

DCAMCAP 取扱説明書



- 本取扱説明書には、本ツールの取扱方法と事故を防ぐための重要な注意事項を示してあります。本ツールを取り扱う際は、**本書をよくお読みのうえ**、内容を必ず理解してから安全にご使用ください。
- お読みにになったあとは、いつでも見られるところに保管してください。

Version 1.2
2011/4

浜松ホトニクス株式会社

目次

1. はじめに.....	2
1-1 動作環境	2
1-2 商標について	2
1-3 取扱説明書内の単語の定義.....	2
2. 概要.....	3
3. パラメータ取得手順	4
3-1 パラメータ取得前の準備	4
3-1-1 カメラの準備	4
3-1-2 顕微鏡の準備	5
3-2 バックフォーカス位置(パラメータ)の自動取得	8
3-2-1 DCAMCAPの起動.....	8
3-2-2 バックフォーカス位置(パラメータ)自動取得前の準備	10
3-2-3 バックフォーカス位置のMEMORYの選択	11
3-2-4 バックフォーカス位置(パラメータ)の自動取得	13
3-3 X,Y SHIFTおよび回転補正パラメータの自動取得	14
3-3-1 画像表示方法の確認	14
3-3-2 X,Y SHIFTおよび回転補正のMEMORYの選択	16
3-3-3 X,Y SHIFTおよび回転補正位置の自動取得	16
4. その他の画面表示	18
5. 弊社連絡先	19

1. はじめに

DCAMCAP は、弊社カメラ C11254-10B (ORCA-D2) の CCD2 のバックフォーカス位置 (パラメータ) の取得および CCD1 と CCD2 の X,Y シフト、回転補正パラメータを取得、保存することができるツールです。

1-1 動作環境

本ツールを動作させるためには以下の動作環境が必要です。

機種	PC-AT 互換機
OS	Windows 7 / Vista (32 bit 版および 64 bit 版) Windows XP SP3 (32 bit 版) Windows XP SP2 (64 bit 版)
インターフェース	IEEE1394b インターフェース
ドライブ	CD-ROM ドライブ
ソフトウェア	DCAM-API June 2010 またはそれ以降

1-2 商標について

Windows XP, Windows Vista および Windows 7 は米国 Microsoft Corporation の米国およびその他の国における登録商標または商標です。
その他の商品名は、各社の商標または登録商標です。

1-3 取扱説明書内の単語の定義

CCD1	C11254-10B の 2 つの撮像素子のうち、固定された撮像素子を指します。
CCD2	C11254-10B の 2 つの撮像素子のうち、リニアステージで光軸方向に移動可能な撮像素子を指します。
X,Y シフト	CCD1 と CCD2 の有効撮像領域の水平方向 (X) と垂直方向 (Y) のズレを指します。
回転 (rotation)	CCD1 と CCD2 の有効撮像領域の回転方向のズレを指します。
バックフォーカス位置	CCD2 が CCD1 と同様のコントラストの良い画像を取得できるリニアステージの位置を指します。バックフォーカス位置は、使用する光学ブロックと対物レンズの組み合わせで決定されます。
明視野用 キャリブレーションスライド	C11254-10B に標準で添付されている補正用のパターンが蒸着されたスライドガラスを指します。このスライドガラスは、透過照明および蛍光照明で使用します。
蛍光用 キャリブレーションスライド	C11254-10B に標準で添付されている蛍光照明でキャリブレーションを実施する場合に使用するスライドです。RGB の 3 色準備されています。使用する蛍光用キャリブレーションスライドは、キャリブレーションする光学ブロックに応じて選択してください。
Memory	バックフォーカス位置や X,Y シフト、回転補正係数を保存する領域になります。(カメラコントロールユニット内のメモリに保存されます)
アプリケーションソフトウェア	DCAMCAP を除く、camera の制御や画像取得、解析を行うソフトウェアになります。 例) HC-Image, HCLImage, MetaMorph, NIS-Elements, Slidebook, μ Manager, Labview そして、DCAM に対応している市販のパッケージソフトウェアです。

2. 概要

C11254-10B (ORCA-D2) は、2つの CCD 素子と交換可能で入射光を分光する光学ブロックで行われています。光学ブロックには、入射光を異なる 2 波長に分光したり、入射光を半分に分光したりするものがあり、また、光学部品、特にレンズや顕微鏡対物レンズは、補正しきれない色収差を有しています。

通常、2つのカメラで取得された画像は、1つの画像に合成しても、同じ焦点面が取得できなかったりアライメント補正ができなかったりします。これらを解消するために、C11254-10B は 2つの CCD を有し、CCD1 をカメラ筐体内に固定し、CCD2 はリニアステージに取り付けて光軸方向に移動することができるよう配置しました。これによって、CCD2 を光軸方向に移動させて、CCD1 の焦点面と同じ焦点面の画像が CCD2 でも取得できるようになりました。

また、光学ブロック:A11400-02 では、入射光を半分に分光できるため、CCD1 の焦点面と異なる第 2 の焦点面を CCD2 で取得することが可能です。2 画像の X,Y 方向の位置ズレは、CCD の読み出し位置をシフトすることで補正することができます。

DCAMCAP においては、CCD2 のバックフォーカス位置 (パラメータ) および CCD1 と CCD2 のアライメントの補正パラメータをそれぞれ取得・保存することができます。

正確な補正を実現するには、まず、任意のアプリケーションソフトウェアを使い、CCD1 でキャリブレーションスライドのコントラストの良い画像を取得します。また、画像取得に適した顕微鏡照明の準備をします。

準備ができたら、アプリケーションソフトウェアを終了した後、DCAMCAP を起動します。

その後、本書の手順に従って操作し、DCAMCAP において CCD2 のバックフォーカス位置 (パラメータ) や CCD1 と CCD2 のアライメントの補正パラメータを取得・保存します。

なお、パラメータの取得と保存は、光学ブロックと顕微鏡対物レンズ、あるいは光学ブロックと他の光学システム (マクロレンズ等) ごとに行います。また、高精度のアライメント補正結果を要求する場合は、アライメント補正は対物レンズごとに行います。

3. パラメータ取得手順

DCAMCAP では、顕微鏡とキャリブレーションスライドを一緒に使用して、以下のパラメータを取得し、保存することができます。

- ・ カメラ(C11254-10B) : CCD2 のバックフォーカス位置 (パラメータ) の自動取得
- ・ カメラ(C11254-10B) : CCD1 と CCD2 の X,Y shift および回転補正パラメータの自動取得

注記

- ・ 本手順は、カメラが顕微鏡に接続されて使用することを前提に記載しています。

3-1 パラメータ取得前の準備

パラメータ取得前の準備は、以下の順番で行ってください。

3-1-1 カメラの準備



- ・ カメラの電源が OFF になっていることを確認してください。



- ・ 複数のカメラを同時にコンピュータに接続しないでください。

- (1) カメラを顕微鏡に接続します。必要に応じて、カメラ底面にあるアジャスタフットでカメラを固定し、実験時と同じ接続条件にします。
- (2) カメラの電源投入前に光学ブロックが接続されていることを確認します。
- (3) カメラをコンピュータに接続し、電源を投入します。
- (4) アプリケーションソフトウェア (HImage、AQUACOSMOS等) を起動し、カメラの CCD1 で正常な画像を取得できることを確認します。
- (5) カメラの電源は入れたままの状態にしておきます。

3-1-2 顕微鏡の準備

顕微鏡の光源は、透過照明光学系を使用する場合と蛍光照明光学系を使用する場合で、キャリブレーションスライドのセッティング方法が異なりますが、どちらの照明方法でも補正結果は同じです。

3-1-2-1 透過照明光学系で行う場合

(1) 顕微鏡のケーラー照明の設定を行います。



- 透過照明光学系でのキャリブレーションの場合、ケーラー照明の設定がとて重要となりますので、確実に行ってください。

- 手順 1 顕微鏡のアイピースの調整を 0 になるようにセットします。
- 手順 2 目視にてキャリブレーションスライドがはっきりと観察できるようにフォーカスを調整します。そして、顕微鏡の視野絞りが、視野内ではっきり観察され、中央に位置するように調整、確認します。
- 手順 3 顕微鏡の限界解像度を得るためにコンデンサ絞り(開口絞り)を完全に開けます。そして、フォーカス深度はできるだけ浅くします。
- 手順 4 キャリブレーションスライドのパターン像の端で何らかの色の縁が視野内で均一であることを確認します。もし、違う場合、透過照明用のランプの位置合わせおよびそれがセンターに位置していることを確認します。

(2) カメラに付属している明視野用キャリブレーションスライドを顕微鏡にセットします。また、対物レンズ側にカバーガラスが来るようにセットします。

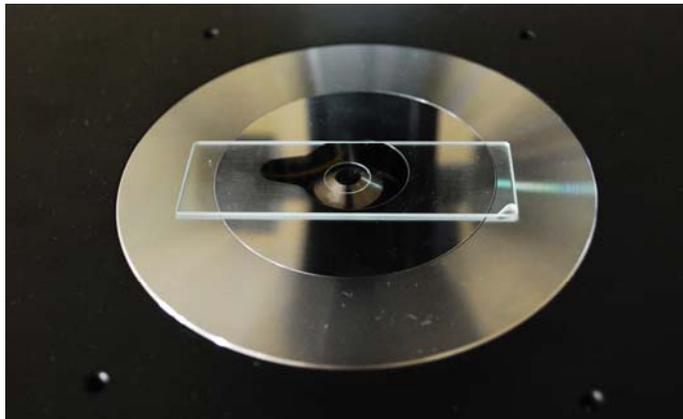


写真 3-1

(倒立顕微鏡に明視野用キャリブレーションスライドをセットしたもの)

注記

- 倒立顕微鏡でも正立顕微鏡でも、補正手順は同じです。

(3) アプリケーションソフトウェアを起動し、明視野用キャリブレーションスライドのパターンをカメラで撮像します。

(4) 顕微鏡のフォーカスを調整し、CCD1 の取得画像のコントラストが最大になるように調整します。

取得画像の SD (Standard deviation) 値と目視でのコントラストが大まかに一致していることを確認してください。SD 値と目視でのコントラストがあまりにも一致しない場合は、顕微鏡の設定を変更して一致するようにしてください。(顕微鏡の開口絞りは、開放側にすると上記条件を満足できる可能性があります。)

(5) アプリケーションソフトウェアを終了します。



- 顕微鏡のフォーカスが調整可能であることを確認してください。フォーカスが手動で調整できる場合は、DCAMCAP だけでもパラメータ取得可能です。フォーカスが、電動の場合、制御用のアプリケーションソフトが必要になる場合があります。



- DCAMCAP を起動してバックフォーカス位置やズレの補正の実行を行う前に、(4)の条件が満足することを確認してください。
(4)が適切でない場合、DCAMCAP にて取得した結果が正常にならない場合があります。ただし、ご使用のアプリケーションソフトウェアで、取得画像の SD 値が表示されない場合、この前準備で確認できなくても、DCAMCAP でのパラメータ取得手順の中で確認することができます。

3-1-2-2 蛍光照明光学系で行う場合

(1) 顕微鏡のアイピースの調整を 0 になるようにセットします。

(2) 蛍光光源の芯出し調整を行い、視野内のシェーディングが少なく、光量が得られるように調整します。

(3) カメラに付属している明視野用キャリブレーションスライドと蛍光用キャリブレーションスライドを顕微鏡にセットします。

蛍光用キャリブレーションスライドは、明視野用キャリブレーションスライドのカバーガラスの反対側にセットします。暗室で実施しない場合は、室内の照明光が入射しないようにキャリブレーションスライド部分を遮光します。

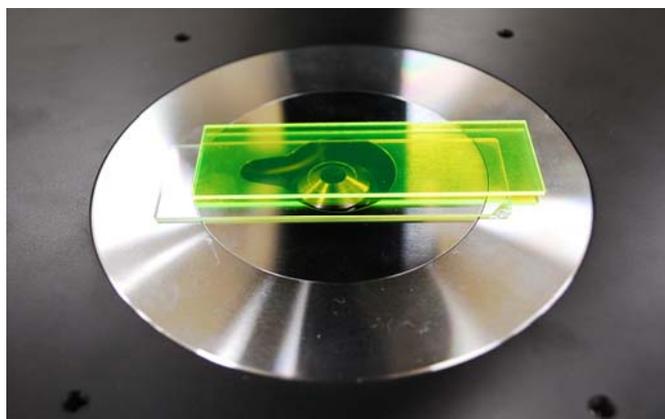
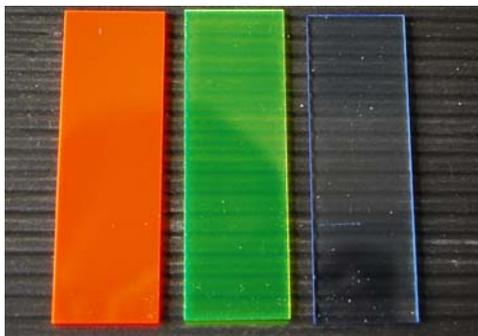


写真 3-2

(倒立顕微鏡で Green の蛍光用キャリブレーションスライドを使用したセッティング)

使用する蛍光用キャリブレーションスライドは、調整する光学ブロックの型名で変わります。以下の表をご参照ください。



Optical Block	Calibration slide for fluorescence
A11400-02	Green Plate
A11400-03	Green Plate
A11400-04	Green Plate
A11400-05	Red Plate
A11400-08	Green Plate

また、顕微鏡側の蛍光フィルタセットは、キャリブレーションを実施する光学ブロックに応じて、弊社推奨のフィルタセットを使用することを推奨します。それ以外の場合は、正常にキャリブレーションできない場合があります。推奨のフィルタセットについては、以下をご参照ください。

カメラ	方式	蛍光フィルタセット(顕微鏡側)		
		励起	ダイクロイックミラー	蛍光
光学ブロック				
A11400-02	-	-	-	-
A11400-03	1 Ex, 2 Em	FF01-438/24-25	FF458-Di01-25	-
	2 Ex, 2 Em	FF01-416/501-25	FF440/520-Di01-25	FF01-464/547-25
A11400-04	2 Ex, 2 Em	FF01-468/553-25	FF493/574-Di01-25	FF01-512/630-25
A11400-05	1 Ex, 2 Em	FF01-531/40-25	FF562-Di01-25	-
	2 Ex, 2 Em	FF01-534/635-25	FF560/659-Di01-25	FF01-577/690-25
A11400-08	2 Ex, 2 Em	FF01-468/553-25	FF493/574-Di01-25	FF01-512/630-25

注記

- 上記フィルタセットは、Semrock 製です。

- (4) アプリケーションソフトウェアを起動し、明視野用キャリブレーションスライドのパターンをカメラで撮像します。
- (5) 顕微鏡のフォーカスを調整し、CCD1 の取得画像のコントラストが最大になるように調整します。取得画像の SD (Standard deviation) 値と目視でのコントラストが大まかに一致していることを確認してください。SD 値と目視でのコントラストがあまりにも一致しない場合は、顕微鏡の設定を変更して一致するようにしてください。(顕微鏡の開口絞りは、開放側にすると上記条件を満足できる可能性があります。)
- (6) アプリケーションソフトウェアを終了します。

3-2 バックフォーカス位置（パラメータ）の自動取得

注記

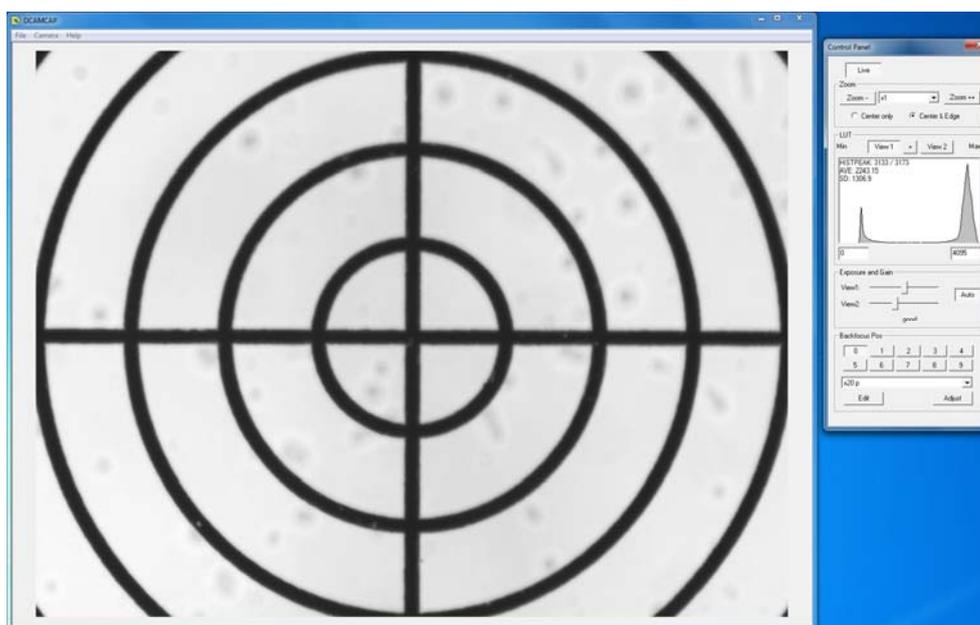
- パラメータ取得前の準備（3-1 項）が完了すると、パラメータの自動取得を開始することができます。

3-2-1 DCAMCAPの起動

“DCAMCAP”アイコンをダブルクリックして起動します。

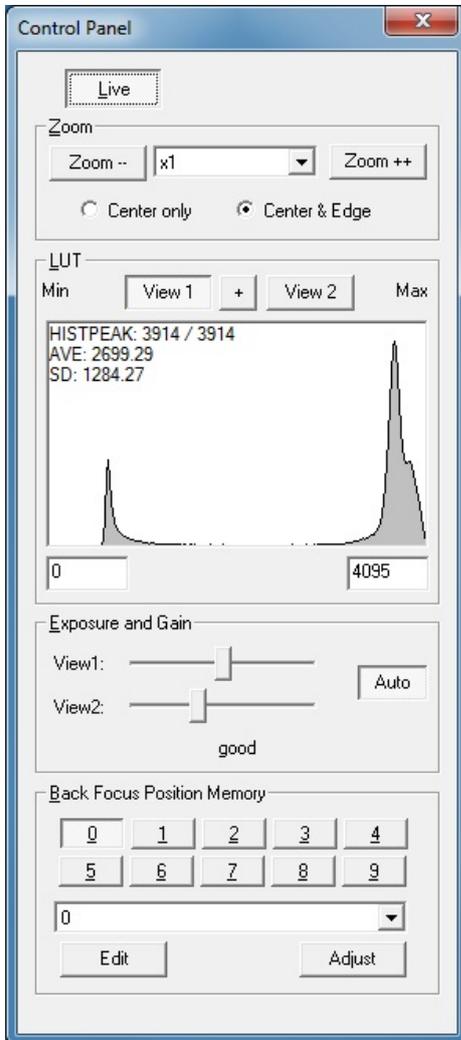


CCD1 の画像が表示されます。



また、コントロールパネルが表示されます。

【コントロールパネル】



Live	CCD1とCCD2の画像取得と停止ができます。
Zoom	
プルダウンメニュー	表示画像の拡大縮小が可能です。プルダウンメニューより1,2,4,8倍が選択できます。
Zoom++	ボタンで順番に拡大することができます。
Zoom --	ボタンで順番に縮小することができます。
Center only	表示されている画像の表示方法を変更します。
Center & Edge	詳細は、11ページをご参照ください。
LUT	
View 1	CCD1の画像を表示します。
View 2	CCD2の画像を表示します。
+	CCD1とCCD2の画像を重ね合わせて表示します。詳細は、8,9ページをご参照ください。
Histogram	表示画像のヒストグラムを表示しています。
HISTPEAK XXXX/YYYY	XXXXは、表示画像の頻度の最大値を表示しています。YYYYは、過去100枚あるいは3秒以内の頻度の最大値を表示しています。
AVE	表示画像の平均値を表示しています。
SD	表示画像の標準偏差値を表示しています。
Min	LUTの下限値になります。 (0-4095の数字入力可能)
Max	LUTの上限値になります。 (0-4095の数字入力可能)
Exposure and Gain	
View 1	CCD1の露光時間とGainの設定値です。
View 2	CCD2の露光時間とGainの設定値です。 右に行くほど露光時間は長く、Gainは大きく設定されます。
Auto	Autoボタンを押すと、取得画像より露光時間とGainを自動調整して、適切な輝度値が得られるように設定します。Autoをやめることも可能で、手動での変更も可能です。
結果表示	調整結果が適切かどうかの判断コメントが表示されます。左記ウインドウでは、“good”と表示されています。
Back focus Position Memory	
0~9	Memoryの番号です。
プルダウンメニュー	Memoryの概要テキストを表示します。 詳細は、12ページをご参照ください。
Edit	Memoryの概要テキストを編集できます。 詳細は、12ページをご参照ください。
Adjust	パラメータ取得の詳細画面が表示されます。 詳細は、13ページをご参照ください。

3-2-2 バックフォーカス位置（パラメータ）自動取得前の準備

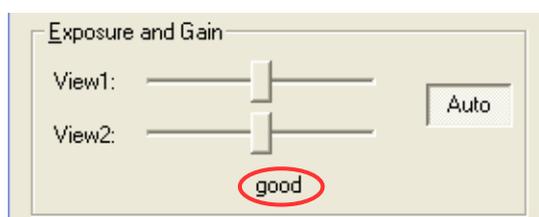
DCAMCAP は、起動時にカメラ(C11254-10B)を検出します。検出すると、カメラで撮像される画像をコンピュータのモニタに表示します。C11254-10B が検出されない場合は、起動時のダイアログでエラー表示となります。



- エラーが表示された場合は、カメラとコンピュータが正しく接続されているかを確認してください。

(1) 光源の調整を行います。

DCAMCAP では、現在撮像されている画像の状態によって、その画像が明るすぎるか暗すぎるかの判定を行い、その判定結果をコントロールパネルの Exposure and Gain に表示します。判定結果が表示されたら、その表示内容に従って、“good”の判定が出るまで、顕微鏡の光源を調整してください。



注記

- 通常、カメラのパラメータの自動調整機能は有効になっています。（Auto ボタンの表示が窪んだ状態）この機能を無効にする場合は、コントロールパネルの Exposure and Gain の右側にある Auto ボタンをクリックして ON の状態にします。その場合は、コントロールバーと顕微鏡の光源の光量をそれぞれ調整して、“good”の判定が出るようにしてください。

(2) 撮像しているキャリブレーションスライドの十字が画像の中央に来るよう、顕微鏡のステージを調整します。（拡大表示すると、調整しやすくなります）



- (3) 顕微鏡のフォーカスを調整して、キャリブレーションスライドにフォーカスを合わせます。
- (4) 取得画像のフォーカスとコントロールパネルのLUTのSDの最大値が、大まかに一致することを確認し、顕微鏡のフォーカス位置を決定します。

注記

- (5)の手順は、3-1-2-1 項(4)、3-1-2-2 項(5)と同様です。そこで条件が確認できていない場合に、この段階で(5)であることを確認してください。

注記

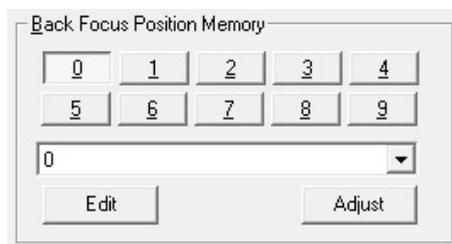
- (5)の条件が満足できない場合は、そのままバックフォーカスの自動取得を行っても、適切な結果が得られない可能性があります。

以上で、バックフォーカス自動取得前の準備が完了です。

3-2-3 バックフォーカス位置のMEMORYの選択

カメラ(C11254-10B)と顕微鏡を接続して使用する際、バックフォーカス位置はカメラの光学ブロックと対物レンズの組み合わせに依存します。

その際、光学ブロックの情報は、カメラ側で自動取得することができますが、対物レンズの情報(違い)は取得することができません。そのため、Back Focus Position Memory 内にてパラメータを選択し、カメラが記憶しているバックフォーカス位置へ CCD2 を移動させる必要があります。



コントロールパネルの Back Focus Position Memory 内では 10 箇所の対物レンズのフォーカス位置(バックフォーカス位置)を記憶することができます。

各バックフォーカス位置は Memory ボタンとして保存でき、そのうちの 1 つを選択して位置を定めることができます。

1 つの Memory には、8 種類の光学ブロックのバックフォーカス位置を保存することができます。

注記

- 選択されているボタンは、ボタンの表示が窪んでいます。

Memory ボタン下のプルダウンメニューには、現在選択されているバックフォーカス位置に対する説明を表示しています。

Memory の表示名を編集する場合は、Back focus Position Memory 内の Edit ボタンを押して編集します。この編集したテキスト情報は、プルダウンメニューおよびアプリケーションソフトウェアに表示される内容となります。

Index	Bank description, e.g. Lens type and magnification
0	0
1	x20
2	x100
3	x40 UPlanApo
4	x60 UPlanSApo
5	x20 UPlan FLN
6	6
7	x10_uplan
8	8
9	9

注記

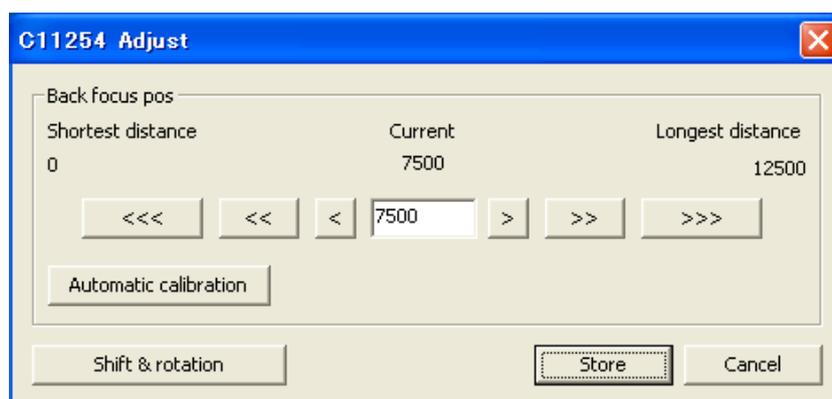
- テキスト情報は、対物レンズの倍率、型名等の情報を記述することをお勧めします。また、テキスト情報は、半角英数字のみ使用することができ、全角およびその他の半角文字は使用できません。

注記

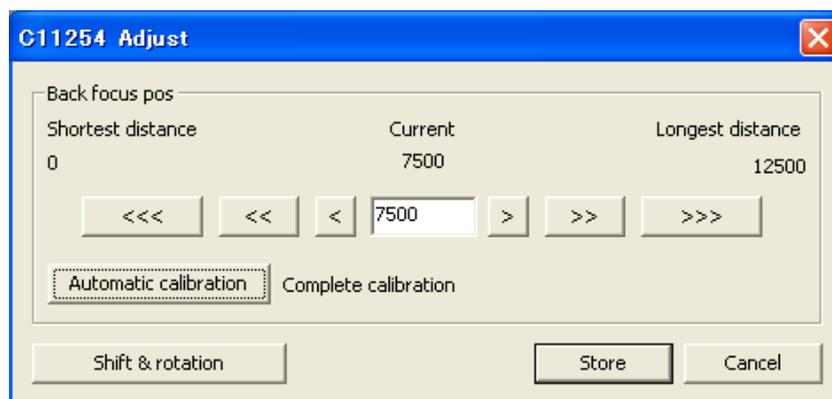
- 光学ブロックの情報は、カメラが自動で取得し、それぞれ個別にパラメータを記憶します。

3-2-4 バックフォーカス位置（パラメータ）の自動取得

コントロールパネルの Back focus Position Memory の Adjust ボタンを押すと、以下のウインドウが表示されます。Automatic calibration のボタンを押すと、バックフォーカス位置（パラメータ）の自動取得を開始し、約 1 分で取得が完了します。



Complete calibration の表示が出たら、完了となります。



Store のボタンを押すと、このバックフォーカス位置（パラメータ）の情報を現在選択されている番号に保存します。

Cancel のボタンを押すと、このバックフォーカス位置（パラメータ）の情報を保存しないで、コントロールパネルに戻ります。

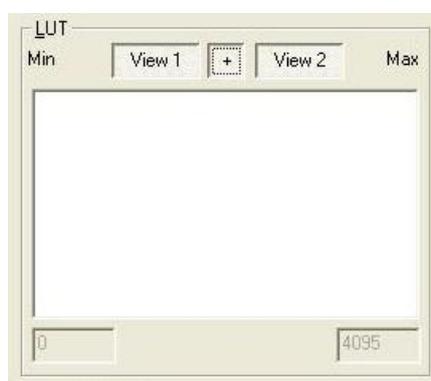
3-3 X,Y SHIFTおよび回転補正パラメータの自動取得



- X,Y shift および回転補正パラメータの取得は、バックフォーカス位置が合っていることを確認したうえで行ってください。

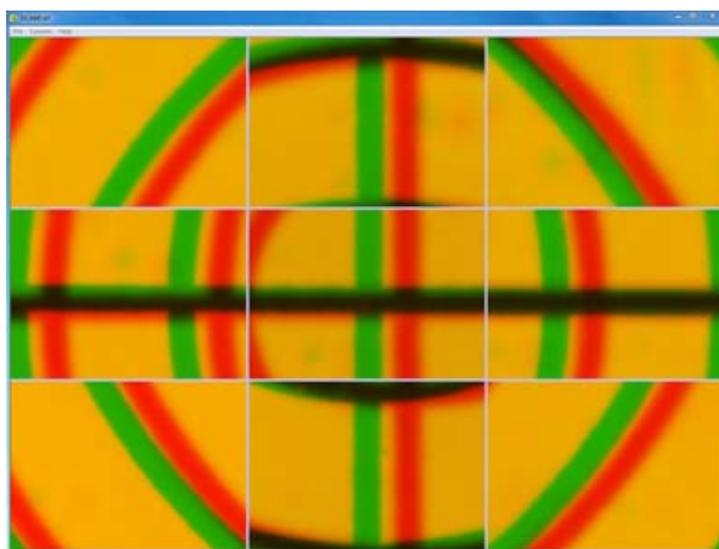
3-3-1 画像表示方法の確認

コントロールパネルの LUT の「+」ボタンを押すと、CCD1 と CCD2 の画像が重ね合わせて表示されま
す。これは補正完了後の確認時に便利です。



注記

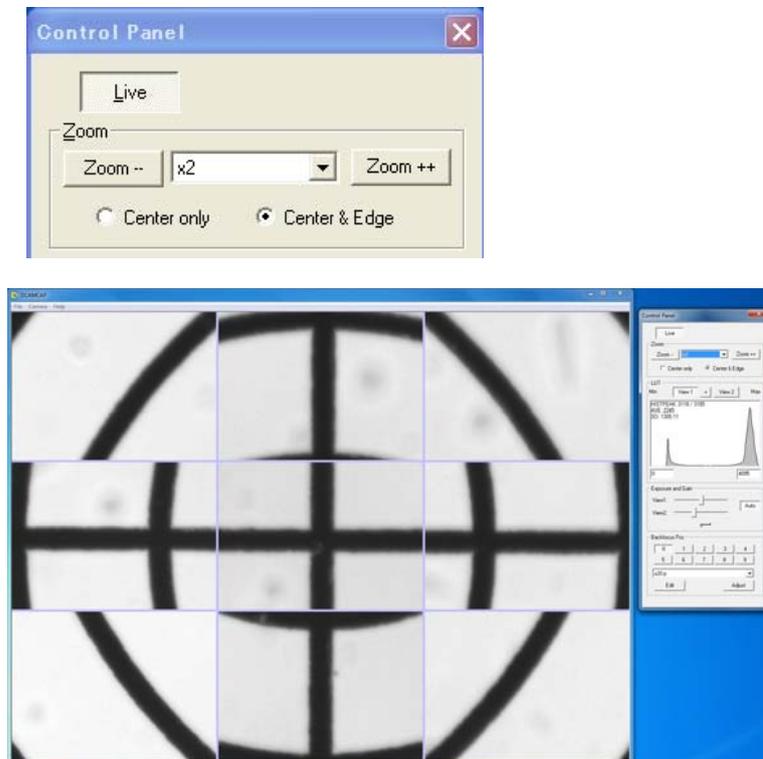
- この際、ヒストグラムは表示されません。



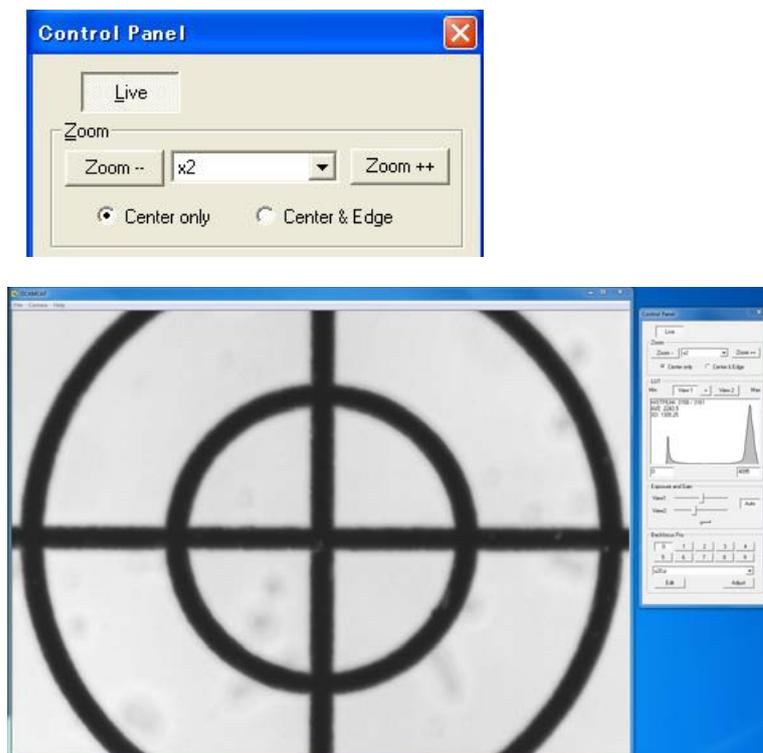
(上図／緑=CCD1、赤=CCD2)

また、コントロールパネルの Zoom で Center & Edge を選択すると、画像の中央、上下左右、四隅を画
像表示します。Zoom と組み合わせて表示することで、CCD1 と CCD2 の画像の X,Y の位置と回転の
確認が容易にできます。

■ 表示例 1 Zoom x2 とCenter & Edgeを組み合わせた場合

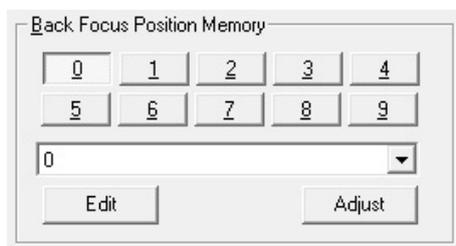


■ 表示例 2 Zoom x2 とCenter Onlyを組み合わせた場合



3-3-2 X,Y SHIFTおよび回転補正のMEMORYの選択

バックフォーカス位置の自動取得時と同様、コントロールパネルの Back focus Position Memory から CCD2 の位置を選択してください。

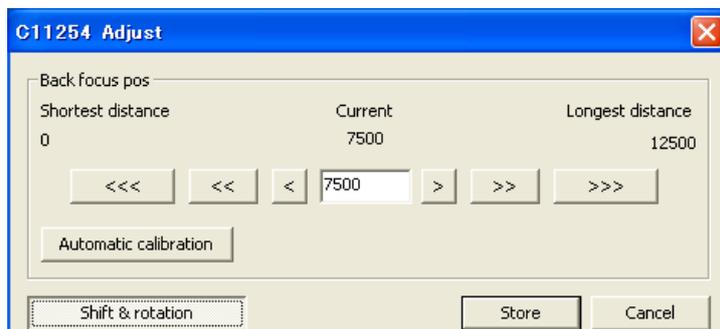


注記

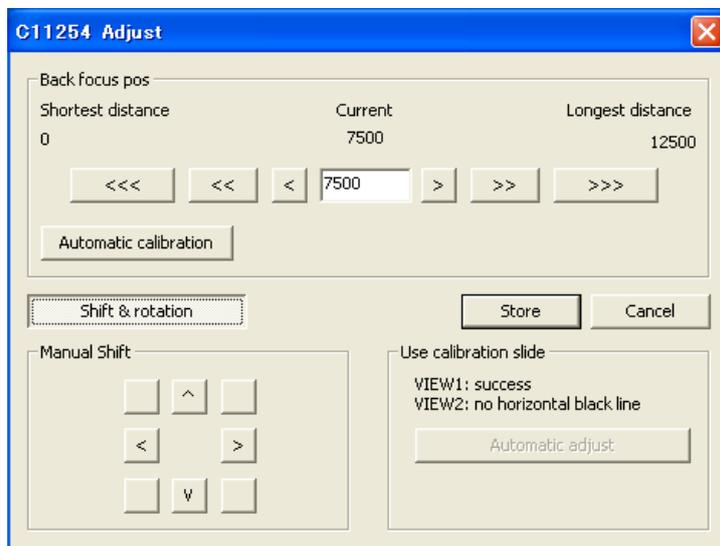
- 詳細は、3-2-3「バックフォーカス位置のMemoryの選択」をご参照ください。

3-3-3 X,Y SHIFTおよび回転補正位置の自動取得

コントロールパネルの Back focus Position Memory の Adjust ボタンを押すと、以下のウィンドウが表示されます。



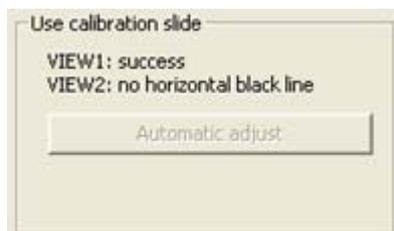
さらに Shift & rotation ボタンを押すと、ウィンドウが以下のように拡張します。



3-3-3-1 キャリブレーションスライドの撮影箇所の確認

Use calibration slide の下に、キャリブレーションスライドが適切に撮像されているかどうかを判定するコメントが表示されています。

View1,View2 ともに success のコメントが表示されるよう、顕微鏡の X,Y ステージで調整してください。



3-3-3-2 X,Y Shiftおよび回転の自動補正

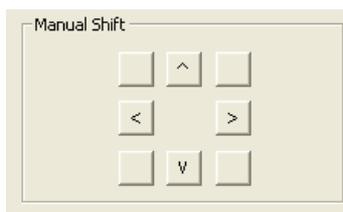
Use calibration slide の Automatic adjust ボタンを押すと、自動で X,Y Shift および回転の補正を行います。表示されている画像を確認し、実行した補正を反映させたい場合は、その時点で Store ボタンを押してください。反映させない場合は Cancel のボタンを押してください。

注記

- Cancel ボタンを押すと、このウィンドウが表示される前の状態に戻ります。

3-3-3-3 X,Y Shiftの微調整

自動補正の結果が満足でない場合、Manual Shift にて X,Y Shift を微調整することが可能です。Manual Shift の矢印ボタンを操作して、CCD1 と CCD2 の重ね合わせ画像が一致するよう調整してください。その後、表示されている画像を確認し、補正を反映させたい場合は Store ボタンを押してください。反映させない場合は Cancel ボタンを押してください。



- 矢印ボタンの操作は、画像表示が安定するまで待ってから次のボタンを押してください。

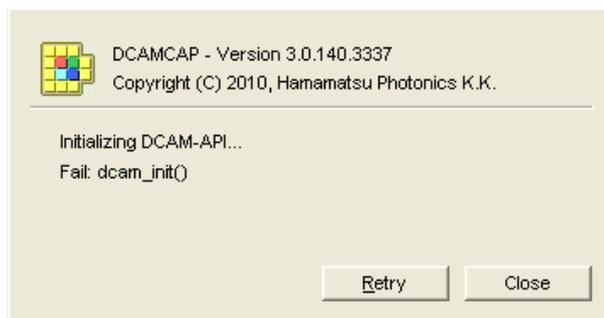
注記

- Cancel ボタンを押すと、このウィンドウが表示される前の状態に戻ります。

4. その他の画面表示

(1) カメラが見つからない場合

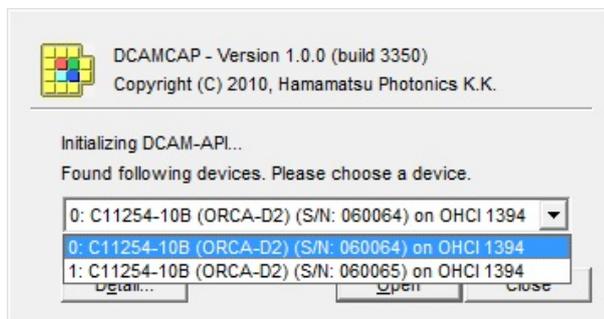
以下の画面が表示された場合は、カメラが接続されていないか電源が入っていない、または必要なソフトウェアがインストールされていないことを示します。



この場合、3-1「パラメータ取得前の準備」の項目を再度確認してください。

(2) 複数台のカメラが接続されている場合

以下の画面が表示された場合は、接続されているカメラが複数台あることを示します。



検出されたカメラの型名と製造番号が一覧表示されるため、Close をクリックしてソフトウェアを終了した後、1 台のみを接続している状態にして、再度、DCAMCAP を起動してください。

(3) その他のメッセージを確認した場合

何らかの原因により不具合が発生したことを示します。

この場合は、メッセージをお読みいただき、3.「エラー! 参照元が見つかりません。」に従って再度パラメータの保存を行ってください。また、何度も同じエラーメッセージが確認される場合は、弊社または弊社代理店までご連絡ください。

5. 弊社連絡先

浜松ホトニクス株式会社

システム事業部 カスタマーサービスグループ サービスセンター

〒431-3196 静岡県浜松市東区常光町 812 番地

TEL (053) 431-0145

FAX (053) 433-8031

E-mail support@sys.hpk.co.jp

- 本書の内容は予告なく変更されることがあります。
- 本書の一部、もしくは全部を無断で複写・転写することを禁じます。
- 本書について、次のような問題が生じた場合には、お手数ですが弊社までご連絡ください。
(弊社連絡先は本書の「連絡先」をご参照ください) 直ちに対処させていただきます。
 - ・ 本書の内容に不審な点や誤り、記載漏れ等があった場合
 - ・ 乱丁・落丁などの不備が発見された場合
 - ・ 本書を紛失または汚損した場合