.cbElements:

Größe der Elemente in Byte

3. sa. rgsabound[0].cElements:

gibt an, wieviele Elemente in der Struktur enthalten sind

	Größe [byte]	Datentyp	Symbol	Beschreibung
	24	SAFEARRAY	sa	Microsoft-Typ, siehe Anhang 1
für alle Elemente, die die Struktur enthält =		<code>sa. rgsabound[0].cElements</code>		
	128	wchar		Bezeichner für den Inhalt des Eintrags
	64	wchar		Name einer Kurzbeschreibung, z.B. eine tiff-Beschreibungs-Marke (tiff-tag)
	64	wchar		Zeichenkette (hier steht der Inhalt der Zeichenkette)

16	VARIANT		beinhaltet den Datentyp und den Datenwert (mit Ausnahme des Datentyps "string" (Zeichenkette); dieser wird im obigen Feld beschrieben)
4	DWORD		separater Speicherplatz für Datenwerte
4	DWORD		unbenutzt
4	DWORD		Bezeichner (ID) des Speicherblocks (nur für internen Gebrauch)
4	DWORD		Testwert

Speicherblock ID_TIMEINFO

Dieser Speicherblock beinhaltet Zeitmarker für Bildserien, die mit einem zeitabhängigen Scanmodus aufgenommen wurden.

Größe [Byte]	Datentyp	Symbol	Beschreibung	
4	int	nDims	gibt an, wieviele Dimensionen die Beschreibung des Zeitmarkers umfasst	
4	int		gibt an, welche Dimension mit einem Zeitmarker versehen wurde	
Für die nächsten n Dimensionen				
4	DWORD		Bezeichner (ID) der Dimension (siehe Beschreibung des Speicherblocks D_DIMDESCR)	
4	DWORD		Größe der Dimension (Anzahl Elemente z.B. 512 Pixel)	
4	DWORD		Abstand zwischen den einzelnen Dimensionseinträgen	
4	int	nTS	Anzahl der Zeitmarker	
Für die nächsten n Zeitmarker = nTS				
64	wchar		Zeitmarker als Zeichenkette (Datentyp "string")	
4	int	nTM	Anzahl der Zeitmarken pro Zeitmarker	
Für die nächsten m Zeitmarken = nTM				
	4	int	nC	Anzahl von Dimensionen der Zeitmarkerbeschreibung
loop nC				
	4	int		Koordinate in dieser Dimension
	64	wchar		Zeitmarke als Zeichenkette (Datentyp wchar)

Beispiel:

Bild mit folgenden Dimensionen und Dimensionsgrößen:

```

x      y      ch      z
512   512    3      10
    
```

Die Beschreibung einer Zeitmarke lautet z.B. 512_512_3_10. Diese Beschreibung passt genau zur Beschreibung des Bildes. Eine Zeitmarkerbeschreibung 1024_1024_3_10 für obiges Beispielbild bedeutet, dass das Originalbild eine xy-Dimension von 1024*1024 hatte und per Software reduziert wurde (downsampling). In solchen Fällen muss die Zeitmarke entsprechend neu berechnet werden. Eine Zeitmarke kann zu jedem Zeitpunkt während eines n-dimensionalen Datenaufnahmeprozesses (Scan) definiert werden. Eine Koordinate einer Zeitmarke von 0_0_2_7 bedeutet, dass die Zeitmarke zu Beginn eines Datensatzes (0_0_c_#) im zweiten Kanal (0_0_2_#) für den 7. optischen Schnitt(0_0_2_7) gesetzt wurde.

Speicherblock ID_SCANNERSET

Dieser Speicherblock beinhaltet Geräteparameter, die zum Zeitpunkt der Bildaufnahme eingestellt

werden.

Weitere Details über die SAFEARRAY-Struktur, finden Sie in der Beschreibung des Speicherblocks ID_FILTERSET.

Größe [Byte]	Datentyp	Symbol	Beschreibung
24	SAFEARRAY	sa	Microsofttyp, siehe Anhang
für alle Elemente, die die Struktur enthält = <code>sa.rgsabound[0].cElements</code>			
128	wchar		Bezeichner für den Inhalt dieses Eintrags
64	wchar		Name für eine Kurzbeschreibung z.B. in der tiff-Beschreibungs Marke (tiff-description-tag)
64	wchar		Zeichenkette (hier steht der Inhalt der Zeichenkette)
20	VARIANT		beinhaltet den Datentyp und den Datenwert (mit Ausnahme des Datentyps "string" (Zeichenkette); dieser wird im obigen Feld beschrieben)
4	DWORD		separater Speicherplatz für Datenwerte
4	DWORD		unbenutzt
4	DWORD		Bezeichner (ID) des Speicherblocks (nur für internen Gebrauch)
4	DWORD		Testwert

Speicherblock ID_EXPERIMENT

Beschreibung des benutzten Speicherformates (z.B. ".lei file with PC-Tiff images")

Größe [Byte]	Datentyp	Symbol	Beschreibung
4	int		interne Versionsnummer
4	int		Anzahl von Bildern in der Datensammlung des Experimentes
4	int	nTC	Länge der folgenden Zeichenkette in wchar
nTC * 2	wchar		Kurzbeschreibung des Formats
4	int	nTC	Länge der folgenden Zeichenkette in wchar
nTC * 2	wchar		Dateiendung der Hauptdatei
4	int	nTC	Länge der folgenden Zeichenkette in wchar
nTC * 2	wchar		Bezeichner des Einzelbildformats (z.B. PC-TIFF)
4	int	nTC	Länge der folgenden Zeichenkette in wchar
nTC * 2	wchar		Dateiendung für das Einzelbildformat (z.B. tif / raw)

Speicherblock ID_LUTDESC

Beschreibung der Farbzuoordnungstabellen (LUT's)

Größe[Byte]	Datentyp	Symbol	Beschreibung
4	int	nLU	Anzahl von Kanälen
4	DWORD		Bezeichner (ID) der Dimension, deren Darstellung eingefärbt wird.
Für die nächsten Kanäle bis = nLU			
4	int		interne Versionsnummer
1	bool		bool IsInverted
4	int	nTC	Länge der folgenden Zeichenkette in Bytes
nTC	wchar		Beschreibung der Farbzuoordnungstabelle (LUT)
4	int	nTC	Länge der folgenden Zeichenkette in Bytes
nTC	wchar		Dateiname der Farbzuoordnungstabelle (falls vorhanden)
4	int	nTC	Länge der folgenden Zeichenkette in Bytes
nTC	wchar		Name der Farbzuoordnungstabelle selbst
4	int		Feld zur internen Verwendung
4	int		Dimension der Farbzuoordnungstabelle

--	--	--	--

SAFEARRAY Data Type

```
typedef struct FARSTRUCT tagSAFEARRAY {
    unsigned short cDims;           // Count of dimensions in this array
    unsigned short fFeatures;      // DON'T CARE
    unsigned long cbElements;      // Size of an element of the array.
                                   // Does not include size of
                                   // pointed-to data.
    unsigned long cLocks;         // DON'T CARE
    void HUGE* pvData;           // Pointer to the data.
    SAFEARRAYBOUND rgsabound[1]; // One bound for each dimension.
} SAFEARRAY;
```



Das leicaspezifische Dateiformat "LEI" benutzt nur eindimensionale Datenfelder (Arrays)

SAFEARRAYBOUND Structure

Represents the bounds of one dimension of the array. The lower bound of the dimension is represented by `lLbound`, and `cElements` represents the number of elements in the dimension. The structure is defined as follows:

```
typedef struct tagSAFEARRAYBOUND {
    unsigned long cElements;      // num of elements
    long lLbound;                // DON'T CARE
} SAFEARRAYBOUND;
```

VARIANT and VARIANTARG

```
typedef struct FARSTRUCT tagVARIANT VARIANT;
```

```
typedef struct tagVARIANT {
    VARTYPE vt;
    unsigned short wReserved1;
    unsigned short wReserved2;
    unsigned short wReserved3;
    union {
        unsigned char    bVal;           // VT_UI1.
        short            iVal;          // VT_I2 .
        long             lVal;          // VT_I4 .
        float           fltVal;        // VT_R4 .
        double           dblVal;       // VT_R8 .
        VARIANT_BOOL     boolVal;      // VT_BOOL.
        SCODE            scode         // VT_ERROR.
        CY               cyVal;        // VT_CY .
        DATE             date;         // VT_DATE.
        BSTR             bstrVal;      // VT_BSTR.
        IUnknown         FAR* punkVal; // VT_UNKNOWN.
        IDispatch        FAR* pdispVal; // VT_DISPATCH.
        SAFEARRAY        FAR* parray;   // VT_ARRAY|.
        unsigned char    FAR* pbVal;    // VT_BYREF|VT_UI1.
        short            FAR* piVal;    // VT_BYREF|VT_I2.
        long             FAR* plVal;    // VT_BYREF|VT_I4.
        float            FAR* pfltVal;  // VT_BYREF|VT_R4.
        double           FAR* pdblVal;  // VT_BYREF|VT_R8.
        VARIANT_BOOL     FAR* pboolVal; // VT_BYREF|VT_BOOL.
        SCODE            FAR* pscode;   // VT_BYREF|VT_ERROR.
        CY               FAR* pcyVal;   // VT_BYREF|VT_CY.
        DATE             FAR* pdate;    // VT_BYREF|VT_DATE.
        BSTR             FAR* pbstrVal; // VT_BYREF|VT_BSTR.
    };
};
```

```

IUnknown FAR*      FAR* ppunkVal;    // VT_BYREF|VT_UNKNOWN.
IDispatch FAR*    FAR* pdispVal;    // VT_BYREF|VT_DISPATCH.
SAFEARRAY FAR*    FAR* parray;      // VT_ARRAY|*.
VARIANT           FAR* pvarVal;      // VT_BYREF|VT_VARIANT.
void              FAR* byref;        // Generic ByRef.
};
};
};

```



In Dateien mit dem "LEI"-Format werden niemals Pointer als Parameter verwendet.

VARTYPE

```

typedef unsigned short VARTYPE;
enum VARENUM{
    VT_EMPTY      = 0,          // Not specified.
    VT_NULL       = 1,          // Null.
    VT_I2         = 2,          // 2-byte signed int.
    VT_I4         = 3,          // 4-byte signed int.
    VT_R4         = 4,          // 4-byte real.
    VT_R8         = 5,          // 8-byte real.
    VT_CY         = 6,          // Currency.
    VT_DATE       = 7,          // Date.
    VT_BSTR       = 8,          // Binary string.
    VT_DISPATCH   = 9,          // IDispatch
    VT_ERROR      = 10,         // Scodes.
    VT_BOOL       = 11,         // Boolean; True=-1, False=0.
    VT_VARIANT    = 12,         // VARIANT FAR*.
    VT_UNKNOWN    = 13,         // IUnknown FAR*.
    VT_UI1        = 17,         // Unsigned char.

    // Other constants that are not valid in VARIANTS omitted here.
};

VT_RESERVED     = (int) 0x8000
// By reference, a pointer to the data is passed.
VT_BYREF        = (int) 0x4000
VT_ARRAY        = (int) 0x2000 // A safe array of the data is passed.

```


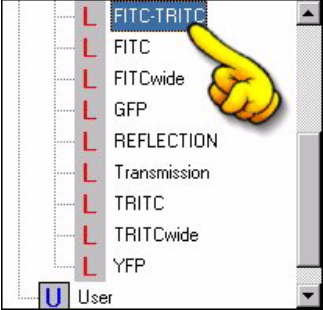

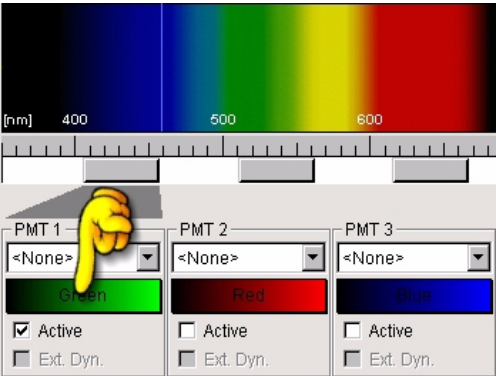
Der vt-Wert bestimmt die Interpretation der Daten des Experiments wie folgt:

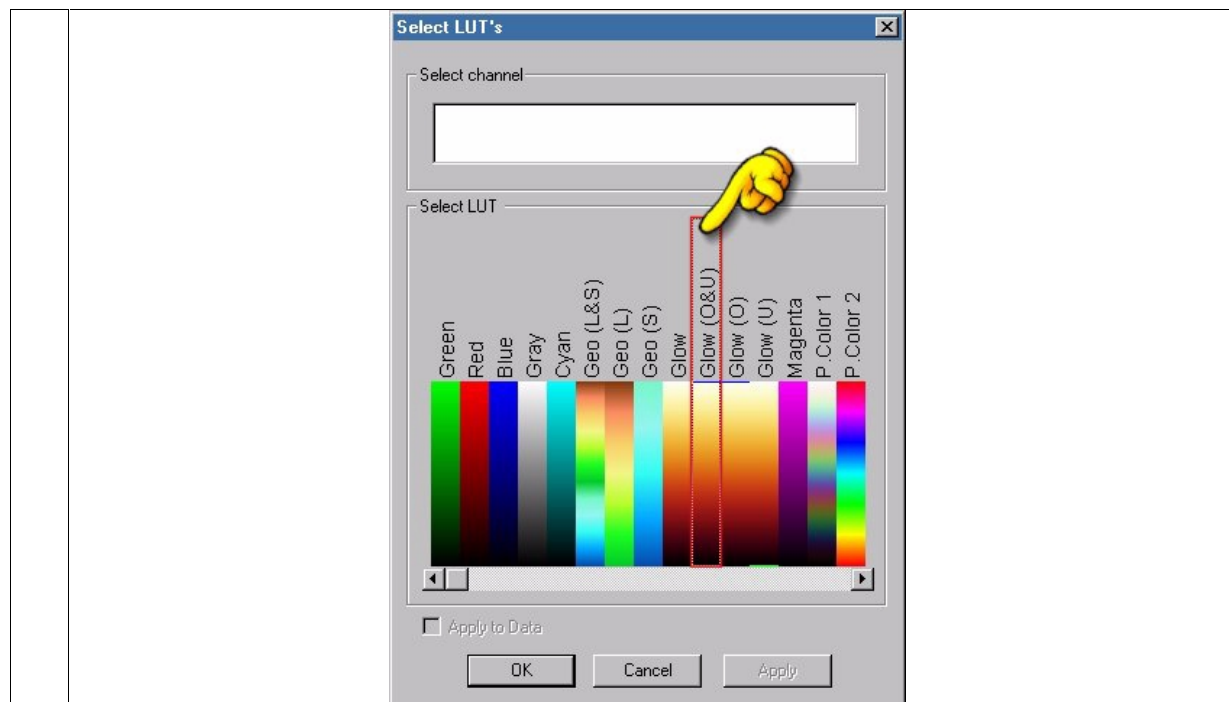
Wert	Beschreibung
VT_EMPTY	Kein Wert wurde angegeben
VT_UI1	Ein unbenanntes 1-byte Zeichen wurde gespeichert in <i>bVal</i> .
VT_I2	Ein 2-byte Ganzzahlwert (Integer) wurde gespeichert in <i>iVal</i> .
VT_I4	Ein 4-byte Ganzzahlwert (Integer) wurde gespeichert in <i>IVal</i> .
VT_R4	Ein IEEE 4-byte Gleitzahlwert (real value) wurde gespeichert in <i>fltVal</i> .
VT_R8	Ein IEEE 8-byte Gleitzahlwert (real value) wurde gespeichert in <i>dblVal</i> .
VT_CY	Ein Fixkommawert wurde angegeben. Der Fixkommawert besteht aus 15 Stellen vor dem Komma und 4 Stellen nach dem Komma. Der Wert wurde gespeichert in <i>cyVal</i> .
VT_BSTR	Ausnahme für Dateien im Lei-Format: Eine Zeichenkette wurde in der VariablenTCHAR gespeichert
VT_NULL	Ein gleitender Nullwert wurde angegeben. Die gleitende Null ist dabei kein NULL-Zeiger. Dieser Wert wird benötigt für eine 3-Zustandslogik wie z.B. in der Datenbankabfragesprache SQL.
VT_ERROR	Ein SCODE-Fehler wurde angegeben. Der Fehlertyp ist spezifiziert in <i>scodée</i> .
VT_BOOL	Eine Boolesche Größe (wahr / falsch) wurde angegeben. Der Wert 0xFFFF (alle Bits=1) bedeutet "wahr", der Wert 0 (alle Bits=0) bedeutet "falsch".

VT_DATE	Ein Wert, der einem Datum entspricht, wurde angegeben. Ein Datum wird gespeichert als Zahl im double-precision Format. Alle Daten werden gespeichert als Differenztage zum 01. Januar 1900. Der Eintrag "25" beispielsweise entspricht dem 25.01.1900.
---------	--

Vorgehensweisen und Übungen zu ausgewählten Prozessen

Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen

<p>1</p>	<p>Klicken Sie auf das Pfeilsymbol «Acquire» und öffnen Sie mit der Taste «Beam» das Dialogfenster «Beam Path Setting».</p> 
<p>2</p>	<p>Doppelklicken Sie in diesem Dialogfenster im Listenfeld oben rechts auf einen Aufnahmeparametersatz (IPS), um wichtige Hardwareeinstellungen zu laden.</p>  <p>i Was ist ein Aufnahmeparametersatz?</p> <p>Ein Aufnahmeparametersatz (IPS: Instrument Parameter Setting) ist eine Datei, in der alle für eine bestimmte Aufnahmetechnik spezifischen Hardwareeinstellungen abgespeichert werden. «FITC-TRITC» beispielsweise bezeichnet die Einstellungen für eine Zweikanalaufnahme mit den beiden Fluoreszenzfarbstoffen FITC und TRITC. <u>Mit einem Aufnahmeparametersatz können optimierte Hardwareeinstellungen in einer Datei abgespeichert und mit einem einfachen Doppelklick wieder geladen werden.</u> Mit einem «L» gekennzeichnete Aufnahmeparametersätze sind von Leica vordefiniert und können nicht verändert werden. Benutzerdefinierte, editierbare Aufnahmeparametersätze werden im Verzeichnisbaum unter «U» gespeichert.</p> <p> Wie man benutzerdefinierte Aufnahmeparametersätze (IPS) erzeugt</p>
<p>3</p>	<p>Ordnen Sie jedem aktiven Detektionskanal «PMT» die Farbzuoordnungstabelle «Glow(O&U)» zu.</p>  <p>► Klicken Sie auf das Symbol der Farbzuoordnungstabelle</p>



► Klicken Sie auf «Glow (O&U)» und auf «OK»

i Hinweis zur Bildqualität

Die Farbzuzuordnungstabelle «Glow (O&U)» visualisiert Maximalwerte blau und Minimalwerte grün. Damit ist sie für die Optimierung der Bildqualität bestens geeignet. In Schritt 12 wird beschrieben, wie man mit Hilfe dieser Farbzuzuordnungstabelle den Intensitätswertebereich einer Aufnahme für die Darstellung am Monitor optimiert.

4 Bevor Sie mit der Optimierung der Bildqualität beginnen, überprüfen Sie die Standardeinstellungen der im Folgenden in Schritt 5 bis 9 genannten Aufnahmeparameter, die während der Bildaufnahme nicht mehr verändert werden können.

5 Klicken Sie auf die Taste «**Objective**» und wählen Sie in der Liste ein Mikroskopobjektiv aus.



- N PLAN 2.5x 0.07 DRY
- N PLAN 5x 0.12 DRY
- ✓ C PLAN 10x 0.22 DRY**
- HC PL FLUOTAR 20x 0.5 DRY
- C PLAN 40x 0.65 DRY
- C PLAN 63x 0.75 DRY
- N PLAN 100x 0.9 DRY

Falls keine Einträge in der Liste erscheinen, müssen die Mikroskopobjektive den Steckplätzen des Objektivrevolvers zugeordnet werden.


► Lesen Sie dazu die Hilfebeschreibung der Taste «Objective», indem Sie zuerst auf die Taste «Help» und dann auf «Objective» klicken.



i Hinweis zur Bildqualität

Die numerische Apertur des Mikroskopobjektivs bestimmt die Auflösung des Bildes, das heißt den minimalen Abstand zwischen zwei Punkten im Objekt, die noch als getrennt im Bild dargestellt werden können. Stärker vergrößernde Objektive haben auch ein größeres Auflösungsvermögen.


Mit der Strahlaufweitung (Taste «Beam Expander») kann der Strahldurchmesser des Laserstrahls optimal an die Linse des aktuell verwendeten Objektivs angepasst werden.



Expan.

Die Standardeinstellung «Beam Exp 6» ist in den meisten Fällen optimal. Bei der Verwendung schwacher Laser und hochauflösender Objektive kann durch Verwendung einer geringeren Strahlaufweitung die Beleuchtung der Objektivlinse noch verbessert werden.

6 Klicken Sie auf die Taste «**Mode**» und wählen Sie einen Scanmodus aus.




Mode

<input checked="" type="checkbox"/>	xyz
<input type="checkbox"/>	xzy
<input type="checkbox"/>	xt
<input type="checkbox"/>	xyt
<input type="checkbox"/>	xzt
<input type="checkbox"/>	xyzt
<input type="checkbox"/>	xyλ
<input type="checkbox"/>	xzλ


Mit dem Scanmodus bestimmen Sie die Dimensionalität der Bildaufnahme. Sie können zwischen den Raumbildserien «xyz, xzy», den Zeitbildserien «xt, xyt, xzt, xyzt» und den Spektralbildserien «xyλ, xzλ» wählen.

7 Klicken Sie auf die Taste «**Format**» und wählen Sie ein Scanformat aus.






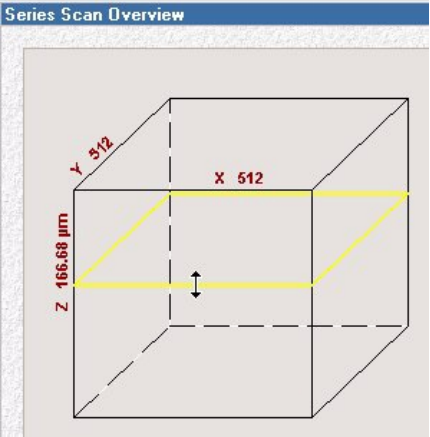


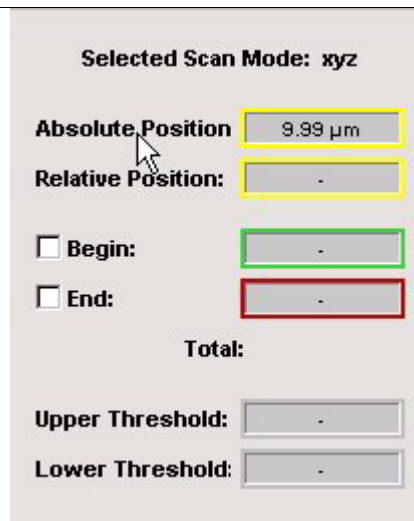
Format

<input type="checkbox"/>	64 * 64
<input type="checkbox"/>	100 * 100
<input type="checkbox"/>	200 * 200
<input type="checkbox"/>	512 * 32
<input type="checkbox"/>	512 * 64
<input checked="" type="checkbox"/>	512 * 512
<input type="checkbox"/>	640 * 512
<input type="checkbox"/>	1024 * 1024
<input type="checkbox"/>	2048 * 2048
<input type="checkbox"/>	4096 * 4096

 **Hinweis zur Bildqualität**

Das Scanformat bestimmt die Anzahl der Punkte, mit der der Scanner das Präparat abtastet und damit die Anzahl der Pixel des Bildes. Je grösser das Scanformat bei einem gegebenen Scanfeld ist, desto geringer wird der Abstand zwischen den Abtastpunkten und desto besser ist

	<p>die Auflösung des Bildes.</p>
<p>8</p>	<p>Klicken Sie auf die Taste «Speed» und wählen Sie die Scangeschwindigkeit aus.</p>  <p>Mit der Scangeschwindigkeit legen Sie fest, wieviele Bildzeilen pro Sekunde vom Scanner abgetastet werden.</p> <p>i Hinweis zur Bildqualität</p> <p>Mit der Scangeschwindigkeit beeinflusst man die Bildqualität. Je geringer die Scangeschwindigkeit bei einem gegebenen Scanformat ist, desto besser ist das Signal/Rausch-Verhältnis des Bildes.</p> <p>Verdoppeln Sie noch die Scangeschwindigkeit, indem Sie durch Betätigen der Taste «Scan» den Bidirektionalen Scan aktivieren.</p>  <p>Beim Bidirektionalen Scan wird nicht nur der Hin- sondern auch der Rücklauf des Scanners für die Abtastung verwendet.</p>
<p>9</p>	<p>Klicken Sie auf die Taste «Bit» und wählen Sie die Bittiefe aus.</p>  <p>Bei 8 Bit können 256, bei 12 Bit 4096 verschiedene Intensitätswerte aufgenommen werden.</p>
<p>10</p>	<p>Starten Sie nun mit der Taste «Continuous» die Bildaufnahme im Endlosscan, um die Bildqualität während der Bildaufnahme zu optimieren.</p> 
<p>11</p>	<p>Klicken Sie auf die Taste «Series» und wählen Sie für die Bildaufnahme eine geeignete Fokusebene (Z-Position), in der Regel die hellste Stelle im Präparat.</p>  <div style="text-align: center;">  <p>► Ziehen Sie das gelbe Quadrat an die gewünschte Z-Position oder</p> </div>

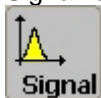


► Doppelklicken Sie auf «Absolute Position» und geben Sie einen Wert ein.



Hinweis zum Finden der Fokusebene

Falls Sie Schwierigkeiten haben, die Fokusebene zu finden, kann es daran liegen, dass die Signalverstärkung der Detektoren nicht richtig eingestellt ist.



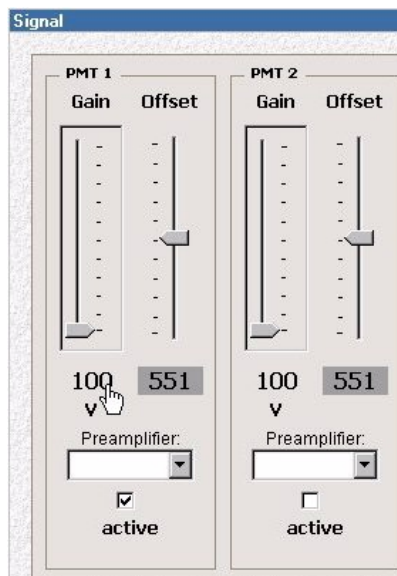
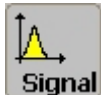
► Klicken Sie auf die Taste «Signal» und stellen Sie den «Gain»-Wert der aktiven Detektionskanäle auf die maximale Voltzahl.

Viele Aufnahmeparameter sind schneller und bequemer über die Bedienkonsole als über die Tasten einzustellen.



Wie man mit der Bedienkonsole Aufnahmeparameter einstellt

12 Klicken Sie auf die Taste «**Signal**» und stellen Sie die Signalverstärkung (Gain) und den Schwellenwert (Offset) getrennt für jeden verwendeten Detektor (PMT) ein.



► Ziehen Sie den Schieberegler oder doppelklicken Sie auf die Zahl und geben Sie einen Wert

ein.
 ► Stellen Sie den «Gain»-Wert so ein, dass die hellsten Stellen im Bild (Struktur) blau dargestellt werden.
 ► Stellen Sie den «Offset»-Wert so ein, dass die dunklen Stellen im Bild (Hintergrund) grün dargestellt werden. Als grobe Regel gilt, dass ungefähr die Hälfte des Hintergrunds grün dargestellt werden sollte.

 **Hinweis zur Bildqualität**

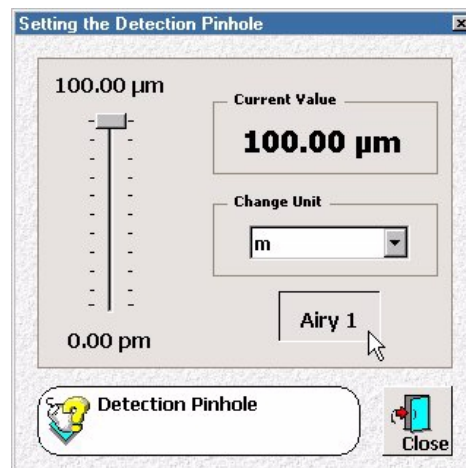
Die Adaptation der Detektionsparameter auf das Präparat stellt sicher, dass der in der Bildaufnahme vorliegende Intensitäts- wertebereich optimal dem digitalen Wertebereich zugeordnet und visualisiert wird.

Viele Aufnahmeparameter sind schneller und bequemer über die Bedienkonsole als über die Tasten einzustellen.



Wie man mit der Bedienkonsole Aufnahmeparameter einstellt

13 Klicken Sie auf die Taste «**Pinhole**» und stellen Sie die Detektionslochblende auf eine Airy-Einheit.



 **Hinweis zur Bildqualität**

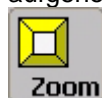
Die Detektionslochblende ist entscheidend für die Auflösung des Bildes. Mit der Einstellung der Detektionslochblende auf eine Airy-Einheit stellt man sicher, dass die Dicke eines optischen Schnittes minimal ist und man somit eine maximale Auflösung in der z-Dimension des Bildes erreicht.




Viele Aufnahmeparameter sind schneller und bequemer über die Bedienkonsole als über die Tasten einzustellen.




Wie man mit der Bedienkonsole Aufnahmeparameter einstellt

14 Klicken Sie auf die Taste «**Electronic Zoom**» und vergrößern Sie den Bereich, der aufgenommen werden soll.



	<div data-bbox="735 241 927 555" style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p>1.00</p> <p>✓ 2.00</p> <p>4.00</p> <p>8.00</p> <p>16.00</p> <p>32.00</p> <p>Others...</p> </div> <div data-bbox="651 584 1010 645" style="text-align: center;">  Hinweis zur Bildqualität </div> <p data-bbox="261 640 1414 763">Mit dem Elektronischen Zoom kann die Auflösung des Bildes verbessert werden. Ist zum Beispiel der Vergrößerungsfaktor 2.00 ausgewählt, wird nur ein Viertel des maximalen Scanfeldes abgetastet. Bei einem gegebenen Scanformat verringert sich so der Abstand zwischen den Abtastpunkten und verbessert sich die Auflösung.</p> <p data-bbox="261 799 1414 862">Viele Aufnahmeparameter sind schneller und bequemer über die Bedienkonsole als über die Tasten einzustellen.</p> <div data-bbox="261 862 327 929" style="text-align: center;">  </div> <p data-bbox="327 898 1115 934">Wie man mit der Bedienkonsole Aufnahmeparameter einstellt</p>
<p>15</p>	<p data-bbox="261 931 1355 965">Klicken Sie auf die Taste «Continuous», um die Bildaufnahme im Endlosscan zu beenden.</p> <div data-bbox="261 965 459 1160" style="text-align: center;">  </div>
	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="261 1162 1414 1218">● Sie haben jetzt alle wichtigen Aufnahmeparameter eingestellt und können mit der Aufnahme von Bildserien fortfahren.


Aufnahmeparameter mit der Bedienkonsole einstellen

<p>1</p>	<p data-bbox="261 1375 1414 1438">Viele Aufnahmeparameter sind schneller und bequemer über die Bedienkonsole als über die Tasten der Software einzustellen.</p> <div data-bbox="536 1438 1107 1574" style="text-align: center;">  </div> <p data-bbox="261 1574 1414 1637">Den sieben Drehknöpfen der Bedienkonsole können verschiedene Aufnahmeparameter zugeordnet werden, die dann von der Bedienkonsole gesteuert werden können.</p> <div data-bbox="743 1637 900 1697" style="text-align: center;">  Hinweis </div> <p data-bbox="261 1697 1414 1760">Die Statuszeile der Bedienkonsole wird am unteren Rand der Bedienoberfläche eingeblendet. Ist dies nicht der Fall, wählen Sie «View\ Status Bars\ Control Panel Status Bar».</p>
<p>2</p>	<p data-bbox="261 1794 1193 1827">Laden Sie eine vordefinierte Belegung für die Drehknöpfe der Bedienkonsole.</p>


	<div data-bbox="638 241 997 515" data-label="Image"> </div> <p>▶ Die drei kleinen Schaltflächen für die Konfiguration der Bedienkonsole befinden sich am rechten Rand der Statuszeile der Bedienkonsole.</p> <div data-bbox="742 582 901 638" data-label="Image"> </div> <p>▶ Klicken Sie auf die mittlere der drei Schaltflächen.</p> <div data-bbox="702 660 941 806" data-label="Image"> </div> <p>▶ Wählen Sie eine der vordefinierten Belegungen aus, zum Beispiel «Standard».</p> <p>▶ In der Statuszeile werden in sieben Feldern die der Bedienkonsole zugeordneten Aufnahmeparameter angezeigt. Die Anordnung dieser Felder entspricht der Anordnung der Drehknöpfe der Bedienkonsole.</p>
<p>3</p>	<p>Sie können die Belegung der Drehknöpfe der Bedienkonsole nach Ihren Bedürfnissen ändern.</p> <div data-bbox="678 1008 965 1052" data-label="Image"> </div> <p>▶ Klicken Sie in der Statuszeile der Bedienkonsole auf das Feld (Drehknopf), dem Sie einen anderen Aufnahmeparameter zuordnen wollen.</p> <p>▶ Wählen Sie im Listenfeld den neuen Aufnahmeparameter aus, der dem entsprechenden Drehknopf der Bedienkonsole zugeordnet werden soll.</p>

	<ul style="list-style-type: none"> Gain PMT 1 Gain PMT 2 Gain PMT 3 Gain PMT 4 Gain PMT Trans Macro Offset PMT 1 Offset PMT 2 Offset PMT 3 Offset PMT 4 Offset PMT Trans Phase <li style="background-color: #f0f0f0;">✓ Pinhole Scan Field Rotation Smart Gain Smart Offset Z Position Z Wide Position Zoom 	
--	--	--


► Wählen Sie «Gain PMT 1..» oder «Offset PMT 1...», wenn Sie die Signalverstärkung und den Schwellenwert für den entsprechenden Detektor einstellen wollen. Entspricht dieser Taste in der Software:




► Wählen Sie «Phase», um eine mögliche Phasenverschiebung zu korrigieren, wenn Sie mit dem bidirektionalen Scan arbeiten. Entspricht dieser Taste in der Software:





► Wählen Sie «Pinhole», wenn Sie den Durchmesser der Detektionslochblende einstellen wollen. Entspricht dieser Taste in der Software:



► Wählen Sie «Scan Field Rotation», wenn Sie die Rotation des Scanfeldes einstellen wollen. Entspricht dieser Taste in der Software:



► Wählen Sie «Z Position» und «Z Wide Position», wenn Sie die Fokusebene (Z-Position) einstellen wollen. Entspricht diesen Tasten in der Software:

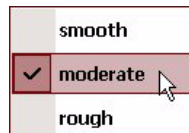



► Wählen Sie «Zoom», wenn Sie den Vergrößerungsfaktor des Elektronischen Zooms einstellen wollen. Entspricht dieser Taste in der Software:

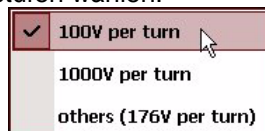


- ▶ Mit «Smart Gain» und «Smart Offset» stellen Sie die Signalverstärkung und den Schwellenwert des Detektionskanals ein, den Sie zuvor im Ansichtsfenster Viewer angeklickt haben.
- ▶ Mit «Macro» speichern Sie den aktuell ausgeführten Befehl als Makro ab.

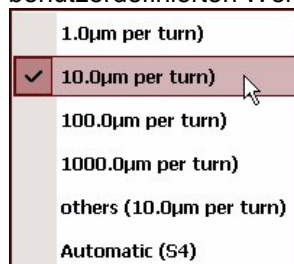
- 4** Die **Ansprechempfindlichkeit** der Drehknöpfe kann variiert werden. Zu diesem Zweck klicken Sie in der Statuszeile der Bedienkonsole mit der rechten Maustaste auf einen Aufnahmeparameter.



- ▶ Bei den Aufnahmeparametern «Phase», «Pinhole», «Scan Field Rotation» und «Zoom» kann man zwischen drei Empfindlichkeitsstufen wählen.



- ▶ Bei den Aufnahmeparametern «Gain», «Offset», «Smart Gain» und «Smart Offset» kann die Anzahl Volt pro Drehung des Drehknopfs variiert werden.
- ▶ Wählen Sie «others...» um einen benutzerdefinierten Wert einzugeben.



- ▶ Bei den Aufnahmeparametern «Z Position» und «Z Wide Position» kann die Anzahl Mikrometer pro Drehung des Drehknopfs variiert werden.
- ▶ Wählen Sie «others...» um einen benutzerdefinierten Wert einzugeben.
- ▶ Beim Aufnahmeparameter «Z Wide Position» gibt es zusätzlich die Standardeinstellung «Automatic».

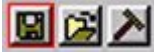


Standardeinstellung «Automatic» bei «Z Wide Position»

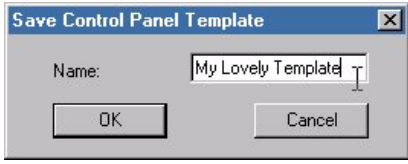
Bei der Standardeinstellung «Automatic» wird die Empfindlichkeit des Drehknopfes in Abhängigkeit des Vergrößerungsfaktors des verwendeten Objektivs automatisch eingestellt:

- ▶ Bei Objektiven mit einer Vergrößerung $m < 10$ wird die Einstellung SC = 150 µ m pro Umdrehung verwendet.
- ▶ Bei Objektiven mit einer Vergrößerung $10 < m < 20$ wird die Einstellung S3 = 15 µ m pro Umdrehung verwendet.
- ▶ Bei Objektiven mit einer Vergrößerung $20 < m < 30$ wird die Einstellung S2 = 7 µ m pro Umdrehung verwendet.
- ▶ Bei Objektiven mit einer Vergrößerung $30 < m < 60$ wird die Einstellung S1 = 1 µ m pro Umdrehung verwendet.
- ▶ Bei Objektiven mit einer Vergrößerung $m > 60$ wird die Einstellung S0 = 0,5 µ m pro Umdrehung verwendet.

- 5** Speichern Sie die **neue Zuordnung** als benutzerdefinierte Belegung ab.




► Klicken Sie auf die linke der drei Schaltflächen.

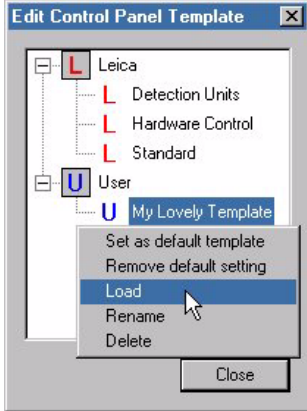


► Geben Sie der Belegung einen Namen und klicken Sie auf OK.

6 Es stehen Ihnen optionale Befehle zur Verfügung, wenn Sie die **neu definierte Belegung** markieren und das Kontextmenü mit der rechten Maustaste öffnen.



► Klicken Sie auf die rechte der drei Schaltflächen.



Die neue definierte Belegung der Bedienkonsole erscheint im Listenfeld unter «U». Immer wenn Sie auf «My Lovely Template» doppelklicken, wird die entsprechende Belegung geladen.

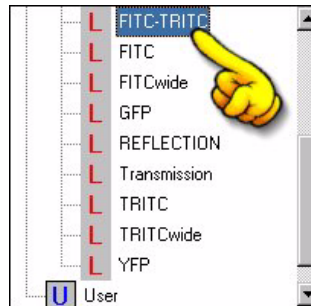
- Wählen Sie «Set as default template», wenn die Belegung standardmäßig beim Öffnen der Software geladen werden soll.
- Wählen Sie «Remove default setting», um die Einstellung als Standardbelegung rückgängig zu machen.
- Wählen Sie «Load», um die Belegung zu laden.
- Wählen Sie «Rename», um der Belegung einen neuen Namen zu geben.
- Wählen Sie «Delete», um die Belegung zu löschen.

Benutzerdefinierte Aufnahmeparametersätze (IPS) erzeugen

- 1 Klicken Sie auf das Pfeilsymbol «Acquire» ...Sie mit der Taste «Beam» das Dialogfenster «Beam Path Setting».



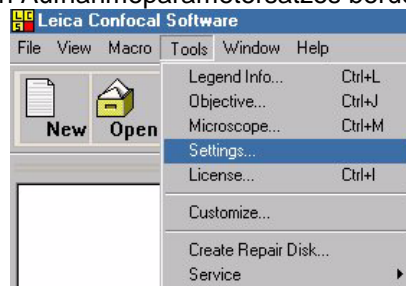
- 2 In diesem Dialogfenster werden die Aufnahmeparametersätze im **Listenfeld oben rechts** eingeblendet.



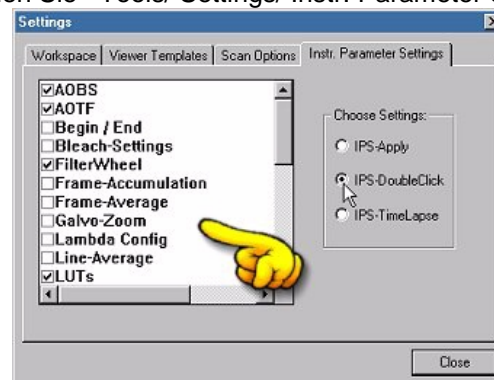
Was ist ein Aufnahmeparametersatz?

Ein Aufnahmeparametersatz (IPS: Instrument Parameter Setting) ist eine Datei, in der alle für eine bestimmte Aufnahmetechnik spezifischen Hardwareeinstellungen abgespeichert werden. «FITC-TRITC» beispielsweise bezeichnet die Einstellungen für eine Zweikanalaufnahme mit den beiden Fluoreszenzfarbstoffen FITC und TRITC. Mit einem Aufnahmeparametersatz können optimierte Hardwareeinstellungen in einer Datei abgespeichert und mit einem Doppelklick wieder automatisch geladen werden. Mit einem «L» gekennzeichnete Aufnahmeparametersätze sind von Leica vordefiniert und können nicht verändert werden. Benutzerdefinierte, editierbare Aufnahmeparametersätze werden im Verzeichnisbaum unter «U» gespeichert.



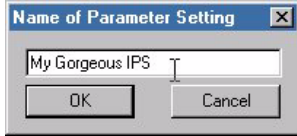
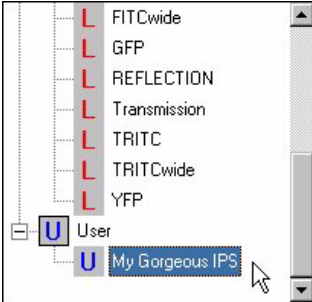
- 3 Wählen Sie «Tools\ Settings\ Instr. Parameter Settings» und legen Sie zuerst die Parameter fest, die beim Laden des neuen Aufnahmeparametersatzes berücksichtigt werden sollen.

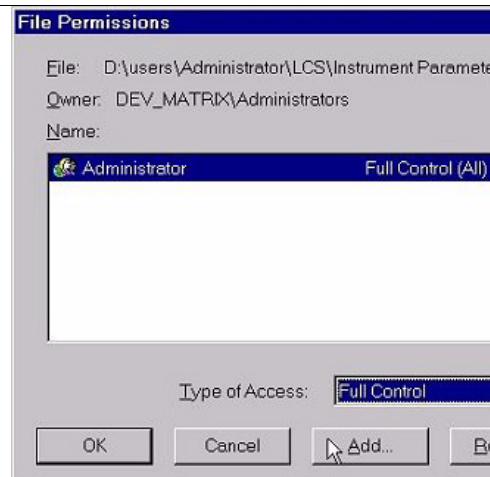


► Wählen Sie «Tools/ Settings/ Instr. Parameter Settings».



► Wählen Sie die Option «IPS-DoubleClick» und markieren Sie im Listenfeld die gewünschten

Aufnahmeparameter.	
4	<p>Um die Aufnahmeparameter während der Bildaufnahme auf das aktuell verwendete Präparat anzupassen, starten Sie mit der Taste «Continuous» die Bildaufnahme im Endlosscan.</p>  <p>Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen</p>
5	<p>Klicken Sie im Dialogfenster «Beam Path Setting» auf die Schaltfläche «Save», um die modifizierten Parametereinstellungen als Aufnahmeparametersatz abzuspeichern.</p>   <p>► Geben Sie dem neuen Aufnahmeparametersatz einen Namen und klicken Sie auf OK.</p>  <p>Der neu definierte Aufnahmeparametersatz erscheint im Listenfeld unter «U». Immer wenn Sie auf «My Gorgeous IPS» doppelklicken, werden alle unter diesem Aufnahme- parametersatz abgespeicherten Hardwareeinstellungen geladen.</p> <p>i Wo werden Aufnahmeparametersätze gespeichert?</p> <p>Benutzerdefinierte Aufnahmeparametersätze werden im Verzeichnis des unter Windows NT aktuell angemeldeten Benutzers gespeichert. Als Standardeinstellung befindet sich das Verzeichnis der Benutzer unter <u>D:\users\...</u>. Zugriff auf einen Aufnahmeparametersatz hat deshalb immer nur der Benutzer, der diesen auch erzeugt hat. Sollen mehrere Benutzer Zugriff auf einen benutzerdefinierten Parametersatz haben, muss dieser vom Ersteller oder Administrator für andere Benutzer freigegeben werden.</p>
6	<p>Sie können anderen Benutzern den Zugriff auf Ihren Aufnahmeparametersatz ermöglichen.</p> <p>► Öffnen Sie im Windows Explorer das Verzeichnis, wo die Aufnahmeparametersätze abgespeichert sind. Als Standard- einstellung befindet sich dieses, zum Beispiel für einen als Administrator angemeldeten Benutzer, unter <u>D:\ users\ Administrator\ Lcs\ Instrument Parameter Settings\...</u></p> <p>► Markieren Sie den Aufnahmeparametersatz, öffnen Sie mit der rechten Maustaste das Kontextmenü und wählen Sie «Properties».</p> <p>► Klicken Sie in diesem Dialogfenster auf das Register «Security» und dann auf «Permissions».</p>



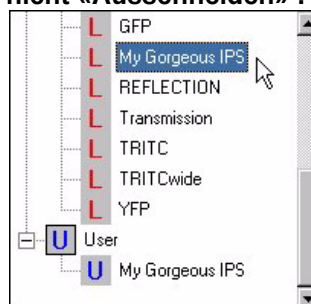
► Klicken Sie im Dialogfenster «File Permissions» auf die Schaltfläche «Add..», um die Benutzer auszuwählen, die eine Zugriffsberechtigung erhalten sollen.



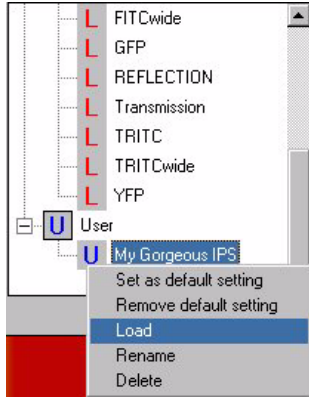
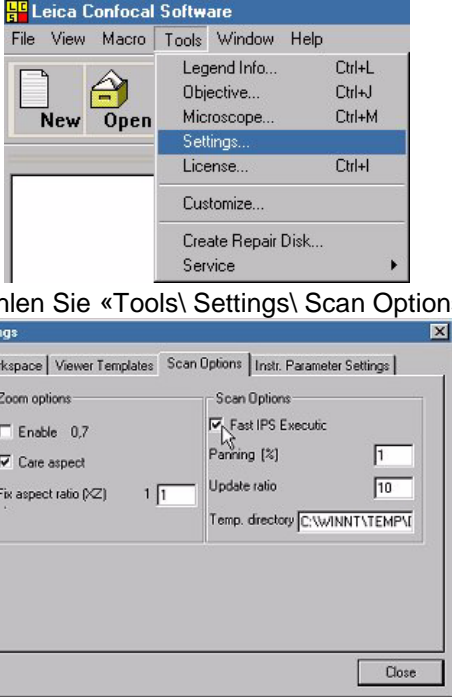
► Wählen Sie im Feld «Names» die gewünschten Benutzer aus, zum Beispiel «Everyone», und klicken Sie auf «Add»

► Vergeben Sie im Listenfeld «Type of Access» dem neuen Benutzer den Rechtstatus «Full Access» und schließen Sie das Dialogfenster mit «OK».

► Kopieren Sie im Windows Explorer die Datei des Aufnahmeparametersatzes in das Verzeichnis C:\Program files\Leica\Lcs\Instrument Parameter Settings\... **Wichtig: Verwenden Sie dazu den Befehl «Kopieren» nicht «Ausschneiden» !**



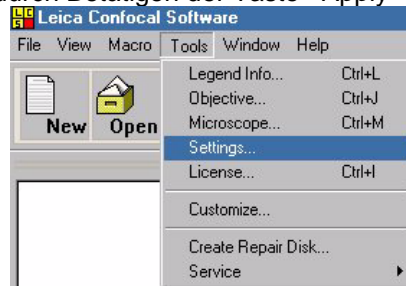
Wenn Sie das Dialogfenster «Beam Path Setting» das nächste Mal öffnen, wird der

	<p>Aufnahmeparametersatz unter «L» angezeigt und ist damit für alle Benutzer zugänglich.</p>
<p>7</p>	<p>Es stehen Ihnen optionale Befehle zur Verfügung, wenn Sie den neu definierten Aufnahmeparametersatz markieren und das Kontextmenü mit der <u>rechten Maustaste</u> öffnen.</p>  <ul style="list-style-type: none"> ▶ Wählen Sie «Set as default setting», wenn der Parametersatz standardmäßig beim Öffnen der Software geladen werden soll. ▶ Wählen Sie «Remove default setting», um die Einstellung als Standardparametersatz rückgängig zu machen. ▶ Wählen Sie «Load», um den Parametersatz zu laden. ▶ Wählen Sie «Rename», um dem Parametersatz einen neuen Namen zu geben. ▶ Wählen Sie «Delete», um den Parametersatz zu löschen.
<p>8</p>	<p>Sollte die Geschwindigkeit, mit der der Aufnahme- parametersatz geladen wird, zu langsam sein, können Sie einen Schnellmodus aktivieren.</p>  <ul style="list-style-type: none"> ▶ Wählen Sie «Tools\ Settings\ Scan Options». ▶ Aktivieren Sie den Schnellmodus, indem Sie das Kontrollkästchen «Fast IPS Execution» anklicken. <p>Hinweis</p> <p>Wenn Sie Aufnahmeparametersätze öffnen, die nicht mit der aktuell verwendeten Version der Leica Confocal Software erstellt wurden, kann der Schnellmodus unter Umständen nicht verwendet werden. Sie erhalten dann eine Fehlermeldung und müssen das System neu starten.</p>

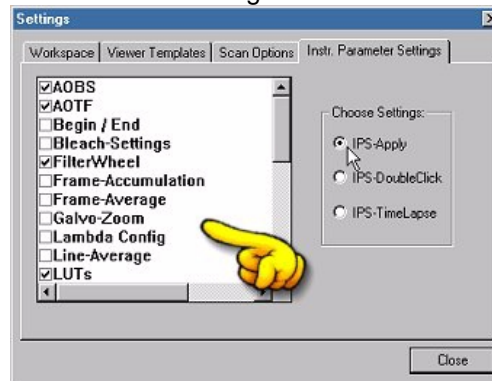
- 9 Um die Aufnahmeparametereinstellungen eines bereits vorhandenen Experiments für eine neue Bildaufnahme wieder zu verwenden, öffnen Sie das Experiment und klicken Sie auf die Taste «Apply».



- Wählen Sie «Tools\ Settings\ Instr. Parameter Settings» und legen Sie die Aufnahmeparameter fest, die durch Betätigen der Taste «Apply» übernommen werden sollen.



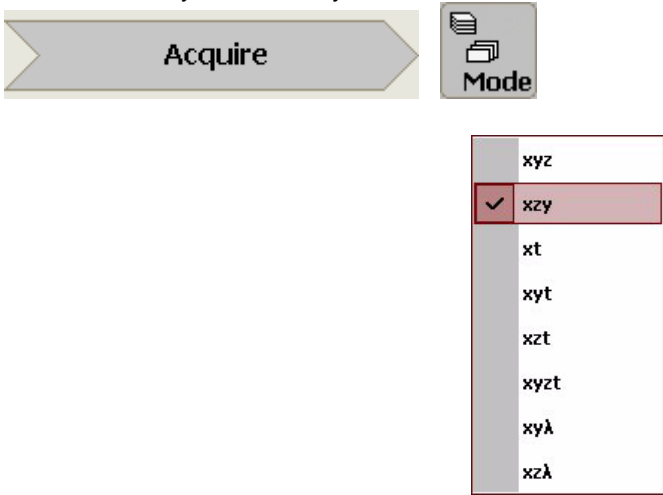
- Wählen Sie «Tools/ Settings/ Instr. Parameter Settings».



- Wählen Sie die Option «IPS-Apply» und markieren Sie im Listenfeld die gewünschten Aufnahmeparameter.

Raubildserien aufnehmen

1 Klicken Sie auf das Pfeilsymbol «**Acquire**» und dann auf die Taste «Mode» und wählen Sie den Scanmodus «xyz» oder «xzy» aus.




► Wählen Sie den Scanmodus «xyz», wenn Sie einen Stapel aus horizontalen Einzelbildern (orthogonal zur optischen Achse) aufnehmen wollen.

► Wählen Sie den Scanmodus «xzy», wenn Sie einen Stapel aus vertikalen Einzelbildern (parallel zur optischen Achse) aufnehmen wollen.

i Welche Scanmodi werden angezeigt?

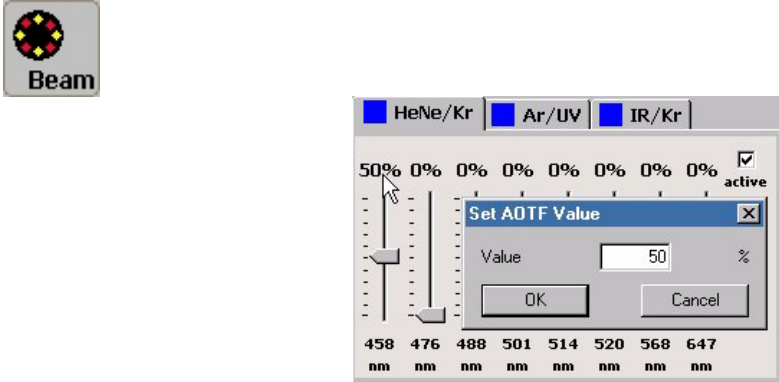
Die Zahl der zur Verfügung stehenden Scanmodi hängt von der Art des verwendeten Z-Stellantriebs ab. Der Z-Stellantrieb wird mit der Taste «z-Scan» eingestellt.



Es stehen alle Scanmodi zur Verfügung, wenn der galvanometerbetriebene Z-Objektisch verwendet wird. Im Listenfeld ist die Auswahl «z-Galvo» einzustellen.

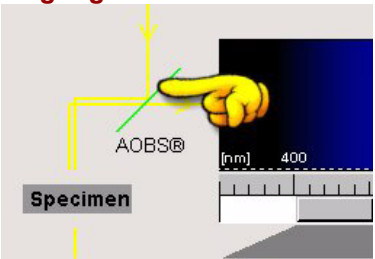
Es stehen nur die Scanmodi «xyz, xt, xyt, xyzt und xyλ» zur Verfügung, wenn der elektromotorbetriebene Z-Objektisch verwendet (oder bei inversen Mikroskopen der Objektivrevolver verfahren) wird. Im Listenfeld ist die Auswahl «z-Wide» einzustellen.

2 Öffnen Sie mit der Taste «**Beam**» das Dialogfenster «Beam Path Setting» und wählen Sie die Anregungswellenlänge aus und stellen Sie die Intensität der Laserlinie ein.



► Ziehen Sie den Schieberegler oder doppelklicken Sie auf den Zahlenwert und geben Sie einen Wert für die Laserintensität ein.

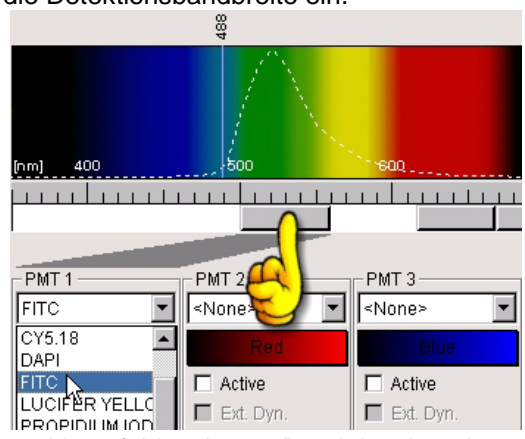
3 Wählen Sie einen geeigneten **Anregungsstrahlteiler** aus.



Ist Ihr System mit einem akusto-optischen Strahlteiler (AOBS) ausgerüstet, optimiert dieser automatisch den Strahlengang für die ausgewählte Wellenlänge. Andernfalls doppelklicken Sie auf die grüne Linie und wählen einen Strahlteiler aus:

- Wählen Sie den Dichroiten RSP 500 bei Aufnahmen von FITC und GFP mit einer Anregungswellenlänge von 488 nm und einer Detektionsbandbreite von 500 bis 600 nm.
- Wählen Sie den Dichroiten RSP 465 bei Aufnahmen von CFP mit einer Anregungswellenlänge von 458 nm und einer Detektionsbandbreite von 465 bis 525 nm.
- Wählen Sie den Doppeldichroiten DD 488 / 543 bei Aufnahmen von FITC und TRITC oder GFP und DsRED mit einer Anregungswellenlänge von 488 und 543 nm und einer Detektionsbandbreite von 500 bis 530 nm bzw. 555 bis 700 nm.
- Wählen Sie den Tripeldichroiten TD 488 / 543 / 633 bei Aufnahmen von FITC, TRITC und CY5 mit einer Anregungswellenlänge von 488, 543 und 633 nm und einer Detektionsbandbreite von 500 bis 535 nm, 555 bis 620 nm bzw. 650 bis 750 nm.
- Wählen Sie den Neutralteiler RT 30/70 bei Reflektions- aufnahmen.

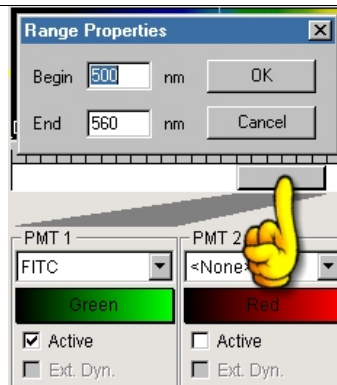
4 Wählen Sie einen oder mehrere **Detektionskanäle «PMT»** und stellen Sie den verwendeten Fluoreszenzfarbstoff und die Detektionsbandbreite ein.



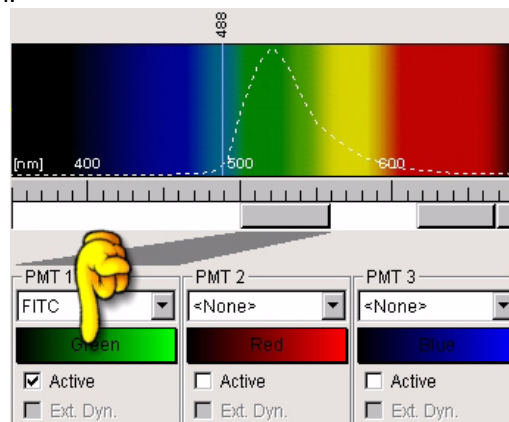
- Klicken Sie auf das Listenfeld eines Detektionskanals und wählen Sie einen Fluoreszenzfarbstoff aus. Die Emissionskurve des Fluoreszenzfarbstoffes wird im Spektrum eingeblendet.
- Positionieren Sie den Schieberegler unter der Emissionskurve.

i **Hinweis zur Position des Detektionsbandes**

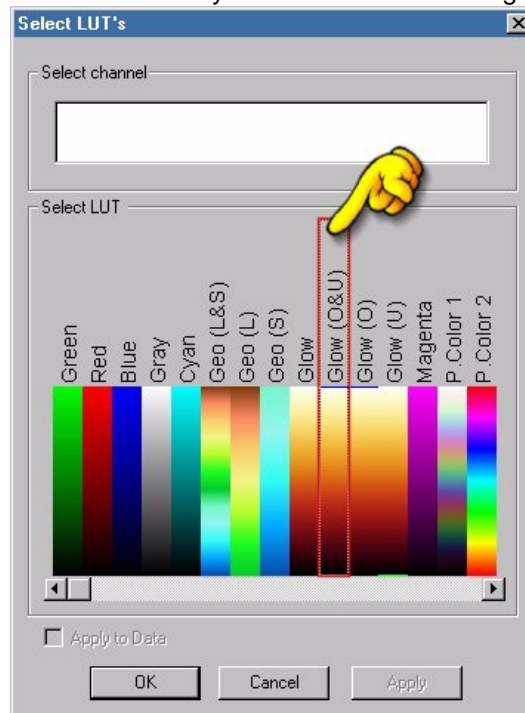
Achten Sie bei Fluoreszenzaufnahmen darauf, dass Sie das Detektionsband nicht unter der Laserlinie positionieren, da sonst Reflektionslicht mit aufgenommen wird. Der Abstand von Detektionsband zur Laserlinie sollte im blauen Spektralbereich (Anregungslinie 488 nm) mindestens 5 nm betragen, im grünen Spektralbereich (Anregungslinie 543 nm) 10 nm und im roten Spektralbereich (Anregung 633 nm) 15 nm.



- ▶ Doppelklicken Sie auf den Schieberegler des ausgewählten Detektionskanals.
- ▶ Im Dialogfenster «Range Properties» geben Sie je eine Wellenlänge für Anfang und Ende des Detektionsbandes ein.



- ▶ Klicken Sie auf das Symbol der Farbzuoordnungstabelle.



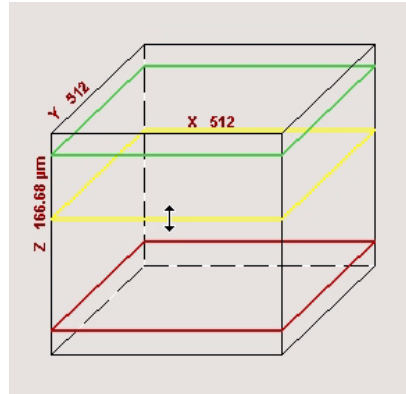
- ▶ Klicken Sie auf eine Farbzuoordnungstabelle und auf «OK».

Bei der ersten Bildaufnahme empfiehlt es sich, mit der Farbzuoordnungstabelle «Glow(O&U)» zu arbeiten.

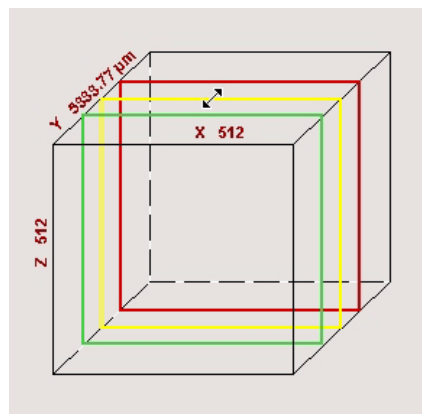


Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen

- 5 Öffnen Sie mit der Taste «Series» das Dialogfenster «Series Scan Overview» und definieren Sie den Anfangspunkt und den Endpunkt der Raumbildserie.



Scanmodus xyz





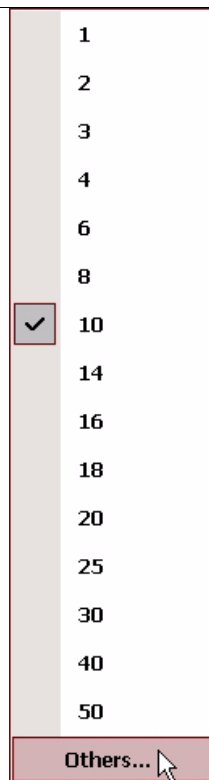
Scanmodus xzy

► Um den Anfangspunkt zu definieren, ziehen Sie das gelbe Quadrat an die gewünschte Z-Position (im Scanmodus xyz) oder Y-Position (im Scanmodus xzy) und klicken Sie dann auf das Kontrollkästchen «Begin».

► Um den Endpunkt zu definieren, ziehen Sie das gelbe Quadrat an die gewünschte Z-Position (im Scanmodus xyz) oder Y-Position (im Scanmodus xzy) und klicken Sie dann auf das Kontrollkästchen «End».

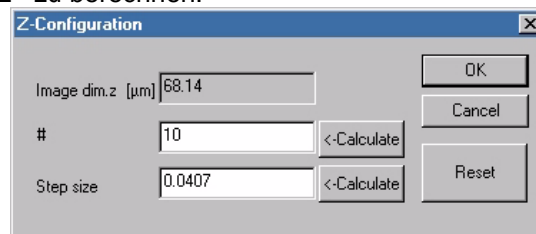
oder

	<div data-bbox="619 244 1040 761" style="border: 1px solid gray; padding: 10px; background-color: #f0f0f0;"> <p style="text-align: center;">Selected Scan Mode: xzy</p> <p>Absolute Position <input type="text" value="-44.94 μm"/></p> <p>Relative Position: <input type="text" value="-"/></p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Begin: <input type="text" value="999.67 μm"/></p> <p><input checked="" type="checkbox"/> End: <input type="text" value="-999.67 μm"/></p> <p style="text-align: center;">Total: 1999.35 μm</p> <p>Upper Threshold: <input type="text" value="-"/></p> <p>Lower Threshold: <input type="text" value="-"/></p> </div> <p>▶ Doppelklicken Sie auf «Absolute Position», geben Sie einen Wert ein und klicken Sie dann auf das Kontrollkästchen «Begin».</p> <p>▶ Doppelklicken Sie auf «Absolute Position», geben Sie einen Wert ein und klicken Sie dann auf das Kontrollkästchen «End».</p> <p style="text-align: center;"> Relative Z-Positionierung</p> <p>Wenn der elektromotorbetriebene Z-Stellantrieb verwendet wird und mit der Taste «z-Scan» die Option «z-Wide» eingestellt wurde, kann eine relative Z-Position eingestellt werden. Die relative Z-Position wird relativ zum oberen Schwellenwert «Upper Threshold» berechnet, der am Mikroskopstativ eingestellt werden muss. <u>Diese Möglichkeit der relativen Z-Positionierung besteht nur bei Mikroskopstativen des Typs DM RXA, DM RXA2, DM IRE2 und DM LFSA (sowie bei den älteren Stativen IRBE mit der EPROM Version 2.40).</u> Die beiden Schwellenwerte «Upper Threshold» und «Lower Threshold» werden im Dialogfenster «Series Overview» angezeigt.</p>
6	<p>Klicken Sie auf die Taste «Sections» und legen Sie die Anzahl der Bildaufnahmen zwischen Anfangs- und Endpunkt fest.</p> <div data-bbox="263 1299 359 1388" style="border: 1px solid gray; padding: 5px;">  <p style="text-align: center;">Sect</p> </div>



► Wählen Sie einen der vorgegebenen Werte oder «Others».

Wenn Sie «Others» wählen, haben Sie im Dialogfenster **«Z/Y-Configuration»** die Möglichkeit, die Anzahl der Aufnahmen «#» oder die Schrittweite «Step size» in Abhängigkeit der Höhe des Bildstapels «Image dim.z» zu berechnen.



► Wenn Sie die Anzahl der Aufnahmen verändern und auf «Calculate» neben «#» klicken, wird die Schrittweite berechnet mit der Priorität, die Höhe des Bildstapels unverändert zu lassen.







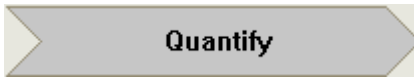

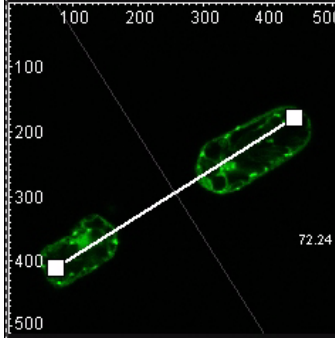
► Wenn Sie die Anzahl der Aufnahmen verändern und auf «Calculate» neben «Step size» klicken, wird die Schrittweite berechnet mit der Priorität, die Anzahl der Aufnahmen unverändert zu lassen.

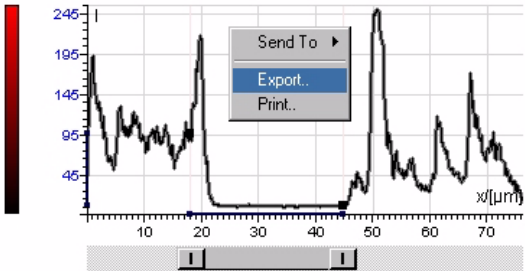
► Wenn Sie die Schrittweite verändern und auf «Calculate» neben «Step size» klicken, wird die Anzahl der Aufnahmen berechnet mit der Priorität, die Höhe des Bildstapels unverändert zu lassen.

► Wenn Sie die Schrittweite verändern und auf «Calculate» neben «#» klicken, wird die Anzahl der Aufnahmen berechnet mit der Priorität, die Schrittweite unverändert zu lassen.

7 Um die Bildqualität während der Bildaufnahme zu optimieren, starten Sie mit der Taste **«Continuous»** die Bildaufnahme im Endlosscan.




	<p>▶ Stellen Sie die Fokusebene (Z-Position), die Detektoren und das Detektionspinhole ein. Lesen Sie dazu die <u>Schritte 7 bis 15</u> im Kapitel «Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen».</p>  <p>Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen</p>
<p>8</p>	<p>Starten Sie mit der Taste «Series» die Raumbildserie.</p>  <p>Series</p> <p>▶ Um das Signal/ Rausch-Verhältnis zu verbessern, klicken Sie auf die Taste «Average». Legen Sie fest, wie oft die Aufnahme eines Bildes wiederholt werden soll. Es wird jeweils der Mittelwert angezeigt.</p>  <p>Aver</p> <p>▶ Um das Signal/ Rausch-Verhältnis zu verbessern, klicken Sie auf die Taste «Line Average». Legen Sie fest, wie oft die Aufnahme einer Linie wiederholt werden soll. Es wird jeweils der Mittelwert angezeigt.</p>  <p>Li. A.</p> <p>▶ Klicken Sie auf die Taste «Gallery», um bereits während der Bildaufnahme die einzelnen Aufnahmen im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen.</p>  <p>Gall.</p> <div style="text-align: center;">  Hinweis </div> <p>Bei der Aufnahme von großen Datensätzen kann die Verwendung der «Gallery» Funktion die Aufnahmeleistung verschlechtern.</p>
<p>9</p>	<p>Für eine statistische Auswertung der Raumbildserie klicken Sie auf das Pfeilsymbol «Quantify» und dann zum Beispiel auf die Taste «Profile».</p>  <p>Quantify</p>  <p>Prof.</p> <p>Das Betätigen dieser Taste öffnet das Dialogfenster «Profile» und blendet eine Messstrecke in das Bild ein.</p>  <p>▶ Die Messstrecke kann beliebig neu positioniert werden.</p>
<p>10</p>	<p>Folgende Befehle stehen im Dialogfenster «Profile» zur Verfügung, wo der Auswertungsgraph zusammen mit verschiedenen statistischen Werten angezeigt wird.</p>



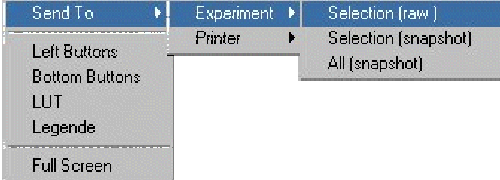
- ▶ Halten Sie den Mauszeiger über das Diagramm und öffnen Sie das Kontextmenü, indem Sie die rechte Maustaste betätigen.
- ▶ Wählen Sie «Export», um die Auswertungsdaten als ASCII Textdatei zu exportieren.
- ▶ Wählen Sie «Send to» und «Document», um eine Bildschirmkopie des Auswertungsgraphen als neue Datei im aktiven Experiment anzulegen.
- ▶ Wählen Sie «Print», um den Auswertungsgraphen zu drucken.
- ▶ Klicken Sie auf das Pfeilsymbol «View» und die Taste «Play», um die Raumbildserie als Filmsequenz ablaufen zu lassen. Simultan dazu werden der Auswertungsgraph und die dazugehörigen Auswertungsdaten der jeweiligen Einzelbilder angezeigt.

View



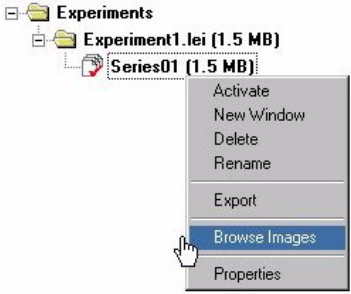
11 Sie können ein **Bild eines Detektionskanals** getrennt als neuen Datensatz im aktiven Experiment anlegen.

- ▶ Klicken Sie auf das Bild des gewünschten Detektionskanals.
- ▶ Halten Sie den Mauszeiger über das Ansichtsfenster Viewer und öffnen Sie das Kontextmenü, indem Sie die rechte Maustaste betätigen.



- ▶ Wählen Sie «Selection (raw)», um die Bilddaten des markierten Ausschnitts als neue Datei anzulegen.
- ▶ Wählen Sie «Selection (snapshot)», um eine Bildschirmkopie des markierten Ausschnitts als neue Datei anzulegen.
- ▶ Wählen Sie «All (snapshot)», um eine Bildschirmkopie des Gesamtbildes als neue Datei anzulegen.

Die gespeicherten Dateien befinden sich im Ansichtsfenster «Experiment Overview», wo Ihnen im Kontextmenü folgende Befehle zur Verfügung stehen:



- ▶ Markieren Sie eine Datei und öffnen Sie das Kontextmenü, indem Sie die rechte Maustaste betätigen.
- ▶ Wählen Sie «Activate», um die Bilddaten der Datei im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen.
- ▶ Wählen Sie «New Window», um die aktuelle Aufnahme in einem zweiten Ansichtsfenster zu öffnen. Sie können so dasselbe Bild zum Beispiel mit einer anderen Farbuordnungstabelle

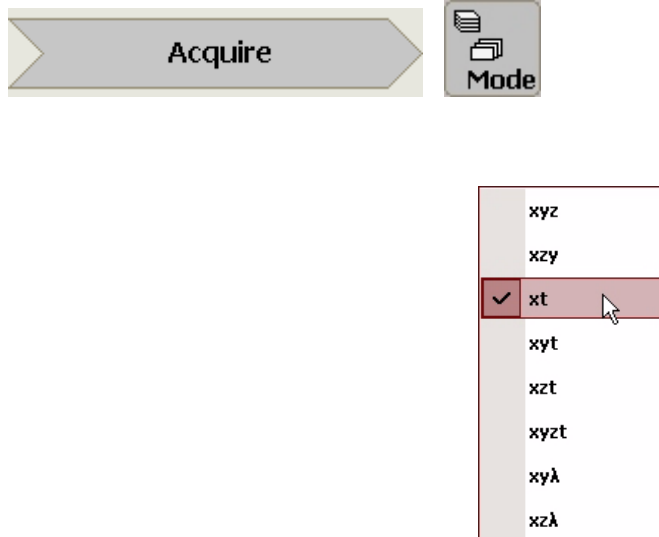
anzeigen lassen.

- ▶ Wählen Sie «Delete», um die Datei zu löschen.
- ▶ Wählen Sie «Rename», um der Datei einen neuen Namen zu geben.
- ▶ Wählen Sie «Export», um eine Aufnahme im Dateiformat *.avi zu exportieren.
- ▶ Wählen Sie «Browse Images», um alle Aufnahmen eines Experiments als Miniaturbilder auf der Bedienoberfläche anzuzeigen.
- ▶ Wählen Sie «Properties», um in einem Dialogfenster eine Kurzbeschreibung der Aufnahme einzugeben.
- ▶ Sie können Dateien von einem Experiment in das andere ziehen und verschieben (drag and drop), indem Sie die Datei mit gedrückter linker Maustaste auf den Ordner des gewünschten Experiments ziehen.

Zeitbildserien aufnehmen

1

Klicken Sie auf das Pfeilsymbol « **Acquire** » und dann auf die Taste «Mode» und wählen Sie den Scanmodus «xt», «xyt», «xzt» oder «xyzt» aus.



► Wählen Sie den Scanmodus «xt», wenn Sie eine Linie in regelmäßigen Zeitintervallen aufnehmen wollen.

► Wählen Sie den Scanmodus «xyt», wenn Sie horizontale Einzelbilder (orthogonal zur optischen Achse) in regelmäßigen Zeitintervallen aufnehmen wollen.

► Wählen Sie den Scanmodus «xzt», wenn Sie vertikale Einzelbilder (parallel zur optischen Achse) in regelmäßigen Zeitintervallen aufnehmen wollen.

► Wählen Sie den Scanmodus «xyzt», wenn Sie einen Stapel aus horizontalen Einzelbildern (orthogonal zur optischen Achse) in regelmäßigen Zeitintervallen aufnehmen wollen.

Die Auswahl einer dieser Scanmodi aktiviert automatisch die Taste «Time», die für die Aufnahme einer Zeitbildserie benötigt wird:



Welche Scanmodi werden angezeigt?

Die Zahl der zur Verfügung stehenden Scanmodi hängt von der Art des verwendeten Z-Stellantriebs ab. Der Z-Stellantrieb wird mit der Taste «z-Scan» eingestellt.

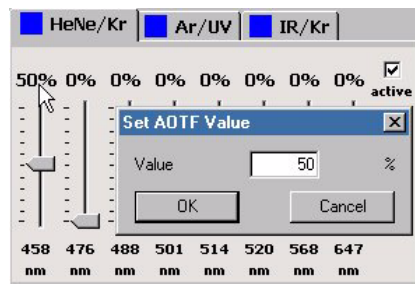


Es stehen alle Scanmodi zur Verfügung, wenn der galvanometerbetriebene Z-Objektisch verwendet wird. Im Listenfeld ist die Auswahl «z-Galvo» einzustellen.

Es stehen nur die Scanmodi «xyz, xt, xyt, xyzt und $xy\lambda$ » zur Verfügung, wenn der elektromotorbetriebene z-Objektisch verwendet (oder bei inversen Mikroskopen der Objektivrevolver verfahren) wird. Im Listenfeld ist die Auswahl «z-Wide» einzustellen.

2

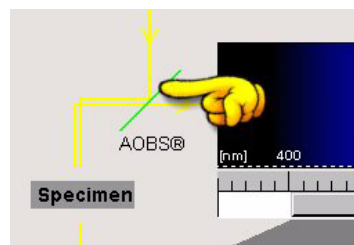
Öffnen Sie mit der Taste « **Beam** » das Dialogfenster «Beam Path Setting» und wählen Sie die Anregungswellenlänge aus und stellen Sie die Intensität der Laserlinie ein.



► Ziehen Sie den Schieberegler oder doppelklicken Sie auf den Zahlenwert und geben Sie einen Wert für die Laserintensität ein.

3

Wählen Sie einen geeigneten **Anregungsstrahlteiler** aus.



Ist Ihr System mit einem akusto-optischen Strahlteiler (AOBS) ausgerüstet, optimiert dieser automatisch den Strahlengang für die ausgewählte Wellenlänge.

Andernfalls doppelklicken Sie auf die grüne Linie und wählen einen Strahlteiler aus:

► Wählen Sie den Dichroiten RSP 500 bei Aufnahmen von FITC und GFP mit einer Anregungswellenlänge von 488 nm und einer Detektionsbandbreite von 500 bis 600 nm.

► Wählen Sie den Dichroiten RSP 465 bei Aufnahmen von CFP mit einer

Anregungswellenlänge von 488 nm und einer Detektionsbandbreite von 465 bis 525 nm.

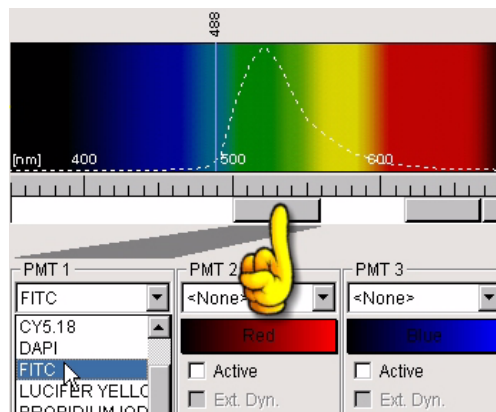
► Wählen Sie den Doppeldichroiten DD 488 / 543 bei Aufnahmen von FITC und TRITC oder GFP und DsRED mit einer Anregungswellenlänge von 488 und 543 nm und einer Detektionsbandbreite von 500 bis 530 nm bzw. 555 bis 700 nm.

► Wählen Sie den Tripeldichroiten TD 488 / 543 / 633 bei Aufnahmen von FITC, TRITC und CY5 mit einer Anregungswellenlänge von 488, 543 und 633 nm und einer Detektionsbandbreite von 500 bis 535 nm, 555 bis 620 nm bzw. 650 bis 750 nm.

► Wählen Sie den Neutralteiler RT 30/70 bei Reflektions- aufnahmen.

4

Wählen Sie einen oder mehrere **Detektionskanäle «PMT»** und stellen Sie den verwendeten Fluoreszenzfarbstoff und die Detektionsbandbreite ein.

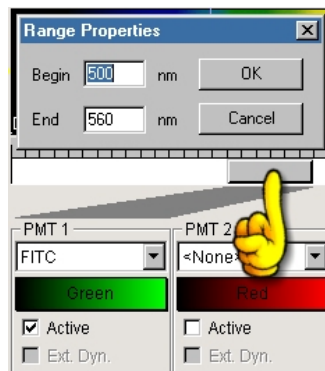


► Klicken Sie auf das Listenfeld eines Detektionskanals und wählen Sie einen Fluoreszenzfarbstoff aus. Die Emissionskurve des Fluoreszenzfarbstoffes wird im Spektrum eingeblendet.

► Positionieren Sie den Schieberegler unter der Emissionskurve.

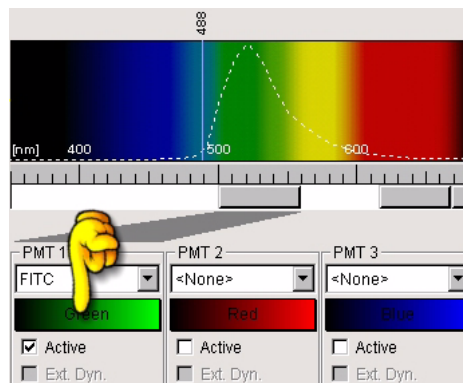
 Hinweis zur Position des Detektionsbandes

Achten Sie bei Fluoreszenzaufnahmen darauf, dass Sie das Detektionsband nicht unter der Laserlinie positionieren, da sonst Reflektionslicht mit aufgenommen wird. Der Abstand von Detektionsband zur Laserlinie sollte im blauen Spektralbereich (Anregungslinie 488 nm) mindestens 5 nm betragen, im grünen Spektralbereich (Anregungslinie 543 nm) 10 nm und im roten Spektralbereich (Anregung 633 nm) 15 nm.

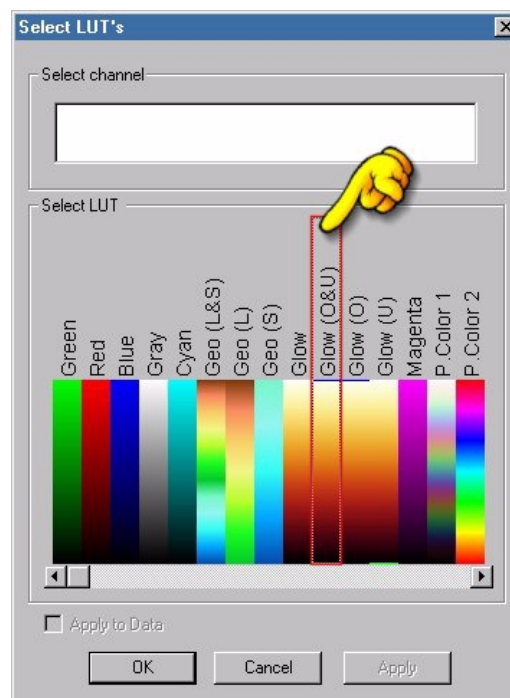


► Doppelklicken Sie auf den Schieberegler des ausgewählten Detektionskanals.

► Im Dialogfenster «Range Properties» geben Sie je eine Wellenlänge für Anfang und Ende des Detektionsbandes ein.



► Klicken Sie auf das Symbol der Farbzordnungstabelle.



► Klicken Sie auf eine Farbzordnungstabelle und auf «OK».

Bei der ersten Bildaufnahme empfiehlt es sich, mit der Farbzueordungstabelle «Glow(O&U)» zu arbeiten.



Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen

5

Klicken Sie auf die Taste « **Time** » und stellen Sie alle erforderlichen Parameter für die Zeitbildserie ein.



Die einstellbaren Parameter sind für die verschiedenen Scanmodi einer Zeitbildserie unterschiedlich.



Funktionsweise des Dialogfensters «Time Configuration»

Jeder Parameter kann in Abhängigkeit der anderen Parameter berechnet werden. Klicken Sie auf den Parameter, der berechnet werden soll. Das entsprechende Eingabefeld erscheint grau. Geben Sie nun die Werte für die anderen Parameter ein. Klicken Sie auf «Apply», um den Parameter zu berechnen. Klicken Sie auf «Reset», um die zuletzt gespeicherten Werte anzuzeigen.

Ist der Scanmodus «xt» ausgewählt, sind diese Parameter einzustellen:

► Im Feld «Lines» geben Sie die Anzahl der Aufnahmen der Linie ein.

Maximize (default)

► Deaktivieren Sie das Kontrollkästchen «Maximize», um im Feld «Lines per page» die Anzahl der Linien einzustellen, die aufgenommen werden sollen, bevor die Daten an den Rechner weitergeleitet werden. Als Standardeinstellung wird eine Aufnahme kontinuierlich abgearbeitet, bis der Speicher des Scankopfes keine Daten mehr aufnehmen kann.

► Im Feld «Complete Time» geben Sie die Gesamtzeit für die Bildaufnahme ein.

Ist der Scanmodus «xyt» oder «xzt» ausgewählt, sind diese Parameter einzustellen:






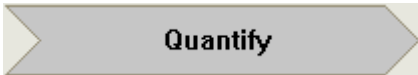








- ▶ Im Feld «Frames» geben Sie die Anzahl der Aufnahmen des Einzelbildes ein.
- ▶ Im Feld « ΔT » definieren Sie das Zeitintervall zwischen den Aufnahmen von zwei Einzelbildern. Ist das Kontrollkästchen «Minimize» ausgewählt, wird das Minimalintervall eingestellt, das heißt die Zeit für die Aufnahme eines Einzelbildes (abhängig von Scanparametern wie dem Scanformat und der Scan- geschwindigkeit) plus eines notwendigen Pausenintervalls für die Positionierung des Scanspiegels.
- ▶ Im Feld «Complete Time» geben Sie die Gesamtzeit für die Bildaufnahme ein.

Ist der Scanmodus «xyzt» ausgewählt, sind folgende Parameter einzustellen:

- ▶ Im Feld «Stacks» geben Sie die Anzahl der Aufnahmen des Bildstapels ein.
- ▶ Im Feld « ΔT » definieren Sie das Zeitintervall zwischen den Aufnahmen von zwei Bildstapeln. Ist das Kontrollkästchen «Minimize» ausgewählt, wird das Minimalintervall eingestellt, das heißt die Zeit für die Aufnahme eines Bildstapels (abhängig von Scanparametern wie dem Scanformat und der Scan- geschwindigkeit) plus eines notwendigen Pausenintervalls für die Positionierung des Scanspiegels.
- ▶ Im Feld «Complete Time» geben Sie die Gesamtzeit für die Bildaufnahme ein.

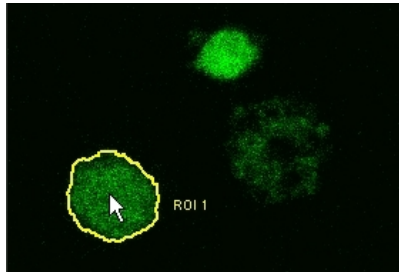
6

Um die Bildqualität während der Bildaufnahme zu optimieren, starten Sie mit der Taste «**Continuous**» die Bildaufnahme im Endlosscan.

	 <p>Continuous</p> <p>▶ Stellen Sie die Fokusebene (Z-Position), die Detektoren und das Detektionspinhole ein. Lesen Sie dazu die <u>Schritte 7 bis 15</u> im Kapitel «Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen».</p>  <p>Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen</p>
<p>7</p>	<p>Starten Sie mit der Taste « Series » die Zeitbildserie.</p>  <p>Series</p> <p>▶ Um das Signal/ Rausch-Verhältnis zu verbessern, klicken Sie auf die Taste «Average». Legen Sie fest, wie oft die Aufnahme eines Bildes wiederholt werden soll. Es wird jeweils der Mittelwert angezeigt.</p>  <p>Aver</p> <p>▶ Um das Signal/ Rausch-Verhältnis zu verbessern, klicken Sie auf die Taste «Line Average». Legen Sie fest, wie oft die Aufnahme einer Linie wiederholt werden soll. Es wird jeweils der Mittelwert angezeigt.</p>  <p>Li. A.</p>
<p>8</p>	<p>Für eine statistische Auswertung der Zeitbildserie klicken Sie auf das Pfeilsymbol « Quantify » und dann zum Beispiel auf die Taste «Histogram».</p>   <p>Hist</p> <p>Das Betätigen dieser Taste öffnet das Dialogfenster «Histogram» und aktiviert automatisch die ROI Tasten, die Sie in den nächsten Schritten benötigen werden:</p>  <p>Ellip</p>  <p>Rect</p>  <p>Poly</p>  <p>Sel.</p>  <p>Rot.</p>  <p>Wiz.</p>  <p>Clear</p>

9

Markieren Sie einen Auswertungsbereich (ROI) im Bild, indem Sie zum Beispiel auf die Taste «**Wizard**» und die Taste «Polygon» klicken.



▶ Doppelklicken Sie im Bild auf die Struktur, die ausgewertet werden soll. Die Konturen der Struktur werden automatisch als Auswertungsbereich markiert.

▶ Wählen Sie mit den Tasten «Ellipse» oder «Rectangle» andere geometrische Formen und markieren Sie weitere Auswertungsbereiche im Bild.



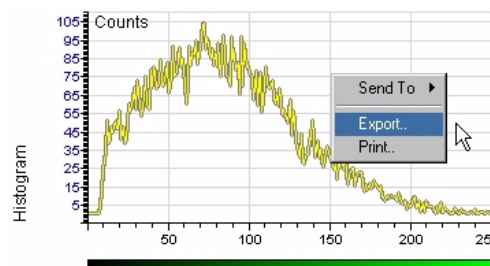
▶ Deaktivieren Sie die Taste «Wizard», wenn Sie die Auswertungsbereiche freihand in das Bild zeichnen wollen.

▶ Mit den Tasten «Select» und «Rotate», können Sie die Auswertungsbereiche verschieben, drehen und ihre Größe ändern, mit der Taste «Clear» können Sie alle Auswertungsbereiche löschen



10

Folgende Befehle stehen im Dialogfenster «Histogramm» zur Verfügung, wo der **Auswertungsgraph** zusammen mit verschiedenen statistischen Werten angezeigt wird.



▶ Halten Sie den Mauszeiger über das Diagramm und öffnen Sie das Kontextmenü, indem Sie die rechte Maustaste betätigen.

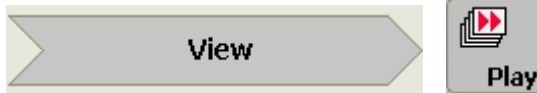
▶ Wählen Sie «Export», um die Auswertungsdaten als ASCII Textdatei zu exportieren.

▶ Wählen Sie «Send to» und «Document» um eine Bildschirmkopie des Auswertungsgraphen

als neue Datei im aktiven Experiment anzulegen.

▶ Wählen Sie «Print», um den Auswertungsgraphen zu drucken.

▶ Klicken Sie auf das Pfeilsymbol «View» und die Taste «Play», um die Zeitbildserie als Filmsequenz ablaufen zu lassen. Simultan dazu werden der Auswertungsgraph und die dazugehörigen Auswertungsdaten der jeweiligen Einzelbilder angezeigt.

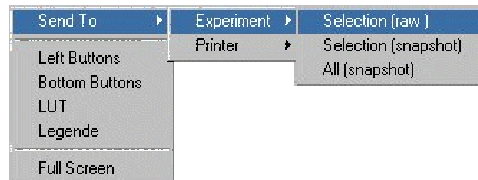


11

Sie können ein **Bild eines Detektionskanals** getrennt als neuen Datensatz im aktiven Experiment anlegen.

▶ Klicken Sie auf das Bild des gewünschten Detektionskanals.

▶ Halten Sie den Mauszeiger über das Ansichtsfenster Viewer und öffnen Sie das Kontextmenü, indem Sie die rechte Maustaste betätigen.

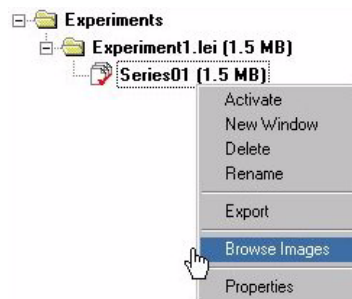


▶ Wählen Sie «Selection (raw)», um die Bilddaten des markierten Ausschnitts als neue Datei anzulegen.

▶ Wählen Sie «Selection (snapshot)», um eine Bildschirmkopie des markierten Ausschnitts als neue Datei anzulegen.

▶ Wählen Sie «All (snapshot)», um eine Bildschirmkopie des Gesamtbildes als neue Datei anzulegen.

Die gespeicherten Dateien befinden sich im Ansichtsfenster «Experiment Overview», wo Ihnen im Kontextmenü folgende Befehle zur Verfügung stehen:



▶ Markieren Sie eine Datei und öffnen Sie das Kontextmenü, indem Sie die rechte Maustaste betätigen.

▶ Wählen Sie «Activate», um die Bilddaten der Datei im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen.

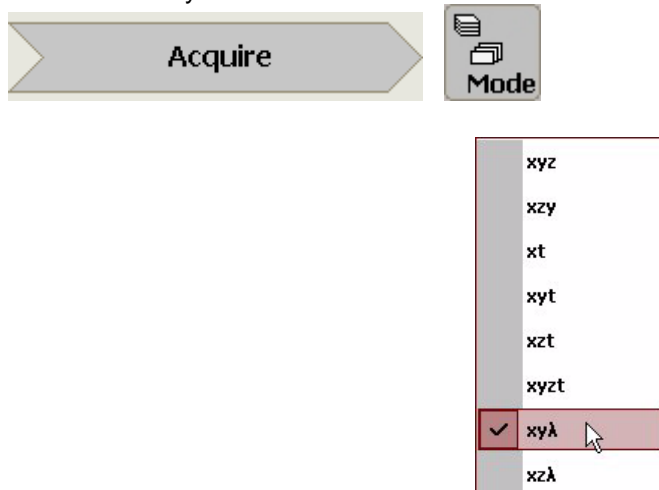
▶ Wählen Sie «New Window», um die aktuelle Aufnahme in einem zweiten Ansichtsfenster zu

öffnen. Sie können so dasselbe Bild zum Beispiel mit einer anderen Farbzordnungstabelle anzeigen lassen.

- ▶ Wählen Sie «Delete», um die Datei zu löschen.
- ▶ Wählen Sie «Rename», um der Datei einen neuen Namen zu geben.
- ▶ Wählen Sie «Export», um eine Aufnahme im Dateiformat *.avi zu exportieren.
- ▶ Wählen Sie «Browse Images», um alle Aufnahmen eines Experiments als Miniaturbilder auf der Bedienoberfläche anzuzeigen.
- ▶ Wählen Sie «Properties», um in einem Dialogfenster eine Kurzbeschreibung der Aufnahme einzugeben.
- ▶ Sie können Dateien von einem Experiment in das andere ziehen und verschieben (drag and drop), indem Sie die Datei mit gedrückter linker Maustaste auf den Ordner des gewünschten Experiments ziehen.

Lambdaserien (Spektralbildserien) aufnehmen

- 1 Klicken Sie auf das Pfeilsymbol « **Acquire** » und auf die Taste «Mode» und wählen Sie den Scanmodus « $xy\lambda$ » oder « $xz\lambda$ » aus.



► Wählen Sie den Scanmodus « $xy\lambda$ », wenn Sie horizontale Einzelbilder (orthogonal zur optischen Achse) jeweils bei einer bestimmten Wellenlänge aufnehmen wollen.

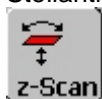
► Wählen Sie den Scanmodus « $xz\lambda$ », wenn Sie vertikale Einzelbilder (parallel zur optischen Achse) jeweils bei einer bestimmten Wellenlänge aufnehmen wollen.

Die Auswahl einer der beiden Scanmodi aktiviert automatisch die Tasten, die für die Aufnahme einer Lambdaserie benötigt werden:



i Welche Scanmodi werden angezeigt?

Die Zahl der zur Verfügung stehenden Scanmodi hängt von der Art des verwendeten Z-Stellantriebs ab. Der Z-Stellantrieb wird mit der Taste «z-Scan» eingestellt.




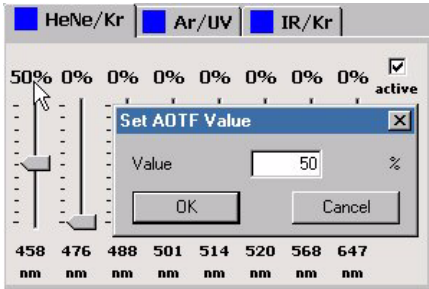
Es stehen alle Scanmodi zur Verfügung, wenn der galvanometerbetriebene Z-Objektisch verwendet wird. Im Listenfeld ist die Auswahl «z-Galvo» einzustellen.

Es stehen nur die Scanmodi «xyz, xt, xyt, xyzt und $xy\lambda$ » zur Verfügung, wenn der elektromotorbetriebene Z-Objektisch verwendet (oder bei inversen Mikroskopen der Objektivrevolver verfahren) wird. Im Listenfeld ist die Auswahl «z-Wide» einzustellen.

Außerdem sind die Scanmodi für die Aufnahme einer Lambdaserie « $xy\lambda$ » und « $xz\lambda$ » nur verfügbar, wenn nur ein Detektionskanal aktiv ist.

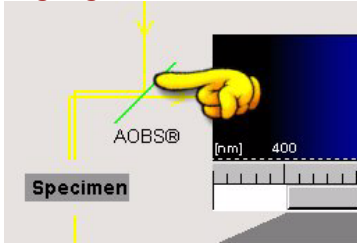
- 2 Öffnen Sie mit der Taste « **Beam** » das Dialogfenster «Beam Path Setting» und wählen Sie die Anregungswellenlänge aus und stellen Sie die Intensität der Laserlinie ein.





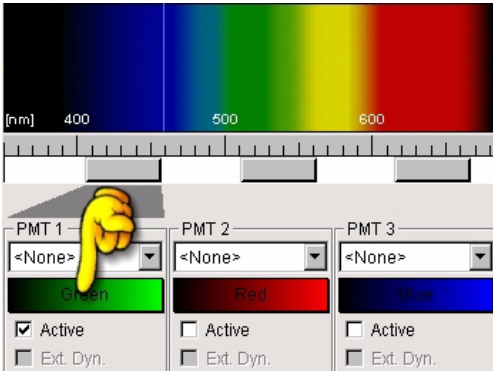
► Ziehen Sie den Schieberegler oder doppelklicken Sie auf den Zahlenwert und geben Sie einen Wert für die Laserintensität ein.

3 Wählen Sie einen geeigneten **Anregungsstrahlteiler** aus.

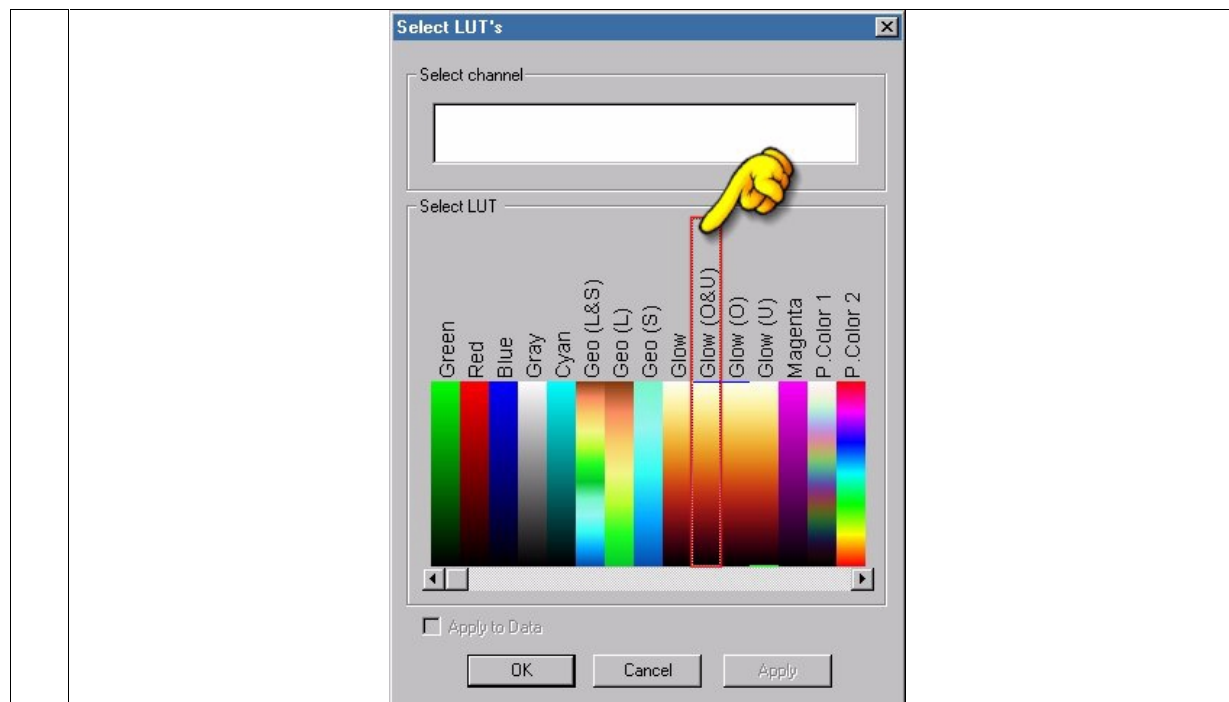


Ist Ihr System mit einem akustisch-optischen Strahlteiler (AOBS) ausgerüstet, optimiert dieser automatisch den Strahlengang für die ausgewählte Wellenlänge. Andernfalls doppelklicken Sie auf die grüne Linie und wählen Sie den Neutralfilter «RT 30/70» aus, der sich für eine Lambdaserie besonders eignet.

4 Wählen Sie einen **Detektionskanal «PMT»** und ordnen Sie diesem eine Farbzuoordnungstabelle zu.



► Klicken Sie auf das Symbol der Farbzuoordnungstabelle.



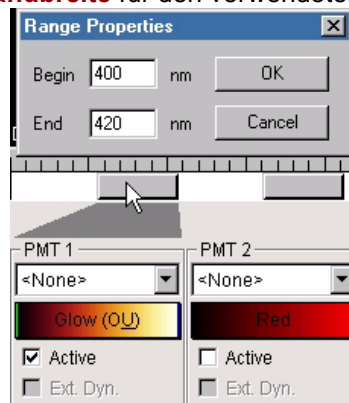
► Klicken Sie auf eine Farbzueordnungstabelle und auf «OK».

Bei der ersten Bildaufnahme empfiehlt es sich, mit der Farbzueordnungstabelle «Glow(O&U)» zu arbeiten.



Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen

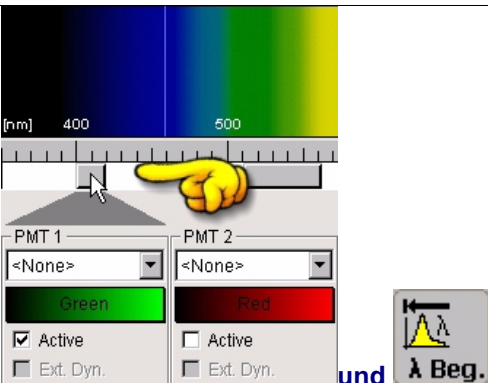
5 Definieren Sie die **Detektionsbandbreite** für den verwendeten Detektionskanal.



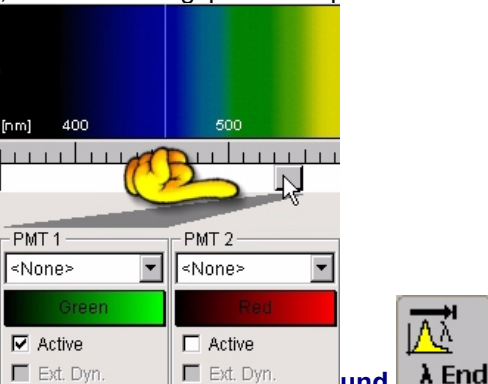
► Doppelklicken Sie auf den Schieberegler des ausgewählten Detektionskanals.

► Im Dialogfenster «Range Properties» geben Sie je eine Wellenlänge für Anfang und Ende des Detektionsbandes ein.

6 Definieren Sie **Anfangspunkt und Endpunkt** der Lambdaserie.




► Ziehen Sie den Schieberegler an die gewünschte Position im Spektrum und klicken Sie auf die Taste «Lambda Begin», um den Anfangspunkt zu speichern.



► Ziehen Sie den Schieberegler an die gewünschte Position im Spektrum und klicken Sie auf die Taste «Lambda End», um den Endpunkt zu speichern.


7 Klicken Sie auf die Taste « **Lambda Steps** » und legen Sie die Anzahl der Bildaufnahmen fest.



8
✓ 10
14
16
18
20







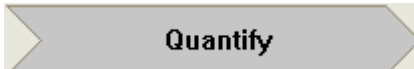




Innerhalb der Spanne zwischen Anfangs- und Endpunkt der Bildserie wird die eingestellte Anzahl von Aufnahmen in gleichmäßigen Schrittweiten aufgenommen.

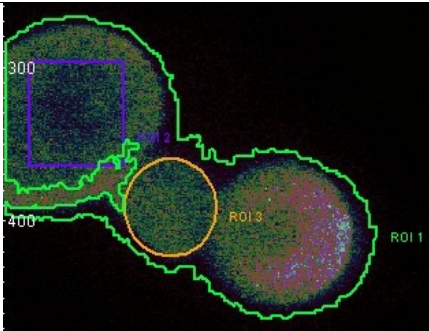





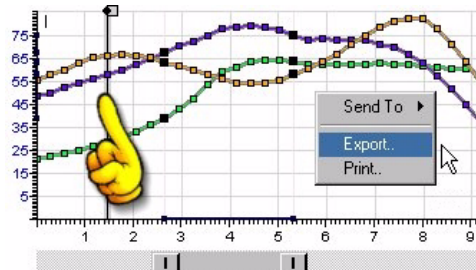


8 Um die Bildqualität während der Bildaufnahme zu optimieren, starten Sie mit der Taste « **Continuous** » die Bildaufnahme im Endlosscan.

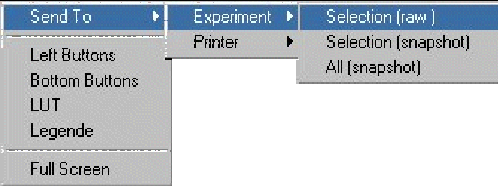


Continuous

► Stellen Sie die Fokusebene (Z-Position), die Detektoren und das Detektionspinhole bei verschiedenen Positionen im Spektrum ein. Lesen Sie dazu die Schritte 7 bis 15 im Kapitel «Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen»

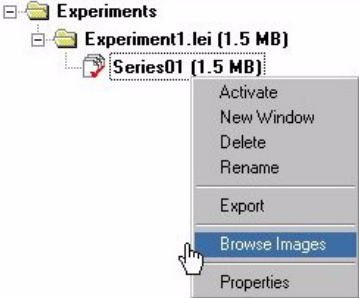
	 <p>Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen</p>
<p>9</p>	<p>Starten Sie mit der Taste « Series » die Lambdaserie.</p>  <p>Series</p> <p>► Um das Signal/ Rausch-Verhältnis zu verbessern, klicken Sie auf die Taste «Average». Legen Sie fest, wie oft die Aufnahme eines Bildes wiederholt werden soll. Es wird jeweils der Mittelwert angezeigt.</p>  <p>Aver</p> <p>► Um das Signal/ Rausch-Verhältnis zu verbessern, klicken Sie auf die Taste «Line Average». Legen Sie fest, wie oft die Aufnahme einer Linie wiederholt werden soll. Es wird jeweils der Mittelwert angezeigt.</p>  <p>Li. A.</p> <p>► Klicken Sie auf die Taste «Gallery», um bereits während der Bildaufnahme die einzelnen Aufnahmen im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen.</p>  <p>Gall.</p> <p style="text-align: center;"> Achtung</p> <p>Bei der Aufnahme von grossen Datensätzen kann die Verwendung der «Gallery» Funktion die Aufnahmeleistung verschlechtern.</p>
<p>10</p>	<p>Für eine statistische Auswertung der Lambdaserie klicken Sie auf das Pfeilsymbol « Quantify » und dann zum Beispiel auf die Taste «Pr.(z)».</p>   <p>Pr. (z)</p> <p>Das Betätigen dieser Taste öffnet das Dialogfenster «Profile through Stack» und aktiviert automatisch die ROI Tasten, die Sie in den nächsten Schritten benötigen werden:</p>  <p>Ellip Rect Poly Sel. Rot. Wiz. Clear</p>
<p>11</p>	<p>Markieren Sie einen Auswertungsbereich (ROI) im Bild, indem Sie zum Beispiel auf die Taste « Wizard » und die Taste «Polygon» klicken.</p>   <p>Wiz. Poly</p>

	 <p>▶ Doppelklicken Sie im Bild auf die Struktur, die ausgewertet werden soll. Die Konturen der Struktur werden automatisch als Auswertungsbereich markiert.</p> <p>▶ Wählen Sie mit den Tasten «Ellipse» oder «Rectangle» andere geometrische Formen und markieren Sie weitere Auswertungsbereiche im Bild.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="264 707 360 801">  <p>Ellip</p> </div> <div data-bbox="376 707 472 801">  <p>Rect</p> </div> </div> <p>▶ Deaktivieren Sie die Taste «Wizard», wenn Sie die Auswertungsbereiche freihand in das Bild zeichnen wollen.</p> <p>▶ Mit den Tasten «Select» und «Rotate», können Sie die Auswertungsbereiche verschieben, drehen und ihre Größe ändern, mit der Taste «Clear» können Sie alle Auswertungsbereiche löschen.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="264 976 360 1070">  <p>Sel.</p> </div> <div data-bbox="376 976 472 1070">  <p>Rot.</p> </div> <div data-bbox="504 976 600 1070">  <p>Clear</p> </div> </div>
<p>12</p>	<p>Folgende Befehle stehen im Dialogfenster «Profile through Stack» zur Verfügung, wo der Auswertungsgraph zusammen mit verschiedenen statistischen Werten angezeigt wird.</p>  <p>▶ Halten Sie den Mauszeiger über das Diagramm und öffnen Sie das Kontextmenü, indem Sie die <u>rechte Maustaste</u> betätigen.</p> <p>▶ Wählen Sie «Export», um die Auswertungsdaten als ASCII Textdatei zu exportieren.</p> <p>▶ Wählen Sie «Send to» und «Document» um eine Bildschirmkopie des Auswertungsgraphen als neue Datei im aktiven Experiment anzulegen.</p> <p>▶ Wählen Sie «Print», um den Auswertungsgraphen zu drucken.</p> <p>▶ Klicken Sie auf das Pfeilsymbol «View» und die Taste «Play», um die Lambdaserie als Filmsequenz ablaufen zu lassen. Simultan dazu werden mittels einer senkrechten Hilfslinie der Auswertungsgraph und die dazugehörigen Auswertungsdaten der jeweiligen Einzelbilder angezeigt.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;"> <div data-bbox="264 1749 679 1832">  </div> <div data-bbox="703 1738 799 1832">  </div> </div>
<p>12</p>	<p>Sie können ein Bild eines Detektionskanals getrennt als neuen Datensatz im aktiven Experiment anlegen.</p> <p>▶ Klicken Sie auf das Bild des gewünschten Detektionskanals.</p> <p>▶ Halten Sie den Mauszeiger über das Ansichtsfenster Viewer und öffnen Sie das Kontextmenü, indem Sie die <u>rechte Maustaste</u> betätigen.</p>



▶ Wählen Sie «Selection (raw)», um die Bilddaten des markierten Ausschnitts als neue Datei anzulegen.
 ▶ Wählen Sie «Selection (snapshot)», um eine Bildschirmkopie des markierten Ausschnitts als neue Datei anzulegen.
 ▶ Wählen Sie «All (snapshot)», um eine Bildschirmkopie des Gesamtbildes als neue Datei anzulegen.

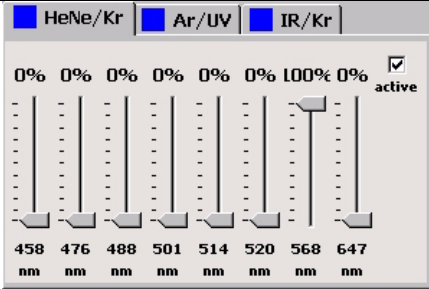
Die gespeicherten Dateien befinden sich im Ansichtsfenster «Experiment Overview», wo Ihnen im Kontextmenü folgende Befehle zur Verfügung stehen:



▶ Markieren Sie eine Datei und öffnen Sie das Kontextmenü, indem Sie die rechte Maustaste betätigen.
 ▶ Wählen Sie «Activate», um die Bilddaten der Datei im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen.
 ▶ Wählen Sie «New Window», um die aktuelle Aufnahme in einem zweiten Ansichtsfenster zu öffnen. Sie können so dasselbe Bild zum Beispiel mit einer anderen Farbzuordnungstabelle anzeigen lassen.
 ▶ Wählen Sie «Delete», um die Datei zu löschen.
 ▶ Wählen Sie «Rename», um der Datei einen neuen Namen zu geben.
 ▶ Wählen Sie «Export», um eine Aufnahme im Dateiformat *.avi zu exportieren.
 ▶ Wählen Sie «Browse Images», um alle Aufnahmen eines Experiments als Miniaturbilder auf der Bedienoberfläche anzuzeigen.
 ▶ Wählen Sie «Properties», um in einem Dialogfenster eine Kurzbeschreibung der Aufnahme einzugeben.
 ▶ Sie können Dateien von einem Experiment in das andere ziehen und verschieben (drag and drop), indem Sie die Datei mit gedrückter linker Maustaste auf den Ordner des gewünschten Experiments ziehen.

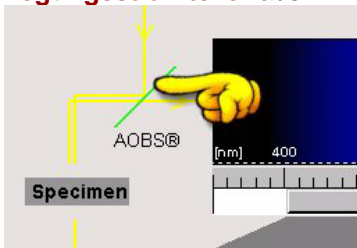
Sequentielle Bildserien aufnehmen

- | | |
|---|---|
| 1 | Zuerst werden die Aufnahmeparameter für die <u>erste Aufnahmemethode</u> eingestellt und als Aufnahmeparametersatz abgespeichert. Klicken Sie zu diesem Zweck auf das Pfeilsymbol « Acquire » und öffnen Sie mit der Taste «Beam» das Dialogfenster «Beam Path Setting». |
|  | |
| 2 | Wählen Sie die Anregungswellenlänge aus und stellen Sie die Intensität der Laserlinie ein. |



▶ Ziehen Sie den Schieberegler oder doppelklicken Sie auf den Zahlenwert und geben Sie einen Wert für die Laserintensität ein.

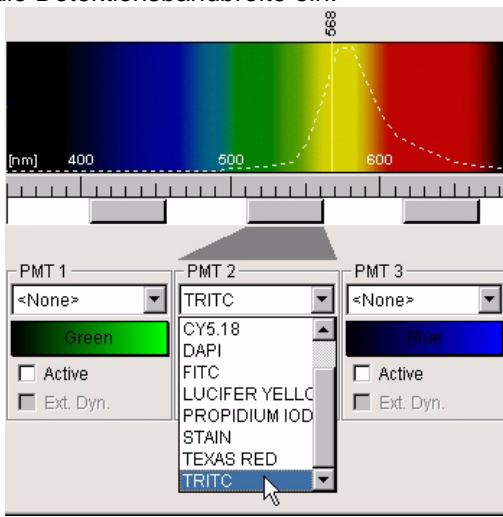
3 Wählen Sie einen geeigneten **Anregungsstrahlteiler** aus.



Ist Ihr System mit einem akusto-optischen Strahlteiler (AOBS) ausgerüstet, optimiert dieser automatisch den Strahlengang für die ausgewählte Wellenlänge. Andernfalls doppelklicken Sie auf die grüne Linie und wählen einen Strahlteiler aus:

- ▶ Wählen Sie den Dichroiten RSP 500 bei Aufnahmen von FITC und GFP mit einer Anregungswellenlänge von 488 nm und einer Detektionsbandbreite von 500 bis 600 nm.
- ▶ Wählen Sie den Dichroiten RSP 465 bei Aufnahmen von CFP mit einer Anregungswellenlänge von 458 nm und einer Detektionsbandbreite von 465 bis 525 nm.
- ▶ Wählen Sie den Doppeldichroiten DD 488 / 543 bei Aufnahmen von FITC und TRITC oder GFP und DsRED mit einer Anregungswellenlänge von 488 und 543 nm und einer Detektionsbandbreite von 500 bis 530 nm bzw. 555 bis 700 nm.
- ▶ Wählen Sie den Tripeldichroiten TD 488 / 543 / 633 bei Aufnahmen von FITC, TRITC und CY5 mit einer Anregungswellenlänge von 488, 543 und 633 nm und einer Detektionsbandbreite von 500 bis 535 nm, 555 bis 620 nm bzw. 650 bis 750 nm.
- ▶ Wählen Sie den Neutralteiler RT 30/70 bei Reflektions- aufnahmen.

4 Wählen Sie einen **Detektionskanal «PMT»** und stellen Sie den verwendeten Fluoreszenzfarbstoff und die Detektionsbandbreite ein.



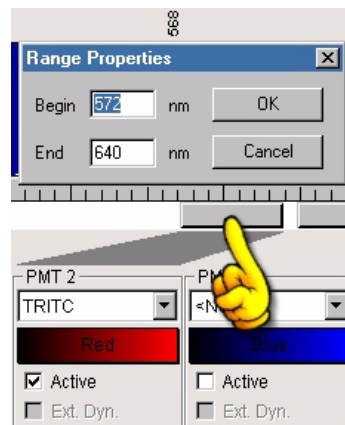
▶ Klicken Sie auf das Listenfeld eines Detektionskanals, zum Beispiel «PMT2», und wählen Sie einen Fluoreszenzfarbstoff, zum Beispiel «TRITC» aus. Die Emissionskurve des

Fluoreszenzfarbstoffes wird im Spektrum eingeblendet.

► Positionieren Sie den Schieberegler unter der Emissionskurve.

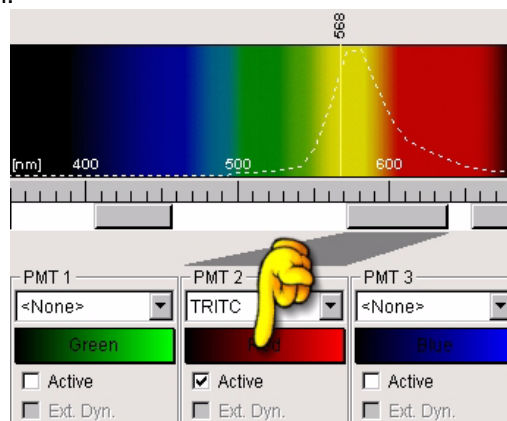
i Hinweis zur Position des Detektionsbandes

Achten Sie bei Fluoreszenzaufnahmen darauf, dass Sie das Detektionsband nicht unter der Laserlinie positionieren, da sonst Reflektionslicht mit aufgenommen wird. Der Abstand von Detektionsband zur Laserlinie sollte im blauen Spektralbereich (Anregungslinie 488 nm) mindestens 5 nm betragen, im grünen Spektralbereich (Anregungslinie 543 nm) 10 nm und im roten Spektralbereich (Anregung 633 nm) 15 nm.

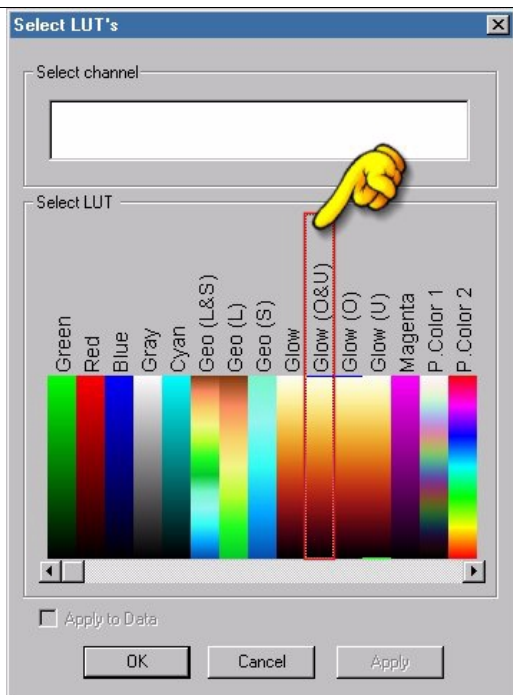




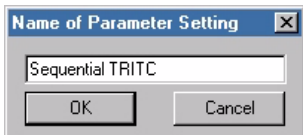


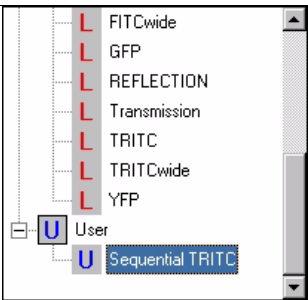

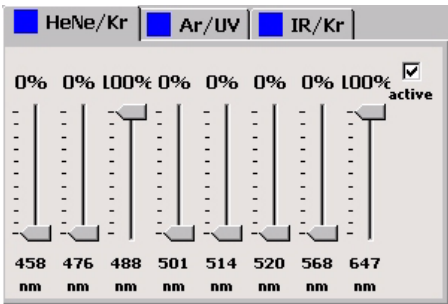
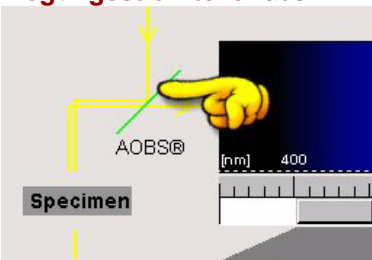
► Doppelklicken Sie auf den Schieberegler des ausgewählten Detektionskanals.

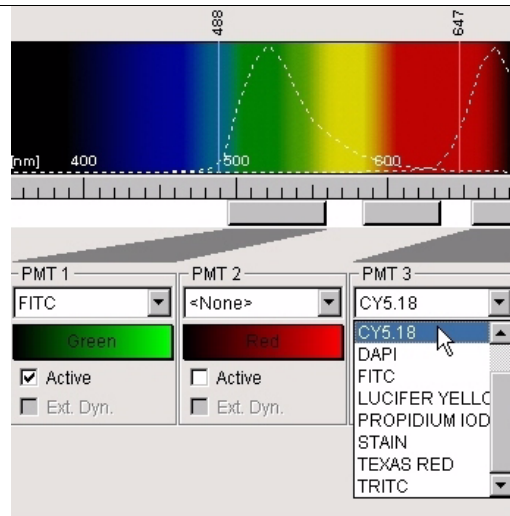
► Im Dialogfenster «Range Properties» geben Sie je eine Wellenlänge für Anfang und Ende des Detektionsbandes ein.



► Klicken Sie auf das Symbol der Farbzordnungstabelle.

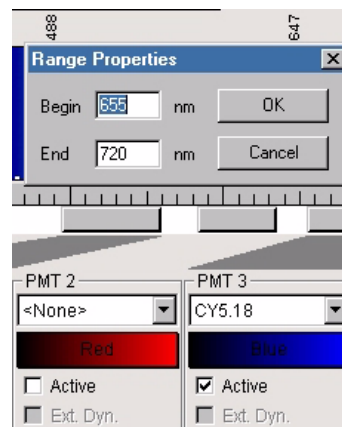
	 <p>► Klicken Sie auf eine Farbzuoordnungstabelle und auf «OK».</p> <p>Bei der ersten Bildaufnahme empfiehlt es sich, mit der Farbzuoordnungstabelle «Glow(O&U)» zu arbeiten.</p> <p> Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen</p>
<p>5</p>	<p>Um die Bildqualität während der Bildaufnahme zu optimieren, starten Sie mit der Taste «Continuous» die Bildaufnahme im Endlosscan.</p>  <p>► Stellen Sie die Fokusebene (Z-Position), die Detektoren und das Detektionspinhole ein. Lesen Sie dazu die <u>Schritte 7 bis 15</u> im Kapitel «Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen».</p> <p> Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen</p>
<p>6</p>	<p>Klicken Sie im Dialogfenster «Beam Path Setting» auf die Schaltfläche «Save» um die Einstellungen der ersten Aufnahmemethode als Aufnahmeparametersatz abzuspeichern.</p>   <p>► Geben Sie dem Aufnahmeparametersatz einen Namen und klicken Sie auf OK.</p>

	 <p>Der neu definierte Aufnahmeparametersatz erscheint im Listenfeld unter «U».</p>  <p>Wie man benutzerdefinierte Aufnahmeparametersätze (IPS) erzeugt</p>
<p>7</p>	<p>Jetzt werden die Aufnahmeparameter für die <u>zweite Aufnahmemethode</u> eingestellt und als Aufnahmeparametersatz abgespeichert. Wählen Sie die Anregungswellenlänge aus und stellen Sie die Intensität der Laserlinie ein.</p>  <p>► Ziehen Sie den Schieberegler oder doppelklicken Sie auf den Zahlenwert und geben Sie einen Wert für die Laserintensität ein.</p>
<p>8</p>	<p>Wählen Sie einen geeigneten Anregungsstrahlteiler aus.</p>  <p>► Die detaillierte Beschreibung der zur Verfügung stehenden Strahlteiler finden Sie in Schritt 3.</p>
<p>9</p>	<p>Wählen Sie einen Detektionskanal «PMT» und stellen Sie den verwendeten Fluoreszenzfarbstoff und die Detektionsbandbreite ein.</p>



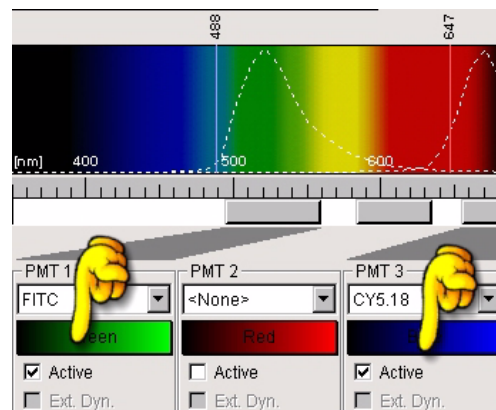
► Klicken Sie auf die Listenfelder der Detektionskanäle, zum Beispiel «PMT1» und «PMT3» und wählen Sie jeweils einen Fluoreszenzfarbstoff, zum Beispiel «FITC» und «CY5» aus. Die Emissionskurven der Fluoreszenzfarbstoffe werden im Spektrum eingeblendet.

► Positionieren Sie die Schieberegler unter den jeweiligen Emissionskurven.

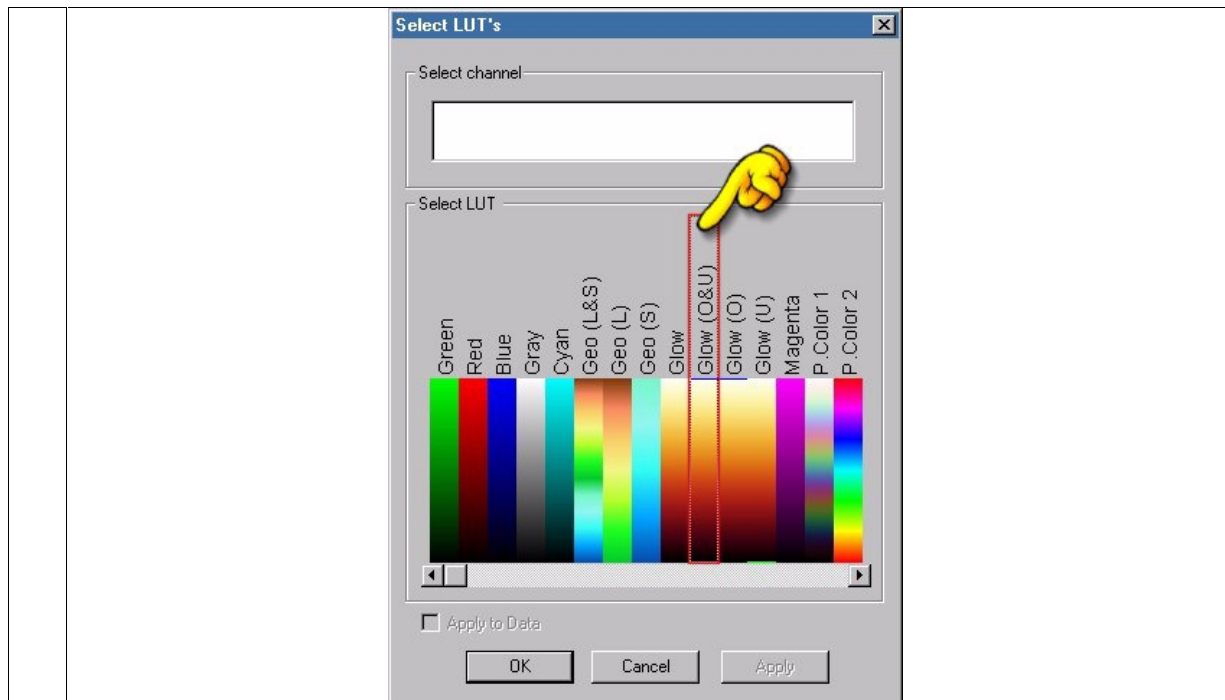


► Doppelklicken Sie auf den Schieberegler des ausgewählten Detektionskanals.

► Im Dialogfenster «Range Properties» geben Sie je einen Wert für Anfang und Ende des Detektionsbandes ein.



► Klicken Sie jeweils auf das Symbol der Farbzueordnungstabelle.



► Klicken Sie auf eine Farbzordnungstabelle und auf «OK».

Bei der ersten Bildaufnahme empfiehlt es sich, mit der Farbzordnungstabelle «Glow(O&U)» zu arbeiten.

- 10** Um die Bildqualität während der Bildaufnahme zu optimieren, starten Sie mit der Taste «**Continuous**» die Bildaufnahme im Endlosscan.

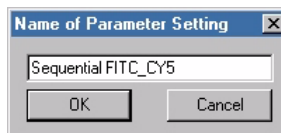


► Stellen Sie die Fokusebene (Z-Position), die Detektoren und das Detektionspinhole ein. Lesen Sie dazu die Schritte 7 bis 15 im Kapitel «Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen»

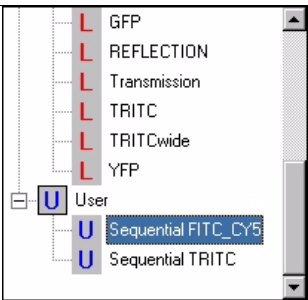


Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen

- 11** Klicken Sie im Dialogfenster «Beam Path Setting» auf die Schaltfläche «**Save**» um die Einstellungen der zweiten Aufnahmemethode als Aufnahmeparametersatz abzuspeichern.

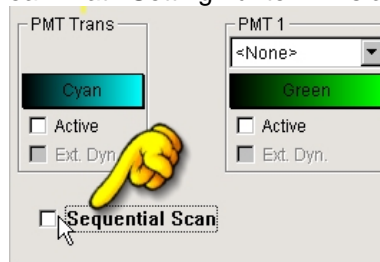


► Geben Sie dem Aufnahmeparametersatz einen Namen und klicken Sie auf OK.



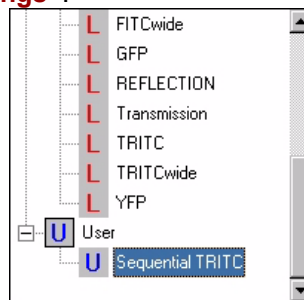
Der neu definierte Aufnahmeparametersatz erscheint im Listenfeld unter «U».

12 Klicken Sie im Dialogfenster «Beam Path Setting» unten links auf «**Sequential Scan**».

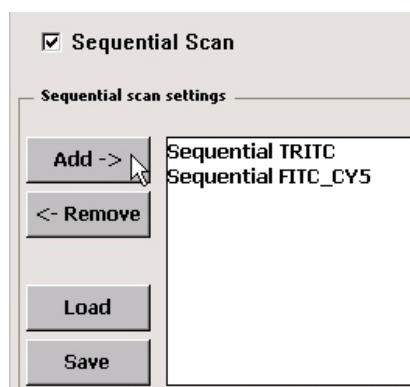


Die für die sequentielle Bildaufnahme benötigten Dialog- elemente werden geöffnet.

13 Kopieren Sie im Dialogfenster «Beam Path Setting» die Aufnahmeparametersätze in das Listenfeld «**Sequential scan settings**».



▶ Markieren Sie den Aufnahmeparametersatz im Listenfeld oben rechts im Dialogfenster.



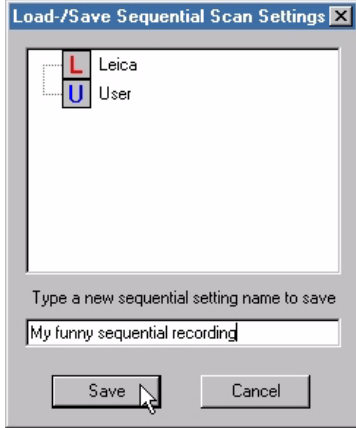
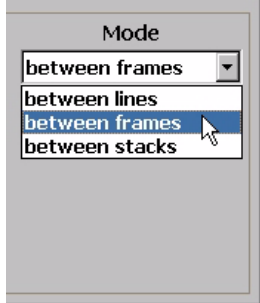
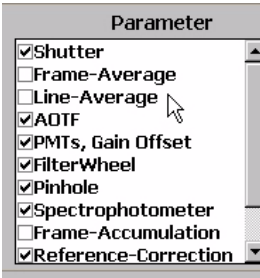
▶ Klicken Sie dann auf die Schaltfläche «Add» unten links im Dialogfenster.

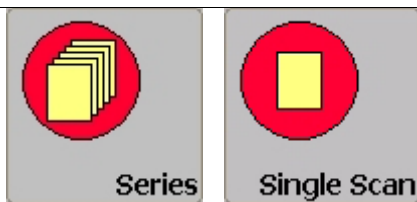
oder

▶ Ziehen und verschieben Sie den Aufnahmeparametersatz (drag and drop), indem Sie ihn mit gedrückter linker Maustaste in das Listenfeld «Sequential scan settings» ziehen.

▶ Klicken Sie auf die Schaltfläche «Remove», um den Aufnahmeparametersatz wieder zu löschen.

▶ Klicken Sie auf die Schaltfläche «Save», um die Aufnahmeparametersätze als eine sequentielle Aufnahme- methode zu speichern.

	 <p>► Mit der Schaltfläche «Load» kann dieser Methode später wieder geladen werden.</p>
<p>14</p>	<p>Legen Sie fest, wann zwischen den sequentiellen Methoden umgeschaltet wird, indem Sie im Listenfeld «Mode» einen der drei sequentiellen Modi auswählen.</p>  <p>► Wählen Sie «between lines», wenn nach der Aufnahme einer Linie die Aufnahmemethode gewechselt werden soll. ► Wählen Sie «between frames», wenn nach der Aufnahme eines Einzelbildes die Aufnahmemethode gewechselt werden soll. ► Wählen Sie «between stacks», wenn nach der Aufnahme eines Bildstapels die Aufnahmemethode gewechselt werden soll.</p>
<p>15</p>	<p>Überprüfen Sie im Listenfeld «Parameter» die Parameter, die für die Aufnahme aller sequentiellen Aufnahmemethoden verwendet werden sollen.</p>  <p>► Klicken Sie das Kontrollkästchen des gewünschten Parameters an.</p>
<p>16</p>	<p>Stellen Sie nun alle anderen Aufnahmeparameter ein, die sich je nach Art der Aufnahme – Raumbildserie, Zeitbildserie oder Spektralbildserie – unterscheiden.</p>
<p>17</p>	<p>Starten Sie mit der Taste «Series» oder «Single Scan» die sequentielle Bildaufnahme.</p>



► Haben Sie den sequentiellen Modus «between lines» gewählt, können Sie mit der Taste «Continuous» auch den Endlos-Scan starten. Der Endlos-Scan Modus hat den Vorteil, dass viele Aufnahmeparameter während der Bildaufnahme verändert werden können.



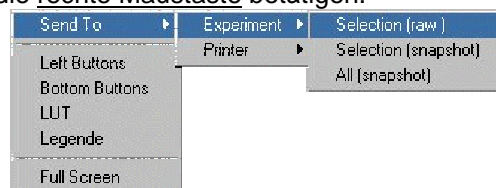
► Klicken Sie auf die Taste «Gallery», um bereits während der Bildaufnahme die einzelnen Aufnahmen im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen.



18 Sie können ein **Bild eines Detektionskanals** getrennt als neuen Datensatz im aktiven Experiment anlegen.

► Klicken Sie auf das Bild des gewünschten Detektionskanals.

► Halten Sie den Mauszeiger über das Ansichtsfenster Viewer und öffnen Sie das Kontextmenü, indem Sie die rechte Maustaste betätigen.



► Wählen Sie «Selection (raw)», um die Bilddaten des markierten Ausschnitts als neue Datei anzulegen.

► Wählen Sie «Selection (snapshot)», um eine Bildschirmkopie des markierten Ausschnitts als neue Datei anzulegen.

► Wählen Sie «All (snapshot)», um eine Bildschirmkopie des Gesamtbildes als neue Datei anzulegen.

Die gespeicherten Dateien befinden sich im Ansichtsfenster «Experiment Overview», wo Ihnen im Kontextmenü folgende Befehle zur Verfügung stehen:



► Markieren Sie eine Datei und öffnen Sie das Kontextmenü, indem Sie die rechte Maustaste betätigen.

► Wählen Sie «Activate», um die Bilddaten der Datei im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen.


► Wählen Sie «New Window», um die aktuelle Aufnahme in einem zweiten Ansichtsfenster zu öffnen. Sie können so dasselbe Bild zum Beispiel mit einer anderen Farbzueordnungstabelle

anzeigen lassen.


- ▶ Wählen Sie «Delete», um die Datei zu löschen.
- ▶ Wählen Sie «Rename», um der Datei einen neuen Namen zu geben.
- ▶ Wählen Sie «Export», um eine Aufnahme im Dateiformat *.avi zu exportieren.
- ▶ Wählen Sie «Browse Images», um alle Aufnahmen eines Experiments als Miniaturbilder auf der Bedienoberfläche anzuzeigen.
- ▶ Wählen Sie «Properties», um in einem Dialogfenster eine Kurzbeschreibung der Aufnahme einzugeben.
- ▶ Sie können Dateien von einem Experiment in das andere ziehen und verschieben (drag and drop), indem Sie die Datei mit gedrückter linker Maustaste auf den Ordner des gewünschten Experiments ziehen.

Bildaufnahmen von Auswertungsbereichen (ROI-Scan)

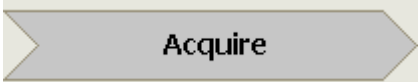

- 1** Zuerst werden alle Aufnahmeparameter für die Aufnahme des Gesamtbildes optimiert. Um dies während der Bildaufnahme zu tun, starten Sie mit der Taste « **Continuous** » die Bildaufnahme im Endlosscan.



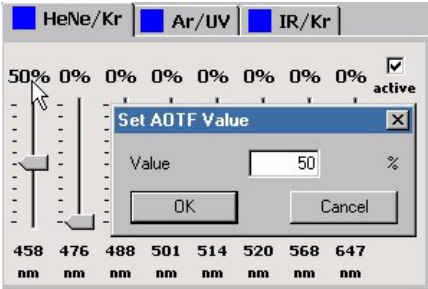
▶ Stellen Sie die Fokusebene (Z-Position), die Detektoren und das Detektionsspinhole ein. Lesen Sie dazu die Schritte 7 bis 15 im Kapitel «Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen»




Aufnahmeparameter für die erste Bildaufnahme einstellen
- 2** Klicken Sie auf das Pfeilsymbol « **Acquire** » und öffnen Sie mit der Taste «Beam» das Dialogfenster «Beam Path Setting».


▶ Wählen Sie für den Bildhintergrund (Gesamtbild) die Anregungswellenlänge aus und stellen Sie die Intensität der Laserlinie ein.



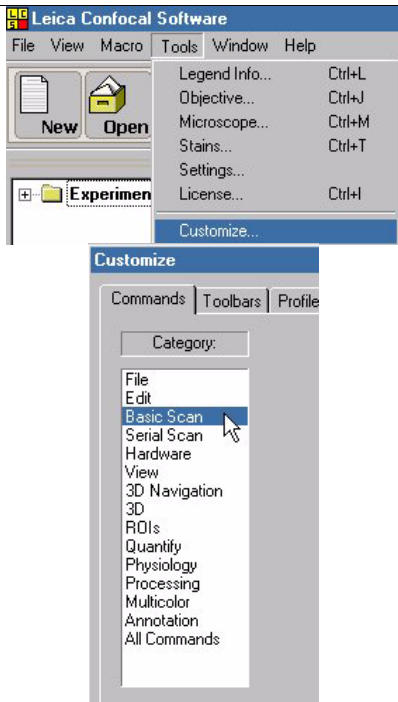
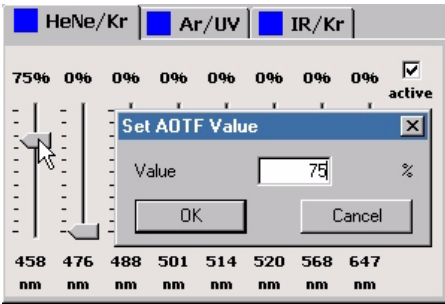


▶ Ziehen Sie den Schieberegler oder doppelklicken Sie auf den Zahlenwert und geben Sie einen Wert für die Laserintensität ein
- 3** Klicken Sie auf die Taste « **ROI** » um die Lasereinstellung für den Bildhintergrund zu speichern.

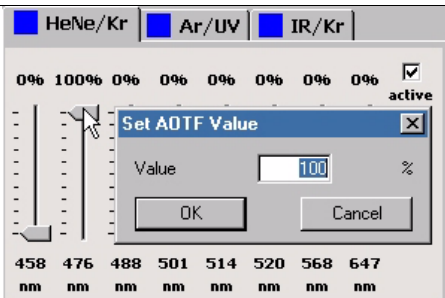

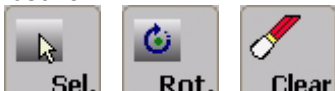



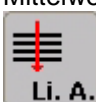


Das Betätigen dieser Taste aktiviert automatisch die Tasten, die Sie in den nächsten Schritten benötigen werden:



▶ Sollte die Taste «ROI» in der Bedienoberfläche unter der Kategorie «Acquire» nicht zu finden sein, wählen Sie Tools\ Customize\ Commands\ Category Basic Scan.

	 <p>► Klicken Sie auf die Taste «ROI» und ziehen Sie sie mit gedrückter linker Maustaste auf die Bedienoberfläche.</p>
<p>4</p>	<p>Wählen Sie für den im nächsten Schritt zu zeichnenden Auswertungsbereich (ROI) die Anregungswellenlänge aus und stellen Sie die Intensität der Laserlinie ein.</p>  <p>► Ziehen Sie den Schieberegler oder doppelklicken Sie auf den Zahlenwert und geben Sie einen Wert für die Laserintensität ein.</p>
<p>5</p>	<p>Um den ersten Auswertungsbereich in das Gesamtbild zu zeichnen, klicken Sie auf das Pfeilsymbol « Quantify » und dann zum Beispiel auf die Taste «Wizard» und die Taste «Polygon».</p>  <p>► Doppelklicken Sie im Bild auf eine Struktur, die als Auswertungsbereich definiert werden soll. Die Konturen der Struktur werden automatisch als Auswertungsbereich markiert.</p> <p>► Mit den Tasten «Select» und «Rotate», können Sie die Auswertungsbereiche verschieben, drehen und ihre Größe ändern, mit der Taste «Clear» können Sie alle Auswertungsbereiche löschen.</p> 
<p>6</p>	<p>Wählen Sie für einen zweiten Auswertungsbereich die Anregungswellenlänge aus und stellen Sie die Intensität der Laserlinie ein</p>

	 <p>▶ Ziehen Sie den Schieberegler oder doppelklicken Sie auf den Zahlenwert und geben Sie einen Wert für die Laserintensität ein.</p>
<p>7</p>	<p>Um den zweiten Auswertungsbereich in das Gesamtbild zu zeichnen, klicken Sie auf das Pfeilsymbol « Quantify » und dann zum Beispiel auf die Taste «Ellipse».</p>  <p>▶ Deaktivieren Sie die Taste «Wizard», wenn Sie die Auswertungsbereiche freihand in das Bild zeichnen wollen.</p> <p>▶ Mit den Tasten «Select» und «Rotate», können Sie die Auswertungsbereiche verschieben, drehen und ihre Größe ändern, mit der Taste «Clear» können Sie alle Auswertungsbereiche löschen.</p> 
<p>8</p>	<p>Wiederholen Sie diese in den Schritten 4 bis 7 beschriebene Prozedur für jeden weiteren Auswertungsbereich, den Sie im Bild definieren wollen.</p>
<p>9</p>	<p>Klicken Sie dann auf die Taste « Configuration » um eine Übersicht über die definierten Auswertungsbereiche und zugeordneten Laserlinien zu erhalten.</p>  <p>▶ Hier können Sie gegebenenfalls noch einmal die Zuordnung von Laserlinie und Auswertungsbereichen ändern.</p>
<p>10</p>	<p>Starten Sie mit der Taste « Series » die Bildserie.</p>  <p>▶ Um das Signal/ Rausch-Verhältnis zu verbessern, klicken Sie auf die Taste «Average». Legen Sie fest, wie oft die Aufnahme eines Bildes wiederholt werden soll. Es wird jeweils der Mittelwert angezeigt.</p>  <p>▶ Um das Signal/ Rausch-Verhältnis zu verbessern, klicken Sie auf die Taste «Line Average». Legen Sie fest, wie oft die Aufnahme einer Linie wiederholt werden soll. Es wird jeweils der Mittelwert angezeigt.</p> 

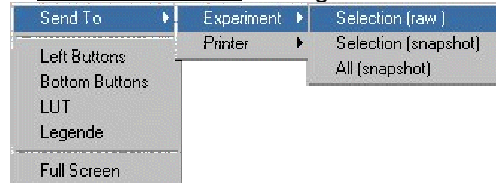
► Klicken Sie auf die Taste «Gallery», um bereits während der Bildaufnahme die einzelnen Aufnahmen im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen.



11 Sie können ein **Bild eines Detektionskanals** getrennt als neuen Datensatz im aktiven Experiment anlegen.

► Klicken Sie auf das Bild des gewünschten Detektionskanals.

► Halten Sie den Mauszeiger über das Ansichtsfenster Viewer und öffnen Sie das Kontextmenü, indem Sie die rechte Maustaste betätigen.

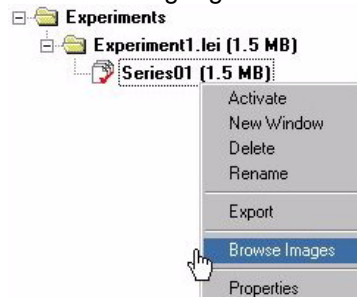


► Wählen Sie «Selection (raw)», um die Bilddaten des markierten Ausschnitts als neue Datei anzulegen.

► Wählen Sie «Selection (snapshot)», um eine Bildschirmkopie des markierten Ausschnitts als neue Datei anzulegen.

► Wählen Sie «All (snapshot)», um eine Bildschirmkopie des Gesamtbildes als neue Datei anzulegen.

Die gespeicherten Dateien befinden sich im Ansichtsfenster «Experiment Overview», wo Ihnen im Kontextmenü folgende Befehle zur Verfügung stehen:



► Markieren Sie eine Datei und öffnen Sie das Kontextmenü, indem Sie die rechte Maustaste betätigen.

► Wählen Sie «Activate», um die Bilddaten der Datei im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen.

► Wählen Sie «New Window», um die aktuelle Aufnahme in einem zweiten Ansichtsfenster zu öffnen. Sie können so dasselbe Bild zum Beispiel mit einer anderen Farbzusammenstellung anzeigen lassen.

► Wählen Sie «Delete», um die Datei zu löschen.

► Wählen Sie «Rename», um der Datei einen neuen Namen zu geben.

► Wählen Sie «Export», um eine Aufnahme im Dateiformat *.avi zu exportieren.

► Wählen Sie «Browse Images», um alle Aufnahmen eines Experiments als Miniaturbilder auf der Bedienoberfläche anzuzeigen.

► Wählen Sie «Properties», um in einem Dialogfenster eine Kurzbeschreibung der Aufnahme einzugeben.

► Sie können Dateien von einem Experiment in das andere ziehen und verschieben (drag and drop), indem Sie die Datei mit gedrückter linker Maustaste auf den Ordner des gewünschten Experiments ziehen.

Allgemeines

Einführung in die Hilfe der Leica Confocal Software

Es stehen Ihnen folgende Hilfeinstanzen zur Verfügung:

Kurzhilfe

Wenn sie den Mauszeiger eine gewisse Zeit über einer Taste der Leica Confocal Software stehen lassen, wird eine Kurzerklärung der Funktion dieser Schaltfläche angezeigt. Die Kurzerklärung (help banner) verschwindet wieder automatisch, wenn der Mauszeiger bewegt wird.

Kontextsensitive Hilfe

Wollen Sie die kontextsensitive Hilfefunktion verwenden, klicken Sie auf die Taste Help:



Die gesamte Benutzeroberfläche wird dann eingefroren und neben dem Mauszeiger wird ein Fragezeichen eingeblendet. Wenn Sie jetzt auf eine beliebige Taste klicken, wird anstelle der Schaltfunktionen, die üblicherweise durch Tastendruck ausgelöst werden, eine Erklärung zur jeweiligen Taste angezeigt. Wenn die Taste Help nicht auf ihrer Benutzeroberfläche zu finden ist:

▶	Wählen Sie im Menü Tools die Option Customize. Hier finden Sie sämtliche Tasten nach Kategorien geordnet.
▶	In der Kategorie File finden Sie die Taste Help.
▶	Klicken Sie mit der linken Maustaste auf die Taste, halten sie die Maustaste gedrückt und ziehen Sie die Taste in das von Ihnen gewünschte Fenster.

Inhalt der Onlinehilfe (Contents)

Wenn sie im Menü Help die Option Contents wählen, wird das Inhaltsverzeichnis der Onlinehilfe angezeigt. Hier können Sie nun auswählen, zu welchen Funktionen Sie Hilfe anfordern wollen.

Suchen mit Schlüsselbegriffen (Index)

Wenn sie im Menü Help die Option Index wählen, wird ein Verzeichnis mit Schlüsselbegriffen angezeigt. Wählen Sie einen Schlüsselbegriff aus. Sie springen zu den entsprechenden Inhaltsseiten, durch zweifachen Mausklick oder wenn Sie die Schaltfläche Display drücken.

Volltextsuche mit logisch verknüpften Suchbegriffen (Search)

Wenn sie im Menü Help die Option Search wählen, wird die eingebaute Volltext-Suchmaschine gestartet. In das Eingabefenster können sie einen Suchbegriff eingeben. Wenn Sie auf das rechts neben dem Eingabefenster vorhandene Dreieck klicken, werden logische Operatoren angezeigt. Wählen Sie den entsprechenden Operator aus. Geben Sie nach dem Operator den zweiten Suchbegriff ein, den Sie mit dem ersten Suchbegriff verknüpfen wollen:

Beispiele	Ergebnis
Lochblende AND Schnitte	Dieses Statement sucht Hilfethemen, in denen sowohl das Wort «Lochblende» als auch das Wort «Schnitte» vorkommt.
Lochblende OR Schnitte	Dieses Statement sucht Hilfethemen, in denen entweder das Wort «Lochblende» oder das Wort «Schnitte» oder beide vorkommen.
Lochblende NEAR Schnitte	Dieses Statement sucht Hilfethemen, in denen sich das Wort «Lochblende» und das Wort «Schnitte» in einem bestimmten Suchradius befinden. Darüberhinaus werden auch ähnlich geschriebene Begriffe gesucht.
Lochblende NOT Schnitte	Dieses Statement sucht Hilfethemen, in denen sich das Wort «Lochblende» und nicht das Wort «Schnitte» befinden.

Buchzeichen (Favorites)

Wenn Sie im Dialogfenster der Onlinehilfe das Register Favorites wählen, können sie das aktuelle Hilfethema in eine Liste aufnehmen. Über die Einträge in dieser Liste sind die ausgewählten Hilfethemen sehr schnell zugänglich.

Kontextsensitive Hilfe öffnen



Funktion

Mit der Taste Help aktivieren Sie die kontextsensitive Hilfefunktion der Onlinehilfe, mit der Sie kurze Erläuterungen zu den verschiedenen Tasten und Funktionen der Leica Confocal Software aufrufen können.

▶	Klicken Sie auf die Taste Help.
▶	Neben dem Mauszeiger wird ein Fragezeichen eingeblendet. Alle Tasten sind jetzt vorübergehend ohne Funktion.
▶	Klicken Sie mit dem Mauszeiger auf die Taste, zu der Sie nähere Informationen wünschen.
▶	Die Onlinehilfe wird geöffnet mit der Beschreibung der entsprechenden Taste.

In der Onlinehilfe können Sie mit einem Index von Schlüsselwörtern und mit einer Suchfunktion nach bestimmten Themen oder Tasten suchen. Die einzelnen Beschreibungen können ausgedruckt werden.

Sie können die Onlinehilfe auch öffnen, indem Sie im Menü Help eine der Optionen Contents, Search oder Index anklicken.

Datenaufnahmefunktionen

Strahlengang einstellen



Funktion

Mit der Taste Beam öffnen Sie das Dialogfenster Beam Path Setting, in dem Sie den Strahlengang und die Detektoren mit den dazugehörigen Farbzueordnungsstabellen für die Bildaufnahme einrichten können.

Anregungswellenlänge auswählen

Oberhalb des Spektrums im Dialogfenster befinden sich die Felder, in denen Sie die Anregungswellenlänge über einen AOTF einstellen:

▶	Klicken Sie auf das Kontrollkästchen neben der Laserbezeichnung, um den Laser zu aktivieren.
▶	Stellen Sie die Leistung der Laserlinie ein, indem Sie den Schieber der entsprechenden Skala auf den gewünschten Wert ziehen, oder
▶	Doppelklicken Sie auf den Prozentwert der Laserleistung. Es wird ein weiteres Dialogfenster geöffnet, in dem Sie den exakten Wert eintragen können.
▶	Die aktive Laserlinie wird im Spektrum als Linie eingeblendet.

Parametereinstellungen laden und speichern

Ebenfalls oberhalb des Spektrums befindet sich ein Listenfeld, in dem Sie Parametereinstellungen laden und speichern können. Für die wichtigsten Kombinationen von Fluoreszenzfarbstoffen sind werkseitig vordefinierte Parametereinstellungen verfügbar. Diese mit einem **L** (Leica) gekennzeichneten Parametereinstellungen können nur geladen aber nicht verändert werden.

Sie können die für eine spezifische Bildaufnahme vorgenommenen Einstellungen auch als benutzerdefinierte Parametereinstellung speichern und somit jederzeit mit einem Klick wieder laden:

▶	Klicken Sie auf die Schaltfläche Save.
▶	Ein Dialogfenster wird geöffnet, in dem Sie einen Namen für die Parametereinstellung eingeben.
▶	Die Parametereinstellung wird im Listenfeld unter User angelegt und ist mit einem U (User) gekennzeichnet.

Sie können die Parameter auswählen, die mit dem Befehl Save gespeichert werden sollen:

▶	Wählen Sie im Menü Tools die Option Settings.
▶	Klicken Sie im Dialogfenster Settings auf das Register Instrument Parameters.
▶	Wählen Sie die Parameter aus, indem Sie auf das entsprechende Kontrollkästchen klicken. Mit den Schaltflächen Select all und Deselect all können Sie alle Parameter auswählen oder die Wahl aller Parameter rückgängig machen.

Wenn Sie eine dieser benutzerdefinierten oder voreingestellten Parametereinstellungen anklicken und anschließend auf die rechte Maustaste klicken, stehen Ihnen in einem Kontextmenü folgende Befehle zur Verfügung:

Befehl	Funktion
Set as default setting	Die Parametereinstellung wird als Standardeinstellung beim Start der Software geladen.
Remove default	Die Markierung als Standardeinstellung wird rückgängig gemacht.

setting	
Load	Die Parametereinstellung wird geladen.
Rename (nur bei U)	Die Parametereinstellung kann umbenannt werden.
Delete (nur bei U)	Die Parametereinstellung wird gelöscht.

Anregungsstrahlteiler auswählen

Der Anregungsstrahlteiler lenkt das Anregungslicht des Lasers auf das Präparat und trennt vom Präparat zurückkommendes Fluoreszenzlicht und reflektiertes Anregungslicht.

Ist das Konfokalsystem mit einem akusto-optischen Strahlteiler AOBS (Acousto-Optical Beam Splitter) ausgerüstet, wird bei Auswahl einer oder mehrerer Laserlinien der AOBS automatisch so eingestellt, dass Fluoreszenzlicht maximal transmittiert und Reflexionslicht maximal unterdrückt wird.

 siehe Akusto-optischen Strahlteiler (AOBS) einstellen (Seite 121)

Ist das Konfokalsystem mit konventionellen Anregungsstrahlteilern ausgerüstet, muss ein geeigneter Filter für die jeweilige Anwendung ausgewählt werden. Links neben dem Spektrum befindet sich das Symbol (grüne, gekippte Linie) für den Anregungsstrahlteiler. Klicken Sie auf das Symbol und wählen Sie den gewünschten Strahlteiler aus:

▶	Neutralfilter, wie z.B. der Filter RT 30/70, werden bei Reflexionsanwendungen eingesetzt, um das Anregungslicht auf die Probe und das reflektierte Licht zum Detektionspinhole zu leiten.
▶	Dichroitische Filter, wie z.B. der Reflexionskurzpassfilter RSP 510, werden bei Fluoreszenzanwendungen eingesetzt, um Fluoreszenzlicht eines bestimmten Wellenlängenbereichs vom Anregungslicht zu trennen und zu detektieren.
▶	Doppeldichroitische Filter werden für Bildaufnahmen verwendet, bei denen das Präparat mit zwei Fluoreszenzfarbstoffen markiert und mit zwei Anregungswellenlängen angeregt wird. Mit dem Doppeldichroit DD 488/ 568 zum Beispiel, wird Anregungslicht mit der Wellenlänge 488nm und 568nm vom Detektionslicht getrennt. Je nach Systemkonfiguration sind noch Doppeldichroit des Typs DD 488/ 543 und DD 458/ 514 auswählbar.
▶	Tripeldichroitische Filter werden für Bildaufnahmen verwendet, bei denen das Präparat mit drei Fluoreszenzfarbstoffen markiert und mit drei Anregungswellenlängen angeregt wird. Mit dem Tripeldichroit TD 488/ 568/ 633 zum Beispiel, wird Anregungslicht mit der Wellenlänge 488nm, 568nm und 633nm vom Detektionslicht getrennt. Je nach Systemkonfiguration sind noch Tripeldichroit des Typs TD 488/ 568/ 647 und TD 488/ 543/ 633. auswählbar.

Detektoren und Farbzurordnungstabellen (LUT) einstellen

Unterhalb des Spektrums im Dialogfenster sind die Felder für die vier Detektoren PMT 1 bis 4 sowie für den Durchlichtdetektor PMT Trans angeordnet. Nehmen Sie folgende Einstellungen vor:

▶	Aktivieren Sie die gewünschten Detektoren, indem Sie auf das jeweilige Kontrollkästchen Active unterhalb des Symbols für die Farbzurordnungstabellen klicken. Ein Wurfshadow verbindet nun den aktivierten Detektor mit dem entsprechenden Schieber auf der Skala des Spektrums.
▶	Bestimmen Sie den Wellenlängenbereich, in dem detektiert werden soll, indem Sie die beiden Enden des Schiebers auf die gewünschten Positionen auf der Skala ziehen, oder
▶	Doppelklicken Sie auf den Schieber. Es wird ein weiteres Dialogfenster geöffnet, in dem Sie einen exakten Wert für Anfangspunkt und Endpunkt des Wellenlängenbereichs eintragen können.
▶	Für Fluoreszenzanwendungen sind für jeden Detektor Listenfelder mit den gängigen Fluoreszenzfarbstoffen angelegt. Wählen Sie den gewünschten Fluoreszenzfarbstoff aus, um seine Emissionskurve im Spektrum einzublenden.
▶	Wählen Sie eine Farbzurordnungstabelle aus, indem Sie auf das entsprechende Symbol klicken.

 siehe Farbzurordnungstabellen auswählen (Seite 166)

Akusto-optischen Strahlteiler (AOBS) einstellen (optional)



Auf dieser Seite finden Sie folgende Themen

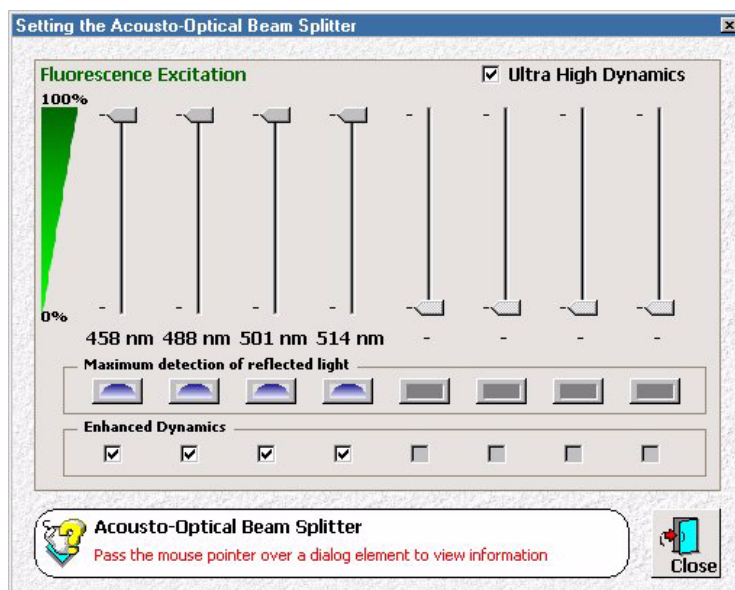
- ▼ Funktion des akusto-optischen Strahlteilers
- ▼ Verwendung des AOBS bei Fluoreszenzaufnahmen
- ▼ Verwendung des AOBS bei gemischten Reflexions-/ Fluoreszenzaufnahmen

Funktion

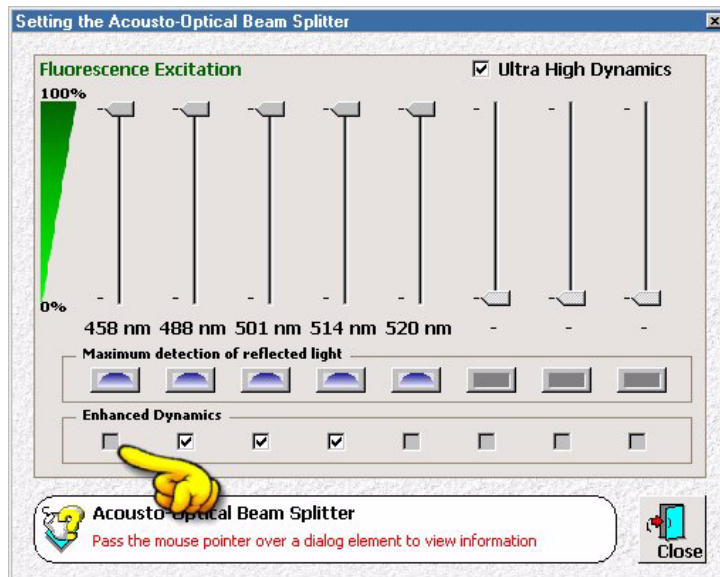
Der akusto-optische Strahlteiler (englisch: AOBS: Acousto-Optical Beam Splitter) lenkt das Anregungslicht des Lasers auf das Präparat und trennt vom Präparat zurückkommendes Fluoreszenzlicht und reflektiertes Anregungslicht. In Leica Konfokalmikroskopen ersetzt und optimiert der AOBS konventionelle Anregungsfilter wie zum Beispiel Doppeldichroite oder Tripeldichroite.

Der AOBS ist ein transparenter optischer Kristall, an den ein Ultraschallwellenfeld angelegt ist. Licht, das den optischen Kristall durchdringt, wird in Abhängigkeit seiner Wellenlänge und der Wellenlänge des Ultraschallwellenfeldes gebeugt. Durch Modulation der Ultraschallamplitude kann mit dem AOBS nicht nur eine Laserlinie selektiert, sondern auch die Lichtmenge sowie das Strahlteilverhältnis von Anregungs- und Detektionslicht für die ausgewählte Laserlinie geregelt werden. Mit dem AOBS können simultan bis zu 8 Anregungswellenlängen gleichzeitig verwendet werden.

Verwendung des AOBS bei Fluoreszenzaufnahmen

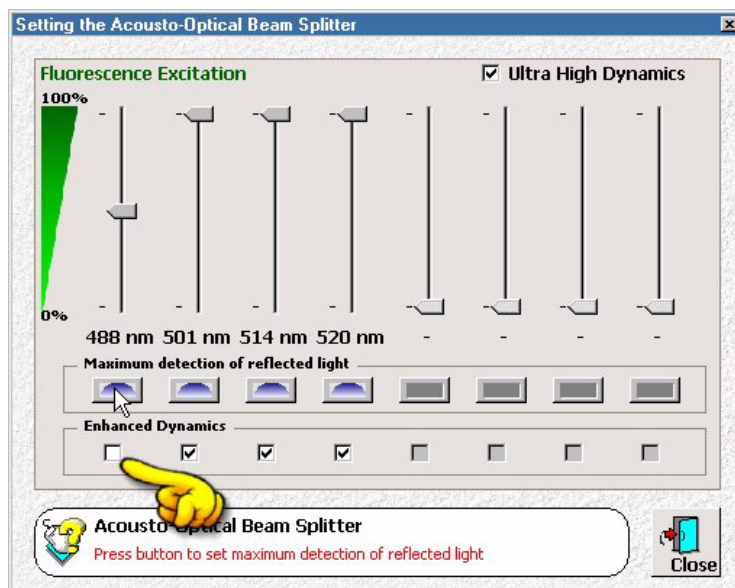


- ▶ Die Standardeinstellung ist auf Fluoreszenzaufnahmen mit bis zu 4 Anregungswellenlängen ausgerichtet. Sobald Sie im Dialogfenster Beam Path Setting mit dem Schieberegler eine Laserlinie aktivieren, wird der AOBS automatisch so eingestellt, dass Anregungslicht maximal zum Präparat abgelenkt wird. Für Fluoreszenzlicht ist der AOBS transparent, unabhängig vom Schieberegler. Der Schieberegler im Dialogfenster AOBS steht auf 100%.
📖 siehe Strahlengang einstellen (Seite 119)
- ▶ Als Standardeinstellung sind die beiden Kontrollkästchen Enhanced Dynamics und Ultra-High Dynamics aktiviert. Mit dieser doppelten Dynamikeinstellung wird sichergestellt, dass Reflexionslicht, das den Strahlengang in umgekehrter Richtung zurückläuft, aus der optischen Achse entfernt und somit nicht detektiert wird.



- ▶ Werden mehr als 4 Anregungswellenlängen verwendet, ist die doppelte Dynamikeinstellung nicht mehr für alle Laserlinien möglich. In diesem Fall wird die verbesserte Dynamik (Kontrollkästchen Enhanced Dynamics) für die kurzwelligste Laserlinie automatisch ausgeschaltet. Mit jeder weiteren zusätzlichen Anregungswellenlänge wird die verbesserte Dynamik für eine weitere Laserlinie deaktiviert.

Verwendung des AOBS bei gemischten Fluoreszenz-/ Reflexionsaufnahmen



- ▶ Wollen Sie auch Reflexionslicht aufnehmen, genügt es in der Regel, den Anteil des Reflexionslichts mit dem Schieberegler zu variieren.
- ▶ Ist dies nicht ausreichend, klicken Sie auf die Schaltfläche Maximum detection of reflected light. Der entsprechende Schieberegler wird automatisch auf 50% eingestellt und die verbesserte Dynamik (Kontrollkästchen Enhanced Dynamics) ausgeschaltet.
- ▶ Bei reinen Reflexionslichtaufnahmen kann durch zusätzliches Deaktivieren des Kontrollkästchens Ultra-High Dynamics der Anteil des Reflexionslichts für alle Laserlinien auf ein Maximum erhöht werden.

Objektiv auswählen



Funktion

Mit der Taste Objective öffnen Sie eine Liste von Objektiven, aus der Sie das für Ihre Bildaufnahme geeignete Objektiv auswählen können. In dieser Liste werden nur die Objektive angezeigt, die zuvor einem der maximal sieben Einschraubplätzen des Objektivrevolvers zugeordnet wurden. Diese Zuordnung können Sie wie folgt vornehmen:

▶	Wählen Sie im Menü Tools die Option Objective. Es wird ein Dialogfenster geöffnet mit einer umfangreichen Liste von Objektiven und den symbolisch dargestellten Einschraubplätzen (Slots) des Objektivrevolvers.
▶	Suchen Sie in dieser Liste das von Ihnen verwendete Objektiv und klicken Sie es an. Halten Sie die linke Maustaste gedrückt und ziehen Sie das Objektiv auf das Symbol des Slots, in welchem das Objektiv eingeschraubt ist.
▶	Die Zuordnung wird in der Software gespeichert und das Objektiv erscheint in der Auswahlliste, die mit der Taste Objective geöffnet werden kann.
▶	Wiederholen Sie diesen Vorgang für alle Objektive, die sie im Objektivrevolver eingesetzt haben.

Mit den Schaltflächen Add, Remove und Edit können Sie in diesem Dialogfenster neue Objektive eintragen oder löschen sowie Objektivbezeichnungen editieren.



Bei den Mikroskopen des Typs DM RXA, DM RXE DM IRBE und DM IRBE2 wird der Objektivrevolver von der Software angesteuert, so dass bei der Auswahl eines Objektivs über die Taste oder das Dialogfenster Objective das Objektiv automatisch in den Strahlengang gedreht wird. Bei allen anderen Mikroskoptypen muss das Objektiv nicht nur in der Software eingestellt, sondern zusätzlich noch manuell in den Strahlengang gebracht werden.

Zusätzliche Information

Bei der Wahl des richtigen Objektivs für eine bestimmte Anwendung ist neben der Korrektionsklasse des Objektivs (Achromate, Achromate, Fluoritobjektive und Planobjektive) vor allem der Vergrößerungsfaktor und die numerische Apertur entscheidend. Die numerische Apertur bestimmt das Auflösungsvermögen eines Objektivs und wird aus dem Öffnungswinkel des vom Objektiv aufgenommenen Lichtkegels und dem Brechungsindex des Mediums zwischen Objektivlinse und Präparat errechnet: $NA = n \cdot \sin \alpha$

Stärker vergrößernde Objektive haben im allgemeinen höhere numerische Aperturen, aber auch kleinere Eintrittslinsen und können deshalb Licht nur von einem relativ kleineren Scanfeld aufnehmen. Objektive mit hoher Apertur ermöglichen zwar eine hohe Auflösung, haben jedoch den Nachteil, dass sie nur einen geringen freien Arbeitsabstand zulassen. Die folgende Tabelle veranschaulicht diese Zusammenhänge:

Objektiv	Auflösung (xy)	Auflösung Luft (z)	Auflösung Wasser (z)	Auflösung Öl (z)	Scanfeldgröße (xy)
HC PL FLUOTAR 5x 0.15	1301	19410	25879	29559	3000
HC PL FLUOTAR 10x 0.30	651	4768	6407	7335	1500
N PLAN 20x 0.40	488	2630	3566	4093	750
N PLAN 50x 0.75	260	649	948	1108	300

PL APO 100x 1.40	139	319	209	236	150
	Werte in nm bei Wellenlänge λ 488 nm		Werte in μm		

Typische Anwendungen

Trockenobjektive werden typischerweise in der Materialkunde für die Untersuchung von Oberflächenstrukturen verwendet. Für die Bildaufnahme von Schichtstrukturen, bei denen Materialschichten mit unterschiedlichen Brechungsindizes aufeinandertreffen, sind Immersionsobjektive am besten geeignet. Bei biologischen Präparaten hängt es vom Präparat und seinem Einbettmedium ab, ob man sich für ein Ölimmersionsobjektiv oder Wasserimmersionsobjektiv entscheidet. Die beste Auflösung erhält man, wenn die Brechungsindizes von Einbettmedium bzw. Präparat und Objektivmedium aufeinander abgestimmt sind.

Detektoren einstellen



Funktion

Mit der Taste Signal öffnen Sie ein Dialogfenster, in dem Sie die Detektoren so einstellen können, dass der gesamte Wertebereich der detektierten Intensitäten einer Farbuordnungstabelle zugeordnet und im Bild dargestellt wird. Zu diesem Zweck kann für jeden Detektor ein Gain Wert und ein Offset Wert eingestellt werden. Mit dem Gain Wert wird die Verstärkung des detektierten Signals verändert und damit die Bildhelligkeit und der Bildkontrast. Mit dem Offset Wert bestimmen Sie einen Schwellenwert. Nur Signale oberhalb dieses Schwellenwertes werden detektiert und im Bild angezeigt.

Sie haben zwei Möglichkeiten, um den Gain Wert und den Offset Wert einzustellen:

▶	Bewegen Sie mit dem Mauszeiger den Schieber auf der Skala. Der entsprechende Wert wird unterhalb der jeweiligen Skala angezeigt.
▶	Doppelklicken Sie auf den Zahlenwert, der unterhalb der Skala angezeigt wird. Es wird ein weiteres Dialogfenster geöffnet, in dem Sie den exakten Wert eintragen können.

Für die Optimierung von Gain Wert und Offset Wert eignen sich am besten die Farbuordnungstabellen *Glow Over*, *Glow Under* und *Glow Over and Under*.

☞ siehe Farbuordnungstabellen auswählen (Seite 166)

Sie können den Gain Wert und den Offset Wert der Detektoren auch mit den entsprechenden Drehknöpfen der Bedienkonsole einstellen.

☞ siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern (Seite 240)



Ein Detektor ist erst aktiv, wenn das entsprechende Kontrollkästchen Active im Dialogfenster Signal oder im Dialogfenster Beam Path Setting angeklickt ist.

Elektronischer Zoom



Funktion

In der Konfokalmikroskopie bestimmt zum einen das Objektiv und zum anderen der elektronische Zoom die Vergrößerung eines Bildes. Das Objektiv erzeugt ein Zwischenbild, dessen Vergrößerung vom Vergrößerungsfaktor des Objektivs abhängt. Eine zusätzliche Vergrößerung kann mit dem elektronischen Zoom erreicht werden. Bei einem Zoomfaktor 1 wird die maximale Scanfeldgröße mit einer bestimmten Anzahl von Punkten gescannt. Stellt man nun den Zoomfaktor 2 ein, wird mit derselben Anzahl von Punkten ein Scanfeld mit der halben Seitenlänge des maximalen Scanfelds (1/4 des ursprünglichen Scanfelds) abgetastet. Man erhält also eine stärkere Vergrößerung und damit auch eine verbesserte Auflösung des Bildes, weil ein kleineres Scanfeld mit derselben Frequenz abgetastet wird und somit eine höhere Informationsdichte erzielt wird.

Im Dialogfenster, das mit der Taste Zoom geöffnet wird, können Sie einen der voreingestellten Zoomfaktoren auswählen. Wenn Sie auf die Schaltfläche Others klicken, können Sie einen anderen Zoomfaktor auf zwei Arten einstellen:

▶	Bewegen Sie mit dem Mauszeiger den Schieber der Skala. Der entsprechende Wert wird in der Mitte des Dialogfensters angezeigt.
▶	Doppelklicken Sie auf den fett dargestellten Zahlenwert in der Mitte des Dialogfensters. Es wird ein weiteres Dialogfenster geöffnet, in dem Sie den exakten Wert eintragen können.

Sie können den Zoomfaktor auch mit dem entsprechenden Drehknopf der Bedienkonsole einstellen.

📖 siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern (Seite 240)

Zusätzliche Information

Es können zwar Zoomfaktoren von 1 bis 32 eingestellt werden. Dennoch kann mit dem elektronischen Zoom nicht unbegrenzt sinnvoll vergrößert werden. Die Grenze ist mit dem kleinsten optisch noch auflösbaren Abstand erreicht, der vom Auflösungsvermögen des Objektivs bestimmt wird. Dieser optisch noch auflösbare Abstand wird, gemäß dem Nyquist Theorem, dann ohne Informationsverlust abgebildet, wenn er mit etwa 2 bis 3 Rasterpunkten abgetastet wird. Wird diese Abtastfrequenz bei einem relativ hohen Zoomfaktor und einem gegebenen Scanformat überschritten, ist eine weitere Vergrößerung nicht mehr sinnvoll, weil keine weiteren optischen Details mehr aufgelöst werden können (Leervergrößerung).

📖 siehe Scanformat auswählen (Seite 128)

📖 siehe Objektiv auswählen (Seite 123)



Bei bleichempfindlichen Präparaten ist es ratsam, nur in eingeschränktem Maße mit dem elektronischen Zoom zu arbeiten. Da Sie bei hohen Zoomfaktoren einen Ausschnitt des Präparates mit einer relativ höheren Abtastfrequenz aufnehmen, ist das Präparat einer stärkeren Lichteinwirkung ausgesetzt. Dies kann zur photochemischen Zerstörung des Präparates führen (optisches Bleichen).

Optimale Zoomfaktoren

Die folgende Tabelle zeigt, bei welchen Zoomfaktoren (rot markiert) - in Abhängigkeit einer durch das

Objektiv bestimmten Scanfeldgröße und eines gewählten Scanformats - das Präparat ohne Informationsverlust abgetastet wird:

Objektiv			Scanformat	Zoomfaktor	Scanfeldgröße (µm)	Abtastfrequenz (nm)	Auflösung/ Abtastfrequenz
Vergrößerung	Numerische Apertur	Auflösung bei λ 488 nm					
20	0,6	325	1024 x 1024	1	750	732	0,4
				2	375	366	0,8
				4	187	183	1,8
				6	125	122	2,7
			512 x 512	1	750	1465	0,2
				2	375	732	0,4
				4	187	365	0,9
				8	94	183	1,8
				10	75	146	2,2
			200 x 200	1	750	3750	0,1
				2	375	1875	0,2
				4	187	935	0,3
				8	94	470	0,7
				16	47	235	1,4
				32	23	115	2,8
40	1,25	156	1024 x 1024	1	375	366	0,4
				2	187	183	0,8
				4	94	92	1,7
				6	62	60	2,6
			512 x 512	1	375	732	0,2
				2	187	365	0,4
				4	94	183	0,8
				8	47	92	1,7
				10	37	72	2,2
			200 x 200	1	375	1875	0,1
				2	187	935	0,2
				4	94	470	0,3
				8	47	235	0,7
				16	23	115	1,3
				32	12	60	2,6
100	1,4	139	1024 x 1024	1	150	146	0,9
				2	75	73	1,9
				3	50	49	2,8
			512 x 512	1	150	293	0,5
				2	75	146	0,9
				4	37	72	1,9
				6	25	49	2,8
			200 x 200	1	150	750	0,2
				2	75	375	0,4
				4	37	185	0,7
				8	18	90	1,5
				12	12	60	2,3



Die Leica Confocal Software verfügt über drei zu unterscheidende Zoom Funktionen: den elektronischen Zoom, den 3D Zoom und den graphischen Zoom.

siehe 3D Ansicht zoomen (Seite 186)

siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Display (Seite 157)

Vergrößerte Aufnahme eines Bildausschnitts



Funktion

Die Funktion Zoom In ermöglicht die vergrößerte Aufnahme eines frei wählbaren, quadratischen Ausschnitts eines Präparates.

▶	Klicken Sie auf die Taste Zoom In. Gleichzeitig wird automatisch die Taste Rectangle aktiv. 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) als Rechteck definieren (Seite 230)
▶	Legen Sie den zu vergrößernden Ausschnitt fest, indem Sie mit der Taste Rectangle einen rechteckigen Auswertungsbereich (Region of interest oder ROI) in das Bild zeichnen. 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) markieren und verschieben (Seite 231)
▶	Mit der Taste Select kann der Ausschnitt auf dem Bild verschoben werden.
▶	Starten Sie die Bildaufnahme mit der Taste Continuous Scan, Series Scan oder Single Scan.



Die Software passt den frei gewählten rechteckigen Ausschnitt automatisch an die tatsächlich vom Scanner realisierbare quadratische Form an. Die gestrichelte Linie zeigt den tatsächlichen Bildausschnitt an.

Zusätzliche Information

Die vergrößernde Aufnahme eines Bildausschnitts wird nur solange zusätzliche Detailinformationen liefern wie der Abstand der Rasterpunkte größer bleibt als die Hälfte des optischen Auflösungsvermögens. Das Auflösungsvermögen wiederum hängt von dem verwendeten Objektiv, dem eingestellten Scanformat und der verwendeten Lichtwellenlänge ab (Leervergrößerung).

Typische Anwendungen

Alle Anwendungen, bei denen es um die optische Auflösung sehr kleiner Strukturen geht und auf ein Übersichtsbild verzichtet werden kann. Bei der Aufnahme von solchen Präparaten sollte darauf geachtet werden, dass auch ein Objektiv mit entsprechend hohem optischem Auflösungsvermögen zur Bildaufnahme verwendet wird.

Detektionslochblende einstellen



Funktion

Wenn Sie auf die Taste Pinhole klicken, wird ein Dialogfenster geöffnet, in dem Sie den Öffnungsdurchmesser der Detektionslochblende (des Detektionspinholes) einstellen können. Im Listenfeld oben rechts im Dialogfenster wählen Sie die Einheit aus, in welcher der Durchmesser angezeigt werden soll. Sie können zwischen μm , Airy-Einheiten oder Digitalwerten wählen. Sie haben zwei Möglichkeiten, um einen Wert für den Durchmesser der Lochblende einzugeben:

▶	Bewegen Sie mit dem Mauszeiger den Schieber auf der Skala, die links im Dialogfenster eingeblendet ist. Der entsprechende Wert wird in der Mitte des Dialogfensters angezeigt.
▶	Doppelklicken Sie auf den fett dargestellten Zahlenwert in der Mitte des Dialogfensters. Es wird ein weiteres Dialogfenster geöffnet, in dem Sie den exakten Wert eintragen können.

Der Öffnungsdurchmesser der Detektionslochblende muss immer auf das aktuell verwendete Objektiv eingestellt werden. Wenn Sie auf die Schaltfläche Airy 1 klicken, wird die Detektionslochblende automatisch in Abhängigkeit des verwendeten Objektivs auf den Optimalwert 1 Airy Einheit eingestellt.

Neben der numerischen Apertur des Objektivs und der Wellenlänge des Lichtes bestimmt auch die Detektionslochblende die Dicke der optischen Schnitte.

Zusätzliche Information

Der Durchmesser der Lochblende ist optimal eingestellt, wenn er mit dem Durchmesser der Airy Scheibe übereinstimmt. Als Airy Scheibe bezeichnet man den inneren, hellen Kreis des Beugungsbildes einer punktförmigen Lichtquelle. Der Durchmesser dieser Airy Scheibe ist wiederum von mehreren optischen Parametern abhängig und lässt sich für Leica Konfokalsysteme wie folgt beschreiben:

$$d_{\text{Airy}} = \frac{1,22 \cdot \lambda}{NA} \cdot M \cdot 3,5$$

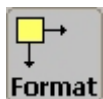
Zur Errechnung des Durchmessers der Airy Scheibe benötigt man also die Anregungswellenlänge λ (bei mehreren Wellenlängen, sollte man mit einem gemittelten Wert rechnen), die numerische Apertur NA und den Vergrößerungsfaktor M des Objektivs. Der Faktor 3,6 steht für die Vergrößerung weiterer optischer Komponenten im Leica Konfokalmikroskop.

Ist die Lochblende auf die Airy Scheibe eingestellt, wird Licht von ausserhalb der Fokusebene unterdrückt und das Signal/ Rausch-Verhältnis ist hoch. Unter diesen Bedingungen können optische Schnitte von minimaler Dicke aufgenommen werden. Je mehr die Lochblende geöffnet wird, desto mehr Licht erreicht den Detektor. Das Bild wird heller. Aber auch Beiträge von Strukturen außerhalb der Fokusebene werden nun abgebildet und machen das Bild zunehmend unscharf.

Eine Vergrößerung des Blendendurchmessers über 1 Airy Einheit ist nur dann ratsam, wenn sehr schwache Signale detektiert werden sollen.

Bei Aufnahmen von materialwissenschaftlichen Präparaten wird in der Regel genügend Licht in die Detektoren reflektiert, so dass das Detektionspinhole ganz geschlossen werden kann (das heißt auf den minimalen Durchmesser eingestellt werden kann).

Scanformat auswählen



Funktion

Wenn Sie auf die Taste Format klicken, öffnet sich ein Dialogfenster mit einer Auswahl von verschiedenen Scanformaten. Mit dem Scanformat wählen Sie das für die Bildaufnahme verwendete Bildraster aus. Unter Bildraster versteht man die Anzahl der Punkte, mit denen das Präparat in den drei Raumrichtungen abgetastet wird. Neben der numerischen Apertur des Objektivs und der Anregungswellenlänge bestimmt das Scanformat zusammen mit dem Elektronischen Zoom wesentlich die räumliche Auflösung der aufgenommenen Daten.

Zusätzliche Information

Bei der Wahl des Scanformats sollten Sie beachten, welche Zusammenhänge zwischen dem Bildraster und der Auflösung des erzeugten Bildes bestehen. Gemäß dem Nyquist Theorem (oder Sampling Theorem) kann eine Struktur nur dann ohne Informationsverlust abgerastert werden, wenn der kleinste optisch noch auflösbare Abstand mit etwa 2 bis 3 Rasterpunkten abgetastet wird. Dieser als **laterale Auflösung** bezeichnete optisch noch auflösbare Abstand hängt von der numerischen Apertur des Objektivs und der Wellenlänge des verwendeten Anregungslichtes ab:

$$\text{Laterale Auflösung} = \frac{0,4 \cdot \lambda}{NA}$$

Das folgende Beispiel veranschaulicht diesen Zusammenhang: Sie haben zum Beispiel das Objektiv PL APO 100x mit der numerischen Apertur $NA = 1,4$ und eine Wellenlänge von $\lambda = 488 \text{ nm}$ ausgewählt. Daraus ergibt sich der kleinste optisch noch auflösbare Abstand:

$$\frac{0,4 \cdot 488}{1,4} = \text{ca. } 140 \text{ nm}$$

Gemäß der oben genannten Faustregel beträgt dann der Abstand der Rasterpunkte, der für eine Aufnahme ohne Informationsverlust notwendig ist:

$$\frac{140 \text{ nm}}{3} = \text{ca. } 47 \text{ nm}$$


Haben Sie das Scanformat 1024x1024 ausgewählt, ergibt sich bei einem Objektiv PL APO 100x, dessen maximale


Scanfeldgröße 150 μm beträgt, jedoch der folgende Abstand der Rasterpunkte:

$$\frac{150 \mu\text{m}}{1024} = \text{ca. } 146 \text{ nm}$$

Um den notwendigen Rasterabstand von 47 nm zu erreichen, haben Sie nun die Möglichkeit entweder das Scanformat zu erhöhen (z.B. auf 2048x2048) oder die Scanfeldgröße mit Hilfe des Elektronischen Zooms (Zoom=2) zu verkleinern.

Der aktuelle Rasterabstand wird in der Legende Hardware angezeigt. Dieser Wert wird dort als Voxel Size bezeichnet und neu berechnet, sobald Sie das Scanformat, den Elektronischen Zoom oder das Objektiv ändern.

 siehe Elektronischer Zoom (Seite 125)

 siehe Objektiv auswählen (Seite 123)



Man spricht von Oversampling, wenn die Abtastfrequenz von 2 bis 3 Punkten überschritten wird. Dabei wird die Struktur zwar vollständig abgebildet, aber es werden keine zusätzlichen Informationen mehr gewonnen. Nachteil des Oversampling ist die lange Abtastzeit und bei bleichempfindlichen Präparaten die Gefahr der Zerstörung des Untersuchungsobjekts. Man spricht von Undersampling, wenn die Abtastfrequenz von 2 bis 3 Punkten unterschritten wird. In diesem Fall besteht die Gefahr, dass nicht alle notwendigen Informationen abgerastert werden. Das Bild zeigt dann möglicherweise Strukturen, die es im Präparat nicht gibt. Diesen Effekt nennt man Aliasing.

Scanmodus auswählen



Funktion

Wenn Sie auf die Taste Mode klicken, öffnet sich ein Dialogfenster mit einer Liste der zur Verfügung stehenden Scanmodi. Der Scanmodus bestimmt, welche optischen Ebenen im Präparat abgetastet werden. Grundsätzlich können horizontale xy-Schnitte oder vertikale xz-Schnitte aufgenommen werden. Um ein dreidimensionales Bild vom Präparat zu erzeugen, werden die optischen Schnitte in die jeweilige dritte Raumrichtung fortgeführt und so ein Stapel aus Einzelbildern aufgenommen. Hinzu kommt die Möglichkeit, die Bildaufnahme in Abhängigkeit von der Zeit oder der Wellenlänge auszuführen:

Modus	Funktion
xyz	Aus xy-Schnitten wird in z-Richtung ein Bildstapel aufgenommen.
xzy	Aus xz-Schnitten wird in y-Richtung ein Bildstapel aufgenommen.
xt	Eine Linie wird mehrere Male hintereinander aufgenommen.
xyt	Ein xy-Schnitt wird mehrere Male hintereinander aufgenommen.
xzt	Ein xz-Schnitt wird mehrere Male hintereinander aufgenommen.
xyzt	Aus xy-Schnitten wird in z-Richtung ein Bildstapel mehrere Male hintereinander aufgenommen.
xyλ	Ein xy-Schnitt wird bei verschiedenen Wellenlängen aufgenommen.
xzλ	Ein xz-Schnitt wird bei verschiedenen Wellenlängen aufgenommen.

Alle Scanmodi (mit Ausnahme von xt) setzen sich aus mindestens drei Dimensionen zusammen. Die dritte und weitere Dimensionen werden vom Gerät ignoriert, wenn Sie mit der Endlos-Scan Funktion oder der Einmal-Scan Funktion Bilder nur aus einer optischen Ebene (xy oder xz) aufnehmen.



Die Scanmodi xzy und xzt werden nur in der Liste angezeigt, wenn Sie zuvor mit der Taste Z-Scan den Auswahlpunkt Galvo ausgewählt haben. Ebenso werden die Scanmodi für eine Wellenlängenserie xyλ und xzλ nur angezeigt, wenn im Dialogfenster Beam Path Setting nur **ein** Detektor aktiviert ist.

siehe Strahlengang einstellen (Seite 119)

Scangeschwindigkeit auswählen



Funktion

Wenn Sie auf die Taste Speed klicken, wird ein Dialogfenster geöffnet, in dem Sie vier verschiedene Scangeschwindigkeiten einstellen können.

Geschwindigkeit	
200	Bildzeilen pro Sekunde
400	Bildzeilen pro Sekunde
800	Bildzeilen pro Sekunde
1000	Bildzeilen pro Sekunde

In Kombination mit dem Bidirektionalen Scan kann die Geschwindigkeit der Datenaufnahme noch erhöht werden.

siehe Unidirektionaler oder Bidirektionaler Scan (Seite 143)

Zusätzliche Information

Je höher die eingestellte Scangeschwindigkeit ist, desto kürzer ist die Verweilzeit des Laserpunktes. Dabei ist auch das Scanformat, also die Anzahl der Abtastpunkte in einer Zeile, zu berücksichtigen. Je höher das Scanformat bei gleichbleibender Geschwindigkeit, desto geringer ist die Verweilzeit des Laserpunktes über einem Abtastpunkt.

Je länger der Lichtpunkt des Laserstrahls über den einzelnen Abtastpunkten im Präparat verweilt, desto mehr Licht wird vom Detektor erfasst. Mit einer geringeren Scangeschwindigkeit können Sie

also ein besseres Signal/ Rausch-Verhältnis erzielen. Der Nachteil einer geringeren Scangeschwindigkeit besteht darin, dass das Präparat durch die relativ längere Lichteinwirkung photochemisch gebleicht und somit unbrauchbar werden kann. Dies ist vor allem bei Fluoreszenzanwendungen von Bedeutung.



Sind die Geschwindigkeitsstufen 800 oder 1000 eingestellt, kann aus gerätetechnischen Gründen nicht mehr das maximale Scanfeld abgetastet werden. Das System schaltet automatisch auf den Zoomfaktor 2 respektive Zoomfaktor 4.

Zeitreihe einstellen



Funktion

Mit der Taste Time öffnen Sie das Dialogfenster Time Configuration, in dem Sie die Aufnahme einer Zeitserie einstellen. Die Parameter, die in diesem Dialogfenster eingestellt werden können, hängen von dem ausgewählten Scanmodus ab. Sie können eine Linie (xt), einen horizontalen Schnitt (xyt), einen vertikalen Schnitt (xzt) oder einen Stapel aus horizontalen Schnitten (xyzt), von einem bestimmten Zeitintervall unterbrochen, viele Male hintereinander aufnehmen.



Die Taste Time ist erst aktiv, wenn Sie mit der Taste Mode einen Scanmodus mit Zeitdimension ausgewählt haben.

☞ siehe Scanmodus auswählen (Seite 129)

Für eine Zeitserie im Scanmodus xt werden folgende Parameter im Dialogfenster angezeigt:

ΔT	Aufnahmezeit für eine Linie (<i>kann nicht vom Benutzer eingestellt werden</i>)
Lines	Anzahl der Aufnahmen der Linie
Lines per page	Anzahl der Linien pro Speicherseite
Pages	Anzahl der Speicherseiten (<i>wird automatisch berechnet</i>)
Maximize	Aufnahme der größtmöglichen Anzahl Linien pro Speicherseite
Complete Time	Gesamte Aufnahmezeit, also Produkt aus ΔT und Anzahl der Aufnahmen

Mit der Schaltfläche Calculate können Sie berechnen, wieviele Speicherseiten bei einer bestimmten Anzahl von Linien pro Seite benötigt werden.

Für eine Zeitserie im Scanmodus xyt oder xzt werden folgende Parameter im Dialogfenster angezeigt:

ΔT	Aufnahmezeit für einen xy-Schnitt oder xz-Schnitt plus Pausenintervall
Minimize	Das kleinstmögliche Intervall (ΔT) wird verwendet.
Frames	Anzahl der Aufnahmen des xy-Schnitts oder xz-Schnitts
Complete Time	Gesamte Aufnahmezeit, also Produkt aus ΔT und Anzahl der Aufnahmen

Für eine Zeitserie im Scanmodus xyzt werden folgende Parameter im Dialogfenster angezeigt:

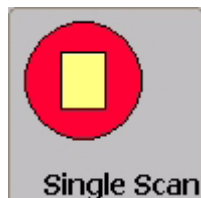
ΔT	Aufnahmezeit für einen Stapel aus xy-Schnitten plus Pausenintervall
Minimize	Das kleinstmögliche Intervall (ΔT) wird verwendet.
Stacks	Anzahl der Aufnahmen des Bildstapels
Complete Time	Gesamte Aufnahmezeit, also Produkt aus ΔT und Anzahl der Aufnahmen

Jeder der Parameter kann in Abhängigkeit der anderen Parameter berechnet werden. Beachten Sie bei der Eingabe der Werte die besondere Funktionsweise des Dialogfensters. Das Eingabefeld, das Sie anklicken, wird deaktiviert:

▶	Klicken Sie auf den Parameter der berechnet werden soll. Das entsprechende Eingabefeld erscheint grau.
▶	Geben Sie nun die Werte für die anderen Parameter ein.
▶	Klicken Sie auf Apply, um den Parameter zu berechnen. Mit einem Klick auf Reset werden die zuletzt gespeicherten Werte angezeigt.

Nachdem Sie diese Einstellungen vorgenommen haben, klicken Sie auf die Taste Series Scan.

Einmal-Scan starten



Funktion

Mit der Taste Single Scan wird nur ein einziges Bild aus einer einzigen optischen Ebene im Präparat aufgenommen.

Bevor Sie mit der Einmal-Scan Funktion ein Bild aufnehmen, stellen Sie zuvor mit der Endlos-Scan Funktion alle erforderlichen Scanparameter so ein, dass Sie eine optimale Bildqualität erhalten.

📖 siehe Endlos-Scan starten (Seite 132)

Typische Anwendungen

Die Einmal-Scan Funktion ist für die Aufnahme von bleichempfindlichen Präparaten gedacht. Verwenden Sie bei solchen Präparaten diese Funktion nicht nur für die Bildaufnahme, sondern auch anstelle der Endlos-Scan Funktion, um die Scanparameter einzurichten. Wenn Sie das Scanfeld zoomen, eignet sich die Einmal-Scan Funktion auch, um den Bildausschnitt zu überprüfen.

Endlos-Scan starten



Funktion

Mit der Taste Continuous Scan werden ununterbrochen und immer nur aus einer einzigen optischen Ebene Bilder vom Präparat aufgenommen. Bildserien können dabei nicht erstellt werden, da immer das zuletzt erzeugte Bild das vorherige ersetzt.

Drücken Sie erneut auf diese Taste, um den Endlos-Scan zu beenden.

Zusätzliche Information

Das Gerät arbeitet automatisch mit den zuletzt eingestellten Scanparametern. Einige dieser Parameter können Sie **während** der Bildaufnahme verändern. Andere sollten Sie **vor** Beginn der Bildaufnahme einstellen:

Vor der Bildaufnahme	Während der Bildaufnahme
Objektiv auswählen	Strahlengang einstellen
Scanformat auswählen	Detektionslochblende einstellen
Scanmodus auswählen	Elektronischen Zoom einstellen
Scangeschwindigkeit auswählen	Detektoren einstellen
Unidirektionalen oder Bidirektionalen Scan auswählen	Phase einstellen

Die Tasten der Funktionen, die während der Bildaufnahme mit der Endlos-Scan Funktion nicht eingestellt werden können, sind deaktiviert und erscheinen grau unterlegt.

Typische Anwendungen

Die Endlos-Scan Funktion dient zur Optimierung der Bildqualität bei der ersten Aufnahme eines Präparates. Während das Präparat kontinuierlich abgetastet wird, können Sie die oben genannten Scanparameter einstellen und das Ergebnis direkt am Bild überprüfen.



Bei bleichempfindlichen Präparaten ist es ratsam, nur in eingeschränktem Maße mit dem Endlos-Scan zu arbeiten. Die kontinuierliche Lichteinwirkung des Lasers kann das Präparat photochemisch zerstören (optisches Bleichen) und damit zur Unbrauchbarkeit des Präparates führen.

Dialogfenster Series Scan Overview



Funktion

In diesem Dialogfenster können Sie den Anfangspunkt und den Endpunkt einer Bildserie definieren und die Aufnahme der einzelnen Schnitte mitverfolgen. Der dreidimensionale Scanbereich ist graphisch als Würfel dargestellt. In dieser Graphik symbolisiert ein gelbes Quadrat die aktuelle z-Position bzw. y-Position, ein grünes den Anfangspunkt und ein rotes den Endpunkt. Die entsprechenden Positionswerte werden rechts neben der Graphik angezeigt. Stellen Sie Anfangspunkt und Endpunkt wie folgt ein.

▶	Ziehen Sie mit dem Mauspfel das gelbe Quadrat bis auf die Ebene, in der die Bildserie beginnen soll.
▶	Klicken Sie in das weiße Kästchen für den Anfangspunkt (Begin). Der entsprechende Positionswert wird eingeblendet und gespeichert.
▶	Ziehen Sie mit dem Mauspfel das gelbe Quadrat bis auf die Ebene, in der die Bildserie enden soll.
▶	Klicken Sie in das weiße Kästchen für den Endpunkt (End). Der entsprechende Positionswert wird eingeblendet und gespeichert.
▶	Die Gesamthöhe des Bildstapels zwischen Anfangs- und Endpunkt wird errechnet und angezeigt (Total).

Klicken Sie nun auf die Taste Series Scan. Das Dialogfenster bleibt geöffnet und Sie können die

Aufnahme der Bildserie mitverfolgen.



Anfangspunkt und Endpunkt können auch mit der Bedienkonsole und den separaten Tasten *Begin* und *End* definiert werden.

📖 siehe Anfangspunkt einer räumlichen Serie definieren (Seite 134)

📖 siehe Endpunkt einer räumlichen Serie definieren (Seite 135)

Zusätzliche Information

Es werden noch folgende zusätzliche Parameter im Dialogfenster Series Scan Overview angegeben, die vor der Aufnahme einer Bildserie eingestellt werden müssen:

▶	Scanmodus (oberste Zeile rechts neben der Graphik)
▶	Scanformat (rote Zahlen an den oberen Kanten des Würfels)
▶	Anzahl der optischen Schnitte (Teilstriche zwischen Anfangspunkt und Endpunkt)

Die rote Zahl an der vertikalen Kante des Würfels entspricht dem maximalen Verfahrensweg des z-Stellantriebs, der nicht verändert werden kann.

📖 siehe Scanmodus auswählen (Seite 129)

📖 siehe Scanformat auswählen (Seite 128)

📖 siehe Anzahl der räumlichen Schnitte bestimmen (Seite 136)

Anfangspunkt einer räumlichen Serie definieren



Funktion

Mit der Taste *Begin* definieren Sie den Anfangspunkt einer räumlichen Bildserie. Stellen Sie zuerst die exakte z-Position bzw. y-Position im Dialogfenster Series Scan Overview oder an der Bedienkonsole mit dem entsprechenden Drehknopf ein. Dann klicken Sie auf die Taste *Begin*. Der Positionswert für den Anfangspunkt wird gespeichert. Auf die gleiche Weise wird auch der Endpunkt eingestellt.

📖 siehe Dialogfenster Series Scan Overview (Seite 133)

📖 siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern (Seite 240)

Anfangspunkt einer Wellenlängenserie definieren



Funktion

Bei einer Wellenlängenserie wird von einer einzigen optischen Ebene ein Stapel aus Einzelbildern aufgenommen, die jeweils bei einer bestimmten Wellenlänge detektiert werden. Mit der Taste *Lambda Scan Begin* definieren Sie die Wellenlänge, bei der die Bildaufnahme beginnen soll.



Die Taste Lambda Scan Begin ist erst aktiv, wenn Sie mit der Taste Mode einen Scanmodus mit der Dimension Wellenlänge ausgewählt haben.

siehe Scanmodus auswählen (Seite 129)

▶	Öffnen Sie mit der Taste Beam das Dialogfenster Beam Path Setting.
▶	Aktivieren Sie einen Detektor, indem Sie auf das entsprechende Kontrollkästchen klicken. Ein Wurfshadow verbindet nun den aktivierten Detektor mit dem entsprechenden Schieber auf der Skala des Spektrums.
▶	Doppelklicken Sie auf diesen Schieber. Es wird das Dialogfenster Range Properties geöffnet, in dem Sie die Detektionsbandbreite einstellen können.
▶	Ziehen Sie den Schieber auf der Skala des Spektrums auf die gewünschte Anfangsposition. Der linke Rand des Schiebers kennzeichnet die Wellenlänge, bei der die Bildaufnahme beginnen soll.
▶	Klicken Sie auf die Taste Lambda Scan Begin, um den Wert zu speichern.

Auf die gleiche Weise wird der Endpunkt einer Wellenlängenserie bestimmt. Außerdem müssen Sie noch die Anzahl der Wellenlängenschritte bestimmen.

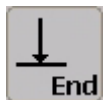
siehe Endpunkt einer Wellenlängenserie definieren (Seite 136)

siehe Anzahl der Wellenlängenschritte bestimmen (Seite 137)

Typische Anwendungen

Mit einer Wellenlängenserie können Sie das Emissionsmaximum eines Fluoreszenzfarbstoffes ermitteln. Dies ist deshalb von Bedeutung, weil die Stokes Verschiebung der Emissionskurve eines Fluoreszenzfarbstoffes vom jeweilig verwendeten Präparat abhängig ist. Somit können Sie den Detektionsbereich präzise auf eine spezifische Anwendung einstellen.

Endpunkt einer räumlichen Serie definieren



Funktion

Mit der Taste End definieren Sie den Endpunkt einer räumlichen Bildserie. Stellen Sie zuerst die exakte z-Position bzw. y-Position im Dialogfenster Series Scan Overview oder an der Bedienkonsole mit dem entsprechenden Drehknopf ein. Dann klicken Sie auf die Taste End. Der Positionswert für den Endpunkt wird gespeichert. Auf die gleiche Weise wird auch der Anfangspunkt eingestellt.

siehe Dialogfenster Series Scan Overview (Seite 121)

siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern (Seite 240)

Endpunkt einer Wellenlängenserie definieren



Funktion

Bei einer Wellenlängenserie wird von einer einzigen optischen Ebene ein Stapel aus Einzelbildern aufgenommen, die jeweils bei einer bestimmten Wellenlänge detektiert werden. Mit der Taste Lambda Scan End definieren Sie die Wellenlänge, bei der die Bildaufnahme enden soll.



Die Taste Lambda Scan End ist erst aktiv, wenn Sie mit der Taste Mode einen Scanmodus mit der Dimension Wellenlänge ausgewählt haben.

☞ siehe Scanmodus auswählen (Seite 129)

▶	Öffnen Sie mit der Taste Beam das Dialogfenster Beam Path Setting.
▶	Aktivieren Sie einen Detektor, indem Sie auf das entsprechende Kontrollkästchen klicken. Ein Wurfshadow verbindet nun den aktivierten Detektor mit dem entsprechenden Schieber auf der Skala des Spektrums.
▶	Doppelklicken Sie auf diesen Schieber. Es wird das Dialogfenster Range Properties geöffnet, in dem Sie die Detektionsbandbreite einstellen können.
▶	Ziehen Sie den Schieber auf der Skala des Spektrums auf die gewünschte Endposition. Der rechte Rand des Schiebers kennzeichnet die Wellenlänge, bei der die Bildaufnahme enden soll.
▶	Klicken Sie auf die Taste Lambda Scan End, um den Wert zu speichern.

Auf die gleiche Weise wird der Anfangspunkt einer Wellenlängenserie bestimmt. Außerdem müssen Sie noch die Anzahl der Wellenlängenschritte bestimmen.

☞ siehe Anfangspunkt einer Wellenlängenserie definieren (Seite 134)

☞ siehe Anzahl der Wellenlängenschritte bestimmen (Seite 137)

Typische Anwendungen

Mit einer Wellenlängenserie können Sie das Emissionsmaximum eines Fluoreszenzfarbstoffes ermitteln. Dies ist deshalb von Bedeutung, weil die Stokes Verschiebung der Emissionskurve eines Fluoreszenzfarbstoffes vom jeweilig verwendeten Präparat abhängig ist. Somit können Sie den Detektionsbereich präzise auf eine spezifische Anwendung einstellen.

Anzahl der räumlichen Schnitte bestimmen



Funktion

Wenn Sie auf die Taste Sections klicken, wird ein Dialogfenster geöffnet, in dem Sie die Anzahl der horizontalen xy-Schnitte oder vertikalen xz-Schnitte für die Aufnahme einer Bildserie auswählen können. Wollen Sie eine andere als die in der Liste angegebene Anzahl von Schnitten, klicken Sie auf den Auswahlpunkt Others. Es erscheint dann das Dialogfenster Z/Y-Configuration mit folgenden Angaben:

Parameter	Beschreibung
Image Dim. z/y (µm)	Höhe des gesamten Bildstapels zwischen Anfangs- und Endpunkt der Bildserie

# Sections	Anzahl der eingestellten Schnitte
Step Size (μm)	Schrittweite, also der Abstand zwischen zwei Schnitten

In diesem Dialogfenster können Sie einen beliebigen Wert für die Anzahl der Schnitte und die Schrittweite eingeben. Die Höhe des Bildstapels kann nicht verändert werden, da dieser Parameter durch den Anfangs- und Endpunkt der Bildserie bestimmt wird. Da die Schrittweite immer ein Vielfaches der minimalen Schrittweite des z-Stellantriebs sein muss, sind bestimmte Kombinationen von Werten nur möglich, wenn entweder die Höhe des Bildstapels oder die Anzahl der Schnitte angepasst wird. Je nachdem, auf welche der beiden Schaltflächen Calculate sie klicken, wird einer der beiden Parameter nicht verändert.

Wenn Sie die Anzahl der Schnitte berechnen wollen mit der Priorität, die Höhe des Bildstapels möglichst unverändert zu lassen:

▶	Geben Sie die gewünschte Schrittweite im Feld Step Size ein.
▶	Klicken Sie dann auf die Schaltfläche Calculate neben dem Feld Step Size.

Wenn Sie die Anzahl der Schnitte berechnen wollen mit der Priorität, die Anzahl der Schnitte möglichst unverändert zu lassen:

▶	Geben Sie die gewünschte Schrittweite im Feld Step Size ein.
▶	Klicken Sie dann auf die Schaltfläche Calculate neben dem Feld # Sections.

Wenn Sie die Schrittweite berechnen wollen mit der Priorität, die Höhe des Bildstapels möglichst unverändert zu lassen:

▶	Geben Sie die Anzahl der gewünschten Schnitte (nur ganze Zahlen) im Feld # Sections ein.
▶	Klicken Sie dann auf die Schaltfläche Calculate neben dem Feld # Sections.

Wenn Sie die Schrittweite berechnen wollen mit der Priorität, die Anzahl der Schnitte möglichst unverändert zu lassen:

▶	Geben Sie die Anzahl der gewünschten Schnitte (nur ganze Zahlen) im Feld # Sections ein.
▶	Klicken Sie dann auf die Schaltfläche Calculate neben dem Feld Step Size.

Wenn Sie auf die Taste Reset klicken, werden die zuletzt gespeicherten Werte angezeigt.

📖 siehe Serien-Scan starten (Seite 138)

📖 siehe Dialogfenster Series Scan Overview (Seite 133)

Anzahl der Wellenlängenschritte bestimmen



Funktion

Bei einer Wellenlängenserie wird von einer einzigen optischen Ebene ein Stapel aus Einzelbildern aufgenommen, die jeweils bei einer bestimmten Wellenlänge detektiert werden. Die Bildaufnahme erfolgt über einen Wellenlängenbereich hinweg, der vom Anfangspunkt und Endpunkt der Serie begrenzt wird. Mit der Taste Lambda Steps definieren Sie die Anzahl der Aufnahmen, die innerhalb dieses Bereichs aufgenommen werden.



Die Taste Lambda Steps ist erst aktiv, wenn Sie mit der Taste Mode einen Scanmodus mit der Dimension Wellenlänge ausgewählt haben.

- 📖 siehe Scanmodus auswählen (Seite 128)
- 📖 siehe Anfangspunkt einer Wellenlängenserie definieren (Seite 134)
- 📖 siehe Endpunkt einer Wellenlängenserie definieren (Seite 136)

Typische Anwendungen

Mit einer Wellenlängenserie können Sie das Emissionsmaximum eines Fluoreszenzfarbstoffes ermitteln. Dies ist deshalb von Bedeutung, weil die Stokes Verschiebung der Emissionskurve eines Fluoreszenzfarbstoffes vom jeweilig verwendeten Präparat abhängig ist. Somit können Sie den Detektionsbereich präzise auf eine spezifische Anwendung einstellen.

Serien-Scan starten



Funktion

Mit der Taste Series Scan wird eine Bildserie erstellt. Dabei wird ein mehrdimensionaler Bilddatensatz des Präparates erzeugt. Die für die Aufnahme einer Bildserie zur Verfügung stehenden Dimensionen sind neben den drei Raumrichtungen (x, y, z) auch die Dimensionen Zeit (t) und Wellenlänge (λ). Somit können Sie die Aufnahme eines dreidimensionalen räumlichen Bildstapels aus xy-Schnitten oder xz-Schnitten zusätzlich in Abhängigkeit von der Zeit oder von der Wellenlänge durchführen.



Bevor Sie eine Bildserie aufnehmen, stellen Sie mit der Endlos-Scan Funktion (Taste Continuous Scan) alle erforderlichen Scanparameter so ein, dass Sie eine optimale Bildqualität erhalten.

- 📖 siehe Endlos-Scan starten (Seite 132)

Für die Aufnahme einer räumlichen Bildserie sind folgende Einstellungen vorzunehmen:

▶	Den Scanmodus mit der Taste Mode auswählen. 📖 siehe Scanmodus auswählen (Seite 129)
▶	Das Scanformat mit der Taste Format auswählen. 📖 siehe Scanformat auswählen (Seite 128)
▶	Die gewünschte z-Position bzw. y-Position im Dialogfenster Series Scan Overview oder mit dem entsprechenden Drehknopf der Bedienkonsole einstellen. 📖 siehe Dialogfenster Series Scan Overview (Seite 133) 📖 siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern (Seite 240)
▶	Den Anfangspunkt der Bildserie mit der Taste Begin oder im Dialogfenster Series Scan Overview speichern. 📖 siehe Anfangspunkt einer räumlichen Serie definieren (Seite 134)
▶	Die gewünschte z-Position bzw. y-Position im Dialogfenster Series Scan Overview oder mit dem entsprechenden Drehknopf der Bedienkonsole einstellen. 📖 siehe Dialogfenster Series Scan Overview (Seite 133) 📖 siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern (Seite 240)

▶	Den Endpunkt der Bildserie mit der Taste End oder im Dialogfenster Series Scan Overview speichern. 📖 siehe Endpunkt einer räumlichen Serie definieren (Seite 135)
▶	Die Anzahl der räumlichen Schnitte mit der Taste Sections auswählen. 📖 siehe Anzahl der räumlichen Schnitte bestimmen (Seite 136)

Nachdem Sie diese Einstellungen vorgenommen haben, klicken Sie auf die Taste Series Scan. Im Dialogfenster Series Scan Overview können Sie die Aufnahme des Bildstapels mitverfolgen.

Für die Aufnahme einer Zeitserie sind folgende Einstellungen vorzunehmen:

▶	Einen Scanmodus mit Zeitdimension mit der Taste Mode auswählen. 📖 siehe Scanmodus auswählen (Seite 129)
▶	Das Scanformat mit der Taste Format auswählen. 📖 siehe Scanformat auswählen (Seite 128)
▶	Die gewünschte z-Position bzw. y-Position im Dialogfenster Series Scan Overview oder mit dem entsprechenden Drehknopf der Bedienkonsole einstellen. 📖 siehe Dialogfenster Series Scan Overview (Seite 133) 📖 siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern (Seite 240)
▶	Die Anzahl der Aufnahmen, das Pausenintervall zwischen den Aufnahmen und die komplette Bearbeitungszeit einstellen. 📖 siehe Zeitserie einstellen (Seite 131)

Für die Aufnahme einer Wellenlängenserie sind folgende Einstellungen vorzunehmen:

▶	Einen Scanmodus mit der Dimension Wellenlänge mit der Taste Mode auswählen. 📖 siehe Scanmodus auswählen (Seite 129)
▶	Das Scanformat mit der Taste Format auswählen. 📖 siehe Scanformat auswählen (Seite 128)
▶	Die Wellenlänge bestimmen, bei der die Wellenlängenserie beginnen soll. 📖 siehe Anfangspunkt einer Wellenlängenserie definieren (Seite 134)
▶	Die Wellenlänge bestimmen, bei der die Wellenlängenserie enden soll. 📖 siehe Endpunkt einer Wellenlängenserie definieren (Seite 136)
▶	Die gewünschte Anzahl der Aufnahmen zwischen Anfangs- und Endpunkt der Wellenlängenserie auswählen. 📖 siehe Anzahl der Wellenlängenschritte bestimmen (Seite 137)

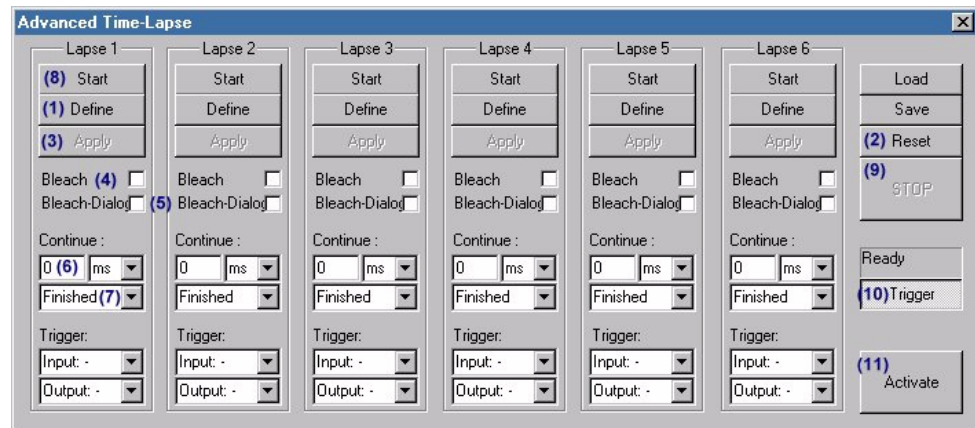
Nachdem Sie diese Einstellungen vorgenommen haben, klicken Sie auf die Taste Series Scan.

Aufnahmesequenzen konfigurieren







Funktion

Mit dieser Funktion können bis zu sechs Aufnahmeintervalle mit unterschiedlichen Hardwareeinstellungen und deren Reihenfolge in einer Aufnahmesequenz kombiniert werden. Wenn Sie auf die Taste Time Lapse klicken, wird das folgende Dialogfenster geöffnet:







Konfiguration der Aufnahmesequenz

▶	<p>Stellen Sie im Dialogfenster Beam Path Setting und den Tasten im Arbeitsschritt Acquire (z.B. Pinhole, Series Scan Overview) alle benötigten Hardwareparameter für das erste Aufnahmeintervall (Lapse 1) ein.  siehe Strahlengang einstellen (Seite 119)</p>
▶	<p>Klicken Sie auf die Schaltfläche Define (1), um diese Hardwareeinstellungen für das Aufnahmeintervall zu speichern. Es werden automatisch die Einstellungen sämtlicher Scanfunktionen abgespeichert.</p>  <p><i>Welche Hardwareparameter mit Define gespeichert werden, kann im Dialogfenster Setting variiert werden. Wählen Sie zu diesem Zweck das Menü Tools, Option Settings, Register Instrument Parameter Settings. Klicken Sie im Feld Choose Settings auf IPS Time Lapse.</i></p>
▶	<p>Wiederholen Sie diesen Vorgang mit unterschiedlichen Einstellungen für jedes weitere Aufnahmeintervall (Lapse 2...8). Mit Reset (2) können die Einstellungen wieder rückgängig gemacht werden.</p>
▶	<p>Wenn Sie auf Apply (3) klicken, werden die für das Aufnahmeintervall definierten Einstellungen als aktuelle Hardwareeinstellungen übernommen. Diese Schaltfläche muss nicht betätigt werden, beim Start der Aufnahmesequenz werden die Einstellungen automatisch übernommen. Sie haben mit dieser Funktion die Möglichkeit, die jeweiligen Einstellungen nochmals zu überprüfen.  siehe Aufnahmeparameter eines Experiments übernehmen (Seite 146)</p>
▶	<p>Soll vor dem Start eines Aufnahmeintervalls das Präparat gebleicht werden, markieren Sie das Kontrollkästchen Bleach (4). Es wird das Bleichmuster verwendet, das im Dialogfenster Bleach definiert wurde. Dieses Bleichmuster wird für alle Aufnahmeintervalle verwendet. Markieren Sie das Kontrollkästchen Bleach Dialog (5), um das Dialogfenster Bleach zu öffnen und das Bleichmuster neu zu definieren.  siehe Definition eines Bleichexperiments (Seite 142)</p>
▶	<p>Stellen Sie im ersten Listenfeld unter Continue (6) eine Pausenzeit zwischen der Abarbeitung des aktuellen und des nachfolgenden Aufnahmeintervalls ein.</p>
▶	<p>Wählen Sie im zweiten Listenfeld unter Continue (7) das Aufnahmeintervall (Lapse 1...8) aus, das nach der Abarbeitung des aktuellen Intervalls ausgeführt werden soll. Wenn Sie Finished auswählen, endet die Aufnahmesequenz mit dem aktuellen Intervall.</p>
▶	<p>Klicken Sie auf die Schaltfläche Start (8), um die Aufnahmesequenz zu starten. Mit Stop (9) kann die Aufnahmesequenz abgebrochen werden.</p>

Bildaufnahmen durch externe Signale auslösen (benötigt spezielle Hardwareausstattung)

▶	<p>Soll das Aufnahmeintervall durch ein externes Signal gestartet werden. klicken Sie auf die</p>
---	---

	Schaltfläche Trigger (10) . Im erweiterten Dialogfenster können Sie folgende Einstellungen für die Triggersignale vornehmen:
--	---

Listenfeld	Funktion
Input	<p>Hier wird der Kanal für eingehende Triggersignale ausgewählt. Ist ein Triggerkanal ausgewählt, wird das Aufnahmeintervall bei Eingang eines TTL-Triggersignals über den ausgewählten Kanal gestartet:  siehe Signalstecker der Triggerelektronik (Seite 143)</p> <p>Input 1: Pin 4 des Steckers der Triggerelektronik Input 2: Pin 12 des Steckers der Triggerelektronik Input 3: Pin 5 des Steckers der Triggerelektronik Input 4: Pin 13 des Steckers der Triggerelektronik Input –: Zum Starten des Aufnahmeintervalls wird nicht auf ein eingehendes Triggersignal gewartet.</p> <p></p> <p><i>Zur Nutzung des Triggereingangs muss Masse (0V) an Pin 8 des Steckers der Triggerelektronik angelegt werden.</i></p>
Output	<p>Hier wird der Kanal für ausgehende Triggersignale ausgewählt. Ist ein Triggerkanal ausgewählt, wird bei Start eines Aufnahmeintervalls ein TTL-Triggersignal über den ausgewählten Kanal gesandt:  siehe Signalstecker der Triggerelektronik (Seite 143)</p> <p>Output 1 Pin 7 des Steckers der Triggerelektronik. Es handelt sich um ein Zeilensignal, das für die Dauer der tatsächlichen Datenaufnahme auf einer logischen «1» steht.</p> <p>Output 2 Pin 15 des Steckers der Triggerelektronik. Es handelt sich um ein freies Signal, das verwendet werden kann, um in Abhängigkeit definierter Ereignisse externe Geräte zu triggern.</p> <p>Output –: Es wird kein Triggersignal ausgegeben.</p> <p></p> <p><i>Zur Nutzung des Triggerausgangs muss eine Spannung von +5V DC an Pin 11 des Steckers der Triggerelektronik angelegt werden.</i></p>



Alle Eingänge sind entkoppelt durch Optokoppler. Der maximale Strom, mit dem die Optokoppler belastet werden dürfen, beträgt 2mA. Die minimale Pulsdauer für eingehende Triggersignale beträgt 100 msec.



Wird ein Aufnahmeintervall von einem eingehenden Triggersignal gestartet, wird die Abarbeitung einer bereits laufenden Aufnahme abgebrochen. Ein Aufnahmeintervall wird erst dann von einem Triggersignal gestartet, wenn die Schaltfläche **Activate (11)** oder **Start** gedrückt wurde.

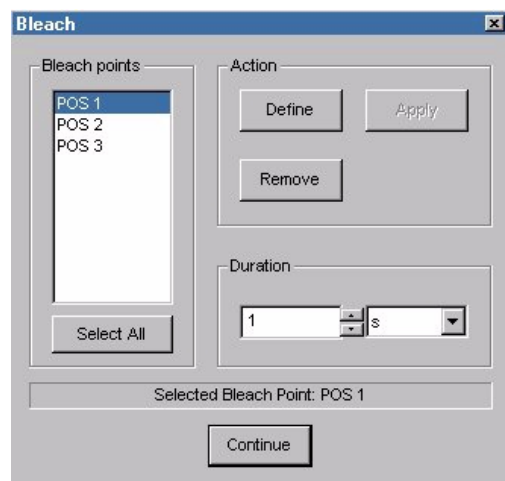
Definition eines Bleichexperiments



Funktion

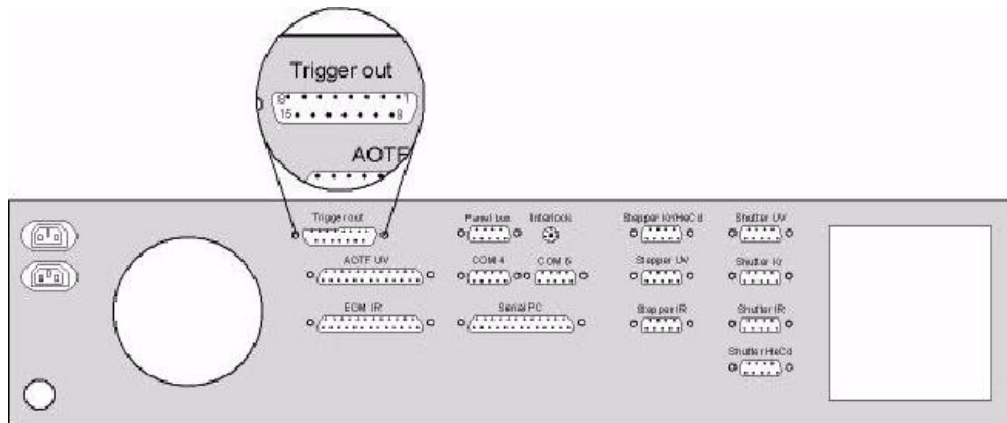
In diesem Dialogfenster können Bleichpunkte und eine spezifische Bleichdauer für jeden Bleichpunkt definiert und abgespeichert werden. Diese Funktion kann nur in Verbindung mit einer Aufnahmesequenz verwendet werden.

☞ siehe Aufnahmesequenz konfigurieren (Seite 139)



▶	Halten Sie den Mauszeiger über das Bild im Ansichtsfenster Viewer, wenn das Dialogfenster Bleach geöffnet ist. Das Symbol des Mauszeigers verändert sich zu einem Kreuz.
▶	Wählen Sie im Bild die Bleichpunkte aus, indem Sie die entsprechenden Positionen im Bild anklicken. Die Bleichpunkte werden im Listefeld Bleach Points mit der Bezeichnung POS 1..n eingetragen. Mit der Schaltfläche Remove können die Bleichpunkte wieder entfernt werden.
▶	Um die Bleichdauer für einen einzelnen Bleichpunkt einzustellen, markieren Sie den entsprechenden Eintrag im Dialogfenster und wählen Sie im Feld Duration ein Zeitintervall aus. Um für alle Bleichpunkte dieselbe Bleichdauer einzustellen, klicken Sie auf die Schaltfläche Select All und stellen Sie dann die Bleichdauer ein.
▶	Klicken Sie auf die Schaltfläche Define. Damit wird neben der Bleichdauer auch automatisch die Laserintensität und die z-Höhe des ausgewählten Bleichpunktes gespeichert. Die Laserintensität kann im Dialogfenster Beam Path Setting variiert werden. ☞ siehe Strahlengang einstellen (Seite 119)
▶	Wenn Sie auf Apply klicken, werden die für das Bleichmuster definierten Einstellungen als aktuelle Hardwareeinstellungen übernommen.
▶	Klicken Sie auf OK bzw. Continue (wenn der Dialog aus dem Dialogfenster Time Lapse geöffnet wurde).

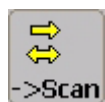
Der Signalstecker der Triggerelektronik befindet sich auf der Rückseite der Versorgungseinheit



Die Belegung des Signalsteckers der Triggerelektronik

Signal	Signalstecker
Input 1	Pin 4 des Steckers der Triggerelektronik.
Input 2	Pin 12 des Steckers der Triggerelektronik.
Input 3	Pin 5 des Steckers der Triggerelektronik.
Input 4	Pin 13 des Steckers der Triggerelektronik.
Output 1	Pin 7 des Steckers der Triggerelektronik. Hier handelt es sich um ein Zeilensignal. Im Gegensatz zum Signal Output 3 (Pin 6), ist es nur für die Dauer der tatsächlichen Datenaufnahme auf einer logischen «1». siehe Aufnahmesequenzen konfigurieren (Seite 139)
Output 2	Pin 15 des Steckers der Triggerelektronik. Hier handelt es sich um ein freies Signal, das innerhalb der Time Lapse Funktion verwendet werden kann, um in Abhängigkeit definierter Ereignisse externe Geräte zu triggern. siehe Aufnahmesequenzen konfigurieren (Seite 139)
Output 3	Pin 6 des Steckers der Triggerelektronik. Hier handelt es sich um ein Zeilensignal (line-clock). Das Signal hat eine ansteigende Flanke bei jedem Start einer neuen Zeile. Das Signal bleibt für die gesamte Zeit, in der sich der Abtaststrahl in einer Zeile befindet, auf einer logischen «1».
Output 4	Pin 14 des Steckers der Triggerelektronik. Hier handelt es sich um ein Framesignal (frame-clock). Das Signal hat eine ansteigende Flanke bei jedem Start eines neuen Frames. Das Signal bleibt während der gesamten Zeit, die für die Aufnahme eines Frames benötigt wird, auf einer logischen «1».
GND	Pin 8 des Steckers der Triggerelektronik zur Nutzung ausgehender und eingehender Triggersignale
+ 5 V DC	Pin 11 des Steckers der Triggerelektronik zur Nutzung ausgehender Triggersignale

Unidirektionalen oder Bidirektionalen Scan auswählen



Funktion

Wenn Sie auf die Taste Unidirectional/ Bidirectional Scan klicken, wird der bidirektionale Scan

aktiviert. Ist die Taste nicht angeklickt, ist automatisch der unidirektionale Scan eingestellt.

Beim unidirektionalen Scan wird jede Zeile von links nach rechts abgetastet. Während der Laserstrahl zum Anfangspunkt der neuen Zeile gelenkt wird, werden keine Daten aufgenommen. Beim Bidirektionalen Scan wird die erste Zeile von links nach rechts und die zweite Zeile von rechts nach links abgetastet. Es wird also auch der Rücklauf des Laserstrahles für die Datenaufnahme genutzt. Deshalb kann mit dem Bidirektionalen Scan die Scangeschwindigkeit erhöht werden.

Ist der Bidirektionale Scan aktiv, können Sie die mit der Taste Speed eingestellte Scangeschwindigkeit verdoppeln:

Unidirektional	Bidirektional	
200	Aktuell nicht verfügbar	Bildzeilen pro Sekunde
400	800	Bildzeilen pro Sekunde
800	1600	Bildzeilen pro Sekunde
1000	2000	Bildzeilen pro Sekunde


 siehe Scangeschwindigkeit auswählen (Seite 130)

Um Hin- und Rücklauf pixelgenau aufeinander abzugleichen, kann die Phase zwischen Hin- und Rücklauf eingestellt werden. Verwenden Sie zu diesem Zweck die Taste Phase.

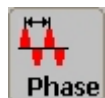
 siehe Phase einstellen (Seite 144)



Sind die Geschwindigkeitsstufen 800 oder 1000 eingestellt, kann aus gerätetechnischen Gründen nicht mehr das maximale Scanfeld abgetastet werden. Das System schaltet automatisch auf den Zoomfaktor 2 respektive Zoomfaktor 4.


 siehe Elektronischer Zoom (Seite 125)

Phase einstellen



Funktion

Bei der bidirektionalen Bildaufnahme kann es zu einer Phasenverschiebung zwischen hin- und rücklaufendem Abtaststrahl kommen. Mit der Taste Phase öffnen Sie ein Dialogfenster, in dem Sie diese Verschiebung korrigieren können:

	Bewegen Sie mit dem Mauszeiger den Schieber auf der Skala bis die Pixelverschiebung im Bild verschwunden ist.
---	---

Sie können die Phase auch mit dem entsprechenden Drehknopf der Bedienkonsole einstellen.

 siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern (Seite 240)

Zusätzliche Information

Für jeden Zoomfaktor wurde werksseitig bereits ein Phasenabgleich vorgenommen und die entsprechenden Werte eingestellt. Aufgrund der Temperaturabhängigkeit von Mechanik und

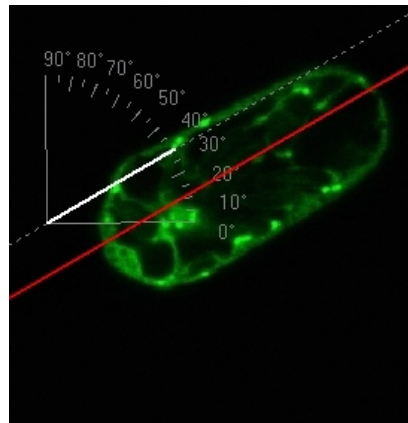
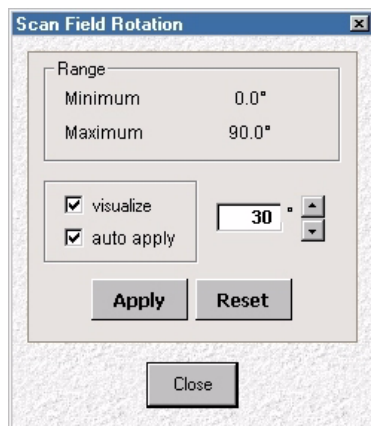
Elektronik, kann es beim Betrieb zu leichten Abweichungen gegenüber den eingestellten Standardwerten kommen, die mit dieser Funktion nachgeregelt werden können.

Scanfeld drehen



Funktion

Mit der Funktion Scan Field Rotation können Sie das Scanfeld drehen. Dabei wird weder das Präparat noch die Richtung der Abtastung gedreht, sondern das mikroskopische Zwischenbild.



- | | |
|---|---|
| ▶ | Wählen Sie im Dialogfenster Scan Field Rotation einen Drehwinkel zwischen 0 Grad und 90 Grad. Die Ursprungsstellung (0 Grad) richtet sich dabei nach einer im Scankopf festgelegten Referenzposition. Bei Einschalten des Gerätes wird diese Referenzposition automatisch angefahren. |
| ▶ | Klicken Sie auf die Schaltfläche Apply, um den eingestellten Drehwinkel auf das aktuelle Bild anzuwenden. Mit Reset, kehren Sie zum zuletzt eingestellten Wert zurück. Ist Auto Apply ausgewählt, werden neue Einstellungen automatisch im Bild aktualisiert. |
| ▶ | Klicken Sie auf das Kontrollkästchen Visualize, um den Drehwinkel im Bild einzublenden. Sie können den Drehwinkel direkt im Bild verändern, indem Sie mit dem Mauszeiger die weiße Linie neu positionieren. |

Y-Positionierung

Ist der Scanmodus xzy, xzt oder xzλ eingestellt, wird durch Auswahl des Kontrollkästchens Visualize zusätzlich die y-Ebene als rote Linie im Bild eingeblendet. Im Dialogfenster Series Scan Overview können Sie nun die y-Position variieren und die Positionierung mit Hilfe der roten Linie im Bild überprüfen.

- 📖 siehe Scanmodus auswählen (Seite 129)
- 📖 siehe Dialogfenster Series Scan Overview (Seite 133)

Typische Anwendungen

Mit dieser Funktion können Texturen auf Oberflächen oder langgestreckte biologische Strukturen relativ zum Beobachter ausgerichtet werden.

Aufnahmeparameter eines Experiments übernehmen



Funktion

Mit der Taste Apply können Sie die Hardwareeinstellungen, die Sie für ein bereits existierendes Experiment verwendet haben, für die Aufnahme eines neuen Experiments übernehmen. Somit haben Sie die Möglichkeit, für eine Anwendung optimal eingerichtete Scanparameter mit einem Klick für weitere Bildaufnahmen neu einzustellen:

▶	Aktivieren Sie den Bilddatensatz, dessen Einstellungen Sie übernehmen wollen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Apply.

Bildaufnahme einer Linie im Mittelungsverfahren



Funktion

Mit der Taste Line Average wird ein Mittelungsverfahren für die Bildaufnahme gestartet. Dabei wird jede einzelne Zeile mehrmals abgetastet. Aus den wiederholt gemessenen Intensitätswerten in einer Zeile wird für jeden Abtastpunkt der arithmetische Mittelwert berechnet und im Ergebnisbild dargestellt. Erst nach der eingestellten Anzahl von Mittelungsvorgängen wird die nächste Zeile des Präparates abgetastet. Das hier verwendete Verfahren ermittelt einen fortlaufenden Mittelwert. Das bedeutet, dass nach der ersten Aufnahme einer Zeile jede wiederholte Aufnahme mit der zuvor dargestellten Zeile gemittelt und im Ergebnisbild dargestellt wird (Dynamischer Mittelwert).

Wenn Sie auf die Taste Line Average klicken, wird ein Dialogfenster geöffnet, in dem Sie einstellen können, wie oft eine Zeile abgetastet werden soll. Sie können zwischen 1 bis 8 Wiederholungen des Scanvorganges wählen.

Mit einer parallelen Funktion können Sie auch ganze Bilder im Mittelungsverfahren aufnehmen.

 siehe Bildaufnahme im Mittelungsverfahren (Seite 147)

Typische Anwendungen

Diese Funktion wird vor allem bei der Aufnahme von lebenden Proben angewandt.



Bei bleichempfindlichen Präparaten ist die Bildaufnahme im Mittelungsverfahren nicht zu empfehlen. Die wiederholten Aufnahmen und die damit verbundene lange Lichteinwirkung kann zur Zerstörung des Präparates führen.

Bildaufnahme im Burstbetrieb



Funktion

Bei der Aufnahme von Bildern, bei denen sehr grosse Datenmengen vom Rechner verarbeitet werden müssen, kann es zu einer Verzögerung des Scanvorganges kommen. Die Ursache liegt darin, dass ein aufgenommenes Bild erst auf dem Bildschirm dargestellt wird, bevor weitere Bilder vom Scanner abgetastet werden können. Mit der Burst Funktion ist es möglich, den Scanvorgang des Lasers und die Aktualisierung der Bilddaten auf dem Bildschirm zu entkoppeln. Zu diesem Zweck wird die Weiterleitung der Bilddaten vom Programmspeicher an den Bildschirm verzögert, nicht jedoch der Scanvorgang. Wenn Sie auf die Taste Burst klicken, können Sie Betriebsarten mit unterschiedlichen Verzögerungszeiten auswählen:

Betriebsart	Beschreibung
No Burst	Die Bilddaten werden aufgenommen und simultan kontinuierlich am Bildschirm dargestellt.
Frame Burst	Erst nach der Aufnahme eines Einzelbildes, werden die Bilddaten am Bildschirm dargestellt.
Complete Burst	Erst nach der Aufnahme einer Bildserie, werden die Bilddaten am Bildschirm dargestellt.
Automatic	Die Software stellt automatisch die optimale Betriebsart für eine spezifische Anwendung ein.



Folgende Parameter können die zu verarbeitende Datenmenge so erhöhen, dass es zu einer Verzögerung bei der Darstellung auf dem Bildschirm kommt: Scanformat, Scangeschwindigkeit, Bidirektionaler Scan, die Anzahl der aktiven Detektionskanäle, die Berechnung eines Überlagerungsbildes sowie die Grösse des Ansichtsfensters Viewer.

Bildaufnahme im Mittelungsverfahren



Funktion

Mit der Taste Average wird ein Mittelungsverfahren für die Bildaufnahme gestartet. Dabei wird jedes einzelne Bild, also jeder xy-Schnitt oder xz-Schnitt, mehrmals abgetastet. Aus den wiederholt gemessenen Intensitätswerten wird für jeden Abtastpunkt der arithmetische Mittelwert berechnet und im Ergebnisbild dargestellt. Das hier verwendete Verfahren ermittelt einen fortlaufenden Mittelwert. Das bedeutet, dass nach der Aufnahme des ersten Bildes jedes neu aufgenommene Bild mit dem zuvor dargestellten Bild gemittelt und im Ergebnisbild dargestellt wird (Dynamischer Mittelwert).

Wenn Sie auf die Taste Average klicken, wird ein Dialogfenster geöffnet, in dem Sie einstellen können, wie oft ein Schnitt abgetastet werden soll. Sie können zwischen 1 bis 64 Wiederholungen des Scanvorganges wählen.

Typische Anwendungen

Die Bildaufnahme im Mittelungsverfahren dient vor allem zur Rauschunterdrückung. In der

Fluoreszenzmikroskopie gelangt bei schwach fluoreszierenden Präparaten wenig Licht zum Detektor. Die geringe Photonenzahl führt zu verrauschten Bildern. In einem solchen Fall können Sie durch mehrmaliges Aufnehmen und stetiger Mittelung des Bildes das Signal/ Rausch-Verhältnis verbessern.



Bei bleichempfindlichen Präparaten ist die Bildaufnahme im Mittelungsverfahren nicht zu empfehlen. Die wiederholten Aufnahmen und die damit verbundene lange Lichteinwirkung kann zur Zerstörung des Präparates führen.

Bildaufnahme im Akkumulationsverfahren



Funktion

Mit der Taste Accumulation wird ein Akkumulationsverfahren für die Bildaufnahme verwendet. Dabei wird jedes einzelne Bild, also jeder xy-Schnitt oder xz-Schnitt, mehrmals abgetastet. Die wiederholt gemessenen Intensitätswerte werden für jeden Abtastpunkt addiert und die Summe im Ergebnisbild dargestellt.

Wenn Sie auf die Taste Accumulation klicken, wird ein Dialogfenster geöffnet, in dem Sie einstellen können, wie oft ein Schnitt abgetastet werden soll. Sie können zwischen 1 bis 16 Wiederholungen des Scanvorganges wählen.

Typische Anwendungen

Das Akkumulationsverfahren dient der Verbesserung der Bildqualität bei Bildaufnahmen, bei denen nur schwache Fluoreszenzsignale detektiert werden können.

Bildaufnahme mit einer digitalen Auflösung von 8 Bit oder 12 Bit



Funktion

Mit dieser Funktion werden die vom Detektor gemessenen analogen Intensitätswerte mittels eines AD-Wandlers entweder als 8-Bit-Signal oder 12-Bit-Signal eingelesen.

Zusätzliche Information

Bei der Digitalisierung des analogen Intensitätssignals mit einer digitalen Auflösung von 8 Bit können 256 verschiedene Intensitätswerte dargestellt werden. Unter Berücksichtigung der natürlichen statistischen Schwankungen des typischen Intensitätswertebereichs von Fluoreszenzproben, ist eine Digitalisierung mit 8 Bit für eine Bildaufnahme ohne Informationsverlust in den meisten Fällen völlig ausreichend. Für Proben mit einer größeren Intensitätsdynamik (z.B. bei Proben, bei denen es sehr intensitätsschwache und sehr intensitätsstarke Bereiche gibt) empfiehlt sich die Bildaufnahme mit einer 12-Bit-Digitalisierung. Bei einer 12-Bit-Digitalisierung können 4096 verschiedene Intensitätswerte aufgelöst werden. Allerdings verdoppelt sich dabei auch die zu speichernde Datenmenge.

Typische Anwendungen

Bei der Bildaufnahme von Präparaten mit sehr hoher Intensitätsdynamik (meist Materialproben mit hoher Reflektivität der Oberfläche bei gleichzeitigem Auftreten sehr dunkler Bereiche).

UV-Linsenrad einstellen (option)



Funktion

Diese Funktion vermindert den für jedes Objektiv vorhandenen Fokusversatz zwischen sichtbarem und UV-Anregungslicht auf einen Wert, der unterhalb des optischen Auflösungsvermögens liegt. Um dies zu erreichen wird automatisch für jedes Objektiv, das für die Verwendung mit UV-Anregungslicht geeignet ist, eine geeignete Korrekturlinse in den Strahlengang gebracht. Zur Nutzung dieser Korrekturfunktion sollten Sie wie folgt vorgehen:

▶	Drücken Sie die Taste Objektiv (standardmäßig im Arbeitsschritt Acquire).
▶	📖 siehe Objektiv auswählen (Seite 123)
▶	Wählen Sie aus der Liste eine UV-taugliches Objektiv aus (ist in der Liste gekennzeichnet).

In diesem Fall wird die zum ausgewählten Objektiv passende Korrekturoptik automatisch in den Strahlengang gebracht.



Das Auftreten eines Fokusversatzes zwischen sichtbarem Licht und UV-Licht hat physikalische Ursachen und ist nicht gerätebedingt.

Randbedingung

Um eine automatische Korrektur des physikalisch bedingten Farblängsfehlers zwischen sichtbarem und UV-Licht zu erreichen, reicht es nicht aus, das Objektiv manuell in den Strahlengang zu drehen.

Laserlinie für Bildhintergrund auswählen (ROI Scan)



Funktion

Diese Funktion wird für die Aufnahme von Auswertungsbereichen (ROI Scan) benötigt. Bei diesem Aufnahmeverfahren wird der Bildhintergrund mit einer anderen Anregungswellenlänge aufgenommen als die ausgewählten Auswertungsbereiche (Regions of Interest). Mit der Taste ROI speichern Sie die Lasereinstellungen für den Bildhintergrund, bevor Sie die Anregungswellenlänge getrennt für jeden Auswertungsbereich mit der Taste Configuration festlegen.



Weitere Informationen zu diesem Thema finden Sie im Kapitel „Vorgehensweisen und Übungen zu ausgewählten Prozessen

„ ,Seite 61

Laserlinien für einzelne Auswertungsbereiche auswählen (ROI Scan)



Funktion

Diese Funktion wird für die Aufnahme von Auswertungsbereichen (ROI Scan) benötigt. Bei diesem Aufnahmeverfahren wird der Bildhintergrund mit einer anderen Anregungswellenlänge aufgenommen als die ausgewählten Auswertungsbereiche (Regions of Interest). Mit der Taste Configuration öffnen Sie ein Dialogfenster, indem Sie verschiedene Laserlinien den einzelnen Auswertungsbereichen zuordnen können.



Weitere Informationen zu diesem Thema finden Sie im Kapitel „Vorgehensweisen und Übungen zu ausgewählten Prozessen

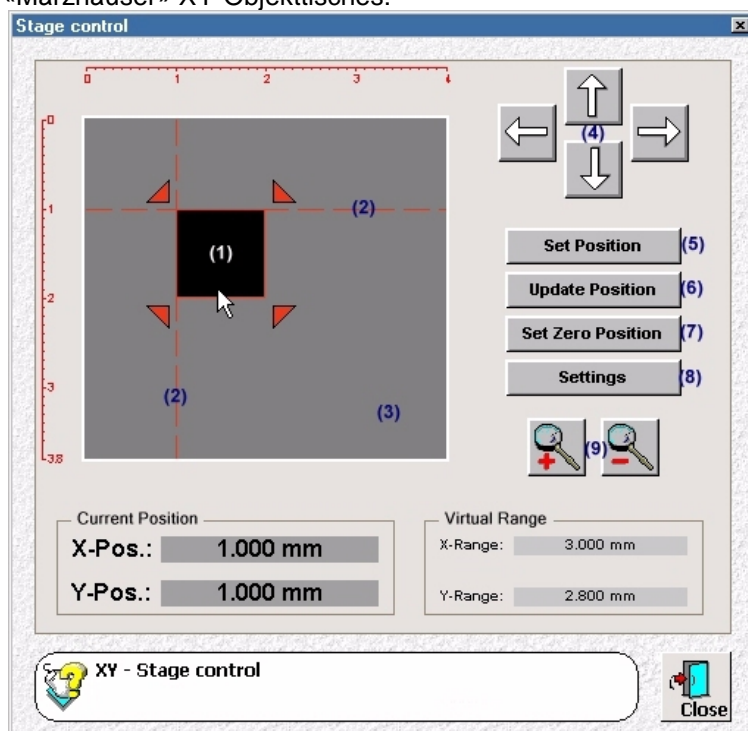
„ ,Seite 61

XY-Objektisch steuern



Funktion der Dialogelemente

Im Dialogfenster XY-Stage Control finden Sie folgende Dialogelemente zur Steuerung des «Märzhäuser» XY-Objektisches:



Das Symbol des Scanfeldes (1) im Dialogfenster ändert seine Größe in Abhängigkeit der Parameter, die auch physikalisch die Größe des Scanfeldes bestimmen. Diese Parameter sind die Objektivvergrößerung, die Strahlaufweitung, das Scanformat und der Elektronische Zoom. Der Schnittpunkt der Führungslinien (2) an der linken oberen Ecke des Scanfeldes dient als Referenzpunkt für die Positionierung des Objektisches. Die Koordinaten dieses Referenzpunktes werden im Feld Current Position angezeigt.

Positionieren des XY-Objektisches

Sie können den XY-Objektisch mit der Schaltfläche Set Position (5), mit dem Mauszeiger, mit den Pfeiltasten im Dialogfenster (4), mit den Pfeiltasten der Tastatur oder mit dem Joystick positionieren.


Positionieren mit der Schaltfläche

- | | |
|---|---|
| ▶ | Klicken Sie auf die Schaltfläche Set Position (5). Es wird ein Dialogfenster geöffnet, in dem Sie die x- und y-Koordinate des Referenzpunktes auf mehrere Kommastellen genau eingeben können. |
|---|---|

Positionieren mit dem Mauszeiger

- | | |
|---|--|
| ▶ | Klicken Sie auf das Scanfeld im Dialogfenster, halten Sie die linke Maustaste gedrückt und ziehen Sie das Scanfeld an die gewünschte Position. Erst beim Loslassen der linken Maustaste wird der Tisch bewegt. |
| ▶ | Um sicherzustellen, dass der Objektisch erst verfahren wird, wenn die gewünschte Position erreicht ist, können Sie eine Verzögerungszeit zwischen Loslassen der Maus und Bewegen des Objektisches einstellen. Klicken Sie auf die Schaltfläche Settings (8) und stellen Sie im Register Delay die Wartezeit ein. |

Positionieren mit den Pfeiltasten

- | | |
|---|---|
| ▶ | <p>Betätigen Sie die vier Pfeiltasten im Dialogfenster (4) oder die Pfeiltasten der Tastatur.</p>  <p><i>Wenn Sie den Objektisch mit den Pfeiltasten der Tastatur positionieren, wird das Scanfeld exakt um die Seitenlänge des Scanfelds verschoben, so dass ein Präparat, das größer ist als das Scanfeld, nahtlos abgetastet werden kann.</i></p> |
| ▶ | Um sicherzustellen, dass der Objektisch erst verfahren wird, wenn die gewünschte Position erreicht ist, können Sie eine Verzögerungszeit zwischen Betätigen der Tasten und Bewegen des Objektisches einstellen. Klicken Sie auf die Schaltfläche Settings (8) und stellen Sie im Register Delay die Wartezeit ein. |

Positionieren mit dem Joystick

- | | |
|---|---|
| ▶ | Wenn Sie den Objektisch mit dem Joystick bewegen, werden die Koordinaten im Feld Current Position nicht aktualisiert. Klicken Sie auf die Schaltfläche Update Position (6) um die aktuelle Position einzublenden. |
|---|---|

Positionierungsgeschwindigkeit einstellen

Die Geschwindigkeit, mit der der Objektisch verfahren wird, und die Zeit, die dafür zur Verfügung steht, ist einstellbar.

- | | |
|---|--|
| ▶ | Klicken Sie auf die Schaltfläche Settings (8) und definieren Sie im Register Speed die minimale und maximale Positionierungsgeschwindigkeit, indem Sie den Schieberegler ziehen oder die entsprechenden Werte in die Eingabefelder eingeben. |
| ▶ | Im Eingabefeld Positioning Time definieren Sie die Positionierungszeit, also die Zeit, in der der Objektisch seine Position erreicht haben muss. Beachten Sie, dass eine hohe Geschwindigkeit eine kurze Positionierungszeit erfordert und eine niedrige Geschwindigkeit eine lange Positionierungszeit. |

Nullpunkt setzen

- ▶ Klicken Sie auf die Schaltfläche Set Zero Position **(7)**, um die aktuelle Position des Objektisches (Schnittpunkt der Führungslinien im Dialogfenster) als Nullpunkt zu definieren. Dieser Wert wird auch in der Legende Hardware geändert.

Maßeinheit des Verfahrbereichs ändern

Die Maßangaben an den Seitenkanten des Verfahrbereichs des Objektisches **(3)** ändern sich entsprechend der ausgewählten Einheit. Es können Nanometer (nm), Mikrometer (mm), Millimeter (mm), Zentimeter (cm) oder Meter (m) eingestellt werden.

- ▶ Klicken Sie auf die Schaltfläche Settings **(8)** und wählen Sie im Register Unit die Maßeinheit aus.

Darstellung des Verfahrbereichs vergrößern

Um den Objektisch auch im Mikrometerbereich noch exakt positionieren zu können, kann die Darstellung von Scanfeld und Verfahrbereich im Dialogfenster vergrößert werden.

- ▶ Klicken Sie auf die Schaltflächen + und – **(9)** und vergrößern oder verkleinern Sie die Darstellung des Verfahrbereichs.

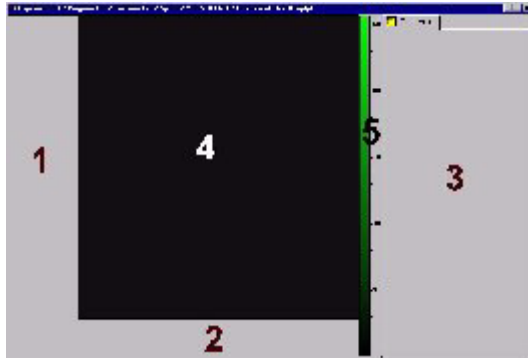


Die Position des XY-Objektisches kann auch mit einem Aufnahmeparametersatz abgespeichert werden. Damit kann der XY-Objektisch auch bei Aufnahmesequenzen eingesetzt werden.

☞ siehe Aufnahmesequenzen konfigurieren (Seite 139)

Datendarstellungsfunktionen

Ansichtsfenster Viewer



In der Standardeinstellung besteht das Ansichtsfenster Viewer aus drei wesentlichen Bereichen. In der Mitte befindet sich das Bildfenster (4), in dem die aufgenommenen Bilder dargestellt werden. Links und unterhalb von diesem Bildfenster können Tastenfelder (1) und (2) und rechts davon die Legende Experiment (3) angeordnet werden. Es ist möglich, andere Standardeinstellungen des Ansichtsfensters auszuwählen und benutzerdefinierte Konfigurationen als Schablone abzuspeichern.

siehe Ansichtsfenster Viewer als Vorlage abspeichern (Seite 241)

Tastenfelder (1) und (2)

Als Standardeinstellung befinden sich im Tastenfeld links vom Bildfenster die Tasten für die Bilddarstellung und im Tastenfeld unterhalb des Bildfensters die Tasten, mit denen man durch die einzelnen Bilder einer Bildserie blättern kann. Beide Tastenfelder können Sie innerhalb des Ansichtsfensters Viewer verschieben oder aus diesem als separates Fenster herausnehmen. Zu diesem Zweck klicken Sie mit dem Mauszeiger auf den Doppelrand des Tastenfeldes und ziehen sie es bei gedrückter Maustaste an die gewünschte Stelle.

Bildfenster (4)

Wenn Sie den Mauszeiger auf eine beliebige Stelle innerhalb des Bildfensters positionieren und auf die rechte Maustaste klicken, wird ein Kontextmenü geöffnet, in dem Ihnen folgende Befehle zur Verfügung stehen:

Befehl	Funktion		
Send to	▶ Experiment	▶ Selection (raw)	Die Rohdaten eines markierten Ausschnitts im Bildfenster werden als neues Bild in das aktuelle Experiment kopiert. Das neue Bild kann weiterverarbeitet werden.
		▶ Selection (snapshot)	Die Bildschirmkopie eines markierten Ausschnitts im Bildfenster wird als neues Bild im aktuellen Experiment angelegt. Das neue Bild kann nicht mehr weiterverarbeitet werden.
		▶ All (snapshot)	Die Bildschirmkopie des gesamten aktuellen Bildfensters wird als neues Bild im aktuellen Experiment angelegt. Das neue Bild kann nicht mehr weiterverarbeitet werden.
	▶ Printer	▶ Selection	Der im Bildfenster markierte Ausschnitt wird gedruckt.
		▶ All	Das gesamte aktuelle Bildfenster wird gedruckt.
Left buttons	Das Tastenfeld links vom Bildfenster wird ein- oder ausgeblendet.		
Bottom buttons	Das Tastenfeld unterhalb des Bildfensters wird ein- oder ausgeblendet.		

LUT	Die Farbzuoordnungstabellen des aktuellen Bildes werden ein- oder ausgeblendet.
Legend	Die Legende Experiment wird ein- oder ausgeblendet.
Full screen	Das Ansichtsfenster Viewer wird auf die volle Bildschirmgröße vergrößert.
Viewer Options	Das Dialogfenster Viewer Options wird geöffnet.

Die **Farbzuoordnungstabellen (5)** werden als Farbleisten rechts neben dem Bildfenster angezeigt. Wenn Sie den Mauszeiger über die jeweilige Farbleiste halten, erscheinen Anfasspunkte am oberen und unteren Ende der Farbleiste. Mit diesen Anfasspunkten können Sie die aktuelle Farbzuoordnungstabelle auf einen bestimmten Intensitätswertebereich begrenzen und eine zweite Farbzuoordnungstabelle laden. Damit haben Sie die Möglichkeit, den Kontrast des Bildes graphisch zu erhöhen.

▶	Ziehen Sie den oberen Anfasspunkt nach unten oder den unteren Anfasspunkt nach oben.
▶	Doppelklicken Sie auf den Bereich oberhalb oder unterhalb des jeweiligen Anfasspunktes.
▶	Das Dialogfenster Select LUT's wird geöffnet, in dem Sie eine zweite Farbzuoordnungstabelle auswählen können.
▶	Der obere und untere Intensitätswertebereich wird in den Farben der jeweiligen zweiten Farbzuoordnungstabelle dargestellt.

📖 siehe Farbzuoordnungstabellen (LUT) auswählen (Seite 166)

Legende Experiment (3)

In der Legende Experiment werden verschiedene Bildparameter einer Bildaufnahme registriert. Sie können festlegen, welche Parameter angezeigt werden, indem Sie auf einen beliebigen Stelle in der Legende klicken. Es wird die Liste aller verfügbaren Einträge geöffnet. Wählen Sie dann den gewünschten Eintrag. Wenn Sie den Mauszeiger über eine beliebige Stelle innerhalb der Legende Experiment halten und auf die rechte Maustaste klicken, stehen Ihnen in einem Kontextmenü noch folgende Befehle zur Verfügung:

Befehl	Funktion
Experiment	▶ Edit Im Dialogfenster Edit Legend kann ein Name für die Legende (Title) eingegeben, die Anzahl der Einträge (Number of legend entries) bestimmt oder alle Einträge gelöscht werden (Clear all entries).
	▶ Activate Die Legende Experiment wird im Ansichtsfenster Viewer angezeigt.
	▶ Remove Die aktuelle Legende Experiment wird gelöscht.
Add Experiment tab	Eine neue Legende Experiment wird im Ansichtsfenster Viewer angelegt.

Legende Hardware

In der Legende Hardware werden die Hardwareeinstellungen einer Bildaufnahme registriert. Um diese Legende zu öffnen, wählen Sie im Menü View die Option Hardware Legend. Um die Einträge auszuwählen, die in der Legende angezeigt werden sollen, klicken Sie auf die Schaltfläche Edit. Es wird das Dialogfenster Edit Legend Entries geöffnet:

▶	Im Listenfeld Available Entries werden alle verfügbaren Einträge eingeblendet. Wählen Sie die Einträge aus, die in der Legende erscheinen sollen. Klicken Sie dann auf die Schaltfläche Add, um diese in das Listenfeld Show entries zu übernehmen.
▶	Im Listenfeld Show entries stehen die Einträge, die in der Legende angezeigt werden. Mit der Schaltfläche Remove können Sie Einträge wieder aus der Legende herausnehmen.
▶	Mit den Schaltflächen Move up und Move down können Sie einzelne oder mehrere Einträge in der Liste nach oben oder unten bewegen.
▶	Mit den Schaltflächen Edit grid color und Edit background color können Sie die Farbe des Rahmens und des Hintergrunds der Legende verändern.

Die Legende Hardware wird automatisch am rechten Rand der Bedienoberfläche angeordnet. Größe

und Position der Legende können Sie jedoch beliebig ändern:

▶	Um die Breite der Legende zu ändern, ziehen Sie mit dem Mauszeiger den Rand an die gewünschte Position.
▶	Um die Position der Legende zu ändern, doppelklicken Sie auf den Doppelrand der Legende oder klicken Sie einmal auf das Symbol ▲. Die Legende wird als Fenster aus der Bedienoberfläche gelöst. Ziehen Sie die Legende jetzt mit gedrückter linker Maustaste an die gewünschte Stelle.



Ist die Legende über die gesamte Breite der Bedienoberfläche vergrößert, lässt sie sich nur wieder an die ursprüngliche Stelle am Rand positionieren, wenn Sie zuerst die Höhe der Legende verkleinern und sie dann erst an den Rand verschieben.

Option New Window

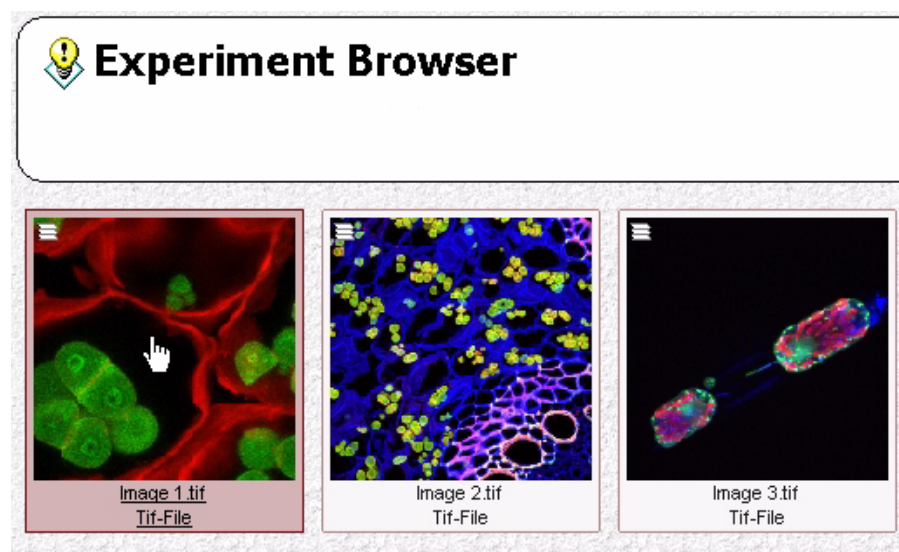
Wenn Sie im Menü Window die Option New Window anklicken, haben Sie die Möglichkeit, ein weiteres Ansichtsfenster zu öffnen, das dasselbe Bild anzeigt wie das aktuell geöffnete Ansichtsfenster. Mit diesem Befehl legen Sie also nicht ein neues Experiment an, sondern öffnen nur eine zweite Ansicht auf die aktuellen Bilddaten. Vorteil dieser Option ist, dass gleichzeitig verschiedene Darstellungen derselben Bilddaten möglich sind. Diese Kopie des aktuellen Ansichtsfensters erhält zur Unterscheidung eine laufende Nummer hinter der Dateiendung.

Aufnahmen als Miniaturansicht im Experiment Browser anzeigen



Funktion

Mit dem Experiment Browser haben Sie die Möglichkeit, alle Aufnahmen eines Experiments als Miniaturansicht anzuzeigen. Damit haben Sie einen Überblick über den vorhandenen Bildbestand und einen schnellen Zugriff auf einzelne Aufnahmen.



▶	Wählen Sie ein Experiment im Ansichtsfenster Experiment Overview aus.
▶	Klicken Sie auf die Taste Browse, um den Experiment Browser zu öffnen. Alle Aufnahmen des

	Experiments werden als Miniaturansicht angezeigt. Bildserien werden als Maximumsprojektion dargestellt.
▶	Klicken Sie auf eine Miniaturansicht, um den vollständigen Bilddatensatz im Ansichtsfenster Viewer zu öffnen.
▶	Klicken Sie wieder auf die Taste Browse, um den Experiment Browser zu schließen.

Dialogfenster Viewer Options

Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol 3D

Funktion

Um das Dialogfenster Viewer Options zu öffnen, wählen Sie im Menü View die Option Experiment Overview.

Das Ansichtsfenster Experiment Overview wird auf der linken Seite der Bedienoberfläche eingeblendet. Im oberen Teil des Ansichtsfensters werden die aufgenommenen Bilder in einem Verzeichnisbaum angezeigt. Im unteren Teil befindet sich das Dialogfenster Viewer Options. In diesem Dialogfenster können Sie Grundeinstellungen für verschiedene Softwarefunktionen vornehmen. Links werden die den Funktionen entsprechenden Bildsymbole und rechts die dazugehörigen Register angezeigt. Wenn Sie das Dialogfenster öffnen, erscheinen die Bildsymbole der Funktionen, mit denen Sie gerade arbeiten. Klicken Sie auf den Befehl Show all, um alle Bildsymbole anzuzeigen.

In den Registern des Bildsymbols 3D können optionale Einstellungen für folgende Funktionen vorgenommen werden:



- 📖 siehe 3D Ansicht drehen (Seite 184)
- 📖 siehe 3D Ansicht verschieben (Seite 185)
- 📖 siehe 3D Ansicht zoomen (Seite 186)

Im **Register Navigation** werden die Zahlenwerte der Aktionen angezeigt, die mit den Tasten Rotate, Move und Zoom (und dem Mauszeiger) ausgeführt werden.

Im **Feld Rotation** können Sie durch Ändern des Winkelgrads der drei Achsen eine 3D Ansicht in alle drei Raumrichtungen kippen. Die 3D Ansicht wird um einen Fixpunkt gedreht, der sich in der Mitte des Bildes befindet. Um die Drehfunktion zu verstehen, ist es am besten den Winkel nur einer Achse zu verändern, während die anderen beiden Achsen auf 0 gestellt sind:

Rotation	Funktion
X von 0° auf 45°	Die 3D Ansicht wird um den Fixpunkt um 45° in Richtung der negativen z-Achse gedreht.
Y von 0° auf 45°	Die 3D Ansicht wird um den Fixpunkt um 45° in Richtung der negativen x-Achse gedreht.
Z von 0° auf 45°	Die 3D Ansicht wird um den Fixpunkt um 45° in Richtung der negativen y-Achse gedreht.

Im **Feld Translation** können Sie durch Ändern der Koordinatenwerte eine 3D Ansicht nach rechts oder links, nach oben oder unten verschieben sowie vergrößern oder verkleinern. Wenn Sie Dezimalzahlen eingeben, verwenden Sie den Punkt als Dezimalzeichen.

Translation	Funktion
-------------	----------

X	Mit positiven Werten wird die 3D Ansicht nach rechts verschoben, mit negativen nach links.
Y	Mit positiven Werten wird die 3D Ansicht vergrößert, mit negativen verkleinert.
Z	Mit positiven Werten wird die 3D Ansicht nach oben verschoben, mit negativen nach unten.

Im **Feld Predefined** können Sie mit einem Klick auf die Schaltflächen Top view und Side view das Bild in einer voreingestellten Draufsicht oder Seitenansicht darstellen.

Im **Register Display** können Sie auf einen der aufgelisteten Befehle klicken, um das entsprechende Gestaltungselement der 3D Ansicht im Ansichtsfenster Viewer ein- oder auszublenden:

Graphic Elements	Funktion
Show LUT	Die ausgewählte Farbuordnungstabelle (color look-up table) an der z-Achse anzeigen.
Show scale	Die Messskala anzeigen.
Show bounding box	Den Quader anzeigen, der das Messvolumen begrenzt.
Show axes	Die Koordinatenachsen anzeigen.
Show data during 3D motion	Die Bilddaten anzeigen, während die 3D Ansicht gedreht, verschoben oder vergrößert und verkleinert wird.

Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Display

Funktion

Um das Dialogfenster Viewer Options zu öffnen, wählen Sie im Menü View die Option Experiment Overview.

Das Ansichtsfenster Experiment Overview wird auf der linken Seite der Bedienoberfläche eingeblendet. Im oberen Teil des Ansichtsfensters werden die aufgenommenen Bilder in einem Verzeichnisbaum angezeigt. Im unteren Teil befindet sich das Dialogfenster Viewer Options. In diesem Dialogfenster können Sie Grundeinstellungen für verschiedene Softwarefunktionen vornehmen. Links werden die den Funktionen entsprechenden Bildsymbole und rechts die dazugehörigen Register angezeigt. Wenn Sie das Dialogfenster öffnen, erscheinen die Bildsymbole der Funktionen, mit denen Sie gerade arbeiten. Klicken Sie auf den Befehl Show all, um alle Bildsymbole anzuzeigen.

In den Registern des Bildsymbols Display können optionale Einstellungen für folgende Funktionen vorgenommen werden:



siehe Film starten und beenden (Seite 171)

Im **Register Settings** kann mit dem graphischen Zoom das im Ansichtsfenster Viewer angezeigte Bild vergrößert oder verkleinert werden:

n-1	Das Bild wird verkleinert, indem n Pixel als 1 Pixel im Ergebnisbild dargestellt werden.
Automatic	Das Bild wird im ursprünglichen Bildformat angezeigt.
1-n	Das Bild wird vergrößert, indem 1 Pixel als n Pixel im Ergebnisbild dargestellt wird.



Die Leica Confocal Software verfügt über drei zu unterscheidende Zoom Funktionen:
den graphischen Zoom, den 3D Zoom und den elektronischen Zoom.

- siehe 3D Ansicht zoomen (Seite 186)
- siehe Elektronischer Zoom (Seite 125)

Klicken Sie in demselben Register auf einen der Auswahlpunkte, um das entsprechende Gestaltungselement im Ansichtsfenster Viewer ein- oder auszublenden:

Coordinates	Die z-Position des aktuellen Bildes wird eingeblendet.
Scale	Ein Massbalken mit Längenangabe wird angezeigt.
Grid	Ein Raster wird über das aktuelle Bild gelegt.

Die Länge des Massbalkens und die Rasterbreite wird in Abhängigkeit des Objektivs, des elektronischen Zooms und der Strahlaufweitung berechnet.

Im **Register Movie** kann die Geschwindigkeit bestimmt werden, mit der die Filmsequenz einer Bildserie ablaufen soll. Sie können einen Wert auswählen zwischen 6 Einzelbildern pro Minute und 25 Einzelbildern pro Sekunde:

	Ziehen Sie mit dem Mauspfel den Schieber auf der Skala auf den gewünschten Wert.
	Wählen Sie den Ping-Pong Modus aus, wenn die Filmsequenz vom ersten zum letzten Bild und dann in umgekehrter Reihenfolge wieder zum ersten Bild ablaufen soll. Ist dieser Modus nicht ausgewählt, beginnt die Filmsequenz immer wieder mit dem ersten Bild.

Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Charts



Funktion

Um das Dialogfenster Viewer Options zu öffnen, wählen Sie im Menü View die Option Experiment Overview.

Das Ansichtsfenster Experiment Overview wird auf der linken Seite der Bedienoberfläche eingeblendet. Im oberen Teil des Ansichtsfensters werden die aufgenommenen Bilder in einem Verzeichnisbaum angezeigt. Im unteren Teil befindet sich das Dialogfenster Viewer Options. In diesem Dialogfenster können Sie Grundeinstellungen für verschiedene Softwarefunktionen vornehmen. Links werden die den Funktionen entsprechenden Bildsymbole und rechts die dazugehörigen Register angezeigt. Wenn Sie das Dialogfenster öffnen, erscheinen die Bildsymbole der Funktionen, mit denen Sie gerade arbeiten. Klicken Sie auf den Befehl Show all, um alle Bildsymbole anzuzeigen.

Im Register des Bildsymbols Charts können optionale Einstellungen für folgende Funktionen vorgenommen werden:

	siehe Messen eines Profils entlang einer Strecke (Seite 224)
	siehe Messen eines Profils innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 223)

	<p>☞ siehe Messen von Oberflächen und Volumen (Seite 226)</p>
	<p>☞ siehe Rauigkeitsmessungen entlang einer Strecke (Seite 243)</p>

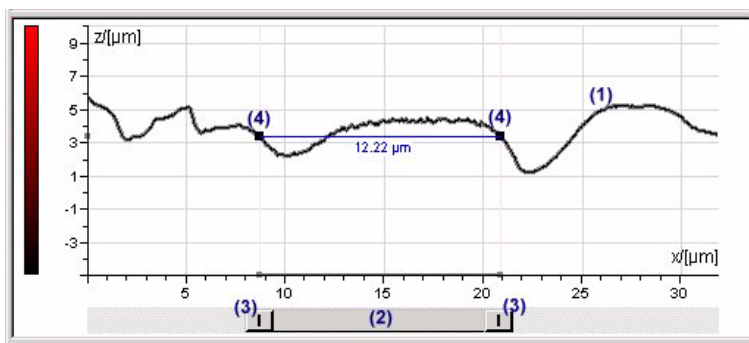
Die Optionen im **Register Charts** können erst angewählt werden, wenn Sie zuvor mit einer dieser Tasten eine Quantifizierungsfunktion aktiviert haben.

Zweipunktmessung aktivieren

- ▶ Klicken Sie im **Feld Measurement** auf 2 Point, um die Zweipunktmessung zu aktivieren.

Jede der oben genannten Tasten öffnet ein Ansichtsfenster, in dem eine Messkurve und statistische Werte angezeigt werden.

Ist die Zweipunktmessung ausgewählt, wird im Ansichtsfenster unterhalb der Messkurve (1) ein Messschieber (2) mit zwei Messpunkten (3) eingeblendet. Die Position der beiden Messpunkte in der Profilkurve wird durch kleine schwarze Quadrate (4) symbolisiert. So kann der auszuwertende Bereich innerhalb der Messkurve mit hoher Genauigkeit eingestellt werden. Zusätzlich wird die Statistik, die unterhalb der Messkurve eingeblendet wird, um folgende Messwerte erweitert: Position der Messpunkte, Abstand der Messpunkte, Messwert an den Messpunkten, Differenz der gemessenen Größe zwischen den Messpunkten.



Position und Länge des Messschiebers ändern

- ▶ Zur Positionsänderung wird der Schieber in der Mitte mit der linken Maustaste angefasst und bei gedrückter linker Maustaste in die gewünschte Position verschoben.
- ▶ Zur Veränderung der Länge des Schiebers wird er an einem Ende mit dem Mauszeiger angefasst und bei gedrückter linker Maustaste vergrößert oder verkleinert.

Skalierung der Messkurve ändern

Standardmäßig wird die Skalierung der Messkurven von der Software automatisch an den Intensitätswertebereich angepasst, der jeweils in einer Bildaufnahme vorliegt. Sie können die Skalierung jedoch auch manuell verändern:

- ▶ Entfernen sie das Häkchen im Kontrollkästchen Auto, um die automatische Skalierung zu deaktivieren.
- ▶ Sie können jetzt getrennt für jede Messkurve (jeden Detektionskanal) den oberen und unteren Grenzwert des Wertebereichs neu definieren.
- ▶ Überprüfen Sie das Resultat der geänderten Skalierung direkt im Ansichtsfenster.

Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Projections

Funktion

Um das Dialogfenster Viewer Options zu öffnen, wählen Sie im Menü View die Option Experiment Overview.

Das Ansichtsfenster Experiment Overview wird auf der linken Seite der Bedienoberfläche eingeblendet. Im oberen Teil des Ansichtsfensters werden die aufgenommenen Bilder in einem Verzeichnisbaum angezeigt. Im unteren Teil befindet sich das Dialogfenster Viewer Options. In diesem Dialogfenster können Sie Grundeinstellungen für verschiedene Softwarefunktionen vornehmen. Links werden die den Funktionen entsprechenden Bildsymbole und rechts die dazugehörigen Register angezeigt. Wenn Sie das Dialogfenster öffnen, erscheinen die Bildsymbole der Funktionen, mit denen Sie gerade arbeiten. Klicken Sie auf den Befehl Show all, um alle Bildsymbole anzuzeigen.

In den Registern des Bildsymbols Projections können optionale Einstellungen für folgende Funktionen vorgenommen werden:



- siehe Maximumprojektion eines Bildstapels bei invariabler Projektionsachse (Seite 176)
- siehe Mittelwertprojektion eines Bildstapels bei invariabler Projektionsachse (Seite 178)
- siehe Transparentprojektion eines Bildstapels bei invariabler Projektionsachse (Seite 180)
- siehe SFP-Projektion eines Bildstapels erzeugen (Seite 182)

Im **Register Projections** stehen Ihnen verschiedene Optionen für die Erzeugung eines Projektionsbildes zur Verfügung. Wählen Sie aus, ob Intensitätsmaxima, das arithmetische Mittel oder ein gewichtetes Mittel der Intensitäten im Projektionsbild dargestellt werden soll. Variieren Sie den Gewichtungsfaktor für die Transparentprojektion. Stellen Sie einen Schwellenwert oder einen Skalierungsfaktor für die darzustellenden Intensitäten ein.

Type	Funktion
Maximum projection	Aus jeder der untersuchten Säulen von Abtastpunkten wird der Abtastpunkt mit der maximalen Intensität als Repräsentant aller Werte innerhalb der Säule im Projektionsbild dargestellt.
Average projection	Aus jeder der untersuchten Säulen von Abtastpunkten wird das arithmetische Mittel der in der Säule gemessenen Intensitäten im Projektionsbild dargestellt.
Transparent projection	Aus jeder der untersuchten Säulen von Abtastpunkten wird ein gewichteter Mittelwert der in der Säule gemessenen Intensitäten im Projektionsbild dargestellt.

Transparent factor	Funktion (nur für Transparentprojektion aktiv)
Ziehen Sie den Schieber auf der Skala	Je höher der Transparentfaktor α ($0 < \alpha < 1$) eingestellt ist, desto stärker fließen die Intensitätswerte aus den unteren Ebenen im Bildstapel in das Projektionsbild ein.

Threshold	Funktion (nur für Mittelwert- und Transparentprojektion aktiv)
Ziehen Sie den Schieber auf der Skala	Intensitäten, die unterhalb des eingestellten Schwellenwertes liegen, werden für die Berechnung des Projektionsbildes nicht mehr berücksichtigt.

Scaling	Funktion (nur für Mittelwert- und Transparentprojektion aktiv)
Rescale to maximum	Die gemessenen Intensitätswerte werden auf die maximal möglichen Intensitätswerte normiert.

Im **Register SFP** stehen Optionen für die Erzeugung eines SFP-Projektionsbildes zur Verfügung.

📖 siehe Prinzip und Arten von Projektionen (Seite 173)

Feld	Funktion
Light Direction	Geben Sie hier jeweils eine Koordinate für x und y ein. für den Projektionswinkel der SFP-Projektion ein. Dieser Winkel symbolisiert den Einfallswinkel des Laserstrahls auf das Präparat. Klicken Sie auf die Schaltfläche Apply, um die Projektion mit dem neuen Winkel zu erzeugen.
Absorption	Variieren Sie mit dem Schieber den Absorptionskoeffizienten α . Je höher er eingestellt ist, desto kleiner werden die im Projektionsbild berechneten Werte. Ist der Koeffizient niedrig eingestellt, erreichen viele Pixel im Projektionsbild den Maximalwert, so dass die Strukturen immer schwieriger zu unterscheiden sind.
Threshold	Definieren Sie mit dem Schieber einen Schwellenwert. Die Intensitätswerte unterhalb dieses Wertes werden für die Erzeugung des Projektionsbildes nicht berücksichtigt.
Rescale to maximum	Die Intensitätswerte des Bildes werden auf die maximal möglichen Intensitätswerte normiert. Dies gewährleistet, dass die errechneten Grauwerte des Projektionsbildes innerhalb des Wertebereichs von zum Beispiel 0 bis 255 bei 8 Bit bleiben. Dunkle Bilder können so aufgehellt werden.

Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Overlay

Aufbau des Ansichtsfensters Experiment Overview

Um das Dialogfenster Viewer Options zu öffnen, wählen Sie im Menü View die Option Experiment Overview.

Das Ansichtsfenster Experiment Overview wird auf der linken Seite der Bedienoberfläche eingeblendet. Im oberen Teil des Ansichtsfensters werden die aufgenommenen Bilder in einem Verzeichnisbaum angezeigt. Im unteren Teil befindet sich das Dialogfenster Viewer Options. In diesem Dialogfenster können Sie Grundeinstellungen für verschiedene Softwarefunktionen vornehmen. Links werden die den Funktionen entsprechenden Bildsymbole und rechts die dazugehörigen Register angezeigt. Wenn Sie das Dialogfenster öffnen, erscheinen die Bildsymbole der Funktionen, mit denen Sie gerade arbeiten. Klicken Sie auf den Befehl Show all, um alle Bildsymbole anzuzeigen.

Im Register des Bildsymbols Overlay können optionale Einstellungen für folgende Funktionen vorgenommen werden:



📖 siehe Überlagerungsbild anzeigen (Seite 169)

Im **Register Overlay** können Sie zwischen drei Arten wählen, wie aus den Rohdaten und den dazugehörigen Farbzuordnungstabellen ein Überlagerungsbild erzeugt wird:

Color Merging	Funktion
True Color (add RGBs)	Die Farbwerte der Pixel in den Ursprungsbildern werden gemittelt und im Überlagerungsbild dargestellt.
True Color (add RGBs) with dynamic adjustment	Die Farbwerte der Pixel in den Ursprungsbildern werden gemittelt, auf die maximal möglichen Farbwerte normiert und im Überlagerungsbild dargestellt.
Fast (bitwise "OR" RGB)	Die Farbwerte der Pixel in den Ursprungsbildern werden über einen schnellen bitweisen Rechenprozess gemischt und im Überlagerungsbild dargestellt. 📖 siehe Boolesche Verknüpfungen (Seite 248)

Coloring	Funktion
Only Red/ Green/ Blue	Für die Erzeugung des Überlagerungsbildes werden immer die Farbzuoordnungstabellen Rot, Grün und Blau verwendet, unabhängig von den aktuellen Farbzuoordnungstabellen der Ursprungsbilder.

Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Scan Progress

Funktion

Um das Dialogfenster Viewer Options zu öffnen, wählen Sie im Menü View die Option Experiment Overview.

Das Ansichtsfenster Experiment Overview wird auf der linken Seite der Bedienoberfläche eingeblendet. Im oberen Teil des Ansichtsfensters werden die aufgenommenen Bilder in einem Verzeichnisbaum angezeigt. Im unteren Teil befindet sich das Dialogfenster Viewer Options. In diesem Dialogfenster können Sie Grundeinstellungen für verschiedene Softwarefunktionen vornehmen. Links werden die den Funktionen entsprechenden Bildsymbole und rechts die dazugehörigen Register angezeigt. Wenn Sie das Dialogfenster öffnen, erscheinen die Bildsymbole der Funktionen, mit denen Sie gerade arbeiten. Klicken Sie auf den Befehl Show all, um alle Bildsymbole anzuzeigen.

Im Register des Bildsymbols Scan Progress können optionale Einstellungen für folgende Funktionen vorgenommen werden:



siehe Scanmodus auswählen (Seite 129)

Im **Register Scan Progress** wird der aktuell eingestellte Scanmodus angezeigt. Außerdem kann der Status einer Bildaufnahme anhand einer Verlaufsanzeige überprüft werden.

Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Surface View

Funktion

Um das Dialogfenster Viewer Options zu öffnen, wählen Sie im Menü View die Option Experiment Overview.

Das Ansichtsfenster Experiment Overview wird auf der linken Seite der Bedienoberfläche eingeblendet. Im oberen Teil des Ansichtsfensters werden die aufgenommenen Bilder in einem Verzeichnisbaum angezeigt. Im unteren Teil befindet sich das Dialogfenster Viewer Options. In diesem Dialogfenster können Sie Grundeinstellungen für verschiedene Softwarefunktionen vornehmen. Links werden die den Funktionen entsprechenden Bildsymbole und rechts die dazugehörigen Register angezeigt. Wenn Sie das Dialogfenster öffnen, erscheinen die Bildsymbole der Funktionen, mit denen Sie gerade arbeiten. Klicken Sie auf den Befehl Show all, um alle Bildsymbole anzuzeigen.

Im Register des Bildsymbols Surface View können optionale Einstellungen für folgende Funktionen vorgenommen werden:



siehe 3D Ansicht erzeugen (Seite 184)

Im **Register Visualization** können Sie auswählen, ob die 3D Ansicht als Flächenbild (Surface), als Drahtgitterbild (Wireframe) oder als Isolinienbild (Isolines) ausgeführt werden soll und die Perspektive bestimmen, in der die 3D Ansicht dargestellt wird:

Render Mode	Funktion
Surface	Die Zwischenräume zwischen den Bildpunkten werden mit Flächen gefüllt.
Wireframe	Alle Bildpunkte werden mit Linien verbunden, die Zwischenräume bleiben frei.
Isolines	Bildpunkte, die Werten mit gleicher Intensität entsprechen, werden von einer Kurve umschlossen.

Projection Type	Funktion
Perspective	Die 3D Ansicht wird in Zentralperspektive dargestellt.
Parallel	Die 3D Ansicht wird in Parallelperspektive dargestellt.

Im **Feld Stretch height (factor)** haben Sie die Möglichkeit, den Skalierfaktor in z-Richtung zu variieren und damit die 3D Ansicht in der Höhe zu strecken oder zu schrumpfen.

Im **Feld Downsample rate** kann die Informationsdichte der 3D Ansicht reduziert werden, um die Bildverarbeitung zu beschleunigen. Bei einer Bildpunktdichte von 1:1 werden alle gemessenen Intensitätswerte im Bild dargestellt. Bei einer Bildpunktdichte von 1:2 fließt nur jeder zweite Intensitätswert in das Bild ein.

Im **Feld Isoline interval** definieren Sie einen Abstand in μm , der die einzelnen Isolinien trennen soll. Damit können Sie die Anzahl der Isolinien in der 3D Ansicht begrenzen.

Im **Feld Isoline detail level** bestimmen Sie durch Eingabe eines Grenzwertes, dass nur Isolinien mit einer bestimmten Länge in der 3D Ansicht dargestellt werden. Damit werden nur die Isolinien angezeigt, die einem mit einer bestimmten Häufigkeit auftretenden Intensitätswert entsprechen.

Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Surface Measure

Funktion

Um das Dialogfenster Viewer Options zu öffnen, wählen Sie im Menü View die Option Experiment Overview.

Das Ansichtsfenster Experiment Overview wird auf der linken Seite der Bedienoberfläche eingeblendet. Im oberen Teil des Ansichtsfensters werden die aufgenommenen Bilder in einem Verzeichnisbaum angezeigt. Im unteren Teil befindet sich das Dialogfenster Viewer Options. In diesem Dialogfenster können Sie Grundeinstellungen für verschiedene Softwarefunktionen vornehmen. Links werden die den Funktionen entsprechenden Bildsymbole und rechts die dazugehörigen Register angezeigt. Wenn Sie das Dialogfenster öffnen, erscheinen die Bildsymbole der Funktionen, mit denen Sie gerade arbeiten. Klicken Sie auf den Befehl Show all, um alle Bildsymbole anzuzeigen.

Im Register des Bildsymbols Surface Measure können optionale Einstellungen für folgende Funktionen vorgenommen werden:



siehe Rauigkeitsmessungen entlang einer Strecke (Seite 243)

Im **Feld Levelling** stehen Optionen zur Verfügung, um Messkurven eines Rauigkeitsprofils, die einen Trendverlauf aufweisen, mittels einer Anpassungsfunktion in eine horizontale Lage zu bringen.

Zu diesem Zweck wird eine lineare Interpolationsfunktion (Polynom) an die Messkurve angepasst.

- 📖 siehe Arbeitsschritt Process / Ordner Materials (Seite)
- 📖 siehe Anpassungsfunktion zur Korrektur von Trendverläufen

None	Es wird keine Anpassungsfunktion auf die Messkurve angewendet.
Automatic linear	Die Messkurve wird mittels einer linearen Anpassungsfunktion in eine horizontale Lage gebracht.
Interactive level	Die Lage der Messkurve wird mittels der linearen Anpassungsfunktion so korrigiert, dass die Strecke zwischen den beiden Messpunkten in der Horizontalen liegt.
Freeze	Die neu positionierte Messkurve wird verriegelt, so dass die Position der Messpunkte wieder verändert werden kann, ohne dass die Messkurve interaktiv angepasst wird.

Im **Feld Multipoint Measurement** besteht die Möglichkeit, die beiden Messpunkte sowie die Höhendifferenz zwischen den Messpunkten zu speichern.

▶	Klicken Sie auf die Schaltfläche Remember, um die Werte zu speichern. Mit der Schaltfläche Clear werden sie wieder gelöscht.
---	--

Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Surface Calculation

Funktion

Um das Dialogfenster Viewer Options zu öffnen, wählen Sie im Menü View die Option Experiment Overview.

Das Ansichtsfenster Experiment Overview wird auf der linken Seite der Bedienoberfläche eingeblendet. Im oberen Teil des Ansichtsfensters werden die aufgenommenen Bilder in einem Verzeichnisbaum angezeigt. Im unteren Teil befindet sich das Dialogfenster Viewer Options. In diesem Dialogfenster können Sie Grundeinstellungen für verschiedene Softwarefunktionen vornehmen. Links werden die den Funktionen entsprechenden Bildsymbole und rechts die dazugehörigen Register angezeigt. Wenn Sie das Dialogfenster öffnen, erscheinen die Bildsymbole der Funktionen, mit denen Sie gerade arbeiten. Klicken Sie auf den Befehl Show all, um alle Bildsymbole anzuzeigen.

Im Register des Bildsymbols Surface Calculation können optionale Einstellungen für folgende Funktionen vorgenommen werden:




- 📖 siehe Topographiebild erzeugen

Im **Register Topography** stehen Ihnen verschiedene Optionen für die Erzeugung eines Topographiebildes zur Verfügung. Wählen Sie aus, ob Intensitätsmaxima oder Flächenschwerpunkte der Intensitäten im Topographiebild als Höhe interpretiert werden sollen. Bestimmen Sie die Art der Visualisierung von Höhe im Topographiebild und stellen Sie einen Schwellenwert für die darzustellenden Intensitäten ein.

Surface Reconstruction	Funktion
Search maximum intensity	Aus jeder der untersuchten Säulen aus Abtastpunkten wird der Abtastpunkt mit der maximalen Intensität als Repräsentant aller Werte innerhalb der Säule im Topographiebild dargestellt.
Calculate center of	Aus jeder der untersuchten Säulen aus Abtastpunkten wird der

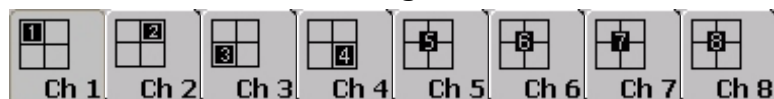
mass of intensities	Schwerpunkt der Fläche, die von der Kurve der gemessenen Intensitätswerte begrenzt wird, im Topographiebild dargestellt.
---------------------	--

Topography Processing	Funktion
Invert height	Die Säule aus Abtastpunkten wird in umgekehrter Richtung untersucht. Damit wird die Höheninformation umgekehrt. Ein Negativ des Topographiebildes wird dargestellt.
Level	Die horizontale Lage einer Aufnahme wird mittels einer linearen Interpolationsfunktion (Polynom) korrigiert.  siehe Arbeitsschritt Process / Ordner Materials (Seite 212)

Threshold	Funktion
Ziehen Sie den Schieber auf der Skala oder geben Sie einen Zahlenwert ein.	Intensitäten, die unterhalb des eingestellten Schwellenwertes liegen, werden für die Berechnung des Topographiebildes nicht mehr berücksichtigt.



Anzeigen der Detektionskanäle

Detektionskanal 1-8 anzeigen



Funktion


Mit einem Klick auf die Taste Channel 1-8 werden im Ansichtsfenster Viewer die Bilddaten eingeblendet, die im Detektionskanal 1-8 aufgenommen wurden. Sie können dem Detektionskanal eine von vielen Farbzuoordnungstabellen zuweisen. Dies ist sowohl im Ergebnisbild als auch während der Bildaufnahme möglich. Öffnen Sie zu diesem Zweck das Dialogfenster Select Look-up Tables. Sie haben zwei Möglichkeiten, um das Dialogfenster zu öffnen.

	Klicken Sie auf die Taste Select Look-up Tables.
	Halten Sie den Mauszeiger über eine beliebige Stelle im Ansichtsfenster Viewer. Klicken Sie auf die rechte Maustaste. Es erscheint ein Kontextmenü, in dem Sie auf LUT klicken. Im Ansichtsfenster werden die Farbleisten der aktiven Detektionskanäle eingeblendet. Doppelklicken Sie auf die entsprechende Farbleiste.

 siehe Farbzuoordnungstabellen (LUT) auswählen (Seite 166)



Diese Methode der Zuordnung von Farbzuoordnungstabellen beeinflusst nur die aktuelle Bilddarstellung. Sobald Sie einen neuen Scanvorgang starten, werden wieder die im Dialogfenster Beam Path Setting eingestellten Farbzuoordnungstabellen verwendet.

 siehe Strahlengang einstellen (Seite 119)

Bild(er) im Ansichtsfenster Viewer zoomen



Funktion

Wenn Sie auf die Taste Display klicken, öffnet sich ein Listenfeld, in dem Sie den graphischen Zoom einstellen können. Damit wird das im Ansichtsfenster Viewer angezeigte Bild vergrößert oder verkleinert:

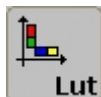
n-1	Das Bild wird verkleinert, indem n Pixel als 1 Pixel im Ergebnisbild dargestellt werden.
Automatic	Das Bild wird im ursprünglichen Bildformat angezeigt.
1-n	Das Bild wird vergrößert, indem 1 Pixel als n Pixel im Ergebnisbild dargestellt wird.



Die Leica Confocal Software verfügt über drei zu unterscheidende Zoom Funktionen: den graphischen Zoom, den 3D Zoom und den elektronischen Zoom.

- siehe 3D Ansicht zoomen (Seite 186)
- siehe Elektronischer Zoom (Seite 125)

Farbzuordnungstabellen (LUT) auswählen



Funktion

Mit der Taste Look-up Tables öffnen Sie ein Dialogfenster, in dem Sie den Detektionskanälen jeweils eine Farbzuordnungstabelle zuweisen können. Die Einstellung der Farbzuordnungstabellen kann sowohl am Ergebnisbild als auch während der Bildaufnahme vorgenommen werden:

▶	Klicken Sie im Feld Select Channel auf den Detektionskanal, dem Sie eine neue Farbzuordnungstabelle zuordnen wollen.
▶	Wählen Sie im Feld Select LUT die gewünschte Farbzuordnungstabelle aus.
▶	Klicken Sie auf die Schaltfläche Apply, um das Ergebnis am Ansichtsfenster Viewer zu überprüfen.

Sie können das Dialogfenster Select LUT's auch über das Ansichtsfenster Viewer öffnen.

▶	Halten Sie den Mauszeiger über eine beliebige Stelle im Bildfenster des Ansichtsfensters Viewer. Klicken Sie dann auf die rechte Maustaste. Es erscheint ein Kontextmenü, in dem Sie auf LUT klicken.
▶	Im Ansichtsfenster werden die Farbleisten der aktiven Detektionskanäle rechts neben dem Bildfenster eingeblendet. Doppelklicken Sie auf eine der Farbleisten.

Eine zweite Farbzuordnungstabelle laden

Wenn Sie den Mauszeiger über die jeweilige Farbleiste halten, erscheinen Anfasspunkte am oberen und unteren Ende der Farbleiste. Mit diesen Anfasspunkten können Sie die aktuelle Farbzuordnungstabelle auf einen bestimmten Intensitätswertebereich begrenzen und eine zweite Farbzuordnungstabelle laden:

▶	Ziehen Sie den oberen Anfasspunkt nach unten oder den unteren Anfasspunkt nach oben.
▶	Doppelklicken Sie auf den Bereich oberhalb oder unterhalb des jeweiligen Anfasspunktes.
▶	Das Dialogfenster Select LUT's wird geöffnet, in dem Sie eine zweite Farbzuoordnungstabelle auswählen können.
▶	Der obere und untere Intensitätswertebereich wird in den Farben der jeweiligen zweiten Farbzuoordnungstabelle dargestellt.



Diese Methode der Zuordnung von Farbzuoordnungstabellen beeinflusst nur die aktuelle Bilddarstellung. Sobald Sie einen neuen Scanvorgang starten, werden wieder die im Dialogfenster Beam Path Setting eingestellten Farbzuoordnungstabellen verwendet.

☞ siehe Strahlengang einstellen (Seite 119)

Typische Anwendungen

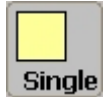
Grundsätzlich ist die Wahl einer geeigneten Farbzuoordnungstabelle für eine bestimmte Anwendung vom Empfinden des Benutzers abhängig. Die Erfahrung zeigt jedoch, dass sich einzelne Farbzuoordnungstabellen für bestimmte Anwendungen besonders gut eignen:

Farbzuoordnungstabelle	Anwendung
Green	Wird üblicherweise für die Aufnahme von Präparaten verwendet, die mit FITC, Cy2, DTAF und ähnlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert wurden, die im grünen Spektralbereich emittieren.
Red	Wird üblicherweise für die Aufnahme von Präparaten verwendet, die mit TRITC, Texas Red, Cy3, Rodamin und ähnlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert wurden, die im roten Spektralbereich emittieren.
Blue	Wird üblicherweise für die Aufnahme von Präparaten verwendet, die mit UV-Fluoreszenzfarbstoffen wie DAPI oder Hoechst oder ähnlichen Farbstoffen markiert wurden, die im blauen Spektralbereich emittieren.
Gray	Wird üblicherweise für die Darstellung von Transmissionsaufnahmen verwendet.
P. Color 1	Eignet sich besonders für die Darstellung von 12 Bit Bildern.
P. Color 2, 3, 4, 5, 6	Werden üblicherweise für die Aufnahme von Präparaten verwendet, die mit pH-sensitiven bzw. ionensensitiven Fluoreszenzfarbstoffen markiert wurden sowie für die Darstellung von Zeitserien.
Geo (<u>L</u> and), Geo (<u>S</u> ea) Geo (<u>L</u> and & <u>S</u> ea) R & B	Sind für die Erzeugung von Topographiebildern, also für die Abbildung von Oberflächenstrukturen, empfehlenswert. Insbesondere Geo Land & Sea eignet sich zur Visualisierung von Vertiefungen oder Stufen.
Glow, Glow (<u>O</u> ver), Glow (<u>U</u> nder), Glow (<u>O</u> ver & <u>U</u> nder)	Sind für die Optimierung des Bildkontrastes (Offset und Gain der Detektoren) zu empfehlen. Glow Over hebt Intensitäten am oberen Tabellenrand blau hervor, Glow Under stellt Intensitäten am unteren Tabellenrand grün dar. Glow Over and Under ist eine Kombination aus diesen beiden Farbtabelen.
<u>C</u> yan, <u>M</u> agenta, <u>Y</u> ellow	Sind für den Ausdruck eines Bildes zu empfehlen. Die sogenannten <u>CMY(K)</u> Farben werden zur Farbausgabe auf Drucksystemen verwendet. RGB Farben, wie die anderen hier genutzten Farbzuoordnungstabellen, werden für die Farbdarstellung auf Monitoren eingesetzt. Da es sich hier um zwei unterschiedliche Farbsysteme handelt, können sich die Farben in der CMY(K) Darstellung stark von der Darstellung auf dem Monitor unterscheiden.

Alle Farbzuoordnungstabellen sind auch mit inversem Farbverlauf verfügbar, das heißt hohe

Intensitäten werden dunkel, niedrige Intensitäten hell dargestellt.

Einzelbild anzeigen



Funktion

Wenn Sie auf die Taste Single klicken, wird nur ein Detektionskanal oder mehrere Detektionskanäle in nur einem Bild im Ansichtsfenster Viewer dargestellt. Je nachdem welche weiteren Tasten Sie gleichzeitig noch aktivieren, sind folgende Darstellungsarten möglich:

Tastenkombination	Darstellung
Single + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Nur ein ausgewählter Detektionskanal wird dargestellt, bei einer Bildserie das erste Bild des ausgewählten Detektionskanals.
Single + Gallery + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Alle Einzelbilder einer Bildserie werden nur für einen ausgewählten Detektionskanal dargestellt.
Single + Overlay + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Von allen ausgewählten Detektionskanälen wird ein einziges Überlagerungsbild erzeugt, bei einer Bildserie wird jeweils das erste Bild verwendet.
Single + Gallery + Overlay + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Entsprechend der Anzahl von Einzelbildern einer Bildserie werden Überlagerungsbilder aus allen ausgewählten Detektionskanälen erzeugt.



Die Taste Single und die Taste Tiled können nicht gleichzeitig aktiv sein, da mit ihnen zwei sich ausschließende Funktionen aktiviert werden.

Mehrfachbild anzeigen



Funktion

Wenn Sie auf die Taste Tiled klicken, werden die Detektionskanäle getrennt im Ansichtsfenster Viewer dargestellt. Je nachdem welche weiteren Tasten Sie gleichzeitig noch aktivieren, sind folgende Darstellungsarten möglich:

Tastenkombination	Darstellung
Tiled + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Alle ausgewählten Detektionskanäle werden getrennt dargestellt, bei einer Bildserie wird jeweils das erste Bild verwendet.
Tiled + Gallery + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Alle Einzelbilder einer Bildserie werden für alle ausgewählten Detektionskanäle getrennt dargestellt.
Tiled + Overlay + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Alle ausgewählten Detektionskanäle werden getrennt und zusätzlich zusammen in einem Überlagerungsbild dargestellt. Bei einer Bildserie wird jeweils das erste Bild verwendet.
Tiled + Gallery + Overlay + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Alle Einzelbilder einer Bildserie werden getrennt für alle ausgewählten Detektionskanäle und zusätzlich zusammen in Überlagerungsbildern dargestellt.



Die Taste Tiled und die Taste Single können nicht gleichzeitig angeklickt werden, da mit ihnen zwei sich ausschließende Funktionen aktiviert werden.

Überlagerungsbild anzeigen



Funktion

Wenn Sie auf die Taste Overlay klicken, werden alle ausgewählten Detektionskanäle zusammen in einem Überlagerungsbild im Ansichtsfenster Viewer dargestellt. Im Gegensatz zur Taste Overlay rgb werden die Detektionskanäle immer mit den aktuell eingestellten Farbzusordnungsstabellen dargestellt. Zu diesem Zweck werden die Farbwerte der Pixel gemittelt. Je nachdem welche weiteren Tasten Sie gleichzeitig noch aktivieren, sind folgende Darstellungsarten möglich:

Tastenkombination	Darstellung
Overlay + Single + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Von allen ausgewählten Detektionskanälen wird ein einziges Überlagerungsbild erzeugt, bei einer Bildserie wird jeweils das erste Bild verwendet.
Overlay + Single + Gallery + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Entsprechend der Anzahl von Einzelbildern einer Bildserie werden Überlagerungsbilder aus allen ausgewählten Detektionskanälen erzeugt.
Overlay + Tiled + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Alle ausgewählten Detektionskanäle werden getrennt und zusätzlich zusammen in einem Überlagerungsbild dargestellt, bei einer Bildserie wird jeweils das erste Bild verwendet.
Overlay + Tiled + Gallery + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Alle Einzelbilder einer Bildserie werden getrennt für alle ausgewählten Detektionskanäle und zusätzlich zusammen in Überlagerungsbildern dargestellt.

Im Dialogfenster Viewer Options können Sie zwischen drei verschiedenen Arten der Farbmischung für die Erzeugung eines Überlagerungsbildes wählen:

▶	Wählen Sie im Menü View die Option Viewer Options.
▶	Klicken Sie auf das Bildsymbol Overlay.

📖 siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Overlay (Seite 161)

Darstellung von Bildserien

Erstes Bild einer Serie anzeigen



Funktion

Die bei einer Bildserie aufgenommen Einzelbilder können Sie als Filmsequenz ablaufen lassen. Klicken Sie auf die Taste First, um zum ersten Bild der Serie zu springen.



Ist die Taste Gallery angeklickt, sind die Tasten First und Last, Next und Previous und Play/Stop grau unterlegt und können nicht betätigt werden. Mit der Taste Gallery werden alle Einzelbilder einer Bildserie eingeblendet, und können somit nicht als Filmsequenz abgespielt werden.

Nächstes Bild in einer Serie anzeigen



Funktion

Die bei einer Bildserie aufgenommen Einzelbilder können Sie als Filmsequenz ablaufen lassen. Klicken Sie auf die Taste Next, um das nachfolgende Bild in der Serie anzuzeigen.



Ist die Taste Gallery angeklickt, sind die Tasten Next und Previous, First und Last und Play/Stop grau unterlegt und können nicht betätigt werden. Mit der Taste Gallery werden alle Einzelbilder einer Bildserie eingeblendet, und können somit nicht als Filmsequenz abgespielt werden.

Vorheriges Bild in einer Serie anzeigen



Funktion

Die bei einer Bildserie aufgenommen Einzelbilder können Sie als Filmsequenz ablaufen lassen. Klicken Sie auf die Taste Previous, um das vorherige Bild in dieser Serie anzuzeigen.



Ist die Taste Gallery angeklickt, sind die Tasten Next und Previous, First und Last und Play/Stop grau unterlegt und können nicht betätigt werden. Mit der Taste Gallery

werden alle Einzelbilder einer Bildserie eingeblendet, und können somit nicht als Filmsequenz abgespielt werden.

Letztes Bild einer Serie anzeigen



Last

Funktion

Die bei einer Bildserie aufgenommen Einzelbilder können Sie als Filmsequenz ablaufen lassen. Klicken Sie auf die Taste Last, um zum letzten Bild der Serie zu springen.



Ist die Taste Gallery angeklickt, sind die Tasten First und Last, Next und Previous und Play/Stop grau unterlegt und können nicht betätigt werden. Mit der Taste Gallery werden alle Einzelbilder einer Bildserie eingeblendet, und können somit nicht als Filmsequenz abgespielt werden.

Beliebiges Bild einer Serie anzeigen



Sel

Funktion

Wenn Sie auf die Taste Selection klicken, wird ein Dialogfenster geöffnet, in dem Sie jedes beliebige Bild in einer Serie auswählen und im Ansichtsfenster Viewer anzeigen können. Unter der Skala wird die Zahl der Einzelbilder der Serie von 1 bis n angezeigt und in einem Eingabefeld die Nummer des aktuell dargestellten Bildes.

▶	Bewegen Sie mit dem Mauszeiger den Schieber der Skala. Das entsprechende Bild wird sofort angezeigt.
▶	Geben Sie die Nummer des gewünschten Bildes in das Eingabefeld ein und klicken Sie auf Apply.

Film starten und beenden



Play

Funktion

Die bei einer Bildserie aufgenommenen Einzelbilder können Sie als Filmsequenz ablaufen lassen. Mit der Taste Play/Stop starten und beenden Sie diesen Film. Die Filmgeschwindigkeit, also die Anzahl der Einzelbilder pro Zeiteinheit, ist variabel und kann im Dialogfenster Viewer Options eingestellt werden:

▶	Wählen Sie im Menü View die Option Viewer Options.
▶	klicken Sie auf das Bildsymbol Display und dann auf das Register Movie.

📖 siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Display (Seite 157)



Ist die Taste Gallery angeklickt, sind die Tasten Play/Stop, First und Last, Next und Previous grau unterlegt und können nicht betätigt werden. Mit der Taste Gallery werden alle Einzelbilder einer Bildserie eingeblendet, und können somit nicht als Filmsequenz abgespielt werden.

Serienbild anzeigen



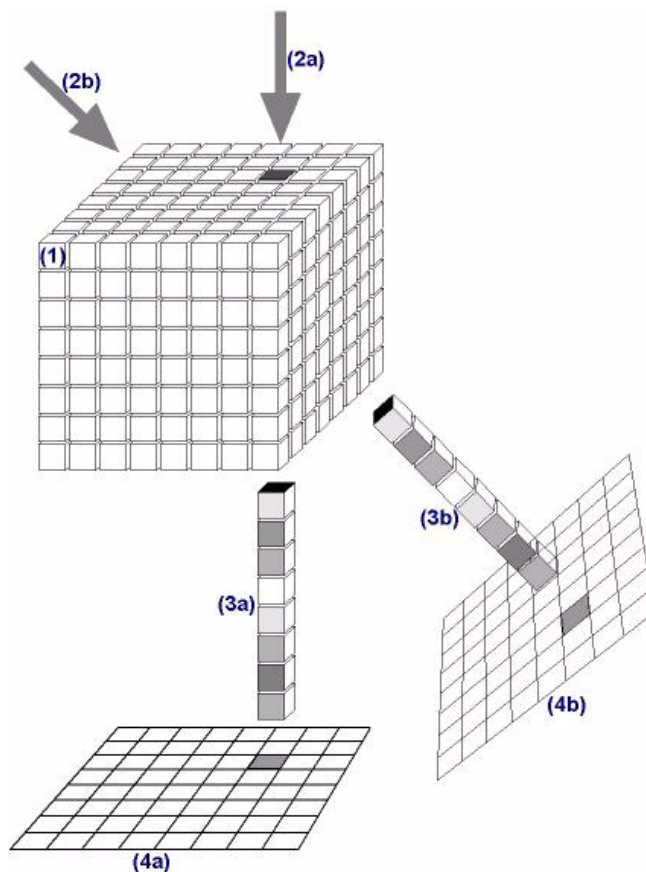
Funktion

Wenn Sie auf die Taste Gallery klicken, werden alle Einzelbilder einer Bildserie im Ansichtsfenster Viewer dargestellt. Je nachdem welche weiteren Tasten Sie gleichzeitig noch aktivieren, sind folgende Darstellungsarten möglich:

Tastenkombination	Darstellung
Gallery + Single + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Alle Einzelbilder einer Bildserie werden nur für einen ausgewählten Detektionskanal dargestellt.
Gallery + Single + Overlay + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Entsprechend der Anzahl von Einzelbildern einer Bildserie werden Überlagerungsbilder aus allen ausgewählten Detektionskanälen erzeugt.
Gallery + Tiled + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Alle Einzelbilder einer Bildserie werden für alle ausgewählten Detektionskanäle getrennt dargestellt.
Gallery + Tiled + Overlay + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Alle Einzelbilder einer Bildserie werden getrennt für alle ausgewählten Detektionskanäle und zusätzlich zusammen in Überlagerungsbildern dargestellt.

Projektionen

Prinzip und Arten von Projektionen



(2a) Projektion bei invariabler Projektionsachse

(2b) Projektion bei variabler Projektionsachse

Das Funktionsprinzip von Projektionen

Für die Aufnahme von biologischen Präparaten wird eine Serie von Bildern erzeugt. Jedes Einzelbild wird auf einer bestimmten Ebene im Präparat aufgenommen. Das Ergebnis ist ein dreidimensionaler Datensatz, der das gesamte Volumen eines Präparates abbildet. Jeder optische Schnitt, das heißt jedes Einzelbild, zeigt dabei nur die Informationen aus einer einzigen Ebene im Präparat. Strukturen, die sich durch das gesamte Präparat erstrecken, sind also in verschiedenen Bildern partiell abgebildet. Um solche Strukturen als Ganzes sichtbar zu machen, werden Projektionen benötigt. Mit den Algorithmen der Projektionen ist es möglich, die über mehrere Einzelbilder verteilten relevanten Teilinformationen zu selektieren und in einem einzigen zweidimensionalen Bild sichtbar zu machen. Auf diese Weise können zusammenhängende Strukturen rekonstruiert werden.








Grundlage für die Anwendung einer Projektion ist also eine Bildserie. Diese kann aus horizontalen xy-Schnitten oder vertikalen xz-Schnitten bestehen. Für das Verständnis der Funktionsweise einer Projektion ist es sinnvoll, sich die Bildserie als ein Stapel übereinanderliegender Einzelbilder vorzustellen. Jedes Einzelbild wiederum besteht aus einzelnen Abtastpunkten des Lasers. Dabei liegen die einzelnen Abtastpunkte oder Voxel (1), also die in jedem Einzelbild gemessenen Intensitätswerte, übereinander. Bei der Erzeugung einer Projektion werden die Abtastpunkte, die entlang der Projektionsachse (2a, 2b) übereinanderliegen, durch alle optischen Schnitte hindurch untersucht. Aus jeder dieser Säulen von Abtastpunkten (3a, 3b) wird dann der Intensitätswert, der das Auswahlkriterium erfüllt, oder ein berechneter Wert als Repräsentant aller Intensitätswerte

innerhalb der Säule in einem zweidimensionalen Projektionsbild (4a, 4b) dargestellt.

Projektionen bei invariabler oder variabler Projektionsachse

Die Art der Projektionsachse unterteilt die in der Leica Confocal Software zur Verfügung stehenden Projektionsarten in zwei Hauptgruppen. Es gibt Projektionen bei einer invariablen und Projektionen bei einer variablen Projektionsachse. Beim ersten Typ handelt es sich um orthogonale Projektionen. Die Projektionsachse ist immer die optische Achse, die senkrecht zum Bildstapel verläuft (z-Achse bei horizontalen xy-Schnitten und y-Achse bei vertikalen xz-Schnitten). Im Gegensatz dazu kann beim zweiten Typ die Projektionsachse frei gewählt werden. In beiden Hauptgruppen stehen jeweils dieselben 3 Projektionsarten zur Verfügung (mit Ausnahme der SFP Projektion).

Die Projektionsarten

Projektionsart	Invariable Projektionsachse	Variable Projektionsachse
Maximumprojektion		
Mittelwertprojektion		
Transparentprojektion		
SFP-Projektion		

Die Projektionsarten können zum einen mit der jeweiligen Taste und zum anderen im Dialogfenster Image Tool aktiviert werden. Wird die Funktion über die Taste ausgelöst, ist das Projektionsbild nur eine temporäre Monitorarstellung. Wird die Funktion im Dialogfenster ausgelöst, wird das Projektionsbild als neue Datei im aktuellen Experiment angelegt:

- ▶ Die Projektionen mit invariabler Projektionsachse finden sich im Dialogfenster Image Tool/ Schaltfläche 3D/ Bildsymbol Orthogonal Projection
- ▶ Die Projektionen mit variabler Projektionsachse finden sich im Dialogfenster Image Tool/ Schaltfläche 3D/ Bildsymbol Projections and Animations.
- ▶ Die SFP-Projektion findet sich im Dialogfenster Image Tool/ Schaltfläche 3D/ Bildsymbol SFP.

Maximumprojektion

Bei der Maximumprojektion geht man davon aus, dass die maximalen Intensitätswerte die für die Rekonstruktion einer Struktur relevante Information sind. Deshalb wird bei der Maximumprojektion in jeder Säule aus Abtastpunkten der Maximalwert gesucht und im zweidimensionalen Projektionsbild als Repräsentant für die gesamte Säule dargestellt:

$$I_p = \text{Max}(V_n)$$

wobei I_p das Pixel im Projektionsbild ist und V_n die untersuchten Voxel

Mittelwertprojektion

Bei der Mittelwertprojektion soll jeder Intensitätswert mit der gleichen Gewichtung in das Projektionsbild einfließen. Deshalb wird bei der Mittelwertprojektion in jeder Säule aus Abtastpunkten das arithmetische Mittel aus allen Intensitätswerten berechnet und im zweidimensionalen Projektionsbild als Repräsentant für die gesamte Säule dargestellt:

$$I_p = \frac{\sum_{n=0}^{N-1} V_n}{N}$$

wobei I_p das Pixel im Projektionsbild ist, V_n die untersuchten Voxel und N die Gesamtzahl der Voxel

Transparentprojektion

Bei der Transparentprojektion sollen ebenfalls alle Intensitätswerte in das Projektionsbild mit einfließen. Im Gegensatz zur Mittelwertprojektion werden die Intensitätswerte aus den verschiedenen Einzelbildern unterschiedlich gewichtet. Die Intensitätswerte aus den unteren Einzelbildern im Bildstapel werden weniger berücksichtigt als Intensitätswerte aus den oberen Bildern. Deshalb wird bei der Transparentprojektion in jeder Säule aus Abtastpunkten ein gewichtetes Mittel aus allen Intensitätswerten berechnet und im zweidimensionalen Projektionsbild als Repräsentant für die gesamte Säule dargestellt:

$$I_0 = V_0$$

$$I_1 = (T_n \times \alpha) \times I_0 + V_1$$

$$I_2 = (T_n \times \alpha) \times I_1 + V_2$$

...

$$I_n = (T_n \times \alpha) \times I_{n-1} + V_n$$

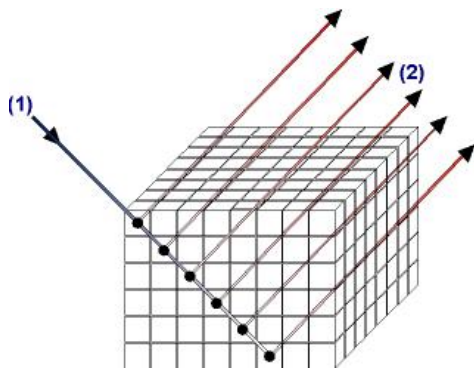
wobei I_n das Pixel im Projektionsbild ist, $T_n = 1 - (V_n / V_{\max})$ die Normierung, α der variable Transparentfaktor, I_{n-1} der Wert des zuvor berechneten Voxels und V_n das aktuell untersuchte Voxel

Die Berechnung des Projektionsbildes beginnt mit dem untersten und endet mit dem obersten Einzelbild im Bildstapel. Die Gewichtung der Intensitätswerte setzt sich aus zwei Faktoren zusammen. Der erste Faktor T_n ergibt sich aus dem Verhältnis des jeweilig gemessenen Intensitätswertes zur maximal möglichen Intensität (Normierung). Dieser Faktor gewährleistet, dass der Grauwertebereich eines Bildes von zum Beispiel 0 bis 255 bei 8 Bit nicht überschritten wird.

Der zweite - vom Benutzer einstellbare - Transparentfaktor α ($0 < \alpha < 1$) bestimmt die Gewichtung des zuvor gemessenen Intensitätswertes. Je höher der Transparentfaktor eingestellt ist, desto stärker fließen die Intensitätswerte aus den unteren Ebenen im Bildstapel in das Projektionsbild ein.

SFP-Projektion (Simulierter Fluoreszenz Prozess), mathematische Simulation eines Fluoreszenzprozesses

Mit dieser Projektionsart wird der aus der Fluoreszenzmikroskopie bekannte Vorgang der Absorption von Laserlicht und Emission von Fluoreszenzlicht in einem Präparat mit Rechenoperationen simuliert. Dieses Verfahren besteht aus zwei Rechenschritten.



Im ersten Schritt wird der durch die Probe dringende und sich abschwächende Laserstrahl (1) simuliert. Man geht von einer seitlich gelegenen Lichtquelle aus, die auf die Voxel des Bildstapels trifft. Die Abschwächung des einfallenden Strahls beim Durchqueren des Bildstapels wird durch den folgenden Ausdruck berücksichtigt:

$$I_{n+1} = I_n \left(1 - \alpha \cdot \frac{V_n}{V_{\max}} \right)$$

wobei I_{n+1} die nach der Absorption im n -ten Voxel übrigbleibende Intensität des einfallenden Lichtes ist, I_n die Intensität des einfallenden Lichtes im n -ten Voxel, α der Absorptionskoeffizient des Laserlichts in der Probe, V_n die Intensität im Voxel und V_{\max} die maximale Voxelintensität. Der Quotient V_n / V_{\max} entspricht der Normierung.

Für jedes Voxel wird anhand der ermittelten Intensitäten I_n die Beleuchtungsstärke $V_n = I_n \times V_n$ ausgerechnet und in einer Tabelle temporär gespeichert (I_n = Intensität des einfallenden Lichtes im Voxel n , V_n = Intensität des Voxels n). Die Berechnung wird für den gesamten Bildstapel, d.h. für alle Voxel in Richtung der einfallenden Strahlung in einem Schritt durchgeführt. Es ergibt sich daraus eine Tabelle von Beleuchtungsstärken.

Im zweiten Schritt wird unter Verwendung der ermittelten Beleuchtungsstärken die emittierte Fluoreszenz (2) berechnet. Die Intensität des Pixels im Projektionsbild als Repräsentant der Voxel in Blickrichtung des Beobachters wird berechnet mittels der rekursiven Formel:

$$I_{n+1} = I_n \left(1 - \alpha \cdot \frac{V_n}{V_{\max}}\right) + V_n$$

Dabei ist α der Absorptionskoeffizient des Fluoreszenzlichts in der Probe und V_n die im ersten Schritt berechnete Beleuchtungsstärke des n -ten Voxels.

Maximumprojektion eines Bildstapels bei invariabler Projektionsachse



Funktion

Mit der Taste Fix. Max. starten Sie eine Maximumprojektion. Die Projektionsachse ist bei dieser Funktion immer die orthogonale Achse (z-Achse bei horizontalen xy-Schnitten und y-Achse bei vertikalen xz-Schnitten).

Grundlage für die Anwendung einer Projektion ist ein Bildstapel, also eine Serie aus horizontalen xy-Schnitten oder vertikalen xz-Schnitten. Bei der Erzeugung einer Projektion werden die Abtastpunkte der Einzelbilder, die entlang der Projektionsachse übereinanderliegen, durch alle optischen Schnitte hindurch untersucht. Aus jeder dieser Säulen von Abtastpunkten wird dann der maximale Intensitätswert als Repräsentant aller Intensitätswerte innerhalb der Säule im zweidimensionalen Projektionsbild dargestellt.

siehe Prinzip und Arten von Projektionen (Seite 173)

▶	Klicken Sie auf die Taste Fix. Max. Es wird eine Maximumprojektion des aktuellen Bildstapels erzeugt und im Ansichtsfenster Viewer dargestellt.
▶	Sie können jederzeit zum Ursprungsbild zurückkehren, indem Sie auf die Taste Original klicken.

Im Dialogfenster Viewer Options kann zusätzlich noch ein Schwellenwert (threshold) eingestellt und der im Bild vorliegende Intensitätswertebereich skaliert werden (scaling).

siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Projections (Seite 160)



Eine Maximumprojektion kann zum einen mit der Taste Fix. Max. und zum anderen im Arbeitsschritt Process / Ordner Extended Focus aktiviert werden. Wird die Funktion über die Taste ausgelöst, ist das Projektionsbild nur eine temporäre Monitorarstellung.

siehe Arbeitsschritt Process / Ordner Extended Focus (Seite 204)

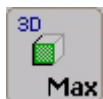
siehe Experiment anlegen (Seite 241)



Beachten Sie den Unterschied zwischen einer Maximumprojektion und einem Topographiebild, das aus Intensitätsmaxima erzeugt wird. Bei einer Maximumprojektion werden die Intensitätsmaxima direkt einem Farbwert zugeordnet. Bei einem Topographiebild aus Intensitätsmaxima werden die Intensitätsmaxima zuerst der realen z-Position des jeweiligen Abtastpunktes zugeordnet und dann farbkodiert.

☞ siehe Topographiebild erzeugen (Seite 182)

Maximumprojektion eines Bildstapels bei variabler Projektionsachse (optional)



Funktion

Mit der Taste 3D Max. starten Sie eine Maximumprojektion. Die Projektionsachse kann frei variiert werden.

Grundlage für die Anwendung einer Projektion ist ein Bildstapel, also eine Serie aus horizontalen xy-Schnitten oder vertikalen xz-Schnitten. Bei der Erzeugung einer Projektion werden die Abtastpunkte der Einzelbilder, die entlang der Projektionsachse übereinanderliegen, durch alle optischen Schritte hindurch untersucht. Aus jeder dieser Säulen von Abtastpunkten wird dann der maximale Intensitätswert als Repräsentant aller Intensitätswerte innerhalb der Säule im zweidimensionalen Projektionsbild dargestellt.

☞ siehe Prinzip und Arten von Projektionen (Seite 173)

▶	Klicken Sie auf die Taste 3D Max. Es wird eine Maximumprojektion des aktuellen Bildstapels erzeugt und im Ansichtsfenster Viewer dargestellt.
▶	Sie können nun die Projektionsachse ändern, indem Sie in das Bild im Ansichtsfenster Viewer klicken und die linke Maustaste gedrückt halten.
▶	Es werden gestrichelte Hilfslinien eingeblendet, die den symbolisch dargestellten Bildstapel umgrenzen. Drehen Sie nun den Bildstapel in die gewünschte neue Position, indem Sie bei gedrückter linker Maustaste den Mauszeiger bewegen.
▶	Wenn Sie dann die linke Maustaste loslassen, wird die neue Maximumprojektion errechnet und dargestellt. Die Projektionsachse ist dabei die Blickrichtung des Anwenders auf den neu positionierten Bildstapel.
▶	Mit der Taste Zoom können Sie die Projektion vergrößern oder verkleinern. ☞ siehe 3D Ansicht zoomen (Seite 186)
▶	Sie können jederzeit zum Ursprungsbild zurückkehren, indem Sie auf die Taste Original klicken.

Im Dialogfenster Viewer Options kann zusätzlich noch ein Schwellenwert (threshold) eingestellt und der im Bild vorliegende Intensitätswertebereich skaliert werden (scaling).

☞ siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Projections (Seite 160)



Eine Maximumprojektion kann zum einen mit der Taste 3D Max. und zum anderen im Arbeitsschritt Process / Ordner 3D Visualization and Animation aktiviert werden. Wird

die Funktion über die Taste ausgelöst, ist das Projektionsbild nur eine temporäre Monitordarstellung.

☞ siehe Arbeitsschritt Process / Ordner 3D Visualization and Animation (Seite 187)

☞ siehe Experiment anlegen (Seite 241)



Beachten Sie den Unterschied zwischen einer Maximumprojektion und einem Topographiebild, das aus Intensitätsmaxima erzeugt wird. Bei einer Maximumprojektion werden die Intensitätsmaxima direkt einem Farbwert zugeordnet. Bei einem Topographiebild aus Intensitätsmaxima werden die Intensitätsmaxima zuerst der realen z-Position des jeweiligen Abtastpunktes zugeordnet und dann farbkodiert.

☞ siehe Topographiebild erzeugen (Seite 182)

Mittelwertprojektion eines Bildstapels bei invariabler Projektionsachse



Funktion

Mit der Taste Fix. Avg. starten Sie eine Mittelwertprojektion. Die Projektionsachse ist bei dieser Funktion immer die orthogonale Achse (z-Achse bei horizontalen xy-Schnitten und y-Achse bei vertikalen xz-Schnitten).

Grundlage für die Anwendung einer Projektion ist ein Bildstapel, also eine Serie aus horizontalen xy-Schnitten oder vertikalen xz-Schnitten. Bei der Erzeugung einer Projektion werden die Abtastpunkte der Einzelbilder, die entlang der Projektionsachse übereinanderliegen, durch alle optischen Schnitte hindurch untersucht. Aus jeder dieser Säulen aus Abtastpunkten wird dann der arithmetische Mittelwert aus allen Intensitätswerten berechnet und im zweidimensionalen Projektionsbild als Repräsentant für die gesamte Säule dargestellt.

☞ siehe Prinzip und Arten von Projektionen (Seite 173)

▶	Klicken Sie auf die Taste Fix. Avg. Es wird eine Mittelwertprojektion des aktuellen Bildstapels erzeugt und im Ansichtsfenster Viewer dargestellt.
▶	Sie können jederzeit zum Ursprungsbild zurückkehren, indem Sie auf die Taste Original klicken.

Im Dialogfenster Viewer Options kann zusätzlich noch ein Schwellenwert (threshold) eingestellt und der im Bild vorliegende Intensitätswertebereich skaliert werden (scaling).

☞ siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Projections (Seite 160)



Eine Mittelwertprojektion kann zum einen mit der Taste Fix. Avg. und zum anderen im Arbeitsschritt Process / Ordner Extended Focus aktiviert werden. Wird die Funktion über die Taste ausgelöst, ist das Projektionsbild nur eine temporäre Monitordarstellung.

- siehe Arbeitsschritt Process / Ordner Extended Focus (Seite 204)
- siehe Experiment anlegen (Seite 241)

Mittelwertprojektion eines Bildstapels bei variabler Projektionsachse (optional)



Funktion

Mit der Taste 3D Avg. starten Sie eine Mittelwertprojektion. Die Projektionsachse kann frei variiert werden.

Grundlage für die Anwendung einer Projektion ist ein Bildstapel, also eine Serie aus horizontalen xy-Schnitten oder vertikalen xz-Schnitten. Bei der Erzeugung einer Projektion werden die Abtastpunkte der Einzelbilder, die entlang der Projektionsachse übereinanderliegen, durch alle optischen Schnitte hindurch untersucht. Aus jeder dieser Säulen aus Abtastpunkten wird dann der arithmetische Mittelwert aus allen Intensitätswerten berechnet und im zweidimensionalen Projektionsbild als Repräsentant für die gesamte Säule dargestellt.

- siehe Prinzip und Arten von Projektionen (Seite 173)

▶	Klicken Sie auf die Taste 3D Avg. Es wird eine Mittelwertprojektion des aktuellen Bildstapels erzeugt und im Ansichtsfenster Viewer dargestellt.
▶	Sie können nun die Projektionsachse ändern, indem Sie in das Bild im Ansichtsfenster Viewer klicken und die linke Maustaste gedrückt halten.
▶	Es werden gestrichelte Hilfslinien eingeblendet, die den symbolisch dargestellten Bildstapel umgrenzen. Drehen Sie nun den Bildstapel in die gewünschte neue Position, indem Sie bei gedrückter linker Maustaste den Mauszeiger bewegen.
▶	Wenn Sie dann die linke Maustaste loslassen, wird die neue Mittelwertprojektion errechnet und dargestellt. Die Projektionsachse ist dabei die Blickrichtung des Anwenders auf den neu positionierten Bildstapel.
▶	Mit der Taste Zoom können Sie die Projektion vergrößern oder verkleinern. siehe 3D Ansicht zoomen (Seite 186)
▶	Sie können jederzeit zum Ursprungsbild zurückkehren, indem Sie auf die Taste Original klicken.

Im Dialogfenster Viewer Options kann zusätzlich noch ein Schwellenwert (threshold) eingestellt und der im Bild vorliegende Intensitätswertebereich skaliert werden (scaling).

- siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Projections (Seite 160)



Eine Mittelwertprojektion kann mit der Taste 3D Avg. und zum anderen im Arbeitsschritt

Process / Ordner 3D Visualization and Animation aktiviert werden. Wird die Funktion über die Taste ausgelöst, ist das Projektionsbild nur eine temporäre Monitorarstellung.

☞ siehe Arbeitsschritt Process / Ordner 3D Visualization and Animation (Seite 187)

☞ siehe Experiment anlegen (Seite 241)

Transparentprojektion eines Bildstapels bei invariabler Projektionsachse



Funktion

Mit der Taste Fix. Trans. starten Sie eine Transparentprojektion. Die Projektionsachse ist bei dieser Funktion immer die orthogonale Achse (z-Achse bei horizontalen xy-Schnitten und y-Achse bei vertikalen xz-Schnitten).

Grundlage für die Anwendung einer Projektion ist ein Bildstapel, also eine Serie aus horizontalen xy-Schnitten oder vertikalen xz-Schnitten. Bei der Erzeugung einer Projektion werden die Abtastpunkte der Einzelbilder, die entlang der Projektionsachse übereinanderliegen, durch alle optischen Schnitte hindurch untersucht. Aus jeder dieser Säulen aus Abtastpunkten wird dann ein gewichteter Mittelwert aus allen Intensitätswerten berechnet und im zweidimensionalen Projektionsbild als Repräsentant für die gesamte Säule dargestellt.

☞ siehe Prinzip und Arten von Projektionen (Seite 173)

Die Gewichtung der Abtastpunkte für die Errechnung des Mittelwerts kann vom Benutzer durch die Einstellung eines entsprechenden Faktors (transparent factor) im Dialogfenster Viewer Options variiert werden. Zusätzlich kann noch ein Schwellenwert (threshold) eingestellt und der im Bild vorliegende Intensitätswertebereich skaliert werden (scaling).

☞ siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Projections (Seite 160)

▶	Klicken Sie auf die Taste Fix. Trans. Es wird eine Transparentprojektion des aktuellen Bildstapels erzeugt und im Ansichtsfenster Viewer dargestellt.
▶	Sie können jederzeit zum Ursprungsbild zurückkehren, indem Sie auf die Taste Original klicken.

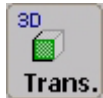


Eine Transparentprojektion kann zum einen mit der Taste Fix. Trans. und zum anderen im Arbeitsschritt Process / Ordner Extended Focus aktiviert werden. Wird die Funktion über die Taste ausgelöst, ist das Projektionsbild nur eine temporäre Monitorarstellung.

☞ siehe Arbeitsschritt Process / Ordner Extended Focus (Seite 204)

☞ siehe Experiment anlegen (Seite 241)

Transparentprojektion eines Bildstapels bei variabler Projektionsachse (optional)



Funktion

Mit der Taste 3D Trans. starten Sie eine Transparentprojektion. Die Projektionsachse kann frei variiert werden.

Grundlage für die Anwendung einer Projektion ist ein Bildstapel, also eine Serie aus horizontalen xy-Schnitten oder vertikalen xz-Schnitten. Bei der Erzeugung einer Projektion werden die Abtastpunkte der Einzelbilder, die entlang der Projektionsachse übereinanderliegen, durch alle optischen Schnitte hindurch untersucht. Aus jeder dieser Säulen aus Abtastpunkten wird dann ein gewichteter Mittelwert aus allen Intensitätswerten berechnet und im zweidimensionalen Projektionsbild als Repräsentant für die gesamte Säule dargestellt.

siehe Prinzip und Arten von Projektionen (Seite 173)

Die Gewichtung der Abtastpunkte für die Errechnung des Mittelwerts kann vom Benutzer durch die Einstellung eines entsprechenden Faktors (transparent factor) im Dialogfenster Viewer Options variiert werden. Zusätzlich kann noch ein Schwellenwert (threshold) eingestellt und der im Bild vorliegende Intensitätswertebereich skaliert werden (scaling).

siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Projections (Seite 160)

▶	Klicken Sie auf die Taste 3D Trans. Es wird eine Transparentprojektion des aktuellen Bildstapels erzeugt und im Ansichtsfenster Viewer dargestellt.
▶	Sie können nun die Projektionsachse ändern, indem Sie in das Bild im Ansichtsfenster Viewer klicken und die linke Maustaste gedrückt halten.
▶	Es werden gestrichelte Hilfslinien eingeblendet, die den symbolisch dargestellten Bildstapel umgrenzen. Drehen Sie nun den Bildstapel in die gewünschte neue Position, indem Sie bei gedrückter linker Maustaste den Mauszeiger bewegen.
▶	Wenn Sie dann die linke Maustaste loslassen, wird die neue Transparentprojektion errechnet und dargestellt. Die Projektionsachse ist dabei die Blickrichtung des Anwenders auf den neu positionierten Bildstapel.
▶	Mit der Taste Zoom können Sie die Projektion vergrößern oder verkleinern. siehe 3D Ansicht zoomen (Seite 186)
▶	Sie können jederzeit zum Ursprungsbild zurückkehren, indem Sie auf die Taste Original klicken.

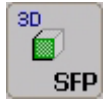


Eine Transparentprojektion kann zum einen mit der Taste 3D Trans. und zum anderen im Arbeitsschritt Process / Ordner 3D Visualization and Animation aktiviert werden.

Wird die Funktion über die Taste ausgelöst, ist das Projektionsbild nur eine temporäre Monitordarstellung.

siehe Arbeitsschritt Process / Schaltfläche 3D Visualization and Animation (Seite 187)

siehe Experiment anlegen (Seite 241)

SFP-Projektion eines Bildstapels erzeugen (optional)**Funktion**

Mit der Taste SFP starten Sie eine SFP-Projektion, die mathematische Simulation eines Fluoreszenzprozesses. Grundlage für die Anwendung einer Projektion ist ein Bildstapel, also eine Serie aus horizontalen xy-Schnitten oder vertikalen xz-Schnitten. Bei der Erzeugung einer Projektion werden die Abtastpunkte der Einzelbilder, die entlang der Projektionsachse übereinanderliegen, durch alle optischen Schnitte hindurch untersucht. Im ersten Schritt wird der durch die Probe dringende und sich abschwächende Laserstrahl simuliert. Im zweiten Schritt wird unter Verwendung der ermittelten Beleuchtungsstärken die simulierte Fluoreszenz für jedes Voxel berechnet.

☞ siehe Prinzip und Arten von Projektionen (Seite 173)

▶	Klicken Sie auf die Taste SFP. Es wird eine SFP-Projektion des aktuellen Bildstapels erzeugt und im Ansichtsfenster Viewer dargestellt.
▶	Sie können nun die Projektionsachse ändern, indem Sie in das Bild im Ansichtsfenster Viewer klicken und die linke Maustaste gedrückt halten.
▶	Es werden gestrichelte Hilfslinien eingeblendet, die den symbolisch dargestellten Bildstapel umgrenzen. Drehen Sie nun den Bildstapel in die gewünschte neue Position, indem Sie bei gedrückter linker Maustaste den Mauszeiger bewegen.
▶	Wenn Sie dann die linke Maustaste loslassen, wird die neue SFP-Projektion errechnet und dargestellt. Die Projektionsachse ist dabei die Blickrichtung des Anwenders auf den neu positionierten Bildstapel.
▶	Sie können jederzeit zum Ursprungsbild zurückkehren, indem Sie auf die Taste Original klicken.



Die SFP-Projektion kann mit der Taste SFP und im Arbeitsschritt Process / Ordner 3D Visualization and Animation aktiviert werden. Wird die Funktion über die Taste ausgelöst, ist das Projektionsbild nur eine temporäre Monitorarstellung.

☞ siehe Arbeitsschritt Process / Ordner 3D Visualization and Animation (Seite 187)

☞ siehe Experiment anlegen (Seite 241)

Topographiebild erzeugen**Funktion**

Mit der Topography Funktion können Sie bestimmte Intensitätsdaten aus einem Bildstapel, also einer Serie von xy-Schnitten oder xz-Schnitten, auswählen und in ein zweidimensionales Topographiebild übertragen. Dabei werden die entlang der z-Achse übereinanderliegenden Abtastpunkte (Voxel) durch alle optischen Schnitte hindurch untersucht. Aus jeder dieser Säulen von Abtastpunkten wird nur der Intensitätswert, welcher das Auswahlkriterium erfüllt, als Repräsentant aller Werte innerhalb der Säule im Topographiebild dargestellt.

Sie können entweder nach dem Intensitätsmaximum (maximum intensity) oder nach dem Flächenschwerpunkt (center of mass) der gemessenen Intensitäten selektieren. Sollen

Intensitätsmaxima im Topographiebild dargestellt werden, wird nur der Abtastpunkt ausgewählt, bei dem die maximale Intensität gemessen wurde. Bei der Ermittlung des Flächenschwerpunktes wird aus allen übereinanderliegenden Abtastpunkten ein Mittelwert errechnet (der Schwerpunkt der Fläche, die von der Kurve der gemessenen Intensitätswerte begrenzt wird).

Das Intensitätsmaximum bzw. der Flächenschwerpunkt wird dann der realen z-Position des entsprechenden Abtastpunktes zugeordnet und anschließend farbkodiert. Aufgrund dieser Zuordnung bildet ein Topographiebild **die reale Oberflächenstruktur** des Präparates ab. In der Standardeinstellung erscheinen höhere Strukturen hell, tiefere Strukturen dunkel.

Die Einstellung des Auswahlkriteriums für das Topographiebild können Sie im Dialogfenster Viewer Options vornehmen:

▶	Wählen Sie im Menü View die Option Viewer Options.
▶	Klicken Sie auf das Bildsymbol Surface Calculation, um das Register Topography einzublenden.

📖 siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Surface Calculation (Seite 164)

In einem zweiten Schritt können Sie das Topographiebild mit der Funktion 3D Ansicht in einer dreidimensionalen Graphik darstellen.

📖 siehe 3D Ansicht erzeugen (Seite 184)

Typische Anwendungen

Die Darstellung der Bilddaten in einem Topographiebild ist vor allem bei materialwissenschaftlichen Untersuchungen aufschlussreich. Für die Anwendung von Quantifizierungsfunktionen ist die Topographiefunktion unerlässlich.

Originalbild anzeigen



Funktion

Klicken Sie auf die Taste Original, um ein Projektionsbild oder ein Topographiebild rückgängig zu machen. Im Ansichtsfenster Viewer werden wieder die aufgenommenen Rohdaten des Bildes angezeigt.

Erzeugung von 3D-Ansichten

3D Ansicht erzeugen



3DView

Funktion

Mit der Taste 3D View können Sie einen zweidimensionalen Datensatz dreidimensional darstellen. Bei einer Bildserie wird immer der Datensatz der Serie verwendet, der aktuell im Ansichtsfenster Viewer eingeblendet ist. Sie können entweder einen einzelnen xy-Schnitt oder xz-Schnitt aus Rohdaten oder ein Ergebnisbild, wie zum Beispiel ein Topographiebild oder Projektionsbild, in der 3D Ansicht darstellen. Je nachdem, welche Größe im Ausgangsbild dargestellt oder berechnet wurde, werden bei der Erzeugung der 3D Ansicht entweder Intensitätswerte oder Höhenwerte auf der z-Achse der 3D Ansicht abgebildet.



Die räumliche Darstellung von Intensität in einer 3D Ansicht führt leicht zu der Annahme, dass die Topographie des Präparates dargestellt wird. Beachten Sie jedoch, dass Sie **die reale Oberflächenstruktur** eines Präparates nur darstellen können, wenn Sie zuvor ein Topographiebild erzeugt haben.

📖 siehe Topographiebild erzeugen (Seite 182)

Die 3D Ansicht kann in drei Darstellungsarten, nämlich als Flächenbild (Surface), als Drahtgitterbild (Wireframe) oder als Isolinienbild (Isolines) erzeugt werden. Stellen Sie eine dieser Darstellungsarten im Dialogfenster Viewer Options ein:

- | | |
|---|--|
| ▶ | Wählen Sie im Menü View die Option Viewer Options. |
| ▶ | Klicken Sie auf das Bildsymbol Surface View und dann auf das Register Visualization. |

📖 siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Surface View (Seite 162)



Für jeden Detektionskanal wird eine getrennte 3D Ansicht erstellt. Es ist daher nicht möglich, aus einem Überlagerungsbild (Taste Overlay) eine einzige 3D Ansicht zu erzeugen.

3D Ansicht drehen



Rot

Funktion

Mit der Taste Rotate können Sie eine 3D Ansicht in alle drei Raumrichtungen drehen. Beachten Sie, dass die 3D Ansicht um einen Fixpunkt gedreht wird, der sich in der Mitte des Bildes befindet.

- | | |
|---|---|
| ▶ | Halten Sie den Mauszeiger über eine beliebige Stelle in der 3D Ansicht. |
|---|---|

▶	Klicken Sie auf die linke Maustaste und halten Sie diese gedrückt.
▶	Bewegen Sie den Mauszeiger in die Richtung, in die Sie die 3D Ansicht drehen wollen.



Während Sie die 3D Ansicht drehen, wird die Auflösung des Bildes leicht herabgesetzt, um das Arbeiten mit dieser Funktion zu beschleunigen. Nach Loslassen der linken Maustaste wird das Bild in der zuvor eingestellten Auflösung neu angezeigt.

Als Alternative zu dieser manuellen Methode eine 3D Ansicht zu drehen, gibt es im Dialogfenster Viewer Options auch die Möglichkeit, Drehwinkel für die drei Raumachsen einzugeben:

▶	Wählen Sie im Menü View die Option Viewer Options.
▶	Klicken Sie auf das Bildsymbol 3D und dann auf das Register Navigation.
▶	Im Feld Rotation können Sie Drehwinkel für alle drei Achsen eingeben.

☞ siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol 3D (Seite 156)

3D Ansicht verschieben



Funktion

Mit der Taste Move können Sie eine 3D Ansicht verschieben:

▶	Halten Sie den Mauszeiger über eine beliebige Stelle in der 3D Ansicht.
▶	Klicken Sie auf die linke Maustaste und halten Sie diese gedrückt.
▶	Bewegen Sie den Mauszeiger in die Richtung, in die Sie die 3D Ansicht verschieben wollen.



Während Sie die 3D Ansicht verschieben, wird die Auflösung des Bildes leicht herabgesetzt, um das Arbeiten mit dieser Funktion zu beschleunigen. Nach Loslassen der linken Maustaste wird das Bild in der zuvor eingestellten Auflösung neu angezeigt.

Als Alternative zu dieser manuellen Methode eine 3D Ansicht zu verschieben, gibt es im Dialogfenster Viewer Options auch die Möglichkeit, Koordinatenwerte für die Positionierung des Bildes einzugeben:

▶	Wählen Sie im Menü View die Option Viewer Options.
▶	Klicken Sie auf das Bildsymbol 3D und dann auf das Register Navigation.
▶	Im Feld Translation können Sie die Koordinatenwerte für die x-Achse und z-Achse verändern.

☞ siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol 3D (Seite 156)

3D Ansicht zoomen



Funktion

Mit der Taste Zoom können Sie eine 3D Ansicht stufenlos proportional vergrößern oder verkleinern. Hierbei handelt es sich lediglich um eine Skalierung des erzeugten Bildes, eine verbesserte Auflösung können Sie mit dieser Zoomfunktion nicht erzielen.

Um die 3D Ansicht zu vergrößern	Klicken Sie im Bildfenster des Ansichtsfensters Viewer auf eine beliebige Stelle und ziehen Sie mit gedrückter linker Maustaste den Mauspfel zum unteren Rand .
Um die 3D Ansicht zu verkleinern	Klicken Sie im Bildfenster des Ansichtsfensters Viewer auf eine beliebige Stelle und ziehen Sie mit gedrückter linker Maustaste den Mauspfel zum oberen Rand .



Während Sie die 3D Ansicht zoomen, wird die Auflösung des Bildes leicht herabgesetzt, um das Arbeiten mit dieser Funktion zu beschleunigen. Nach Loslassen der linken Maustaste wird das Bild in der zuvor eingestellten Auflösung neu angezeigt.

Als Alternative zu dieser manuellen Methode eine 3D Ansicht zu zoomen, gibt es im Dialogfenster Viewer Options auch die Möglichkeit, den Zoom über die Eingabe von Zahlenwerten zu verändern:

▶	Wählen Sie im Menü View die Option Viewer Options.
▶	Klicken Sie dann auf das Bildsymbol 3D.
▶	Im Register Navigation können Sie den Zoom variieren, indem Sie im Feld Translation den y-Wert ändern.

📖 siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol 3D (Seite 156)



Die Leica Confocal Software verfügt über drei zu unterscheidende Zoom Funktionen: den 3D Zoom, den elektronischen Zoom und den graphischen Zoom.

📖 siehe Elektronischer Zoom (Seite 125)

📖 siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Display (Seite 157)

Datenverarbeitung

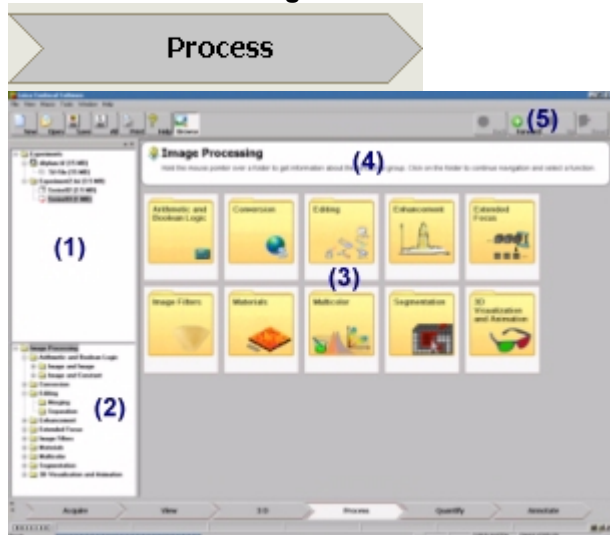
3D Projektionen und Animationen von Bildserien (optional)



In diesem Kapitel finden Sie folgende Themen

- ▼ Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process
- ▼ Navigation: 3D Visualization and Animation\ Projections
 - ▼ Navigation: 3D Visualization and Animation\ Projections with Animation
- ▼ Navigation: 3D Visualization and Animation\ Stereo
- ▼ Navigation: 3D Visualization and Animation\ Stereo with Animation

Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process



Wenn Sie auf das Pfeilsymbol Process klicken, wird der sonst übliche Aufbau der Bedienoberfläche vollständig verändert. Alle Funktionstasten der anderen Schaltflächenbereiche/ Arbeitsschritte werden ausgeblendet. Auf der linken Seite wird das Ansichtsfenster Experiment Overview (1) mit den geöffneten Experimenten angezeigt. Darunter befindet sich das Navigationsfenster (2) mit dem Verzeichnisbaum aller in diesem Arbeitsschritt verfügbaren Funktionen. In der Mitte der Bedienoberfläche werden 10 große Kacheln (3) angezeigt, die 10 Funktionsgruppen umfassen. Oberhalb dieser Kacheln befindet sich ein Helfefeld (4), in dem eine kurze Erläuterung zu einer Funktionsgruppe eingblendet werden kann, indem man den Mauszeiger über die entsprechende Kachel hält.

▶	Klicken Sie auf die Kachel mit der gewünschten Funktionsgruppe. Auf jeder Navigationsebene können Sie eine Erläuterung der Funktionsgruppen oben im Helfefeld einblenden, indem Sie den Mauszeiger über die jeweilige Kachel halten.
▶	Wählen Sie in den nachfolgenden Navigationsebenen jeweils eine Kachel, bis Sie auf der untersten Ebene die gewünschte Funktion mit dem entsprechenden Dialog erreicht haben.
▶	Im Navigationsfenster können Sie direkt eine Funktion anwählen, indem Sie den entsprechenden Ordner anklicken.

In der Menüzeile oben rechts stehen Ihnen folgende Tasten (5) zur Verfügung:



▶	Klicken Sie auf die Taste Back, um zur zuletzt angezeigten Navigationsebene zu gelangen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Forward, um die Ebene anzuzeigen, die Sie ausgewählt hatten, bevor Sie auf die Taste Back geklickt haben.
▶	Klicken Sie auf die Taste Up, um zur hierarchisch höheren Ebene zu gelangen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Reset, um geänderte Variablen auf die letzte Einstellung zurückzusetzen.
▶	Um den Arbeitsschritt Process zu verlassen, klicken Sie auf das Pfeilsymbol eines anderen Arbeitsschritts (z.B. Acquire).

Am unteren Ende jedes Dialogs finden Sie folgende beiden Schaltflächen:



▶	Klicken Sie auf die Schaltfläche Preview, um die ausgewählte Funktion auszuführen und das Ergebnisbild rechts im Vorschauenfenster anzuzeigen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Apply, um die ausgewählte Funktion auf den aktiven Bilddatensatz anzuwenden, das Ergebnisbild im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen und eine neue Datei im aktiven Experiment zu erzeugen.

Navigation: 3D Visualization and Animation\ Projections

Projektionsbilder entlang einer frei einstellbaren Projektionsachse erzeugen

☞ siehe Prinzip und Arten von Projektionen (Seite 173)

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Wählen Sie eine der vier Projektionsarten aus: Mittelwertprojektion (Average Projection), Maximumprojektion (Maximum Projection), Transparentprojektion (Transparent Projection), SFP-Projektion (SFP Projection, SFP Shadow Projection).

Register Options

▶	Klicken Sie auf Rescale im Feld Options, um bei der Erzeugung des Projektionsbildes die Intensitätswerte des Bildes auf die maximal möglichen Intensitätswerte zu normieren. Dies gewährleistet, dass die errechneten Grauwerte des Projektionsbildes innerhalb des Wertebereichs von zum Beispiel 0 bis 255 bei 8 Bit bleiben. Dunkle Bilder können so aufgehellt werden.
▶	Wenn Sie auf Invert im Register Options klicken, wird die Projektionsachse gespiegelt. Die Berechnung des Projektionsbildes erfolgt also in entgegengesetzter Richtung. Dies ist eine Funktion, die vor allem bei inversen Mikroskopen sinnvoll ist, um die Berechnung des Projektionsbildes dem inversen Strahlengang des Laserlichts anzugleichen.
▶	Bewegen Sie den Schieber im Feld Threshold, um einen Schwellenwert zu definieren. Die Intensitätswerte unterhalb dieses Wertes werden für die Erzeugung des Projektionsbildes nicht berücksichtigt.

Register Rotation

▶	Im Feld Viewing Direction stellen Sie die gewünschte Projektionsachse ein, indem Sie einen Wert für Z, Y und X eingeben. Mit diesen drei Werten drehen Sie den Bildstapel in eine bestimmte Position und definieren so den Winkel, unter dem die Projektion des Bildstapels erfolgt.
	Die Projektionsachse ist dabei die Blickrichtung des Betrachters auf den gedrehten Bildstapel. Das untenstehende Schema veranschaulicht die Rotationsrichtung der jeweiligen Bildebene, bei positiven Werten für Z, Y und X. Bei negativen Werten ist die Rotationsrichtung genau umgekehrt.

▶	Im Feld Depth Factor geben Sie einen Wert ein, um die z-Achse der Projektionsbilder zu skalieren.

Register Factor (nur bei Transparentprojektion)

☞ siehe Prinzip und Arten von Projektionen (Seite 173)

▶	Das Register Factor wird nur bei ausgewählter Transparentprojektion angezeigt. Mit dem Schieber variieren Sie den Transparentfaktor α . Je höher er eingestellt ist, desto stärker fließen die Intensitätswerte aus den unteren Ebenen im Bildstapel in das Projektionsbild ein.
▶	Klicken Sie auf die Kachel Transparency Gallery, um eine Galerie von Vorschaubildern des ausgewählten Bilddatensatzes zu sehen. Jedes der Vorschaubilder wurde mit einem anderen Transparentfaktor berechnet. Klicken Sie auf eine Kachel, um den Dialog mit den entsprechenden Einstellungen anzuzeigen.

Register Light (nur bei SFP Projektion)

☞ siehe Prinzip und Arten von Projektionen (Seite 173)



▶	Das Register Light wird nur bei ausgewählter SFP Projektion angezeigt. Definieren Sie im Feld Light Direction den Projektionswinkel für den ersten Rechenschritt der SFP-Projektion. Dieser Winkel symbolisiert den Einfallswinkel des Laserstrahls auf das Präparat. Geben Sie jeweils eine Koordinate für x und y ein.
▶	Bewegen Sie den Schieber im Feld Absorption, um den Absorptionskoeffizienten α zu variieren. Je höher er eingestellt ist, desto kleiner werden die im Projektionsbild berechneten Werte. Ist der Koeffizient niedrig eingestellt, erreichen viele Pixel im Projektionsbild den Maximalwert, so dass die Strukturen immer schwieriger zu unterscheiden sind.
▶	Wenn Sie im Register Options im Feld Options auf Calc. Shadow klicken, wird ein Schlagschatten für das SFP-Projektionsbild berechnet und angezeigt.
▶	Klicken Sie auf die Kachel SFP Light Gallery, um eine Galerie von Vorschaubildern des ausgewählten Bilddatensatzes zu sehen. Jedes der Vorschaubilder wurde mit einem anderen Projektionswinkel berechnet. Klicken Sie auf eine Kachel, um den Dialog mit den entsprechenden Einstellungen anzuzeigen.
▶	Klicken Sie auf die Kachel SFP Absorption Gallery, um eine Galerie von Vorschaubildern des ausgewählten Bilddatensatzes zu sehen. Jedes der Vorschaubilder wurde mit einem anderen Absorptionskoeffizienten berechnet. Klicken Sie auf eine Kachel, um den Dialog mit den entsprechenden Einstellungen anzuzeigen.

Navigation: 3D Visualization and Animation\ Projections and Animation Projektionsbilder als dreidimensionale Rotationsanimation ablaufen lassen

☞ siehe Prinzip und Arten von Projektionen (Seite 173)




Register Animation

▶	Um Einstellungen für die Rotationsanimation vorzunehmen, klicken Sie das Kontrollkästchen Animation an. Die entsprechenden Felder werden aktiv.
▶	Wählen Sie im Feld Rotation den Animationstyp aus: ganze Drehung oder 360° (Full turn), halbe

	Drehung oder 180° (half turn), Vierteldrehung oder 90° (quarter turn) oder einen anderen beliebigen Winkel.
▶	Geben Sie im Feld Frames die Anzahl der Projektionsbilder ein, die für die Animation erzeugt werden sollen. Die Anzahl der Projektionsbilder und der Animationstyp bestimmen, in welchen Abständen die Projektionsbilder erzeugt werden. Bei einer halben Drehung (Winkel von 180°) und einer Bildanzahl von beispielsweise 10 wird in Schritten von jeweils 20° (nicht 18°) ein Bild erzeugt, da es bei 10 Aufnahmen nur 9 Schritte gibt.
	 <p>Eine andere Berechnung liegt bei der ganzen Drehung (Winkel von 360°) vor. Um zu vermeiden, dass das erste und das letzte Projektionsbild unter demselben Winkel aufgenommen werden (360° = 0°), rechnet die Funktion mit einer Aufnahme mehr, ohne jedoch das entsprechende Projektionsbild zu erzeugen. Bei einer Bildanzahl von 10 zum Beispiel ist deshalb der Abstand zwischen den Projektionsbildern 36° (nicht 40°), da mit 11 Aufnahmen (also 10 Schritten) gerechnet wird. Erzeugt werden jedoch nur 10 Projektionsbilder.</p>
▶	Variieren Sie im Feld Rotation Axis die Neigung der Rotationsachse.
▶	Um die Rotationsanimation zu starten, klicken Sie auf die Taste Movie.  siehe Film starten und beenden (Seite 171)







Die drei Projektionsarten können auch direkt über die entsprechenden Tasten (3D Proj / 3D Max / 3D Avg / 3D Trans) aktiviert werden. Wird die Funktion über die Taste ausgelöst, ist das Projektionsbild nur eine temporäre Monitordarstellung. Diese können Sie mit der Taste Original wieder rückgängig machen.

-  siehe Maximumprojektion eines Bildstapels bei variabler Projektionsachse (Seite 177)
-  siehe Mittelwertprojektion eines Bildstapels bei variabler Projektionsachse (Seite 179)
-  siehe Transparentprojektion eines Bildstapels bei variabler Projektionsachse (Seite 181)

Navigation: 3D Visualization and Animation\ Stereo
Navigation: 3D Visualization and Animation\ Stereo with Animation
Rot-grüne Stereobilder (Anaglyphenbilder) erzeugen

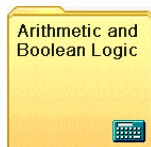
Feld Stereo View Options

▶	Bestimmen Sie im Listenfeld Eye Angle den Winkel, unter dem die beiden Stereobilder aufgenommen werden. Wenn Sie zum Beispiel den Wert 30 eingeben, wird im Winkel von jeweils 15° rechts und links von der im Register Rotation eingestellten Projektionsachse ein Stereobild aufgenommen.
▶	Stereobilder können nur aus einem Detektionskanal erzeugt werden. Haben Sie ein Bildserie, die in mehreren Detektionskanälen aufgenommen wurde, wählen Sie im Listenfeld Detection Channel den gewünschten Bilddatensatz aus.
▶	Um die beiden Stereobilder in einem Bild im Ansichtsfenster Viewer darzustellen, müssen die Tasten Channel 1, Channel 2, Single und Overlay gedrückt sein.  siehe Detektionskanal 1 anzeigen (Seite 165)  siehe Detektionskanal 2 anzeigen (Seite Error! Bookmark not defined.)  siehe Einzelbild anzeigen (Seite 168)  siehe Überlagerungsbild anzeigen (Seite 169)

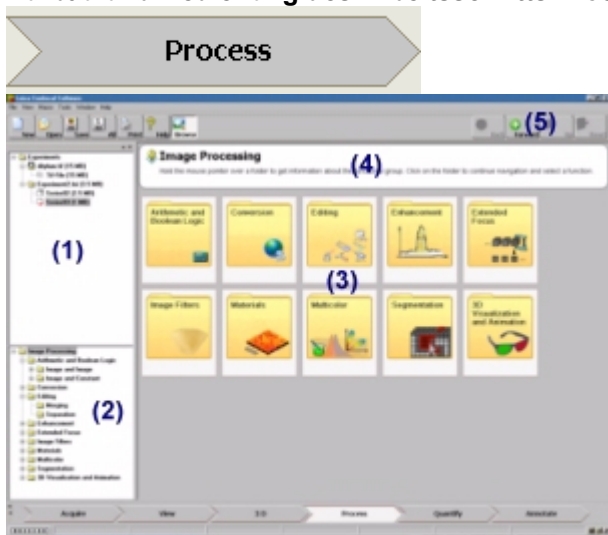
Zusätzliche Information

Anaglyphenbilder erzeugen einen räumlichen Tiefeneindruck, wenn man sie mit einer entsprechenden 3D Brille (rot-grünen Stereobrille) betrachtet. Die räumliche Wirkung des Anaglyphenbildes ist möglich, weil der Mensch mit zwei Augen sieht. Durch den Augenabstand von ca. 6,5 cm werden dem Gehirn zwei Bilder aus unterschiedlichen Perspektiven geliefert. Unterschiedlich weit entfernte Objekte werden unter verschiedenen Winkeln wahrgenommen. Diese Winkeldifferenz ist für das Gehirn des Menschen ein Maß für die Entfernung. Der Unterschied der von den beiden Augen erzeugten ähnlichen Bildern wird vom Gehirn zu einem Bild mit räumlichem Tiefeneindruck verarbeitet. Diese Bildunterschiede lassen sich auch simulieren, indem man vor jedes Auge ein leicht unterschiedliches Bild hält.

Bei Anaglyphenbildern befindet sich die ganze stereoskopische Bildinformation auf einem einzigen Bild. Die Informationen des linken und rechten Bildes sind durch Farben kodiert. Daher benötigt man für das Betrachten der Bilder eine Brille mit einem unterschiedlichen Farbfilter für jedes Auge, der die Bildinformationen für jedes Auge wieder separiert. Der rote Filter lässt nur rotes Licht ungehindert passieren, wohingegen grünes Licht vollständig von ihm absorbiert wird. Umgekehrt absorbiert der grüne Filter das rote Licht. Jedes Auge erkennt je ein Bild, die beide im Gehirn zu einem räumlichen Gesamtbild verschmelzen.

Arithmetische und Boolesche Operationen**In diesem Kapitel finden Sie folgende Themen**

- ▼ Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process
- ▼ Navigation: Arithmetic and Boolean Logic\ Image and Image
- ▼ Navigation: Arithmetic and Boolean Logic\ Image and Constant

Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process

Wenn Sie auf das Pfeilsymbol Process klicken, wird der sonst übliche Aufbau der Bedienoberfläche vollständig verändert. Alle Funktionstasten der anderen Schaltflächenbereiche/ Arbeitsschritte werden ausgeblendet. Auf der linken Seite wird das Ansichtsfenster Experiment Overview (1) mit den geöffneten Experimenten angezeigt. Darunter befindet sich das Navigationsfenster (2) mit dem Verzeichnisbaum aller in diesem Arbeitsschritt verfügbaren Funktionen. In der Mitte der

Bedienoberfläche werden 10 große Kacheln (3) angezeigt, die 10 Funktionsgruppen umfassen. Oberhalb dieser Kacheln befindet sich ein Hilfefeld (4), in dem eine kurze Erläuterung zu einer Funktionsgruppe eingeblendet werden kann, indem man den Mauszeiger über die entsprechende Kachel hält.

▶	Klicken Sie auf die Kachel mit der gewünschten Funktionsgruppe. Auf jeder Navigationsebene können Sie eine Erläuterung der Funktionsgruppen oben im Hilfefeld einblenden, indem Sie den Mauszeiger über die jeweilige Kachel halten.
▶	Wählen Sie in den nachfolgenden Navigationsebenen jeweils eine Kachel, bis Sie auf der untersten Ebene die gewünschte Funktion mit dem entsprechenden Dialog erreicht haben.
▶	Im Navigationsfenster können Sie direkt eine Funktion anwählen, indem Sie den entsprechenden Ordner anklicken.

In der Menüzeile oben rechts stehen Ihnen folgende Tasten (5) zur Verfügung:



▶	Klicken Sie auf die Taste Back, um zur zuletzt angezeigten Navigationsebene zu gelangen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Forward, um die Ebene anzuzeigen, die Sie ausgewählt hatten, bevor Sie auf die Taste Back geklickt haben.
▶	Klicken Sie auf die Taste Up, um zur hierarchisch höheren Ebene zu gelangen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Reset, um geänderte Variablen auf die letzte Einstellung zurückzusetzen.
▶	Um den Arbeitsschritt Process zu verlassen, klicken Sie auf das Pfeilsymbol eines anderen Arbeitsschritts (z.B. Acquire).

Am unteren Ende jedes Dialogs finden Sie folgende beiden Schaltflächen:



▶	Klicken Sie auf die Schaltfläche Preview, um die ausgewählte Funktion auszuführen und das Ergebnisbild rechts im Vorschaufenster anzuzeigen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Apply, um die ausgewählte Funktion auf den aktiven Bilddatensatz anzuwenden, das Ergebnisbild im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen und eine neue Datei im aktiven Experiment zu erzeugen.


Navigation: Arithmetic and Boolean Logic\ Image and Image
Arithmetische und logische Operationen mit zwei Bilddatensätzen



Voraussetzung für die Durchführung arithmetischer Operationen sind gleiche Dimensionen oder eine 1/n-Beziehung der beiden Datensätze. Gleiche Dimensionen bedeutet, dass zwei Bilder dasselbe Format in x und y haben müssen, zwei Bildstapel ausserdem noch dieselbe Anzahl von Einzelbildern (z). Die 1/n-Beziehung ist dann gegeben, wenn zum Beispiel 1 Einzelbild mit jedem (n-ten) Einzelbild eines Bildstapels verrechnet wird.

Kachel Boolean Logic

 siehe Boolesche Verknüpfungen (Seite 248)

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den ersten Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Wählen Sie im Feld Second Source Image, den zweiten Bilddatensatz für die Rechenoperation aus.
▶	Wählen Sie den Operator AND, um die binären Darstellungen der Pixel der beiden ausgewählten Bilder mit dem logischen Operator AND zu verknüpfen. Das heisst, das Pixel im Ergebnisbild erhält dann den Wert 1, wenn in den beiden Pixeln der Wert 1 vorliegt, ansonsten wird die 0 eingetragen.
	Mit diesem Booleschen Operator erzielt man sinnvolle Ergebnisse, wenn man ein Bild mit einer binären Maske verknüpft. Wo die Pixel des Bildes auf Pixel der Maske mit dem Wert 1 treffen, wird das Pixel im Ergebnisbild angezeigt. Die von der Maske definierten Bereiche werden also aus dem Bild herausgestanzt.
▶	Wählen Sie den Operator OR, um die binären Darstellungen der Pixel der beiden ausgewählten Bilder mit dem logischen Operator OR zu verknüpfen. Das heisst, das Pixel im Ergebnisbild erhält dann den Wert 1, wenn in mindestens einem der beiden Pixel der Wert 1 vorliegt, ansonsten wird die 0 eingetragen.
	Mit diesem Booleschen Operator erzielt man sinnvolle Ergebnisse: 1. Wenn man zwei binäre Masken verknüpft. Das Ergebnisbild ist eine Kombination beider Masken. 2. Wenn man ein Bild mit einer binären Maske verknüpft. Das Ergebnisbild ist ein Bild, in das die Maske eingeblendet wird. 3. Wenn man zwei Bilder miteinander verknüpft. Im Gegensatz zum Überlagerungsbild werden hier reine Intensitätswerte überlagert. Eine RGB-Farbaddition findet hier NICHT statt.  siehe Überlagerungsbild anzeigen (Seite 169)
▶	Wählen Sie den Operator XOR, um die binären Darstellungen der Pixel der beiden ausgewählten Bilder mit dem logischen Operator XOR zu verknüpfen. Das heisst, das Pixel im Ergebnisbild erhält dann den Wert 1, wenn in den beiden Pixeln unterschiedliche Werte vorliegen, ansonsten wird die 0 eingetragen.
	Mit diesem Booleschen Operator erzielt man sinnvolle Ergebnisse, wenn man zwei binäre Masken von Bildern erstellt und miteinander verknüpft. Wo die Pixel in den beiden Bildern unterschiedlich sind, wird das Pixel im Ergebnisbild angezeigt.

Kachel Arithmetic with World Coordinates

Kachel Arithmetic with Pixel Values

Wenn Sie Arithmetic with World Coordinates wählen, werden Weltkoordinaten, also zum Beispiel die z-Position, der Zeitpunkt oder die Wellenlänge für die arithmetischen Operationen verwendet. Haben Sie Arithmetic with Pixel Values ausgewählt, werden die auf das Intervall 0 bis 255 bei 8 Bit bzw. 0 bis 4095 bei 12 Bit normierten Grauwerte verwendet.

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den ersten Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Wählen Sie im Feld Second Source Image, den zweiten Bilddatensatz für die Rechenoperation aus.
▶	Wählen Sie Addition, um die Intensitätswerte der beiden ausgewählten Bilder nach der Formel: Pixel (Ergebnisbild) = Pixel (First Source Image) + Pixel (Second Source Image) zu addieren.
▶	Wählen Sie Subtraction, um die Intensitätswerte der beiden ausgewählten Bilder nach der Formel: Pixel (Ergebnisbild) = Pixel (First Source Image) – Pixel (Second Source Image) zu subtrahieren.
▶	Wählen Sie Multiplication, um die Intensitätswerte der beiden ausgewählten Bilder nach der Formel: Pixel (Ergebnisbild) = Pixel (First Source Image) x Pixel (Second Source Image) zu multiplizieren.
▶	Wählen Sie Division, um die Intensitätswerte der beiden ausgewählten Bilder nach der Formel: Pixel (Ergebnisbild) = Pixel (First Source Image) / Pixel (Second Source Image) zu dividieren.

▶	Wählen Sie Min, um für jedes Pixel jeweils den Minimalwert der beiden ausgewählten Bilder nach der Formel: Pixel (Ergebnisbild) = MIN (Pixel (First Source Image); Pixel(Second Source Image)) im Ergebnisbild zu verwenden.
▶	Wählen Sie Max, um für jedes Pixel jeweils den Maximalwert der beiden ausgewählten Bilder nach der Formel: Pixel (Ergebnisbild) = MAX (Pixel (First Source Image); Pixel(Second Source Image)) im Ergebnisbild zu verwenden.
▶	Wählen Sie Average, um für jedes Pixel jeweils den Mittelwert der beiden ausgewählten Bilder nach der Formel: Pixel (Ergebnisbild) = 1/2 x (Pixel (First Source Image + Pixel Second Source Image) im Ergebnisbild zu verwenden.
▶	Wenn Sie 12 Bit Output im Feld Output Option wählen, wird im Ergebnisbild jedes Pixel mit 12 Bit kodiert, d.h. die Speicherung der Ergebniswerte erfolgt in einem Wertebereich von [0..4095].
▶	Klicken Sie das Auswahlkästchen Absolute Value an, wenn die Beträge der Ergebnisdaten verwendet werden sollen. Aus negativen Ergebnissen werden so positive.

Nur bei Arithmetic with Pixel Values

▶	Klicken Sie das Auswahlkästchen Cut at Maximum an, um Werte die nach der Berechnung außerhalb des Wertebereichs liegen abzuschneiden. Werte kleiner als 0 werden auf 0 gesetzt. Alle Werte größer als 255 bei 8-Bit Bildern bzw. 4095 bei 12 Bit-Bildern werden auf den Wert 255 bzw. 4095 gesetzt.
▶	Klicken Sie das Auswahlkästchen Rescale an, um die Intensitätswerte des Bildes auf die maximal möglichen Intensitätswerte zu normieren. Es werden die Extremwerte bestimmt. Der Minimalwert wird der 0 zugeordnet. Der Maximalwert wird im Falle von 8-Bit Bildern dem Wert 255, im Falle von 12 Bit-Bildern dem Wert 4095 zugeordnet. Dies gewährleistet, dass die errechneten Pixelwerte des Ergebnisbildes innerhalb des jeweiligen Wertebereichs bleiben.

Navigation: Arithmetic and Boolean Logic\ Image and Constant**Arithmetische und logische Operationen mit einem Bilddatensatz und einer Konstanten**

Voraussetzung für die Durchführung arithmetischer Operationen sind gleiche Dimensionen oder eine 1/n-Beziehung der beiden Datensätze. Gleiche Dimensionen bedeutet, dass zwei Bilder dasselbe Format in x und y haben müssen, zwei Bildstapel ausserdem noch dieselbe Anzahl von Einzelbildern (z). Die 1/n-Beziehung ist dann gegeben, wenn zum Beispiel 1 Einzelbild mit jedem (n-ten) Einzelbild eines Bildstapels verrechnet wird.

Kachel Boolean Logic

📖 siehe Boolesche Verknüpfungen (Seite 248)

▶	Geben Sie im Feld Constant einen Wert für die Konstante ein. Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Wählen Sie den Operator AND, um die binären Darstellungen der Pixel der Konstante und des Bildes mit dem logischen Operator AND zu verknüpfen. Das heisst, das Pixel im Ergebnisbild erhält dann den Wert 1, wenn in den beiden Pixeln der Wert 1 vorliegt, ansonsten wird die 0 eingetragen.
▶	Wählen Sie den Operator OR, um die binären Darstellungen der Pixel der Konstante und des Bildes mit dem logischen Operator OR zu verknüpfen. Das heisst, das Pixel im Ergebnisbild erhält dann den Wert 1, wenn in mindestens einem der beiden Pixel der Wert 1 vorliegt, ansonsten wird die 0 eingetragen.
▶	Wählen Sie den Operator XOR, um die binären Darstellungen der Pixel der Konstante und des

	Bildes mit dem logischen Operator XOR zu verknüpfen. Das heisst, das Pixel im Ergebnisbild erhält dann den Wert 1, wenn in den beiden Pixeln unterschiedliche Werte vorliegen, ansonsten wird die 0 eingetragen.
--	--

Kachel Arithmetic with World Coordinates**Kachel Arithmetic with Pixel Values**

Wenn Sie Arithmetic with World Coordinates wählen, werden Weltkoordinaten, also zum Beispiel die z-Position, der Zeitpunkt oder die Wellenlänge für die arithmetischen Operationen verwendet. Haben Sie Arithmetic with Pixel Values ausgewählt, werden die auf das Intervall 0 bis 255 bei 8 Bit bzw. 0 bis 4095 bei 12 Bit normierten Grauwerte verwendet.

▶	Geben Sie im Feld Constant einen Wert für die Konstante ein. Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Geben Sie im Feld Constant einen Wert für die Konstante ein. Der Bilddatensatz ist automatisch der aktive Bilddatensatz im Ansichtsfenster Viewer.
▶	Wählen Sie Addition, um die Konstante pixelweise zu den Intensitätswerten des ausgewählten Bildes nach der Formel: Pixel (Ergebnisbild) = Pixel (Source Image) + Konstante zu addieren.
▶	Wählen Sie Subtraction, um die Konstante pixelweise von den Intensitätswerten des ausgewählten Bildes nach der Formel: Pixel (Ergebnisbild) = Pixel (Source Image) – Konstante zu subtrahieren.
▶	Wählen Sie Multiplication, um die Konstante pixelweise mit den Intensitätswerten des ausgewählten Bildes nach der Formel: Pixel (Ergebnisbild) = Pixel (Source Image) x Konstante zu multiplizieren.
▶	Wählen Sie Division, um die Intensitätswerte des ausgewählten Bildes durch die Konstante nach der Formel: Pixel (Ergebnisbild) = Pixel (Source Image) / Konstante zu dividieren.
▶	Wählen Sie Min, um für jedes Pixel jeweils den Minimalwert von ausgewähltem Bild und Konstante nach der Formel: Pixel (Ergebnisbild) = MIN (Pixel (Source Image); Konstante) im Ergebnisbild zu verwenden.
▶	Wählen Sie Max, um für jedes Pixel jeweils den Maximalwert von ausgewähltem Bild und Konstante nach der Formel: Pixel (Ergebnisbild) = MAX (Pixel (Source Image); Konstante) im Ergebnisbild zu verwenden.
▶	Wählen Sie Average, um für jedes Pixel jeweils den Mittelwert von ausgewähltem Bild und Konstante nach der Formel: Pixel (Ergebnisbild) = 1/2 x (Pixel (Source Image) + Konstante) im Ergebnisbild zu verwenden.
▶	Wenn Sie 12 Bit Output im Feld Output Option wählen, wird im Ergebnisbild jedes Pixel mit 12 Bit kodiert, d.h. die Speicherung der Ergebniswerte erfolgt in einem Wertebereich von [0..4095].
▶	Klicken Sie das Auswahlkästchen Absolute Value an, wenn die Beträge der Ergebnisdaten verwendet werden sollen. Aus negativen Ergebnissen werden so positive.

Nur bei Arithmetic with Pixel Values

▶	Klicken Sie das Auswahlkästchen Cut at Maximum an, um Werte die nach der Berechnung außerhalb des Wertebereichs liegen abzuschneiden. Werte kleiner als 0 werden auf 0 gesetzt. Alle Werte größer als 255 bei 8-Bit Bildern bzw. 4095 bei 12 Bit-Bildern werden auf den Wert 255 bzw. 4095 gesetzt.
▶	Klicken Sie das Auswahlkästchen Rescale an, um die Intensitätswerte des Bildes auf die maximal möglichen Intensitätswerte zu normieren. Es werden die Extremwerte bestimmt. Der Minimalwert wird der 0 zugeordnet. Der Maximalwert wird im Falle von 8-Bit Bildern dem Wert 255, im Falle von 12 Bit-Bildern dem Wert 4095 zugeordnet. Dies gewährleistet, dass die errechneten Pixelwerte des Ergebnisbildes innerhalb des jeweiligen Wertebereichs bleiben.

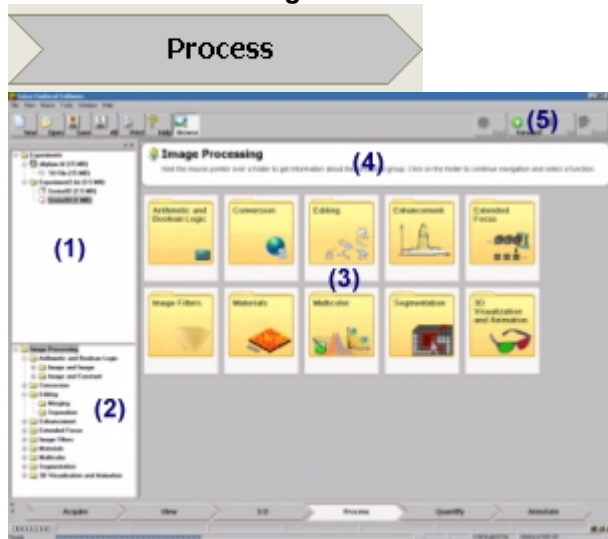
Konvertierung der Bitauflösung von Bildern



In diesem Kapitel finden Sie folgende Themen

- ▼ Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process
- ▼ Navigation: Conversion\ Bit Depth Conversion

Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process



Wenn Sie auf das Pfeilsymbol Process klicken, wird der sonst übliche Aufbau der Bedienoberfläche vollständig verändert. Alle Funktionstasten der anderen Schaltflächenbereiche/ Arbeitsschritte werden ausgeblendet. Auf der linken Seite wird das Ansichtsfenster Experiment Overview (1) mit den geöffneten Experimenten angezeigt. Darunter befindet sich das Navigationsfenster (2) mit dem Verzeichnisbaum aller in diesem Arbeitsschritt verfügbaren Funktionen. In der Mitte der Bedienoberfläche werden 10 große Kacheln (3) angezeigt, die 10 Funktionsgruppen umfassen. Oberhalb dieser Kacheln befindet sich ein Hilfefeld (4), in dem eine kurze Erläuterung zu einer Funktionsgruppe eingeblendet werden kann, indem man den Mauszeiger über die entsprechende Kachel hält.

▶	Klicken Sie auf die Kachel mit der gewünschten Funktionsgruppe. Auf jeder Navigationsebene können Sie eine Erläuterung der Funktionsgruppen oben im Hilfefeld einblenden, indem Sie den Mauszeiger über die jeweilige Kachel halten.
▶	Wählen Sie in den nachfolgenden Navigationsebenen jeweils eine Kachel, bis Sie auf der untersten Ebene die gewünschte Funktion mit dem entsprechenden Dialog erreicht haben.
▶	Im Navigationsfenster können Sie direkt eine Funktion anwählen, indem Sie den entsprechenden Ordner anklicken.

In der Menüzeile oben rechts stehen Ihnen folgende Tasten (5) zur Verfügung:



▶	Klicken Sie auf die Taste Back, um zur zuletzt angezeigten Navigationsebene zu gelangen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Forward, um die Ebene anzuzeigen, die Sie ausgewählt hatten, bevor Sie auf die Taste Back geklickt haben.

▶	Klicken Sie auf die Taste Up, um zur hierarchisch höheren Ebene zu gelangen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Reset, um geänderte Variablen auf die letzte Einstellung zurückzusetzen.
▶	Um den Arbeitsschritt Process zu verlassen, klicken Sie auf das Pfeilsymbol eines anderen Arbeitsschritts (z.B. Acquire).

Am unteren Ende jedes Dialogs finden Sie folgende beiden Schaltflächen:



▶	Klicken Sie auf die Schaltfläche Preview, um die ausgewählte Funktion auszuführen und das Ergebnisbild rechts im Vorschauenfenster anzuzeigen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Apply, um die ausgewählte Funktion auf den aktiven Bilddatensatz anzuwenden, das Ergebnisbild im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen und eine neue Datei im aktiven Experiment zu erzeugen.

Navigation: Bit Depth Conversion

Bilder von 8 Bittiefe in 12 Bittiefe konvertieren und umgekehrt

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Im Feld Source wird die Bittiefe des ausgewählten Bildes angezeigt.
▶	Wählen Sie im Feld New Resolution die Bittiefe aus, in die der Bilddatensatz konvertiert werden soll.

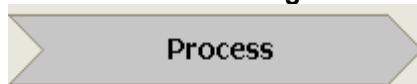
Verbinden oder Trennen von Bildauschnitten, Bildern und Bildserien

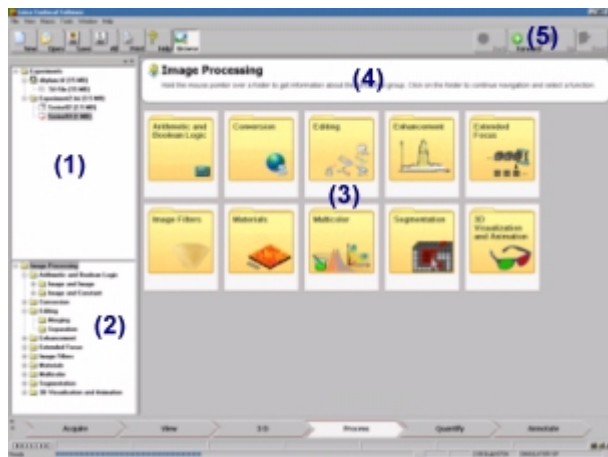


In diesem Kapitel finden Sie folgende Themen

- ▼ Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process
- ▼ Navigation: Editing\ Merging
- ▼ Navigation: Editing\ Separation

Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process





Wenn Sie auf das Pfeilsymbol Process klicken, wird der sonst übliche Aufbau der Bedienoberfläche vollständig verändert. Alle Funktionstasten der anderen Schaltflächenbereiche/ Arbeitsschritte werden ausgeblendet. Auf der linken Seite wird das Ansichtsfenster Experiment Overview (1) mit den geöffneten Experimenten angezeigt. Darunter befindet sich das Navigationsfenster (2) mit dem Verzeichnisbaum aller in diesem Arbeitsschritt verfügbaren Funktionen. In der Mitte der Bedienoberfläche werden 10 große Kacheln (3) angezeigt, die 10 Funktionsgruppen umfassen. Oberhalb dieser Kacheln befindet sich ein Hilfefeld (4), in dem eine kurze Erläuterung zu einer Funktionsgruppe eingeblendet werden kann, indem man den Mauszeiger über die entsprechende Kachel hält.

- | | |
|---|--|
| ▶ | Klicken Sie auf die Kachel mit der gewünschten Funktionsgruppe. Auf jeder Navigationsebene können Sie eine Erläuterung der Funktionsgruppen oben im Hilfefeld einblenden, indem Sie den Mauszeiger über die jeweilige Kachel halten. |
| ▶ | Wählen Sie in den nachfolgenden Navigationsebenen jeweils eine Kachel, bis Sie auf der untersten Ebene die gewünschte Funktion mit dem entsprechenden Dialog erreicht haben. |
| ▶ | Im Navigationsfenster können Sie direkt eine Funktion anwählen, indem Sie den entsprechenden Ordner anklicken. |

In der Menüzeile oben rechts stehen Ihnen folgende Tasten (5) zur Verfügung:



- | | |
|---|---|
| ▶ | Klicken Sie auf die Taste Back, um zur zuletzt angezeigten Navigationsebene zu gelangen. |
| ▶ | Klicken Sie auf die Taste Forward, um die Ebene anzuzeigen, die Sie ausgewählt hatten, bevor Sie auf die Taste Back geklickt haben. |
| ▶ | Klicken Sie auf die Taste Up, um zur hierarchisch höheren Ebene zu gelangen. |
| ▶ | Klicken Sie auf die Taste Reset, um geänderte Variablen auf die letzte Einstellung zurückzusetzen. |
| ▶ | Um den Arbeitsschritt Process zu verlassen, klicken Sie auf das Pfeilsymbol eines anderen Arbeitsschritts (z.B. Acquire). |

Am unteren Ende jedes Dialogs finden Sie folgende beiden Schaltflächen:



- | | |
|---|--|
| ▶ | Klicken Sie auf die Schaltfläche Preview, um die ausgewählte Funktion auszuführen und das Ergebnisbild rechts im Vorschauenfenster anzuzeigen. |
| ▶ | Klicken Sie auf die Taste Apply, um die ausgewählte Funktion auf den aktiven Bilddatensatz |


	anzuwenden, das Ergebnisbild im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen und eine neue Datei im aktiven Experiment zu erzeugen.
--	--

Navigation: Editing\ Merging

Mehrere Bilder oder Datensätze zu einem neuen Bild bzw. Datensatz vereinigen


Register Amplitude



Anpassung unterschiedlicher Bitauflösungen und weitere Einstellungen zur Berechnung des Ergebnisbildes


▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den ersten Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Wählen Sie im Feld Second Source Image, den zweiten Bilddatensatz für die Rechenoperation aus.
▶	Stellen Sie im Feld Amplitude Image 1/2 Min. den minimalen Intensitätswert ein. Bei Datensätzen mit Grauwerten ist dieser Wert «0». Bei Datensätzen mit Weltkoordinaten steht hier das tatsächliche Minimum. Das Minimum ist deshalb einstellbar, damit unterschiedlich skalierte Datensätze aufeinander angepasst werden können.
	Wird ein Datensatz mit einem kleinen Intervall von Intensitätswerten mit einem Datensatz vereinigt, der einen großen Intensitätswertebereich besitzt, wird der erste dunkler dargestellt als der zweite. Durch Anpassen des Minimums beider Datensätze werden diese so skaliert, dass die Intensitätswerte beider Datensätze zu gleichen Teilen in das Vereinigungsbild eingehen.
▶	Stellen Sie im Feld Amplitude Image 1/2 Max. den maximalen Intensitätswert ein. Bei Datensätzen mit Grauwerten ist dieser Wert «255» bei 8-Bit-Daten bzw. «4095» bei 12-Bit-Daten. Bei Datensätzen mit Weltkoordinaten steht hier das tatsächliche Maximum. Das Maximum ist deshalb einstellbar, damit unterschiedlich skalierte Datensätze aufeinander angepasst werden können.
	Wird ein Datensatz mit einem kleinen Intervall von Intensitätswerten mit einem Datensatz vereinigt, der einen großen Intensitätswertebereich besitzt, wird der erste dunkler dargestellt als der zweite. Durch Anpassen des Maximums beider Datensätze werden diese so skaliert, dass die Intensitätswerte beider Datensätze zu gleichen Teilen in das Vereinigungsbild eingehen.
▶	Im Feld Result definieren Sie die Bildauflösung des Vereinigungsbildes. 8 Bit Bildauflösung kann 256 verschiedene Intensitätsstufen darstellen. 12 Bit Bildauflösung kann 4096 verschiedene Intensitätsstufen darstellen.
▶	Ist die Option Maximum Value im Feld Result ausgewählt, wird aus den beiden zu vereinigenden Bildern jeweils das hellste Pixel zur Berechnung des entsprechenden Pixels des Vereinigungsbildes verwendet.
▶	Ist die Option Average Value im Feld Result ausgewählt, wird aus den beiden zu vereinigenden Bildern jeweils das arithmetische Mittel zur Berechnung des entsprechenden Pixels des Vereinigungsbildes verwendet.
	 <p><i>Wenn zwei stark unterschiedliche Bilder mittels des Mittelwertverfahrens zu einem Vereinigungsbild berechnet werden, so bewirkt der schwarze Bildhintergrund eine Reduzierung der Bildhelligkeit !</i></p>

Register x, y, z, t, la

Definition der räumlichen Anordnung der Ausgangsbilder im Ergebnisbild VOR der Vereinigung

▶	Im Feld Image 1 und Image 2 geben Sie im Eingabefeld Shift die Position (x / y / z / t / λ) des Ausgangsbildes im Vereinigungsbild ein. Üblicherweise wird dieser Wert «0» sein. Ein Wert > 0 ist dann sinnvoll, wenn beispielsweise eine Verkleinerung des einen Ausgangsbildes an einer bestimmten Position des anderen Ausgangsbildes gezeigt werden soll. Diese Funktion ist auch bei lateralen Bildserien sinnvoll, wie sie beispielsweise beim Biomapping vorkommen.  siehe Beispiel für das Verschieben eines Bildes (Seite 247)
---	--

▶	Im Feld Image 1 und Image 2 geben Sie im Eingabefeld Size die Größe der Dimensionen (x / y / z / t / λ) des Ausgangsbildes im Vereinigungsbild ein.
▶	Wenn Sie das Auswahlkästchen Append auswählen, wird der zweite Datensatz neben den ersten Datensatz platziert. Die Richtung der Platzierung hängt davon ab, ob das Auswahlkästchen im Register x, y oder z ausgewählt wurde. Die gleichzeitige Auswahl dieser Funktion in den verschiedenen Registern für x, y und z, verschiebt das zweite Ausgangsbild entweder nur in einer Dimension oder in mehreren.
▶	Im Feld Result können Sie angeben, nach welchem Pixel das Vereinigungsbild zu Ende ist.
	 <p><i>Hintergrund dieser Definition ist: Zur Bestimmung der Dimensionen des Vereinigungsbildes werden absolute Längen verwendet. Haben nun die zwei zu vereinigenden Datensätze zwar dieselben Längenausdehnungen, aber eine unterschiedliche Anzahl von Pixeln (bedingt durch ein unterschiedliches Scanformat), so muss entschieden werden, ob nun die Pixelanzahl oder die resultierende Gesamtlänge für das Vereinigungsbild entscheidend sein sollen.</i></p>
▶	Wenn Sie im Feld Result die Option Best Fit auswählen, benutzt die Software für die Berechnung des Ergebnisbildes folgendes Verfahren: Für beide Bilder wird berechnet, welcher Breite ein einziges Pixel entspricht: µm/Pixel. Ist der Unterschied dieser Größe zwischen beiden Bildern kleiner als ein Faktor 2, so wird bei diesem Verfahren die größere Bildauflösung (d.h. kleinerer Wert µm/Pixel) für das Ergebnisbild verwendet. Ist die Abweichung in der Bildauflösung zwischen den Ausgangsbildern größer als ein Faktor 2, so wird die kleiner Bildauflösung (d.h. ein größerer Wert µm/Pixel) zur Berechnung des Ergebnisbildes verwendet. Die Anzahl der Pixel des Ergebnisbildes (Element Number) dividiert durch die Gesamtlänge ergibt die Auflösung des Ergebnisbildes.
	 <p><i>Hintergrund dieser Definition ist: Zur Bestimmung der Dimensionen des Vereinigungsbildes werden absolute Längen verwendet. Haben nun die zwei zu vereinigenden Datensätze zwar dieselben Längenausdehnungen, aber eine unterschiedliche Anzahl von Pixeln (bedingt durch ein unterschiedliches Scanformat), so muss entschieden werden, ob nun die Pixelanzahl oder die resultierende Gesamtlänge für das Vereinigungsbild entscheidend sein sollen.</i></p>

 siehe Scanformat auswählen (Seite 128)

Register ch

Definition der Vereinigung von Bildern mit unterschiedlicher Anzahl von Detektionskanälen

▶	Wenn zwei Bilder oder Datensätze mit unterschiedlicher Anzahl von Detektionskanälen miteinander vereinigt werden sollen, definieren Sie im Feld Image 1, ab welcher Kanalnummer im Vereinigungsbild die Kanäle des Ausgangsbildes 1 eingefügt werden sollen.
▶	Wenn zwei Bilder oder Datensätze mit unterschiedlicher Anzahl von Detektionskanälen miteinander vereinigt werden sollen, definieren Sie im Feld Image 2, ab welcher Kanalnummer im Vereinigungsbild die Kanäle des Ausgangsbildes 2 eingefügt werden sollen.
▶	Wenn Sie das Auswahlkästchen auswählen, werden die beiden Ausgangsbilder auf unterschiedliche Kanäle des Vereinigungsbildes verteilt.

Navigation: Editing\ Separation

Einzelne Bilder oder Bildausschnitte aus einem Datensatz herauslösen

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
---	--

Feld Dimension Selection

▶	Im Eingabefeld ch werden die Detektionskanäle des Bildes oder der Bildserie angezeigt. Wählen Sie die Detektionskanäle aus, in denen der Bildausschnitt oder die einzelnen Bilder herausgelöst werden sollen.
▶	Im Eingabefeld y wird die Anzahl der Pixel in y angezeigt, die vom Scanformat abhängt. Geben Sie in den Eingabefeldern Start y und End y die Anzahl der Pixel an, die herausgelöst werden sollen. Mit der Schaltfläche R (Reset) können die Eingaben wieder rückgängig gemacht werden.
▶	Im Eingabefeld x wird die Anzahl der Pixel in x angezeigt, die vom Scanformat abhängt. Geben Sie in den Eingabefeldern Start x und End x die Anzahl der Pixel an, die herausgelöst werden sollen. Mit der Schaltfläche R (Reset) können die Eingaben wieder rückgängig gemacht werden.
▶	Im Eingabefeld z wird die Anzahl der Einzelbilder einer Bildserie angezeigt. Geben Sie in den Eingabefeldern Start z und End z die Anzahl der Bilder an, die herausgelöst werden sollen. Mit der Schaltfläche R (Reset) können die Eingaben wieder rückgängig gemacht werden.
▶	Im Eingabefeld Step z / y / x kann innerhalb einer Dimension ein Intervall eingegeben werden. Wenn Sie zum Beispiel im Eingabefeld Step z eine 2 eingeben, wird immer nur jedes 2. Bild herausgeschnitten.

Beispiele

▶	Wenn Sie alle Bilder eines Detektionskanals aus einer Bildserie herausschneiden wollen, klicken Sie im Eingabefeld ch den Kanal an, der herausgelöst werden soll, ohne die Werte in den Eingabefeldern der anderen Dimensionen zu verändern.
▶	Wenn Sie einzelne Bilder als Ganzes aus einer Bildserie herausschneiden wollen, geben Sie in den Eingabefeldern Start z und End z die entsprechenden Zahlen ein, ohne die Werte in den Eingabefeldern der anderen Dimensionen zu verändern.
▶	Wenn Sie einen Ausschnitt in allen Bildern einer Bildserie herausschneiden wollen, definieren Sie in den Eingabefeldern Start x, End x und Start y, End y die Grösse des Ausschnitts, ohne die Werte in den Eingabefeldern für z zu ändern.

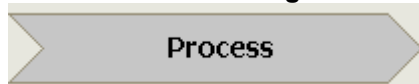
Einstellen von Helligkeit, Kontrast und Gammakorrektur

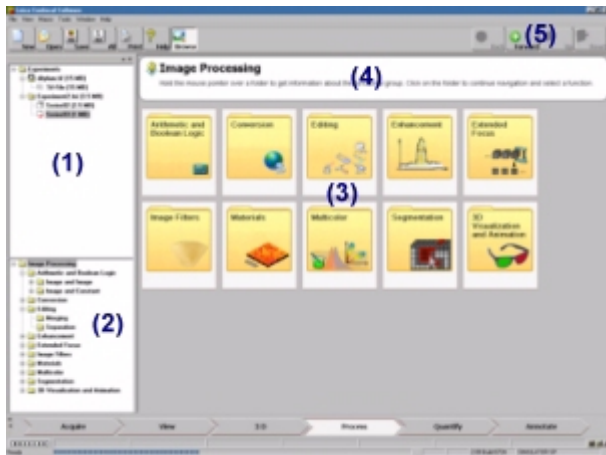


In diesem Kapitel finden Sie folgende Themen

- ▼ Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process
- ▼ Navigation: Enhancement\ Contrast and Brightness
- ▼ Navigation: Enhancement\ Gamma Correction

Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process





Wenn Sie auf das Pfeilsymbol Process klicken, wird der sonst übliche Aufbau der Bedienoberfläche vollständig verändert. Alle Funktionstasten der anderen Schaltflächenbereiche/ Arbeitsschritte werden ausgeblendet. Auf der linken Seite wird das Ansichtsfenster Experiment Overview (1) mit den geöffneten Experimenten angezeigt. Darunter befindet sich das Navigationsfenster (2) mit dem Verzeichnisbaum aller in diesem Arbeitsschritt verfügbaren Funktionen. In der Mitte der Bedienoberfläche werden 10 große Kacheln (3) angezeigt, die 10 Funktionsgruppen umfassen. Oberhalb dieser Kacheln befindet sich ein Hilfefeld (4), in dem eine kurze Erläuterung zu einer Funktionsgruppe eingeblendet werden kann, indem man den Mauszeiger über die entsprechende Kachel hält.

- ▶ Klicken Sie auf die Kachel mit der gewünschten Funktionsgruppe. Auf jeder Navigationsebene können Sie eine Erläuterung der Funktionsgruppen oben im Hilfefeld einblenden, indem Sie den Mauszeiger über die jeweilige Kachel halten.
- ▶ Wählen Sie in den nachfolgenden Navigationsebenen jeweils eine Kachel, bis Sie auf der untersten Ebene die gewünschte Funktion mit dem entsprechenden Dialog erreicht haben.
- ▶ Im Navigationsfenster können Sie direkt eine Funktion anwählen, indem Sie den entsprechenden Ordner anklicken.

In der Menüzeile oben rechts stehen Ihnen folgende Tasten (5) zur Verfügung:



- ▶ Klicken Sie auf die Taste Back, um zur zuletzt angezeigten Navigationsebene zu gelangen.
- ▶ Klicken Sie auf die Taste Forward, um die Ebene anzuzeigen, die Sie ausgewählt hatten, bevor Sie auf die Taste Back geklickt haben.
- ▶ Klicken Sie auf die Taste Up, um zur hierarchisch höheren Ebene zu gelangen.
- ▶ Klicken Sie auf die Taste Reset, um geänderte Variablen auf die letzte Einstellung zurückzusetzen.
- ▶ Um den Arbeitsschritt Process zu verlassen, klicken Sie auf das Pfeilsymbol eines anderen Arbeitsschritts (z.B. Acquire).

Am unteren Ende jedes Dialogs finden Sie folgende beiden Schaltflächen:



- ▶ Klicken Sie auf die Schaltfläche Preview, um die ausgewählte Funktion auszuführen und das Ergebnisbild rechts im Vorschauenfenster anzuzeigen.
- ▶ Klicken Sie auf die Taste Apply, um die ausgewählte Funktion auf den aktiven Bilddatensatz

	anzuwenden, das Ergebnisbild im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen und eine neue Datei im aktiven Experiment zu erzeugen.
--	--

Navigation: Enhancement\ Brightness and Contrast Einstellen von Helligkeit und Kontrast

Wenn Sie die Helligkeit des Bildes verändern, werden helle Stellen, dunkle Stellen und mittlere Helligkeitswerte des Bildes in gleichem Maße aufgehellt. Mit dem Kontrast variieren Sie das Verhältnis von hellen und dunklen Stellen im Bild.

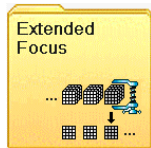
▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Für Mehrkanalbilder, wählen Sie das Auswahlkästchen Lock Channels, um alle Änderungen für alle Kanäle gleichzeitig und in gleichem Umfang vorzunehmen.
▶	Wählen Sie für Bilder, die nicht den gesamten Dynamikbereich ausnutzen, das Auswahlkästchen Linear Model. Ist das Auswahlkästchen angewählt, so besteht eine lineare Beziehung zwischen der Helligkeit im Ausgangsbild und im Ergebnisbild. Ob ein Bild den gesamten zur Verfügung stehenden Dynamikbereich ausnutzt, können Sie herausfinden, indem Sie ein Histogramm des Bildes erstellen. Falls sich das Histogramm nicht über den gesamten Intensitätsbereich erstreckt (siehe Minimal- und Maximalwerte), wird der Dynamikbereich nicht komplett ausgenutzt. 📖 siehe Histogramm berechnen (Seite 222) Falls Sie Bilder haben, in denen Sie die mittleren Helligkeitswerte stärker hervorheben wollen, so wählen Sie das nichtlineare Modell (Auswahlkästchen Linear Model nicht ausgewählt).
▶	Verändern Sie im Feld Channel Adjustment mit dem Schieberegler Brightness die Helligkeit des Ergebnisbildes. Befindet sich der Schieberegler exakt in der Mitte, so sind Ausgangsbild und Ergebnisbild genau gleich hell. Wird der Schieberegler aus der Mitte nach rechts geschoben, so wird das Ergebnisbild heller als das Ausgangsbild. Wird der Schieberegler aus der Mitte nach links geschoben, so wird das Ergebnisbild dunkler als das Ausgangsbild.
▶	Verändern Sie im Feld Channel Adjustment mit dem Schieberegler Contrast den Kontrast des Ergebnisbildes. Befindet sich der Schieberegler exakt in der Mitte, so haben Ausgangsbild und Ergebnisbild genau denselben Kontrast. Wird der Schieberegler aus der Mitte nach rechts geschoben, so wird das Ergebnisbild kontrastreicher als das Ausgangsbild. Wird der Schieberegler aus der Mitte nach links geschoben, so wird das Ergebnisbild kontrastärmer als das Ausgangsbild.

Navigation: Enhancement\ Gamma Correction Einstellen der mittleren Helligkeitswerte (Gammakorrektur)

Mit der Gammakorrektur wird die Umsetzung des Kontrasts des Ausgangsbildes in den Kontrast des Ergebnisbildes auf nichtlineare Weise beeinflusst. Die Gammakorrektur wirkt sich nur auf die mittleren Helligkeitswerte eines Bildes aus, während die sehr hellen und die sehr dunklen Bildbereiche unverändert bleiben.

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Für Mehrkanalbilder, wählen Sie das Auswahlkästchen Lock Channels, um alle Änderungen für alle Kanäle gleichzeitig und in gleichem Umfang vorzunehmen.
▶	Verändern Sie im Feld Channel Adjustment mit dem Schieberegler die mittleren Helligkeitswerte des Ergebnisbildes. Befindet sich der Schieberegler exakt in der Mitte, so sind Ausgangsbild und Ergebnisbild genau gleich hell. Wird der Schieberegler aus der Mitte nach rechts geschoben, so werden die mittleren Helligkeitswerte aufgehellt. Wird der Schieberegler aus der Mitte nach links geschoben, so werden die mittleren Helligkeitswerte dunkler.

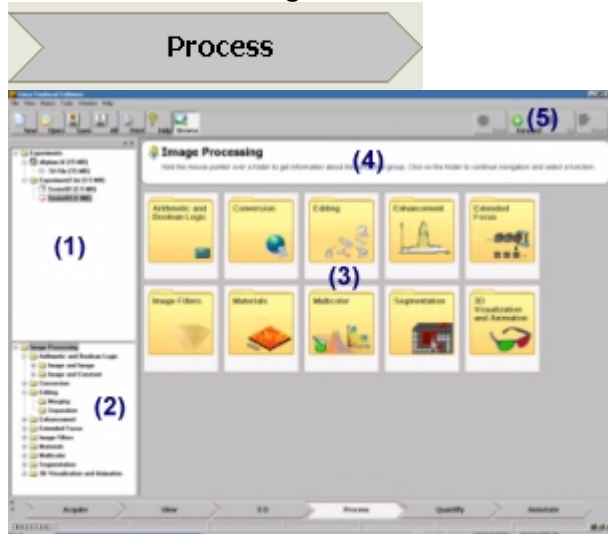
Erweiterter Fokus durch Projektionen von Bildstapeln auf ein Einzelbild



In diesem Kapitel finden Sie folgende Themen

- ▼ Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process
- ▼ Navigation: Extended Focus\ Average Projection, Maximum Projection, Transparent Projection

Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process



Wenn Sie auf das Pfeilsymbol Process klicken, wird der sonst übliche Aufbau der Bedienoberfläche vollständig verändert. Alle Funktionstasten der anderen Schaltflächenbereiche/ Arbeitsschritte werden ausgeblendet. Auf der linken Seite wird das Ansichtsfenster Experiment Overview (1) mit den geöffneten Experimenten angezeigt. Darunter befindet sich das Navigationsfenster (2) mit dem Verzeichnisbaum aller in diesem Arbeitsschritt verfügbaren Funktionen. In der Mitte der Bedienoberfläche werden 10 große Kacheln (3) angezeigt, die 10 Funktionsgruppen umfassen. Oberhalb dieser Kacheln befindet sich ein Hilfefeld (4), in dem eine kurze Erläuterung zu einer Funktionsgruppe eingeblendet werden kann, indem man den Mauszeiger über die entsprechende Kachel hält.

- | | |
|---|--|
| ▶ | Klicken Sie auf die Kachel mit der gewünschten Funktionsgruppe. Auf jeder Navigationsebene können Sie eine Erläuterung der Funktionsgruppen oben im Hilfefeld einblenden, indem Sie den Mauszeiger über die jeweilige Kachel halten. |
| ▶ | Wählen Sie in den nachfolgenden Navigationsebenen jeweils eine Kachel, bis Sie auf der untersten Ebene die gewünschte Funktion mit dem entsprechenden Dialog erreicht haben. |
| ▶ | Im Navigationsfenster können Sie direkt eine Funktion anwählen, indem Sie den entsprechenden Ordner anklicken. |

In der Menüzeile oben rechts stehen Ihnen folgende Tasten (5) zur Verfügung:



- | | |
|---|--|
| ▶ | Klicken Sie auf die Taste Back, um zur zuletzt angezeigten Navigationsebene zu gelangen. |
|---|--|

▶	Klicken Sie auf die Taste Forward, um die Ebene anzuzeigen, die Sie ausgewählt hatten, bevor Sie auf die Taste Back geklickt haben.
▶	Klicken Sie auf die Taste Up, um zur hierarchisch höheren Ebene zu gelangen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Reset, um geänderte Variablen auf die letzte Einstellung zurückzusetzen.
▶	Um den Arbeitsschritt Process zu verlassen, klicken Sie auf das Pfeilsymbol eines anderen Arbeitsschritts (z.B. Acquire).

Am unteren Ende jedes Dialogs finden Sie folgende beiden Schaltflächen:



▶	Klicken Sie auf die Schaltfläche Preview, um die ausgewählte Funktion auszuführen und das Ergebnisbild rechts im Vorschaufenster anzuzeigen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Apply, um die ausgewählte Funktion auf den aktiven Bilddatensatz anzuwenden, das Ergebnisbild im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen und eine neue Datei im aktiven Experiment zu erzeugen.

Navigation: Extended Focus\ Average Projection, Maximum Projection, Transparent Projection Ein Projektionsbild entlang der orthogonalen Achse (z-Achse bei horizontalen xy-Schnitten und y-Achse bei vertikalen xz-Schnitten) erzeugen

☞ siehe Prinzip und Arten von Projektionen (Seite 173)

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Wählen Sie eine der drei Projektionsarten aus: Mittelwertprojektion (Average Projection), Maximumprojektion (Maximum Projection), Transparentprojektion (Transparent Projection).

Register Options

▶	Im Feld Projection Direction bestimmen Sie, über welche Dimension die Projektion ausgeführt wird. Wählen Sie [z] bei räumlichen Serien, [t] bei Zeitserien oder [λ] bei Wellenlängenserien, um die Projektion aus allen Bildern eines Detektionskanals, also zum Beispiel von Bild 1 bis Bild 10 im Detektionskanal 1, zu erzeugen. Wählen Sie [ch], um die Projektion jeweils aus einem bestimmten Bild in allen Detektionskanälen, also zum Beispiel von Bild 1 in Detektionskanal 1 und Bild 1 in Detektionskanal 2, zu erzeugen.
▶	Klicken Sie auf Rescale im Feld Options, um bei der Erzeugung des Projektionsbildes die Intensitätswerte des Bildes auf die maximal möglichen Intensitätswerte zu normieren. Dies gewährleistet, dass die errechneten Grauwerte des Projektionsbildes innerhalb des Wertebereichs von zum Beispiel 0 bis 255 bei 8 Bit bleiben. Dunkle Bilder können so aufgehellt werden.
▶	Wenn Sie auf Invert im Feld Options klicken, wird die Projektionsachse gespiegelt. Die Berechnung des Projektionsbildes erfolgt also in entgegengesetzter Richtung. Dies ist eine Funktion, die vor allem bei inversen Mikroskopen sinnvoll ist, um die Berechnung des Projektionsbildes dem inversen Strahlengang des Laserlichts anzugleichen.
▶	Bewegen Sie den Schieber im Feld Threshold, um einen Schwellenwert zu definieren. Die Intensitätswerte unterhalb dieses Wertes werden für die Erzeugung des Projektionsbildes nicht berücksichtigt.

Register Factor (nur bei Transparentprojektion)

☞ siehe Prinzip und Arten von Projektionen (Seite 173)

▶	Das Register Factor wird nur bei ausgewählter Transparentprojektion angezeigt. Mit dem Schieber variieren Sie den Transparentfaktor α . Je höher er eingestellt ist, desto stärker fließen
---	---

die Intensitätswerte aus den unteren Ebenen im Bildstapel in das Projektionsbild ein.



Die drei Projektionsarten können auch direkt über die entsprechenden Tasten (Fix Max / Fix Avg / Fix Trans) aktiviert werden. Wird die Funktion über die Taste ausgelöst, ist das Projektionsbild nur eine temporäre Monitordarstellung. Diese können Sie mit der Taste Original wieder rückgängig machen.

- 📖 siehe Maximumprojektion eines Bildstapels bei invariabler Projektionsachse (Seite 176)
- 📖 siehe Mittelwertprojektion eines Bildstapels bei invariabler Projektionsachse (Seite 178)
- 📖 siehe Transparentprojektion eines Bildstapels bei invariabler Projektionsachse (Seite 180)

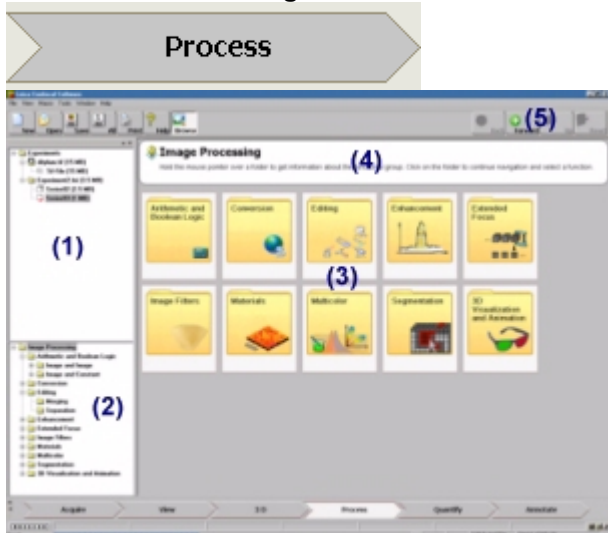
Lineare Filter und Morphologische Filter (optional)



In diesem Kapitel finden Sie folgende Themen

- ▼ Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process
- ▼ Was sind lineare Filter?
- ▼ Navigation: Image Filters\ Linear Filters
- ▼ Was sind morphologische Filter?
- ▼ Navigation: Image Filters\ Morphological Filters

Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process



Wenn Sie auf das Pfeilsymbol Process klicken, wird der sonst übliche Aufbau der Bedienoberfläche vollständig verändert. Alle Funktionstasten der anderen Schaltflächenbereiche/ Arbeitsschritte werden ausgeblendet. Auf der linken Seite wird das Ansichtsfenster Experiment Overview (1) mit den geöffneten Experimenten angezeigt. Darunter befindet sich das Navigationsfenster (2) mit dem Verzeichnisbaum aller in diesem Arbeitsschritt verfügbaren Funktionen. In der Mitte der Bedienoberfläche werden 10 große Kacheln (3) angezeigt, die 10 Funktionsgruppen umfassen. Oberhalb dieser Kacheln befindet sich ein Hilfefeld (4), in dem eine kurze Erläuterung zu einer Funktionsgruppe eingblendet werden kann, indem man den Mauszeiger über die entsprechende

Kachel hält.

▶	Klicken Sie auf die Kachel mit der gewünschten Funktionsgruppe. Auf jeder Navigationsebene können Sie eine Erläuterung der Funktionsgruppen oben im Hilfefeld einblenden, indem Sie den Mauszeiger über die jeweilige Kachel halten.
▶	Wählen Sie in den nachfolgenden Navigationsebenen jeweils eine Kachel, bis Sie auf der untersten Ebene die gewünschte Funktion mit dem entsprechenden Dialog erreicht haben.
▶	Im Navigationsfenster können Sie direkt eine Funktion anwählen, indem Sie den entsprechenden Ordner anklicken.

In der Menüzeile oben rechts stehen Ihnen folgende Tasten (5) zur Verfügung:



▶	Klicken Sie auf die Taste Back, um zur zuletzt angezeigten Navigationsebene zu gelangen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Forward, um die Ebene anzuzeigen, die Sie ausgewählt hatten, bevor Sie auf die Taste Back geklickt haben.
▶	Klicken Sie auf die Taste Up, um zur hierarchisch höheren Ebene zu gelangen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Reset, um geänderte Variablen auf die letzte Einstellung zurückzusetzen.
▶	Um den Arbeitsschritt Process zu verlassen, klicken Sie auf das Pfeilsymbol eines anderen Arbeitsschritts (z.B. Acquire).

Am unteren Ende jedes Dialogs finden Sie folgende beiden Schaltflächen:



▶	Klicken Sie auf die Schaltfläche Preview, um die ausgewählte Funktion auszuführen und das Ergebnisbild rechts im Vorschauenfenster anzuzeigen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Apply, um die ausgewählte Funktion auf den aktiven Bilddatensatz anzuwenden, das Ergebnisbild im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen und eine neue Datei im aktiven Experiment zu erzeugen.

Was sind lineare Filter?

Filter werden dazu eingesetzt, die Qualität eines Bildes zu verbessern. In der Regel bedeutet dies, unerwünschte Bildpunkte (Pixel) aus dem Bild zu entfernen. Mit der hier verfügbaren Filterfunktion, einem Tiefpassfilter, wird statistisches Rauschen, das zum Beispiel durch den Detektor hervorgerufen werden kann, in einem Bild unterdrückt.

Das Prinzip eines Filters besteht darin, den Wert eines jeden Pixel in einem Bild mit den Werten seiner Nachbarpixel zu verrechnen. Der Filterkern (Kernel) beschreibt die Anzahl und die Gewichtung der Nachbarpixel, die in die Berechnung des neuen Bildpunktes miteinfließen. Der hier verwendete Filterkern lässt sich mit dem Pascalschen Dreieck beschreiben:

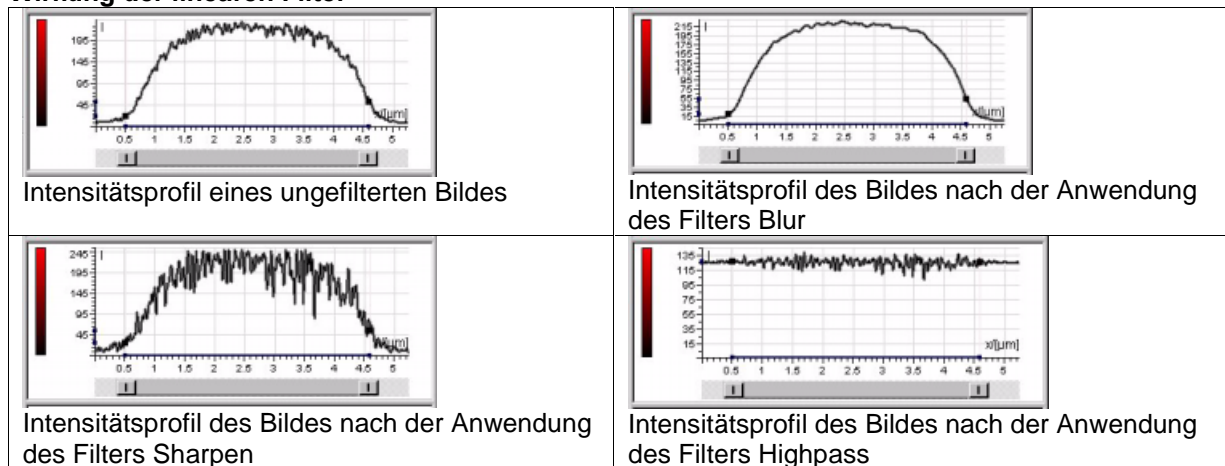
Filterkerngröße	Pascalsches Dreieck	Normierung
Kernel Size 3	<pre> 1 1 1 2 1 1 3 3 1 1 4 6 4 1 1 5 10 10 5 1 1 6 15 20 15 6 1 1 7 21 35 35 21 7 1 1 8 28 56 70 56 28 8 1 ... </pre>	<p>1/2 1/4 1/8 1/16 1/32 1/64 1/128 1/256 ...</p>

Wählt man zum Beispiel die Filterkerngröße 5 (Kernel Size 5) aus, so werden jeweils 5 Pixel des Originalbildes in die Berechnung 1 Pixels im gefilterten Bild verwendet. Immer das mittlere Pixel im Filterkern ist der zu berechnende Bildpunkt. Dabei werden die Grauwerte der 5 Pixel, entsprechend dem Gewichtungsschema 1-4-6-4-1, mit den Faktoren 1/16, 4/16, 6/16, 4/16, 1/16 multipliziert und miteinander zum Endwert addiert. In der folgenden schematischen Darstellung, bedeutet dies für die Berechnung des Pixels C, dass die Grauwerte der Pixel A, B und D, E in die Berechnung des gefilterten Pixels C' mit einfließen. Die Berechnung von C' lautet: $16 \times 1/16 + 4 \times 4/16 + 8 \times 6/16 + 32 \times 4/16 + 8 \times 1/16 = 1 + 1 + 3 + 8 + 0,5 = 13,5$

	A	B	C	D	E
Grauwerte der Pixel A-E im Originalbild	16	4	8	32	8
Faktoren der Filterkerngröße 5	1/16	4/16	6/16	4/16	1/16
Grauwert von C' im gefilterten Bild			13,5		

Eine solche Berechnung wird für jedes Pixel im Originalbild durchgeführt. Am Rand des Bildes ragt die Filtermaske über das Bild hinaus. Für diese Pixel wird der Wert 0 gesetzt.

Wirkung der linearen Filter



- ▶ Wenn Sie den Filter Blur auswählen, wird der oben beschriebene Tiefpassfilter auf das Bild angewendet. Dieser Filtertyp filtert die hohen Frequenzen aus dem Bild. Das heißt, die stark ausgeprägten Übergänge von niedrigen zu hohen Intensitätswerten werden abgeschwächt. Mit diesem Filter kann Rauschen aus einem Bild entfernt werden.
- ▶ Wenn Sie den Filter Sharpen auswählen, wird der Tiefpassfilter auf das Bild angewendet und dann werden die Werte des hochpassgefilterten Bildes auf die Werte des Originalbildes aufaddiert. Dieser Filtertyp filtert die niedrigen Frequenzen aus dem Bild. Das heißt, die stark ausgeprägten Übergänge von niedrigen zu hohen Intensitätswerten werden verstärkt.
- ▶ Wenn Sie den Filter Highpass auswählen wird der Tiefpassfilter auf das Bild angewendet und dann werden die Werte des Originalbildes von den Werten des tiefpassgefilterten Bildes subtrahiert. Das Ergebnis entspricht einem Bild, das mit einem Hochpassfilter bearbeitet wurde. Dieser Filtertyp stellt nur die stark ausgeprägten Übergänge von niedrigen zu hohen Intensitätswerten im Bild dar.

Navigation: Image Filters\ Linear Filters

Lineare Filter (Tiefpass- und Hochpassfilter) auf Bilder anwenden

- ▶ Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei doppelklicken.
- ▶ Wählen Sie eine der drei Filtertypen aus: Glätten (Blur), Schärfen (Sharpen), Hochpassfilter (Highpass).
- ▶ Im Feld Kernel Size wählen Sie einen Wert für die Filterkerngröße aus. Der Wert, der im Feld Kernel Size als Cut-off Wavelength angegeben wird, ist die Größe des Filters gemessen in

	Pixel. Dieser Wert wird auf Grundlage der für das jeweilige Bild verwendeten Scanparameter (Vergrößerung des Objektivs, Wellenlänge des Anregungslicht, Scanformat, Elektronischer Zoomfaktor ...) berechnet.
▶	Im Feld Filter Directions stellen Sie die Dimensionalität des Filters ein. Wählen Sie die Raumachsen aus, auf die der Filter sequentiell angewendet werden soll. Es werden hier eindimensionale Filter eingesetzt, das heißt der Filter wird auf einmal immer nur über eine Achse berechnet. Der Wert, der im Feld Filter Directions als Cut-off Wavelength angegeben wird, ist die Grösse des Filters gemessen in Nanometern. Bei einem Wert von zum Beispiel 160 nm, werden alle Wellenlängen kleiner gleich 160 nm gefiltert.

Sharp Factor (nur bei Filtertyp Sharpen)

	Mit dem Schieber im Feld Sharp Factor variieren Sie die Wirkung des Filtertyps Sharp. Ist dieser Faktor auf 0 eingestellt, ist der Filter nicht aktiv.
--	--

Kacheln Blur (Gallery), Sharpen (Gallery), Highpass (Gallery)

▶	Klicken Sie auf die Kachel Blur (Gallery), Sharpen (Gallery) oder Highpass (Gallery), um eine Galerie von Vorschau Bildern des ausgewählten Bilddatensatzes zu sehen. Jedes der Vorschau Bilder wurde mit einer anderen Filterkerngrösse (und einem anderen Schärfefaktor) berechnet. Klicken Sie auf eine Kachel, um den Dialog mit den entsprechenden Einstellungen anzuzeigen.
---	---

Was sind morphologische Filter?

Morphologische Filter dienen dazu, mit Hilfe mathematischer Operatoren die Form von zusammenhängenden Strukturen im Bild zu verändern und vom Hintergrund zu trennen. Morphologische Operatoren werden üblicherweise auf binäre Bilder angewandt. Binärbilder haben Pixel, die nur den Wert 1 oder 0 haben. In der Leica Confocal Software können Sie mit den Segmentierungsfunktionen binäre Bilder erzeugen. Es können aber auch Grauwertbilder, also Bilder mit einem Wertebereich von zum Beispiel 256 (8 Bit) verschiedenen Grauwerten/ Intensitätswerten, mit diesen Operatoren bearbeitet werden.

📖 siehe Arbeitsschritt Process / Ordner Segmentation (Seite 218)

Das Prinzip besteht darin, eine Maske – auch Strukturelement genannt – Pixel für Pixel über das Bild zu bewegen. Das zu untersuchende Pixel ist immer das zentrale Pixel in der Maske. Die Maske kann in der Leica Confocal Software die Form eines Quadrats, eines Kreuzes oder eines Kreises haben. Form und Grösse der Maske bestimmen, welche und wieviele Nachbarpixel zum Filtern herangezogen werden. Anhand eines bestimmten Kriteriums wird unterschieden, welche Pixel als Struktur und welche als Hintergrund im Ergebnisbild definiert werden. Bei Binärbildern ist dieses Kriterium die logische Verknüpfung AND bzw. OR, bei Grauwertbildern ist es die Höhe des Grauwertes/ Intensitätswertes.

📖 siehe Boolesche Verknüpfungen (Seite 248)

Mit der Form der Maske beeinflusst man die Strukturen, die im Ergebnisbild hervorgehoben werden. Hat man zum Beispiel die Kugel als Maskenform gewählt, werden runde Formen im Ergebnisbild betont. Es hängt jedoch von dem morphologischen Operator ab, bei welcher Nachbarschaftsbeziehung das entsprechende Pixel im Ergebnisbild als Struktur oder als Hintergrund kodiert wird.

Es gibt folgende zwei elementare Grundtypen morphologischer Operatoren, nämlich die Erosion (Erosion) und die Dilatation (Dilation), sowie Kombinationen dieser Operatoren:

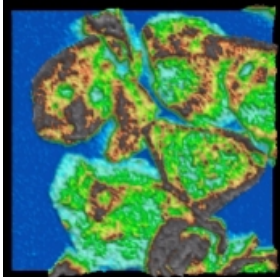
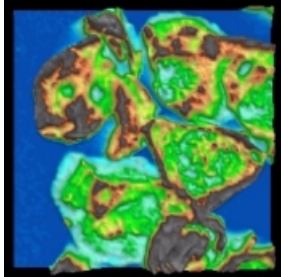
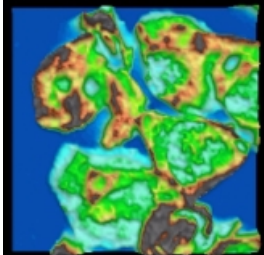
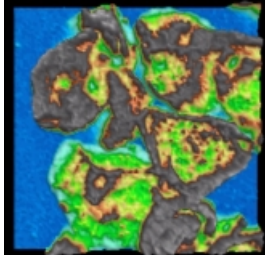
Operator	Beschreibung
Erosion (Erosion)	Bei <u>Binärbildern</u> wird das untersuchte Pixel im Ergebnisbild dann auf den binären Wert 1 gesetzt, wenn <u>alle</u> Nachbarpixel (bestimmt durch die Form und Grösse der Maske) im binären Originalbild mit einer 1 kodiert sind. Bei <u>Grauwertbildern</u> wird der minimale Grauwert der Nachbarpixel anstelle des Wertes des untersuchten Pixels im Ergebnisbild eingetragen.

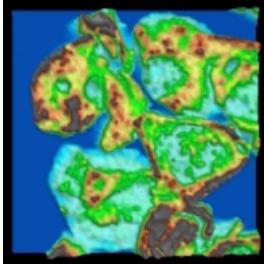
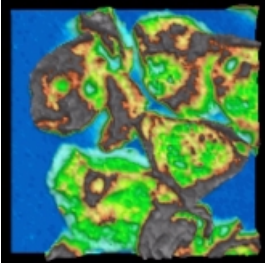
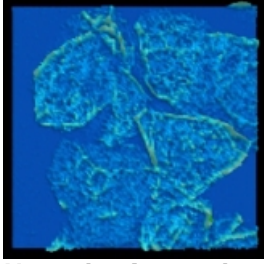
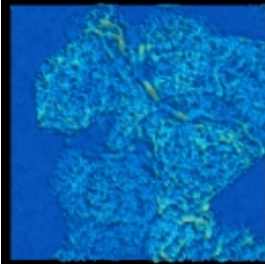
Dilatation (Dilation)	Bei <u>Binärbildern</u> wird das untersuchte Pixel im Ergebnisbild dann auf den binären Wert 1 gesetzt, wenn mindestens <u>eines</u> der Nachbarpixel (bestimmt durch die Form und Grösse der Maske) im binären Schwellenwertbild mit einer 1 kodiert ist. Bei <u>Grauwertbildern</u> wird der maximale Intensitätswert der Nachbarpixel anstelle des Wertes des untersuchten Pixels im Ergebnisbild eingetragen.
-----------------------	--

Operatorkombination	Beschreibung
Öffnen (Open)	Öffnen ist eine Operatorkombination. Zuerst wird eine Erosion und dann eine Dilatation ausgeführt.
Schließen (Close)	Schließen ist eine Operatorkombination. Zuerst wird eine Dilatation und dann eine Erosion ausgeführt.
Top Hat	Top Hat bearbeitet das Bild mit der Operatorkombination Öffnen und zieht das Ergebnisbild vom Originalbild ab.
Bottom Hat	Bottom Hat bearbeitet das Bild mit der Operatorkombination Schließen und zieht das Originalbild vom Ergebnisbild ab.

Filter	Beschreibung
Median	Der Medianfilter gehört zur Gruppe der nichtlinearen Rangordnungsfilter. Bei der Medianfilterung werden die Intensitätswerte der Nachbarpixel (bestimmt durch die Form und Grösse der Maske) nach ihrer Größe sortiert. Im Ergebnisbild der Medianfilterung wird dann derjenige Intensitätswert anstelle des untersuchten Pixels eingetragen, der in dieser Rangordnung in der Mitte steht.

Wirkung der morphologischen Operatoren

			
Originalbild		Nach der Anwendung des Filters Median	
Strukturen (mit sehr hohen Intensitätswerten) sind grau farbkodiert, der Hintergrund (Intensitätswert 0) dunkelblau. Zwischen diesen beiden Extremwerten ist die Spanne von höheren zu niedrigeren Intensitätswerten von braun, gelb, grün bis türkis farbkodiert.		Der Medianfilter glättet das Gesamtbild, während er gleichzeitig Strukturen im Bild akzentuiert und konturiert.	
		Nach der Anwendung des Operators Erosion	Nach der Anwendung des Operators Dilatation
Zusammenhängende Strukturen schrumpfen und kleine Strukturen und Verbindungen zwischen Strukturen verschwinden (die Zahl der hohen Intensitätswerte sinkt, während die Zahl der niedrigen Intensitätswerte steigt).		Zusammenhängende Strukturen wachsen und Zwischenräume innerhalb einer Struktur und zwischen Strukturen werden gefüllt. (die Zahl der hohen Intensitätswerte steigt, während die Zahl der niedrigen Intensitätswerte sinkt).	

 <p>Nach der Anwendung des Operators Open (Erosion + Dilation)</p>	 <p>Nach der Anwendung des Operators Close (Dilation + Erosion)</p>
<p>Zusammenhängende Strukturen schrumpfen und Zwischenräume werden grösser (die Zahl der hohen Intensitätswerte sinkt, während die Zahl der niedrigen Intensitätswerte steigt).</p>	<p>Zusammenhängende Strukturen wachsen und Zwischenräume bleiben nahezu unverändert (die Zahl der hohen Intensitätswerte steigt, während die Zahl der niedrigen Intensitätswerte ungefähr gleich bleibt).</p>
 <p>Nach der Anwendung des Operators Top Hat</p>	 <p>Nach der Anwendung des Operators Bottom Hat</p>
<p>Die hohen Intensitätswerte werden extrahiert</p>	<p>Die niedrigen Intensitätswerte werden extrahiert</p>

Navigation: Image Filters\ Morphological Filters
Morphologische Filter auf Bilder anwenden

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Wählen Sie eine der sieben Filtertypen aus: Medianfilter (Median), Erosion (Erosion), Dilatation (Dilation), Öffnen (Open), Schließen (Close) sowie Top hat und Bottom hat.
▶	Wählen Sie im Feld Mask die Grundform der Filtermaske aus: Quadrat (Cube), Kreuz (Cross) oder Kreis (Sphere). Mit der Wahl der Form des Strukturelements beeinflusst man die Bildstrukturen, die vom Filter herausgearbeitet werden. Zum Beispiel betonen Kreise runde Strukturen im Ergebnisbild.
▶	Geben Sie in den Feldern Size X, Size Y und Size Z die Grösse der Maske in Pixeln an. Die Maskengrösse bestimmt, wieviele Nachbapixel in die Filtermaske miteinbezogen werden.
▶	Legen Sie im Feld Repetition fest, wie häufig der Filter angewendet werden soll.

Kacheln mit der Bezeichnung (Gallery)

▶	Klicken Sie auf eine der mit (Gallery) benannten Kacheln, um eine Galerie von Vorschaubildern des ausgewählten Bilddatensatzes zu sehen. Jedes der Vorschaubilder wurde mit einem anderen Strukturelement und oder Maskengrösse berechnet. Klicken Sie auf eine Kachel, um den Dialog mit den entsprechenden Einstellungen anzuzeigen.
---	--

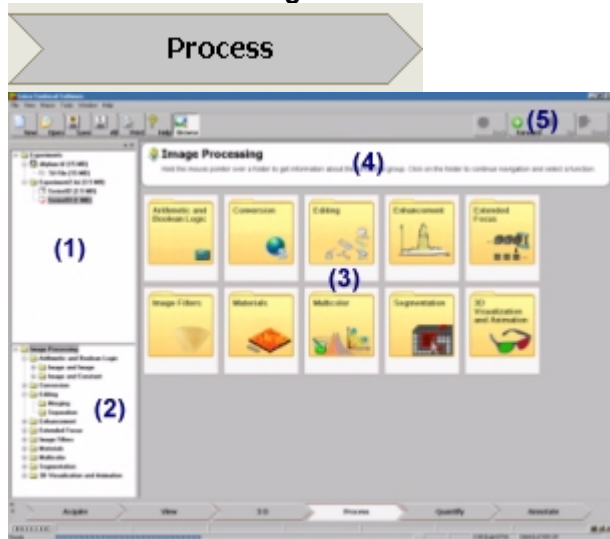
Nivellieren und Filtern von Oberflächenaufnahmen (optional)



In diesem Kapitel finden Sie folgende Themen

- ▼ Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process
- ▼ Navigation: Materials\ Leveling
- ▼ Was sind lineare Filter?
- ▼ Navigation: Materials\ Roughness Filter
- ▼ Navigation: Materials\ Waviness Filter

Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process



Wenn Sie auf das Pfeilsymbol Process klicken, wird der sonst übliche Aufbau der Bedienoberfläche vollständig verändert. Alle Funktionstasten der anderen Schaltflächenbereiche/ Arbeitsschritte werden ausgeblendet. Auf der linken Seite wird das Ansichtsfenster Experiment Overview (1) mit den geöffneten Experimenten angezeigt. Darunter befindet sich das Navigationsfenster (2) mit dem Verzeichnisbaum aller in diesem Arbeitsschritt verfügbaren Funktionen. In der Mitte der Bedienoberfläche werden 10 große Kacheln (3) angezeigt, die 10 Funktionsgruppen umfassen. Oberhalb dieser Kacheln befindet sich ein Hilfefeld (4), in dem eine kurze Erläuterung zu einer Funktionsgruppe eingeblendet werden kann, indem man den Mauszeiger über die entsprechende Kachel hält.

▶	Klicken Sie auf die Kachel mit der gewünschten Funktionsgruppe. Auf jeder Navigationsebene können Sie eine Erläuterung der Funktionsgruppen oben im Hilfefeld einblenden, indem Sie den Mauszeiger über die jeweilige Kachel halten.
▶	Wählen Sie in den nachfolgenden Navigationsebenen jeweils eine Kachel, bis Sie auf der untersten Ebene die gewünschte Funktion mit dem entsprechenden Dialog erreicht haben.
▶	Im Navigationsfenster können Sie direkt eine Funktion anwählen, indem Sie den entsprechenden Ordner anklicken.

In der Menüzeile oben rechts stehen Ihnen folgende Tasten (5) zur Verfügung:



▶	Klicken Sie auf die Taste Back, um zur zuletzt angezeigten Navigationsebene zu gelangen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Forward, um die Ebene anzuzeigen, die Sie ausgewählt hatten, bevor Sie auf die Taste Back geklickt haben.
▶	Klicken Sie auf die Taste Up, um zur hierarchisch höheren Ebene zu gelangen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Reset, um geänderte Variablen auf die letzte Einstellung zurückzusetzen.
▶	Um den Arbeitsschritt Process zu verlassen, klicken Sie auf das Pfeilsymbol eines anderen Arbeitsschritts (z.B. Acquire).

Am unteren Ende jedes Dialogs finden Sie folgende beiden Schaltflächen:



▶	Klicken Sie auf die Schaltfläche Preview, um die ausgewählte Funktion auszuführen und das Ergebnisbild rechts im Vorschauenfenster anzuzeigen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Apply, um die ausgewählte Funktion auf den aktiven Bilddatensatz anzuwenden, das Ergebnisbild im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen und eine neue Datei im aktiven Experiment zu erzeugen.

Navigation: Materials\ Leveling

Anpassen einer Interpolationsfunktion an einen Datensatz zur Korrektur von Trendverläufen (z.B. schief aufgenommener Datensatz)

Ziel des Verfahrens ist es, einen Intensitätsverlauf, der eine Trendkurve aufweist, in eine horizontale Lage zu bringen. Dazu wird zuerst eine geeignete Interpolationsfunktion (Polynom) an den Intensitätsverlauf angepasst. Danach wird der Abstand der optimalen Interpolationsfunktion zu einem horizontalen Intensitätsplateau berechnet. Die auftretenden Intensitätsdifferenzen werden pixelweise zum Originaldatensatz dazu addiert. Damit wird der Trendverlauf kompensiert.

☞ siehe Anpassungsfunktion zur Korrektur von Trendverläufen (Seite 246)

Die zu optimierende Zielfunktion bei der Ermittlung der Koeffizienten der Anpassungsfunktion lautet:

$$\int \| | - f(\Omega) \| d\Omega = \min$$

▶	Wählen Sie einen der vier Typen der Anpassungsfunktion aus: Leveling (Linear), Leveling (Bilinear), Leveling (Quadratic), Leveling (Cubic).
---	---

Fitting Interpolation Function	Formel
Linear	$f(x) = a + bx + cy$
Bilinear	$f(x) = a + bx + cx + dxy$
Quadratic	$f(x) = a + bx + cx + dxy + fx^2$
Cubic	$f(x) = a + bx + cx + dxy + fx^2 + gxy^2 + hx^3 + iy^3$

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Wählen Sie die Schrittweite im Feld Sample Step Width. Mit der Schrittweite stellen Sie die Anzahl von Stützstellen für das Polynom ein. Je kleiner die Schrittweite eingestellt wird, desto zeitaufwendiger und <u>genauer</u> ist die Berechnung der Anpassungsfunktion.
▶	Falls der Datensatz verrauscht ist, empfiehlt es sich, im Feld Threshold die intensitätsschwachen Rauschsignale durch Einstellen eines Schwellenwertes auszublenden. Alle Intensitätswerte, die betragsmäßig kleiner sind als der Schwellenwert, werden nicht zur Berechnung herangezogen. Damit vermeidet man, dass die Rauschsignale fälschlicherweise als Stützstellen für die Anpassungsfunktion verwendet werden.

Was sind lineare Filter?

Filter werden dazu eingesetzt, die Qualität eines Bildes zu verbessern. In der Regel bedeutet dies, unerwünschte Bildpunkte (Pixel) aus dem Bild zu entfernen. Mit der hier verfügbaren Filterfunktion, einem Tiefpassfilter, wird statistisches Rauschen, das zum Beispiel durch den Detektor hervorgerufen werden kann, in einem Bild unterdrückt.

Das Prinzip eines Filters besteht darin, den Wert eines jeden Pixel in einem Bild mit den Werten seiner Nachbarpixel zu verrechnen. Der Filterkern (Kernel) beschreibt die Anzahl und die Gewichtung der Nachbarpixel, die in die Berechnung des neuen Bildpunktes miteinfließen. Der hier verwendete Filterkern lässt sich mit dem Pascalschen Dreieck beschreiben:

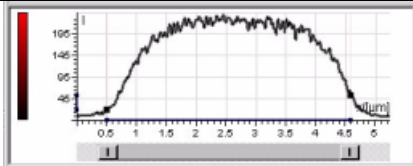
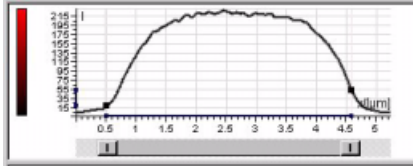
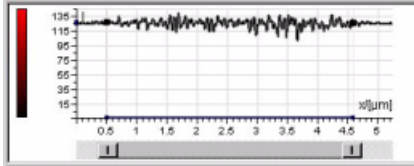
Filterkerngröße	Pascalsches Dreieck	Normierung
Kernel Size 3	<pre> 1 1 1 2 1 1 3 3 1 </pre>	1/2 1/4 1/8
Kernel Size 5	<pre> 1 4 6 4 1 1 5 10 10 5 1 1 6 15 20 15 6 1 </pre>	1/16 1/32 1/64
Kernel Size 7	<pre> 1 7 21 35 35 21 7 1 1 8 28 56 70 56 28 8 1 1 9 36 84 126 126 84 36 9 1 </pre>	1/128 1/256
Kernel Size 9	<pre> 1 9 36 84 126 126 84 36 9 1 1 10 45 120 210 252 210 120 45 10 1 1 11 55 165 330 462 462 330 165 55 11 1 </pre>	1/256 1/512
...

Wählt man zum Beispiel die Filterkerngröße 5 (Kernel Size 5) aus, so werden jeweils 5 Pixel des Originalbildes in die Berechnung 1 Pixels im gefilterten Bild verwendet. Immer das mittlere Pixel im Filterkern ist der zu berechnende Bildpunkt. Dabei werden die Grauwerte der 5 Pixel, entsprechend dem Gewichtungsschema 1-4-6-4-1, mit den Faktoren 1/16, 4/16, 6/16, 4/16, 1/16 multipliziert und miteinander zum Endwert addiert. In der folgenden schematischen Darstellung, bedeutet dies für die Berechnung des Pixels C, dass die Grauwerte der Pixel A, B und D, E in die Berechnung des gefilterten Pixels C' mit einfließen. Die Berechnung von C' lautet: $16 \times 1/16 + 4 \times 4/16 + 8 \times 6/16 + 32 \times 4/16 + 8 \times 1/16 = 1 + 1 + 3 + 8 + 0,5 = 13,5$

	A	B	C	D	E
Grauwerte der Pixel A-E im Originalbild	16	4	8	32	8
Faktoren der Filterkerngröße 5	1/16	4/16	6/16	4/16	1/16
Grauwert von C' im gefilterten Bild			13,5		

Eine solche Berechnung wird für jedes Pixel im Originalbild durchgeführt. Am Rand des Bildes ragt die Filtermaske über das Bild hinaus. Für diese Pixel wird der Wert 0 gesetzt.

Wirkung der linearen Filter

 <p>Intensitätsprofil eines ungefilterten Bildes</p>	
 <p>Intensitätsprofil des Bildes nach der Anwendung des Filters Waviness</p>	 <p>Intensitätsprofil des Bildes nach der Anwendung des Filters Roughness</p>

► Wenn Sie den Filter Waviness auswählen, wird der oben beschriebene Tiefpassfilter auf das Bild angewendet. Dieser Filtertyp filtert die hohen Frequenzen aus dem Bild. Das heißt, die stark ausgeprägten Übergänge von niedrigen zu hohen Intensitätswerten werden abgeschwächt. Mit

	diesem Filter kann Rauschen aus einem Bild entfernt werden.
▶	Wenn Sie den Filter Roughness auswählen wird der Tiefpassfilter auf das Bild angewendet und dann werden die Werte des Originalbildes von den Werten des tiefpassgefilterten Bildes subtrahiert. Das Ergebnis entspricht einem Bild, das mit einem Hochpassfilter bearbeitet wurde. Dieser Filtertyp stellt nur die stark ausgeprägten Übergänge von niedrigen zu hohen Intensitätswerten im Bild dar.

Navigation: Materials\ Roughness Filter
Hochpassfilter auf Bilder anwenden

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Im Feld Kernel Size wählen Sie einen Wert für die Filterkerngröße aus. Der Wert, der im Feld Kernel Size als Cut-off Wavelength angegeben wird, ist die Größe des Filters gemessen in Pixel. Dieser Wert wird auf Grundlage der für das jeweilige Bild verwendeten Scanparameter (Vergrößerung des Objektivs, Wellenlänge des Anregungslicht, Scanformat, Elektronischer Zoomfaktor ...) berechnet.
▶	Im Feld Filter Directions stellen Sie die Dimensionalität des Filters ein. Wählen Sie die Raumachsen aus, auf die der Filter sequentiell angewendet werden soll. Es werden hier eindimensionale Filter eingesetzt, das heißt der Filter wird auf einmal immer nur über eine Achse berechnet. Der Wert, der im Feld Filter Directions als Cut-off Wavelength angegeben wird, ist die Größe des Filters gemessen in Nanometern. Bei einem Wert von zum Beispiel 160 nm, werden alle Wellenlängen kleiner gleich 160 nm gefiltert.

Navigation: Materials\ Waviness Filter
Tiefpassfilter auf Bilder anwenden

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Im Feld Kernel Size wählen Sie einen Wert für die Filterkerngröße aus. Der Wert, der im Feld Kernel Size als Cut-off Wavelength angegeben wird, ist die Größe des Filters gemessen in Pixel. Dieser Wert wird auf Grundlage der für das jeweilige Bild verwendeten Scanparameter (Vergrößerung des Objektivs, Wellenlänge des Anregungslicht, Scanformat, Elektronischer Zoomfaktor ...) berechnet.
▶	Im Feld Filter Directions stellen Sie die Dimensionalität des Filters ein. Wählen Sie die Raumachsen aus, auf die der Filter sequentiell angewendet werden soll. Es werden hier eindimensionale Filter eingesetzt, das heißt der Filter wird auf einmal immer nur über eine Achse berechnet. Der Wert, der im Feld Filter Directions als Cut-off Wavelength angegeben wird, ist die Größe des Filters gemessen in Nanometern. Bei einem Wert von zum Beispiel 160 nm, werden alle Wellenlängen kleiner gleich 160 nm gefiltert.

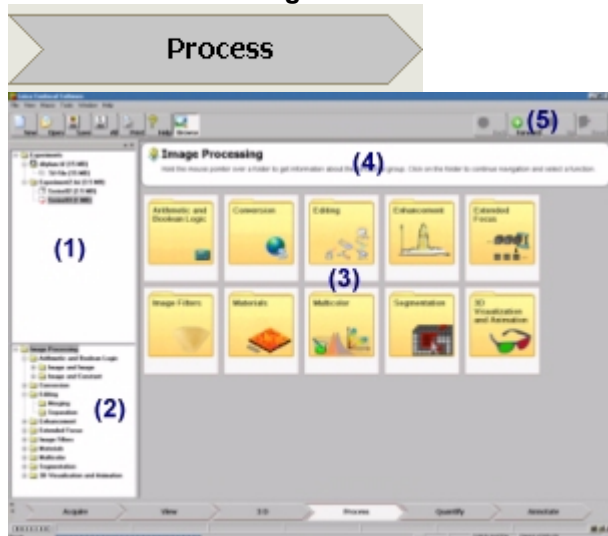
Reduzieren von Übersprechen zwischen Detektionskanälen



In diesem Kapitel finden Sie folgende Themen

- ▼ Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process
- ▼ Navigation: Multicolor\Crosstalk Reduction

Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process



Wenn Sie auf das Pfeilsymbol Process klicken, wird der sonst übliche Aufbau der Bedienoberfläche vollständig verändert. Alle Funktionstasten der anderen Schaltflächenbereiche/ Arbeitsschritte werden ausgeblendet. Auf der linken Seite wird das Ansichtsfenster Experiment Overview (1) mit den geöffneten Experimenten angezeigt. Darunter befindet sich das Navigationsfenster (2) mit dem Verzeichnisbaum aller in diesem Arbeitsschritt verfügbaren Funktionen. In der Mitte der Bedienoberfläche werden 10 große Kacheln (3) angezeigt, die 10 Funktionsgruppen umfassen. Oberhalb dieser Kacheln befindet sich ein Hilfefeld (4), in dem eine kurze Erläuterung zu einer Funktionsgruppe eingeblendet werden kann, indem man den Mauszeiger über die entsprechende Kachel hält.

▶	Klicken Sie auf die Kachel mit der gewünschten Funktionsgruppe. Auf jeder Navigationsebene können Sie eine Erläuterung der Funktionsgruppen oben im Hilfefeld einblenden, indem Sie den Mauszeiger über die jeweilige Kachel halten.
▶	Wählen Sie in den nachfolgenden Navigationsebenen jeweils eine Kachel, bis Sie auf der untersten Ebene die gewünschte Funktion mit dem entsprechenden Dialog erreicht haben.
▶	Im Navigationsfenster können Sie direkt eine Funktion anwählen, indem Sie den entsprechenden Ordner anklicken.

In der Menüleiste oben rechts stehen Ihnen folgende Tasten (5) zur Verfügung:



▶	Klicken Sie auf die Taste Back, um zur zuletzt angezeigten Navigationsebene zu gelangen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Forward, um die Ebene anzuzeigen, die Sie ausgewählt hatten, bevor Sie auf die Taste Back geklickt haben.

▶	Klicken Sie auf die Taste Up, um zur hierarchisch höheren Ebene zu gelangen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Reset, um geänderte Variablen auf die letzte Einstellung zurückzusetzen.
▶	Um den Arbeitsschritt Process zu verlassen, klicken Sie auf das Pfeilsymbol eines anderen Arbeitsschritts (z.B. Acquire).

Am unteren Ende jedes Dialogs finden Sie folgende beiden Schaltflächen:

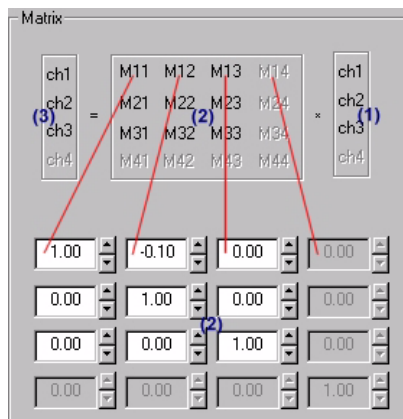


▶	Klicken Sie auf die Schaltfläche Preview, um die ausgewählte Funktion auszuführen und das Ergebnisbild rechts im Vorschauenfenster anzuzeigen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Apply, um die ausgewählte Funktion auf den aktiven Bilddatensatz anzuwenden, das Ergebnisbild im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen und eine neue Datei im aktiven Experiment zu erzeugen.

Navigation: Multicolor Crosstalk Reduction

Reduzieren von Übersprechen zwischen Detektionskanälen

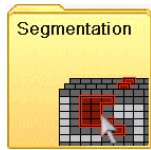
Bei der Aufnahme von Präparaten, die mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert wurden, deren Emissionsspektren nahe beieinander liegen oder sich überlappen kann es zum Übersprechen von Fluoreszenzsignalen kommen. Dabei kommt es zu einer unerwünschten Übertragung von Signalen von einem Detektionskanal in einen anderen. Mit dieser Funktion haben Sie die Möglichkeit, diese unerwünschte Signalinformation eines Bilddatensatzes mit bis zu vier Detektionskanälen mittels einer Matrixmultiplikation zu reduzieren.



Im Dialog ist die Matrixmultiplikation dargestellt. Die Pixelwerte der bis zu 4 möglichen Kanäle des zu bearbeitenden Originalbildes (1) werden mit Hilfe von den Faktoren M11 bis M44 (2) miteinander verrechnet. Die Kennzahlen der Faktoren M beziehen sich auf die Kanäle. Der Faktor M12 zum Beispiel repräsentiert den Anteil an Signalinformation, den der Kanal 2 des Originalbildes (1) im Kanal 1 des Ergebnisbildes (3) haben soll. Da sich die Faktoren M11, M22, M33 und M44 auf denselben Kanal in Originalbild und Ergebnisbild beziehen, sind diese Faktoren auf den Wert 1 eingestellt.

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Durch Veränderung des Faktors M reduzieren oder erhöhen Sie die Signalinformation im Kanal des Ergebnisbildes. Soll zum Beispiel das Übersprechen von Kanal 2 in Kanal 1 aus dem Kanal 1 im Ergebnisbild entfernt werden, geben Sie im Feld M12 eine <u>negative Zahl zwischen 0 und 1</u> ein. Wenn Sie positive Zahlen zwischen 0 und 1 in Feld M12 eingeben, wird die Signalinformation in Kanal 1 des Ergebnisbildes erhöht.

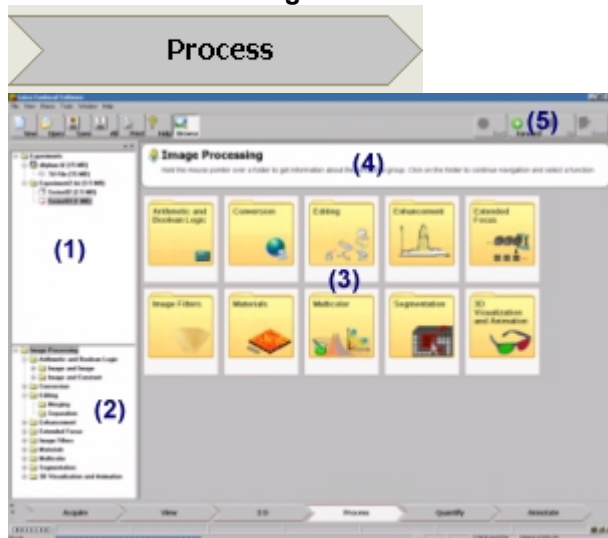
Segmentierung von Bildstrukturen (optional)



In diesem Kapitel finden Sie folgende Themen

- ▼ Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process
- ▼ Was ist Segmentierung in der Bildverarbeitung ?
- ▼ Navigation: Segmentation\ Thresholding
- ▼ Navigation: Segmentation\ Seeding (Threshold)
- ▼ Navigation: Segmentation\ Seeding (Single Channel)
- ▼ Navigation: Segmentation\ Seeding (Cross-Channel)

Aufbau und Bedienung des Arbeitsschritts Process



Wenn Sie auf das Pfeilsymbol Process klicken, wird der sonst übliche Aufbau der Bedienoberfläche vollständig verändert. Alle Funktionstasten der anderen Schaltflächenbereiche/ Arbeitsschritte werden ausgeblendet. Auf der linken Seite wird das Ansichtsfenster Experiment Overview (1) mit den geöffneten Experimenten angezeigt. Darunter befindet sich das Navigationsfenster (2) mit dem Verzeichnisbaum aller in diesem Arbeitsschritt verfügbaren Funktionen. In der Mitte der Bedienoberfläche werden 10 große Kacheln (3) angezeigt, die 10 Funktionsgruppen umfassen. Oberhalb dieser Kacheln befindet sich ein Hilfefeld (4), in dem eine kurze Erläuterung zu einer Funktionsgruppe eingblendet werden kann, indem man den Mauszeiger über die entsprechende Kachel hält.

▶	Klicken Sie auf die Kachel mit der gewünschten Funktionsgruppe. Auf jeder Navigationsebene können Sie eine Erläuterung der Funktionsgruppen oben im Hilfefeld einblenden, indem Sie den Mauszeiger über die jeweilige Kachel halten.
▶	Wählen Sie in den nachfolgenden Navigationsebenen jeweils eine Kachel, bis Sie auf der untersten Ebene die gewünschte Funktion mit dem entsprechenden Dialog erreicht haben.
▶	Im Navigationsfenster können Sie direkt eine Funktion anwählen, indem Sie den entsprechenden Ordner anklicken.

In der Menüleiste oben rechts stehen Ihnen folgende Tasten (5) zur Verfügung:



▶	Klicken Sie auf die Taste Back, um zur zuletzt angezeigten Navigationsebene zu gelangen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Forward, um die Ebene anzuzeigen, die Sie ausgewählt hatten, bevor Sie auf die Taste Back geklickt haben.
▶	Klicken Sie auf die Taste Up, um zur hierarchisch höheren Ebene zu gelangen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Reset, um geänderte Variablen auf die letzte Einstellung zurückzusetzen.
▶	Um den Arbeitsschritt Process zu verlassen, klicken Sie auf das Pfeilsymbol eines anderen Arbeitsschritts (z.B. Acquire).

Am unteren Ende jedes Dialogs finden Sie folgende beiden Schaltflächen:



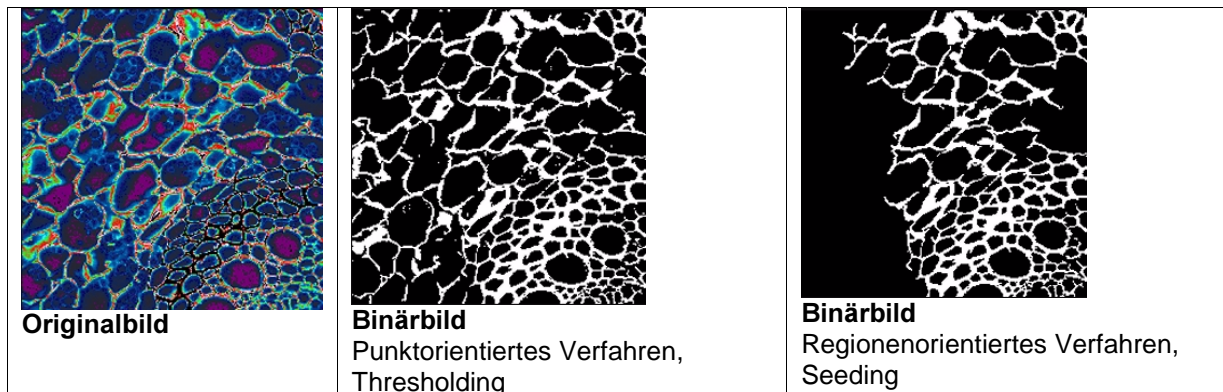
▶	Klicken Sie auf die Schaltfläche Preview, um die ausgewählte Funktion auszuführen und das Ergebnisbild rechts im Vorschauenfenster anzuzeigen.
▶	Klicken Sie auf die Taste Apply, um die ausgewählte Funktion auf den aktiven Bilddatensatz anzuwenden, das Ergebnisbild im Ansichtsfenster Viewer anzuzeigen und eine neue Datei im aktiven Experiment zu erzeugen.

Was ist Segmentierung in der Bildverarbeitung ?

Viele Anwendungen der Konfokalmikroskopie erfordern es, Strukturen in einem Bild zu extrahieren und diese als Ganzes zum Beispiel quantitativen Analysen zugänglich zu machen. Um relevante von irrelevanter Bildinformation zu trennen, wendet man das Verfahren der Segmentierung an. Unter Segmentierung versteht man in der Bildverarbeitung einerseits die Trennung von Hintergrund und Struktur und andererseits die Unterteilung eines Bildes in zusammenhängende Strukturen. Es gibt punktorientierte und regionenorientierte Verfahren der Segmentierung.

Punktorientierte Verfahren betrachten den Intensitätswert eines isolierten Pixels. Bei diesem Verfahren erfaßt man die Intensitätswertverteilung eines Bildes in einem Histogramm und versucht, in diesem einen Schwellenwert zu finden. Dieses Verfahren ist in der Leica Confocal Software mit der «Thresholding» Funktion (Schwellenwertfunktion) realisiert. Es kann ein unterer und ein oberer Schwellenwert eingestellt werden. Für alle Pixel, deren Intensitätswert innerhalb des von den Schwellenwerten definierten Bereiches liegt, wird im Ergebnisbild der binäre Wert 1 eingetragen und für alle anderen Pixel der binäre Wert 0. Das Ergebnis ist ein Binärbild mit der Information Struktur versus Hintergrund. Die als Struktur kodierten Pixel werden alle mit dem maximalen Grauwert 255 (bei 8 Bittiefe) dargestellt, die als Hintergrund kodierten Pixel mit dem Grauwert 0.

Im Gegensatz zum punktorientierten Verfahren, berücksichtigt das regionenorientierte Verfahren der Segmentierung den Sachverhalt, dass Strukturen zusammenhängende Gebilde sind. Dies bedeutet für die Bildverarbeitung, dass jedes Pixel immer zusammen mit seinen Nachbarpixeln untersucht werden muss. Entscheidend für die Identifikation eines Pixels als Struktur oder Hintergrund ist dann nicht mehr die isolierte Betrachtung des Intensitätswertes eines Pixels, sondern der Intensitätswert eines Pixels im Kontext der Intensitätswerte seiner Nachbarpixel. Dieses Verfahren ist in der Leica Confocal Software mit den «Seeding» Funktionen (Bereichswachstumsfunktionen) realisiert. Ausgehend von einem Startpixel (auch «Saatpixel» genannt) wird die Relation der Intensitätswerte von Startpixel und Nachbarpixel überprüft. Anhand eines Kriteriums, zum Beispiel, dass der Intensitätswert eines Nachbarpixels nicht mehr als 75% vom Wert eines Saatpixels abweichen darf, wird dann entschieden, welche Pixel im binären Ergebnisbild zur Struktur (binärer Wert 1) und welche zum Hintergrund (binärer Wert 0) gerechnet werden.



Navigation: Segmentation\ Thresholding

Punktorientiertes Segmentieren mittels Schwellenwert

Es kann ein unterer und ein oberer Schwellenwert definiert werden. Der Intensitätswert jedes Pixels im Bild wird danach untersucht, ob er innerhalb oder außerhalb dieses Schwellenwertbereiches liegt. Diese Methode der Segmentierung ist vor allem dann sinnvoll, wenn sich die Strukturen im Bild nicht berühren und deutlich vom Hintergrund abheben.

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei doppelklicken.
▶	Legen Sie im <u>Register Lower</u> im Feld Channels getrennt für jeden Detektionskanal den unteren Schwellenwert fest, indem Sie einen Wert zwischen 0 und 255 (bei 8 Bittiefe) eingeben oder den Schieberegler entsprechend positionieren. Intensitätswerte, die unterhalb dieses Schwellenwertes liegen, werden im binären Ergebnisbild auf 0 gesetzt.
▶	Legen Sie im <u>Register Upper</u> im Feld Channels getrennt für jeden Detektionskanal den oberen Schwellenwert fest, indem Sie einen Wert zwischen 0 und 255 (bei 8 Bittiefe) eingeben oder den Schieberegler entsprechend positionieren. Intensitätswerte, die oberhalb dieses Schwellenwertes liegen, werden im binären Ergebnisbild auf 0 gesetzt.
▶	Klicken Sie im Feld Options auf Lock Channels, wenn Sie denselben Schwellenwert für alle Detektionskanäle festlegen wollen.
▶	Klicken Sie auf die Schaltfläche Suggest, wenn die Software einen geeigneten unteren Schwellenwert berechnen soll. Für die Berechnung des Schwellenwertes wird der Algorithmus verwendet, der im Register Estimation ausgewählt wurde (siehe unten).

Register Estimation

Entropy Maximisation: Berechnung der maximalen Entropie

Grundlage dieses Algorithmus ist die Prämisse, dass es einen Zusammenhang zwischen der Wahrscheinlichkeit eines Ereignisses und seinem Informationsgehalt gibt. Demnach haben häufigere Ereignisse (oftmals Hintergrund) einen geringeren Informationswert und seltenere Ereignisse (oftmals Struktur) einen höheren. Die im Bild vorhandenen Intensitätswerte werden in zwei Mengen unterteilt und nach dem Intensitätswert untersucht, bei dem die Entropie, die Wahrscheinlichkeit seines Auftretens am größten ist. Der optimale Schwellenwert ist dann jener, bei dem die Summe der Entropien der beiden Mengen am größten ist, oder anders gesagt der Informationsgehalt am geringsten ist.

Within Group Variance Minimisation: Berechnung des Minimalwertes der Gruppenvarianz

Grundlage dieses Algorithmus ist die Prämisse, dass in einem Bild zwei Normalverteilungen von einerseits niedrigen und andererseits hohen Intensitätswerten gefunden werden können, die der Struktur und dem Hintergrund entsprechen. Für jeden möglichen Schwellenwert werden die im Bild vorhandenen Intensitätswerte untersucht und zwei Normalverteilungskurven berechnet. Der Schwellenwert wird dann zwischen diese beiden Kurven gelegt.

Navigation: Segmentation\ Seeding (Threshold)

Regionenorientiertes Segmentieren mittels Schwellenwert

Der Benutzer kann einen unteren und einen oberen Schwellenwert definieren. Ausgehend von einem

auswählbaren Startpixel werden die Intensitätswerte aller Nachbarpixel danach untersucht, ob sie innerhalb oder außerhalb dieses Schwellenwertbereiches liegen. Werden keine Nachbarpixel mehr gefunden, die innerhalb des Wertebereichs liegen, wird die Operation beendet.

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Legen Sie im Feld Lower Threshold den unteren Schwellenwert und im Feld Upper Threshold den oberen Schwellenwert fest, indem Sie einen Wert zwischen 0 und 255 (bei 8 Bittiefe) eingeben oder den Schieberegler entsprechend positionieren. Intensitätswerte, die unterhalb bzw. oberhalb dieses Schwellenwertbereiches liegen, werden im binären Ergebnisbild auf 0 gesetzt.
▶	Wählen Sie im Feld Position im Listenfeld Channels den Detektionskanal aus, dessen Bilddaten segmentiert werden sollen. Ist die Option All ausgewählt, wird die Segmentierung getrennt für jeden Detektionskanal ausgeführt.
▶	Ist der Bilddatensatz eine Zeitserie oder eine Wellenlängenserie, wählen Sie im Listenfeld rechts daneben, noch die vierte Dimension, das heißt einen bestimmten Zeitpunkt bzw. eine bestimmte Wellenlänge aus.
▶	Positionieren Sie das Fadenkreuz im Bild zur Definition des Startpixels. Zu diesem Zweck geben Sie im Feld Position je einen Wert für die x-, y- und z-Koordinate ein. Oder ziehen Sie das Fadenkreuz im Bild mit gedrückter linker Maustaste an die gewünschte Position.

Navigation: Segmentation\ Seeding (Single Channel)

Regionenorientiertes Segmentieren in einem Kanal

Der Benutzer kann eine zulässige Abweichung (in Prozent) vom Intensitätswert eines auswählbaren Startpixels definieren. Ausgehend von diesem Startpixel werden die Intensitätswerte aller Nachbarpixel danach untersucht, ob sie mehr als zum Beispiel 75% vom Wert des Startpixels abweichen. Werden keine Nachbarpixel mehr gefunden, die innerhalb des zulässigen Wertebereichs liegen, wird die Operation beendet. Diese Operation wird für jeden ausgewählten Detektionskanal getrennt ausgeführt.

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Legen Sie im Feld Threshold die zulässige Abweichung in Prozent fest, indem Sie einen Wert eingeben oder den Schieberegler entsprechend positionieren. Intensitätswerte, die stärker abweichen als der eingestellte Prozentbereich, werden im binären Ergebnisbild auf 0 gesetzt.
▶	Wählen Sie im Feld Position im Listenfeld Channels den Detektionskanal aus, dessen Bilddaten segmentiert werden sollen. Ist die Option All ausgewählt, wird die Segmentierung getrennt für jeden Detektionskanal ausgeführt.
▶	Ist der Bilddatensatz eine Zeitserie oder eine Wellenlängenserie, wählen Sie im Listenfeld rechts daneben, noch die vierte Dimension, das heißt einen bestimmten Zeitpunkt bzw. eine bestimmte Wellenlänge aus.
▶	Positionieren Sie das Fadenkreuz im Bild zur Definition des Startpixels. Zu diesem Zweck geben Sie im Feld Position je einen Wert für die x-, y- und z-Koordinate ein. Oder ziehen Sie das Fadenkreuz im Bild mit gedrückter linker Maustaste an die gewünschte Position.

Navigation: Segmentation\ Seeding (Cross-Channel)

Regionenorientiertes Segmentieren über alle Kanäle

Der Benutzer kann eine zulässige Abweichung (in Prozent) vom Intensitätswert eines auswählbaren Startpixels definieren. Ausgehend von diesem Startpixel werden die Intensitätswerte aller Nachbarpixel danach untersucht, ob sie mehr als zum Beispiel 75% vom Wert des Startpixels abweichen. Werden keine Nachbarpixel mehr gefunden, die innerhalb des zulässigen Wertebereichs liegen, wird die Operation beendet. Im Gegensatz zur vorhergehenden Funktion «Seeding (Single Channel)» wird hier die Operation gleichzeitig über alle Detektionskanäle ausgeführt.

▶	Wählen Sie im Ansichtsfenster Experiment Overview den zu bearbeitenden Bilddatensatz aus, indem Sie die Datei <u>doppelklicken</u> .
▶	Legen Sie im Feld Threshold die zulässige Abweichung in Prozent fest, indem Sie einen Wert eingeben oder den Schieberegler entsprechend positionieren. Intensitätswerte, die stärker

	abweichen als der eingestellte Prozentbereich, werden im binären Ergebnisbild auf 0 gesetzt.
▶	Im Feld Position im Listenfeld Channels ist die Option All fest eingestellt. Ist der Bilddatensatz eine Zeitserie oder eine Wellenlängenserie, wählen Sie im Listenfeld rechts daneben, noch die vierte Dimension, das heißt einen bestimmten Zeitpunkt bzw. eine bestimmte Wellenlänge aus.
▶	Positionieren Sie das Fadenkreuz im Bild zur Definition des Startpixels. Zu diesem Zweck geben Sie im Feld Position je einen Wert für die x-, y- und z-Koordinate ein. Oder ziehen Sie das Fadenkreuz im Bild mit gedrückter linker Maustaste an die gewünschte Position.

Mess- und Analysefunktionen

Histogramm berechnen



Funktion

Mit der Funktion Histogramm wird die Häufigkeit einer Messgröße gemessen, in einer Kurve dargestellt und zusätzlich verschiedene statistische Werte berechnet. Das Histogramm wird aus dem im Ansichtsfenster Viewer ausgewählten Datensatz gemessen. Bei diesem Datensatz kann es sich um eine räumliche Serie, eine Zeitserie oder eine Wellenlängenserie handeln. Die statistischen Werte werden in Abhängigkeit der Größe der dritten Dimension - Höhe (z) für räumliche Serien, Zeit (t) für Zeitserien, Wellenlänge (λ) für Wellenlängenserien - berechnet.

▶	Klicken Sie auf die Taste Histogramm.
▶	Es wird ein Ansichtsfenster geöffnet, in dem die Messkurve für jeden Detektionskanal und die statistischen Werte angezeigt werden.

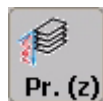
Parameter	Bedeutung	Formel
# Pixel	Gesamtzahl der Pixel, die in die Berechnung des Histogramms eingehen. Entspricht dem eingestellten Scanformat.	
Mean	Der arithmetische Mittelwert	$\mu(I) = \frac{1}{N_{\text{Pixel}}} \sum_i I_i$
Maximum	Maximalwert	Max (I)
Minimum	Minimalwert	Min (I)
Variance	Varianz	$\text{VAR}(I) = \frac{1}{N-1} \sum_i (I_i - \mu(I))^2$
Average Deviation	Mittlere Abweichung	$\text{DISP}(I) = \frac{1}{N-1} \sum_i I_i - \mu(I) $
Standard Deviation	Standardabweichung	$s(I) = \sqrt{\text{VAR}(I)} = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_i (I_i - \mu(I))^2}$
Mean Energy	Mittlere Bildenergie	$I^2_{\text{mean}} = \frac{1}{N_{\text{Pixel}}} \sum_i I_i^2$
Root Mean Square (RMS)	Quadratischer Mittelwert	$\text{RMS} = \sqrt{\frac{1}{N_{\text{Pixel}}} \sum_i I_i^2}$
Skewness	Schiefe der Verteilung	$\text{Skew}(I) = \frac{1}{N} \sum_i \left[\frac{I_i - \mu(I)}{\sqrt{\text{VAR}(I)}} \right]^3$

Einige der Parameter sind in wissenschaftlicher Exponentialnotation angegeben, z.B. Pixel = 3.28e+005 = 327680 (entspricht dem Scanformat 640 x 512).



Mit dem Maximalwert und Minimalwert der Intensität lassen sich der Gain Wert und der Offset Wert die Detektoren optimal einstellen.

Messen eines Profils innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI)



Funktion

Mit der Funktion Profile (z) wird eine Messgröße innerhalb eines Auswertungsbereichs gemessen, in einer Kurve dargestellt und verschiedene statistische Werte berechnet. Das Profil wird aus dem im Ansichtsfenster Viewer ausgewählten Datensatz gemessen. Bei diesem Datensatz kann es sich um eine räumliche Serie, eine Zeitserie oder eine Wellenlängenserie handeln. Die statistischen Werte werden in Abhängigkeit der Größe der dritten Dimension - Höhe (z) für räumliche Serien, Zeit (t) für Zeitserien, Wellenlänge (λ) für Wellenlängenserien - berechnet.

- ▶ Klicken Sie auf die Taste Profile (z) und zeichnen Sie einen Auswertungsbereich (ROI) im Bild ein. Die Tasten, mit denen Sie einen Auswertungsbereich definieren, werden zusammen mit der Profile (z) Taste aktiviert.
 - 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) als Ellipse definieren (Seite 228 ff.)
 - 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) als Polygon definieren
 - 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) als Rechteck definieren
 - 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) automatisch definieren
 - 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) markieren und verschieben
 - 📖 siehe Auswertungsbereiche (ROI) löschen
- ▶ Es wird automatisch ein Ansichtsfenster geöffnet, in dem die Messkurve für jeden Detektionskanal und die statistischen Werte angezeigt werden.

Parameter	Bedeutung	Formel
# Pixel(ROI)	Anzahl der Pixel innerhalb des ausgewählten Auswertungsbereichs	
Area	Flächeninhalt des Auswertungsbereichs	$A = \int_0^A d_A A$
Length	Höhe des Bildstapels (Räumliche Serie) Aufnahmezeit (Zeitserie) Bandbreite (Wellenlängenserie)	$L = \sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2}$
Mean Amplitude	Arithmetisches Mittel	$\mu(I) = \frac{1}{N_{\text{Pixel}}} \sum_{\text{Pixel}} I_i$
Maximum Amplitude	Maximalwert	Max (I)
Position Maximum Amplitude	Position des Maximalwertes	Arg Max I (z), (t), (λ)
Minimum Amplitude	Minimalwert	Min (I)
Position Minimum Amplitude	Position des Minimalwertes	Arg Min I (z), (t), (λ)

Average Deviation	Mittlere Abweichung	$DISP(\bar{I}) = \frac{1}{N-1} \sum_i I_i - \mu(\bar{I}) $
Standard Deviation	Standardabweichung	$s(\bar{I}) = \sqrt{VAR(\bar{I})} = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_i (I_i - \mu(\bar{I}))^2}$
Variance	Varianz	$VAR(\bar{I}) = \frac{1}{N-1} \sum_i (I_i - \mu(\bar{I}))^2$

Die folgenden 4 Messwerte erscheinen nur, wenn im Dialogfenster Viewer Options die Funktion Zweipunktmessung ausgewählt ist

- ▶ Wählen Sie Menü View, Option Experiment Overview, Bildsymbol Charts.
 siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Charts (Seite 158)
- ▶ Im Feld Measurement können Sie die Zweipunktmessung ein- oder ausschalten, indem Sie 2 Point oder Off wählen.

I(μm); I(s); I(nm)	Intensität gemessen an Messpunkt 1 (z, t, λ)	I(z ₁); I(t ₁); I(λ ₁)
I(z); I(t); I(λ)	Intensität gemessen an Messpunkt 2 (z, t, λ)	I(z ₂); I(t ₂); I(λ ₂)
dI, dz	Differenz der Werte zwischen Messpunkt 1 und 2	I(z ₁) - I(z ₂) ; (t ₁) - I(t ₂) , I(λ ₁) - I(λ ₂)
d(z), (t), (λ)	Höhe (z), Aufnahmezeit (t), Bandbreite (λ) zwischen den Messpunkten 1 und 2	z ₁ - z ₂ ; t ₁ - t ₂ , λ ₁ - λ ₂

Typische Anwendungen

Diese Funktion kann zur Ermittlung der Extremwerte der Intensität innerhalb eines Bildstapels verwendet werden. Diese wiederum ermöglichen die optimierte Einstellung der Detektoren. Desweiteren kann mit dieser Funktion das Emissionsmaximum einer Wellenlängenserie ermittelt werden. Durch Anpassung der Breite und Position der Blenden vor den Detektoren, kann mehr Emissionslicht aus der Probe aufgenommen werden als mit konventionellen optischen Filtern. Bei Zeitserien kann mit dieser Funktion der Zeitpunkt der höchsten Fluoreszenzaktivität ermittelt werden.



Diese Quantifizierungsfunktion ist nur offline, d.h. nur für bereits aufgenommene Datensätze verfügbar.

Messen eines Profils entlang einer Strecke



Funktion

Mit der Funktion Profile wird eine Messgröße entlang einer Strecke gemessen, in einer Kurve dargestellt und verschiedene statistische Werte berechnet. Das Profil wird aus dem im Ansichtsfenster Viewer ausgewählten Datensatz gemessen. Bei diesem Datensatz kann es sich um eine räumliche Serie, eine Zeitserie oder eine Wellenlängenserie handeln. Die statistischen Werte werden in Abhängigkeit der Größe der dritten Dimension - Höhe (z) für räumliche Serien, Zeit (t) für Zeitserien, Wellenlänge (λ) für Wellenlängenserien - berechnet.

- ▶ Klicken Sie auf die Taste Profile. Die Messstrecke wird im Ansichtsfenster Viewer als weiße Linie im Bild eingeblendet. Die Länge und Position der Messstrecke können Sie beliebig ändern, indem Sie die Strecke anklicken und mit gedrückter linker Maustaste die Anfasspunkte an die gewünschte Position ziehen.
- ▶ Es wird automatisch ein Ansichtsfenster geöffnet, in dem die Messkurve für jeden Detektionskanal und die statistischen Werte angezeigt werden.

Parameter	Bedeutung	Formel
Length	Länge der Meßstrecke	$L = \sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2}$
Mean Amplitude	Arithmetisches Mittel der Messgröße	$\mu(I) = \frac{1}{N_{\text{Pixel}}} \sum_{\text{Pixel}} I_i$
Maximum Amplitude	Maximalwert der Messgröße	Max (I)
Minimum Amplitude	Minimalwert der Messgröße	Min (I)
Average Deviation	Mittlere statistische Abweichung der Werte vom Mittelwert der Messgröße	$\text{DISP}(I) = \frac{1}{N-1} \sum_i I_i - \mu(I) $
Standard Deviation	Standardabweichung der Werte der Messgröße	$s(I) = \sqrt{\text{VAR}(I)} = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_i (I_i - \mu(I))^2}$
Variance	Varianz der Messgröße	$\text{VAR}(I) = \frac{1}{N-1} \sum_i (I_i - \mu(I))^2$

Die folgenden 4 Messwerte erscheinen nur, wenn im Dialogfenster Viewer Options die Funktion Zweipunktmessung ausgewählt ist

- ▶ Wählen Sie Menü View, Option Experiment Overview, Bildsymbol Charts.
☞ siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Charts (Seite 158)
- ▶ Im Feld Measurement können Sie die Zweipunktmessung ein- oder ausschalten, indem Sie 2 Point oder Off wählen.

Parameter	Bedeutung	Formel
I(µm); I(s); I(nm)	An Messpunkt 1 gemessener Wert (z, t, λ)	I(z ₁); I(t ₁); I(λ ₁)
I(µm); I(s); I(nm)	An Messpunkt 2 gemessener Wert (z, t, λ)	I(z ₂); I(t ₂); I(λ ₂)
dI, dz	Differenz der Werte zwischen Messpunkt 1 und 2	z ₁ - I(z ₂) ; t ₁ - I(t ₂) , λ ₁ - I(λ ₂)
d(z), (t), (λ)	Höhe (z), Aufnahmezeit (t), Bandbreite (λ) zwischen den Messpunkten 1 und 2	z ₁ - z ₂ ; t ₁ - t ₂ , λ ₁ - λ ₂



Diese Quantifizierungsfunktion ist nur offline, d.h. nur für bereits aufgenommene Datensätze verfügbar.

Messen von Oberflächen und Volumen



Funktion

Mit der Funktion Materials werden Oberflächen und Volumina eines dreidimensionalen, räumlichen Datensatzes berechnet.


Wenn Sie auf die Taste Materials klicken, wird automatisch ein Ansichtsfenster geöffnet, in dem eine Messkurve und die Größe des akkumulierten Volumens in Abhängigkeit von der z-Position angezeigt werden. Akkumuliertes Volumen bedeutet, dass für jede z-Position der Wert des darunterliegenden Volumens des Datensatzes ermittelt wird.

Voraussetzung für die Berechnung der Oberflächen und Volumina ist ein Topographiebild. Die Taste Materials ist deshalb erst aktiv, wenn zuvor mit der Taste Topography ein Topographiebild des Datensatzes erzeugt wurde. Es kann immer nur ein Detektionskanal quantifiziert werden.

 siehe Topographiebild erzeugen (Seite 182)

Parameter	Bedeutung
Scanned Area A	Dieser Wert stellt die horizontale Projektion der Oberfläche eines xy- Schnittes dar.
Surface Area A'	Dieser Wert stellt die tatsächliche Oberfläche eines xy-Schnittes dar. Die tatsächliche Oberfläche ist im Verhältnis zur horizontalen Projektion immer mindestens gleich groß, im allgemeinen sogar größer.
Ratio A'/A	Dieser Wert stellt das Verhältnis von Oberfläche zur Grundfläche dar. Je größer er ist, desto mehr ist die zweidimensionale Oberfläche in den dreidimensionalen Raum eingebettet.

Die folgenden 4 Messwerte erscheinen nur, wenn im Dialogfenster Viewer Options die Funktion Zweipunktmessung ausgewählt ist

▶	Wählen Sie Menü View, Option Experiment Overview, Bildsymbol Charts.  siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Charts (Seite 158)
▶	Im Feld Measurement können Sie die Zweipunktmessung ein- oder ausschalten, indem Sie 2 Point oder Off wählen.

V(z<=oberer Positionswert)	Dieser Wert stellt das Volumen dar, das unterhalb des <u>oberen</u> Positionswertes des Messschiebers liegt (rechter Eckpunkt des Schiebers)
V(z<=unterer Positionswert)	Dieser Wert stellt das Volumen dar, das unterhalb des <u>unteren</u> Positionswertes des Messschiebers liegt (rechter Eckpunkt des Schiebers)
dV	Volumen zwischen den beiden Positionswerten des Schiebers
dz	Abstand zwischen den beiden Positionswerten des Schiebers



Diese Quantifizierungsfunktion ist nur offline, d.h. nur für bereits aufgenommene Datensätze verfügbar.

Quantifizierungsgraphen in die Präsentationsseite kopieren



Funktion

Mit der Funktion Snap Quantification Data werden die von Quantifizierungsfunktionen berechneten Daten in eine Präsentationsseite kopiert. Die berechneten Werte der folgenden Quantifizierungsfunktionen, die auch einen Auswertungsgraphen anzeigen, können in eine Präsentationsseite kopiert werden:

☞ siehe Präsentationsseite anlagen (Seite 234)

 Prof.	☞ siehe Messen eines Profils entlang einer Strecke (Seite 224)
 Pr. (z)	☞ siehe Messen eines Profils innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 223)
 Mat.	☞ siehe Messen von Oberflächen und Volumen (Seite 226)
 R-Prof.	☞ siehe Rauigkeitsmessungen entlang einer Strecke (Seite 243)

Quantifizierungsgraphen drucken



Funktion

Mit der Funktion Print Quantification Data werden die von Quantifizierungsfunktionen berechneten Daten an den Standarddrucker gesendet. Die berechneten Werte der folgenden Quantifizierungsfunktionen, die auch einen Auswertungsgraphen anzeigen, können gedruckt werden:

 Prof.	☞ siehe Messen eines Profils entlang einer Strecke (Seite 224)
 Pr. (z)	☞ siehe Messen eines Profils innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 223)
 Mat.	☞ siehe Messen von Oberflächen und Volumen (Seite 226)
 R-Prof.	☞ siehe Rauigkeitsmessungen entlang einer Strecke (Seite 243)

Diese Funktion steht auch im Kontextmenü innerhalb der Ansichtsfenster von Quantifizierungsfunktionen zur Verfügung:

▶	Halten Sie den Mauszeiger über das von einer Quantifizierungsfunktion geöffnete Ansichtsfenster.
▶	Klicken Sie die rechte Maustaste und wählen Sie den Menüpunkt Print.

Quantifizierungsdaten exportieren



Funktion

Mit der Funktion Export Quantification Data können Sie die von Quantifizierungsfunktionen berechneten Daten als ASCII-Daten exportieren. Damit können die Daten zum Beispiel in Excel eingelesen und bearbeitet werden. Die berechneten Werte der folgenden Quantifizierungsfunktionen, die auch einen Auswertungsgraphen anzeigen, können exportiert werden:

 Prof.	📖 siehe Messen eines Profils entlang einer Strecke (Seite 224)
 Pr. (z)	📖 siehe Messen eines Profils innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 223)
 Mat.	📖 siehe Messen von Oberflächen und Volumen (Seite 226)
 R-Prof.	📖 siehe Rauigkeitsmessungen entlang einer Strecke (Seite 243)

Diese Funktion steht auch im Kontextmenü innerhalb der Ansichtsfenster von Quantifizierungsfunktionen zur Verfügung:

▶	Halten Sie den Mauszeiger über das von einer Quantifizierungsfunktion geöffnete Ansichtsfenster.
▶	Klicken Sie die rechte Maustaste und wählen Sie den Menüpunkt Export.

Auswertungsbereich (ROI) als Ellipse definieren





Funktion

Mit der Taste Ellipse kann ein elliptischer Auswertungsbereich (Region of Interest oder ROI) im Bild definiert werden:

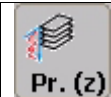



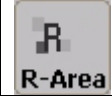

▶	Klicken Sie auf die Taste Ellipse.
▶	Drücken Sie die linke Maustaste über der Position im Bild, wo sich ein Eckpunkt des Auswertungsbereichs befinden soll.
▶	Ziehen sie bei gedrückter linker Maustaste den Cursor diametral in die gegenüberliegende Ecke, um den zweiten Eckpunkt des Auswertungsbereichs zu definieren.

📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) markieren und verschieben (Seite 231)

-  siehe Auswertungsbereich (ROI) verschieben und drehen (Seite 232)
-  siehe Auswertungsbereiche (ROIs) löschen (Seite 232)

Randbedingungen

Die Definition eines Auswertungsbereichs im Bild ist für Quantifizierungsfunktionen erforderlich. Die Taste Ellipse ist deshalb erst aktiv, wenn Sie zuvor mit einer der folgenden Tasten eine Quantifizierungsfunktion aktiviert haben:






	 siehe Messen eines Profils innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 223)
	 siehe Histogramm berechnen (Seite 222)
	 siehe Rauigkeitsmessungen innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 244)




Auswertungsbereich (ROI) als Polygon definieren



Funktion

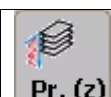

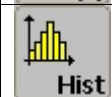

Mit der Taste Polygon kann ein frei bestimmbarer, polygonförmiger Auswertungsbereich (Region of Interest oder ROI) im Bild definiert werden:


	Klicken Sie auf die Taste Polygon.
	Drücken Sie die linke Maustaste über der Position im Bild, wo sich ein Eckpunkt des Auswertungsbereichs befinden soll.
	Um weitere Eckpunkte des Polygons zu definieren, lassen Sie die Maustaste los, fahren Sie den Cursor in die nächste Ecke des Polygons und klicken Sie erneut die linke Maustaste. Wiederholen Sie dies für jede gewünschte Ecke des Polygons.
	Wenn Sie das Polygon frei Hand zeichnen wollen, halten Sie die linke Maustaste gedrückt, während Sie den Auswertungsbereich in das Bild zeichnen.
	Sie können das Polygon durch einen Doppelklick schliessen.

-  siehe Auswertungsbereich (ROI) markieren und verschieben (Seite 231)
-  siehe Auswertungsbereich (ROI) verschieben und drehen (Seite 232)
-  siehe Auswertungsbereiche (ROIs) löschen (Seite 232)

Randbedingungen

Die Definition eines Auswertungsbereichs im Bild ist für Quantifizierungsfunktionen erforderlich. Die Taste Polygon ist deshalb erst aktiv, wenn Sie zuvor mit einer der folgenden Tasten eine Quantifizierungsfunktion aktiviert haben:

	 siehe Messen eines Profils innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 223)
	 siehe Histogramm berechnen (Seite 222)

	<p>☞ siehe Rauigkeitsmessungen innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 244)</p>
---	--

Auswertungsbereich (ROI) als Rechteck definieren



Funktion

Mit der Taste Rectangle kann ein rechteckiger Auswertungsbereich (Region of Interest oder ROI) im Bild definiert werden:

▶	Klicken Sie auf die Taste Rectangle.
▶	Drücken Sie die linke Maustaste über der Position im Bild, wo sich ein Eckpunkt des Auswertungsbereichs befinden soll.
▶	Ziehen Sie bei gedrückter linker Maustaste den Cursor diametral in die gegenüberliegende Ecke, um den zweiten Eckpunkt des Auswertungsbereichs zu definieren.




☞ siehe Auswertungsbereich (ROI) markieren und verschieben (Seite 231)

☞ siehe Auswertungsbereich (ROI) verschieben und drehen (Seite 232)

☞ siehe Auswertungsbereiche (ROIs) löschen (Seite 232)

Randbedingungen

Die Definition eines Auswertungsbereichs im Bild ist für Quantifizierungsfunktionen erforderlich. Die Taste Rectangle ist deshalb erst aktiv, wenn Sie zuvor mit einer der folgenden Tasten eine Quantifizierungsfunktion aktiviert haben:

	<p>☞ siehe Messen eines Profils innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 223)</p>
	<p>☞ siehe Histogramm berechnen (Seite 222)</p>
	<p>☞ siehe Rauigkeitsmessungen innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 244)</p>

Auswertungsbereich (ROI) automatisch definieren



Funktion

Mit der Taste Wizard können Sie eine beliebige Struktur im Bild als einen Auswertungsbereich (Region of Interest oder ROI) automatisch vom Rechner im Bild definieren lassen. Je nachdem, welche der Tasten Sie noch angeklickt haben, wird ein elliptischer, rechteckiger oder polygonförmiger Auswertungsbereich um die Struktur gelegt.

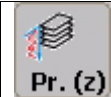

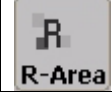
▶	Klicken Sie auf die Taste Ellipse, Rectangle oder Polygon und dann auf die Taste Wizard.
▶	Doppelklicken Sie mit der linken Maustaste auf die Struktur im Bild, die Sie als Auswertungsbereich markieren wollen.

▶	Die Struktur wird automatisch als elliptischer, rechteckiger oder polygonförmiger Auswertungsbereich markiert.
---	--

- 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) als Ellipse definieren (Seite 228 ff.)
- 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) als Polygon definieren
- 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) als Rechteck definieren
- 📖 siehe Auswertungsbereiche (ROIs) löschen

Randbedingungen

Die Definition eines Auswertungsbereichs im Bild ist für Quantifizierungsfunktionen erforderlich. Die Taste Wizard ist deshalb erst aktiv, wenn Sie zuvor mit einer der folgenden Tasten eine Quantifizierungsfunktion aktiviert haben:

 Pr. (z)	📖 siehe Messen eines Profils innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 223)
 Hist	📖 siehe Histogramm berechnen (Seite 222)
 R-Area	📖 siehe Rauigkeitsmessungen innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 244)

Auswertungsbereich (ROI) markieren und verschieben



Funktion

Mit der Taste Select ROI können sie einen Auswertungsbereich (Region of Interest oder ROI) im Bild markieren und verschieben:

▶	Klicken Sie auf die Taste Select ROI und dann auf den Auswertungsbereich, den Sie verschieben wollen.
▶	Bewegen Sie den Mauszeiger in das Innere des Auswertungsbereichs.
▶	Sobald sich der Mauszeiger zu einem überkreuzten Doppelpfeil verändert, drücken Sie die linke Maustaste und halten diese gedrückt.
▶	Verschieben Sie den Auswertungsbereich bei gedrückter linker Maustaste.

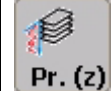





Sie können die Größe eines einmal gezeichneten Auswertungsbereiches wieder ändern:

▶	Halten Sie den Mauszeiger über eine Seitenkante des markierten Auswertebereichs, bis ein Doppelpfeil sichtbar wird. Drücken Sie die linke Maustaste um den Auswertungsbereich in eine Richtung zu ziehen.
▶	Wenn Sie den Mauszeiger exakt in einen Eckpunkt des markierten Auswertungsbereichs stellen, können Sie die Ausdehnung in zwei Richtungen gleichzeitig verändern.

- 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) verschieben und drehen (Seite 232)
- 📖 siehe Auswertungsbereiche (ROI's) löschen (Seite 232)

Randbedingungen

Die Definition eines Auswertungsbereichs im Bild ist für Quantifizierungsfunktionen erforderlich. Die Taste Select ROI ist deshalb erst aktiv, wenn Sie zuvor mit einer der folgenden Tasten eine Quantifizierungsfunktion aktiviert haben:





	 siehe Messen eines Profils innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 223)
	 siehe Histogramm berechnen (Seite 222)
	 siehe Rauigkeitsmessungen innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 244)

Auswertungsbereich (ROI) verschieben und drehen




Funktion

Mit der Taste Rotate ROI können sie einen Auswertungsbereich (Region of Interest oder ROI) im Bild verschieben und drehen:

	Klicken Sie auf die Taste Rotate ROI und dann auf den Auswertungsbereich, den Sie drehen wollen.
	Stellen Sie den Mauszeiger exakt in einen Eckpunkt des markierten Auswertungsbereichs.
	Sobald sich der Mauszeiger zu einem Doppelpfeil verändert, drücken Sie die linke Maustaste und halten diese gedrückt.
	Drehen Sie den Auswertungsbereich bei gedrückter linker Maustaste. Der Auswertungsbereich wird um seinen Mittelpunkt gedreht.

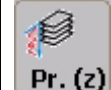

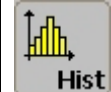

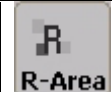

Sie können die Größe eines einmal gezeichneten Auswertungsbereiches wieder ändern:

	Halten Sie den Mauszeiger über eine Seitenkante des markierten Auswertebereichs, bis ein Doppelpfeil sichtbar wird. Drücken Sie die linke Maustaste um den Auswertungsbereich in eine Richtung zu ziehen.
---	---

 siehe Auswertungsbereiche (ROIs) löschen (Seite 232)

Randbedingungen

Die Definition eines Auswertungsbereichs im Bild ist für Quantifizierungsfunktionen erforderlich. Die Taste Rotate ROI ist deshalb erst aktiv, wenn Sie zuvor mit einer der folgenden Tasten eine Quantifizierungsfunktion aktiviert haben:

	 siehe Messen eines Profils innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 223)
	 siehe Histogramm berechnen (Seite 222)
	 siehe Rauigkeitsmessungen innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 244)

Auswertungsbereiche (ROI's) löschen



Funktion

Mit der Taste Clear können alle definierten Auswertungsbereiche (ROI's) auf einmal gelöscht werden. Löschen Sie einen einzelnen Auswertungsbereich, indem Sie die Taste Select ROI anklicken, dann den Auswertungsbereich im Bild und mit der auf der Tastatur befindlichen Löschtaste entfernen.

Randbedingungen

Die Definition eines Auswertungsbereichs im Bild ist für Quantifizierungsfunktionen erforderlich. Die Taste Clear ist deshalb erst aktiv, wenn Sie zuvor mit einer der folgenden Tasten eine Quantifizierungsfunktion aktiviert haben:

 Pr. (z)	siehe Messen eines Profils innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 223)
 Hist	siehe Histogramm berechnen (Seite 222)
 R-Area	siehe Rauigkeitsmessungen innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI) (Seite 244)

Datendokumentation

Präsentationsseite anlegen



Annot.

Funktion

Mit der Taste Annotation wird ein Fenster geöffnet, in dem Sie aufgenommene Bilder zu Präsentationszwecken aufbereiten können. Haben Sie die Präsentationsseite geöffnet, werden die zusätzlichen Tasten Snap, Line, Rectangle und Text aktiv. Mit diesen Tasten können Sie das im Ansichtsfenster Viewer geladene Bild in die Präsentationsseite kopieren, bestimmte Bereiche im kopierten Bild mit Linien und Rechtecken hervorheben und in einem Textfeld eine Bildbeschriftung einfügen.

- siehe Linie zeichnen (Seite 235)
- siehe Rechteck zeichnen (Seite 235)
- siehe Textfeld anlegen (Seite 236)

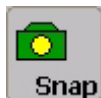
Wenn Sie den Mauszeiger über die Präsentationsseite halten und dann auf die rechte Maustaste klicken, erscheint ein Kontextmenü, in dem Ihnen folgende Befehle zur Verfügung stehen:

Befehl	Funktion
Line	Eine Linie im voreingestellten Format wird in die Präsentationsseite eingefügt.
Rectangle	Ein Rechteck im voreingestellten Format wird in die Präsentationsseite eingefügt.
Text	Ein Textfeld im voreingestellten Schrifttyp wird in die Präsentationsseite eingefügt.
Zoom	Sie können zwischen vier Größendarstellungen der Präsentationsseite auswählen.
Grid	Ein nicht druckbares Gitterliniennetz wird in der Präsentationsseite eingeblendet.

Die Befehle Line, Rectangle und Text sind nicht nur im Kontextmenü vorhanden, sondern können auch mit den entsprechenden separaten Tasten aktiviert werden.

Präsentationsseiten erhalten beim Abspeichern die Dateiendung *.ano.

Bild in die Präsentationsseite kopieren



Snap

Funktion

Wenn Sie auf die Taste Snap klicken, wird das im Ansichtsfenster Viewer geladene Bild in die Präsentationsseite kopiert. Wenn Sie das kopierte Bild markieren und dann auf die rechte Maustaste klicken, erscheint ein Kontextmenü, in dem Ihnen folgende Befehle zur Verfügung stehen:

Befehl	Funktion
Original size	Das Bild wird in Originalgröße angezeigt.
Fit to page	Das Bild wird auf die Größe der Präsentationsseite vergrößert.
Bring to front	Das Bild wird in den Vordergrund gerückt.
Send to back	Das Bild wird in den Hintergrund gerückt.
Delete	Das Bild wird gelöscht.

Die Größe des Bildes können Sie beliebig verändern, indem Sie mit dem Mauszeiger an einem Anfasspunkt des Bildes ziehen. Um das Bild zu verschieben, ohne seine Größe zu verändern, markieren Sie das Bild und verschieben Sie es, während Sie die linke Maustaste gedrückt halten.



Die Taste Snap kann nur betätigt werden, wenn zuvor eine Präsentationsseite mit der Taste Annotation geöffnet und dann das Ansichtsfenster Viewer angeklickt wurde.

Linie in die Präsentationsseite zeichnen



Funktion

Mit der Taste Line zeichnen Sie eine Linie in die Präsentationsseite. Klicken Sie in der Präsentationsseite auf die Stelle, an der die Linie beginnen soll. Halten Sie die linke Maustaste gedrückt und ziehen Sie den Mauszeiger über die Seite, bis zu dem Punkt, an dem die Linie enden soll. Wenn Sie die Linie markieren und dann auf die rechte Maustaste klicken, erscheint ein Kontextmenü, in dem Ihnen folgende Befehle zur Verfügung stehen:

Befehl	Funktion
Style	In einem Dialogfenster können Typ, Stärke und Länge der Linie eingestellt werden.
Color	In einem Dialogfenster kann eine beliebige Farbe für die Linie ausgewählt werden.
Bring to front	Die Linie wird in den Vordergrund gerückt.
Send to back	Die Linie wird in den Hintergrund gerückt.
Delete	Die Linie wird gelöscht.

Die Länge der Linie können Sie verändern, indem Sie mit dem Mauszeiger an einem der Anfasspunkte der Linie ziehen. Um die Linie zu verschieben, ohne ihre Größe zu verändern, klicken Sie auf den mittleren Anfasspunkt und verschieben Sie die Linie, während Sie die linke Maustaste gedrückt halten.



Die Taste Line kann nur betätigt werden, wenn zuvor eine Präsentationsseite mit der Taste Annotation geöffnet wurde.

Rechteck in die Präsentationsseite zeichnen



Funktion

Mit der Taste Rectangle zeichnen Sie ein Rechteck in die Präsentationsseite. Klicken Sie in der Präsentationsseite auf die Stelle, an der sich eine Ecke des Rechtecks befinden soll. Halten Sie die linke Maustaste gedrückt und ziehen Sie den Mauszeiger über die Seite, um die Größe des Rechtecks zu bestimmen. Wenn Sie das Rechteck markieren und dann auf die rechte Maustaste klicken, erscheint ein Kontextmenü, in dem Ihnen folgende Befehle zur Verfügung stehen:

Befehl	Funktion
Style	In einem Dialogfenster können Typ und Stärke der Linie sowie weitere Optionen eingestellt werden.
Color	In einem Dialogfenster kann eine beliebige Farbe für das Rechteck ausgewählt

	werden.
Bring to front	Das Rechteck wird in den Vordergrund gerückt.
Sent to back	Das Rechteck wird in den Hintergrund gerückt.
Delete	Das Rechteck wird gelöscht.

Die Größe des Rechtecks können Sie verändern, indem Sie mit dem Mauszeiger an einem der Anfasspunkte des Rechtecks ziehen. Um das Rechteck zu verschieben, ohne seine Größe zu verändern, klicken Sie in die Mitte des Rechtecks und verschieben Sie es, während Sie die linke Maustaste gedrückt halten.



Die Taste Rectangle kann nur betätigt werden, wenn zuvor eine Präsentationsseite mit der Taste Annotation geöffnet wurde.

Textfeld in die Präsentationsseite einfügen



Funktion

Mit der Taste Text fügen Sie ein Textfeld in die Präsentationsseite ein. Klicken Sie in der Präsentationsseite auf die Stelle, wo sich das Textfeld befinden soll. Halten Sie die linke Maustaste gedrückt und ziehen Sie den Mauszeiger über die Seite, um die Größe des Textfelds zu bestimmen. Wenn Sie das Textfeld markieren und dann auf die rechte Maustaste klicken, erscheint ein Kontextmenü, in dem Ihnen folgende Befehle zur Verfügung stehen:

Befehl	Funktion
Font	In einem Dialogfenster können verschiedene Schrifttypen und weitere Formatierungen ausgewählt werden.
Transparent	Der Hintergrund scheint durch das Textfeld durch.
Bring to front	Der Text wird in den Vordergrund gerückt.
Send to back	Der Text wird in den Hintergrund gerückt.
Delete	Der Text wird gelöscht.

Die Größe des Textfelds können Sie verändern, indem Sie mit dem Mauszeiger an einem der Anfasspunkte des Textfelds ziehen. Um das Textfeld zu verschieben, ohne seine Größe zu verändern, klicken Sie in die Mitte des Textfelds und verschieben Sie es, während Sie die linke Maustaste gedrückt halten.



Die Taste Text kann nur betätigt werden, wenn zuvor eine Präsentationsseite mit der Taste Annotation geöffnet wurde.

Drucken



Funktion

Sie können den Druckbefehl entweder mit der Taste Print oder über das Dialogfenster Printer Selection auslösen. Um dieses Dialogfenster zu öffnen, wählen Sie im Menü File die Option Print. Gedruckt werden kann das im Ansichtsfenster Viewer geladene Bild oder eine Präsentationsseite.

Wenn Sie mit der Taste Print den Druckbefehl auslösen, wird das im Ansichtsfenster geladene Bild oder die Präsentationsseite mit dem voreingestellten Drucker und in der voreingestellten Seitendarstellung gedruckt. Diese Standardeinstellungen können Sie im Dialogfenster Printer Selection nach ihren Wünschen verändern. Zu diesem Zweck können Sie folgende Schaltflächen in diesem Dialogfenster bedienen:

Schaltfläche	Funktion
Printer setup	Öffnet ein Dialogfenster, in dem man den Drucker und Druckereinstellungen ändern kann.
Print	Das Bild oder die Präsentationsseite wird ausgedruckt.
Background color	Öffnet ein Dialogfenster, in dem man eine beliebige Hintergrundfarbe für die Seite auswählen kann.
Center on page	Das Bild wird in die Mitte der Seite plaziert.
Fit to page	Die Bildgröße wird auf die Größe des bedruckbaren Bereichs ausgerichtet.
Aspect ratio	Das Seitenverhältnis des Bildes bleibt bei Änderungen von Höhe und Breite erhalten.

Im Feld Image können Sie die Höhe (Size Y) und Breite (Size X) des Bildes verändern und einen Seitenrand nach oben (Offset Y) und einen Seitenrand nach links (Offset X) definieren. Bildgröße und Seitenränder können nicht verändert werden, wenn die Schaltfläche Fit to page angeklickt ist. Haben Sie die Schaltfläche Center on Page angeklickt, können nur die Seitenränder nicht verändert werden.

Mit der im Feld Print Preview eingeblendeten Vorschau der Druckseite können Sie das Ergebnis der vorgenommenen Änderungen überprüfen. Im Feld Page wird Höhe und Breite des bedruckbaren Bereichs angegeben (der nicht identisch mit dem Papierformat ist). In den untersten beiden Zeilen des Dialogfensters wird der aktuell installierte Drucker und das eingestellte Papierformat angezeigt.



Wenn Sie das Dialogfenster Printer Selection mit OK verlassen, werden alle Einstellungen im aktiven Ansichtsfenster Viewer gespeichert. Somit können Sie für verschiedene Bilder eine unterschiedliche Druckereinstellung und Seitendarstellung speichern. Diese Einstellungen gehen jedoch mit dem Verlassen der Leica Confocal Software verloren.

Datenhandling

Datei öffnen

**Funktion**

In der Leica Confocal Software können Sie mit der Taste Open verschiedene Dateiformate öffnen.

Dateiformat	Beschreibung
Experiment (*.lei)	Ein Leica-spezifisches, binäres Datenformat. Beim Lesen der Experimente werden nicht nur die Bilddaten sondern auch die experimentellen Einstellungen geladen.
Präsentationsseite (*.ano)	Ein Leica-spezifisches, binäres Datenformat. Die auf den Präsentationsseiten vorhandenen Elemente wie Bilder, Texte und Grafiken liegen jeweils als einzelne Objekte vor.
Tiff-Dateien (*.tif)	Es handelt sich um Leica Bilddateien im Single- und Multi-Tiff-Format. Es können auch externe Dateien im RGB-Tiff-Format eingelesen werden.

siehe Experiment anlegen (Seite 241)

siehe Präsentationsseite anlegen (Seite 234)

Datei speichern

**Funktion**

Wenn Sie auf die Taste Save klicken, werden die Daten im aktuellen Experiment (*.lei) oder in der aktuellen Präsentationsseite (*.ano) gespeichert.

Wenn Sie mit der Taste Save ein Experiment oder eine Präsentationsseite zum ersten Mal speichern, erscheint zuerst das Dialogfenster Save As.



Oft werden Originaldaten unabsichtlich mit der Funktion Save überschrieben. Dies können Sie verhindern, indem Sie die Funktion Save As verwenden, um ein bereits gespeichertes Experiment unter einem anderen Namen abzuspeichern.

siehe Datei speichern unter (Seite 238)

Datei speichern unter

**Funktion**

Mit der Taste Save As können Sie ein Experiment (*.lei) oder eine Präsentationsseite (*.ano) unter

einem bestimmten Dateinamen und in einem bestimmten Dateiformat abspeichern.

Beim Abspeichern eines Experiments wird auf Dateiebene ein Ordner mit dem Namen des Experiments angelegt. Im Unterverzeichnis dieses Ordners befindet sich die Beschreibungsdatei (*.lei) des Experiments zusammen mit den einzelnen Bilddateien. Bei der Beschreibungsdatei handelt es sich um ein Leica-spezifisches binäres Datenformat. In dieser Datei werden die Parametereinstellungen und die in Form einer Farbzusatzstabelle gespeicherte Farbinformation jedes zu diesem Experiment gehörenden Bildes registriert.

Die Bilddateien eines Experiments können im Format *tif* oder im Format *raw* abgespeichert werden. Im Standardformat *tif* sind die experimentellen Einstellungen und die Farbinformation eines Bildes nochmals redundant enthalten. Im Format *raw* werden lediglich die Bilddaten abgespeichert.

Typische Anwendungen

Der Vorteil des Formats *raw* ist die geringere Dateigröße, die jedoch nur bei Bildaufnahmen mit relativ geringer Datenmenge zum Tragen kommt. Wenn Sie zum Beispiel eine Bildserie mit einer großen Anzahl von Einzelbildern, aber bei einem kleinen Scanformat aufnehmen, können Sie die Bildserie im Format *raw* schneller speichern und öffnen als im Format *tif*.

Alle Dateien speichern



Funktion

Mit der Taste Save All können Sie mehrere Experimente (*.lei) und Präsentationsseiten (*.ano) hintereinander unter einem bestimmten Dateinamen und in einem bestimmten Dateiformat abspeichern.

Beim Abspeichern eines Experiments wird auf Dateiebene ein Ordner mit dem Namen des Experiments angelegt. Im Unterverzeichnis dieses Ordners befindet sich die Beschreibungsdatei (*.lei) des Experiments zusammen mit den einzelnen Bilddateien. Bei der Beschreibungsdatei handelt es sich um ein Leica-spezifisches binäres Datenformat. In dieser Datei werden die Parametereinstellungen und die in Form einer Farbzusatzstabelle gespeicherte Farbinformation jedes zu diesem Experiment gehörenden Bildes registriert.

Die Bilddateien eines Experiments können im Format *tif* oder im Format *raw* abgespeichert werden. Im Standardformat *tif* sind die experimentellen Einstellungen und die Farbinformation eines Bildes nochmals redundant enthalten. Im Format *raw* werden lediglich die Bilddaten abgespeichert.

Typische Anwendungen

Der Vorteil des Formats *raw* ist die geringere Dateigröße, die jedoch nur bei Bildaufnahmen mit relativ geringer Datenmenge zum Tragen kommt. Wenn Sie zum Beispiel eine Bildserie mit einer großen Anzahl von Einzelbildern, aber bei einem kleinen Scanformat aufnehmen, können Sie die Bildserie im Format *raw* schneller speichern und öffnen als im Format *tif*.

Benutzerspezifische Anpassungen

Funktionen über die Bedienkonsole steuern

Funktion

Verschiedene Parameter müssen während einer Bildaufnahme häufig neu eingestellt werden. Mit Hilfe der Bedienkonsole können deshalb Funktionen schnell und direkt gesteuert werden. Sie können den Drehknöpfen der Bedienkonsole eine Auswahl von Funktionen frei zuordnen:

- | | |
|---|---|
| ▶ | Wählen Sie im Menü View die Option Status Bars und dann Control Panel Status Bar. |
|---|---|

Die Statusleiste für die Bedienkonsole wird am unteren Ende der Benutzeroberfläche der Leica Confocal Software angezeigt. Von links nach rechts gesehen besteht die Statusleiste aus dem Symbol für die Bedienkonsole, den sieben Feldern, die die Drehknöpfe der Bedienkonsole repräsentieren, und drei Schaltflächen.

- | | |
|---|--|
| ▶ | klicken Sie auf eines der Felder, die wie die Drehknöpfe der Bedienkonsole angeordnet sind. |
| ▶ | Es wird eine Liste geöffnet, in der Sie die gewünschte Funktion auswählen können. Der Name der zugeordneten Funktion wird im Feld angezeigt. |

Die Ansprechempfindlichkeit der Drehknöpfe kann variiert werden:

- | | |
|---|--|
| ▶ | Klicken Sie in der Statusleiste der Bedienkonsole <u>mit der rechten Maustaste</u> auf einen Aufnahmeparameter. |
| ▶ | Bei den Aufnahmeparametern Phase, Pinhole, Scan Field Rotation und Zoom kann man zwischen den drei Empfindlichkeitsstufen Smooth, Moderate und Rough wählen. |
| ▶ | Bei den Aufnahmeparametern Gain, Offset, Smart Gain und Smart Offset kann die Anzahl Volt pro Drehung des Drehknopfs variiert werden. |
| ▶ | Bei den Aufnahmeparametern Z Position und Z Wide Position kann die Anzahl Mikrometer pro Drehung des Drehknopfs variiert werden. |



Weitere Informationen zu diesem Thema finden Sie in der separaten Online Hilfe:
Tutorials (Übungen zur Bedienung der Leica Confocal Software)

Haben Sie allen Drehknöpfen eine Funktion zugeordnet, können Sie diese Konfiguration als Vorlage abspeichern.

- | | |
|---|---|
| ▶ | Klicken Sie auf die linke der drei Schaltflächen, die sich am rechten Rand der Statusleiste befinden. |
| ▶ | Ein Dialogfenster wird geöffnet, in dem Sie der Konfiguration einen Namen geben und sie speichern können. |
| ▶ | Klicken Sie auf die mittlere Schaltfläche, um eine Konfiguration auszuwählen und zu laden. |

Neben diesen benutzerdefinierten Konfigurationen können Sie auch auf weitere werkseitig vordefinierte Konfigurationen zugreifen:

- | | |
|---|--|
| ▶ | Klicken Sie auf die rechte der drei Schaltflächen, die sich am rechten Rand der Statusleiste befinden. |
| ▶ | Ein Dialogfenster wird geöffnet, in dem alle Konfigurationen für die Bedienkonsole aufgelistet sind. |

Die voreingestellten Konfigurationen, die mit einem **L** (Leica) gekennzeichnet sind, können nur geladen aber nicht verändert werden. Die benutzerdefinierten Konfigurationen werden im Listenfeld unter User angelegt und mit einem **U** (User) gekennzeichnet. Wenn Sie eine dieser Konfigurationen anklicken und anschließend auf die rechte Maustaste klicken, stehen Ihnen in einem Kontextmenü folgende Befehle zur Verfügung:

Befehl	Funktion
Set as default template	Die Konfiguration wird als Standardeinstellung beim Start der Software geladen.
Remove default setting	Die Konfiguration als Standardeinstellung wird rückgängig gemacht.
Load	Die Konfiguration wird geladen.
Rename (nur bei U)	Die Konfiguration kann umbenannt werden.
Delete (nur bei U)	Die Konfiguration wird gelöscht.

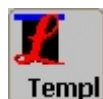
Experiment anlegen



Funktion

Wenn Sie auf die Taste New Experiment klicken, wird ein neues Ansichtsfenster Viewer geöffnet und damit ein neues Experiment angelegt. Ein Experiment ist eine Datei, die aus mehreren Einzelbildern oder Bildserien bestehen kann. Sie haben damit die Möglichkeit, mehrere Bilder, die mit unterschiedlichen Scanparametern aufgenommen wurden, oder Ergebnisbilder von Bildverarbeitungen, in einem Experiment zusammenzufassen. Bei den Experimenten (*.lei) handelt es sich um ein Leica-spezifisches Datenformat.

Ansichtsfenster Viewer als Vorlage abspeichern



Funktion

Mit der Taste Template kann eine benutzerdefinierte Gestaltung des Ansichtsfensters Viewer als Vorlage abgespeichert werden. Die Elemente des Ansichtsfensters Viewer, die ein- oder ausgeblendet werden können, sind die Tastenfelder, die Farbleisten der Farbuordnungstabellen sowie die Legende Experiment.

siehe Ansichtsfenster Viewer (Seite 153)

Wenn Sie auf die Taste Template klicken, wird ein Dialogfenster geöffnet, in dem Sie einen Namen für die Vorlage eingeben. Diese Konfiguration des Ansichtsfensters Viewer wird gespeichert und immer dann geladen, wenn Sie eine Datei öffnen oder ein neues Experiment anlegen.

Zusätzliche Information

Klicken Sie im Menü Tools auf Options, um im Register Viewer Template auf voreingestellte und benutzerdefinierte Vorlagen zugreifen zu können. Im Listenfeld Leica Templates stehen Ihnen folgende voreingestellte Vorlagen zur Verfügung:

Viewer Template	Gestaltung
Viewer (Pure)	Das Ansichtsfenster besteht nur aus dem Bildfenster.
Viewer (LUT)	Das Ansichtsfenster besteht aus dem Bildfenster und den Farbleisten der

	Farbzuordnungstabellen.
Viewer (Standard)	Das Ansichtsfenster besteht aus den Tastenfeldern, dem Bildfenster, den Farbleisten der Farbzuordnungstabellen und der Legende Experiment.

Im Listenfeld Personal Templates werden die benutzerdefinierten Vorlagen eingetragen. Mit den Schaltflächen Add Active Viewer und Remove Template können Sie eine neue Vorlage speichern bzw. eine bereits existierende löschen.

Klicken Sie im Menü Tools auf Options, um im Register Workspace festzulegen, ob, und wenn ja, wieviele Ansichtsfenster Viewer beim Start der Leica Confocal Software geöffnet werden sollen.

Optionale Softwarepakete

Materials

Rauhigkeitsmessungen entlang einer Strecke



Funktion

Mit der Funktion Roughness Profile werden Höhen-, Abstands- und Winkelwerte einer Oberfläche entlang einer Strecke gemessen und in einer Kurve dargestellt. Das Höhenprofil wird aus dem im Ansichtsfenster Viewer ausgewählten Datensatz gemessen. Bei diesem Datensatz sollte es sich um eine räumliche Serie handeln.

Voraussetzung für die Erzeugung des Höhenprofils ist ein Topographiebild. Die Taste Roughness Profile ist deshalb erst aktiv, wenn zuvor mit der Taste Topography ein Topographiebild des Datensatzes erzeugt wurde. Es kann immer nur ein Detektionskanal quantifiziert werden.

siehe Topographiebild erzeugen (Seite 182)

▶	Klicken Sie auf die Taste Roughness Profile. Die Messstrecke wird im Ansichtsfenster Viewer als weiße Linie im Bild eingeblendet. Die Länge und Position der Messstrecke können Sie beliebig ändern, indem Sie die Strecke anklicken und mit gedrückter linker Maustaste die Anfasspunkte an die gewünschte Position ziehen.
▶	Es wird automatisch ein Ansichtsfenster geöffnet, in dem die Messkurve für jeden Detektionskanal und die statistischen Werte angezeigt werden.

Parameter	Bedeutung	Formel
Evaluation length: I(P)	Länge der eingezeichneten Messstrecke nach DIN EN ISO 4287	$L = \sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2}$
Max. Peak: Pp	Höhe der höchsten Profilspitze (bezogen auf die durchschnittliche Höhe) nach DIN EN ISO 4287	Max (Pp)
Min. Valley: Pv	Tiefe des größten Profiltales (bezogen auf die durchschnittliche Höhe) nach DIN EN ISO 4287	Min (Pv)
Deviation: Pa	Arithmetischer Mittelwert der Profildinate innerhalb der Messstrecke (durchschnittliche Höhe) nach DIN EN ISO 4287	$P_a = \frac{1}{l} \int_0^l Z(x) dx$ mit $Z(x) = Z_i - \bar{Z}$
RMS: Pq	Quadratischer Mittelwert der Profildinate innerhalb der Messstrecke nach DIN EN ISO 4287	$P_q = \sqrt{\frac{1}{l} \int_0^l Z^2(x) dx}$ mit $Z(x) = Z_i - \bar{Z}$

Die folgenden 4 Messwerte erscheinen nur, wenn im Dialogfenster Viewer Options die Funktion Zweipunktmessung ausgewählt ist

▶	Wählen Sie Menü View, Option Experiment Overview, Bildsymbol Charts. siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Charts (Seite 158)
▶	Im Feld Measurement können Sie die Zweipunktmessung ein- oder ausschalten, indem Sie 2 Point oder Off wählen.

Parameter	Bedeutung	Formel
h (Position linker Messpunkt des Schiebers)	Höhe des Profils an der Position des linken Messpunktes des Schiebers	$h_1 (l_1)$
h (Position rechter Messpunkt des Schiebers)	Höhe des Profils an der Position des rechten Messpunktes des Schiebers	$h_2 (l_2)$
Step Height dh	Höhendifferenz des Profils zwischen linkem und rechtem Messpunkt des Schiebers	$ h_2 - h_1 $
dx	Abstand zwischen linkem und rechtem Eckpunkt des Schiebers	$ l_2 - l_1 $
alpha	Winkel zwischen der Verbindungslinie linker Messpunkt-rechter Messpunkt zur Horizontalen	$\arctan\left(\frac{dh}{dx}\right)$

Speichern von Messwerten

Die Werte an den Positionen der beiden Messpunkte sowie die Höhendifferenz zwischen den beiden Messpunkten können von der Software gespeichert werden.

▶	Wählen Sie Menü View, Option Experiment Overview, Bildsymbol Surface Measure. 📖 siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Surface Measure (Seite 163)
▶	Klicken Sie im Feld Multipoint Measurement auf die Schaltfläche Remember, um die Werte zu speichern. Mit der Schaltfläche Clear werden sie wieder gelöscht.



Diese Quantifizierungsfunktion ist nur offline, d.h. nur für bereits aufgenommene Datensätze verfügbar.

Rauigkeitsmessungen innerhalb eines Auswertungsbereichs (ROI)



Funktion

Mit der Funktion Roughness Area werden Höhen-, Abstands- und Winkelwerte einer Oberfläche innerhalb eines Auswertungsbereichs gemessen. Das Profil wird aus dem im Ansichtsfenster Viewer ausgewählten Datensatz gemessen. Bei diesem Datensatz sollte es sich um eine räumliche Serie handeln.

Voraussetzung für die Erzeugung des Höhenprofils ist ein Topographiebild. Die Taste Roughness Area ist deshalb erst aktiv, wenn zuvor mit der Taste Topography ein Topographiebild des Datensatzes erzeugt wurde.

📖 siehe Topographiebild erzeugen (Seite 182)

▶	Klicken Sie auf die Taste Roughness Area und zeichnen Sie einen Auswertungsbereich (ROI) im Bild ein. Die Tasten, mit denen Sie einen Auswertungsbereich definieren, werden zusammen mit der Taste Roughness Area aktiviert. 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) als Ellipse definieren (Seite 228 ff.) 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) als Polygon definieren 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) als Rechteck definieren 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) automatisch definieren 📖 siehe Auswertungsbereich (ROI) markieren und verschieben 📖 siehe Auswertungsbereiche (ROI) löschen
---	--

► Es wird automatisch ein Ansichtsfenster geöffnet, in dem die statistischen Werte angezeigt werden.

Parameter	Bedeutung	Formel
# Pixel	Anzahl der Pixel innerhalb des ausgewählten Auswertungsbereichs	
Area	Flächeninhalt	$A = \int_0^A d_A$
Avg. Height	Durchschnittliche Höhe der Profildinate	$H = \frac{1}{A} \int_0^A Z(x,y) dA$
Pa	Arithmetischer Mittelwert der Profildinate innerhalb der Messstrecke (durchschnittliche Höhe) nach DIN EN ISO 4287	$P_a = \frac{1}{A} \int_0^A Z(x,y) dA$ mit $Z(x,y) = Z_i - \bar{Z}$
RMS (Pq)	Quadratischer Mittelwert der Profildinate innerhalb der Messstrecke nach DIN EN ISO 4287	$P_q = \sqrt{\frac{1}{A} \int_0^A Z^2(x,y) dA}$ mit $Z(x,y) = Z_i - \bar{Z}$
Min Valley (Pv)	Minimale Höhe der Profildinate (bezogen auf die durchschnittliche Höhe)	Min (Pv)
Max Peak (Pp)	Maximale Höhe der Profildinate (bezogen auf die durchschnittliche Höhe)	Max (Pp)



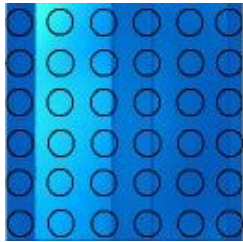
Diese Quantifizierungsfunktion ist nur offline, d.h. nur für bereits aufgenommene Datensätze verfügbar.

Anhang

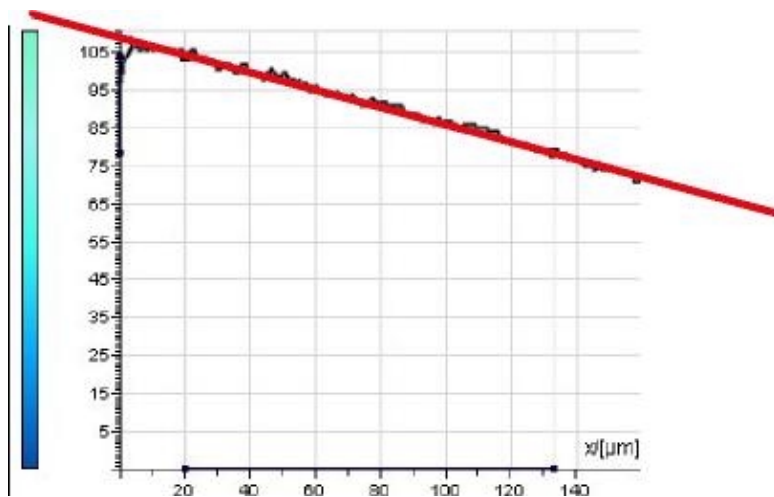
Anpassungsfunktion zur Korrektur von Trendverläufen

☞ siehe Arbeitsschritt Process / Ordner Materials (Seite 212)

1. Wahl der Schrittweite, also des Abstandes der Stützstellen

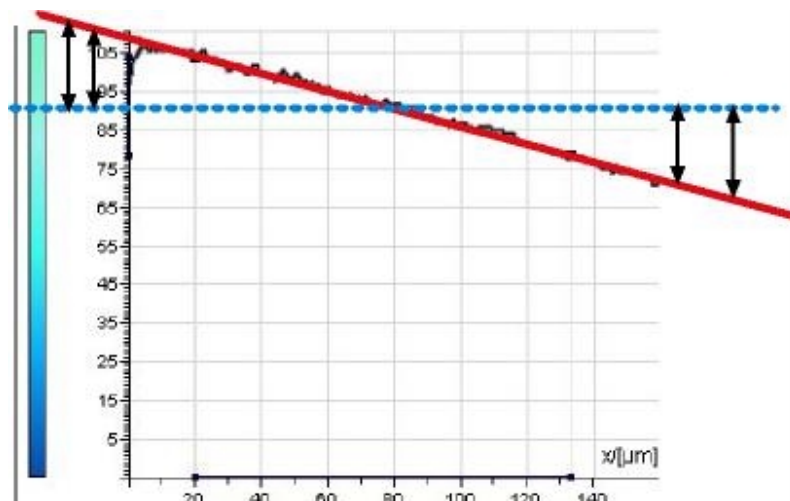


2. Auswahl des Charakters der anzupassenden Interpolationsfunktion

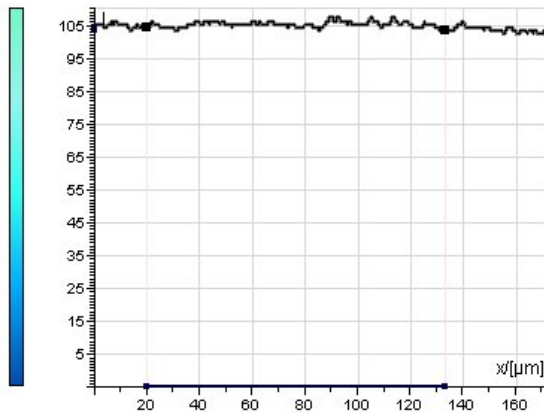


3. Berechnung der Interpolationsfunktion $f(x) = a + bx + cy$

4. Addition der Intensitätsdifferenzen zum Ausgleich des Trendverlaufs

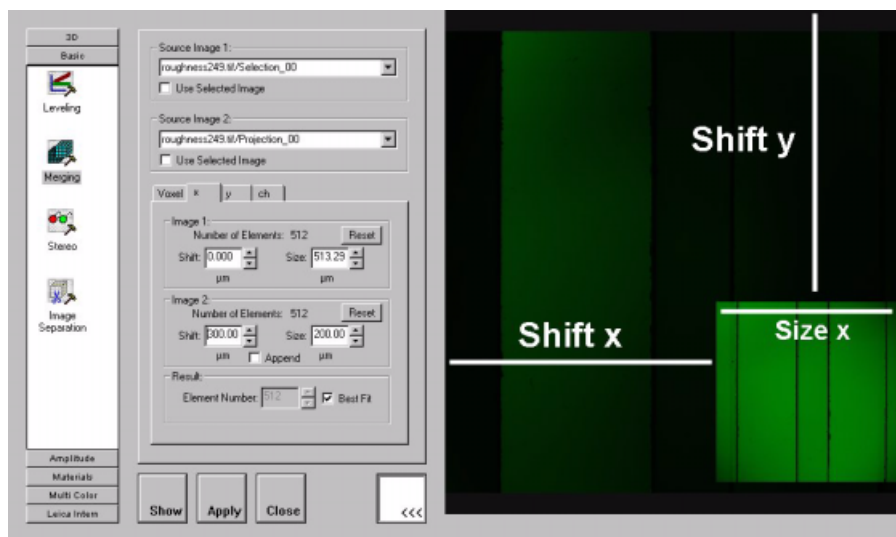


vor dem Ausgleich

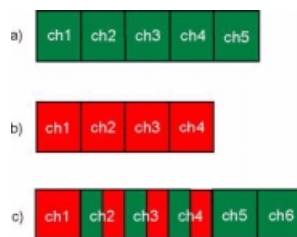


nach dem Ausgleich

Beispiel für das Verschieben eines Bildes im Ergebnisbild


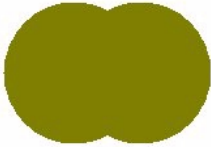



Beispiel für die Vereinigung von Bildern unterschiedlicher Kanalzahl (Merging)



- a.) Erstes Ausgangsbild (Einstellung: Start=2)
- b.) Zweites Ausgangsbild (Einstellung: Start=1)
- c.) Vereinigungsbild

Funktionsweise der Booleschen Verknüpfungen

<p>AND</p>	<p>Schreibe eine 1, wenn in Pixel 1 UND in Pixel 2 eine 1 steht, ansonsten schreibe 0</p>	<p>a.) <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"><tr><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>0</td></tr></table> <div style="text-align: center;">AND</div> <p>b.) <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"><tr><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td></tr></table> c.) <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"><tr><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>0</td></tr></table></p> <p>a.) Binäre Darstellung Pixel 1 b.) Binäre Darstellung Pixel 2 c.) Binäre Darstellung Ergebnispixel</p> </p>	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	 <p>AND stellt die Schnittmenge von zwei Bildern dar</p>
1	1	0	1	0	0	1	0																				
1	0	0	1	1	1	1	0																				
1	0	0	1	0	0	1	0																				
<p>OR</p>	<p>Schreibe eine 1, wenn in Pixel 1 ODER in Pixel 2 eine 1 steht, ansonsten schreibe 0</p>	<p>a.) <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"><tr><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>0</td></tr></table> <div style="text-align: center;">OR</div> <p>b.) <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"><tr><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td></tr></table> c.) <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"><tr><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td></tr></table></p> <p>a.) Binäre Darstellung Pixel 1 b.) Binäre Darstellung Pixel 2 c.) Binäre Darstellung Ergebnispixel</p> </p>	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	 <p>OR stellt die Vereinigungsmenge von zwei Bildern dar</p>
1	1	0	1	0	0	1	0																				
1	0	0	1	1	1	1	0																				
1	1	0	1	1	1	1	0																				
<p>XOR</p>	<p>Schreibe eine 1, wenn die Werte in Pixel 1 und in Pixel 2 sich unterscheiden, ansonsten schreibe 0</p>	<p>a.) <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"><tr><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>0</td></tr></table> <div style="text-align: center;">XOR</div> <p>b.) <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"><tr><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td></tr></table> c.) <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"><tr><td>0</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td></tr></table></p> <p>a.) Binäre Darstellung Pixel 1 b.) Binäre Darstellung Pixel 2 c.) Binäre Darstellung Ergebnispixel</p> </p>	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	 <p>XOR stellt die Vereinigungsmenge ohne die Schnittmenge von zwei Bildern dar.</p>
1	1	0	1	0	0	1	0																				
1	0	0	1	1	1	1	0																				
0	1	0	0	1	1	0	0																				

Glossar

Aberration, Chromatische	<i>Optischer Abbildungsfehler bedingt durch die unterschiedliche Brechung von Lichtstrahlen unterschiedlicher Wellenlänge an einer Linse. Dadurch haben Lichtstrahlen mit kürzerer Wellenlänge eine längere Brennweite als Lichtstrahlen mit einer längeren Wellenlänge.</i>
Aberration, Sphärische	<i>Optischer Abbildungsfehler bedingt durch den unterschiedlichen Abstand achsenparalleler Lichtstrahlen gleicher Wellenlänge von der optischen Achse. Lichtstrahlen, die durch äußere Linsenzonen gehen, haben eine kürzere Brennweite als Strahlen, die durch die Linsenmitte (optische Achse) gehen.</i>
Achromate	<i>Korrektionsklasse eines Objektivs. Bei Objektiven dieses Typs ist die chromatische Aberration für zwei Wellenlängen korrigiert. Üblicherweise wird ein solches Objektiv auf eine Wellenlänge unterhalb von 500nm und oberhalb von 600nm korrigiert. Außerdem ist die Sinusbedingung für eine Wellenlänge erfüllt. Die Bildfeldwölbung ist nicht korrigiert.</i>
Airy Scheibe	<i>Als Airy Scheibe bezeichnet man den inneren, hellen Kreis (umgeben von abwechselnd dunklen und hellen Beugungsringen) des Beugungsbildes einer punktförmigen Lichtquelle. Die Beugungsscheibchen zweier dicht beieinander liegenden Objektpunkte überlappen sich teilweise oder ganz und begrenzen auf diese Weise das räumliche Auflösungsvermögen.</i>
Aliasing	<i>Abbildungsfehler, der dadurch entsteht, dass die Abtastrate bezogen auf die Frequenz eines Signals zu niedrig ist.</i>
AOTF Acousto-Optical Tunable Filter	<i>Der akusto-optische einstellbare Filter ist ein optisch transparenter Kristall, mit dem Intensität und Wellenlänge von eingestrahlttem Licht stufenlos eingestellt werden kann. In dem Kristall wird ein Ultraschallwellenfeld erzeugt, dessen Wellenlänge beliebig eingestellt werden kann. Senkrecht zum Ultraschallwellenfeld eingestrahlichtes Licht wird wie an einem Gitter gebeugt.</i>
Apertur, Numerische	<i>Apertur ist der Sinus des Öffnungswinkels unter dem Licht in die Frontlinse eines Mikroskopobjektivs eintritt; Formelzeichen NA. Die Apertur beeinflusst neben der Lichtstärke auch das Auflösungsvermögen einer Objektivoptik. Da sich zwischen Präparat und dem Objektiv verschiedene Medien befinden können (z.B. das Einbettmedium des Präparates), wird üblicherweise die numerische Apertur ($NA = n \cdot \sin \alpha$) als Maßeinheit für die Lichtstärke und das Auflösungsvermögen verwendet.</i>
Apochromate	<i>Korrektionsklasse eines Objektivs. Bei Objektiven dieses Typs ist die chromatische Aberration für drei Wellenlängen korrigiert (meist 450nm, 550nm und 650nm) und die Sinusbedingung für mindestens zwei Farben erfüllt. Die Bildfeldwölbung ist nicht korrigiert.</i>
Arbeitsabstand	<i>Abstand der Frontlinse eines Objektivs zum Fokus. Beim freien Arbeitsabstand wird die Entfernung zwischen der Frontlinse des Objektivs und dem Deckglas bzw. zur unbedeckten Probe angegeben. Meist besitzen die Objektive mit großem Arbeitsabstand eine niedrige numerische Apertur, hochaperturige Objektive hingegen einen geringen Arbeitsabstand. Will man ein hochaperturiges Objektiv mit großem Arbeitsabstand, muss der Durchmesser der Objektivlinsen entsprechend groß gemacht werden. Meist handelt es sich dabei allerdings um niedrigkorrigierte Optiken, da die Einhaltung der extremen Fertigungsgenauigkeiten über einen großen Linsendurchmesser nur mit großer Mühe zu erreichen ist.</i>
Bildfeldwölbung	<i>Die gewölbte Fläche, auf der ein mikroskopisches Bild scharf abgebildet wird nennt man Bildfeldwölbung. Sie ist durch die konvexe Linsenform bedingt und macht sich aufgrund der geringen Brennweiten</i>

	<i>bei Mikroskopobjektiven als ein Fehler bemerkbar. Das Objekt wird dabei im Zentrum und in der Peripherie nicht gleichzeitig scharf abgebildet. Objektive, die eine Korrektion bezüglich der Bildfeldwölbung haben, heißen Planobjektive (plan = ebenes Bildfeld).</i>
Bleichen, Optisches	<i>Zerstörung von Fluoreszenzfarbstoffen, sogenannten Fluorochromen, durch intensive Beleuchtung. In der Fluoreszenzmikroskopie werden Fluorochrome mit Laserlicht in einen höheren Energiezustand, den Singulettzustand, angeregt. Fallen die angeregten Moleküle wieder in ihren Grundzustand zurück, wird ein Fluoreszenzsignal emittiert. Bei der Anregung mit zu hoher Intensität können Farbstoffmoleküle aber auch über ein Intercrossing aus einem Singulettzustand in einen Triplettzustand wechseln. Aufgrund der wesentlich längeren Lebensdauer von Triplettzuständen (Phosphoreszenz) können diese angeregten Moleküle chemisch mit Triplett-Sauerstoff reagieren und sind für eine weitere Fluoreszenzanregung verloren.</i>
Brechungsindex	<i>Faktor, um den die Lichtgeschwindigkeit in einem optischen Medium kleiner ist als im Vakuum.</i>
Dichroite	<i>Dichroitische Filter sind Interferenzfilter bei einem Einfallswinkel des Lichtes von 45°. Die Transmissivität bzw. Reflektivität von Dichroiten ist abhängig von einer bestimmten Wellenlänge des Lichtes. Bei einem Kurzpassfilter RSP 510 (reflection short pass) zum Beispiel, wird Anregungslicht unterhalb von 510 nm reflektiert und oberhalb dieses Wertes transmittiert. Die Transmissionswerte liegen üblicherweise zwischen 80% und 90%, die Reflexionswerte zwischen 90% und 95%.</i>
Doppeldichroite	<i>Doppeldichroitische Filter sind Interferenzfilter bei einem Einfallswinkel des Lichtes von 45°. Die Transmissivität bzw. Reflektivität von Doppeldichroiten ist abhängig von zwei bestimmten Wellenlängen des Lichtes. Bei einem Doppeldichroit DD 488/568 zum Beispiel, wird das Anregungslicht bei 488 nm und 568 nm reflektiert, oberhalb dieser Werte transmittiert. Die Transmissionswerte liegen üblicherweise bei 80%, die Reflexionswerte zwischen 90% und 95%.</i>
Filter, digitaler, phasentreuer	<i>Ein digitaler Filter besteht aus einer Rechenvorschrift, nach der Bilddaten verändert werden können. Bei Filtern wird stets versucht, störende Bildbestandteile zu entfernen. Ein phasentreuer Filter gewährleistet, dass quantifizierbare Bildgrößen durch die Filterung unverändert bleiben und ist damit eine Voraussetzung für standardisierte Messmethoden (z.B. Charakterisierung von Oberflächen nach ISO).</i>
Fluoreszenzmikroskopie	<i>Lichtoptisches Kontrastverfahren zur Darstellung fluoreszierender Strukturen. Autofluoreszente Proben verfügen über eine sogenannte primäre Fluoreszenz. Sie brauchen nicht mit zusätzlichen fluoreszierenden Substanzen angereichert werden. Sekundär fluoreszierende Substanzen müssen dagegen zuerst mit geeigneten Farbstoffen, sogenannten Fluorochromen, versetzt werden. Spezifische Färbungen erlauben dabei die genaue Lokalisierung der angefärbten Strukturelemente eines Objektes. Die Fluoreszenzmikroskopie verfügt sowohl über das Potential morphologischer Untersuchungen als auch der Möglichkeit, dynamische Untersuchungen auf molekularer Ebene durchzuführen.</i>
Fluoritobjektive	<i>Korrektionsklasse eines Objektivs. Fluoritobjektive sind Semi-Apochromate, also Objektive, die in ihrem Korrektionsgrad zwischen Achromaten und Apochromaten liegen.</i>
Frame	<i>Ein Frame entspricht einer Aufnahme eines einzelnen optischen Schnittes. Wird ein einziger optischer Schnitt beispielsweise 4 x aufgenommen (um die Daten zu mitteln und Rauschen zu eliminieren), so werden für diesen optischen Schnitt 4 Frames erzeugt.</i>
Immersionsobjektiv	<i>Mikroskopisches Objektiv, das unter der Voraussetzung der Verwendung von Immersionsmedien entwickelt wurde. Wird bei einem Immersionsobjektiv kein oder ein falsches Immersionsmedium</i>

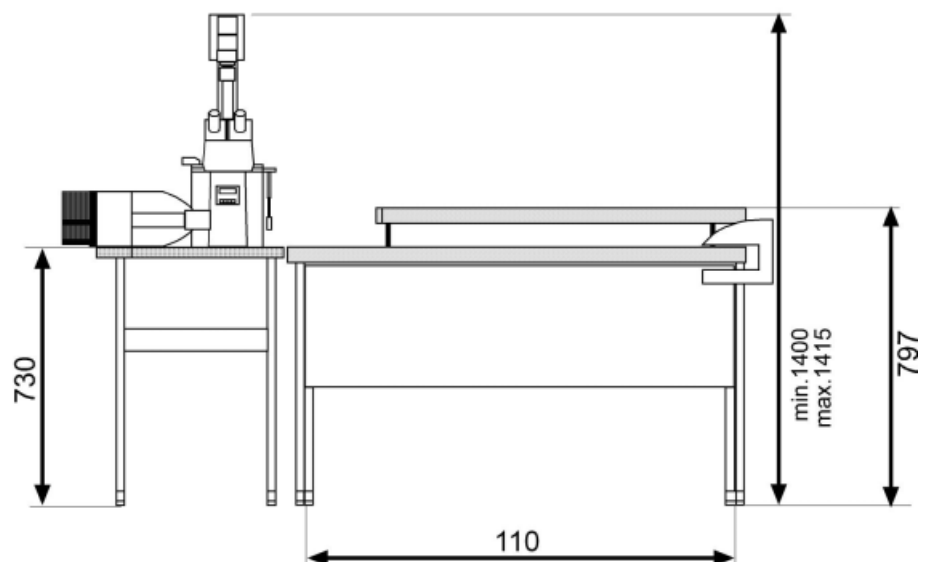
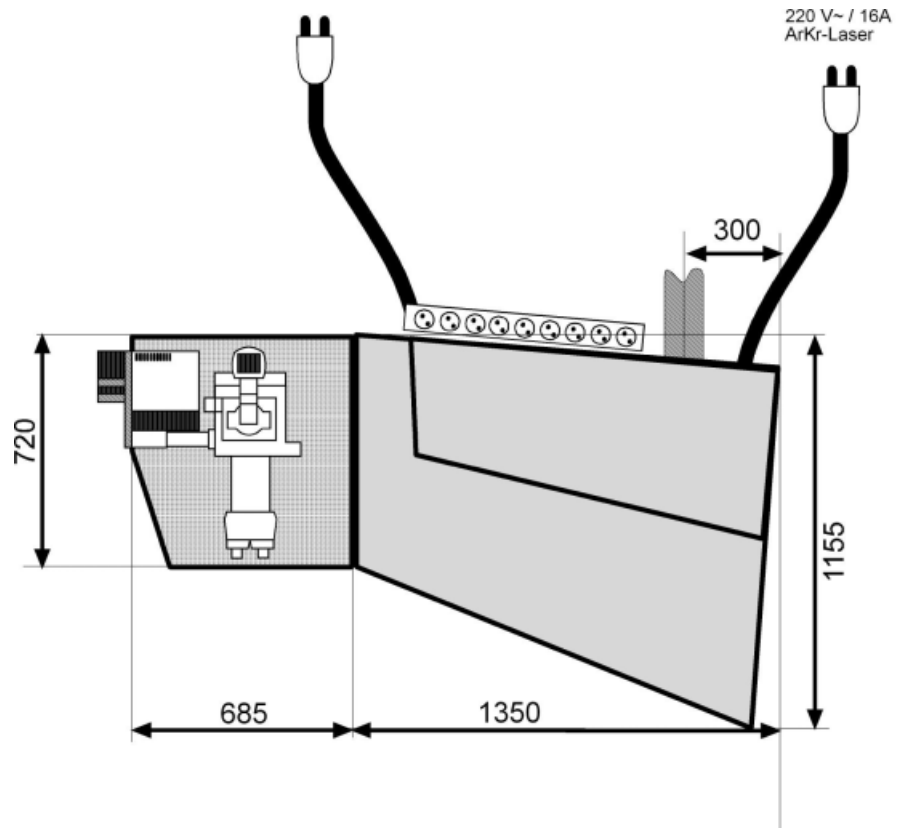
	<i>verwendet, kann es zu Auflösungsverlusten und Verschlechterungen der Korrektur kommen.</i>
Konfokalität	<i>Während beim optischen Konzept eines konventionellen Mikroskops scharfe und unscharfe Bildbestandteile gleichermaßen detektiert werden, werden beim konfokalen Prinzip Strukturen außerhalb der Brennebene des Mikroskopobjektivs unterdrückt. Dazu dienen Blenden, die in optisch konjugierten Orten des Strahlengangs eingebracht sind. Sie funktionieren als Punktlichtquelle (Anregungsblende) und als Punktdetektor (Detektionsblende). Der Durchmesser der Detektionsblende bestimmt neben der Wellenlänge sowie der numerischen Apertur des verwendeten Objektivs die axiale Ausdehnung eines optischen Schnittes (optische Auflösung).</i>
Kurzpassfilter	<i>Kurzpassfilter sind Interferenzfilter, die kurzwelliges Licht transmittieren, langwelliges hingegen reflektieren. Charakterisiert wird ein optischer Kurzpassfilter durch Angabe der Wellenlängenkante, an der der Filter von Transmission in Reflexion übergeht (50% Schwelle).</i>
Langpassfilter	<i>Langpassfilter sind Interferenzfilter, die kurzwelliges Licht reflektieren, für langwelliges hingegen transparent sind. Charakterisiert wird ein optischer Langpassfilter durch Angabe der Wellenlängenkante, an der der Filter von Reflexion in Transmission übergeht (50% Schwelle).</i>
Leervergrößerung	<i>Vergrößerung ohne weiteren Informationsgewinn. Man spricht von Leervergrößerung, sobald Abstände dargestellt werden, die kleiner als das optische Auflösungsvermögen sind. Vergrößerungen mit einem grösseren Masstab als dem der Leervergrößerung fördert keine weitere Information über das Objekt zutage, sondern verschlechtert lediglich die Bildschärfe und den Kontrast.</i>
Neutralfilter	<i>Neutralfilter sind teilweise spiegelbeschichtete Glasplättchen. Sie dienen zur Aufteilung des Lichtweges unabhängig von der Wellenlänge. Das einfallende Licht wird teilweise reflektiert und teilweise transmittiert. Neutralfilter werden normalerweise in einem Winkel unter 45° in den Strahlengang gesetzt. Die Kenndaten eines Neutralfilters beziehen sich auf das Verhältnis von Reflektivität zu Transmissivität. Bei einem Neutralfilter RT 30/70 zum Beispiel, werden 30% des Anregungslichtes reflektiert und 70% transmittiert.</i>
Phasenvisualisierung	<i>Das Prinzip der Phasenvisualisierung, wie sie von Leica verwendet wird, ist eine optimierte Alternativmethode zu ratiometrischen Darstellungen. Das Hauptanwendungsgebiet liegt in der Messung von Ionenkonzentrationen in der Physiologie. Die Phasenvisualisierung erhält im Gegensatz zu ratiometrischen Verfahren mehr Informationen über die Probe. Desweiteren ermöglicht dieses Verfahren die Anpassung der Darstellung physiologischer Daten an die Dynamik des menschlichen Auges. Detailinformationen über das Prinzip der Phasenvisualisierung können direkt bei Leica Microsystems Heidelberg GmbH nachgefragt werden.</i>
Pixel	<i>Kunstwort aus den englischen Wörtern <i>picture</i> und <i>element</i>. Ein Pixel ist das kleinste, nicht mehr unterteilbare Bildelement in einem zweidimensionalen System. In dieser Dokumentation wird sowohl ein Abtastpunkt im Präparat als auch ein Bildpunkt als Pixel bezeichnet.</i>
Planobjektive	<i>Korrektionsklasse eines Objektivs. Bei Objektiven dieses Typs ist die Bildfeldwölbung korrigiert. Die Beseitigung dieses Fehlers erfordert Linsen mit stärkeren Hohlflächen und größerer Mittendicke. Je nach Art der zusätzlich korrigierten chromatischen Aberration unterscheidet man Planachromate, Planapochromate und Planfluorobjektive</i>
ROI	<i>Diese Abkürzung steht für "Region of Interest". Ein ROI umschließt einen Bereich, für den eine Messauswertung erfolgen soll. Darüberhinaus kann ein ROI auch das Gebiet einer Probe kennzeichnen, das gescannt werden soll (ROI-Scan).</i>
Signal/ Rausch Verhältnis	<i>Verhältnis der Signale, die im Präparat detektiert werden, zu den unerwünschten Signalen, die zufällig durch verschiedene optische und</i>

	<i>elektronische Komponenten verursacht werden und ebenfalls vom Detektor erfasst werden.</i>
Stokes Verschiebung	<i>Die Stokes Verschiebung ist ein zentraler Begriff in der Fluoreszenzmikroskopie. Werden fluoreszierende Moleküle mit Licht einer bestimmten Wellenlänge angeregt, strahlen sie Licht einer anderen, größeren Wellenlänge ab. Diese Differenz zwischen Anregungslicht und Fluoreszenzlicht wird als Stokes Verschiebung bezeichnet. Ohne die Stokes Verschiebung wäre in einem Fluoreszenzmikroskop die Abtrennung des intensitätsstarken Anregungslichts von den intensitätsschwachen Fluoreszenzsignalen nicht möglich.</i>
Tripeldichroite	<i>Tripeldichroitische Filter sind Interferenzfilter bei einem Einfallswinkel des Lichtes von 45°. Die Transmissivität bzw. Reflektivität von Tripeldichroiten ist abhängig von drei bestimmten Wellenlängen des Lichtes. Bei einem Tripeldichroiten TD 488/568/647 zum Beispiel, wird das Anregungslicht bei 488 nm, 568 nm und 633nm reflektiert, oberhalb dieser Werte transmittiert. Die Transmissionswerte liegen üblicherweise bei 80%, die Reflexionswerte zwischen 90% und 95%</i>
Trockenobjektiv	<i>Mikroskopisches Objektiv, das ohne Immersionsmedien verwendet wird. Zwischen der Objektivlinse und dem Präparat befindet sich Luft.</i>
Voxel	<i>Kunstwort aus den englischen Wörtern <u>v</u>olume und <u>pix</u>el. Ein Voxel ist das kleinste, nicht mehr unterteilbare Volumenelement in einem dreidimensionalen System. In dieser Dokumentation wird sowohl ein Volumenelement im Präparat als auch ein 3D Bildpunkt als Voxel bezeichnet.</i>

Spezifikationen

Maße und Dimensionen Leica TCS SP2

Inverses Stativ:



Maße und Dimensionen des Konfokalsystems Leica TCS SP2 (alle Maße in mm)

Index

- *.ano, 237, 238
- *.lei, 237, 238, 240
- *.tif, 237, 238
- 12-Bit, 147, 190, 195
- 2-Point, 157
- 3D, 155
- 3D Ansicht drehen, 183
- 3D Ansicht erzeugen, 161, 183
- 3D Ansicht verschieben, 184
- 3D Ansicht zoomen, 185
- 3D Visualisierung, 186
- 8-Bit, 147, 190, 195
- Aberration, 248
- Absorptionskoeffizient, 172, 181, 186
- Abspeichern, 238
- Accumulation, 147
- Achromate, 122, 248
- Acousto-Optical Beam Splitter, 120
- Acousto-Optical Tunable Filter, 248
- Addition, 190
- Airy Scheibe, 126, 248
- Akkumulationsverfahren, 147
- Akkumulieren, 147
- Akusto-optischer Strahlteiler, 120
- Aliasing, 127, 248
- Amplitude, 196
- AND, 190, 247
- Anfangspunkt, 132
- Anfangspunkt einer räumlichen Serie, 132, 133
- Anfangspunkt einer Wellenlängenserie, 133
- Animation, 186
- Annotation, 233, 234
- Anregungsstrahlteiler auswählen, 118
- Anregungswellenlänge, 120, 148, 149
- Anregungswellenlänge auswählen, 118
- Ansichtsfenster Experiment Overview, 240
- Ansichtsfenster Viewer, 152, 165
- Ansichtsfenster Viewer als Vorlage abspeichern, 240
- Anzahl der räumlichen Schnitte, 132, 135
- Anzahl der Wellenlängenschritte, 136
- Anzeige Massbalken, 156
- Anzeige z-Position, 156
- AOBS, 120
- AOTF, 118, 248
- Apertur, 248
- Apochromate, 122, 248
- Apply, 145
- Arbeitsabstand, 122, 248
- Arbeitsschritt Process, 186, 190, 195, 196, 200, 203, 205, 211, 215, 217
- Arithmetic, 190
- Arithmetik, 190
- Arithmetik mit Konstante, 190
- Arithmetischer Mittelwert, 221, 242, 243
- Arithmetisches Mittel, 222, 223
- ASCII-Daten, 227
- Auflösung, 127, 195
- Auflösungsvermögen, 122
- Aufnahme einer Linie im Mittelungsverfahren, 145
- Aufnahmeparameter eines Experiments

- übernehmen, 145
- Auswertungsbereich, 222, 243
- Auswertungsbereich als Ellipse, 227
- Auswertungsbereich als Polygon, 228
- Auswertungsbereich als Rechteck, 229
- Auswertungsbereich automatisch definieren, 229
- Auswertungsbereich drehen, 231
- Auswertungsbereich löschen, 232
- Auswertungsbereich markieren, 230
- Auswertungsbereich verschieben, 230, 231
- Auswertungsbereiche, 148, 149
- Average, 146
- Bedienkonsole, 239
- Begin, 132, 133
- Beliebiges Bild einer Serie anzeigen, 170
- Benutzung dieses Manuals, 5
- Berechnungen, 190, 221
- Bereichswachstum, 217
- Beugungsbild, 126
- bidirektional, 142, 143
- Bidirektionaler Scan, 142
- Bild auswählen, 170
- Bild einer Serie anzeigen, 170
- Bild in die Präsentationsseite kopieren, 233
- Bildauflösung, 147, 195
- Bildaufnahme, 147
- Bildaufnahme im Mittelungsverfahren, 146
- Bildausschnitt, 126, 196
- Bilder addieren, 190
- Bilder dividieren, 190
- Bilder multiplizieren, 190
- Bilder subtrahieren, 190
- Bilder trennen, 196
- Bilder vereinigen, 196
- Bildfeldwölbung, 248
- Bildhelligkeit, 123, 200
- Bildinformation, 217
- Bildkontrast, 123, 200
- Bildraster, 127
- Bildserie, 132, 133, 135, 137, 169, 170, 171
- Bildstapel, 135, 137, 172, 181, 203
- Bildverarbeitung, 186, 190, 195, 196, 200, 203, 205, 215
- Binärbilder, 205, 217
- Binäre Bilder, 205, 217
- Binarisierung, 217
- Bitauflösung, 195
- Bittiefe, 195
- Bleichen, 248
- Bleichung, 131
- Blur, 205
- Boolean, 190
- Boolesche Operatoren, 190, 205, 247
- Boolesche Verknüpfungen, 190, 205, 247
- Bottom Hat, 205
- Brechungsindex, 248
- Browse, 154
- Burst mode, 146
- Center of mass, 181
- Center of mass of intensities, 181
- Channel, 164, 215
- Clear, 232
- Close, 205
- Color Look-Up Table, 152
- Continuous Scan, 131

- Conversion, 195
- Cross-Channel, 217
- Crosstalk, 215
- Datei öffnen, 237
- Datei speichern, 237
- Datei speichern unter, 237
- Dateiformat, 237
- Dateiformate LCS, 49
- Datenformat, 237
- Detektion, 164
- Detektionskanal, 164, 215
- Detektionslochblende, 126
- Detektionsspinhole, 126
- Detektoren, 118
- Dialogfenster Beam Path Setting, 118, 133, 135
- Dialogfenster Edit Legend, 152
- Dialogfenster Objective, 122
- Dialogfenster Options, 240
- Dialogfenster Printer Selection, 236
- Dialogfenster Select LUT, 165
- Dialogfenster Series Scan Overview, 132
- Dialogfenster Time Configuration, 130
- Dialogfenster Viewer Options, 155, 156, 157, 159, 160, 161, 163
- Dialogfenster Viewer Options,Bildsymbol 3D, 155
- Dialogfenster Viewer Options,Bildsymbol Charts, 157
- Dialogfenster Viewer Options,Bildsymbol Display, 156
- Dialogfenster Viewer Options,Bildsymbol Overlay, 160
- Dialogfenster Viewer Options,Bildsymbol Projections, 159
- Dialogfenster Viewer Options,Bildsymbol Scan Progress, 161
- Dialogfenster Viewer Options,Bildsymbol Surface Calculation, 163
- Dialogfenster Viewer Options,Bildsymbol Surface View, 161
- Dialogfenster Z Configuration, 135
- Dichroite, 248
- Dichroitische Filter, 118
- Dicke optischer Schnitte, 126
- Die Leica Confocal Software, 43
- Digitalisierung, 147, 195
- Dilatation, 205
- Dilation, 205
- Display, 155
- Display Zoom, 156
- Division, 190
- Doppeldichroite, 248
- Doppeldichroitische Filter, 118
- Drahtgitterbild, 183
- Drehen, 183
- Drehwinkel, 144
- Dreidimensionale Darstellung, 183
- Dreidimensionaler Bilddatensatz, 137, 186, 203
- Drucken, 226, 236
- Dynamischer Mittelwert, 146
- Edit Legend Entries, 152
- Einrichten von Benutzern, 30
- Einstellung der Scanparameter, 131
- Einzelbild, 167
- Elektronischer Zoom, 124
- Ellipse, 227
- End, 132

- Endpunkt, 132
- Endpunkt einer räumlichen Serie, 132, 134
- Endpunkt einer Wellenlängenserie, 135
- Enhancement, 200
- Erosion, 205
- Erstes Bild einer Serie, 169
- Experiment, 145, 240
- Experiment anlegen, 237, 240
- Experiment Browser, 154
- Export, 227
- Extended Focus, 203
- Extraktion, 205, 217
- Farbmischung, 168
- Farbzuordnungstabellen, 152, 164, 165
- Farbzuordnungstabellen (LUT) auswählen, 165
- Film, 169
- Film starten und beenden, 170
- Filmsequenz, 169, 170
- Filter, 205
- First, 169
- Fläche messen, 225
- Flächenbild, 183
- Flächeninhalt, 243
- Flächenschwerpunkt, 181
- Fluoreszenzmikroskopie, 248
- Fluoritobjektive, 122, 248
- Fokusebene, 126
- Format, 127
- Full screen, 152
- Gain-Wert, 123
- Gallery, 171
- Gammakorrektur, 200
- Gammakurve, 200
- Glätten, 205
- Glossar, 248
- Graphischer Zoom, 156, 165
- Grauwertbilder, 190, 205, 217
- Grundeinstellungen, 155
- Hardwareeinstellungen, 145, 152
- Helligkeitswerte, 200
- Help, 117
- Highpass, 205, 211
- Hilfe, 117
- Hilfe aus dem Internet, 8
- Hintergrund, 148, 205, 217
- Histogramm, 221
- Hochpassfilter, 205, 211
- Höhe, 242, 243
- Image Filters, 205
- Immersionsobjektiv, 122, 248
- Inbetriebnahme, 31
- Intensitätsmaximum, 181
- Invariable Projektionsachse, 172, 175, 177, 179, 203
- Isolines, 183
- Isolinienbild, 183
- Köhlerbeleuchtung, 39
- Konfiguration, 149
- Konfokale Bildgebung, 6
- Konfokalität, 248
- Kontextsensitive Hilfe öffnen, 117
- Kontrastübertragungsfunktion, 200
- Konvertierung, 195
- Koordinatenachsen, 155
- Kopieren, 233

- Korrektur von Trendverläufen, 211
- Kurzpassfilter, 248
- Lambda Scan, 133
- Lambda Step, 136
- Länge der Meßstrecke, 223
- Langpassfilter, 248
- Leervergrößerung, 248
- Legal notes, 9
- Legende, 152
- Legende Experiment, 152
- Legende Hardware, 152
- Letztes Bild einer Serie, 170
- Letztes Bild einer Serie anzeigen, 170
- Leveling, 163, 211
- Line, 234
- Line averaging, 145
- Lineare Filter, 205, 211
- Linie, 234
- Linie in die Präsentationsseite zeichnen, 234
- Linie zeichnen, 234
- Lochblende, 126
- Look-Up Table, 152, 165
- LUT, 152, 165
- Materials, 211
- Matrix, 215
- Maximalwert, 221, 222, 223
- Maximum Intensity, 181
- Maximumprojektion, 159, 172, 175, 176, 181, 186, 203
- Median, 205
- Medianfilter, 205
- Mehrdimensionaler Bilddatensatz, 137, 186
- Mehrfachbild, 167
- Merging, 196, 246
- Messen, 223
- Messen eines Profils entlang einer Strecke, 223, 242
- Messpunkte speichern, 242
- Messschieber, 157
- Miniaturansicht eines Bildes, 154
- Minimalwert, 221, 222, 223
- Mittelung, 146
- Mittelungsverfahren, 146
- Mittelwert, 146
- Mittelwertprojektion, 159, 172, 177, 178, 186, 203
- Mittlere Abweichung, 221, 223
- Mittlere Bildenergie, 221
- Mittlere Helligkeitswerte, 200
- Mode, 128
- Morphologie, 205
- Morphologische Filter, 205
- Morphologische Operatoren, 205
- Multicolor, 215
- Multiplikation, 190
- Nächstes Bild einer Serie, 169
- Navigation, 155
- Neues Experiment, 240
- Neutralfilter, 118, 248
- New Experiment, 240
- New Window, 152
- Next, 169
- Nivellierung, 211
- Numerische Apertur, 122
- Nyquist Theorem, 127
- Oberflächenstruktur, 181

- Objective, 122
- Objektiv, 122
- Objektiv auswählen, 122
- Objektivrevolver, 122
- Objekttisch, 149
- Öffnen, 205
- Offset Wert, 123
- Open, 205, 237
- Optimale Zoomfaktoren, 124
- Option New Window, 240
- OR, 190, 247
- Originalbild, 182
- Originalbild anzeigen, 182
- Orthogonale Projektionen, 175, 177, 179, 203
- Overlay, 160, 168
- Oversampling, 127
- Parametereinstellungen laden und speichern, 118
- Pfeilsymbol Process, 186, 190, 195, 196, 200, 205, 211, 215, 217
- Pflege des ICM 1000, 41
- Phase, 143
- Phase einstellen, 143
- Phasenverschiebung, 143
- Phasenvisualisierung, 248
- Photomultiplier einstellen, 123
- Ping-Pong Modus, 156
- Pinhole, 126
- Pixel, 248
- Pixelwerte, 190, 196
- Planobjektive, 122, 248
- Polygon, 228
- Position Maximalwert, 222
- Position Minimalwert, 222
- Präsentation, 233, 234, 235
- Präsentationsseite, 226, 233, 234, 235
- Previous, 169
- Print, 226
- Process, 186, 190, 195, 196, 200, 203, 205, 211, 217
- Profil, 223
- Profile, 223
- Profilspitze, 242, 243
- Profiltal, 242, 243
- Projektion, 172, 181, 186, 203
- Projektion eines Bildstapels, 172, 181, 186, 203
- Quadratischer Mittelwert, 221, 242, 243
- Quantifizierungsdaten drucken, 226
- Quantifizierung, 157, 223, 226, 227, 242, 243
- Quantifizierungsdaten exportieren, 227
- Quantifizierungsgraphen kopieren, 226
- Raster, 156
- Rauhigkeit, 211
- Rauhigkeitsmessung, 242, 243
- Räumliche Bildserie, 135, 137, 203
- Räumliche Darstellung, 183
- Rauschunterdrückung, 146
- Raw Data, 237, 238
- Rechteck, 234
- Rechteck in die Präsentationsseite zeichnen, 234
- Rechteck zeichnen, 234
- Rectangle, 229, 234
- Reflexionsaufnahmen, 120
- Region of Interest, 227, 228, 229, 248

- ROI, 126, 148, 149, 222, 227, 228, 229, 230, 231, 232
- ROI Scan, 148, 149
- Rotate, 231
- Rotation, 144, 155, 183, 186
- Rotationsanimation, 186
- Roughness, 211
- Rückgängig, 182
- Saatpixel, 217
- Sampling Theorem, 127
- Save, 237
- Save All, 238
- Save As, 237
- Scan Field Rotation, 144
- Scanfeld, 144
- Scanfeld drehen, 144
- Scanformat, 127
- Scanformat auswählen, 127
- Scangeschwindigkeit, 129
- Scangeschwindigkeit auswählen, 129
- Scanmodus, 128, 161
- Scanmodus auswählen, 128
- Scharfstellen, 126, 205
- Schiefe der Verteilung, 221
- Schließen, 205
- Schnitte, 135
- Schrittweite, 135
- Schwellenwert, 217
- Schwellenwertbild, 217
- Sections, 135
- Seeding, 217
- Segmentation, 217
- Segmentierung, 217
- Select, 230
- Selection, 152, 170
- Separation, 196
- Serie, 132, 133, 135, 137, 169, 170, 171, 181
- Serienbild, 171
- Serienbild anzeigen, 171
- Serien-Scan starten, 137
- Series Scan, 137
- SFP-Projektionsbild, 159, 172, 181, 186
- Sharpen, 205
- Sicherheitshinweise, 11
- Signal/ Rausch Verhältnis, 248
- Simulierter Fluoreszenz Prozess (SFP), 181, 186
- Simultane oder Sequentielle Bildaufnahme, 118
- Single Channel, 217
- Single Scan, 131
- Skalierung der Messkurve, 157
- Slot, 122
- Snap, 233
- Softwarereferenz: Alle Softwarefunktionen, 46
- Speed, 129
- speichern, 237, 238
- Spektral-Scan, 133, 136
- Spektralserie, 133, 136
- Standardabweichung, 221, 222, 223
- Stapelverarbeitung von Daten, 146
- Starten des Betriebssystems, 25
- Statistische Berechnungen, 221
- Step Size, 135
- Stereo, 186
- Stereobild, 186

- Stokes Verschiebung, 248
- Strahlteiler, 120
- Struktur, 205, 217
- Subtraktion, 190
- Summe von Intensitäten, 147
- Surface, 183
- Taste 3D View, 183
- Taste Annotation, 233
- Taste Apply, 145
- Taste Back, 186, 190, 195, 196, 200, 203, 205, 211, 215, 217
- Taste Begin, 133
- Taste First, 169
- Taste Format, 127
- Taste Forward, 186, 190, 195, 196, 200, 203, 205, 211, 215, 217
- Taste Gallery, 171
- Taste Help, 117
- Taste Lambda Scan, 133
- Taste Lambda Steps, 136
- Taste Last, 170
- Taste Line, 234
- Taste Look-up Table, 165
- Taste Materials, 225
- Taste Mode, 128
- Taste Move, 184
- Taste New Experiment, 240
- Taste Next, 169
- Taste Objective, 122
- Taste Open, 237
- Taste Overlay, 168
- Taste Phase, 143
- Taste Pinhole, 126
- Taste Play/Stop, 170
- Taste Previous, 169
- Taste Profile, 223
- Taste Profile (z), 222
- Taste Rectangle, 234
- Taste Reset, 186, 190, 195, 196, 200, 203, 205, 211, 215, 217
- Taste Rotate, 183
- Taste Save, 237
- Taste Save All, 238
- Taste Save As, 237
- Taste Scan Field Rotation, 144
- Taste Sections, 135
- Taste Selection, 170
- Taste Series, 132
- Taste Series Scan, 137
- Taste Snap, 233
- Taste Speed, 129
- Taste Template, 240
- Taste Text, 235
- Taste Tiled, 167
- Taste Time, 130
- Taste Topography, 181
- Taste Unidirectional/ Bidirectional Scan, 142
- Taste Up, 186, 190, 195, 196, 200, 203, 205, 211, 215, 217
- Taste Zoom, 185
- Taste Zoom In, 126
- Template, 240
- Text, 235
- Textfeld, 235
- Textfeld anlegen, 235
- Textfeld in die Präsentationsseite einfügen,

- 235
- Threshold, 217
- Thresholding, 217
- Thumbnail Image, 154
- Tiefpassfilter, 205, 211
- Tiled, 167
- Time, 130
- Top Hat, 205
- Topographiebild, 163, 181
- Topographiebild erzeugen, 163, 181
- Topography, 163, 181
- Translation, 155
- Transparentfaktor, 159, 172, 179, 180, 186
- Transparentprojektion, 159, 172, 179, 180, 186, 203
- Tripeldichroite, 248
- Tripeldichroitische Filter, 118
- Trockenobjektiv, 122, 248
- Überlagerungsbild anzeigen, 160, 168
- Übersprechen, 215
- Undersampling, 127
- Unidirektional, 142
- Unidirektionalen oder Bidirektionalen Scan auswählen, 142
- Unidirektionaler Scan, 142
- Unschärf, 126
- Variable Projektionsachse, 172, 176, 178, 180, 186
- Varianz, 221, 222, 223
- Verarbeitung grosser Datenmengen, 146
- Vergrößern, 155, 165, 185
- Vergrößerte Aufnahmen, 126
- Vergrößerung, 124
- Verkleinern, 155, 165, 185
- Verlaufsanzeige, 161
- Versatz, 143
- Verschieben, 155, 184, 196
- Verschieben eines Bildes im Ergebnisbild, 196, 246
- Verschiebung, 143, 196
- Viewer, 152
- Viewer Options, 155
- Volumen messen, 225
- Vorheriges Bild einer Serie, 169
- Vorheriges Bild in einer Serie anzeigen, 169
- Vorlage, 240
- Voxel, 172, 248
- Waviness, 211
- Wellenlänge, 136
- Wellenlängenserie, 133, 135, 136, 137
- Welligkeit, 211
- Weltkoordinaten, 190, 196
- Wireframe, 183
- Wizard, 229
- XOR, 190, 247
- XY-Objekttisch, 149
- xy-Schnitt, 135
- xy-Schnitte, 128, 203
- xz-Schnitt, 135
- xz-Schnitte, 128, 203
- Y-Positionierung, 144
- Y-Selection, 144
- z/y Position, 132, 133, 134
- Zeitserie, 130, 137
- Zeitserie einstellen, 130
- Zoom, 124, 185

Zweipunktmessung, 157, 222, 225, 242