

## **UNIDAD de MICROSCOPIA CONFOCAL**

### **MISIÓN**

Dar soporte a aquellos estudios de investigación que requieran microscopía de fluorescencia confocal o video-microscopía.

### **DESCRIPCIÓN**

Es un Servicio de Apoyo a la Investigación (SAI) dotado de dos microscopios confocales que permiten la adquisición de imágenes de fluorescencia de muestras fijadas o vivas. El microscopio confocal obtiene secciones ópticas del volumen de una muestra marcada con fluorescencia sin necesidad de invadirla, ofreciendo información sobre la expresión y la localización de moléculas en 3D ( $xyz$ ) ó 4D (3D+tiempo). Las aplicaciones más frecuentes son la reconstrucción tridimensional de estructuras subcelulares, células o tejidos; los estudios de colocalización de marcadores y la cuantificación de parámetros de interés (intensidad de fluorescencia, área, morfología, densidad celular, etc).

La Unidad de Microscopia Confocal tiene líneas de investigación propias centradas en el diseño y puesta a punto de aproximaciones experimentales, el procesamiento de imágenes y el análisis de datos, habiéndose especializado en los últimos años en el fenotipado de células *in vivo* a partir de cortes de tejidos. Este servicio está dirigido a los grupos de investigación del Instituto y de otras instituciones que así lo soliciten.

### **SERVICIOS OFERTADOS**

- Microscopía confocal espectral de muestras fijadas (ej. células, tejidos, órganos clareados).
  - Videomicroscopía (*time-lapse*) de muestras vivas en ambiente controlado para temperatura y CO<sub>2</sub>, mediante cámara digital o en modo confocal (incluyendo FRAP).
- Tarifas disponibles en [www.iisgm.com](http://www.iisgm.com) (Servicios de Apoyo a la Investigación).

### **TECNOLOGÍA**

1. MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA **CONFOCAL** modelo **LEICA-SP2** (instalado en 2004)

#### MODULO CONFOCAL:

- Multibanda de alta sensibilidad con AOBS.
- Tres detectores internos de fluorescencia (PMT) independientes y ajustables y un detector interno para contraste de fase interferencial (DIC).
- Digitalización de imágenes: 4096 x 4096 pixeles, 8 y 12 bits por canal.
- Sistema de barrido de láser con AOTF: velocidad máxima 2000 líneas/segundo.
- *ROI-scan* en condiciones variables para cada región.

#### MÓDULO DE LÁSER

Configuración multi-láser con 7 líneas de excitación:

- Láser 405 nm.
- Láser de Ar/ArKr: 458, 476, 488, 496, 514 nm.
- Láser 561 nm.

#### MICROSCOPIO INVERTIDO MOTORIZADO DM IRE2 Fluo TCS

Objetivos:

- HC PL-APO 10x/apertura numérica de 0,4.
- HC PL-APO 20x/0,70 multi-inmersión Lambda Blue.
- HCX PL-APO 40x/1,25-0,75 de inmersión en aceite.
- HCX PL-APO 63x/1,4-0,6 de inmersión en aceite.
- PL-APO 63x/1,3 de inmersión en glicerol.

Iluminación con lámpara de fluorescencia (EL6000, lámpara de haluro) y LED blanco para luz transmitida.

Tres bloques de fluorescencia (tipo): "Dapi", "Fitc" y "Rhodamina".

#### EQUIPO INFORMÁTICO

Dos ordenadores HP basados en Windows XP (adquisición y procesamiento).  
Software: LCS versión 15.37 y licencia del software "Microlab" para FRAP.

## 2. MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA **CONFOCAL** modelo **LEICA-SPE** (instalado en 2015)

#### MODULO CONFOCAL ESPECTRAL:

- AOTF.
- Un detector interno de fluorescencia (PMT) y un detector para campo claro.
- Digitalización de imágenes: 2048 x 2048 pixeles, 8 y 12 bits por canal.
- Velocidad de barrido 400, 600 y 800 Hz (bidireccional optativo); *K-scanner*.

#### MÓDULO DE LÁSER

Cuatro láseres de estado sólido: 405, 488, 561 y 635 nm.

#### MICROSCOPIO INVERTIDO MOTORIZADO DMi8

Objetivos APO cromáticos:

- o ACS APO 10x/apertura numérica 0.30 (seco).
- o ACS APO 20x/0.60 inmersión en agua, glicerol y aceite; corregido para 405nm.
- o ACS APO 40x/1.30 inmersión en aceite.
- o ACS APO 63x/1.30 inmersión en aceite.

Iluminación con lámpara de fluorescencia (EL6000, lámpara de haluro) y LED blanco para luz transmitida.

Platina galvanométrica.

Cuatro bloques de fluorescencia (tipo): "Dapi", "Fitc", "Rhodamina" y "Cy5".

Control ambiental (temperatura y CO<sub>2</sub>) para experimentos con células o tejidos vivos.

#### EQUIPO INFORMÁTICO

Ordenador basado en Windows 7.

Software: LAS-X con herramientas de cuantificación y un módulo adicional LAS-AF 3D (reconstrucciones, proyecciones y *rendering* 3D).

## 3. CÁMARA DIGITAL

Cámara sCMOS Orca Flash 4.0 LT acoplada al microscopio DMi8.

### **INSTALACIÓN**

El SAI Microscopía Confocal está ubicado en el Pabellón de Medicina y Cirugía Experimental del IISGM. Dispone de 19,2 m<sup>2</sup> acondicionados con especificaciones propias de red eléctrica y climatización para cumplir con los requisitos de calidad propios de los servicios ofertados.

### **CONTACTO**

Responsable de la Unidad: Dr. RAFAEL SAMANIEGO

Tfno. 91 586 8739 (confocal), 91 426 9256 (despacho); e-mail: confocal@hggm.es

Pabellón de Medicina y Cirugía Experimental (planta 1ª)

Hospital General Universitario Gregorio Marañón

c/ Doctor Esquerdo, 46; Madrid 28007

Corresponsable científico: Dra. Paloma Sánchez Mateos

Tfno: 91 586 8624, e-mail: paloma.sanchezmateos@salud.madrid.org