

Nikon

Microscopio TIRF

Microscopio TIRF (Reflexión Interna Total Fluorescente)

Sistema de Imagen de Onda Evanescente

Permite la visualización de una molécula fluorescente en células vivas, abriendo nuevas vistas en la investigación de las ciencias de la



Los incansables esfuerzos de Nikon para desarrollar han dado como resultado un sistema de imagen listo para usarse con onda evanescente, que es tan amigable al usuario y tan sencillo de usar como un microscopio de fluorescencia. La onda evanescente resultante de la reflexión interna total (TIR) causa la excitación de moléculas fluorescentes en una sección óptica, típicamente menor a 100nm, sin moléculas excitando a través del espécimen. La iluminación de onda evanescente brinda una alto radio señal – a – ruido (S/R) que hace posible observar la actividad de una sola molécula en células vivas que se encuentran en contacto con el cubre objetos. La habilidad de investigar la dinámica de una sola molécula nos puede ayudar a entender los mecanismos de las células vivas a nivel molecular.

Adicionalmente, la “Estructura de Estratos” del microscopio invertido TE2000 de Nikon brinda una gran flexibilidad para montar varios aditamentos simultáneamente, tales como el sistema TIRF, un sistema de epí-fluorescencia, un sistema confocal, y pinzas láser.

La iluminación de onda evanescente facilita la observación de una sola molécula en células vivas.

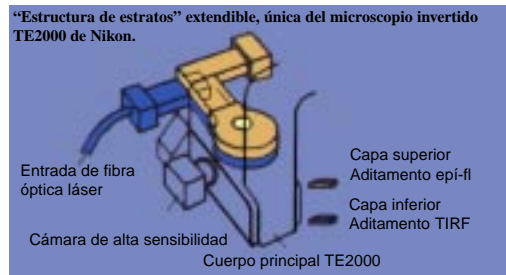
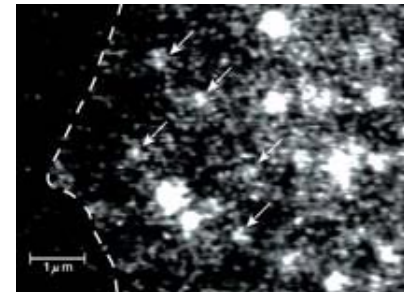
Los objetivos TIRF de alta A. N hace posible introducir la iluminación láser en ángulos incidentes que son mayores al ángulo crítico (α_c) resultante en TIR que crea una onda evanescente inmediatamente adyacente a la superficie de interfase del cubre objetos – espécimen. La onda evanescente alcanza como máximo unos cientos de nanómetros dentro del espécimen y su energía cae exponencialmente. El Sistema de Imagen de Onda Evanescente de Nikon, utiliza esta onda evanescente para excitar moléculas sencillas en una sección delgada en contacto con el cubre objetos. Ya que el espécimen no es excitado más allá de la onda evanescente, este sistema de imagen puede producir imágenes fluorescentes con un radio alto señal – a – ruido.



Configuración con sistema

“Estructura de estratos” extendible única de los microscopios Nikon, permite el montaje simultáneo de varios aditamentos.

La “estructura de estratos” extensible única del microscopio invertido TE2000 de Nikon, permite el montaje simultaneo del TIRF y el sistema de epí-fluorescencia, sin restricción de sus capacidades individuales. También permite usar filtros dedicados independientemente. Mas aún, el cambio entre los dos sistemas es muy sencillo.



Fibroblastos fijados 3T3

En las fotografías que siguen, los microtúbulos fijados en fibroblastos 3T3 fueron etiquetados con anticuerpos fluorescentes para tubulina, después se realizo la imagen con epí-fluorescencia e iluminación TIRF. La mayoría de los microtúbulos visibles con Epi no son visibles por TIRF. Sin embargo, el final de los microtúbulos cerca de la periferia de la célula bajo el núcleo en el centro de la célula es detectado por TIRF.

Imagen cortesía de: Dr. Gregg G Gundersen, Universidad de Columbia

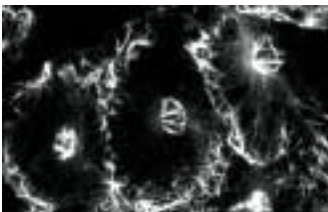
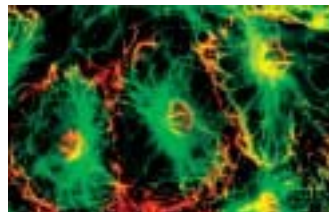


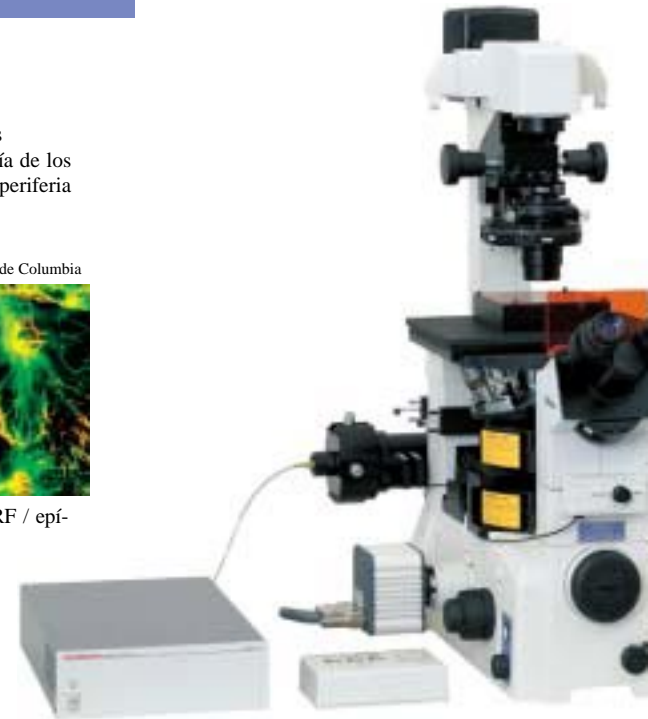
Imagen bajo observación TIRF.



Observación bajo observación fluorescente.



Sobre posicionamiento TIRF / epí-fluorescencia (pseudo color)



Un ejemplo de montaje simultaneo -

Células epiteliales de pulmón

Las fotografías que siguen, muestran la localización de moléculas intracelulares de actina grabadas con rodamina X cerca de la superficie del cubre objetos.



La imagen bajo la observación TIRF.



Imagen bajo observación epi-fluorescente.

Imágenes cortesía de:

Clare Waterman-Storer Ph. D. Instituto de Investigación Scripps

Observación de imagen Multi-modo

Realizando imagen TIRF y confocal láser, usted puede investigar los eventos dinámicos en células ya que este método produce imágenes de alta relación señal a ruido como imágenes 3D de toda la célula.

Célula ST2 (línea de hueso medular de ratón)

Las células ST2 fueron fijadas y teñidas con anticuerpos fluorescentes (Alexa 488, Molecular Probes) a paxillin y TRITCphalloidin. Esta célula se mueve hacia el lado derecho, y se muestra una parte del lado derecho de la célula.

de imagen confocal CI de Nikon.

Imágenes y explicaciones: Dr. Shuichi Obata, departamento de Anatomía, Escuela de Medicina Yokohama City University.

La imagen de la izquierda muestra el plano basal de las células ECV304 expresando la fusión de la proteína GFP-AP-2. AP-2 es un adaptador proteínico que se localiza con pozos recubiertos de clathrin. La emisión fluorescente (puntos brillantes en la imagen) se correlacionan con el número de pozos observados. Los bordes de la célula son indicados por la línea punteada y las flechas indican moléculas solitarias de GFP-AP-2 localizadas en la membrana celular.

La barra escala es 1mm.
Imagen cortesía del Dr. Takahiro Fujiwara, Kusumi Membrane Organizer Proyecto, ERATO, JST.

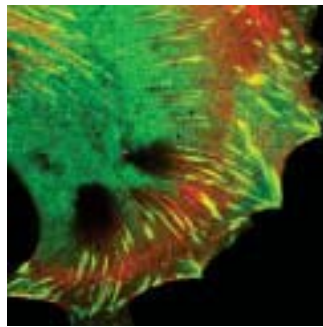


Imagen Confocal

Un cinturón claro de F-actina (rojo) existe en el borde de la célula, el cual esta migrando hacia el lado derecho. Las moléculas Paxillin (verde) están localizadas en la periferia de la región. La localización de paxillin muestra adhesiones focales. Las fibras estresadas ligan la adhesión focal a un extremo y al centro de la célula al otro extremo.

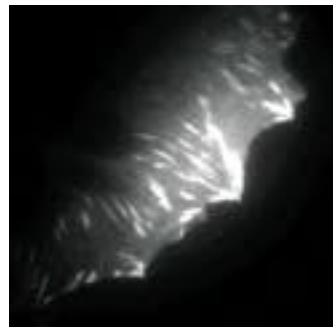


Imagen de Reflexión Total Interna Fluorescente (TIRF)

La Fluorescencia fuerte y clara derivada de paxillin es observada en el campo evanescente. La adhesión focal existente en la superficie basal de la célula fue confirmada claramente.

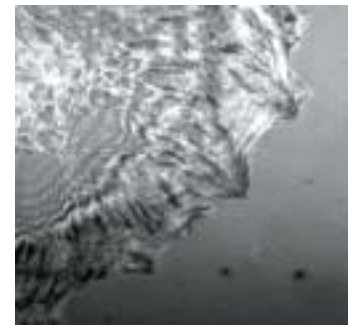


Imagen de Interferencia de Reflexión Contrastada en Superficie (SRIC)

Esta imagen SRIC fue observada usando un microscopio con epi-fluorescencia convencional con una modificación simple. El área negra en la imagen SRIC coincide con la posición de las adhesiones focales. Este método esta disponible para identificar la superficie basal de la célula antes de observar la imagen TIRF.

El objetivo TIRF es ajustable para corregir los cambios de temperatura.

Nikon ha desarrollado un objetivo dedicado 60x TIRF, el primer lente en el mundo que corrige los cambios de temperatura. Usando un anillo de corrección de espesor de cubre objetos, usted puede corregir fácilmente los cambios inducidos por la temperatura – de 23° C (temperatura ambiente) a 37° C (temperatura fisiológica) – en el índice de refracción del aceite de inmersión que puede causar aberración esférica.

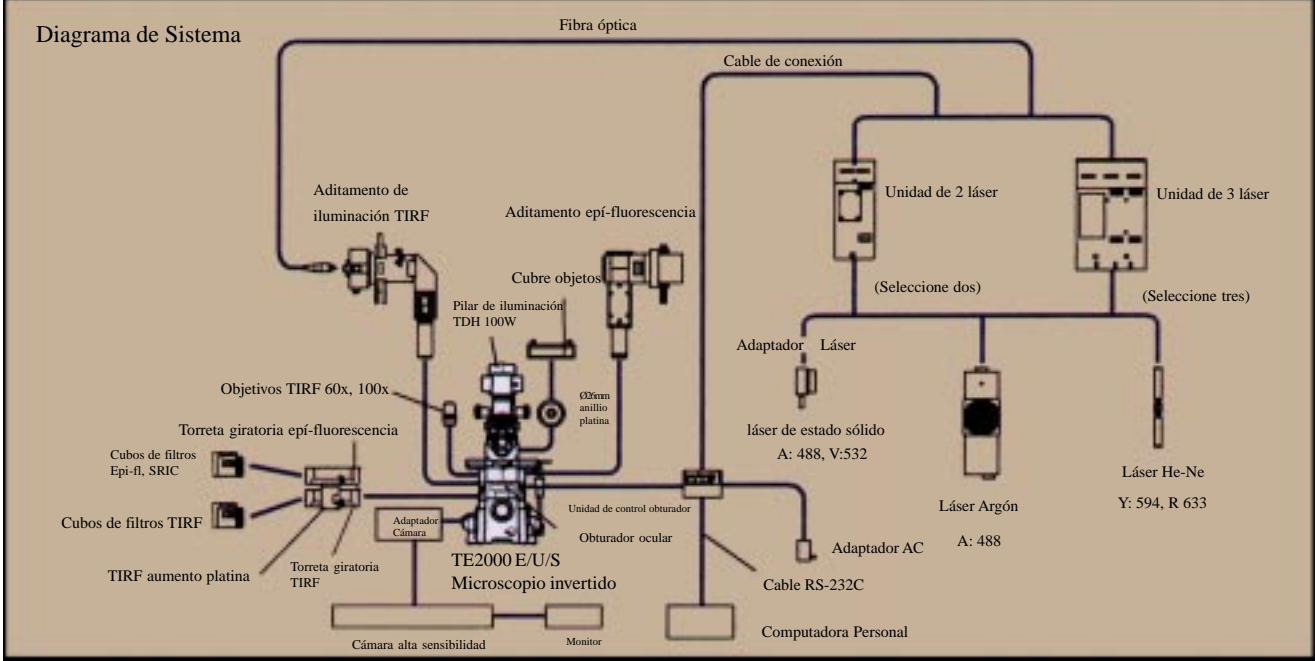


CFI Plan Apo TIRF 60x/1.45 (izquierda)
CFI Plan Apo TIRF 100x/1.45 (derecha)

Método SRIC (Contraste Interferencial Reflexivo de Superficie) puede revelar los contactos focales previos al cambio a TIRF

Bajo el método SRIC, solamente las áreas en contacto con el cubre objetos se muestran en negro dentro del espécimen. Con el sistema TIRF de Nikon, el método SRIC se puede usar fácilmente cambiando la combinación de los filtros de epi-fluorescencia. Esto hace posible verificar si el espécimen debe ser visible bajo TIRF antes de la excitación fluorescente. Esto elimina el riesgo de desvanecimiento por luz durante el enfoque. Entonces, usted puede cambiar fácilmente a observación TIRF ya que ambos métodos son montados simultáneamente. (Patente Pendiente)

- configuración con aditamento epi-fluorescencia.



El láser es seguro, fácil de usar

Para cumplir con los estándares de seguridad láser, el obturador láser tiene un sistema de seguro. El obturador del láser no operará cuando el camino óptico al binocular se encuentre abierto, previniendo que la iluminación láser entre a los ojos de los usuarios a través de los oculares



Láser Argón



Láser de estado sólido

Referencias:

- Tokunaga, M. et al.: Single Molecule Imaging of Fluorophores and Enzymatic Reactions Achieved by Objective type Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy, Biochem. Biophys. Res. Commun., 235, 47-53(1997)
- Kusumi, A. et al.: Single Molecule Cell Biology, Cell Engineering, 20, 657-703 (2001)

Las Especificaciones y equipo están sujetas a cambio sin previo aviso u obligación por parte del fabricante. Enero 2003. ©2003 NIKON CORPORATION

Especificaciones principales

• Microscopio

Microscopio invertido Nikon TE2000 (con aditamento epí-fluorescencia)
Objetivos dedicados: CFI Plan Apo TIRF 60x/1.45 aceite, CFI Plan Apo TIRF 100x/1.45 aceite

Montura C directa, adaptador TV

• Unidad de iluminación de onda evanescente

Láser: azul (488), verde (532), rojo (633), hasta 3 tipos se pueden usar
Provisto con filtro casetera (filtro barrera/ espejo Dicroico)

Diafragma de apertura con mecanismo de ajuste

Filtros ND (ND2, ND8, ND32)



NIKON CORPORATION
Instruments Company



NIKON CORPORATION
Yokohama Plant

	Precaución Para asegurar el uso correcto, lea los manuales correspondientes con cuidado antes de usar su equipo.
--	--

NIKON INSTECH CO., LTD.

Parale Mitsui Bldg., 8, Higashida-cho, Kawasaki-ku, Kawasaki, Kanagawa 210-0005, Japón
Tel: +81-44-223-2169 fax: +81-44-223-2181
<http://www.ave.nikon.co.jp/inst/>

NIKON SINGAPORE PTE LTD

SINGAPORE Tel.: +65-5593618 fax: +65-5593668

NIKON MALAYSIA SDN. BHD.

MALAYSIA Tel.: +60-3-78763887 fax: +60-3-78763387

NIKON INSTRUMENTS EUROPE B.V.

P.O. Box 222, 1170 AE Badhoevedorp, The Netherlands
Tel.: +31-20-44-96-222 fax: +31-20-44-96-298
<http://www.nikon-instruments.com/>
NIKON FRANCE S.A.

FRANCE Tel.: +33-1-45-16-45-16 fax: +33-1-45-16-00-33

NIKON GMBH

GERMANY Tel.: +49-211-9414-0 fax: +49-211-9414-322

NIKON INSTRUMENTS S.p.A.

ITALY Tel.: +39-55-3009601 fax: +39-55-300993

NIKON AG

SWITZERLAND Tel.: +41-1-913-62 00 fax: +41-1-910-37 44

NIKON UK LTD.

UNITED KINGDOM Tel: +44-20-8541-4440 fax: +44-20-8541-4584

NIKON INSTRUMENTS INC.

1300 Walt Whitman Road, Melville, N.Y. 11747-3064, U.S.A.
Tel: +1-631-547-8500; +1-800-52-NIKON (within the U.S.A. only) fax: +1-631-547-0306
<http://www.nikonusa.com/>

NIKON CANADA INC.

CANADA Tel.: +1-905-625-9910 fax: +1-905-625-0103



NIKON CORPORATION

<http://www.nikon.com/>



TÉCNICA EN LABORATORIOS, S. A.

México
Tapachula # 10 Col. Roma
México D. F. C. P. 06700
Tels (01-55) 55-74-58-83 y 55-74-11-38
Fax: (01-55) 55-64-16-63
<http://www.tecnicaenlaboratorios.com/>
E-mail info@tecnicaenlaboratorios.com