



MICROSCOPIO A FLUORESCENZA WIDEFIELD E CONFOCALE SPINNING DISK

ACCENSIONE

- Accendere la **lampada** per fluorescenza al mercurio da 200 watt di potenza Prior Lumen 200. Attendere qualche minuto prima di accendere la telecamera.
- Accendere la **telecamera**. Attendere che il led arancione smetta di lampeggiare e si spenga prima di accendere il PC.
- Accendere il **modulo confocale CREST CARV II**: si sente il tac all'accensione.
- Accendere i 2 controller **MicroDrive Stage XY** e **MCL NanoDrive Z** con pulsante della ciabatta collegato alle prese UPS rosse.
- Accendere il **Microscopio** Axio Observer A1, Zeiss.
- Accendere il **PC**.
- Aprire il software open source di acquisizione/analisi/archiviazione di immagini **Micromanager / Image J Fiji**, che controlla le periferiche del PC.
- Per lo spegnimento seguire l'ordine inverso e, dopo ogni utilizzo, ripulire gli obiettivi e gli oculari con isopropanolo al 70% con le cartine ottiche in dotazione. Pulire inoltre con carta assorbente imbevuta di etanolo al 70% o isopropanolo al 70% mouse, tastiera e tutti gli oggetti, maniglie, pulsanti con i quali si è venuti a contatto.

DESCRIZIONE ED EQUIPAGGIAMENTO

Trattasi di un microscopio rovesciato a fluorescenza e luce bianca, predisposto per tutte le metodiche di osservazione (luce trasmessa, contrasto di fase, contrasto interferenziale, fluorescenza) con stativo Axio Observer A1 della Zeiss. Il microscopio è equipaggiato con un tavolino motorizzato XYZ (Mad City Labs MCL MOTZN), con motorizzazione XY mediante motori passo passo a loop chiuso, con risoluzione 95 nm, motorizzazione Z mediante piezo-stage a risoluzione 1 nm. Inclusi 2 supporti



porta-campioni universali per vetrini spessi 0,7 mm e piastre Petri da 33 mm. L'illuminatore è una lampada a mercurio accoppiata in fibra da 200 W: Lumen 200 Prior. Telecamera digitale Photometrics Prime monocromatica a 16 bit, con sensore sCMOS e risoluzione 2048x2048 pixels (4.2 Megapixel). Il sistema dispone di un sistema di miglioramento delle immagini (Prime Enhance denoising on line deconvolution), con la capacità di trasferire delle regioni del campo di vista selezionate dall'utente (MultiROI), e di trasferire i soli dati significativi (PrimeLocate). Microscopio, telecamera e modulo confocale sono appoggiati ad un tavolino anti-vibrazioni Standa da 75x90 cm (carico massimo 195 kg).

CONFIGURAZIONE

- Revolver porta-obiettivi a 6 posizioni con 5 obiettivi per fluorescenza planari:

- obiettivo LD A-PLAN 5X/0,15; impostare Z step a 15
- obiettivo LD A-PLAN 10X/0,25 PH1 (PS) WD=8.5 MM; impostare Z step a 10
- obiettivo LD PLAN-NEOFLUAR 40X/0,6 CORR PH2 M27; impostare Z step a 1.25
- obiettivo PLAN-APOCHROMAT **63X/1,40 OIL** M27; impostare Z step a 0.25
- obiettivo PLAN-APOCHROMAT **100X/1,40 OIL** M27; impostare Z step a 0.25

Il sistema confocale **CREST CARVII full spectrum spinning disk** possiede fori da 70 μm e permette 1000 scansioni al secondo, e contiene le seguenti tipologie di moduli e ruote motorizzate, disposte in sequenza:

- Shutter Iris.

- Excitation filter wheel: 8 posizioni circolari in tutto da 25 mm con fori di allineamento asimmetrici.

- Dichroic filter wheel: 5 posizioni rettangolari (25,7 x 36 mm) porta dicroici.

- Emission filter wheel: 8 posizioni circolari in tutto da 25 mm con fori di allineamento simmetrici.

- FRAP Iris modulo motorizzato ed integrato.



In dotazione sono presenti 4 filtri (il sistema si può espandere fino a 8):

DAPI BrightLine FF 409 fluorescence (posizione 0 in Micromanager, 1 in CARVII)

GFP (posizione 1 in Micromanager, 2 in CARVII)

TEXAS RED (RFP, posizione 2 in Micromanager, 3 in CARV II)

CY5 (posizione 3 in Micromanager, 4 in CARV II)

Il software è in grado di effettuare:

- collage (mosaico) automatici di grandi campi microscopici;
- time-lapse;
- Z stack confocali;
- acquisizioni multidimensionali (6D)
- merge e colocalizzazioni;
- on line denoising deconvolution;
- FRET;
- FRAP;
- fotoattivazione;
- optogenetica

NOTE-IMPORTANTE

- Leggere attentamente le istruzioni per l'acquisizione al primo utilizzo.
- Non effettuare aggiornamenti del sistema (Windows 7) o dei software di gestione (Micromanager e Image J-Fiji).
- Non modificare le configurazioni di default di Micromanager.
- Segnalare ogni eventuale problematica emersa durante le acquisizioni, annotare brevemente nel registro di laboratorio e avvertire il personale tecnico del CeSAR