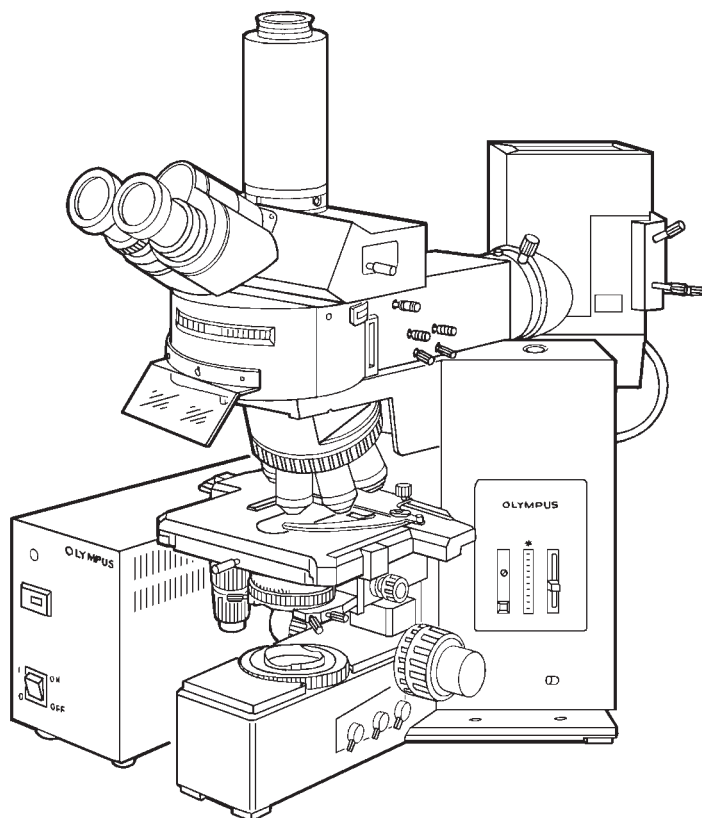


Fluorescenční jednotka BX-FLA



Návod k obsluze

CZ

OLYMPUS

Tato příručka je určena pro fluorescenční jednotku BX-FLA z produkce společnosti Olympus. Doporučujeme Vám si ji prostudovat dříve, než jednotku poprvé použijete. Informace uvedené v příručce Vám umožní plně se seznámit s fluorescenční jednotkou a optimálně využít jejích schopností. Příručku pečlivě uschovejte pro případné pozdější použití.

Důležitá upozornění

Fluorescenční jednotka používá optickou soustavu UIS (Universal Infinity System - Univerzální soustava s mezizobrazením v nekonečnu), a proto ji používejte pouze s mikroskopy, okuláry, objektivy a kondenzory UIS. Použití nevhodných optických členů může zhoršit kvalitu zobrazení.

Vyměnitelné kostky univerzálního vertikálního iluminátoru pro pozorování fluorescence v dopadajícím světle umožňují používat k excitaci světlo různých vlnových délek. Dovolují také kombinovat pozorování fluorescence v dopadajícím světle s pozorováním v procházejícím světle.

1. Fluorescence v dopadajícím světle + pozorování ve fázovém kontrastu v procházejícím světle
2. Fluorescence v dopadajícím světle + pozorování v Nomarského diferenciálním interferenčním kontrastu v procházejícím světle
3. Fluorescence v dopadajícím světle + pozorování ve světlém/temném poli v procházejícím světle

Po instalaci standardních kostek pro pozorování v odraženém světle lze použít následující metody pozorování:

1. Pozorování ve světlém/temném poli v odraženém světle
2. Pozorování v Nomarského diferenciálním interferenčním kontrastu v odraženém světle
3. Pozorování v polarizovaném odraženém světle

V této příručce naleznete informace k pozorování fluorescence v dopadajícím světle a pozorování v odraženém světle.

1. Použití fluorescenční jednotky

1. Fluorescenční jednotka je citlivé zařízení, zacházejte s ní proto velmi opatrně a chraňte ji před náhlými a prudkými nárazy.
2. Jednotka používá vysokotlakou rtuťovou výbojku USH102 a halogenovou žárovku 12 V/100 W (Philips 7724).
3. Zkontrolujte, zda je výbojka řádně instalována a všechny kabely jsou správně zapojeny.
4. Výbojka vydává ultrafialové záření, které pro Vás může být nebezpečné. Používejte UV stínítko iluminátoru.
5. Pokud výbojka svítí nebo je zhasnutá po dobu kratší než 10 minut, neotevírejte lampovou skříň. Některé části lampové skříně jsou velmi horké, mohli byste se spálit.
6. Některé části napájecího zdroje jsou pod vysokým napětím, jednotku nikdy nerozbírejte.
7. Při výměně výbojky vypněte před otevřením lampové skříně hlavní vypínač a odpojte propojovací kabel lampové skříně od napájecího zdroje. Počkejte alespoň 10 minut, dokud lampová skříň dostatečně nezchladne.
8. Před zapojením síťové šňůry se vždy přesvědčte, zda je hlavní vypínač vypnutý.

2. Péče o fluorescenční jednotku

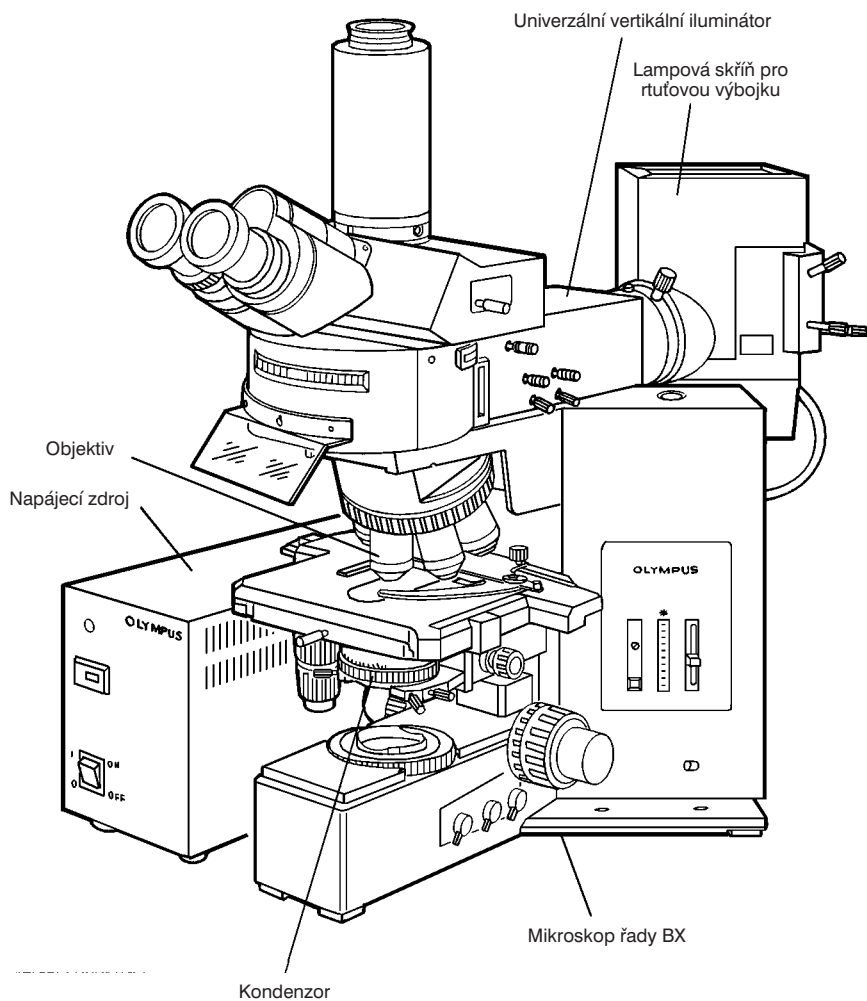
1. Všechny čočky, filtry a rtuťovou výbojku chraňte před znečištěním. Prach z nich odstraňte suchou jemnou gázou, otisky prstů a jiné mastné nečistoty setřete gázou, mírně navlhčenou v roztoku éteru a alkoholu v poměru 7:3.
 - ★ **Éter i alkohol jsou velmi snadno vznětlivé látky, ukládejte je proto v místnosti bez otevřeného plamene a možnosti vzniku elektrických výbojů.**
 - ★ **K čištění, zejména plastových částí, nikdy nepoužívejte organická rozpouštědla. Používejte jemnou látku, zbavenou prachu, zvlhčenou zředěným neutrálním čisticím prostředkem.**
2. Nerozebírejte jednotlivé části jednotky, můžete nepříznivě ovlivnit jejich činnost.
3. Životnost rtuťové výbojky je 200 hodin. Pokud údaj na počítadle napájecího zdroje signalizuje uplynutí této doby, výbojku vyměňte.
4. Nepoužíváte-li fluorescenční jednotku delší dobu, zakryjte ji protiprachovým krytem, který je součástí příslušenství, a uložte ji na suché a bezprašné místo.
5. Nebudete-li dichroickou zrcadlovou kostku používat, uložte ji do obalu na bezpečné místo.

Obsah

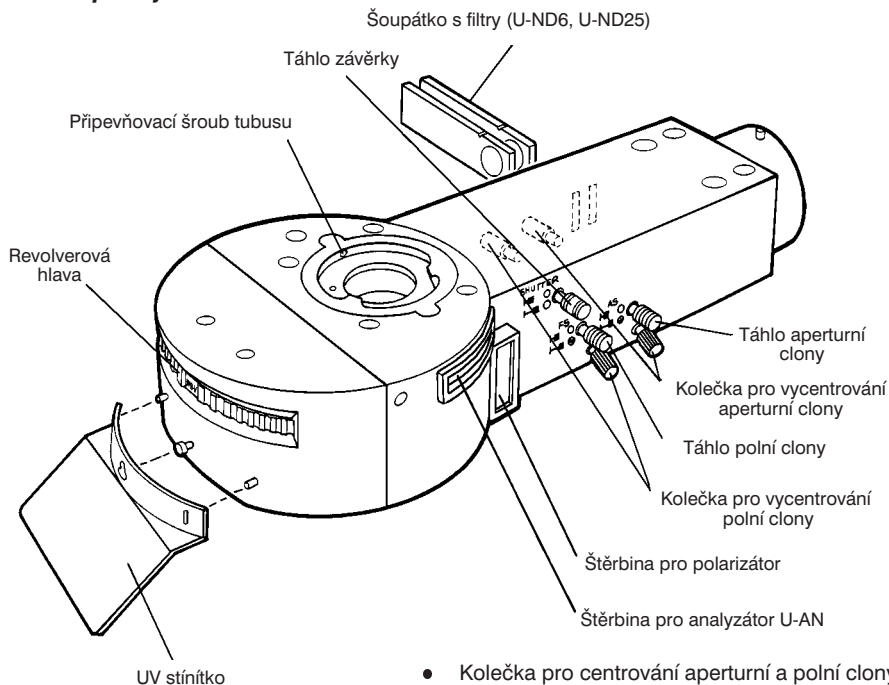
1. Popis fluorescenční jednotky	2
1. Sestava pro pozorování fluorescence v dopadajícím světle	2
2. Sestava pro pozorování v odraženém světle	5
2. Nastavení fluorescenční jednotky	7
3. Metody pozorování	16
1. Pozorování fluorescence v dopadajícím světle.	16
2. Současné pozorování fluorescence v dopadajícím světle a pozorování ve fázovém kontrastu v procházejícím světle	17
3. Současné pozorování fluorescence v dopadajícím světle a pozorování v Nomarského diferenciálním interferenčním kontrastu v procházejícím světle	17
4. Pozorování ve světlém/temném poli v odraženém světle	18
5. Pozorování v Nomarského diferenciálním interferenčním kontrastu v odraženém světle	19
6. Pozorování v polarizovaném odraženém světle	20
4. Optické charakteristiky	21
1. Křivky propustnosti kostek	21
2. Objektivy pro pozorování v odraženém světle	26
5. Odstranění potíží	28

1. Popis fluorescenční jednotky

1. Sestava pro pozorování fluorescence v dopadajícím světle

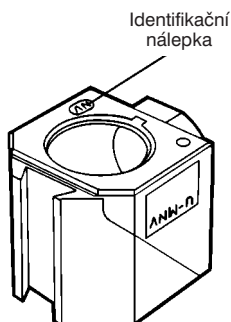


A. Univerzální vertikální iluminátor pro pozorování fluorescence v dopadajícím světle



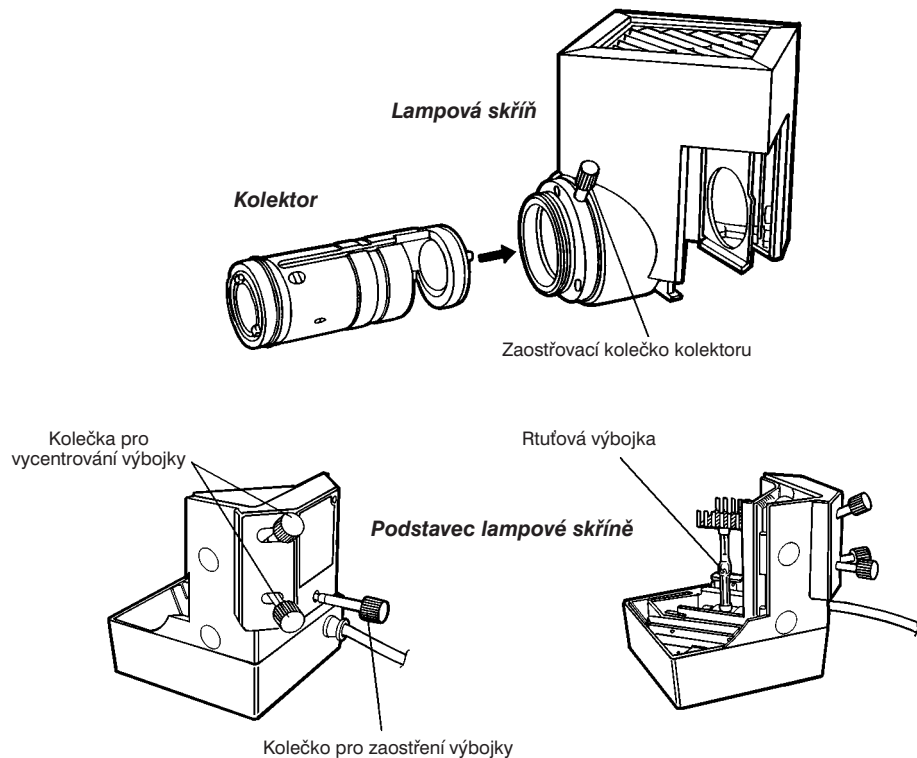
- Kolečka pro vycentrování aperturní a polní clony jsou i na druhé straně iluminátoru.

B. Kostka

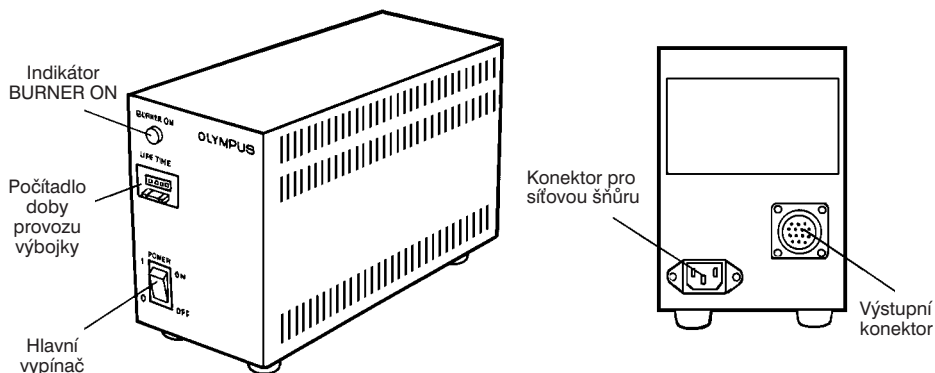


- ★ Skládá se z emisního a excitačního filtru a dichroického zrcadla.
- ★ Zrcadlovou kostku nikdy nerozebírejte.

C. Lampová skříň pro rtuťovou výbojku

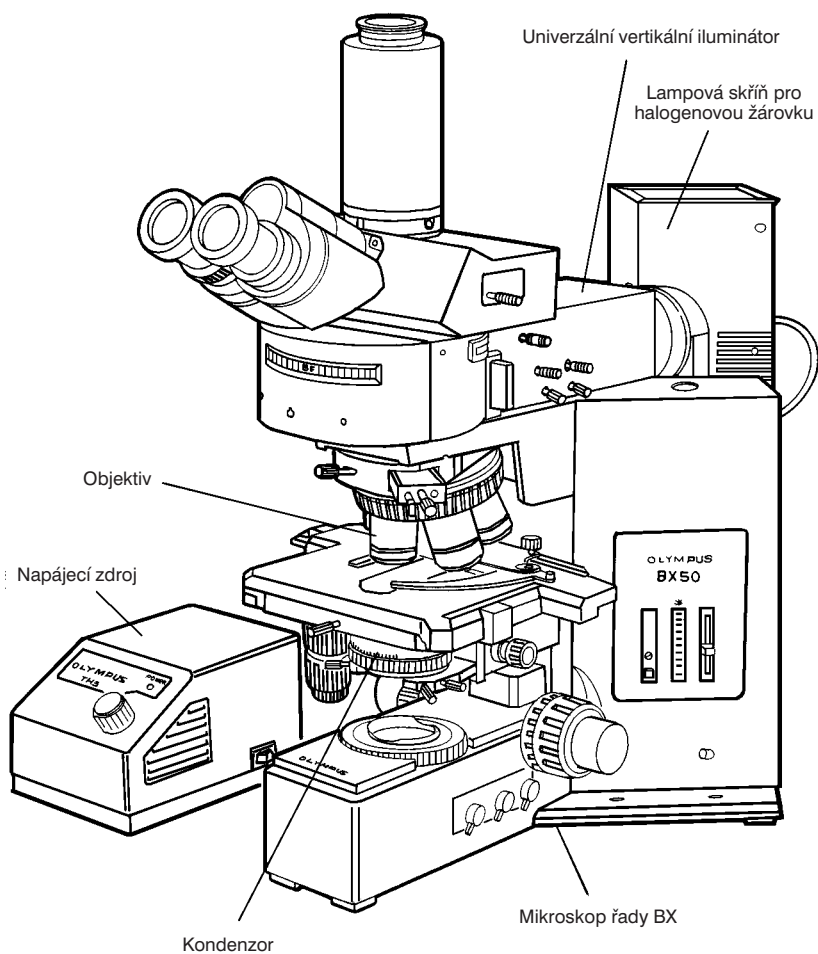


D. Napájecí zdroj



2. Sestava pro pozorování v odraženém světle

K pozorování ve světlém a tmavém poli v odraženém světle potřebujete univerzální vertikální iluminátor pro pozorování v odraženém světle (U-URA) společně s objektivy pro pozorování v odraženém světle a kostkou pro pozorování ve světlém poli (U-MBF) nebo tmavém poli (U-MDF).



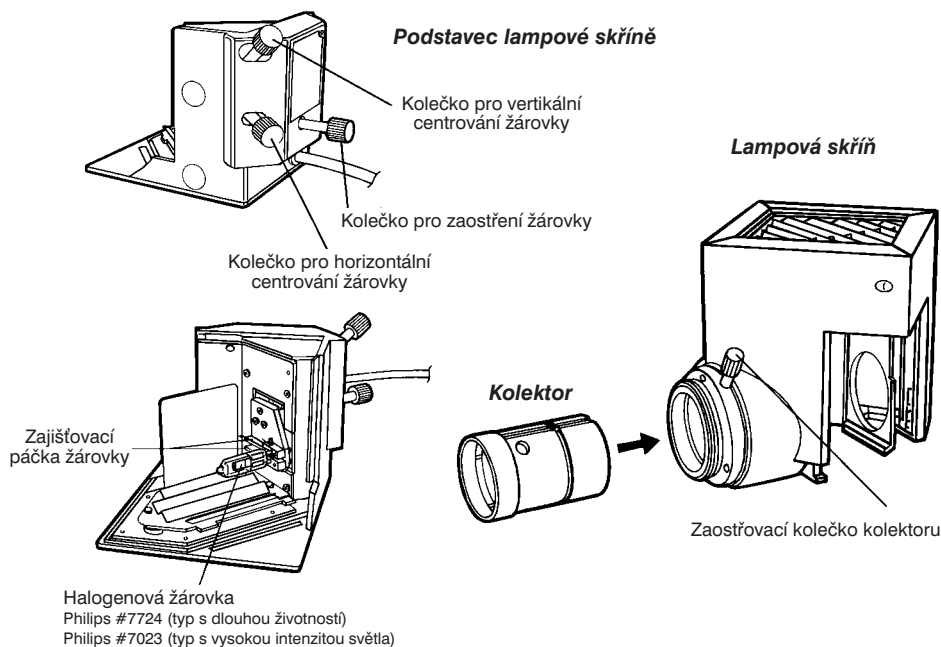
A. Univerzální iluminátor pro pozorování v odraženém světle

Používá se stejný iluminátor, jako pro pozorování fluorescence v dopadajícím světle.

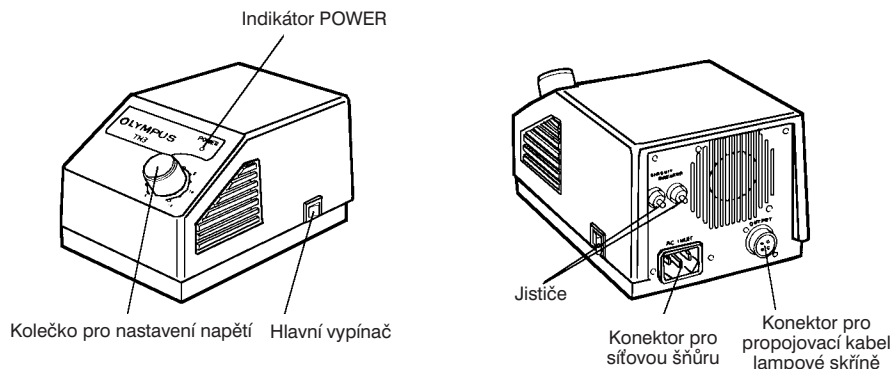
B. Kostka

Pro pozorování v odraženém světle se používají kostky pro světlé pole (U-MBF), temné pole (U-MDF) a pro diferenciální interferenční kontrast (U-MDIC) atd.

C. Světelný zdroj pro pozorování v odraženém světle



D. Napájecí zdroj



2. Nastavení fluorescenční jednotky

Všeobecné zásady

1. Přesvědčte se, zda šifrová šňůra a propojovací kabely jsou řádně zasunuty.
2. Pokud chcete pozorovat preparát také v procházejícím světle, ponechte na revolverové hlavě jednu pozici pro kostku volnou.
3. Během pozorování otevřete polní clonu tak, aby její obraz byl ohraničen zorným polem. Pokud není polní clona řádně vycentrována, vycentrujte ji příslušným ovládacím prvkem.
4. Při pozorování s imerzními objektivy vždy používejte imerzní olej.
5. Používáte-li objektivy s korekčními kroužky, například UPlanApo40x, můžete korekčními kroužky provést korekci rozdílné tloušťky krycích sklíček.

Postup při korekci:

Otáčejte korekčním kroužkem a současně doostřujte zaostřovacím kolečkem, dokud nezískáte ostrý obraz. Korekčními kroužky lze provést korekci pro krycí sklíčka od 0,11 do 0,23 mm.

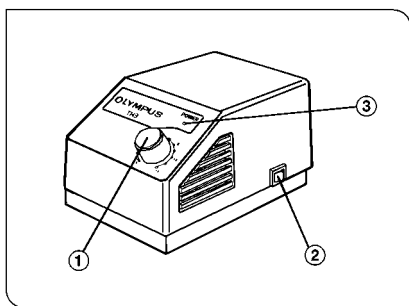
6. Chcete-li pozorování na krátkou dobu přerušit, uzavřete závěrku. Časté zapínání a vypínání ruťové výbojky zkracuje její životnost.

1. Zapnutí napájecího zdroje

Pozorování fluorescence v dopadajícím světle

Zapněte hlavní vypínač napájecího zdroje. Po rozsvícení výbojky počkejte 5 až 10 minut, než se řádně nažhaví.

- ★ **Některé ruťové výbojky se při prvním zapnutí napájecího zdroje nerozsvítí. V takovém případě napájecí zdroj vypněte, počkejte 5 až 10 minut a potom jej znovu zapněte.**
- ★ **Během 15 minut po rozsvícení výbojku nevypínejte, zkrátíte její životnost.**
- ★ **Jestliže výbojku vypnete, můžete ji znovu zapnout až po 10 minutách, potřebných ke zchladnutí a zkondenzování ruťových par.**
- ★ **Pokud je v době rozsvícení výbojky otevřena lampová skříň, ochranný systém automaticky vypne napájecí zdroj. V takovém případě vypněte hlavní vypínač, uzavřete lampovou skříň a počkejte 10 minut, než napájecí zdroj opět zapnete. Lampovou skříň neotevírejte, dokud výbojka dostatečně nezchladne.**
- ★ **Při nulování počítadla času na napájecím zdroji se přesvědčte, zda je na něm uveden údaj „000.0“.**



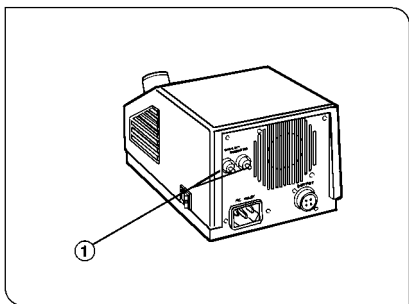
Obr. 1

2. Nastavení intenzity osvětlení

Pozorování v odraženém světle (obr. 1)

1. Přesvědčte se, že kolečko pro nastavení napětí (1) napájecího zdroje je otočeno do polohy „2“. Potom zapněte hlavní vypínač (2).
 - Rozsvítí se indikátor POWER (3) (zelený).
2. Otáčením kolečka pro nastavení napětí (1) ve směru pohybu hodinových ručiček se zvyšuje napětí.

3. Otáčejte kolečkem pro nastavení napětí, dokud nenastavíte intenzitu světla, vhodnou pro pozorování.
 - Chcete-li při mikrofotografování změnit intenzitu světla a přitom zachovat teplotu chromatičnosti světelného zdroje, použijte ND filtr.

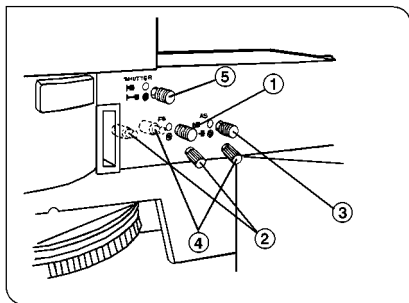


Obr. 2

Jističe (obr. 2)

Jističe (1) se aktivují při závadě obvodů pro nastavení intenzity světla (např. při zkratu) nebo při přetížení. Po aktivaci se vysune tlačítko uprostřed jističů a vypne se hlavní vypínač.

Stiskem těchto tlačítek jističe opět zapnete. Pokud se jističe opět aktivují, odpojte síťovou šňůru ze zásuvky elektrické sítě a obraťte se na servisní oddělení společnosti Olympus.



Obr. 3

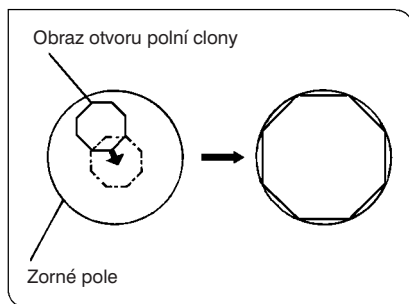
3. Centrování polní clony (obr. 3)

Poznámka:

Pro pozorování v odraženém světle platí pouze body 4 - 8.

1. Vytáhnutím táhla závěrky iluminátoru (5) přerušíte světelnou dráhu.
2. Zařadíte do světelné dráhy kostku pro B nebo IB excitaci. Pokud nemáte takovou kostku k dispozici, použijte jinou kostku pro pozorování fluorescence.
3. Zásunutím táhla závěrky iluminátoru (5) uvolníte světelnou dráhu.

- Otočením revolverového nosiče zařadíte do světelné dráhy objektiv zvětšující 10x, umístíte preparát na stolek mikroskopu a zaostřete na něj.
- Vytažením táhla polní clony (1) univerzálního vertikálního iluminátoru uzavřete polní clonu.
- Otáčením dvou koleček pro centrování polní clony (2) posuňte obraz otvoru clony doprostřed zorného pole.
- Kontrolu vycentrování polní clony proveďte vytažením táhla (1) do polohy, při níž se bude obraz clony dotýkat okrajů zorného pole. Pokud není obraz přesně uprostřed zorného pole, clonu znovu vycentrujte.
- Otevřete polní clonu tak, aby její obraz právě překryl zorné pole.



Obr. 4

4. Nastavení polní clony (obr. 3, 4)

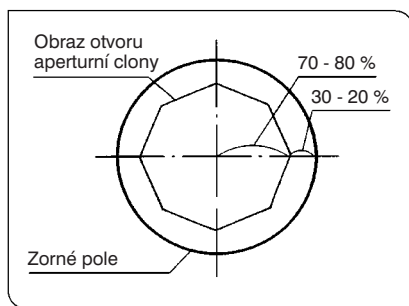
K dosažení dobře kontrastního obrazu je nutné nastavit průměr osvětlovacího paprsku, v závislosti na použitém objektivu. Táhlem polní clony (1) vertikálního iluminátoru otevřete clonu tak, aby se její obraz právě ztratil za okrajem zorného pole. Zabráníte tak pronikání vnějšího světla k preparátu.

★ **Při pozorování v temném poli v odraženém světle vždy zasunutím táhla (1) otevřete polní clonu.**

5. Centrování aperturní clony

Pozorování fluorescence v dopadajícím světle (obr. 3)

- Vytažením táhla závěrky iluminátoru (5) přerušte světelnou dráhu.
- Zařadíte do světelné dráhy kostku pro B nebo IB excitaci. Pokud nemáte takovou kostku k dispozici, použijte jinou kostku pro pozorování fluorescence.
- Zasunutím táhla clony iluminátoru (5) uvolněte světelnou dráhu.
- Povytažením táhla (3) uzavřete aperturní clonu.
- Otáčením dvou koleček pro centrování aperturní clony (4) posuňte obraz jejího otvoru doprostřed zorného pole.
- Zasunutím táhla (3) otevřete aperturní clonu.



Obr. 5

Pozorování v odraženém světle (obr. 3, 5)

1. Otočením revolverového nosiče zařadíte do světelné dráhy objektiv zvětšující 10x, umístíte preparát na stolek mikroskopu a zaostřete na něj.
2. Sejměte okuláry a podívejte se přímo do objímek pro jejich připevnění. Vytáhněte táhlo aperturní clony tak, aby obraz otvoru clony vyplnil přibližně 70 - 80 % zorného pole.
3. Pokud není obraz otvoru aperturní clony přesně uprostřed zorného pole, vycentrujte ji pomocí dvou centrovacích koleček (4).

6. Nastavení aperturní clony (obr. 3)

Pozorování fluorescence v dopadajícím světle

Numerická apertura osvětlovacího systému ovlivňuje jas obrazu pozorovaného preparátu.

Při běžném pozorování fluorescence zcela otevřete aperturní clonu úplným zasunutím táhla (3).

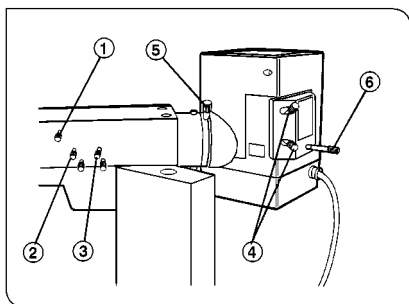
Jestliže preparát rychle bledne pod vlivem silného osvětlení, použijte ND filtr. Pokud ND filtr osvětlení dostatečně nepotlačí, uzavřete aperturní clonu. Aperturní clonu uzavírejte pouze, pokud je to nezbytné, nepoužívejte ji místo závěrky iluminátoru.

Pozorování ve světlém poli v odraženém světle

Nastavením numerické apertury osvětlovacího systému můžete upravit hloubku ostroty, kontrast, rozlišení atd.

Pozorování v tmném poli v odraženém světle

Při pozorování v tmném poli v odraženém světle vždy otevřete aperturní clonu úplným zasunutím táhla (3).



Obr. 6

7. Centrování rtuťové výbojky

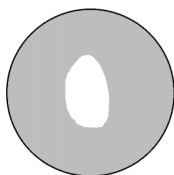
Pozorování fluorescence v dopadajícím světle (obr. 6, 7)

- Po zapnutí výbojky počkejte 5 - 10 minut, potřebných ke stabilizaci jejího vyzařování.
- Před centrováním výbojky vycentrujte aperturní clonu.

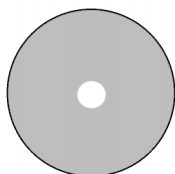
- Vytažením táhla závěrky iluminátoru (5) přerušíte světelnou dráhu.
- Zařadíte do světelné dráhy kostku pro B nebo IB excitaci. Pokud nemáte takovou kostku k dispozici, použijte jinou kostku pro pozorování fluorescence.

★ **Pro centrování výbojky nepoužívejte kostku pro UV excitaci. Pokud nemáte k dispozici jinou kostku, použijte UV stínítko.**

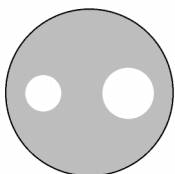
- Vyjměte z revolverového nosiče objektiv nebo z neosazené pozice sejměte kryt. Neosazenou pozici zařadíte do světelné cesty.
- Vytažením táhla polní clony (2) přivřete polní clonu, zasunutím táhla aperturní clony (3) zcela otevřete aperturní clonu.
- Umístěte na stolek bílý papír a pak zasunutím táhla závěrky iluminátoru (1) uvolníte světelnou dráhu.
- Otáčejte kolečky pro vycentrování výbojky (4), dokud v zorném poli neuvídněte světelnou stopu.
- Zaostřovacím kolečkem kolektoru (5) zaostříte světelnou plochu (obr. 7a).
- Kolečky pro centrování výbojky (4) posuňte světelnou plochu přibližně doprostřed zorného pole (obr. 7a).
- Otáčením kolečka pro zaostření výbojky (6) zmenšíte co nejvíce světelnou plochu (obr. 7b).
- Kolečky pro centrování výbojky (4) rozložíte světelnou plochu na dva kruhy (obr. 7c).



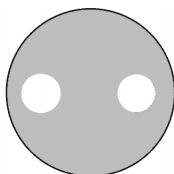
Obr. 7a



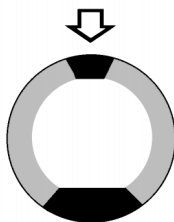
Obr. 7b



Obr. 7c



Obr. 7d

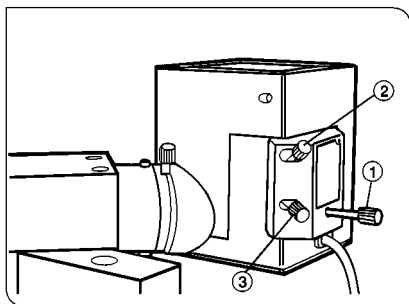


Obr. 7e

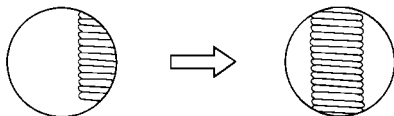
12. Kolečkem pro zaostření výbojky (6) nastavte přibližně stejnou velikost obou kruhů (obr. 7d).
13. Otáčením koleček pro centrování výbojky (4) posuňte kruhy přes sebe. Potom zasunutím táhla polní clony clonu otevřete.
14. Otáčejte zaostřovacím kolečkem kolektoru (5), dokud neuvidíte obraz jako na obr. 7e. Nyní je výbojka vycentrována. Mírné odchýlení středu světlé plochy od středu zorného pole, kvalitu pozorování neovlivní.
15. Před pozorováním nastavte zaostřovacím kolečkem kolektoru (5) stejnoměrné osvětlení.

★ **Jestliže je výbojka zapnutá nebo jste ji právě vypnuli, neotevírejte lampovou skříň, můžete se spálit.**

- Po výměně vždy výbojku vycentrujte.



Obr. 8

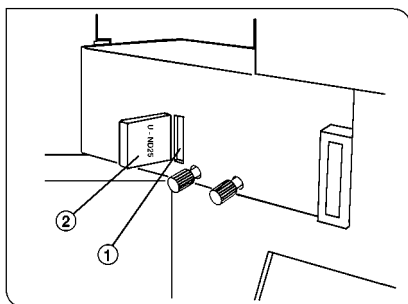


Obr. 9

8. Centrování halogenové žárovky (obr. 8, 9)

Před centrováním halogenové žárovky vyjměte ze světelné dráhy analyzátor, polarizátor a filtry.

1. Zařaďte do světelné dráhy objektiv zvětšující 10x.
2. Umístěte na stolek preparát a zaostřete na něj.
3. Sejměte jeden okulár a posuňte obraz vlákna žárovky doprostřed zorného pole. K zaostření použijte kolečko pro zaostření žárovky (1), pro vertikální posuv centrovací kolečko (2) a pro horizontální posuv centrovací kolečko (3).
4. Zasuňte analyzátor, polarizátor a filtry do původní polohy.



Obr. 10

9. Výměnné filtry (obr. 10)

V případě potřeby můžete do otvorů (1) a (2) vsunout filtry (ND6 a/nebo ND25). Filtry zasouvejte stranou s popisem k sobě.

Při zasouvání filtrů zaslechnete dvě cvaknutí, první při zasunutí filtru do základní polohy, druhé při zařazení filtru do světelné dráhy.

★ **Pokud filtr používáte pro déle trvající pozorování fluorescence, bude jeho kovový rámeček velmi horký (zahřátý od výbojky).**

	Filtr	Použití
①	U-FR (matný filtr)	Potlačuje nerovnoměrné osvětlení.
②	U-LBD (filtr pro vyvážení barev)	Filtr zabezpečuje řádné vyvážení barev. Usnadňuje pozorování, je vhodný pro barevnou mikrofotografii.
	U-IF550 (zelený filtr)	Zvyšuje kontrast při černobílém pozorování. Je vhodný pro černobílou fotografii.
	U-ND25 (filtr s neutrální absorbcí)	Používá se k nastavení jasu (hustota filtru 25 %).
	U-ND6 (filtr s neutrální absorbcí)	Používá se k nastavení jasu (hustota filtru 6 %).

10. Přehled objektivů pro jednotlivé metody pozorování fluorescence

Objektiv		Fluorescence v dopadajícím světle		Fázový kontrast v procház. světle	Nomarského DIC v procház. světle
		U, V, BV	B, IB, G, IY		
UPlanApo	4x	○	○	-	-
	10x	○	○	*	○
	20x	○	○	*	○
	40x	○	○	-	○
	40xoi	○	○	*	○
	100xoi	○	○	*	○
PlanApo	1,25x	-	-	-	-
	2x	-	-	-	-
	40x	-	○	-	-
	60xo	○	○	*	○
	100xo	-	○	-	-
UPlanFI	4x	□	□	-	-
	10x	□	□	*	○
	20x	□	□	*	○
	40x	□	□	*	○
	100xo	○	○	*	○
	100xoi	○	○	-	○
UApo	20x	○	○	-	○
	40x	○	○	-	○
	40xoi	○	○	-	○

○ Doporučená kombinace

□ Použitelná kombinace, obraz však může být tmavý, v závislosti na numerické apertuře objektivu

- Nepoužitelná kombinace nebo není dostupný vhodný objektiv

* Pro pozorování fázového kontrastu je potřebný objektiv pro fázový kontrast (Ph),

11. Kostky

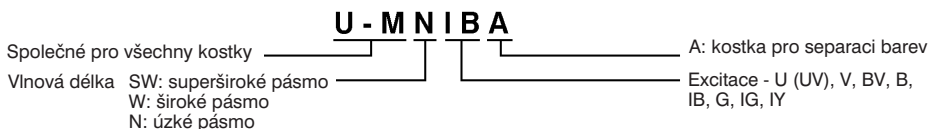
Vyberte vhodnou kostku pro pozorování fluorescence.

★ **Kostku pro pozorování ve světlém poli nikdy nepoužívejte spolu s kostkami pro pozorování fluorescence, mohli byste si poškodit zrak.**

- Kostku vybírejte podle druhu excitace a šířky pásma. V některých případech jsou přípustné excitační filtry s různými šířkami pásma. Obvykle se používají širokopásmové excitační filtry (jsou označeny W). V následujícím textu budou uvedeny pouze kombinace, umožňující dosažení nejlepších výsledků.

Kombinace dichroických zrcadel a filtrů					
Excitace	Kostka	Dichroické zrcadlo	Excitační filtr	Bariérový filtr	Použití
UV	U-MWU	DM400	BP330-385	BA420	• Autofluorescence • DAPI: obarvení DNA • Hoechst 33258, 33342
	U-MNU		BP360-370		
V	U-MNV	DM455	BP400-410	BA455	• Catecholamine • Serotonin • Tetracyline
BV	U-MWBV	DM455	BP400-440	BA475	• Quinacrine, mustard • Thioflavine S • Acriflavine
	U-MNBV		BP420-440		
B	U-MWB	DM500	BP450-480	BA515	• FITC • Acridine orange: DNA, RNA • Auramine
	U-MNB		BP470-490		
	U-MSWB		BP420-480		
IB	U-MWIB	DM505	BP460-490	BA515IF	
	U-MNIB		BP470-490		
G	U-MWG	DM570	BP510-550	BA590	• Rhodamine, TRITC • Propidium iodide: DNA
	U-MNG		BP530-550		
	U-MSWG		BP480-550		
IG	U-MWIG	DM565	BP520-550	BA580IF	• Texas red
IY	U-MWIY	DM600	BP545-580	BA610IF	
Kombinace s pásmovými bariérovými filtry					
U	U-MNUA	DM400	BP360-370	BA420-460	Pouze pro pozorování barviva buzeného UV, použitého spolu s FITC
IB	U-MWIBA	DM505	BP460-460	BA515-550	Pouze pro pozorování FITC při použití FITC, TRITC nebo Texas red pro dvojité obarvení
	U-MNIBA		BP470-490		

Označení kostek



3. *Metody pozorování*

1. *Pozorování fluorescence v dopadajícím světle*

1. Zařaďte do světelné dráhy vhodnou kostku.
2. Zařaďte do světelné dráhy vhodný objektiv.
3. Otevřete závěrku iluminátoru a zaostřete na preparát.

Fluorescenční jednotka vydává světlo, jehož intenzita zajišťuje jasný obraz i při pozorování tmavých fluoreskujících preparátů. To však může při pozorování s objektivy s velkým zvětšením způsobit rychlé blednutí preparátu a snížení kontrastu obrazu.

V takovém případě musíte snížit intenzitu osvětlení. Blednutí se zpomalí a obraz bude kontrastnější.

Intenzitu světla doporučujeme snižovat použitím vhodného ND filtru nebo aperturní clonou. Pokud nechcete preparát vystavovat světlu déle než je nezbytně nutné, uzavřete závěrku iluminátoru.

Blednutí preparátu lze zpomalit i použitím činidla proti blednutí (např. DABCO). Činidlo je doporučeno především pro pozorování objektivy s velkým zvětšením.

Činidlo proti blednutí nelze pro některé druhy preparátů použít.

- ★ **Fluorescenční jednotku můžete, kromě pozorování fluorescence v dopadajícím světle, použít pro pozorování ve světlém poli v procházejícím světle, pozorování ve fázovém kontrastu v procházejícím světle nebo pozorování v Nomarského diferenciálním interferenčním kontrastu v procházejícím světle. U rychle blednoucích preparátů je k nastavení polohy vhodné použít metodu pozorování ve fázovém kontrastu nebo v diferenciálním interferenčním kontrastu. Obě metody Vám také usnadní vyhledání fluoreskujících částí preparátů pro následné pozorování fluorescence v dopadajícím světle.**

2. *Současné pozorování fluorescence v dopadajícím světle a pozorování ve fázovém kontrastu v procházejícím světle*

K pozorování ve fázovém kontrastu potřebujete kondenzor pro fázový kontrast (U-PCD) nebo univerzální kondenzor (U-UCDB) a objektiv pro fázový kontrast (viz část 8 na str. 15).

1. Otočením revolverové hlavy zařadíte do světelné dráhy prázdnou pozici bez kostky.
2. V kondenzoru zařadíte odpovídající destičku pro fázový kontrast.
3. Centrovacím kolečkem vycentrujete destičku pro fázový kontrast.
4. Zařadíte do světelné dráhy kostku pro zvolenou excitaci a otevřete závěrku iluminátoru.
5. Nastavte intenzitu procházejícího světla tak, aby co nejlépe vyhovovala pozorování fluorescence a pozorování ve fázovém kontrastu.
 - ★ **Intenzitu světla upravte použitím ND filtru nebo regulátorem intenzity světla na stativu mikroskopu.**

3. *Současné pozorování fluorescence v dopadajícím světle a pozorování v Nomarského diferenciálním interferenčním kontrastu v procházejícím světle*

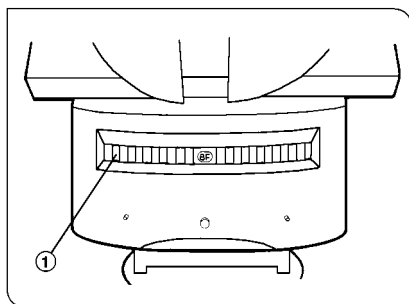
1. Zavřete závěrku iluminátoru.
2. Zasuňte DIC šoupátko (U-DICT) s analyzátozem (U-AN) do otvoru v revolverovém nosiči objektivů.
3. Seřídte polarizátor.
4. Otočením revolverové hlavy kondenzoru zvolte DIC hranol, odpovídající použitému objektivu.
5. Otočením revolverového nosiče zařadíte zvolený objektiv do světelné dráhy.
6. Umístěte preparát na stolek a zaostřete na něj.
7. Nastavte polní clonu ve stativu mikroskopu a aperturní clonu kondenzoru.
8. Otočením kolečka na DIC šoupátku nastavte kontrast obrazu.
9. Zařadíte do světelné dráhy kostku pro zvolenou excitaci a otevřete závěrku iluminátoru.
10. Nastavte intenzitu procházejícího světla tak, aby co nejlépe vyhovovala pozorování fluorescence a pozorování v diferenciálním interferenčním kontrastu.

4. Pozorování ve světlém/temném poli v odraženém světle

1. Volba světelné dráhy (obr. 11)

Podle zvolené metody pozorování nastavte otočením revolverové hlavy (1) kostku BF nebo DF.

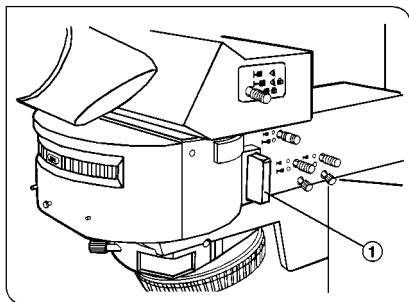
Pozorování	Kostka	Aperturní clona a polní clona	ND filtr pro potlačení lesku
Ve světlém poli v odraženém světle	BF	Nastavení dle potřeby	Zasunutý
V temném poli v odraženém světle	DF	Otevřené	



2. ND filtr pro potlačení lesku (obr. 12)

1. Zasuňte do otvoru na pravé straně vertikálního iluminátoru ND filtr pro potlačení lesku (1).
2. Při zasouvání filtru zaslechnete dvě cvaknutí, první při zasunutí filtru do základní polohy, druhé při zařazení filtru do světelné dráhy.
3. ND filtr při zařazení do světelné dráhy potlačuje lesk, patrný při přepínání ze světlého na temné pole.

Jestliže je během pozorování ve světlém poli intenzita světla příliš nízká, potřebujete-li zkrátit expoziční čas při mikrofotografování nebo chcete-li zesvětlit zorné pole při pozorování v temném poli, vyřadte filtr ze světelné dráhy.

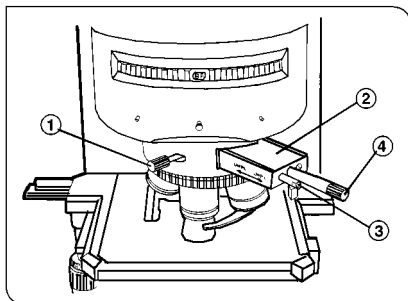


5. Pozorování v Nomarského diferenciálním interferenčním kontrastu v odraženém světle

1. Volba světelné dráhy (obr. 11)

Zařaďte do světelné dráhy kostku BF, polarizátor a analyzátor nastavte do zkřížené pozice a zasuňte DIC hranol.

Pokud je v revolverové hlavě zasazena DIC kostka (U-MDIC), zařaďte ji do světelné dráhy. Analyzátor a polarizátor (zabudované v kostce) jsou ve zkřížené pozici, nemusíte je proto nastavovat.



Obr. 13

2. Instalace DIC hranolu (obr. 13)

1. Uvolněte pojistný šroub (1) na přední stěně revolverového nosiče objektivů a vsuňte do příslušného otvoru DIC hranol (U-DICR), stranou s popisem směrem nahoru. Opětovným zašroubováním pojistného šroubu hranol upevněte.
2. Používáte-li objektiv UMPlan, zasuňte táhlo (3). Pokud používáte objektiv LMPlan, táhlo vytáhněte.

3. Vlastní pozorování (obr. 13)

1. Položte preparát na stolek mikroskopu a zaostřete na něj.
2. Nastavte polní clonu tak, aby se obraz jejího otvoru právě ztratil za okrajem zorného pole.
3. Aperturní clonou zacloňujte objektiv, dokud se dostatečně nezvýší kontrast obrazu.
4. V závislosti na sledovaném preparátu nastavte otáčením ovládacího prvku hranolu (4) maximální kontrast obrazu.
 - a) Otáčením ovládacího prvku hranolu se souvisle mění interferenční barva pozadí z šedé na purpurovou.
 - Pokud je barva pozadí černá, lze preparát pozorovat v temném poli.
 - Pokud je barva pozadí šedá, můžete získat trojrozměrný obraz s velkým kontrastem v odstínech šedi.
 - Pokud je barva pozadí purpurová, mohou být malé optické překážky pozorovány jako barevné změny.
 - ★ **Povrch preparátu musí být čistý, neboť i malé množství nečistot na povrchu preparátu může negativně ovlivnit metodu pozorování v diferenciálním interferenčním kontrastu v odraženém světle.**
 - b) Metoda pozorování v diferenciálním interferenčním kontrastu je velmi citlivá na nasměrování preparátu, proto používejte otočný stolek.

6. Pozorování v polarizovaném odraženém světle

Nastavte polarizátor a analyzátor do zkřížené pozice.

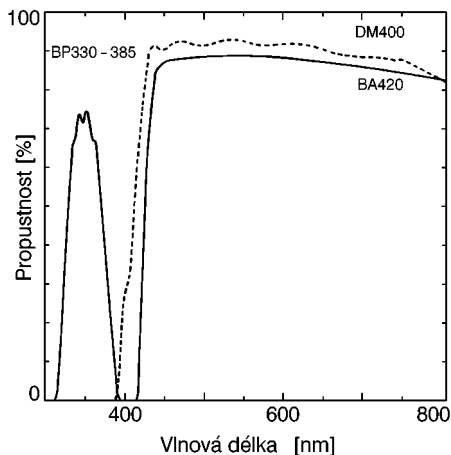
1. Vlastní pozorování

1. Položte preparát na stolek mikroskopu a zaostřete na něj. Nyní můžete pozorovat preparát v polarizovaném světle.
2. Nastavte polní clonu tak, aby se obraz jejího otvoru právě ztratil za okrajem zorného pole.
3. Aperturní clonou zacloňujte objektiv, dokud se dostatečně nezvýší kontrast obrazu.

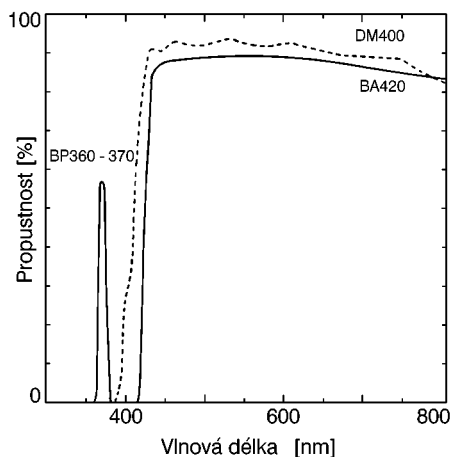
4. Optické charakteristiky

1. Křivky propustnosti kostek

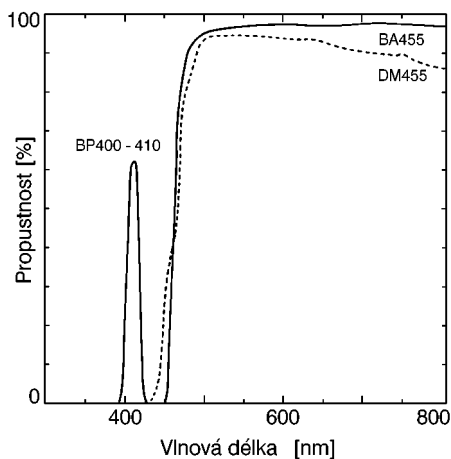
1. Kostka pro UV excitaci (široké pásmo)
U-MWU



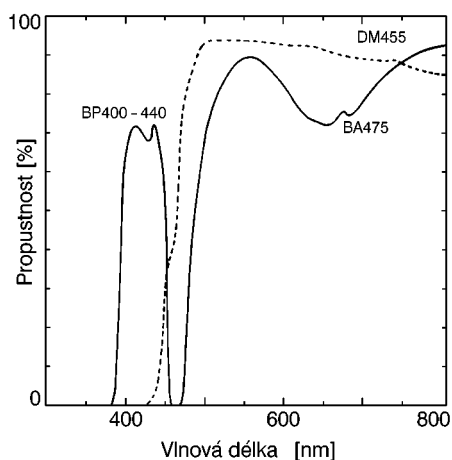
2. Kostka pro UV excitaci (úzké pásmo)
U-MNU



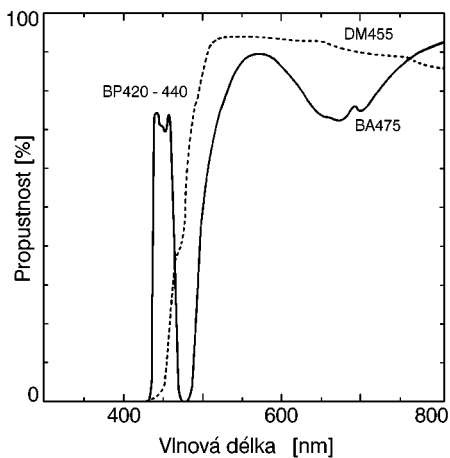
3. Kostka pro V excitaci (úzké pásmo)
U-MNV



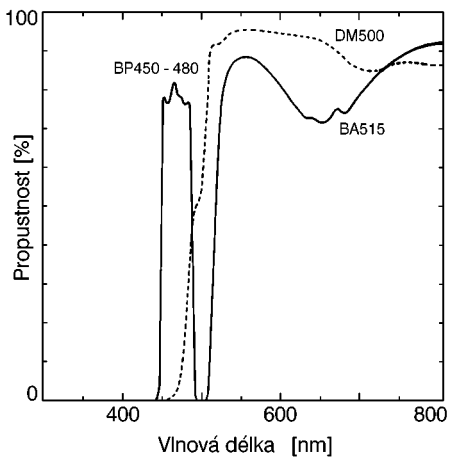
4. Kostka pro BV excitaci (široké pásmo)
U-MWBV



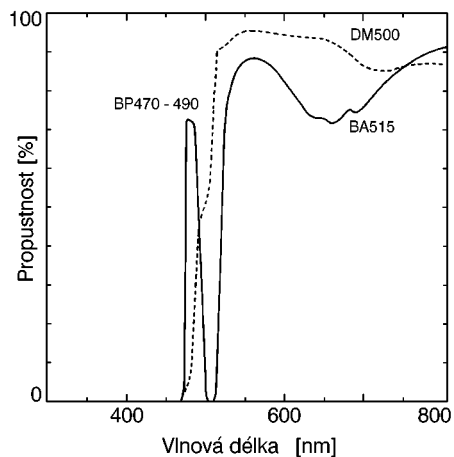
**5. Kostka pro BV excitaci (úzké pásmo)
U-MNBV**



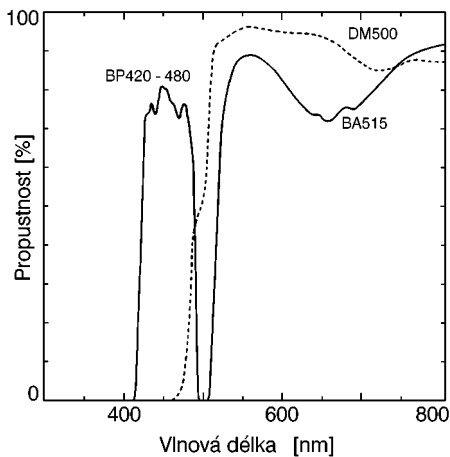
**6. Kostka pro B excitaci (šíroké pásmo)
U-MWB**



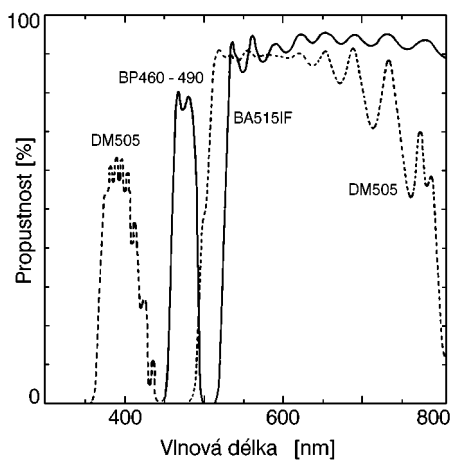
**7. Kostka pro B excitaci (úzké pásmo)
U-MNB**



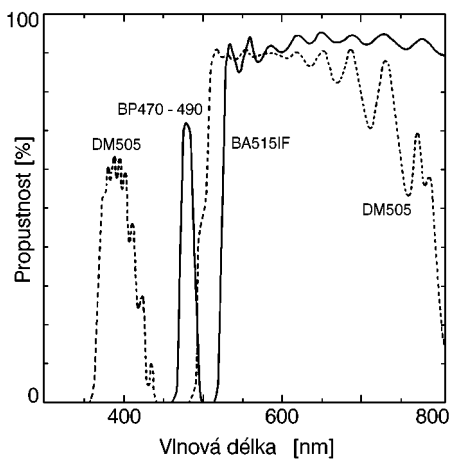
**8. Kostka pro B excitaci (superšíroké
pásmo) U-MSWB**



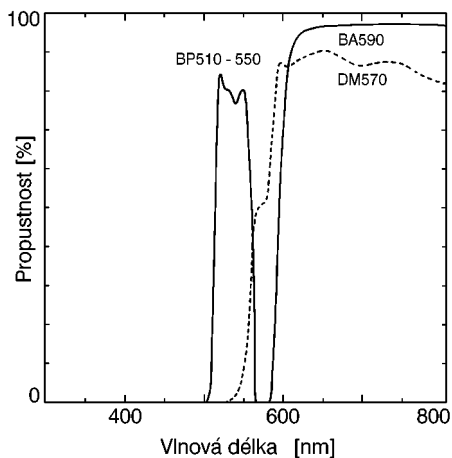
**9. Kostka pro IB excitaci (široké pásmo)
U-MWIB**



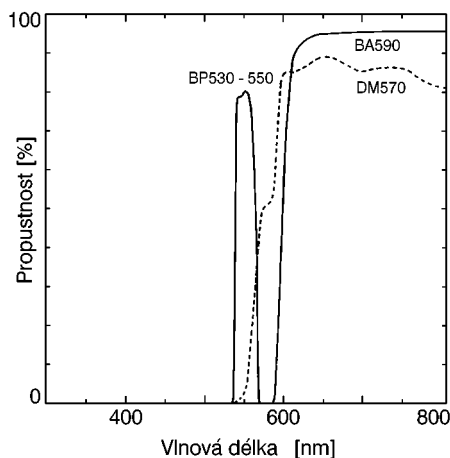
**10. Kostka pro IB excitaci (úzké pásmo)
U-MNIB**



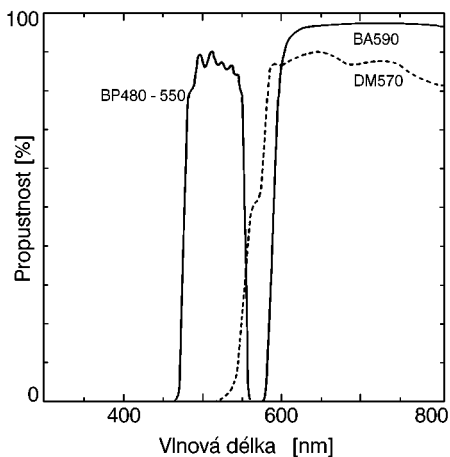
**11. Kostka pro G excitaci (široké pásmo)
U-MWG**



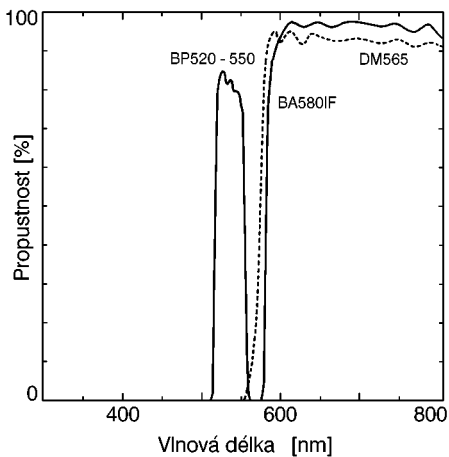
**12. Kostka pro G excitaci (úzké pásmo)
U-MNG**



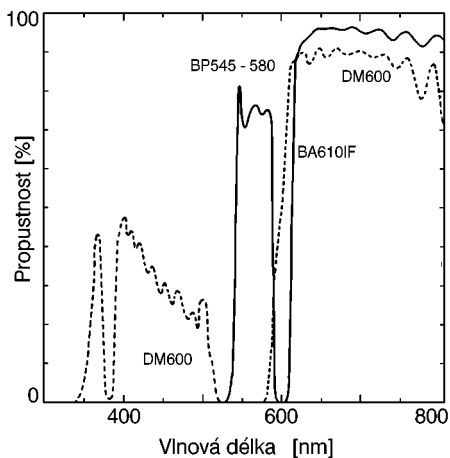
13. Kostka pro G excitaci (superširoké pásmo) SWG



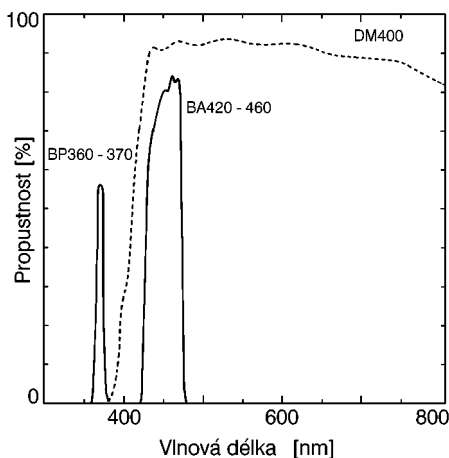
14. Kostka pro IG excitaci (široké pásmo) U-MWIG



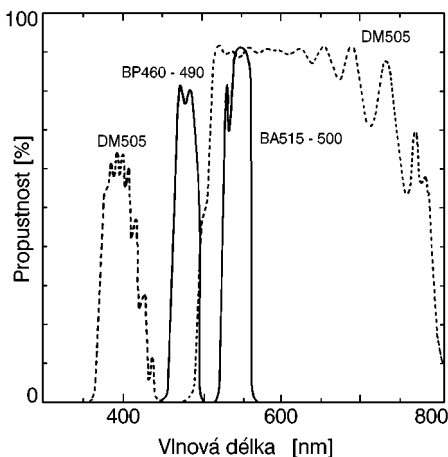
15. Kostka pro IY excitaci (široké pásmo) U-MWIY



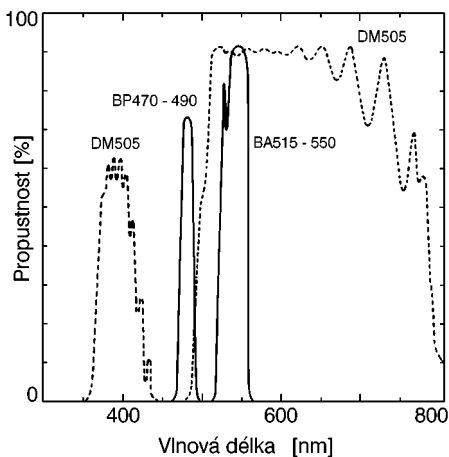
16. Kostka pro U excitaci pro separaci barev (úzké pásmo) U-MNUA



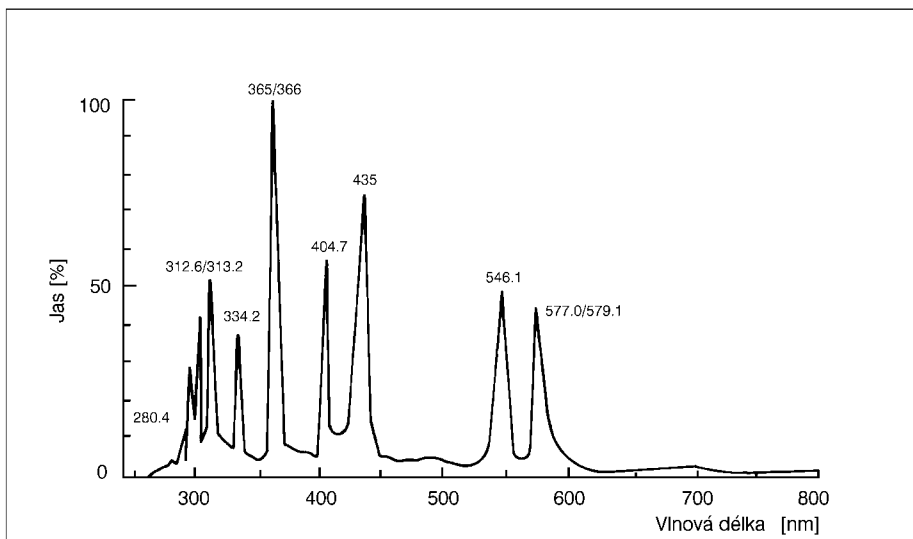
17. Kostka pro IB excitaci pro separaci barev (široké pásmo) U-MWIBA



18. Kostka pro IB excitaci pro separaci barev (úzké pásmo) U-MNIBA

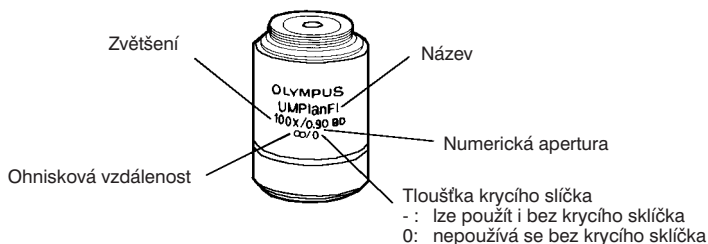


Spektrální diagram vysokotlaké rtuťové výbojky



Z mnoha vlnových délek je vybrána určitá délka, která je použita pro osvětlení fluorescenční barvy. Pro tento účel se používá 5 základních vlnových délek 365/366, 404,7, 435, 546,1 a 577,0/579,1 nm. Lze použít i jiné vlnové délky, u nich ale nelze dosáhnout tak vysoký jas.

2. Objektivy pro pozorování v odraženém světle



V tabulce jsou objektivy uvedeny pod následujícími čísly:

- 1 MPlan/Plan Achromatic
- 2 MPlan-BD/Plan Achromatic pro světlé a tmavé pole
- 3 UPlan FI/Universal Plan Semi Apochromatic
- 4 UPlan FI-BD/Universal Plan Semi Apochromatic pro světlé a tmavé pole
- 5 UPlan FI-BDP/Universal Plan Semi Apochromatic pro odražené polarizované světlo
- 6 LMPlan FI Semi Apochromatic pro světlé a tmavé pole a velké pracovní vzdálenosti
- 7 LMPlan FI-BD Semi Apochromatic pro světlé a tmavé pole a velké pracovní vzdálenosti
- 8 MPlan Apo Plan Apochromatic
- 9 LMPlan Apo Semi Apochromatic pro velké pracovní vzdálenosti
- 10 LMPlan Apo-BD Apochromatic pro velké pracovní vzdálenosti

Objektiv	Zvětšení	Numerická apertura	Prac. vzdálenost [mm]	Tloušťka krycího sklíčka [mm]	Rozlišení [μm]	Okulár					
						WH10x (ČP22)			WH15x (ČP14)		
						Celkové zvětšení	Hloubka ostrosti [μm]	Zorné pole	Celkové zvětšení	Hloubka ostrosti [μm]	Zorné pole
1	5x	0,10	19,6	-	3,36	50x	97,5	4,4	75x	74,2	2,8
	10x	0,25	10,6	-	1,34	100x	18,4	2,2	150x	13,7	1,4
	20x	0,40	1,3	0	0,84	200x	6,09	1,1	300x	4,64	0,7
	50x	0,75	0,38	0	0,45	500x	1,42	0,44	750x	1,11	0,28
	100x	0,90	0,21	0	0,37	1000x	0,73	0,22	1500x	0,60	0,14
2	5x	0,10	12,0	-	3,36	50x	97,5	4,4	75x	74,2	2,8
	10x	0,25	6,5	-	1,34	100x	18,4	2,2	150x	13,7	1,4
	20x	0,40	1,3	0	0,84	200x	6,09	1,1	300x	4,64	0,7
	50x	0,75	0,38	0	0,45	500x	1,42	0,44	750x	1,11	0,28
	100x	0,90	0,21	0	0,37	1000x	0,73	0,22	1500x	0,60	0,14

Objektiv	Zvětšení	Numerická apertura	Prac. vzdálenost [mm]	Tloušťka krycího sklíčka [mm]	Rozlišení [μm]	Okulár					
						WH10x (ČP22)			WH15x (ČP14)		
						Celkové zvětšení	Hloubka ostrosti [μm]	Zorné pole	Celkové zvětšení	Hloubka ostrosti [μm]	Zorné pole
3	5x	0,15	20,0	-	2,24	50x	58,9	4,4	75x	43,3	2,8
	10x	0,30	10,1	-	1,12	100x	14,7	2,2	150x	10,8	1,4
	20x	0,46	3,1	0	0,73	200x	5,10	1,1	300x	3,84	0,7
	40x	0,75	0,63	0	0,45	400x	1,66	0,55	600x	1,27	0,35
	50x	0,80	0,66	0	0,42	500x	1,30	0,44	750x	1,01	0,28
	100x	0,95	0,31	0	0,35	1000x	0,67	0,22	1500x	0,55	0,14
4	5x	0,15	12,0	-	2,24	50x	58,9	4,4	75x	43,3	2,8
	10x	0,30	6,5	-	1,12	100x	14,7	2,2	150x	10,8	1,4
	20x	0,46	3,0	0	0,73	200x	5,10	1,1	300x	3,84	0,7
	50x	0,80	0,66	0	0,45	500x	1,30	0,44	750x	1,01	0,28
	100x	0,90	0,31	0	0,37	1000x	0,73	0,22	1500x	0,60	0,14
5	5x	0,15	12,0	-	2,24	50x	58,9	4,4	75x	43,3	2,8
	10x	0,30	6,5	-	1,12	100x	18,4	2,2	150x	13,7	1,4
	20x	0,46	3,0	0	0,73	200x	6,09	1,1	300x	4,64	0,7
	50x	0,80	0,66	0	0,45	500x	1,42	0,44	750x	1,11	0,28
	100x	0,90	0,31	0	0,37	1000x	0,73	0,22	1500x	0,60	0,14
6	20x	0,40	12,0	0	0,84	200x	6,09	1,1	300x	4,64	0,7
	50x	0,50	10,6	0	0,67	500x	2,50	0,44	750x	2,03	0,28
	100x	0,80	3,4	0	0,42	1000x	0,87	0,22	1500x	0,72	0,14
7	20x	0,40	12,0	0	0,84	200x	6,09	1,1	300x	4,64	0,7
	50x	0,50	10,6	0	0,67	500x	2,50	0,44	750x	2,03	0,28
	100x	0,80	3,3	0	0,42	1000x	0,87	0,22	1500x	0,72	0,14
8	50x	0,95	0,3	0	0,35	500x	1,04	1,44	750x	0,80	0,28
	100xo	1,40	0,08	0	0,24	1000x	0,59	0,22	1500x	0,47	0,14
9	250x	0,9	0,80	0	0,37	2500x	0,50	0,09	3750x	0,44	0,06
10	250x	0,9	0,80	0	0,37	2500x	0,50	0,09	3750x	0,44	0,06

5. Odstranění potíží

Činnost fluorescenční jednotky mohou, kromě závad, ovlivnit i další faktory. Pokud při použití jednotky vzniknou nějaké potíže, prostudujte si následující tabulku, v které byste měli nalézt potřebné informace k odstranění potíží. Pokud nedokážete potíže odstranit, obraťte se na servisní oddělení společnosti Olympus.

Problém	Příčina	Odstranění
1. Pozorování fluorescence v dopadajícím světle - optická soustava		
Výbojka je zapnutá, ale zorné pole není osvětleno.	Závěrka je zavřená.	Otevřete závěrku fluorescenčního vertikálního iluminátoru.
	Do světelné dráhy je zařazen ND filtr.	Vyřadte ND filtr ze světelné dráhy.
	Kostka není řádně zařazena do světelné dráhy.	Kostku řádně zařadte do světelné dráhy.
	Polní clona nebo aperturní clona nejsou náležitě otevřené.	Otevřete polní clonu tak, aby její obraz ohraničoval zorné pole. Otevřete náležitě aperturní clonu.
	Pro sledovaný preparát je zvolena nevhodná kostka.	Zařadte do světelné dráhy vhodnou kostku.
Obraz není čistý, je rozmazaný nebo málo kontrastní.	Objektivy/filtry jsou znečištěné.	Vyčistěte je.
	Polní clona nebo aperturní clona nejsou náležitě otevřené.	Otevřete polní clonu tak, aby její obraz ohraničoval zorné pole. Otevřete náležitě aperturní clonu.
	Je zvolena nevhodná kostka pro sledovaný preparát.	Zařadte do světelné dráhy vhodnou kostku.
Zorné pole je temné nebo nedostatečně osvětlené.	Objektiv není řádně zařazen do světelné cesty.	Přesvědčte se, že revolverový nosič objektivů řádně zapadl do zvolené polohy.
	Kostka není řádně zařazena do světelné dráhy.	Kostku řádně zařadte do světelné dráhy.
	Polní clona je příliš zavřená.	Otevřete více polní clonu.
	ND filtr není řádně zařazen do světelné dráhy.	Zasuňte ND filtr tak, aby řádně zapadl do zvolené pozice.
	Rtuťová výbojka není řádně zaostřena nebo vycentrována.	Zaostřete nebo vycentrujte rtuťovou výbojku.
V zorném poli jsou tmavé body.	Na výbojce nebo čočkách kolektoru je prach nebo jiné nečistoty.	Pečlivě je vyčistěte.

Problém	Příčina	Odstranění
2. Pozorování fluorescence v dopadajícím světle - elektrické příslušenství		
Nesvítí indikátor BURNER ON.	Síťová šňůra není řádně zapojena.	Síťovou šňůru řádně zapojte.
Indikátor BURNER ON svítí, ale výbojka je zhasnutá.	Nedotýkají se kontakty.	Výbojku řádně usaďte.
	V lampové skříni není výbojka.	Instalujte výbojku.
	Byl aktivován automatický ochranný systém.	Utáhněte montážní šroubek podstavce lampové skříně.
	Došlo k chybě systému žhavení výbojky.	Vypněte hlavní vypínač napájecího zdroje a potom jej znovu zapněte (je-li to nutné, postup opakujte).
Výbojka bliká nebo nesvítí.	Po zapnutí výbojky ještě neuplynul čas potřebný k jejímu dostatečnému nažhavení.	Po zapnutí výbojky počkejte alespoň 10 minut.
	Vypršela stanovená životnost výbojky.	Pokud počítadlo času napájecího zdroje ukazuje 200 hodin nebo více, vyměňte výbojku (životnost výbojky je 200 hodin).
3. Pozorování v odraženém světle		
Žárovka svítí, ale zorné pole není osvětleno.	Při pozorování v temném poli jsou aperturní clona a polní clona zavřené.	Otevřete aperturní a polní clonu.
	V revolverové hlavě není kostka.	Instalujte kostku.
	Kostka není řádně zařazena do světelné dráhy.	Zařaďte řádně kostku do světelné dráhy.
	Pro sledovaný preparát není zvolena vhodná kostka.	Instalujte vhodnou kostku a zařaďte ji do světelné dráhy.
Zorné pole je potměnělé nebo je nerovnoměrně osvětleno.	Polní clona není řádně vycentrovaná.	Vycentrujte polní clonu.
	Polní clona je příliš zavřená.	Polní clonu náležitě otevřete.
	Halogenová žárovka není řádně vycentrovaná.	Vycentrujte halogenovou žárovku.
	Není použit matný filtr.	Zařaďte matný filtr do světelné dráhy.
	Filtr(y) není (nejsou) řádně zařazen(y) do světelné dráhy.	Filtr(y) zasuňte tak, aby zapadl(y) do příslušné polohy.
V obraze je patrný ohyb paprsků.	Aperturní clona je příliš zavřená.	Náležitě otevřete aperturní clonu.

Problém	Příčina	Odstranění
Viditelnost je špatná: • Neostrý obraz • Malý kontrast • Nezřetelné detaily	Nepoužíváte UIS objektiv.	Používejte pouze UIS objektivy.
	Krajní čočka objektivu je znečištěná.	Důkladně ji očistěte.
	Při pozorování s imerzním objektivem jste nepoužili imerzní olej.	Použijte imerzní olej.
	Nepoužili jste doporučený imerzní olej.	Použijte doporučený imerzní olej.
	V revolverové hlavě není DF kostka.	Instalujte DF kostku.
Část obrazu je rozmazaná.	Preparát není na stolku umístěn rovně.	Umístěte preparát řádně na stolek a připevněte jej držáky.
	Revolverový nosič objektivů není správně instalován.	Zkontrolujte připevnění revolverového nosiče objektivů.
	Objektiv není řádně zařazen do světelné dráhy.	Přesvědčte se, že revolverový nosič objektivů řádně zapadl do zvolené polohy.

© **Fluorescenční jednotka BX-FLA - Návod k obsluze**

① Překlad: Elsyst Engineering, z anglického originálu OLYMPUS AX5837 Instructions, BX-FLA Reflected Light Fluorescence Attachment

© Vydal:
ELSYST Engineering
Na Hraničkách 15
682 01 Vyškov

v roce 1998

Počet stran: 34

Příručka byla schválena firmou OLYMPUS C&S spol. s r. o.

Výrobce:

OLYMPUS Japan

Zastoupení a servis:

OLYMPUS C&S, spol. s r. o.
V Jirchářích 10
111 21 PRAHA 1

tel.: +420-2-21 98 51 11

fax: +420-2-24 91 50 80

<http://www.olympus.cz>

Slovenská republika:

sv. Cyrila a Metoda 2

921 01 Piešťany

tel.: +421-838-772 27 24

fax: +421-838-772 26 28