

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
LABORATÓRIO MULTIUSUÁRIOS DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS DA SAÚDE

MICROSCÓPIO INVERTIDO NIKON ECLIPSE Ti-U
MANUAL DO PESQUISADOR



Professor Dr. Ricardo Andrez Machado de Ávila

Coordenador Técnico

Rahisa Scussel

Assistente Técnica

O Microscópio invertido Eclipse Ti-U possui como finalidade ampliar estruturas pequenas, impossíveis de visualizar a olho nu, como células vivas, tecidos ou organismos com auxílio de objetivas apropriadas para uso em Fluorescência e Campo Claro (CC). Também possibilita a transmissão da imagem através de uma câmera acoplada e conectada a um computador com o software NIS Br.

PROCEDIMENTO DE UTILIZAÇÃO

1. Ligar o Nobreak.
 2. Ligar a fonte de energia do microscópio. (Figura 01)
 3. Ligar o Intensilight C-HGFI, que é a fonte da lâmpada de mercúrio para trabalhos com epifluorecencia e aguardar aproximadamente 10min. (Figura 01)
 4. Pressionar o botão Liga/Desliga que se encontra na lateral esquerda do equipamento.
 5. Ligar o computador e abrir o software NIS Br.
 6. Ligar o controlador da câmera Digital sight DS-U3, que está ao lado direito. (Figura 01)
 7. Colocar em posição de uso a objetiva de menor aumento.
 8. Colocar sobre a platina o material a ser observado. (Caso de lâminas histológicas, posicionar inversamente)
 9. Centralizar o material utilizando o charriot.
 10. Ajustar as oculares à vista do observador, combinando os campos visuais esquerdo e direito para um só campo.
 11. Ajustar a iluminação girando o controle de luz, que se localiza na lateral esquerda do equipamento.
- OBS₁:** Cuidado com a iluminação excessiva. Pode alterar o contraste da sua imagem, principalmente se for lâmina, no caso de placa (células) pode haver necessidade de super iluminação, depende do tipo de meio.
12. Aplicar a iluminação de Köhler. Melhora a centralização do feixe de luz tendo menos ocorrência de irregularidades no ?.

ILUMINAÇÃO DE KÖHLER

- 1) Elevação do condensador com a lente suplementar em funcionamento;
- 2) Foco da preparação com objetiva 10x (exemplo);
- 3) Fechamento do diafragma de campo;
- 4) Abaixamento do condensador até focalizar as paletas do diafragma de campo, fica um círculo pequeno;
- 5) Centralização do diafragma de campo, isto é, centralização do círculo;
- 6) Abertura do diafragma de campo até o seu desaparecimento além da borda visual;
- 7) Observar dentro do tubo do microscópio sem a ocular, regulagem do diafragma do condensador de modo a iluminar apenas $\frac{1}{2}$ da abertura da abertura total.

13. Focalizar o material a ser observado começando pela objetiva de 4x.

14. Girar o botão de focalização, do macro e micrométrico, lentamente e de maneira uniforme para evitar danos na amostra.

15. Sem desfocar, substituir a objetiva pela de aumento superior, movimentando o revólver e ajustando o foco com o botão micrométrico.

OBS₁: O software mostrará uma barra preta embaixo na qual a medida que a focalização for ficando maior esta barra será preenchida e quanto maior for o valor, mais nítido a imagem deverá ficar.

16. Para transmitir a imagem que está sendo observada para a câmera é necessário ajustar um botão, que está ao lado direito do equipamento, permitindo ou não a passagem da imagem para a câmara e o computador ou 80% para a câmera e 20% para o observador.

17. Para Abrir a imagem no monitor através do software NIS Br, é necessário clicar na seta verde .

18. Antes de começar a captura é necessário selecionar a objetiva utilizada no momento. Clicar no botão DS Settings e fazer o ajuste do Branco (Auto White) e confirmar em OK.

OBS₁: A cada foto que for tirada o usuário deverá fazer novamente o ajuste do branco. Só não irá precisar ajustar se estiver trabalhando com os filtros.

OBS₂: A cada captura que é realizada e salva a imagem ficará na tela do Software. É necessário clicar novamente na seta verde  para voltar à imagem real.

19. Para capturar a imagem é só clicar no botão .

OBS₁: Antes da captura, é importante adicionar a barra de aumento para a captura de lâminas.

OBS₂: Fica a critério de o pesquisador utilizar as ferramentas que o software proporciona.

20. Salvar as imagens em extensão .tiff (ou .tif) na pasta do pesquisador que estará organizada por Laboratório de Pesquisa, pesquisador e data. Para a aquisição das imagens deverá obrigatoriamente ser utilizar-se de meios físicos como CD e DVD ou ainda de meios virtuais através de *uploads* de anexos em e-mail ou de *uploads* em serviços de armazenamento em nuvem como *Google Drive*, *OneDrive*, *Dropbox*. **É proibida a utilização de Pen drives.**

21. Após as observações, retirar a amostra e chamar a técnica para limpeza da objetiva utilizada e do equipamento.

22. Antes de desligar o equipamento, é necessário colocar todo o sistema de iluminação no mínimo de incidência.

23. Fechar o software NIS Br e desligar o computador.

24. Pressionar o botão Liga/Desliga que se encontra na lateral esquerda do equipamento.

25. Desligar a o controlador da câmera Digital sight DS-U3, que está ao lado direito. (Figura 01)

26. Desligar a fonte de energia do microscópio. (Figura 01)

27. Desligar o Intensilight C-HGFI. (Figura 01)

29. Desligar o Nobreak.

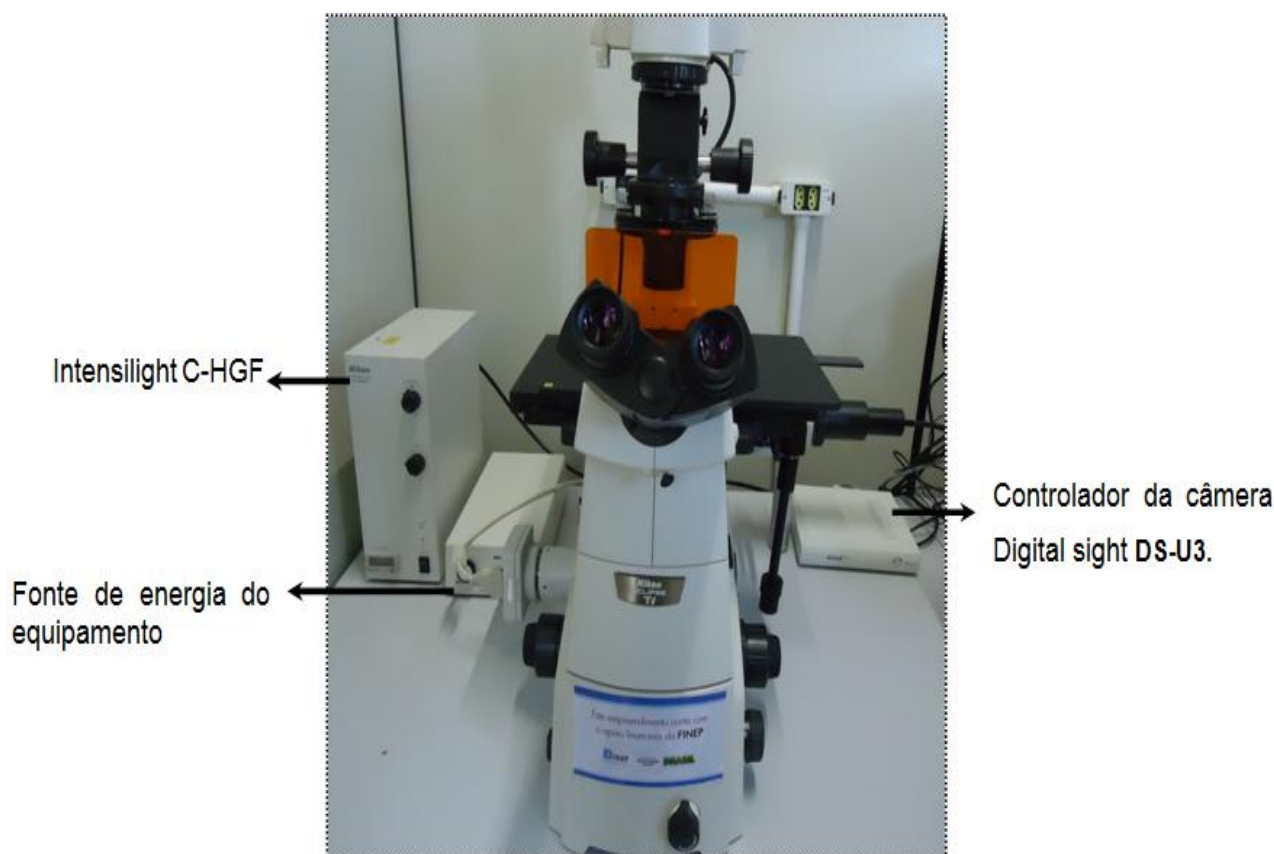


Figura 01- Microscópio invertido Nikon eclipse Ti-U

INFORMAÇÕES IMPORTANTES

1. Para utilizar as fases nas objetivas de aumento 20x e 40x é necessário trocar as fases no condensador que possui algumas etiquetas em vermelho. Selecionar a etiqueta escrita **Ph1** ou **Ph2** que está no condensador.

2. Para a utilização da objetiva de 100x, é necessário sempre utilizar o óleo de imersão que deverá ser pingado diretamente em cima da objetiva de 100x.

OBS₁: Sempre informar o(a) técnico(a) do laboratório quando da **utilização do óleo** de imersão, para que a limpeza da objetiva seja realizada imediatamente após o uso, uma vez que o **excesso** de óleo na objetiva pode **acarretar sérios danos** ao equipamento.

3. Para evitar engordurar as oculares, preconiza-se que o equipamento seja utilizado na ausência de rímel.

4. Quando utilizado os filtros de fluorescência é necessário mudar o modo de exposição da câmera para manual, (DS Setting), onde é realizada a determinação do melhor tempo para aquela amostra. Geralmente, em fluorescência utiliza-se um tempo de 1s ou 1,5s.

5. Ligar o controlador da câmera Digital sight DS-U3, do lado direito, caso contrário acusará uma mensagem de erro no software NIS Br, pois não possui *drive* para a câmera.
6. A chave de segurança que está conectada no gabinete do computador não poderá ser retirada em hipótese alguma, caso contrário o *software* não irá funcionar.
7. Todo usuário deve assinar o controle de utilização de equipamentos ao entrar e sair do MULTILAB.
8. É proibido o manuseio do Microscópio invertido Nikon Eclipse Ti-U com uso de luvas;
9. É proibida a execução de comandos no Microscópio invertido Nikon Eclipse Ti-U sem conhecimento prévio da sua finalidade. Solicite sempre ajuda dos responsáveis pelo equipamento caso surja alguma dúvida;
10. O usuário deve ter cuidado e atenção durante a utilização do Microscópio invertido Nikon Eclipse Ti-U, para que não ocorram acidentes que possam danificar o equipamento ou prejudicar o usuário. O dano ou extravio de peças do Microscópio invertido Nikon Eclipse Ti-U será de responsabilidade do professor responsável pelo projeto;
11. Atrasos a partir do horário agendado sem justificativa, maiores que 20 minutos, levarão ao cancelamento da reserva do equipamento.
12. A alavanca frontal serve para colocar uma lente de aumento de 1,5x no aumento total observado.

FILTROS

Os cubos para fluorescência disponíveis são DAPI, FITC e RODAMINA (TRITC) em que é possível observar a imagem com as cores Azul, Verde e Vermelho, respectivamente.

A) DM: 400

DAPI: Ex: 340/40 (340-380)

Em: 460/50 (435-485)



B) DM: 505

FITC: Ex: 480/30 (465-495)

Em: 535/40 (515-555)



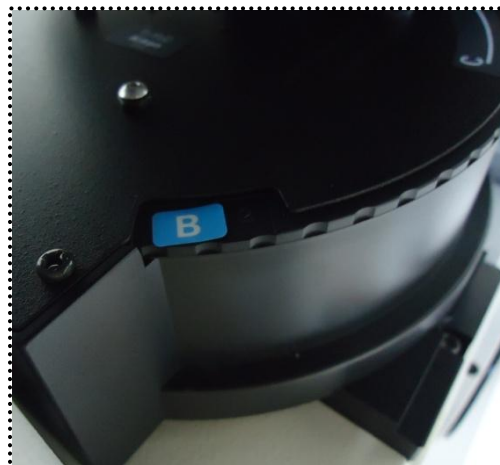
C) DM: 565

TRITC: Ex: 540/25 (528-553)

Em: 620/60 (590-650)



D) Não possui filtro.



PROCEDIMENTOS DE LIMPEZA

1. A limpeza do equipamento será realizada **somente** pelo(a) técnico(a) do laboratório.