

Mikroskopy založené na optické projekční tomografii:

A) Skener Bioptonics OPT 3001,

B) Skener vyrobený ve spolupráci s Technickou univerzitou v Miláně

Umístění: krčský areál - budova Dal, oddělení biomatematiky, Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4.

Spojení: Pracovníci oprávnění a znalí obsluhy systémů:

RNDr. Barbora Radochová, Ph.D., Barbora.Radochova@fgu.cas.cz, tel. 2 9644 3769;

Ing. Martin Čapek, Ph.D., Martin.Capek@fgu.cas.cz, tel. 2 9644 3168;

Vedoucí oddělení biomatematiky - RNDr. Dr. Jiří Janáček, Jiri.Janacek@fgu.cas.cz, tel. 2 9644 2768.

Rezervace OPT skenerů: Skenery je možné využívat pouze v přítomnosti pověřených osob (Dr. Radochová, Dr. Čapek), proto je nutné s nimi rezervaci domluvit předem.

Poplatky za snímání: Prosím, kontaktujte výše uvedené pracovníky.

OPT technologie

Mikroskop je založen na počítačové tomografii, podobně jako rentgenový tomograf, vzorky jsou ale prosvěcovány viditelným světlem. Vložený preparát je otáčen postupně o 360° a pro každé natočení je získána projekce. Ze souboru obrazů projekcí je algoritmem zpětné projekce spočítána výsledná 3D reprezentace preparátu, čili výsledkem snímání jsou 3D obrazová data celého preparátu bez nutnosti jeho nakrájení na fyzické řezy. Více viz

<http://www.emouseatlas.org/emap/about/collaborations/OPT/introduction.html>.

Projekce je možné získat pomocí transmisí bílým, případně IR světlem (diody), a/nebo pomocí fluorescence s využitím níže uvedených filtračních sad. Zdrojem záření je UV lampa nebo laserové diody.

Jako preparáty jsou vhodné fixované, které se dají zprůhlednit procesem "clearingu" a mají velikost cca 1-10 mm v průměru. Preparát je třeba upevnit na otáčející se držák, ať už přímo nebo zalitý do agarózy. Podrobnější popis poskytnou výše uvedení pracovníci (Dr. Radochová, Dr. Čapek) na vyžádání.

Rozlišení mikroskopu je od cca 20 μm, ve všech třech osách xyz.

K dispozici jsou dva skenery. První je Bioptonics OPT 3001, jehož výhodou je snadná možnost přizpůsobit velikost vzorku zornému poli pomocí zoomu a vyšší intenzita zdrojů záření pro transmisí a fluorescenci, a tudíž možnost používat větší vzorky. Druhý je přístroj vyrobený ve spolupráci s TU v Miláně, jehož předností je kvalitnější telecentrická optika, byť bez možnosti zoomu, a citlivější kamera poskytující ostřejší obrazy projekcí.

Bioptonics OPT skener

Zdrojem excitace je UV lampa.

1. GFP1, excitace 425/40 nm, emise od 475 nm (horní propust-HP),
2. GFP+, excitace 470/40 nm, emise od 515 nm (HP),
3. Cy3, excitace 545/30 nm, emise 610/75 nm,
4. Cy5, excitace 628/40 nm, emise 692/40 nm.

OPT skener (TU Milán)

Zdrojem excitace jsou laserové diody.

1. GFP1, excitace 405/10 nm, emise 447/60 nm (pásmová propust-PP) nebo emise od 450 nm (HP),
2. GFP+, excitace 472/30 nm, emise 520/35 nm (PP) nebo emise od 550 nm (HP),
3. Cy5, excitace 624/40 nm, emise 692/40 nm (PP).

Software

NRecon - základní, pro rekonstrukci 3D dat z projekcí nasnímaných přístroji.

DataViewer - pro vizualizaci 3D rekonstruovaných dat ve formě ortogonálních projekcí (obojí volně ke stažení na <http://www.skyscan.be/products/downloads.htm>).

VolViewer - pro vizualizaci dat ve formě 3D pohledů s využitím "volume rendering" a MIP (*maximum intensity projection*), s možností otáčení, zoomu, vícekanalového prohlížení, virtuálních řezů, 3D měření, atd. Volně ke stažení

<http://cmpdartsvr1.cmp.uea.ac.uk/wiki/BanghamLab/index.php/VolViewer>.

Zoner Photostudio Pro - doporučený, pro základní zpracování a vizualizaci jak nasnímaných projekcí, tak zrekonstruovaných řezů. Placené SW, zkušební verze volně stažitelná na <http://www.zoner.cz>.

Méně pohodlnou alternativou je volně stažitelný **IrfanView** na <http://www.irfanview.com>.

poslední úprava: 10. 11. 2015