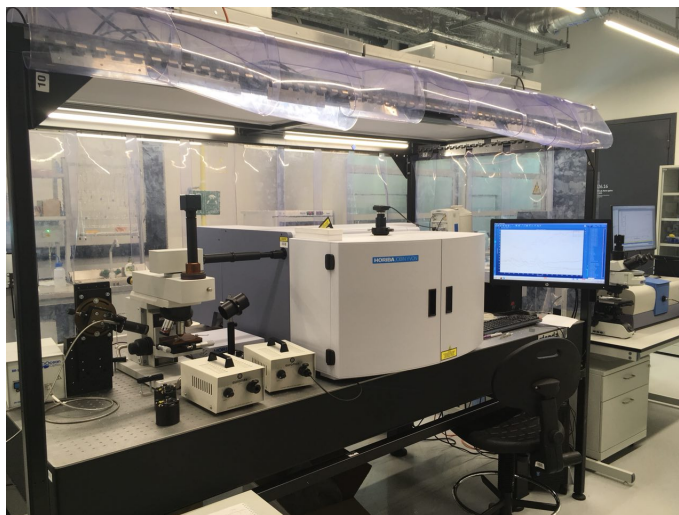


Список оборудования ЦКП "Биовизуализация и спектроскопия"

1. Raman Spectrometer LabRam HR Evolution – спектрометр комбинационного рассеяния. Спектроскопия комбинационного рассеяния относится к колебательной молекулярной спектроскопии. Колебания возникают в молекулах за счет смещения ядер от положения равновесия. Колебательные спектры регистрируют в форме инфракрасных



спектров и спектров комбинационного рассеяния.

Спектр комбинационного рассеяния возникает при облучении вещества монохроматическим светом ультрафиолетового или видимого диапазона. Под воздействием света молекулы вещества поляризуются и рассеивают свет. При этом рассеянный свет отличается от частоты исходного излучения на величину, соответствующую частоте нормальных колебаний молекулы. Индивидуальность этой характеристики обуславливает высокую селективность метода.

Схема спектрометра комбинационного рассеяния включает следующие элементы:

4 лазера с различными длинами волн 266, 532, 633, 785.

Устройство подсветки образца и сбора рассеянного света (конфокальный микроскоп).

Средство фильтрации излучения, выделяющие малую часть диапазона длин волн, отвечающую комбинационному рассеянию (конфокальная щель).

Устройство (дифракционная решетка) для расщепления рассеянного света на составляющие длины волн, то есть спектр.

Светочувствительное устройство для детектирования (CCD-«charge-coupled device»)

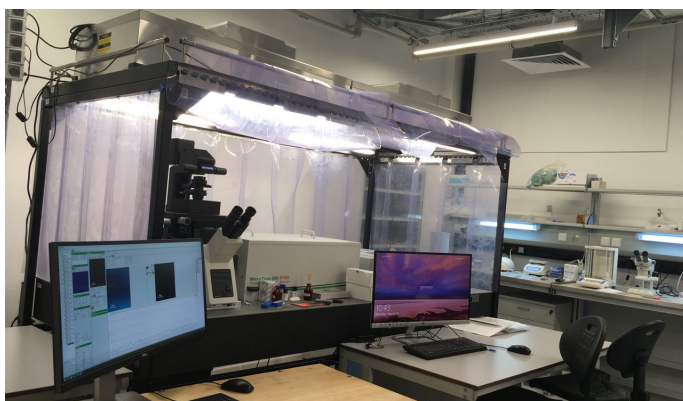
Используемая установка спектрометра комбинационного рассеяния LabRam HR Evolution позволяет получать спектры с разрешением в 0.5 см^{-1} . Спектрометр содержит опцию картирования образца. При изучении образца можно выбирать разные направления исследования его изображения, рассматривая, например, полученные

спектры для точек, лежащих на одной линии. При этом генерация изображения происходит путем интегрирования Рамановских спектров от всех точек заданной линии. Исследователь получает для анализа характеристики спектральных пиков: длину волны, ширину, минимальное и максимальное значение интенсивности. Если образец прозрачный, то, используя конфокальный микроскоп, можем анализировать также внутренний состав объекта и получать объемные изображения.

Для получения изображения используют два метода анализа: определение положения обнаруженных пиков по усредненным по линии спектрам; сравнение полученных спектров с эталонными спектрами заданных химических веществ из имеющейся библиотеки.

2. Конфокальный микроскоп с временным разрешением Picoquant, MicroTime 200 STED.

Позволяет детектировать изображения образца в шкале времен жизни флуоресценции (fluorescence life-time imaging microscopy), корреляционные функции g_2 , микроскопия сверхвысокого разрешения STED (stimulated emission depletion).



Микроскопия визуализации времени жизни флуоресценции (*FLIM*) представляет собой метод визуализации для создания изображения, основанного на различиях в экспоненциальной скорости затухания флуоресценции от флуоресцентного образца. Его можно использовать в качестве метода визуализации в конфокальной микроскопии, двухфотонной возбуждающей микроскопии и многофотонной томографии. Время жизни флуоресценции определяется как среднее время, в течение которого молекула остается в возбужденном состоянии до возврата в основное состояние путем излучения фотона.

Поскольку время жизни флуоресценции не зависит от концентрации, поглощения образца, толщины образца и интенсивности возбуждения, такой метод более устойчив, чем методы, основанные на измерении интенсивности. Тем не менее время жизни флуоресценции зависит от множества параметров окружающей среды, таких как pH,

концентрация ионов или кислорода, молекулярное связывание или близость энергетических акцепторов.

Для определения времени жизни флуоресценции используется временная корреляция однофотонного подсчета (TCSPC). В TCSPC измеряется время между возбуждением образца импульсным лазером и приходом излучаемого фотона на детектор. TCSPC требует определенного «пуска», обеспечиваемого электроникой, управляющей лазерным импульсом или фотодиодом, и определенного «стоп-сигнала», реализуемого путем детектирования с помощью детекторов одиночных фотонов (например, однофотонных лавинных диодов, SPAD). Измерение этой временной задержки повторяется много раз, чтобы учесть статистический характер излучения флуорофоров. Времена задержки сортируются на гистограмме, которая отображает возникновение излучения в течение времени после импульса возбуждения.

Чтобы получить изображение продолжительности жизни флуоресценции, фотоны должны быть отнесены к различным пикселям, что делается путем сохранения абсолютного времени прихода фотонов дополнительно к относительному времени прибытия по отношению к лазерному импульсу.

STED-микроскопия — микроскопия на основе подавления спонтанного излучения — разновидность флуоресцентной микроскопии, достигающая разрешения сверх дифракционного предела путём избирательного тушения флуоресценции.

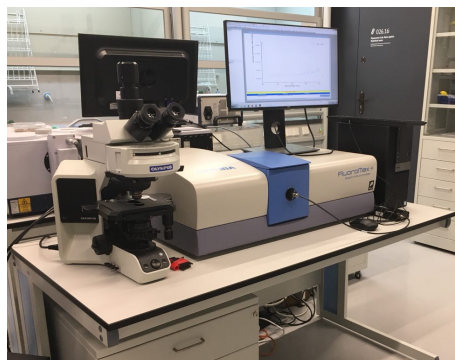
При обычной конфокальной люминесцентной микроскопии исследуемое вещество оптически возбуждается, и его флуоресценция регистрируется приёмником. Пространственное разрешение метода ограничено дифракционным пределом.

Для его преодоления в STED-микроскопии используется второй лазер с бóльшей длиной волны для стимулирования излучательных переходов в веществе по краям фокусного пятна. При облучении кольцевым лазером происходит принудительное испускание перехода с возбуждённого уровня на некоторый вибрационный уровень. Таким образом, на краях пятна происходит обеднение населённости возбуждённого уровня, и люминесценция здесь подавляется, позволяя достичь лучшего разрешения в центральной области.

В MicroTime 200 STED кольцевое излучение создается с использованием так называемой фазовой пластины EASYDonut. Он меняет лазерный фокус STED на кольцевую форму, при этом никак не влияя на лазер возбуждения. Эта простая реализация делает ненужным пространственное выравнивание двух лазерных лучей, выходящих из одного и того же оптического волокна, и дает пространственное разрешение менее 50 нм.

MicroTime 200 STED дополнительно позволяет применять временные задержки для сбора данных, что приводит к увеличению разрешения изображений.

3. Спектрофлюориметр FluoroMax 4, HORIBA



Спектрометр Horiba FluoroMax® 4 является мощным инструментом для измерения флуоресценции твердых веществ, жидкостей, порошков и тонких пленок. Прибор контролируется программным обеспечением FluorEssence.

Образец освещается 150 W ксеноновой лампой. Монохроматор возбуждения имеет оптический диапазон 220 - 600 нм, эмиссионный монохроматор - 290 - 850 нм. Ширина оптической щели может регулироваться от 0 до 30 нм.

Прибору доступны несколько режимов измерения, такие как:

- флуоресценция, хеми-, био- и электролюминесценция
- возбуждение, эмиссия, синхронное сканирование
- 3D-сканирование возбуждения / эмиссии, сканирование кинетики процессов
- количественное определение и анализ с помощью программы Origin®

Комплектация прибора включает в себя:

- держатель для кювет с одной ячейкой, кювету с длиной оптического пути 1 см (объем 4 мл), а также микро-кюветы для измерения образцов малых объемов.
- держатель для твердых образцов, предназначенный для работы с тонкими пленками, порошками, гранулами, волокнами и предметными стеклами. Держатель состоит из основания с циферблатом, обозначающим угол поворота. Твердые вещества измеряются под углом 30° или 60°.

Оптическая схема состоит из: 1) Ксеноновая дуговая лампа и корпус лампы, 2) Источник питания ксеноновой лампы, 3) Монохроматор возбуждения, 4) Отсек для образцов, 5) Эмиссионный монохроматор, 6) Сигнальный детектор (фотоумножитель и корпус), 7) Контрольный детектор (фотодиод и модуль сбора тока), 8) Компьютер.

Свет от источника излучения фокусируется эллиптическим зеркалом на монохроматор возбуждения, который выбирает необходимую полосу длин волн возбуждения. Этот монохроматический свет возбуждения направляется на образец, который начинает флуоресцировать. Эмиссионное флуоресцентное излучение попадает на эмиссионный монохроматор, который выбирает необходимую полосу длин волн и последовательно подает (сканирует) их на детектор. Сигнал от датчика, через встроенный в прибор контроллер, попадает в компьютер, где происходит обработка данных с использованием специализированного программного обеспечения.

Программное обеспечение позволяет снимать как отдельные спектры возбуждения, спектры эмиссии, так и совместные спектры возбуждения/эмиссии. Различные дополнительные приспособления позволяют измерить поляризацию излучения, исследовать образец во времени, при различных температурах, концентрациях и т.д.

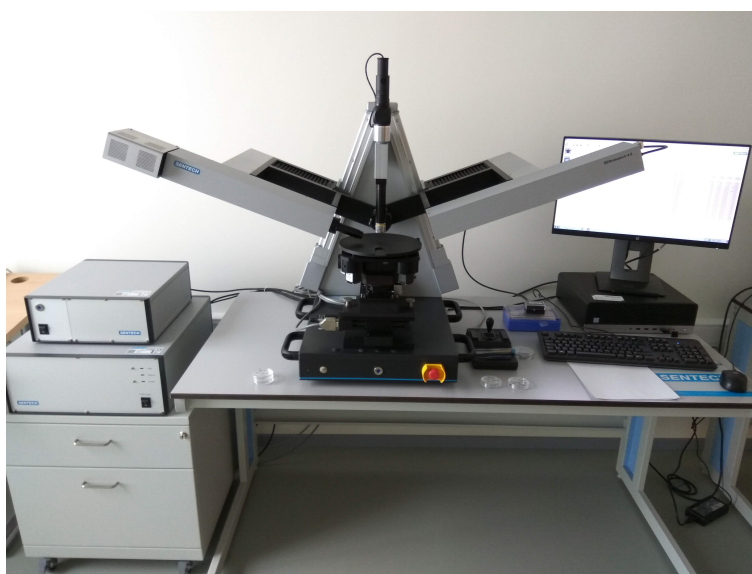
4. Спектрофотометр Agilent Carry 5000

Agilent Carry 5000 - высокопроизводительный спектрофотометр работающий в спектральном диапазоне 180 нм -3.3 мкм. Интегрирующая сфера обеспечивает разделить вклады поглощения и рассеяния в экстинкцию.



Принцип действия спектрофотометров основан на измерении отношения интенсивности излучения, прошедшего через исследуемый объект к интенсивности излучения, не прошедшего через исследуемый объект. Спектрофотометры представляют собой стационарные настольные лабораторные приборы, состоящие из оптико-механического и электронного узлов, установленных в общем корпусе. Оптическая схема приборов – двухлучевая с опорным лучом. Опорный луч, как и измерительный, проходит через кюветное отделение, но в отличие от измерительного, попадает на детектор не проходя через сам исследуемый образец. Разделение луча на опорный и измерительный осуществляется с помощью вращающегося механизма прерывания луча, который по необходимости может перевести прибор в однолучевой режим. Для разложения излучения в спектр используется монохроматор с дифракционной решеткой. В качестве источника видимого света применяется вольфрамовая галогенная лампа, в качестве источника УФ излучения применяется дейтериевая лампа. Спектрофотометры оснащаются детекторами на основе ФЭУ и/или фотодиодов: патентованного PbS и Si/InGaAs. Спектрофотометры управляются от внешнего управляющего компьютера, подключаемого через GPIB-USB разъем. Спектрофотометры имеют кюветное отделение, рассчитанное на установку кювет с длиной оптического пути до 100 мм, а также широкого ряда дополнительных приставок и приспособлений: устройств перемещения пробы, различных приспособлений для термостатирования проб, приставок для измерения отражения, волоконно-оптического зонда, держателей для различных кювет, приставок быстрого смешивания для изучения кинетики.

5. SENresearch 4.0. Sentech Instruments спектроскопический эллипсометр с высоким



спектральным разрешением позволяет анализировать подложки вплоть до 200 мкм.

В основу эллипсометрии положен поляризационный-оптический метод исследования поверхностей и границ раздела сред, использующий детектирование изменения состояния поляризации излучения после прохождения через границу раздела сред. Схема эллипсометра включает следующие элементы: Источник излучения различного диапазона, Поляризатор, Анализатор, Детектор излучения, Различные апертуры для фокусировки излучения, Оптическая и видео часть для фокусировки на образце.

Используемая установка эллипсометра SER 850 DUV с диапазоном измерения от 190 до 3500 нм позволяет получать оптические характеристики широкого спектра материалов и измерять толщины различных функциональных слоев, используемых в микро и нано электронике. Программная часть позволяет выбирать различные оптические модели для изучения, а также получать Psi, Delta, интенсивности и матрицы Мюллера. При этом низкий критический уровень ошибки эксперимента, до десятой доли процента, обеспечивается широким выбором моделей материалов предложенный в библиотеке данных, а также возможность редактирование оптической модели с указанием всех возможных ее параметров.

6. LUNA OBR 4600 – оптический рефлектометр использующий рассеяние назад для тестирования фотонных компонент обладающий высоким пространственным разрешением.



Технология рефлектометрии ультравысокого разрешения использует когерентную интерферометрию по длинам волн для измерения отражений в оптической системе в зависимости от длины. Этот метод измеряет полный скалярный отклик тестируемого устройства (DUT), в том числе фазовую и амплитудную информацию. Амплитуда

данных временной области эквивалентна измерению традиционной оптической рефлектометрии с временным разрешением (OTDR).

Оптическая система рефлектометра состоит из перестраиваемого лазерного источника (TLS), интерферометра (тестируемое устройство - DUT) и детектора. Основной принцип измерений состоит в характеристизации исследуемого устройства путем включения исследуемого устройства (DUT) в одно плечо интерферометра Маха-Цендера. Информация об устройстве извлекается из интерференционного члена, который осциллирует на частоте $\omega(t)$. Его расположение во временной области будет определяться разностью задержки τ между двумя плечами интерферометра. При условии, что τ достаточно велико, отклик устройства будет отделяться от низкочастотных членов и, таким образом, сможет быть измерен. Для устранения мертвых зон рефлектометр сконструирован таким образом, что внутренний путь задержки через тестируемое устройства достаточно большой, так что низкочастотные термины не будут влиять на измерения, даже для очень коротких устройств.

7. Анализатор оптического спектра высокого разрешения (Optical Spectrum Analyzer) Bosa 400 использующий спектроскопию вынужденного рассеяния Мандельштама-Бриллюэна для характеристики материалов и фотонных компонент.



Технология BOSA, использующая вынужденное рассеяние Бриллюэна (SBS), опирается на чисто оптический анализ сигнала для тестирования (SUT), передаваемого через нелинейную среду, которая возбуждается зондирующим лазером (TLS), распространяющимся в обратном направлении. Этот процесс создает эквивалент оптического фильтра с Гауссовым профилем который позволяет получать оптические

измерения высокого разрешения в любом диапазоне внутри полосы С. Этот оптический сигнал непосредственно детектируется в фотодетекторе, обрабатывается и отображается на экране под управлением внутреннего компьютера.

8. Аналитический сканирующий электронный микроскоп (СЭМ) JEOL JSM-7200F PRIME

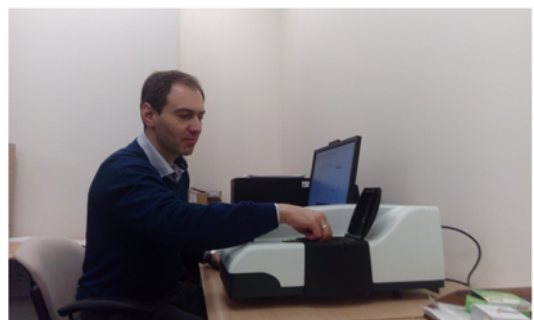
Предназначен для структурной характеристики образцов. Приставка Xenos XPG2 позволяет использовать СЭМ для электронной литографии.

9. Электронно –лучевая напылительная система Angstrom Nexdep.

Предназначена для напыления металлов и диэлектриков в вакуумной камере.



10. Измеритель размера и электрокинетического потенциала частиц Zetasizer Nano ZS (компания Malvern, UK).

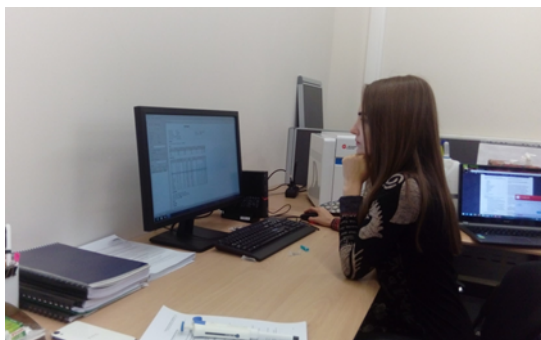


- измерение размера наночастиц методом динамического рассеяния: диапазон: 0,3нм – 10,0микрон (мин. объем: 12мкл; точность: лучше, чем +/-2% при использовании латексных образцов, соответствующих стандартам NIST; чувствительность: 0,1мг/мл (лизоцимы).
- измерение дзета-потенциал коллоидов и наночастиц методом электрофоретического рассеяния света: диапазон: 3,8нм – 100микрон (мин. объем: 150

мкл; точность: 0,12 мкм см/В-с для водных систем при использовании эталонного материала SRM1980 по стандартам NIST; чувствительность: 10 мг/мл (BCA).

- измерение абсолютной молекулярной массы макромолекул методом статического рассеяния света: диапазон: 980Да - 20МДа; мин. объем: 12мкл; точность: +/- 10%.

11. Проточный цитометр CYTOFLEX (Beckmann Coulter, USA).



Приложения: анализ наночастиц (до 200 нм); регистрация редких событий; многоцветное иммунофенотипирование; анализ ДНК (клеточный цикл, плоидность) жизнеспособность; пролиферация; апоптоз; детектирование флуоресцентных белков; FRET; бактерии, дрожжи, водоросли; фагоцитоз; изучение трансдукции сигнала; контроль качества в пищевой промышленности; стволовые клетки; подсчет абсолютного числа клеток.

Чувствительность и разрешение: FITC: <30 MESF (молекул эквивалентного растворимого флуорохрома); PE: < 10 MESF; Разрешение частиц: <300нм (488 нм, канал бокового рассеяния); <200нм (405нм, канала бокового светорассеяния); лавинные фотодиодные детекторы (ADT).

12. Система in vitro высококонтрастной визуализации совмещенная с конфокальным модулем на основе вращающегося диска (Operetta High Content Imaging System, PerkinElmer Inc., USA).



Позволяет получать 2D и 3D изображения с высоким контрастом с минимальным фотообесвечиванием и фототоксичностью.

Приложения: Апоптоз; Клеточный цикл; Клеточное деление; Клеточная миграция; Клеточная морфология; Изменение формы клеток; Реорганизация цитоскелета; Цитотоксичность; In situ флуоресцентная гибридизация (FISH); Анализ липидных частиц; Культивация нервных клеток; Экспрессия белков; Анализ сигнальных путей; Активация рецепторов; РНК тестирование; Факторы транскрипции.

13. Система микроскопии плоскостного освещения Lightsheet.Z1



14. Лазерный сканирующий микроскоп ZEISS LSM 800 с технологией Airyscan

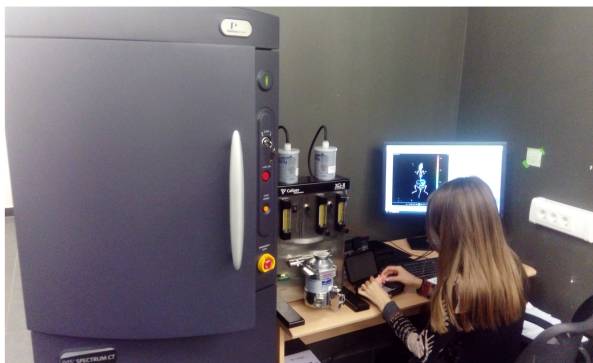


LSM 800 — это свободно настраиваемый компактный конфокальный лазерный сканирующий микроскоп, оснащенный высокочувствительной GaAsP детекцией и быстрым линейаризованным сканированием. В сочетании с Airyscan — принципиально новой концепцией детектирования от компании Zeiss — разрешение увеличивается в 1,7 раза во всех трех измерениях, снижая при этом в 5 раз конфокальный объем.

15. Инвертированный моторизованный микроскоп Axio Observer.Z1

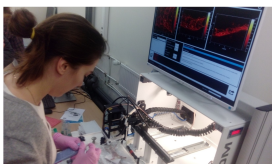
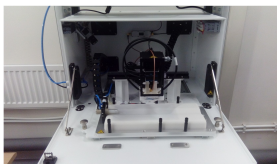
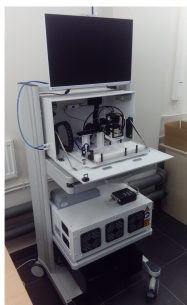


16. Система преclinical in vivo 2D и 3D визуализации с цифровой микроКТ (микроКТ) (IVIS SpectrumCT In Vivo Imaging System.)



Позволяет проводить in vivo молекулярные и анатомические продольные исследования. Основные характеристики: интегрированная оптическая и микроКТ технология; 3D оптическая томография для флуоресценции и биoluminesценции; биoluminesценция; многоспектральная флуоресценция и спектральное расщепление; визуализация Черенкова для оптической радиометочной визуализации; низкие дозы (13mGy) и высокоскоростная микроКТ; DyCE™ динамическое усиление визуализации для изучения распределения хромофоров и позитронно-эмиссионных меток.

17. Система оптоакустической преclinical in vivo визуализации гемоглобина, меланина и контрастных агентов (Raster scanning optoacoustic mesoscopy system (RSOM), iTheraMedical, Germany).



Характеристики:

- Осевое /латеральное разрешение: до 10 / 40 мкм;
- Глубина проникновения: до 3 мм;
- 80 секунд время накопления сигнала для 5 x 5 мм области сканирования;
- Импульсный лазер 532 нм;
- 50 МГц одноэлементный детектор с ультра широкой полосой (>90 %);
- Автоматическая визуализация;
- Программное обеспечение для построения, визуализации и анализа изображений.