

	CARACTERÍSTIQUES TÈCNIQUES DEL MICROSCOPI THUNDER IMAGER 3D CELL CULTURE	Codi: VHIR-UAT-DOC-021	Revisió: 01
		Data de redacció: 28/04/2021	Pàgina: 1 de 5

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:		

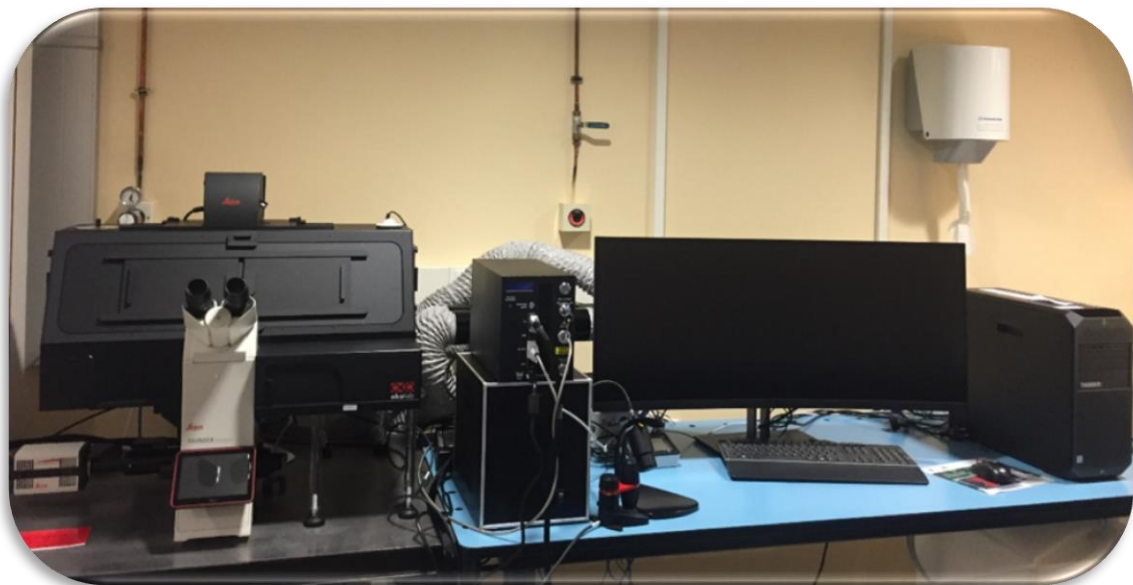
	CARACTERÍSTIQUES TÈCNIQUES DEL MICROSCOPI THUNDER IMAGER 3D CELL CULTURE	Codi: VHIR-UAT-DOC-021	Revisió: 01
		Data de redacció: 28/04/2021	Pàgina: 2 de 5

L'objectiu d'aquest document és descriure les característiques tècniques del microscopi Thunder Imager 3D Cell Culture del 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-021V.01).

- Es tracta d'un **microscopi dissenyat per adquirir seqüències en el temps de cultius cel·lulars monocapa i estructures tridimensionals**. Tot i ser un microscopi **widefield**, permet la visualització de detalls clars inclús en mostres 3D, ja que **elimina el senyal difuminat fora de focus en temps real (ICC: aclariment computacional instantani)**.

El Thunder està configurat per ser un sistema idoni per la captació de mostres vives ja que minimitza el **fotobleaching** i el **dany** de la mostra, proporcionant un rendiment elevat en l'obtenció d'imatges i de dades

- També es pot fer servir per la captació de **mosaics**, és a dir, l'adquisició automàtica de diferents camps per l'obtenció d'imatges d'àrees de grans dimensions de la mostra.



CONFIGURACIÓ:

- **Microscopi Invertit Leica DMI8:**

Microscopi invertit totalment motoritzat amb control **d'autoenfocament per hardware (AFC)**. Es pot controlar des del propi estatiu, des de la pantalla TFT adjacent, així com des del programa d'adquisició de les imatges **LAS X Core**. El sistema d'enfocament del microscopi té un recorregut de 12mm.

Tots els elements motoritzats del microscopi es controlen en temps real (condensador, blocs de filtres, il·luminació, diafragmes, pletina...), de manera que els experiments s'executen a la màxima velocitat que permeten aquests elements físics.

- **Configuració d'objectius:**

Objectius	Coverglass	Distància de treball	Medi Immersió	Fases
N Plan 5x, NA 0,12	qualsevol	14mm	Aire	PH0
HC PL Fluotar 10x, NA 0,32	0,17mm	11,3mm	Aire	PH1
HC PL FL L 20x, NA 0,4 CORR	0-2mm**	6,9mm	NO	PH1
PL APO 20x, NA 0,75 Imm CORR CS2	0,17mm**	0,67mm en Aigua (0,17mm coverglass)	W, Gly, Oil	DIC
HC PL APO 20x, NA 0,8	0,17mm**	0,4mm	Aire	DIC
HC PL APO 40X, NA0,95 CORR	0,11-0,23mm***	0,17mm	Aire	DIC
HC PL APO 40X, 1,25 GLYC CORR	014-0,19mm***	0,35mm	Gly	DIC
HCPL APO 63X, NA1.30 GLYC CORR	0,14-0,19mm**	0,3mm	Gly	DIC

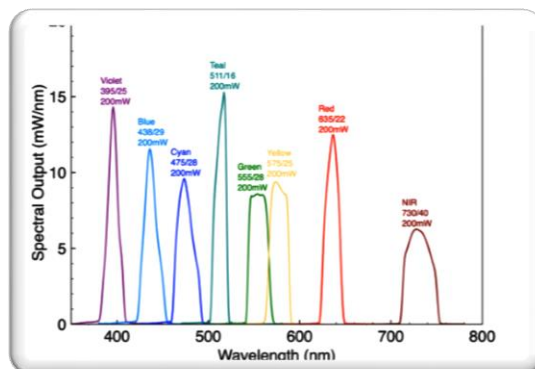
* Els objectius d'immersió en aigua i glicerol són especialment recomanables per les captacions en viu, ja que el seu índex de refracció és més similar al medi de cultiu i a les estructures cel·lulars.

** Amb muntura de correcció del guix del cobreobjectes i/o medi d'immersió.

*** Els prismes de Wollaston que s'insereixen al pas de llum en la tècnica de DIC, es troben a una torreta motoritzada independent del revòlver d'objectius, de tal manera que no disminueixen la llum emesa dels fluorocroms que és detectada.

- **Sistema d'il·luminació:**

- Llum transmesa: il·luminador LED de 10W, amb obturador integrat d'alta velocitat
- Il·luminador de Fluorescència model **LED8** de Leica (**8 LEDs** independents d'uns 200mW de potència per banda)
- Control d'intensitat en passos d'1% independent per a cada banda
- Control per TTL amb temps de resposta inferior a **1 ms** per interfase RS232



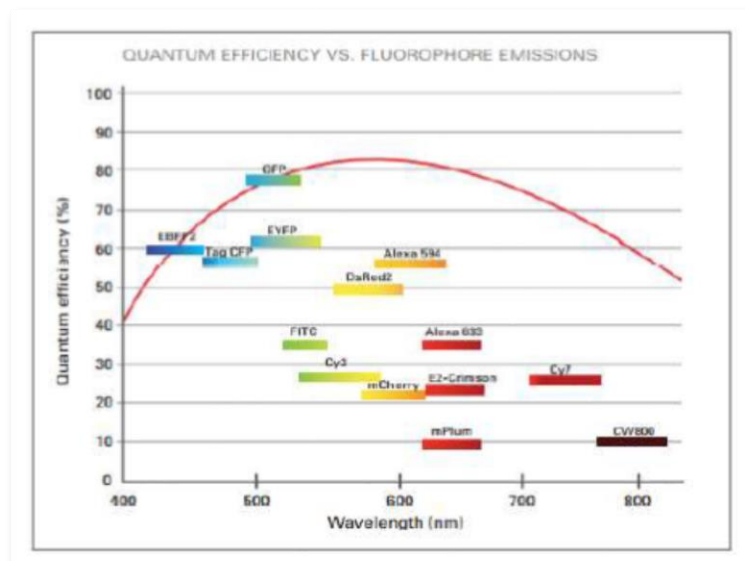
THUNDER	
Il·luminació / excitació Font de llum LED (abarca tot l'espectre del visible)	LED 395nm <small>DMB, Alexa 355, mRedshift</small>
	LED 438nm <small>CFP</small>
	LED 475nm <small>mRFP, Alexa 4, mTC</small>
	LED 511nm <small>YFP</small>
	LED 555 <small>Cy3, TRITC, DsRed</small>
	LED 575nm <small>Alexa Fluor 594, mOrange</small>
	LED 635nm <small>CY5, Alexa 631, TOTO-3</small>
	LED 730nm <small>Alexa Fluor 750</small>

- **Sistema de detecció:**

2 Cubs Quàdruples				Rodeta Filtres emissió d'alta velocitat 5pos.
QBS DFT51010				Combinació amb els filtres QBS
Excitació	Dicroic	Emissió	Fluorocrom	Filtres Emissió
391/32	415	435/30	DAPI, Alexa 405, Hoechst	P1: 460/80
479/33	500	519/25	GFP, Fluo4, FITC	P2: 535/70
554/24	572	594/32	Cy3, TRITC, DsRed	P3: 590/50
638/31	660	695/58	CY5, Alexa 633, TOTO-3	P5: 100%
QBS CYR71010				
Excitació	Dicroic	Emissió	Fluorocrom	Filtres Emissió
436/28	459	473/22	CFP	P1: 460/80
506/21	523	539/24	YFP, mBanana	P2: 535/70
578/24	598	641/78	AlexaFL 568, Alexa FL 594	P4: 642/80
730/740	763	810/80	Alexa Fluor 750	P5: 100%
Filtres GFP i TxRed individuals				
Excitació	Dicroic	Emissió	Fluorocrom	Filtres Emissió
470/40	495	525/50	GFP, AlexaFluor488	P5: 100%
Excitació	Dicroic	Emissió	Fluorocrom	Filtres Emissió
560/40	585	630/75	TxRed, Alexa Fluor594	P5: 100%

- **Càmera:**

- Càmera digital **DFC9000GCT**
- Sensor **sCMOS B/N** de **2048 x 2048 píxels** (mida del píxel = 6,5µm)
- Digitalització a **12** o **16 bits**
- Binning **2x2, 3x3, 4x4** i **8x8**
- Es podem agafar imatges des de **4x1** fins a **8192 x 8192 píxels** per múltiples canals simultàniament



	CARACTERÍSTIQUES TÈCNIQUES DEL MICROSCOPI THUNDER IMAGER 3D CELL CULTURE	Codi: VHIR-UAT-DOC-021	Revisió: 01
		Data de redacció: 28/04/2021	Pàgina: 5 de 5

- **Pletina:**
 - Pletina motoritzada **Quantum LMT200**
 - Rang de moviment **120x80 mm**, amb algoritme de moviment optimitzat per una màxima suavitat de moviment sense vibracions.
 - Control mitjançant “trigger” en **temps real**
 - Velocitat màxima **500 mm/sec**
 - Resolució **5 nm**
 - Precisió absoluta **± 1 µm**
 - Inserts de subjecció magnètica per **plaques multi pouet, plaques Petri de 35 mm y portes**

- **Sistema d'incubació:**
 - Control de temperatura (**3°C a 50°C**) mitjançant recirculació d'aire amb temperatura i flux controlats
 - Control de CO2 amb sistema d'humidificació de l'aire. Rang de treball de **0 a 20%**
 - Control mitjançant unitat **Oko-touch** amb pantalla tàctil i des del software LASX

- **Programari i anàlisi d'imatges:**
 - Programa **LAS X** de control del microscopi amb **Aclariment Computacional Instantani (ICC) + algoritmes de deconvolució**
 - Adquisició multidimensional **XYZTn** (n= múltiples posicions de pletina): Imatge multicanal, *TimeLapse*, sèries en Z, posicions múltiples de pletina i realització de mosaics
 - Mòduls de visualització i anàlisi 3D
 - **Estació d'anàlisi off-line 3** (laboratori 038-09). Es pot accedir al mateix software LAS X més els mòduls complementaris per poder modificar i analitzar els arxius.