

	CARACTERÍSTIQUES TÈCNIQUES DEL MICROSCOPI CONFOCAL ESPECTRAL FV1000	Codi: VHIR-UAT-DOC-016	Revisió: 01
		Data de redacció: 28/04/2021	Pàgina: 1 de 3

APROVACIÓ

REDACTAT PER	REVISAT PER	APROVAT PER
Nom: Marta Valeri Sala Càrrec: Responsable Plataforma Microscòpia UAT Nom: Càrrec:	Nom: Rosa Prieto Càrrec: Cap UAT Nom: Mònica Anglada Càrrec: Cap Qualitat	Nom: Rosa Prieto Càrrec: Cap UAT Nom: Càrrec:
Signatures:		

	CARACTERÍSTIQUES TÈCNiques DEL MICROSCOPI CONFOCAL ESPECTRAL FV1000	Codi: VHIR-UAT-DOC-016	Revisió: 01
		Data de redacció: 28/04/2021	Pàgina: 2 de 3

L'objectiu d'aquest document és descriure les característiques tècniques del microscopi confocal espectral FV1000 que disposa la UAT, per tal que els usuaris puguin consultar aquesta informació per poder planificar els seus experiments i adaptar-los a les especificacions de l'equipament disponible. Aquest document es relaciona amb l'ITE de l'equip (VHIR-UAT-ITE-002v.04).

Aquest microscopi confocal espectral està construït sobre un microscopi **Olympus IX81** totalment motoritzat i amb les següents característiques:

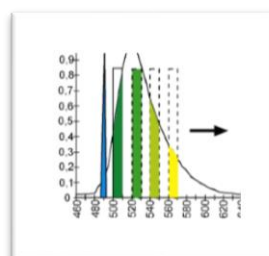
ÒPTICA I SUPORTS		
Làser (potència a la sortida de la fibra)	Línies de làser	Exemples de Fluorocroms
Diode Violeta 405nm 6mW	405	DAPI, Hoechst, Alexa405
	457	CFP
	515	YFP, MKO
Diode Verd 561nm 10mW	561	TRITC, Alexa568, Alexa594, IP, mcherry
He-Ne Vermell 633nm 10mW	633	Alexa633, Alexa647, DRAG5, TOPRO-3
Objectius	Immersió	
UPLSAPO 10x / NA 0.40 WD 3.10 mm	Sec	
UPLSAPO 20x / NA 0.75 WD 0.60 mm	Sec	
UPLSAPO 40x / NA 0.90 WD 0.18 mm	Sec	
PLAPON 60x / NA 1.42 WD 0.15 mm	Oli	
UPLSAPO 100X0 / NA 1.4 WD 0.13 mm	Oli	
Detectors	Tipus	
Fluorescència	2PMT espectrals + 1PMT estàndar	Captació simultània de fins a 3 fluorescències
Transmesa	1 detector PMT per mostres de camp clar / DICT	Per tots els objectius
Suports condicions estàndar	Tipus	
	Plaques 30mm Ø	
	Plaques 60mm Ø	
	Porta objectes	
	Plaques multi puet	
Suports condicions en viu: sistema d'incubació portable amb control de Temperatura i CO2	Tipus	
	Plaques 30mm Ø	
	Porta objectes	

*Les mostres tenyides amb fluorocroms que emeten al vermell llunyà (línia.633nm), es poden captar en confocalitat però no es poden observar a través dels oculars.

*El rang de detecció dels dos detectors espectrals és de 300 a 850nm.

* La **detecció espectral** es fa servir quan no es pot determinar a quin o quins fluorocroms pertany la fluorescència emesa per la mostra. Generalment és necessària en assajos multicolor de més de cinc fluorocroms o quan la mostra està marcada amb fluorocroms que tenen espectres d'excitació i d'emissió molt junts. El que es fa és determinar l'espectre d'emissió de cada punt de la mostra il·luminant n vegades el mateix punt i recollint-ne l'emissió en diferents rangs de l'espectre. Com més petita és la finestra de detecció (resolució espectral de fins a **2nm**), més punts informatius hi haurà i es podrà resoldre millor a quin fluorocrom/s pertany la fluorescència detectada.

Detecció espectral d'un punt de la mostra



	CARACTERÍSTIQUES TÈCNiques DEL MICROSCOPI CONFOCAL ESPECTRAL FV1000	Codi: VHIR-UAT-DOC-016	Revisió: 01
		Data de redacció: 28/04/2021	Pàgina: 3 de 3

RASTREIG	Unidireccional /bidireccional
Mode	simultani o seqüencial (evita creuament)
Dimensions	rastreig d'un punt
	2D: XY, XZ, Xλ, Xt
	3D: XYZ, XYt, XYλ, XZλ, XZt, XYt
	4D: XYZt, Xyλt, XZλt
	5D: XYZλt

*El rastreig de la mostra es fa mitjançant miralls galvanomètrics d'alta precisió

Velocitats	Estàndar 500Hz
Unidireccional	1fps (imatge per segon) 512 x512
	2000Hz o 4000Hz
Bidireccional	4fps a 512 x 512 (2000Hz)
	45fps a 512 X 32 (2000Hz)
	16fps a 256 x 256 (4000Hz)
	90fps a 256 x 32 (4000Hz)

- **Format d'adquisició:** fins a 2048 x 2048 i a 4096 x 4096 de manera seqüencial per cada fluorocrom.
- Resolució cromàtica de 12 bits
- **2a Unitat de rastreig SIMS:**

El microscopi es complementa amb un escàner addicional que permet la manipulació de la mostra de manera simultània a la captació de la imatge. Això assegura que les reaccions iniciades i causades pel làser (xex: fotoactivació, fotodestrucció...) puguin ser capturades sense pèrdua inicial de dades. És molt útil en tècniques com FRAP, FLIP, *Uncaging* i fotoactivació.

- **Programa FView 4.2:**

Es el programa a través del qual es poden controlar totes les accions del microscopi. Aquest programa també inclou unes parts bàsiques de tractament de la imatge més els següents mòduls específics:

. **Mòdul de Visualització 3D**

. **Mòdul de Separació espectral** amb tres algoritmes diferents: segons ROI, segons l'espectre teòric dels fluorocroms i mode Blind.

. **Mòdul de Colocalització quantitativa**

*A la sala d'**Aparells Comuns 045** de l'edifici Collserola del VHIR, hi ha un ordinador d'anàlisi amb el programa complet.