

尼康转盘共聚焦理论考试安全须知和简答题

第一部分 安全须知

一、仪器关机问题

1. 使用结束后必须软件硬件全关，刷卡下机。若失约或其他个人因素造成仪器未关常开过夜，则取消独立操作资格，降为普通用户资格，且三个月内不予考核。

二、数据拷贝问题

1. 数据上传网站服务器或平台专用移动硬盘（使用前后格式化）。
2. 不得擅自删除其他人数据，如果硬盘数据已满，请联系仪器管理员。

三、成像分平台环境问题：

1. 所有显微镜禁止戴手套操作。
2. 每个成像房间内空调常开且制冷 22℃不变，湿度 45%-60%，勿因个人冷暖随意更改温度。
3. 每个成像房间内除湿机请勿随意开关。
4. 实验结束，带走自己的样本试剂等，清理桌面，保持干净。
5. 禁止在成像分平台内饮食。
6. 成像房间最后一位离开，需关好门窗和灯，不关空调和除湿机。

四、使用资格问题

1. 用户类型分为：未授权用户，普通用户和资深用户，其中普通用户可在工作时间内预约使用仪器。
2. 普通用户上机操作满 20 小时；用户信用分 80 分（含）以上；自愿遵守平台各项管理制度和信用分管理规定，可提出独立操作资格考核申请。
3. 独立操作人员信用分低于 70 分将自动降级为普通用户；普通用户信用分低于 60 将自动降级为未授权用户，且需告知 PI；所有用户一旦低于 60 分进入惩罚期，惩罚期内将无法预约使用平台任何仪器，视情况恢复其信用分 60 分。

4. 使用者如要取消预约，须在各仪器规定时间之前自行完成（见各仪器无代价最短取消预约时间表规定），逾期将按照仪器预约时间进行计费，并扣除信用分 3 分。
5. 不依照预约时间使用仪器影响他人使用者，给予扣除信用分 6 分的处罚。情节恶劣或擅自使用仪器禁用该仪器一个月。

四、其他注意事项

1. 独立操作资格不能借给别人使用，一旦发现严肃处理，给予警告处罚，情节严重者禁用仪器。

详细请参考 《成像分平台独立操作资格管理规定（试行）》

第二部分 简答题及参考答案

1) 荧光显微镜如何利用荧光分子进行成像？

参考答案：

荧光显微镜的激发光光源将处于基态的荧光分子从基态激发至激发态，处于激发态的荧光分子不稳定，可以通过释放光子的方式回到基态，这些释放的光子作为发射光可以被荧光显微镜的检测器捕获，从而获知样品中荧光分子的数量和位置
描述清楚即可。

2) 数字切片扫描系统 MIDI 使用前注意事项？

参考答案：

- 1.使用前务必用标尺测量切片确定其为标准切片。
- 2.使用前务必检查切片做到以下几点
 - (1) 封片胶完全干燥无溢出
 - (2) 盖玻片不能超出载玻片范围
 - (3) 标签不能超出载玻片范围
 - (4) 切片正反两面干净无污物
 - (5) 玻片无破损。

3) 扫描图像有拼接，产生这种现象的可能原因有？

参考答案：

摄像头角度不对、‘使用拼接’没有勾选、聚焦模糊
其他答案合理即可

4) 简述数字切片扫描系统的三种扫描模式？

参考答案：

Single layer 单层扫描：扫描时间最短，所需存储空间最小；

Multilayer mode: Extended focus 和 Z-Stack 模式

Extended focus 和 Z-Stack 模式可以设置扫描层数，建议设置为奇数。例如，层数设置为 5，那么软件能够获取初始层和初始层的上下 2 层的信息。

Z-Stack 多层扫描：Z 轴聚焦功能，这种扫描方式最多可扫描 30 层，精度 0.2 微米，多层扫描后将每层图像分别保存和浏览，特点是扫描时间长，所需存储空间大；默认设置为 Levels: 7, Step size: 5。

Extended focus 景深扩展扫描：也就是多层融合扫描，字面理解为延伸聚焦，是将自动聚焦多层扫描的功能得到了更深的扩展，软件会从每一层每个视野选取最清晰的图像，并将它们融合成为一张图像，实现多层图像的融合，但仅能浏览融合后的图像。因此，那些在自动/手动对焦中模糊的部分也会变得清晰。这种方法保证了最大深度的锐度，但是降低了数字化的速度。融合层数最多可达 30 层，精度 0.2 微米。扫描时间相对 Single layer 来讲，时间长，但所需存储空间小，特别适合 FISH 切片扫描。

5) 简述明场模式的主要操作步骤。

参考答案：

刷卡上机——打开电源开关、工作台、软件等——初始化仪器——装载并通过软件操作加载切片——配置文件——定义保存路径和切片名——启动扫描——扫描结束——退出托盘——关闭电源开关、工作台——刷卡下机

6) 简述数字切片扫描系统的优势。

参考答案：

对于科研来说主要表现在数字化、图像采集的标准化、高清晰、全信息；

数字化：可以将传统的样本转化成数字切片，更容易保存”

标准化：可设置统一参数，批量获取和储存切片信息

全信息：切片的信息完全度高，包含扫描时间，像素参数，色彩参数等
另外，可以通过 Extended focus 和 Z-Stack 模式获取多层组织信息，扫描速度快。

其他言之有理即可。

7) 在托盘中转入切片时有什么注意事项？

参考答案：

是否已经提前检查切片的尺寸规格符合标准，切片是否放反、是否有溢胶粘在托盘上、托盘是否推到进盘位置等

其他答案合理即可。

8) 扫描图像模糊，可能的原因是什么？

参考答案：

限定了聚焦范围；玻片放反；玻片太薄或太厚，需明确组织切片厚度，厚度约 5um 及以上的组织如果模糊可以使用多层扫描。

其他答案合理即可。