

L'objectif de cet atelier est de tester deux systèmes spinning disc différents, CREST X light et Yokogawa X1, équipés de la même caméra, Orca Flash 4, et de la même base laser, Agilent double fibre. Le système sera, de plus, équipé du nouveau bras d'application laser NikonTi-Lapp sur lequel sera installé un module de photoactivation, Système DMD Nikon et source LED Spectra X, d'un bras TIRF et d'un module d'épi fluorescence, source LED Spectra X.

Description du microscope Nikon Ti-E

- Ti-E Nikon, platine motorisée XY à encodeurs,
- Système de maintien de focus (PFS)
- Tourelle de cube filtre motorisée (DAPI , FITC, TRITC, Cy5)
- Tourelle d'objectifs 6 positions motorisée
- Objectif 10x, 20x (Multi immersion), 40x (oil), 60x (oil) et 100 x (oil)
- Incubateur de platine (Température et CO2)
- Nouveau bras Ti LAPP :



Equipé d'un module d'épi fluorescence, d'un bras TIRF motorisé et d'un module DMD.

Module DMD (digital micromirror device)

Le DMD consiste en une matrice de micro-miroirs 600x800 (480 000) chacun de 16,5µm sur 17µm. Chaque miroir est posé sur un petit circuit qui contrôle indépendamment sa position on/off (2 positions possibles uniquement).

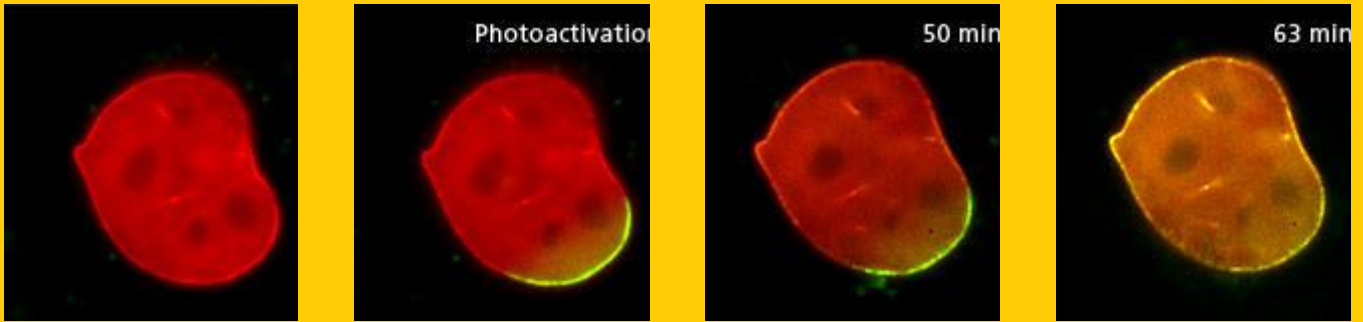
Parce que la surface du DMD est couplée avec la surface observée (couplée avec le diaphragme de champ), la décision du on/off de chaque miroir permet de décider quel point de la surface observée va être illuminé.

Achieves simultaneous multipoint photoactivation

The new DMD module enables photoactivation and photoconversion of a user-specified pattern and position(s), whereas the conventional FRAP unit only enables photoactivation of a single, manually-positioned spot. The DMD illumination shape, size, position and number can be freely customized using the NIS-Elements software. This capability allows researchers to optically mark a subset of cells or protein populations within a single cell or multiple cells to track their behavior. The DMD module is also optimally suited for optogenetics experiments in which highly customized ROIs can be



used to optically induce functional changes in subsets of cells or protein populations. The DMD module can be used with either laser illumination or less phototoxic LED illumination.



A mouse embryonic fibroblast co-expressing mCherry-tagged lamin A (red) and photo-activatable GFP-tagged lamin A was photo-converted (green) in the lower right region using the DMD module and 405 nm LED light. Time-lapse images were captured using the epi-fluorescence illuminator. By photoactivating a sub-population of the lamin proteins, one can observe their dynamics and subunit-exchange behavior.

Image courtesy of Drs. Takeshi Shimi and Bob Goldman, Northwestern University Medical School

Module H TIRF

Le tout nouveau bras H TIRF Nikon permet une recherche automatisée de l'angle d'incidence pour vos expériences TIRF.

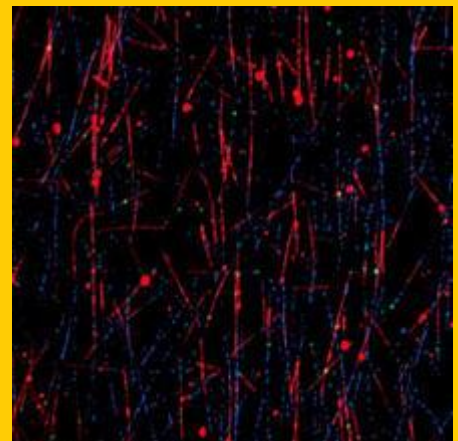
Fully automated TIRF adjustment and observation is now possible

The ideal incident angle and focus of the laser for TIRF observation vary depending on specimen and observation conditions. Adjusting the incident angle and focus for achieving TIRF requires skill and experience. The new H-TIRF module automatically adjusts the focus and incident angle of the laser for TIRF observation by monitoring the reflection beam. This automatic laser focus adjustment and incident angle adjustment is carried out by the auto-alignment function in NIS-Elements software. Incident angles and penetration depths of the evanescent fields can be saved and reproduced for subsequent experiments to ensure consistent imaging results.

The H-TIRF module is configured with a gradation neutral density (ND) filter that can be moved into the light path to achieve an even field of TIRF illumination.

An in vitro preparation of fluorescently-labeled microtubules (tetramethylrhodamine and Alexa 647) and tubulin binding proteins (Alexa 488) was imaged in three different wavelengths using the H-TIRF illuminator and the gradation ND filter. Incident angles can be automatically adjusted for multiple wavelengths.

Image courtesy of Melissa Hendershott and Dr. Ron Vale, University of California, San Francisco



Spécifications du Crest X light et de la tête Yokogawa X1

La tête Crest X Light et la tête Yokogawa X1 sont deux systèmes spinning disk permettant de réaliser de l'imagerie confocale rapide. Leurs caractéristiques techniques sont les suivantes :

	Crest X light	Yokogawa X1
Mode d'acquisition	Confocal et widefield (possibilité de retirer le disc)	Confocal
Field of view	22 x 22 mm	10 mm x 7 mm
Propriétés du disque	CrestOptics Proprietary Disk Pattern Design for high confocal resolution, improved Out of Focus rejection and higher S/N	Microlens-enhanced Nipkow disk scanning
Tailles des pinholes	40 µm ou 70 µm	60 µm
Vitesse de rotation du disque	15 000 rpm	1500 à 5000 rpm
Dichroïques	Tourelle motorisée 3 positions équipée d'un quad (405, 488, 561, 647)	Quad (405, 488, 561, 647)
Filtre à l'émission	Tourelle de cubes filtres 8 positions	Tourelle de cubes filtres 12 positons

Camera Flash 4 (Hamamatsu)

Quantum efficiency	Over 70 % at 600 nm and 50 % at 750 nm
Imaging device	Scientific CMOS Sensor FL-400
Effective no. of pixels	2048 (H)×2048 (V)
Cell size	6.5 µm×6.5 µm
Effective area	13.312 mm×13.312 mm
Full well capacity	30 000 electrons (typ.)
Readout speed	100 frames/s (Full resolution, Camera Link)

Base Laser Agilent

La base laser présentée permet l'utilisation de 4 raies lasers 405 (20mW), 488 (50mW), 561 (50mW) et 647 (50mW). Les puissances spécifiées étant celles en sortie de fibre. Il s'agit d'une base double fibre ou chacune sera reliée sur une tête spinning.