

Time-Lapse Imaging videómikroszkópia és Long-Term Scan rendszer

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
 - Sejttenyészetek hosszú távú megfigyelése
 - A sejtek egyedileg vizsgálhatók és osztódás után azok leánysejtjei is
 - Elsődlegesen adherens sejtek vizsgálatára alkalmas módszer

Fénymikroszkópok

Optikai rendszer:

- Fényforrás
- Tükör
- Kondenzor (fény összegyűjtése)
- Objektívek
- Okulárok

Mechanikai szerkezet:

- Mikroszkóp állvány/statív
- Tárgyasztal
- Durva és finom élességállítás

Egy mikroszkóp értéke a nagyítástól és a felbontóképességtől függ.

Nagyítás mértéke: a megfigyelt tárgy lineáris növekedése

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

Objektívek:

- ▶ Feladatuk, hogy a tárgyról nagyított képet készítsenek.
- ▶ 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:
 1. tubushossz
 2. nagyítás
 3. numerikus apertúra
 4. fedőlemez vastagsága

Képezékelők:

Feladatuk, hogy a külvilág felől a kamera objektívjén keresztül érkező fényt digitális jelekké alakítsák.

- CCD (Charge-Coupled Device): töltéscsatolt eszköz
 - ▶ analóg léptetőáramkör (shift regiszter), amely az elektronikus töltéseket továbbítja
 - ▶ Fényérzékeny alkatrészsel, fotodiódával kombinálva a fényt elektronikus jelekké alakítja, 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.

Fényforrás: IR

- ▶ Az IR-re jellemző a nagy hullámhossz és 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 összekötve alkotják a Time-Lapse rendszert
- ▶ Megfelelő szoftver: ami tud webkamerát kezelni
 - eTox LTS
 - VirtualDub
 - ToupView
- ▶ Amit be kell állítani:
 - Felbontás
 - Időintervallum: milyen időközönként készüljön el a kép (min: 15 sec.)
 - Átlagolás
 - Informatív fájlnev (tenyészet neve, dátum, kontoll, kezelt, koncentráció, stb)
 - Képszekvenciából adat kinyerése: képelemző szoftver (ImageJ)
 - Élőkép (élességállítás)

Long-Term Scan rendszerek:

- ▶ 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% CO₂, 99% páratartalom

LTS felhasználási területei:

- ▶ Adherens sejtek hosszú távú vizsgálata (akár 4 hét)
- ▶ Sejtek életfunkcióinak és viabilitásukkal összefüggő tulajdonságaiknak vizsgálata: kitapadás, osztódás, apoptózis, motilitás, karcmodell megfigyelés
- ▶ Toxicitás vizsgálatok

LTS rendszer hibái:

- Inkubátor paramétereire alkalmazkodás → defókuszálás
- Érzékeny rendszer → homályos felvételek, megváltozott látótér
- CCD kamera vagy az objektív sérülése/tisztítatlansága
- Számítógépes összeköttetés hibája
- Nagy adatmennyiség → számítógép memória betelik

Perfúziós rendszer:

A hosszútávú videómikroszkópos megfigyeléseknél biztosítja a tenyészetek kezelését anélkül, hogy a látótér/tenyésztő flaska elmozdítása szükségessé válna.

- A perfúziós rendszer **elszívó ága** a tenyésztő edényben található felesleges folyadékot távolítja el a rendszerből egy szivatópalackba.
- A **nyomó ág** a steril fecskendőből friss vagy kezelt tápfolyadékot juttat a sejttenyésztő flaskába.
- A perfúziós rendszer adagoló és elvezető csövei (szárnyas)tűkön keresztül csatlakoznak a tenyésztő flaskához (befecskendezés és elszívás). Ezek a flaska szélein helyezkednek el, hogy ne zavarják a látóképet.

Felhasznált irodalom:

- ▶ http://timelapse.blog.hu/2009/02/25/vihar_timelapse
- ▶ <http://oktel.hu/szolgaltatas/kamerarendszer/kamerak/cc-d-es-cmos-erzekelok/>
- ▶ 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
- ▶ Kiterjesztett time-lapse imaging rendszer a citotoxikológiában; Turáni Melinda, Balogh Enikő, Király Gábor; XXX. OTDK Biológia Szekció; 2010; Debreceni
- ▶ www.etox.eu
- ▶ <http://webneel.com/time-lapse-photography>
- ▶ http://www.etox.eu/Fidrus_Eszter_HaCaT_sejtek_sz%C3%A9rummentes_szinkroniz%C3%A1ci%C3%B3j%C3%A1nak_vizsg%C3%A1lata_perf%C3%BAzi%C3%B3s_rendszerrel_kieg%C3%A9sz%C3%ADtett_Long-Term_Scan_mikroszk%C3%B3pia_seg%C3%ADts%C3%A9g%C3%A9vel.pdf