

# Time-Lapse Imaging videómikroszkópia és Long-Term Scan rendszerek

Készítette:

**Szamosi Regina**

(eTox munkacsoport)

## Time-Lapse Imaging:

- ▶ Time-lapse : Olyan mozgókép készítési módszer, mely során lassú időközönként rögzített képsorozatot valós időben játszunk le.
  - Emberi léptékhez képest lassabb folyamatok
  - Először a makroszkópikus világban jelent meg
- ▶ Time-lapse videómikroszkópia megjelenése a mikroszkópikus világban
  - Sejtenyészetek hosszú távú megfigyelése
  - A sejtek egyedileg vizsgálhatóak és osztódás után azok leánysejtjeik is
  - Első sorban adherens sejtek vizsgálata ➤ Sejtek számára ideális környezet

## Fénymikroszkópok

Optikai rendszer:

- Fényforrás
- Tükör
- Kondenzor → fény összegyűjtése
- Objektívek
- Okulárok

Mechanikai szerkezet:

- Mikroszkóp állvány → statív
- Tárgyasztal
- Élesség állítás

Egy mikroszkóp értéke a nagyítástól és a felbontóképességtől függ.

Nagyítás mértéke: a megfigyelt tárgy lineáris növekedése

Felbontóképesség: az a szög mellynél két különálló pontot még külön érzékelünk

**Felbontóképesség:**

- ▶ Diffrakció jelensége: lencse befogadó nyílásán fényelhajlás lép fel
- ▶ Abbe-törvény: diffrakció miatti feloldás leírása

**Numerikus apertúra:**

- ▶ Meghatározza a felbontóképességet és az elérhető hasznos nagyítást
- ▶ Kiszámolása:  $NA = n \cdot \sin \alpha$
- ▶ Az optikai lencserendszerek fénygyűjtő képességének egység nélküli mérőszáma, mely meghatározza a felbontóképességet és a mélységélességet. A numerikus apertúra értékét megkapjuk, ha a szinuszt vesszük a beérkező fénysugár félkúpszögének ( $\alpha$ ) és ezt összeszorozzuk a lencse anyag, vagy közeg (légtér, víz, stb...) törésmutatójával ( $n$ ).

**Objektívek:**

- ▶ Feladata, hogy a tárgyról nagyított képet készítsen.
- ▶ Optikai hibákra korrigált többlencsés rendszer, mely alapvetően meghatározza a mikroszkóp nagyítási tartományát, és azt, hogy milyen kis részleteket lehet a mikroszkóppal felbontani.
- ▶ Valós képet ad
- ▶ Képét az okulár tovább nagyítja.
- ▶ A tubus: a szemlencse és a tárgylencse közötti cső
- ▶ Egy objektíven található feliratok:
  - ↕ tubushossz
  - ↕ nagyítás

↕ numerikus apertúra

↕ fedőlemez vastagsága

## Képezékelők:

➤ CCD (Charge-Coupled Device): töltéscsatolt eszköz

- ▶ analóg léptetőáramkör (shift regiszter), amely az elektronikus töltéseket továbbítja
- ▶ Fényérzékeny alkatrészsel, fotodiódával kombinálva a fényt elektronikus jelekké alakító eszköz, mely egymáshoz csatolt kondenzátorokból álló integrált áramkört tartalmaz.
- ▶ Külső áramkör segítségével minden kondenzátor képes átadni a töltését a szomszédjának, így kiolvasható a kép.
- ▶ A CCD-eket a digitális fényképezés, csillagászat területén, videokamerákban és optikai szkennerekben alkalmazzák.

A csillagászatban részben fényességmérésre, optikai és UV-spektroszkópiára és nagysebességű technikáknál alkalmazzák

➤ CMOS

- ▶ MOS technológia lényege, hogy az érzékelő lapkán a rétegek sorrendje: Metal (fém) – Oxide (fémoxid szigetelő) – Semiconductor (félvezető)
- ▶ Az ilyen érzékelők esetében nincs szükség töltés csatolásra

## Fényforrás: IR

- ▶ Az IR-re jellemző a nagy hullámhossz alacsony energia
- ▶ Fototoxicitást nem tapasztalunk!
- ▶ Szabad szemmel nem látható, de a CCD érzékeli →képalkotás
- ▶ Fényforrás a CCD érzékelőhöz vagy külső áramforráshoz van kötve

## Szoftverek:

- ▶ Ezek a mikroszkópok számítógéppel lesznek Time-Lapse rendszerek
- ▶ Megfelelő szoftver: ami tud webkamerát kezelni

↕ eTox LTS

↕ VirtualDub

▶ Amit be kell állítani:

↕ Felbontás

↕ Időintervallum: milyen időközönként készüljön el a kép (min: 15 sec.)

↕ Átlagolás

↕ Megfelelő név (név, dátum, kontoll, kezelt, koncentráció, stb)

↕ Képszekvenciából adat kinyerése: képelemző szoftver (ImageJ)

## Felhasználás:

▶ Long-Term Scan rendszerek: adherens sejtek vizsgálata

▶ Kapilláris mikroszkóp (egyelőre modell): szuszpenziós sejtek

## Long-Term Scan rendszerek:

▶ eTox

▶ Hosszú távú, folyamatos megfigyelés

▶ Inkubátorba helyezhető egyedileg épített mikroszkópok LTS felépítése:

- Inverz mikroszkóp
- Statív
- Fény
- Érzékelő (CCD vagy CMOS)
- Számítógép + szoftver
- Inkubátor: 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>, 99% páratartalom

## LTS felhasználási területei:

▶ Adherens sejtek hosszú távú vizsgálata (leghosszabb 28 nap)

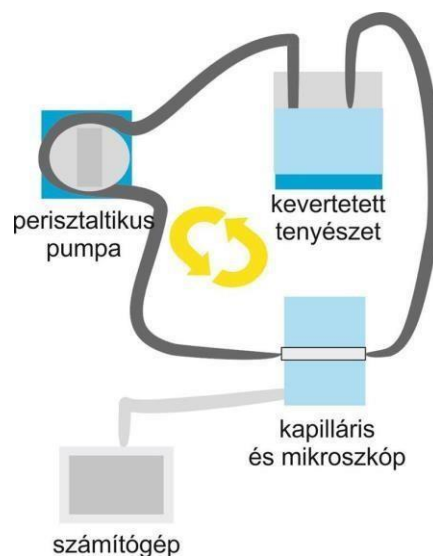
- ▶ Sejtek életfunkcióinak és viabilitásukkal összefüggő tulajdonságok vizsgálata: kitapadás, osztódás, apoptózis, motilitás
- ▶ Toxicitás vizsgálatok (egyidőben kontroll és kezelt tenyészet vizsgálata)

## Kapilláris mikroszkóp:

- ▶ Egy laboratóriumi modell szuszpenziós sejttenyészetek, fermentációk hosszútávú megfigyeléséhez
- ▶ Felépítése: hasonló az LTS-hez (inverz mikroszkóp, fényforrás, CCD érzékelő, számítógép)

### Különbség:

- ▶ Egy kapillárisban áramolnak a sejtek folyamatosan
- ▶ Perisztaltikus pumpa: folyamatos áramlás biztosítása ▶ Mágneses keverő: a folyamatos keverés biztosítása



### Források:

- ▶ [http://timelapse.blog.hu/2009/02/25/vihar\\_timelapse](http://timelapse.blog.hu/2009/02/25/vihar_timelapse)
- ▶ <http://oktel.hu/szolgalatas/kamerarendszer/kamerak/ccd-es-cmos-erzekelok/>
- ▶ [http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop412A/2010-0017\\_45\\_optika\\_es\\_latorendszerek/ch03s02.html](http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop412A/2010-0017_45_optika_es_latorendszerek/ch03s02.html)
- ▶ [http://uniobuda.hu/users/pap.andrea/BSc\\_anyaglab/mikroszkop.pdf](http://uniobuda.hu/users/pap.andrea/BSc_anyaglab/mikroszkop.pdf)
- ▶ Kiterjesztett time-lapse imaging rendszer a citotoxikológiában; Turáni Melinda, Balogh Enikő, Király Gábor; XXX. OTDK Biológia Szekció; 2010; Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar,

## Mikrobiális Biotechnológiai és Sejtbiológiai Tanszék

- ▶ Kapilláris mikroszkóp modell kifejlesztése szuszpenziós sejttenyészetek time-lapse imaging videomikroszkópos megfigyeléséhez; Jákó Judit, Szamosi Regina, Tavasz Kari TDK; 2016.
- ▶ [www.etox.eu](http://www.etox.eu)
- ▶ <http://webneel.com/time-lapse-photography>