
Konfokalni mikroskop LEICA TCS SP5 X

Ohišje mikroskopa predstavlja invertni raziskovalni mikroskop Leica DMI6000 B, ki je namenjen za (1) opazovanje (zračni, vodni in oljni objektiv, max. 63x) in snemanje (detekcija s fotopomnoževalko, PMT) v presewni svetlobi (svetlo polje, fazni kontrast, diferencialni interferenčni kontrast - DIC), za (2) opazovanje v odbiti svetlobi (epifluorescenca z različnimi filterskimi seti) ter za (3) konfokalno lasersko mikroskopijo. Izvajanje različnih funkcij je motorizirano in kontrolirano preko modulov programske opreme LEICA LAS AF (Leica Application Suite – Advanced Fluorescence). Vir svetlobe za opazovanje v presewni svetlobi je 100 halogenska žarnica, za opazovanje v odbiti svetlobi (epifluorescenca) pa 100 W metal halidna žarnica.

Za konfokalno mikroskopijo sta kot vir svetlobe za vzbujanje v konfiguracijo nameščena dva laserja: (1) t. i. beli laser (0.5 do 1.5 mW/linijo odv. od valovne dolžine, pulzni) z akustooptičnim nastavljamim filtrom (AOTF, acousto-optical tunable filter), s katerem lahko izbiramo hkrati do 8 arbitrarnih laserskih linij v območju med 470 nm in 670 nm s pomočjo fotonskega kristalnega vlakna nastalega superkontinuuuma ter (2) diodni UV laser (50 mW) za vzbujanje pri 405 nm. Optična pot in objektivni so ustrezno optično korigirani za opazovanje pri 405 nm. Motorizirana mizica omogoča omogoča premik v vseh treh smereh (X, Y, Z), v Z smeri s korakom 3 nm (SuperZ galvo).

Akustooptični delilec žarka (AOBS, acousto-optical beam splitter) omogoča v primerjavi z dikroičnimi zrcali boljšo in bolj natančno transmisijo fluorescenčnega signala. AOBS je hiter, nastavljam (do 8 linij hkrati) in v povezavi z delovanjem AOTF omogoča veliko fleksibilnost pri izbiri različnih valovnih dolžin za ekscitacijo/emisijo oz. njihovih kombinacij.

Kot točkovni skener za hitro skeniranje in občutljivo detekcijo (v povezavi s hibridnimi detektorji) je vključen tandemski skener, ki ga sestavljata (1) konvencionalni skener (max. resolucija 8192 x 8192 pikslov) in (2) resonančni skener (max. 29 fps z 512x512 piksli).

Na spektralni skenirni glavi so v opisani konfiguraciji trije spektralni detektorji: fotopomnoževalka (PMT, photomultiplier tube) in dva hibridna detektorja (HyD, hybrid detectors), na voljo pa sta še dve mesti za morebitno nadgradnjo. Hibridna detektorja z GaAsP fotokatodo uporabljata funkcionalne elemente tako PMT, kot plazovne fotodiode (APD, avalanche photodiode). Prednost HyD je njihova visoka občutljivost, izboljšano razmerje signal/šum in dovolj veliko dinamično območje delovanja, kar je pomembno za delo z – sicer lahko zelo različno označenimi – biološkimi vzorci.