二次谐波成像操作说明

1. 开启硬件，包括计算机、显微镜、扫描装置、双光子激光器（图1、图2）、光电调节器EOM（图3）。

图2

图1

图3

1. 开启LAS AF软件，Configuration选择machine\_MP-Laser-on选项，点击OK进入软件界面（图4）。

图4

1. 进入Acquire面板，进行参数设置。
2. scan 1（二次谐波通道）参数设置如下（图5、图6）。
* Acquisition Mode：xyz；

图5

* Format：1024x1024；
* Speed：400Hz；
* Line Average：4；
* Frame Average：1；
* Objective：63x 1.40 oil；
* Pinhole：600μm

图6

* 点击MP，红色指示灯亮起（图7）。

图7

* 点击MP laser，进入MP Laser Configuration，设置Laser为880nm，长按MP-Shutter，红色指示灯亮起，双光子激光即刻输出，待Output Power上升到2390mw（图8）。MFP选择SP715（图9），发射波长为570-700nm（图10）。

图8

图10

图9

1. scan2（绿色荧光通道）参数设置如下（图11、图12）。
	* Acquisition Mode：xyz
	* Format：1024x1024
	* Speed：400Hz
	* Line Average：4
	* Frame Average：1
	* Objective：63x 1.40 oil
	* Pinhole：95.54μm

图12

图11

* 在Leica Settings中选择FITC通道（图13），Laser为488nm（图14），发射波长设为500-550nm（图15）。

图13

图14

图15

1. 按照以上参数，获取图像。