



Universitätsklinikum Essen

# Standard Benutzungsanweisung

## M12-050\_D

### Bedienung des JEOL 1400Plus Transmissionselektronenmikroskops

Seite 1 von 37  
Version: 18.12.2019  
zuletzt geändert von: Holger

## 1. Ziel

**Dieses Protokoll erklärt wie man das TEM benutzt.** Es erläutert die Grundlagen für die Nutzung und ist von allen Nutzern des JEOL JEM 1400 Plus Transmissionselektronenmikroskops (TEM) zu befolgen. Hier wird die Standardnutzung für den normalen "Tagesbetrieb" beschrieben. Auf spezielle Kalibrierungsschritte, die ausschließlich von den für das Gerät zuständigen EMU Mitarbeitern regelmäßig durchgeführt werden, wird hier nicht eingegangen.

### Generell gilt:

**Im Falle Sie irgendwelche Fragen oder Probleme mit dem Gerät haben sollten, wenden Sie sich bitte an die zuständigen Betreuer (Operatoren) der EMU: Bernd Walkenfort (4387) oder Holger Jastrow (85746). Bevor jemand am TEM alleine arbeiten darf, wird er von uns an mindestens 2 Schulungsterminen gründlich unterwiesen und am Gerät praktisch angeleitet. Der erste Schritt ist jedoch das gründliche Studium der nun folgenden Anleitung.**

## 2. Referenzen

1. **offizielles**, nur in Englisch verfügbares "**Operation manual**" des JEM 1400 Plus des Herstellers JEOL

→ Das entsprechende pdf kann direkt auf dem Bildschirm des Bild-Aufnahme PCs angeklickt werden:

JEM-1400 Instruction Manual(E) V7.pdf

es ist auch auf unserem Server verfügbar Y:\EMU\Geräte\Jeol - JEM 1400\Infomaterial

→ Die ausgedruckte Version steht im Regal rechts vom Fenster

2. **„Work Flow“ Operation Manual** der Firma JEOL (ebenfalls nur auf Englisch)

→ Das entsprechende pdf ist ebenfalls auf dem Bildschirm des Bild-Aufnahme PCs:

JEM-1400Plus PL\_Work Flow.pdf

es liegt auch auf unserem Server Y:\EMU\Geräte\Jeol - JEM 1400\Infomaterial

3. **Manual** "Operating the JEOL JEM1400-Plus Transmission Electron Microscope" (auch nur auf Englisch) verfaßt vom Electron Microscopy Core Laboratory, University of Utah, U.S.A.

ebenfalls auf unserem Server Y:\EMU\Geräte\Jeol - JEM 1400\Infomaterial\JEM1400-operation - University Utah.pdf

## 3. Proben

Bringen Sie Ihre eigenen Schnitte von Proben auf beliebigen TEM-Grids mit.

Standard Benutzungsanweisung  
**M12-050\_D**  
**Bedienung des JEOL 1400Plus**  
**Transmissionselektronenmikroscopes**

#### 4. Pinzetten

Es stehen 3 verschiedene Pinzetten am Fuß des Monitors des Bild-Aufnahme PCs zur Verfügung:

##### 1. Pinzette mit schwarzen Plastikenden:

Bitte ausschließlich diese Pinzette verwenden, um die Lasche des Probenhalter zu öffnen und zu schließen, damit dieser nicht verkratzt !



##### 2. Nickel Pinzette:

Nehmen Sie diese Standard Pinzette für alle NICHT MAGNETISCHEN Gitternetze wie z.B. Kupfer-Gitternetzchen = Grids



##### 3. Titan Pinzette mit oranger Markierung

Für MAGNETISCHE Nickel-Grids, die z.B. bei Immunogold-Methoden verwendet werden, nehmen Sie bitte diese Pinzette, damit die Grids nicht haften bleiben

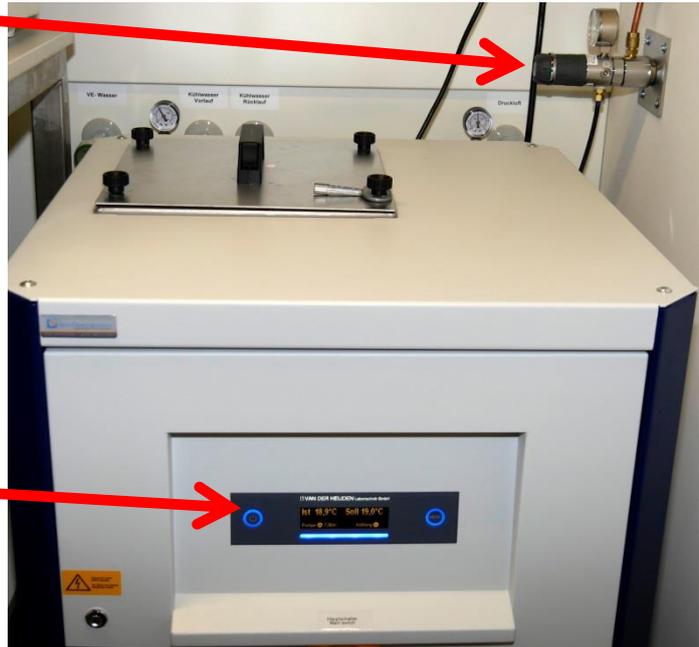


Standard Benutzungsanweisung  
**M12-050\_D**  
**Bedienung des JEOL 1400Plus**  
**Transmissionselektronenmikroskops**

### 5. 1. Vorgehensweise

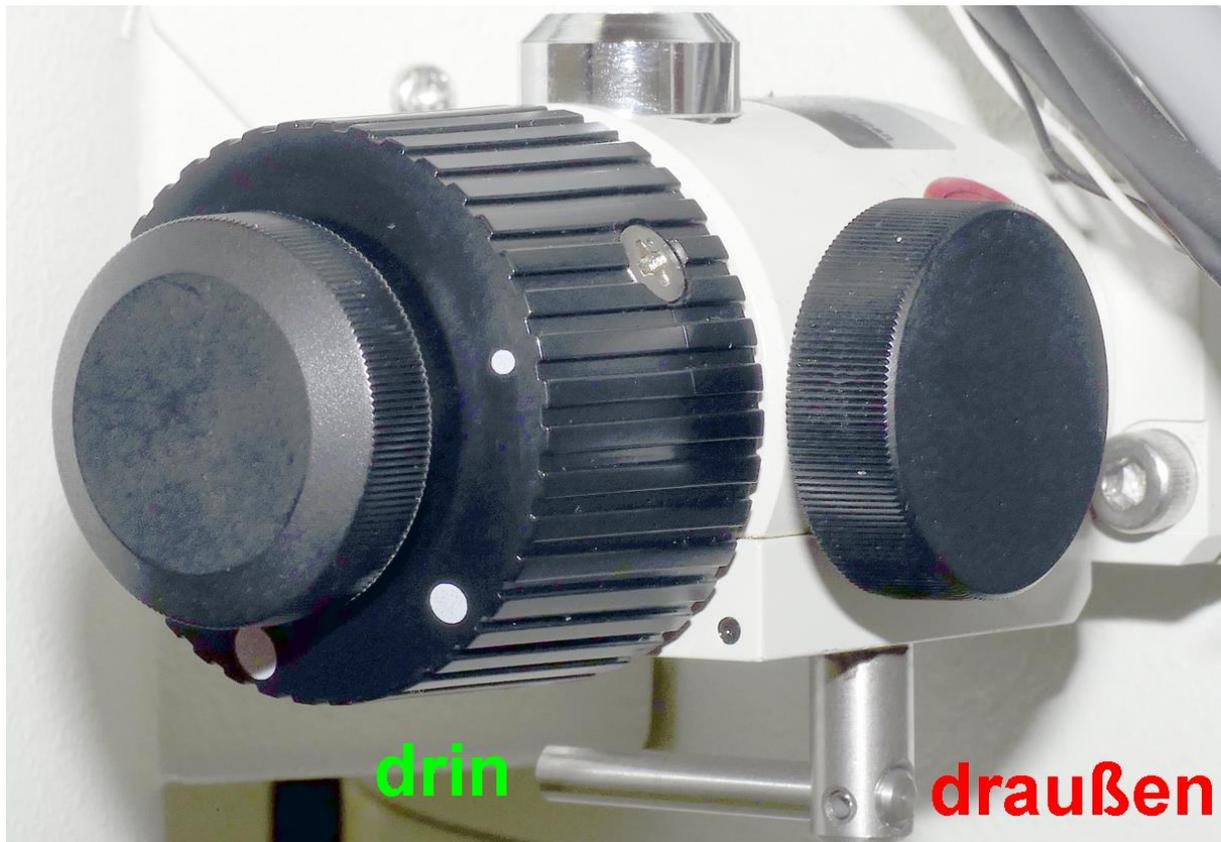
Zuerst das Stickstoff-Ventil an der Wand über dem Kühler im Nebenraum (Raum 1034) aufdrehen und

auch einen Blick auf die Temperaturanzeige des Kühlers werfen



Standard Benutzungsanweisung  
**M12-050\_D**  
**Bedienung des JEOL 1400Plus**  
**Transmissionselektronenmikrokops**

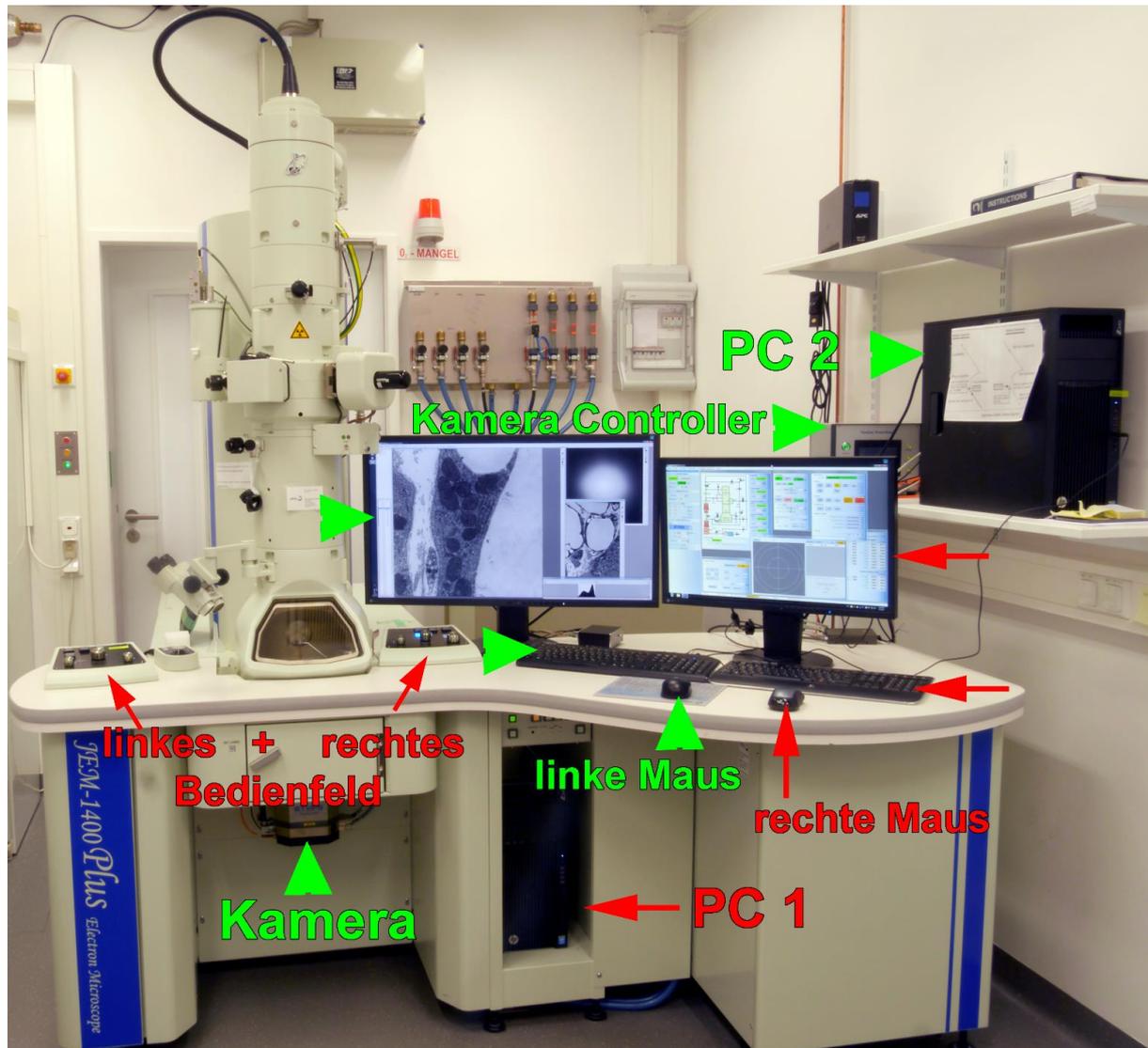
Drehen Sie das Ventil unter dem Manometer gegen den Uhrzeigersinn von Schwarz (zu) bis die grüne Markierung, wie gezeigt zu sehen, ist (offen).



Prüfen Sie auch die Anzeige der Temperatur des Kühlwassers vorne am Wasserkühler, die 19°C sowohl bei "Soll" als auch bei "Ist" anzeigen sollte. Falls Sie hier eine Abweichung von mehr als 0,2 Grad oder falls Werte von über 19,5°C angezeigt werden sollten, verständigen Sie bitte umgehend einen der EMU Operatoren und machen Sie NICHT weiter!



2. Nun gehen Sie zum Elektronenmikroskop, wo Sie Folgendes sehen:



Die mit den roten Pfeilen markierten Komponenten gehören zusammen und stellen das Steuerungssystem für das TEM dar. Die grünen Pfeilköpfe zeigen auf die zum Bildaufnahme-System gehörenden Geräte.

3. Prüfen Sie nun, ob das Kühlsystem für die unter der Säule montierte Kamera ordnungsgemäß funktioniert. Schauen Sie dazu auf das Display des Kamera-Controllers. Da dieser im Moment im „Schlafmodus“ ist sieht er so aus:



Bitte berühren Sie das Display mit einem Finger, um die Temperaturanzeige sehen zu können, die 0.0°C anzeigen sollte:



Falls hier ein Wert von über 0,5 Grad angezeigt werden sollte bitte NICHT weitermachen sondern einen Operator informieren.

4. Nun bitte den Knopf am rechten Monitor zum Einschalten und auch die rechte Maus bewegen, um den PC aus dem "Schlafmodus" zu wecken. Nun sollte dies angezeigt werden:



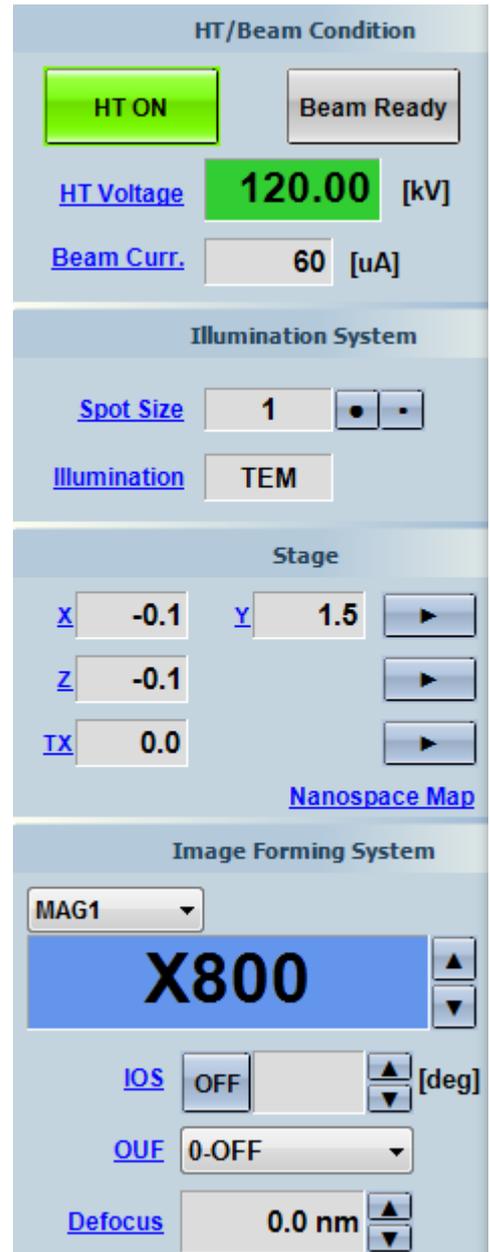
### Erklärung der Anzeigen mit Fokus auf's Wesentliche:

Das grüne HT ON Feld bedeutet, dass die Hochspannung an ist. Falls nicht bitte einen Operator rufen. Hier wird angezeigt, dass mit 120 Kilovolt gearbeitet wird (unsere üblicherweise für optimale Auflösung verwendete Einstellung)

Bitte prüfen, ob hier die kleinste Spot Size (1) steht TEM bedeutet es wird im Transmissionselektronen-Mikroskopischen Modus gearbeitet

Die hier gezeigten Werte hängen von der Präparateposition ab und können jetzt ignoriert werden. Jedoch sollte z (Ebenenhöhe der Probe) nicht weiter von 0 abweichen als + / - 0.5. Der Kippwinkel (TX) sollte 0.0 sein.

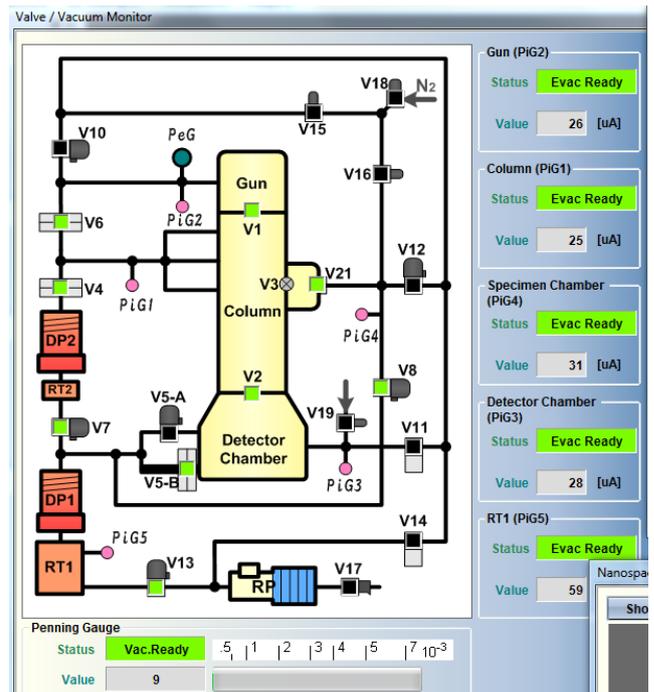
Die verwendete Vergrößerung sollte X600 (600-fach) oder X800 (800-fach) sein, damit der gesamte Sichtschirm ausgeleuchtet wird sobald der Elektronenstrahl erzeugt wird.



The screenshot displays the control interface for the JEOL 1400Plus transmission electron microscope, organized into several functional sections:

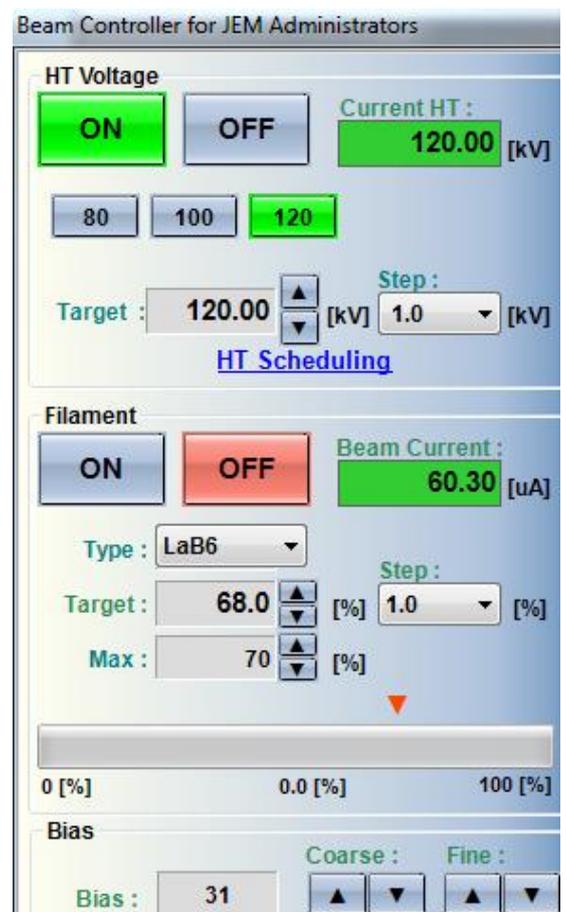
- HT/Beam Condition:** Features a green 'HT ON' button and a 'Beam Ready' button. The 'HT Voltage' is set to 120.00 [kV], and the 'Beam Curr.' is set to 60 [uA].
- Illumination System:** Shows 'Spot Size' set to 1 and 'Illumination' mode set to TEM.
- Stage:** Displays stage coordinates: X: -0.1, Y: 1.5, Z: -0.1, and TX: 0.0. Each coordinate has a corresponding arrow button for adjustment.
- Image Forming System:** Shows 'MAG1' selected in a dropdown menu, with a large 'X800' magnification display. Below this, 'IOS' is set to OFF, 'OUE' is set to 0-OFF, and 'Defocus' is set to 0.0 nm.

Diese Anzeige zeigt den Status des Vakuums der Pumpen und Ventile an. Alle "Evac Ready" Felder müssen grün Angezeigt werden.



Das "Beam controller" Fenster zeigt an, daß die Hochspannung an ist (ON auf grünen Feld). Current HT zeigt die aktuelle Hochspannung an der Kathode an und sollte 120KV für optimale Hocharauflösung sein.

Das rot unterlegte "OFF" in der Filament Anzeige zeigt, dass die Kathodenheizung aus ist, wie es jetzt noch sein sollte.



Standard Benutzungsanweisung  
M12-050\_D  
Bedienung des JEOL 1400Plus  
Transmissionselektronenmikroskops

4. Drücken Sie nun den "Exchange holder" Knopf auf dem linken Bedienfeld:



Falls der Text nicht angezeigt werden sollte, ist das TEM noch im Ruhemodus. Drücken Sie einmal auf den großen silbernen Drehknopf, damit es „erwacht“. Jetzt drücken Sie zweimal (wie beim Doppelklick am PC) auf den "Exchange holder" Knopf um die Prozedur zu starten. Dies wird angezeigt durch ein kurzes weißes Leuchten des Knopfdisplays und einen wenig später zu hörenden Piepton. Außerdem erscheint nun kurz auf dem rechten Steuerungs-PC Monitor ein kleines Fenster mit dem Text "ok to exchange holder".

Wir empfehlen auch den "Room Light" Knopf zu drücken, um die kleine Lampe auf dem Hochspannungsgenerator anzuschalten, damit es im Raum nicht komplett dunkel wird, wenn

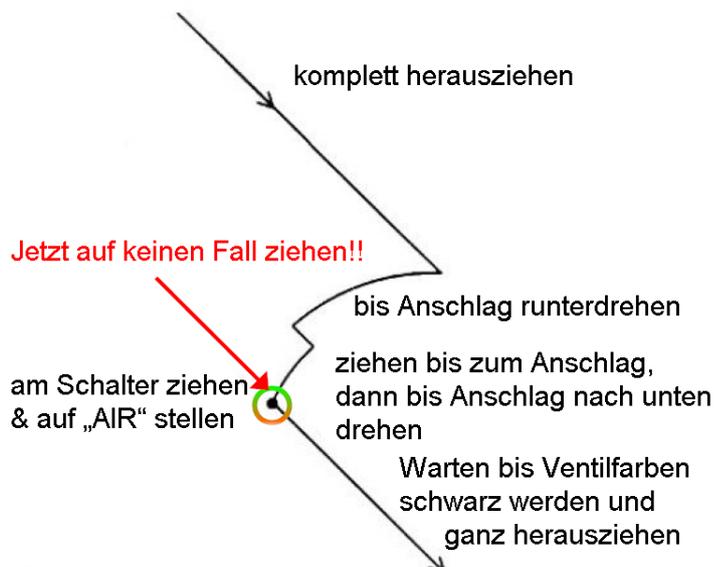
Standard Benutzungsanweisung  
**M12-050\_D**  
**Bedienung des JEOL 1400Plus**  
**Transmissionselektronenmikroscopes**

der Hauptlichtschalter neben der Tür ausgeschaltet wird. Bitte warten Sie noch mit dem Licht ausschalten, denn zunächst muß ja noch eine Probe eingeschleust werden.



Ziehen Sie dazu den Probenhalter rechts an der Seite der TEM Säule nach hinten, wie es der Pfeil hier andeutet solange, bis es nicht mehr geht. Halten die das Halterende weiter fest und drehen sie es nun nach unten bis dies nicht mehr geht. Nun ziehen Sie nochmals nach außen, was nur ein Stückchen weiter geht, und drehen Sie nochmals ein kurzes Stück nach unten OHNE dabei aber am Ende zu ziehen, was nur für ca. 10 Grad Drehung möglich ist und STOPPEN Sie dann wie hier gezeigt:

**Halter entfernen**

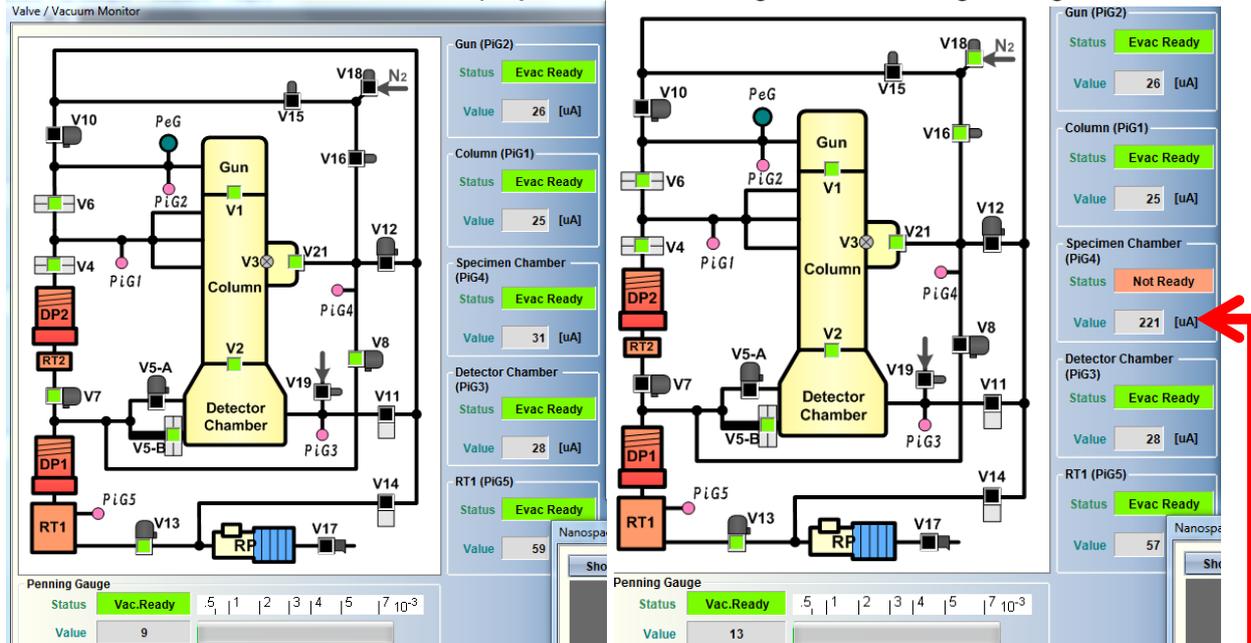


5. Der Halter ist nun im Air-lock. Ziehen Sie die Spitze des Schalters zu sich und legen Sie den Schalter nach unten wie hier gezeigt.



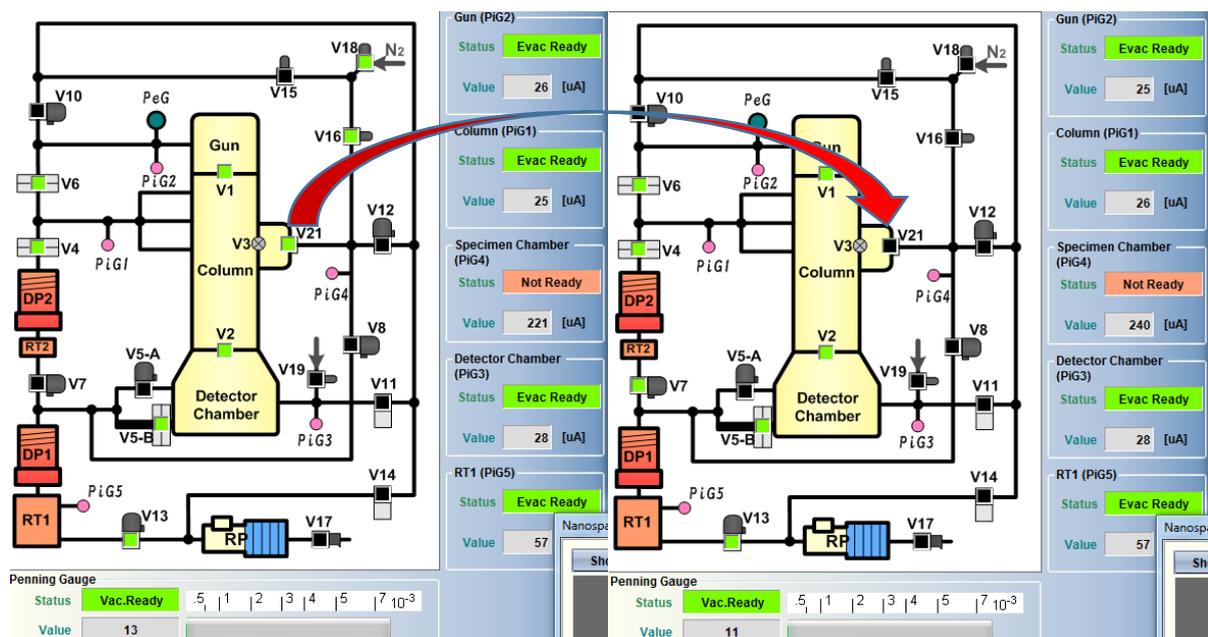
Warten Sie bitte ca. 30 Sekunden. Dabei werden Sie ein paar Klick Geräusche hören.

6. Schauen Sie auf das Vakuum Display, welches nun folgende Änderungen zeigt:



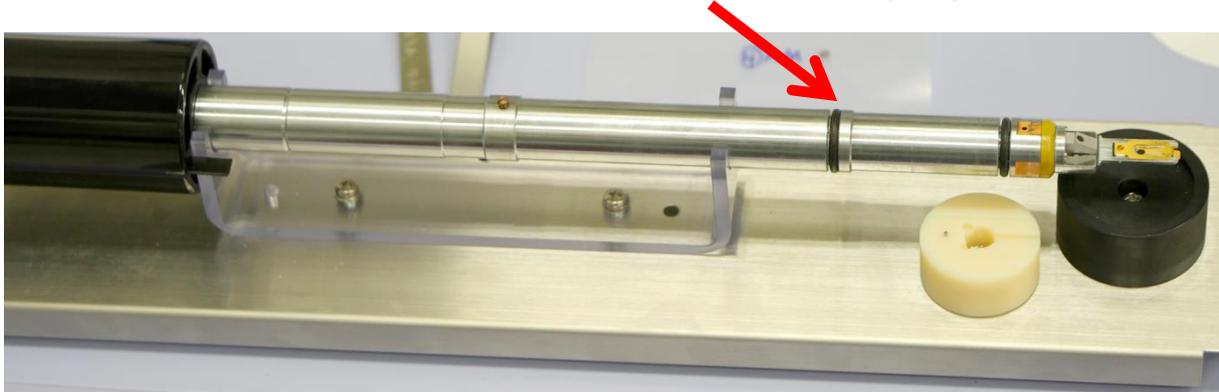
Das grüne "Evac ready" wird zum roten "Not Ready" und der darunter gezeigte Wert steigt.

Warten Sie jetzt bis die Anzeige des V21 Ventils von grün auf schwarz wechselt:



Standard Benutzungsanweisung  
**M12-050\_D**  
**Bedienung des JEOL 1400Plus**  
**Transmissionselektronenmikroskops**

Das dauert ca. 30 Sekunden. Wenn dies nun der Fall ist ziehen Sie den Probenhalter komplett aus dem Gerät und achten darauf den Halter nicht vor dem Dichtungsring anzufassen, um

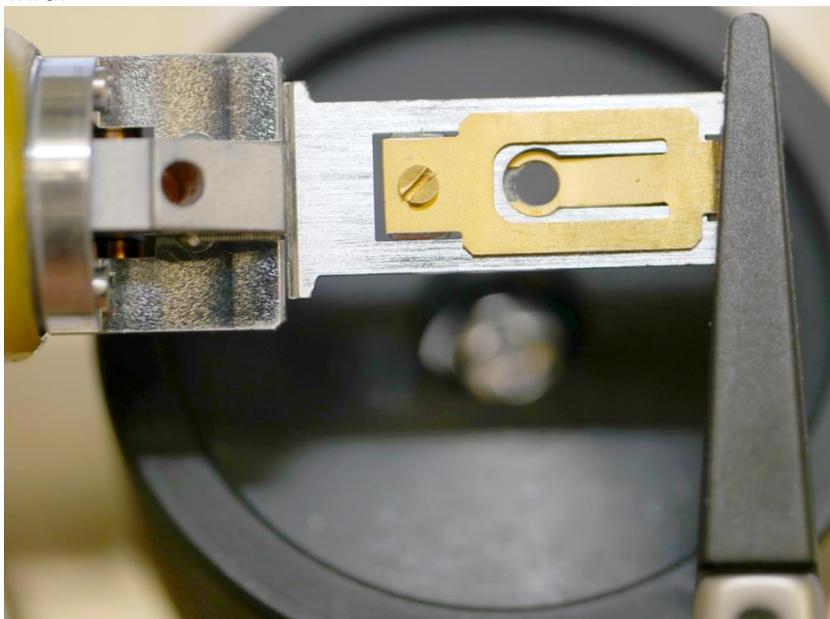


Spätere Kontamination der Säule zu vermeiden. Stellen Sie den Halter in seinen Träger wie es oben gezeigt wird. Nehmen Sie nun die Plastik Pinzette in die rechte Hand



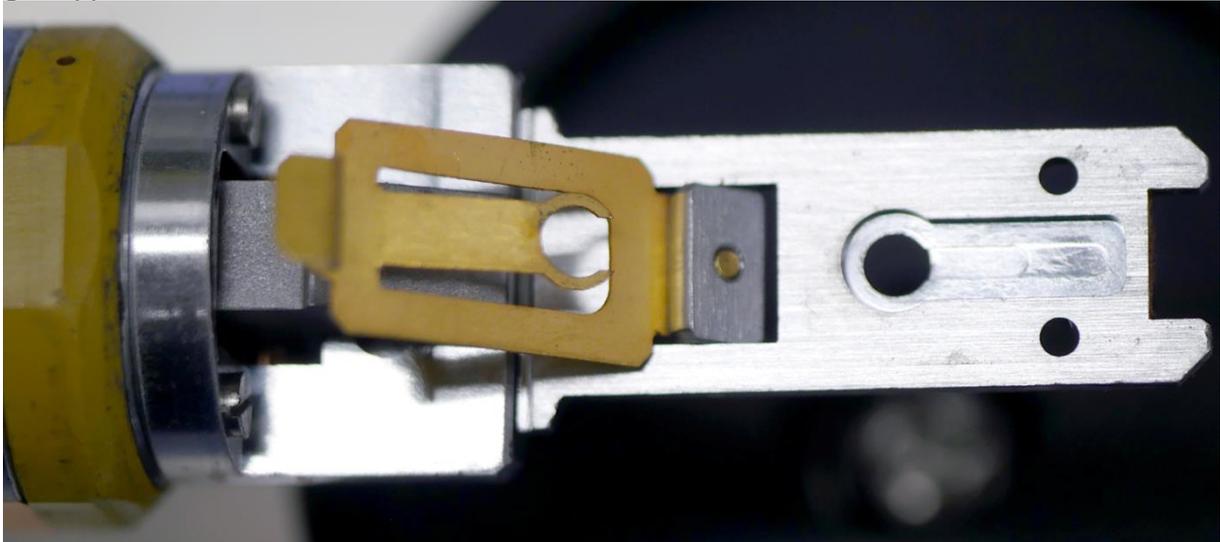
Während sie das Halterende mit der linken Hand fixieren.

7. Öffnen Sie den Metall-Schnappverschluss indem Sie gerade an seinem Ende mit beiden Enden der Pinzette in paralleler Orientierung auf die Halterspitze drücken wie es hier gezeigt wird:

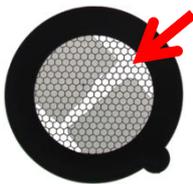


Standard Benutzungsanweisung  
M12-050\_D  
Bedienung des JEOL 1400Plus  
Transmissionselektronenmikrokops

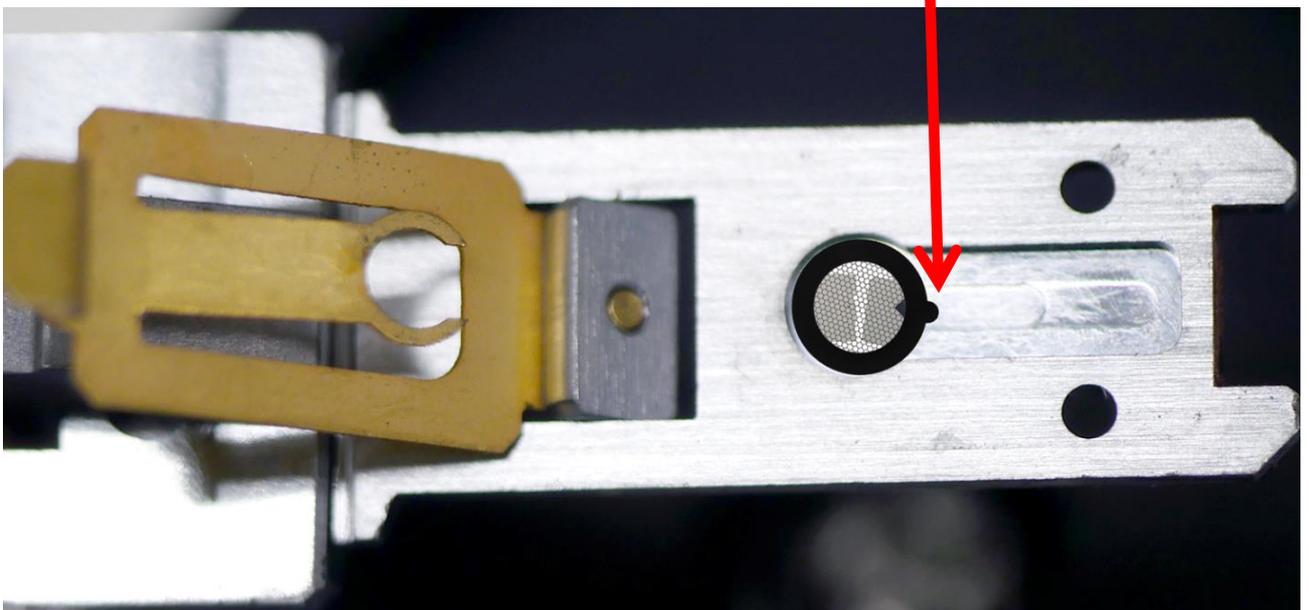
bis Sie ein Klick-Geräusch hören. Die Lasche ist nun offen und wird vorsichtig nach hinten geklappt bis es so aussieht:



Nun nehmen Sie das zu untersuchende Gitternetzchen (Grid) mit einer der beiden anderen Metallpinzetten und legen Sie es so in die runde Vertiefung, dass es flach liegt. Falls Sie ein

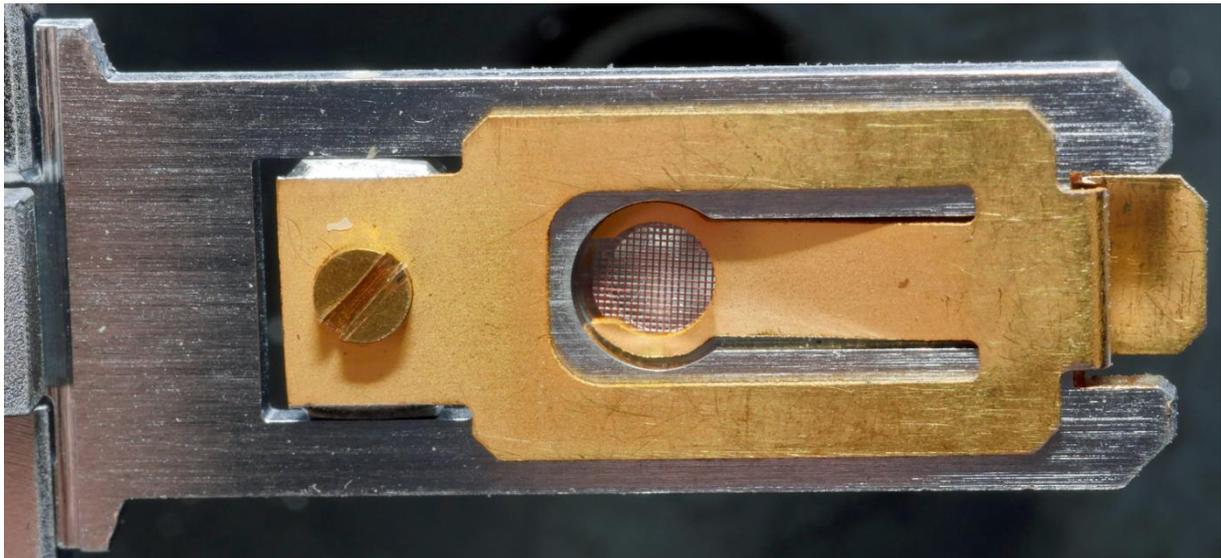


Grid wie dieses haben vergewissern Sie sich, dass die kleine Metallnase in die kleine Vertiefung vorne wie gezeigt zu liegen kommt



Standard Benutzungsanweisung  
**M12-050\_D**  
**Bedienung des JEOL 1400Plus**  
**Transmissionselektronenmikroskops**

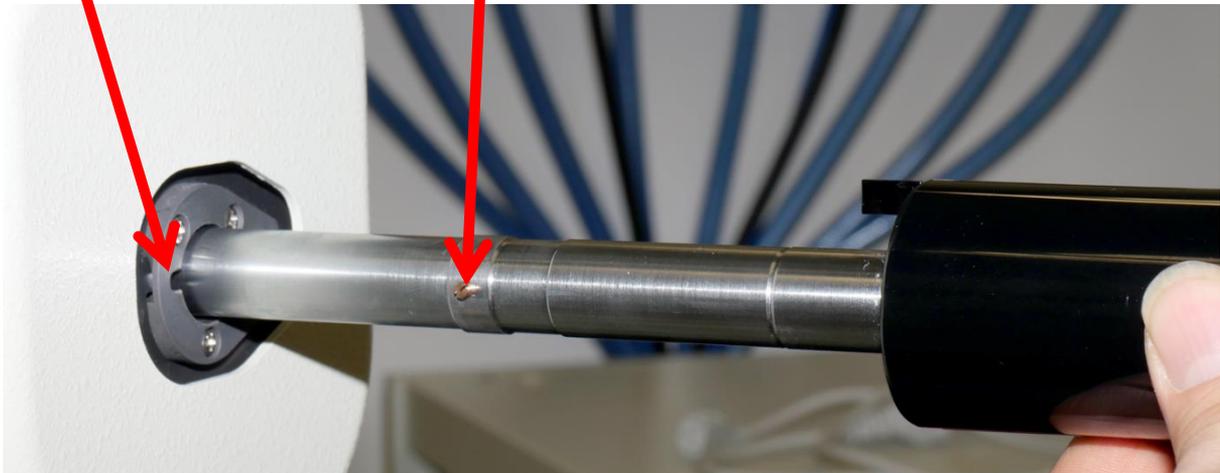
Nehmen Sie nun wieder die Pinzette mit den Plastikenden und schließen Sie die Metallasche.



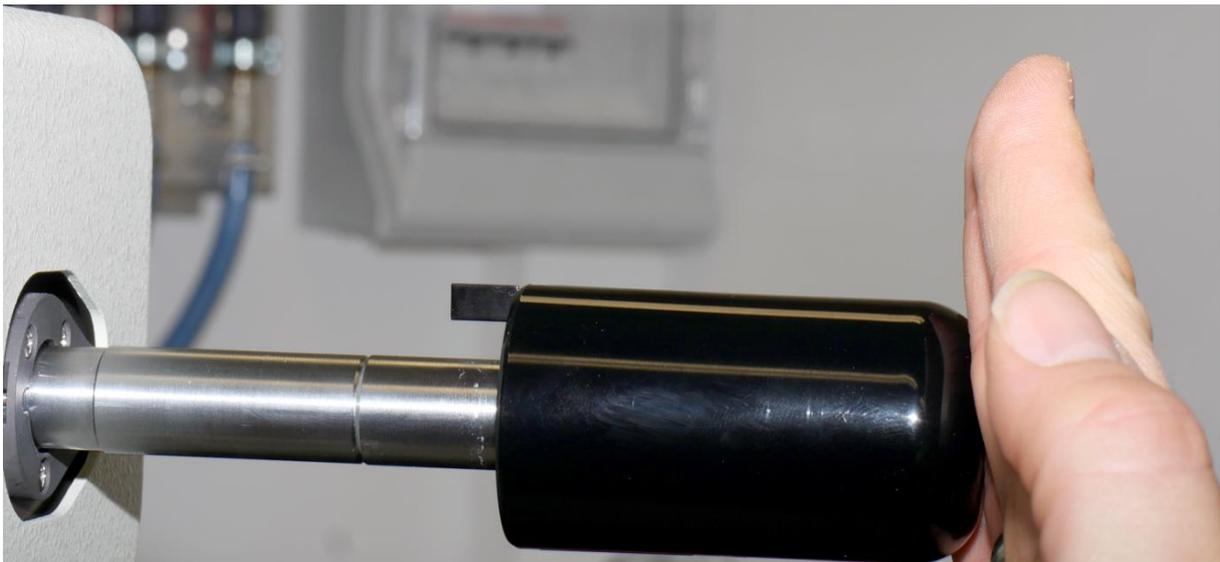
Vergewissern Sie sich, daß Sie den Klick beim Schließen hören. Falls Sie sich nicht sicher sein sollten drehen Sie den Halter um 180 Grad nach unten und klopfen Sie leicht dagegen. Wenn dabei nichts passiert, wird er auch im TEM zu bleiben und Alles ist OK.

Standard Benutzungsanweisung  
**M12-050\_D**  
**Bedienung des JEOL 1400Plus**  
**Transmissionselektronenmikroskops**

8. Schieben Sie nun wie gezeigt den Halter ins TEM, wobei Sie darauf achten, daß der herausstehende kleine Metallzapfen sich dort befindet, wo die Aussparung in der Einführungsöffnung ist.



Nun drücken Sie, am besten wie gezeigt mit der flachen Hand, den Halter so weit wie möglich in die Schleusenöffnung bis Sie ein Klick-Geräusch hören.



# Standard Benutzungsanweisung M12-050\_D Bedienung des JEOL 1400Plus Transmissionselektronenmikrokops

Ziehen Sie den Schalter an der Schleuse zu sich an und stellen Sie ihn auf "Pump" um.

**Halter einschleusen**

Halter am Ende festhalten während er LANGSAM ins Gerät gezogen wird

nach oben bis zum Anschlag drehen

nach oben bis zum Anschlag drehen  
Schalter auf „PUMP“ setzen

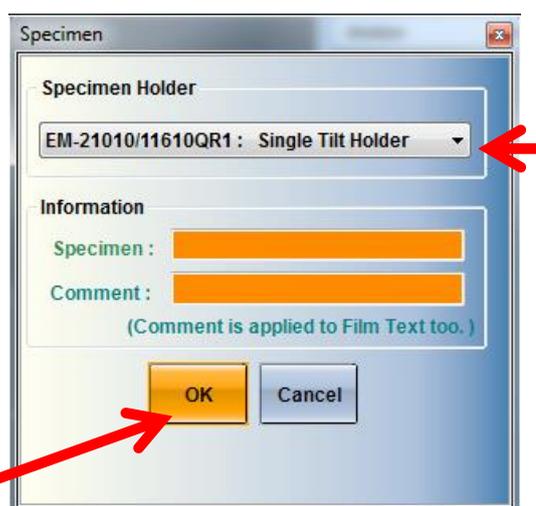
bis Anschlag vorschieben

**WICHTIG:**  
Warten bis die „Evac Ready“ Anzeige hellgrün ist

Halter so drehen, drehen, daß Orientierung stimmt und bis zum Anschlag fest einschieben




Nun geht eine gelbe LED Anzeige an. **Lassen Sie nun den Halter los!** Und warten Sie bis die grüne LED daneben leuchtet\*. Während nun die Pumpe ein Vorvakuum aufbaut, erscheint auf dem Rechner Monitor dieses Fenster:



Falls Sie mit dem bisher gezeigten Standardhalter arbeiten, klicken Sie einfach nur auf OK.

Falls Sie für tomographische Untersuchungen den "high tilt holder" (siehe Bild unten) nutzen klicken Sie den Text bitte an und wählen Sie diesen Halter aus der erscheinenden Liste aus.

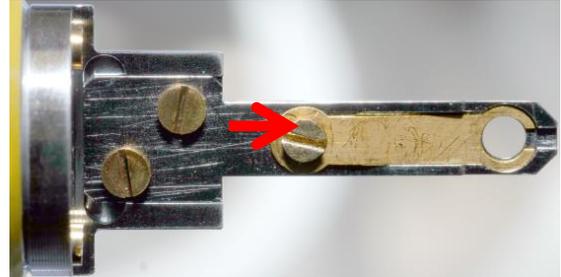
**\* Vorsicht!**

Wenn man jetzt nicht wartet und direkt weiter einschleust, bricht das Hauptvakuum der Säule ein und das Gerät macht einen Neustart. Bis es dann wieder bereit ist dauert es weit über 1 Stunde!

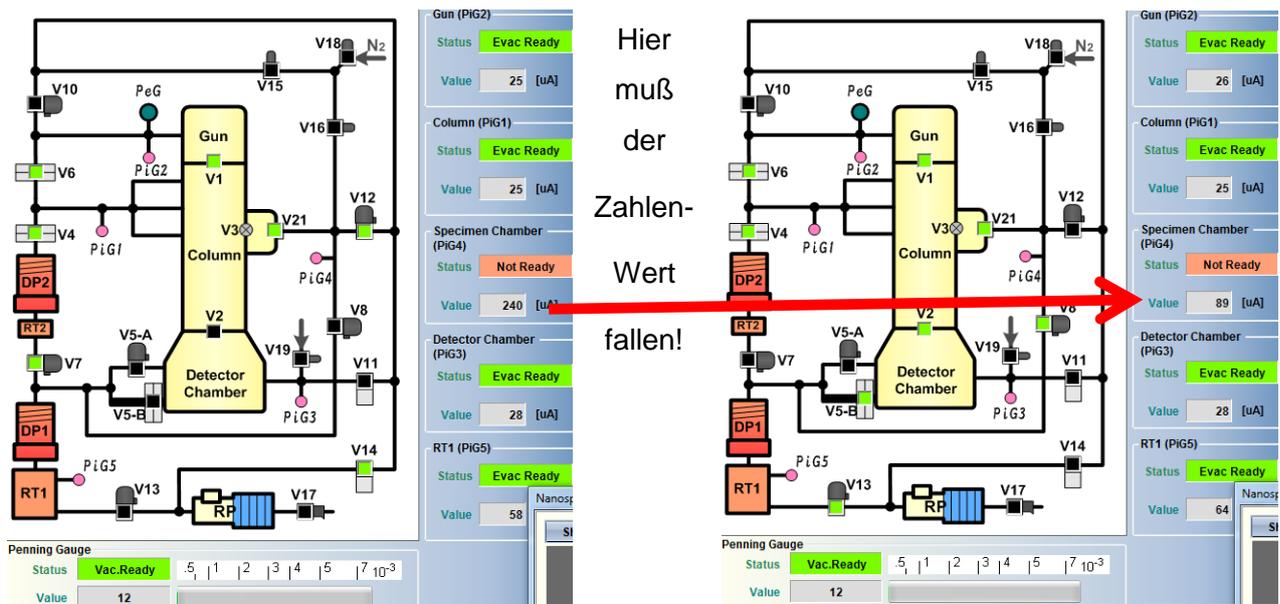
Spitzen der Präparatehalter: Standard



high tilt

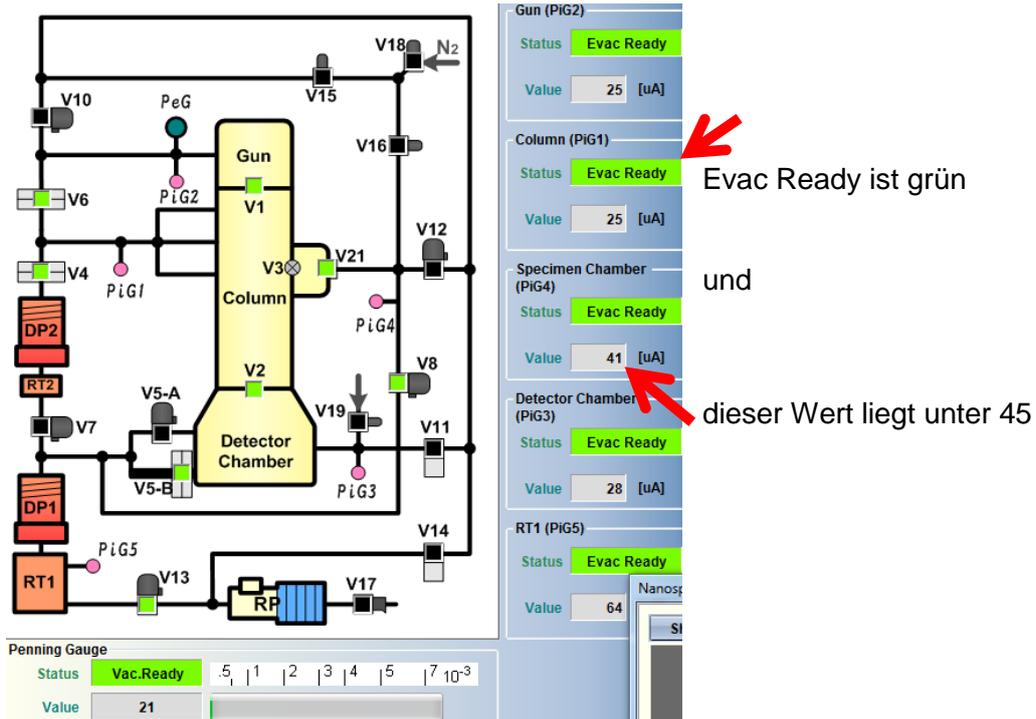


Es ist sehr wichtig zu warten bis folgende Änderungen am linken Monitor angezeigt werden:



Falls der Zahlenwert innerhalb von 10 Sekunden NICHT fallen sollte, ist der Halter noch nicht tief genug eingeführt. Dann bitte noch mal kräftig dagegen drücken, was ein Klick-Geräusch machen sollte. Falls dieses ausbleibt bzw. der Vakuumwert sich immer noch nicht deutlich verringert bitte einen Operator verständigen und AUF KEINEN FALL WEITERMACHEN sonst kommt es auf jeden Fall zum Säulenvakuumeinbruch\* (siehe vorangehende Seite).

NUR weitermachen, wenn sich die Anzeige so ändert:



Evac Ready ist grün

und

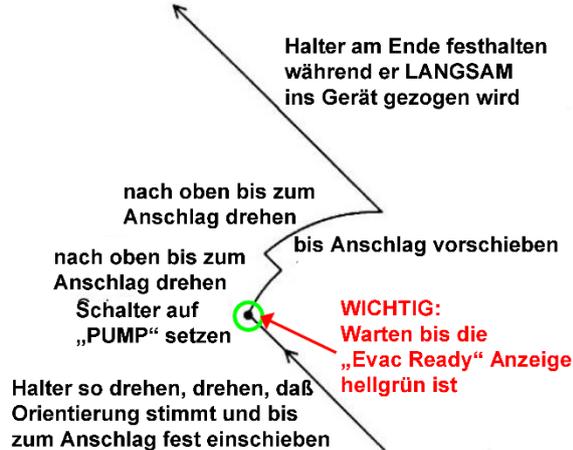
dieser Wert liegt unter 45

9. Vergewissern Sie sich, daß die Objektiv-Aperturblende (links an der Säule neben der Schleuse) herausgedreht ist, damit die Halterspitze beim weiteren Einschleusen nicht dagegen stößt.

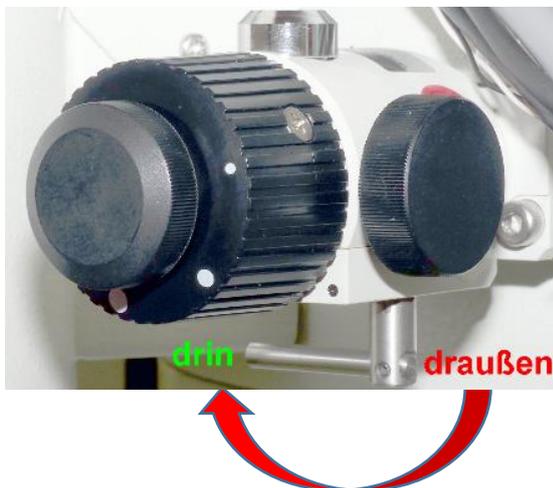


Wenn sie noch drin ist, wie auf dem Foto gezeigt, bewegen Sie den Hebel von links nach rechts, wie es der Pfeil zeigt.

### Halter einschleusen



10. Drehen Sie nun den Halter - **OHNE DARAN ZU ZIEHEN!** - im Uhrzeigersinn bis dies nicht mehr geht (a. 10 Grad), dann schieben Sie ihn ins Gerät, was nur ca. 1 cm geht. Nun drehen Sie den Halter weiter im Uhrzeigersinn und halten Sie sein Ende gut fest, den am Ende des Drehens spüren sie schon, wie er vom Vakuum in die Säule gezogen wird und das sollte behutsam erfolgen. Sie werden dann ein "Puff" Geräusch hören und der Halter stoppt. Nun ist er eingeführt.



11. Nun legen Sie den Hebel der Objektivapertur wieder von vorne nach hinten um wie dies im Bild gezeigt wird.

Schalten Sie nun das Raumlicht aus und nutzen Sie nur noch die kleine Lampe, die Sie mit der Room Light Taste an der linken Steuerung anschalten können.

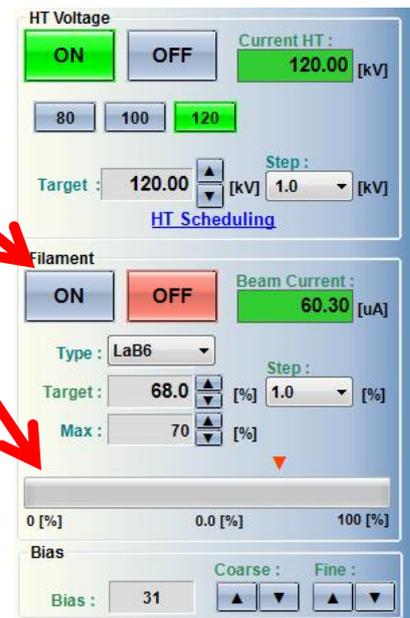
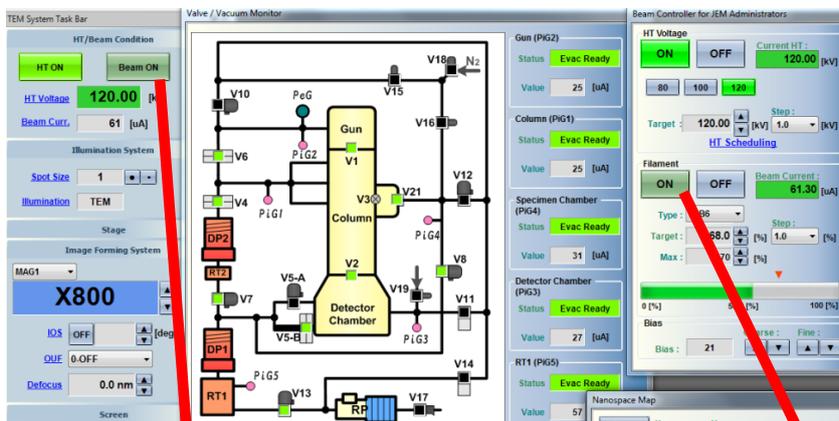
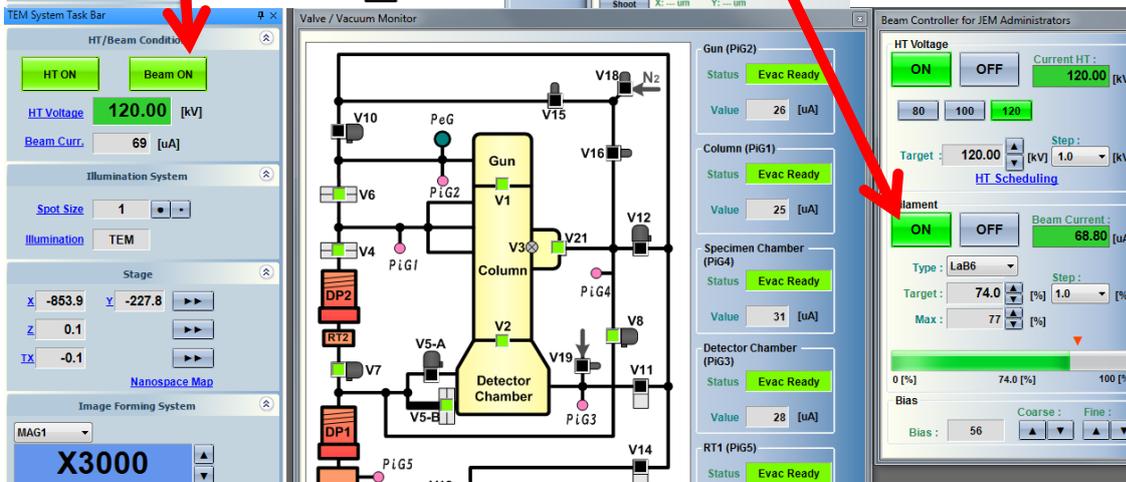


12. Stellen Sie jetzt bitte die Kathodenheizung an indem Sie mit der rechten Maustaste im gezeigten Fenster auf "ON" klicken.

Die Farbe des Feldes wechselt nun auf dunkelgrün

und in diesem Bereich erscheint ein wachsender grüner Balken, der anzeigt, daß das langsame Aufheizen der Kathode erfolgt was 1 bis 3 Minuten dauert.

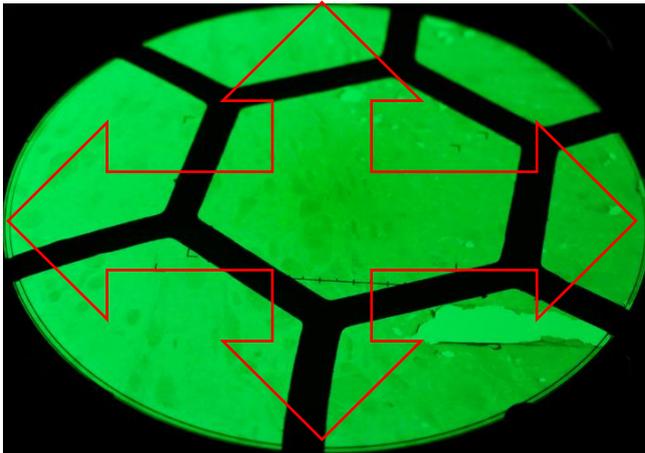
Während dies geschieht ändert sich die Anzeige im Fenster daneben:

Bitte warten Sie bis das Dunkelgrün zu Hellgrün wird. Nun wird ein Elektronenstrahl erzeugt.

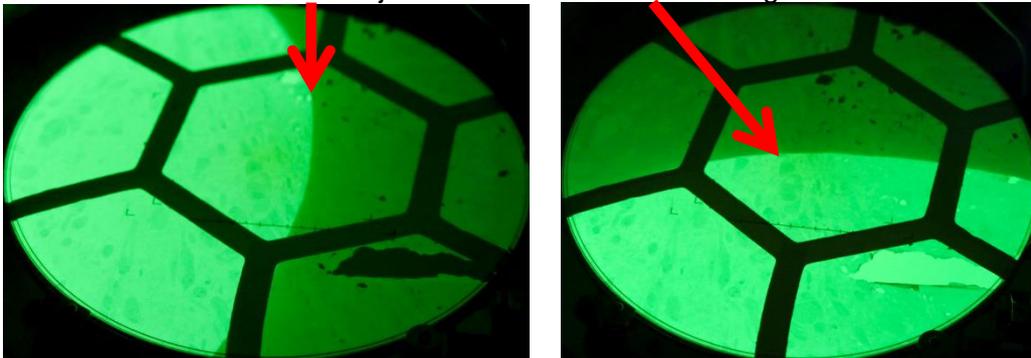
Standard Benutzungsanweisung  
**M12-050\_D**  
**Bedienung des JEOL 1400Plus**  
**Transmissionselektronenmikroskops**

13. Nun können Sie auf dem Sichtschirm ihr Präparat betrachten. Es sollte etwa so aussehen:

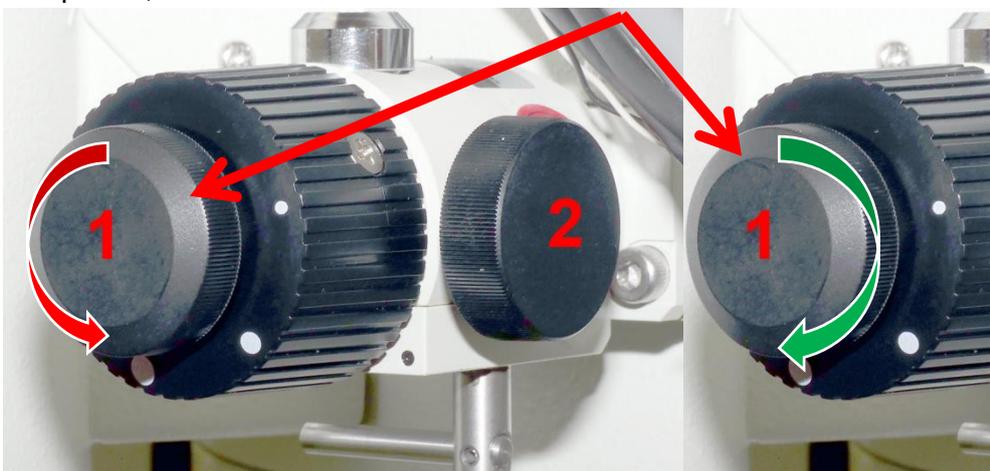


Prüfen Sie, ob alle Ränder des Sichtschirms erreicht werden, sprich ob der Bildschirm komplett und homogen ausgeleuchtet ist.

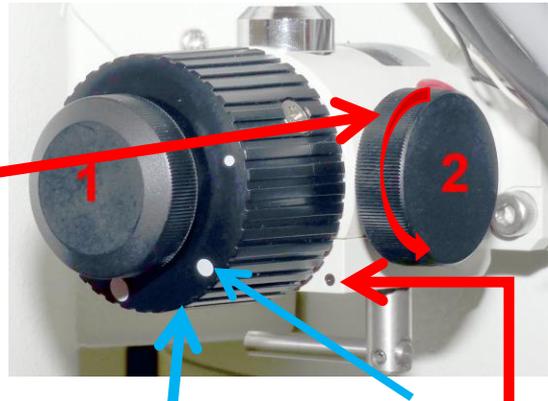
Wenn hier eine durch die Objektivblende verursachte Helligkeits-Grenzlinie wie gezeigt ist



erkennbar sein sollte, muß diese Blende justiert werden. Dazu muß man das mit 1 markierte Rad vorsichtig nach rechts oder links drehen während man weiter auf den Fluoreszenzschirm und prüfen, wie sich das Bild verändert.



Man dreht soweit, bis der Rand erreicht und das Bild Schwarz wird, dann in die Gegenrichtung bis dasselbe passiert. Ziel ist es nun soweit zu drehen, das möglichst genau die Mittelstellung dazwischen erreicht wird. Anschließend korrigiert man die andere Achse mit dem mit 2 markierten Rad, welches in gleicher Weise mittig eingestellt wird. Zum Schluß sollte der Schirm komplett ausgeleuchtet sei, womit das Objektiv korrekt eingestellt ist.



Im Falle sich überhaupt kein Licht finden läßt, bitte am großen Drehrad die nächstmögliche Blendenweite einstellen (größerer Punkt am Rad) oder einen Operator um Hilfe bitten. Zu beachten ist, daß, wenn die Blende am großen Rad verändert wird, sich die mögliche Auflösung und der Kontrast verändern und auch die Kamerakalibrierung nicht mehr stimmt.

Es gibt 3 Blenden: die größte A hat 120 µm, B 60 µm und C 20 µm Durchmesser

Was die Blenden bewirken:

**A** 120 µm maximale Helligkeit und höchst mögliche Auflösung, aber geringster Kontrast

**B** 60 µm gute Helligkeit und vernünftiger Kontrast (Standard Einstellung)

**C** 20 µm niedrigste Helligkeit, leicht reduzierte Auflösung aber bester Kontrast

Welche der Blenden aktuell ist zeigt der Punkt an der Basis des Drehknopfs.

Im gezeigten Foto ist es B (unsere Standard Einstellung). B sollte auch deshalb gewählt werden, da die Kamera und das Beleuchtungssystem dafür optimal kalibriert sind.

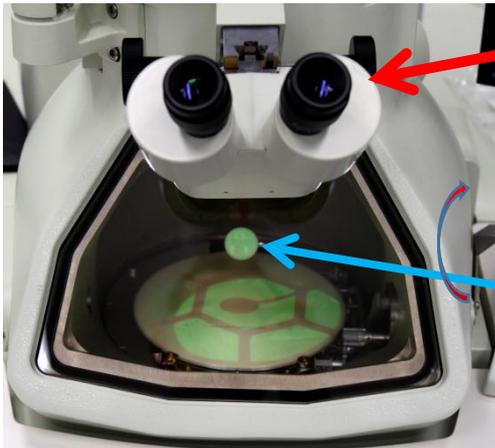
14. Suchen Sie nun nach einer interessanten Stelle in Ihrem Präparat und drehen Sie am "MAGNIFICATION" Rad auf dem rechten Steuerpanel. Der darüber befindliche MAG Knopf sollte leuchten, falls nicht bitte drücken.



Dreht man das "MAGNIFICATION" Rad im Uhrzeigersinn, so erhöht sich die Vergrößerung, Dreht man umgekehrt, nimmt sie ab. Der aktuell gültige Wert ist in der abgebildeten Anzeige zu sehen.

# Standard Benutzungsanweisung M12-050\_D Bedienung des JEOL 1400Plus Transmissionselektronenmikrokops

Für die nun folgende Kalibrierung stellen Sie die Vergrößerung bitte auf 10Kx.



15. Schwenken Sie das Okularpaar links am Mikroskop über das Sichtfenster und kippen Sie diesen Hebel rechts daneben nach oben,

damit der kleine Leuchtschirm für die präzise Einstellung der euzentrischen Ebene erscheint.

Drücken Sie nun den „Standard Focus“ Knopf auf dem rechten Bedienfeld zweimal schnell hintereinander so, daß dieser kurz weiß wird.



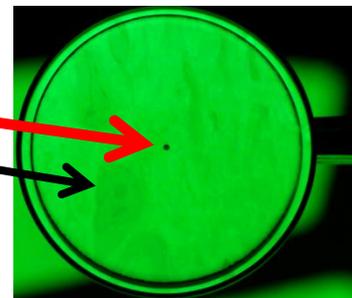
Dann drücken Sie den IMG WOB Knopf und danach den Z FOCUS Knopf,

die nun beide leuchten. Nun schauen Sie auf den kleinen Leuchtschirm und stellen Sie den mittigen schwarzen Punkt durch drehen an den beiden Okularen scharf ein. Jetzt suchen Sie bitte



eine kontrastreiche Stelle im Präparat, z.B. einen Zellkern

Drehen Sie nun am „Focus“ Rad und schauen Sie, ob sich das Präparat hin und her bewegt, so wie es unser Film zeigt.



Zum Sehen, bitte das Icon doppelklicken!



Wenn es sich bewegt das Rad bitte mehrfach nach links drehen und beobachten ob das Wackeln schlimmer oder besser wird. Wird es schlechter bitte in die Gegenrichtung drehen.

# Standard Benutzungsanweisung M12-050\_D Bedienung des JEOL 1400Plus Transmissionselektronenmikroskops

Ziel ist es solange zu drehen, bis das Bild ruhig stehen bleibt. Ist dies erreicht den Z-FOCUS Knopf und dann den IMG WOB Knopf drücken um den Wobbler auszuschalten. Nun ist Ihr Präparat in der euzentrischen Ebene.

16. Stellen Sie nun bitte die für die Untersuchung gewünschte Vergrößerung ein und suchen Sie nach einer Struktur von Interesse.

Nutzen Sie das abgebildete Steuermodul zur Verschiebung des Präparates. Der „SUPER FINE“ Knopf ist nur für Vergrößerungen über 80.000x sinnvoll (Drücken aktiviert den Modus, erneutes Drücken schaltet ihn wieder aus).

Der „CRS“ Knopf ist zur groben Einstellung bei geringen Vergrößerungen (< 3.000x) und funktioniert genauso.

Wenn Sie exakte Verschiebungen nach links-rechts bzw. oben-unten machen wollen, drücken Sie die SHIFT Knöpfe.

Nutzen Sie die Drehkugel zur freien Verschiebung des Präparates.



Wollen Sie eine interessierende Stelle größer sehen drehen Sie bitte das MAGNIFICATION



Rad auf dem **rechten Bedienfeld** im Uhrzeigersinn (bzw. in Gegenrichtung für kleiner). Um das Präparat scharf zu stellen, drehen Sie am „FOCUS“ Rad.



Die Helligkeit (Elektronenstrahlintensität) können Sie durch Drehen am „BRIGHTNESS“ Rad auf dem linken Bedienfeld einstellen, am besten so, daß der Sichtschirm komplett ausgeleuchtet wird.



17. Bei stärkerem Wechsel der Vergrößerung wird es nötig sein die Position des Elektronenstrahls nachzujustieren. Das Beispiel zeigt eine solche Situation mit nach unten verschobenem Strahl. Dabei ist der Rand des Strahls nicht so scharf, wie es bei der Justierung der Blende, die oben beschrieben wurde der Fall war. Zur Korrektur drehen Sie bitte zunächst am BRIGHTNESS Rad so, daß der Strahldurchmesser kleiner wird.



Drehen Sie nun am mit X bezeichneten Rad auf dem **linken Bedienfeld** für Verschiebung in der X-Ebene (rechts - links)

und das



Y-Rad des **rechten Bedienfeldes** für Verschiebung in der Y-Ebene (oben - unten)



## Standard Benutzungsanweisung

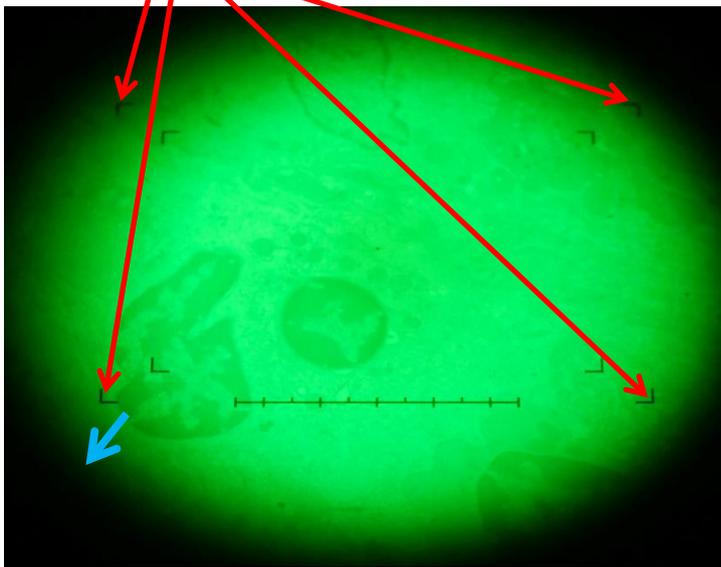
M12-050\_D

### Bedienung des JEOL 1400Plus Transmissionselektronenmikrokops



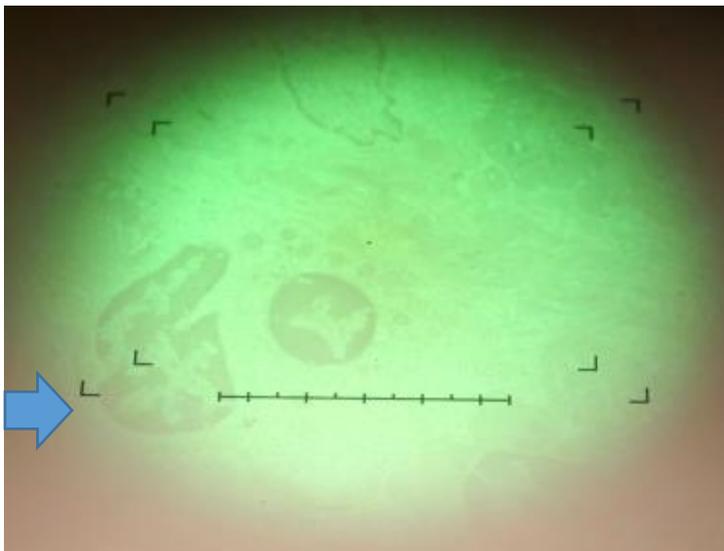
Seite 27 von 37  
Version: 18.12.2019  
zuletzt geändert von: Holger

Bitte beider Räder und den Strahldurchmesser so einstellen, daß der ausgeleuchtete Bereich gerade die 4 Außenwinkel der Fotomarkierung berühren.



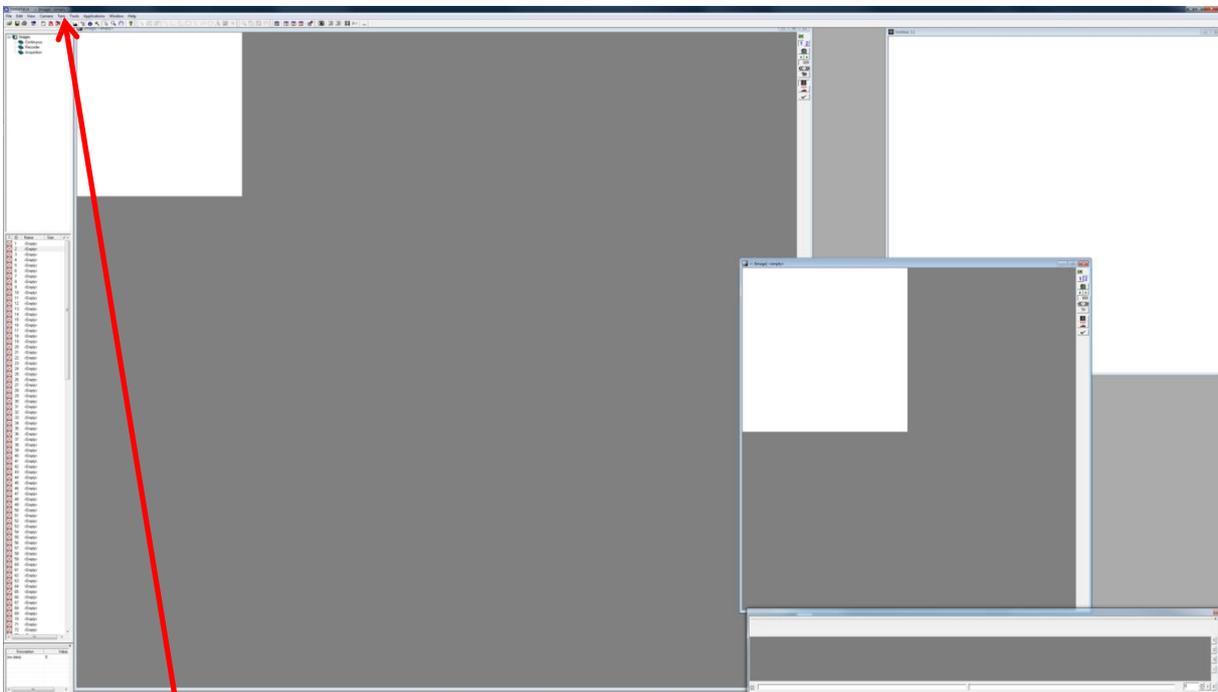
Man dreht so, daß die Abstände zu den Ecken in alle Richtungen gleich sind und zieht mit dem Brightness Rad den Strahl zusammen. Im Beispiel ist noch eine leichte Verschiebung in Y-Richtung nötig, um ein optimales Ergebnis zu erzielen.

So sollte es werden:

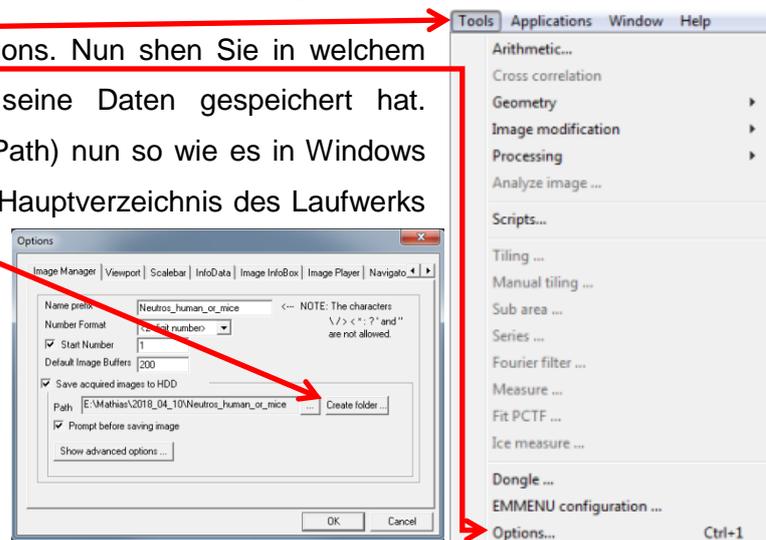




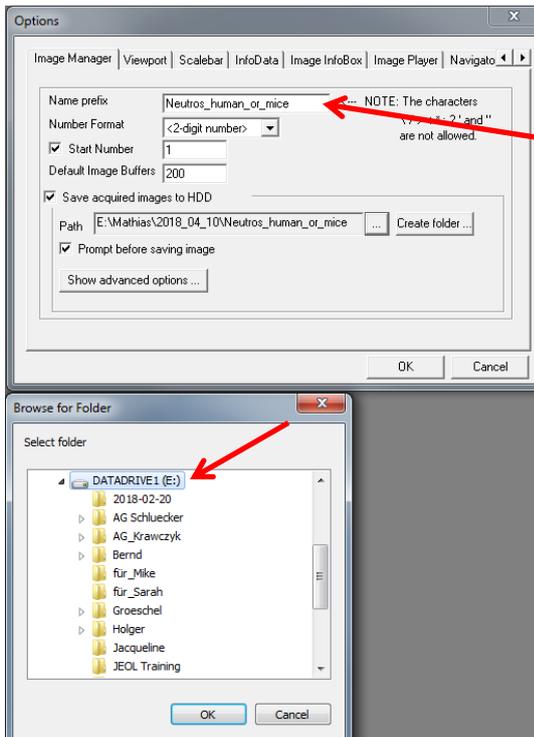
18. Damit Sie Bilder aufnehmen können müssen Sie sich nun auf dem Bildaufnahmerechner einloggen. Wählen Sie den Nutzer „TEM\_User“ und geben Sie das Passwort ein, welches auch „TEM\_User“ ist. Klicken Sie auf den Desktop das EM\_Menu4 Icon, um die Software zu starten. Dieses Display erscheint.



Klicken Sie Tools und dann Options. Nun shen Sie in welchem Verzeichnis der letzte Nutzer seine Daten gespeichert hat. Wechseln Sie bitte den Ordner (Path) nun so wie es in Windows üblich ist und gehen Sie auf das Hauptverzeichnis des Laufwerks E. Dann klicken Sie auf „Create Folder“ und erstellen Sie ein neues Verzeichnis praktischerweise mit Ihrem Namen.



# Standard Benutzungsanweisung M12-050\_D Bedienung des JEOL 1400Plus Transmissionselektronenmikroskops



Bitte verwenden Sie ausschließlich die DATADRIIVE1(E) Festplatte dazu.

Nun klicken Sie in das Feld bei "Name prefix" und ändern Sie den Namen wie gewünscht. Wir empfehlen dazu die Ihnen gegebene Projektnummer als erstes und dann eine kurze Info über die Versuchsbedingungen/-nummer zu verwenden und am Schluß die Nummer des untersuchten Grids mit einem Unterstrich ganz am Ende. Alles, was Sie hier schreiben wird automatisch bei jeder Bildaufnahme geschrieben und dann wird nur noch hochgezählt, so muß man nicht jedes Mal den Namen neu eingeben.

Hier ein Beispiel:

2020\_001\_01\_Versuchsnummer\_Bedingungen\_Tiernummer\_Gridnummer\_

oder noch konkreter etwas wie 2020\_001\_01\_Rat3\_Aorta\_Hyopoxia\_A2\_

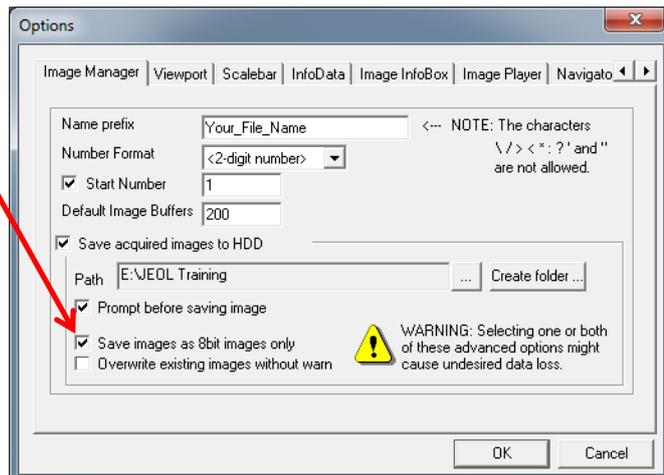
Nun werden die aufgenommenen Bilder so heißen:

2020\_001\_01\_Rat3\_Aorta\_Hyopoxia\_A2\_1 das nächste

2020\_001\_01\_Rat3\_Aorta\_Hyopoxia\_A2\_2, ....

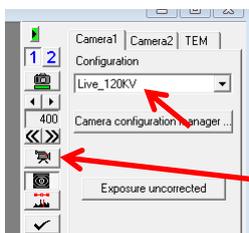
Aus nicht änderbaren Programmier-technischen Gründen sind die Zahlen nicht immer lückenlos also 1,2,3,4,5,6 sondern können sogar unterschiedliche Abstände haben wie 1,3,4,6,8,... aber es wird immer weiter hoch gezählt. Dies liegt daran, daß bei jeder kleinen Unterbrechung oder einem Wechsel der Kamera etc. von der Software weiter hochgezählt wird. Also bedeuten fehlende Zahlen NICHT, daß etwas nicht aufgenommen wurde.

Wenn Sie auf "Show advanced options" klicken können Sie auch einstellen, ob Sie nur 8Bit images also nur Bilder mit (8Bit = 256) Grauwerten aufnehmen möchten, die man dann direkt in Word und anderen Programmen einbinden kann. Standardmäßig haben wir die von den „Profis“ verwendete 16 Bit Option eingestellt, d.h. der Haken bei „Save as 8bit images only“ FEHLT eingestellt, da



dann die volle von der Kamera gelieferte Grauwertinformation erhalten bleibt, was später bei der Bildoptimierung (Grauwertoptimierung bei Tonwertkorrekturen) sehr vorteilhaft ist. Die 16 Bit Bilder können jedoch nur mit geeigneter Software, die das unterstützt (z.B. Photoshop) eingelesen werden. Da die Kamera so eingestellt ist, daß sie echte 4K (4.096 x 4.096 Pixel große) 16 Bit Bilder macht, hat jedes Bild eine Größe von 32MB. Dies bedeutet einen zumeist längeren Datentransfer nach der Bildaufnahme.

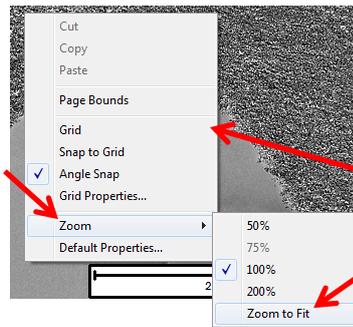
Klicken Sie nun bitte in das linke große Bild und dann auf dieses kleine Zeichen rechts am oberen Rand des Fensters.



Daraufhin wird das Fenster breiter und zeigt Ihnen die aktuell eingestellte virtuelle Kamera, die „Live120KV“ heißen sollte – falls nicht klicken Sie hier und stellen Sie diese Kamera ein.

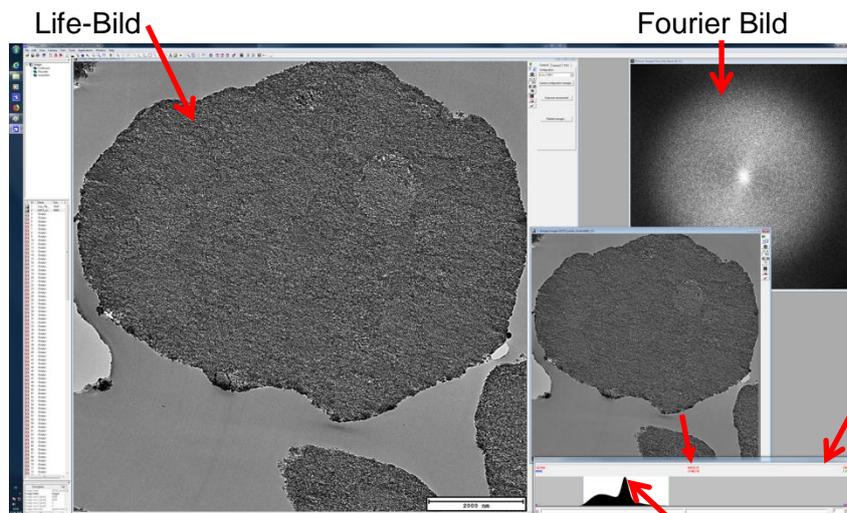


Klicken Sie nun auf dieses Zeichen um die Life-Kamera zu starten. Nun wird sich das Zeichen zu einem STOP-Schild verändern und Sie sehen ihr Präparat im großen Fenster.



Üblicherweise füllt das Life Bild nicht das gesamte Fenster, was aber zu Scharfstellen vorteilhaft wäre, daher klicken Sie einfach irgendwo in dem Life-Bild mit der rechten Maustaste, um das gezeigte Menü aufzurufen. Klicken Sie dann bitte auf ZOOM und anschließend auf "Zoom to Fit". Jetzt erscheint das Bild in maximal möglicher Größe.

Drehen Sie nun bitte das „MAGNIFICATION“ Rad auf dem rechten Bedienfeld und wählen Sie die gewünschte Vergrößerung. Jetzt sehen sie etwa dies:



Kontrollbild des letzten digital aufgenommenen Schnittes (aktuell noch leer)

Histogramm

Nun drehen Sie bitte das "BRIGHTNESS" Rad auf

dem linken Bedienfeld schauen Sie nach dieser Spitze im Histogramm wie diese sich verschiebt. Ziel ist es sie unter den oben markierten roten Zahlen zu positionieren.

# Standard Benutzungsanweisung

## M12-050\_D

### Bedienung des JEOL 1400Plus

### Transmissionselektronenmikroscopes

Nun ist eine für die Kamera optimale Ausleuchtung erreicht. Falls die Vergrößerung nun über mehr als 5 Schritte erhöht wird, sollte geprüft werden, ob die Beleuchtung noch zentral ist. Dazu bitte den "Screen Up" Knopf auf dem rechten Bedienfeld drücken und auf dem Sichtschirm nachsehen. In der Regel kommt es zu kleinen Abweichungen, die wie unter 17 oben beschrieben korrigiert werden sollten. Nach korrekter zentraler Einstellung bitte wieder "Screen Up" drücken.

Nun suchen Sie nach dem was sie interessiert und nutzen Sie das "Focus" Rad, um ein scharfes Bild zu erhalten.

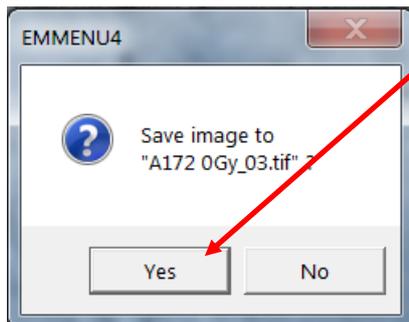
19. Wenn Sie nun ein Digitalbild aufnehmen wollen drücken Sie bitte auf das kleine rote „STOP“ Symbol rechts oben am Bildrand.



Bewegen Sie nun die Maus in das kleinere Fenster rechts unter dem Fourier Bild das die Fotos anzeigt und klicken Sie hier das Aufnahme Symbol.



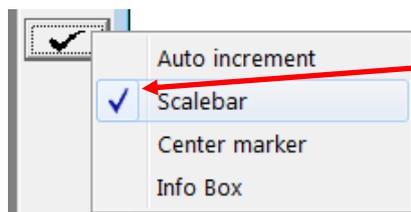
War die Aufnahme erfolgreich erscheint nun ein kleines Fenster wie:



Bitte klicken Sie dort zur Bestätigung.

Um weiter zu machen klicken Sie bitte wieder am rechten oberen Seitenfenster der großen Bildanzeige auf das Kamera Symbol, damit Sie wieder in den Life-Bild Ansichtsmodus kommen.

Falls Sie gerne einen Größenmaßstab im Bild haben möchten klicken Sie den markierten Haken an und es erscheint ein dieses Pop-up Fenster



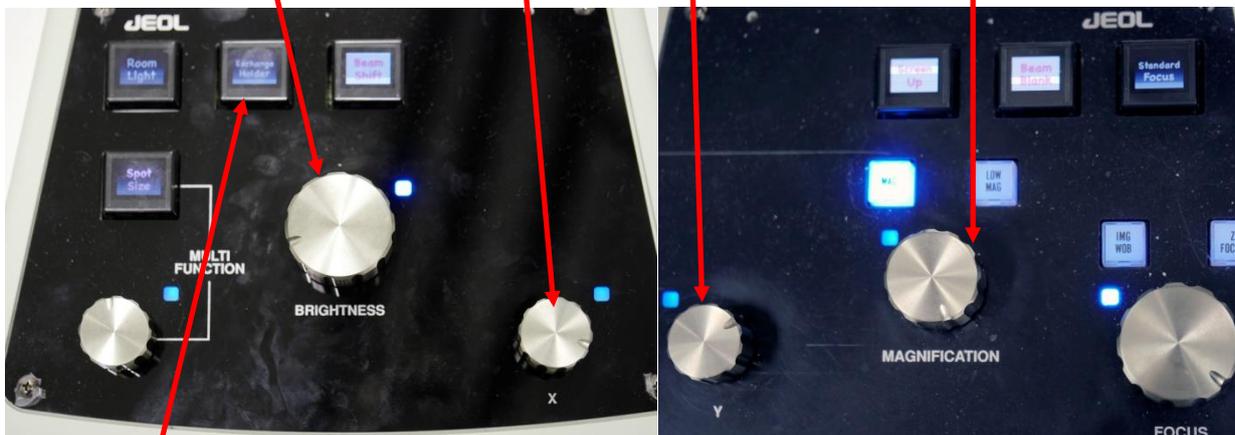
Darin klicken Sie bitte hier.

Erneutes Klicken schaltet den Maßstabbalken wieder aus.

(Der Balken wird nicht "in die Fotos eingebrannt")

Wenn Sie nun die Untersuchung Ihrer Probe abgeschlossen haben und zum nächsten Gitternetz wechseln möchten tun Sie bitte Folgendes:

1. Reduzieren Sie durch Drehen am Magnification-Rad die Vergrößerung auf X800, dann
2. drehen Sie am BRIGHTNESS Rad die Ausleuchtung auf den gesamten Schirm.
3. In der Regel muß man dafür mit den X und Y-Rädern nachjustieren.



4. Nun bitte einen schnellen Doppeldruck auf den "Exchange Holder" Knopf auf dem linken Bedienfeld machen, so, dass dieser kurz weiß wird.

Daraufhin wird der Probenhalter automatisch wieder in die Mittelposition gefahren und die Kathodenheizung ausgeschaltet, was jedoch sehr langsam geschieht und bis zu ca. 3 Minuten dauern kann. Ein Piep-geräusch und ein kleines auf dem Monitor des Steuerungs-PC erscheinendes Fenster mit dem Inhalt "Holder exchange ok" zeigen an, daß die Prozedur beendet ist. Bitte auf keinen Fall vorher weitermachen.

Bitte ziehen Sie nun den Probenhalter aus dem Mikroskop, wie es oben unter Punkt 4 auf Seite 10 beschrieben ist. Danach können Sie das nächste Gitternetz einführen und fortfahren oder Sie beenden Ihre Arbeit am TEM wie nun beschrieben wird:

## 20. Arbeitsende

Wenn Sie Ihre Untersuchung abgeschlossen haben, entnehmen Sie bitte Ihr Gitternetz aus dem Halter und schließen Sie ihn anschließend wieder. Dann wird er wieder ins TEM eingeschleust (wie ab Seite 15 beschrieben), wo er auch verbleibt.

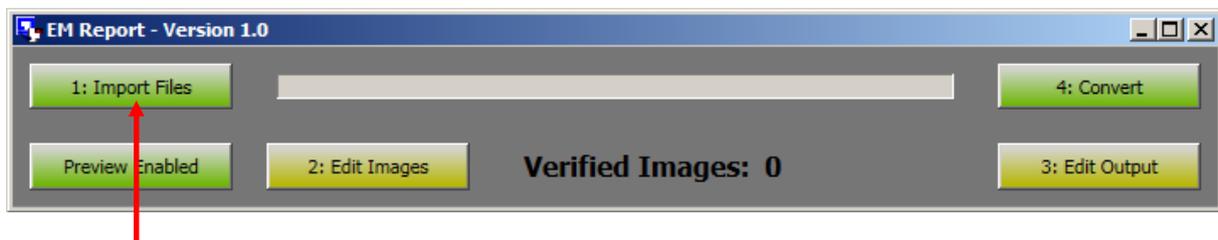
Bitte die Kathodenheizung NICHT einschalten, sondern den Knopf am Monitor des rechten PCs drücken, damit dieser ausgeht. Bitte NICHT am TEM-Steuerungs PC ausloggen oder diesen gar herunterfahren. Er soll einfach an bleiben.

Bitte am linken PC die EMMenu4 Software schließen und dies bestätigen, dann das Raumlicht einschalten und das Hintergrundlicht am linken Bedienfeld durch Drücken von „Room Light“ wieder ausschalten.

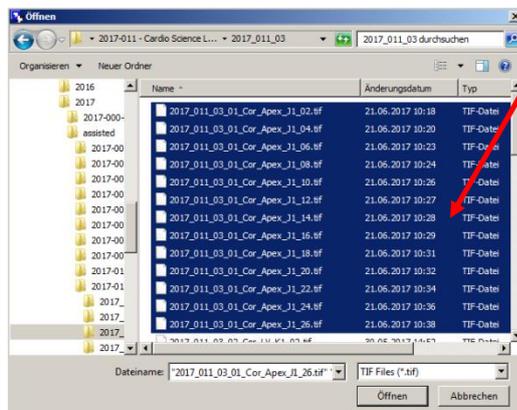
Nun können Sie aus den aufgenommenen Bildern ein oder mehrere pdf Dateien erzeugen, die praktisch sind, um Bilder gleicher Versuchsbedingungen in nur einer Datei mit Maßstab und allen Angaben zusammenzufassen. Um dies zu tun, bitte das Icon



Es erscheint ein kleines Softwarefenster:

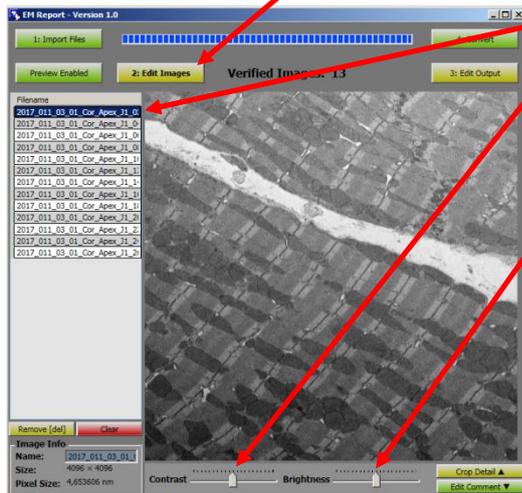


Bitte “Import Files” anklicken und dann bis zu maximal 27 (mehr kann die Software nicht einlesen) der aufgenommenen Bilder auswählen.



“Öffnen” anklicken, um dies zu tun, was wegen der Bildgröße einige Zeit dauert.

Bitte klicken Sie nun "Edit Images" in dem nun erscheinenden Fenster an. Klicken Sie nun



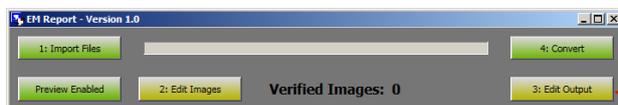
den Namen eines der Bilder an und regulieren Sie Kontrast (Contrast)

und

Helligkeit (Brightness) mit den Schieberegler durch anklicken und festhalten so, daß das Bild möglichst optimal aussieht.

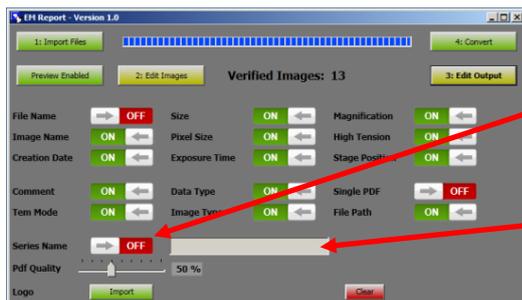
Dann wählen Sie das nächste Bild und verfahren ebenso bis dies sie für alle Bilder gemacht haben.

In vielen Fällen wird die Primäransicht schon gut sein, dann gehen Sie einfach zum nächsten Bild weiter.



Nun klicken Sie bitte oben rechts auf das gelbe "Edit Output"

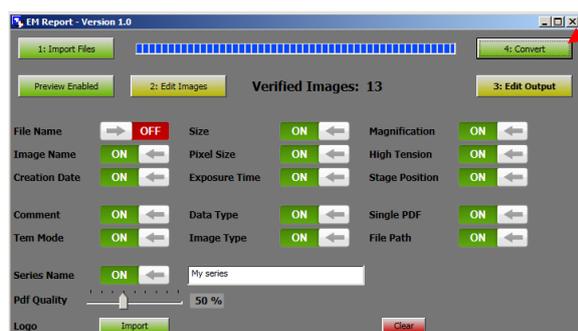
Nun erscheint diese Anzeige:



Klicken Sie hier um aus OFF ein ON zu erhalten

und geben Sie dann hier den Namen für Ihre Bildserie ein und drücken Sie bitte „Convert“

oben rechts.



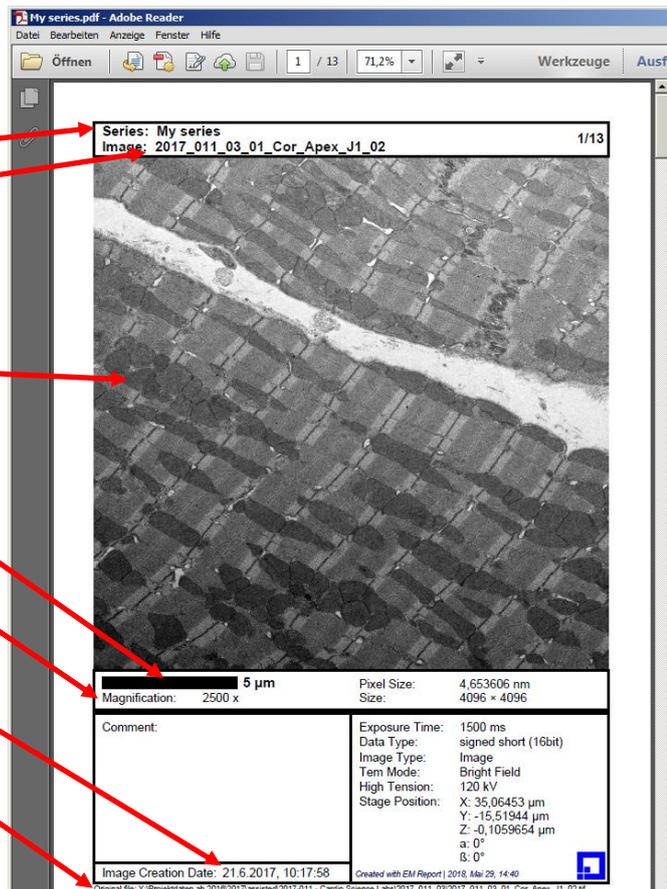
# Standard Benutzungsanweisung M12-050\_D Bedienung des JEOL 1400Plus Transmissionselektronenmikroskops

Darauf erscheint ein neues Fenster und fragt Sie, wo Sie das pdf abspeichern möchten. Am besten nehmen Sie die vorgegebene Standardeinstellung (Das Verzeichnis in dem auch die Bilder sind).

Da die Bilder echt groß sind wird es nun eine Weile dauern bis das pdf fertig ist und angezeigt wird. Sollte trotz langen Wartens nichts mehr passieren haben Sie meist zu viele Bilder ausgewählt. Dann bitte Das Programm beenden und mit weniger Bildern neu starten.

Das pdf zeigt folgende Informationen für alle Bilder an:

- Serienname
- Bildname
- Das Bild selber (in etwas reduzierter Qualität und niedrigerer Auflösung)
- Maßstab-Balken
- Vergrößerung
- Datum
- Name der
- Bilddatei
- und Speicherort



Bitte vergessen Sie nicht Ihr pdf und die Bilddateien nun auf Ihren Sciebo Account hochzuladen, da die Bilddaten NICHT längerfristig (> 2 Monate) auf dem PC bleiben dürfen. Dann melden Sie sich bitte auf dem Bilddaten-PC mit „Log Off“ ab – oder, wenn nach Ihnen niemand mehr kommt, fahren Sie ihn mit „Shut Down“ herunter und schalten Sie auch den Monitor aus. Am rechten TEM-Steuerungs-PC bitte NUR den Monitor ausschalten. Dann gehen Sie bitte in den Nebenraum und drehen Sie den Stickstoff wieder ab (Seite 3) vom Grün



Standard Benutzungsanweisung  
**M12-050\_D**  
**Bedienung des JEOL 1400Plus**  
**Transmissionselektronenmikroskops**

Seite **37** von **37**  
Version: 18.12.2019  
zuletzt geändert von: Holger

IMAGING CENTER ESSEN  
electron microscopy Unit



Universitätsklinikum Essen

zurück auf grau nach unten drehen. Zum Schluß tragen Sie sich bitte in das Nutzungsbuch ein. Dabei geben Sie neben dem Datum bitte immer auch die genaue Nutzungszeit am TEM an und schreiben Sie wenn alles OK war ein OK dahinter, ansonsten, wenn irgendetwas nicht funktioniert hat oder Probleme auftraten dokumentieren Sie diese bitte auf jeden Fall.

Nur, falls Ihre tatsächliche Nutzungszeit am Gerät NICHT mit der zuvor im online Scheduler reservierten Zeit übereinstimmte, denken Sie bitte daran das im Scheduler zu korrigieren.

Bei Fragen, Unklarheiten oder Verbesserungsvorschlägen für diese Anleitung benachrichtigen Sie bitte einen der Operatoren:

Bernd Walkenfort - Tel.: 4387 oder

Holger Jastrow - Tel.: 85746

oder den Abteilungsleiter:

Mike Hasenberg Tel.: 4387

Falls Sie inhaltliche Fragen zu biologischen Proben haben sollten hilft Ihnen Herr Jastrow gerne weiter.