



文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究
細胞機能と分子活性の多次元蛍光生体イメージング主催

FRETバイオセンサー発現マウスを使った二光子顕微鏡技術講習会 ～生きたマウスで細胞機能を追跡する～

講習会資料

	予定
10時	イントロダクション
10時20分	イメージング準備
11時	イメージングデモ
	顕微鏡操作(一人ずつ操作)
12時30分	昼食
13時30分	イメージング開始
14時30分	イメージング終了 データ解析説明 (メタモルフ、イマリス操作)
	解析(一人ずつ)
16時～17時	終了

多光子励起レーザー顕微鏡システム
FLUOVIEW FV1000MPE (倒立)

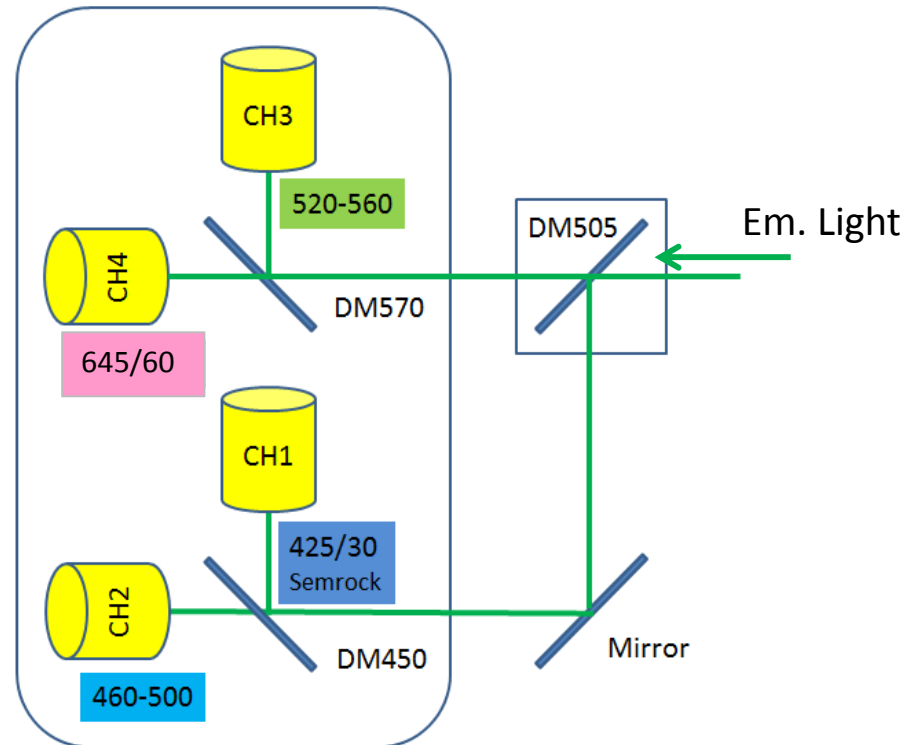
多光子レーザー
Mai-tai DeepSee HP (690-1040 nm)



UPLSAPO 30xS (silicon)
NA 1.05, W.D 0.8 mm

<http://www.olympus.co.jp/jp/lisg/bio-micro/product/fv1000-d/sf06.cfm>

検出器(PMT)構成
4 Ch



Vivid Life Science

FLUOVIEW操作

画像取得設定、画像取込みウィンドウ概略

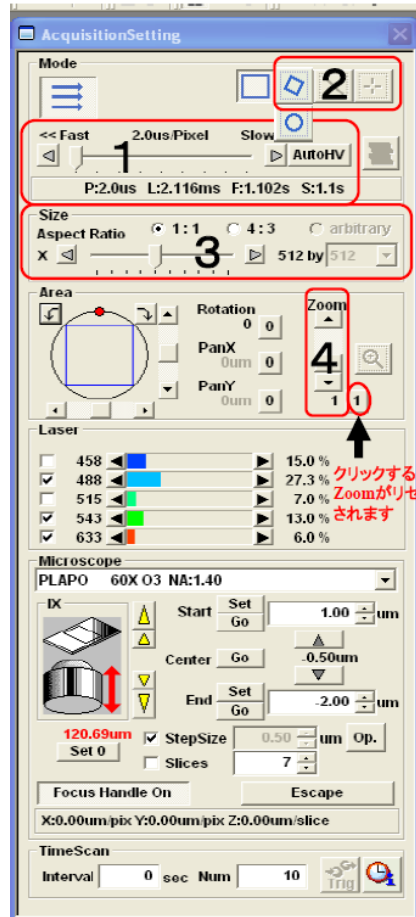
AcquisitionSetting

- スキャンモード
- スキャン速度
- 画素数
- Zoom & Pan
- レーザー出力調整
- 対物レンズ
- フォーカス
- TimeInterval & TimeNumber (XYTやXT取得時)

Image Acquisition Control

- 透過観察(目視)
- 蛍光観察(目視)
- Dye設定
- 光路設定
- スリット調整 (分光タイプSUのみ)
- SIM Scanner設定
- スキャンボタン各種
- XYZ・XYT選択
- 各Chの調整
- コンフォーカルアパチャー
- ハロゲンランプ調光
- Kalman モード設定

画像取得設定の補足

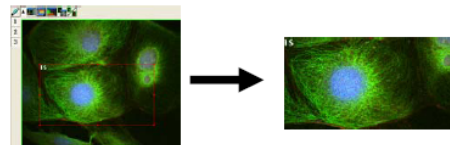


1. AutoHVを選択して、ScanSpeedを選択します。



*よりSlowにする程、現在の明るさを保ちながらノイズを落とすことができます。
(また、別の方法としてKalman積算があります。)

2. "Clip Scan" アイコンをクリックして視野全体像の中から取得したい画像領域を範囲指定します。



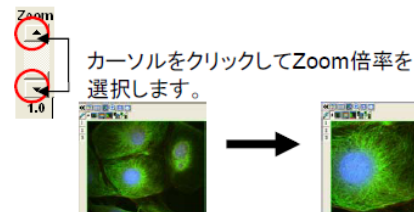
範囲指定後にXY Repeatでスキャン

3. 画素数の設定



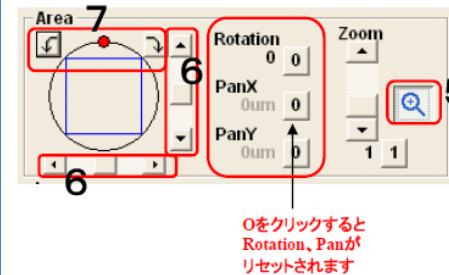
左右にカーソルを移動させ、画素数を選択します。

4. Zoomの設定




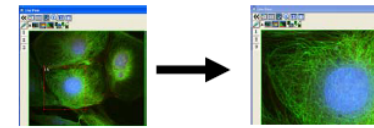
1倍から2倍へZoomで拡大


画像取得設定の補足




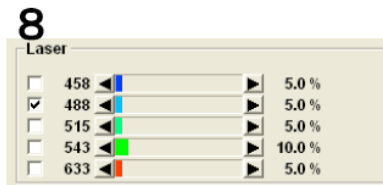
OをクリックするとRotation、Panがリセットされます

5. Zoomスキャン  をクリックすると視野全体像の中から取得したい画像領域の範囲をZoomで拡大しながら任意に指定できます。
※手順3のZoomと同様スキャンスピードは同じです。



6. Pan X,Y  ステージを動かさなくてもスキャンエリア全体を移動させることができます。

7. Rotation  画像全体を回転させることができます。



8. レーザ強度...レーザの強度を上げると、励起光の出力が増加して、蛍光の明るさが増します。
※レーザの強度を上げ過ぎますと褪色しやすくなります。

9. Kalman積算...指定した回数の画像取り込みを行いながら画像の平均化をします。
Kalmanをクリックし、LineまたはFrameを選択します。
画像の積算回数(スキャン回数)を入力します。
利点: ノイズの少ない画像が得られる。
欠点: 撮影時間がかかる。

