

**True Confocal
Scanner
Leica TCS SP II**

Benutzerhandbuch

Leica

1 Inhaltsverzeichnis

1	Inhaltsverzeichnis	2
2	Rechtliche Hinweise	3
3	Benutzung dieses Manuals	4
3.1	Zu diesem Handbuch	4
3.2	Wie dieses Handbuch verwendet wird	4
3.3	Ausführen von Aufgaben	5
3.4	Online-Hilfe	5
4	Konfokale Bildgebung	6
5	Sicherheitshinweise	9
5.1	Allgemeine Sicherheitsanweisungen	9
5.2	Übernahme des Risikos für den Betrieb der Geräte	9
5.3	Warnhinweise, Vorsichtshinweise und Hinweise	9
5.4	Besondere Bedingungen des Aufstellortes	10
5.5	Laser-Klasse	10
5.6	Technische Sicherheitsmaßnahmen	11
5.7	Anschlußkabel	12
5.8	Allgemeine Sicherheitshinweise	13
5.9	Besondere Sicherheitshinweise für Benutzer	14
5.10	Laser-Sicherheit	14
5.11	Laser-Gefahrenklassen und Laser-Sicherheit	15
5.12	Von Lasern ausgehende Gefahren	16
6	Pflege und Reinigung	17
6.1	Standortwahl	17
6.2	Mikroskop vor Staub und Fett schützen	17
6.3	Aggressive Chemikalien unter großer Vorsicht verwenden	17
6.4	Reinigen des optischen Systems	17
6.5	Reinigen der Mikroskopoberfläche	18
7	Die Leica Confocal Software: Ein Überblick	18
7.1	Starten der Software	18
7.2	Das experimentelle Konzept der Software	19
7.3	Prinzipieller Aufbau der Benutzeroberfläche	20
7.4	Öffnen von Datensätzen	21
7.5	Speichern von Bildern	22
7.6	Datenorganisation durch Gruppieren von Experimenten	22
7.7	Zusammenstellen von Experimenten	22
8	Starten des Betriebssystems Windows NT™	23
8.1	Arbeiten mit der Maus	24
8.2	Die Benutzeroberfläche von Windows NT	24
8.3	Das Startmenü	26
8.4	Starten von Programmen	26
8.5	Die Task-Leiste	28
8.6	Einstellen von Datum und Uhrzeit	28
8.7	Aufrufen der Hilfe	29
8.8	Beenden von Windows NT	30
9	Hilfe über das Internet	30
10	Softwarefunktionen	30
10.1	Softwarefunktionen zur Datenaufnahme	30
10.2	Datendarstellungsfunktionen	61
10.3	Mess- und Analysefunktionen	88
10.4	Funktionen zur Datendokumentation	96
10.5	Funktionen zum Datenhandling	101
10.6	Benutzerspezifische Anpassungen	105
10.7	Verzeichnisse mit benutzerspezifischen Angaben	106
10.8	Definition benutzerspezifischer Sätze von Aufnahmeparametern	106
10.9	Benutzerspezifische Anpassung der Bedienkonsole	108
10.10	Benutzerspezifische Anordnung der Funktionstasten	109
10.11	Benutzerspezifische Einstellung des Ansichtsfensters "Viewer"	110
10.12	Abspeichern eines benutzerspezifischen Profils	110
10.13	Laden eines benutzerspezifischen Profils	110
11	Die LCS Makrosprache	112
11.1	Was sind Makros	112
11.2	Wie können Makros definiert und verwendet werden	113
11.3	Allgemeines zur Programmierung von Makros in der LCS Software	113
11.4	Nutzung vordefinierter Makros	114
11.5	Starten von aufgezeichneten Makros	114
11.6	Automatische Aufzeichnung von Makros	114
11.7	Programmierung von Makros mit der VBA Entwicklungsumgebung (optional)	115
11.8	Das Objektmodell der LCS Software	121
11.9	Makro-Anwendungsbeispiele	122
11.10	Der programmtechnische Zugriff auf die Leica Confocal Software	123



2 Rechtliche Hinweise

Version 1.4, April 2000, Hergestellt in der Bundesrepublik Deutschland.

© Copyright 1999/2000, 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

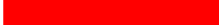
Leica Microsystems Heidelberg GmbH behält sich das Recht vor, dieses Dokument zu überarbeiten und/oder die hierin beschriebenen Produkte jederzeit und ohne vorherige Ankündigung oder sonstige Verpflichtung weiterzuentwickeln und zu verbessern. Die Informationen und technischen Spezifikationen in diesem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

Dieses Gerät wurde konzipiert und hergestellt, um die geltenden Leistungsnormen für Laserprodukte der Klasse 1 zu erfüllen, wie sie durch die Normen und Vorschriften der USHHS (Laserprodukte der Klasse 1 dürfen keinerlei gefährliche Laserstrahlen während des normalen Betriebs durch den Anwender abgeben), 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 IIIb 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.

SOFTWARELIZENS

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.

•

3 Benutzung dieses Manuals


3.1 Zu diesem Handbuch

Dieses Handbuch wurde gleichzeitig als Tutorial wie auch als Referenzhandbuch für das Leica TCS SP II 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.

3.2 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.

3.3 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.

◆ €€€€€ Absätze, die mit einer solchen Raute gekennzeichnet sind, enthalten optional auszuführende Schritte.

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 SP II gearbeitet haben. Sie werden beim zweiten Lesen auf nützliche Funktionen stoßen, die Sie beim ersten Mal übersehen haben.

3.4 Online-Hilfe

Das Leica TCS SP II 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:

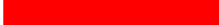
Klicken Sie auf **Help** → **Contents**. Die Online-Hilfe wird aufgerufen und zeigt das Dialogfeld CONTENTS (Inhalt) an. Dieses Dialogfeld enthält das Inhaltsverzeichnis in Form eines Verzeichnisbaumes, der expandiert oder reduziert werden kann. Doppelklicken Sie auf einen Eintrag des Inhaltsverzeichnisses,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

•

4 Konfokale Bildgebung

4.1.1 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 **Konfokalpunkt**. Durch die am Konfokalpunkt 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 Objektisch (Stage-scanning): Der Objektisch 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 SP II-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.

4.1.2 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 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 SP II-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 geringer die Pixelgröße, um so leichter können zwei nah beieinander liegende Objekte unterschieden werden. Die Scan-Auflösung ist auf das maximale optische Auflösungsvermögen beschränkt.

4.1.3 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.

4.1.4 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 (Kurvenverlauf 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.

4.1.5 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. Aus diesem Grund wird für jedes Pixel online eine Referenzkorrektur vorgenommen.

4.1.6 Integration

Das Leica TCS SP II 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.

•

5 Sicherheitshinweise

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

5.1 Allgemeine Sicherheitsanweisungen

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

5.2 Übernahme des Risikos für den Betrieb der Geräte

Der Bediener oder Eigentümer des Produktes übernimmt das volle 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.

5.3 Warnhinweise, Vorsichtshinweise und Hinweise

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

Warnung

Eine Warnung macht Sie auf einen Betriebsvorgang, ein



Vorsicht

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.

Hinweise

Ein solcher Vorsichtshinweis 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 Reihe von Umständen.

5.4 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.


Warnung

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

5.5 Laser-Klasse

Um möglichen Gefahren, die sich aus unsachgemäßem Gebrauch des Produktes ergeben können, Rechenschaft zu tragen, haben wir das Leica TCS SP2 in der Laser-Klasse IIIb eingestuft. Durch den unsachgemäßen Gebrauch des Produktes können jedoch Bedingungen eintreten, unter denen diese Laser-Klasse nicht länger garantiert werden kann. Aus diesem Grund sind wir nicht in der Lage, dieses System generell zum System der Klasse 1 zu erklären.

Dieses Gerät wurde konzipiert und hergestellt, um die Leistungsnormen für Laser-Einrichtungen der Klasse 1 zu erfüllen, wie sie durch die Normen und Vorschriften der USHHS (Laser-Einrichtungen der Klasse 1 dürfen keinerlei gefährliche Laserstrahlen während des normalen Betriebs durch den Anwender abgeben), CDRH/FDA, OSHA und EN definiert



wurden, die zum Zeitpunkt der Herstellung als gültig bekannt waren.

Es können nicht alle möglichen Gefahrensituationen vorausgesehen werden. Daher 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 IIIb 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.

Das vom Leica TCS SP2 emittierte Laserlicht ist, sofern es gemäß den Anweisungen verwendet wird, harmlos.

5.6 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 all den Öffnungen oder beweglichen Teilen angebracht, an denen es möglicherweise zu einem Austritt von Laserlicht kommen kann. Darüber hinaus wurde ein **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 IIIb verwendet werden, ein Laser Safety Officer (Beauftragter für Laser-Sicherheit) oder ein Laser Protection Advisor (Laserschutz-Berater) zu ernennen ist. Es liegt in der Verantwortung dieses Beauftragten für Laser-Sicherheit, geeignete Kontrollen für den Einsatz des Gerätes festzulegen und diese zu überarbeiten.

Warnung

Sehen Sie niemals direkt in den Laserstrahl oder eine Reflexion des Laserstrahls, während der Laser scannt. Setzt man sich längere Zeit einem Laserstrahl aus, kann dies das Sehvermögen beeinträchtigen. Aus Gründen der Laser-Sicherheit gilt, daß ein direkter Laserstrahl, der von einem Spiegel oder einer polierten Oberfläche abgelenkt wird, ebenso intensiv wie der direkte Strahl ist.

Der Benutzer ist jederzeit für den sicheren Betrieb und die sichere Wartung dieses Gerätes verantwortlich. Die Einstufung als Laser-Einrichtung der Klasse 1 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 wird das Personal tödlichen Hochspannungen und einer Laserstrahlung der Klasse IIIb ausgesetzt, die stark genug ist, um schwere Augenverletzungen, Verbrennungen und 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 das Produkt nicht länger als Produkt der Laserklasse 1 einzustufen ist, daß das Personal gefährlicher Laserstrahlung der Klasse IIIb und der Gefahr einer Körperverletzung ausgesetzt wird, und daß die Garantie nichtig wird.

5.7 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.

Warnung

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.

Vorsicht

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 wieder an das Stromnetz anschließen oder es wieder einschalten.




5.8 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 sich 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 quantitative 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 sich hierzu das Kapitel 'Maintenance and Mounting' in der Online-Hilfe der Leica Confocal Software durch.

Führen Sie mit dem Gerät Sicherheitsprüfungen und -tests durch.

Diese Prüfungen wurden vom VDE (FDA in den USA) und anhand der Sicherheitsverordnungen bezüglich Lasergeräte genau definiert und sind vom Benutzer wie beschrieben durchzuführen. Ausschließlich von Leica Microsystems Heidelberg GmbH autorisierten Kundendiensttechnikern ist es erlaubt, Reparaturen auszuführen.

Schließen Sie das Produkt ausschließlich an elektrische Geräte an, die in dieser Begleitdokumentation genannt werden. Schließen Sie es niemals an andere, in dieser Dokumentation nicht genannte Geräte an.

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



5.9 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. Die Scan-Taste muß deutlich erkennbar gelöst sein. Stellen Sie sicher, daß sich kein Laserlicht in der Fokalebene befindet. Schließen Sie die Sicherheitsklappe am Tubus.
- Drehen Sie den Objektivrevolver, so daß die auszutauschende Linse außerhalb der optischen Achse zu liegen kommt 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 die neue Linse ein, und drehen Sie den Objektivrevolver, so daß er wieder innerhalb der optischen Achse zu liegen kommt.

Unbedingt alle unbenutzten Positionen auf dem Objektivrevolver mit einer Abdeckung versehen!

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

Niemals die Probe während eines Scan-Vorgangs austauschen!

So tauschen Sie die Probe korrekt aus:

- Vergewissern Sie sich, daß der Scan-Modus ausgeschaltet ist. Die Scan-Taste muß deutlich erkennbar gelöst sein. Stellen Sie sicher, daß sich kein Laserlicht in der Fokalebene befindet. Schließen Sie die Sicherheitsklappe am Tubus.
- Tauschen Sie nun die Probe aus.

5.10 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 den Strichcodelesern an den Supermarktkassen, in Laser Pointern oder in CD-Spielern.

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



Frequenzbereich von 150 nm bis 1 mm erzeugen. Diese Strahlungen zeigen sich in der Regel in Form eines sehr intensiven sichtbaren Lichts. Da es sich beim Laserlicht nicht um einen ionisierenden Strahlungstyp handelt, verläuft die Interaktion mit dem Körper in der Regel an der Oberfläche. Das Auge und die Haut sind Organe, die sehr kritisch reagieren, wenn sie der Laserstrahlung ausgesetzt werden. Die Auswirkungen der Laserstrahlen auf diese beiden Organe variiert dabei und hängt 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 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 betroffen sind.

Spektralbereich	Wellenlänge	Betroffenes Organ
Ultraviolett	UV-C 100 nm bis 280 nm	Vollständig absorbiert von Kornea und Konjunktiva
	UV-B 280 nm bis 320 nm	Fast vollständig absorbiert von Kornea (Hornhaut) und Konjunktiva (Bindehaut)
	UV-A 320 nm bis 380 nm	Bildung von Katarakt
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

Laser werden häufig nach Typ gekennzeichnet, so z.B. Argon-Krypton, Wellenlänge(n) und Laser-Gefahrenklassen. Die Unterteilung in Laser-Gefahrenklassen richtet sich nach der/den Wellenlänge(n), der maximalen Dauer der Bestrahlung und der durchschnittlichen Leistung des Lasers.

5.11 Laser-Gefahrenklassen und Laser-Sicherheit

Hinweis

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 I**
Ungefährliche Laser.
- Klasse II**



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

Klasse IIIa

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

Klasse IIIb

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

Klasse IV

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 und es kann zu Hautverletzungen kommen.

Laser-Einrichtungen der Klassen I, II und IIIa sind mit dem gelb-schwarzen Etikett "Caution" (Vorsicht) zu versehen, während Laser-Einrichtungen der Klassen IIIb und IV mit dem Etikett "Danger" (Gefahr) in den Farben Rot, Schwarz und Weiß zu kennzeichnen sind.

Gekapselte Systeme:

Laser-Einrichtungen oder Lasersysteme der Klassen II, III oder IV, 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.

5.12 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.

Warnung

VERLETZUNGEN DER RETINA SIND DAUERHAFT

2. Hautverletzungen, z.B. Verbrennungen.
3. Elektrische Gefahren, die von Hochspannungsgeräten ausgehen.
4. Brandgefahr.



6 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 SP II betreffen, sind im folgenden zusammengefaßt.

6.1 Standortwahl

Setzen Sie das System niemals Zugluft aus. Stellen Sie daher das TCS SP II niemals in der Nähe von Aufzügen, Klimaanlage oder anderen Ein- und Auslässen auf.

6.2 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.

6.3 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.

6.4 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.

Vorsicht

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 jedesmal ein neues, sauberes Linsentuch.

6.5 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.

Vorsicht

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.

7 Die Leica Confocal Software: Ein Überblick

7.1 Starten der Software

7.1.1 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. Desweiteren 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.

Hinweis

Sobald Sie den Schutzstecker vom Steuerrechner des Konfokalsystems abgezogen haben, kann die Software nicht mehr gestartet werden, da bedeutet, dass das Konfokalsystem

ist 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 ratsam.

7.1.2 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 Profiloptionen). 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.

Hinweis

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

7.2 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"

7.3 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 Menüzeile:

In ihr befinden sich die Kategorien File, View, Macro, Tools, Window sowie Help. 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 (**View**→**Menu**→**TCS-Menu**). Die Menüzeile 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 benutzerspezifische Einstellungen" , Seite 16). 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 "Softwarereferenz" entnehmen.

7.4 Öffnen von Datensätzen

7.4.1 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.

7.4.2 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 werksseitigen Einstellungsprofil im Schaltflächenbereich [Toolbar]).

Hinweis

*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.

7.5 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.

Hinweis

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.

7.6 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.

7.7 Zusammenstellen von Experimenten

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

Hinweis

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.

8 Starten des Betriebssystems Windows NT™

Das Betriebssystem Windows NT™ 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 **Logon** Information.

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

Der Standardbenutzername für das Leica TCS SP II System lautet " ".

Das Standardkennwort lautet " ". Sobald Sie sich 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-/kleinschriftempfindlich, 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.

Hinweis

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

Vorsicht

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 in Windows NT zu beginnen.

8.1 Arbeiten mit der Maus

Um Windows NT 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).

8.2 Die Benutzeroberfläche von Windows NT


Die Basis-Benutzeroberfläche von Windows NT 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 Windows NT-Bildschirm enthält viele besondere Objekte und Steuerelemente. Sie werden im folgenden kurz erläutert:

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 der Windows NT Workstation 4 zugreifen. 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 Windows NT Workstation 4 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. Windows NT Workstation 4 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. Windows NT Workstation 4 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 befindet, kann der Mail-Client von Windows NT

Workstation 4 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. Windows NT Workstation 4 behält Dateien solange in diesem Depot, bis das System über keinen freien Plattenplatz mehr verfügt. In diesem Fall beginnt Windows NT Workstation 4 den Inhalt des Papierkorbs (Recycle Bin) zu löschen, wobei die ältesten Dateien nach dem FIFO-Prinzip (First-in First-out) zuerst gelöscht werden.

Vorsicht

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.

8.3 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.

8.4 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 **Programms** 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 in Windows NT 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.

Vorsicht

Windows NT Workstation 4 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 die Windows NT Workstation 4 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.

Vorsicht

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.

8.5 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.

8.6 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 Windows NT 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 in Windows NT Workstation 4 Änderungen an den Datums- und Uhrzeiteinstellungen vornehmen, wird dadurch die batteriebetriebene CMOS Uhr in Ihrem System aktualisiert.

Hinweis



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

8.7 Aufrufen der Hilfe

Windows NT 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.

8.8 Beenden von Windows NT

Klicken Sie grundsätzlich immer erst auf den Befehl **Shut Down**, bevor Sie Ihren PC ausschalten. Über den Befehl Shut Down wird das Betriebssystem Windows NT Workstation 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.

Vorsicht

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

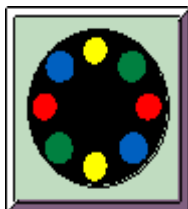
9 Hilfe über das Internet

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.lit.de>. Oder senden Sie uns eine E-Mail an support@lit.de.

10 Softwarefunktionen

10.1 Softwarefunktionen zur Datenaufnahme

10.1.1 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 Farbzuordnungstabellen für die Bildaufnahme einrichten können.



Anregungswellenlänge auswählen

Oberhalb des Spektrums im Dialogfenster befinden sich die Felder, in denen Sie die Anregungswellenlänge über einen [AOTE](#) 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 setting	Die Markierung als Standardeinstellung wird rückgängig gemacht.
Load	Die Parametereinstellung wird geladen.
Rename (nur bei U)	Die Parametereinstellung kann umbenannt werden.
Delete (nur bei U)	Die Parametereinstellung wird gelöscht.

Anregungsstrahlteiler auswählen

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 Reflektionsanwendungen eingesetzt, um das Anregungslicht auf die Probe und das reflektierte Licht zum Detektionsspinhole zu leiten.
- ▶ [Dichroitische Filter](#), wie z.B. der Reflektionskurzpassfilter 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.
- ▶ [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.

Detektoren und Farbzuordnungstabellen (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 Farbzuordnungstabellen klicken. Ein Wurfsschatten 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 Farbzordnungstabelle aus, indem Sie auf das entsprechende Symbol klicken.

[📖 siehe Farbzordnungstabellen auswählen](#)

Sequentielle Bildaufnahme

Die Bildaufnahme in verschiedenen Detektionskanälen kann auch sequentiell erfolgen. Klicken Sie in der untersten Zeile des Dialogfensters auf das Kontrollkästchen Sequential Scan. Das Dialogfenster wird nach unten erweitert.

10.1.2 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.

Hinweis

Bei den Mikroskopen des Typs DM RXA, DM RXE und DM IRBE 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](#), [Apochromate](#), [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: $NA = n \cdot \sin \alpha$

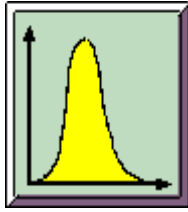
Stärker vergrößernde Objektive haben im allgemeinen höhere numerische Aperturen, aber auch kleinere Eintrittslinsen und können deshalb Licht nur von einem relativ kleineren Scanfeld aufnehmen. Objektive mit hoher Apertur ermöglichen zwar eine hohe Auflösung, haben jedoch den Nachteil, dass sie nur einen 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.

10.1.3 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 Farbzordnungstabelle 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 Farbzordnungstabellen *Glow Over*, *Glow Under* und *Glow Over and Under*.

[📖 siehe Farbzordnungstabellen \(LUT\) auswählen](#)

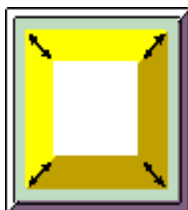
Sie können den Gain Wert und den Offset Wert der Detektoren auch mit den entsprechenden Drehknöpfen der Bedienkonsole einstellen.

[📖 siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern](#)


Hinweis

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

10.1.4 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](#)

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](#)

[📖 siehe Objektiv auswählen](#)

Hinweis



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
				10	94	183	1,8
			200 x 200	1	750	3750	0,1
				2	375	1875	0,2
				4	187	935	0,3
				32	47	235	1,4
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
				10	47	92	1,7
			200 x 200	1	375	1875	0,1
				2	187	935	0,2
				4	94	470	0,3
				32	23	115	1,3
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
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
				12	18	90	1,5
			200 x 200	1	150	750	0,2
				2	75	375	0,4
				4	37	185	0,7
				12	12	60	2,3


Hinweis

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](#)

 [siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Display](#)

10.1.5 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:

$$d_{\text{Airy}} = \frac{1,22 \cdot \lambda}{NA} \cdot M \cdot 3,6$$

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.

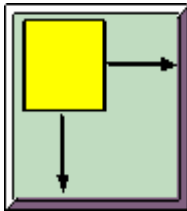
Ist die Lochblende auf die Airy Scheibe eingestellt, wird Licht von ausserhalb der Fokusebene unterdrückt und das [Signal/Rausch-Verhältnis](#) ist hoch. Unter diesen Bedingungen können

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).

10.1.6 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:

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

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:

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

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](#)

[📖 siehe Objektiv auswählen](#)

Hinweis

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](#).

10.1.7 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.
xy λ	Ein xy-Schnitt wird bei verschiedenen Wellenlängen aufgenommen.
xz λ	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.

Hinweis

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 xy λ und xz λ nur angezeigt, wenn im Dialogfenster Beam Path Setting nur **ein** Detektor aktiviert ist.

[📖 siehe Z-Stellantrieb auswählen](#)

[📖 siehe Strahlengang einstellen](#)

10.1.8 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](#)

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.

Hinweis

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.

10.1.9 Z/Y-Position einstellen



Funktion

Mit der Taste z/y-Position legen Sie fest, in welcher horizontalen Ebene (z-Position) oder vertikalen Ebene (y-Position) im Präparat die Bildaufnahme durchgeführt werden soll. Wollen Sie eine Bildserie mit der Serien-Scan Funktion aufnehmen,



definieren Sie mit der Taste z/y-Position und den Tasten Begin und End Anfangspunkt und Endpunkt der Bildserie.

[📖 siehe Dialogfenster Series Scan Overview](#)

Wenn Sie auf die Taste z/y-Position klicken, öffnet sich ein Dialogfenster, in dem Sie auf zwei Arten einen Positionswert eingeben können:

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

Sie können die z/y-Position auch mit dem entsprechenden Drehknopf der Bedienkonsole einstellen.

[📖 siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern](#)

10.1.10 Zeitserie 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.

Hinweis

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

[📖 siehe Scanmodus auswählen](#)

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>)
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
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:

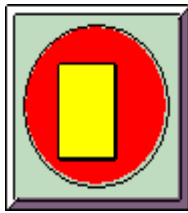
ΔT	Aufnahmezeit für einen Stapel aus xy-Schnitten plus Pausenintervall
Stacks	Anzahl der Aufnahmen des Bildstapels
Complete Time	Gesamte Aufnahmezeit, also Produkt aus ΔT und Anzahl der Aufnahmen

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.

10.1.11 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](#)

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.

10.1.12 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 Scanformat auswählen Scanmodus auswählen Scangeschwindigkeit auswählen	Strahlengang einstellen Detektionslochblende einstellen Elektronischen Zoom einstellen Detektoren einstellen

Unidirektionalen oder Bidirektionalen Scan
auswählen

Phase einstellen
z/y-Position einstellen

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

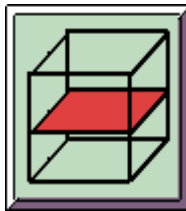
Typische Anwendungen

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.

Hinweis

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.

10.1.13 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 Mausfeil das gelbe Quadrat bis auf die Ebene, in der die Bildserie beginnen soll.
Oder öffnen sie mit der Taste z/y-Position ein Dialogfenster, in dem Sie den Wert der z-Position bzw. y-Position eingeben können.
- ▶ Klicken Sie in das weiße Kästchen für den Anfangspunkt (Begin). Der entsprechende Positionswert wird eingeblendet und gespeichert.
- ▶ Ziehen Sie mit dem Mausfeil das gelbe Quadrat bis auf die Ebene, in der die Bildserie enden soll.
Oder öffnen sie mit der Taste z/y-Position ein Dialogfenster, in dem Sie den Wert der z-Position bzw. y-Position eingeben können.

- ▶ 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.

Hinweis

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

[📖 siehe Anfangspunkt einer räumlichen Serie definieren](#)

[📖 siehe Endpunkt einer räumlichen Serie definieren](#)

[📖 siehe z/y-Position einstellen](#)

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)

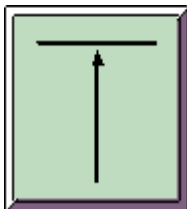
Die rote Zahl an der vertikalen Kante des Würfels entspricht dem maximalen Verfahrensweg des z-Stellantriebs, der nicht verändert werden kann.

[📖 siehe Scanmodus auswählen](#)

[📖 siehe Scanformat auswählen](#)

[📖 siehe Anzahl der räumlichen Schnitte bestimmen](#)

10.1.14 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 mit der Taste z/y-Position 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 z/y-Position einstellen](#)

[📖 siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern](#)

Hinweis

Sie können Anfangspunkt und Endpunkt einer räumlichen Serie auch bequem im Dialogfenster Series Scan Overview einstellen. Sie öffnen dieses Dialogfenster mit der Taste Series (kleine Taste, nicht die Taste mit der die Serien-Scan Funktion gestartet wird).

[📖 siehe Dialogfenster Series Scan Overview](#)

10.1.15 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:

Hinweis

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](#)

- ▶ 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.

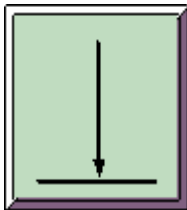
[📖 siehe Endpunkt einer Wellenlängenserie definieren](#)

[📖 siehe Anzahl der Wellenlängenschritte bestimmen](#)

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.

10.1.16 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 mit der Taste z/y-Position 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 z/y-Position einstellen](#)

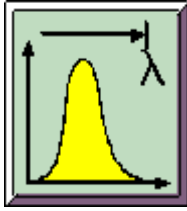
[📖 siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern](#)

Hinweis

Sie können Endpunkt und Anfangspunkt einer räumlichen Serie auch bequem im Dialogfenster Series Scan Overview definieren. Sie öffnen dieses Dialogfenster mit der Taste Series (kleine Taste, nicht die Taste mit der die Serien-Scan Funktion gestartet wird).

[📖 siehe Dialogfenster Series Scan Overview](#)

10.1.17 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:

Hinweis

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](#)

- ▶ 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](#)

[📖 siehe Anzahl der Wellenlängenschritte bestimmen](#)

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.

10.1.18 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.

Die Anzahl der Schnitte berechnen 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.

Die Anzahl der Schnitte berechnen 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.

Die Schrittweite berechnen 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.

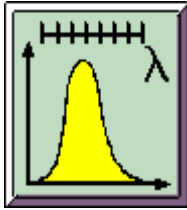
Die Schrittweite berechnen mit der Priorität, die Anzahl der Schnitte möglichst unverändert zu lassen:

- ▶ 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](#)
- [📖 siehe Dialogfenster Series Scan Overview](#)
- [📖 siehe Z-Stellantrieb auswählen](#)

10.1.19 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.

Hinweis

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

[siehe Scanmodus auswählen](#)

[siehe Anfangspunkt einer Wellenlängenserie definieren](#)

[siehe Endpunkt einer Wellenlängenserie definieren](#)

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.

10.1.20 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.

Hinweis

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.

[!\[\]\(bd1a142de767a21e5362c595f844a4ff_img.jpg\) siehe Endlos-Scan starten](#)

Für die Aufnahme einer räumlichen Bildserie sind folgende Einstellungen vorzunehmen:

- ▶ Den Scanmodus mit der Taste Mode auswählen.
[!\[\]\(8c4dca64662d21542001ca0ed7eeb688_img.jpg\) siehe Scanmodus auswählen](#)
- ▶ Das Scanformat mit der Taste Format auswählen.
[!\[\]\(3de35c640e7147a3fb61ee393128d2ae_img.jpg\) siehe Scanformat auswählen](#)
- ▶ Die gewünschte z-Position bzw. y-Position mit der Taste z/y-Position oder mit dem entsprechenden Drehknopf der Bedienkonsole einstellen.
[!\[\]\(d1438aeefda19c86ae7477bf1fb30796_img.jpg\) siehe z/y-Position einstellen](#)
[!\[\]\(dc4d2c544087998b6f093f485f5119d7_img.jpg\) siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern](#)
- ▶ Den Anfangspunkt der Bildserie mit der Taste Begin oder im Dialogfenster Series Scan Overview speichern.
[!\[\]\(f26ab61dd00ea7e5f19553908ec3fa6b_img.jpg\) siehe Anfangspunkt einer räumlichen Serie definieren](#)
- ▶ Die gewünschte z-Position bzw. y-Position mit der Taste z/y-Position oder mit dem entsprechenden Drehknopf der Bedienkonsole einstellen.
[!\[\]\(ecf85e064bcd351a8999f71bf3f405e7_img.jpg\) siehe z/y-Position einstellen](#)
[!\[\]\(b7205a03f3dd3fe6f731085a326bb0d6_img.jpg\) siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern](#)
- ▶ Den Endpunkt der Bildserie mit der Taste End oder im Dialogfenster Series Scan Overview speichern.
[!\[\]\(fea63d7e313047478d89177e38e2c72d_img.jpg\) siehe Endpunkt einer räumlichen Serie definieren](#)
- ▶ Die Anzahl der räumlichen Schnitte mit der Taste Sections auswählen.
[!\[\]\(3098c5e72378a1b0482fcc457c248f36_img.jpg\) siehe Anzahl der räumlichen Schnitte bestimmen](#)

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.
[!\[\]\(e548a391c65118ac2476924cdb5db38c_img.jpg\) siehe Scanmodus auswählen](#)
- ▶ Das Scanformat mit der Taste Format auswählen.
[!\[\]\(6fc1fda334fce799e3b50f6cf68d70a8_img.jpg\) siehe Scanformat auswählen](#)

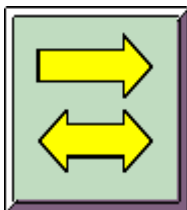
- ▶ Die gewünschte z-Position bzw. y-Position mit der Taste z/y-Position oder mit dem entsprechenden Drehknopf der Bedienkonsole einstellen.
[📖 siehe z/y-Position einstellen](#)
[📖 siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern](#)
- ▶ Die Anzahl der Aufnahmen, das Pausenintervall zwischen den Aufnahmen und die komplette Bearbeitungszeit einstellen.
[📖 siehe Zeitserie einstellen](#)

Für die Aufnahme einer Wellenlängenserie sind folgende Einstellungen vorzunehmen:

- ▶ Einen Scanmodus mit der Dimension Wellenlänge mit der Taste Mode auswählen.
[📖 siehe Scanmodus auswählen](#)
- ▶ Das Scanformat mit der Taste Format auswählen.
[📖 siehe Scanformat auswählen](#)
- ▶ Die Wellenlänge bestimmen, bei der die Wellenlängenserie beginnen soll.
[📖 siehe Anfangspunkt einer Wellenlängenserie definieren](#)
- ▶ Die Wellenlänge bestimmen, bei der die Wellenlängenserie enden soll.
[📖 siehe Endpunkt einer Wellenlängenserie definieren](#)
- ▶ Die gewünschte Anzahl der Aufnahmen zwischen Anfangs- und Endpunkt der Wellenlängenserie auswählen.
[📖 siehe Anzahl der Wellenlängenschritte bestimmen](#)

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

10.1.21 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](#)

Um Hin- und Rücklauf pixelgenau aufeinander abzugleichen, kann die Phase zwischen Hin- und Rücklauf eingestellt werden. Verwenden Sie zu diesem Zweck die Taste Phase oder den entsprechenden Drehknopf der Bedienkonsole.

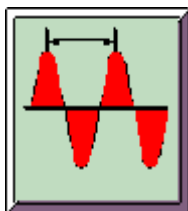
[📖 siehe Phase einstellen](#)

[📖 siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern](#)

Hinweis

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.

10.1.22 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.

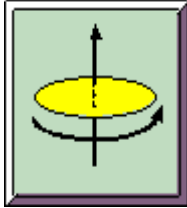
Sie können die Phase auch mit dem entsprechenden Drehknopf der Bedienkonsole einstellen.

 [siehe Funktionen über die Bedienkonsole steuern](#)

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.

10.1.23 Scanfeld drehen



Funktion

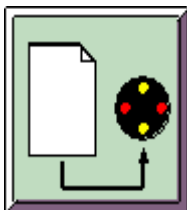
Mit der Taste Scan Field Rotation können Sie das Scanfeld drehen. Dabei wird weder das Präparat noch die Richtung der Abtastung gedreht sondern das mikroskopische Zwischenbild.

Der Drehwinkel kann zwischen -10 Grad und +100 Grad stufenlos eingestellt werden. Die Ursprungsstellung (0 Grad) richtet sich dabei nach einer im Scankopf festgelegten Referenzposition. Bei Einschalten des Gerätes wird diese Referenzposition automatisch angefahren.

Typische Anwendungen

Mit dieser Funktion können Texturen auf Oberflächen oder langgestreckte biologische Strukturen relativ zum Beobachter ausgerichtet werden.

10.1.24 Aufnahmeparameter eines Experiments übernehmen

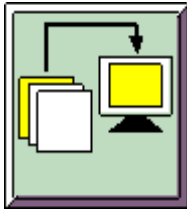


Funktion

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.

10.1.25 Bildaufnahme im Burstbetrieb



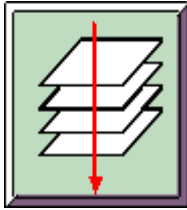
Funktion

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 Overlaybildes sowie die Grösse des Ansichtsfensters Viewer.

10.1.26 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

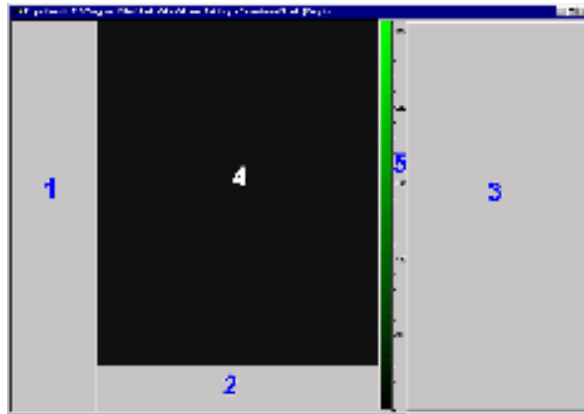
Die Bildaufnahme im Mittelungsverfahren dient vor allem zur Rauschunterdrückung. In der [Fluoreszenzmikroskopie](#) gelangt bei schwach fluoreszierenden Präparaten wenig Licht zum Detektor. Die geringe Photonenzahl führt zu verrauschten Bildern. In einem solchen Fall können Sie durch mehrmaliges Aufnehmen und stetiger Mittelung des Bildes das [Signal/Rausch-Verhältnis](#) verbessern.

Hinweis

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.

10.2 Datendarstellungsfunktionen

10.2.1 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) (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.
		▶ Selection (snapshot)	Die Bildschirmkopie eines markierten Ausschnittes im Bildfenster wird als neues Bild im aktuellen Experiment angelegt.
		▶ All (snapshot)	Die Bildschirmkopie des gesamten aktuellen Bildfensters wird als neues Bild im aktuellen Experiment angelegt.

	▶ 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](#)

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.

Hinweis

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.

10.2.2 Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol 3D

Funktion

Wenn Sie im Menü View auf die Option Viewer Options klicken, wird ein Dialogfenster geöffnet, in dem Grundeinstellungen für verschiedene Funktionen vorgenommen werden können. In diesem Dialogfenster werden links 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 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.

[siehe 3D Ansicht drehen](#)

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.

[siehe 3D Ansicht verschieben](#)

[siehe 3D Ansicht zoomen](#)

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 Farbzuoordnungstabelle (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.

10.2.3 Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Display

Funktion

Wenn Sie im Menü View auf die Option Viewer Options klicken, wird ein Dialogfenster geöffnet, in dem Grundeinstellungen für verschiedene Funktionen vorgenommen werden können. In diesem Dialogfenster werden links 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 Settings** kann im Feld Display 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.

Hinweis

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

[!\[\]\(c3d993ca47bfe2a953c700506ce31fa0_img.jpg\) siehe 3D Ansicht zoomen](#)

[!\[\]\(d66ff64371a51729ac8c1cdaa685ba6f_img.jpg\) siehe Elektronischer Zoom](#)

Klicken Sie im selben Feld auf einen der Auswahlpunkte, um das entsprechende Gestaltungselement im Ansichtsfenster Viewer ein- oder auszublenden:

Scale	Ein Massbalken mit Längenangabe wird im Ansichtsfenster Viewer angezeigt.
Grid	Ein Raster wird über das Bild im Ansichtsfenster Viewer gelegt.

Die Länge des Massbalkens 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.

[!\[\]\(d3102649f02e825ddb76dc3de0190154_img.jpg\) siehe Film starten und beenden](#)

10.2.4 Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Measure

Wenn Sie im Menü View auf die Option Viewer Options klicken, wird ein Dialogfenster geöffnet, in dem Grundeinstellungen für verschiedene Funktionen vorgenommen werden können. In diesem Dialogfenster werden links 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.

10.2.5 Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Multicolor (optional)

Funktion

Wenn Sie im Menü View auf die Option Viewer Options klicken, wird ein Dialogfenster geöffnet, in dem Grundeinstellungen für verschiedene Funktionen vorgenommen werden können. In diesem Dialogfenster werden links 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 Input** können Sie die Intensitätswerte, die für die Erzeugung des Zytofluorogramms verwendet werden, quantitativ oder qualitativ einschränken:

- ▶ Um den Intensitätswertebereich zu begrenzen, ziehen Sie im Feld Intensity Ranges die beiden Enden des Schiebers des jeweiligen Detektionskanals auf den gewünschten Wert. Sie können die Schieber von zwei oder mehr Detektionskanälen miteinander verriegeln, wenn Sie das Kontrollkästchen Lock sliders anklicken.
- ▶ Um Intensitätswerte in Abhängigkeit von ihrer Häufigkeit zu begrenzen, ziehen Sie im Feld Visible Frequencies die beiden Enden des Schiebers auf den gewünschten Wert.

[📖 siehe Zytofluorogramm in 2D Ansicht](#)

[📖 siehe Zytofluorogramm in 3D Ansicht](#)

Im **Register Color** können Sie unterschiedliche Farbzuoordnungstabellen für die Einfärbung des Zytofluorogramms auswählen. Die binären Farbzuoordnungstabellen (Binary with ...) visualisieren nicht die Häufigkeit der gemessenen Intensitäten. Bei diesen Farbzuoordnungstabellen wird ein Intensitätswert im Zytofluorogramm angezeigt, sobald er einmal detektiert wurde. Die häufigkeitskodierte Farbzuoordnungstabellen (Frequency coded, ...) bilden die Häufigkeit der Intensitätswerte über die Helligkeit der Pixel im Zytofluorogramm ab. Je heller also ein Pixel im Zytofluorogramm ist, desto häufiger ist der jeweilige Intensitätswert.

Farbzuoordnungstabelle	Eigenschaften
Binary with fixed color	Die Pixel des Zytofluorogramms werden alle weiß dargestellt.
Binary with image colors	Die Farbe eines Pixels des Zytofluorogramms wird aus den Farbzuoordnungstabellen der Ursprungsbilder gemischt.
Binary with custom colors	Diese Farbzuoordnungstabellen sind speziell für die Erstellung von Zytofluorogrammen entwickelt.
Frequency coded, linear	
Frequency coded, logarithmic	
Frequency and intensity	



weighted	
----------	--

Klicken Sie im **Register Mask** auf einen der aufgelisteten Befehle, um zwischen verschiedenen Darstellungsweisen der binären Maske in den Ursprungsbildern zu wählen:

Masking	Funktion
Activate multicolor mask	Die binäre Maske wird auf die Ursprungsbilder gelegt. Dieser Befehl entspricht dem Klicken auf die Taste Mask.

Mask Mode	Funktion
Mask only	
Masked image only	
Image covered by mask	
Image overlaid by blue mask	
Invert mask	

Im **Register View** können Sie in den Feldern 2D und 3D auf einen der aufgelisteten Befehle klicken, um das entsprechende Bildelement des Zytofluorogramms ein- oder auszublenden:

2D und 3D	Funktion
Show axes	Die Koordinatenachsen anzeigen.
Show color LUTs	Die ausgewählte Farbzuordnungstabelle (color look-up table) an der Achse anzeigen.
Show histograms	Ein Histogramm an der Achse einblenden.
Show bounding box	Den Bildrahmen anzeigen.

Im Feld Rendering können Sie noch zwischen schneller Bilderzeugung (Fast) oder genauer Bilderzeugung (Accurate) wählen.

10.2.6 Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Surface

Funktion
 Wenn Sie im Menü View auf die Option Viewer Options klicken, wird ein Dialogfenster geöffnet, in dem Grundeinstellungen für verschiedene Funktionen vorgenommen werden können. In diesem Dialogfenster werden links 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 Visualization** können Sie im Feld Render Mode auswählen, ob die 3D Ansicht als Flächenbild (Surface), als Drahtgitterbild (Wireframe) oder als Isolinienbild (Isolines) ausgeführt werden soll:

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.

Wählen Sie im Feld Projection Type, in welcher Perspektive die 3D Ansicht dargestellt werden soll:

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.

[!\[\]\(dd161862f9164df98f62b726e9846241_img.jpg\) siehe 3D Ansicht erzeugen](#)



10.2.7 Detektionskanal 1 anzeigen



Funktion

Mit einem Klick auf die Taste Channel 1 werden im Ansichtsfenster Viewer die Bilddaten eingeblendet, die im Detektionskanal 1 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.

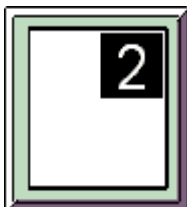
[📖 siehe Farbzuoordnungstabellen \(LUT\) auswählen](#)

Hinweis

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](#)

10.2.8 Detektionskanal 2 anzeigen



Funktion

Mit einem Klick auf die Taste Channel 2 werden im Ansichtsfenster Viewer die Bilddaten eingeblendet, die im Detektionskanal 2 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](#)

Hinweis

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](#)

10.2.9 Detektionskanal 3 anzeigen



Funktion

Mit einem Klick auf die Taste Channel 3 werden im Ansichtsfenster Viewer die Bilddaten eingeblendet, die im Detektionskanal 3 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](#)

Hinweis

Diese Methode der Zuordnung von Farbzueordnungsstabellen beeinflusst nur die aktuelle Bilddarstellung. Sobald Sie einen neuen Scanvorgang starten, werden wieder die im Dialogfenster Beam Path Setting eingestellten Farbzueordnungsstabellen verwendet.

[📖 siehe Strahlengang einstellen](#)

10.2.10 Detektionskanal 4 anzeigen



Funktion

Mit einem Klick auf die Taste Channel 4 werden im Ansichtsfenster Viewer die Bilddaten eingeblendet, die im Detektionskanal 4 aufgenommen wurden. Sie koennen dem Detektionskanal eine von vielen Farbzueordnungsstabellen zuweisen. Dies ist sowohl im Ergebnisbild als auch waehrend der Bildaufnahme moeglich. Oeffnen Sie zu diesem Zweck das Dialogfenster Select Look-up Tables, Sie haben zwei Moeglichkeiten, um das Dialogfenster zu oeffnen:

- ▶ Klicken Sie auf die Taste Select Look-up Tables.
- ▶ Halten Sie den Mauszeiger ueber eine beliebige Stelle im Ansichtsfenster Viewer. Klicken Sie auf die rechte Maustaste. Es erscheint ein Kontextmenue, in dem Sie auf LUT klicken.
Im Ansichtsfenster werden die Farbleisten der aktiven Detektionskanale eingeblendet. Doppelklicken Sie auf die entsprechende Farbleiste.

[📖 siehe Farbzueordnungsstabellen \(LUT\) auswaehlen](#)

Hinweis

Diese Methode der Zuordnung von Farbzueordnungsstabellen beeinflusst nur die aktuelle Bilddarstellung. Sobald Sie einen neuen Scanvorgang starten, werden wieder die im Dialogfenster Beam Path Setting eingestellten Farbzueordnungsstabellen verwendet.

[📖 siehe Strahlengang einstellen](#)

10.2.11 Detektionskanal 5 anzeigen



Funktion

Mit einem Klick auf die Taste Channel 5 werden im Ansichtsfenster Viewer die Bilddaten eingeblendet, die im Detektionskanal 5 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.

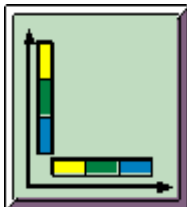
[📖 siehe Farbzuoordnungstabellen \(LUT\) auswählen](#)

Hinweis

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](#)

10.2.12 Farbzuoordnungstabellen (LUT) auswählen



Funktion

Mit der Taste Look-up Tables öffnen Sie ein Dialogfenster, in dem Sie den fünf Detektionskanälen jeweils eine Farbzuoordnungstabelle 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 Farbzuordnungstabelle auswählen können.
- ▶ Der obere und untere Intensitätswertebereich wird in den Farben der jeweiligen zweiten Farbzuordnungstabelle dargestellt.

Hinweis

Diese Methode der Zuordnung von Farbzuordnungstabellen beeinflusst nur die aktuelle Bilddarstellung. Sobald Sie einen neuen Scanvorgang starten, werden wieder die im Dialogfenster Beam Path Setting eingestellten Farbzuordnungstabellen verwendet.

[!\[\]\(faf942dc3e59ce8eb64b4ac481eca7e0_img.jpg\) siehe Strahlengang einstellen](#)

Typische Anwendungen

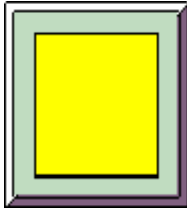
Grundsätzlich ist die Wahl einer geeigneten Farbzuordnungstabelle für eine bestimmte Anwendung vom Empfinden des Benutzers abhängig. Die Erfahrung zeigt jedoch,

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 <u>Fluoreszenzfarbstoffen</u> 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, 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 Farbtabelle.
<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.

10.2.13 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.

Hinweis

Die Taste Single und die Taste Tiled können nicht gleichzeitig aktiv sein, da mit ihnen zwei sich ausschließende Funktionen aktiviert werden.

10.2.14 Mehrfachbild anzeigen



Funktion

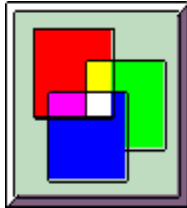
Wenn Sie auf die Taste Tiled klicken, werden die Detektionskanäle getrennt im Ansichtsfenster Viewer dargestellt. Je nachdem welche weiteren Tasten Sie gleichzeitig noch aktivieren, sind folgende Darstellungsarten möglich:

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.

Hinweis

Die Taste Tiled und die Taste Single können nicht gleichzeitig angeklickt werden, da mit ihnen zwei sich ausschließende Funktionen aktiviert werden.

10.2.15 Überlagerungsbild anzeigen



Funktion

Wenn Sie auf die Taste Overlay klicken, werden alle ausgewählten Detektionskanäle zusammen in einem Überlagerungsbild im Ansichtsfenster Viewer dargestellt. 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 Images und dann auf das Register Overlay.

[📖 siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Images](#)

10.2.16 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.

Hinweis

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.

10.2.17 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.

Hinweis

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.

10.2.18 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.

Hinweis

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.

10.2.19 Letztes Bild einer Serie anzeigen



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.

Hinweis

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.

10.2.20 Film starten und beenden



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 können Sie im Dialogfenster Viewer Options einstellen:

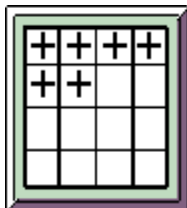
- ▶ Wählen Sie im Menü View die Option Viewer Options.
- ▶ klicken Sie auf das Bildsymbol Display und dann auf das Register Movie.

[📖 siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Display](#)

Hinweis

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.

10.2.21 Serienbild anzeigen



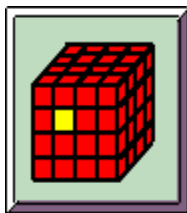
Funktion

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 /	Alle Einzelbilder einer Bildserie werden getrennt für alle ausgewählten Detektionskanäle und zusätzlich zusammen in Überlagerungsbildern dargestellt.

10.2.22 Projektion eines Bildstapels



Funktion

Mit der Funktion Projection können Sie bestimmte Intensitätsdaten aus einem Bildstapel, also einer Serie von xy-Schnitten oder xz-Schnitten, auswählen oder miteinander verrechnen und in einem zweidimensionalen Bild darstellen. Dabei werden die Abtastpunkte ([Voxel](#)), die entlang der z-Achse übereinanderliegen, durch alle optischen Schnitte hindurch untersucht. Aus jeder dieser Säulen von Abtastpunkten wird dann der Intensitätswert, der das Auswahlkriterium erfüllt, oder der berechnete Intensitätswert als Repräsentant aller Werte innerhalb der Säule im zweidimensionalen Projektionsbild dargestellt.

Es stehen Ihnen drei verschiedene Projektionsarten zur Verfügung: die Maximumprojektion, die Mittelwertprojektion und die Transparentprojektion:

- ▶ Die Maximumprojektion verwendet den maximalen Intensitätswert als Repräsentanten.
- ▶ Die Mittelwertprojektion verwendet das arithmetische Mittel der Intensitätswerte als Repräsentanten.
- ▶ Die Transparentprojektion verwendet ein gewichtetes Mittel der Intensitätswerte als Repräsentanten. Die Gewichtung setzt sich aus zwei Faktoren zusammen. Der erste Faktor ergibt sich aus dem Verhältnis des jeweilig gemessenen Intensitätswertes zur maximal möglichen Intensität (Normierung). Der zweite Faktor berücksichtigt die Gewichtung des zuvor gemessenen Intensitätswertes. Je höher die Intensität des zuvor gemessenen Abtastpunktes ist, desto größer ist seine Gewichtung und desto geringer fließen nachfolgend gemessene Abtastpunkte in die Berechnung mit ein.

Wählen Sie eine der Projektionsarten und weitere Optionen im Dialogfenster Viewer Options aus:

- ▶ Wählen Sie im Menü View die Option Viewer Options.

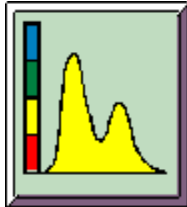
- Klicken Sie auf das Bildsymbol Images und dann auf das Register Projections.

 [siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Images](#)

Hinweis

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.

10.2.23 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 Images und dann auf das Register Topography.

 [siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Images](#)

In einem zweiten Schritt können Sie das Topographiebild mit der Funktion 3D Ansicht in einer dreidimensionalen Graphik darstellen.

 [siehe 3D Ansicht erzeugen](#)

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.

10.2.24 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.

10.2.25 3D Ansicht erzeugen



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.

Hinweis

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](#)

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:

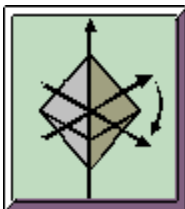
- ▶ Wählen Sie im Menü View die Option Viewer Options.
- ▶ Klicken Sie auf das Bildsymbol Surface und dann auf das Register Visualization.

[siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Surface](#)

Hinweis

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.

10.2.26 3D Ansicht drehen



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.

Hinweis

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

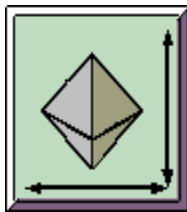
das Bild in der zuvor eingestellten Auflösung neu angezeigt.

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](#)

10.2.27 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.

Hinweis

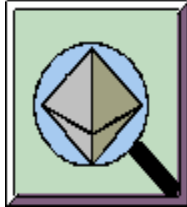
Während Sie die 3D Ansicht verschieben, wird die Auflösung des Bildes leicht herabgesetzt, um das Arbeiten mit dieser Funktion zu beschleunigen. Nach Loslassen der linken Maustaste wird das Bild in der zuvor eingestellten Auflösung neu angezeigt.

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](#)

10.2.28 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 .

Hinweis

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](#)

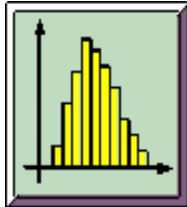
Hinweis

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

[📖 siehe Elektronischer Zoom](#)
[📖 siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Display](#)

10.3 Mess- und Analysefunktionen

10.3.1 Histogramm berechnen



Funktion

Mit der Histogramm Funktion wird die Häufigkeit einer bestimmten Größe graphisch dargestellt. Das Histogramm wird von dem im Ansichtsfenster Viewer ausgewählten Datensatz berechnet. Bei diesem Datensatz kann es sich um ein Einzelbild oder eine Bildserie aus Rohdaten, aber auch um das Ergebnisbild einer Bildverarbeitung handeln. In Abhängigkeit von der im Bild dargestellten Größe wird im Histogramm die Verteilung von Intensitätswerten (I) oder Höhenwerten (μ m) berechnet.

Wenn Sie auf die Taste Histogramm klicken, wird das Ansichtsfenster Histogramm geöffnet, in dem eine Histogrammkurve für jeden Detektionskanal und folgende statistische Berechnungen angezeigt werden:

Parameter	Bedeutung	Formel
# Pixel	Gesamtzahl der Pixel, die in die Berechnung des Histogramms eingehen. Entspricht dem eingestellten Scanformat.	
Mean	Der arithmetische Mittelwert	$\mu(I) = \frac{1}{N_{\text{Pixel}}} \sum_{\text{Pixel}} I_i$
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	$I_{\text{Mean}}^2 = \frac{1}{N_{\text{Pixel}}} \sum_{\text{Pixel}} I_i^2$
Root Mean Square (RMS)	Quadratischer Mittelwert	$I_{\text{Mean}}^2 = \sqrt{\frac{1}{N_{\text{Pixel}}} \sum_{\text{Pixel}} I_i^2}$
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).

Hinweis

Mit dem Maximalwert und Minimalwert der Intensität lassen sich der Gain Wert und der Offset Wert die Detektoren optimal einstellen.

10.3.2 Messen eines Profils in einem Einzelbild



Funktion

Mit der Profile Funktion wird eine bestimmte Größe über eine Strecke hinweg gemessen und graphisch dargestellt. Das Profil wird aus dem im Ansichtsfenster Viewer ausgewählten Datensatz gemessen. Bei diesem Datensatz kann es sich um ein Einzelbild aus Rohdaten oder um ein Ergebnisbild einer Bildverarbeitung handeln. In Abhängigkeit von der im Bild dargestellten Größe wird eine Messkurve aus Intensitätswerten (I) oder Höhenwerten (µm) berechnet.

Wenn Sie auf die Taste Profile klicken, wird im Ansichtsfenster Viewer die Messstrecke 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.

Zusätzlich wird das Ansichtsfenster Profile geöffnet, in dem eine Profilkurve für jeden Detektionskanal und folgende statistische Berechnungen 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	$\mu(I) = \frac{1}{N_{\text{Pixel}}} \sum_{\text{Pixel}} I_i$
Maximum Amplitude	Maximalwert	Max (I)
Minimum Amplitude	Minimalwert	Min (I)
Average Deviation	Mittlere Abweichung	$\text{DISP}(I) = \frac{1}{N-1} \sum_i I_i - \mu(I) $
Standard Deviation	Standardabweichung	$s(I) = \sqrt{\text{VAR}(I)} = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_i (I_i - \mu(I))^2}$
Variance	Varianz	$\text{VAR}(I) = \frac{1}{N-1} \sum_i (I_i - \mu(I))^2$

Einige der Parameter sind in wissenschaftlicher Exponentialnotation angegeben, z.B. Varianz = 1.88e+004 = 18800.

10.3.3 Materialanalyse

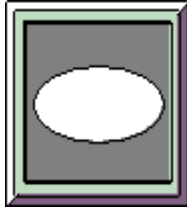


Funktion

Die Materialanalysefunktion ermittelt neben allgemeinen statistischen Daten auch Standardwerte nach DIN ISO 4287 Teil I eines Datensatzes.

Zur Materialanalyse muss eine [Topographiedarstellung](#) eines dreidimensionalen Datensatzes vorliegen.

10.3.4 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 Auswertungsbereiche \(ROI's\) löschen](#)

[📖 siehe Auswertungsbereich \(ROI\) markieren und verschieben](#)

[📖 siehe Auswertungsbereich \(ROI\) verschieben und drehen](#)

10.3.5 Auswertungsbereich (ROI) als Polygon definieren



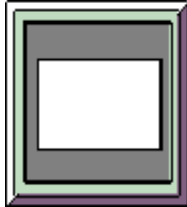
Funktion

Mit der Taste Polygon kann ein 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.
- ▶ 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.
- ▶ Sie können das Polygon durch einen Doppelklick schließen.

- [📖 siehe Auswertungsbereiche \(ROI's\) löschen](#)
- [📖 siehe Auswertungsbereich \(ROI\) markieren und verschieben](#)
- [📖 siehe Auswertungsbereich \(ROI\) verschieben und drehen](#)

10.3.6 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 Auswertungsbereiche \(ROI's\) löschen](#)
- [📖 siehe Auswertungsbereich \(ROI\) markieren und verschieben](#)
- [📖 siehe Auswertungsbereich \(ROI\) verschieben und drehen](#)

10.3.7 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.

Um den Auswertungsbereich zu verändern, halten Sie den Mauszeiger über eine Seitenkante des markierten Auswertebereichs, bis ein Doppelpfeil sichtbar wird. Drücken Sie die linke Maustaste um den Auswertungsbereich in einer Richtung zu verzerren. Wenn Sie den Mauszeiger exakt in einen Eckpunkt des markierten Auswertungsbereichs stellen, können Sie die Ausdehnung in zwei Richtungen gleichzeitig verändern.

Hinweis

Sie können einen einzelnen Auswertungsbereich löschen, indem Sie ihn mit der Taste Select ROI anklicken und mit der auf der Tastatur befindlichen Löschtaste entfernen. Mit der Taste Clear löschen Sie alle Auswertungsbereiche auf einmal.

10.3.8 Auswertungsbereiche (ROI's) löschen

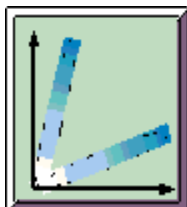


Funktion

Mit der Taste Clear können alle definierten Auswertungsbereiche (ROI's) auf einmal gelöscht werden. Löschen Sie einen einzelnen Auswertungsbereich, indem Sie ihn mit der Taste Select ROI anklicken und mit der auf der Tastatur befindlichen Löschtaste entfernen.

Um die definierten Auswertungsbereiche sichtbar zu machen, muss die jeweilige Funktion angewählt sein.

10.3.9 Zytografogramm in 2D Ansicht darstellen (optional)



Funktion

Ein Zytografogramm stellt die Häufigkeitsverteilung von Intensitätswerten graphisch dar. Das Zytografogramm in 2D Ansicht kann aus bis zu maximal 3 Detektionskanälen erzeugt werden. Ist nur ein Detektionskanal angewählt, wird die Verteilung der Intensitätswerte in einem Balkendiagramm dargestellt. Bei mehreren Detektionskanälen werden alle



möglichen Kombinationen von Intensitäten aus jeweils zwei Detektionskanälen in einer zweidimensionalen Punktwolke dargestellt.

[📖 siehe Zytofluorogramm in 3D Ansicht darstellen](#)

Wenn Sie auf die Taste Cytofluorogram 2D klicken, werden die aktuellen Bilddaten in ein Zytofluorogramm umgewandelt. Je nachdem welche weiteren Tasten Sie gleichzeitig noch anklicken, sind folgende Darstellungsarten möglich:

Tastenkombination	Darstellung
CF2D + Single + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Aus allen ausgewählten Detektionskanälen wird nur das Zytofluorogramm berechnet und dargestellt. Bei einer Bildserie wird das aktuelle Bild verwendet.
CF2D + Tiled + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Die Ursprungsbilder der ausgewählten Detektionskanäle und das daraus berechnete Zytofluorogramm werden dargestellt. Bei einer Bildserie wird das aktuelle Bild verwendet.
CF2D + Single + Gallery + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Aus allen ausgewählten Detektionskanälen wird das Zytofluorogramm berechnet und dargestellt. Bei einer Bildserie werden alle Einzelbilder verwendet.
CF2D + Tiled + Gallery + Channel 1 / 2 / 3 / 4 / 5	Aus allen ausgewählten Detektionskanälen wird das Zytofluorogramm berechnet und dargestellt. Bei einer Bildserie werden alle Einzelbilder verwendet und angezeigt.

Verschiedene Parameter des Zytofluorogramms, wie zum Beispiel der Intensitätswertebereich, der Häufigkeitwertebereich und die verwendeten Farbzusammenhangstabellen, können Sie im Dialogfenster Viewer Options ändern:

- ▶ Wählen Sie im Menü View die Option Viewer Options.
- ▶ Klicken Sie dann auf das Bildsymbol Multicolor.

[📖 siehe Dialogfenster Viewer Options, Bildsymbol Multicolor](#)

10.3.10 Zytofluorogramm mit der binären Maske darstellen (optional)



Funktion

- ▶ Wählen Sie im Menü View die Option Viewer Options.
- ▶ Klicken Sie auf das Bildsymbol Multicolor und dann auf das Register Mask.

10.3.11 Überlagerungsbild in Zytofluorogrammfarben anzeigen (optional)



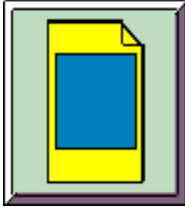
Funktion

Ein Überlagerungsbild aus allen aktiven Detektionskanälen wird erzeugt. Es werden die Farbzusordnungsstabellen des Zytofluorogramms verwendet, die Sie im Dialogfenster Viewer Options einstellen können:

- ▶ Wählen Sie im Menü View die Option Viewer Options.
- ▶ Klicken Sie auf das Bildsymbol Multicolor und dann auf das Register Color.

10.4 Funktionen zur Datendokumentation

10.4.1 Präsentationsseite anlegen



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 Bild kopieren](#)
- [📖 siehe Linie zeichnen](#)
- [📖 siehe Rechteck zeichnen](#)
- [📖 siehe Textfeld anlegen](#)

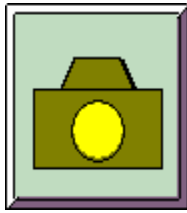
Wenn Sie den Mauszeiger über die Präsentationsseite halten und dann auf die rechte Maustaste klicken, erscheint ein Kontextmenü, in dem Ihnen folgende Befehle zur Verfügung stehen:

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.

10.4.2 Bild in die Präsentationsseite kopieren



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:

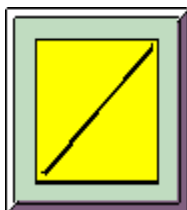
Befehl	Funktion
Original size	Das Bild wird in Originalgröße angezeigt.
Fit to page	Das Bild wird auf die Größe der Präsentationsseite vergrößert.
Bring to front	Das Bild wird in den Vordergrund gerückt.
Send to back	Das Bild wird in den Hintergrund gerückt.
Delete	Das Bild wird gelöscht.

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.

Hinweis

Die Taste Snap kann nur betätigt werden, wenn zuvor eine Präsentationsseite mit der Taste Annotation geöffnet und dann das Ansichtsfenster Viewer angeklickt wurde.

10.4.3 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:

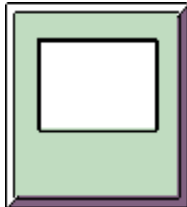
Befehl	Funktion
Style	In einem Dialogfenster können Typ, Stärke und Länge der Linie eingestellt werden.
Color	In einem Dialogfenster kann eine beliebige Farbe für die Linie ausgewählt werden.
Bring to front	Die Linie wird in den Vordergrund gerückt.
Send to back	Die Linie wird in den Hintergrund gerückt.
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.

Hinweis

Die Taste Line kann nur betätigt werden, wenn zuvor eine Präsentationsseite mit der Taste Annotation geöffnet wurde.

10.4.4 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.



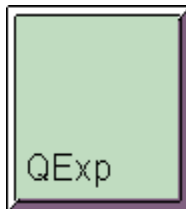
Sent to back	Das Rechteck wird in den Hintergrund gerückt.
Delete	Das Rechteck wird gelöscht.

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.

Hinweis

Die Taste Rectangle kann nur betätigt werden, wenn zuvor eine Präsentationsseite mit der Taste Annotation geöffnet wurde.

10.4.5 Quantifizierungsdaten exportieren



Funktion

Diese Funktion exportiert die Messdaten aller Auswertungsbereiche als ASCII-Daten in eine Datei. Um die Messdaten der Auswertungsbereiche exportieren zu können, muss die Profile Funktion angewählt werden.

10.4.6 Quantifizierungsgraphen drucken



Funktion

Diese Funktion sendet die graphischen Daten sämtlicher Auswertungsbereiche auf den Standarddrucker. Um die Graphen der Auswertungsbereiche ausdrucken zu können, muss die PROFILE Funktion angewählt werden.

10.4.7 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.

Hinweis



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.

10.5 Funktionen zum Datenhandling

10.5.1 Datei öffnen



Funktion

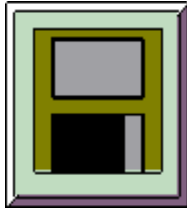
In der Leica Confocal Software können Sie mit der Taste Open folgende Dateiformate öffnen:

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](#)

 [siehe Präsentationsseite anlegen](#)

10.5.2 Datei speichern



Funktion

Wenn Sie auf die Taste Save klicken, werden die Daten im aktuellen Experiment (*.lei) oder in der aktuellen Präsentationsseite (*.ano) gespeichert.

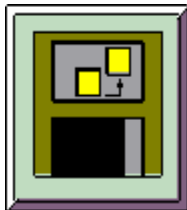
Wenn Sie mit der Taste Save ein Experiment oder eine Präsentationsseite zum ersten Mal speichern, erscheint zuerst das Dialogfenster Save As.

Hinweis

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](#)

10.5.3 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.

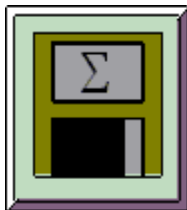
Beim Abspeichern eines Experiments wird auf Dateiebene ein Ordner mit dem Namen des Experiments angelegt. Im Unterverzeichnis dieses Ordners befindet sich die Beschreibungsdatei (*.lei) des Experiments zusammen mit den einzelnen Bilddateien. Bei der Beschreibungsdatei handelt es sich um ein Leica-spezifisches binäres Datenformat. In dieser Datei werden die Parametereinstellungen und die in Form einer Farbzuoordnungstabelle 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*.

10.5.4 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.

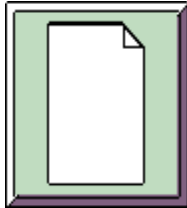
Beim Abspeichern eines Experiments wird auf Dateiebene ein Ordner mit dem Namen des Experiments angelegt. Im Unterverzeichnis dieses Ordners befindet sich die Beschreibungsdatei (*.lei) des Experiments zusammen mit den einzelnen Bilddateien. Bei der Beschreibungsdatei handelt es sich um ein Leica-spezifisches binäres Datenformat. In dieser Datei werden die Parametereinstellungen und die in Form einer Farbzusammenfassungstabelle 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*.

10.5.5 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 Experiment Overview

Um das Ansichtsfenster Experiment Overview zu öffnen, wählen Sie im Menü View die Option Experiment Overview. In diesem Ansichtsfenster werden die aufgenommenen Bilder in einem Verzeichnisbaum dargestellt. Jedes neu angelegte Experiment erscheint in diesem Ansichtsfenster mit dem Dateinamen *Experiment* und einer laufenden Nummer sowie der Endung *.lei. Sie können Dateinamen und Dateiformat über die Tasten Save oder Save as ändern.

[📖 siehe Datei speichern](#)


[📖 siehe Datei speichern unter](#)

Einzelbilder, die Sie mit der Einmal-Scan Funktion (Taste Single Scan) aufnehmen, werden im Verzeichnisbaum mit dem Namen *Image* und einer laufenden Nummer eingetragen. Bildserien, die Sie mit der Serien-Scan Funktion (Taste Series Scan) aufnehmen, erhalten den Namen *Series* und eine laufende Nummer.

Wenn Sie den Namen eines Einzelbildes oder einer Bildserie markieren und dann auf die rechte Maustaste klicken, stehen Ihnen in einem Kontextmenü folgende Befehle zur Verfügung:

Befehl	Funktion
Activate	Die markierte Datei wird im Ansichtsfenster Viewer angezeigt.
New Window	Eine zweites Ansichtsfenster für das aktuell geladene Bild wird geöffnet.
Delete	Das Einzelbild oder die Bildserie wird gelöscht.
Properties	Dateieigenschaften und wesentliche Scanparameter werden in einem Dialogfenster angezeigt.

Das Ansichtsfenster Experiment Overview wird automatisch am linken Rand der Bedienoberfläche eingeblendet. Größe und



Position des Ansichtsfensters können Sie jedoch beliebig ändern:

- ▶ Um die Breite des Ansichtsfensters zu ändern, ziehen Sie mit dem Mauszeiger den Rand an die gewünschte Position.
- ▶ Um die Position des Ansichtsfensters zu ändern, doppelklicken Sie auf den Doppelrand des Fensters oder klicken Sie einmal auf das Symbol ▲ . Das Ansichtsfenster wird aus der Bedienoberfläche gelöst. Ziehen Sie das Ansichtsfenster jetzt mit gedrückter linker Maustaste an die gewünschte Stelle.

Hinweis

Ist das Ansichtsfenster über die gesamte Breite der Bedienoberfläche vergrößert, lässt es sich nur wieder an die ursprüngliche Stelle am Rand positionieren, wenn Sie zuerst die Höhe des Fensters verkleinern und es dann erst an den Rand verschieben.

10.6 Benutzerspezifische Anpassungen



10.6.1 Benutzeranpassungen Software

10.7 Verzeichnisse mit benutzerspezifischen Angaben

Nach dem Anlegen der Benutzer im Betriebssystem Windows NT™ werden beim ersten Start der LCS Software für den Benutzer automatisch folgende Verzeichnisse angelegt:

1. Instrument Parameter Settings

In diesem Verzeichnis werden benutzerdefinierte und werksseitig vordefinierte Aufnahmeparameter abgespeichert.

Zur Definition benutzerspezifischer Sätze von Aufnahmeparametern siehe das Kapitel "Definition benutzerspezifischer Sätze von Aufnahmeparametern".

2. Macro

In diesem Verzeichnis werden benutzerdefinierte und werksseitig vordefinierte Makros abgespeichert.

Zur Definition benutzerspezifischer Makros und zum Start von werksseitig vordefinierten Makros siehe Kapitel "Die LCS Makrosprache".

3. Control Panel Templates

In diesem Verzeichnis werden benutzerdefinierte und werksseitig vordefinierte Konfigurationen der Bedienkonsole abgespeichert.

4. Profile

In diesem Verzeichnis werden benutzerdefinierte Konfigurationen der graphischen Benutzeroberfläche abgespeichert. Im einzelnen umfasst dies:

1. Die Art und die Position einer Taste
2. Die Art und Position einer Toolbar (also eines Fensters, das Tasten enthält).

5. Templates

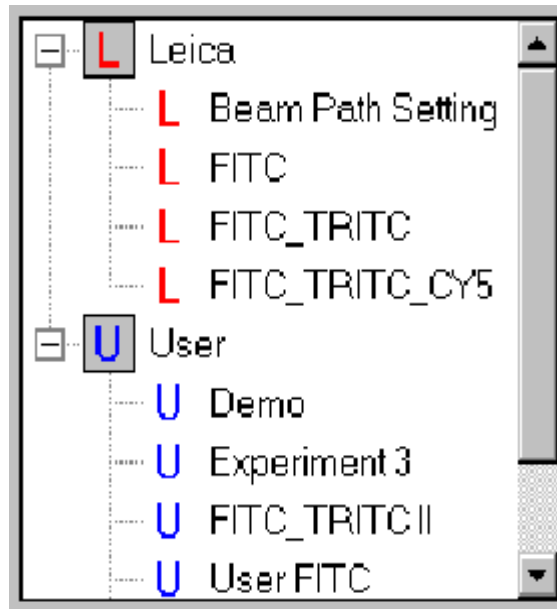
In diesem Verzeichnis werden benutzerdefinierte und werksseitig vordefinierte Vorlagen für das Ansichtsfenster "Viewer" abgespeichert.

10.8 Definition benutzerspezifischer Sätze von Aufnahmeparametern

Werksseitig sind vordefinierte Aufnahmeparameter für typische Anwendungen konfiguriert und entsprechend benannt. Sie befinden sich im Dialogfenster "Beam Path Setting" unter dem Verzeichnis "Leica". So bedeutet beispielsweise FITC_TRITC_CY5 einen Aufnahmemodus, der drei Kanäle simultan detektiert. Bei Auswahl dieses Parametersatzes werden entsprechend den Charakteristika der im Namen genannten Fluorochrome die Anregungswellenlängen, deren Intensität sowie die Lage und Breite der Detektionsbanden automatisch eingestellt.

Hinweis

Die werksseitig vordefinierten Aufnahmeparameter können nicht überschrieben werden. So können Sie immer auf einen korrekten Satz von Standardwerten zurückgreifen.



Dialog zur Auflistung von Aufnahmeparametern

10.8.1 Vorgehensweise bei der Neudefinition benutzerspezifischer Aufnahmeparameter

1. Öffnen Sie das Dialogfenster **Beam Path Setting**
2. Stellen Sie die entsprechenden Aufnahmeparameter ein.
Nähere Informationen zu den einzelnen Elementen des Dialogfensters, siehe Kapitel "Strahlengang einstellen" in der Onlinehilfe.
3. Speichern Sie nun den Satz der neu definierten Aufnahmeparameter, in dem Sie die **Save**-Taste drücken.

10.8.2 Vorgehensweise bei der Modifikationen eines bereits definierten Satzes benutzerspezifischer Aufnahmeparameter

1. Öffnen Sie das Dialogfenster **Beam Path Setting**
2. Öffnen Sie einen Parametersatz, den Sie modifizieren wollen. Wählen Sie dazu einen Parametersatz aus, der dem zu definierenden möglichst ähnlich ist.
2. Verändern Sie die entsprechenden Aufnahmeparameter.
Nähere Informationen zu den einzelnen Elementen des Dialogfensters, siehe Kapitel "Strahlengang einstellen" in der Onlinehilfe.
3. Speichern Sie nun den Satz der geänderten Aufnahmeparameter, in dem Sie die **Save**-Taste drücken.

Hinweis

Wenn Sie einen bereits definierten Satz von Aufnahmeparametern verändern wollen, sollten Sie den Namen des abzuspeichernden ebenfalls ändern. Sonst wird der Originaldatensatz durch den neuen Datensatz überschrieben.



10.9 Benutzerspezifische Anpassung der Bedienkonsole

Mit der Bedienkonsole können wichtige Scanparameter direkt während des Betriebs eingestellt und verändert werden. Dabei kontrolliert jeder Drehknopf des Kontrollpanals einen Scanparameter.

Welcher Drehknopf welchen Scanparameter kontrolliert, wird werksseitig durch eine Standardbelegung definiert. Die Belegung der einzelnen Drehknöpfe kann aber vom Benutzer abgeändert und in einer Vorlage (Panelbox Template) gespeichert werden.

10.9.1 Vorgehensweise bei der Definition von Vorlagen für die Bedienkonsole

1. 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.
2. 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.
3. Haben Sie allen Drehknöpfen eine Funktion zugeordnet, können Sie diese Konfiguration als Vorlage abspeichern.
4. Klicken Sie auf die linke der drei Schaltflächen, die sich am rechten Rand der Statusleiste der Bedienkonsole befinden. Ein Dialogfenster wird geöffnet, in dem Sie der Konfiguration einen Namen geben und sie speichern können.

10.9.2 Laden einer Vorlage für die Bedienkonsole

1. 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.
2. Klicken Sie auf die rechte der drei Schaltflächen, die sich am rechten Rand der Statusleiste der Bedienkonsole befinden. Ein Dialogfenster wird geöffnet, in dem alle Konfigurationen für die Bedienkonsole aufgelistet sind.

Hinweis

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 weitere Befehle zur Verfügung.

Nähere Informationen siehe Kapitel "Funktionen über die Bedienkonsole steuern".



10.10 Benutzerspezifische Anordnung der Funktionstasten

Sämtliche in der LCS Software vorhandenen Funktionstasten lassen sich beliebig auf einzelne Toolbars (Fenster für die Tasten; Toolbar) verteilen. So kann man beispielsweise unterschiedlichen Benutzerleveln gerecht werden. Vorstellbar ist, dass nur die Tasten für unmittelbar notwendige Scanfunktionen in Toolbars untergebracht werden, für die anderen Funktionen die vom System voreingestellten Standardwerte verwendet werden.

Hinweis:

Benutzerspezifische Anordnungen von Funktionstasten bzw. Toolbars können nur definiert werden, wenn die LCS Software im "Personal"-Mode gestartet wird. Im "Company"-Mode sind diese Modifikationen nicht möglich.

10.10.1 Vorgehensweise bei der Aufnahme von neuen Funktionstasten in eine Toolbar

1. Wählen Sie über die Menüzeile **Tools->Customize**.
2. Wählen Sie das Register **Commands**.
3. Ziehen Sie die neu aufzunehmende Taste mit der linken Maustaste (Maustaste gedrückt halten) in die entsprechende Toolbar.

Hinweis

Die Position, in die die Taste eingefügt wird, ist gekennzeichnet durch ein rotes Kreuz.

10.10.2 Vorgehensweise beim Entfernen von Funktionstasten aus einer Toolbar


1. Wählen Sie über die Menüzeile **Tools->Customize**.
2. Wählen Sie das Register **Commands**.
3. Ziehen Sie die zu entfernende Taste mit der linken Maustaste (Maustaste gedrückt halten) aus der entsprechenden Toolbar in den Papierkorb des **Customize**-Dialogfensters.

10.10.3 Definition einer neuen Toolbar

1. Wählen Sie über die Menüzeile **Tools->Customize**.
2. Wählen Sie das Register **Toolbars**.
3. Drücken Sie die Taste **New toolbar**.
4. Geben Sie nun einen Namen für die neue Toolbar an und bestätigen Sie mit der **OK**-Taste.

10.10.4 Löschen einer Toolbar

1. Wählen Sie über die Menüzeile **Tools->Customize**.
2. Wählen Sie das Register **Toolbars**.

- 
3. Wählen Sie aus der Toolbarliste die zu löschende Toolbar an.
 4. Bestätigen Sie den Löschbefehl mit **Yes** oder brechen Sie ab mit **No**.

10.10.5 Umbenennen einer Toolbar

1. Wählen Sie über die Menüzeile **Tools->Customize**.
2. Wählen Sie das Register **Toolbars**.
3. Wählen Sie aus der Toolbarliste die Toolbar an, den Sie umbenennen wollen.
4. Geben Sie einen neuen Namen und bestätigen Sie mit **Yes** oder brechen Sie ab mit **No**.

10.10.6 Verschieben einer Toolbar

Jede eingebettete Toolbar kann an einem einseitigen Doppelrand erkannt werden.

1. Fassen Sie die Toolbar am Doppelrand mit der linken Maustaste an und halten Sie die linke Maustaste gedrückt.
2. Verschieben Sie die gesamte Toolbar nun in die neue gewünschte Position.
3. Lösen Sie in der neuen Position die linke Maustaste.

10.11 Benutzerspezifische Einstellung des Ansichtsfensters "Viewer"

Durch Klicken mit der rechten Maustaste in das Ansichtsfenster "Viewer" wird eine Auswahl von Konfigurationsmöglichkeiten des Ansichtsfensters. Eine Erklärung der einzelnen Konfigurationsmöglichkeiten erhalten Sie im Kapitel "Ansichtsfenster Viewer".

10.12 Abspeichern eines benutzerspezifischen Profils

Ein spezifisches Profil der graphischen Benutzeroberfläche kann abgespeichert werden.

Abgespeichert werden dabei die Konfiguration des Ansichtsfensters "Viewer", die Art, Position und Grösse von Toolbars sowie die Art und Position von Tasten.

Gehen Sie zum Abspeichern eines Profils wie folgt vor:

1. Wählen Sie über die Menüzeile **Tools->Customize**.
2. Wählen Sie das Register **Profile**.
3. Wählen Sie **Save Profile as...**
4. Geben Sie einen neuen Namen und speichern Sie mit **Save** oder brechen Sie ab mit **Cancel**.

10.13 Laden eines benutzerspezifischen Profils

Ein abgespeichertes benutzerspezifisches Profil der graphischen Benutzeroberfläche kann beim Starten der LCS Software wieder geladen werden.



1. Starten Sie die LCS Software.
2. Klicken Sie im Startfenster auf die rechte äußeren Taste, die sich neben der Taste **"Cancel"** befindet
3. Wählen Sie **Load Special Profile...**
4. Wählen Sie aus dem nun geöffneten Dialogfenster ein entsprechendes Profil.

Hinweis

Sie können ein Profil auch außerhalb des Standardverzeichnisses abspeichern. Sie müssen dann allerdings den gesamten Pfad über den geöffneten Dialog suchen.

10.13.1 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 Farbzuzuordnungstabellen sowie die Legende Experiment.

[📖 siehe Ansichtsfenster Viewer](#)

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 Farbzuzuordnungstabellen.
Viewer (Standard)	Das Ansichtsfenster besteht aus den Tastenfeldern, dem Bildfenster, den Farbleisten der Farbzuzuordnungstabellen 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.

11 Die LCS Makrosprache

11.1 Was sind Makros

Makros sind kleine Programme, die innerhalb einer Softwareanwendung laufen. Wichtige Steuerfunktionen einer Softwareanwendung werden dabei für einen programmierten Zugriff durch den Benutzer freigelegt.



Durch Makros können freigelegte Funktionen in eigenen Programmen verwendet und angeordnet werden. Damit wird die Automatisierung eines Experimentes ermöglicht.

11.2 Wie können Makros definiert und verwendet werden

Prinzipiell gibt es drei Möglichkeiten der Nutzung von Makros.

Die erste Möglichkeit besteht in der Nutzung von werksseitigen Makros, die von professionellen Softwareentwicklern in enger Zusammenarbeit mit Anwendungsspezialisten programmiert werden.

Diese Makros befinden sich im Verzeichnis d:\Leica mit der Dateierweiterung *.mac. Die Nutzung dieser Makros ist für alle Softwareoptionen möglich.

Die zweite Möglichkeit besteht in der automatischen Aufzeichnung von Makros. Dabei werden die Aktionen des Benutzers durch einen Makrorekorder beobachtet und den zu jeder freigelegten Funktion gehörigen Programmcode in eine Makrodatei geschrieben. Makros dieser Art sind zwar benutzerspezifisch, lassen aber nur eine lineare Abarbeitung zu. Programmschleifen und Abfragen sind hierbei nicht möglich.

Die dritte Möglichkeit besteht aus einer kompletten VBA-Entwicklungsumgebung (**V**isual **B**asic for **A**pplications) und ist nur als zusätzliche Softwareoption erhältlich. Mit der VBA-Entwicklungsumgebung lassen sich je nach Programmierfähigkeit des Anwenders recht komplexe Makros definieren.

Generell gibt es zwei verschiedene Typen von Makros: werksseitig definierte und benutzerdefinierte. Wie bereits bei der Speicherung benutzerspezifischer Sätze von Aufnahmeparametern beschrieben (siehe Kapitel "Benutzeranpassungen Software"), besteht auch das Makroverzeichnis aus einem Listenfeld mit den Haupteinträgen "Leica" und "User". Unter dem Haupteintrag "Leica" befinden sich alle werksseitigen Makros. Unter dem Haupteintrag "User" befinden sich alle benutzerdefinierten Makros. Jeder Haupteintrag unterteilt sich in einzelne Module. Innerhalb der Module befinden sich die einzelnen Makros.

Hinweis

Nur in der optionalen VBA-Entwicklungsumgebung können neue Module erzeugt und bereits vorhandene Module umbenannt werden.

Eine komplette Beschreibung der VBA-Programmiersprache würde den Rahmen dieses Handbuches bei weitem sprengen. Informationen über grundlegende Komponenten der Makroumgebung sind dennoch in dieser Dokumentation enthalten. Für tiefergehende, detailliertere Informationen sei deshalb an dieser Stelle auf einschlägige Literatur und Programmierhandbücher zu VBA verwiesen.

11.3 Allgemeines zur Programmierung von Makros in der LCS Software

Zur Ansteuerung der LCS Software wurde eine universelle Programmierschnittstelle geschaffen. Diese erlaubt es dem Benutzer, die LCS Software sowohl über die eingebaute VBA Sprache als auch über externe Programme (z.B. VB, Visual J++ oder VBScript) zu steuern. Letztere Möglichkeit empfiehlt sich nur für erfahrene Programmierer.

Hinweis

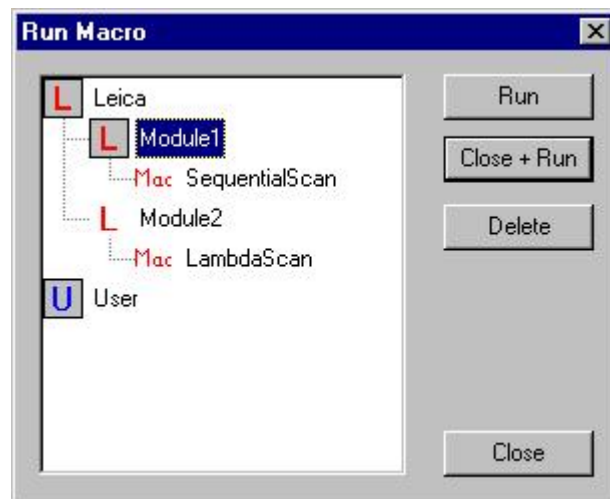
Es empfiehlt sich für Benutzer mit geringer Programmiererfahrung, sich ein Makro mit dem Rekorder aufzuzeichnen und dieses anschließend mit dem VBA-Makroeditor zu ändern.

11.4 Nutzung vordefinierter Makros

Werkseitig werden einige Standardmakros bereitgestellt. Da Makros auch direkt die Steuerung von Hardwarekomponenten übernehmen, sollten nur Makros gestartet werden, die auch tatsächlich vorhandene Hardwarekomponenten ansprechen. Zur Identifikation sind die werkseitig definierten Makros mit sprechenden Namen versehen, die dem Benutzer die Identifikation der angesprochenen Hardwarekomponenten erleichtern soll.

Hinweis

Wenn versehentlich ein Makro gestartet wird, das nicht vorhandene Hardwarekomponenten anspricht, wird lediglich die Abarbeitung des Makros an der entsprechenden Stelle unterbrochen. Weitere Auswirkung auf das Laufverhalten der LCS-Software gibt es keine.



11.5 Starten von aufgezeichneten Makros

Zum Starten von Makros, wählen Sie in der Menüzeile die Option **Macro->Run macros...** Es öffnet sich ein Listenfeld (siehe oben). Durch Doppelklick mit der linken Maustaste auf das entsprechende Modul, lässt sich dieses öffnen und zeigt die darin enthaltenen Makros an. Ein Makro kann durch einfachen Klick mit der linken Maustaste ausgewählt werden. Zum Starten des Makros drücken Sie entweder die Taste "Run" oder die Taste "Close + Run". Die Taste "Run" startet das Makro ohne dass das Listenfeld geschlossen wird. Dadurch können mehrere Makros hintereinander ausgeführt werden, ohne dass das Listenfeld jedesmal erneut geöffnet werden muss. Die Taste "Close + Run" schliesst das Listenfeld und startet danach das ausgewählte Makro.

11.6 Automatische Aufzeichnung von Makros

Zur automatischen Aufzeichnung von Makros, wählen Sie in der Menüzeile die Option **Macro->Record a new macro...** Es öffnet sich daraufhin ein Dialogfenster, in dem ein Makroname sowie eine Makrobeschreibung eingegeben werden können.

Hinweis

Es empfiehlt sich, möglichst sprechende Makronamen zu verwenden, um aus dem Namen schon auf die Funktion des Makros schliessen zu können. Das erleichtert später das Wiederauffinden von Makros. Kommentare wie in der Makrobeschreibung sind ebenso ein wichtiges Hilfsmittel zur Darstellung der Funktion eines Makros.

Zum Start der Makroaufzeichnung, ist die OK-Taste zu drücken. Zum Abbrechen ist die CANCEL-Taste zu drücken.
Es erscheint eine kleine Toolbar mit drei Tasten.



Die Taste mit dem roten ausgefüllten Kreis ist gedrückt, wenn gerade ein Makro aufgezeichnet wird.

Die Taste mit dem ausgefüllten blauen Quadrat wird gedrückt, wenn die Makroaufzeichnung beendet werden soll.

Die Taste mit den blauen Balken wird gedrückt, wenn die Makroaufzeichnung zeitweise unterbrochen werden soll. Zur Wiederaufnahme der Makroaufzeichnung muss die Aufnahmetaste (roter ausgefüllter Kreis) gedrückt werden.

11.7 Programmierung von Makros mit der VBA Entwicklungsumgebung (optional)

Dieses Kapitel gibt eine Einleitung zur Verwendung von VBA in der LCS-Software. Es wird erklärt wie man Programme in VBA erstellt, testet und ausführt. Zum besseren Verständnis dieses Kapitels sind grundlegende Programmierkenntnisse in einer Programmiersprache wie Visual Basic empfehlenswert aber nicht unbedingt notwendig. Weitere Hilfe zu Visual Basic liefert unter anderem das Hilfesystem von Microsoft. Desweiteren gibt es auf dem Markt eine grosse Anzahl von Literatur zu dieser Programmiersprache. Es ist empfehlenswert sich aus der grossen Flut von Büchern ein für die vorhandenen Programmkenntnisse passendes Buch herauszusuchen.

11.7.1 VBA-Projekte

LCS stellt eine voll funktionierende Multiuserumgebung dar. Es gibt allgemeine, global zugängliche Dateien, die im LCS-Verzeichnis installiert werden, und Dateien, die sich im persönlichen Benutzerverzeichnis befinden. Hierbei baut LCS auf die Benutzerverwaltung von Windows NT auf und verwendet das dort eingerichtete persönlich Benutzerverzeichnis. Dieses wird auch von der VBA Lösung vollständig unterstützt. Es gibt in VBA ein Projekt, das dem Haupteintrag Leica im Listenfeld entspricht und das allen Benutzern zugänglich ist. Dieses Projekt und seine Bestandteile sind nur lesbar, nicht aber überschreibbar. Desweiteren gibt es ein persönliches Projekt, das dem Haupteintrag Leica im Listenfeld entspricht und das jedem Benutzer persönlich zugeordnet ist. Dieses wird im persönlichen Benutzerverzeichnis als Datei User.mac abgespeichert und ist als Ordner für persönliche Makros gedacht.

Die Hierarchie in der Makroentwicklung besteht aus folgenden Ebenen:

1. Projekt

1.1 Modul

1.1.1. Makro

Ein VBA-Projekt besteht demnach aus einer Gruppe von Moduldateien (einzelnen Ordnern), die den Makro-Programmcode verwalten. Innerhalb

dieser Module sind die einzelnen Makros als Unterelemente enthalten. Es gibt verschiedene Arten von Modulen: *class modules*, *user forms* und *standard modules*.

class modules beinhalten Programmcode, die eine Objektklasse definieren. Man verwendet class modules um neue Objekte zu definieren und zum Projekt hinzuzufügen.

user forms definieren Dialogboxen und Oberflächenelemente innerhalb eines Programmes. Oberflächenelemente können z.B. Tasten, Listcontrols oder Checkboxes sein.

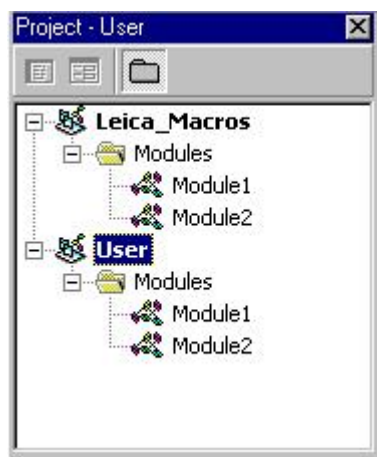
standard modules beinhalten Prozeduren, Typen und Datendeklarationen, die anderen Modulen in einer Applikation zugänglich sind. Hier sollten zentrale, wiederverwendbare Programmcodekomponenten implementiert werden.

LCS erlaubt das Speichern des Projektes **User** im zugehörigen Benutzerverzeichnis unter der Datei LCS\Macros\User.mac. Das Abspeichern ist über den Menüpunkt **File->Save user** möglich. Außerdem wird das Projekt **User** bei jedem Beenden von LCS automatisch gespeichert.

11.7.2 VBA-Module

Benutzung des Visual Basic Editors

Der Visual Basic Editor wird verwendet, um Programme innerhalb von LCS zu erstellen und zu ändern. Um den Visual Basic Editor zu öffnen, wählen Sie in der Menüzeile die Option **Macro->VisualBasic Editor**. Alternativ kann der Editor auch über die Tastenkombination **ALT+F11** geöffnet werden. Nach dem Öffnen des Visual Basic Editors erscheint ein Listenfeld, das die Projekte *Leica_Macros* und *User* darstellt. Innerhalb dieser Projekte sind die einzelnen Module zugänglich.



VBA-Projektverzeichnis

Durch Doppelklick mit der linken Maustaste auf die entsprechenden Module, werden diese geöffnet. Alternativ dazu kann ein Modul auch über die rechte Maustaste geöffnet werden. Wählen Sie aus dem angezeigten Kontextmenü die Option "View Code". Die einzelnen Makros innerhalb des Moduls können nun bearbeitet werden.

Jedes Modul wird in einem separaten Editorfenster geöffnet. Der Programmcode innerhalb eines Moduls hat eine eigene Struktur und wird in einzelne Abschnitte unterteilt, zwischen denen man über eine Objektliste hin und her springen kann.



VBA-Editor: Objektliste (hier angezeigter Abschnitt: Declarations)

In einem *class module* beinhaltet die Objektliste einen generellen Teil und einen klassenspezifischen Teil.

In einem *standard module* beinhaltet sie nur einen generellen Teil.

In einer *user form* beinhaltet die Objektliste einen generellen Teil, einen *user form* spezifischen Teil und einen Teil für jedes einzelne Kontrollelement.

Jedes Modul hat gewöhnlich verschiedene Prozeduren (Makros) zwischen denen man über eine Prozedurliste hin- und herspringen kann. VBA vereinfacht das Erstellen von Programmcode insbesondere, durch die von Microsoft entwickelte **Intellisense**.

Man erhält zum Beispiel zu jedem Makroobjekt eine Liste der vorhanden Methoden und Attribute durch Eintippen eines Punktes hinter dem Objektnamen. Die einer Methode zugehörigen Übergabeparameter erhält man durch das Eintippen eines Leerzeichens hinter dem Funktionsnamen. Mit Hilfe der Tabulatortaste kann man den Programmcode jeweils automatisch vervollständigen. Somit kann ein ständiges Nachschlagen in Objektbibliotheken weitestgehend vermieden werden. Eine Darstellung der zur Programmierung vorhandenen Objekte und deren zugehörige Erläuterungen finden Sie im Kapitel "Das Objektmodell der LCS Software". Darüberhinaus können auch sämtliche Objekte in allen verfügbaren Objektbibliotheken mit dem Objektbrowser angezeigt werden. Wählen Sie dazu in der Menüzeile die Option **View->Object Browser** oder verwenden Sie die F2-Taste.

Hinweis

Die Intellisensefunktion kann im VBA-Editor ein- und ausgeschaltet werden über die Menüleiste. Wählen Sie hierfür die Option Tools->Options. Im Register "Editor" sind die Optionen "Auto List Members" und "Auto Quick Info" an- bzw. abzuwählen.

Hinweis

Im VBA-Editor gibt es eine automatische Kontrolle der Syntax. Der Editor kontrolliert bei einem Zeilenwechsel die zuletzt bearbeitete Zeile auf korrekte Verwendung der Syntaxregeln. Falsche Groß- und Kleinschreibung wird nicht als Syntaxfehler betrachtet, sondern automatisch entsprechend der richtigen Syntax angepaßt.

Gut organisierte Projekte ermöglichen eine bessere Übersicht und eine einfachere Pflege eines Visual Basic Programmes. Visual Basic bietet einige Merkmale der objektorientierten Programmierung, die nach Möglichkeit genutzt werden sollten. Als Unterteilung eines Projektes sollte von Einsteigern auf *modules*, von erfahrenen Programmierern auf *class modules* zurückgegriffen werden.

Hinweis für erfahrene Programmierer


class modules sollten keinen Programmcode enthalten, der ein Objekt direkt determiniert. In dieser Art von Modul sollte nur Programmcode zur Definition von Objektklassen verwendet werden. Die einzelnen Klassen dienen bei der Erzeugung (Instanziierung) von Objekten zur Laufzeit als Vorlage. Die in der Klasse definierten Merkmale gehen dabei an das Objekt über. Eine einzige Klasse kann dabei beliebig viele Objekte erzeugen. Die einzelnen Ausprägungen der Merkmale können für jedes Objekt separat vorgenommen werden. Im Gegensatz dazu können Eigenschaften von Objekten, die in einem normalen module programmiert wurden, nur genauso an weitere Objekte weitergegeben werden (statisch).

Um sich dieses objektorientierte Merkmal leichter vorstellen zu können, sei an dieser Stelle ein Beispiel genannt.

Angenommen, es soll die Darstellung eines Tieres programmiert werden. In einem normalen standard module wird jedes Tier durch eine separate Prozedur definiert. Jede Prozedur legt somit die Darstellung eines einzelnen Tieres fest. In einem class module würde man folgendermaßen vorgehen. Man würde alle typischen, artenübergreifenden Merkmale von Tieren als Klasse definieren. Die Klasse Tier bestünde beispielsweise aus den Merkmalen Rumpf, Beine, Kopf und Haut. Innerhalb eines standard modules könnte nun auf diese Klassendefinition zurückgegriffen werden, indem Objekte dieser Klasse erzeugt werden würden. Fachleute sprechen bei diesem Vorgang von der Bildung einer Instanz der Klasse. Jedem erzeugten Objekt können nun verschiedene Merkmalsausprägungen definiert werden. Beispielsweise könnte man für Objekt1 die Ausprägungen (Rumpf=Vierbeiner, Beine = 4_lang, Kopf = Langform_kleine_Ohren, Haut=schwarz_weiss_gestreift) definieren und bekäme als Ergebnis ein Tier, das einem Zebra ähnelt. Für Objekt2, das aus derselben Klasse wie Objekt1 erzeugt wurde, könnte man die Ausprägungen (Rumpf=Vierbeiner, Beine = 4_kurz, Kopf = Dickform_kleine_Ohren, Haut=dunkelgrau) definieren und bekäme als Ergebnis ein Tier, das einem Flusspferd ähnelt. Durch die konsequente Benutzung von Klassen zur Erzeugung von Objekten, kann die Menge des notwendigen Programmcodes erheblich reduziert werden.

Die Datei Company.mac, die das Projekt Leica_Macro beinhaltet, liefert einige Beispielmakros die Aufschluß über das Design von Visual Basic Macros geben.

Einfügen eines Moduls

- 
1. Wählen Sie in der Projektliste das Projekt aus, in das ein Modul eingefügt werden soll.
 2. Wählen Sie über die Menüzeile die Option **Insert->module** oder **Insert->Class module** um ein Modul zu öffnen.
 3. Öffnen Sie das Modul durch einen Doppelklick mit der linken Maustaste. dadurch wird der VBA-Editor geöffnet.

Importieren und Exportieren von Modulen

Ein Modul besteht aus unterschiedlichen Teilen, die als einzelne Dateien exportiert und importiert werden können. Dies dient dem Austausch von Programmen und Programmteilen zwischen einzelnen Projekten. Hierzu dienen die Menüpunkte **File->Import File...** und **File->Export file...**. Es werden *user forms* als *.frm-, *standard modules* als *.bas-, *class modules* als *.cls- und *ressourcen* als *.res-Dateien exportiert bzw. importiert. Zum Exportieren aktiviert man das zum Modul zugehörige Fenster und wählt den Menüpunkt **Export File**, zum Importieren wählt man den Menüpunkt **Import File**.

Einfügen von Prozeduren

Es gibt drei Arten von Prozeduren innerhalb von Modulen:

1. Subprozeduren,
2. Funktionen und
3. Properties.

Dabei ist folgendes zu berücksichtigen:

1. Subprozeduren kann man keine Parameter übergeben.
2. Funktionen können Parameter übergeben bekommen und sie können einen Wert zurückliefern.
3. Properties definieren den Charakter eines Objektes.

Prozeduren können per Hand in eine Modul eingefügt werden. Alternativ dazu können über den Menüpunkt **Insert->Procedure** Subprozeduren, Funktionen und Properties in ein Modul eingefügt werden. Jede Prozedur hat eine Kennung *public* oder *private*. Prozeduren mit der Kennung *private* sind nur in Modulen verfügbar, in denen sie tatsächlich enthalten sind. Prozeduren mit der Kennung *public* stehen dagegen auch in anderen Modulen dieses oder anderer Projekte zur Verfügung. Empfehlenswert ist es, Prozeduren in *class modules* mit der Kennung *private* und Prozeduren in *standard modules* mit der Kennung *public* zu versehen.

Starten eines VBA-Programms

Ein VBA-Programm kann innerhalb eines Moduls jederzeit gestartet werden. Hierfür muß man den Cursor in das entsprechende Makroprogramm positionieren und das Programm mit **F5** oder über den Menüpunkt **Run->RunSub** starten.

11.7.3 VBA-Forms

Einfügen einer Form

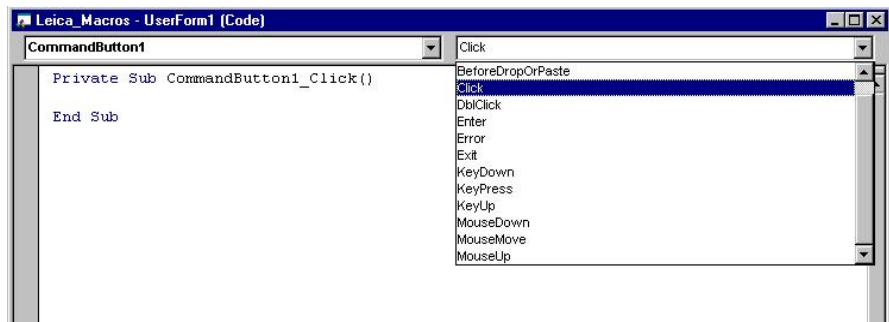
1. Wählen Sie in der Projektliste das Projekt aus, in das ein Modul eingefügt werden soll
2. Um eine Form zu öffnen, wählen Sie über die Menüzeile die Option **Insert->Userform**.

Dadurch wird auch automatisch der Form-Editor geöffnet.

Bearbeiten einer Form

Doppelklicken auf den Namen der Form im Projektverzeichnis öffnet den Form-Editor. Einzelne Kontrollelemente (Controls) können aus dem Fenster "Toolbox" in die Form eingefügt werden. Dazu fasst man das entsprechende Kontrollelement mit der linken Maustaste an, hält die Maustaste gedrückt und transportiert das Kontrollelement an die entsprechende Stelle auf der Form. Anschliessend müssen die einzelnen

Kontrollelemente mit einer Funktion versehen werden. Dazu wird durch einen Doppelklick auf das entsprechende Kontrollelement ein Modul geöffnet, in den das der Programmcode für das Kontrollelement eingetragen wird. Dabei wird automatisch eine entsprechende Funktion, eine sog. Ereignishandlerfunktion, mit Eröffnungs- und Schlusstatement in das Modul eingetragen. Ab hier muss nun zwischen Eröffnungs- und Schlusstatement der entsprechend gewünschte Programmcode erzeugt werden. Ein Doppelklick auf die *user form* erstellt beispielsweise die Ereignishandlerfunktion *Private Sub UserForm_Click()*. Über die Methodenlistbox, die sich rechts oben im Editorfenster befindet, können weitere Ereignishandlerfunktionen hinzugefügt werden.



Modul zur Programmierung von Ereignishandlerfunktionen

Alle Funktionen und Eigenschaften zu einem Kontrollelement können über die Intellisensefunktionalität angezeigt werden. Hierzu muß man einfach nur den Namen des Kontrollelementes und einen Punkt eintippen.

Starten einer VBA-Form

Ein VBA-Form kann innerhalb eines Moduls jederzeit gestartet werden. Hierfür muß man die zu startende Form im Formeditor öffnen. Das Editorfenster muss aktiv sein. Starten Sie die Form durch Drücken der **F5**-Taste bzw. über den Menüpunkt **Run->RunUserForm**.

11.7.4 VBA-Programmierwerkzeuge

Fehleranalyse des Programmcodes (Debugging)

VBA verfügt über zusätzliche Entwicklungswerkzeuge. Hierzu gehören auch Werkzeuge zur Fehlerfindung und Fehleranalyse von Programmcode.

Die Fehleranalyse, das Debuggen, ermöglicht die Kontrolle des Programmcodes während eines Programmablaufs. Dabei wird der Programmcode zeilenweise kontrolliert. Hierdurch können Programmfehler entdeckt und behoben werden.

1. Setzen eines Haltepunktes:

An einem Haltepunkt kann die Ausführung von Programmcode angehalten werden. Einen Haltepunkt (Breakpoint) kann man setzen durch das Anklicken des grauen Randes links von der gewünschten Zeile. Alternativ dazu kann die gewünschte Zeile ausgewählt und die Taste **F9** gedrückt werden.

2. Testen eines Haltepunktes:

Die Abarbeitung eines Programms kann über die **F5**-Taste gestartet werden. Das Programm wird an der Stelle gestoppt, an der der Haltepunkt gesetzt wurde. Ab hier kann nun das Programm über die Tastenkombination **Shift+F8** zeilenweise fortgesetzt werden. Mit der Taste **F8** können tiefergehende Programmaufrufe verfolgt werden.



3. Anzeigen von Variablenwerten:

Während das Programm im Debugmodus abgearbeitet wird, kann man sich die Inhalte sämtlicher Variablen über eine Kurzerklärung (Banner-Help) anzeigen lassen. Zur Anzeige der Kurzerklärung, muss mit dem Mauszeiger langsam über die entsprechende Variable innerhalb des POrogrammcodes gefahren werden. Desweiteren können Variablenwerte auch innerhalb eines "Quick Watch" Fensters angezeigt werden. Dazu muss die entsprechende Variable ausgewählt und danach die tastenkombination **Shift+F9** gedrückt werden. Weitere Debugmöglichkeiten finden sich unter dem Menüpunkt **Debug**.

11.8 Das Objektmodell der LCS Software

Das Leica-spezifische Objektmodell besteht aus mehreren Hierarchieebenen:

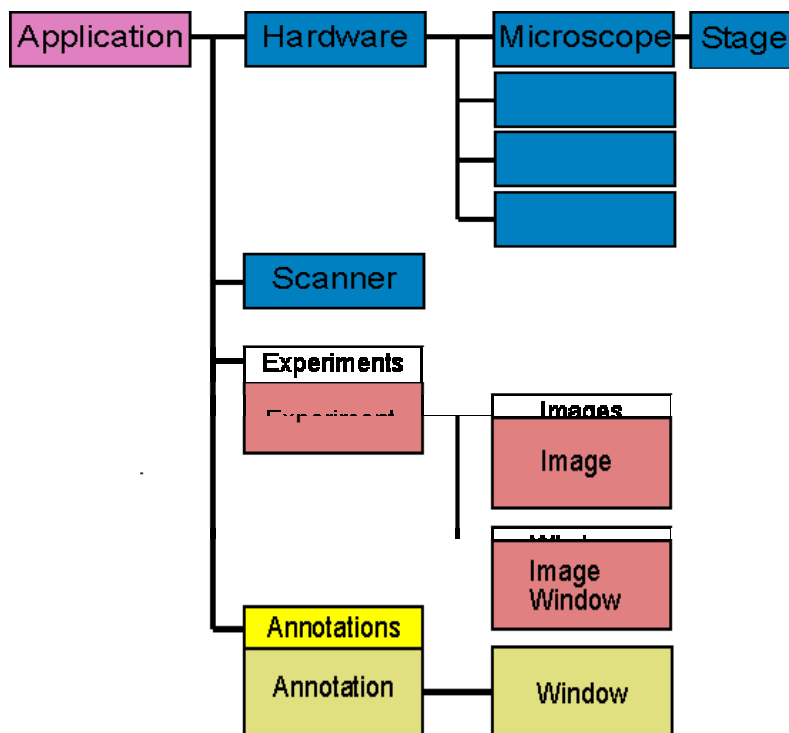
Die einzelnen Objekte der Leica-spezifischen Makro befinden sich in der Objektbibliothek TCSLIB. Diese Objektbibliothek ist im Objektbrowser einzusehen.

Hinweis

Der Objektbrowser ist über die Taste F2 im Makroeditor zu öffnen.

11.8.1 Das LCS Objektmodell

Beim Aufrufen eines LCS Objektes im Programmcode, sind die Objekte der höheren Hierarchieebenen durch einen Punkt voranzustellen. So sit z.B. das Objekt *Stage* aufzurufen über den Programmcode *Application.Hardware.Microscope.Stage*. Mit eingeschalteter Intellisense-Funktion, werden nur die jeweils gültigen Unterobjekte angezeigt (siehe Kapitel "VBA-Module").



Darstellung des LCS Objektmodells

11.9 Makro-Anwendungsbeispiele

Im folgenden Kapitel werden einzelne Beispiele dargestellt, in denen gezeigt wird, wie man auf die COM-Schnittstelle von LCS zugreifen kann. Es liegen Beispiele in VBA, Visual Basic, Visual J++ und Visual Basic Script vor.

11.9.1 Beispiel 1: Ein einfacher Lambda Scan mit 2 Kanälen in VBA realisiert

Das Listing zum Programm:

```
Private Sub app_OnScanState(ByVal eState As EScanState)
    If (eState = eScanIdle) Then
        MakeSingleScan
    End If ' end if of eState
End Sub
Private Sub MakeSingleScan()
    If (nCounter < 10) Then
        ' move the ranges
        Select Case nCounter
        Case 0:
            ' activate channel 1
            Hardware.ActivateDetectionUnit eChannel1
            Hardware.Spectrophotometer.SetRange eChannel1, 500#, 510#
        Case 1:
            Hardware.Spectrophotometer.SetRange eChannel1, 510#, 520#
        Case 2:
            Hardware.Spectrophotometer.SetRange eChannel1, 520#, 530#
        Case 3:
            Hardware.Spectrophotometer.SetRange eChannel1, 530#, 540#
        Case 4:
            Hardware.Spectrophotometer.SetRange eChannel1, 540#, 550#
        Case 5:
            ' deactivate channel 1
            Hardware.DeactivateDetectionUnit eChannel1
            ' activate channel 2
            Hardware.ActivateDetectionUnit eChannel2
            Hardware.Spectrophotometer.SetRange eChannel2, 560#, 570#
        Case 6:
            Hardware.Spectrophotometer.SetRange eChannel2, 570#, 580#
        Case 7:
            Hardware.Spectrophotometer.SetRange eChannel2, 580#, 590#
        Case 8:
            Hardware.Spectrophotometer.SetRange eChannel2, 590#, 600#
        Case 9:
            Hardware.Spectrophotometer.SetRange eChannel2, 600#, 610#
        End Select

        Scanner.StartSingleScan
        nCounter = nCounter + 1
    End If 'end if of nCounter
End Sub
```

11.9.2 Beispiel 2: Ein Makro zur Rotation des Scanfeldes in VBA realisiert

Kurzerklärung

Als Reaktion auf Button1_Click, werden 10 einzelne Scanvorgänge gestartet. Nach jedem einzelnen Scanvorgang wird das Scanfeld gedreht. Als Reaktion auf Button2_Click wird ein S Serienscan gestartet. Als Reaktion auf die Meldung *app_onZDrive()* wird das Scanfeld über die Variable *m_Angle* gedreht.

PD

```
Private Sub UserForm_Initialize()  
    Set app = New TCSLIB.TCS  
End Sub
```

```
Private Sub CommandButton1_Click()  
    StartSingleScan  
End Sub
```

```
Private Sub CommandButton2_Click()  
    Dim angle As Double  
    angle = 0#  
    For i = 1 To 10 Step 1  
        Scanner.StartSingleScan True  
        Hardware.SetScanFieldRotation angle  
        angle = angle + 10  
    Next i  
End Sub
```

```
Private Sub CommandButton3_Click()  
    m_Angle = 0#  
    Scanner.Sections = 20  
    Scanner.StartSeriesScan  
End Sub
```

```
Private Sub app_OnZDrive(ByVal pos As Double)  
    Hardware.SetScanFieldRotation m_Angle  
    m_Angle = m_Angle + 5#  
End Sub
```


11.10 Der programmtechnische Zugriff auf die Leica Confocal Software

Zur Ansteuerung der Leica Confocal Software wurde eine universelle Schnittstelle geschaffen, die es dem Benutzer erlaubt das Programm sowohl über eine interne Makrosprache zu erweitern, als auch über externe Programme auf die Software Leica Confocal Software zuzugreifen.

Die Schnittstelle liegt im binären Format vor und ermöglicht dadurch einen Zugriff von beliebigen Programmiersprachen aus, auch über Netzwerke hinweg.

Zur Definition von binären Schnittstellen werden zur Zeit vor allem zwei Verfahren publiziert, das Component Object Model (COM) der Firma Microsoft und die Common Object Request Broker Architecture (CORBA) der Object Management Group (OMG). In der Leica Confocal Software wurde ein COM-Interface integriert, da dieses innerhalb der Windows Welt (Windows NT, Windows 95 und Windows 98) optimale Unterstützung erfährt.

Dieses Interface wird sowohl von der in der Leica Confocal Software integrierten Makroentwicklungsumgebung Visual Basic for Applications



(VBA) genutzt, als auch von externen Entwicklungsumgebungen wie Visual Basic, Visual J++ und VBScript.

Das COM-Interface wurde so in der Leica Confocal Software integriert, dass es hierarchisch unterhalb der Benutzeroberfläche (GUI) direkt auf die Applikationslogik des Programmes zugreift. Der Vorteil hiervon liegt in der direkten Wiederverwendung der Funktionen, die auch von der Benutzeroberfläche verwendet werden.

11.10.1 Datenstrukturen

Zur klareren Definition von Funktionsparametern, die über die COM-Schnittstelle geschickt werden, sind Datenstrukturen aufgestellt worden. Diese sind in der Hilfedokumentation „Leica Confocal Software API“ aufgeführt. Als Beispiel sei hier das Enum *EChannel* aufgeführt. Dieses Enum ermöglicht eine eindeutige Spezifikation der gewünschten Parameter bei bestimmten Funktionen.

Z.B.:

```
appName.Hardware.SetDetectorGain(eChannel1, 500);
```

Der Parameter *eChannel1* steht für den 1. Kanal, während z.B. *eChannelTransmission* für den Transmissionskanal stehen würde.

Die Verwendung von Enums dient vor allem der eindeutigeren Spezifikation einzelner Parameter.

11.10.2 Die Datentypen Integer und Double

Es ist möglich Funktionen, die einen *Double*-Wert erfordern, einen *Integer*-Wert zu übergeben. VBA meldet dann aber häufig einen „Division by Zero Fehler“. Um dies zu verhindern ist es erforderlich in VBA deutlich bekanntzugeben, dass es sich um einen *Double*-Wert handelt. Hierzu kann man z.B. Nackkommastellen angeben, oder ein # verwenden.

Die Syntax sieht dann wie folgt aus:

z.B.:

```
Hardware.Spectrophotometer(eChannel1, 400#, 500#)
```

11.10.3 Zugriff auf die COM-Schnittstelle

Hinweis

Dieses Kapitel beinhaltet spezielle Techniken der Makroprogrammierung und der Benutzung der COM-Schnittstelle und ist deshalb nur für den programmiererfahrenen Benutzer zu empfehlen

Grundlagen

Auf die COM-Schnittstelle kann sowohl aus dem integrierten Visual Basic for Applications Makropaket (VBA) zugegriffen werden als auch von den externen Entwicklungsumgebungen Visual Basic, Visual C++, Visual J++, VB-Script und anderen VBA-Lösungen (Excel, Word usw). Dies sichert eine Sprachunabhängigkeit innerhalb der Windows-Umgebung von Microsoft.

Aus der VBA-Lösung kann über die COM-Schnittstelle auf die Leica Confocal Software zugegriffen werden. Bei allen anderen Entwicklungsumgebungen muss zuerst die Leica Confocal Software gestartet werden. Die Definition der Leica Confocal Software als lauffähiges Programmobjekt kann entweder über eine Createfunktion oder über das Anlegen eines neuen Objektes unter Verwendung des Schlüsselwortes New erfolgen. Ist die Leica Confocal Software als Programm bereits gestartet, wird das Programm, das eine Verbindung zur Leica Confocal Software herstellen will, automatisch verbunden. Das

bedeutet, dass die Leica Confocal Software nicht bei jedem Aufruf immer wieder erneut gestartet wird.

Das Design der Programmierschnittstelle der Leica Confocal Software wurde nach objektorientierten Vorgaben gestaltet, es handelt sich hierbei um ein Objektmodell. Das bedeutet, dass die Funktionen mit denen man auf Leica Confocal Software zugreifen kann, bestimmten Objekten zugeordnet ist. Dies gewährleistet eine optimale logische Struktur der Zugriffsfunktionen.

Als Beispiel sei hier angeführt, dass Funktionen, die direkt auf die Hardware zugreifen (z.B. `SetDetectorGain`), dem Objekt Hardware zugeordnet sind. Anweisungen, die den Scanablauf beeinflussen (z.B. `SetScanSize`) sind dem Object Scanner zugeordnet.

Dies verlangt folgende Syntax für den Zugriff auf die oben angeführten Funktionen:

Beispiel 1:

```
Hardware.SetDetectorGain (EChannel eChannel, double fValue)
```

Beispiel 2:

```
Scanner.SetScanSize(long SizeX, long SizeY)
```

Diese Syntax ist für sämtliche Entwicklungsumgebungen, also sowohl für Visual Basic als auch für Visual J++ gültig.

Zugriff auf die Leica Confocal Software mit Visual Basic

In Visual Basic gibt es zwei mögliche Verfahren, um mit der Leica Confocal Software in Kontakt zu treten. Beim ersten Verfahren deklariert man eine Variable, vom Typ Object in folgender Syntax:

```
Dim appname As Object
```

Das Objekt *appname* muss jetzt noch mit der Leica Confocal Software verbunden werden:

```
Set appname = CreateObject(„TCS.Application“)
```

Auf das Objekt *appname* kann nun zugegriffen werden. Das Objekt bietet unter anderem die Eigenschaften *Hardware* und *Scanner*. Eine Beispielfunktion wäre das Verstellen des Pinholes (in Mikrometer):

```
appname.Hardware.SetPinholeMicrons(0.0003)
```

Das Objekt Leica Confocal Software kann auch über den Operator *New* verbunden werden. Hierfür benötigt man zuerst eine Referenz auf die Leica Confocal Software. Diese erhält man über den Menüpunkt Projekt/References und dem folgenden Dialog References. Es ist eine Referenz zur TCS 1.0 Type Library herzustellen.

Im Visual Basic Programmcode deklariert man seine Variable nun wie folgt:

```
Private appname As TCSLIB.TCS
```

Will man Rückmeldungen vom Server Leica Confocal Software erhalten (siehe auch „Meldungen vom Server Leica Confocal Software“ Seite 86) muss man die Variable wie folgt deklarieren:

```
Private WithEvents appname As TCSLIB.TCS
```

Das Schlüsselwort *WithEvents* ist Bedingung für eine Initialisierung der Verbindungsschnittstelle der Leica Confocal Software.

Das Objekt von Leica Confocal Software wird über folgende Codezeile verbunden:

```
Set app = New TCSLIB.TCS
```

Anschliessend kann auf das Objekt mit den bereits angeführten Funktionen zugegriffen werden.

Z.B.:

```
appname.Hardware.SetPinholeMicrons(0.0003)
```

Java ist wie C++ eine objektorientierte Sprache, darum ist es notwendig in Visual J++ sogenannte Wrapperklassen anzulegen, die die

Funktionalität von Leica Confocal Software kapseln. Dies geschieht über den Menüpunkt Projekt/Add COM Wrapper... unter Auswahl der Typelibrary TCS 1.0 Type Library. Visual J++ legt jetzt Interfaceklassen als Package *tcsntv* an. Dieses Package muss über die Java-Direktive *import* eingebunden werden.

```
import tcsntv.*;
```

Im Java-Programm muss Leica Confocal Software als Variable vom Typ des Interfaces deklariert werden.

```
private ITCS appname;
```

Erzeugt wird die Instanz über den Befehl *new*.

```
try
{
    appname = (ITCS) new TCS();
}
catch(ClassFormatError e)
{
    // an exception occured
}
```

Der *try catch(..)* Befehl ist nicht zwingend notwendig, es empfiehlt sich aber *try catch (..)* immer zu verwenden, um jederzeit einen Überblick über mögliche Fehler zu gewährleisten.

Auf das Objekt *appname* kann man nun über die bekannten Funktionen zugreifen und weitere Objekte der Leica Confocal Software kontrollieren.

Z.B.:

```
ITCSHardware iHardwarename = null;
iHardwarename = (ITCSHardware) appname.getHardware();
iHardwarename. SetDetectorGain (eChannel1, 500);
```

11.10.4 Leica Confocal Software als Server

Eine Software, die als Client mit der Leica Confocal Software (Server) verbunden ist, kann von der Leica Confocal Software Meldungen empfangen. Dieses Verfahren benutzt den umgekehrten Kommunikationsweg wie die Steuerung von Aktionen in Leica Confocal Software von einem Client. Bei diesem Verfahren übernimmt der Client quasi kurzzeitig die „Serverrolle“ und empfängt Funktionsaufrufe vom kurzzeitigen „Client“ Leica Confocal Software.

Die zugrundeliegende Technik für dieses Verfahren wird als "Connections Points" bezeichnet. In der Leica Confocal Software ist ein Connection Point implementiert worden, zu dem sich Clients verbinden können, und so Meldungen empfangen können.

Verwendung von Connection Points aus Visual Basic

In Visual Basic ist es hierzu notwendig die Software mit

```
Private WithEvents appname as TCSLIB.TCS
```

zu deklarieren. Das Schlüsselwort *WithEvents* bewirkt, dass eine Verbindung zum Connection Point automatisch beim Aufrufen der Software aufgebaut wird. Desweiteren ist es notwendig die Software mit dem Befehl

```
Set appname = New TCSLIB.TCS
```

zu starten. Beim Starten wird nun die Verbindung zum Connection Point in Leica Confocal Software hergestellt.

Eine Empfangsfunktion muss wie folgt aussehen:

```
Private Sub appname_onPhase(ByVal message As Double)
MsgBox ("Message from Leica Confocal Software")
End Sub
```

Der Funktionsname setzt sich zusammen aus dem Namen der zu startenden Software (*appname*), einem Unterstrich und dem Namen der

Funktion, die aus der gestarteten Software (hier: Leica Confocal Software) aufgerufen wird. Im oben aufgeführten Beispiel wird auf Änderungen der Phase reagiert (OnPhase). Als Übergabeparameter wird der neue Phasenwert in Weltkoordinaten übergeben.

Verwendung von Connection Points aus Visual J++

In Visual J++ muss zuerst eine Klasse implementiert werden, die als Senke zum Empfang von Meldungen aus der Leica Confocal Software dient. Diese Senke kann einen beliebigen Namen besitzen, muss zwingend von `_ITCSEvents` abgeleitet werden, und die entsprechenden Methoden implementieren.

Z.B.

```
class JavaSink implements _ITCSEvents
{
public void OnPhase(double dValue)
{
//message received
}
}
```

Die Senke muss nach dem Straten der Leica Confocal Software mit dem Connectionpoint verbunden werden.

Dies erfolgt über folgende Befehlsfolge, die den Importbefehl `import com.ms.com.ConnectionPointCookie`; zwingend benötigt.

```
try
{
    JavaSink JSink = new JavaSink();
    ConnectionPointCookie EventCookie = new
    ConnectionPointCookie(app, JSink,
    Class.forName("tcsntv._ITCSEvents"));
}
catch (Exception e)
{
    // exception handling
}
}
```

Die Methode `OnPhase(double dValue)` wird von der Leica Confocal Software jetzt immer aufgerufen, wenn sich im Programm die Phase ändert.

11.10.5 Auswerten der Informationen von der Bedienkonsole

Die Bedienkonsole kann auf Makroebene direkt als Eingabegerät verwendet werden. Hierzu müssen die Informationen von der Bedienkonsole über den Connection Point empfangen werden. Dem Programm muss dazu der entsprechende Einstellknopf bekanntgegeben werden. Dies kann über das Objekt `Panelbox` geschehen. Alternativ dazu kann der gewünschte Einstellknopf auch mittels Mausklick direkt in der Benutzeroberfläche ausgewählt werden.

Folgende Implementierung muss dann vorgenommen werden (Beispiel in Visual Basic):

Connectionpoints ermöglichen:

```
Private WithEvents app as TCSLIB.TCS (Variablendeklartion)
und : Set app = New TCSLIB.TCS (Initialisierung)
```

Empfangsfunktion implementieren:

```
Private Sub app_OnPanelBox(ByVal lIncrement As Long, ByVal
    lCircle As Long, ByVal ePan As EPanel)
```

Auswerten der Parameter:

ePan steht für den entsprechenden Panel z.B. *ePanel1*



und *Increment* als der sich verändernde Wert (positiv bzw. negativ)

11.10.6 Der Scanstartbefehl in der Multithreadingumgebung der Leica Confocal Software

Die Benutzeroberfläche der Leica Confocal Software ermöglicht die Ausführung eines Scans bei gleichzeitiger Veränderung von Systemparametern. Z.B. kann man während eines Scans Hardwareeinstellungen an den Detectionseinheiten oder am Spectrophotometer vornehmen. Diese parallele Bearbeitung wird durch mehrere Threads innerhalb Leica Confocal Software realisiert. Threads ermöglichen die Aufteilung eines Programmes in mehrere Teile, die dann parallel abgearbeitet werden können. Ähnlich wie mehrere Programme (Prozesse) in der Multitaskingumgebung von Windows NT gleichzeitig laufen können.

Bei einem sequentiellen Ablauf eines Makros ist es aber durchaus sinnvoll nach dem Scanstart bis zum Ende eines Scanablaufes zu warten, bevor man neue Aktionen über Makros ausführt.

Um dies zu realisieren kann man dem Nachrichtenempfänger *OnScanState(EScanState ScanState)* implementieren. Da hierzu aber Kenntnisse der unter Windowsoberflächen üblichen ereignisorientierten Programmierung nötig sind, wurde für die Befehle *StartSeriesScan(VARIANT_BOOL WaitForEnd)* und *StartSingleScan(VARIANT_BOOL WaitForEnd)* der Übergabeparameter *WaitForEnd* eingeführt.

Wird der Parameter *WaitForEnd* auf "True" gesetzt, kehrt die jeweilige StartScan-Methode erst zurück, wenn der Scanablauf vollständig beendet wurde. Der Defaultwert von *WaitForEnd* ist "False".

Folgende Makrosequenz führt zu einem Fehler:

```
Scanner.StartSingleScan  
Scanner.StartSeriesScan
```

Hier wird ein Einzelscan (SingleScan) gestartet. Die Methode *StartSingleScan* kehrt sofort zurück und die Methode *StartSeriesScan* wird gestartet. Da der Scanner, aber noch mit der Ausführung des SingleScans beschäftigt ist, kommt es zu einem Fehler.

Folgende Macrosequenz führt zu einer richtigen Abarbeitung mehrerer aufeinanderfolgender Scanbefehle:


```
Scanner.StartSingleScan True  
Scanner.StartSeriesScan True
```

Hier kehren jetzt beide Scanmethoden erst zurück, wenn der jeweilige Scanablauf wirklich vollständig abgearbeitet wurde.

11.10.7 Fehlerbehandlung

Im Gegensatz zur Benutzeroberfläche ist es über die Makrosprache sehr einfach möglich, nicht-plausible Daten zu verwenden. Nicht-plausible Daten sind z.B. Werte, die die Hardware nicht unterstützt. Das von der Leica Confocal Software verwendete Fehlerbehandlungsverfahren nennt sich "exception handling" (Behandlung von Ausnahmen). Diese "exceptions" führen bei einem Zugriff von Visual Basic auf die Leica Confocal Software zu einem Programmabsturz des Visual Basic Makros. Ein solcher Programmabsturz kann vermieden werden, wenn innerhalb des Visual Basic Makros die von der Leica Confocal Software zurückgemeldeten Fehlercodes ausgewertet werden. Verzichtet man auf die Fehlerbehandlung auf Visual Basic Seite kommt es zu einer Fehlermeldung, die Informationen zur Fehlerursache liefert und das Visual Basic Makro stoppt.

Um in Visual Basic eine sinnvolle Fehlerbehandlung zu realisieren, sollte ein ErrorHandler-Label implementiert werden. Damit kann eine sinnvolle



Fehlermeldung ausgegeben werden und es erfolgt kein Programmabsturz.

```
Beispiel:  
Private Sub TestClick()  
    OnError GoTo ErrorHandler  
    Application.Hardware.SetPhase(300)  
    // -> Diese Zeile verursacht einen Fehler  
Exit Sub  
ErrorHandler:  
    MsgBox Err.Description  
    // -> Diese Zeile erzeugt eine Messagebox, die den Fehlertext  
    ausgibt  
End Sub
```

Auch in Visual J++ sollten Fehlermeldungen beachtet werden. Da Java im Gegensatz zu Visual Basic eine objektorientierte Sprache ist, wird in Java das "exception handling" voll unterstützt. Über ein *try..catch* Statement kann man in Visual J++ auf Fehler (ComFailExceptions (ComException, ComSuccessException)) reagieren. Leider wird in Visual J++, im Gegensatz zu Visual Basic, die ausführliche Beschreibung der Fehlerursache noch nicht unterstützt.

11.10.8 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 eingestrahlttes Licht wird wie an einem Gitter gebeugt.</i>
Apertur, Numerische	<i>Apertur ist der Sinus des Öffnungswinkels unter dem Licht in die Frontlinse eines Mikroskopobjektives 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</i>

korrigiert.

- Arbeitsabstand** *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.*
- Bildfeldwölbung** *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 bei Mikroskopobjektiven als ein Fehler bemerkbar. Das Objekt wird dabei im Zentrum und in der Peripherie nicht gleichzeitig scharf abgebildet. Objektive, die eine Korrektur bezüglich der Bildfeldwölbung haben, heißen Planobjektive (plan = ebenes Bildfeld).*
- Bleichen, Optisches** *Zerstörung von Fluoreszenzfarbstoffen, sogenannten Fluorochromen, durch intensive Beleuchtung. In der Fluoreszenzmikroskopie werden Fluorochromen 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.*
- Brechungsindex** *Faktor, um den die Lichtgeschwindigkeit in einem optischen Medium kleiner ist als im Vakuum.*
- Dichroite** *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 Reflektionswerte zwischen 90% und 95%.*
- Doppeldichroite** *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 Reflektionswerte zwischen 90% und 95%.

Fluoreszenzmikroskopie

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.

Fluoritobjektive

Korrektionsklasse eines Objektivs. Fluoritobjektive sind Semi-Apochromate, also Objektive, die in ihrem Korrektionsgrad zwischen Achromaten und Apochromaten liegen.

Immersionsobjektiv

Mikroskopisches Objektiv, das unter der Voraussetzung der Verwendung von Immersionsmedien entwickelt wurde. Wird bei einem Immersionsobjektiv kein oder ein falsches Immersionsmedium verwendet, kann es zu Auflösungsverlusten und Verschlechterungen der Korrektion kommen.

Konfokalität

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.

Kurzpassfilter

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 Reflektion übergeht (50% Schwelle).

Langpassfilter

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 Reflektion in Transmission übergeht (50% Schwelle).

Neutralfilter

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 und Transmissivität. Bei einem Neutralfilter **RT** 20/70 zum Beispiel werden 20% des Anregungslichtes

reflektiert und 70% transmittiert.

- Pixel** *Kunstwort aus den englischen Wörtern picture und element. 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.*
- Planobjektive** *Korrektionsklasse eines Objektivs. Bei Objektiven dieses Typs ist die Bildfeldwölbung korrigiert. Die Beseitigung dieses Fehlers erfordert Linsen mit stärkeren Hohlfächen und größerer Mittendicke. Je nach Art der zusätzlich korrigierten chromatischen Aberration unterscheidet man Planachromate, Planapochromate und Planfluoritobjektive*
- Signal/ Rausch Verhältnis** *Verhältnis der Signale, die im Präparat detektiert werden, und der unerwünschten Signale, die zufällig durch verschiedene optische und elektronische Komponenten verursacht werden und ebenfalls vom Detektor erfasst werden.*
- Stokes Verschiebung** *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.*
- Tripeldichroite** *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 Reflektionswerte zwischen 90% und 95%*
- Trockenobjektiv** *Mikroskopisches Objektiv, das ohne Immersionsmedien verwendet wird. Zwischen der Objektivlinse und dem Präparat befindet sich Luft.*
- Voxel** *Kunstwort aus den englischen Wörtern volume und pixel. 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.*