

## MetaFluor Fluo3 レシオ測定について

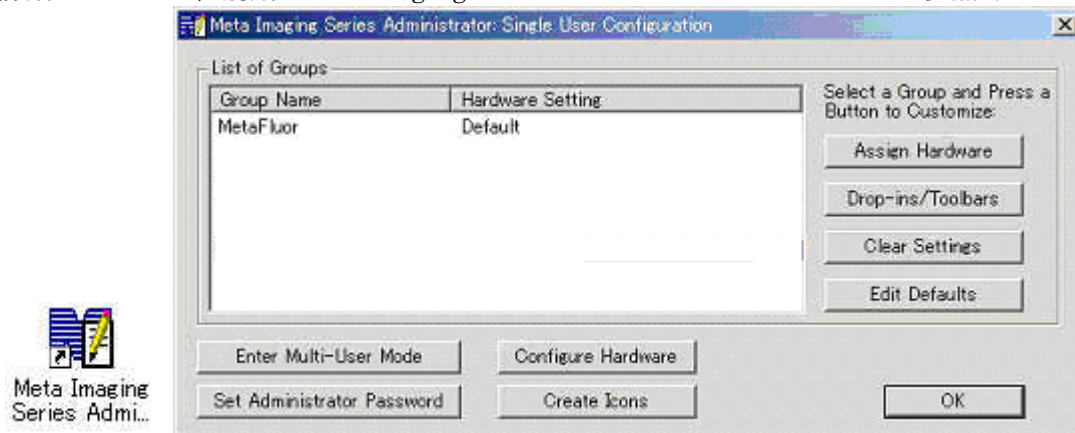
MetaFluor を用いまして Fluo3 レシオ画像取得について説明します。

Fluo3 の場合、1 波長励起・1 波長吸収でタイムラプス画像取得を行い、一回目の取得画像を基準にレシオ画像や興味領域(ROI)の輝度(強度)比グラフを表示します。下記にその手順を示します。

### 1. CCD カメラおよび周辺機器設定

MetaFluor を起動する前に Meta Imaging Series 6.1 グループフォルダから Meta Imaging Series Administrator (下記アイコン) を起動して CCD カメラやフィルターホイールなどを設定します。

詳細については、別紙 Meta Imaging Series Administrator についてをご参照ください。



### 2. MetaFluor の起動

Meta Imaging Series 6.1 グループフォルダから MetaFluor (下記アイコン) を起動させます。起動しますと下記が表示されます。

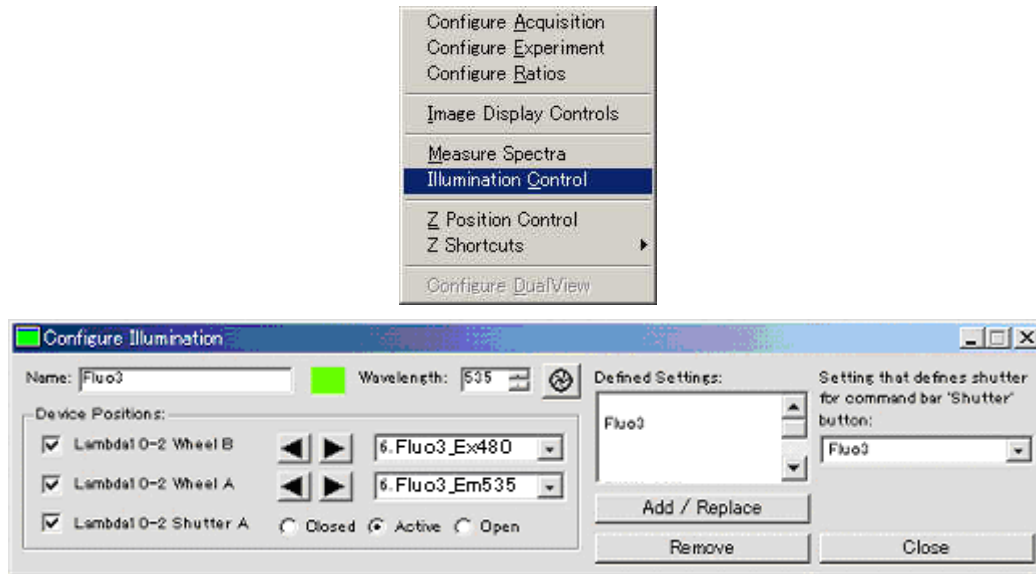


### 3. イルミネーション設定

MetaFluor でフィルターホイールなどが使用できるように Illumination 設定を行います。Configure メニューから Illumination Control (Configure Illumination)を開き、MetaFluor で使用したい Illumination 設定を作成します。

フィルターホイール内のフィルターポジション、シャッター開閉などを設定して、Name に名称を記入して Add / Replace をクリックします。繰り返し行い複数の Illumination Setting を作成します。

ここでは、Sutter 社 Lambda10-2 Wheel A (励起側), Shutter A (励起側), Wheel B (吸収側) を使用したときの Fluo3 用 Illumination 設定を作成します。



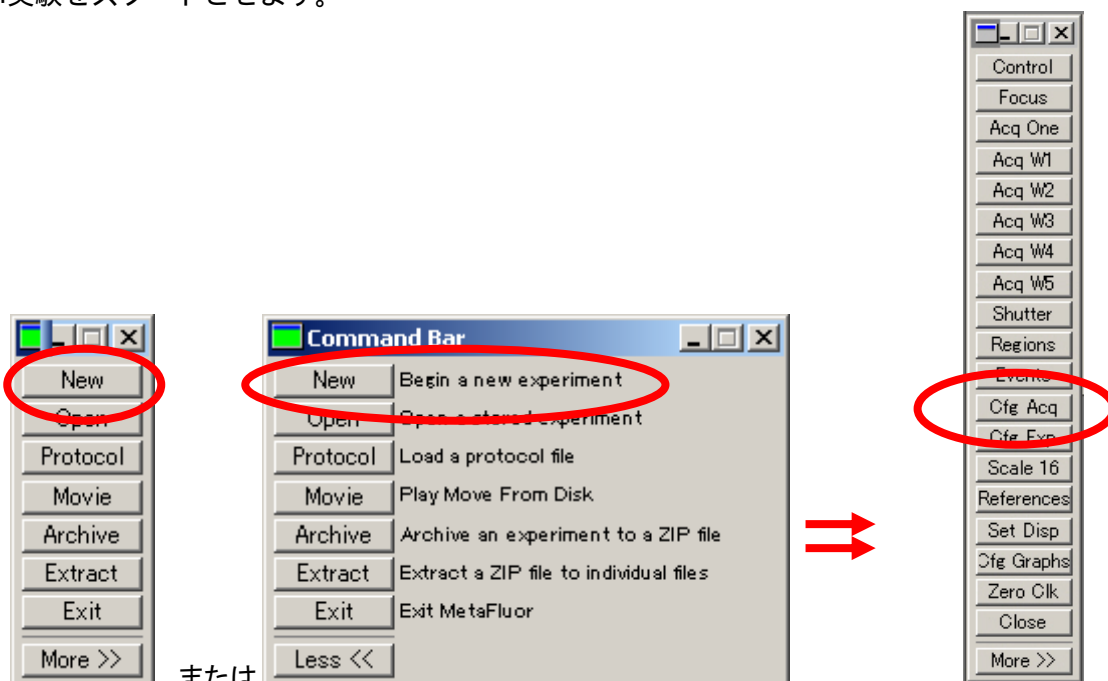
Name に Fluo3 と入力し、Wheel B, Wheel A, Shutter A のチェックボックスにそれぞれチェックマークを入れ、Wheel B を 6. Fluo3\_Ex480, Wheel A を 6. Fluo3\_Em535, Shutter A を Active にそれぞれ設定しました。また、Wavelength に 535 に 535 と入力しました。

Add/Replace をクリックして、Defined Settings に追加されます。

Close をクリックして設定を終了します。

### 4. 実験の開始

コマンドバーから New ボタンあるいは File メニューの New Experiment コマンドを選択し、新しい実験をスタートさせます。



## 5. 画像取得の設定 (Cfg Acq)

Configure Acquisition ダイアログを使用し各波長がどのような条件で画像取得するかを設定します。  
(フィルターの設定や CCD カメラの露光時間や読み込みエリアの指定などを行います)

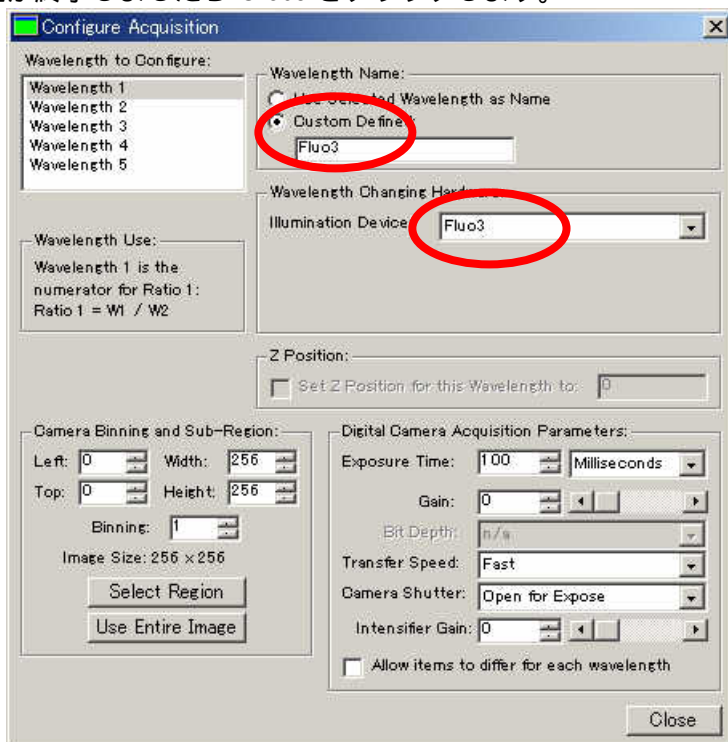
Wavelength to Configure で Wavelength 1 を選択して、Wavelength Changing Hardware で 3.イルミネーション設定で作成した Illumination Device (Setting)を選択します。

Fluo3 の場合、Wavelength 1, Wavelength 2 ともすべて同じ設定にします。

ここでは Wavelength Name で Custom Defined を選択し Wavelength 1 に Fluo3, Wavelength 2 に Fluo3\_Ref と入力します。

Illumination Device には Fluo3 を選択します。

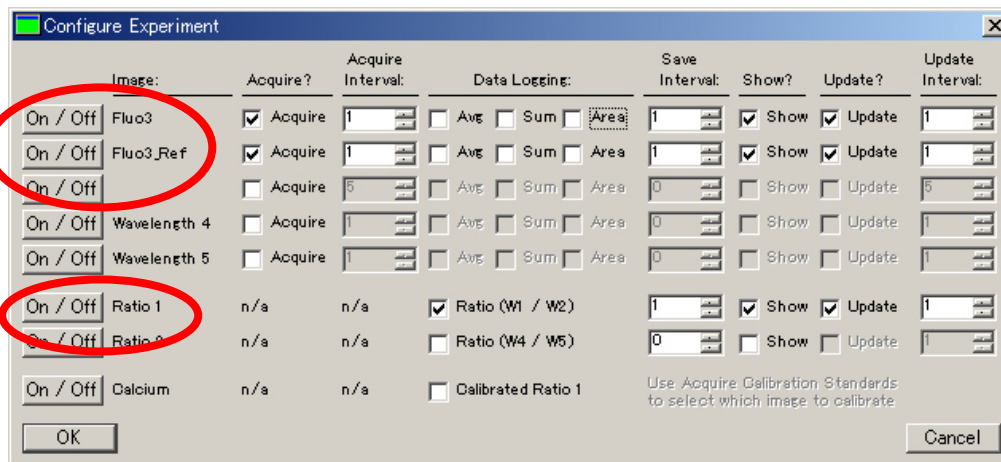
設定が終了しましたら Close をクリックします。



## 6. 測定方法の設定 (Cfg Exp)

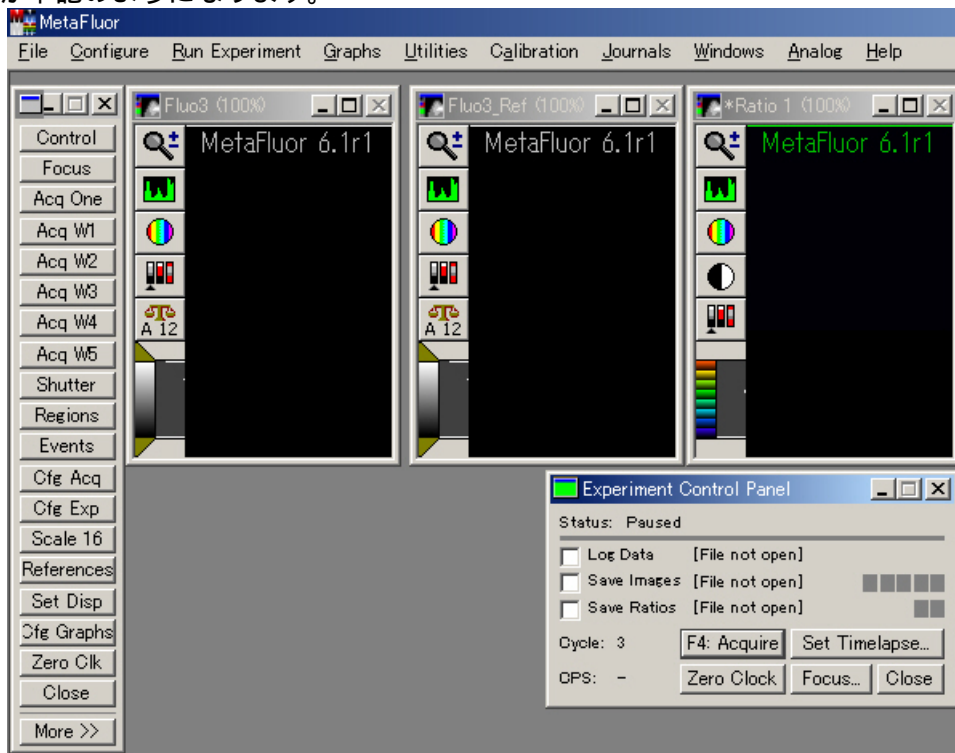
どの波長の画像をどのように取得するかを設定します。

Fluo3, Fluo3\_Ref, Ratio 1 (Fluo3/Fluo 3\_Ref)を On にします。



OK をクリックして終了します。

表示が下記のようにになります。



## 7. Sequence Journal の設定、画像取得開始

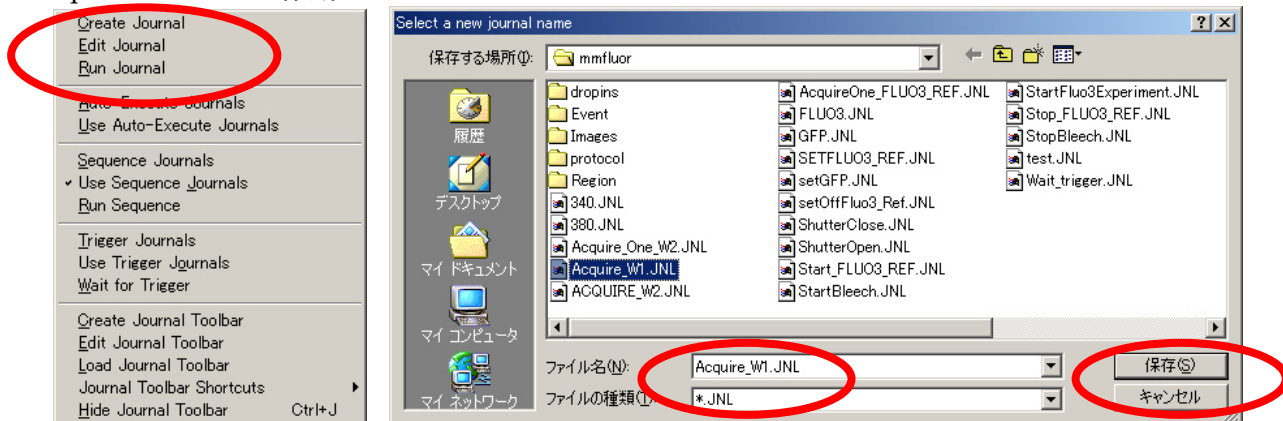
Fluo3 画像取得を行うために Sequence Journal を設定します。

Journals メニューを開き Sequence Journals を設定し、その後 Use Sequence Journals を選択します。（選択しますと Use Sequence Journals にチェックマークが入ります。）

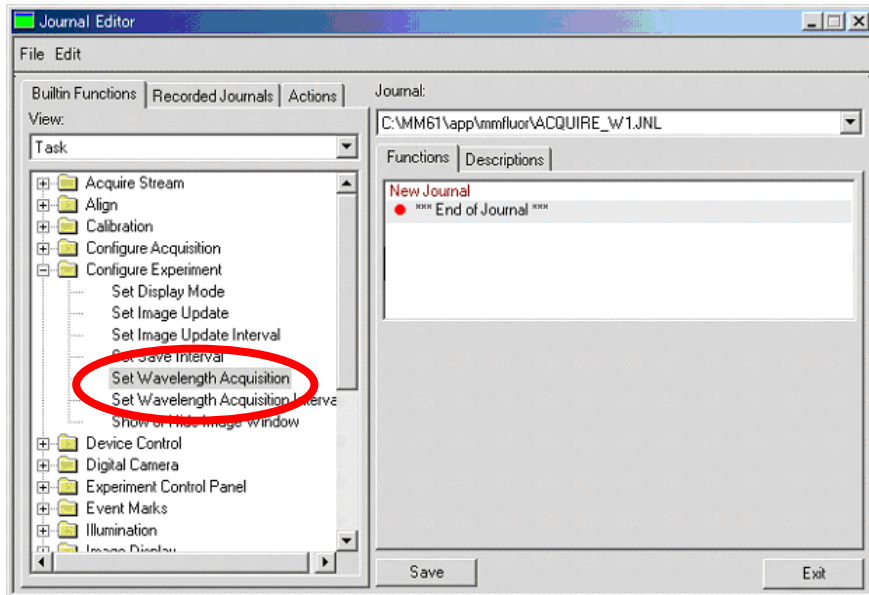
Run Sequence をクリックして画像取得が開始します。

- Step1 Journal の作成
- Step2 Sequence Journals の設定
- Step3 Use Sequence Journals ON
- Step4 Run Sequence で画像取得開始

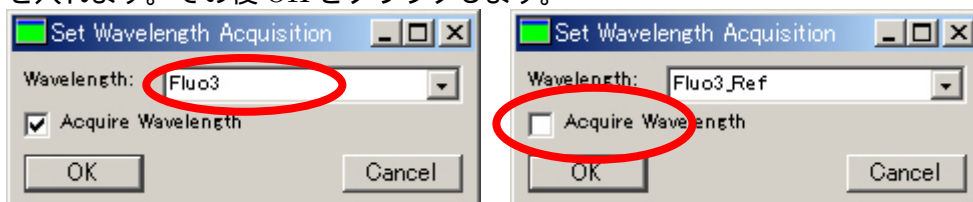
### Step1 Journal の作成



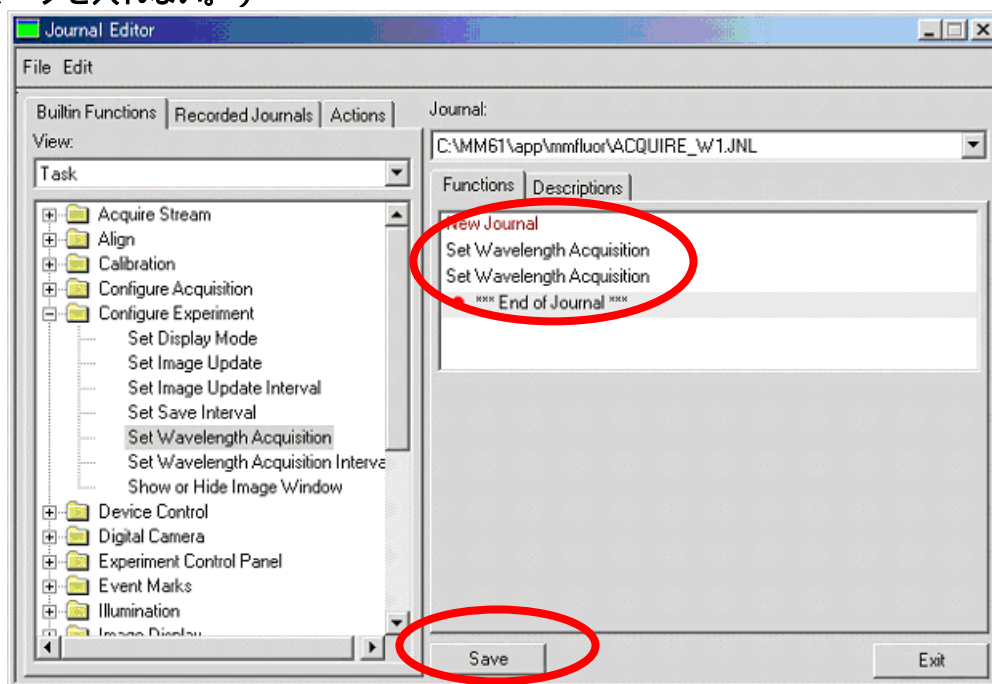
Create Journal で Journal を作成します。Create Journal を選択しますと、上記が表示され新規作成 Journal 名の入力し保存をクリックします。ここでは Acquire\_W1.JNL とします。次に下記の Journal Editor が表示されます。



左側の列から Set Wavelength Acquisition を選択してダブルクリックします。下記が表示されますので Wavelength 1 (ここでは Fluo3) を選択して、Acquire Wavelength にチェックマークを入れます。その後 OK をクリックします。

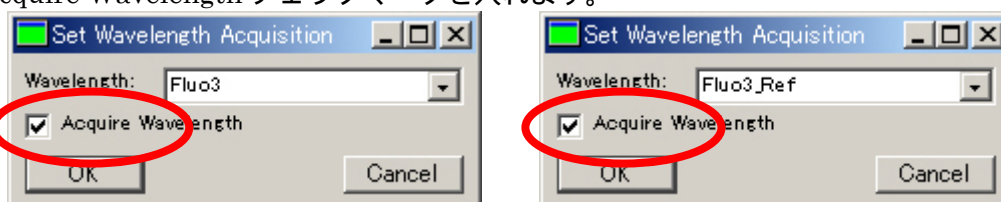


OK をクリックした後に下記のように右側に Set Wavelength Acquisition が表示されます。左側の Set Wavelength Acquisition を再度選択して Wavelength 2 (ここでは Fluo3\_Ref) を設定します。このとき Wavelength 2 の Acquire Wavelength チェックをはずします。(チェックマークを入れない。)



Save をクリックして終了します。

Acquire\_W2.JNL を Acquire\_W1.JNL 同様に作成し保存します。Wavelength 1, 2 ともに Acquire Wavelength チェックマークを入れます。

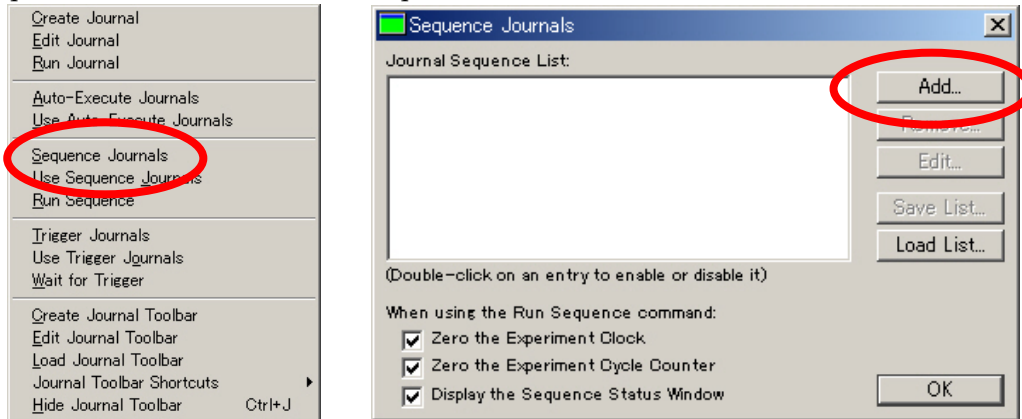


設定の変更を行う場合、Journal Editor 右側から変更したい項目を選択してダブルクリックします。設定ダイアログが表示されます。

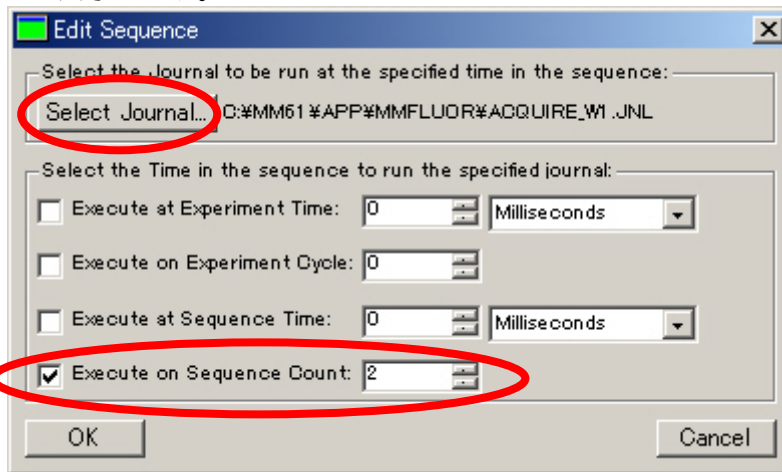
Journal メニューで Edit Journal を選択しますと Journal Editor が起動され、既存の Journal をできます。

## Step2 Sequence Journals の設定

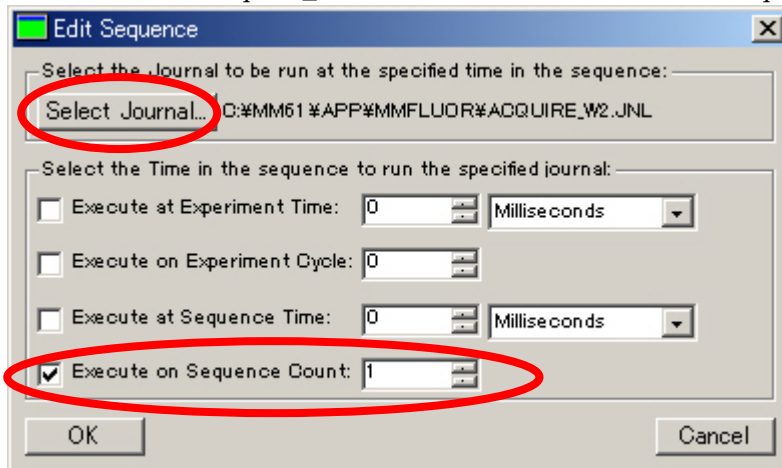
Sequence Journals を選択し、Sequence Journal ダイアログで Add をクリックします。



Edit Sequence ダイアログで Select Journal をクリックして作成した Acquire\_W1.JNL を選択します。次に Execute on Sequence Count を 2 に設定します。OK で終了します。



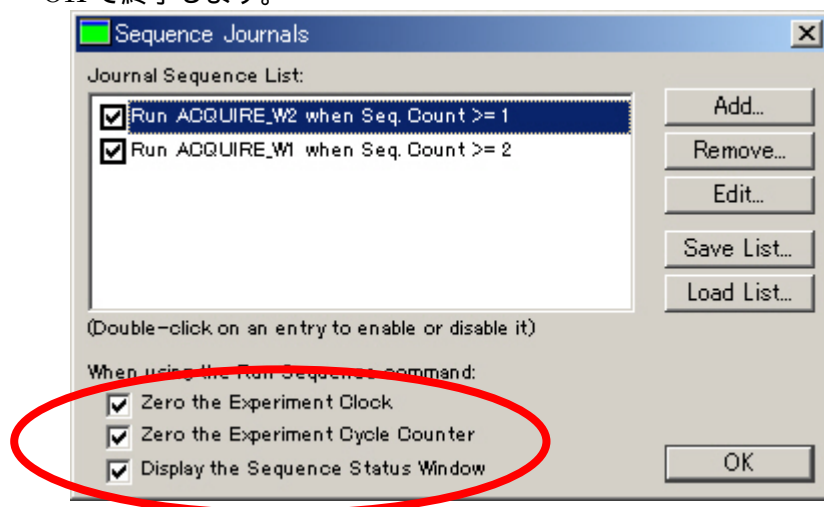
同様に Sequence Journal ダイアログで Add をクリックして、Edit Sequence ダイアログで Select Journal で Acquire\_W2.JNL を選択して Execute on Sequence Count を 1 に設定します。



Sequence Journals ダイアログの設定が下記ようになります。

ここで、Zero the Experiment Clock, Zero the Experiment Cycle Counter, Display the Sequence Status Window にチェックを入れます。

OK で終了します。

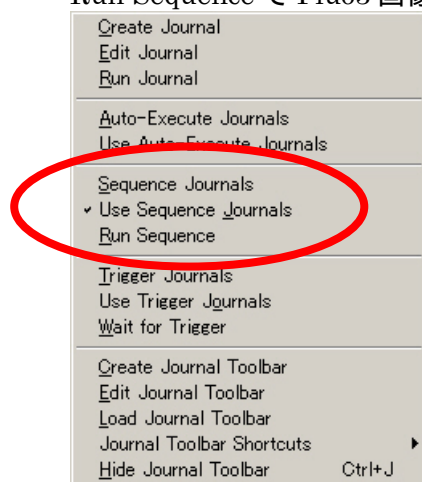


### Step3 Use Sequence Journals ON

Use Sequence Journals を選択しクリックします。Use Sequence Journals にチェックマークが付きます。

### Step4 Run Sequence で画像取得開始

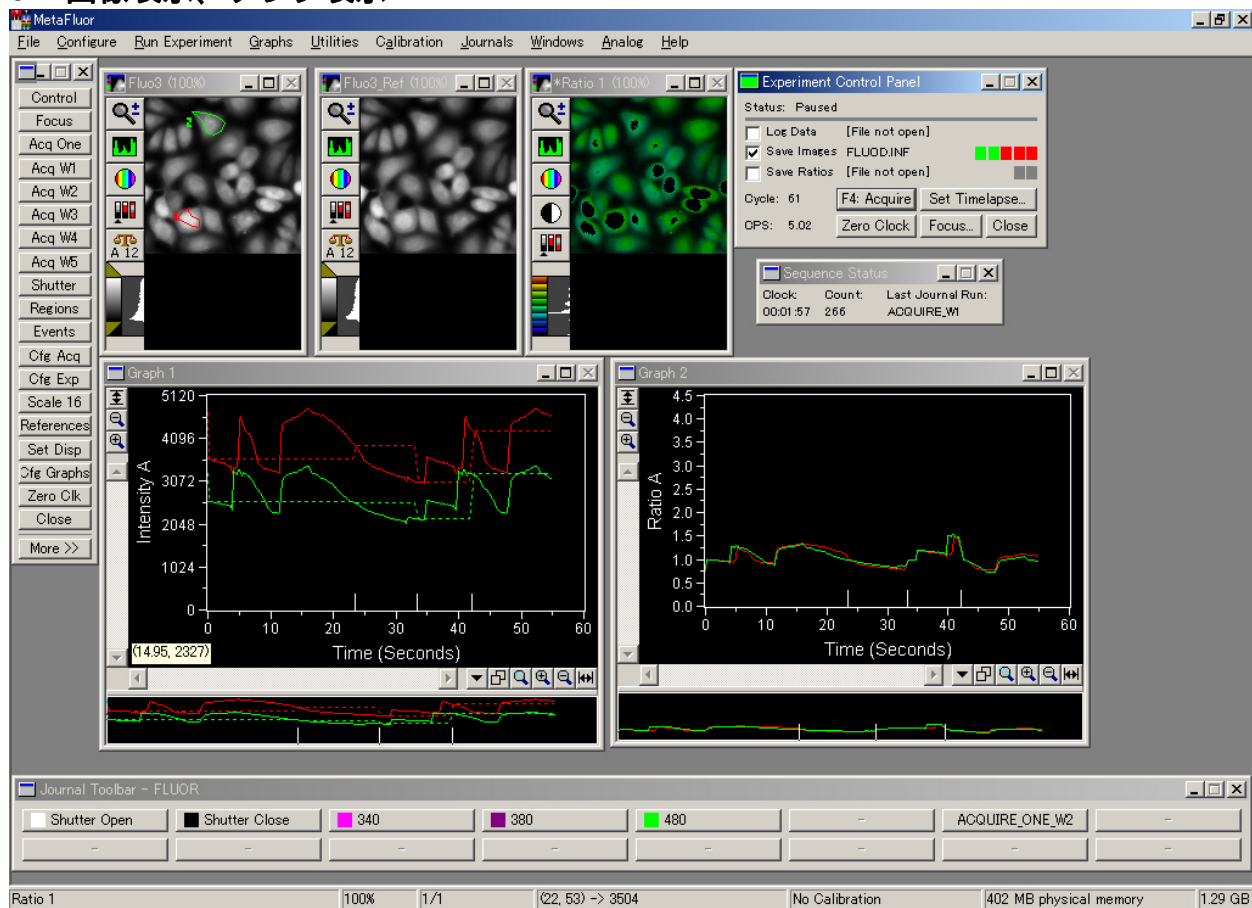
Run Sequence で Fluo3 画像取得が開始します。



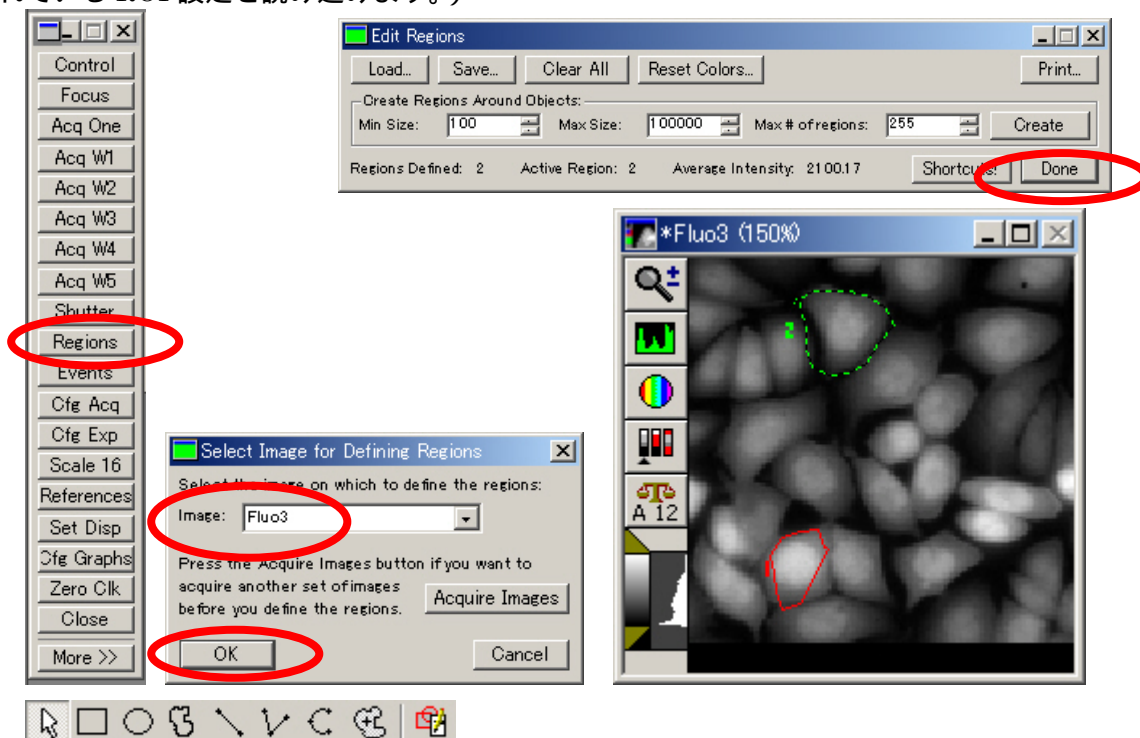
画像取得開始は Experiment Control Panel の F4: Acquire を使用しないで、Journal メニューの Run Sequence を使用してください。



## 8. 画像表示、グラフ表示

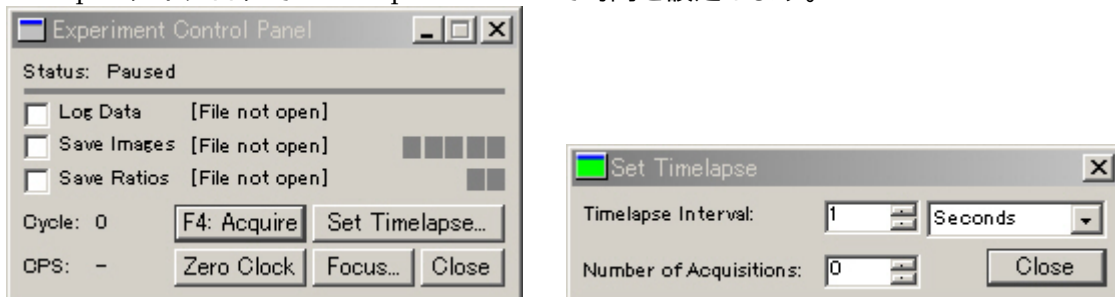


Journal メニューで Run Sequence をクリックしますと画像取得は開始しますが、興味領域 (ROI) の輝度 (強度) 変化をグラフ表示開始するためには、画像取得開始前にコマンドバーで Regions をクリックして表示されている画像から Region Tool を使用して ROI を指定します。(または保存されている ROI 設定を読み込みます。)

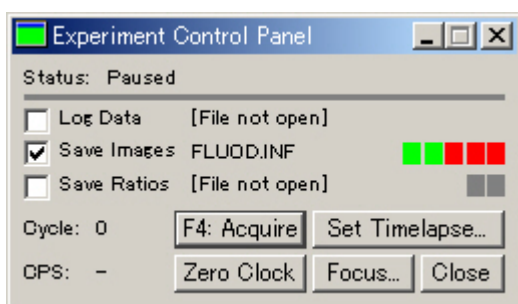
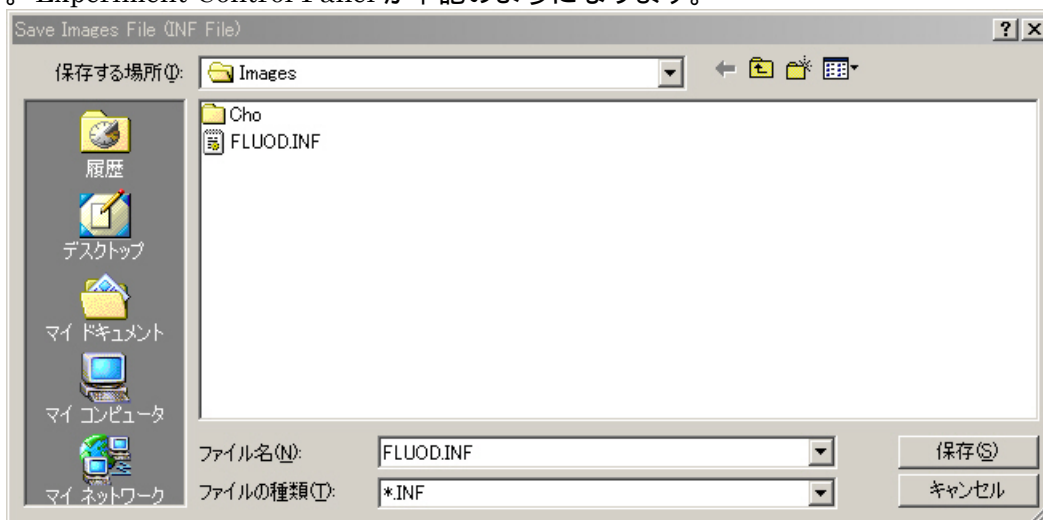


Done をクリックしてグラフが表示されます。

画像取得の時間間隔を設定する場合、Experiment Control Panelで Set Timelapse をクリックして Timelapse ダイアログで Timelapse Interval で時間を設定します。



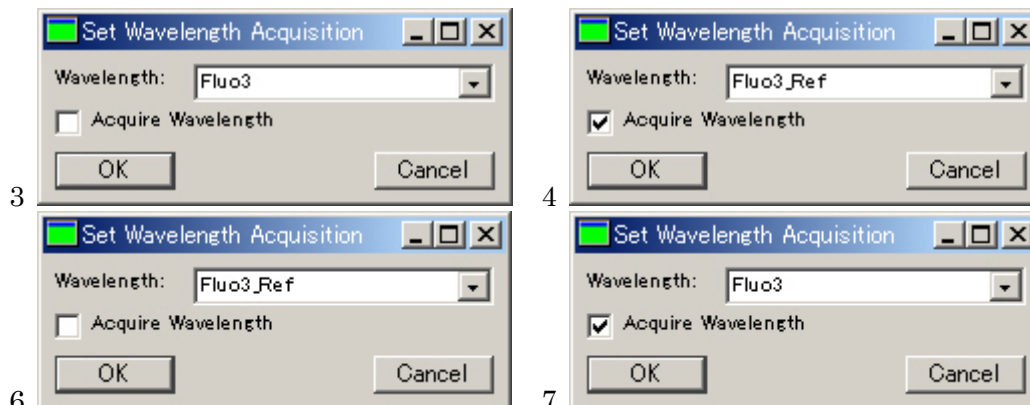
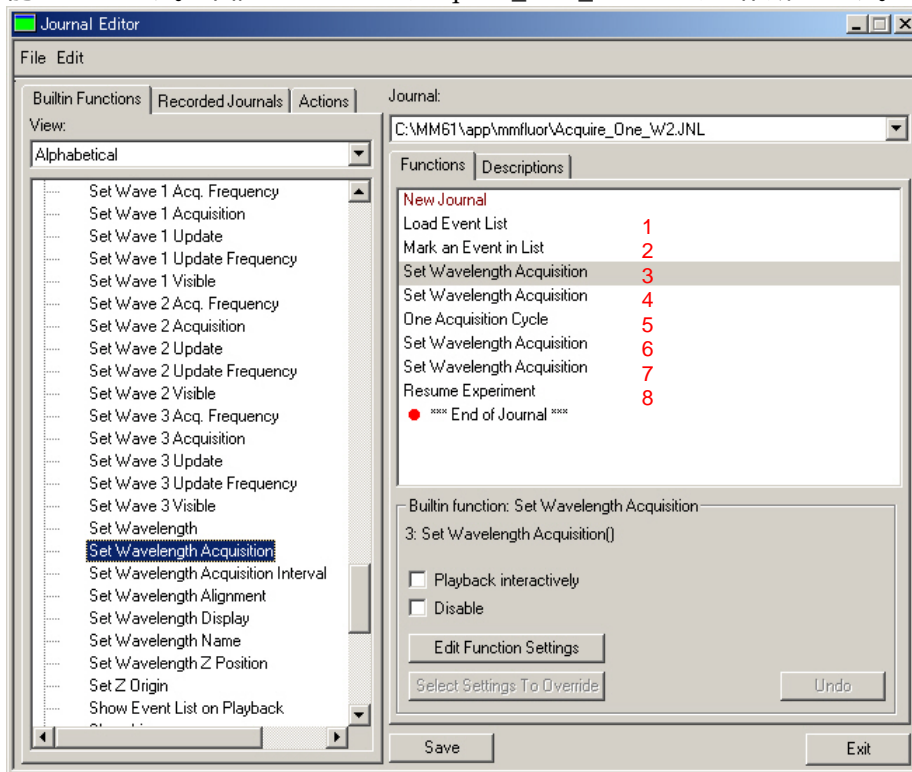
また、画像を保存する場合 Experiment Control Panel で Save Images にチェックを入れます。チェックを入れると下記が表示されますので保存名 (INF ファイル) を入力して保存をクリックします。Experiment Control Panel が下記ようになります。



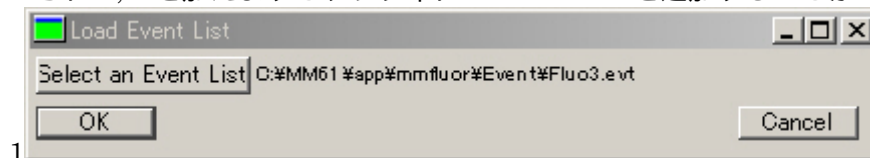
画像取得開始は Experiment Control Panel の F4: Acquire を使用しないで、Journal メニューの Run Sequence を使用してください。

## 9. その他

画像取得途中で基準画像を取得(変更)する場合は Journal を作成し Journal Toolbar に登録すると可能になります。下記の Journal (Acquire\_One\_W2.JNL)を作成します。



さらに 1, 2 を加えますとグラフ中に Event Mark を追加することができます。

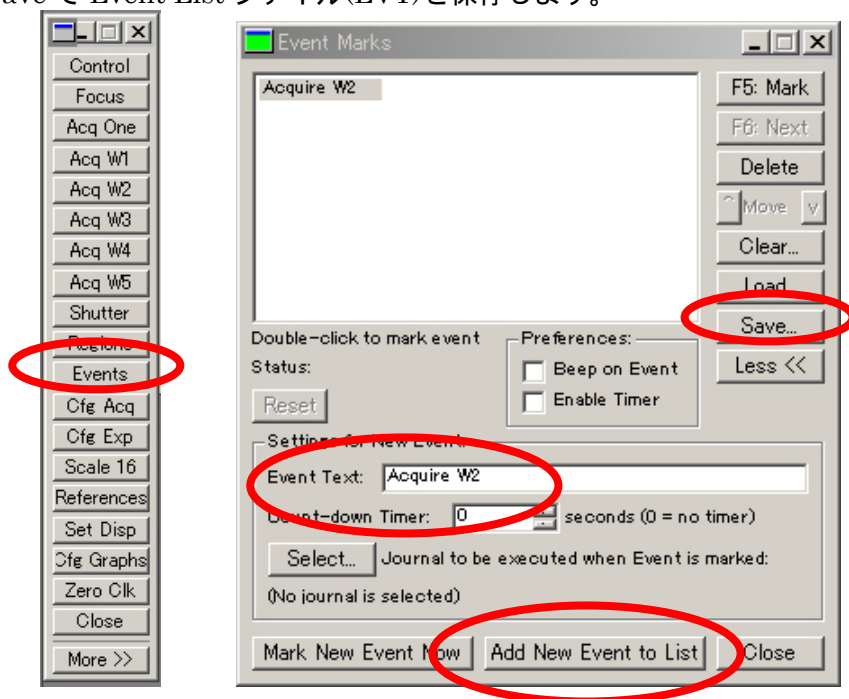


( Event List ファイルを読み込みます。)



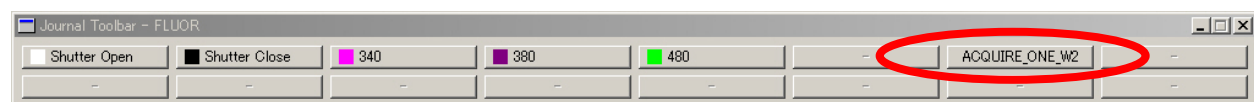
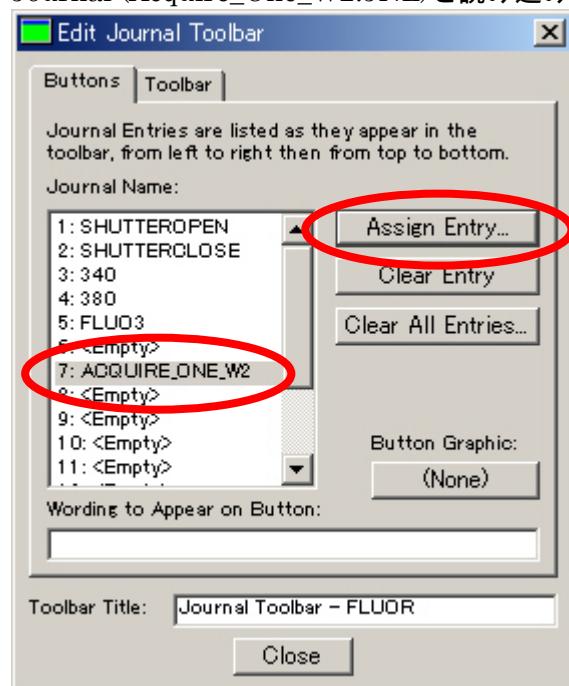
( Event List に複数行記入されている場合は行数を設定します。)

1,2 を使用する前に Event List を作成する必要があります。  
 コマンドバーで Events をクリックして Event Marks ダイアログ表示されます。  
 Event Text:に 表示させるテキストを入力します。  
 Add New Event to List をクリックします。  
 Save で Event List ファイル(EVT)を保存します。



#### Journal Toolbar への登録

Journals メニューから Edit Journal Toolbar (または Create Journal Toolbar) を選択して作成した Acquire\_One\_W2.JNL を登録します。  
 Journal Name:で空いている箇所(Empty)を選択し Assign Entry をクリックして作成した Journal (Acquire\_One\_W2.JNL)を読み込みます。Close で Journal Taskbar に追加されます。





ご不明な点などがございましたら、下記までご連絡ください。



日本モレキュラーデバイス株式会社 UIC グループ

東京都千代田区神田錦町 3-21 クレスト安田ビル 6 階

TEL 03-5282-5266 FAX 03-5282-5262