顕微鏡操作

変倍レンズは通常1で使用します。 光路切り替えノブを入れておく。

<明視野、位相差>

- 透過電源のスイッチを入れる。
 照明光度を最大にし、輝度調整はNDフィルターで行う。
 蛍光も使用している場合は蛍光シャッターを入れる。
- 2. 蛍光フィルターをUVの位置にする。
- 対物レンズを任意の物にする。
 位相差を使う時は緑文字のレンズを選ぶこと。
- 4. 位相差の場合はコンデンサを指定の位置に変更する。 明視野の場合はHの位置を使う。
 10x以下はトップレンズを外す。
 (レバーはコンデンサ左側奥)
- 5. サンプルを上向きに乗せ、ピントを合わせる。

く蛍光>

- 1. 蛍光電源のスイッチを入れる。 透過も使用している場合は照明スイッチをOFF。
- 2. 蛍光シャッターを引き出す。
- 3. 蛍光フィルターを任意の位置にする。 明るさはNDフィルターで調整する。
- 対物レンズを任意の物にする。
 なるべく黒文字のレンズを選ぶこと。
- 5. サンプルを上向きに乗せ、ピントを合わせる。

フィルター名	色素	励起	ダイクロイック	蛍光
FITC	FITC	BP450-490	FT510	BP515-565
UV	ヘキスト	BP353-377	FT395	LP397
Rhodamine	ローダミン	BP510-560	FT580	LP590

レンス゛	コンデンサ
x5	-
x10 Ph	Ph1
x20 Ph	Ph2
x40 Ph	Ph2
x100 Ph Oil	Ph3
x100 Oil	-













く偏光>

- 透過電源のスイッチを入れる。
 照明光度を最大にする。
 (輝度足らない場合はNDフィルターを抜く。)
- ポラライザとアナライザを用意する。
 アナライザのフィルターが光路の中心に来るよう調整する。
- 3. 蛍光フィルターのブロックをアナライザと交換する。
 4. 視野絞りの上にポラライザを乗せる。
 (ゴミの映り込み防止の為スペーサーを入れる)
- 5. 対物レンズを任意の物にする。
- コンデンサをHの位置にする。
 10x以下はトップレンズを外す。
 (レバーはコンデンサ左側奥)
- 7. サンプルを上向きに乗せ、ピントを合わせる。
- 8. ポラライザを回して偏光状態にする。













- 1. 透過電源のスイッチを入れる。 光量は適度に調整する。
- 2. 対物レンズを任意の物にする。
- コンデンサをHの位置にする。 10x以下はトップレンズを外す。 (レバーはコンデンサ左側奥)
- 4. サンプルを上向きに乗せ、ピントを合わせる。
- 5. 視野絞りをいっぱいに絞る。
- 6. コンデンサハンドルを回して絞りにピントを合わす。
- 7. 芯出しネジで絞りを中心に移動させる。
- 8. 視野絞りを開けて絞りが視野の外側にくるまで開ける。

コンデンサハンドル





芯出しネジ



視野絞り



CCD取り込み操作(DP2-BSW)

光路切り替えノブを出しておくこと



ホワイトバランス(明視野BG補正)

取り込みまでの手順

- 1. デスクトップのDP2-BSWを起動する。
- 2. 顕微鏡でおよその場所とピントを合わせておく。
- 3. 顕微鏡の光路をCCD撮影側に変え、試料に照明を当てる。
- 4. ライブボタンを押すと別タブでプレビューが表示される。[図1]
- 5. 露出をオート(明視野時)又はオート+SFL(蛍光時)にする。[図2]
- 6. 画面を見ながら場所とピントの微調整をする。 (細かい部分を見たい場合、「部分取り込み」+「ライブに適用する」を使うと見やすい。 ピント調整後は必ず部分取り込みを解除すること。) [図3]
- 明るさが安定しているところで露出時間を確認し、マニュアルに切り替えて 7. 露出を微調整する。(切り替え時に露出時間は引き継がれません) [図4]
- 8. 必要ならバックグラウンド補正をする。[図5] (アイコンをクリック後、プレビュー画面内のサンプルのないバックグラウンド部分をドラッグ。)
- 9. 使用している対物レンズを選択。[図6]
- 10. スナップボタンを押し、画像を取り込む。[図7]
- 11. 取り込まれた画像が別タブに表示されるのでファイルー名前を付けて保存で保存する。 推奨は無圧縮のTIFF形式です。 (圧縮できる形式のものは保存時オプションで圧縮率を選べます)
- 注意)スケール表示があっても保存されません。 スケールを入れたい場合、必ず、後記のスケールバーの入れ方を行って下さい。

取り込みソフトの使い方(DP2-BSW)



` インタラクティブ [*] キャリフ [*] レーション(<u>C</u>)	④ 倍率(M)	キャリフルーションの読み込み(し):		- 6
倍単の設定 対物レンス(Q): Plant	IEO 5x	×++リアレーション(※)	806.3	Im ト /とうセ/
TV7\$7%(C): 2		ち Yキャリフィレーション(ソ):	806.3	 nm ・ パッセ/
ズーム/倍率切替器(Z):		X/YH:(E):	1	● ▼ 固定(5)
				OK キャン

スケールバーの入れ方 … 長さの補正をしてバーを引きます。

- <step1 長さの補正>(対物を選ばなかった場合)
- 1. スケールを入れたい画像を表示させておく。
- 2. イメージ 画像キャリブレーション
- 3. キャリブレーションの倍率からレンズを選択しOKを押す。
- <step2 スケールバーの埋め込み>
- 4. ビュー-スケールバーでバーを表示させる。
- 5. イメージ 情報の書き込み でスケールバーを埋め込む。 (確認を問われるので「はい」と答える)
- 6. 画像を名前を付けて保存する。

計測 ... オブジェクトを書き込み長さや面積を測ります。

※計測は必ず画像がキャリブレーションされた状態で使用して下さい。

- 1. 計測 計測ツールウィンドウ (画像の下にツールウィンドウが表示される)
- 使用したい図形アイコンをクリックして画像内にオブジェクトを書き込む。
 画像内とリスト部分に長さや面積が表示される。
 色を変えたい場合はリスト内の該当オブジェクトを右クリックし、色の変更を選ぶ。
 削除したい場合はリスト内の該当オブジェクトを選び、削除アイコンをクリック。
- 3. オブジェクト入りの画像を保存したい場合は イメージ 情報の書き込み を選び、画像を保存する。
- 4. 計測値の一覧が必要な場合はエクスポートアイコンをクリックし、Excel形式かText形式を選択し、 名前を付けて保存する。 _{削除 エクスポート}



シェーディング補正 ... 照明ムラの補正をします(明るさが変わるので注意)

※バックグラウンド画像とサンプル画像の露出は同じにします。

明るさの目安は露出-1/3のBGとサンプル画像の補正で露出0くらいの明るさになるようです。

- 1. 何も無いところでホワイトバランスをとり、画像を取り込んでおく。(バックグラウンド画像)
- 2. サンプルの画像を取り込む。(補正前の画像が必要な場合は保存しておく)
- 3. (サンプル画像を表示させておいて)処理 画像調整 シェーディング補正
- 4. 補正画像の選択でバックグラウンド画像を選択しOKする。





画像の重ね合わせ … 取り込んだ画像を重ね合わせます。 <DP2-BSWの機能が不便なので別ソフトを使います> <重ね合わせに使う画像をどこかに一時保存して下さい> 1. デスクトップのDPManagerを起動する。

- 2. 画像のあるフォルダを開く。
- 重ね合わせに使う画像を選んで
 DP Managerの灰色のエリアにドラッグする。
 (重ね合わせに使う画像を全て開く)
- 4. イメージ→画像合成
- 5. 入力画像のプルダウンメニューで重ね合わせに使う ファイル名を全て選び、チェックが入った状態にする。
- 6. 色のバランスが悪い場合、強度でバランスを変える。
- 7. 適用をクリックすると合成画像が灰色のエリアに追加される。
- 8. 合成画像をクリックして

ファイル→名前を付けて保存 で保存する。

