

Nikon

Mikroskop

ECLIPSE 80i

Návod k použití

2. díl

Použití jednotlivých částí

Úvod

Děkujeme Vám za to, že jste si zakoupili výrobek společnosti Nikon.

Tento návod, popisující základní funkce mikroskopu, je určen uživatelům mikroskopů Nikon ECLIPSE 80i.

V zájmu Vaší bezpečnosti a pro správné zacházení s přístrojem si před jeho použitím tento návod pečlivě přečtěte.

- Je zakázáno kopírovat nebo převádět obsah tohoto návodu bez předchozího povolení.
- Obsah tohoto návodu se může změnit bez předchozího upozornění.
- Přesnosti tohoto návodu byla věnována maximální pozornost. Zjistíte-li však přesto nějaké nepřesnosti nebo nejasnosti, kontaktujte nejbližší zastoupení Nikon.
- Některé produkty popsané v tomto návodu nemusí být součástí soupravy, kterou jste si zakoupili.
- Také si přečtěte návody k použití všech ostatních výrobků, které používáte současně nebo ve spojení s tímto mikroskopem (například napájecího zdroje vysokotlaké rtuťové výbojky, osvětlovacího zdroje s vysokou intenzitou, atd).

Konvence použita v návodu

Přestože jsou produkty Nikon navrženy tak, aby byly maximálně bezpečné, může dojít při nesprávném použití nebo při nedodržení instrukcí z tohoto návodu k poškození zařízení nebo zranění. Z důvodu vlastní bezpečnosti si před použitím zařízení řádně přečtěte tento návod. Tento návod uschovejte. Vždy jej mějte v blízkosti zařízení.

V tomto návodu je pro varování a upozornění použita následující konvence:

Symbol	Význam
VAROVÁNÍ 	Takto označené části obsahují informace, jejichž nedodržení může způsobit vážné zranění nebo smrt.
UPOZORNĚNÍ 	Takto označené části obsahují informace, jejichž nedodržení může způsobit zranění nebo poškození zařízení.

Symbole použité na zařízení

Níže uvedené symboly na zařízení upozorňují na rizika, na která je třeba brát zřetel během celé provozu mikroskopu. Podrobnosti naleznete dále v návodu k použití. Při použití mikroskopu dodržujte všechny instrukce.

	Biologické nebezpečí. Tato značka na stolku upozorňuje na následující: • Kontaminace mikroskopu preparátem může být biologicky nebezpečná. • Abyste předešli biologickému nebezpečí, nedotýkejte se kontaminovaných součástí holýma rukama. • Kontaminované součásti dekontaminujte podle laboratorních postupů.
	Pozor na teplo. Tato značka na lampovém domečku ECLIPSE 80i upozorňuje na následující: • Lampový domeček je během osvětlování a krátce po něm velmi horký. • Nebezpečí popálenin. Nedotýkejte se lampového domečku během osvětlování a krátce po jeho ukončení. • Ujistěte se, že lampový domeček je dostatečně chladný předtím, než začnete vyměňovat žárovku.

Názvy použité v návodu

Názvosloví částí přístroje a zkratky použité v tomto návodu jsou uvedeny níže.

V návodu jsou použity následující zkratky:

Přesný název zařízení	Názvy použité v návodu
Mikroskop ECLIPSE 80i	80i
Zvyšovací mezikus okulárového tubusu C-TR	Zvyšovací mezikus okulárového tubusu
Ergonomický binokulární tubus C-TE	Ergonomický binokulární tubus
DSC výstup C-TEP pro ergonomický binokulární tubus	DSC výstup
Episkopický osvětlovací nástavec D-FL	Epi-fluo nástavec
Nástavec digitálního zobrazení D-DH M	Nástavec digitálního zobrazení DIH-M
C-Box D-CB	C-Box
Předem vycentrovaný lampový domeček D-LH	Lampový domeček
D-NID6 Inteligentní otočný nosič objektivů DIC	Inteligentní nosič objektivů
C-HS ruční ovladač závěrky	Ruční ovladač
Snímací jednotka kamery DS-5M	Snímací jednotka
Ovládací jednotka kamery DS-L1	DS-L1
Kabel kamery DS	Kabel kamery
Napájecí zdroj pro super vysokotlakou rtuťovou výbojku	Napájecí zdroj pro rtuťovou výbojku
Lampový domeček pro super vysokotlakou rtuťovou výbojku	Lampový domeček pro rtuťovou výbojku

Jak návod používat

Návod je rozdělen do dvou samostatných dílů.

Návod 1. „Základní informace“ popisuje základní mikroskopické postupy, které je nutno dodržet. Přečtěte proto pečlivě tento návod, dříve než začnete mikroskop používat.

Návod 2. „Použití jednotlivých součástí“ popisuje činnost jednotlivých součástí. Čtěte proto příslušné kapitoly tohoto dílu podle potřeby.

	Název	Důležitost	Obsah
Návod 1	Základní informace	Musí být přečten	Bezpečnostní informace Mikroskopování, montáž, odstraňování problémů Čištění a údržba, Specifikace
Návod 2	Použití jednotlivých součástí	Podle potřeby	Podrobnosti o jednotlivých součástech mikroskopu

Obsah

Názvy použité v návodu	3
Jak návod používat	4
Vztah mezi činnostmi a díly mikroskopu	7
1. Zapnutí/vypnutí napájení	8
1.1 Zapnutí mikroskopu.....	8
1.2 Napájecí zdroj DIH-M	8
1.3 Zapnutí zdroje světla fluorescenčního nástavce (rtuťové výbojky)	8
2. Nastavení jasu	9
2.1 Nastavení pomocí knoflíku nastavení jasu.....	9
2.2 Nastavení tlačítkem obnovení nastavení	10
2.3 Nastavení pomocí ND filtrů	10
2.4 Použití ND filtrů s epi-fluo nástavcem	10
2.5 Zrušení diaskopického obrazu při pozorování fluorescenční metodou	11
2.6 Nastavení epifluorescenční aperturní clony	11
2.7 Nastavení kamery (nastavení jasu obrazu na monitoru).....	11
3. Přepínání optické dráhy.....	12
3.1 Rozložení optické dráhy	12
3.2 Vypnutí klikání páčky přepínání optické dráhy	13
4. Vertikální pohyb stolku	14
4.1 Zákazy.....	14
4.2 Směr otáčení knoflíku a směr pohybu stolku	14
4.3 Počet otáček knoflíku a délka dráhy stolku	14
4.4 Nastavení tuhosti otáčení knoflíku makroposunu	15
4.5 Použití zářáčky horní hranice makroposunu	15
5. Pohyb stolku do stran.....	16
5.1 Zákazy.....	16
5.2 Směr otáčení knoflíku a směr pohybu stolku	16
5.3 Nastavení výšky knoflíků.....	16
5.4 Nastavení tuhosti otáčení knoflíků	16
6. Otáčení stolku.....	17
6.1 Otáčecí mechanismus stolku	17
6.2 Vycentrování stolku	17

7. Volba zvětšení.....	17
8. Nastavení dioptrické korekce.....	18
9. Nastavení mezioční vzdálenosti	19
10. Nastavení pozice pro pozorování	19
11. Nastavení kondenzoru	20
12. Nastavení aperturní clony	21
12.1 Nastavení aperturní clony pomocí stupnice kondenzoru	21
12.2 Nastavení aperturní clony centrovacím dalekohledem	21
13. Volba kondenzoru	22
14. Nastavení clony zorného pole.....	22
15. Použití imerzního oleje.....	23
16. Vodní imerze	24
17. Fluorescenční pozorování.....	25
17.1 Varování	25
17.2 Závěrka Epi-fluo nástavce.....	25
17.3 Stínítko ultrafialového záření.....	25
17.4 Clona zorného pole Epi-fluo nástavce	26
17.5 Epifluorescenční aperturní clona.....	27
17.6 Přepínání metod excitace	28
17.7 Epifluorescenční ND filtry	29
18. Výběr fluorescenčních filtrů	30
18.1 Výběr excitačních filtrů (EX filtrů)	30
18.2 Výběr bariérových filtrů (BA filtrů).....	31
18.3 Výměna excitačního filtru a bariérového filtru	32
19. Kompenzátor excitačního světla	33
20. Snímání obrazu.....	35
20.1 Nastavení intenzity světla	35
20.2 Nastavení kondenzoru	35
20.3 Ověření snímku	35
20.4 Ověření zaostření.....	35
20.5 Odstranění parazitního světla	35
20.6 Fluorescenční mikrofotografie	36

Vztah mezi činnostmi a díly mikroskopu

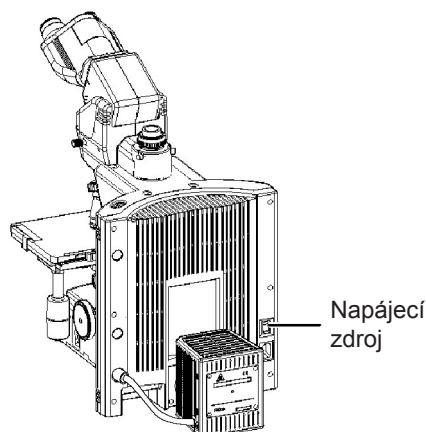
Císlo	Název kapitoly	Díly mikroskopu, kterých se kapitola týká
1	Zapnutí/vypnutí napájení	Hlavní vypínač, akumulátor, napájecí AC adaptér
2	Nastavení jasu	Knoflík nastavení jasu, tlačítko obnovy nastavení, ND filtr, filtr kompenzace barevnosti, držák filtru
3	Přepínání optické dráhy	Knoflík přepínání optické dráhy
4	Vertikální pohyb stolku	Knoflíky makroposunu/mikroposunu, kroužek nastavení tuhosti otáčení knoflíku makroposunu, páčka obnovy zaostření
5	Pohyb stolku do stran	Knoflíky posunu stolku ve směrech X a Y, kroužky nastavení tuhosti otáčení knoflíků posunu stolku ve směrech X a Y.
6	Otáčení stolku	Aretační šroub stolku, upínací šroub
7	Volba zvětšení	Otočný nosič objektivů, zoomovací knoflík DIH-M
8	Nastavení dioptrické korekce	Kroužek dioptrické korekce
9	Nastavení mezioční vzdálenosti	Okuláry
10	Nastavení pozice pro pozorování	Ergonomický binokulární tubus
11	Nastavení kondenzoru	Knoflík zaostření kondenzoru, centrovací šrouby kondenzoru
12	Nastavení aperturní clony	Aperturní clona, objektiv
13	Volba kondenzoru	Kondenzor
14	Nastavení clony zorného pole	Knoflík clony zorného pole
15	Použití imerzního oleje	Olejoyé imerzní objektivy, olejové imerzní kondenzory
16	Vodní imerze	Vodní imerzní objektivy, vodní imerzní kondenzory
17	Fluorescenční pozorování	Fluorescenční nástavec
18	Výběr fluorescenčních filtrů	Filtrbloky
19	Kompenzace excitačního světla	Kompenzátor excitačního světla
20	Snímání obrazu	Kamera

1. Zapnutí/vypnutí napájení

1.1 Zapnutí mikroskopu

Mikroskop se zapíná přepnutím hlavního vypínače do polohy „I“.

Přepnutím hlavního vypínače mikroskopu do polohy „O“ se přístroj vypne.



1.2 Napájecí zdroj DIH-M

DIH-M se zapíná stisknutím vypínače na boční straně C-Boxu.

Současně se rozsvítí kontrolka na levé straně DIH-M.

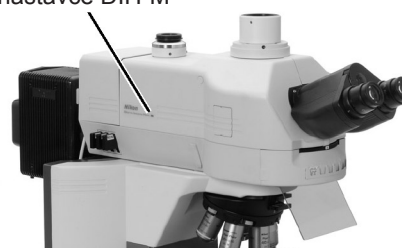
EPI závěrka se automaticky uzavře a přeruší optickou dráhu epifluorescenčního světla. (Závěrku otevřete stisknutím ručního ovladače).

DIH-M vypnete opětovným stisknutím vypínače na boční straně C-Boxu.

Zároveň zhasne kontrolka.



Kontrolka napájení
nástavce DIH-M



1.3 Zapnutí zdroje světla fluorescenčního nástavce (rtuťové výbojky)

Podrobné informace naleznete v návodu napájecímu zdroji vysokotlaké rtuťové výbojky.

Dodržujte vždy všechna varování a předpisy uvedené v návodu.

2. Nastavení jasu

Jas může být upraven následujícími způsoby.

	Metoda	Ovládací prvky	Vysvětlení
Diaskopické zobrazení	Nastavení napětí na lampě (u 50i se mění teplota barev)	Knoflík nastavení jasu	2.1
		Tlačítko obnovy nastavení	2.2
	Zasunutí/vysunutí ND filtrů (pouze u 50i)	Páčka ND filtru	2.3
Epi-fluo zobrazení	ND filtr	Zasunutí/vysunutí ND filtru do/z epi-fluo nástavce	2.4
	Odstranění diaskopického obrazu	Hlavní vypínač mikroskopu	2.5
	Nastavení aperturní clony pro epi-fluo světlo	Páčka aperturní clony (u epi-fluo nástavce a u DIH-M nástavce)	2.6
Obraz na monitoru	Nastavení kamery	Software pro ovládání kamery: režim zobrazení, režim expozice, kompenzace expozice, obnovení nastavení, atd.	2.7

2.1 Nastavení pomocí knoflíku nastavení jasu

Otáčejte knoflíkem nastavení jasu. Tlačítko obnovy nastavení musí být vypnuto. (Pokud je zapnuté tlačítko obnovy nastavení, knoflík nastavení jasu je nefunkční).

Při nastavení jasu knoflíkem nastavení jasu se mění teplota barev, a tím i reprodukovatelná barevnost preparátu. Potřebujete-li přesnou reprodukovatelnost barev preparátu, použijte k nastavení jasu vhodný filtr. Tento filtr vložte do držáku filtrů.

Nepoužívejte k nastavení jasu knoflík nastavení jasu, pokud potřebujete přesnou barevnost preparátu. Místo něho stiskněte tlačítko obnovy nastavení a do optické dráhy umístěte filtr NCB 11 (filtr nastavení teploty barev). Tím dosáhnete optimální přesnosti barevnosti preparátu.



Knoflík nastavení jasu Spínač obnovy nastavení

Směr otáčení knoflíku nastavení jasu	Změna jasu	Barevnost obrazu
Po směru hodinových ručiček	Světlejší obraz	Posun k modré
Proti směru hodinových ručiček	Tmavší obraz	Posun k červené

2.2 Nastavení tlačítkem obnovení nastavení

Stiskem tlačítka obnovení nastavení se přepne napětí výbojky na 9V. Stiskněte tlačítko obnovení nastavení a do optické dráhy umístěte filtr NCB11. Tím dosáhnete optimální reprodukovatelné barevnosti.

Stiskem vrátíte tlačítko do původní polohy. Tím se vrátí jas na předchozí úroveň nastavenou knoflíkem nastavení jasu.



Spínač obnovy
nastavení

2.3 Nastavení pomocí ND filtrů

Na boční straně mikroskopu jsou společně umístěné tři přepínače. První dva, (při pohledu zepředu), ovládají ND filtry. ND filtry se používají k nastavení intenzity světla. Čím vyšší hodnoty ND, tím menší propustnost světla a tmavší zobrazení. Vyváženost barev se nemění. Umístěte filtr do optické dráhy přepnutím do polohy „IN“. Obraz tak ztmavíte.

ND8: Redukuje množství světla na 1/8 předchozí úrovně.

ND32: Redukuje množství světla na 1/32 předchozí úrovně.



ND32
ND8

Jas	ND8	ND32
1	–	–
1/8	O	–
1/32	–	O
1/256	O	O

2.4 Použití ND filtrů s epi-fluo nástavcem

Umístěte filtr do optické dráhy posunem ovládací páčky ND filtru. Obraz tak ztmavíte.

Pomocí ND filtrů lze nastavit intenzitu světla. Vyšší čísla filtrů odpovídají nižšímu stupni propustnosti světla (tj. tmavšímu zobrazení). ND filtry nemění vyváženost barev.

ND4: Redukuje množství světla na 1/4.

ND8: Redukuje množství světla na 1/8 předchozí úrovně.

ND16: Redukuje množství světla na 1/16 předchozí úrovně.



Jas	ND4	ND8	ND16
1	–	–	–
1/4	O	–	–
1/8	–	O	–
1/16	–	–	O
1/32	O	O	–
1/64	O	–	O
1/128	–	O	O
1/512	O	O	O

2.5 Zrušení diaskopického obrazu při pozorování fluorescenční metodou

Při pozorování fluorescenční metodou vypněte hlavní vypínač mikroskopu, zruší se tak diaskopický obraz.

Viditelnost zobrazení se zhoršuje vlivem parazitního světla. Proto doporučujeme provádět pozorování fluorescenční metodou v zatemněné místnosti.

2.6 Nastavení epifluorescenční aperturní clony

Při epifluorescenční mikroskopii se jas zobrazení nastavuje změnou velikosti aperturní clony. Posunem směrem dolů zobrazení tmavne, zatímco otevřením aperturní clony se jas zobrazení zvýší.

Před použitím aperturní clony Epi-fluo nástavce nebo DIH-M nástavce vycentrujte. Podrobné informace na toto téma viz část „17.5 Epi-fluo aperturní clona“.

2.7 Nastavení kamery (nastavení jasu obrazu na monitoru)

Jas obrazu, který je zachycen kamerou a přenesen na monitor, můžete regulovat nastavením parametrů kamery. Jsou to například režim zobrazení, režim expozice, režim měření, kompenzace expozice a další.

Podrobné informace viz návod ke kameře nebo návod k softwaru ovládání kamery.

3. Přepínání optické dráhy

3.1 Rozložení optické dráhy

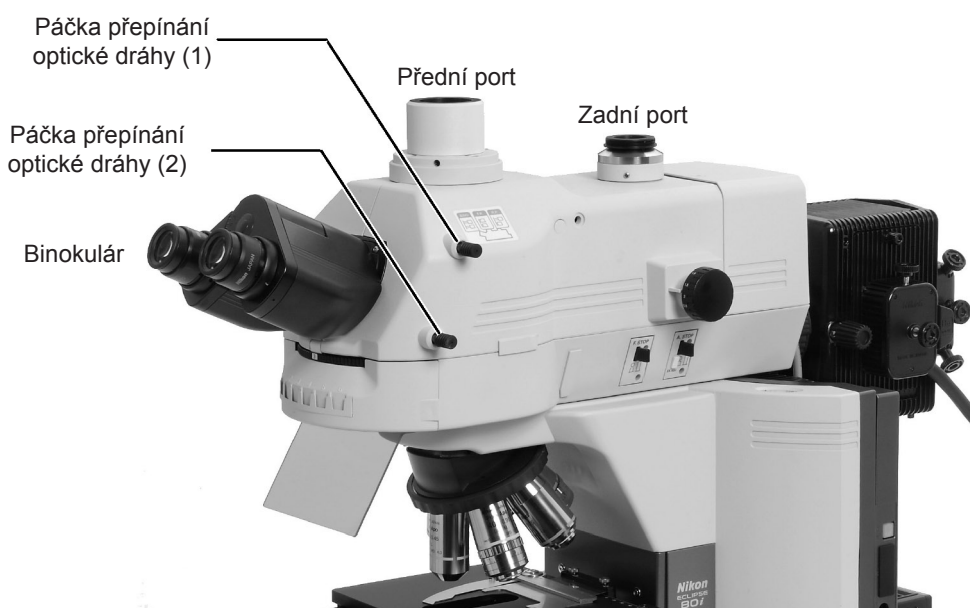
Páčka přepínání optické dráhy umožňuje při použití ergonomického binokulárního tubusu nebo trinokulárního tubusu rozdělení světla mezi pozorovací výstup a výstup pro kameru.

	Pozice páčky přepínání optické dráhy	Distribuce světla (%)	
		Binokulární část	Fotovýstup
Ergonomický binokulární tubus	Zasunutá	100	0
	Vysunutá	50	50
Trinokulární tubus T	Zasunutá	100	0
	Vysunutá o jeden stupeň	20	80
	Vysunutá o dva stupně	0	100
Trinokulární tubus F	Zasunutá	100	0
	Vysunutá	0	100

Při použití DIH-M ovlivňují průchod světla dvě páčky přepínání optické dráhy. Distribuce světla probíhá třemi směry: k pozorovacímu výstupu, k přednímu a k zadnímu výstupu**.

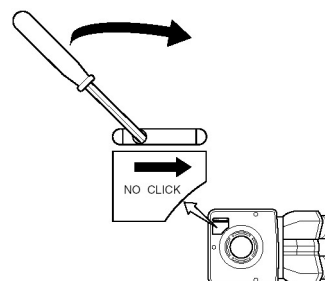
Poloha páčky přepínání optické dráhy (1)	Poloha páčky přepínání optické dráhy (2)	Distribuce světla (%)		
		Binokulár	Přední výstup	Zadní výstup
Vysunutá	Vysunutá	100	–	–
Zasunutá	Zasunutá	–	100	–
Zasunutá	Zasunutá	–	–	100

Nikdy nevytahujte samotnou páčku (2) přepínání optické dráhy. Použití nadměrné síly může způsobit poškození přístroje.



3.2 Vypnutí klikání páčky přepínání optické dráhy

Trinokulární tubusy T a F mají na povrchu svého pláště vypínač „NO CLICK“. Posuvem tohoto vypínače ve směru šipky vypnete klikání páčky přepínače optické dráhy. Použijte tento vypínač vždy, když potřebujete odstranit slabé vibrace způsobené klikáním. Vypínač posuňte hrotem nějakého ostrého předmětu.



4. Vertikální pohyb stolku

4.1 Zákazy

Následující činnosti mohou být příčinou poruchy vybavení. Proto se jich za všech okolností vyvarujte:

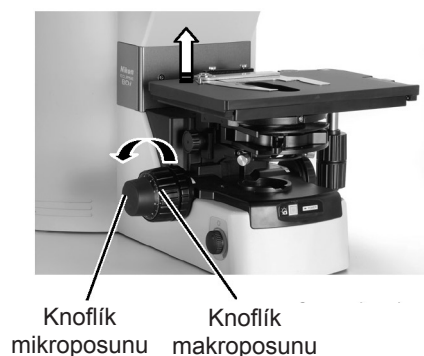
- Otáčení knoflíků makro/mikroposunu současně v opačných směrech.
- Otáčení knoflíku makroposunu za jeho mezní polohu.

4.2 Směr otáčení knoflíku a směr pohybu stolku

Otáčením knoflíku makro nebo mikroposunu zdviháte nebo snižujete stolek a nastavujete zaostření preparátu.

Knoflík makroposunu je umístěn buď na pravé nebo na levé straně mikroskopu. Knoflík mikroposunu je na obou stranách.

Chcete-li stolek snížit	Otočte knoflíkem k sobě
Chcete-li stolek zvýšit	Otočte knoflíkem od sebe



4.3 Počet otáček knoflíku a délka dráhy stolku

Počet otáček knoflíkem	Vertikální dráha stolku
1 otáčka knoflíkem makroposunu	Přibližně 14 mm
1 otáčka knoflíkem mikroposunu	Přibližně 0,1 mm
Knoflíkem mikropohybu o 1 dílek na stupnici	1 μ m

Rozsah vertikálního pohybu stolku (délka dráhy makro/mikroposunu) se pohybuje v rozmezí od 2 mm nad ohniskem (výchozí poloha) do cca 25 mm pod ohniskem.

4.4 Nastavení tuhosti otáčení knoflíku makroposunu

Otáčením kroužku nastavení tuhosti otáčení knoflíku makroposunu, který je umístěn na konci knoflíku makroposunu, nastavíte tuhost otáčení knoflíku (odpor otáčení). Je-li tuhost otáčení příliš malá, může stolek samovolně klesat vlivem vlastní hmotnosti.

Otočíte-li kroužkem ve směru šipky.	Bude otáčení tužší.
Otočíte-li kroužkem v opačném směru šipky.	Bude otáčení knoflíku snazší.



Kroužek nastavení tuhosti otáčení knoflíku makroposunu

4.5 Použití zarážky horní hranice makroposunu

Zarážka horní hranice makroposunu omezuje pohyb knoflíku makroposunu a udržuje stolek v poloze zaostření preparátu. (Zarážka neomezuje pohyb stolku pomocí knoflíku mikroposunu).

Aktivace zarážky horní hranice makroposunu poté, co jste docílili přesného zaostření, vám umožní obnovit zaostření pouhým otáčením knoflíku makroposunu. Pozorujete-li několik podobných preparátů za sebou, šetří tato funkce váš čas.

Postup

- (1) Zaostřete preparát a otočte zarážkou o 3/4 otáčky ve směru šipky na stativu mikroskopu. Tím zarážku aktivujete.
- (2) Ke snížení stolku při výměně preparátů používejte pouze knoflík makroposunu.
- (3) Po výměně preparátu opatrně zdvihejte stolek pomocí knoflíku makroposunu, dokud se stolek nedotkne zarážky. Poté by měl být preparát zaostřen. Pro zcela přesné zaostření použijte knoflík mikroposunu.
- (4) Nepoužíváte-li zarážku horní hranice makroposunu, povolte ji až na doraz. (Otáčejte zarážkou proti směru šipky umístěné na stativu mikroskopu až do mezní polohy).



Otočte jemně knoflíkem makroposunu k hornímu dorazu

5. Pohyb stolku do stran

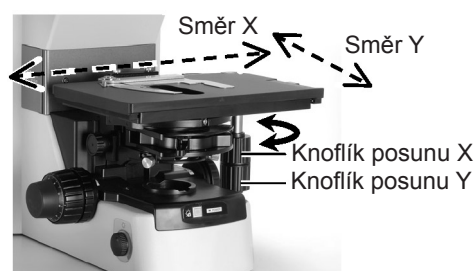
5.1 Zákazy

Následující činnosti mohou být příčinou poruchy vybavení. Proto se jich za všech okolností vyvarujte:

- Nikdy nepohybujte stolcem nebo držákem preparátu rukou.

5.2 Směr otáčení knoflíku a směr pohybu stolku

Chcete-li pohybovat stolcem ve směru X nebo Y, otáčejte knoflíky pro směry X a Y.



5.3 Nastavení výšky knoflíků

Výšku (polohu) knoflíků X a Y můžete měnit podle potřeby. Uchopte knoflík a posuňte jej podél jeho svislé osy do požadované výšky.

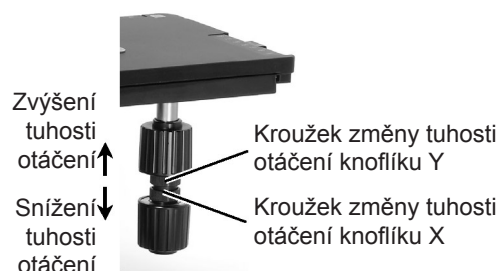
5.4 Nastavení tuhosti otáčení knoflíků

Je-li knoflík X posunut do dolní mezní polohy a knoflík Y do horní mezní polohy, nalézají se kroužky nastavení tuhosti otáčení mezi nimi.

Otáčejte kroužky, každým z nich směrem k jeho příslušnému knoflíku. Tím se tuhost otáčení knoflíků zvýší.

Abyste dosáhli zvýšení tuhosti otáčení, otáčejte kroužkem nastavení pro knoflík Y proti směru hodinových ručiček a analogicky kroužkem nastavení pro knoflík X po směru hodinových ručiček při pohledu shora.

Dbejte, aby tyto kroužky nebyly příliš uvolněné. Jsou-li tyto kroužky příliš volné, povrch stolku se může hýbat dokonce i při velmi nepatrném dotyku.



6. Otáčení stolku

6.1 Otáčecí mechanismus stolku

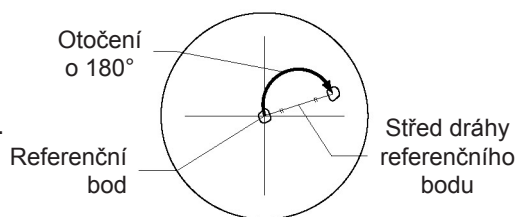
Povolte aretační šroub na spodní straně stolku, aby se stolek mohl otáčet.



6.2 Vycentrování stolku

(1) Umístěte do optické dráhy objektiv 10x a zaostřete preparát. Zvolte si určitý bod na preparátu jako výchozí, a ten přesuňte pomocí knoflíků ovládání stolku do středu zorného pole.

(2) Povolte aretační šroub a otočte stolek asi o 180°.



(3) Odchýlil-li se výchozí bod ze středu zorného pole, posuňte stolek o vzdálenost rovnou délce odchylky výchozího bodu od středu. Toto nastavení proveďte dvěma centrovacími šrouby stolku pomocí imbusového šroubováku.

(4) K navrácení výchozího bodu zpět do středu zorného pole použijte knoflíky ovládání stolku.

(5) Umístěte do optické dráhy objektiv 40x a opakujte postup popsany v bodech 2 až 4.

* Centrovací šrouby stolku (také se používá název montážní šrouby) jsou umístěny na dvou místech vzadu na zdvihacím mechanismu.

7. Volba zvětšení

Chcete-li změnit zvětšení, otočte nosič a umístěte do optické dráhy požadovaný objektiv.

Je-li k mikroskopu připojený DIH-M, můžete nastavit zvětšení od 0,8x do 2x pomocí zoomovacího knoflíku. Ten je umístěn na pravé straně nástavce.



Otáčením zoomovacího knoflíku po směru hodinových ručiček zvětšení vzrůstá. Číslo na stupnici udává efektivní zvětšení. Při každém kliknutí se změní zvětšení o 0,2x.

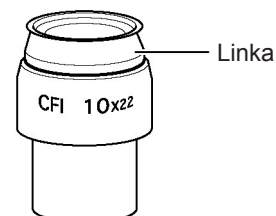
Celkové zvětšení vypočítáte následovně:

Zvětšení čočky okuláru x zvětšení objektivu x zvětšení zoomovacím knoflíkem.

8. Nastavení dioptrické korekce

Dioptrická korekce eliminuje rozdíl mezi levým a pravým okem a zlepšuje kvalitu pozorování prováděných binokulárem. Zároveň minimalizuje odchylky zaostření během přepínání objektivů. Provedte dioptrickou korekci na obou čočkách okuláru.

- (1) Otáčejte kroužkem dioptrické korekce každé čočky okuláru zvlášť a vyrovnejte horní okraje kroužků nastavení dioptrické korekce s vyznačenou linkou. (To je výchozí poloha nastavení dioptrické korekce).



Referenční poloha pro dioptrickou korekci

- (2) Provedte body 1. až 10. pro mikroskopování ve světlém poli uvedené v 1. dílu návodu „Mikroskopie“ tak, aby byl preparát zaostřen s objektivem 10x.

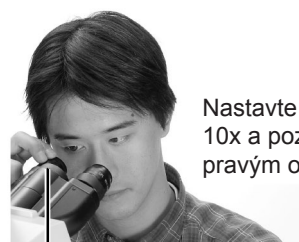
Do optické dráhy umístěte objektiv 40x.
Zaostřete preparát knoflíky makro/mikroposunu.

- (3) Do optické dráhy umístěte objektiv 4x nebo 10x.
- (4) Zaostřete preparát kroužkem dioptrické korekce. Nedotýkejte se knoflíků makroposunu/ mikroposunu. Při zaostřování se dívejte pravým okem do pravého okuláru a levým okem do levého okuláru.



Pro zaostření použijte tento knoflík

- (5) Opakujte body 3) až 5) dvakrát.



Nastavte zvětšení 10x a pozorujte pravým okem

K zaostření použijte tento kroužek

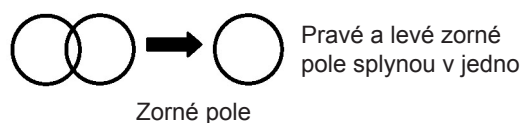


Pozorujte levým okem

K zaostření použijte tento kroužek

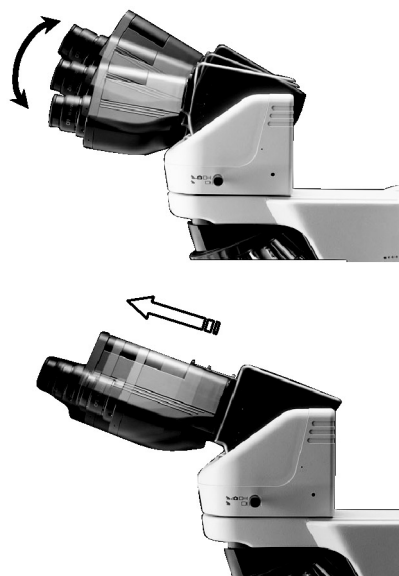
9. Nastavení mezioční vzdálenosti

Nastavení mezioční vzdálenosti usnadňuje pozorování binokulárem. Provedte body 1. až 10. pro mikroskopování ve světlém poli uvedené v 1. dílu návodu k použití a preparát zaostřete objektivem 10x. Potom pohybujte levým a pravým okulárem tak dlouho, až zorná pole pravého a levého oka splynou v jedno.



10. Nastavení pozice pro pozorování

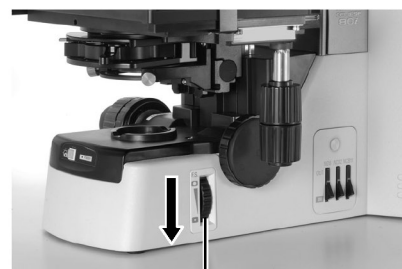
Ergonomický binokulární tubus umožňuje prodlužovat a naklánět binokulár. Seřídte polohu binokuláru tak, aby pozorování byla pro vás co nejpohodlnější.



11. Nastavení kondenzoru

Nastavte kondenzor (zaostřením a vycentrováním) tak, aby světlo procházející kondenzorem vytvořilo obraz na správném místě (ve středu optické dráhy) povrchu preparátu.

- (1) Provedte body 1. až 10. pro mikroskopování ve světlém poli uvedené v 1. dílu návodu k použití a preparát zaostřete objektivem 10x.
- (2) Přicloňte zorné pole na maximum./Zvětšete clonu zorného pole na maximum.
- (3) Otáčejte kolečkem zaostření kondenzoru a vytvořte na povrchu preparátu obraz clony zorného pole.
- (4) Otáčejte centrovacími šrouby kondenzoru tak dlouho, až se clona zorného pole obrazu dostane do středu zorného pole.
- (5) Do optické dráhy umístěte objektiv 40x. Zaostřete preparát knoflíky makro/mikroposunu.
- (6) Otáčejte knoflíkem zaostření kondenzoru a vytvořte na povrchu preparátu obraz clony zorného pole.
- (7) Otáčejte centrovacími šrouby kondenzoru tak dlouho, až se clona zorného pole objeví ve středu zorného pole okuláru. Nejsnadněji toho dosáhnete, jestliže nastavíte aperturu clony zorného pole o trochu menší, než je zorné pole okuláru.

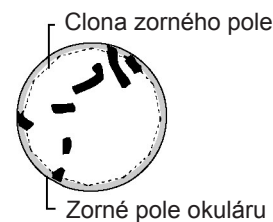
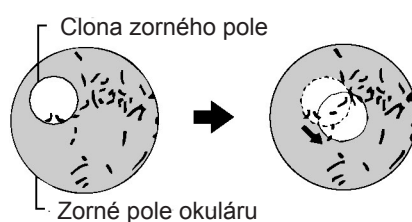


Otáčením kolečka clony zorného pole zacloňte clonu co nejvíce



Knoflík zaostření kondenzoru

Centrovací šrouby kondenzoru



12. Nastavení aperturní clony

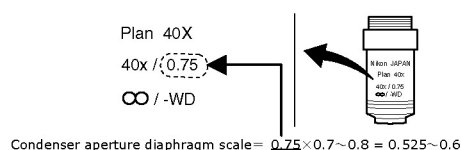
Nastavení aperturní clony kondenzoru určuje rozlišení, jas, kontrast a hloubku ostrosti. Velikost aperturní clony se mění otáčením kroužku aperturní clony kondenzoru (nebo knoflíku aperturní clony).

Zacloněním této clony se snižuje jas a rozlišení, ale současně se zvyšuje kontrast a hloubka ostrosti. Zvětšením clony naopak vzrůstá jas a rozlišení a současně se snižuje kontrast a hloubka ostrosti. Jelikož jsou tyto proměnné navzájem závislé, je nutné aperturní clonu kondenzoru nastavit pro každý preparát a aplikaci zvlášť. Obecně lze říci, že dostatečného kontrastu se dosáhne, je-li aperturní clona kondenzoru zacloněna asi na 70 až 80 % maximální apertury objektivu.

Vzhledem k tomu že nadměrně zacloněná aperturní clona snižuje rozlišení obrazu, nedoporučujeme nastavení aperturní clony na méně než 60% maximální apertury objektivu.



Kroužek aperturní clony



12.1 Nastavení aperturní clony pomocí stupnice kondenzoru

Seřizujte kroužek aperturní clony podle stupnice kondenzoru, neboť tato stupnice udává nastavení numerické apertury.

(Za normálních podmínek musí být ryska kroužku aperturní clony vyrovnaná s čárkou stupnice, která odpovídá 70% až 80% maximální apertury objektivu.)

12.2 Nastavení aperturní clony centrovacím dalekohledem

Odstraňte jeden okulár a na jeho místo připevněte pomocí vhodného adaptéru centrovací dalekohled. Otočte kroužkem aperturní clony a zvětšete clonu na minimální aperturu. Přidržujte okraj centrovacího dalekohledu a současně otáčejte okulárem centrovacího dalekohledu a zaostřete aperturní clonu.

Otočte kroužkem clony a nastavte aperturu. (Aperturní clona má být nastavena za normálních podmínek asi na 70% až 80% velikosti zorného pole.

Po nastavení clony odstraňte centrovací dalekohled a adaptér a nainstalujte zpět okulár.

13. Volba kondenzoru

Zvětšení objektivů	Kondenzor (O - optimální, V - vhodný, N - nevhodný)			
	Achromatický/ aplanitický kondenzor	Achromatický kondenzor	Abbeho kondenzor	Kondenzor 1-100x
1x	N	N	N	O
2x	N	N	N	
3x	N	✓Poznámka 1	✓Poznámka 1	
10x až 100x	O	V	V	

Poznámka 1: Je-li připojen UW okulár, nemusí být pokryto celé zorné pole.

V závislosti na typu objektivu nemusí být dosaženo udávané numerické apertury objektivu.

Například, pokud použijete objektiv s numerickou aperturou 1,4, bude maximální apertura Abbeho kondenzoru pouze cca 65% numerické apertury objektivu, i když je aperturní clona kondenzoru zcela otevřená.

Více informací o univerzálních kondenzorech a kondenzorech pro fázový kontrast najdete v příslušných návodech k použití.

14. Nastavení clony zorného pole

Clonou zorného pole lze nastavit oblast preparátu, která má být osvětlena. Velikost clony zorného pole se mění otáčením knoflíku clony zorného pole. Obecně lze říci, že clona zorného pole by měla být trochu větší než zorné pole. Příliš velká clona zorného pole způsobuje přítomnost parazitního světla, závoj a snížení kontrastu. Obzvláště při mikrofotografování je její správné nastavení velmi důležité. Nejlepších výsledků dosáhnete, pokud je osvětlená oblast trochu větší než obraz ve foto rámečku nebo na displeji monitoru.

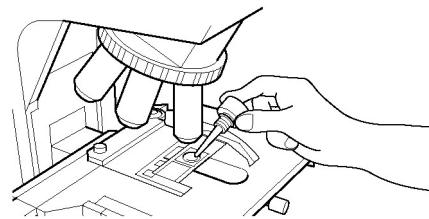


Kolečko clony zorného pole

15. Použití imerzního oleje

Objektivy označené „oil“ jsou imerzní objektivy pro pozorování s imerzním olejem. Imerzní olej se nanáší mezi preparát a špičku daného objektivu.

Pro dosažení optimálních výsledků se imerzní objektivy s numerickou aperturou větší než 1,0 používají v kombinaci s chromatickými/aplanitickými imerzními kondenzory. Imerzní kondenzory se používají s imerzním olejem, který se nanáší mezi preparát a kondenzor.



Bublínky v oleji znehodnocují kvalitu obrazu. Postupujte opatrně, abyste zabránili jejich tvorbě. Kontrolu přítomnosti vzduchových bublinek provedete sejmutím okuláru, maximálním otevřením clony pole a aperturní clony kondenzoru a pohledem do výstupní pupily objektivu uvnitř daného okulárového tubusu. Výstupní pupila se jeví jako jasný kruh. Je-li obtížné ověřit přítomnost vzduchových bublin, nasadte centrovací dalekohled na okulárový tubus pomocí adaptéru (obojí se dodává samostatně). Otáčením okulárové části centrovacího dalekohledu zaostřete a pak hledejte vzduchové bubliny. Pokud v oleji vzduchové bublinky objevíte, odstraňte je jedním z následujících postupů:

- Pomalu otáčejte otočným nosičem objektivů a tak pohybujte daným objektivem několikrát tam a zpět. Jedná-li se o kondenzor, jemně otáčejte kolečkem zaostření kondenzoru a pomalu pohybujte kondenzorem nahoru a dolů.
- Přidejte další olej.
- Odstraňte olej a nahraďte jej novým olejem.

Oleje používejte co nejméně (jen tolik, aby vyplnil prostor mezi špičkou objektivu a preparátem, nebo mezi špičkou kondenzoru a preparátem). Nanesete-li příliš mnoho oleje, steče přebytečný olej na stativ a nateče okolo kondenzoru.

Jakýkoli olej, který zůstane na imerzních objektivěch, či ulpí na běžných objektivěch, má značný záporný účinek na kvalitu obrazu. Po použití oleje jej všechen setřete a také zajistěte, aby žádný olej nezůstal na špičkách ostatních objektivů. Rovněž pečlivě odstraňte olej z kondenzoru.

Pro odmaštění imerzního oleje používejte čistý benzín. Po odmaštění oleje vytřete povrchy čoček atd. čistým alkoholem (etylalkoholem nebo metylalkoholem). Tím dosáhnete optimálních výsledků čištění.

Nemůžete-li sehnat čistý benzín, použijte methanol. Protože však methanol neodmašťuje tak dobře jako čistý benzín, budete muset odmaštění povrchů několikrát opakovat. Obvykle stačí vyčistit čočky třikrát nebo čtyřikrát.

VAROVÁNÍ

Používáte-li čistý benzín nebo čistý alkohol, vždy pečlivě dodržujte pokyny výrobce. Obě kapaliny jsou vysoce hořlavé látky. Chraňte je proto před otevřeným ohněm a jiskrami.

16. Vodní imerze

Objektivy označené „WI“ nebo „W“ jsou imerzní objektivy pro pozorování s vodou. Voda (destilovaná voda nebo fyziologický roztok) se nanáší mezi preparát a špičku daného objektivu. Pracovní postupy při mikroskopování jsou tytéž jako při použití imerzních objektivů pro pozorování s imerzním olejem.

Vzhledem k tomu, že se voda rychle vypařuje, kontrolujte stav imerzní vody v průběhu pozorování. Nepoužívejte příliš mnoho vody, neboť přebytečná voda se vylíje na stativ a okolo kondenzoru a vyvolá korozi/rezivění přístroje.

Po skončení pozorování otřete vodu ze špičky objektivu a z kondenzoru, následně otřete vše ještě čistým lihem.

Pozorujete-li znečištění od vody, použijte malé množství neutrálního čistícího prostředku a vše jemně otřete. Poté vše ještě otřete čistým lihem.

17. Fluorescenční pozorování

17.1 Varování

Rtuťová (nebo xenonová) výbojka používaná spolu s Epi-fluo nástavcem nebo s DIH-M nástavcem vyžaduje velmi pečlivé zacházení. Čtěte pozorně varování a upozornění popsaná v úvodu návodu a v návodech dodaných výrobcem ke zdroji světla vysokotlaké rtuťové výbojky (nebo zdroji světla vysoké intenzity) a k výbojce. Dodržujte všechny pokyny a varování popsané v těchto návodech.

17.2 Závěrka Epi-fluo nástavce

Tato závěrka blokuje tok paprsků ze světelného zdroje. Abyste předešli vyblednutí preparátu, vždy závěrku uzavřete, pokud právě preparát nepozorujete. (Posunutím páčky závěrky do polohy „C“ závěrku uzavřete, čímž zablokujete osvětlení.) Zvykněte si závěrku zavírat, abyste tak ochránili důležité preparáty.

Navíc pokud dočasně přestanete provádět episkopické fluorescenční pozorování a provádíte namísto něho mikroskopování v diaskopickém osvětlení, nezapomeňte zavřít závěrku, abyste zabránili pronikání episkopického fluorescenčního osvětlení.

Nastavení při použití Epi-fluo nástavce:

Posunutím páčky ovládání závěrky do polohy „C“ se závěrka zasune do optické dráhy a zablokuje osvětlení.

Nastavení při použití DIH-M:

Zapnete-li hlavní vypínač DIH-M, závěrka se automaticky uzavře. Stiskem dálkového ovladače závěrky se závěrka otevře respektive uzavře.



17.3 Stínítko ultrafialového záření

Stínítko chrání oči pozorovatele před ultrafialovým zářením, které se od preparátu odráží. Při odstraňování stínítka povolte upínací šroub a vytáhněte je směrem dopředu.

17.4 Clona zorného pole Epi-fluo nástavce

Clona pole omezuje osvětlení jen na tu plochu, kterou pozorujeme. Posouváním páčky clony pole měníme velikost otvoru clony pole

Poloha páčky clony zorného pole	Stav clony zorného pole
Zasunutá	Otevřená
Vysunutá	Zavřená

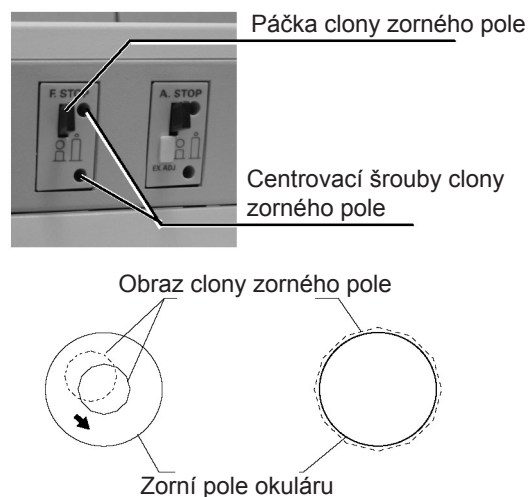
Při normálním pozorování by měl být otvor clony takový, aby probíhal právě zvnějšku (zvnitřku) po okraji zorného pole. Pokud je osvětlena větší plocha preparátu než je potřeba, pak se do optické soustavy dostávají parazitní paprsky z jiných zdrojů, které způsobí odlesky, zmenší kontrast obrazu a rozšíří plochu, kde bledne preparát.

Ovládání clony pole je zvláště důležité při mikrofotografii. Obecně platí, že nejlepších výsledků se dosáhne, když clonu zacloníme clonu tak, aby byla právě jen nepatrně větší, než je plocha, kterou chceme zachytit na film nebo na displej monitoru, tj. než je velikost obrazu v komponovaném poli záběru.

Clona pole episkopického fluorescenčního nástavce nebo DIH-M nástavce se musí před použitím také vycentrovat podle následujících pokynů.

Vycentrování clony pole

- (1) Proved'te dioptrickou korekci a nastavení mezioční vzdálenosti podle pokynů uvedených v návodu „Základní informace“ v části „Epi-fluorescenční mikroskopování“.
- (2) Zacroňte clonu pole (vytažením páčky ovládání clony pole).
- (3) Posuňte zobrazení středu otvoru clony pole do středu zorného pole. (K otáčení centrovacích šroubů clony pole použijte imbusový šroubovák dodaný spolu s mikroskopem).
- (4) Seříd'te velikost clony pole přibližně na velikost zorného pole. (Zatlačením páčky ovládání clony pole).
- (5) Ještě jednou vycentrujte zobrazení otvoru clony pole v zorném poli (otáčením centrovacích šroubů clony pole).



17.5 Epifluorescenční aperturní clona

Aperturní clona upravuje numerickou aperturu osvětlení a optického systému. Při episkopické fluorescenční mikroskopii se pomocí aperturní clony upravuje jas obrazu. Změnou polohy ovládací páčky aperturní clony se mění velikost jejího otvoru.

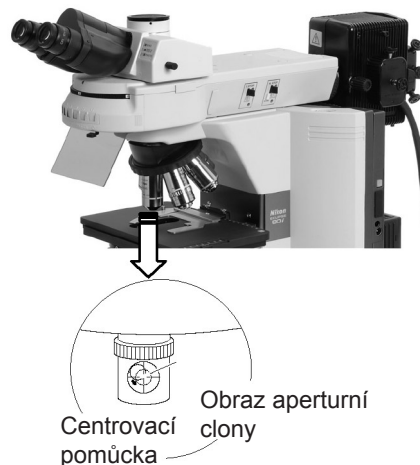
Přivřením aperturní clony se snižuje množství parazitního světla, ale obraz současně tmavne. Obráceně platí, že otevřením aperturní clony se jas obrazu zvýší, ale současně se zvýší množství parazitního světla. Při normálním epi-fluo pozorování je obvykle vhodné nechat aperturní clonu otevřenou. Je-li potřeba upravit jas, uzavřete trochu aperturní clonu.

Poloha páčky aperturní clony	Stav aperturní clony
Zasunutá	Otevřená
Vysunutá	Zavřená

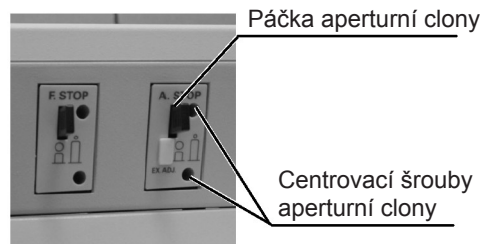
Aperturní clona episkopického fluorescenčního nástavce nebo DIH-M nástavce se musí před použitím vycentrovat. (Některé sestavy nemusí obsahovat centrovací pomůcku).

Vycentrování aperturní clony

- (1) Používáte-li DIH-M, zapněte vypínač umístěný na boku C-Boxu.
- (2) Uzavřete závěrku fluorescenčního světla.
Používáte-li Epi-fluo nástavec, posuňte ovládací páčku závěrky do polohy „C“.
Máte-li nainstalovaný DIH-M, závěrka se uzavře automaticky vždy při zapnutí nástavce. Nedotýkejte se dálkového ovladače závěrky. (Jestliže se přesto závěrka nedopatřením otevře, zavřete ji opětovným stisknutím dálkového ovladače závěrky).
- (3) Vyjměte jeden z objektivů z otočného nosiče objektivů a nahraďte jej centrovací pomůckou.
- (4) Umístěte centrovací pomůcku do optické dráhy.
- (5) Zapněte epifluorescenční zdroj světla a otevřete závěrku.
Používáte-li Epi-fluo nástavec, posuňte ovládací páčku závěrky do polohy „O“.
Máte-li nainstalovaný DIH-M, stiskněte dálkový ovladač závěrky.



- (6) Zacroňte aperturní clonu. (Vytažením páčky aperturní clony).
- (7) Sledujte stínítko centrovací pomůcky a současně posouvejte střed obrazu aperturní clony do středu stínítka. (Otáčejte centrovacími šrouby aperturní clony. Použijte k tomu imbusový šroubovák, dodaný spolu s mikroskopem). Vždy se dívejte kolmo na stínítko centrovací pomůcky.
- (8) Po skončení centrování uzavřete závěrku, odstraňte centrovací pomůcku a nainstalujte zpět objektiv.



17.6 Přepínání metod excitace

Epi-fluo nástavec a nástavec DIH-M mohou být osazeny až šesti filtrbloky. Otáčením nosiče filtrbloků na přední straně přístroje zasunete do optické dráhy příslušný filtrblok pro požadovanou metodu excitace.

Číslo na přední straně otočného nosiče udává filtrblok, který je právě zasunutý do optické dráhy.



Otočný nosič filtrbloků

Číslo filtrbloku, který je v optické dráze

17.7 Epifluorescenční ND filtry

Zatlačením na držák ND filtru zasunete do optické dráhy příslušný ND filtr a zatemníte fluorescenční obraz.

Šedé filtry omezují intenzitu světla, aniž by měnily jeho barevnou teplotu. Vyšší čísla filtrů odpovídají nižším stupňům propustnosti (tj. tmavšímu zobrazení). Při použití intenzivního fluorescenčního světla nebo při velmi vybledlém preparátu nastavte jas zobrazení zasunutím ND filtrů do optické dráhy. Pokud je fluorescenční osvětlení příliš silné, může se zhoršit kontrast.

ND4: Redukuje množství světla na 1/4 předchozí úrovně.

ND8: Redukuje množství světla na 1/8 předchozí úrovně.

ND16: Redukuje množství světla na 1/16 předchozí úrovně.

Různými kombinacemi těchto tří filtrů můžete jas zobrazení měnit.



Držáky ND filtrů



Držáky ND filtrů

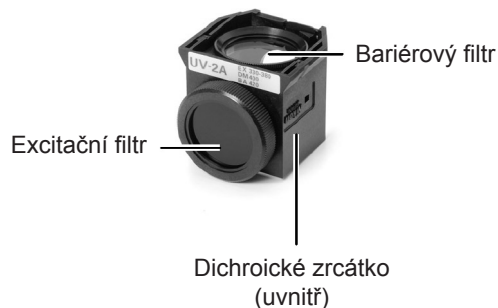
Jas	ND4	ND8	ND16
1	–	–	–
1/4	O	–	–
1/8	–	O	–
1/16	–	–	O
1/32	O	O	–
1/64	O	–	O
1/128	–	O	O
1/512	O	O	O

18. Výběr fluorescenčních filtrů

Filtrblok se skládá z těchto tří druhů optických součástí: excitačního filtru (EX filtr), bariérového filtru (BA filtr) a dichroického zrcátka (DM). Kombinace filtrů volte tak, aby co nejlépe vyhovovaly charakteristice preparátu i fluorescenčního barviva a vašim potřebám.

Dodržujte při výběru následující pokyny:

- Můžete zvolit různé kombinace excitačních a bariérových filtrů i pro tutéž metodu excitace.
- Excitační filtry, bariérové filtry a dichroická zrcátka se dají zakoupit každé zvlášť.
- Charakteristika excitačních filtrů se časem zhoršuje, díky působení intenzivního světla, jemuž jsou vystaveny. Proto je pravidelně vyměňujte.

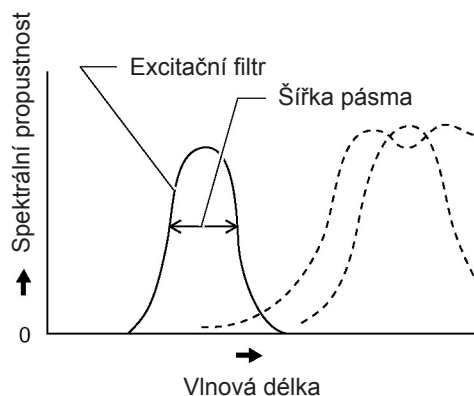


18.1 Výběr excitačních filtrů (EX filtrů)

Excitační filtry propouštějí selektivně světlo (excitační záření) v určitém rozsahu vlnových délek, které způsobuje v daném vzorku fluorescenci a odfiltrovávají ostatní části spektra. Rozsah vlnových délek, které filtr propouští, se nazývá „pásmo propustnosti“ daného filtru.

Šířka pásma propustnosti excitačního filtru určuje jas fluorescenčního zobrazení, výskyt vlastní fluorescence (tj. fluorescence vyzařované přímo vlastními látkami preparátu bez fluorescenčního barviva) a rozsah zhášení fluorescence. Šířší pásmo umožňuje vysokou hladinu excitace pro osvětlení preparátu a zvyšuje jas zobrazení. Ale více excitačního záření také vede k vyšší úrovni vlastní fluorescence preparátu a výraznému zhášení. Naopak úzké pásmo propustnosti filtru dává tmavé zobrazení, protože na preparát dopadne jen málo excitačního záření, ale vlastní fluorescence preparátu a zhášení jsou minimální. Pokud má preparát významnou vlastní fluorescenci použijte excitační filtr s úzkým pásmem propustnosti. (Výsledné fluorescenční zobrazení však bude tmavší).

Vlastnosti excitačních filtrů se časem zhoršují, díky působení intenzivního světla, jemuž jsou vystaveny. Proto je podle potřeby vyměňujte.



	Pásmo excitačního filtru	
	Úzké	Široké
Jas fluorescenčního obrazu	Tmavý	Světlý
Vznik vlastní fluorescence	Malý	Velký
Rychlost vyhasínání	Malá	Velká

18.2 Výběr bariérových filtrů (BA filtrů)

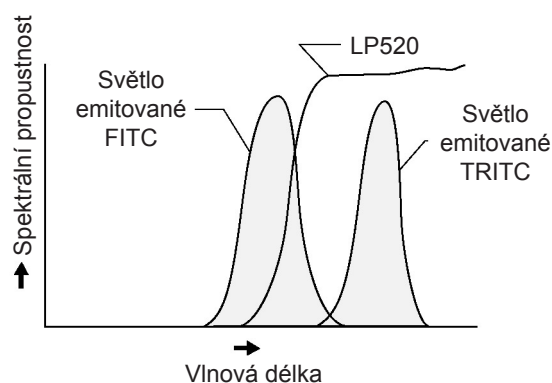
Bariérový filtr propouští jen fluorescenční světlo vytvářené preparátem a odfiltrává veškeré excitační světlo. Tento filtr umožňuje pozorovat fluorescenční zobrazení bez nežádoucího světla (tj. na tmavém pozadí).

Existují dva druhy bariérových filtrů: LP filtry (dlouhovlnné filtry), které odfiltrávají všechny vlnové délky, které jsou kratší než jistá mezní vlnová délka a propouštějí všechny vlnové délky delší, než je tato mezní vlnová délka. BP filtry (pásmové filtry) propouštějí jen světlo v určitém rozsahu vlnových délek. Použijte ten druh, který lépe vyhovuje vašemu záměru.

LP filtry (dlouhovlnné filtry)

Dlouhovlnné filtry odfiltrávají všechno záření o vlnové délce kratší, než je určitá mezní vlnová délka a propouštějí všechno záření s vlnovou délkou delší, než je stanovená mezní vlnová délka. Mezní vlnová délka se nazývá dělicí vlnová délka.

- (1) Když je preparát obarven fluorescenčním barvivem, u kterého je spektrální rozsah fluorescenčního záření a excitačního záření (tj. záření, které preparát absorbuje, aby fluoreskoval) mimořádně těsně u sebe, dá se fluorescenční záření pozorovat obecně mnohem lépe, pokud se zvolí bariérový filtr s dělicí vlnovou délkou, která je srovnatelně krátká v rámci rozsahu možného z hlediska výkonnosti.
- (2) Obecně platí, že čím delší je dělicí vlnová délka, tím úplnější je rozdělení excitačního a fluorescenčního záření. V poslední době však díky vylepšené účinnosti filtrů je stále běžnější používat bariérové filtry s kratšími vlnovými délkami.
- (3) Abyste pozorovali fluorescenční obraz způsobený více barvivy, použijte některý vhodný LP filtr. Ale při použití kombinace běžného dichroického zrcátka, excitačního filtru a bariérového LP filtru barvivo, s fluorescencí na delších vlnových délkách (například TRITC, když je preparát obarven FITC a TRITC) nemusí být dostatečně excitováno, což má za následek, že tímto barvivem vytvořený fluorescenční obraz je velmi tmavý. V takové situaci doporučujeme použít několika pásmové filtry.



Oba obrazy (FITC a TRITC) jsou viditelná

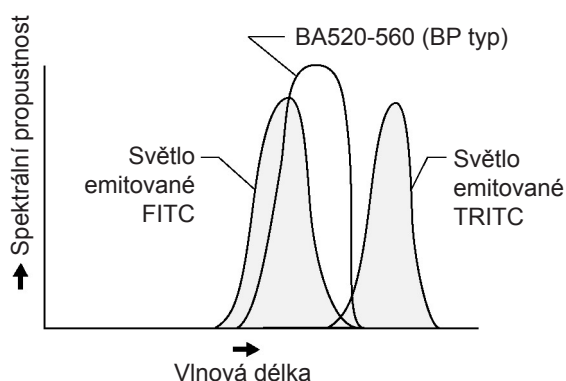
BP filtry (pásmové filtry)

Pásmový filtr propouští jen záření v určitém rozsahu vlnových délek, čili pásmu spektra. Všechny ostatní vlnové délky odfiltrává.

Tento druh filtrů se používá pro pozorování fluorescenčních zobrazení vytvořených určitým fluorescenčním barvivem, když je daný preparát obarven několika různými barvami. (Například u preparátu obarveného dvěma barvami FITC a TRITC, pro pozorování fluorescenčního obrazu vytvořeného buzením barviva FITC zvolte filtr BA520-560 (BP typ).

Avšak nemusíte být schopni indikovat vlastní fluorescenci (je-li nějaká), protože zobrazení bude mít jen jedinou barvu (u výše uvedeného příkladu zelenou).

U vlastní fluorescence se detekují jemné barevné rozdíly. V takových případech je nejlepší použít LP filtr.



18.3 Výměna excitačního filtru a bariérového filtru

Excitační a bariérové filtry se dají vyjmout z filtrbloků a nahradit jinými filtry. (Dichroická zrcátka se naopak z filtrbloků vyjmout nedají).

Excitační filtry jsou do filtrbloku našroubovány.

Bariérové filtry se do filtrbloku zasouvají. Vyrovnajte drážky ve filtrbloku s výstupky na bariérovém filtru, zasuňte filtr na místo a potom jím otočte asi o 30 ° ve směru hodinových ručiček, abyste jej v místě zajistili.



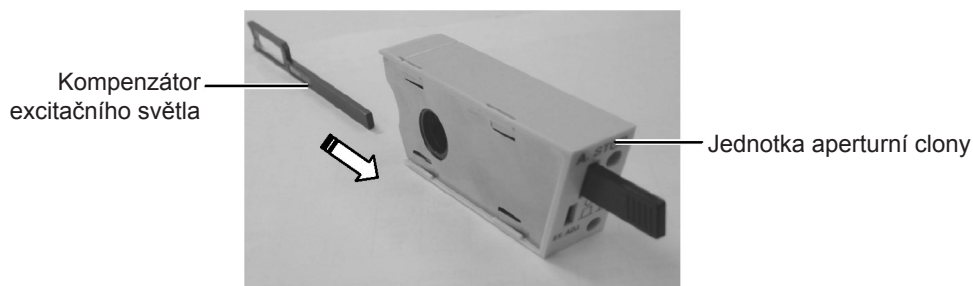
19. Kompenzátor excitačního světla

Na Epi-fluo nástavec nebo na nástavec DIH-M nainstalujte vhodný D-FB kompenzátor excitačního světla a nastavte spektrální charakteristiku excitačního světla. Kompenzátor excitačního světla se používá spolu s dvojpásmovým filtrbloomem.

Potřebné doplňky

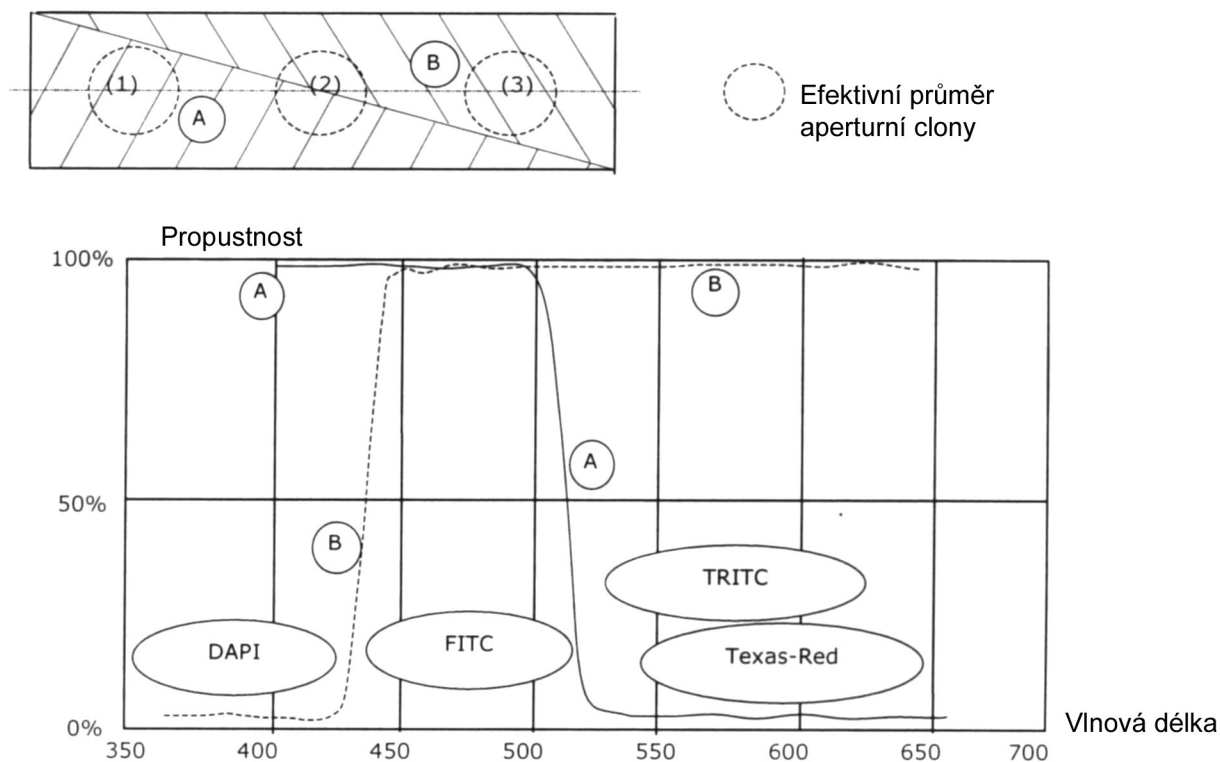
- D-FB kompenzátor excitačního světla
- Dvojpásmový filtrblok

- (1) Vypněte světelný zdroj Epi-fluo nástavce.
- (2) Demontujte jednotku aperturní clony z Epi-fluo nástavce nebo z nástavce DIH-M.
- (3) Zasuňte kompenzátor D-FB excitačního světla zezadu do jednotky aperturní clony.



- Nedotýkejte se skleněného povrchu kompenzátoru excitačního světla holýma rukama nebo prsty.
- (4) Namontujte jednotku aperturní clony zpět do Epi-fluo nástavce nebo do nástavce DIH-M.
 - (5) Do Epi-fluo nástavce nebo do nástavce DIH-M namontujte filtrblok.
 - (6) Pohybujte kompenzátozem excitačního světla do stran a nastavte spektrální charakteristiku excitačního světla.

Podrobnosti o kompenzátoru excitačního světla



Kompenzátor je vyroben tak, aby byla 100% propustnost pro FITC, což je obvyklý produkt tmavé fluorescence.

Poloha páčky přepínání optické dráhy	DAPI	FITC	TRITC/Texas Red
(1)	100%	100%	0%
Mezi (1) a (2)	Proměnné mezi (100% až 50%)	100%	Proměnné mezi (100% až 50%)
(2)	50%	100%	50%
Mezi (2) a (3)	Proměnné mezi (50% až 0%)	100%	Proměnné mezi (50% až 0%)
(3)	0%	100%	100%

Objektivy

Při použití epi-fluo nástavce používejte pouze objektivy z tabulky níže. Použití jiných objektivů s epi-fluo nástavcem může způsobit nerovnoměrnost obrazu.

Plan Fluor	40x / 0,75	40xH / 1,3	40xH / 1,3
S Fluor	40x / 0,9	40xH / 1,3	40xH / 1,3
Plan Apo	40x / 0,95	60xH / 1,4	40xH / 1,4

20. Snímání obrazu

Obrázky mohou být snímány snímací jednotkou kamery připojenou k ergonomickému binokulárnímu tubusu nebo k trinokulárnímu tubusu.

Podrobnější informace na toto téma naleznete v návodu ke kameře nebo v návodu k softwaru ovládání kamery.

Pro dosažení čistého obrazu je důležité vlastní nastavení světelné intenzity a ohniskové vzdálenosti mikroskopu.

20.1 Nastavení intenzity světla

Napětí výbojky:

Je-li důležitá barevná reprodukovatelnost, stiskněte na mikroskopu tlačítko obnovení nastavení, umístěte do optické dráhy filtr NCB11 a k nastavení jasu použijte ND filtry.

Filtr:

Podle potřeby umístěte do držáku vhodný komerčně dostupný filtr kompenzace barevnosti.

20.2 Nastavení kondenzoru

- Kondenzor vždy zaostřete a vycentrujte.
- Vycentrujte prstencovitou clonu pro mikroskopii s fázovým kontrastem.
- Pro běžné mikroskopické postupy nastavte aperturu clony na 70% až 80% numerické apertury objektivu.

20.3 Ověření snímku

Obraz na monitoru reprezentuje snímek.

20.4 Ověření zaostření

Podívejte se do okuláru a na monitor a zkontrolujte zaostření. Liší-li se zaostření obou obrazů, seřídte šroub nastavení zaostření na výstupu kamery.

20.5 Odstranění parazitního světla

Clona zorného pole:

Přivřete clonu tak, aby osvětlená plocha byla trochu větší než plocha zobrazená na monitoru.

Okulár:

Okulár přikryjte nějakou tkaninou.

20.6 Fluorescenční mikrofotografie

Během expozice může fluorescence fluorescenčních preparátů vyhasínat. Chcete-li tomu zabránit, řiďte se následujícími pokyny:

- (1) Vyberte světlejší optickou kombinaci.
I když je celkové zvětšení stejné jako na monitoru, spojení objektivu a zoomu kamery může znamenat podstatné odchylky v expozičním čase. Doporučujeme zvýšit raději zvětšení objektivem než zoomem. (Se vzrůstajícím zvětšením obvykle vzrůstá apertura objektivu.) Čím větší je numerická apertura, tím jasnější je výsledný obraz.
- (2) Nastavení excitačního světla.
Extrémně jasné excitační světlo urychluje vyhasínání preparátu. To ztěžuje pořízení vyhovujících fluorescenčních snímků. K nastavení jasu použijte ND filtry.
- (3) Preparát.
Snímáte-li pohaslé části preparátu, potřebujete delší expoziční čas a výsledkem je špatná reprodukce barev a nízká kvalita snímků. Posunem preparátu získáte snímky z dobré části preparátu, která nebyla předtím vystavena excitačnímu světlu. Při výběru části preparátu vhodné pro mikrofotografování použijte metodu diferenčního interferenčního kontrastu a metodu fázového kontrastu. Pro lepší výsledky přepněte na fluorescenční metodu a pořídte snímky.
- (4) Extrémně citlivá video kamera.
V některých případech může pomoci umístění absorpčního IR (infrachervené světlo) filtru před senzor extrémně citlivé video kamery. Vlastnosti IR filtru si otestujte.