Living up to Life

# TCS SP8

## LAS X

## Basic

20200324

**I. TCS SP8 について** 1

**II. Start up** 4
1. CSU 4
2. FSU 6
3.取得画像の階調(bit 数)を変更する場合 9

**III. 画像取得** 10
1. 波長設定メニュー 11
2. 対物レンズの選択 12
3. 染色設定の Load 12
4. 画像の調整 15
5. Dye Assistant 機能 15
6. 画像の画素数、取得速度、ズームなどの設定 20
7. Z Stack 取り込みの設定 22
8. タイムラプスの設定 24

**IV. Viewer** 25
1. Viewer 25
2. Viewer ボタン 26
3. Maximum Projection 画像の作製 28

**V. 輝度測定 Quantify メニュー** 29

**VI. 画像データの取扱** 30
1. Tool Bar 30
2. 保存方法 30
3. 汎用データへの出力 31
4. 画像閲覧ソフト LAS X Small 31

**VII. Shut down** 32

**VIII. 顕微鏡操作法** 36
DMI8 36
DMI6000 39

## Leica TCS SP8 について

Leica TCS SP 8 は、最も空間分解能が高いポイントスキャン方式を採用している製品です
TCS SP 8 は主に以下の仕様があります

### スキャナーの種類

### FOV スキャナー

高精細イメージング用スキャナーで、高画質を実現する仕様です
最大 8192x8192 pixel で画像取得が可能です

### タンデム(レゾナント)スキャナー オプション

上記 FOV スキャナーに高速スキャナーを追加搭載したもので、必要に応じて 2 種のスキャナーを切替えて使用可能です
画像取得スピードを優先した仕様で、購入時に 8 または 12 kHz を選択可能です

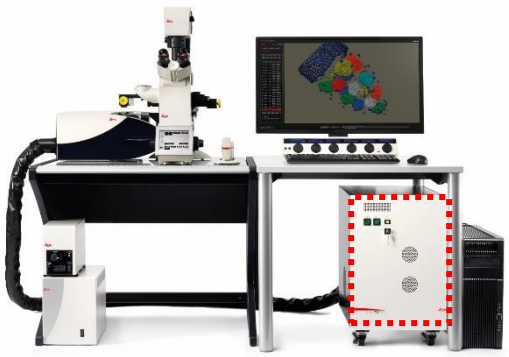
### レーザーユニットの種類

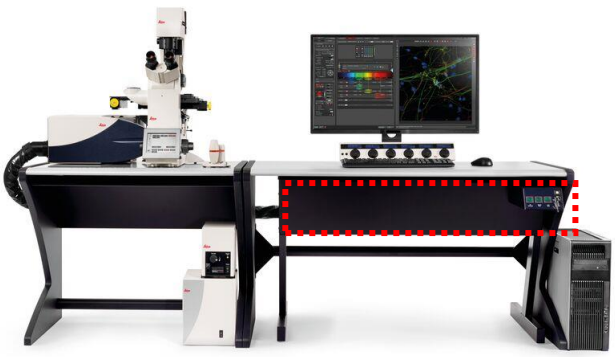
### CSU (コンパクトサプライユニット：半導体レーザーシステム)

半導体レーザーのみで構成されるモデルです(赤枠内にレーザーが格納されています)

### FSU (フレキシブルサプライユニット：ガスレーザーを含むレーザーシステム)

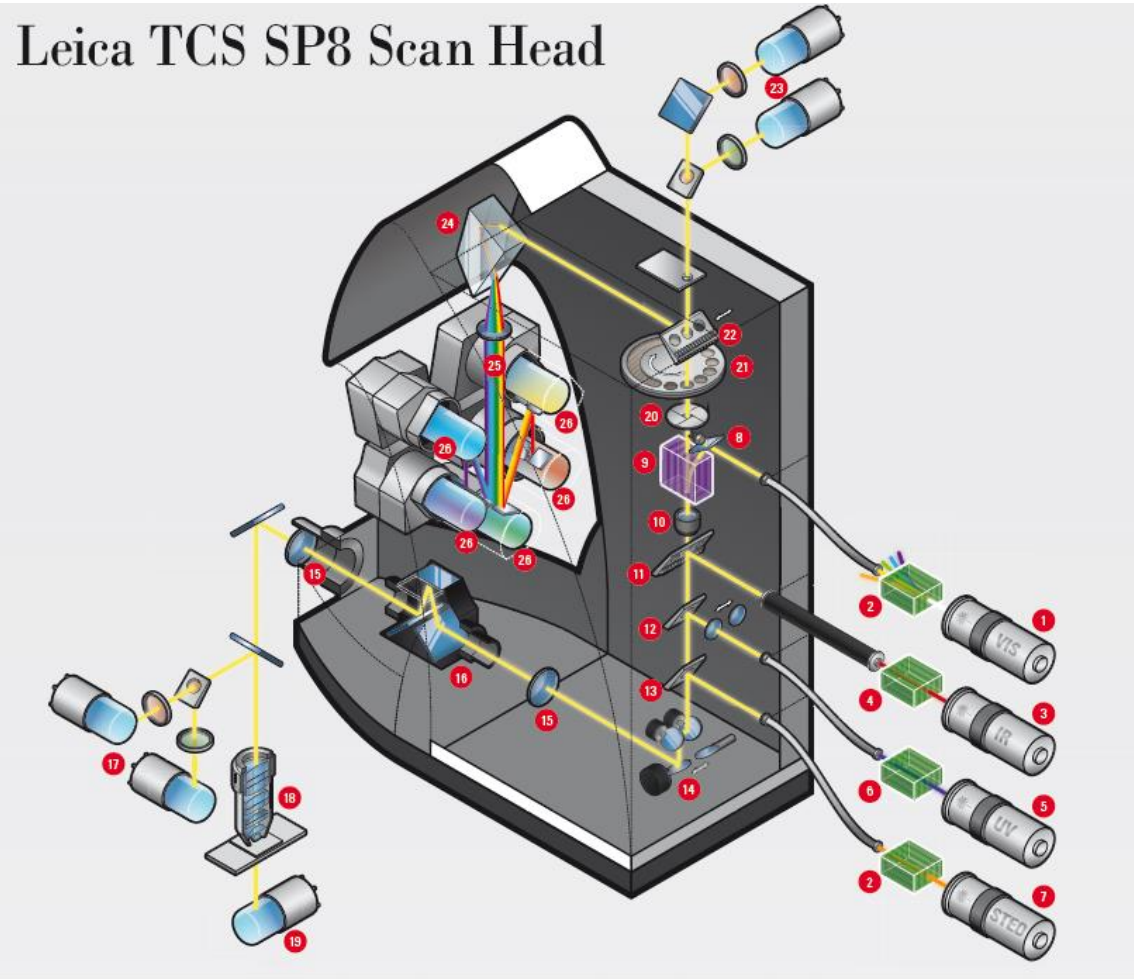
ガスレーザーに加え、その他のレーザー(半導体レーザー、MP レーザー、WLL など)で構成されるモデルです(赤枠内にガスレーザーおよび半導体レーザー格納されています)





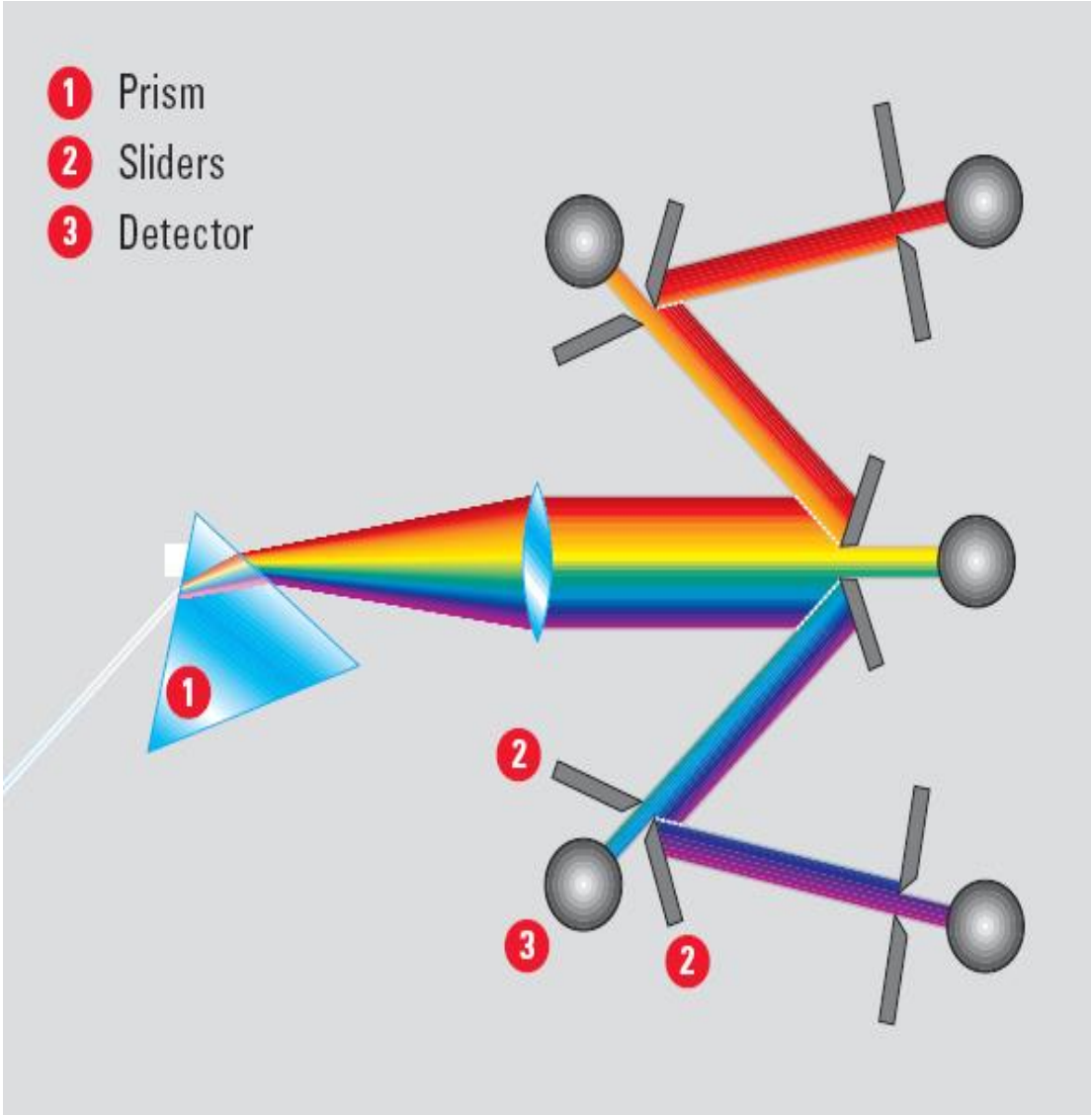
FSU：フレキシブルサプライユニット

# TCS SP8 光学系



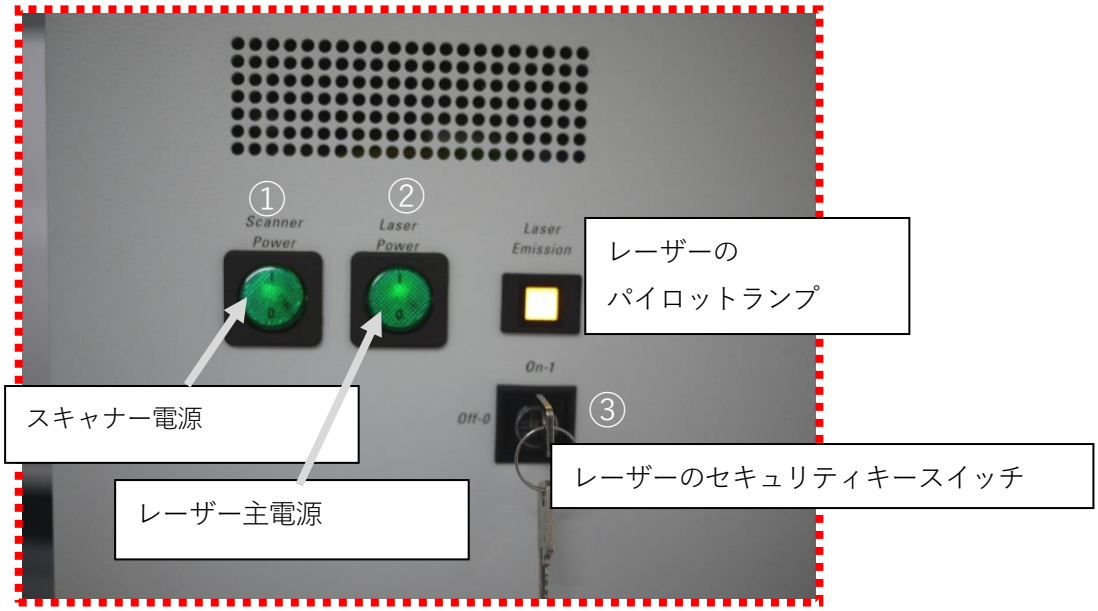
**TCS SP 8　プリズムスリット方式**　(前頁㉔-㉖番に該当)

蛍光の検出波長の設定は検出器手前に設置されたプリズムとスリットにより、任意の波長域に、かつリアルタイムに最適化が可能です。プリズムを採用することで、より高い検出効率を実現しています。
共焦点システムの場合、蛍光の検出器は最大 5 基まで搭載可能で、PMT(Photomultiplier Tube)または HyD(Hybrid Detector)の選択が可能です



## I. Start up

### I-1.CSU の場合



## 1. ＰＣ電源ＯＮ

## 2. ①スキャナー電源ＯＮ

## 3. ②レーザー主電源ＯＮ

## 4. ③レーザーのセキュリティキースイッチＯＮ

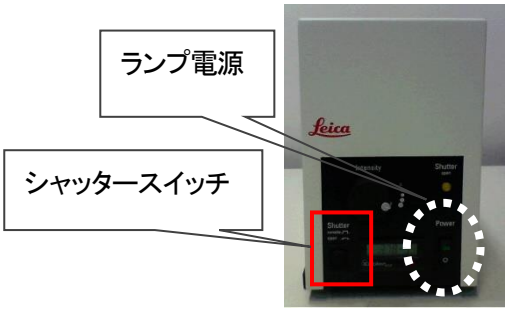
黄色のパイロットランプが点灯します

## 5. 水銀ランプの電源 ON(画像右下、白点線部)

＊目視観察で使用しない場合、ON にする必要はありません

＊水銀ランプはシステム起動中や画像取得設定中など、どのタイミングでも ON にすることが可能ですが、再点灯時は 15-20 分程度の冷却時間を置いてください

＊シャッタースイッチは Remote を選択してください




## 6. 顕微鏡電源ＯＮ

＊電動ステージ(オプション)が搭載されている場合

設定によっては電源を入れた時にステージのイニシャライズが始まりますので、ステージの可動範囲に物を置かない様にご注意ください

## 7. ユーザーアカウント「TCS User」を選択します

＊Windows10 の場合は自動ログインのため、不要です

## 8. デスクトップ上の 「LAS X」をダブルクリックします

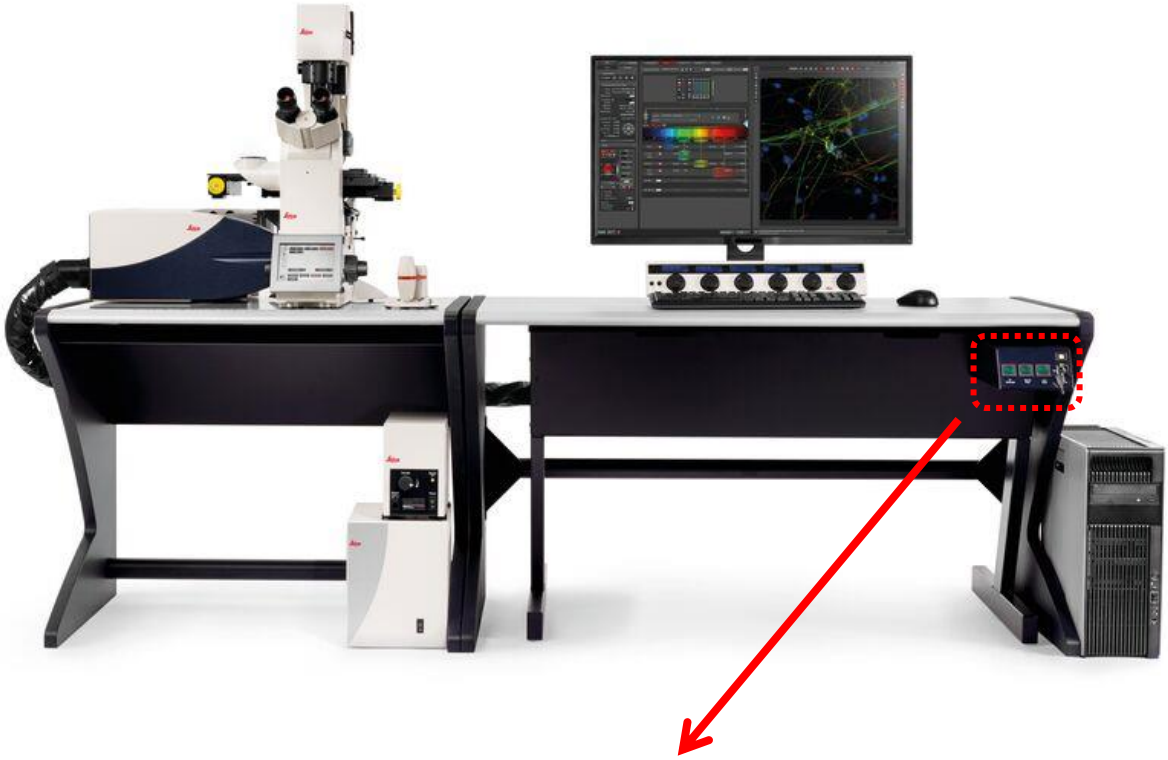


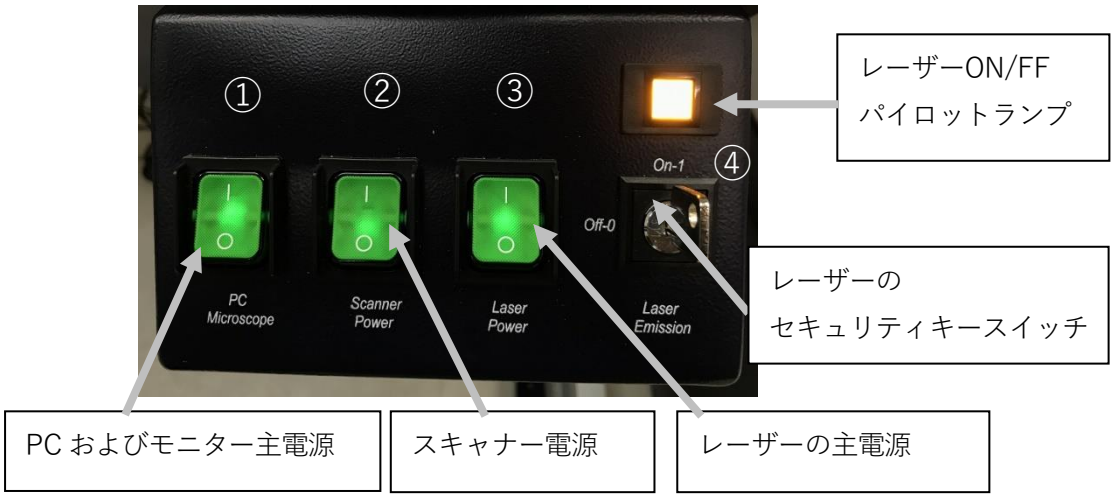
＊LAS X は起動時に水銀ランプ以外の機器の接続の確認を行います

8 ページへ

## I. Start up

### I-2. FSU の場合





## 1. ＰＣ電源ＯＮ

## 2. ①スキャナー電源ＯＮ

## 3. ②レーザー主電源ＯＮ

## 4. ③レーザーのセキュリティキースイッチＯＮ

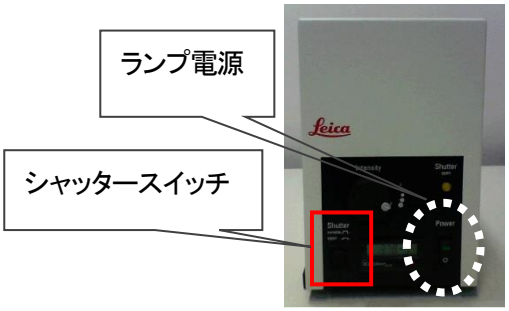
黄色のパイロットランプが点灯します

## 5. 水銀ランプの電源 ON(画像右下、白点線部)

＊目視観察で使用しない場合、ON にする必要はありません

＊水銀ランプはシステム起動中や画像取得設定中など、どのタイミングでも ON にすることが可能ですが、再点灯時は 15-20 分程度の冷却時間を置いてください

＊シャッタースイッチは Remote を選択してください




## 6. 顕微鏡電源ＯＮ

＊電動ステージ(オプション)が搭載されている場合

設定によっては電源を入れた時にステージのイニシャライズが始まりますので、ステージの可動範囲に物を置かない様にご注意ください

## 7. ユーザーアカウント「TCS User」を選択します

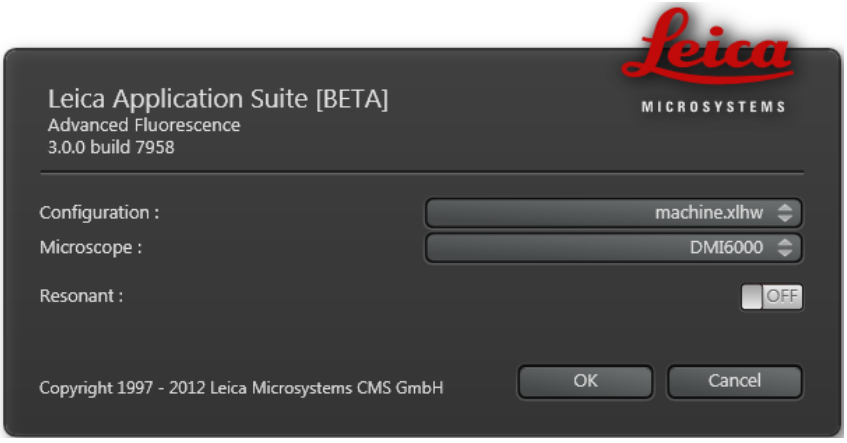
＊Windows10 の場合は自動ログインのため、不要です

## 8. デスクトップ上の 「LAS X」をダブルクリックします



＊LAS X は起動時に水銀ランプ以外の機器の接続の確認を行います

## 9. 以下のウインドウが開きます。 下記項目を確認し、「OK」を押してください




**Configuration**： 撮影する場合 **machine.xlhw** (仕様により名前が異なる場合があります)
解析のみ行う場合 **Simulator**

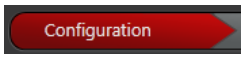
**Microscope**：倒立の場合 DMi8、正立の場合 DM8 など

**Resonant**(オプション): 高速レゾナントスキャナーを使用する際は、「ON」にしてください

＊正しい組み合わせの Configuration および Microscope を選択しないと、撮影することはできません

＊解析のみの場合は、顕微鏡やレーザーを ON にする必要はありません

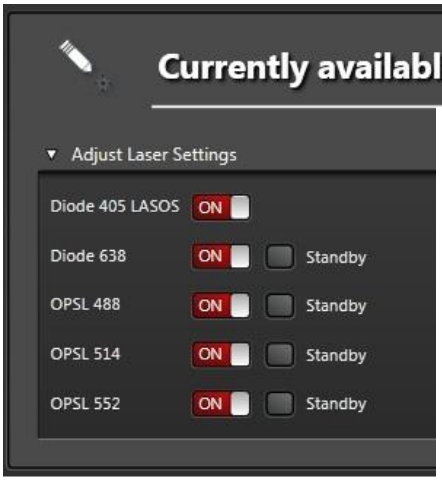
## 10. レーザーのセットアップを行います

Configuration メニュー 

を開き、左側の項目から Laser Config を

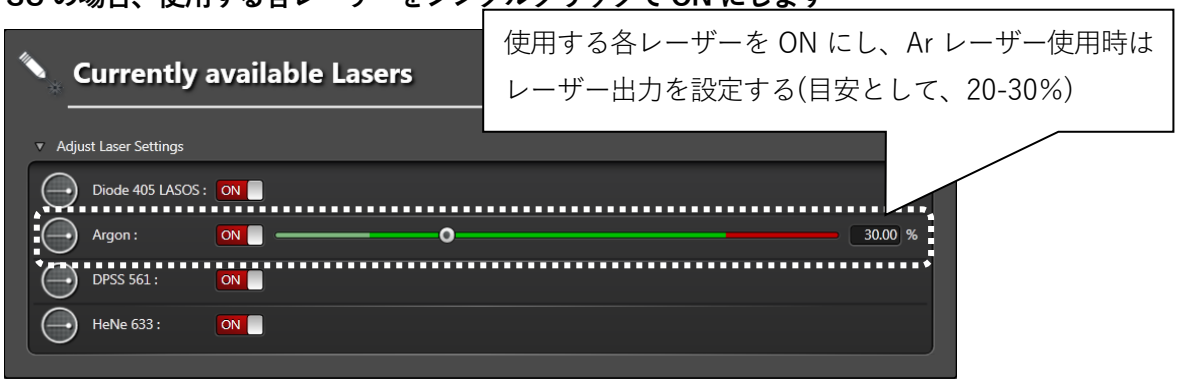
選択します

**CSU の場合：使用する各レーザーをシングルクリックで ON にします**




| 波長 | 観察できる試薬の例 |
|---|---|
| 405 nm | DAPI、Hoechst など |
| 448 nm | CFP、Lucifer Yellow など |
| 488 nm | FITC、Alexa488、GFP、PI、Cy2、Fluo3 など |
| 514 nm | YFP など |
| 552 nm | Alexa555、Ds-Red など |
| 638 nm | TOTO3、Cy5、Alexa633 など |

**FSU の場合、使用する各レーザーをシングルクリックで ON にします**

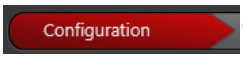


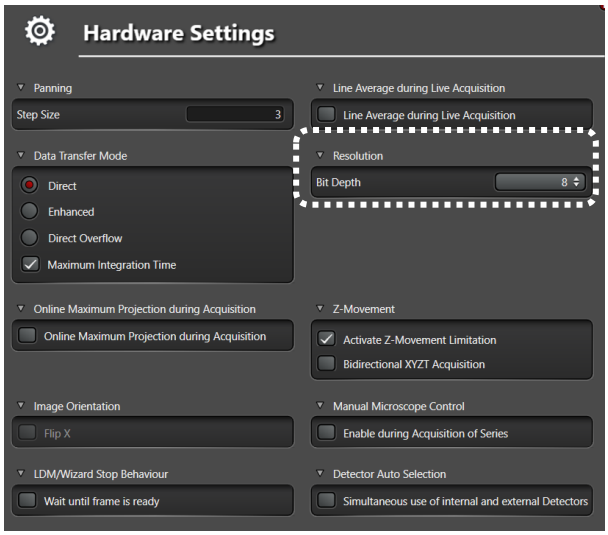

＊White Light Laser (WLL、オプション)は ON にすると自動で 70 または 85%に出力が上がります。出力を変更しないでください

| 波長 | 観察できる試薬の例 |
|---|---|
| 405 nm | DAPI、Hoechst など |
| 458 nm | CFP、Lucifer Yellow など |
| 488 nm | FITC、Alexa488、GFP、PI、Cy2、Fluo3 など |
| 514 nm | YFP など |
| 543 nm | Rhodamine、Alexa555、Cy3 など |
| 561 nm | Alexa555、Ds-Red など |
| 594 nm | TexasRed、Alexa594, mCherry など |
| 633 nm | TOTO3、Cy5、Alexa633 など |

## I-3. 取得画像の階調(bit 数)を変更する場合

デフォルトは 8 bit(256 階調)での取得となります。

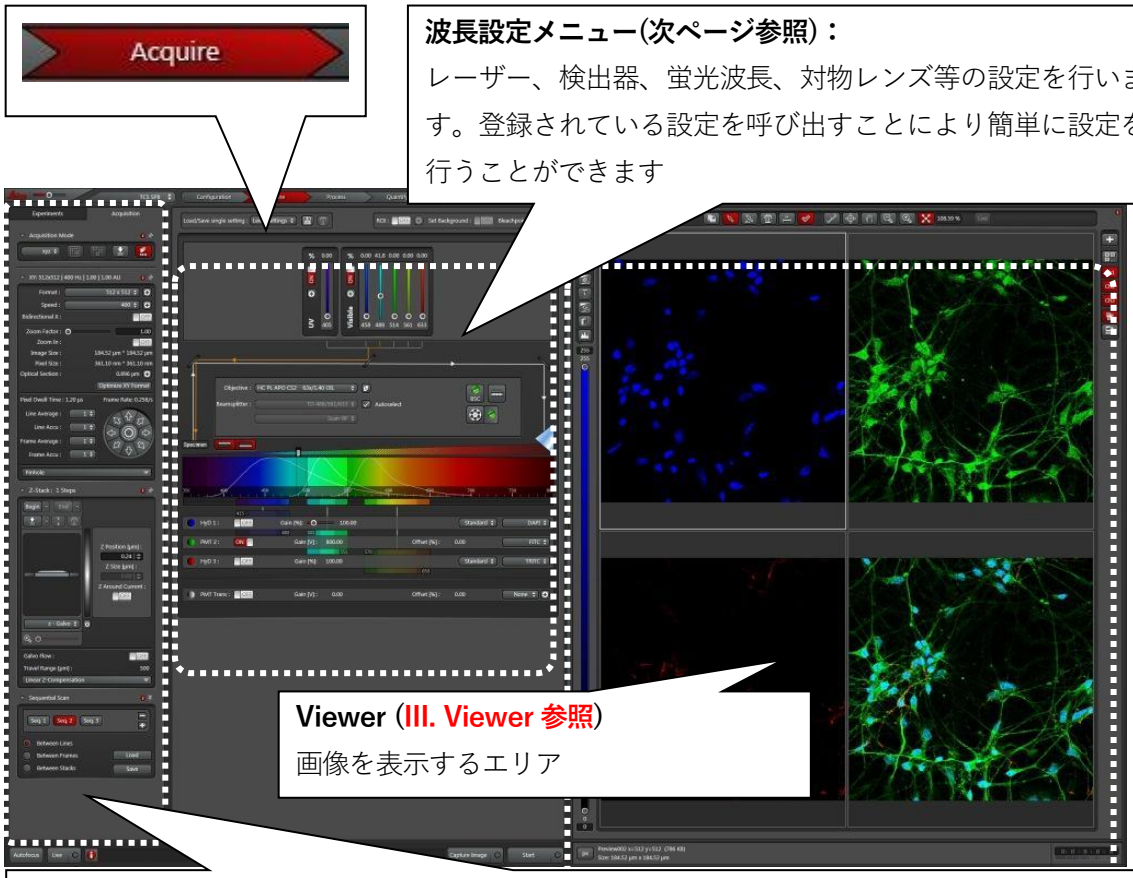
変更する場合は  Configuration メニューから 「Hardware」を選択すると、下記画像が表示されます。「Bit Depth」から、8、12 または 16 bit を選択します



## II. 画像取得

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| レーザーの起動など各種設定画面 | 画像の取得設定および操作画面 | 画像処理画面 | 長さ、輝度、面積、Colocalization 等の定量化画面 | 解析メニュー（オプション） |

**起動時は Acquire メニューが選択されています**




**Acquisition/Projects タブを切替えて使用**

**Acquisition**：画像取得条件設定画面

画素数、ズーム、Z の設定等の画像取得の詳細設定を行います

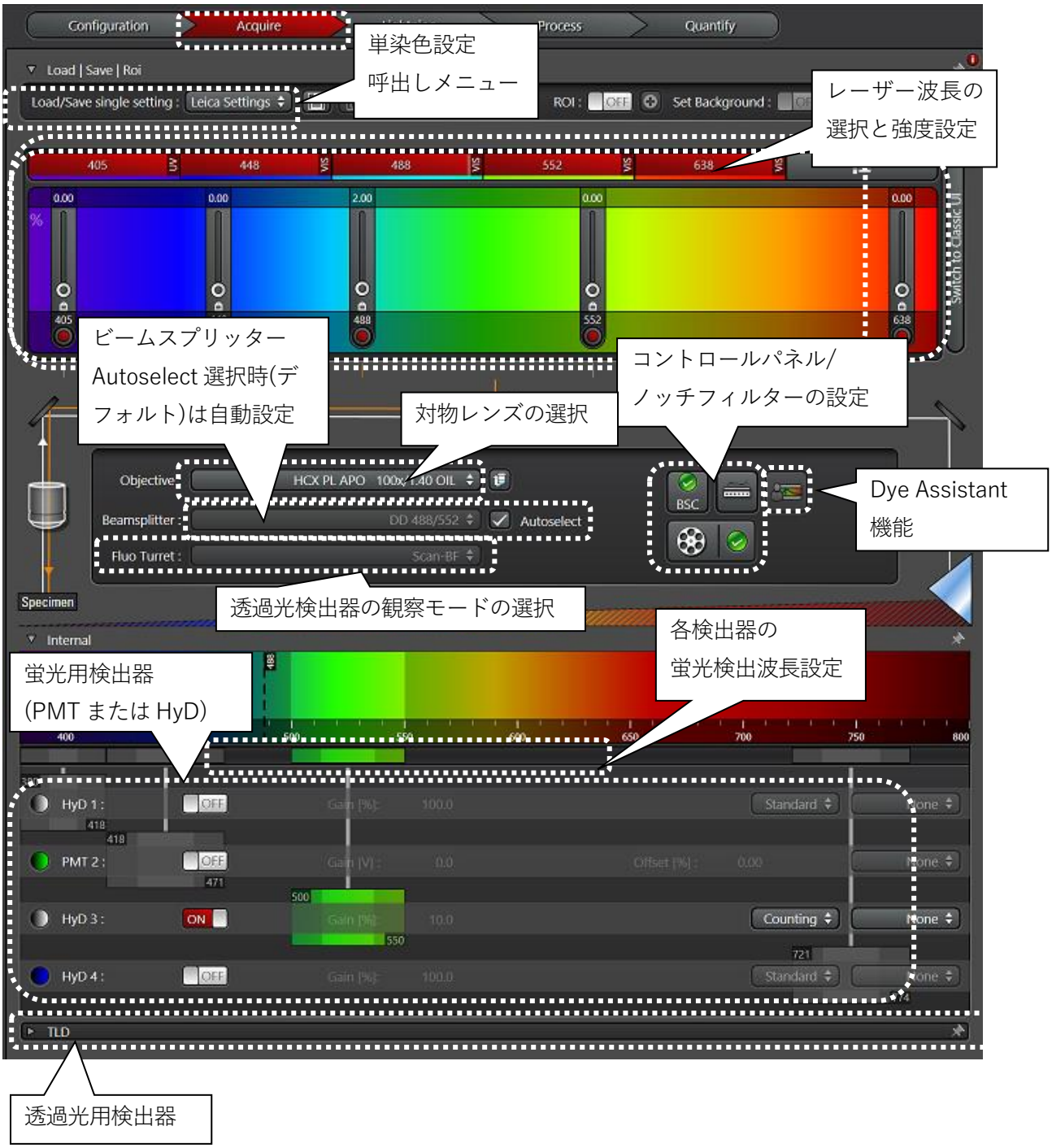
**Projects**：画像表示・選択スペース

Capture Image ボタンまたは Start ボタンで取得した画像データが一時保存されます。必要に応じて保存作業を行います

## II-1. 波長設定メニュー

レーザー、検出器、蛍光波長、対物レンズ等の設定を行います

下記様々のパラメーターは、登録済みの設定を呼び出すことにより簡単に再現することができます



## II-2. 対物レンズの選択

下記画像のように対物レンズをクリックすると、搭載されているレンズがプルダウンメニューで表示されます(表示は使用により異なります)

## II-3. 染色設定の Load

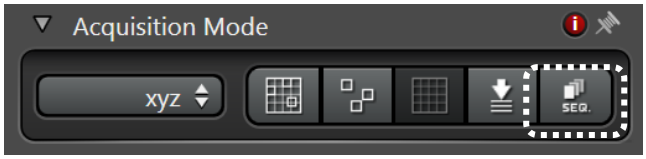
### II-3-1. 単色の場合

「Load/Save single setting」から観察する色素に最も近い色素のセッティングを選択します。(登録名と登録数は仕様により異なります)

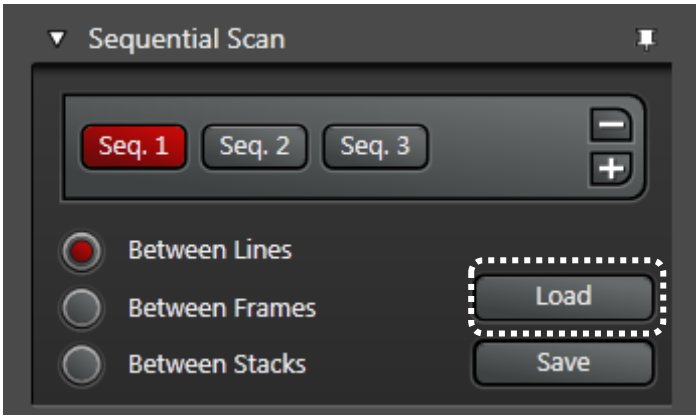
| | |
|---|---|
| DAPI： | UV 励起、青蛍光観察（DAPI、Hoechst など） |
| FITC： | 青励起、緑蛍光観察（Alexa488、Cy2、GFP など） |
| TRITC： | 緑励起、赤蛍光観察（Alexa555,568、Cy3、DsRed など） |
| Cy5： | 赤励起、近赤外蛍光観察（Alexa633、647、TOTO3、TOPRO3 など） |

### II-3-2. 多色の場合

1. 「Acquisition Mode」パネル内にある「SEQ」ボタンをクリックします



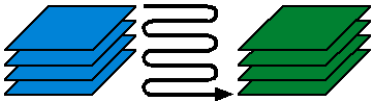
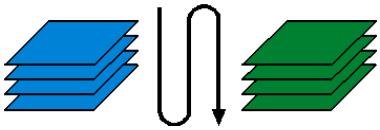

2. 「Sequential Scan」パネルが画面左下に表示されます
Load ボタンを押すと多重染色の設定を呼び出します



3. 染色の数に応じて Seq ボタンが表示されます

Seq 番号ごと(Seq 1 など)に、励起パワー・感度などの設定を行います

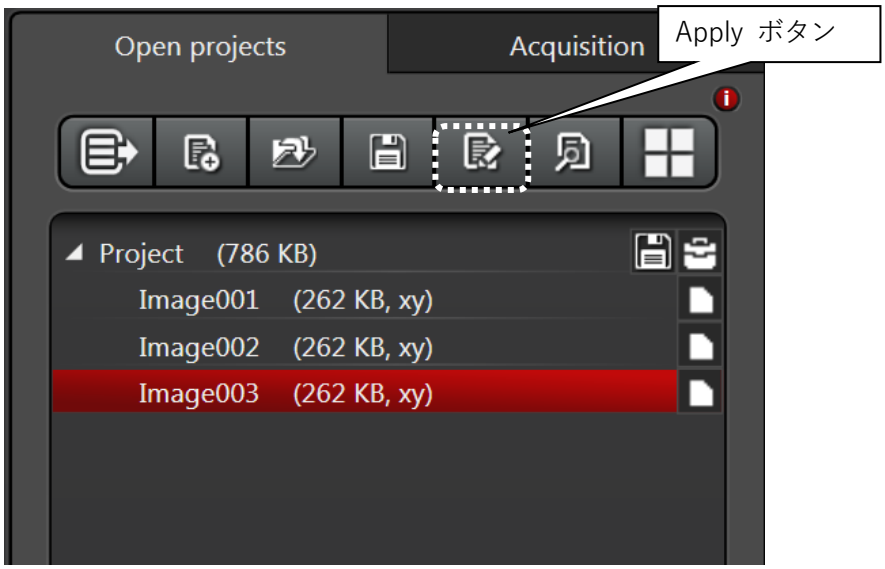
Sequential mode には以下の 3 つのモードがあります

| | | |
|---|---|---|
| Between Lines<br>*Seq 毎に Line 単位で取得 | | Seq 間で時間差がほぼ無い<br>Live 観察のときに有効<br>ほぼ同時に多重染色検出を行うので、Seq の数だけ検出器が必要です |
| between frames<br>*Seq 毎に 1 画像単位で取得 |  | Seq 間で時間差がある<br>(固定サンプルなどでは問題無い)<br>Seq 間に 1 画像分の時間差があるため、検出器が 1 つでもあれば多重染色の検出ができます |
| Between Stacks<br>*Seq 毎にスタック単位で取得 |  | Z-Stack 間で時間差がある<br>Seq 間に 1Z-Stack 分の時間差があるため、検出器が 1 つでもあれば多重染色の検出ができます<br>また、Seq 間の時間差が大いが、全体の取得時間は短縮されます |

## II-3-3. 取得済みデータからの設定の Load

取得済みのデータから、データ取得時の条件を呼び出すことも可能です

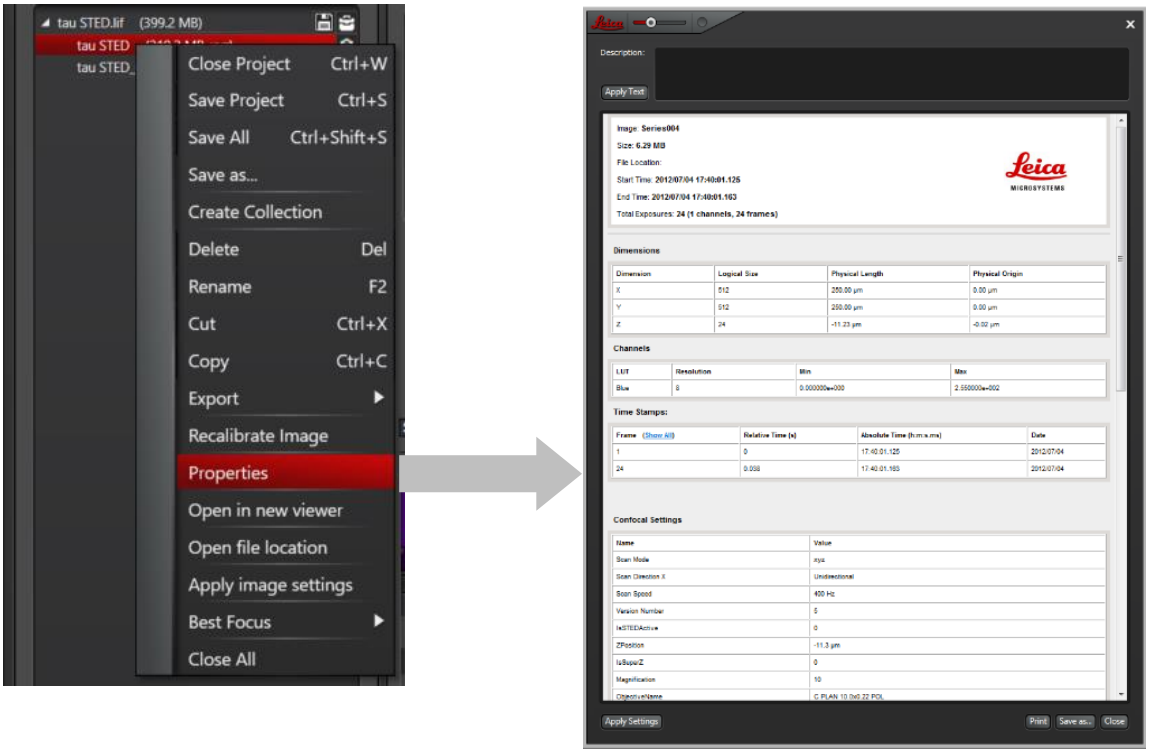
Open projects タブ上で目的のデータを選択し、Apply ボタンを押すと、画像取得時の励起波長および蛍光波長設定が呼び出されます



## 画像取得条件の確認

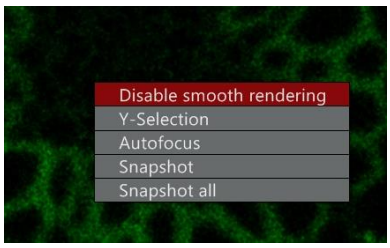
画像取得条件を確認したいデータを選択し、右クリック、“Properties“を選択するとウインドウ(右下図)が開きます

画像取得時の設定を確認することができます




## Smooth Rendering 表示について

Smooth Rendering 表示がデフォルトになっています。ディスプレイ(画像)上で右クリックし、Disable smooth rendering を選択すると、Raw データ表示になります



## II-4. 画像の調整

画面左下の

をクリックすると Live Scan が始まります

画像を見ながら、励起レーザーパワーと検出器の感度の調整を行います

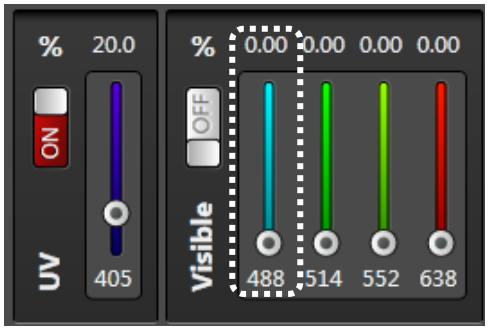
＊退色に注意しながら Scan はこまめにストップするようにしてください

Preview 画像のため、保存することができません

### II-4-1. レーザーパワーの調整

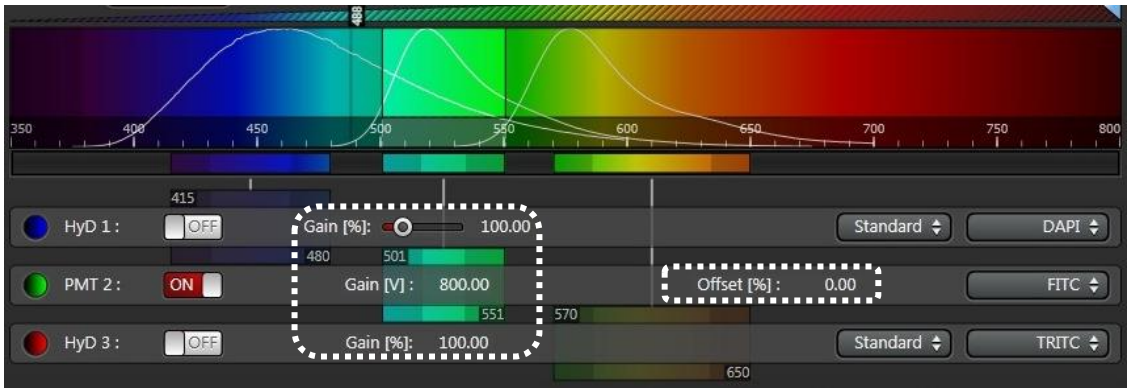
レーザーパワーを変更したい Seq を選択した状態で退色に注意しながら、各レーザーのパワーを調整します

スライダー移動または数値入力(数字部分をダブルクリック)




### II-4-2. 感度(検出器)の調整

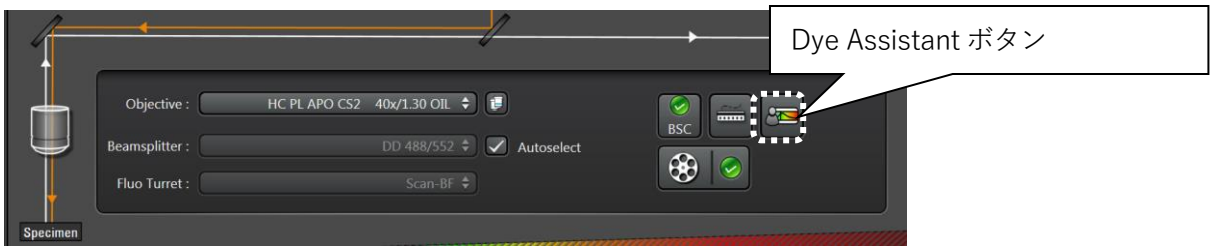
ソフト上からの調整：Gain、Offset 部分でスライダー移動または数値入力（HyD の Offset は無効）



## II-5. Dye Assistant 機能

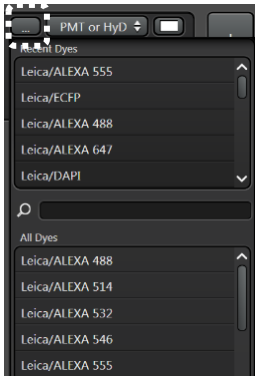
試薬名と使用する検出器(HyD、PMT など)を選択することで、簡単に画像取得設定ができます

1. 画面中央の Dye Assistant ボタンをクリックします




下図が表示され、+/-ボタンで撮影する色素の数の追加と削除ができます

2. 色素の選択を行います




色素選択ボタン(白点線部分)をクリックすると左記プルダウンメニューが表示されますので、撮影する色素を選択します

3. 画像取得設定を選択します

検出器選択ボタン(白点線部分)から検出器を選択すると、左図のように画像取得設定が提案されます

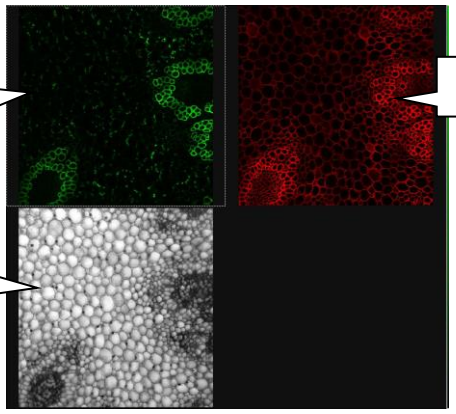
Apply したものが適用されます

＊Yield や Corsstalk を参考に選択してください

Gain が低いほど電気的ノイズが少なくなり、S/N の良い画像となります
目安として PMT で 800 以下、HyD で 100 以下が理想ですが、Gain 上げる場合は Averaging(平均化)で画質の向上を行います

| | PMT(従来型検出器) | HyD(高感度検出器) |
|---|---|---|
| Gain(検出器の感度。電圧)<br>**Gain の基準値** | 0-1250V<br>**800V** | 10-500%<br>**100%** |
| Offset(バックの明るさ) 基準値 | 0% | 機能無し |
| Photoncounting モード(光子計数法) | 機能無し | 機能あり |

コントロールパネルを使った検出器の感度設定方法



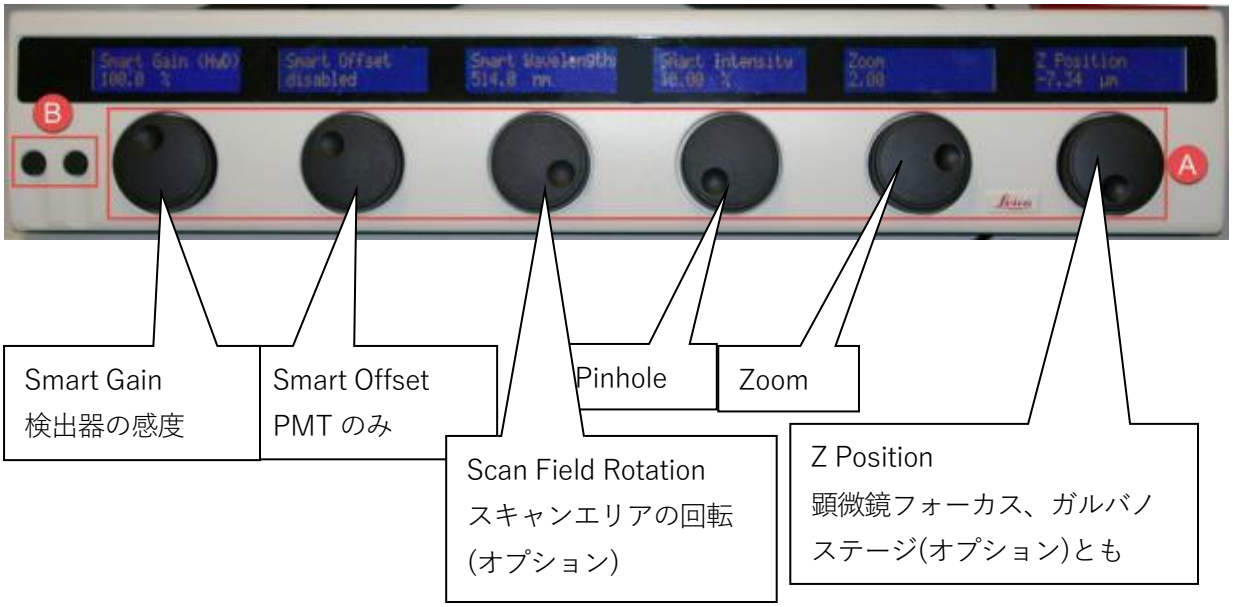

モニター上で、感度を変更したい画像(Ch.)をクリックし、コントロールパネルの Smart Gain、Smart Offset ダイヤルを操作します

SmartGain、SmartOffset 各ダイヤルで Gain 、Offset を調整します

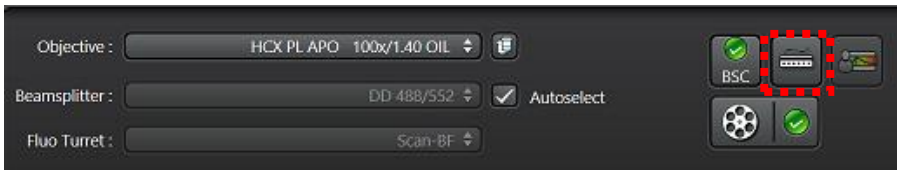
Smart Gain
検出器の感度

Smart Offset
(PMT の場合のみ)

**コントロールパネル(オプション)機能の初期設定**




機能の割り当ておよび 1 回転あたりの変化量は変更可能です。




上図赤枠部分をクリックすると、下図が表示されます

**サチュレーションとバックグラウンドレベルのチェック機能**

サチュレーション(感度オーバー)の有無及びバックグラウンドレベルのチェックは、Viewer にある

QLUT(QuickLookUpTable)ボタンで可能です。

QLUT ボタンを押すたびに表示色が一時的に下記のように変更されます。

Pseudo Color(緑、赤などの疑似カラー)

→Grow Over/Under(チェック用カラー)

→Gray(白黒)

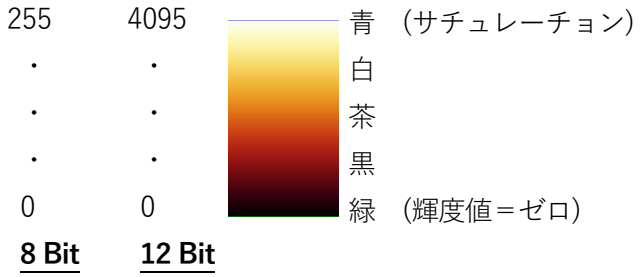
→Pseudo Color

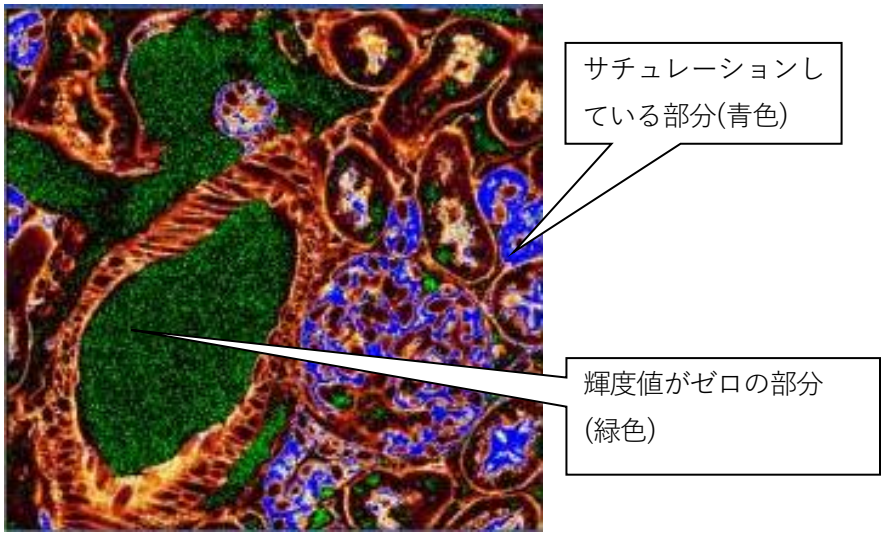
Grow Over/Under は、表示階調の最小値以下または最大値以上の時に緑または青で表示し、その間を黒から白で表示します(8 Bit(256 階調)の場合は、0 は緑、1-254 を黒から白、255 以上を青で、12 Bit(256 階調)の場合は、0 は緑、1-4094 を黒から白、4095 以上を青で表示します)。

青表示はサチュレーションしている部分を、緑表示は輝度値がゼロの時に表示されます

感度を調節する際に、この青や緑がなくなるように感度の設定を行うと、適正感度の画像が得られます

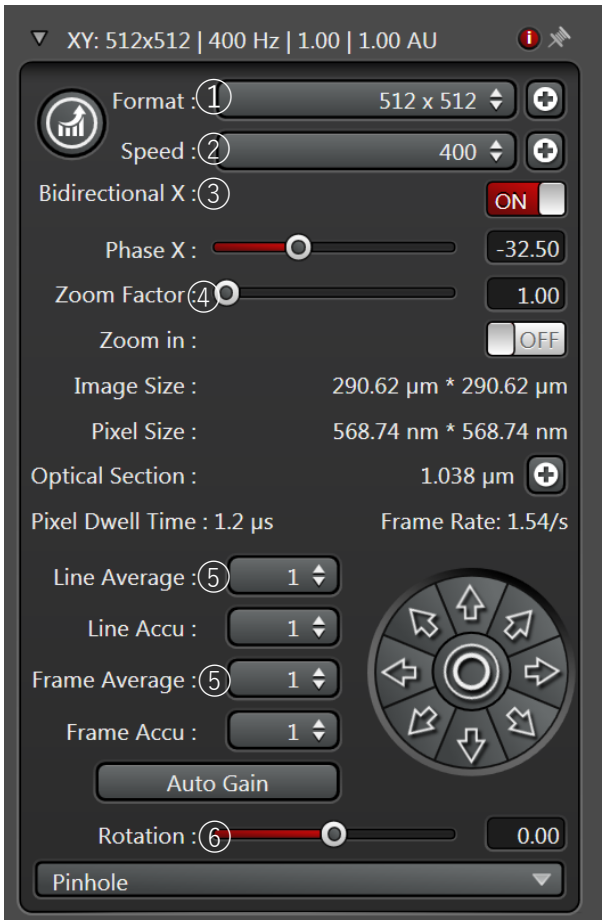
＊取得画像左側のバーを操作することで、緑または青で表示する閾値を変更することができます



## II-6. 画像の画素数、取得速度、ズーム倍率などの設定

必要に応じて、画素数(Format)、取得速度(Speed)、ズーム倍率(Zoom Factor)を変更します。取得速度を遅くする程、画像の S/N が上がります。ズーム倍率を上げるとレーザー照射が集中するため、退色等のダメージにご注意ください




①画像の画素数を設定します
数値(512x512)部分をクリックすると表示されるプルダウンメニューから選択できます。また数値の右、⊕をクリックすると任意の Format を設定できます
＊縦長の Format は設定できません

②画像の取得速度を設定します
数値(400)部分をクリックすると表示されるプルダウンメニューから選択できます。また数値の右、⊕をクリックすると任意の速度を設定できます

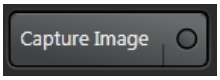
③双方向スキャンが行えます(デフォルトは OFF)

④ズーム倍率を変更できます(コントロールパネルからも可)。Zoom in を ON にし、取得画像上でクリック&ドラッグすると、その範囲を取得します
＊取得範囲の形は Format に依存します
＊最小値は 0.75 ですが、画像の取得速度を速くする(601 Hz 以上)と、自動的に Zoom がかかります

⑤画像の平均化回数を設定します
数値部分をクリックすると表示されるプルダウンメニューから選択できます。平均化を行うと S/N が向上します
サンプルなどにより異なりますが、目安は検出器の感度が基準よりも高い場合は 3 以上、基準以下の場合は 2 回程度(感度が低くなると、ノイズが減るため)

⑥画像の取得範囲を回転することができます

**XY 画像(1 枚)を取得する場合**




ボタンをクリックします。

取得画像は Open Projects タブ内に Image~などの名称で一時保存されます

## HyD (Hybrid Detector)について オプション

従来型検出器(PMT)と比較して感度や S/N が高く、検出器由来のノイズが低いという特徴があります
またフォトンカウンティング機能(光子計数法)も使用できます

注意)
・携帯電話、モバイル機器等から発信される電磁波を画像上でノイズとして拾う可能性があります
電磁波を発信する機器はスキャナーから 1 m以上離して置いてください
・強いシグナルに対しては自動的にシャッターが閉じる仕組みになっています
シャッターが閉じたときは励起光が強すぎることを意味しますので、励起パワーを落として試してください

### 取り込みモード

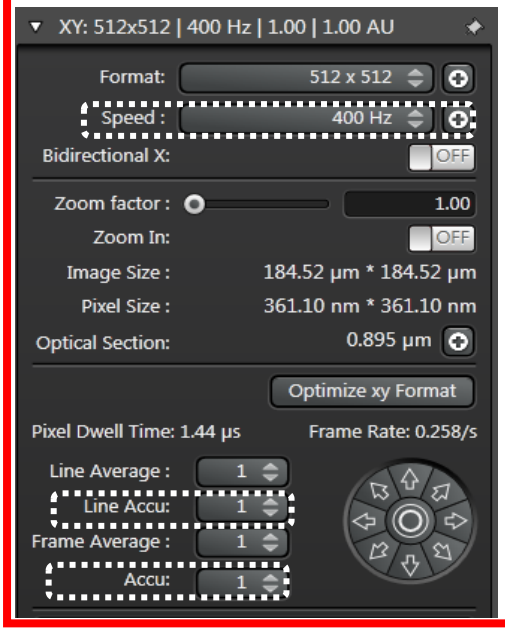
HyD には以下の 3 つのモードがあります。

・**Standard**：PMT とほぼ同じ使用法で使えるモードです(デフォルト)
・**Counting**：得られた光子の数を輝度値として表示するフォトンカウンティング機能を使用するモードです
・**BrightR**：ダイナミックレンジを広げて取るモードです
暗い部分がより明るくなり、一方で明るい部分をサチュレーションさせずに表示することができます

HyD のモード選択

### Counting モードを使用した画像取得方法

Standard モードよりも画像取得に時間がかかる場合がありますが、検出器由来のノイズが Standard モードより少ないため、画質が向上します。さらに、フォトンカウンティング機能を使用するため定量性も上がります。輝度値を ASCII ファイルへ出力することも可能です



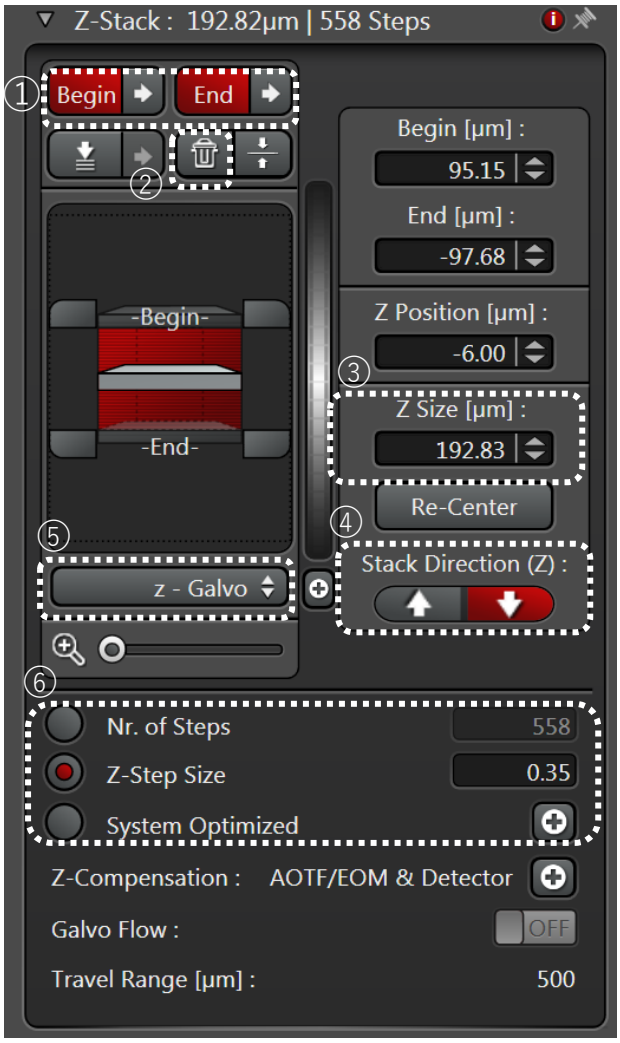

Counting モードのポイント
■Gain は 10%で固定
■Standard でレーザーパワーの設定を行う
(Counting にしたあとも変えない)
■明るさの調整は下記 2 通りの

**①画像取得速度を遅くする(FOV スキャナーのみ)**
Speed を遅くすると、Pixel 当たりのレーザーが滞在する時間が長くなり、光子数が増えます

**②Accumulation(シグナルの積算)を行う**
検出された光子数を輝度値として表示するので、シグナルの積算を行います
Line、Frame 共に 16 回まで可能

## II-7. Z stack 取込の設定

Live ボタンでスキャンをしながら、顕微鏡のフォーカスまたはコントロールパネル(オプション)のダイヤルでフォーカスを動かし、スキャン開始位置で「Begin」、終了位置で「End」ボタンをクリックして登録します




1. 撮影範囲の指定

撮影範囲の上下位置で①Begin または End をクリックすると位置が登録され、Begin から End までの距離は③Z Size に表示されます

＊どちらから取り始めるかは④Stack Direction (Z)で変更できます

＊登録した Begin と End の位置は②から削除できます

＊Z 方向の操作方法には Z-Galvo と Z-Wide の 2 つがあります(次ページ参照)

2. 撮影枚数の決定

⑥で撮影枚数決定方法を選択します。以下の 3 つがあります

Nr. of Steps：撮影枚数

Z-Step Size：撮影間隔

System Optimized：対物レンズと Pinhole size を参考に Z 方向の分解能を最も表現できる撮影間隔

Begin から End までの距離は決定されていますので、撮影枚数と撮影間隔のどちらかを設定すれば、もう一方は一義的に定まります

3. 画像の取得

ボタンをクリックし、画像の取得を行います

＊取得画像は Open Projects タブ内に Series~の名前で一時保存されます

＊画像取込中は、顕微鏡および除振台に触れないようにご注意ください

＊Capture をクリックすると現在 Z 位置の画像を 1 枚とるだけです

## z-Galvo と z-Wide の選択

Z 方向の駆動方法にはスーパーZ ガルバノステージを動かす z-Galvo と対物レボルバーを動かす z-Wide の 2 種類があります

■z-Galvo(オプション)

ステージだけを動かして撮影するモードです。そのため z-Galvo 選択時は、Begin と End 設定中コントロールパネルの Z position からのみ操作してください

＊Begin と End 設定中に対物レボルバー(顕微鏡本体やスマートムーブの Z position)は操作できますが、その Z 位置の変化は認識されないため、操作をしないでください

■z-Wide

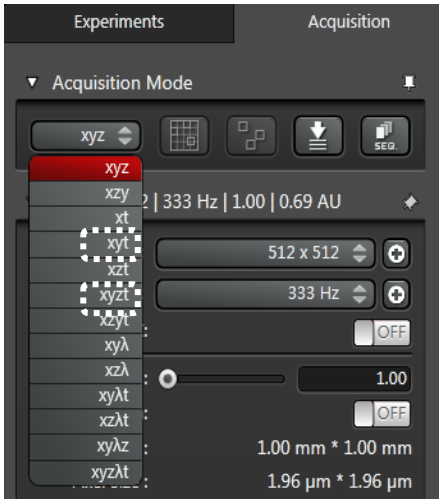
対物レボルバーを動かして撮影するモードです。顕微鏡本体やスマートムーブの Z、コントロールパネルの Z position のどれを使っても設定できます

＊コントロールパネルの Z position は z-Galvo または z-Wide のどちらかを選択すると自動的にステージまたは対物レボルバー操作に切り替わります

**Z position**
Z 位置を調整

## II-8. タイムラプスの設定

1. 撮影モードの選択



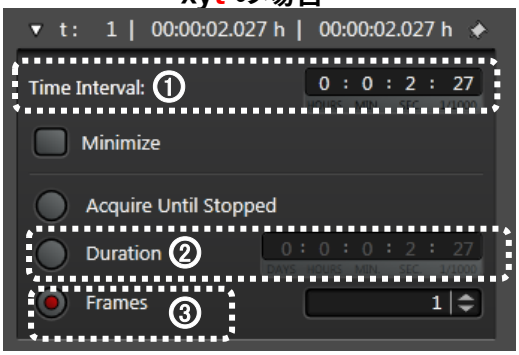

Acquisition Mode から xyt または xyzt を選択します

**xyt** ：XY 画像のタイムラプス

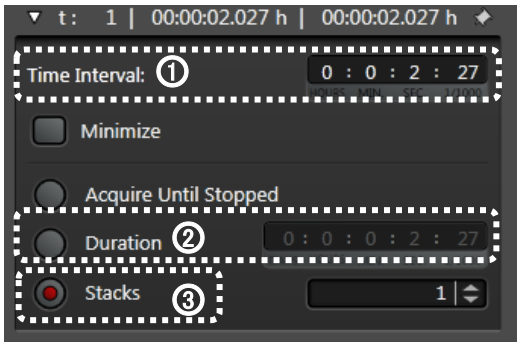
**xyzt**：XYZ 画像のタイムラプス

選択に応じて、パネルが開きます(xyt：左下図、xyzt：右下図)

**xyt の場合**




**xyzt の場合**




2. ①撮影間隔を設定します

＊撮影開始から次の撮影開始までがインターバルです(撮影終わりから次の始まりまでではありません)

＊Minimize を選択すると最小間隔で撮影できます

3. ②合計画像取得時間または③撮影繰返し回数を設定します

＊撮影間隔は 2 で決まっているので、合計画像取得時間と撮影繰返し回数のどちらかを決めれば、もう一方は一義的に決まります

＊Acquire Until Stopped では Stop を押すまで撮影し続けます

＊xyt の場合は Frame、xyzt の場合は Stacks と表示されます

4.

Start ボタンで取込を開始します

＊取得画像は Open Projects タブ内に Series~の名前で一時保存されます

＊画像取込中は、顕微鏡および除振台に触れないようにご注意ください

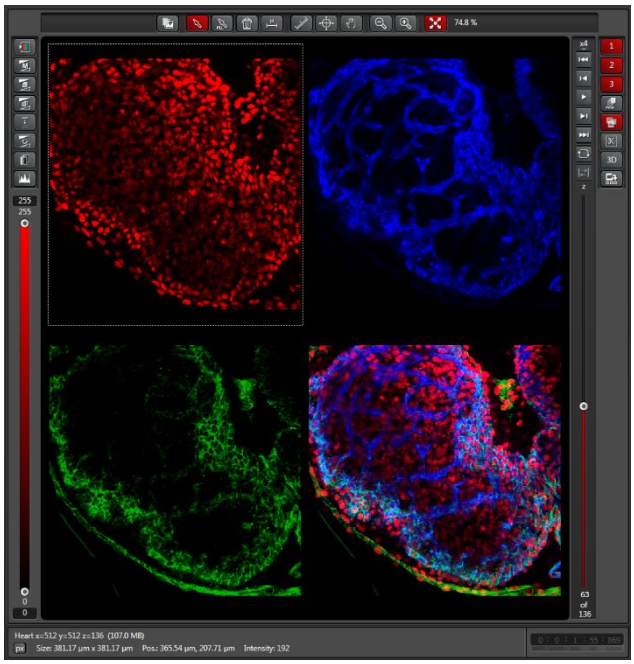
## III. Viewer

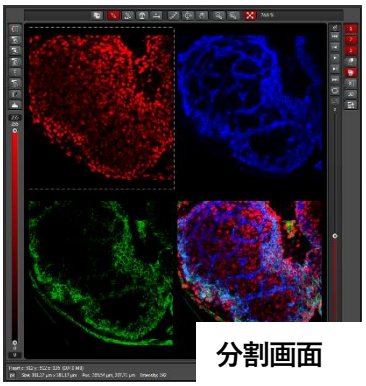
### III-1. Viewer

画像が表示されているウインドウを指します

画像の左右にあるボタンで、取得した画像の表示方法の変更などを行います

取得後の画像の色を変更する場合はカラーバーをダブルクリックして LUT 設定の中から色を選択します。



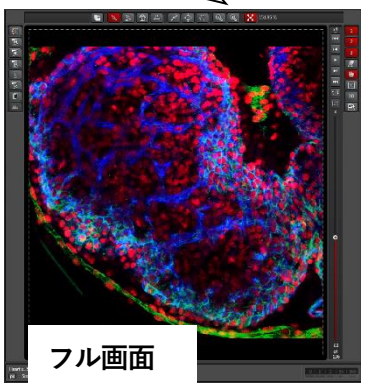


分割画面

画像上でのダブルクリックで

**分割画面⇔フル画面**

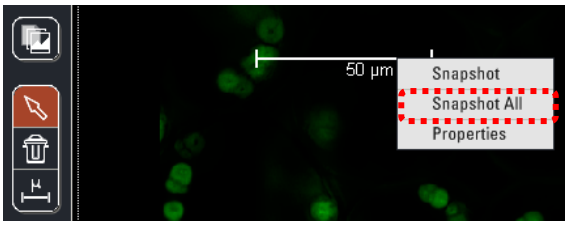
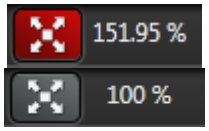
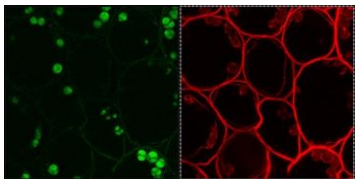
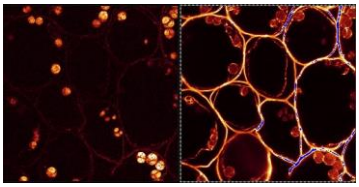
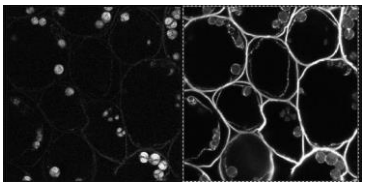
の表示を切り替えられます。

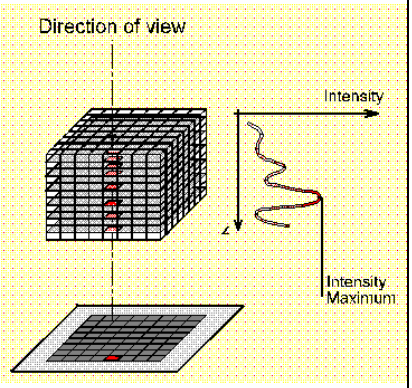
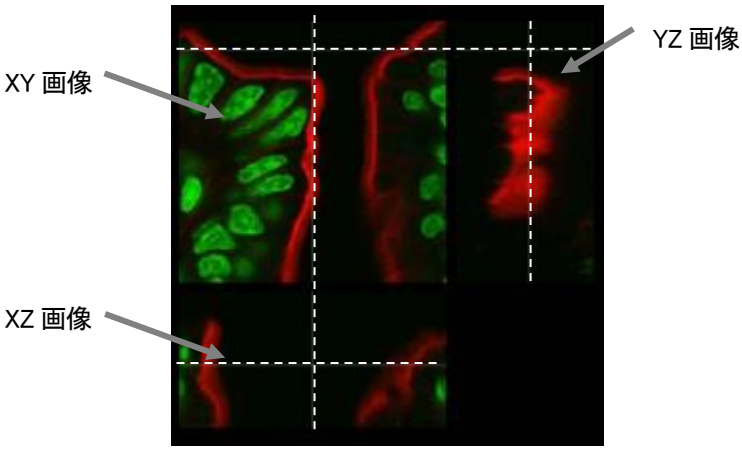


フル画面

## III-2. Viewer ボタン

(詳しくは Advanced 編を参照ください)

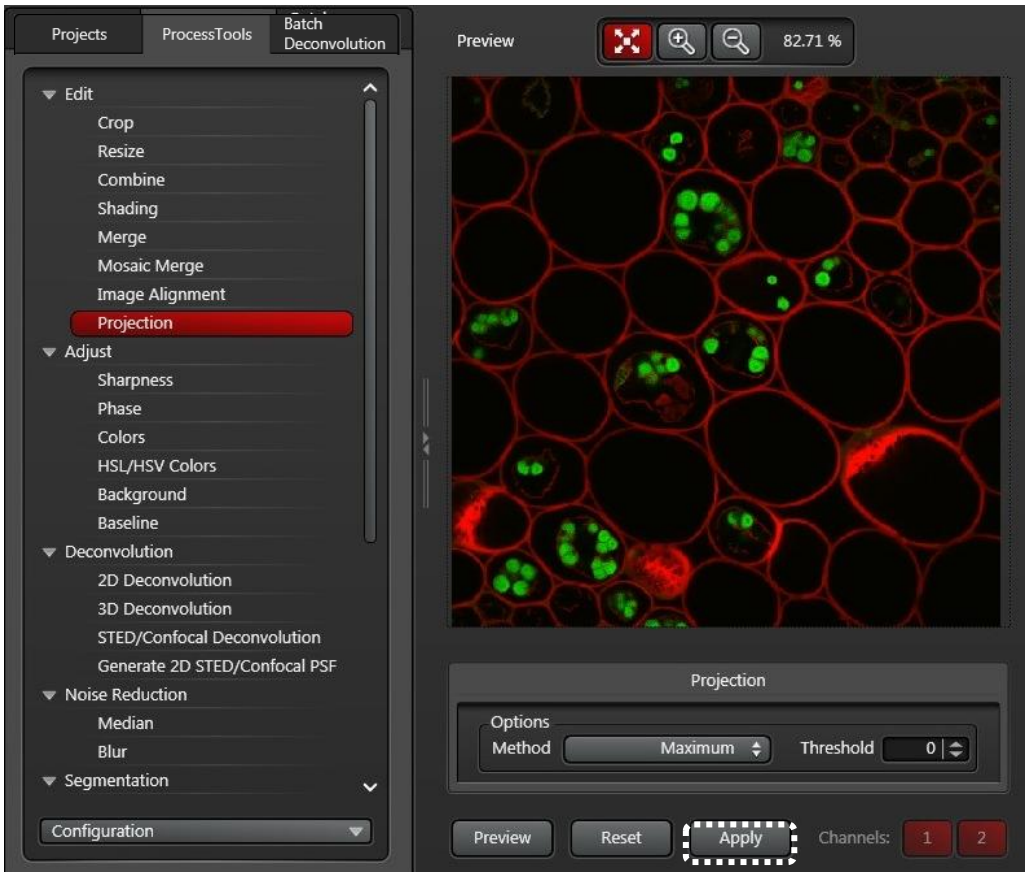
| | |
|---|---|
| | 挿入した注釈を選択し、移動できます |
| | 選択した注釈などを削除します |
| | スケールバーを挿入します<br> ボタンでスケールを選択し、右クリック、“Properties”から任意の長さ、角度や色に変更することができます<br>  |
|  | 最大画面表示ボタン<br>ON で最大画面表示、OFF で Pixel 等倍表示(ディスプレイの Pixel)<br>デフォルトは ON |
| | Quick Look Up Table ボタン<br>Pseudo color → Grow Over/Under → Gray と表示が変わります<br>  <br>**Pseudo color**<br>  <br>**Grow Over/Under**<br>青色：サチュレーション<br>緑：輝度値 0<br>  <br>**Gray** |

| | |
|---|---|
| | Overlay 表示/非表示切替ボタン<br>複数チャンネルでの取り込み(多重染色)のとき使用出来ます<br>重ね合わせ表示/非表示を切替えます |
| | Maximum projection ボタン<br>連続断層像の画像の重ね合わせを行います<br>＊連続断層像方向に最高輝度のシグナルのみをつなぎ合わせて１枚の画像を合成します<br>＊プレビュー画像です<br>保存する際は次ページ参照<br>  |
| | Orthogonal Sectioning<br>３D データの XZ、YZ 断面を表示します<br>プレビュー画像<br>  |
| | ３D 構築ボタン<br>XYZ データが選択されている状態でこのボタンが表示されます<br>ボタンを押すと、別ウインドウで 3D 画面が表示されます |

## III-3. Maximum Projection 画像の作成

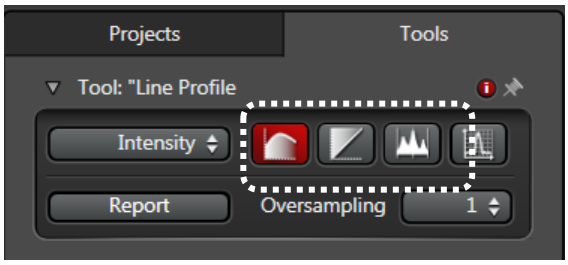
Process メニューの中の「Process Tools」から「Projection」を選択してください。

「Apply」ボタンをクリックすると、Maximum Projection 画像が Projects タブに作成されます。



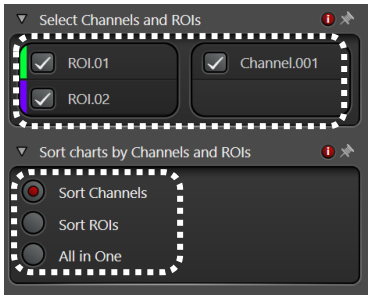
## IV. 輝度測定 Quantify メニュー

ROI 中の輝度や面積などのグラフ表示および統計処理を行うことができます



上記タブでグラフと統計情報表示を切替えることができます

| | |
|---|---|
| Line | Line Profile：作成した線上の輝度をグラフ表示します<br>縦軸は蛍光強度、横軸は線の位置 |
| Stack | Stack Profile：作製した ROI 中の輝度をグラフ表示します<br>縦軸は蛍光強度、横軸は Z の場合は高さ、タイムラプスの場合は時間 |
| Histogram | Histogram：作製した ROI 中の輝度分布をグラフ表示します<br>縦軸は頻度、横軸は蛍光強度 |

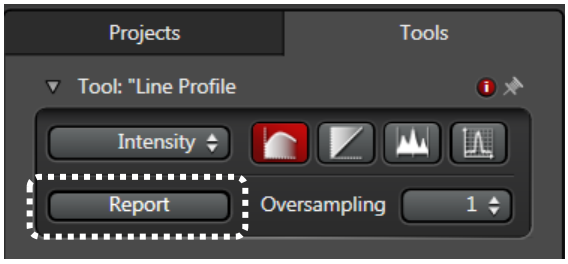



Select Channels and ROIs からグラフまたは統計表示する項目を選択できます

Sort charts by Channels and ROIs から表示方法を変更できます
それぞれ Channel ごとに、ROI ごとに、まとめて 1 つに表示

### XML 形式での出力

Report ボタンで測定結果を.xml 形式で出力が可能です

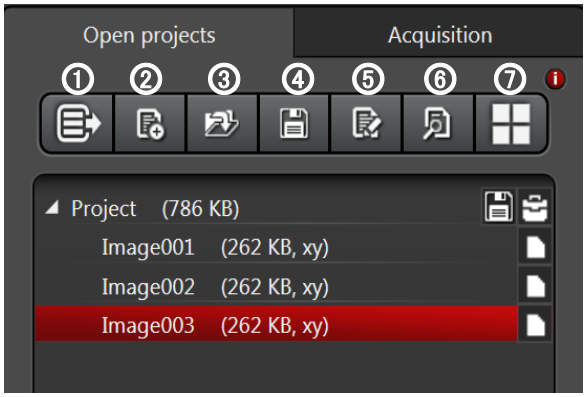



測定後 Report ボタンを押します
＊保存データには画像だけでなくグラフの csv ファイルも含まれていますので、エクセルによる再処理が可能です

## V. 画像データの取扱

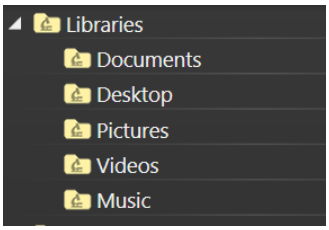
### V-1. Tool Bar

取得画像は「Open projects」タブで見ることができます




① Show Folder Tree

保存されているデータを下記画像のようにフォルダツリー表示切替えできます




② New

新規 Project の作成

③ Open

保存されているデータの呼び出し

＊データの呼び出し中に撮影を行わないでください

④ Save

Open Project で開かれているすべてのデータを保存します

⑤ Apply

選択しているデータの撮影時の設定を呼び出します

⑥ Browse

保存されているデータをブラウザ表示します

⑦ Show image galley

選択した Project 内の画像をギャラリー表示します

### V-2. 保存方法

各画像は Project に紐付けされて一時保存されており、 をクリックし保存すると Project 単位で.lif 形式(Raw データ)で保存されます(保存されると は消えます)

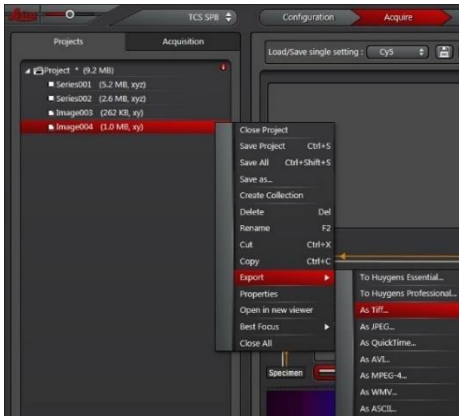
＊明るさの変更などデータの追加・更新があると が再度表示されます(クリックすると上書き保存されます)

＊別ファイルで保存する場合は、上記 New ボタンで新規 Project を作成し、取得済みのデータを Copy&Paste または Cut&Paste し保存作業を行ってください

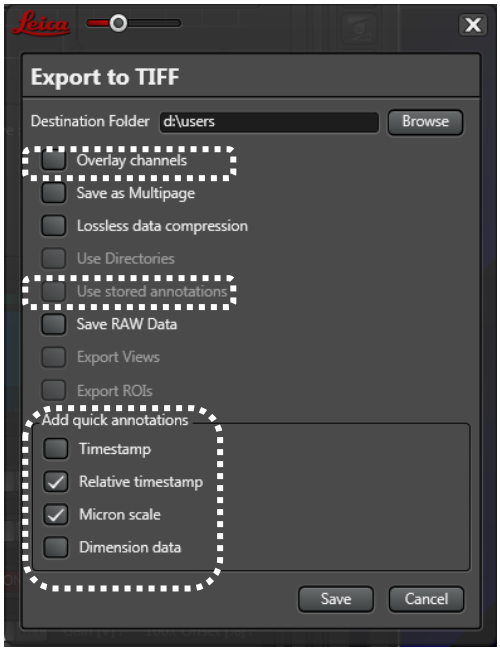
＊撮影したデータは選択されている Project に紐付けされます

### V-3. 汎用データへの出力

出力するファイル選択し、右クリック、「Export」からファイル形式を選択します
＊出力できる形式は Tiff、JPEG、Quick Time、AVI、MPEG-4、WMV です




下記画像が表示されます(TIFF の場合)
データの保存先を指定し、Save ボタンを押します




Overlay channels
チェックを ON で重ね合わせ画像を、OFF で単色の画像を保存します(両方必要な場合は ON・OFF2 回必要です)

Use stored annotations
スケールバーや ROI などを作成した場合、出力画像に表示した状態で出力できます

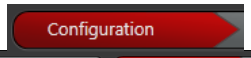
Add quick annotations
タイムスタンプ、スケールバー、Z 位置情報を入れた画像を簡単に出力できます

## V-4. 画像閲覧ソフト LAS X Small

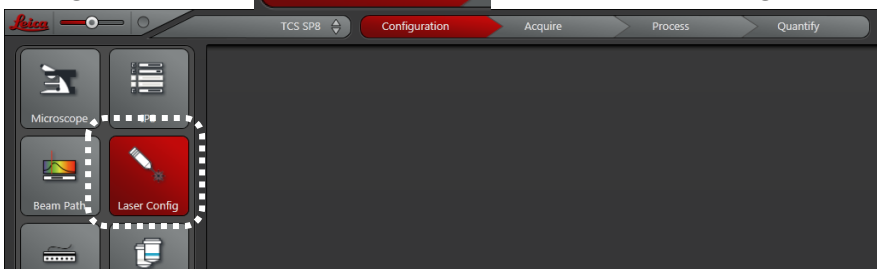
lif ファイルを開くことができるフリーのソフトです(Windows 用)
汎用ファイルへの出力、輝度調整、Quantify などが行えます
「LAS X Core」で検索し、「Download free LAS X Core Offline version for Life Science」をダウンロード・インストールしてください

## VI. Shut down

### 1. レーザーを OFF にします

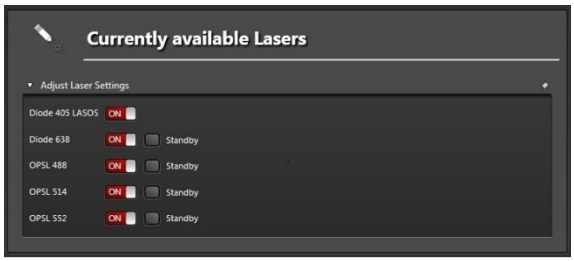
Configuration タブ 

を開き、Laser Config アイコンをクリックします




**CSU の場合**

シングルクリックでレーザーのスイッチを OFF にします



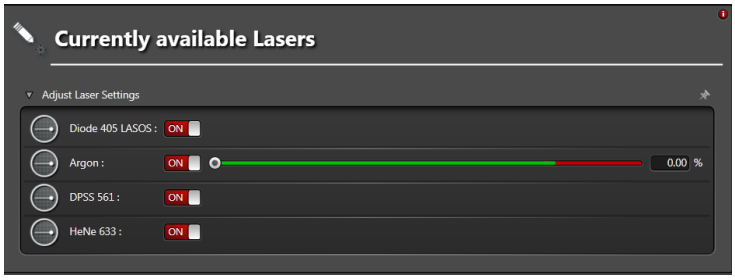

シングルクリックでレーザーのスイッチを OFF にします

＊ダブルクリックするとレーザーの ON/OFF を繰り返すことになり、故障の原因になります

**FSU の場合**

シングルクリックでレーザーのスイッチを OFF にします

Argon レーザーを使用していた場合はパワーを 0%に落としてからレーザーを OFF にします




＊WLL の場合はパワーを変更せずにレーザーを OFF にします。

＊ダブルクリックするとレーザーの ON/OFF を繰り返すことになり、故障の原因になります

**液浸(オイル・水・グリセリン)対物レンズのクリーニング**

液浸レンズは必ず使用後、金属部分も含めすぐにクリーニングしてください。
＊クリーニングには必ずレンズペーパーか綿棒を使用するようにしてください
キムワイプ、ティッシュはレンズを傷つける恐れがありますので、使用しないでください(金属部分は可)
＊特に倒立顕微鏡の場合はオイルがレボルバーへ垂れて故障の原因となる場合があります

**オイルレンズの場合**
まず乾拭きでレンズペーパーなどの使用面を変えながら拭き取ります
別のレンズペーパーなどにエタノールを染み込ませ、使用面を変えながら拭き取ります

**水浸・水没レンズの場合**
まず乾拭きでレンズペーパーなどの使用面を変えながら水を拭き取ります
別のレンズペーパーなどにエタノールを染み込ませ、使用面を変えながら拭き取ります

**グリセリンレンズの場合**
まず乾拭きでレンズペーパーなどの使用面を変えながらグリセリンを拭き取ります
レンズペーパーなどに水を含ませて 2−3 回、使用面を変えて拭き取ります
別のレンズペーパーなどにエタノールを染み込ませ、使用面を変えながら拭き取ります

## 2. ソフトウェア LAS X を終了します

必要なデータを保存したあと LAS X を終了します

＊PC を閉じるタイミングはいつでも構いません

## 3. 顕微鏡の電源を OFF にします

## 4. 水銀ランプの電源を OFF にします

＊水銀ランプの電源はいつ OFF にしても構いませんが、再点灯する場合は 15 分程度置いてください

## 5. 以降の操作は CSU と FSU で異なります

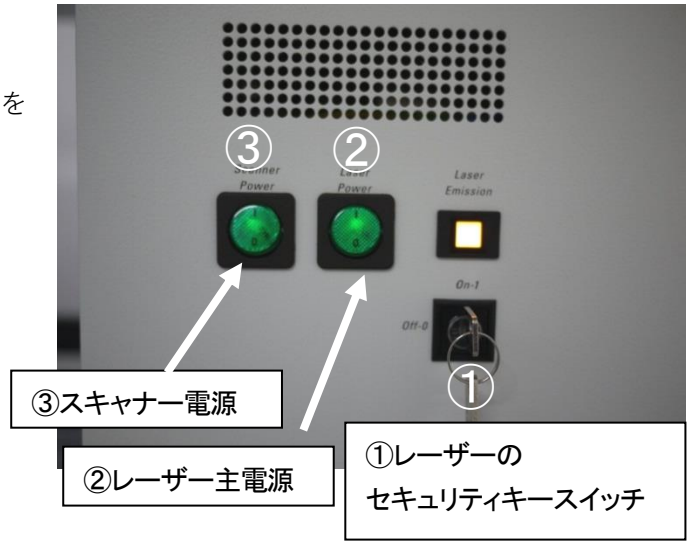
**CSU の場合**

①レーザーのセキュリティキースイッチを OFF にします

②レーザーの主電源を OFF にします

③スキャナーの電源を OFF にします

**以上で終了です**



**FSU の場合**

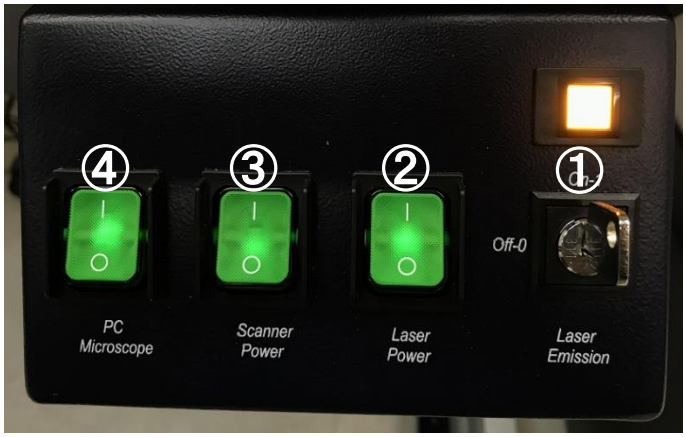
Argon レーザーを使用していた場合は冷却ファンが停止していることを確認後、①レーザーのセキュリティキースイッチおよび②レーザーの主電源を OFF にします

＊冷却ファンは LAS X を閉じてから 5 分程度経ってから、停止します

＊冷却ファンの停止前にレーザーの主電源を OFF にすると、故障の原因となります

③スキャナーの電源を OFF にします

④PC の電源を OFF にします

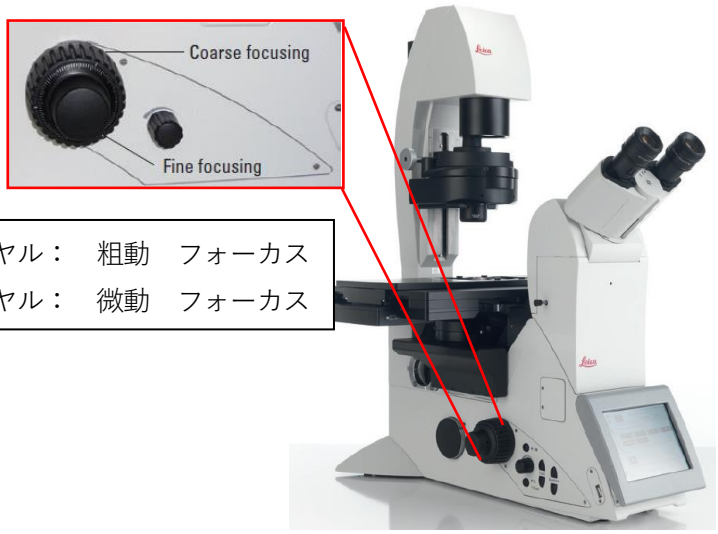



**以上で終了です**

## VII. 顕微鏡操作法

## DMi8

### 1. フォーカス調整および電動 XY ステージ操作



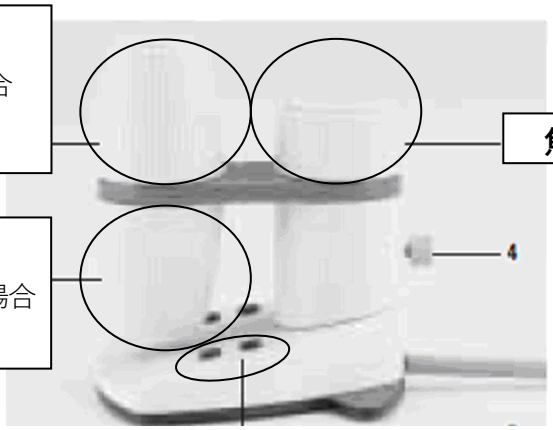

外側ダイヤル：　粗動　フォーカス
内側ダイヤル：　微動　フォーカス

スマートムーブ(オプション)

**X 移動**
(電動ステージの場合のみ)

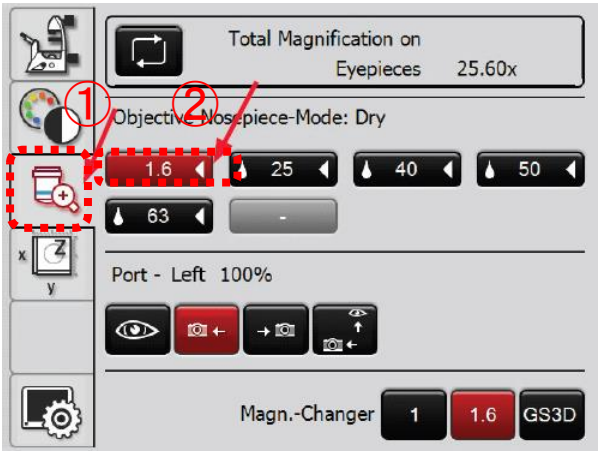
**焦点合わせ(Z 移動)**

**Y 移動**
(電動ステージの場合のみ)



**粗動・微動切替ボタン**
左側：XY ステージの粗微動切替　　右側：Z フォーカスの粗微動切替

## 2．対物レンズの交換

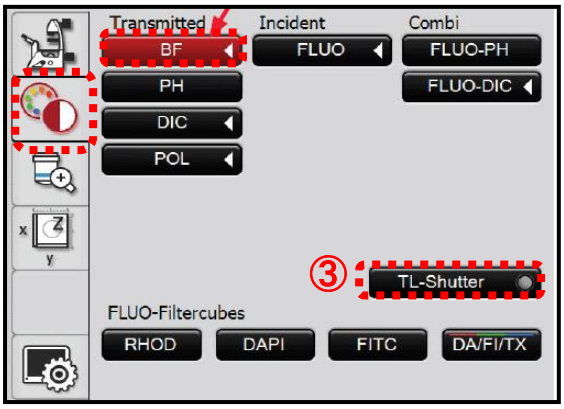



①タッチパネル左列から を選択します
選択されているレンズが赤く表示されます

②使用するレンズの倍率を選択します

のように倍率と液浸の場合は数値の左に水滴マークがつきます
＊液浸レンズ⇔ドライレンズの交換時は、選択したアイコンが点滅し、もう一度選択すると対物レンズが自動的に交換されます

## 3. 明視野観察の場合

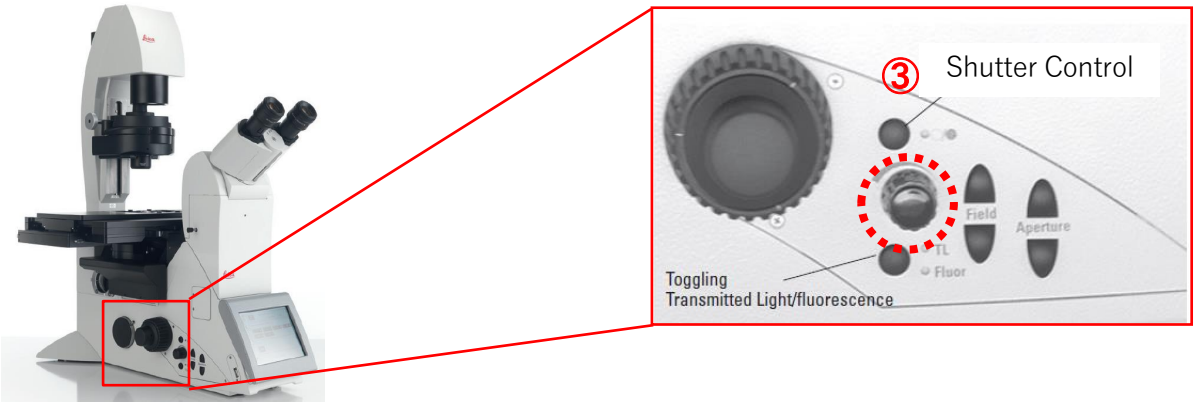



①タッチパネル左列から を選択します

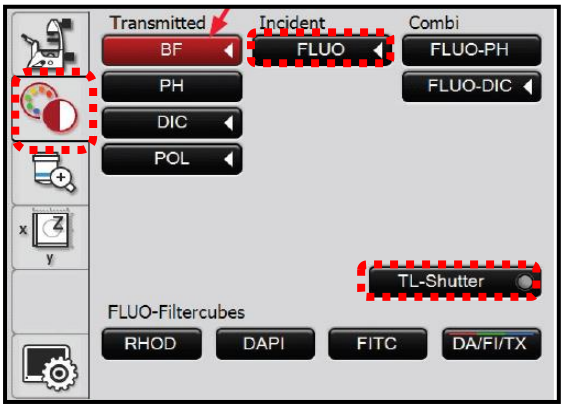
②BF を選択します

③TL-Shutter を選択し、Shutter の開閉をします
＊顕微鏡左側の Shutter Control ボタンでも Shutter 開閉操作ができます

④顕微鏡左側のダイヤルで明るさの調整をします



## 4. 蛍光観察の場合




①タッチパネル左列から を選択します

②FLUO を選択します

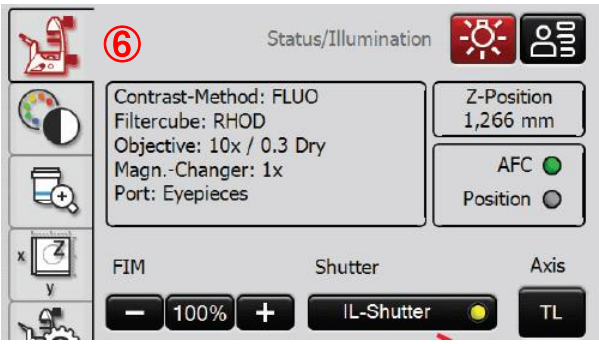
③FLUO-Filitercubes より蛍光フィルターキューブを選択します

④IL-Shutter で Shutter の開閉をします
＊顕微鏡左側の Shutter Control ボタンでも Shutter 開閉操作ができます

⑤顕微鏡左側のダイヤルで明るさの調整をします

蛍光フィルターキューブ特性

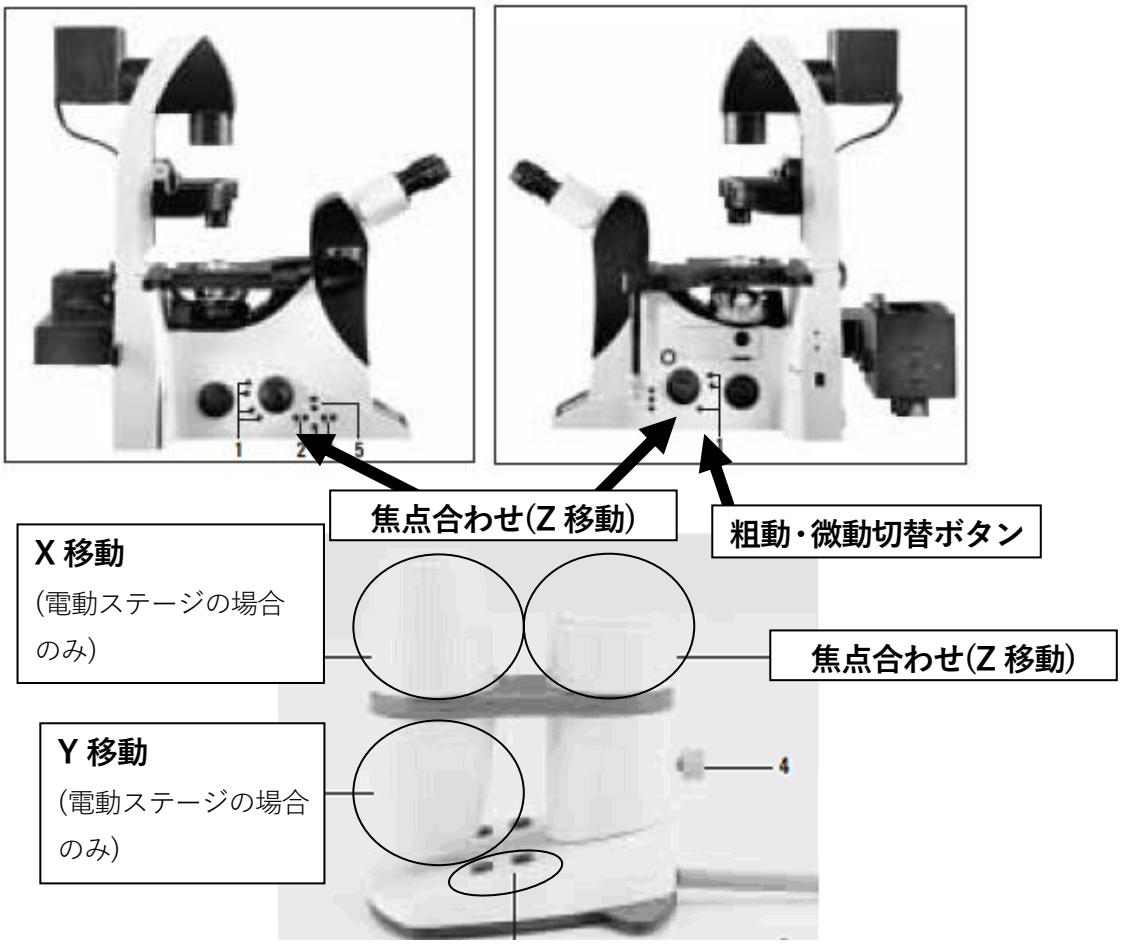
| フィルター名 | 代表的な色素 | 励起レンジ | 励起フィルター | Dichroic | 吸収フィルター |
|---|---|---|---|---|---|
| DAPI | DAPI など | UV | BP 350/50 | 400 | BP 460/50 |
| FITC | FITC など(バンドパス) | Blue | BP 480/40 | 505 | BP 527/30 |
| FITC LP | FITC など(ロングパス) | Blue | BP 470/40 | 510 | LP 515 |
| RHOD | Rhodamine など | Green | BP 515-560 | 580 | LP 590 |




⑥タッチパネル左列 を選択すると表示される FIM から励起強度を確認することができます(10、17、30、55、100%の 5 段階表示)

**DMI6000**

**1. フォーカス調整および電動 XY ステージ操作**



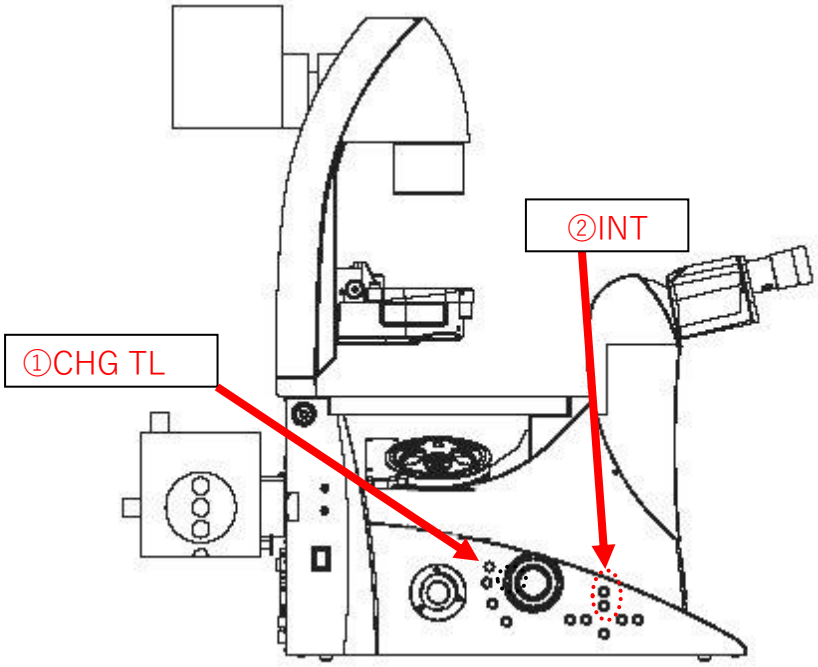

**粗動・微動切替ボタン**

左側：XY ステージの粗微動切替　　右側：Z フォーカスの粗微動切替

## 2. 明視野観察の場合

①顕微鏡左面奥にある CHG TL ボタンを押すとハロゲンランプが ON になります
このボタンを押すたびに以下の 3 モードが切り替わります
BF(明視野) → DIC(微分干渉) → DIC-POL(簡易偏光) →BF へ

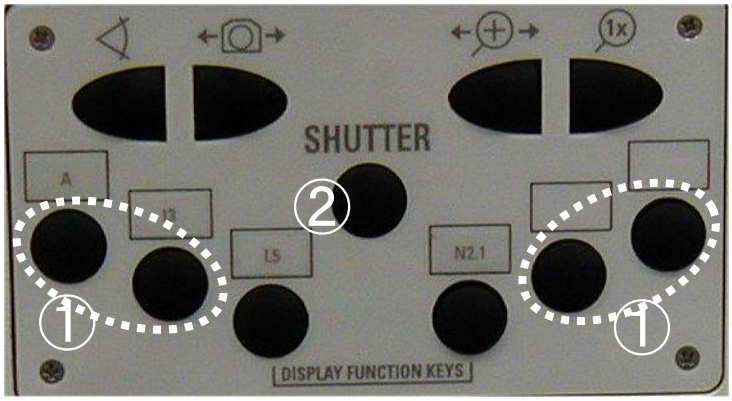
＜微分干渉(DIC)について＞
必要な全ての素子は対物レンズにあわせて自動選択されます
コントラスト調整は顕微鏡左側の対物レンズ下にあるダイヤルで調整します




②顕微鏡左面手前の INT ボタン(上下)を押してハロゲンランプの明るさを調節します
ハロゲンランプの明るさは、フロントディスプレイ INT にて確認できます
(明視野の場合は%ではなく 0-20 表示)

## 3. 蛍光観察の場合

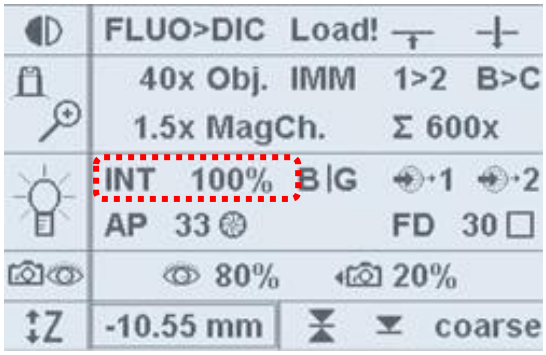
①顕微鏡前面の蛍光フィルターキューブ選択ボタンで蛍光フィルターを選択します。




②顕微鏡前面の SHUTTER ボタンで Shutter の開閉をします

③水銀ランプ光量調節は顕微鏡左面手前 INT ボタン(上下)で行います

＊水銀ランプの明るさはフロントディスプレイの INT で確認できます(10、17、30、55、100%の 5 段階表示)




**蛍光フィルターキューブ特性**

| ﾌｨﾙﾀｰ | 代表的な色素 | 励起ﾚﾝｼﾞ | 励起フィルター | Dichroic | 蛍光ﾚﾝｼﾞ | 吸収ﾌｨﾙﾀｰ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| A | DAPI など (ﾛﾝｸﾞﾊﾟｽ) | UV | BP360/40 | 400 | Blue～ | LP 425 |
| A4 | DAPI など (ﾊﾞﾝﾄﾞﾊﾟｽ) | UV | BP360/40 | 400 | Blue | BP 470/40 |
| I 3 | FITC など (ﾛﾝｸﾞﾊﾟｽ) | Blue | BP470/40 | 510 | Green～ | LP 515 |
| L 5 | FITC など (ﾊﾞﾝﾄﾞﾊﾟｽ) | Blue | BP480/40 | 505 | Green | BP 527/30 |
| N 2.1 | Rhodamine など (ﾛﾝｸﾞﾊﾟｽ) | Green | BP515-560 | 580 | Red | LP 590 |

## ライカ マイクロシステムズ 株式会社

本　　社　〒169-0075　東京都新宿区高田馬場1-29-9
Tel.03-6758-5640　Fax.03-5155-4336

大　阪セールスオフィス　〒531-0072　大阪府大阪市北区豊崎5-4-9 商業第2ビル
Tel.06-6374-9771　Fax.06-6374-9772

名古屋セールスオフィス　〒460-0003　愛知県名古屋市中区錦2-15-20 三永伏見ビル2F
Tel.052-222-3939　Fax.052-222-3784

福　岡セールスオフィス　〒812-0025　福岡県福岡市博多区店屋町8-30 博多フコク生命ビル12F
Tel.092-282-9771　Fax.092-282-9772

**●http://www.leica-microsystems.co.jp　E-mail: lmc@leica-microsystems.co.jp**


※この製品のデザインおよび仕様は改良などのために予告なく変更する場合があります