



Centro de Citometría y Microscopía de Fluorescencia

**Centro de Citometría y
Microscopía de Fluorescencia**

Ciudad Universitaria, s/n. - 28040 Madrid

N.I.F.: Q - 2818014 - I

Telfs.: 91 394 49 38 / 43 80

Certificación de calidad ISO 9001:2008

nº ES11/11013.10

ACTUALIZACIÓN DE LA MICROSCOPIA CONFOCAL DE LA UCM

REF: UCMA15-EE-3819

RESPONSABLE CIENTIFICO: AGUSTIN ZAPATA GONZALEZ

Prescripciones Técnicas

1.- Estativo

1.1.- Microscopio invertido automatizado preparado con las técnicas de contraste de campo claro y fluorescencia.

Componentes automatizados/motorizados deben incluir, al menos:

a. Módulo de luz incidente, con corrección apocromática, y motorización de obturador e intensidad en, al menos, 5 posiciones.

b. Cambio de salidas de observación. Al menos, dos salidas para documentación motorizadas, con reparto de luz 100%, una para la conexión del módulo confocal y otra disponible para la instalación de una cámara, en caso de ser necesario en un futuro. Cambio automático a posición "SCAN" al activar el barrido por láser a través del software, sin necesidad de realizar ajustes en el microscopio para pasar de observación convencional a confocal y viceversa.

c. Revolver portaobjetivos codificado de, al menos, 6 posiciones, con funciones de parfocalidad y parcentricidad.



Centro de Citometría y Microscopía de Fluorescencia

**Centro de Citometría y
Microscopía de Fluorescencia**

Ciudad Universitaria, s/n. - 28040 Madrid

N.I.F.: Q - 2818014 - I

Telfs.: 91 394 49 38 / 43 80

Certificación de calidad ISO 9001:2008

nº ES11/11013.10

d. Enfoque: eje Z motorizado:

Rango de movimiento de al menos 12mm

Paso mínimo ajustable en incrementos <4nm y niveles variables de sensibilidad.

Mandos para ajuste de foco fino y grueso en los dos lados del microscopio y joystick de control externo.

e. Condensador codificado.

f.- Platina XY motorizada de alta precisión, con control externo y desde el software, que permita la programación de experimentos time-lapse multiposición y la realización de mosaicos complejos y en múltiple área. Deberá contar con adaptadores para diferentes soportes de muestra incluyendo placas Petri entre 24-68 mm de diámetro, portaobjetos 24-120 mm longitud y placas multipocillo.

1.2.- Técnicas de microscopía incluidas:

a.- Campo claro, por iluminación LED blanco, con regulación electrónica del encendido y apagado y del control de potencia.

b.- Fluorescencia, fuente de iluminación con lámpara de metal-haluro de 120 W, conectada por fibra óptica líquida y de elevada duración media (>1.500 horas) y mínima pérdida de rendimiento luminoso hasta el final de su vida, exenta de centrado.

Control de intensidad integrado en la unidad y motorizado para intensidades de fluorescencia en al menos 5 pasos integrado en el microscopio.



Centro de Citometría y Microscopía de Fluorescencia

Centro de Citometría y

Microscopía de Fluorescencia

Ciudad Universitaria, s/n. - 28040 Madrid

N.I.F.: Q - 2818014 - I

Telfs.: 91 394 49 38 / 43 80

Certificación de calidad ISO 9001:2008

nº ES11/11013.10

1.3.- Objetivos específicos para microscopía confocal, con corrección cromática de alta precisión para aplicaciones de microscopía confocal.

Al menos debe incluir:

- a.- PL APO 10X/0,4
- b. PL APO 20X/0.75 Seco
- c. PL APO 63x/1,30 Inmersión en Glicerol, CORR.

1.4.- Torreta de filtros de fluorescencia motorizada con capacidad para al menos 6 cubos de fluorescencia y cambio de bloques de filtros de fluorescencia fácilmente realizable por el usuario, sin necesidad de herramientas.

Al menos deben incluirse bloques para excitación UV, azul y verde, con las siguientes especificaciones:

- a.- excitación BP 360/40nm; emisión LP 425n
- b.- excitación BP 540/45; emisión LP590,
- c.-. excitación BP 470/40; emisión LP515.

2.- Mesa antivibratoria



Centro de Citometría y Microscopía de Fluorescencia

Centro de Citometría y

Microscopía de Fluorescencia

Ciudad Universitaria, s/n. - 28040 Madrid

N.I.F.: Q - 2818014 - I

Telfs.: 91 394 49 38 / 43 80

Certificación de calidad ISO 9001:2008

nº ES11/11013.10

3.- MÓDULO CONFOCAL. Sistema de barrido laser con detección espectral.

3.1 Sistema de detección. Completamente espectral con, al menos, tres detectores fluorescencia, y uno para luz transmitida, todos ellos independientes y posibilidad de ampliación a un número mayor.

a) Descomposición de luz emitida por la muestra mediante prisma, con máxima transmitancia de luz (>al 97% desde 400 hasta 800 nm), independiente del plano de polarización y de la longitud de onda de la luz.

b) Al menos tres detectores para fluorescencia y/o reflexión, en un diseño que elimine dicroicos secundarios y filtros barrera, para asegurar la máxima transparencia.

Ancho de banda de detección ajustable independientemente para cada canal entre 5 y 400 nm, con un paso mínimo de 1 nm y una resolución espectral mínima de 5 nm, con un rango de trabajo libremente ajustable entre 400 y 800 nm.

Detectores con Fotomultiplicadores (PMT) de alta sensibilidad y bajo ruido para cada canal, con ajuste de ganancia y offset independiente para cada canal en modos tanto secuencial como simultáneo. Al menos un detector con sistema de alta sensibilidad basado en fotocátodo GaAsP.

c) Un detector para luz transmitida.



Centro de Citometría y Microscopía de Fluorescencia

**Centro de Citometría y
Microscopía de Fluorescencia**

Ciudad Universitaria, s/n. - 28040 Madrid

N.I.F.: Q - 2818014 - I

Telfs.: 91 394 49 38 / 43 80

Certificación de calidad ISO 9001:2008

nº ES11/11013.10

3.2.- Sistema de barrido que permita extender el campo de barrido al máximo, el mismo que en oculares ($\geq 22\text{mm}$)

Velocidad de barrido controlada y variable entre 1 y, al menos, 1.800 Hz y resolución de hasta, al menos, 8.192 x 8.192 píxeles, permitiendo obtener imágenes en alta resolución y sin pérdida de información incluso panorámicas a bajos aumentos.

Posibilidad de barrido en modo bidireccional, para cualquier resolución, que permita al menos 7fps a 512 x 512 píxeles, con ajuste automático de la fase al cambiar de zoom.

Posibilidad de realizar barrido secuencial línea a línea.

Barrido en regiones de interés (ROI) libremente configurables, en forma, láseres utilizados y potencia de los mismos.

Zoom ajustable en pasos de 0.1 y variable hasta, al menos, 48x con función de "panning".

Tiempo de integración constante en toda la imagen (barrido lineal)

Posibilidad de rotación del campo de escaneo (mínimo 200°) en continuo y en pasos de 0,1°, controlable, al menos, desde el software.

3.3.- Sistema de iluminación por láseres.

Al menos 4 puertos para acoplamiento de láseres.

Control por AOTF (Acousto-Optical Tuneable Filter) o similar que permita el control simultáneo de todas las líneas láser y adicionales, con regulación de intensidad entre 0 y 100% y máxima linealidad. El AOTF debe permitir barridos en todas las modalidades



Centro de Citometría y Microscopía de Fluorescencia

**Centro de Citometría y
Microscopía de Fluorescencia**

Ciudad Universitaria, s/n. - 28040 Madrid

N.I.F.: Q - 2818014 - I

Telfs.: 91 394 49 38 / 43 80

Certificación de calidad ISO 9001:2008

nº ES11/11013.10

incluyendo la basada en regiones de interés (ROI scan) libremente configurables para cada laser.

Acoplamiento de los láseres por fibra óptica.

Desactivación de los láseres (blanking) durante los tiempos muertos del barrido (retorno de línea y de campo).

Encendido independiente de todos los láseres.

La configuración de láseres debe incluir, al menos:

Rango azul: Láser de Estado Solido de 488nm, 20mW

Rango verde: Láser de Estado Solido de 552nm, 20 mW.

Rango rojo: Laser de Estado Solido de 638nm, 30mW.

Láser Diodo Violeta de 405 nm, 50mW

Sistema divisor de haz para todas las posibles combinaciones de excitación, con bajo ángulo de incidencia para la mejor transmisión independiente de la polarización de la luz fluorescente.



Centro de Citometría y Microscopía de Fluorescencia

**Centro de Citometría y
Microscopía de Fluorescencia**

Ciudad Universitaria, s/n. - 28040 Madrid

N.I.F.: Q - 2818014 - I

Telfs.: 91 394 49 38 / 43 80

Certificación de calidad ISO 9001:2008

nº ES11/11013.10

4.- Software y equipamiento informático

El equipo informático debe incluir todas las posibilidades de escaneo de imágenes de forma automatizada, con gestión de hardware.

El software debe incluir herramientas o módulos específicos para la realización de tareas de deconvolución y obtención de imágenes con superresolución de, al menos, 140 nm en XY y un incremento de hasta dos veces de la resolución en Z.

El equipo informático debe permitir la realización de tareas de deconvolución con máxima eficiencia.

5.- La garantía del equipo debe ser de cinco años incluyendo todos los componentes tanto láseres como actualizaciones y soporte de software

Fdo Agustín Zapata González

06 marzo de 2017