

Nikon

K.O

倒立顕微鏡DIAPHOT-TMD
落射蛍光装置TMD-EFQ

使用説明書

株式会社 **ニコン**

このたびは、落射蛍光装置 TMD-EFQ をお買い上げいただきありがとうございました。この装置は倒立顕微鏡 DIAPHOT-TMD に取り付けて落射蛍光観察をするためのもので、光源は高輝度光源照明装置を使用します。DIAPHOT-TMD に付属の使用説明書と併せてこの使用説明書を良くお読みになり、正しくお使い下さい。

取扱い上の注意点

① 取扱いは慎重に

衝撃を与えないよう、取扱いは慎重に行ってください。

② 使用場所

観察時は暗室もしくは半暗室で、振動の少ない所に置いて下さい。保管は直射日光の当たる所、ほこりの多い所、高温多湿の所は避けて下さい。

③ レンズの汚れ

レンズ類には、ほこり、指紋などをつけないで下さい。レンズ、ミラーなどの汚れは、像の見えを低下させます。

④ 超高圧水銀ランプ

● 超高圧水銀ランプはウシオ電機製 USH-102DH をご使用下さい。

● 水銀ランプの平均寿命は200時間です。

200時間使用したら交換して下さい。(電源コードのプラグを抜き、電源スイッチをOFFにした状態で行うこと。)

点灯時間は、点灯装置の積算時間計で確認して下さい。

● 水銀ランプ交換の際、バルブのガラス部分に素手で触れないで下さい。

万一触れたり、汚れたりした場合は、アルコールで拭いて下さい。

● 水銀ランプ取付けの際は、ランプの極性にご注意下さい。

● 点灯前にランプがランプハウスに取り付けられているかを確認して下さい。

● 水銀ランプからの光を、直接または間接的にも直視しないで下さい。

(ランプハウスの外や、ランプハウスが鏡基から外された状態では、絶対に点灯しないこと。)

● 水銀ランプの点灯中、ランプハウスは部分的に熱くなることがありますので、手を触れないで下さい。また、引火性物質(ガソリン、シンナー、アルコールなど)をランプハウスに近づけないよう、十分ご注意ください。

● 水銀ランプを消灯して直後の再点灯は、ランプの特性上、点灯しないことがあります。消灯後10分以上経過し、ランプがある程度冷えるまでお待ち下さい。

⑤ 励起フィルタ、吸収フィルタ

励起フィルタは、経時変化があります。励起フィルタは強い光が照射されているため、使用期間に応じお取り替え下さい。

手入れおよび保守

1 レンズの清掃

レンズについたほこりは柔らかな毛筆（刷毛）で払うか、ガーゼで軽く拭き取って下さい。

指紋や油類の汚れの場合のみ、柔らかい清潔な不綿布かガーゼ、またはレンズティッシュに無水アルコール（エタノール、またはメタノール）をわずかにふくませてから拭いて下さい。

対物レンズの清掃には石油ベンジンのみ使用して下さい。

メタノールや石油ベンジンの取扱いには、十分注意して下さい。

2 塗装部分の清掃

塗装部分、プラスチック部分は有機溶剤（シンナー、アルコール、エーテルなど）の使用を避けて下さい。

3 各部の分解は避ける

各部の分解は性能を害する恐れがありますから避けて下さい。

4 使用しないとき

使用しないときは、付属のビニールカバーをかぶせて、湿気が少なく、カビの発生しにくい場所に保管して下さい。

特に対物レンズ、接眼レンズ、フィルタカセットは乾燥剤を添えて、容器（デシケータなど）に保管することをお勧めします。

5 定期点検

本機の性能維持のため、定期点検をお勧め致します。（ご購入先がもよりの弊社営業所にご相談下さい。）

I. 各部の名称	4
II. 組立て	6
1. 落射蛍光装置本体の取付け	6
2. ランプとソケットの取付け	6
3. ランプハウスの取付け	6
4. 点灯装置の接続	6
5. 遮光筒の取付け	7
6. 遮光板の取付け	7
7. 対物レンズ、心出し工具の取付け	7
8. フィルタの取付け	7
9. フィルタカセットホルダの取付け	8
III. 検鏡準備	8
1. ランプの点灯	8
2. 眼幅調節、視度補正	9
3. ランプの心出し	9
4. 視野絞りの心出し	10
IV. 検鏡法	11
1. 検鏡手順	11
2. 各部の操作	12
1) フィルタの使い方	12
2) 視野絞りの使い方	14
3) シャッタの使い方	14
4) NDフィルタの使い方	14
V. 蛍光指示薬Quin 2、Fura2の特徴	15
VI. 蛍光測光について	16
1. Fura2の蛍光測光からCa ²⁺ 濃度の絶対値を求める方法について	16
2. 測光装置P1を使ったFura2によるCa ²⁺ の測定法	16
VII. 蛍光写真撮影	18
1. 高感度フィルムの使用	18
2. 明るい光学系の組合せ	18
3. 励起光の調節	18
4. 標本	18
VIII. 使用上の問題点と対策	19

I . 各部の名称

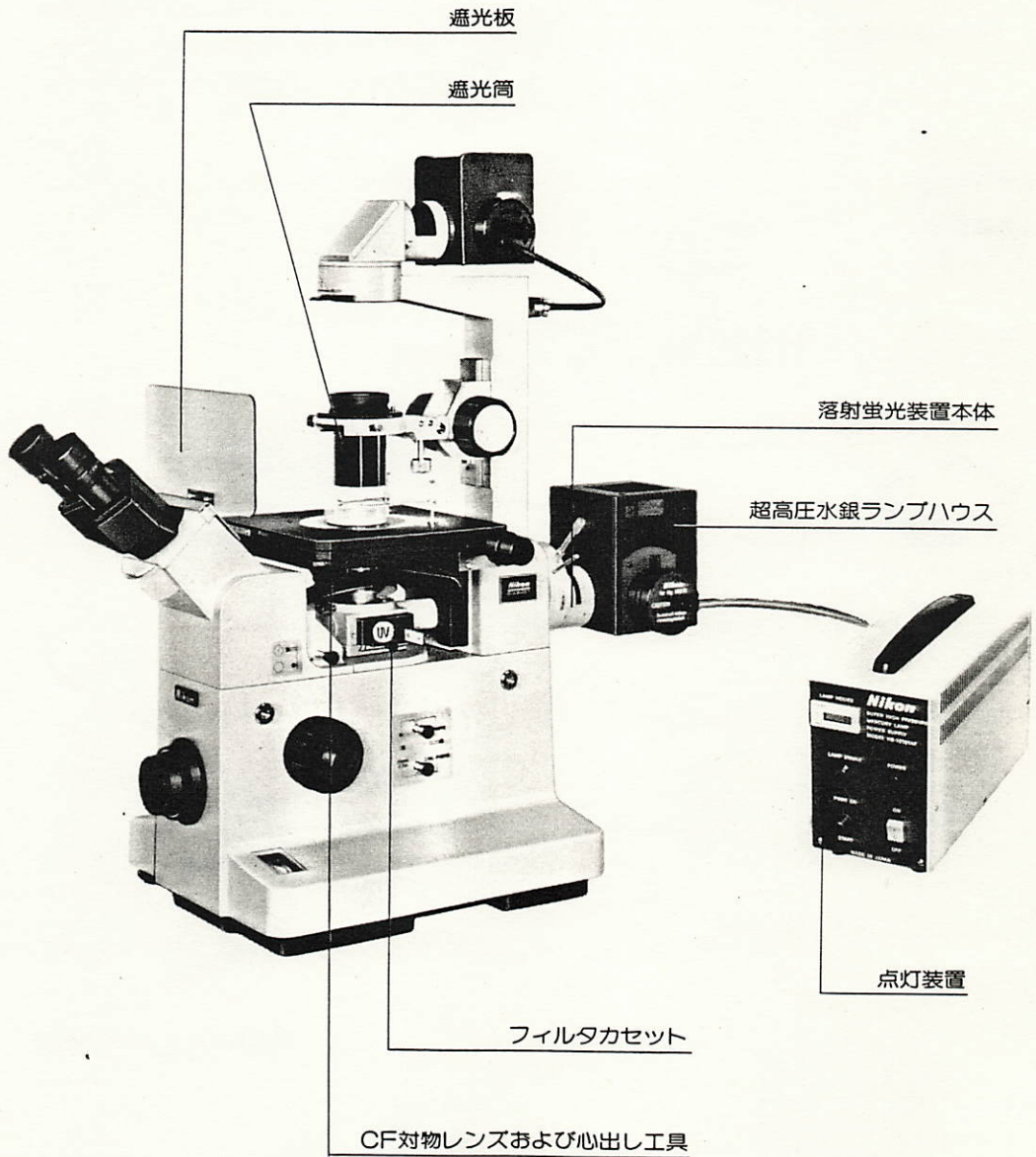
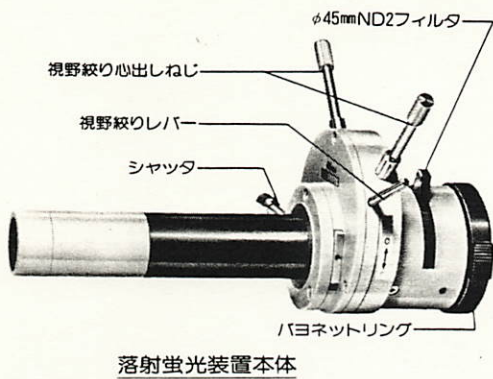
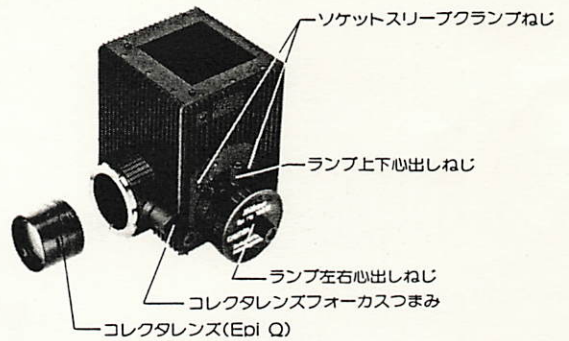


図 1



落射蛍光装置本体



超高压水銀ランプハウス



励起フィルタ
(EX340IF, EX360IF, EX380IF)



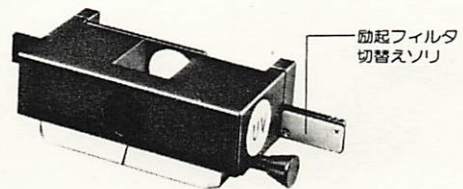
励起補助用NDフィルタ
(φ18mm ND4, ND8, ND16, ND32)



吸収フィルタ
(BA492, BA510/20, BA510/40, BA460, BA480)



吸収補助フィルタ
(φ20mm BG18 水色、赤、外線カット)



励起二波長切替え
フィルタカセットホルダ
(DM400付き)

10×



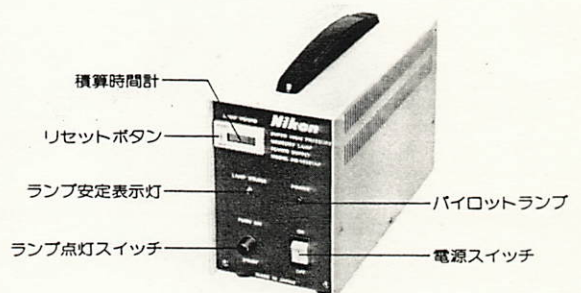
20×



40×
補正環付き



CF Fluor対物レンズ



超高压水銀ランプ点灯装置



遮光板



遮光筒



心出し工具

II. 組立て

1. 落射蛍光装置本体の取付け(図3)

TMD鏡基背面の取付け部の切欠きに、落射蛍光装置本体側のピンを合わせ、胴付が確実に当たるまで押し込んでからクランプねじで固定します。

保温装置プラスチックケースを使用する場合は、プラスチックケースを取り付ける前に、落射蛍光装置本体を鏡基に取り付けて下さい。

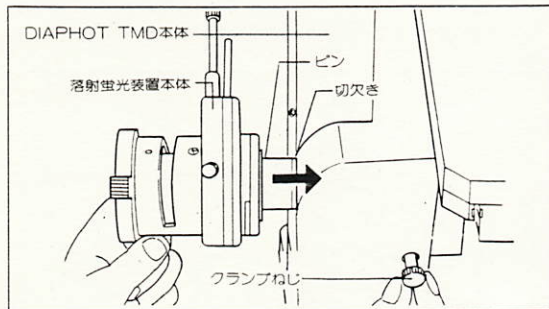


図3

2. ランプとソケットの取付け(図4)

ソケットスリーブクランプねじを外して、ランプソケットをランプハウスから抜き出します。

水銀ランプのプラス(+)表示をソケットのプラス(+)表示と合わせて確実に取り付け、水銀ランプクランプねじで固定します。クランプは、ランプ破損防止のため必ず(-)→(+)極の順に固定して下さい。外す場合は、逆に(+)→(-)の順にクランプを緩めます。

注意：●ガラス部分に素手で触れずに、手袋、布などを介して行って下さい。

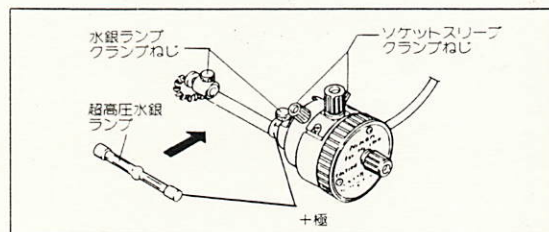


図4

ランプの取り付いたソケットを、ランプハウスのソケット受けに押し込んで、ソケットスリーブクランプねじで固定します。

注意：●水銀ランプソケットは、ハロゲンランプソケットと取付け穴が異なっています。

間違っても取り付けると性能を損うばかりか破損の原因にもなりますのでご注意下さい。

3. ランプハウスの取付け(図5)

1) コレクタレンズフォーカスタブみを引き出し、コレクタレンズ(Epi Q)を矢印の方向に差し込みます。コレクタレンズフォーカス溝とフォーカスタブみ先端のピンを合わせてつまみを戻します。

2) 蛍光装置本体のバヨネットリングをO(オープン)の位置にし、ランプハウスの位置決め溝と、本体の位置決めピンを合わせて取り付け、バヨネットリングをC(クローズ)の位置に回して固定します。

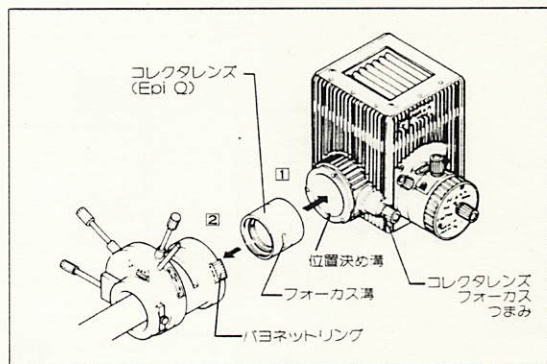


図5

4. 点灯装置の接続(図6)

ランプソケットから出ているランプコードを点灯装置背面のランプ入力コネクタに接続します。

電源コードを電源入力コネクタに接続します。

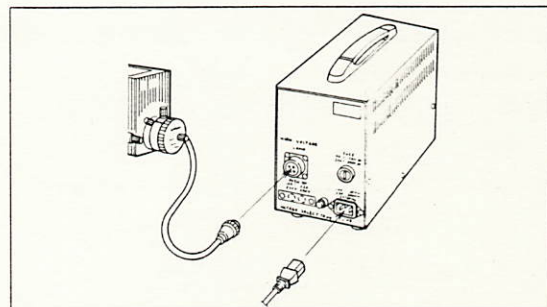


図6

5. 遮光筒の取付け(図7)

コンデンサマウントに遮光筒を取り付けます。

(位相差照明併用の場合は使用しません。)

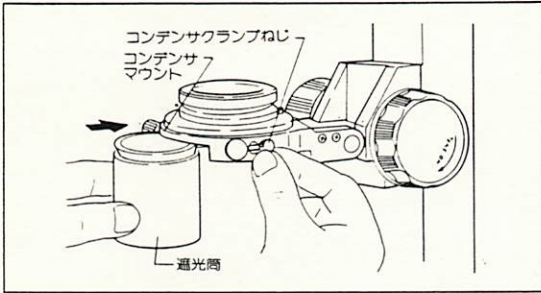


図7

6. 遮光板の取付け(図8)

双眼鏡筒下部に遮光板を取り付けます。

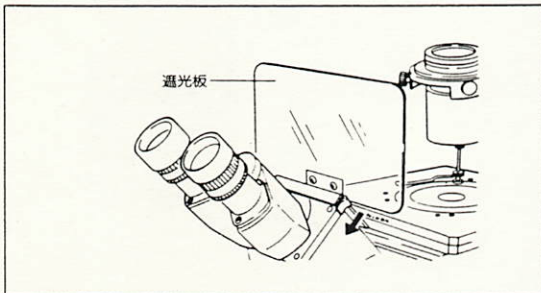


図8

7. 対物レンズ、心出し工具の取付け

(図9)

粗動ハンドルを回して、レボルバを最下部に降ろしておきます。本体左側より、対物レンズをレボルバにねじ込みます。対物レンズ先端を、ステージなどにぶつけないように注意して下さい。

レボルバを時計方向に回したとき、倍率が増加する順序に取り付けます。

対物レンズが取り付けられていないねじ穴に、心出し工具をねじ込みます。

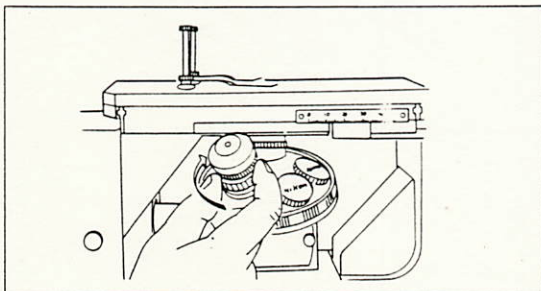


図9

8. フィルタの取付け

1) 励起フィルタの取付け (図10)

E X 340とE X 380、またはE X 340とE X 360をカセットホルダにねじ込みます。

ただし、E X 360には予め励起補助用NDフィルタを取り付けます。取付けは、図のようにNDフィルタを励起フィルタに落とし込み、シリコン系の接着剤で接着します。NDフィルタが出張るときは、励起フィルタの押え環を外してNDフィルタを落とし込みます。標準的にはE X 360にはND 8かND 16を取り付けると良好ですが、標本によって異なりますのでご注意下さい。

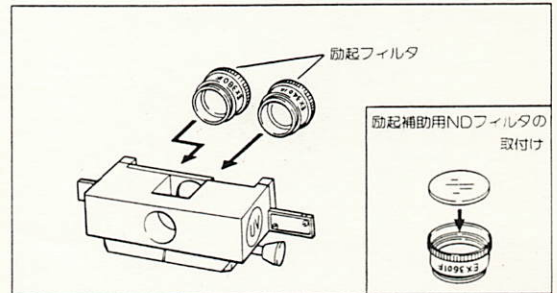


図10

2) 吸収フィルタの取付け (図11)

Fura 2の場合は、BA 510/40 (黄色文字半値幅40nm)、Quin 2の場合はBA 492を取り付けます。励起光にE X 380を使用する場合は、必ず吸収補助フィルタBG18を挿入しておきます。

また、Fura 2の場合で、蛍光像が十分明るい場合は、BA 510/20 (白色文字半値幅20nm)を使用して下さい。

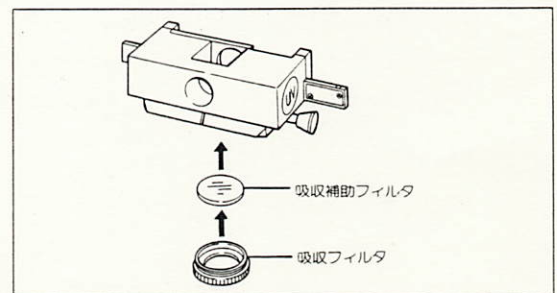


図11

9. フィルタカセットホルダの取付け

(図12)

レボルバ下側の右側カバーのねじを外してカバーを取り外します。

カセットホルダを図のように差し込みます。

注意：●クリックが確実に落ち込むまで押し込んで下さい。

●微分干渉装置NTFとの併用はできません。

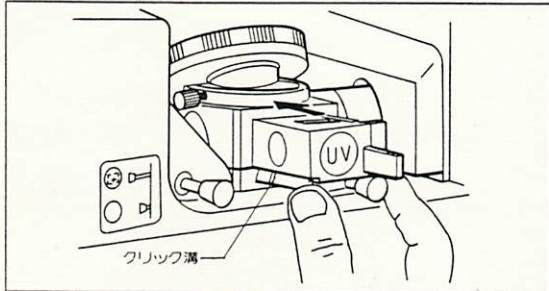


図12

倒立顕微鏡DIAPHOT-TMD本体のその他の部分の組立てについては、TMD本体に付属の使用説明書P 6～P9をご覧ください。

III. 検鏡準備

1. ランプの点灯(図13)

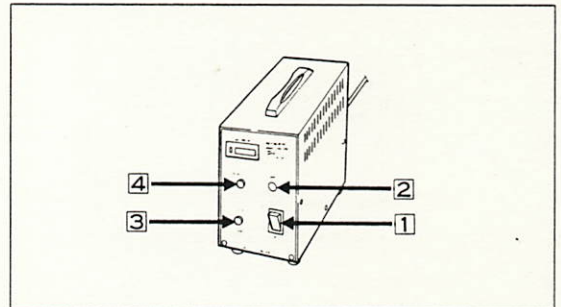


図13

1) ランプ点灯装置のリセットボタンを押して、積算時計を0にします。

(ランプの交換を行った場合も0にして下さい。)

2) 点灯装置に接続した電源コードのプラグを電源コンセントに差し込み、電源スイッチをON(1)にします。

パイロットランプの点灯(2)を確認した後、ランプ点灯スイッチを2～3秒間押して(3)ランプを点灯させます。ランプが点灯すると、時計の液晶が点滅し、ランプ点灯状態を示します。

3) ランプは点灯後4～5分で安定し、ランプ安定表示灯が点灯し(4)、検鏡可能であることを示します。

注意：●再点灯の場合は、消灯後約10分以上経過して水銀ランプが冷えてから点灯スイッチを押して下さい。

2. 眼幅調節、視度補正

- 1) ステージに標本を載せます。
- 2) 視野絞りレバーを (0) の方向に回して視野絞りを全開にします。(図14)

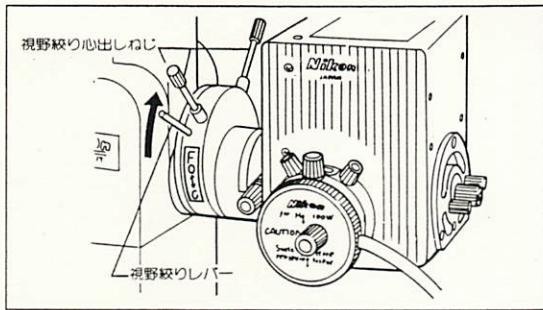


図14

- 3) カセットホルダの切替えソリを操作して使用する励起フィルタを光路に入れます。

注意：●励起フィルタ切替えソリが中間に止まらないように確認して下さい。

- 4) シャッタノブを引いて、シャッタを光路より外します。(図15)

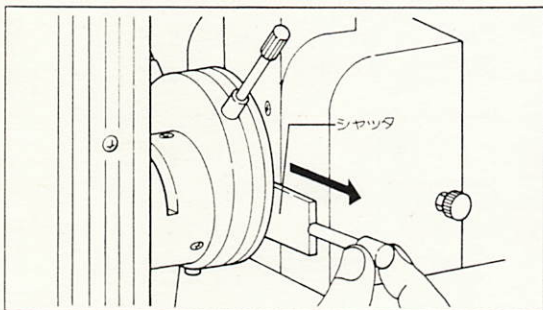


図15

- 5) 10×対物レンズで標本にピントを合わせます。
- 6) 倒立顕微鏡 DIAPHOT-TMD の使用説明書を参照して、眼幅調節(P10)、視度補正(P11)を行います。

3. ランプの心出し

- 1) 10×対物レンズで標本にピントを合わせます。
- 2) レボルバを回転させて心出し工具を光路に入れ、心出し工具の窓が側面に来るように外筒を回転します。(図16)

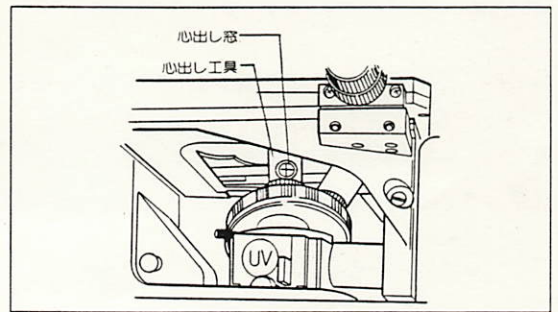


図16

- 3) コレクタレンズのフォーカスタフミを回転させて、心出し工具窓にランプのアーク像を結像させます。

(図17)

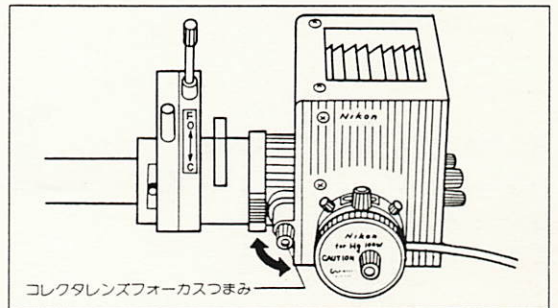


図17

- 4) ソケットスリーブクランプねじを緩め、ランプ左右心出しねじと、上下心出しねじを回して(図18)、アーク像を心出し工具の十字線の中央部に持ってきます。(図19-①)

- 5) 上下心出しねじをわずかに動かし、アーク像を偏心させ、バックミラー送りねじを回してバックミラーを前後させ、アークのミラー像を心出し工具の窓に結像させます。

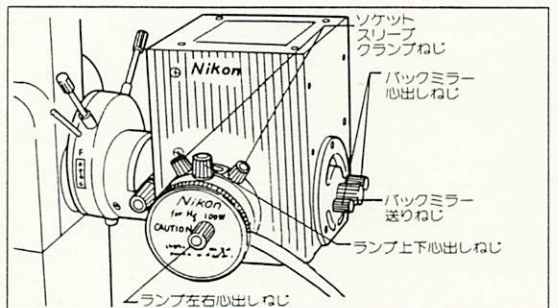


図18

6) バックミラー心出しねじにより、アーク像とミラー像が対称位置になるように調節します。

(図19-2)

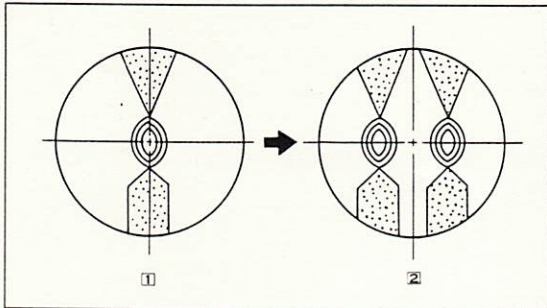


図19

7) 上下心出しねじにより、アーク像を心出し工具の窓の中心に合わせ、アーク像とミラー像を重ねます。

4. 視野絞りの心出し(図20)

- 1) 10×対物レンズで標本にピントを合わせます。
- 2) 視野絞りを小さく絞ります。
- 3) 視野絞りが接眼の視野に対して偏心しているときは、視野絞り心出しねじ(図14参照)でほぼ同心となるよう調節します。
- 4) 視野絞りを接眼の視野とほぼ同じ大きさまで開き、偏心しているときは、視野絞り心出しねじで正しく心出します。

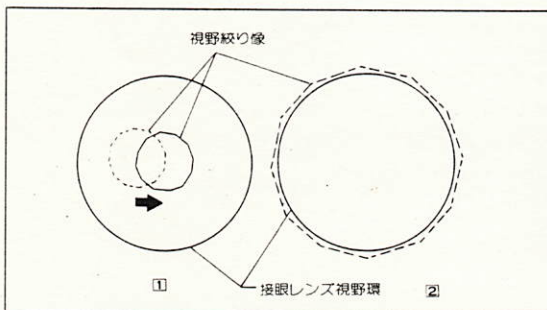


図20

IV. 検鏡法

1. 検鏡手順

1 使用する励起法に合ったフィルタをカセットに取り付け、カセットを鏡基にセットします。(P7,8-8..9.参照)

2 ステージに標本を載せます。

3 ランプを点灯します。(P8-1.参照)

4 眼幅と視度の調節をします。(P9-2.参照)

5 ランプの心出しをします。(P9-3.参照)

6 視野絞りの心出しをします。(P10-4.参照)

7 使用する対物レンズに切り替えてビントを合わせます。

8 明るさをNDフィルタで調節します。(P14-4)参照

9 視野絞りを調節します。(P14-2)参照

注意：●励起光に紫外線を使用し、かつ作動距離の短い落射蛍光専用対物レンズを使用しているため、培養容器には、底面が0.17mm以内のガラスのものを使用して下さい。

2. 各部の操作

1) フィルタの使い方

フィルタには、表1とフィルタの分光特性（図21～24）を参照して、標本および測定に適したフィルタシステムを使用して下さい。

表1

フィルタ		用途
励起フィルタ	EX340IF	Quin2、Fura2用
	EX360IF	Quin2、Fura2用
	EX380IF	Fura2用
ダイクロイックミラーDM400		
吸収フィルタ	BA492(半値幅40nm)	Quin2用
	BA510/20(白文字、半値幅20nm)	Fura2用
	BA510/40(黄色字、半値幅40nm)	Fura2用



図21

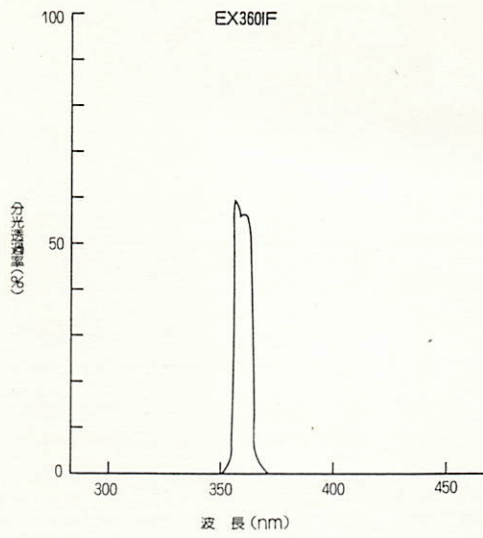


図22

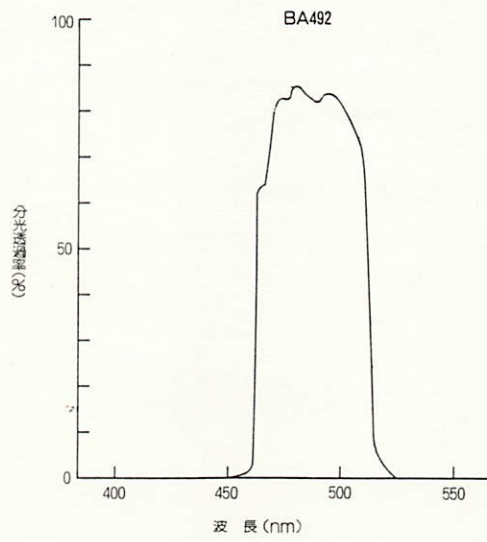


図23

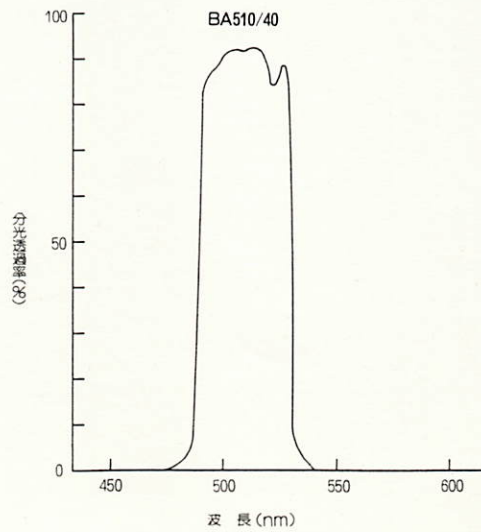


図24

2) 視野絞りの使い方

標本の観察する範囲を制限する絞りで、視野絞りレバーによって行います。

視野の周辺に外接または内接するくらいに絞って検鏡します。

これは観察している標本の褪色の範囲を小さくするのに有効です。写真撮影の場合は、フィルムに写る範囲、すなわち写真枠よりやや広い程度まで絞ると良い結果が得られます。視野絞りを少し絞って焦準すると、標本面にピント合せが楽にできます。

接眼レンズの視野と、視野絞りの中心合せを視野絞り心出しねじで行って下さい。

3) シャッタの使い方

検鏡を中断するときは、標本の褪色防止のためにシャッタを押し込んで光路を遮断して下さい。

大切な標本をいためないためにも、このシャッタの使用を必ず習慣づけて下さい。

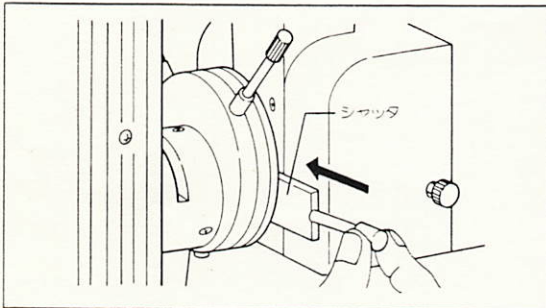


図25

4) NDフィルタの使い方

標本の褪色が激しいときは、落射蛍光装置本体のフィルム受けに、NDフィルタを挿入して下さい。

ND2では明るさが半分になります。

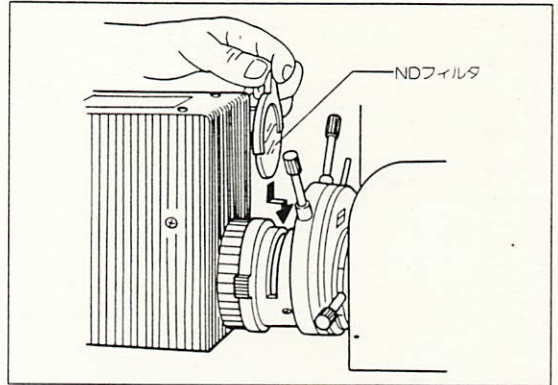


図26

V. 蛍光指示薬Quin2、Fura2の特徴

表2

		Quin2	Fura2
励起波長ピーク (nm)	Ca結合時	334	335
	フリー	345	362
蛍光波長ピーク (nm)	Ca結合時	490	512
	フリー		505
量子収率	Ca結合時	0.14	0.49
	フリー	0.03	0.23
Ca ²⁺ 錯体解離定数(nM)		110	224

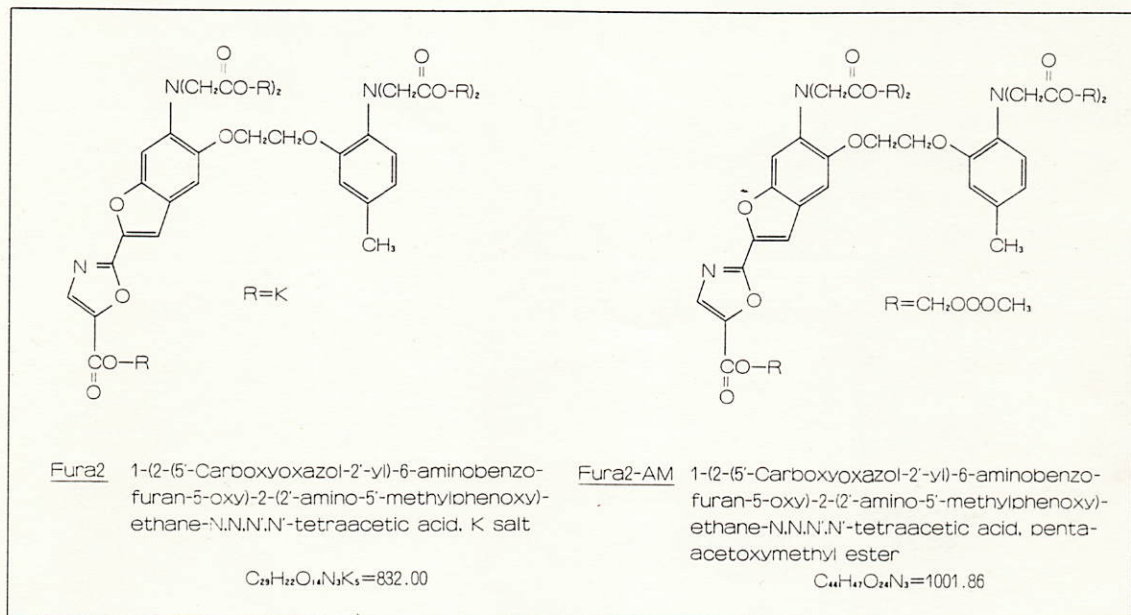


図27

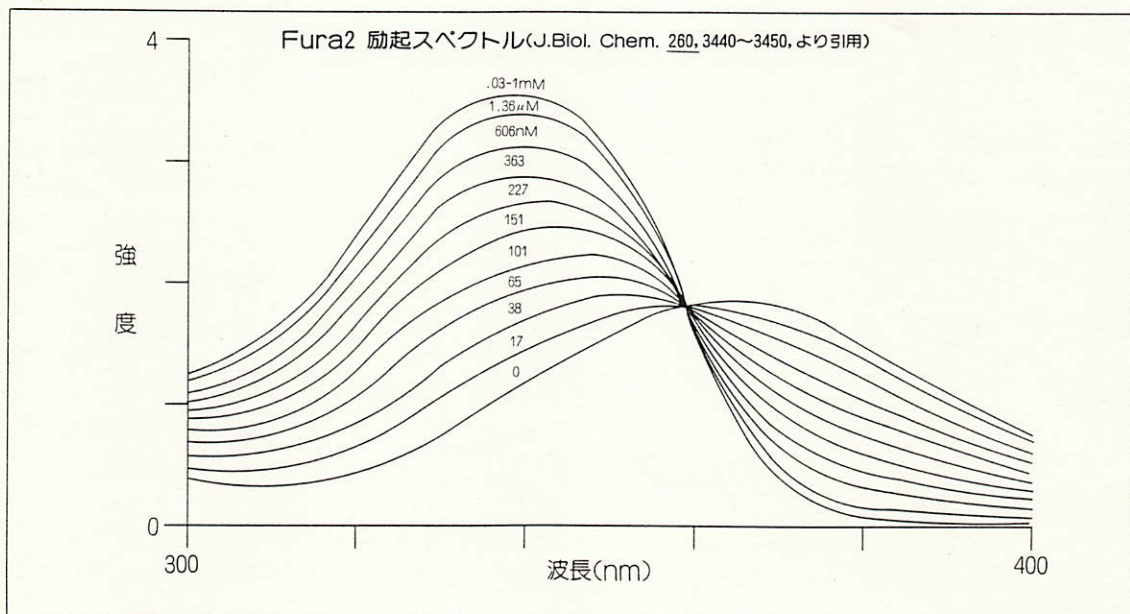


図28

VI. 蛍光測光について

1. Fura2の蛍光測光からCa²⁺濃度の絶対値を求める方法について

励起波長を切り替えたときの蛍光強度比 $R = \frac{F_{340}}{F_{380}}$ (ただし、

F_{340} 、 F_{380} はそれぞれ340nm、380nmで励起したときの蛍光強度)からCa²⁺濃度: [Ca²⁺]を求めるには式

$$[Ca^{2+}] = Kd \left(\frac{Sf_2}{Sb_2} R - R_{min} \right) \dots (*)$$

を使います。ここでKdはFura2+Ca²⁺⇌Fura2-Caの平衡定数で

$$Kd = \frac{[Fura2][Ca^{2+}]}{[Fura2-Ca]}$$

で定義されます。

また、 R_{min} 、 R_{max} はそれぞれ[Ca²⁺]=0のときと、[Ca²⁺]が十分大きいとき(数μM以上)の蛍光強度比を、また Sf_2 は励起光380nmにおけるFura2 (Caと結合していない)の単位濃度当りの蛍光強度を、 Sb_2 は励起光380nmにおけるFura2-Ca (結合したものの)単位濃度当りの蛍光強度を表します。

R_{min} 、 R_{max} 、 $\frac{Sf_2}{Sb_2}$ 、Kdは全て定数となります。

式(*)は励起光の強度が340nmと380nmで異なった場合にも成立するので、光源として超高压水銀灯を用いた場合も問題はありせん。

式(*)において $\frac{Sf_2}{Sb_2}$ 、Kdは測定条件にあまり依存

しない定数だと考えられます。

(文献によると $\frac{Sf_2}{Sb_2} = 15.3$ 、 $Kd = 135nM$)。

R_{min} 、 R_{max} は光源やフィルタに依存しますので、実際の測光装置に応じて測定しなければなりません。詳しくは文献をご覧ください。

G.Gryniewicz et al(1985)、J.Biol.Chem. 260, 3440-3450

さて、上の式には仮定が含まれていますので、実際に顕微測光をする場合には[Ca²⁺]—蛍光強度比の校正曲線を最初に作っておく方法が一般的であると思えます。これは何通りかのCa²⁺濃度の標準液を作り、これにFura2を加えて蛍光強度比を測定することによって作られます。任意の濃度のCa²⁺標準液を作成するにはCa-EGTAを使いますが、その他の成分の組成は細胞質に近いものにしておく必要があります。この校正曲線を作っておけば、逆に蛍光強度比から[Ca²⁺]を求

めることが出来ます。光源に水銀灯を使うことは、この方法においても何ら問題はありせん。

あと注意しなければいけない点としては、バックグラウンドの蛍光量が大いときは、測定された蛍光強度からそれを減じてから比をとるようにした方が良いでしょう。

2. 測光装置P1を使ったFura2によるCa²⁺の測定法

注意: ●超高压水銀灯の光軸を十分に調整して下さい。

●視野絞りと測光絞りは、より絞った方が良いデータが得られます。ただし絞りすぎると光量が減少してP1では検出できなくなるので、試料の明るさや実験の目的に応じて決めて下さい。測光絞りは視野絞りよりも大きくして下さい。

●退色しやすいので、試料に必要以上の紫外光を照射しないで下さい。測光時だけシャッターを開けるようにして、フィルタ切り替え時はシャッターを閉じておきます。位置ぎめは透過光で行って下さい。照射光側にNDフィルタを入れて下さい。

●外部の光が迷光として入らないように暗室状態にして下さい。

- 1) 水銀灯、絞りなどの光軸合せを行い、絞りの大きさを決定します。
- 2) 340nm励起で試料がない所の測光をして、ゼロアジャストします。このときHVエラーが出たり、数字が小さくなりすぎたりしないように印加電圧を調整します。
- 3) 340nm励起で試料がない所の測光をして、0に近いければその値を記録します。…… B_{340}
(0からかけ離れていたなら、もう一度0に合わせて2)へもどる。)
- 4) 380nm励起で試料がない所の測光をして、その値を記録します。…… B_{380}
- 5) 380nm励起で測定したい細胞を視野に入れてP1で測光して、その値を記録します。…… F_{380}
- 6) フィルタを切り替えて340nm励起で測光して、その値を記録します。…… F_{340}
- 7) 以後は必要に応じて5)、6)の測定を繰り返します。

$$\frac{F_{340} - B_{340}}{F_{380} - B_{380}} \text{ が求める値となります。}$$

この値をあらかじめ作っておいた校正曲線にあてはめてCa²⁺濃度を求めます。

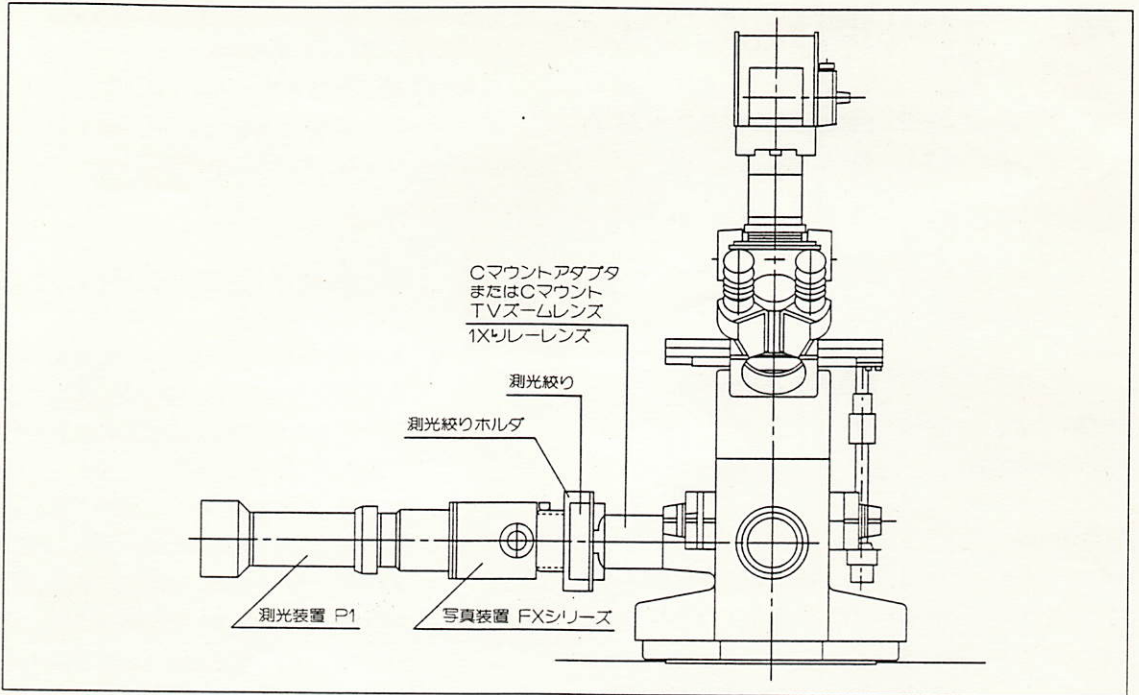
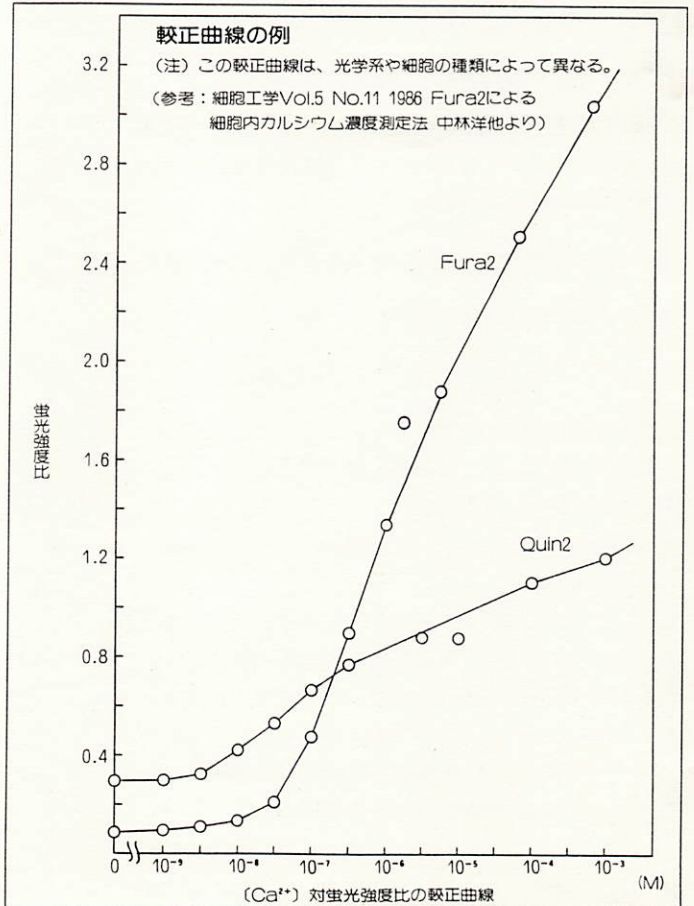


図29

(参考) Ca^{2+} 依存の340nm励起で継続的に測定する場合には、測定の最初と最後に Ca^{2+} フリーの360nm励起で測定しておき、ブリーチングの傾斜を求め、各時点のレシオをとる方法もあります。



20 μ MのQuin2または10 μ MのFura2を標準(Ca^{2+})溶液に加え、各々の蛍光強度比(Quin2は340nm/360nm、Fura2は340nm/380nm)を求めた。

図30

Ⅶ． 蛍光写真撮影

ピント合せなどの基本事項は、TMDの写真撮影（TMD使用説明書P20参照）と同じですが、露光時間中に蛍光が褪色することがあります。これを避けるために、次の対策が必要です。

1. 高感度フィルムの使用

モノクローム用にはトライX(ASA400)、カラー用にはデイライトタイプの高感度フィルム、たとえばコダックエクタクローム400(ASA400)、またはフジクローム400(ASA400)をご使用下さい。

2. 明るい光学系の組合せ

同一総合倍率を得るにも、対物レンズと接眼レンズの組合せによっては、露光時間が大きく異なります。高倍率CF対物レンズ（一般に開口数は倍率に応じて大きい）と、低倍率CF PL投影レンズの組合せをお勧めします。

ND2の他にND4、8、16、32があります。

3. 励起光の調節

励起光が明る過ぎるときは、褪色が早いだけで蛍光像を記録できませんので、NDフィルタを挿入して明るさを調節します。

4. 標本

褪色した部分を撮影すると露光時間が長くなり、色再現も悪く、良い写真が撮れません。標本を移動させて、新鮮で、励起光を照射していない部分を撮影して下さい。

VIII. 使用上の問題点と対策

使い方によって、故障ではなしに装置の性能が発揮されないことがあります。次のような現象が生じた場合は、下記の表にて再度お調べ下さい。

なお、倒立顕微鏡 DIAPHOT-TMD の使用説明書の VII、使用上の問題点と対策 (P. 28) を併せてお調べ下さい。

表3

問題点	原因	対策
ランプが点灯しない	<ul style="list-style-type: none"> ●電源用プラグが抜けている。 ●ランプコードのコネクタが点灯装置に接続されていない。 ●ヒューズが切れている、入っていない。 ●ランプの寿命が来ている。 	<ul style="list-style-type: none"> →プラグを差し込む。(P.8 参照) →コネクタを接続する。(P.6 参照) →ヒューズを交換する、入れる。 →ランプを交換する。(P.6 参照)
ランプは点灯しているが像が見えない	<ul style="list-style-type: none"> ●シャッターが閉じている。 	<ul style="list-style-type: none"> →シャッターを開ける。(P.14参照)
ランプは点灯しているが像が非常に暗い	<ul style="list-style-type: none"> ●光源の心出しが不完全。 ●フィルタが標本に合っていない。 ●室内が明るい。 	<ul style="list-style-type: none"> →心出しをする。(P.9 参照) →標本に合ったフィルタシステムを使用する。(12参照) →室内を暗くする。
視野がケラれる	<ul style="list-style-type: none"> ●フィルタが中間にある。 ●シャッターが中間の位置にある。 	<ul style="list-style-type: none"> →励起フィルタ切替えソリを制限まで押すか引く。 →正しい位置にする。(P.14参照)

電気系規格

電源	100V 50/60Hz
ランプ	超高压水銀ランプ DC 100W USH-102DH
ヒューズ	3A/250V

絶えず製品の改良を実施しておりますので、内容の一部に改良前のものが掲載されている場合もありますが、ご了承下さい。

株式会社 ニコン 〈光機事業部〉

本社	☐ (03) 214-5311(案内台)	〒100	東京都千代田区丸の内3-2-3(富士ビル)
光機営業部			
測量機課・顕微鏡課	☐ (03) 216-1024 (代表)	〒100	東京都千代田区丸の内3-2-3(富士ビル)
工業顕微鏡課・測定機課	☐ (03) 216-1025 (代表)	〒100	東京都千代田区丸の内3-2-3(富士ビル)
光機・サービス課	☐ (045) 852-2111(大代表)	〒244	横浜市栄区長尾台町471
〈営業所〉			
大阪営業所			
機器営業課	☐ (06) 251-7023 (代表)	〒542	大阪市南区南船場2-11-20(興国ビル)
サービス課	☐ (06) 251-7024 (代表)	〒542	大阪市南区南船場2-11-20(興国ビル)
札幌営業所	☐ (011) 231-7896 (代表)	〒060	札幌市中央区大通西1-13(大通ビル)
仙台営業所	☐ (022) 227-1298 (代表)	〒980	仙台市中央3-2-1(仙台清水ビル)
新潟営業所	☐ (025) 222-1461 (代表)	〒951	新潟市西堀通5-855(コーリンビル)
横浜営業所	☐ (045) 312-1101 (代表)	〒220	横浜市西区北幸2-5-15(日総第3ビル)
名古屋営業所	☐ (052) 203-1871 (代表)	〒460	名古屋市中区栄2-5-1(宝第一ビル)
広島営業所	☐ (082) 248-1216 (代表)	〒730	広島市中区袋町3-19(広島東邦生命ビル)
福岡営業所	☐ (092) 721-3561 (代表)	〒810	福岡市中央区天神2-12-1(天神ビル)