

Servisní laboratoř mikroskopie a průtokové cytometrie ÚMG.

Přístrojové vybavení laboratoře je k dispozici pracovníkům AVČR, jakož i externím uživatelům.

Přístroje v laboratoři mohou být užívány pouze proškolenými osobami, nebo s asistencí personálu laboratoře. Základní proškolení obsluhy přístrojů se nezaplatňuje a je prováděno personálem laboratoře.

Za užívání přístrojového vybavení laboratoře se s účinností od **1.2.2008** hradí poplatky, viz ceník. Základem pro účtování poplatků je rezervovaný přístrojový čas. Rezervace rušené ten samý den, jsou účtovány jako plně využitý strojový čas.

Servisní laboratoř se nachází v budově ÚMG, přízemí, místnosti 0.163 (cytometry) a 0.164 (mikroskopy). Vstup do budovy je mezi sedmou hodinou ranní a osmou hodinou večerní volný. Ve večerních, nočních hodinách a o víkendech pouze na vstupní kartu.

Všem uživatelům bude zřízen na požádání login pro přístup do počítačů.

Do servisní laboratoře je přístup na klíč, klíče od servisní laboratoře jsou k vyzvednutí proti podpisu u Ondřeje Horvátha tel. 241063168, GSM: 773979818, ondrej.horvath@img.cas.cz

Telefony:

LSRII – I. 3150

FACSCalibur – I. 3150

Leica SP5 – I. 3170

Leica TIRF – I. 3171

DeltaVision – I. 3172

Kancelář laboratoře: I. 3168

Průtokové cytometry

Přístrojové vybavení:

1. LSRII

Průtokový cytometr LSRII je vybaven 4 lasery (406nm, 488nm, 561nm a 633nm) detektory pro FSC, SSC a 14 fluorescenčními detektory. Optická konfigurace cytometru LSRII je uživatelsky nastavitelná a uživatelé si mohou přístroj uzpůsobit pro své potřeby. K dispozici je velké množství fluorescenčních filtrů, které umožňují měření naprosté většiny fluorochromů užívaných v průtokové cytometrii. Více informací k optické konfiguraci a dostupným filtrům najdete [zde](#). Cytometr je vybaven HTS loaderem, pro měření vzorků přímo z 96 anebo 384 jamkových destiček. Více informací včetně stručných návodů k používání cytometru LSRII a dostupných filtrů je k dispozici [zde](#).

2. FACSCalibur

Průtokový cytometr FACSCalibur je vybaven 2 lasery (488nm a 633nm), detektory pro FSC, SSC a 4 fluorescenčními detektory. Optická konfigurace cytometru FACSCalibur je fixní a umožňuje měření FITC, PE, PE-Cy5(PI) a APC nebo jejich ekvivalentů. Cytometr FACSCalibur je rovněž vybaven HTS loaderem pro měření vzorků přímo z 96 anebo 384 jamkových destiček.

Pravidla pro užívání:

- Cytometry jsou užívány samoobslužnou formou a to pouze proškolenými pracovníky.
- Základní školení pro práci s průtokovými cytometry zajišťuje Ondrej Horváth tel. 24106 3168, ondrej.horvath@img.cas.cz
- Přístrojový čas si rezervují uživatelé v aplikaci webcalendar na adrese <http://webcalendar.img.cas.cz> . Návod pro použití aplikace Webcalendar najdete [zde](#).
- Poplatky se účtují na základě délky rezervovaného přístrojového času, viz. ceník.
- Za asistované měření se účtují poplatky viz. ceník.
- Uživatelé jsou povinni dodržovat pracovní postupy se kterými byli seznámeni a které

Login do kalendáře cytometru LSRII: username "LSRII"

Login do kalendáře cytometru FACSCalibur: username "Calibur"

Heslo sdělím na požádání.

Magnetický separátor AutoMACS Pro

Magnetický separátor Auto MACS Pro (Miltenyi Biotec) je automatizovaný magnetický separátor využívající technologii třídění buněk pomocí magnetických kuliček na paramagnetických kolonách. Umožňuje automatickou pozitivní i negativní selekci až šesti buněčných suspenzí v objemech od 0,2ml do 50ml. Více informací naleznete [zde](#).

Přístroj si je nutno rovněž rezervovat v aplikaci [webcalendar](#).

Použití přístroje je také placená služba. Účtuje se počet provedených separací, viz ceník.

Login do kalendáře AutoMACS Pro: username "MACS"

Heslo sdělím na požádání.

Mikroskopy

Přístrojové vybavení:

1) Invertovaný fluorescenční mikroskop Leica DMI6000 s konfokálním nástavcem Leica TCS SP5 AOBS Tandem

Popis systému:

Inverzní mikroskop Leica DMI 6000 S Bino, motorizovaný stolek se Super Z-galvo – pohyb stolku v osách X,Y,Z, EMBL box pro práci při regulované teplotě a CO₂

Zdroj fluorescenčního světla EL6000 s regulací intenzity osvětlení

Fluorescenční kostky: A (Ex:340-380, Em:LP425)

I3 (Ex:450-490, Em:LP515)
N2.1 (Ex:515-560, Em:LP590)
Cy5 (Ex:620/60, Em:700/75)

Objektivy: HC PL APO 10x/0,40 CS
HC PL APO 20x/0,70 CS
HCX PL APO 20x/0,7 imm corr Lbd. BL
HCX PL APO 40x/1,25-0,75 Oil CS UV
HCX PL APO 63x/1,3 Glyc Corr. 37C
HCX PL APO 63x/1,40-0,60 Oil, Lbd Blue CS
HCX PL APO 100x-1,4-0,70 Oil CS
HC PL Fluotar 10x/0,30 Ph 1
PL APO 20x/0,70 Ph2
PL APO 40x/0,75 Ph2 0,17

Budící lasery/vlnové délky: Violet diode laser /405nm, Argon ion laser/458, 476, 488, 496, 514nm, DPSS laser/561nm, HeNe laser/633nm

Konfokální nástavec: Leica TCS SP5 AOBS Tandem. Buzení lasery plynule nastavitelné přes AOTF (Acousto-Optical Tunable Filter), programovatelné buzení až v osmi vlnových délkách, AOBS okamžitě přizpůsobí optiku dle nastavení AOTF, plynulé nastavení emisních oken, počítačově ovládaná pinhole, duální skenovací systém s konvenčním (čárová frekvence 10Hz-1400Hz) a rezonančním (čárová frekvence 8000Hz) skenerem, obousměrný sken, maximální formát skenu 8192x8192

Kamera Leica DFC350FX R2 – vysoce citlivá monochromatická digitální kamera s rozlišením 1,4 MPx.
SW: Lecica Application Suite Advanced fluorescence, FRET, Frap, Live Data.

2) Invertovaný fluorescenční mikroskop Leica DMI6000 s TIRF iluminací

Invertovaný fluorescenční mikroskop Leica DMI6000 B s TIRF modulem, motorizovaný stolek se Super Z-galvo – pohyb stolku v osách X,Y,Z, klimatický box pro práci při regulované teplotě a CO₂
Zdroj fluorescenčního světla EL6000 s regulací intenzity osvětlení

Fluorescenční kostky:

GFP (Ex:470/40, Em:525/50)
YFP (Ex:500/20, Em:535/30)
CFP (Ex:436/20, Em:480/40)
Cy3 (Ex:470/40, Em:525/50)
Cy5 (Ex:620/60, Em:700/75)
A (Ex:340-380, Em:LP425)
TRI(B/G/R)(Ex:420/30;495/15;570/20, Em:465/20;530/30;640/40)
FRE kostka pro CFP/YFP Fret s externími filter wheels

Externí otočné karusely:

Ex1: R,G,B, 1005
Ex2: CFP, YFP
Em: CFP, YFP

Flourescence intensity manager

Objektivy: HC PL Fluotar 10x/0,30 Dry
HC PL Fluotar 20x/0,40 Dry
HCX PL APO CS 40x/1,25 Oil
HCX PL APO 63x/1,3 Glyc Corr. 37C
HCX PL APO CS 63x/1,40 Oil
HCX PL APO 100x-1,46 Oil

Budící lasery/vlnové délky: 405nm, 488nm, 561nm, 633nm

Kamery:

Leica DFC350FX R2 – vysoce citlivá monochromatická digitální kamera s rozlišením 1,4 MPx.
Leica DF300 FX – vysoce citlivá barevná digitální kamera s rozlišením 1,4MPx

Vysoce citlivá back-iluminovaná kamera Andor iXon897, 512x512 px vhodná pro single molecule live imaging, 34 snímků/s.
SW: Lecica Application Suite Advanced fluorescence, dekonvoluce, FRET, Frap, Live Data.

3) Invertovaný fluorescenční mikroskop DeltaVision s laserovou fotomanipulací

Inverzní fluorescenční mikroskop Olympus IX-71, motorizovaný stolek, posun v osách X,Y,Z, vhodný pro multi-location time-lapse experimenty a dekonvoluci, autofokus pro zajištění maximální stability zaostření v celé ploše vzorku, komorový systém se zvlhčovačem pro práci při regulované teplotě a CO₂

Objektivy: 20x/0,50 Phase, UPLFL Dry
40x/0,75 U PLAN
40x/1,35 U APO/340 Oil
60x/1,42 Plan APO N Oil

Fluorescenční filtry/kostky:

Externí otočné karusely pro 10 excitačních filtrů a 6 emisních filtrů a sada dichroických zrcatek pro DAPI, FITC, TRITC, Cy5 a CFP, GFP, YFP a mRed

Lasery: PoinSource iFlex2000 405nm laser a Coherent Sapphire 488nm laser o výkonu 20mW s plynulou regulací výkonu. Volitelná velikost osvětleného bodu.

Kamera: Vysoce citlivá monochromatická kamera Photometrics CoolSNAP HQ, 1024x1024 px, vhodná pro live imaging a aplikace s nízkou intenzitou fluorescence.

SW: software SoftWorx pro obsluhu mikroskopu umožňující provádění a vyhodnocování FRAP, FRET nalaž, time-laps pokusů, 3D aD rekonstrukce, a vyhodnocování kolokalizace fluorescenčních signálů, dekonvoluce

Pravidla pro užívání:

- Mikroskopy mohou být užívány samoobslužnou formou a to pouze proškolenými pracovníky.
- Základní školení pro práci s mikroskopy zajišťuje Ondrej Horváth tel. 24106 3168, ondrej.horvath@img.cas.cz
- Přístrojový čas si rezervují uživatelé v aplikaci webcalendar na adrese <http://webcalendar.img.cas.cz>. Návod pro použití aplikace Webcalendar najdete [zde](#).
- Poplatky se účtují na základě délky rezervovaného přístrojového času., viz. ceník.
- V případě, že rezervace nebude zrušena alespoň 24 hod před plánovaným započítáním práce, bude účtováno, jako kdyby byl mikroskop využit.
- Vedoucí oddělení obdrží měsíčně přehled o účtovaných částkách s rozdělením na jednotlivé přístroje.
- Za asistované měření se účtují poplatky viz. ceník.

Pro rezervace mikroskopů platí tato omezení:

- rezervaci je možno uskutečnit nejdříve 14 dnů předem
- v době 8.00 – 20.00 je možno rezervovat nejdéle 4 hodiny vcelku a maximálně 16 hod. týdně za oddělení
- není-li mikroskop rezervován 24 hod. před plánovaným započítáním práce, je možno jej rezervovat i mimo limit, uvedený v bodu b).
- na mikroskopech mohou pracovat jen zaškolené osoby, které budou mít vlastní login (po spuštění rezervačního programu).

Login do kalendáře konfokálního mikroskopu L: username "sp5"

Login do kalendáře TIRF mikroskopu: username "tirf"

Login do kalendáře mikroskopu DeltaVision: username "dv"

Heslo sdělím na požádání.

Ceník:

	ÚMG	AV ČR	Externí
LSRII	300	500	800
Calibur	100	200	400
SP5	130	500	1000
TIRF	130	500	1000
Deltavision	130	500	1000
AutoMACS Pro (placeno za separaci)	100	200	400
Asistence technika	+100	+500	+500

Uvedené ceny, vyjma ceny přístroje AutoMACS Pro jsou ceny za hodinu strojového času / práce. Nejkratší účtovaná doba je 30 minut. Ceny jsou uvedeny v CZK bez DPH. Při fakturaci uživatelům mimo ÚMG bude připočtena DPH dle platných předpisů.

MUDr. Ondrej Horváth
ÚMG AVČR, v.v.i.
Vídeňská 1083
14220 Praha 4

Tel. 24106 3168
GSM: 773 979 818
ondrej.horvath@img.cas.cz