

TauMap®

Микроскоп, измеряющий время жизни флюоресценции в пикосекундах.

Изображение флюоресценции одиночных клеток с временным разрешением, клеточных монослоев и тканей для биологического, фармацевтического и медицинского исследований:

- Изображения молекулярных и ионных динамик внутри живой ткани
- Визуализации взаимодействий протеина в живых клетках
- Микроскопии второй гармоники и флюоресцентной микроскопии
- Изображения времени жизни флюоресценции (FLIM)
- Резонансного переноса энергии флюоресценции (FRET)



Ссылки

W. Becker, A. Bergmann, K. König, U. Tirlapur:

Picosecond fluorescence lifetime microscopy by TCSPC imaging.
SPIE-Proceedings 4262, 414-419 (2001)

J.D. Mills, J.R. Stone, D.G. Rubin, D.E. Melon, D.O. Okonkwo, A. Periasamy, G.A. Helm:

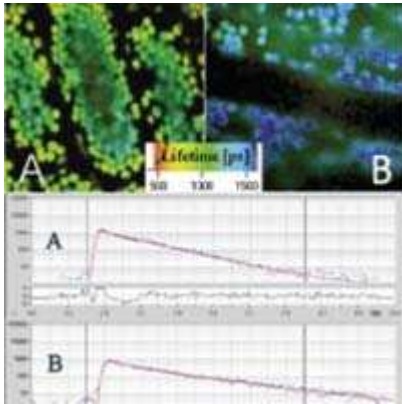
Illuminating protein interactions in tissue using confocal and two-photon excitation fluorescent resonance energy transfer microscopy.
Journal Biomedical Optics 8(3), 347-356 (2003)

V. Ulrich, P. Fischer, I. Riemann, K. König:

Compact multiphoton/single photon laser scanning microscope for spectral imaging and fluorescence lifetime imaging, Scanning 26, 217-225 (2004)

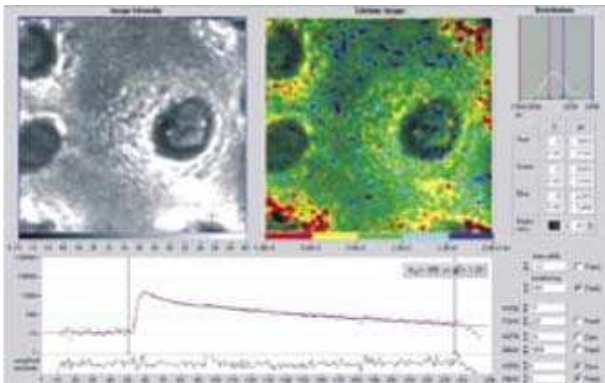
Описание системы

Система для изображения времени жизни флюоресценции (FLIM) с субмикронным пространственным разрешением.

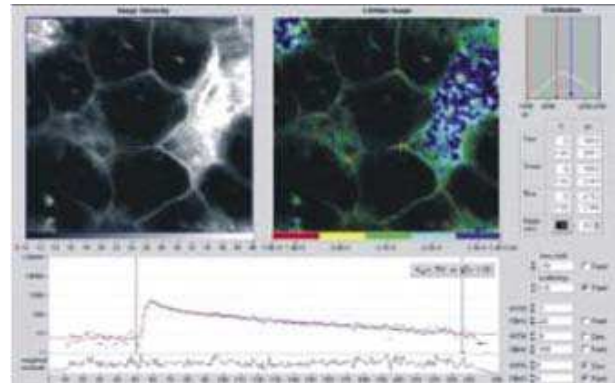


Изображение времени жизни флюоресценции хлоропластов внутри ткани, возбужденных лазерными импульсами длиной 810 нм (A) и 405 нм (B).

TauMap® объединяет 3-мерную томографию высокого разрешения с изображением времени жизни флюоресценции (FLIM). Это дает возможность 4-мерному (x, y, z, t) картографированию флуорофоров с субмикронным пространственным и субнаносекундным временным разрешением. Используя данную инновационную систему изображения, *in situ* лекарственный мониторинг и резонансный перенос энергии флюоресценции (FRET) могут выполняться в живых клетках и гистологических срезах. Данный аппарат основан на традиционном флюоресцентном микроскопе и оборудован высокоскоростным гальвосканирующим модулем и сверхскоростным детектором. Объективы высокой числовой апертуры (NA 1.3) позволяют получать изображение флюоресценции с субклеточным пространственным разрешением. Для регистрации данных, TauMap® использует модуль, работающий в режиме счета единичных фотонов (TCSPC). Детектор состоит из мультисканальных плат (MCP) или скоростного фотозлектронного фотоумножителя (PMT) для временного разрешения в 50 пс и 250 пс, соответственно. Система TauMap® полностью контролируется компьютером и снабжена программным обеспечением Scan и SPCImage Data Analysis компании JenLab GmbH.

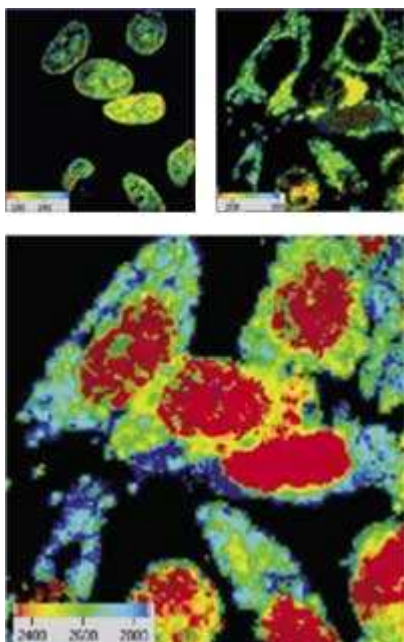


Изображение интенсивности флюоресценции (слева) и изображение времени жизни флюоресценции (справа) в роговом слое кожи человека (z=60 нм)



In vivo мультифотонное FLIM-изображение в базальном слое кожи человека (z=60 нм); отмечено красным: SHG коллагена.

Технология



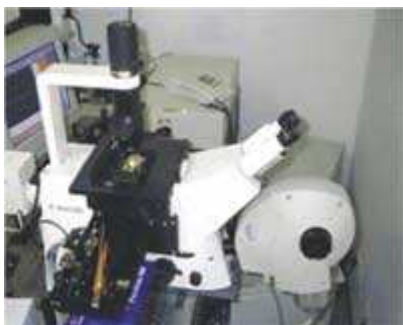
Время жизни флуоресценции в клетках, подкрашенных Хехстом 33342 и Родамином 123

Флуоресцирующие протеины, молекулярные красители и различные эндогенные биомолекулы - чувствительны к облучению ультракороткими лазерными импульсами. Флуоресценция характеризуется специфической кинетикой спада, которая может быть использована для различия флуоресцирующих компонентов и получения информации относительно микросреды.

TauMar® предоставляет 3-мерное измерение времени жизни флуоресценции (FLIM) для пространственного картографирования флуоресцирующих молекул. Использование режима счета единичных фотонов (TCSPC) делает возможным временное разрешение в 50 / 250 пс с однофотонной чувствительностью обнаруживать даже слабые изменения во времени жизни флуоресценции а также генерации второй гармоники (SHG). Система оптимизирована для фемтосекундных лазерных импульсов ближней инфракрасной области спектра, но так же может быть использована в комбинации с UV / VIS ультракороткими пульсирующими лазерами.

Флуорофор	Длина волны излучения	Время жизни флуоресценции (нс)
NAD (Р)Н	450 – 470	0.3 (bound: 2)
Флавины	530	5-2 (bound: <1)
Порфирины	580 – 720	10 – 15
CFP	475 /500	1-3 - 3-8
GFP (wild-type)	510	2-7 - 3-1
Коллаген (SHG)	$\lambda/2$ (360 – 480)	0

Области применения

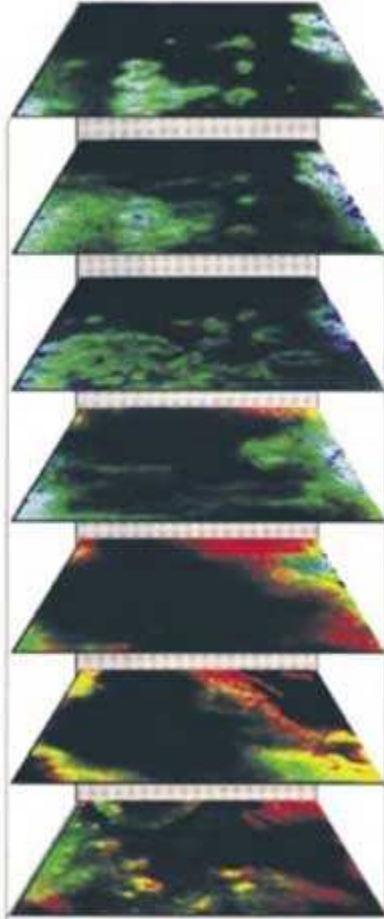


TauMar® и интерферометр Sagnac для спектрального изображения

TauMar® обеспечивает неинвазивное *in vivo* 3-мерное картографирование времени спада флуоресценции в клетках с субмикронным пространственным и временным разрешением в 50 / 250 пс, даже в ткани на глубине 200 μm . Данная система дает возможность специалистам наблюдать живые клетки и даже одиночные органеллы. Использование FLIM-технологии позволяет изучать молекулярные и протеиновые взаимодействия, а также сигналы о последовательных изменениях в одиночных клетках или между клетками в ткани. Кинетика флуоресценции - это характеризующий параметр, который может быть использован для определения различий флуорофоров. TauMar® дает возможность для *in situ* лекарственного мониторинга с высоким 3-мерным разрешением с помощью неинвазивной FLIM-технологии. Время спада флуоресценции (τ) флуорофора зависит от локальной среды, в которой он находится. Поскольку время жизни флуоресценции часто не зависит от концентрации, FLIM - это непосредственный индикатор связывающих эффектов и переносов энергии, и преодолевающий соответствующие проблемы, встречающиеся в измерениях флуоресцентной интенсивности. Высокое временное разрешение TCSPC-блока позволяет системе TauMar® изучать резонансный перенос энергии флуоресценции (FRET, FLIM-FRET) без фототоксичных реакций, что может быть использовано в исследованиях внутриклеточных межпротеиновых взаимодействий. При соединении оборудования спектрального изображения с TauMar®, может быть получена дополнительная информация относительно спектрального состава в пикселях (5-мерное изображение).

Технические данные

Изображения времени жизни флюоресценции на различных глубинах кожи человека.



Изображения времени жизни флюоресценции на различных глубинах кожи человека.

- полнокадровое сканирование, сканирование области интереса (ROI), линейное сканирование, спот сканирование.
- типичный диапазон лучевого сканирования: 50 x 350 μm
(по горизонтали)
200 μm
(по вертикали)
- пространственная разрешающая способность: < 1 μm
(по горизонтали)
< 2 μm
(по вертикали)
- временная разрешающая способность: 50 пс / 250 пс
- видеоадаптер для визуализации с CCD-камерой
- программное обеспечение управления и обработки изображением (JenLab Image)
- рабочая температура: 15 ...35 °C (59 ...95 °F)
- относительная влажность: 5 ...95 % (без конденсации)
- требуемая мощность: 230 VAC (50 Гц) или 115 VAC (60 Гц)
- система одобрена Советом Европы

Размеры системы

- основание: 590 x 295 x 640 мм³ (26 кг)
- сканирующий модуль: 280 x 190 x 90 мм³ (6 кг)
- блок управления: 450 x 300 x 130 мм³ (98 кг)

Стандартные данные лазера

- Компактный ультракороткий пульсирующий лазер «под ключ»
- длительность лазерного импульса: фс / пс
- частота повторения: 20... 90 МГц
- средняя выходная мощность лазера: 0... 1.5 В
- диапазон волны: 375 нм, 405 нм, 635 нм
710... 990 нм

Размеры системы

- головка лазера: 600 x 370 x 180 мм³ (42 кг)
- блок электропитания: 450 x 440 x 270 мм³ (41 кг)
- охладитель: 270 x 200 x 380 мм³ (20 кг)

Во время эксплуатации системы рекомендуется воздушное кондиционирование и уменьшение общей освещенности.
Примечание: указанные технические данные могут быть изменены без уведомления.