

**Stellaris5 の撮影方法に関する FAQ****Q.Stellaris5 での微分干渉の撮影方法を教えてください**

A.以下の方法で行ってください。

※10x レンズは微分干渉撮影不可(prism が無いため)

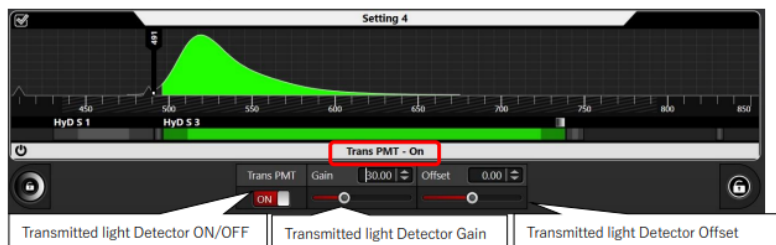
※蛍光画像の設定と撮影を行った後に設定してください

※例えば緑と併せて、赤と併せてなどそれぞれ撮影し、よりきれいに撮れた方を保存します。  
DAPI は光りやすいので一緒に撮った微分干渉像は暗くなりがちだそうです。

- 1.下画像のマニュアルの上部赤で囲んである Trans PMT の部分をクリックして on にする
- 2.Trans PMT の左下側の丸いアイコンがグレーになっていない場合グレーにする
- 3.Trans PMT 下側の Transmitted light Detector を ON にする
- 4.マニュアル画像中央の Fluo Turret を Scan-DIC にする(同時にマニュアル画像右下の Microscope DIC ウィンドウがでてきます)
- 5.左下の Live ボタンで画像取得
- 6.画像をみながら Gain, Offset, Bias のスライドを動かしてちょうど良いところにする

**III-5-9. 透過像(BF: Bright Field)、微分干渉(DIC: Differential Interference****Contrast)、位相差像(PH: Phase Difference)撮影**

蛍光画像撮影設定を行ったあとに設定します。“Trans PMT”をクリックすると下図のように Setting 下部の画面が切り替わります。

**撮影方法を選択します**

Scan-BF：透過像を撮影します。

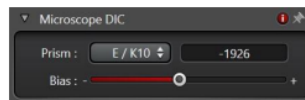
Scan DIC(Optional)：微分干渉像を撮影します。撮影には Polarizer および Analyzer (Optional)が必要です。

**微分干渉像撮影手順**

1. “Scan-DIC”または“Scan-DIC-Pol”を選択します
2. 右図のように Prism と Bias が表示され、Prism は自動選択されます。

画像のコントラストを見ながら Bias のスライダバーを操作し、位置を決めます。

3. 必要に応じてレーザー出力や検出器の Gain を調整します。

**透過像または位相差像撮影手順**

1. “Scan-BF”または“Scan-PH”を選択
2. 必要に応じてレーザー出力や検出器の Gain を調整します。

## その他 FAQ (Stellaris5, FV1000-D)

Q.油浸レンズの際ピントが合わない、色によってピント位置が違うのですが何故ですか？

A.以下の点をご覧ください。

1. カバーガラスが二重になっている (初心者が結構起こすミスです)
2. カバーガラスの厚みが適切ではない (No.1 や No.1S 以外だとダメ)
3. 培養細胞でマルチチャンバースライドガラスを使っている場合、仕切りの樹脂が厚いものである
4. 組織切片でマウント剤が多すぎるなどでカバーガラスから組織までの距離が離れている
5. マウント剤が適切でない (特に上記3・4の状況だと厳しさが増す)

Q.超解像撮影(63 倍レンズでズームもかけて細胞内の分子共局在を見る時など)の注意点はありますか？

A.以下の点をご確認ください。

1. カバーガラスは No.1S か更に精度の高い超解像用 (0.165~0.175mm 厚) を使う
2. マウント剤はガラスにかなり近い屈折率のものを使う (超解像で見えるならガラスと同じ屈折率の ProlongGlass など)
3. マルチチャンバーの場合、チャンバーの仕切りを剥がせるものや、カバーガラスがチャンバーになっているものを使う  
チャンバーの仕切りが取れるタイプの例  
<https://www.watson.co.jp/product/cellculture/slide-chamber.html>  
カバーガラスがチャンバーになっているタイプの例  
※仕切りを剥がしてマウントはできないので、ウェル内にグリセロールと褪色防止剤を入れての観察になる  
[https://www.matsunami-glass.co.jp/product/bio/chamber\\_cover\\_glass/](https://www.matsunami-glass.co.jp/product/bio/chamber_cover_glass/)
4. 組織切片の場合はカバーガラスをサンプルにしっかり圧着させる

Q.使用できるスライド、ディッシュを教えてください

A. スライドガラス、φ 35 mm ガラスボトムディッシュ、マルチチャンバーが利用できます。施設の FV1000, Stellaris5 はいずれも倒立顕微鏡ですので、スライドガラスの場合はカバーガラスを必ず固定しカバーガラスが下向きになるようステージに載せてください。またプラスチックディッシュでは 40 倍以上の対物レンズが使用できないだけでなく、20 倍以下の対物レンズでも顕微鏡の性能を最大限活かさせませんので、ガラスボトムディッシュをご用意ください。マルチチャンバーの場合もチャンバーの仕切りを剥がしてカバーガラスをかけられるものや、チャンバーの底面がカバーガラスになって

いるものを推奨します。

チャンバーの仕切りが取れるタイプの例

<https://www.watson.co.jp/product/cellculture/slide-chamber.html>

底面がカバーガラスになっているチャンバーの例

※仕切りを剥がしてマウントはできないので、ウェル内にグリセロールと褪色防止剤を入れての観察になる

[https://www.matsunami-glass.co.jp/product/bio/chamber\\_cover\\_glass/](https://www.matsunami-glass.co.jp/product/bio/chamber_cover_glass/)