



Servei Central de Suport a la
Investigació Experimental [SCSIE]
VNIVERSITAT ID VALÈNCIA

PROCEDIMIENTO OPERATIVO – MIX - MIC

Procedimiento Normalizado de trabajo - OLYMPUS FV1000

Cód: **PNT - MIC - 04**



Rev: 1/Feb.13

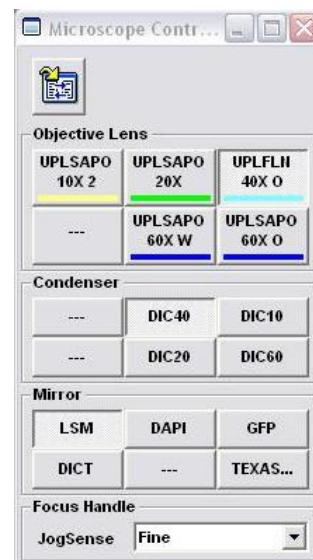
Pág: 1 de 4

La distribución electrónica de este documento a través del software eGAMbpm como revisión vigente, supone la previa aprobación electrónica por la función competente según PG-42-01

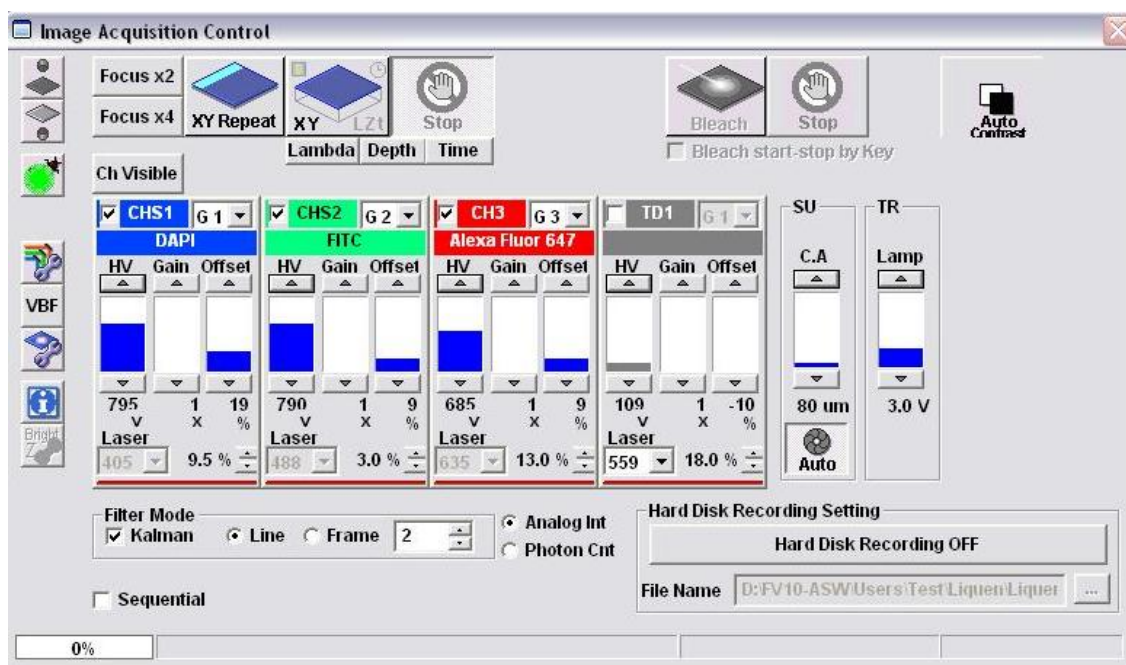


A. Observación de la muestra en el microscopio

1. Seleccionamos el objetivo en los mandos a la izquierda del microscopio o en la ventana de Microscope Control.
2. Seleccionamos el filtro fluorescente.
3. Activamos la fluorescencia con el botón  o la luz transmitida con el botón  del programa.
4. Enfocamos la muestra con el microscopio. Debajo del control del foco tenemos el botón F/C que pasa el foco de modo macrométrico a micrométrico.
5. Desactivamos la fluorescencia y la luz transmitida para adquirir imágenes con el confocal.






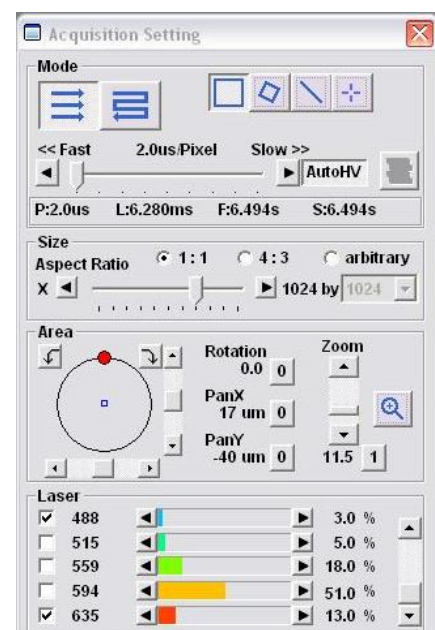
NOTA: Para cambiar de muestra es necesario apretar previamente el botón ESC del microscopio para llevar el objetivo a una posición segura. Hay que tener especial cuidado cuando se trabaja con los objetivos de inmersión.






B. Preparación de la adquisición


1. Abrimos la ventana de Dye List  para seleccionar los fluoróforos que vamos a utilizar con en confocal.
2. Activamos el barrido con el botón  Esta adquisición continua nos permite ajustar los parámetros de adquisición. Podemos hacerlo más rápido este barrido con los botones **Focus x2** y **Focus x4**.
3. Ajustamos el foco con el control de z del microscopio.
4. Ajustamos la ganancia y el cero de cada uno de los canales, parámetros **HV** y **Offset** respectivamente. Para ello es muy útil utilizar las teclas CTRL+H que cambian la paleta de colores de tal forma que se ajusta la ganancia para que aparezca un poco el color rojo y el cero para que aparezca un poco el azul.
5. En la ventana de Acquisition Setting podemos ajustar parámetros como velocidad de barrido, resolución, área de barrido (zoom) y la potencia de los láseres.
6. Detenemos el XY Repeat con el botón 
7. Seleccionamos el número de pasadas que vamos a hacer en la adquisición para realizar el promedio

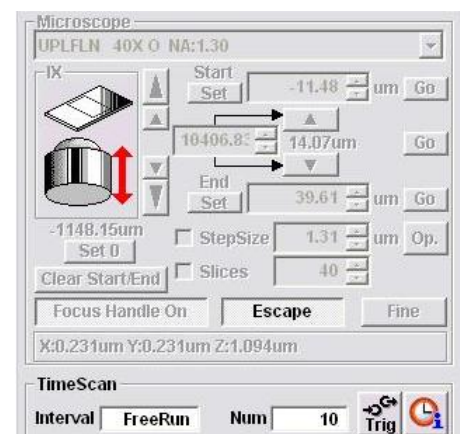



C. Adquisición de una imagen

1. Ajustamos los parámetros de adquisición como se describe en el apartado B
2. Capturamos la imagen XY con el botón 
3. La imagen tomada aparece en una ventana nueva y se guarda.

D. Adquisición de una serie XYZ

1. Ajustamos los parámetros de adquisición como se describe en el apartado B.
2. Activamos el botón **Depth**.
3. Con el **XY Repeat** activado movemos el micrométrico del microscopio para seleccionar la Z de inicio de la serie y apretamos el botón **SET (Start)**. Repetimos la operación para seleccionar la Z final y hacemos click en **SET(End)**.
4. Tras fijar los límites de la serie debemos indicar el tamaño de paso (**Stepsize**) o el número de imágenes que queremos que tenga la serie (**Slices**).
5. Capturamos la serie con el botón 





 <div>Servei Central de Suport a la Investigació Experimental (SCSIE) VNIVERSITAT ID VALÈNCIA</div>	PROCEDIMIENTO OPERATIVO – MIX - MIC	Cód: PNT - MIC - 04 Rev: 1/Feb.13 Pág: 4 de 4
	Procedimiento Normalizado de trabajo - OLYMPUS FV1000	
La distribución electrónica de este documento a través del software eGAMBpm como revisión vigente, supone la previa aprobación electrónica por la función competente según PG-42-01		

NOTA: El botón SET 0 sitúa el cero de la escala Z en la posición actual, sin embargo los valores de las posiciones START y END no se recalculan. **ES IMPRESCINDIBLE PULSAR EL BOTÓN CLEAR START/END.** Limpiando las posiciones start y end evitaremos que el objetivo pueda moverse accidentalmente a posiciones donde podría chocar con la muestra y dañarse.

E. Adquisición de una serie XYT

1. Ajustamos los parámetros de adquisición como se describe en el apartado B.
2. Activamos el botón **Time**.
3. En el apartado TimeScan definimos el número e intervalo de tiempo entre adquisiciones. El tiempo entre medidas debe ser igual o superior al tiempo de adquisición. Este experimento se puede combinar con una serie en Z (apartado C) y generar una serie XYZT.

F. Recuperar parámetros de adquisición

1. Abrimos una imagen antigua con el experimento que queremos reproducir.
2. Abrimos la ventana 2D Control Panel 
3. Apretamos el botón  para cargar todos los parámetros con los que se adquirió dicha imagen.

NOTA SOBRE SEGURIDAD: Por tratarse de un microscopio invertido se han de extremar las precauciones, no se debe mirar directamente la muestra cuando se está iluminando con la luz UV o con los láseres.