

JPK NanoTracker™ 2

用户手册



PFM Software Release 2.3

08 / 2014

目录

§ 0	安全性指南.....	2
0.1	重要安全信息.....	2
0.2	其他重要信息.....	4
0.2.1	不要让物镜与样品发生碰撞.....	4
0.2.2	样品载具.....	5
§ 1	简介.....	7
§ 2	基本软件功能.....	11
2.1	启动软件.....	11
2.2	软件概述.....	11
2.2.1	菜单栏.....	12
2.2.2	快捷键工具栏.....	14
2.2.3	键盘快捷键.....	16
2.2.4	激光控制面板.....	16
2.2.5	系统信息面板.....	17
2.2.6	光学图像查看器 - JUnicam.....	18
2.2.7	显微镜照明.....	18
2.2.8	光电二极管信号.....	18
2.2.9	偏移纠正.....	19
2.3	回放软件工具.....	19
2.3.1	标尺工具.....	19
2.3.2	数据平滑.....	19
2.3.3	通过按钮来增减值.....	20
2.3.4	步进电机控制组件的移动设定.....	20
2.4	软件版本与升级.....	20
2.4.1	如何升级软件.....	21
2.4.2	PFM 软件版本.....	21
§ 3	样品制备与捕捉.....	23
3.1	样品制备.....	23
3.1.1	制备样品槽.....	23
3.1.2	样品安装.....	24
3.1.3	接近样品.....	25
3.2	颗粒的捕获.....	28

3.2.1	样品定位	28
3.2.2	小球的捕获.....	29
3.2.3	光阱分束	31
§ 4	校准	33
4.1	光学校准	33
4.1.1	光学校准的介绍.....	33
4.1.2	相机校准	33
4.1.3	单图片的相机校准	37
4.1.4	光阱校准	40
4.1.5	精确光学校准	43
4.1.6	导入光学校准文件.....	45
4.2	光阱的硬度与敏感度的校准	46
4.2.1	热噪音校准方法.....	46
§ 5	光学图像界面	51
5.1	JUnicam	51
5.1.1	JUnicam 概述	51
5.1.2	点击与拖曳功能.....	52
5.1.3	调节照相机设定.....	52
5.1.4	保存图像	54
5.1.5	记录图像序列或者视频.....	55
5.1.6	将视频拆分成图像.....	56
5.1.7	JUnicam 和 NanoTracker™ 控制软件的整合.....	57
5.1.8	JUnicam 软件版本	57
5.2	静态照相机图像	57
§ 6	数据记录	59
6.1	通道设定	59
6.2	保存设定	60
6.3	实时扫描示波器	61
6.4	XYZ 信号示波器.....	62
6.5	散点图.....	63
6.5.1	通道散点图.....	63
6.5.2	XYZ 散点图.....	64
6.6	XYZ 直方图	64
6.7	扫描列表	65
6.7.1	实时扫描序列列表.....	65

6.7.2	力扫描序列列表.....	66
§ 7	力谱	67
7.1	序言	67
7.2	常用设置	67
7.2.1	数据记录的预设.....	67
7.2.2	示波器.....	68
7.2.3	启动一个实验	70
7.2.4	数据类型与文件保存	70
7.3	绝对模式力谱.....	72
7.3.1	控制面板	72
7.4	力钳实验.....	73
7.4.1	控制面板	74

本手册并不包含英文版手册的全部内容与细节，其主要的目的是帮助您以母语阅读更快速的获得关于 JPK 光镊系统的关键信息与使用指导。所有的信息以英文完全版的手册，说明书为准。

在开始使用 JPK 的设备之前，为了保护您的安全和设备的正常运行，请仔细阅读安全性指南章节。光镊包含了激光，静电等多个方面的需要注意的部分。如果有任何的疑问，请首先咨询 JPK 中国部门的应用科学家。

本手册所叙述的内容适用于 2.3 版本的光镊软件。NanoTrack™ 与 NanoTrack™ 2 在硬件上具有一定差异，本手册中的软件部分基本可以适用于这两套系统。但是具体的功能，请以各自英文版手册为准。

JPK 一直不断地致力于改进我们光镊控制软件的各项性能，为您提供更加便利的使用体验与创新的测量方法。所以随着软件版本的升级，各项功能的使用方式可能发生改变，请根据您所使用的软件版本参阅软件手册以获得具体的信息。

在您的使用过程中，如果有任何的疑问或者建议，都请联系 JPK 中国部门的应用科学家，我们将为您提供建议与各种必要的协助。

§ 0 安全性指南

0.1 重要安全信息

激光安全警示:

Class 1 LASER



在 JPK Nanotracker™ 中用作光阱使用的光源是肉眼不可见激光，其波长为 1064 nm，完全打开时的最大能量达到 3W。

但是，在合理正确的使用中，激光束或者有害的散射光斗不会从封闭的外壳中泄露。

如果样品仓的侧滑门打开，或者样品载具被部分抽出，一个内部的锁定电路将打开主遮板。防止任何激光进入 NanoTracker™ 的头部。当滑门关闭后不会自动取消主遮板。您需要通过软件手动取消主遮板。

在安装过程中，JPK 会在目镜后安装一个激光滤镜—保护激光不会通过目镜进入使用者的双眼。机关规律经由 JPK 安装并且固定在倒置显微镜中。**请不要移除倒置显微镜中的滤镜！**请注意，激光也可能出现在显微镜的侧面端口部位（可能是削弱的），因此请不要直视开放的显微镜侧面接口。

激光源中的一个强力的激光二极管为调制单元提供了激光能量。这个激光二极管具有 810nm 的波长（具体波长根据配置不同）和最大 10W 功率。激光直接耦合入连接调制单元和激光盒的光纤。请不要弯折这根光纤到小于 30cm 的半径，不然可能发生损坏。如果它被损坏，激光从中泄露，请立即联系 JPK 并且彻底停止仪器的使用直至修复。

附加提示：

NanoTracker™ 的调制单元包含了一个具有几瓦输出功率的激光，如果任何锁定被篡改，JPK 密封条被损坏或者外壳被移除，那么 NanoTracker™ 将成为一个 class 4 等级的激光系统，那么附加的安全测试就必须进行，请参考 IEC 60825-1 或者 ANSI Z136.1 以获取更多信息。



敏感环境：

NanoTracker™经过了完整的 CE 验证。不要在一个电磁敏感性环境中使用 NanoTracker™ 设备。



电击风险：

当设备接入电源以后，不要移除或者打开 NanoTracker™头部，调制单元或者控制器的盖板。连入系统的电源供应（115 或者 230V）有可能导致使用者的受伤。打开头部，调制单元或者控制器可能影响到您的保修，请事先联系 JPK 确认！



请不要在头部的顶端槽孔，或者调制单元或者硬件控制器的任何开放部位插入任何外来物体。

打开盖板或者服务接口的操作只能由经过训练的 JPK 工作人员完成，内部没有用户可以自行处理的部件。如果发生问题，请第一时间向 JPK 寻求协助！

静电释放：

NanoTracker™ 设备对于静电是非常敏感的。请在触摸任何敏感部件以前触摸大地或者使用接地手环。



手部被夹的风险：

当移动捕获物镜和马达台时，可能存在手部或者手指被夹的风险。所以请小心不要将您的手在设备组件移动过程中放置于靠近移动部件的位置。



防止对 NanoTracker™的损坏：

不要在 NanoTracker™头部或者调制单元上倾倒任何液体。金属盖板时由铝加工成的。请小心不要使之接触到任何腐蚀性的酸碱。同时，不要再头部和调制单元的顶部搁置任何装有液体的容器。

不要在样品仓内溅出任何的液体。沾染到压电定位台的液体可能导致定位台的损坏，同时液体的进入可能引发触电的风险。



使用软件关闭激光：

为了安全性的原因，使用者可以通过软件快捷栏中的遮板开关按钮来遮蔽激光束。这将使得激光器前的遮板放下。另外，激光的电源供应能够在激光状态面板中被关闭，这也将失能遮板开关按钮。在一个实验进行中是不能关闭激光的。



激光电源



主遮板打开



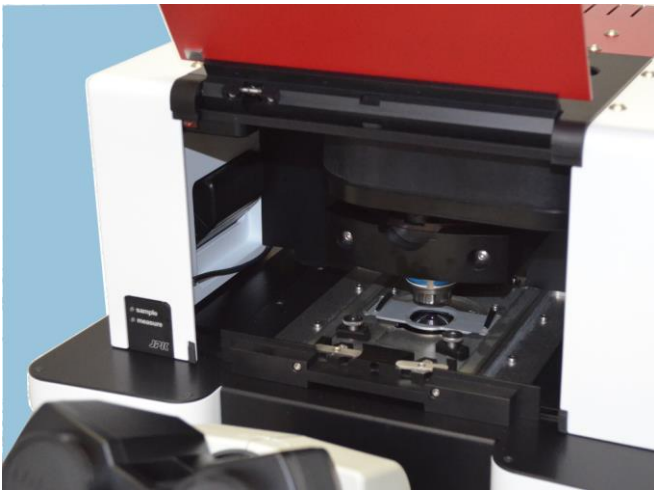
主遮板关闭



激光失能

0.2 其他重要信息

0.2.1 不要让物镜与样品发生碰撞



移动捕获和探测物镜靠近样品时请小心。仔细观察物镜靠近样品的过程。粗调趋近样品时请像左图所示打开样品仓门，并且以镜头浸入镜头油作为判断的标志。控制软件具有预先定义的粗调趋近位置，使得镜头和油发生接触。

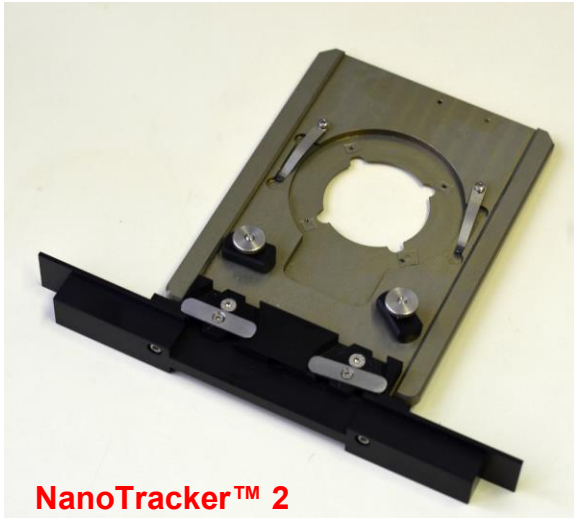
大部分捕获和探测物镜包括了一个安全弹簧，它将降低传递到镜头上的压力。但是即使如此，操作物镜也请非常小心，因为他们是为高质量的捕获和追踪而设的。

NanoTracker™ 2

只有当两个镜头，捕获镜头和探测镜头都已经完全回撤以后，才能取出样品抽屉。当两个镜头都处于适合更换样品位置时，一个绿色的 LED 灯会在样品仓门边亮起（如右图所示）。这指示了现在是可以安全移除样品抽屉的状态。在抽出时请小心不要让它碰倒镜头或者其他部位。



0.2.2 样品载具



不要把样品载具浸入液体或者往载具上倾倒液体。并且也不要让样品载具接触到酸，碱或者其他腐蚀性的化学品。小心不要溢出任何液体到样品载具滑槽的支撑结构之上。

§ 1 简介

您手上的这本手册主要提供给 NanoTracker™ 的用户使用。它将覆盖关于这一系统所包含的软硬件的基本的操作模式。在后面的章节中，用户将了解到关于 NanoTracker™ 软件使用的整体概览与样品准备，校准，数据采集等的相关内容。**请注意，这本中文版的手册并没有包含英文版所有的内容，关于安装，进阶附件的相关内容，请参考英文原版手册。**

注意：手册中的示例图片显示了 NanoTracker™ 2 系统最新的硬件版本。您实际的系统的某些部件可能和图中显示的具有微小的差别。对于所有这类可能存在差异的场合，都会使用一个红色的 NanoTracker™ 2 来进行标记。

本手册中包含的特定的应用和扩展需要特殊的设备和软件附件。（例如多通道层流液体池或者磁镊组件）。并不是每一台 NanoTracker™ 设备都包含了这些组件。它们都是选配件并且各自有着独立的操作手册。（请联系 JPK 获取信息）



§ 2 基本软件功能

JPK NanoTracker™ 在送达用户处时都已经搭载了最新版本的 JPK 软件。该软件是由 JPK 内部开发。本章的内容将会提供一个关于 PFM 软件组成部分的概述，以及如何从菜单的快捷键获取更详细的信息。

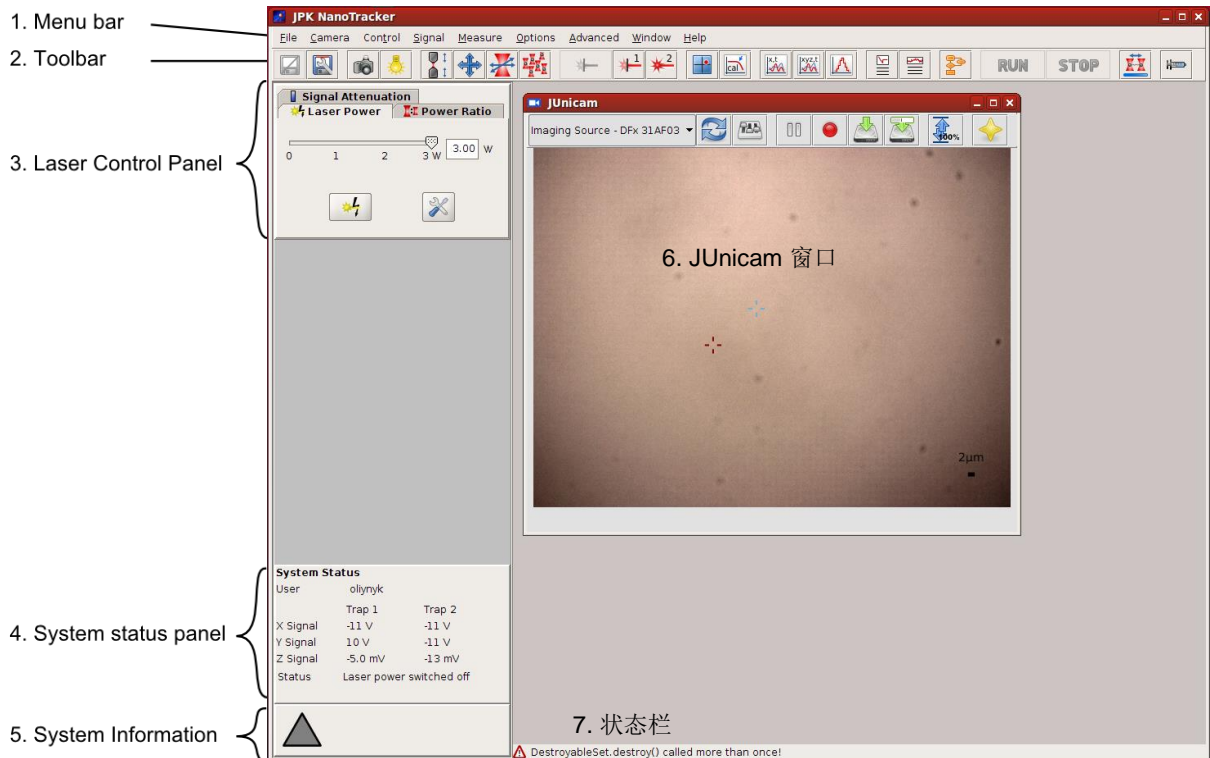
2.1 启动软件



双击桌面上的 PFM 图标将会启动软件。或者，软件也可以通过在控制台输入命令：“jpknt”来启动。请确保 NanoTracker™ 硬件在软件打开之前已被正常启动（详见英文版本 section 2.3）。

2.2 软件概述

软件可以分成三个主要部分。首先是工具栏部分，包括所有可行的功能以及启动停止这些功能的方式。第二是位于用户界面左侧的控制面板，它包括一直存在的控制功能比如顶部的激光控制器，系统状态也会在该面板下端一直显示。此外，上端的新控制面板可以开启特定的软件模式。最后，就是实际操作实验的工作窗口（例如，Junicam 窗口）以及那些被激活的功能窗口。

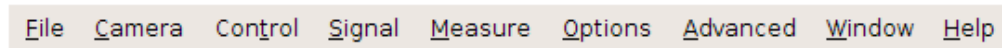


上图显示了软件开始的状态。该手册的下一节开始将会介绍一些在该图中会看到的选项与控制。本章仅仅是简要介绍功能，具体的操作细节将会出现在该手册随后的相关章节，包括如果聚焦，成像以及特殊类型的实验的可能性。

1. 屏幕顶部的菜单栏；下拉菜单选项可以参见 **section** [错误!未找到引用源。](#)。
2. 图标工具栏包含了大部分比较常用的选项，可以参见 **section** [错误!未找到引用源。](#)。
3. 激光控制面板位于屏幕的左侧。除了额外参数之外，可以调节激光的光强。所有可以调节的内容可参见 **section 2.2.3**。
4. 系统状态栏显示系统当前的状态，例如软件模式以及 X, Y, Z 的信号。
5. 系统信息栏显示实际激光与激光安全状态。
6. JUnicam 窗口显示实时相机观察到图像，参见 [section 5.1](#) 以获得更多信息。
7. 软件底部的状态栏显示最近的软件操作。确认文件的保存与否，警告以及其他一些相关信息。软件初始启动时显示为空。

2.2.1 菜单栏

在用户界面的顶端，您可以找到下拉式菜单，如图。以下的表格列出了选项相对应的章节。(以 e 开头的章节请参阅英文版手册)



下拉菜单	简介	细节章节:
	File 打开含有预存脚本的文件夹 为“自动存档”选择相应的存档选项 打开力谱扫描序列列表 打开实时扫描序列列表 退出软件	E9.7 6.2 6.7.2 6.7.1
	Camera 用 JUnicam 启动 CCD 相机 打开显微镜照明控制窗口 打开静态相机图像窗口	5.1 2.2.6 5.2
	Control 打开“捕获镜头”与“探测镜头”控制的面板 打开步进电机与压电陶瓷台的控制面板 打开光阱 1 与 2 的位置控制面板 打开光阱 2 激光分束的控制面板	3.1.3 3.2.1 3.2.2 3.2.3

Signal	Signal	
Photodiode Signals	打开光电二极管信号的窗口	2.2.8
Offset Correction	打开基线校准窗口	2.2.9
Real Time Scan	打开实时扫描示波器窗口	6.3
XYZ Signal Oscilloscope	打开 XYZ 信号示波器窗口	6.4
Channel Scatter Plot		
XYZ Scatter Plot	打开通道散点图窗口	6.5.1
XYZ Histogram	打开 XYZ 散点图窗口	6.5.2
Force Time Oscilloscope	打开柱状直方图窗口	6.6
	打开“力 / 时间”示波器	7

Measure	Measure	
Calibration Manager	打开校准管理窗口	4.2
Force Time Oscilloscope	切换到力谱模式	7

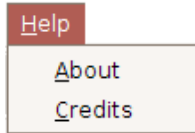
Options	Options	
Experiment Planner	打开“拓展试验步骤策划”	E9.8
JPK NT Jython Console	打开“Jython 命令输入面板”	E9.7
Pump Control	打开注射器泵控制面板	E9.2
Magnetic Addon Control	打开磁镊控制面板	E9.3

Advanced	Advanced	
Channel Setup	选择在软件中激活的通道	6.1
Advanced System Status		
Advanced Force Settings	开启高级力谱设定窗口	7.3.1
Optical Calibration	相机与光镊的校准	4.1
Laser Power Supply	读取激光源的状态	2.2.4
Motor Position Initialization	打开步进电机定位与初始化的窗口	E10.3
User-defined optics positions	定义新的近场光位置	E10.2

Window	Window	
Tile V <u>e</u> rtically		
Tile H <u>o</u> rizontally	几种排列窗口的的方法	
C <u>a</u> scade		
<input checked="" type="checkbox"/> C <u>l</u> ose All Frames	关闭所有打开的窗口	
<input checked="" type="checkbox"/> Auto-save Window Layout	重启软件后所有的窗口会被恢复	
Save Window Layout Now		
Use Window Layout		
Forget Saved Window Layout		

手动存储窗口设置

重启软件后默认的窗口排布会被恢复



Help

软件版本的信息











[2.4.2](#)

软件当前使用的免费插件的授权

2.2.2 快捷键工具栏

在下面的工具栏中可以找到最为常用的功能。下面的列表简单的介绍了每一个图标的功能。某些图标只会出现在特别版本中（需要额外购买）。



快捷按钮	简介	细节所在章节:
	显示存储状态和激活自动存档功能，激活时所有数据都会被自动存储。	7.2
	打开“自动存档设置”窗口。	6.2
	打开光学显微镜上相机的成像窗口。	5.1
	打开控制 LED 照明的窗口。	2.2.6
	打开“镜头定位”窗口，用于移动“捕捉镜头”跟“探测镜头”。	3.1.3
	打开“样品定位”窗口用于粗调（通过步进电机）和细调（通过压电陶瓷）控制样品位置。	3.2.1
	打开光景位置窗口用于操作光阱 X, Y 跟 Z 的移动。	3.2.2
	打开“激光分束”窗口，通过快速移动光阱 2 产生分束效果。	3.2.3
	显示激光状态以及启动/关闭激光（这是一个切换开关，实验过程中无法被关闭）。	3.2.2
		

		显示以及操作光阱 1/2 的控制阀门。 .	3.2.2
			
		打开光电二极管信号窗口显示 X , Y 跟 Z 的信号。	2.2.7
		打开“校准管理”窗口来为所有相关通道进行校准。	4.2.1
		打开“实时扫描示波器”来观察任意通道的实时数据。	6.3
		打开“XYZ 信号示波器”窗口来观察两个光阱的实时数据。	6.4
		打开“直方图”窗口用于显示实时数据的直方图。	6.6
		打开窗口，查看“力扫描列表”和数据的存储情况。	6.7.2
		打开“实时扫描列表”来查看与存储记录的数据。	6.7.1
		打开“实验计划器”功能来自动化实验过程。	E9.8
		开始实验（只有在某个实验模式被选定的情况下才能被激活）。	7.2.3
			
		停止实验（只有在实验运行时能被激活）。	7.2.3
			
		打开“力谱”的设置跟实时示波器。	7
		打开“注射器泵”的控制窗口。	E9.2

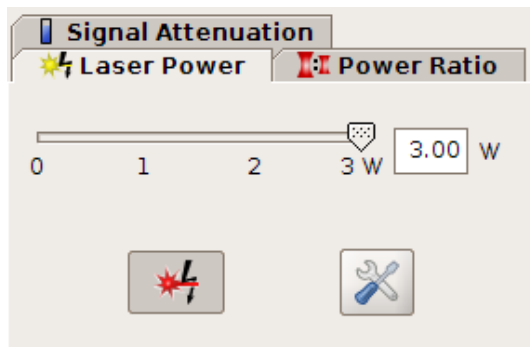
2.2.3 键盘快捷键

对于软件中一些常用的控制功能，方便的键盘快捷键能使工作更流畅。下面的列表给出了可用的功能。这些功能也可以在软件菜单中找到：**advanced -> advanced system status**。

启动主控制遮板	CTRL + M	降低“捕获镜头”的位置	CTRL + G
启动光阱 1 的控制遮板	CTRL + K	向左移动步进电机样品台	CTRL + LEFT
启动光阱 2 的控制遮板	CTRL + L	向右移步进电机样品台	CTRL + RIGHT
抬高“探测镜头”的位置	CTRL + U	抬高步进电机台	CTRL + UP
降低“探测镜头”的位置	CTRL + J	降低步进电机台	CTRL + DOWN
抬高“捕获镜头”的位置	CTRL + T		

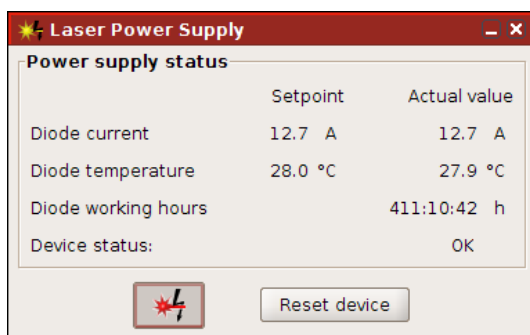
2.2.4 激光控制面板

控制光阱 1 跟 2 的硬度的主要参数可以在激光控制面板最上方调节。



“激光能量面板”可以启动激光二极管。激光的功率可以通过面板上的滑动条或者输入绝对值两种方式来调节。

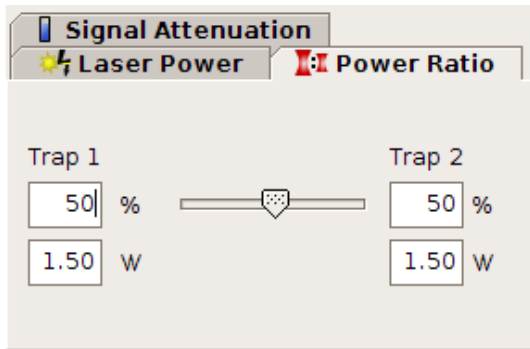
激光二极管的高阶设置例如长时间工作和重置激光能量功率也可以在同一个面板上调节。



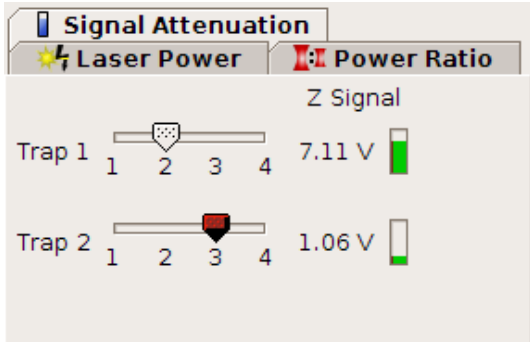
高级激光设定可以通过点击如右侧的图标或者从 **Advanced->Laser Power Supply** 中开启。



“**Laser Power Supply**”的高阶设置显示了当前激光源的状态，开启/关闭激光的发射，以及重置电源系统。



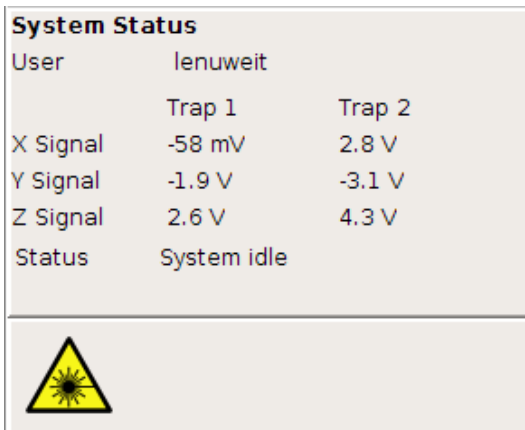
通过调节“Power Ratio”面板中的选项，改变输入光阱 1 跟光阱 2 的能量，可以产生不同的光阱硬度。要改变在两个光阱之间的能量分配比可以拖动滑动条或者是直接键入百分比数值。改变一个光阱的值会自动调节另外一个光阱的值。



由于输入两个的光阱的能量不同，请使用不同的“Attenuation（衰减镜）”以免激光探测器达到饱和。信号衰减调节的最终要求是“Z Signal”进入绿色范围（1-10 V 在 Z）。

2.2.5 系统信息面板

Nano Tracker 软件跟硬件的当前状态，以及 X-，Y-和 Z-的信号都显示在系统状态与信息面板。



登陆用户名

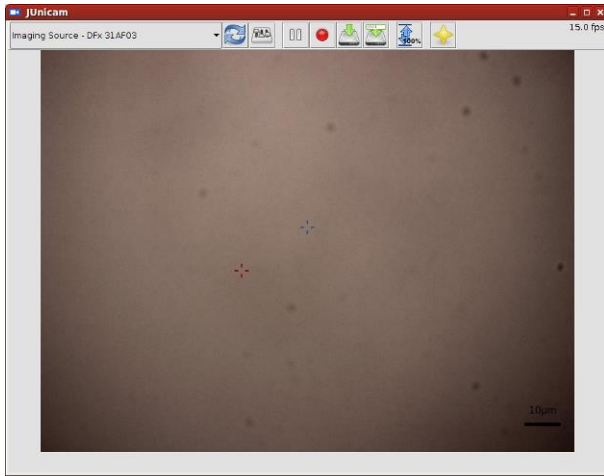
光阱 1 与光阱 2 的测量值与所选单位（这里用的是 V）

系统状态显示当前状态

激光状态

此外，用户界面最下端的状态栏显示软件的最后输出，例如存储的文件。

2.2.6 光学图像查看器 - JUnicam



通过单击快捷栏中如右图所示的图标，可以开启光学图像查看器。(see **section** 错误!未找到引用源。).

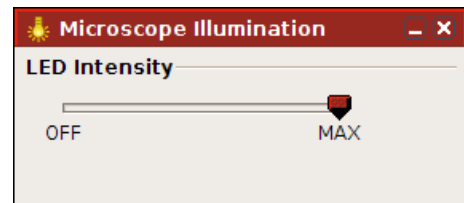


光学图像查看器 JUnicam 显示来自于 CCD 相机的实时图像，可以用于获取单张图片或者影像。

除光学图像之外，光学图像查看器还包含十字坐标，可用于移动光阱。红色代表光阱 1，蓝色代表光阱 2。光学校准可以使得光阱坐标与光学图像重合，分别以红色与蓝色代表。光学图像查看器的更多信息可以参看 **paragraph** 错误!未找到引用源。

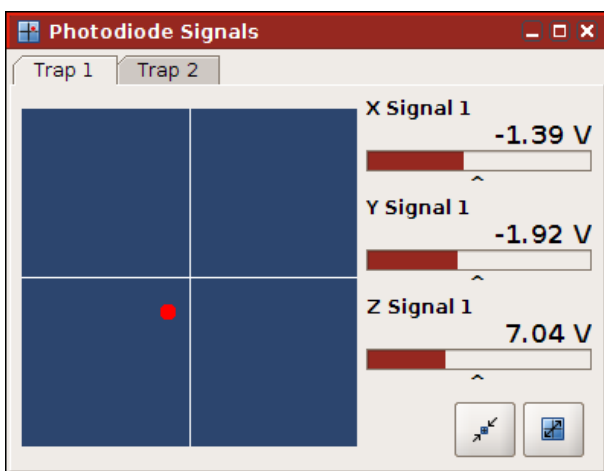
2.2.7 显微镜照明

光学视场是由位于聚光镜后面的 LED 灯照明的。单击如左边所示的快捷键或者在菜单栏：**Camera -> Microscope Illumination**，打开“Microscope Illumination”窗口，拖动滑动槽可以调节光强。



2.2.8 光电二极管信号

“Photodiode Signals”窗口可现化当前 QPD 位置传感器上的信号值。

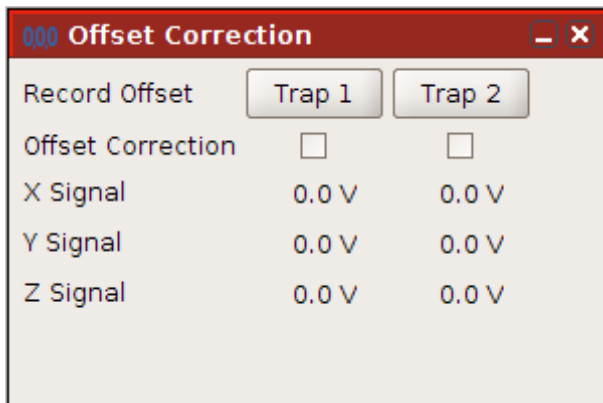


来自于四象限光电二极管的 x- 跟 y- 信号会以圆点的形式显示在四象限示意图上。x-, y-跟 z-的信号在右半部分会以能量槽的形式体现。不同光阱的信号会在不同标签栏内表示。

经过基线调整后，光电二极管的信号会被重置到归一化的值。

在窗口的底部，有两个按钮可用于调整窗口的尺寸（小或者大）。

2.2.9 偏移纠正



在“**Offset Calibration**”栏中，X，Y 与 Z 的值可以被归零。偏移值可以从实时数据中扣除。对于光阱 1 和光阱 2 的基线的记录是独立进行的。勾选选框后可以激活基线实时归零功能。



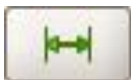


2.3 回放软件工具

2.3.1 标尺工具



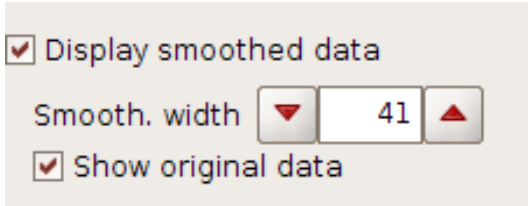
所有的图表，无论是在“**Calibration Manager**”还是在示波器窗口，都包含有标尺工具。对于大多数的窗口，这些标尺就在图标的上方或者左侧。

标尺包含有如下的内容：

-  “Zoom” 按钮允许对 X 跟 Y 同时放大
-  “Scale XY” 按钮可以自动重置 XY 轴以获得最好的显示效果。
-  “Scale X” 按钮可以显示 X 的全值范围。
-  “Scale Y” 按钮可以显示 Y 的全值范围。
-  “AutoScale Y” 能够自动调整 Y 轴以保持 Y 的全值能够被完全显示。

2.3.2 数据平滑

所有的示波器都含有可以平滑显示数据的工具。



数据的平滑以及平滑度是可以选择与改变的，方式是移动均值平滑法。

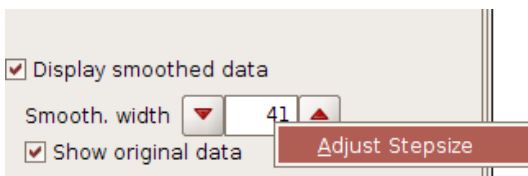
原始数据可以被选择性的以背景方式显示。

2.3.3 通过按钮来增减值

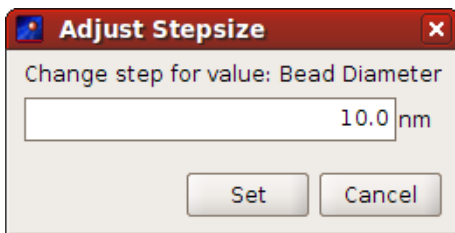
软件中的很多位置，控制参数可以通过文本方式键入。



“Increment Buttons”（上下箭头）是用于通过鼠标来快速增加或降低文本栏里面的数值（步长是可以更改的）。



每一个文本栏的步长（如左侧的样本）都可以通过单击鼠标右键，选择“Adjust Step size”来更改。



步长，或者是增加值，对于每一个文本栏可以独立的选择。

提醒： 键盘上的快捷键“page up”和“page down”也可以用于快速改变选定窗口的增减值。

2.3.4 步进电机控制组件的移动设定

在光镊系统中，有许多的步进电机控件，例如镜头，电机+压电样品台以及光阱。这些都可以通过软件进行操作。通常这些控件都可以用两种速度运动，慢速与快速。



“Move Slow / Move fast”按钮一般显示为“Up/Down”跟“Left/Right”。此外，根据不同功能显示为不同颜色：红色代表控制光阱，蓝色代表控制样品台，蓝/黄色代表控制镜头。

2.4 软件版本与升级

控制软件，PFM 与数据处理软件，都是由 JPK 自主研发的。如果您遇到任何问题或者有任何建议，[欢迎联系 support@jpk.com](mailto:support@jpk.com)。PFM 与 DP 软件都是预装在 Ubuntu 系统中的，不需要额外的 Linux 的知识。

2.4.1 如何升级软件

免费的软件升级可以从 <http://customers.jpk.com> 处下载。重大的版本升级将会通过邮件通知客户。在重大版本之间会有一些细节的改动以及附加一些特殊功能，这些中间版也可以随时被下载。该网页是有密码保护的，请使用您的用户名与密码登陆。长的名字是您的系统设备号，如：JPK10011. 该编号可以在设备上找到。密码则是随机器附带。

提醒： 登陆网站的密码与“jpkroot”和“jpkuser”所用的电脑密码是不同的。

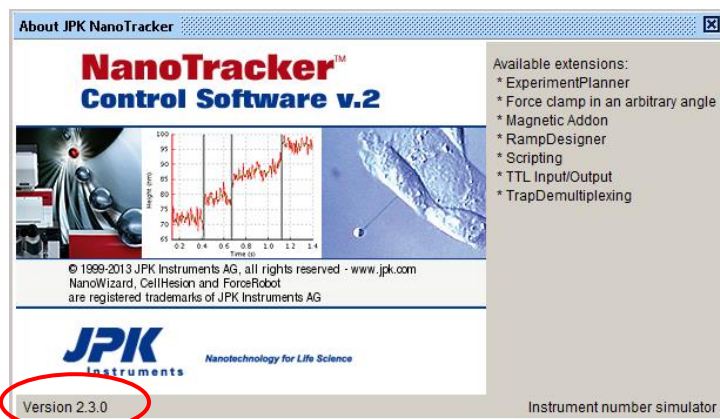
完整版的安装指南请参阅网站，下面只是一个简洁版本：

开始安装新版软件前，需要先以管理员身份“jpkroot”登陆，然后下载安装文件到任何一个本地文件夹，例如：桌面。然后通过 Linux 控制台进行安装，请在控制台键入以下命令：

```
sudo sh "/home/jpkroot/Desktop/ jpknt-jpk100xx-yyy.bin"
```

安装时必须提供文件所在的完整路径。（xx 代表的是实际设备号，yyy 代表的是软件的版本号），然后再次按照提示输入“jpkroot”的密码。如果阁下遗失或者忘记了密码，又或是有关于下载与安装升级方面的问题，欢迎联系我们要求协助：support@jpk.com 或者是拨打技术热线：+49 30 5331 12545。

2.4.2 PFM 软件版本



如果您需要联系 JPK 提供关于软件方面的帮助，如果您能提供当前的 PFM 的软件版本编号，我们能够更快的找到解决方案。从窗口上的主下拉菜单打开 **Help->About** 中可以看到当前版本号（右图中红色椭圆部分）。

窗口右边的文本部分显示了您当前系统可用的扩展功能。这表明了软件中可以使用的控制选项。

如果您有软件的问题，当前运行情况下的系统信息可以提过极大的帮助。任何错误或警告信息都会被自动写入日志文件（存储在：`\jpkuser\jpkdata`）。文件名会包含系统上次正常启动的日期与实践，例如：`nt-2012.05.27-21.16.43.log`。如果您能把该文件通过邮件给我们，这将帮助我们尽快解决您的疑问。

§ 3 样品制备与捕捉

3.1 样品制备

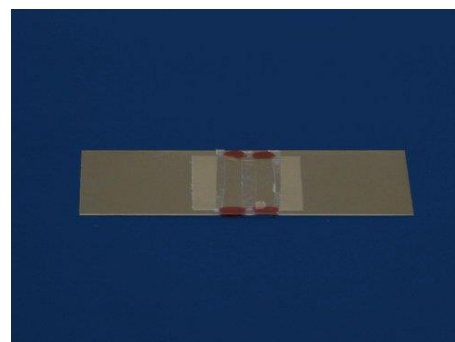
3.1.1 制备样品槽

在使用自制样品槽时有一些注意事项。为了达到最好的效果，样品槽的厚度不应该超过两个镜头工作距离之和。请检查镜头的配置，不同镜头的工作距离在下表中列出：

manufacturer	Objective	magnification / aper- ture immersion medi- um	working distance
Zeiss	I Plan-Apochromat	63x / 1.4 oil	0.19 mm
	Plan-Apochromat	63x / 1.4 oil	0.19 mm
	C-Apochromat	63x / 1.2 water	0.28 mm
	W Plan-Apochromat	63x / 1.0 water	2.10 mm
Nikon	CFI Plan-Apochromat	60x / 1.4 oil	0.13 mm
	CFI Plan-Apochromat	60x / 1.2 water	0.22 mm
	CFI Apochromat	60x / 1.0 water	2.80 mm
Olympus	UPLSAPO	60x / 1.35 oil	0.15 mm
	UPLSAPO	60x / 1.2 water	0.28 mm
	LUMPLFLN	60x / 1.0 water	2.00 mm

一个常用的简易样品槽是用两块玻璃盖玻片搭成的三明治结构。盖玻片的厚度取决于供货商与购买型号。随机附送的 Roth 1 号玻璃片的厚度是 0.13 到 0.16 毫米。用真空泵脂，或双面胶，或硅胶，或蜡纸作为两片盖玻片的夹层可以很容易的搭建 0.35 到 0.5 毫米厚的样品槽。但是，在将该样品槽放到样品台上之前请注意检查样品槽的厚度。

样品是被毛细力吸入样品槽。把移液枪枪头放在通道的入口处，可以缓缓注入样品液体。



为了避免样品在实验过程被风干，样品槽需要被密封。可以用指甲油简单地完成（右上图片中的红色条纹就是指甲油）。

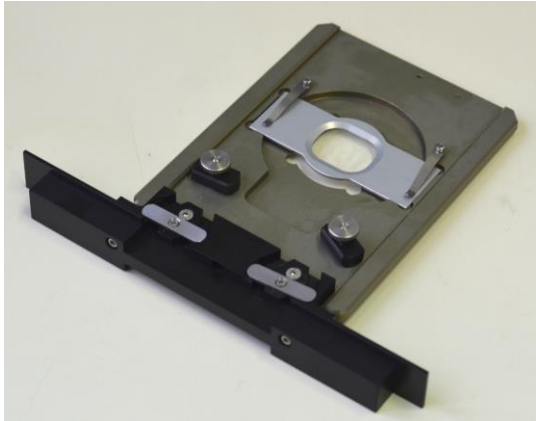
样品制备好以后，通过真空泵把样品槽贴到盖玻片架上。请确保安装的方向与右图所示一致。



在使用的 NanoTracker™层流槽时，密封以及厚度均已被考虑到。高阶的层流槽的手册中分开介绍。

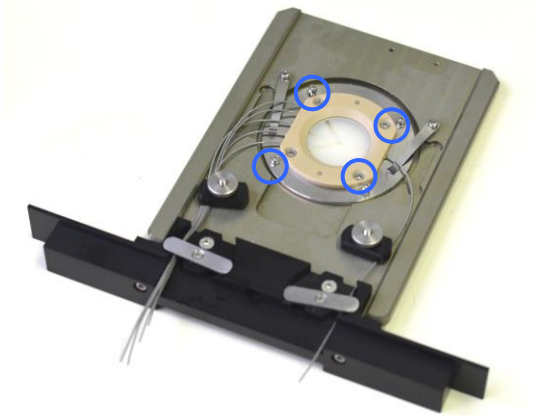
3.1.2 样品安装

在将样品送入 NanoTracker™样品抽屉之前，请在盖玻片上面加上相应的显微镜镜头油/水。如果您使用水镜/油镜的混合组合，请注意在正确的位置上放上正确的液体。有时候阁下还需要直接添加适当的镜头油/水在镜头上。

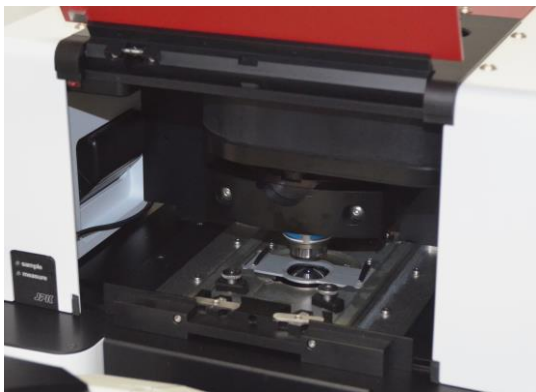


在将盖玻片夹具送入抽屉/滑槽时要注意保证盖玻片是在夹具的底部。盖玻片通过两个夹子固定在夹具上。请注意玻片被夹紧而且没有倾斜。随后将抽屉滑入 NanoTracker™ 的头部部分。

注意确保夹子未压在样品的中心区域，以防移动样品时碰到镜头。



当使用 NanoTracker™ 流体槽时，请注意正确的将流体槽放在正确的位置，并且用 JPK 提供的螺丝固定。导入/导出管应通过抽屉的前方引出口引出。



抽屉需要被沿着一条磁轨放入 NanoTracker™ 头部并且卡紧。头部的样品仓关闭后可以开始聚焦下方的镜头。（之前请先完成上下物镜的粗调就位工作）

NanoTracker™ 2

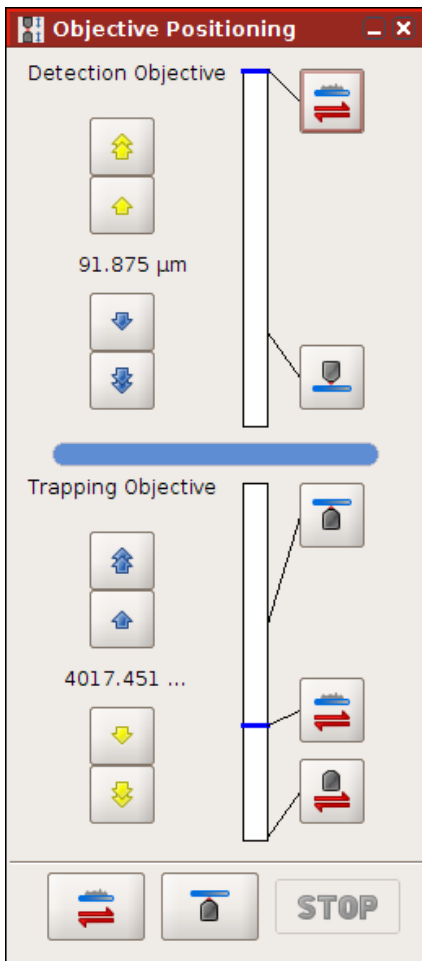
3.1.3 接近样品

当抽屉上放好样品槽，槽上滴好镜头介质以后，就可以把抽屉放进 NanoTracker™ 头里，镜头可以开始接近样品。

通过 JUnicam 窗口可以观察聚焦样品的过程。



单击快捷菜单的“Objective Positioning”按钮，打开光学定位窗口（或者从菜单 Control -> Objective Positioning 打开）。



捕获镜头（面板下半部分）与探测镜头（面板上半部分）可以独立的移动。镜头的移动可以通过两种非常不同的方式实现。第一种，您可以通过使用粗调（双箭头，步长 100um）与细调（单箭头，步长 1um）。一直按压按钮不放可以使得镜头连续的移动。

第二种，通过“jump-to”按钮使得镜头一次性移动到预先设定的位置。系统中有“Change Objective（仅限于捕获镜头）”，“Change Sample”和“Near Focus”三种位置。对于捕获镜头与探测镜头，这些位置可以分别独立的设定（面板右侧）或者是同时设定（面板底部）。Jump-to 过程中的运动可以在任何时候由“Stop”按钮停止。



Change Sample



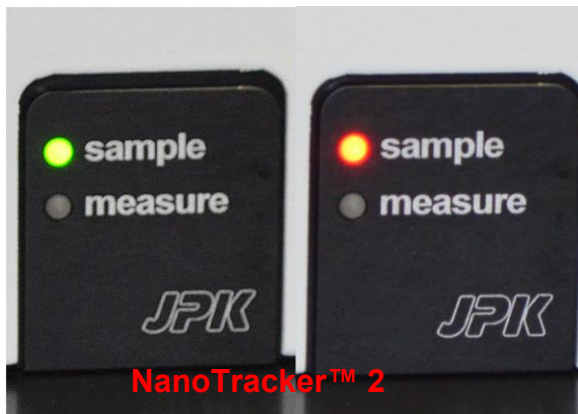
Near Focus

当软件启动的时候，默认镜头是远离在“Change Sample”位置，在这个位置上，可以安全的更换样品。

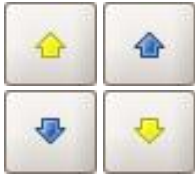
“Near Focus”按钮可以让相应的镜头一次性移动到镜油能够与盖玻片接触的位置。此位置会由于样品槽的厚度或所加镜油的量而有一点点的变化。请小心微量添加镜油以免过量。

提醒：在点击“Near Focus”按钮之前，请确保其位置的正确。否则会使得镜头与盖玻片相撞导致其中一个或者两个一起损坏。“Near Focus”的位置可以有用户自行确定。（请参见英文手册：section 10.2）。

一旦镜头向上移动离开“Change Sample”位置，“sample”的 LED 灯就会有绿变红，提醒用户请勿拉出样品抽屉。

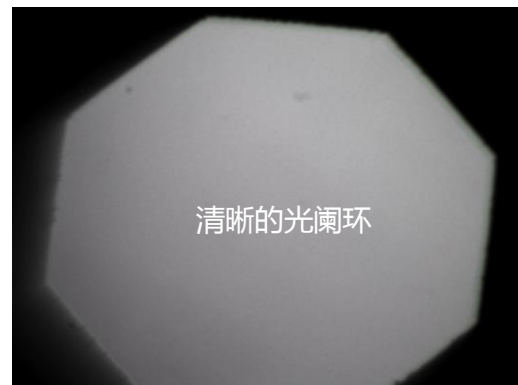
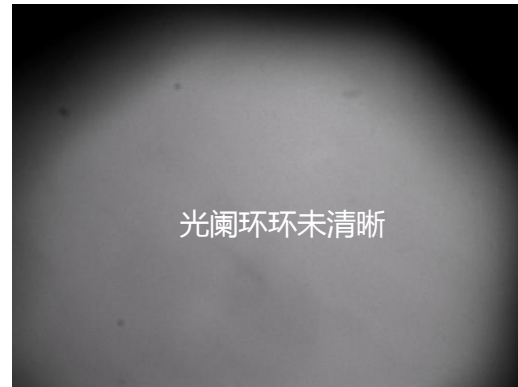


如果对于“Near Focus”的位置并未准确校准，可以看着镜头的位置移动镜头接近样品。看到镜油与样品接触时请由“粗调”换成“细调”。

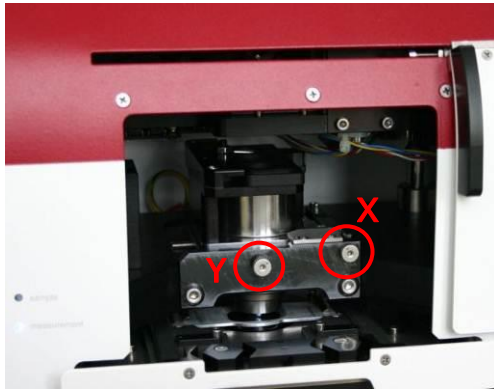


现在需要用捕获镜头来聚焦样品。推荐使用“**Slow Stepping**”来进行。要对焦到样品表面，可以通过聚焦样品中的物体或者是聚焦到激光在盖玻片的反射处来实现。如果采用后者，那么就需要在聚焦前打开激光以及激光阀门。如果每次实验都才去同样的方式，那么阁下会发现镜头的聚焦高度在每次实验中都会在是同一个位置。

接下来，需要调节并最优化探测镜头位置，以达到正确的“**Köhler illumination**”与有效的信号探测。为了使得这一点可重复，首先，请关闭远场照明系统的“**Field Aperture Diaphragm**（显微镜的实验可变光阑环）”，知道可以看到远场视野，然后接近探测镜头（使用“**Slow Stepping**”按钮）来使得光阑环的边缘变得清晰。



对于 NanoTracker™一代系统：



如果光阑环并不在视场中央，可以通过调节探测镜头架上的两个旋钮来恢复均匀照明场。

首先移动 X 旋钮缓慢的将光阑环调到水平方向的中心，然后移动 Y 旋钮缓慢的将光阑环调节到竖直方向的中心。

当更换样品的时候，使用“**Optics Positioning**”窗口底部的“**jump-to**”按钮可是减少操作过程。单击“**Change Sample**”按钮，两个镜头将会逐个远离。更换完样品以后，通过单击底部的“**Near Focus**”按钮可以再次将镜头移动到与样品接近。再一次，聚焦的过程还是需要用精细步进按钮。

3.2 颗粒的捕获

3.2.1 样品定位

样品台的移动是全自动通过可视化用户界面控制的。样品的位置可以通过 JUnicam 窗口来查看（参见 section 5.1）。

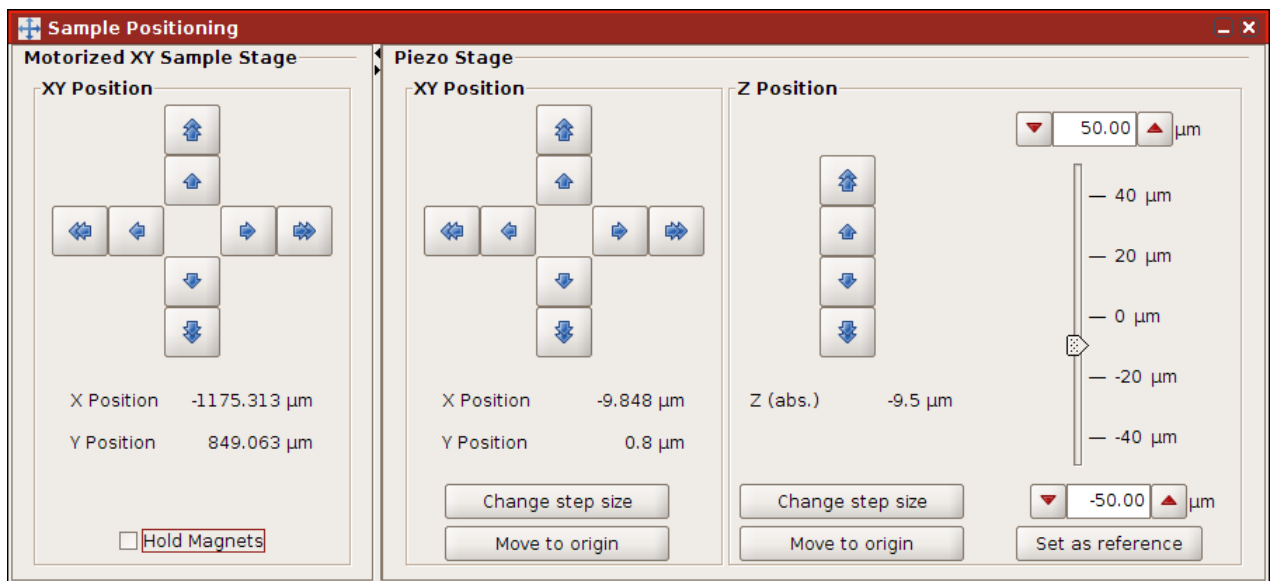


快捷键“**Sample Positioning**”打开步进电机/压电陶瓷台的导航。它也可以在菜单中打开 **Control -> Sample Positioning**。



步进电机台可以在两种速度下移动，按住按钮可以让它持续移动。压电陶瓷台默认的步长分别是 10nm 跟 200nm。

在 15 X15 平方毫米的范围内，步进电机台可以通过光学取景粗略定位。而压电陶瓷台，在 XYZ 均为 100 微米范围内，可以实现精度为 1nm 的精确定位。



压电陶瓷台的 Z 方向可以通过蓝色箭头或者滑动条来控制。当工作在一个特定的压电陶瓷高度时（比如在玻璃表面），可以设定 Z 方向的相对位置，并以此作为零点来显示 Z 方向的位置。

电动样品台内置两个磁铁，可以用来固定样品台避免漂移。这两个磁铁可以在“**Hold Magnets**”选项里面被打开。（请注意，激活定位磁铁会引起轻微的光学漂移）。当使用“**Sample Positioning**”面板来移动电动台是，定位磁铁将会在移动过程中被自动关闭。

3.2.2 小球的捕获

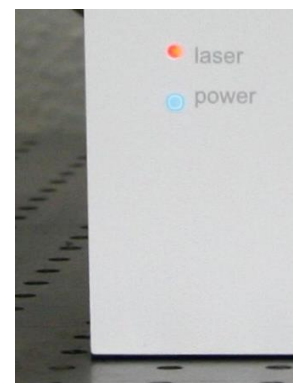
捕获小球的过程需要通过影像窗口 JUnicam（参见 section 6.1）来观察与进行。根据小球的尺寸，有时需要用 DIC 或者荧光成像来观察小球。

两个光阱在光学图中的位置是通过十字叉来标明的；红色代表光阱 1 而蓝色代表光阱 2。十字叉不仅仅是用于可视化，同时也作为光阱的操纵工具。光阱位置与十字叉在光学图上的同步必须要通过光学校准实现（参见 section 4.1.14）。每次校准只对当前光路系统配置有效。如果光路上有任何改动，校准过程需要重做。



要捕捉小球时，请打开激光电源和激光主遮板。

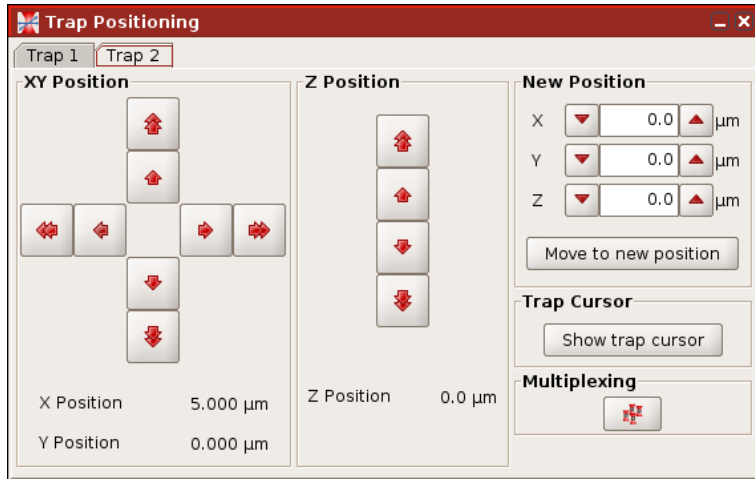
当打开激光主遮板时，激光箱上的 LED 灯会亮起。蓝色的 LED 表明激光源已经打开。





当需要激活不同光阱时，请打开相应激光束的控制遮板。

在直接从 JUnicam 窗口中捕获小球时，光阱的光标/十字叉需要被激活。如果未能看到光标，请在“Trap Position”窗口内激活。“Trap Position”可以在快捷菜单栏或者“Control -> Trap Positioning”处找到。



切换钮“Show Trap Cursor”可以切换光标的可见性。移动光阱时，请将鼠标移到十字叉的位置，按下左键然后拖动到新的位置。在这一过程中，光阱的位置会被实时的在窗口中更新（X,Y,Z 的位置会在窗口下端显示）。光阱也可以在窗口范围内通过使用“Trap Positioning”中的箭头移动。



样品中的颗粒可以用两种方式捕获：
1. 将光阱拖动到颗粒的位置。2. 在颗粒上双击。这一功能称之为：**Point and Trap**。

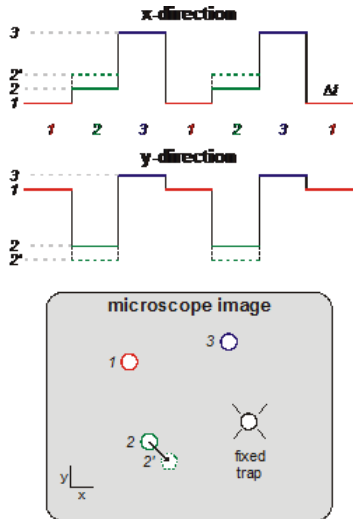
在这两种情况中，颗粒的捕捉都需要通过点击相应的十字叉来激活。激活的光阱可以被拖动到任何感兴趣的位置，捕获任何可折射激光的物体。此外，光阱也可以通过在光学图上双击指定位置而移动，其移动的速度可以在“Trap Positioning”窗口中设定。

最快捷的小球捕捉方式是通过调节 Z 压电陶瓷聚焦到小球上，然后双击小球进行捕获。这可以使得光阱被移动到指定位置然后捕捉小球。

3.2.3 光阱分束

光阱分束的特色是一束激光能够扫描过一系列的位置。如果扫描速度足够快，就可以虚拟出多个光束。因为被捕获的颗粒并不会“感受”到激光有一段时间不存在。通过使用光阱分束或者称之为光阱“分时共享”，可以用一个激光束创造出几百束激光。

光阱分束需要首先为光阱的 XY 扫描器指定一定序列的位置，就如下图中标明的 3 个位点。停滞时间决定了 Δt ，也就是在每一个位置的滞留时间。所以一个扫描周期的所需的时间就是 $\Delta t \cdot N$ ，N 是总共的激光分位点数目。改变一个位置（比如位点 2- \rightarrow 2'）只会改变光阱分束其中的一个 XY 位置。

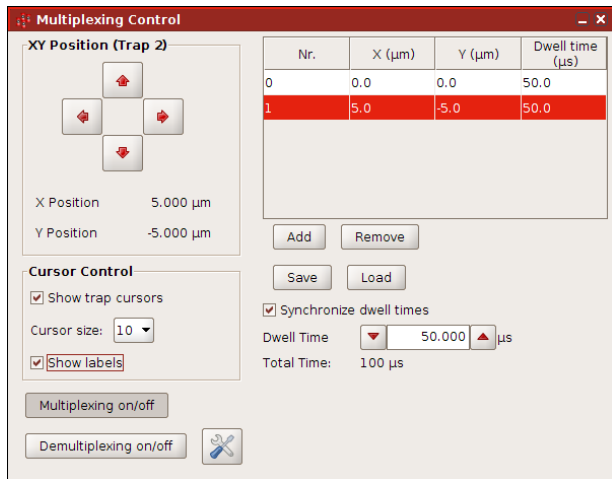


关于光阱分束的重要提醒：

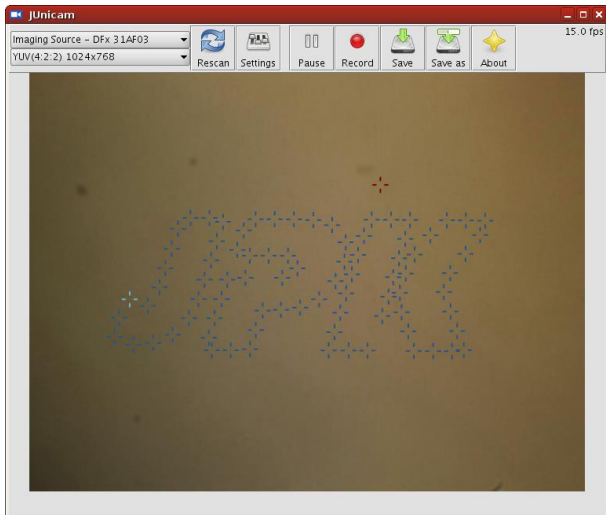
1. 光阱的有效硬度会随着分束的变多而下降（参见 section 4.2）。分束数目越多，每一个光阱就越软。
2. 光阱分束的主要功能是提供操纵，而不是同时的力学测量或颗粒追踪。理论上，光阱的快速扫描会影响对位置与力信号的准确测量。
3. 如果使用“galvanometric 镜子”来实现光阱分束，镜子会通过机械转动来在不同位置扫描，您会听到控制盒中传来这些声音。声音的频率与振幅取决于停滞时间与扫描的模式。
4. 在 NanoTracker™ 一代中，只有 2 号光阱可以被分束。



光阱分束可以通过单击工具栏上的按钮，选择“Multiplexing Control”或者是单击光阱 2 的“Trap Positioning”面板底部的按钮



“Multiplexing Control”面板包含关于分束的所有设置。带有图标的位置控制面板是用来控制分束的光阱的。光阱阵列可以通过“Add”和“Remove”按钮手动的选择，或者是通过“Load”按钮读取 text 文件（每一行包括 XY 位置的绝对值，米为单位）。一旦阵列被创建好，它可以通过“Save”来保存为 txt 文件。



实际的分束可以通过该面板上的按钮来激活。此时，系统状态面板（参见 section 3.2.4）将会显示光阱分束被激活。

如果“Show Trap cursors”被激活，已分束的光阱将会用标准十字叉显示在 JUnicam 的光学图像上（参见 section 5.1.4），如左图所示。其中一个分束的光阱在被高亮显示。分束的光阱也可以十字叉选定并移动。

§ 4 校准

本章介绍校准所包含的所有步骤。本章的第一部分会介绍光学校准。接下来第二部分会介绍光阱的硬度与敏感度校准。第二部分的校准在每次捕获一个新的小球都必须重复一次，因此略为重要一些。但是，如果第一部分的校准没有做好，硬度与敏感度的校准也会受到影响。

4.1 光学校准

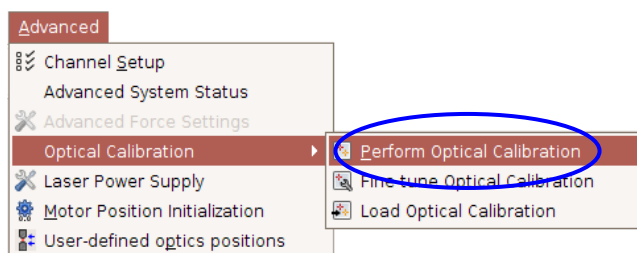
4.1.1 光学校准的介绍

光阱在光学影像中的准确位置需要被校准。一方面，光学定位使得十字叉可以与光阱位置极好的重合，另一方面，校准可以使得光阱的移动获得纳米级别的精确性。

光学坐标系统与激光束的操作是互相独立的。因此，完整的校准包含两个部分，相机坐标系统的校准与光阱在光学图中的独立定位。**首先必须要校准相机的图像。**

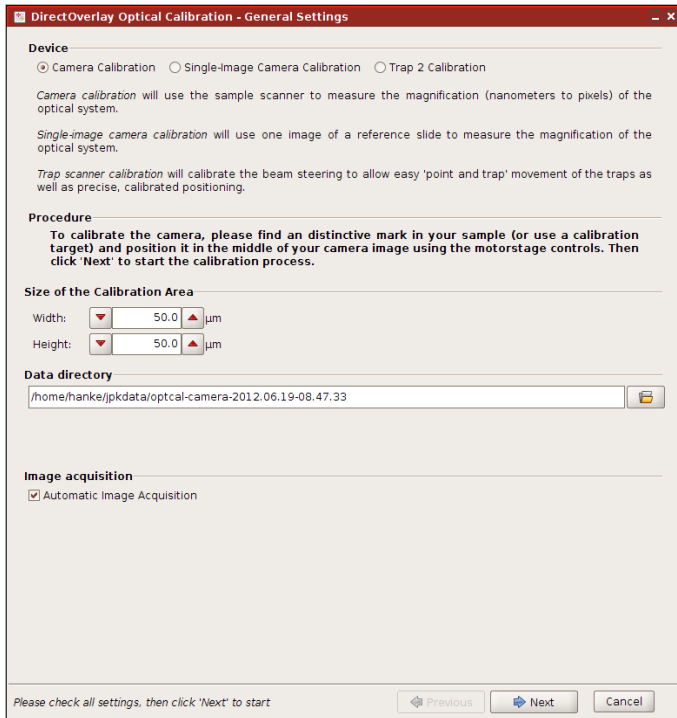
在系统安装完成后就可以进行光学校准了。如果从显微镜上取下相机，校准过程就需要被重做，例如，新相机的安装或者清洁相机。由于一些长效性的系统漂移，每过几个月需要进行一次重新校准。聚焦光阱到玻璃-溶液界面，通过观察激光的实际位置与十字叉重合与否来判断是否失调。也可以通过本章后面所述的“Fine Tune Optical Calibration”功能来进行细微调整。

4.1.2 相机校准



从“**Advanced**”菜单选择“**Optical Calibration**”来开始相机的校准过程。

光学校准是一个多步骤的过程，所以会有一些的面板引导您进行操作。



在光学校准的首页可以选择要校准的设备。相机校准会计算每一个像素所代表的尺寸（纳米）。

初始页允许用户选择校准的范围。校准的区域总是以光学图像的中心为中心。

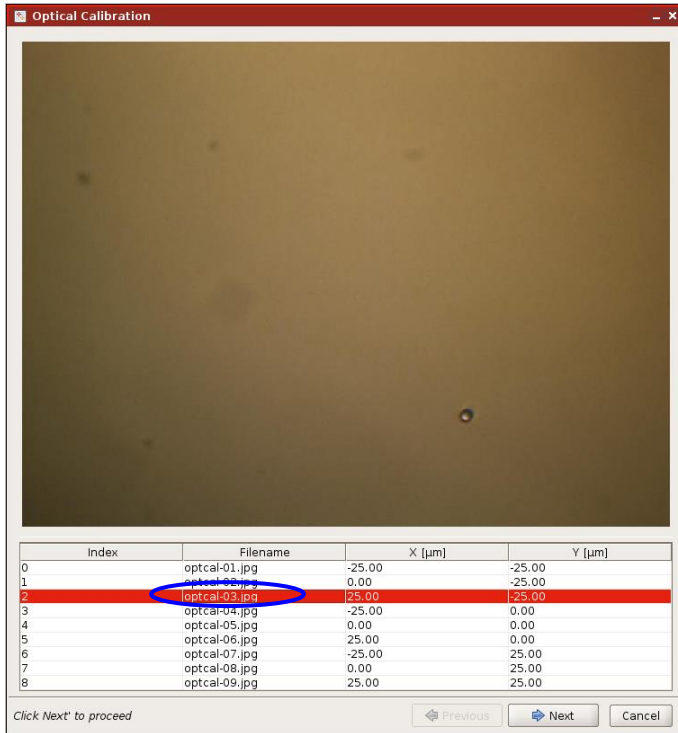
“**Procedure**”中的文字提醒您需要在样品上找一个明显标记（或者使用 JPK NanoTracker™ 校准玻片），然后用步进电机样品台将标记移动到相机中心。完成后，点击“next”继续。

提醒： 曾经做好的光学校准可以通过文件导入，选择“**Load calibration**”按钮就可以（参见：section 4.1.6）。

用于存储校准图片的文件夹“Data Directory”将会被自动生成，图片也会按时间顺序产生。该文件夹的路径跟名字可以被您自由定义。

用户可以选择自动获取图像或是手动获取图像。如果使用“JUnicam”，我们推荐设置成自动获取图像。

点击“**Next**”来开始获取图像。为了获得最好的效果，请首先确保对光学图像标定物的清晰聚焦。



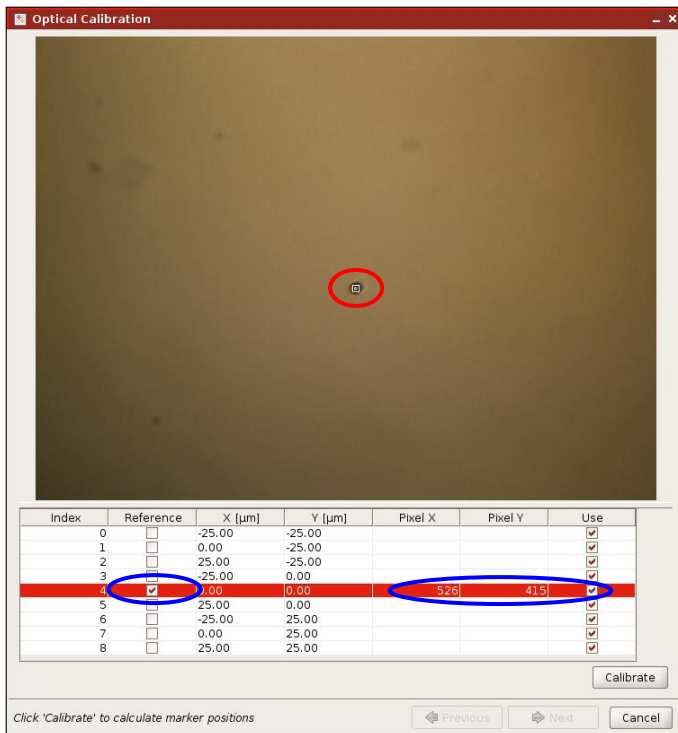
若选用自动校准，校准过程中用户无需输入任何参数。

样品将会在网格上的 9 个位置逐个移动。网格的校准尺寸是在校准的第一步中预设的。在每一个位点，图像会被自动保存下来。

拍摄每一张光学图像后，图像都会被显示在“**Optical Calibration**”窗口且文件名也会出现在列表中。这些都被自动存储在“**Data Directory**”中。

X【微米】与**Y【微米】**的值是中国精确的压电陶瓷控制，(0,0)代表着(X,Y)的压电陶瓷中心。

在图片的获取过程中，面板下方会有一个警告信息。当所有图片都被记录后，点击“**Next**”。



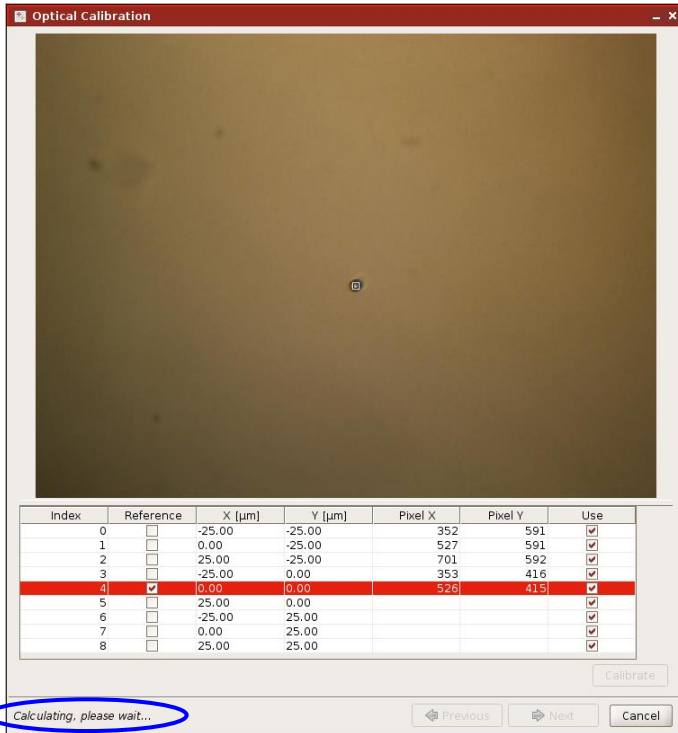
下一步是定位标定物的位置。

点击“**Reference**”栏中的一个方框，选定一张图片作为参照。

选定的图片会在面板上部显示。单击图片中标定物的位置，(椭圆的红框所示)。一个白色的方框会在标定物上面出现，显示其坐标。可以通过放大图片来更为精确地定位标定物的坐标。

当图中的参考位置选好后，Pixel X 与 Pixel Y 的值就会出现。对应了标定物的光学图片中的坐标。

如果觉得选择的标定位置是正确的，请点击面板下方的“**Calibrate**”来继续。

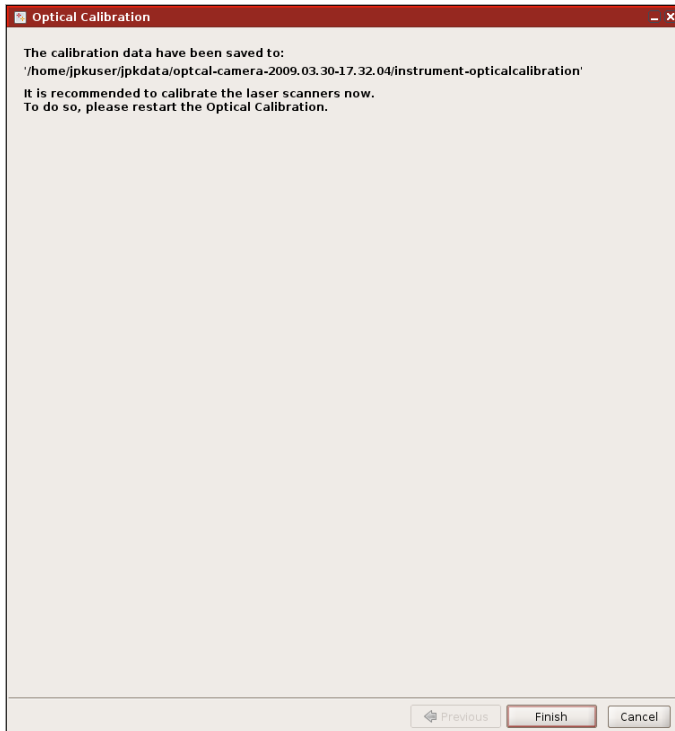


此时，软件会自动计算其他 8 附图片中标定物的位置。这需要一定的时间。请阁下耐心等待每一个坐标的计算。计算的过程可以通过“Pixel X”与“Pixel Y”栏中的值来观察。

在继续下一步之前，请检查自动计算标定物坐标的准确性。面板下方会显示“Standard Deviation”。请您确保其值小于一个像素点。

通过使用向上与向下箭头来查看列表中的计算值。每一幅图中标定物的位置都会在面板上的图片中标出。如果对比度比较低或者成像图片没有聚焦，计算出的标定物坐标就会不准确。标定不准确的图片可以通过“Use”选项框来取消选取。有一些图像可能已经被自动取消选择。用户可以手动选择那些正确标记标定物的图片。

如果校准位置是正确的，点击“Continue”继续。



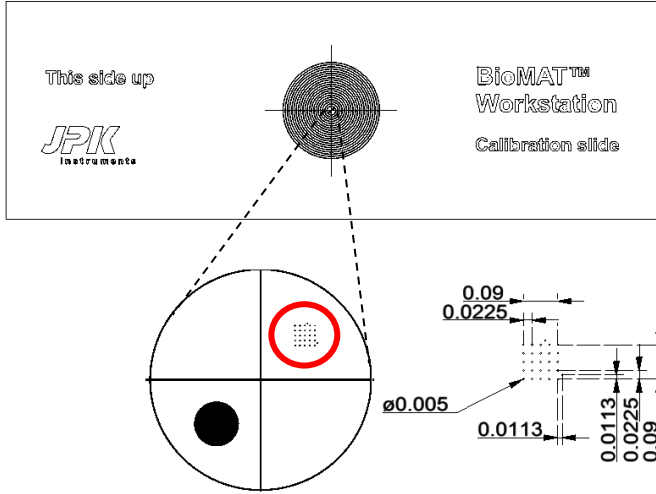
至此，校准全部完成同时校准文件的存储路径也会在面板中显示。

软件会建议继续进行对激光扫描器的校准

点击“Finish”，如果有必要的话，开始对激光扫描器的光学校准。

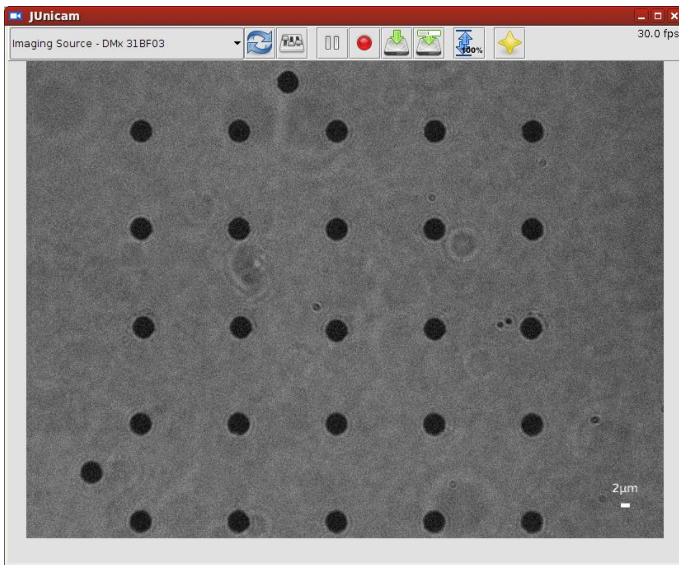
4.1.3 单图片的相机校准

另外一种校准方式是使用为 BioMAT™设计的“相机校准载玻片”。校准过程使用相机拍摄的一张载玻片的照片，根据载玻片上面预刻的图案来确定放大倍数。

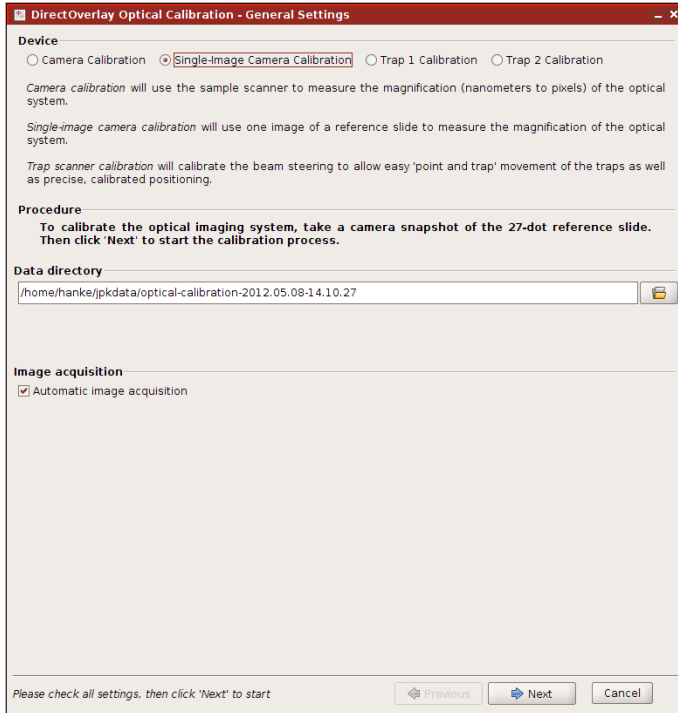


BioMAT™的载玻片有一个精确刻印的图案。最明显的部分就是同心圆环以及十字叉。该校准方法中，图中最小圆环中红圈所示的图案很重要。该图案有 27 个点，其中 25 个组成一个长方形。点与点之间的竖直与水平距离都是 22.5 微米。使用相机与软件提供的校准方法，可以通过这个网格来校准相机。

提示：在此过程中，激光必须被关闭。否则网格上的点会被破坏。



为了完成“Single-Image Camera Calibration”，需要安装好 NanoTracker™来进行校准测量。首先需要把“校准用载玻片”放到样品抽屉然后推入样品仓，入 section 4.1 所述。聚焦在载玻片上。然后用步进电机将校准用的网格点移到视场中（如左图所示）。使用同心圆的曲率来定向并找到中心圆环。

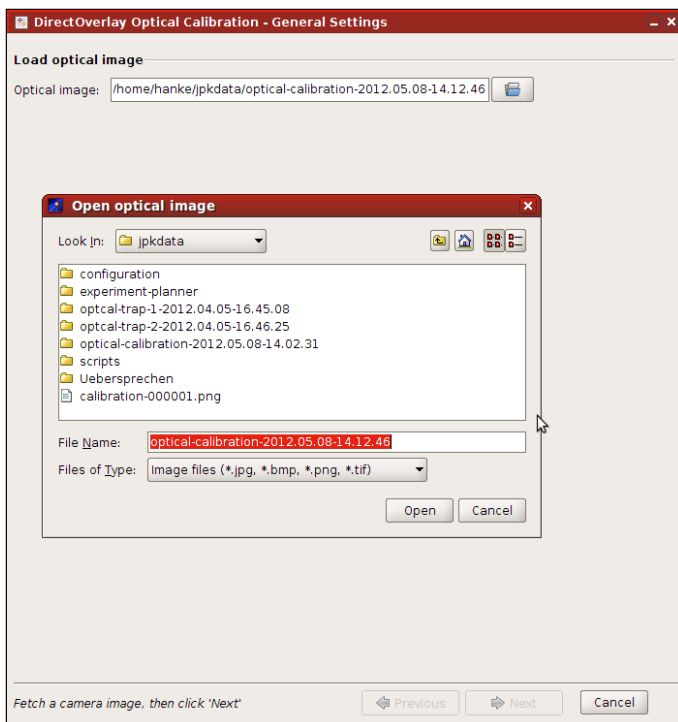


准备过程结束以后，可以入 section 4.1 所述打开 “**Calibration Manager**”。同样的，这也是一个多步骤的过程，其中有多个窗口面板会引导用户完成这一过程。

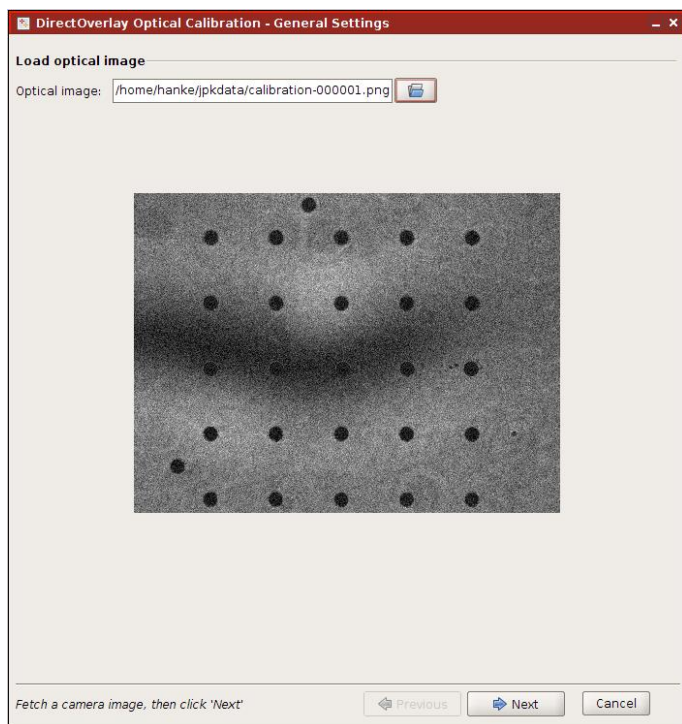
在第一个面板中选择 “**Single-Image Camera Calibration**” 然后在 “**Data Directory**” 中输入一个合法路径用于存储校准数据的文件。

用户可以决定校准网格的图片是自动获取还是手动获取。

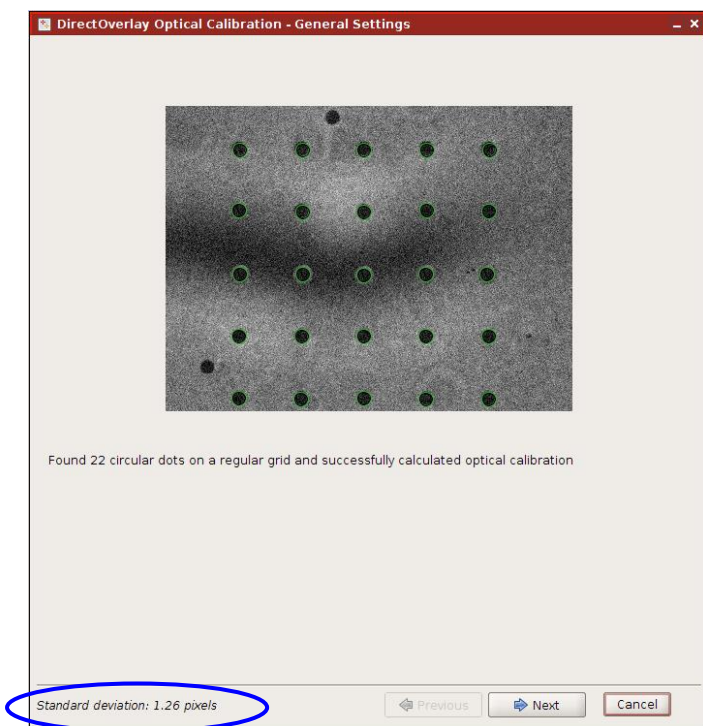
点击 “**Next**” 继续。



拍照后可以用 “**Calibration Manager**” 上的 “**Load Optical Image**” 面板导入图片。点击文件夹图标可以打开文件浏览器。



点击“Next”按钮可以开始校准过程，软件会自动对比预设图案与拍照的图片，用以定位网格。这一个过程将会耗费一定时间。



被定位的原点将会由绿圆圈标出。如果自动标定成功，图片下方的文本会告诉用户有多少个点被标明。

在左下角是“Standard Deviation”的像素表示。该值应该小于1个像素。如果大于1，请试着重新聚焦盖玻片然后重做一次校准。

点击“Next”继续。



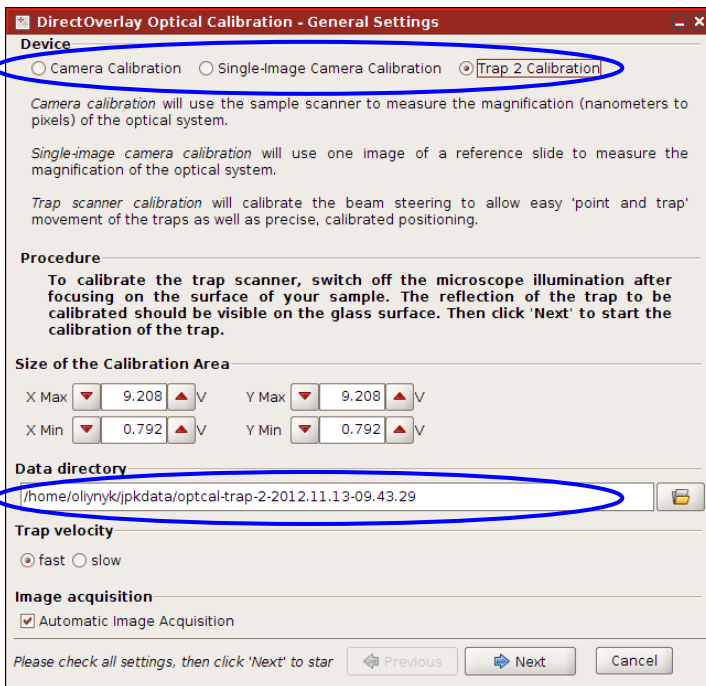
此时，校准已经完成，数据存储的文件夹也会显示。任何时候，该光学校准都可以从该文件夹中重新导入。

软件现在会建议进行对激光扫描器的校准。

点击“**Finish**”然后重启“**Optical Calibration**”来进行激光扫描器的校准，如果有必要的话。

4.1.4 光阱校准

在光阱校准时，需要打开“**Advanced -> Optical Calibration -> Perform Optical Calibration**”（参见 section 4.1）并选择“**Device**”向下的“**Trap Calibration**”。



光学校准过程使用激光的聚焦位置来产生光学图像校准。这种方式的优势在于，光阱的位置，光学图片上的像素坐标以及压电陶瓷的扫描坐标都直接由光阱的聚焦图片而产生。

激光扫描器的校准将调整光束调制来实现“点-阱”的移动以及精确定位。

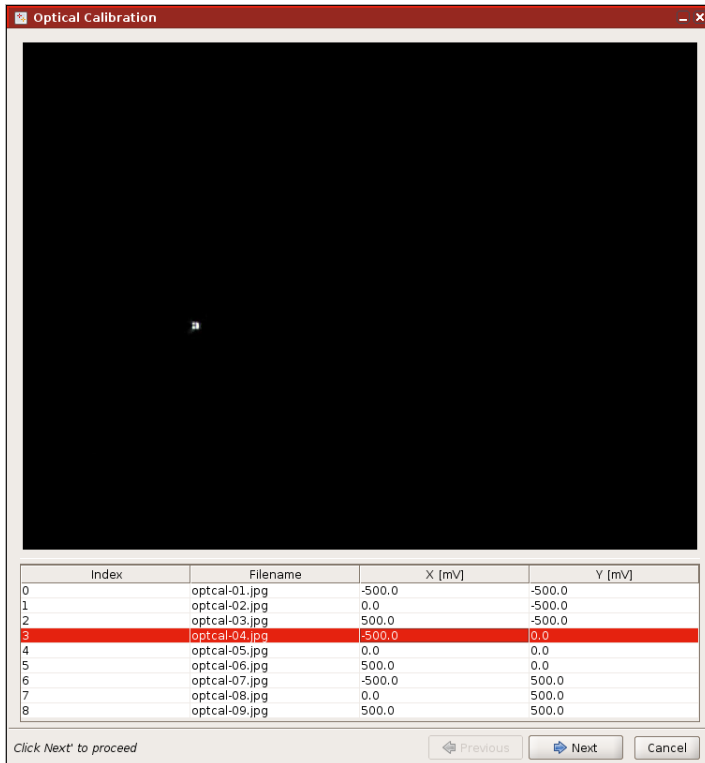
初始化面板允许用户选择校准的范围，默认 1 V * 1 V 的电压。校准范围总是以 X, Y 扫描器的中心为中点。

用于校准的标定物是聚焦后的激光光斑。聚焦到样品表面后请关闭显微镜的明场照明，可以看到激光在样品表面的反射光斑。点击“**Next**”按钮开始校准光阱。

用于存储校准数据的路径“**Data directory**”会由系统自动生成，以日期-时间作为后缀。用户可以根据需要更改。

用户可以决定校准过程是自动完成还是手动。如果使用 JUnicam 的相机界面，请使用“自动”。

单击“Next”来开始图像采集。为了达到最好的效果，请您确保激光在玻片上的放射斑获得清晰聚焦。



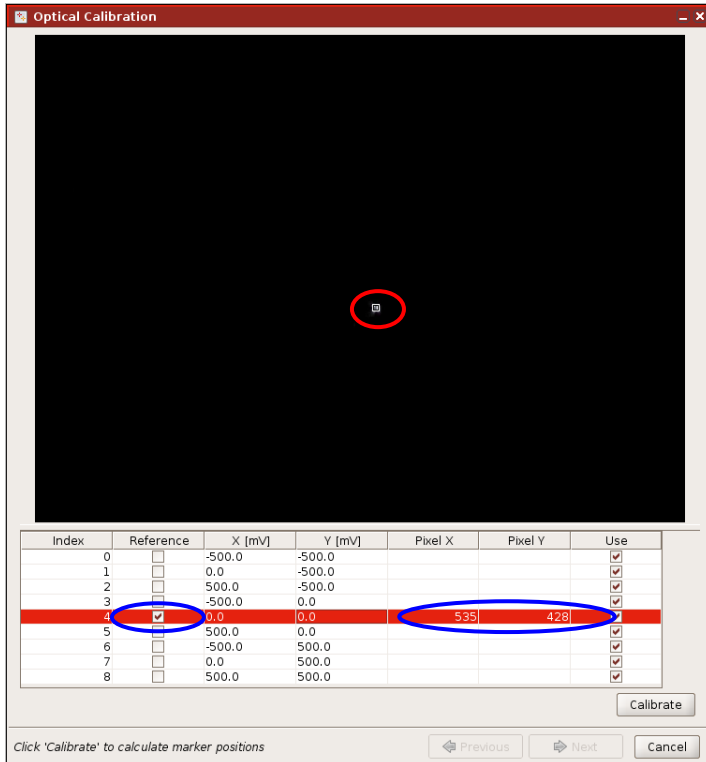
校准如果设为自动，则过程中不需要在面板中进行输入。

光镊会移过网格中的 9 个预设点。网格的大小是在校准的第一部中确定。光阱在每一点照片会被自动获取。

在获取每一张照片后，该照片会在“**Optical Calibration**”窗口中显示，并且文件名也会在列表中出现。这些图片都在自动保存在“**Date directory**”设定的路径中。

X【mV】与 Y【mV】对应着光阱的位置，(0,0) 对应着 (X, Y) 激光扫描器的中心。

在获取图片的过程中，面板下方会显示一个警告信息。当图片获取完成以后，点击“**Next**”。



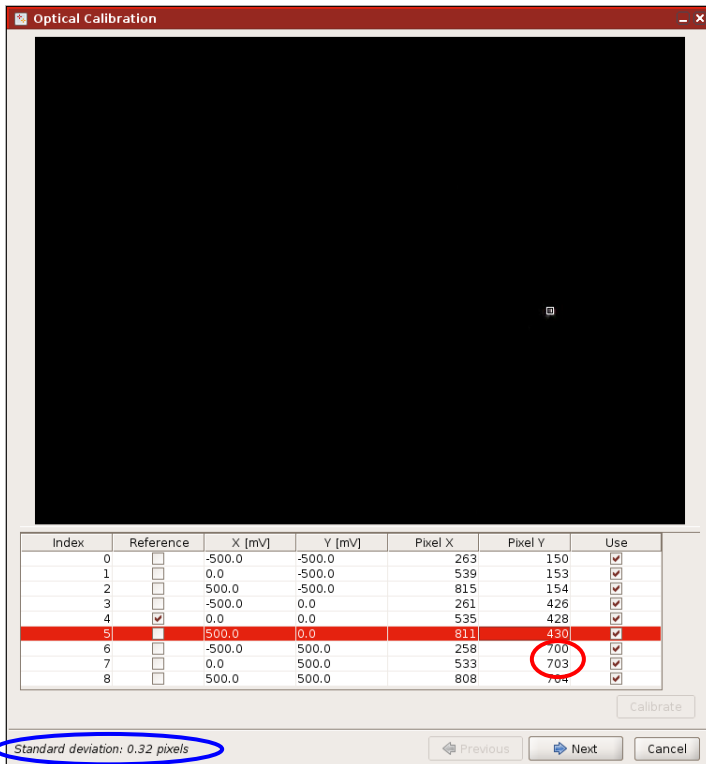
接下来就是定位反射光的位置。

选择一张图作为参考图，单击该图的“Reference”栏目。

被编号的图片会在面板的上方显示。点击光阱在图片所对应的位置。一个白色的方框将会出现在图片中，表明光阱的位置。可以通过放大图片来使的标定更为精确。

当光阱在图片中的位置被标明后，像素 X 与像素 Y 的值会显示出来，表示相应的光阱在光学图片中的坐标。

当您确认选择的光阱的位置是合理的时候，点击面板下端的“Calibrate”。

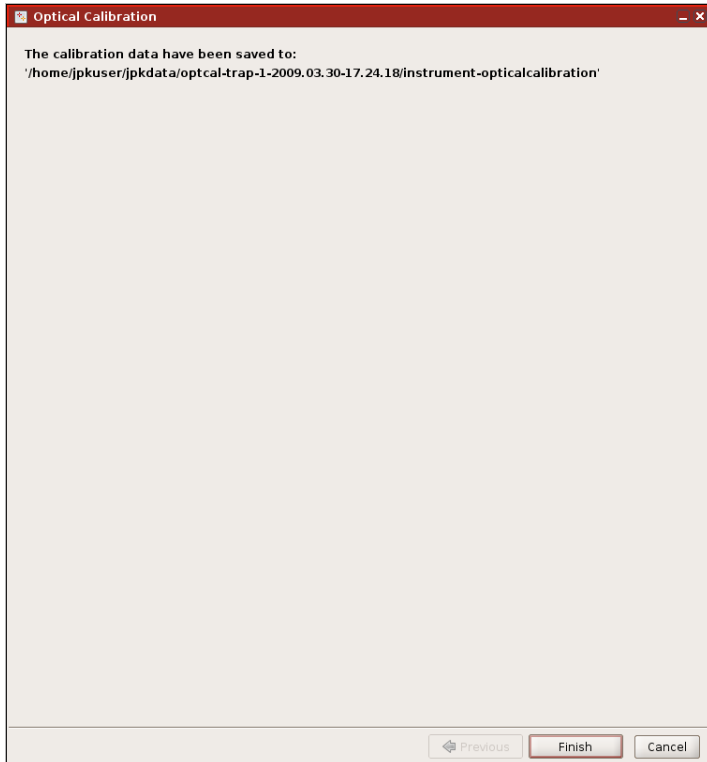


软件会开始自动计算其他 8 附图中的激光位置。这一过程需要一点时间，请您耐心等待计算结果。计算的过程会实时的出现在“Pixel X”和“Pixel Y”栏目中。

在进行下一步之前，最好检查自动计算出来结果的准确性。在面板的底部，会显示“Standard Deviation”的值。当值小于 1 时，校准结果是准确的。

用上下箭头滚动浏览文件列表，每一幅图中计算所得的光阱位置会被自动标明。如果对比度很差或激光没有很好地聚焦，校准的位置会出错。计算位置出错的图片可以在“Use”栏中取消选取。有一些图片已经被自动取消。用户可以在选取的图片中手动标明光阱的位置

当您对校准点感到满意时，点击“Next”。



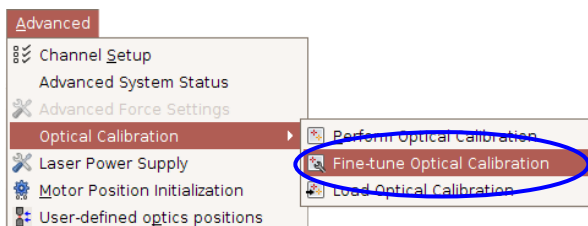
至此，校准已经完成，校准文件的保存路径也在面板中显示。

单击“**Finish**”来关闭光学校准。

4.1.5 精确光学校准

不同尺寸的颗粒被捕获的位置在激光轴中会略有不同。这一现象就是为什么在相机 JUnicam 中看到小球的位置与十字叉不完全重合的原因。最简单快速处理这一不吻合的方法就是进行“**Fine-tune Optical Calibration**（精确光学校准）”。要进行“**Fine-tune Optical Calibration**”，必须要先进行相机与光阱的校准。请参见以上的章节。

在开始“**Fine-tune Optical Calibration**”之前，请您确保 JUnicam 窗口被打开而且每一个光阱中有，且仅有一个颗粒。把颗粒放到相机观测的焦平面。

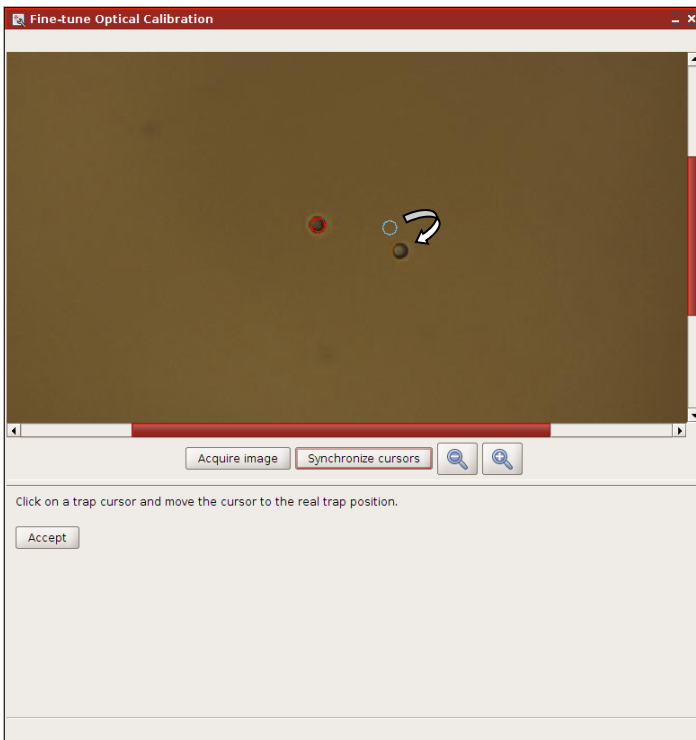


要使用“**Fine-tune Optical Calibration**”，打开“**Advanced -> Optical Calibration**”菜单。



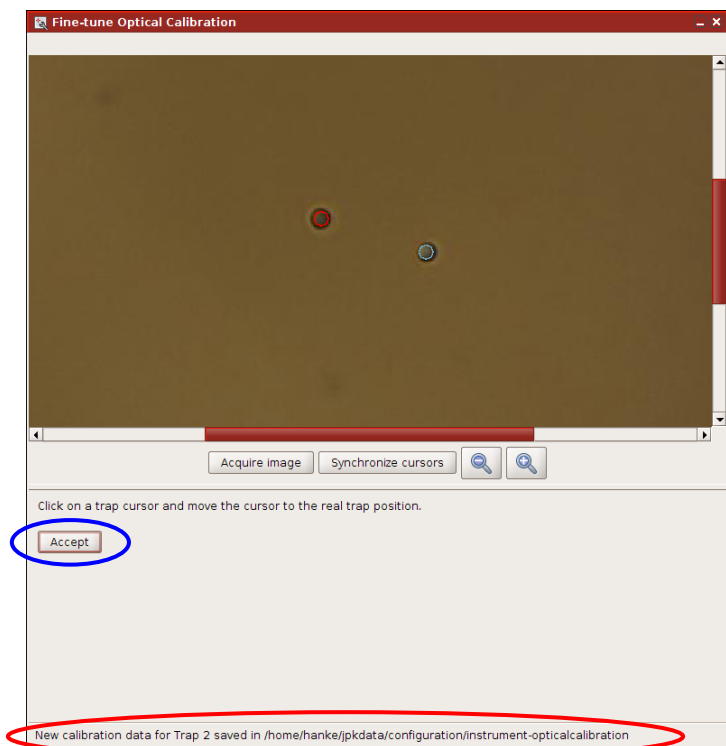
单击“**Fine-tune Optical Calibration**”按钮，“**Fine-tune Optical Calibration**”管理窗口会出现。第一步需要通过单击“**Acquire image**（图中的蓝色椭圆所示）”来获得一张图片。

为了确保两张图片（在校准管理窗口中的照片与 JUnicam 相机中看到的图片）中光阱的位置相同，请在获取照片后，小球位置尚未改变前，于校准管理面板中单击“**Synchronize Cursors**”。



现在校准管理面板中红色与蓝色的圆圈就代表了光阱在 JUnicam 中的位置。

下一步是尽可能精确地用圆圈定位小球的位置。为了使定位更简单且精确，可以使用校准面板的放大功能（或者滚动鼠标滑轮）来数码放大视场。



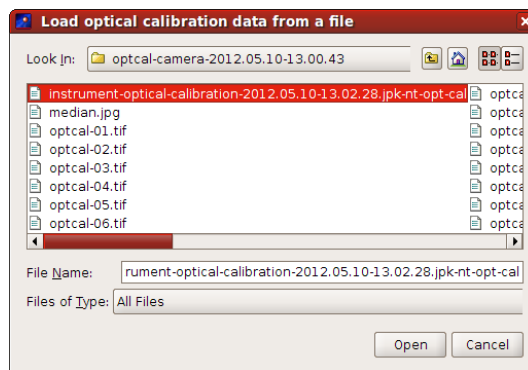
在将圆圈放到小球的位置上后，点击“**Accept**”按钮来更新光镊系统的光学校准文件。

如果“**Fine-tune Optical Calibration**”校准成功，在校准面板的底部会显示新的校准文件所存储的路径。

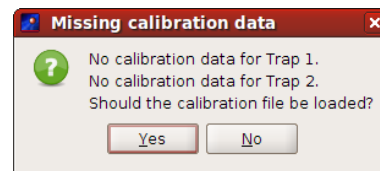
关闭“**Fine-tune Optical Calibration**”窗口。

4.1.6 导入光学校准文件

在光学校准完成以后，可以在之后重新导入这些校准文件。打开菜单中的“**Advanced -> Optical Calibration -> Load Optical Calibration**”中的“**Load Optical Calibration**”窗口。浏览存储有校准数据的文件夹，这个文件默认是 jpkdata 中。校准可以分为相机校准（‘optical-camera-...’）和光阱校准（‘optical-trap-...’）文件。相对应的文件夹是“instrument-optical-calibration-...”。打开这些文件会导入旧的校准。



在导入光阱的校准文件后，系统会显示一条错误信息（见右图）：该文件没有包含任何光阱的校准数据。请忽视这一信息并继续导入。实际光阱的校准不会受到影响。



4.2 光阱的硬度与敏感度的校准

4.2.1 热噪音校准方法

4.2.1.1 前言

为了要定量的测量施加在颗粒上的力以及颗粒相对于光阱中心的位移，XYZ 上的信号必须被预先校准。校准使用的方法是能谱分析，通过测量捕获颗粒热运动的能谱响应（需要知道颗粒的尺寸与介质的粘滞系数）与理论预测能谱分布的 Lorentz 函数对比。

$$S(f) = \frac{k_B T}{\gamma \pi^2 (f_c^2 + f^2)}$$

$f_c = \kappa / (2\pi\gamma)$ 代表着光阱的 “Corner Frequency” 而 $\gamma = 2\pi\eta \cdot d$ 则是溶液介质作用于颗粒上的力。颗粒相对光阱中心的偏移量与探测器上的测量值（detector sensitivity）之间的关系（单位：m/V）是通过比较测量到的能谱（单位：V²/Hz）与预期值（单位：nm²/Hz）得到的。当液体介质粘滞力 η 与颗粒直径 d 已知的时候，光阱的硬度 κ 就可以通过 Corner Frequency 来获得，进而可以获得位移以及力的大小。

这一校准方法的相关的物理背景以及理论叙述可以在许多科学文献中找到，因此该手册将不涵盖这方面内容。同时，使用 NanoTracker™ 软件中自带的 “Calibration Manager” 不需要深刻理解能谱的细节内容。

4.2.1.2 校准操作

如前面所述，NanoTracker™ 软件中能谱的校准过程，依赖于被捕获颗粒的尺寸以及其周围介质的粘滞力。因此，在各校进行校准与使用校准值的时候，请谨记以下内容：

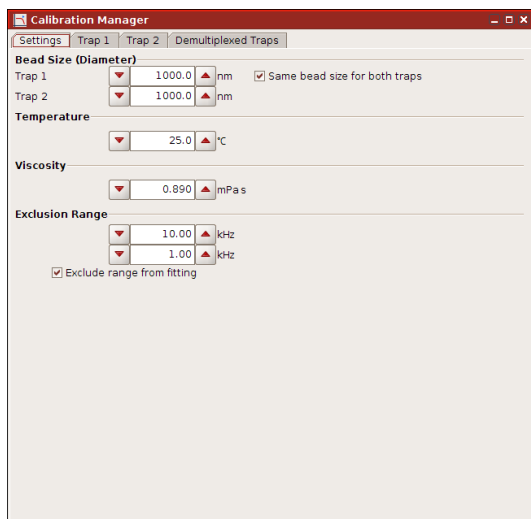
1. 理论上，校准的参数会根据颗粒而不同。当购买微球的时候，生产商一般会标明微球的尺寸。如果实际值超过了几个百分点，校准的准确性就会受到影响。因此，我们建议对不同的球进行测量（通过显微镜或者其他方式）。
2. 校准的准确度可以通过对同一个小球的多次测量然后观察计算值的分部来评估。
3. 如果光阱中进入了额外的颗粒，那么之前所有的校准参数都需要作废。请您时刻确保光阱中有且只有一个颗粒以获得最好的定量结果。如果在光学图像中不可见，额外颗粒的乱入能够通过光阱信号的跳跃来发现，这个可以在 section 5.3 跟 5.4 中介绍的示波器面板来进行查看。

4.2.1.3 校准管理



“Calibration Manager” 可以通过快捷栏中的快捷键或者是菜单栏的 “Measure” 来启动。

窗口中有通用设置以及不同标签栏对应每一个光阱 x, y, z 方向的校准。“Setting” 栏是默认的起始开始栏。



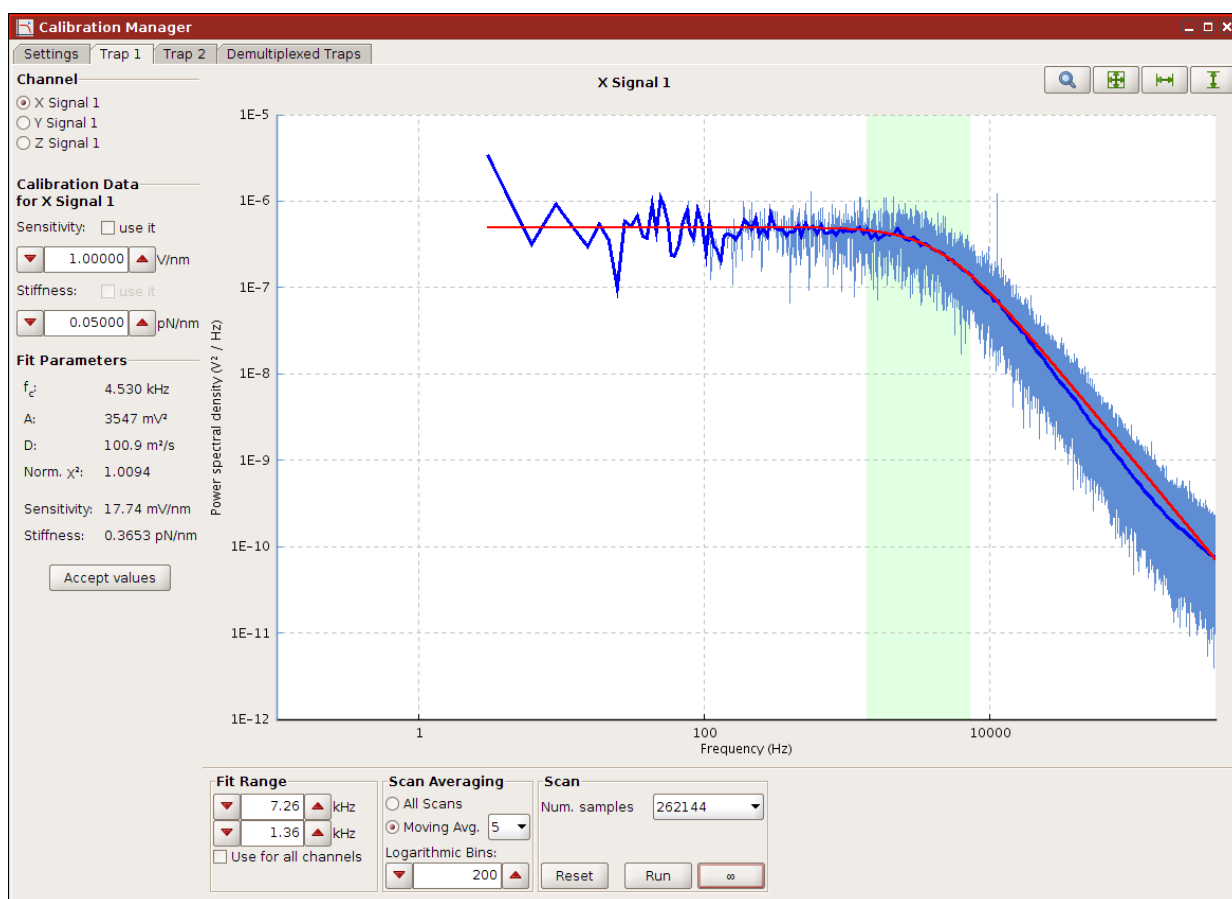
在设置面板中，有几个试验相关的参数需要输入

- **bead size (diameter)** 颗粒的直径
- **solvent temperature** 溶液的温度
- **viscosity** 粘滞系数

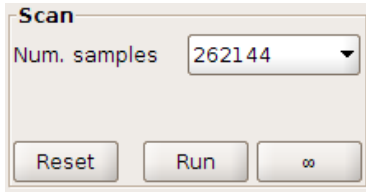
此外，需要定义一个预排除频率范围，参见下文。

光阱中两个颗粒的尺寸默认是相同的，如果不同，请取消“**same bead size for both trap**”的选项。粘滞系数默认是在水在 25 度时的值：0.89 mPa·s。

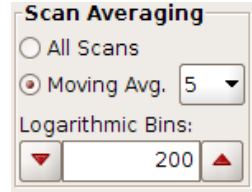
在输入或者确定这些值以后，每个通道都会被单独的校准。在最后，每一个标签栏与需要的通道都需要适当选取，比如下图所示的 X Signal 1。



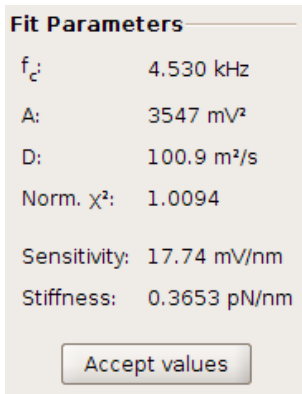
这些标签栏对于每一个通道都是相同的。面板会被细划分为“**Calibration Data , Fit Range , Scan Averaging , Scan**”以及双对数图。能谱图可以通过“**Scan**”次面板来记录。



“Run” 按钮可以用来收集单个的能谱。当 “Scan Averaging” 参数被设定为 “All Scans”，或者选择要进行移动平均的数值 (Moving Avg)。“∞” 按钮用于持续记录能谱直到该按钮被再次点击或者点击 “Stop” 按钮。“Reset” 按钮会抹除当前的能谱。



图中展示了一个典型的束缚颗粒的能谱。浅蓝色的曲线是测量所得的颗粒的热运动的能谱。深蓝色的曲线是对数平滑后的能谱。“Logarithmic Bins” 的值据定了使用多少数值来来计算平均值 (仅仅只影响它的显示)。红线是对能谱进行 Lorentzian 拟合的最佳结果，该方法是 Berg-Sørensen 发明的，有兴趣的可以翻看英文版后面的 reference。

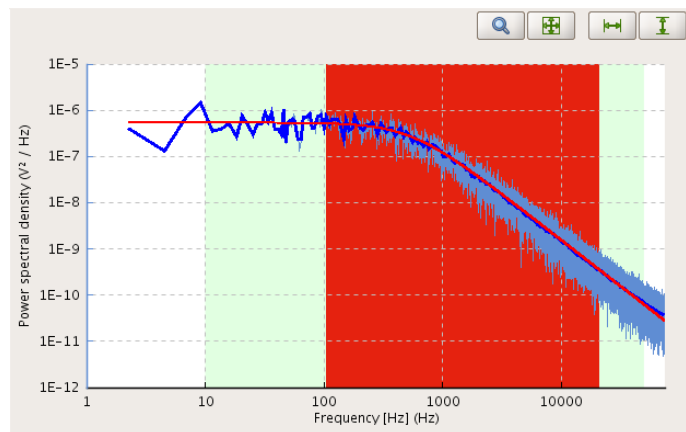
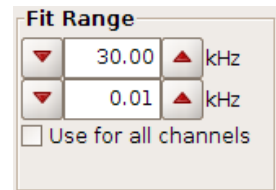


当能谱被记录下来后，通过 corner frequency 计算所得的 “sensitivity” 与 “stiffness”，以及颗粒的扩散常数 D 都会被现在 “Fit parameters” 的面板中。

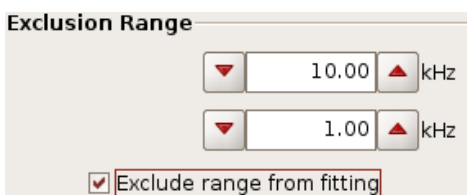
如果拟合结果理想，可以点击 “Accept Values” 来采用这些值。拟合的效果可以首先通过比较红色的拟合曲线与蓝色的能谱数据来评估。此外，还可以通过使用归一化的 χ^2 来进行判断。

校准过程可以独立的对 x, y 以及 z 方向进行。

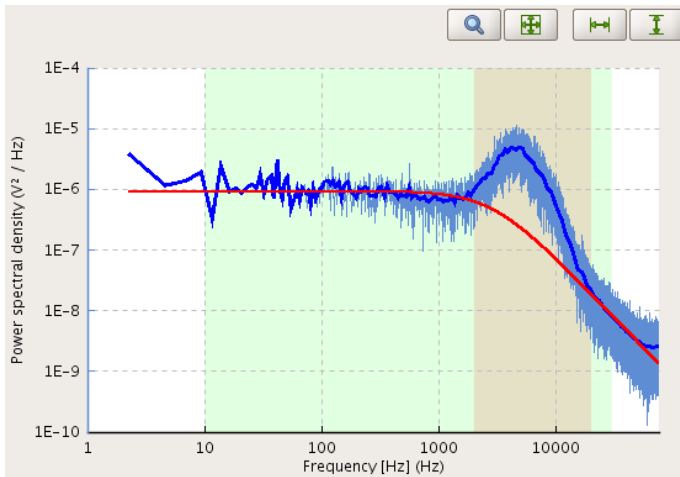
为了获得最好的结果，可以适当的改变拟合的频率范围。这一点可以通过使用控制栏中的 “Fit Range” 面板或者是用鼠标拖曳出频率范围的方式来进行，见下图。使用 “Use for all channels” 选项，当前设定可以自动被应用到所有的通道拟合中去。



如果某些特定频率的峰或者其他不需要特则出现在能谱中，包含这些信息的频率范围应该被排除在拟合范围之外。

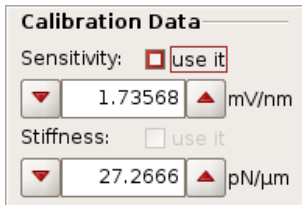


排除的频率范围可以被手动输入在 “Setting” 栏中的 “Exclusion Range” 然后被应用到所有的通道中去。



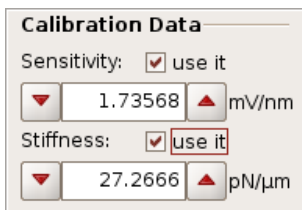
左图中，被排出的频率范围使用灰色区间标明（只有在当前拟合区域中排除区间才会被用灰色标明）。

4.2.1.4 使用校准参数



当前通道的校准参数通过用“Accept Value”确定以后，该数值可以用被用来作为所有通道的默认单位。

通过勾选“Calibration Data”面板中“Sensitivity”下方的“use it”，选定通道的数据就会用位移（米）的单位来表示



此外，勾选“Stiffness”下的“use it”，选定通道的数据就会用力（牛）的单位来表示

4.2.1.5 存储能谱数据



每张图表中的能谱数据可以被单独的以文本的方式存储在硬盘中，便于日后通过其他软件来进行分析。输出时，右键点击能谱图然后从菜单中选择“Save”。

§ 5 光学图像界面

本章节将仅仅覆盖光学图像界面的基本设置与选项。更多的关于对不同的相机的支持的细节信息（例如 Andor Luca®, Progress® CCD Camera and μ Eye® USB Camera）以及更多特定的设置可以在随每台 NanoTracker™附运的相机手册中获得。

5.1 JUnicam

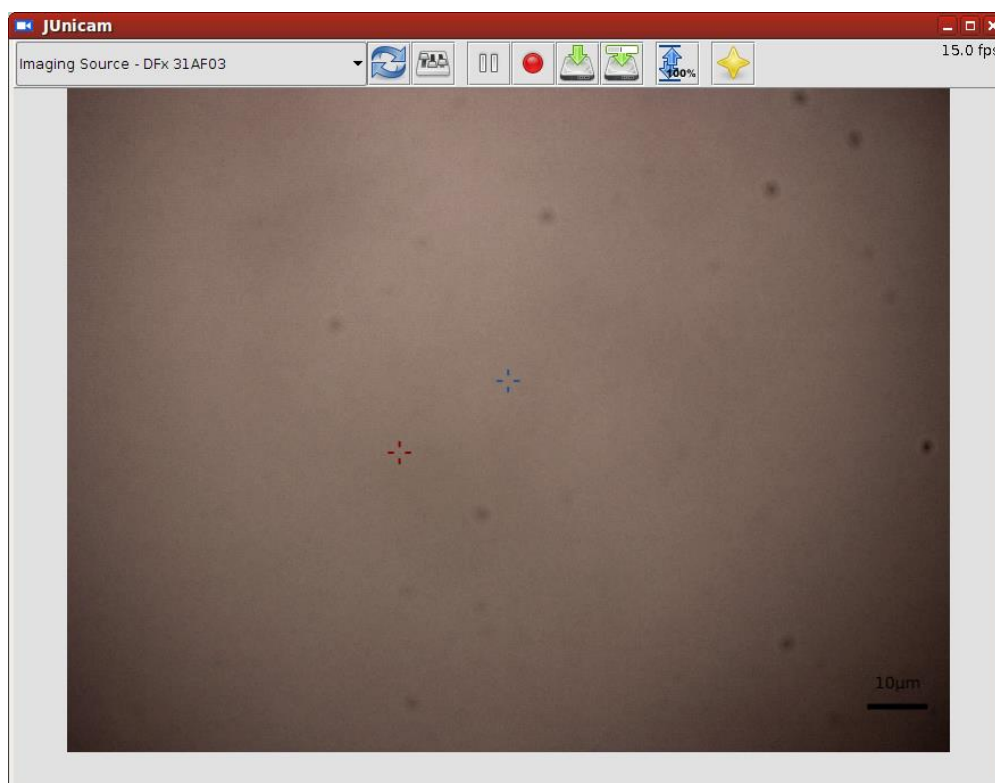
NanoTracker™控制软件的一个重要组件就是实时光学图像观察器，名叫 **JUnicam**。它可以让您在视频帧率下实时观察目前的显微镜图像，并且通过直观简易的方法，让您用鼠标直接在光学图像上点击，拖曳，控制光阱的位置。（参考 5.1.2）



JUnicam 能够通过快捷图标栏启动，也可以从 **Camera** 菜单选择 **CCD Camera** 来启动。

5.1.1 JUnicam 概述

当启动以后，JUnicam 将会自动搜寻连接到计算机的被支持的照相机。NanoTracker™默认装备有一个通过火线连接的 Imaging Source 彩色照相机。在下面所有的屏摄或者相关的描述，都使用了一个型号为 **31AF03** 的 Imaging Source 照相机。支持列表业包括了来自于 Jenoptik, Imaging Development Systems (IDS)和 Andor Technology 的相机。请联系 JPK 获得支持相机的详细情况。



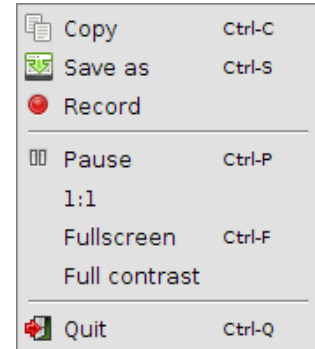
目前正在使用的相机的型号显示在窗口的左上角。如果找到了多于 1 个相机，那么通过下拉列表可以选择其他已经安装的相机。如同 NanoTracker™ 的主软件，JUnicam 也包含了一个快捷图标栏来访问其最常用的一些功能。在窗口的右上角，可以获得目前的帧率（以每秒帧数 fps 表示）。



如果照相机显示的图像出现问题，第一步的尝试是使用重新扫描 **Rescan** 来刷新图像。

在光学图像上鼠标右键点击将打开一个菜单，这个菜单可以访问一些经常被使用的功能。使用 **Copy** 将复制目前的帧到剪切板并且能够粘贴到其他程序之中。

1 : 1 选项调整 JUnicam 窗口使得照相机像素与屏幕像素点对点显示。选择 Fullscreen 选项将最大化窗口。当使用两个显示器时，它将只会填满单个屏幕。



5.1.2 点击与拖曳功能

NanoTracker™ 装备了称为“point and trap”的软件特性。这一特性使得使用者可以在 JUnicam 窗口中用十字光标来控制光阱。这一特性是默认就可使用的，只需要完成照相机的光学校准以及光阱的校准就可以了（关于校准请参考 4.1 章节）。

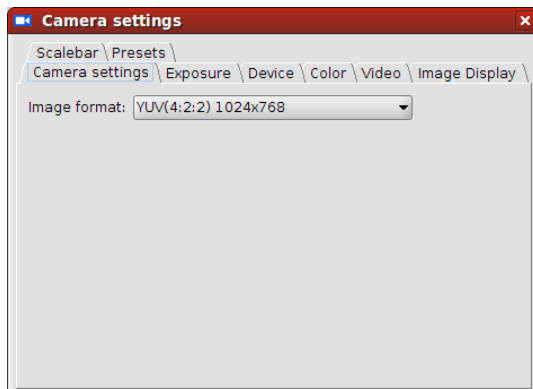
软件中存在两种控制光阱的方法。第一种方法是简单点击十字光标中的一个，并且保持鼠标左键按下的同时拖动光标到您希望的位置。第二种方法是首先点击选中某个光标，使之处于高亮状态，随后在您希望的位置上双击鼠标，这是光标以及激光点将自动移动到您指定的新位置。

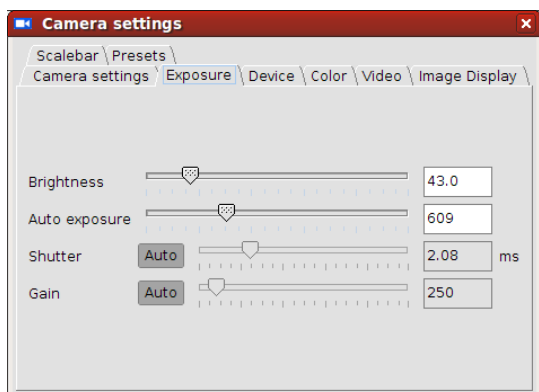
5.1.3 调节照相机设定

在 JUnicam 窗口快捷栏上的这个按钮将自动调节对比度的数值。为了获得最佳的对比度，软件将自动地调节内部的快门的数值，以及增益和最大最小颜色值。



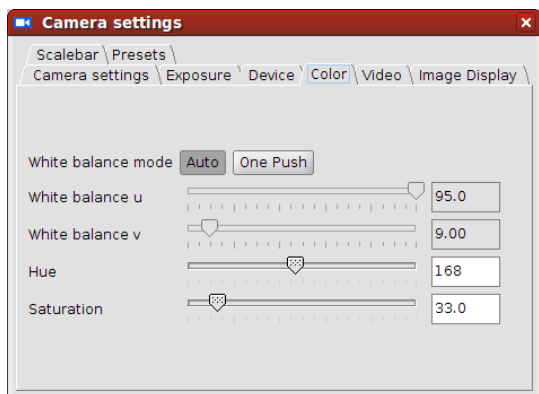
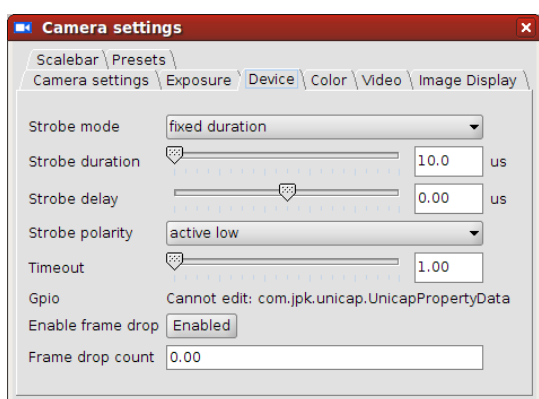
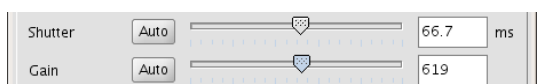
点击 **Settings** 按钮将打开 **Camera Settings** 窗口。这里可以手动地调节照相机的各项参数以达到最佳的图像质量。下面将介绍它的功能。





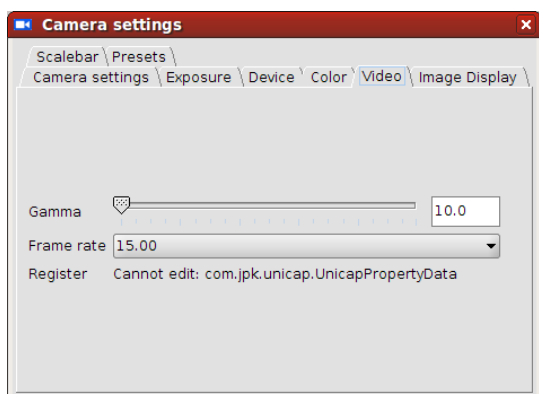
照相机的设置很大程度上依赖于使用的特定相机类型。这里都将默认配置的 *Imaging Source* 为例说明。

设置面板启动后默认显示的是 **Exposure** 面板，亮度和对比度可以在这里进行控制。默认的，快门 **Shutter** 时间和 **Gain** 增益都设置为 **Auto** 自动状态。当取消自动的选项，用户可以通过拖动滑条来进行控制或者在输入框内输入特定的数值进行控制。



颜色设置和改变在 **Color** 面板中进行设置，默认的白平衡 **White balance mode** 被设置为自动 **Auto**。

手动调节图像的饱和度可以在 **Color** 或者 **Exposure** 面板中进行。



在 **Video** 面板，最重要的参数是帧率 **Frame rate**。根据安装的相机的类型，默认值是 15 fps，这基本上是由连接界面的带宽所决定的。

Gamma 值提供了额外的参数来调整图像的饱和度。

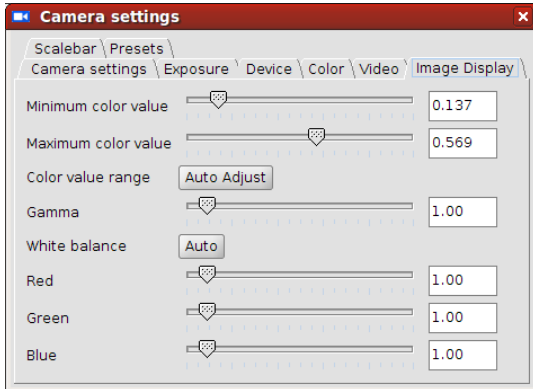
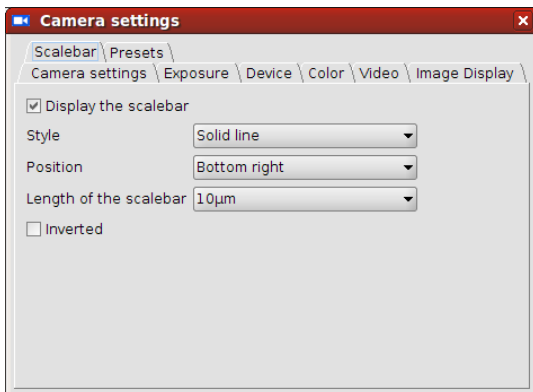
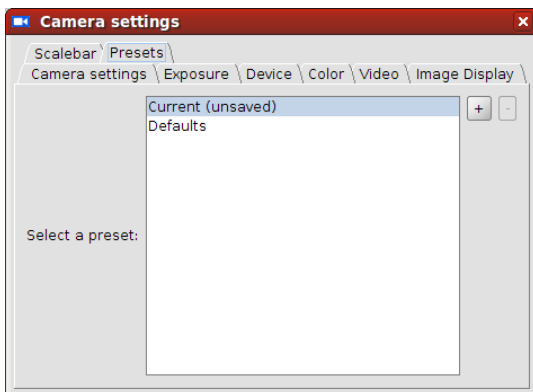


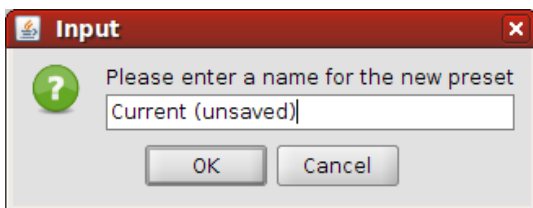
Image Display 面板包含了更多只改变显示行为而不是图像性质的参数。显示对比度能够通过改变 **Minimum** 以及 **Maximum color value** 来实现。（请注意这个面板设置和其他面板的区别，这里只会改变在显示器上显示的效果而不是设备的特性）。



当光学图像校正已经完成（参考 4.1 章节）就可以在 JUnicam 窗口中显示一个标尺。要实现这一功能，直接点击右图所示的选框。同时对标尺的特性这里有一些可以调节的参数。



相机设置可以通过 **Presets** 面板进行保存和读取。所有面板的参数都将得到保存。点击+按钮后，一个对话框将弹出，您可以输入一个代表目前设置的名字（例如“荧光设置”或者“全手动”）这些代号将显示在列表中，使得您可以快速的在不同设置之间进行切换。

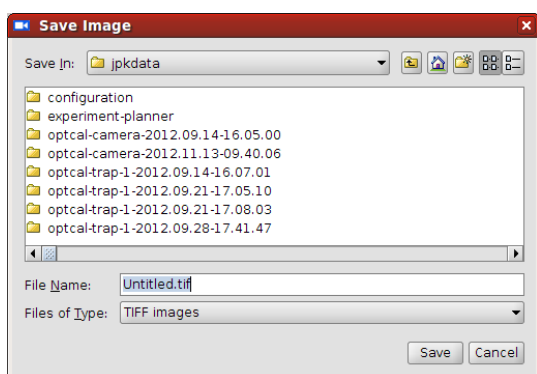


即使程序关闭，已经保存的设置将继续存在。

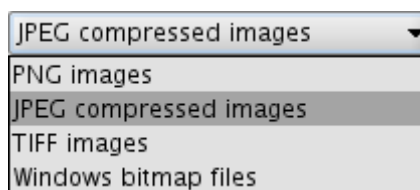
5.1.4 保存图像



图像可以通过使用 **Save** 以及 **Save as** 两个按钮来进行保存。这两者的差异是 **Save** 按钮直接保存图像，使用默认的命名规则，而 **Save as** 将可以指定保存的名字等信息。



如果还没有图像被保存过，那么 **Save** 按钮也会打开如左图的对话框，图形可以以 JPEG, PNG, TIFF 或者 BMP 的格式进行保存，从下拉列表中进行选择。



连续地点击 **Save** 按钮，将保存 *image.jpg*, *image1.jpg*, *image2.jpg* 这样的图像序列。

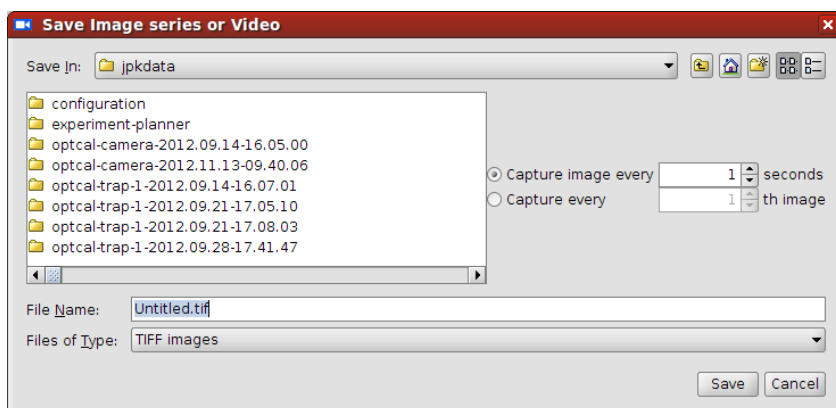
使用 **Save** 按钮，图像将以它们在屏幕上显示的样子进行保存。

请注意，使用 TIFF 或者 PNG 格式保存数据将可以获得比 8bit 更高的位深度（图像保存的三原色信息，每个像素的颜色以三原色不同比例的混合来表示。对于其他格式来说，每一个原色的数据宽度是 8bit，那就意味着最多 256 种不同深度的原色，那么总共可能的颜色是 256^3 那么多。如果相机的原色采样超过 8bit，就意味着能够分辨更细微的颜色或者亮度差别，这时保存更高的位数将保留更多的信息。对于 16bit 相机来说，位深度将是 16 位的。）

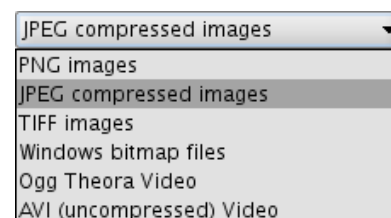
5.1.5 记录图像序列或者视频



除了静止的图像，JUnicam 也能用来保存连续的图像序列或者是视频格式的录像。

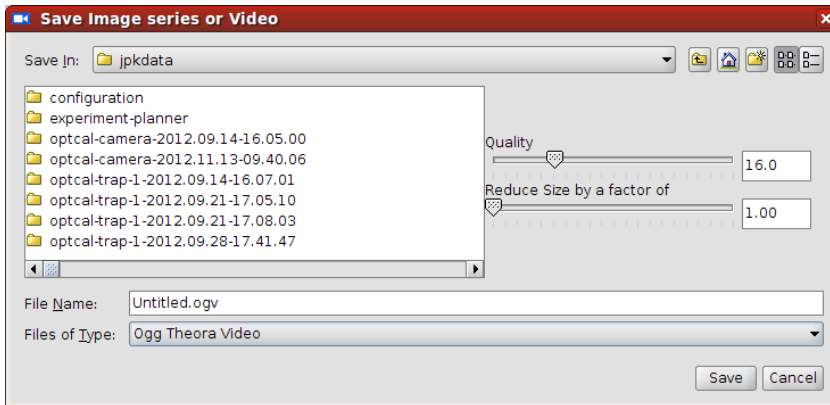


您可以通过 **Files of Type** 下拉框来选择希望保存的文件类型。



选择静止的图像类型将开始自动保存图像序列。捕捉图像的速率能够被选择，用户可以在时间单位或者图像编号两种方式进行选择。

如果 *Ogg Theora* 视频格式被选中，视频文件将串流保存到磁盘（帧率取决于捕获的速度，对于大多数火线连接的相机来说，通常最大 15 fps）。



Quality 设定允许您改编视频的压缩率，如果设到最大，将得到一个几乎无损的视频。

图像尺寸可以被缩小，通过 **Reduce Size by a factor of** 来控制图像缩小的比例，这在目前仍然是一个实验性的功能。

AVI (uncompressed)视频格式将以无压缩的方式保存无损的视频，因此视频文件的体积将非常快速地增长变大。

在视频记录过程中，**Record** 按钮将显示为激活状态，而关于记录的细节将在 JUnicam 窗口的底部显示。要停止记录，只需要再次点击 **Record** 按钮即可。

记录的 Ogg 视频 (*.ogv) 可以转化为其他视频格式 (*.avi, *.mpg, *.wmv 等)。您可以使用很多从互联网上获得的免费视频转化工具来完成。一个好的选择是 **mencoder**，它可以安装在 NanoTracker™ 的控制计算机上。使用 jpkroot 帐号登陆，打开一个中端窗口，并且输入：

```
apt-get install mencoder
```

要将一个 INPUT.ogv 文件转化为广泛使用的使用 DivX 编码器的 AVI 格式视频 (OUTPUT.avi) 输入：

```
mencoder -ovc lavc -lavcopts vcodec=mpeg4 INPUT.ogv -o OUTPUT.avi
```

请参考 mencoder 手册获得更多信息。

5.1.6 将视频拆分成图像

对于长时间的试验，记录视频可能比记录单独的帧来的更加方便。下面的部分将简单介绍如何将视频还原成分离的帧图像的方法。

5.1.6.1 使用 Ubuntu:

当数据在 JPK 软件中被记录为一个 avi 视频文件之后，可以使用 MPlayer 或者 VLC Media Player 来进行播放。只需要简单地打开程序读入文件即可。请确认 MPlayer 已经安装，因为这个程序被用来拆分视频。请按照下面的方法进行：

- 打开一个终端窗口
- 转入视频文件保存的目录
- 输入命令行： 'mplayer <filename.avi> -vo png'

视频将自动分割成单独的帧图像文件并且保存在视频文件同一目录下。其他输出的图像格式也可以是 jpeg 或者 gif。但是因为 png 格式是无损压缩的，所以更加推荐使用。

“mplayer video output” (-vo) 命令提供了很多的选项功能，请参照 MPlayer 本身的手册来获得更多选项和功能的信息。

5.1.6.2 使用 Windows:

当数据在 JPK 软件中被记录为一个 avi 视频文件之后，可以使用 MPlayer 或者 VLC Media Player 来进行播放。只需要简单地打开程序读入文件即可。如果需要在 Windows 系统上处理食品，首先将文件转移入对应的 PC，保证在这个系统上可以使用 VLC 播放器正确地播放这个文件。随后安装 VirtualDub (<http://www.virtualdub.org>)来分割视频。下载后解压缩入一个新文件夹，随后双击 'Veedub64.exe' 启动，随后按照下面步骤进行。

- Start the software as described above
- 启动软件
- 打开视频 'File → Open video file ...'
- 使用 'File → Export → Image Sequence' 来拆分视频
- 选择一个文件名，目录和输出格式，并且点击 OK。

视频自动分割为单独的帧并且存入您选择的文件夹。其他输出可以使 jpeg 或者 bmp 格式，但是因为 png 格式是无损压缩的，所以更加推荐使用。

5.1.7 JUnicam 和 NanoTracker™ 控制软件的整合

NanoTracker™控制程序能够和 JUnicam 通讯并且交换信息，下面是两个例子：

- 光学校准程序触发采集和储存实时光学图像。
- Point and Trap 功能允许直接在实时图像上用鼠标控制光标来点击和拖曳控制光阱。

将来的 JUnicam 版本将继续扩展这个类表并且集成更多的光学图像功能。

5.1.8 JUnicam 软件版本



作为一个相对独立的 Java 程序，JUnicam 有着它自己的版本号。目前的版本可以通过 **About** 按钮来获得。

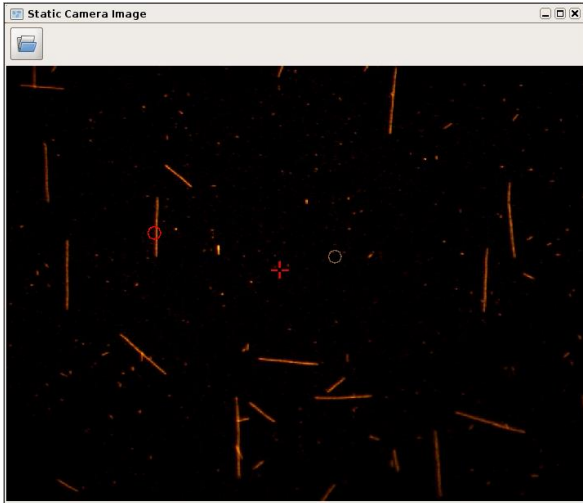


在前文已经提过，当您联系 JPK 时，软件的版本号是非常重要的信息。

JUnicam 实现了一个 Unicap 照相机的图形界面，Unicap 的版本号也一同显示。

5.2 静态照相机图像

除了前文所述的动态图像观察功能，您也可以通过 **Camera** 菜单打开一个静态图像观察界面。这个界面允许用户可以在一个静态图像上操纵光阱，而无须采集一个实时动态图像。



您可以通过 **Static Camera Image** 窗口顶端的按钮打开一个静止的图像。

一个可能的应用是在荧光试验领域。首先在荧光照明下一个感兴趣区域的图像被记录下来，随后可以关闭激发照明并且切换到亮场观察。这样可以有效避免样品的光漂白问题。随后您就可以依靠采集的静态荧光图像来操纵定位光阱的位置。

请注意：当静态图像采集后，就不应继续移动样品

§ 6 数据记录

对于数据的实时显示方式软件有几种不同的方式。不同的示波器与图表可以为同样的数据提供不同的表达方式，例如数据点 VS 时间，概率分布。所有这些显示方式都包含设定“**Sample Frequency**”与“**Time to display**”的参数。



该模式下样品采样率的最大值为 50 kHz。可以显示的时间长度受限于最大可以显示的采样点数目 (16.7×10^6)，因此它依赖于采样频率。一旦这两个值在一个窗口中被设定好之后，它们可以适用于其他窗口而且会被自动的更新。

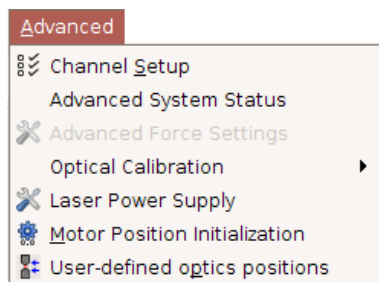


开始数据记录后，蓝色的 LED 会亮起。实时数据记录的任意窗口中启动任何一个都会使得列表中余下的窗口开始记录。不同数据可以同时被监视。

为了确保数据的保存，数据记录模式默认是打开。所有记录的数据都可以在日后通过 NanoTracker™ 的“**Data Processing**”软件打开并进行分析。

对于“**Data Processing**”软件更加详细的讨论以及其特点包含在“**Data Processing**”用户手册。

6.1 通道设定



NanoTracker™ 软件提供了关闭与激活必要通道的可能性。软件保持了易用的界面，根据特定的实验提供需要的信息。要打开通道设定，点击：“**Advanced -> Channel Setup**”。

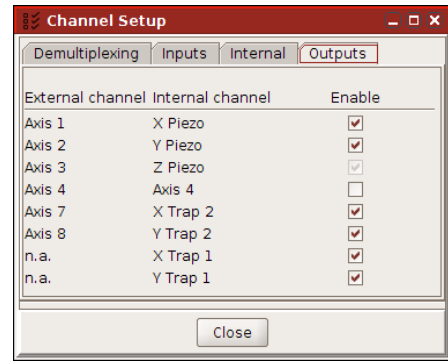
“**Channel Setup**”列出了所有可以显示的信号通道，其记录以及保存。外接设备的信号也可以通过“信号连接模块”被记录下来。

最常用的通道有：

- X Signal 1, ..., Z Signal 2 –光阱的位移/力信号
- X Piezo, ..., Z Piezo –压电陶瓷的实际位置
- X Trap 1, ..., Y Trap 2 –光阱的水平实际位置

关于通道的更多解释可以参见英文版手册 section 10.5

点击每个通道旁边的方框可以激活该通道在示波器中的显示及其记录。

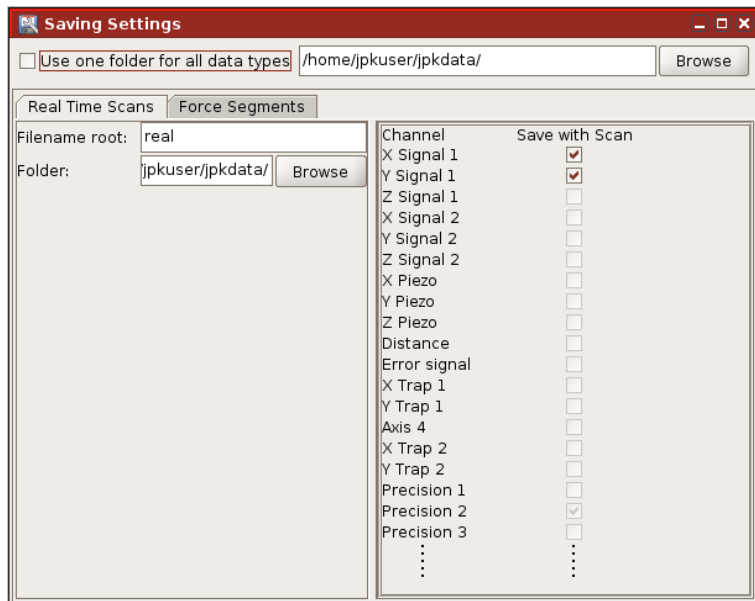


6.2 保存设定

原理上而言，通道的控制机制可以分成三个不同的层面。第一层已经在 section 7.1 中叙述了，用于激活或者停止特别通道。本节所述的另外两个层面会在全局跟局部上保存数据。

在 Saving Setting 的窗口中，可以预先对数据记录做一些设定。这些设定可以用于设置数据的默认的保存路径以及默认保存的数据。这些设定的变动会被应用于软件中所有的数据记录。

要打开保存设置窗口，可以点击“Saving Setting”按钮或者是使用“File -> Saving Settings”。



在这里，文件名，保存路径以及数据通道都可以被选择。日期与时间将会被添加入文件名中，文件名的默认格式是：

“real-year.month.day-hrs.min.sec”。

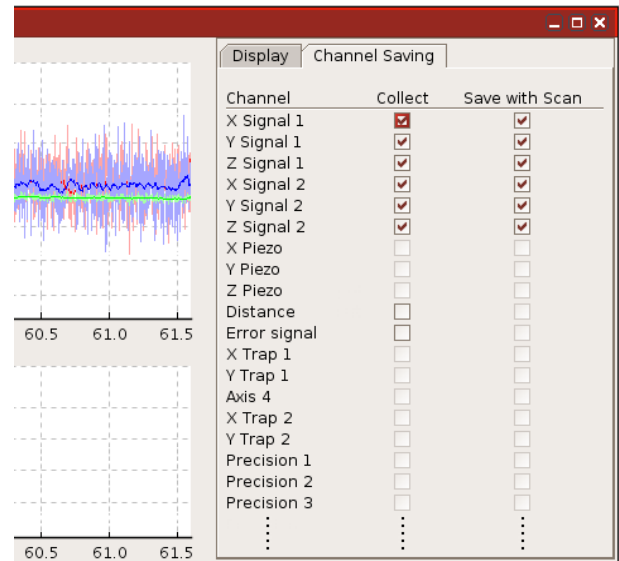
所有在“Saving Setting”中定义的通道都会如上所述地自动设定。此外，可以直接在示波器窗口中对记录通道做临时调整。为此，可以从“Real Time Oscilloscope”直接打开“Channel Savings”标签，然后勾选所需要的通道。

Collect:这些通道可以录入内存并显示在实时扫描。

Save with Scan:如果“Autosave”或者“Start Record”两者被激活，这些通道会被保存到硬盘（详见 section 6.3）。

只有在通道设置面板中被选中的通道才可以被采集与保存。

提醒：被保存的数据仅决定于“Saving Settings”，并非是实时扫描中显示的通道。



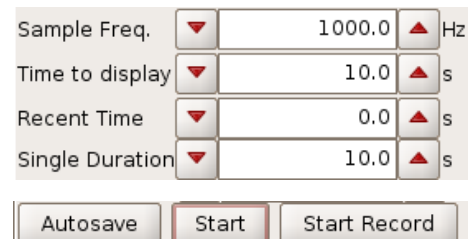
6.3 实时扫描示波器

实时扫描示波器可以通过菜单中“Signal -> Real Time Scan”或者快捷菜单栏上的快捷键打开。



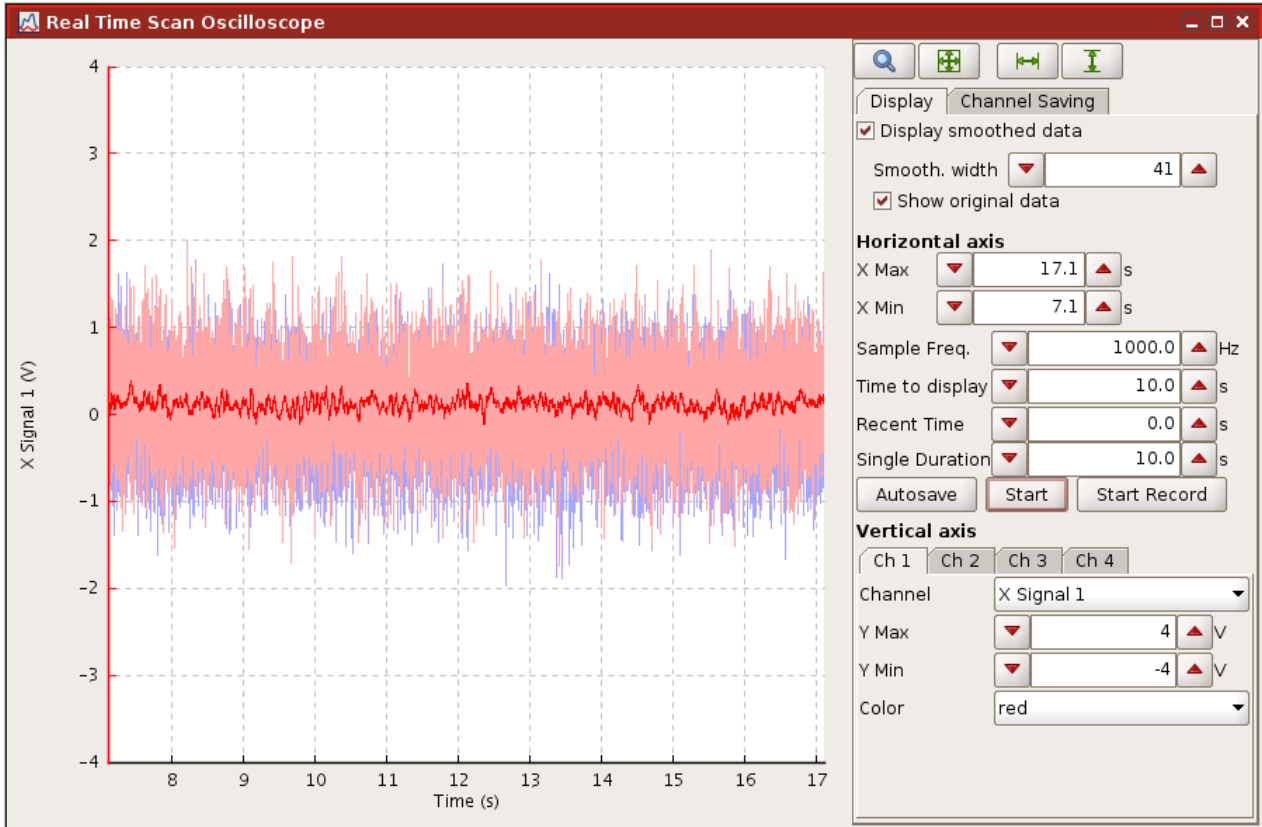
在是实时扫描示波器中，最多只能同时显示 4 条通道。显示哪一个通道可以在 Channel 中分别选定。Channel 中可以显示并保存的通道可以在“Channel Savings”标签栏中选定（Section 7.2）。此外“比例自动最佳化”可以更改成手动调节。“Y Min”与“Y Max”设定 Y 轴的最大最小值。X-axis 的长度是通过“Time to display”来设定。显示的部分可以通过设置“X Min”与“X Max”来设定。

除了前面所述的“Sample Frequency”与“Time to display”意外，实时示波器还包含了“Start Record”的两个存储设置：“Recent Time”是开始记录数据的缓冲。“Single Duration”设定单个文件的长度。当“Start Record”激活时，连续的文件将会被保存。



“Autosave”是一个切换钮，用于激活“Start”后的持续数据保存，开始在示波器中显示数据。

“Start Record”是另外一个切换钮，它激活固定时间长度文件的记录并将这些文件收集在“Real Time Scan Series List”中。



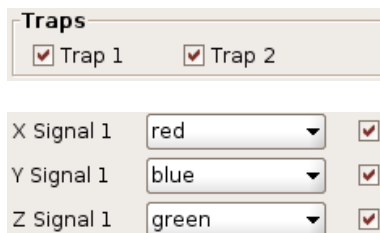
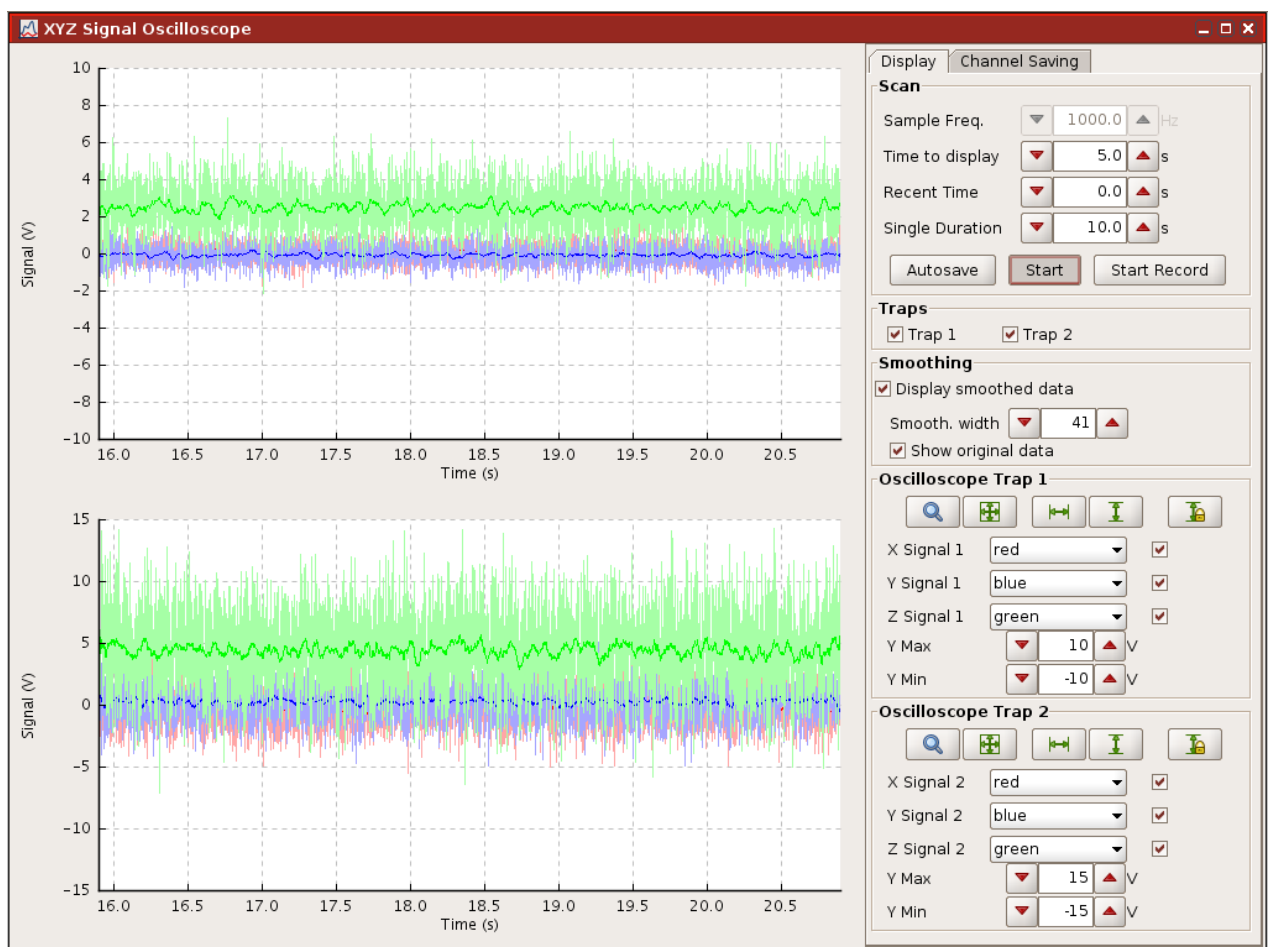
提醒： 只有一定量的数据点可以被处理并显示在“ Real Time Scan Oscilloscope”中。显示的数据可能会比记录的数据少。因为示波器最多只能显示 16.7×10^6 个数据点。但是这并不会影响被保存数据的数量。

6.4 XYZ 信号示波器

可以通过快捷菜单上的快捷键或者是菜单中“ Signal -> XYZ Signal Oscilloscope ”来打开。



XYZ Signal Oscilloscope 窗口在一幅图表中实时的显示 X 单个光阱的 X, Y, Z 通道的信号。



光阱 1 与光阱 2 的信号会在两个平行的图标框中显示，它们可以被各自独立的激活与关闭。

两个光阱各自的三条通道 X, Y, Z 都可以被独立的激活。

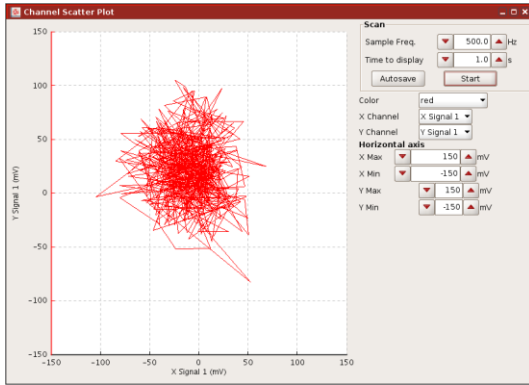
两个图标框中的显示的设置是分开的。此外，自动优化标尺也可以被改为用户手动设置。Y Min 与 Y Max 可以设定 Y 轴的范围。X 轴的长度是通过 “Time to display” 来设定的。

6.5 散点图

在散点图中，任意的通道都可以与其他通道搭配绘图。

6.5.1 通道散点图

可以通过菜单中的 “Signal -> Channel Scatter Plot” 打开 Channel Scatter Plot 散点图。

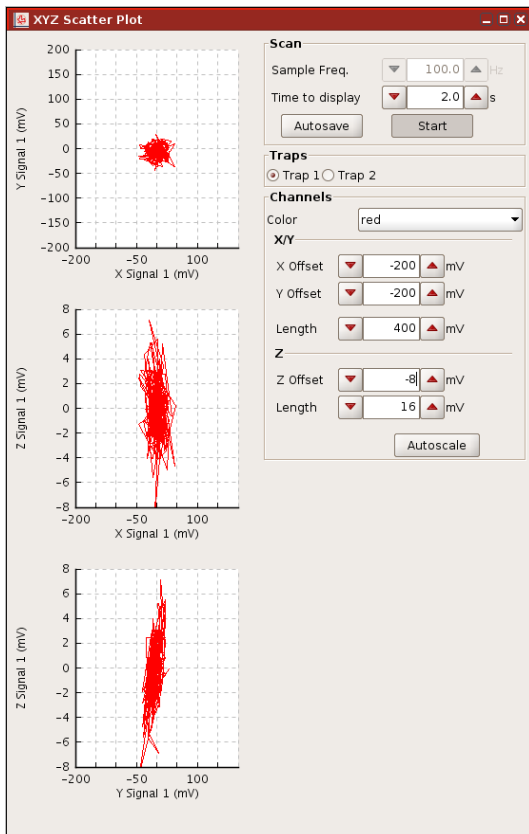


在该图中，两个通道被用于绘图。Sample Frequency, Time to display, Start 和 Autosave 这些功能都与之前实时示波器中相同。散点图中 XY 轴的通道可以被分开选定，可选的通道可以在“Real Time Oscilloscope”的 Channel Saving 栏选择。标尺可以被“X Min, X Min, Y Max, Y Min”设定。

6.5.2 XYZ 散点图

XYZ 散点图是三个二维图散点图，其中每个光阱的三轴中的两轴都两两互相投影。

XYZ 散点图可以通过菜单中的“Signal -> XYZ Scatter Plot”打开。

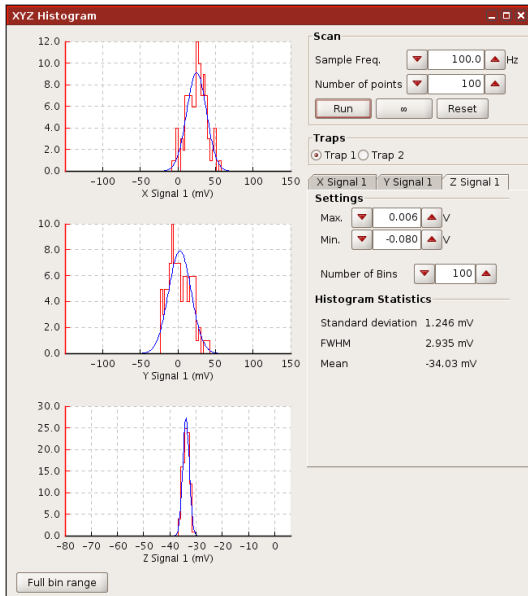


光阱 1 与光阱 2 的散点图都可以被显示。Sample Frequency, Time to display, Start, Autosave 功能都与之前 Real Time Oscilloscope 中的设定相同。三个示波器显示的信号分别是：X-Y, X-Z, Y-Z。

三个图表的显示设定是分开的。此外，自动优化标尺功能也可以根据用户需要改为手动设定。X, Y, Z 的 offset 设置了 according 信号的补偿。可以通过使用 Offset Correction 来将其归零。XY 轴的长度是相同的，而 Z 可以被单独设置。

6.6 XYZ 直方图

XYZ 直方图可以通过快捷图标栏上的图标打开或者通过菜单项 “Signal → XYZ Histogram” 打开。



光阱 1 与光阱 2 的直方图都可以被显示。 Sample Frequency, Time to display, Start, Autosave 功能都与之前 Real Time Oscilloscope 中的设定相同。直方图的记录数据可以记录一次直到数据点足够，或者一直不停收集 (∞)。 Reset 会重置当前的直方图。

三个示波器显示 XYZ 的发生信号。

三个图表的显示设置是独立的。自动优化标尺功能也可以根据用户需要改为手动设定。X 轴的 Min 与 Max 可以设定堆栈的数目。

在记录数据时，直方图的数据会被自动拟合为高斯曲线。拟合结果会显示到直方图上，方差，最大值的半宽以及平均值都会被计算。

6.7 扫描列表

6.7.1 实时扫描序列列表



实时扫描序列列表汇集了 Start Record 激活后所有采集得到的文件。

设定了在临时缓存中可以存放的最大文件数目。每采集一个新的文件，旧的文件就会被在列表中向下推动一格直到最终从列表中消失。用户在使用 Autosave 时应注意这一点。可能有用的数据可以通过点击 Hold 被移到 Old Real Time Scan Series，避免该数据被删除。但是若关闭软件，该数据也会被删除。Old Time Scan Series 中的数据个数是有限的。Hold 按钮可以应用于当前正在被记录的数据，标明该数据将会被保存。

文件并没有被保存到硬盘，点击保存按钮可以保存这些文件。



文件已经被保存到硬盘。



该按钮会从 Old Real Time Scan 序列中删除文件。



提醒： 如果文件已经被保存到硬盘，那么该按钮不会删除硬盘上的文件。

6.7.2 力扫描序列列表

力扫描序列列表包含与 **Real Time Scan Series List** 同样的信息，但会增加力谱文件。更多的信息请参见英文版 section 8.2.4.1。

§ 7 力谱

7.1 序言

力谱模式提供了针对力--距离关系的测量。如何在力谱测量中进行位置牵引可以通过软件选择。根据于不同的应用需求，激光扫描器或者样品扫描器都可以被选择来进行对位置的控制。

在所有实验类型中，样品与光阱的相对的 x, y, z 轴位置都以预设的速度和方向进行改变，产生一个作用力（或者颗粒相对于光阱中心的位移）对应于扫描器位移的图表，也就是所谓的力—距离曲线。

如果在力谱测量过程中,只有一个光阱被使用,或者两个光阱的相对位置不发生改变,那么用户就应该使用样品扫描器 (sample scanner) 模式。在一个标准的样品扫描器模式实验当中，研究的对象分子的一端会连接于样品的表面，而另一端连接与一个被光阱捕获的颗粒之上。通过压电样品台（样品扫描器）的移动，力被施加于分子之上。这些实验也可以被称为“牵引实验”（pulling experiments），因为分子被连接到样品和光阱之间并且被拉伸。另一个力谱的应用是粘性拖曳测量，也就是当底部的压电样品移动后，被光阱捕获的颗粒所经历的粘性拖曳。

如果一个分子跨越了两个光阱间的间歇以进行弹性测量，那么力谱应该在激光扫描器（laser scanning）模式下进行。这将控制一个光阱移动，从而在两个光阱间引入相对的位移。除了分子的弹性，涉及到两个分子间连接断裂的力也可以被测量。

7.2 常用设置

7.2.1 数据记录的预设

默认的情况下，力谱模式的自动保存功能是打开的，并且在快捷图标栏上显示为一个磁盘的图标。这一意味每一个力曲线都直接保存到硬盘之中。通过再次点击这个图标将关闭自动保存功能。

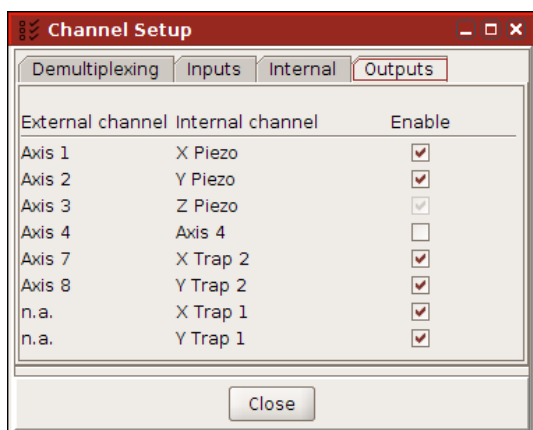


Auto
Save On



Auto
Save Off

每个实验关于什么数据需要显示和保存的要求都有可能存在差异，因此使用者需要在 **Channel Setup** 以及 **Saving Settings** 中做出合适的选择。



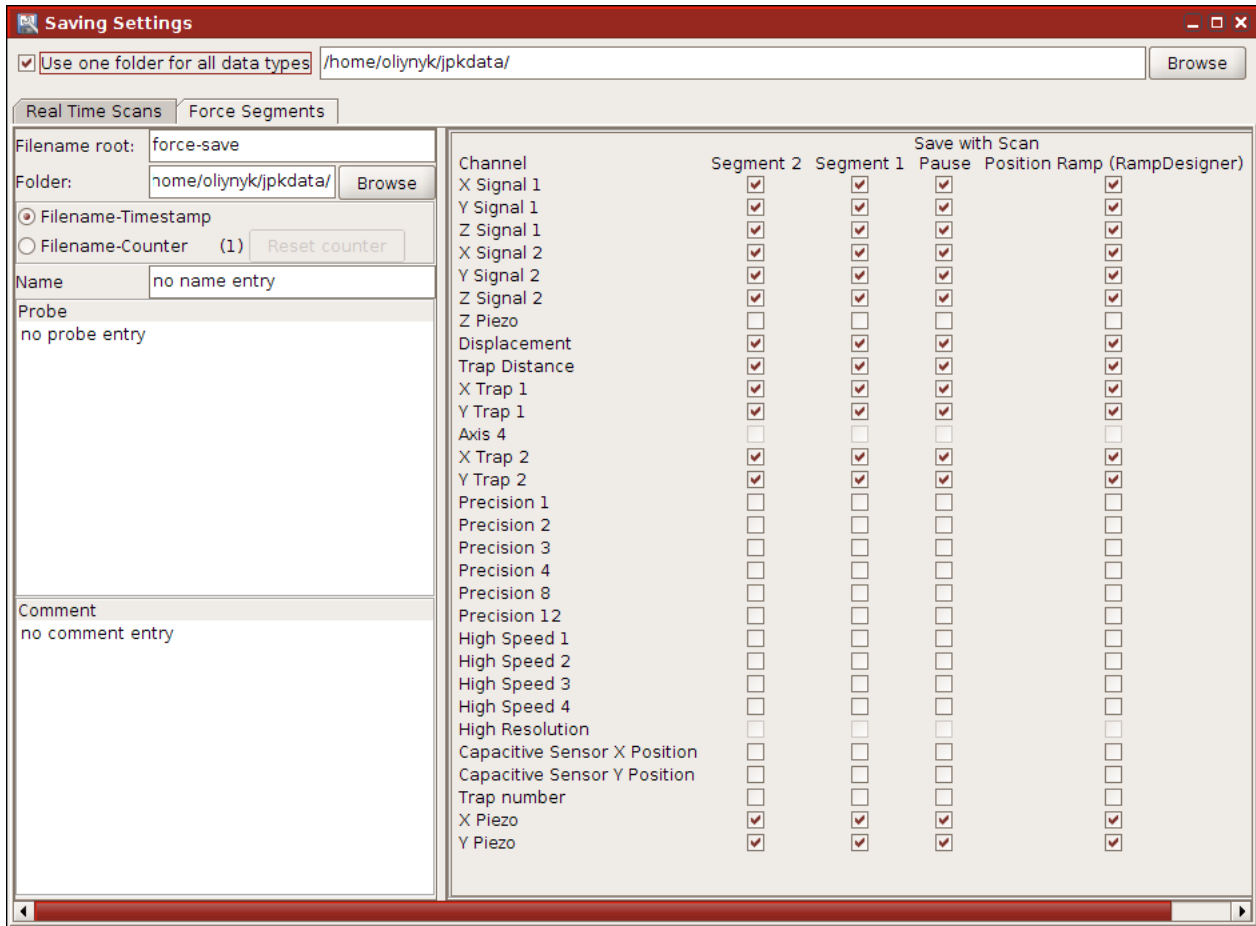
在力谱模式中可以被显示，记录以及保存的数据通道必须在 **Channel Setup** 窗口中被激活（参考 6.1 章节）。这个窗口可以通过菜单项 **Advanced -> Channel Setup** 来打开。在这个窗口中，可以选择内部以及外部的输入通道。光阱以及样品扫描器（压电系统）通道在 **Outputs** 标签页内显示。通过控制箱上输入输出前面板以及多个辅助信号通道，外部其他装置的外部信号输入通道也能够被记录。

在通道右侧的选择框内点击形成一个小勾形状将使能通过软件示波器显示和记录此通道的功能。

通过菜单项 **File-> Saving Settings** 或者 **Saving Settings** 快捷图标（参见 6.2 章节），可以设置所有的保存信

息。选择 **Force Segments** 面板来定义预设的力谱保存数据内容，例如文件名规则或者保存位置。修改 **Filename root** 可以对每个力谱文件添加文件名固定抬头。为了区分不同的文件，也可以选择使用时间戳方式或者简单的文件名计数编号。每一个选项将为文件名的构成添加相应的段落。力谱文件本身会在您选择的文件夹中进行保存，一个比较方便的修改方式是直接通过 **Browse** 按钮来选择保存的文件夹位置。

X Signal 1, Y Signal 1 以及 **Z Signal 1** 通道的伸展（区段 1）和回撤（区段 2）是默认采集的数据，其他通道如果需要记录也可以对它们进行使能。



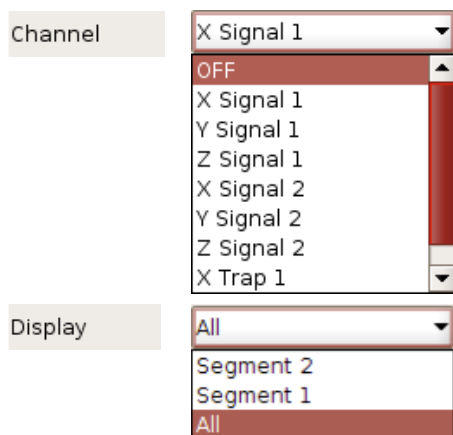
7.2.2 示波器



使用快捷图标栏上的图标或者菜单 Measure → Force Time Oscilloscope 来将仪器调整到力谱测量模式。力谱控制面板将显示在软件窗口左侧，同时力/时间示波器窗口也将出现。

力曲线将在这个窗口中的主要区域内显示。数据显示的单位通过校准程序来确定（参考 4.2 章节）。如果有必要在随后的数据中改变数据的单位，可以回到 Calibration Manager 窗口，并且选择或者取消那些单选框。（参考 4.2 章节）

右手边的显示面板是用来调节显示选项的，这里的参数都不会影响到目前的实验参数。横轴的尺度是自动设定为实验参数中位移 **Displacement** 和速度 **Speed** 参数所决定的时间长度（秒），在 X=0 起始。



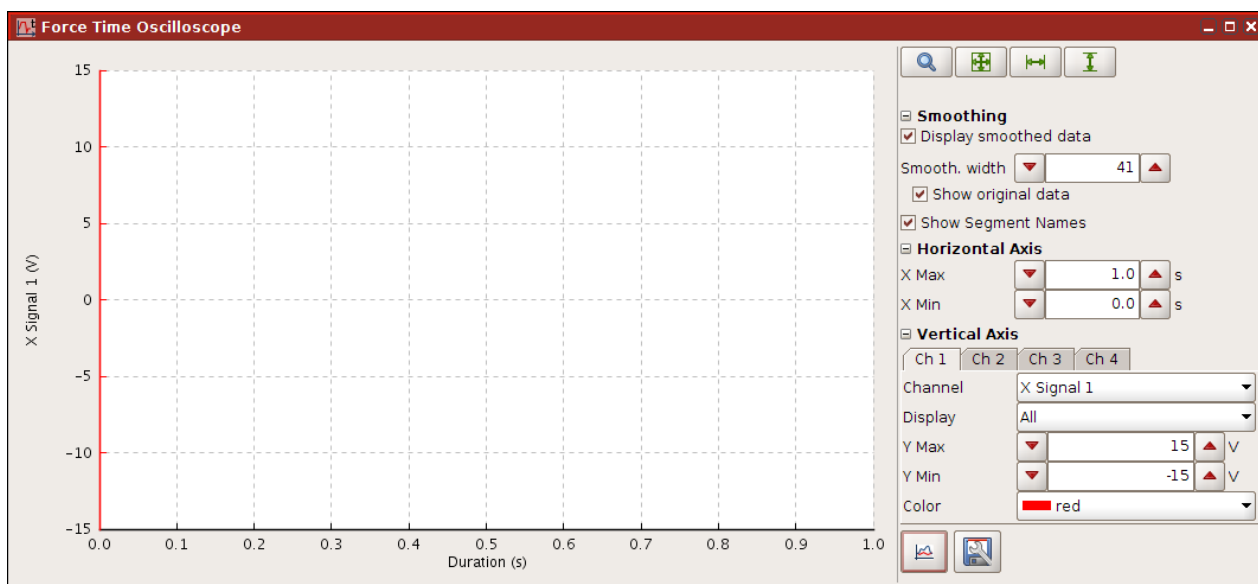
在任何软件示波器中，使用者都可以在运行实验的过程中最多选择 4 个通道来进行显示。您可以在 4 个不同的标签页下分别设定这 4 个通道。如果牵引仅仅在一个方向上完成，那么可能并不需要查看所有的信号。

在 **Channel** 选项中选择需要显示的数据通道。

在 **Display** 选项中，使用者可以选择显示伸展段的数据或者回撤段的数据，或者同时一起显示。

7.2.2.1 力 / 时间示波器

当力谱测量开始的时候，力/时间示波器也就会启动。这个窗口将实时地将到达光电传感器的信号显示出来。提供了实时监视实验过程的可能性。窗口右手边的设置能够根据前文的说明进行设定或者参考 2.2 章节。

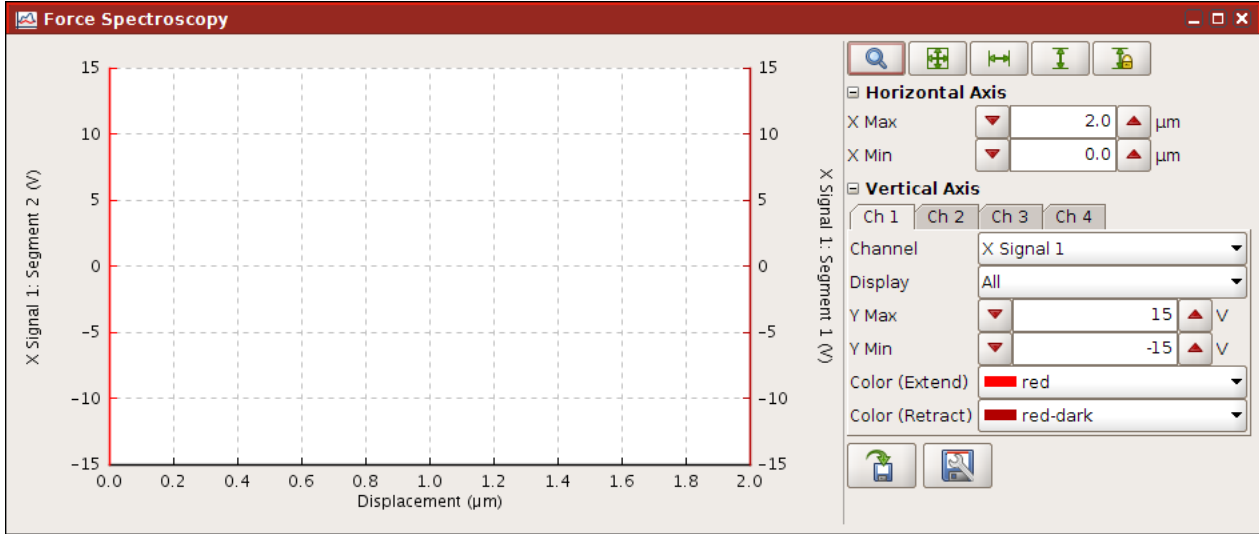


7.2.2.2 力谱



可以通过**力 / 时间示波器**中的快捷方式来启动**力谱示波器**。在力谱软件示波器中，力谱曲线只有在完成一个完整的扫描之后才会被显示。也就是说，包含了伸展（extend）和回撤（retract）的力谱的两部分都已经完成之后。

这个软件示波器相对于**力 / 时间软件示波器**的另一个不同之处在于，x 轴的标度是系统所记录的扫描器单元所驱动的距离[微米]数据。窗口右手边的设置可以参照前文类似的窗口的设置进行设定。



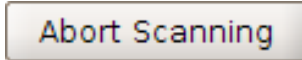
7.2.3 启动一个实验



当实验的参数设置完毕，您可以点击 快捷图标栏上的 **Run** 按钮来启动力谱的测量。



使用工具栏上的 **Stop** 按钮或者力谱控制面板 (**Spectroscopy Control**) 上的 **Abort Scanning** 按钮将立即停止测量过程。运动部件 (扫描器, 激光或者样品台) 将停止在其目前的位置, 而一个新的测量将直接从这一位置开始。



7.2.4 数据类型与文件保存

当获得了一根力曲线, 完整地力曲线数据能够使用力谱曲线窗口中的 **Save Force Scan** 来进行保存。力谱文件能够以压缩的 zip 格式储存, 并且带有 ".jpk-nt-force" 的扩展名。这一文件类型能够以 ASCII 文件的格式导出。如有需要请在 linux 终端上再您保存文件的路径下使用下列命令:

```
export-nt-force-curves jpkdata/force-save.year.mn.d-hh.mn.se.jpk-nt-force
```

(如果文件没有保存在 jpkdata 文件夹, 那么请选择相应的文件夹。)

数据的十进制形式是 9.68760461E-6, 这些文件可以导入到任意的数据绘图程序, 诸如 Excel, origin 或者 IgorPro 等。

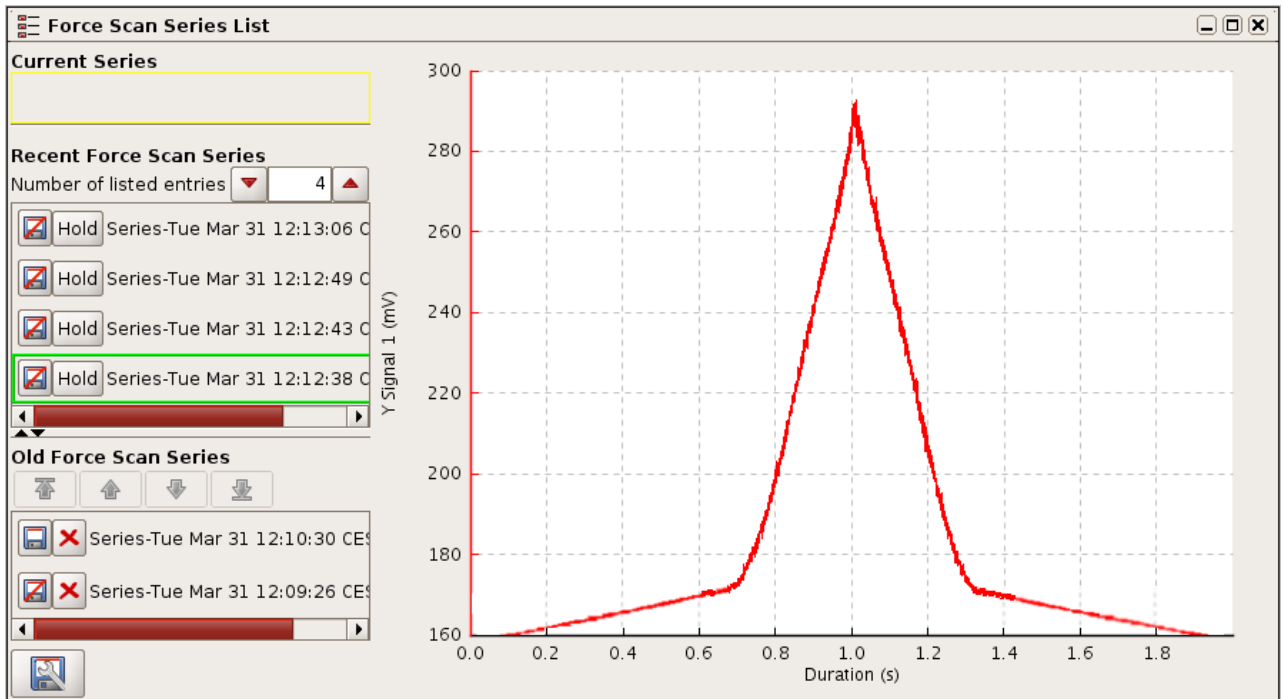
请注意: 在力谱扫描时, 键盘快捷键 **Ctrl-F** 能够在任意时候保存最近记录的力曲线。力谱文件的命名和设置都根据 **Saving Settings** 面板中的设置而定。

7.2.4.1 力谱数据列表

力曲线也同时在 **Force Scan Series List** 中被收集, 用户可以在实验过程中进行保存的管理。



Force Scan Series List 按钮能够在快捷按钮栏中被找到。Series List 是一个管理和保存力谱扫描文件的工具。与实时扫描数据的 Scan List 非常类似。（参考 6.7.1 章节）



Force Scan Series List 中收集了所有 **Run** 按钮被激活后所记录的力谱文件。

顶部的 **Current series** 包含了目前正在进行的力谱，当它完成后，力谱将转移到 **Recent Force Scan Series** 部分。这里的文件只是临时性的保存；留存列表中的文件数量可以在 **Number of listed entries** 中设定。使用者感兴趣的文件可以通过点击 **Hold** 按钮来转移到 **Old Force Scan Series**。这个列表中的文件数量是没有限制的。当软件未关闭前，它们将一直留存在那里，直到软件被关闭。

通过鼠标右击，力谱文件可以被选择，保存或者在窗口的右边被显示。文件保存时将保存为一个扩展名为“jpk-nt-force”的压缩文件。

Save 按钮指示了文件的保存状态。



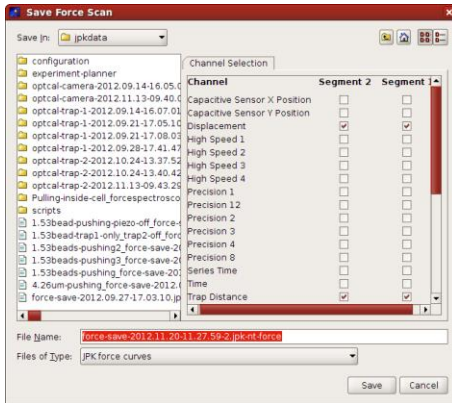
文件还未被保存到磁盘，点击这个按钮来保存文件。



文件已经被保存到了磁盘上。



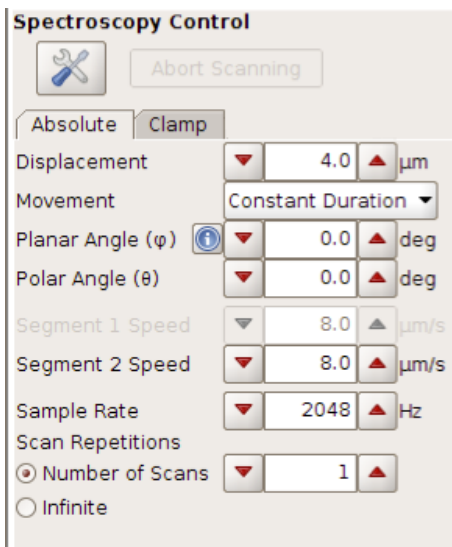
这个按钮将文件从 **Old Real Time Scan Series** 中删除。**注意**：如果这个文件已经在之前被保存过，那么文件不会从磁盘上删除。



当对力谱文件进行保存时，**Save Force Scan** 窗口将弹出并且让用户确认要保存那些通道的数据。所有已经被默认选择的通道在 **Saving Settings** 中都将列出。选择完成都惦记 **Save** 按钮保存文件。

7.3 绝对模式力谱

7.3.1 控制面板



左手边的 Spectroscopy Control 面板提供了针对控制扫描器运动参数的设置选项。

面板包括了一个指向高级设置功能的按钮，如右图所示。

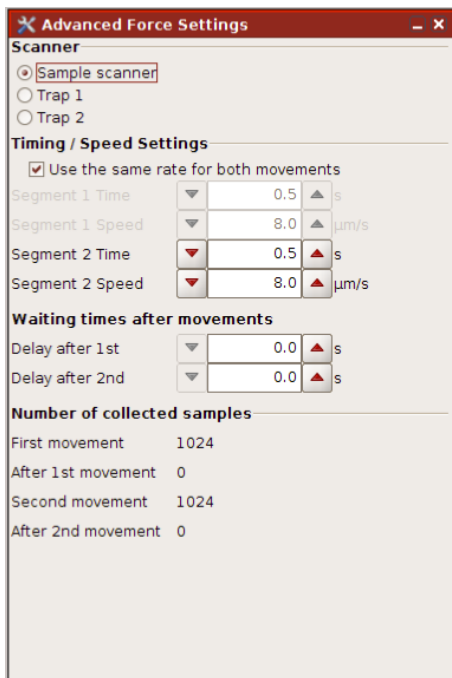


另外，主要的控制移动的参数：相对位移和极坐标下的方向。

控制测量时间的参数主要是段 1（伸展）速度和段 2（回撤）速度，以及对运动的采样速率（**Sample Rate**）。

目前软件支持两种移动的选项，**Constant Duration** 模式将保证整个实验周期时间在位移参数改变时保持恒定。（速度就改变了）。而 **Constant Speed** 模式则保证运动的速度的总是恒定的。（相应的实验的周期时间将可能发生改变）

Scan Repetition 则决定了扫描的次数或者进行一个不限次数的实验过程。



通过 **Advanced Force Settings** 的按钮打开对于速度和等待时间的完整控制窗口。另外，您可以通过 **Setup → Advanced Force Settings** 来打开这个窗口。

在面板的上半部分，用数可以选择使用样品扫描器或者激光扫描器，从而决定是哪个部件来产生力谱所需要的运动。

这里有控制伸展和回撤速度的其他选项。移动可以通过速率，时间或者比率来进行设定；这些数值如果改变，那么对应项的数值会自动更新。单选框取消选择后，伸展和回撤的速率可以分别设置。

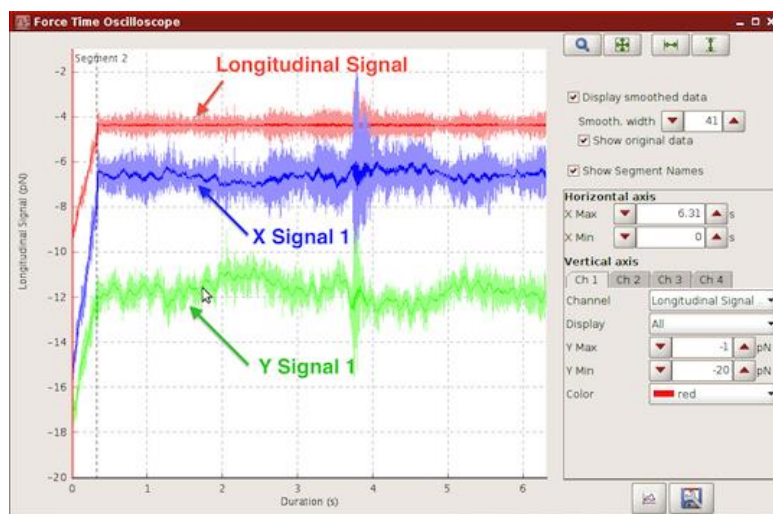
Waiting time 决定了伸展段和回撤段之后的等待时间。

依赖于设置的采样率 **Sample Rate** 和段时间，底部窗口将显示每段过程的采样的数据点数量。

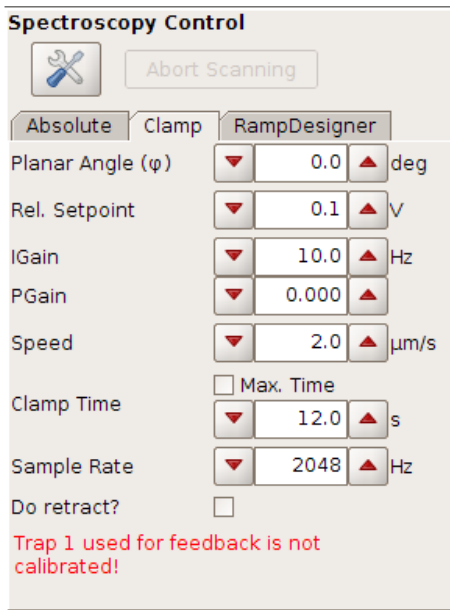
7.4 力钳实验

这类实验的目的，是在一段时间中对样品施加一个恒定的力。比如对于一个 DNA 链十佳一个 30pN 的牵引力，并且使之保持在这个张力下 30 秒时间。在这类实验中，一个光阱作为反馈控制，而另一个光阱或者样品扫描器则用来施加特定大小的力。在力钳试验中，扫描器的位置（光阱或者样品扫描器）在 xy 平面中的一个方向上发生改变（1D），来保持作用于样品上的作用力恒定。要达成这样的效果，就需要一个反馈的机制。它会读出反馈光阱的位置并且控制扫描器来发生位移以保持反馈光阱的位置恒定。

力钳实验的方向可以选择 xy 平面中的任意方向，只需要简单拖动 **JUnicam** 窗口中的箭头指向您希望的方向即可。另外，力钳测量提供了两个额外的通道，名叫 **Longitudinal Signal** 和 **Transverse Signal**。这两个信号都是从普通的 x 轴和 y 轴信号以及所设定的角度计算得到。**Longitudinal** 代表了沿着力钳实验移动方向的数据，而 **Transverse Signal** 则是正交于这个方向的数据。而力钳的力是有 **Longitudinal Signal** 通道计算得到。



7.4.1 控制面板



力钳实验的主要控制位于力谱控制面板的 **Clamp** 标签页。

Planar Angle 定义了力钳的方向——扫描器移动和 **Longitudinal Signal** 计算得方向。您可以通过输入一个角度（单位为度）来改变它，也可以直接在 JUmicam 窗口改变箭头方向来进行调节。方向 0 度，90 度，180 度以及 270 度（-90 度）分别对应了 x 轴正方向，y 轴正方向，x 轴负方向和 y 轴负方向。

Rel. Setpoint 参数可以用来调节力的大小（**Longitudinal Signal**）。通过反馈系统，在力钳实验过程中应该保持恒定。这里调节的力是相对的而不是绝对的值。它定义了相对于实验起始时轴向分量初始状态的相对值得作用力大小。

力钳实验开始以后，扫描器将以 **Speed** 所定义的速度在 **Planar Angle** 所定义的方向上移动直到达到 **Rel.Setpoint**。

随后，真正的力钳阶段开始。这个阶段的时间是由 **Clamp Time** 所定义的。如果选择了 **Max. Time**，那么力钳状态将一直持续直到用户通过主工具栏上的停止按钮来停止。选择“**Do retract?**”选框将使得软件在停止按钮按下后将扫描器移动到初始位置。

如果您因为需要的力已经达到（手动控制或者其他原因）希望能够在启动按钮一按下就开始力钳过程，那么初始的“移动”阶段就不需要了，这时您需要在 **Rel. Setpoint** 中填入 0。

IGain 和 **PGain** 负责了调整力反馈回路的积分增益和比例增益。决定了系统以多快的速度来响应轴向信号的变化。时间常数，**IGain**，决定了积分器而 **PGain** 决定了比例放大器。增益的优化值取决于阳平的环境（液体粘性和温度），小球类型和尺寸，设定点的选择和其他实验条件。

通常，**IGain** 和 **PGain** 的默认值需要一些优化，一般来说最好能尽可能地增大增益的值。使用更高的增益意味着反馈能够动作地更快速，并且力钳产生的力能够更少地脱离设定点。然而，抬高的增益可能造成“过于敏感的”反馈，这导致了强烈的扫描器振荡。优化增益的一般方法是做一系列的不同增益值得实验，逐渐增加增益直到轴向信号停止增加。如果把 **IGain** 和 **PGain** 增大到 100-300 以及 0.005-0.01 以后将无法继续改善力的稳定性。

Note: All trademarked names mentioned in this manual remain the exclusive property of their respective owners.

注意：这个文档中所有提及的注册商标，其各自的拥有者保留其独占所有权。

JPK Instruments AG
Bouchéstrasse 12
12435 Berlin
Germany

Tel: +49 30 5331 12070
Fax: +49 30 5331 22555
support@jpk.com
www.jpk.com

JPK-DOC0104

All rights reserved.