

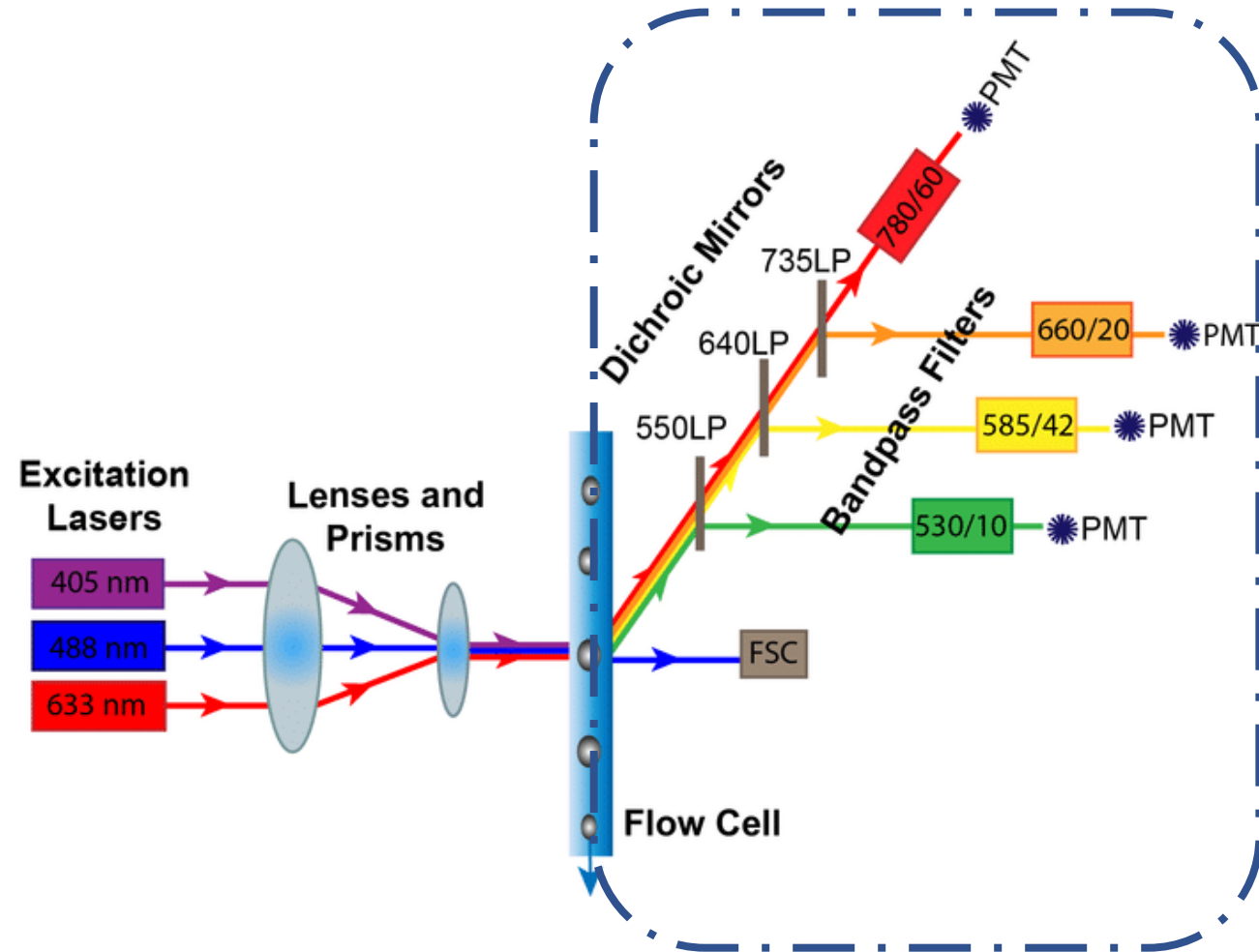
...Μετά την κυψελίδα ροής

1. Οπτικά Συστήματα Διέγερσης (excitation optics)

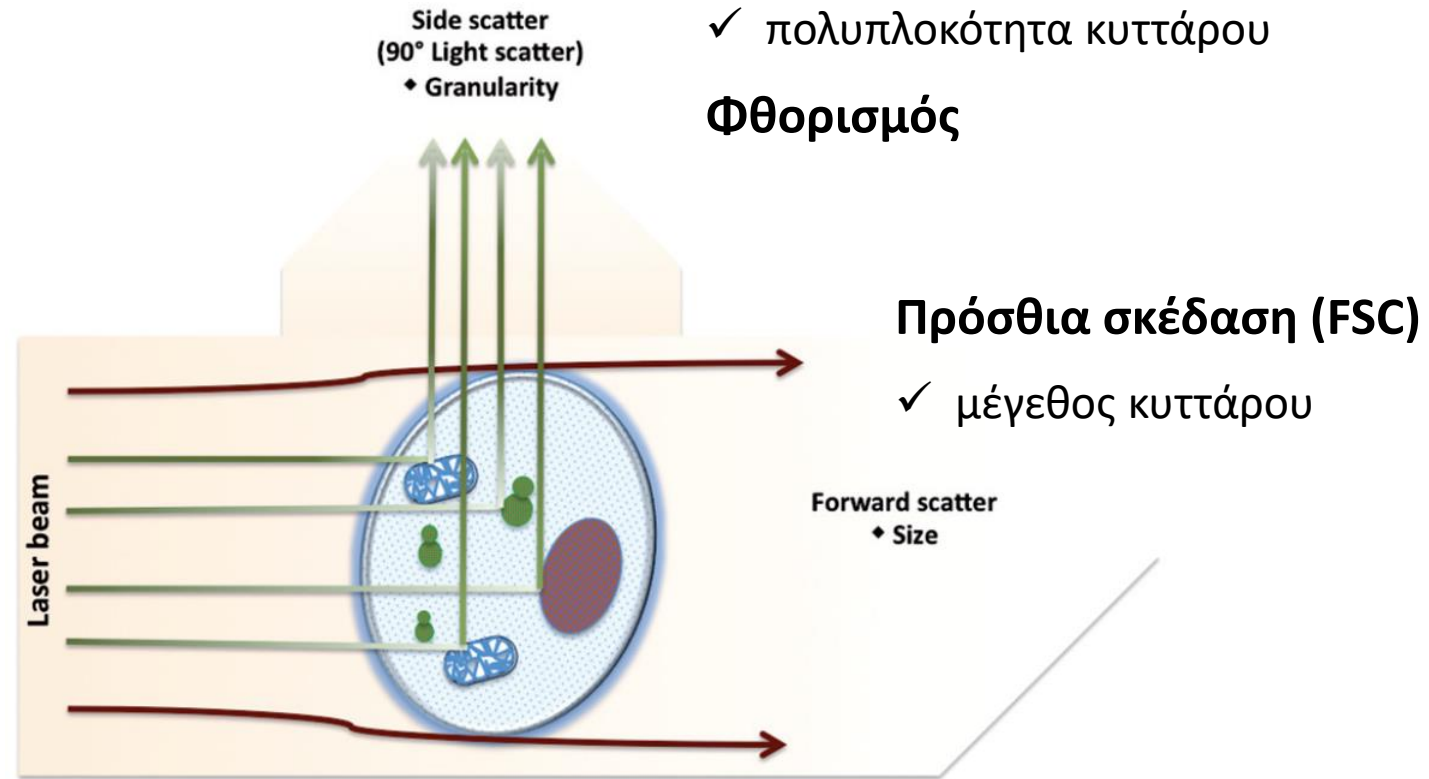
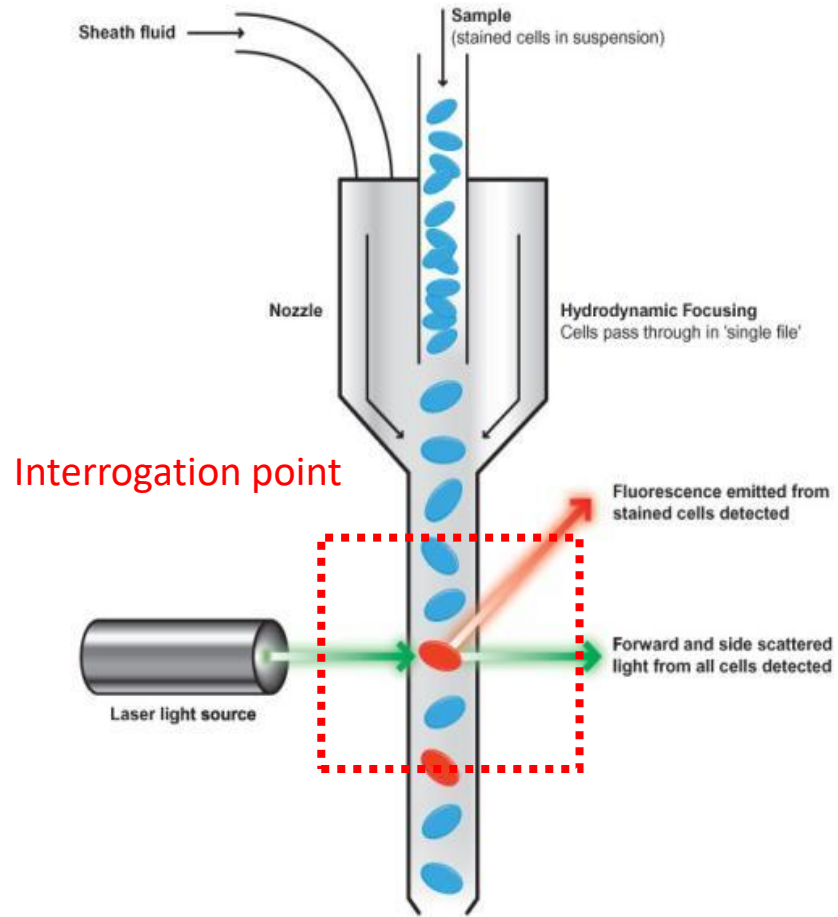
- laser
- φακοί (shaping lenses)

2. Οπτικά Συστήματα Συλλογής (collection optics)

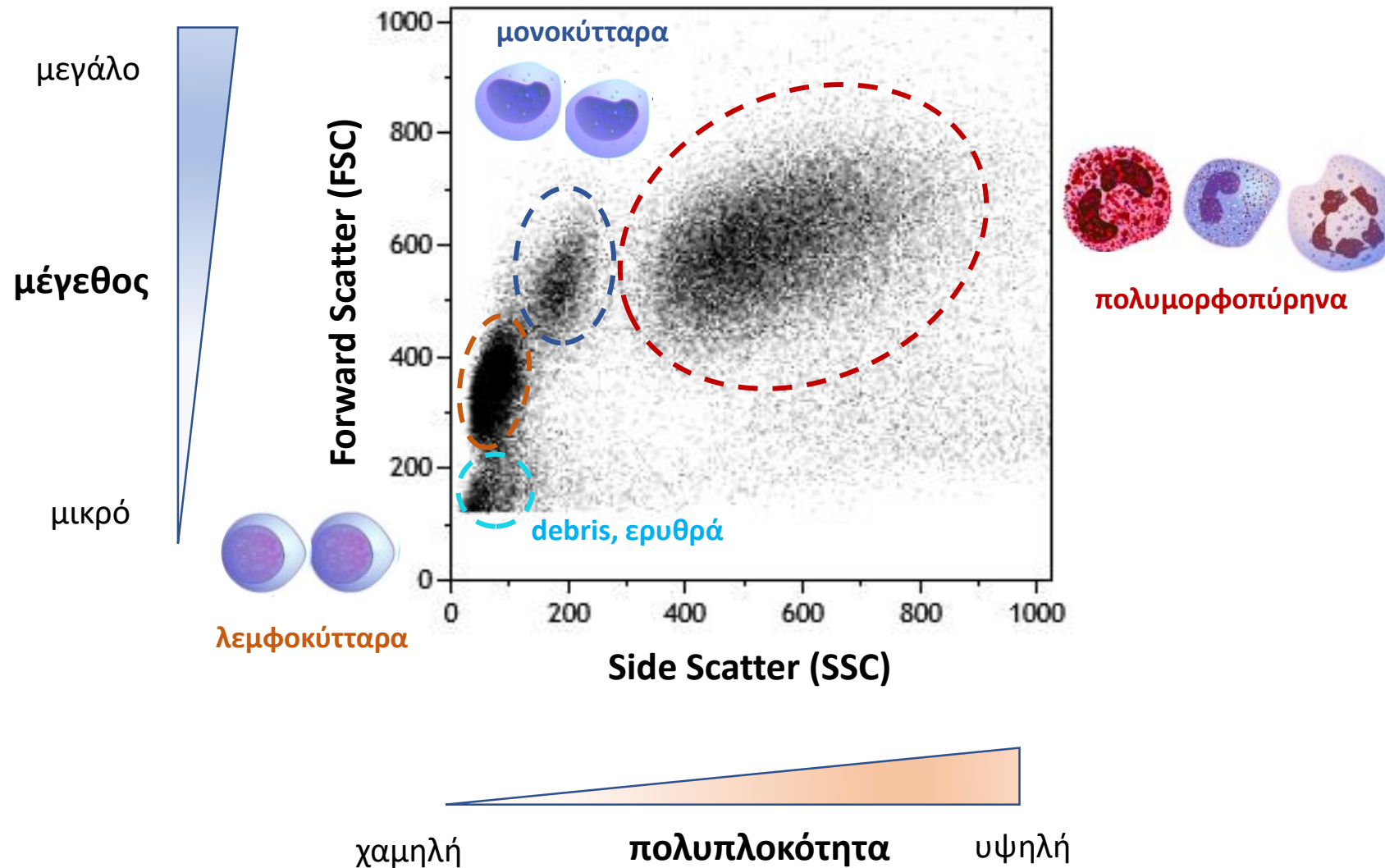
- φακοί συλλογής
- κάτοπτρα (dichroic mirrors)
- φίλτρα (bandpass, shortpass, longpass)
- ανιχνευτές (photodiodes, PMTs)



Σημείο 'ανάκρισης' & Σκέδαση

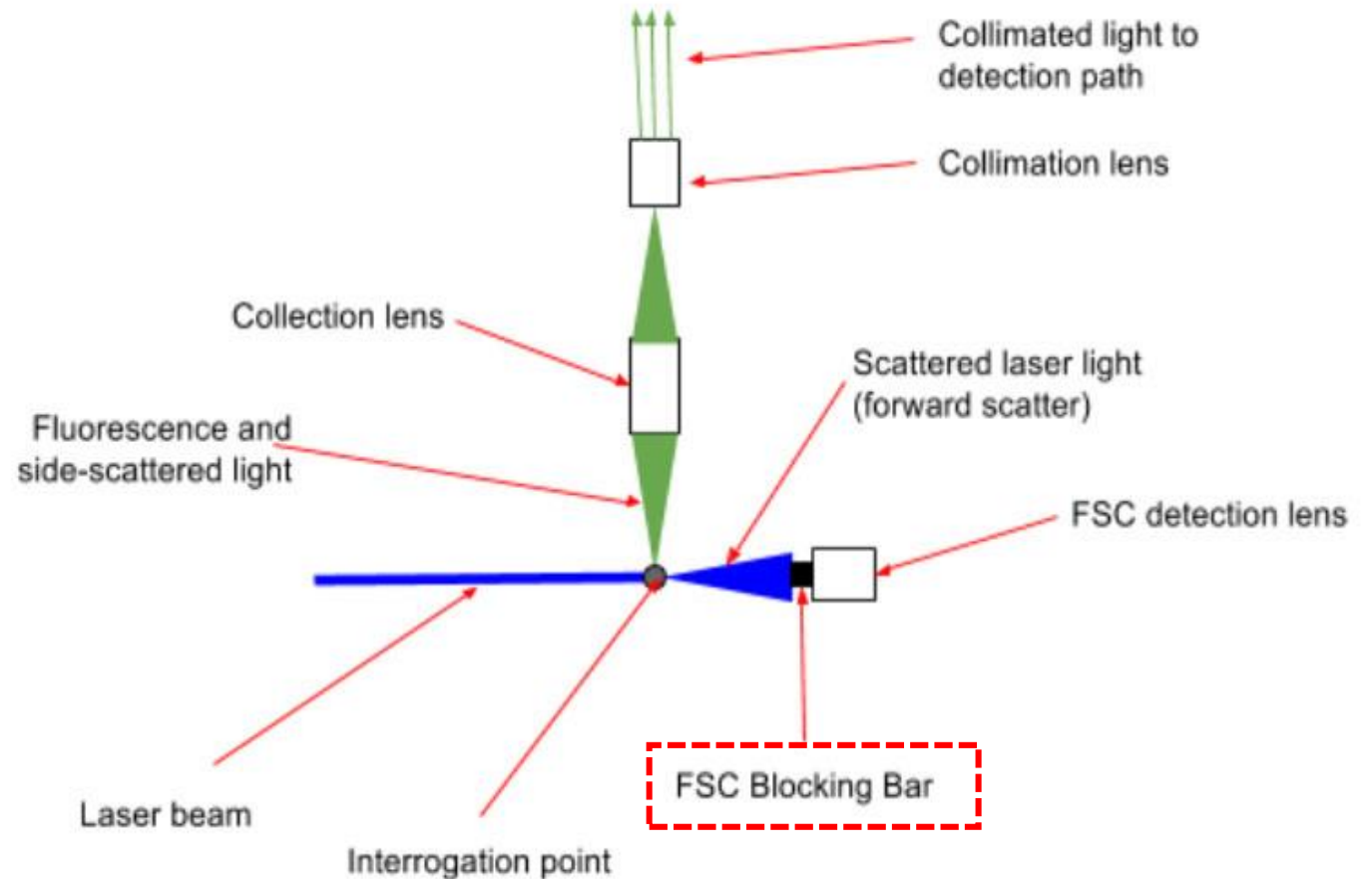
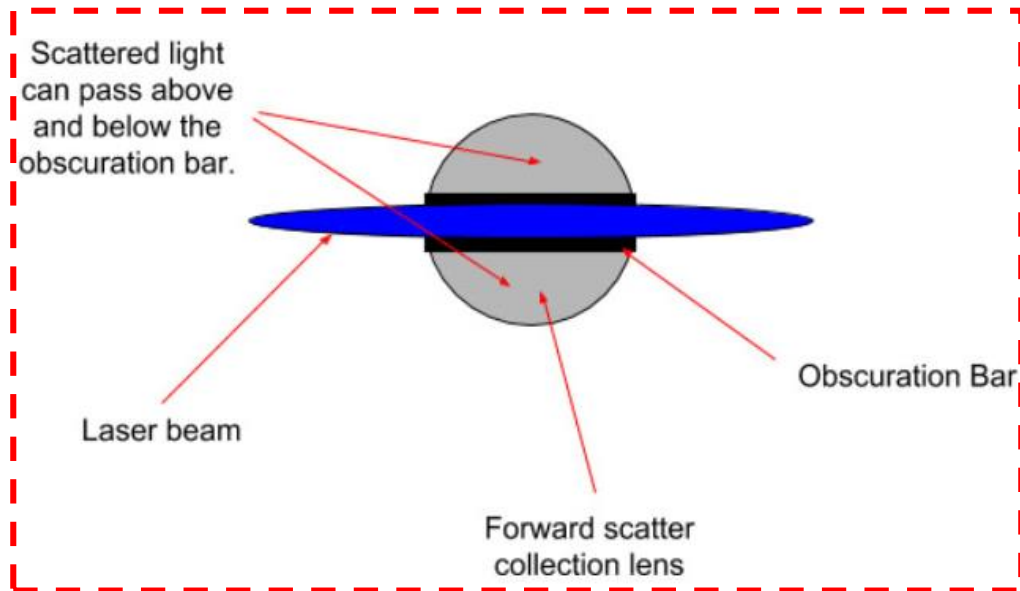


Ανάλυση σκεδασμού περιφερικού αίματος



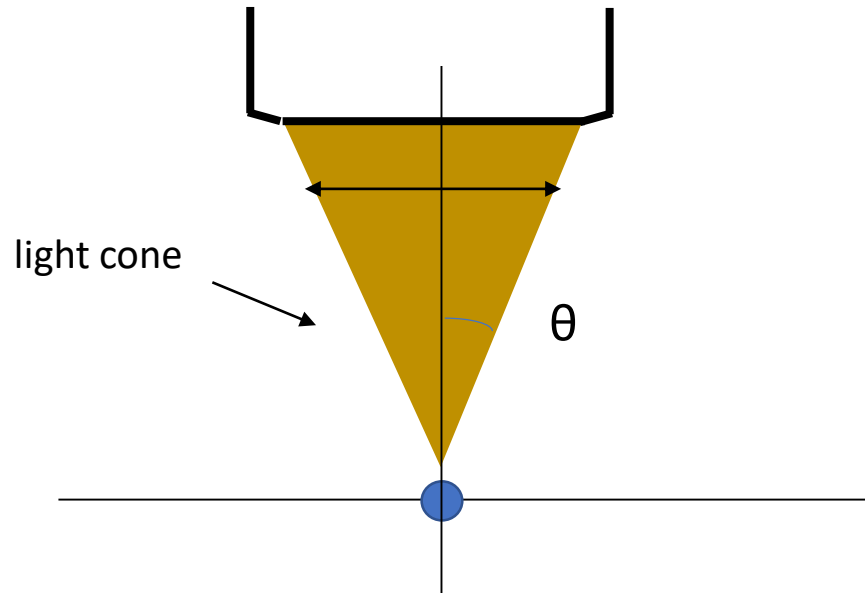
Φακοί Συλλογής Φωτός

- **Συλλέγουν** το φως μετά το σημείο 'ανάκρισης' (interrogation point)
- **Ευθυγραμμίζουν** το φως ➔ ακτίνες διανύουν την οπτική διαδρομή χωρίς αποκλίσεις



Αριθμητικό άνοιγμα φακού (Numerical Aperture, NA)

- χαρακτηρίζει τη μέγιστη γωνία με την οποία ο φακός μπορεί να δεχτεί φως
- η διακριτική ικανότητα του φακού συνδέεται άμεσα με το αριθμητικό άνοιγμα του φακού



$$NA = n \sin \theta$$

n : ο δείκτης διάθλασης του μέσου μέσα στο οποίο ευρίσκεται ο φακός

θ : η γωνία που σχηματίζει η οριακή ακτίνα με τον οπτικό άξονα

Οπτικά Φίλτρα

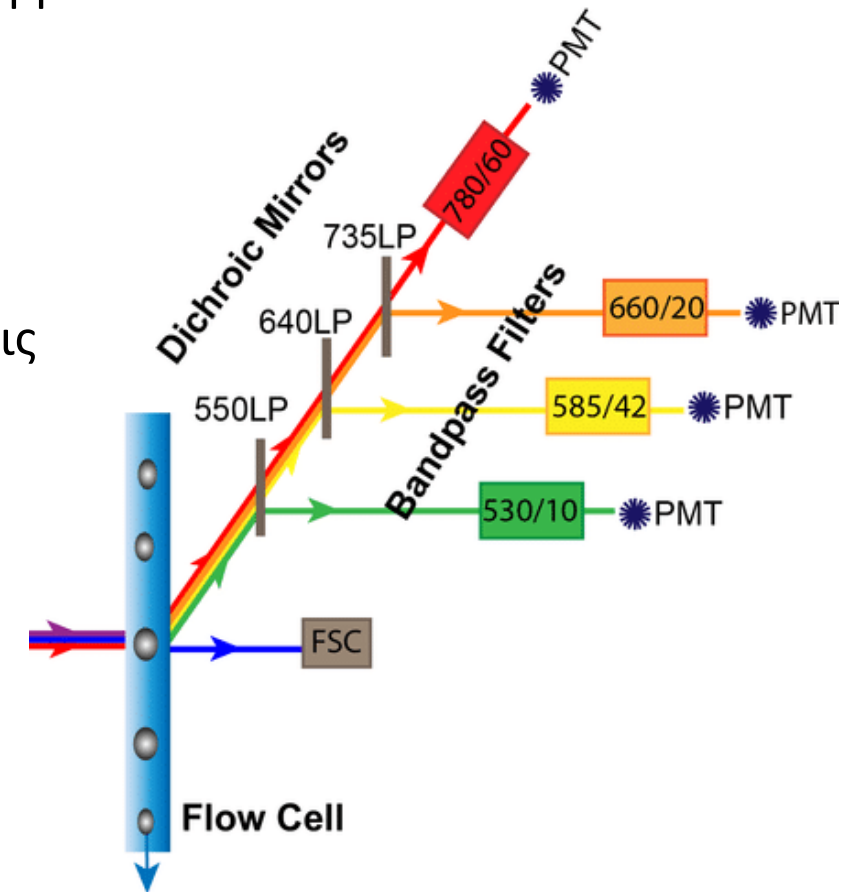
➤ επιτρέπουν τη διέλευση φωτός με συγκεκριμένο μήκος κύματος & 'απορρίπτουν' το υπόλοιπο

- απορρόφηση (φίλτρα απορρόφησης)
- αντανάκλαση (φίλτρα παρεμβολής)

➤ γυαλί, χαλαζία (quartz) ή πυρίτιο (silica) & επικαλύπτονται από στρώσεις μονωτικού υλικού (φίλτρα απορρόφησης)

➤ τύποι φίλτρων που χρησιμοποιούνται στην Κυτταρομετρία Ροής:

- Φίλτρα ουδέτερης πυκνότητας (ND)
- Διχροϊκά κάτοπτρα - Dichroic mirror (DM)
- Φίλτρα ορισμένης διόδου - Bandpass filter (BP)
- Φίλτρα μακράς διόδου - Longpass filter (LP)
- Φίλτρα βραχείας διόδου - Shortpass filter (SP)



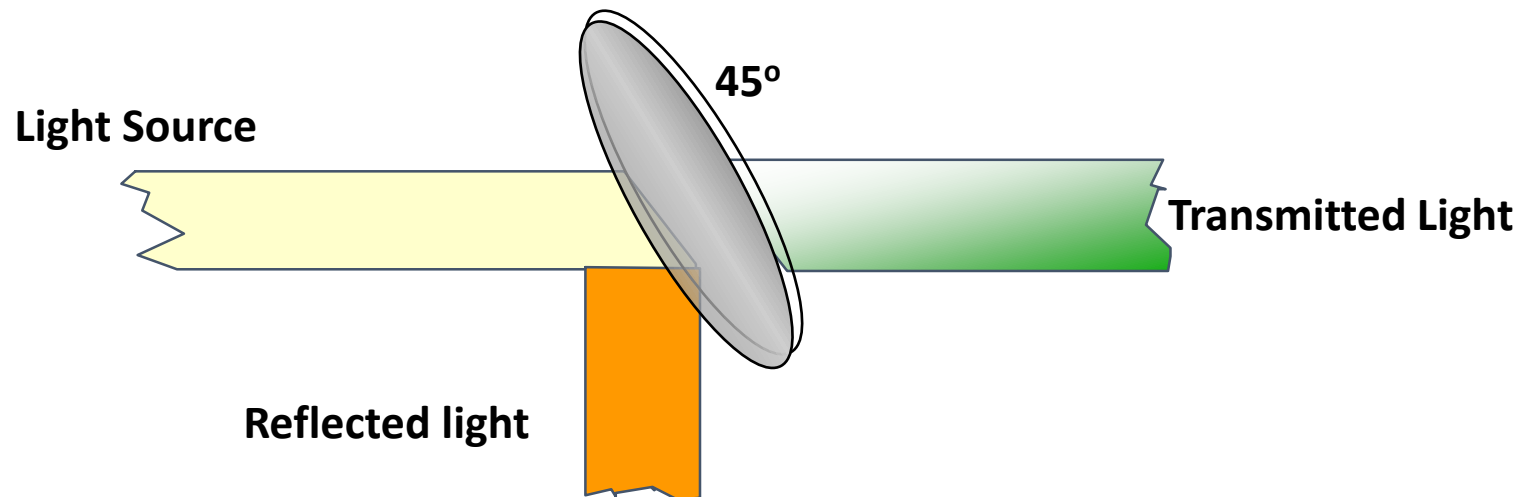
Οπτικά Φίλτρα

Φίλτρα ND

- μείωση της έντασης της ακτινοβολίας μέσω απορρόφησης ή παρεμβολής
- τοποθετημένα μπροστά από τον ανιχνευτή της πλάγιας σκέδασης

Διχροϊκά κάτοπτρα

- κατευθύνουν την ακτινοβολία στο οπτικό μονοπάτι
- τμήμα της ακτινοβολίας αντανακλάται και το υπόλοιπο μεταδίδεται
- βραχείας (short pass, SP) ή μακράς διόδου (long pass, LP)

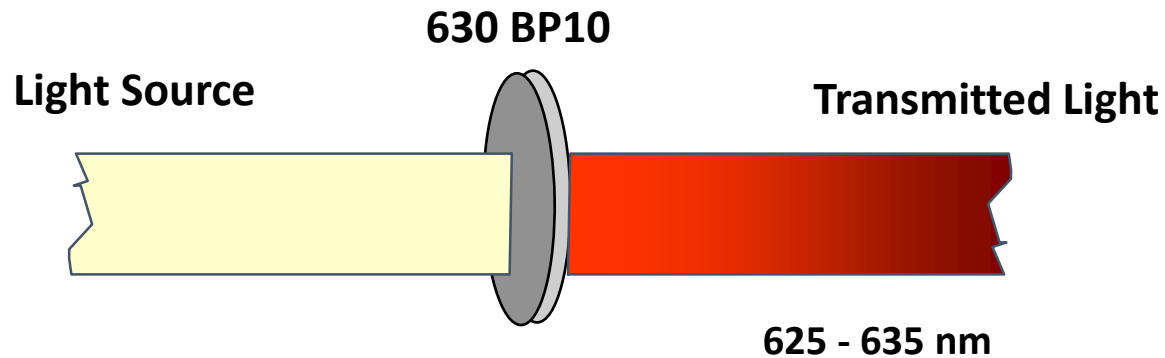


Οπτικά Φίλτρα

Φίλτρα

- τοποθετημένα κάθετα ως προς τον άξονα της φωτεινής πηγής
- ορισμένης (Bandpass, BP), βραχείας (short pass, SP) ή μακράς (long pass, LP) διόδου

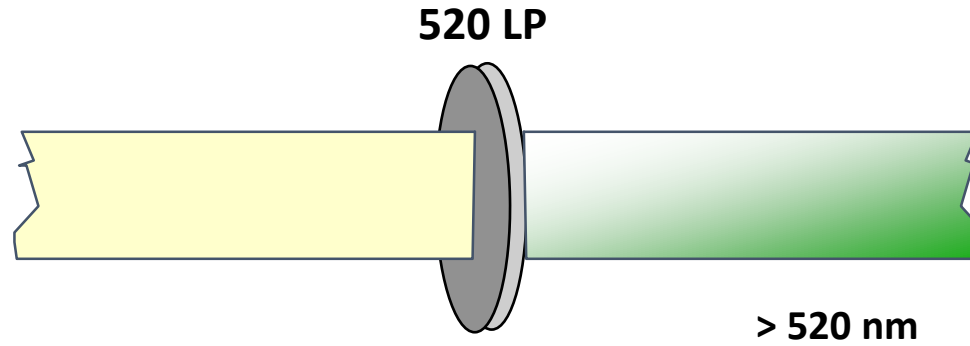
Φίλτρα ορισμένης διόδου -
Bandpass Filter



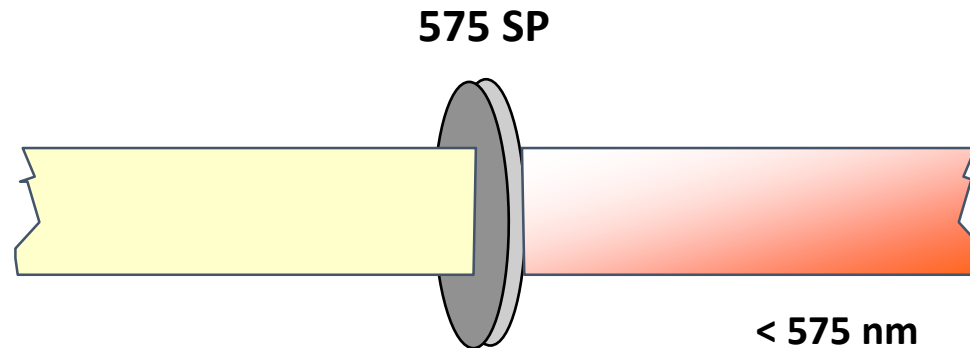
- τοποθετημένα μπροστά από τους ανιχνευτές
- καθορίζουν το μήκος ακτινοβολίας → φθοριόχρωμα που θα μετρηθεί από τον κάθε ανιχνευτή

Οπτικά Φίλτρα

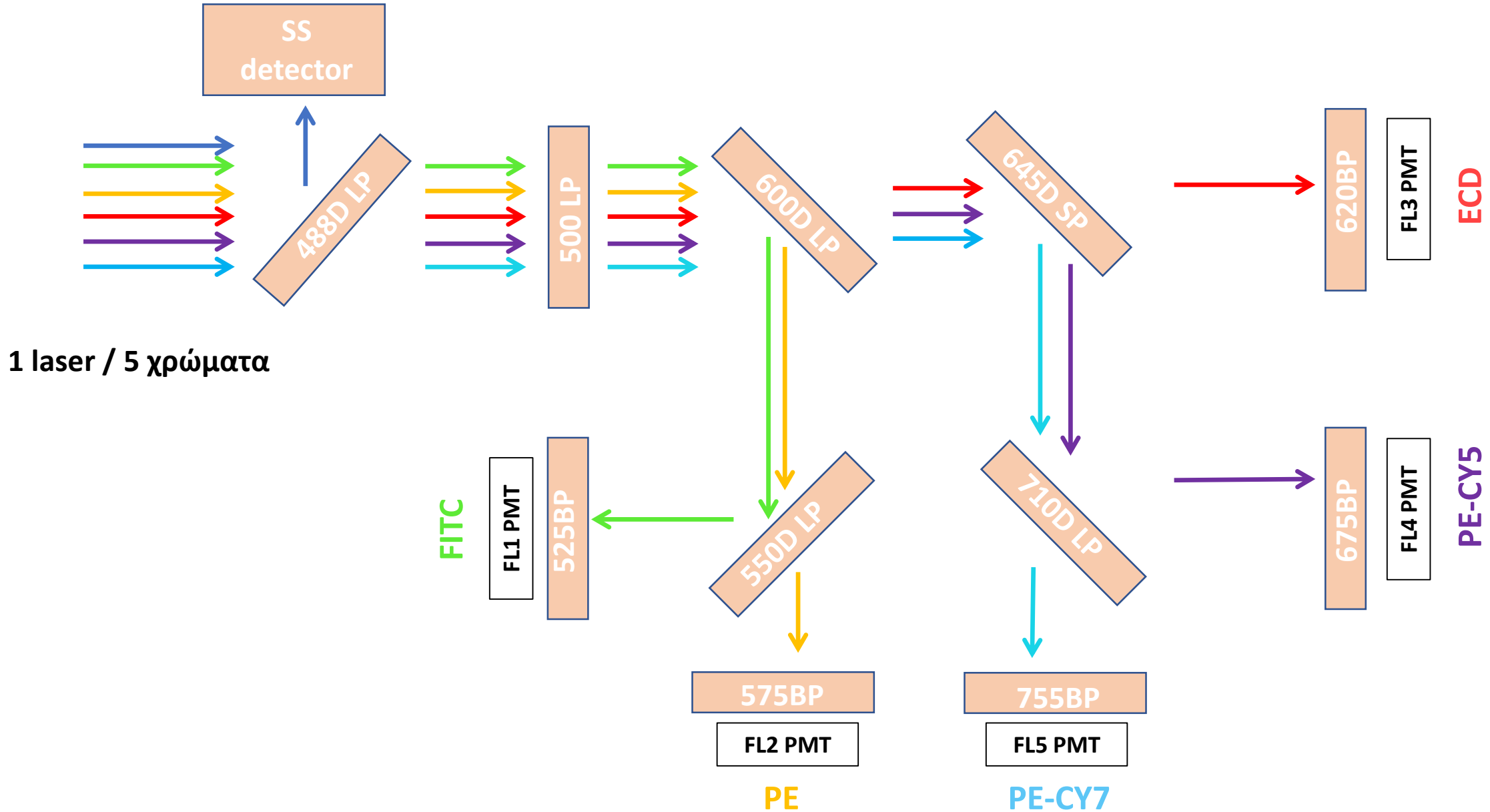
Φίλτρα μακράς διόδου -
Longpass Filter



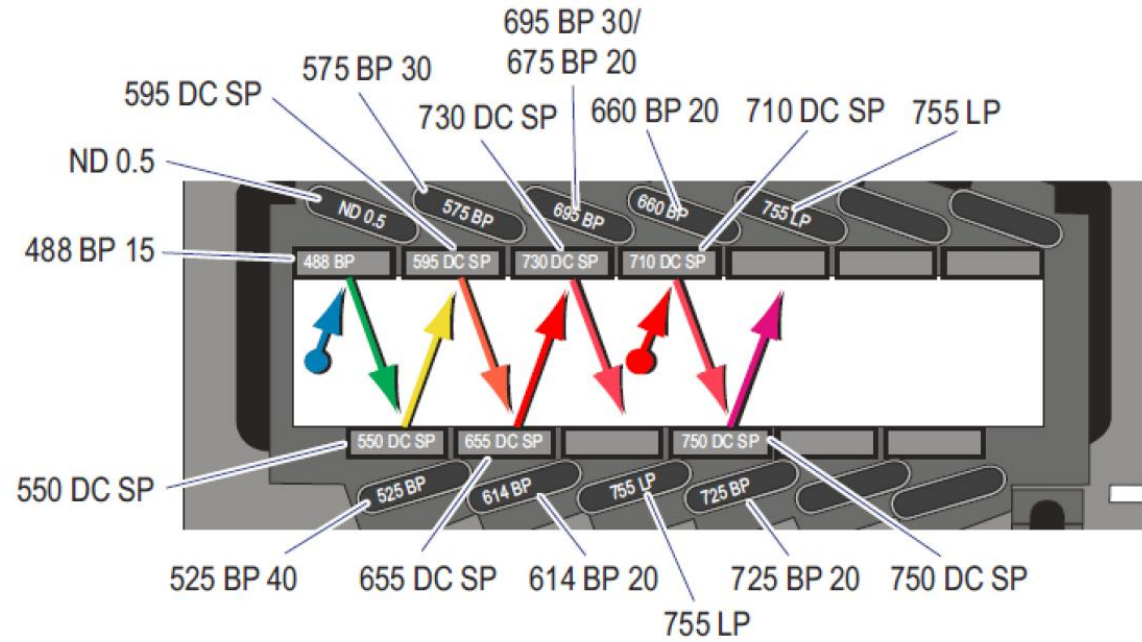
Φίλτρα βραχείας διόδου -
Shortpass Filter



Διαχείριση Φθορισμού

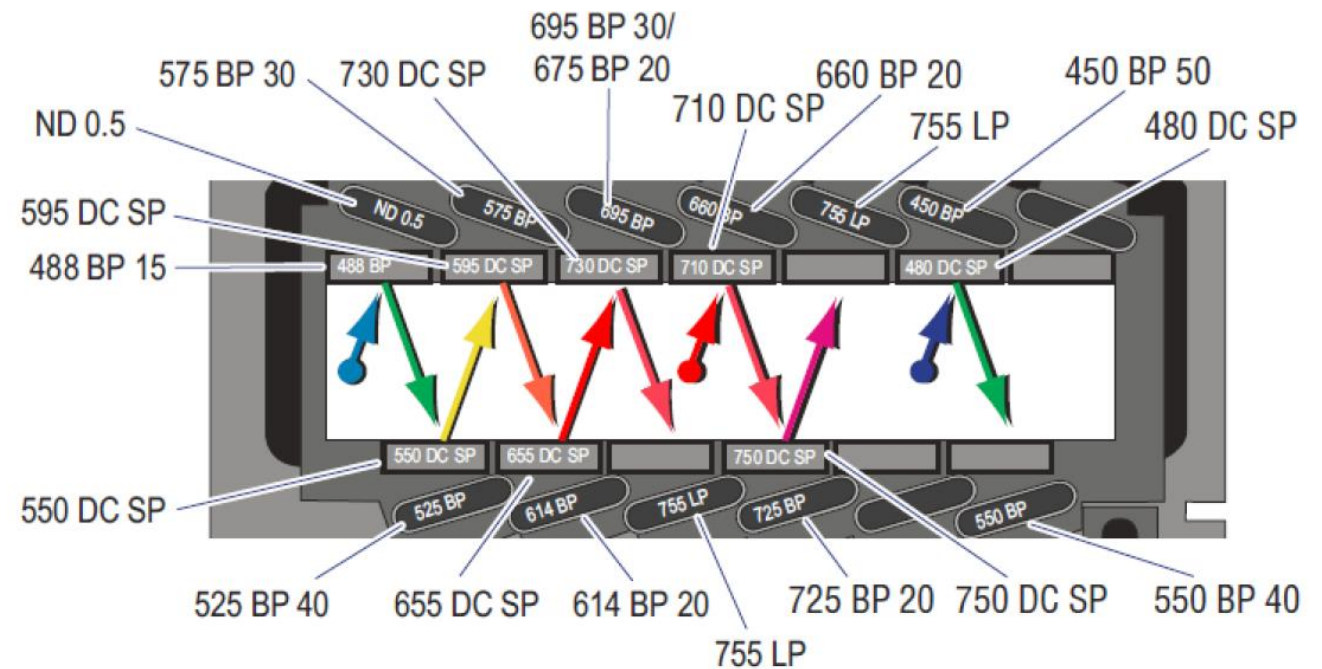


Διαχείριση Φθορισμού



2 lasers / 8 χρώματα

3 lasers / 10 χρώματα



Ανιχνευτές

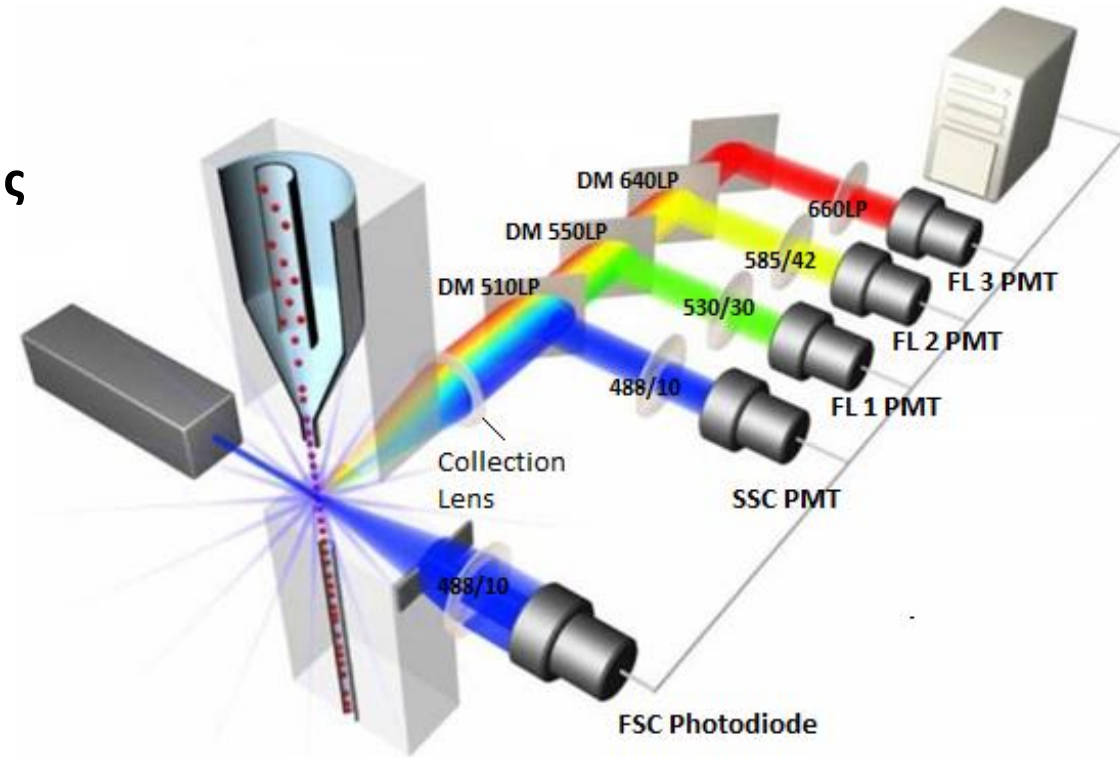
➤ αισθητήρες φωτός - φωτοανιχνευτές

- διεγείρονται από φωτόνια & τα μετατρέπουν σε ηλεκτρόνια ➔ ηλεκτρικός παλμός ➔ ψηφιακό σήμα

❑ ευαισθησία (sensitivity) & αποτελεσματικότητα ανίχνευσης (detection efficiency)

❑ κβαντική απόδοση (Quantum efficiency) – ρυθμός μετατροπής φωτονίων σε ηλεκτρόνια

❑ χρόνος απόκρισης (response time)



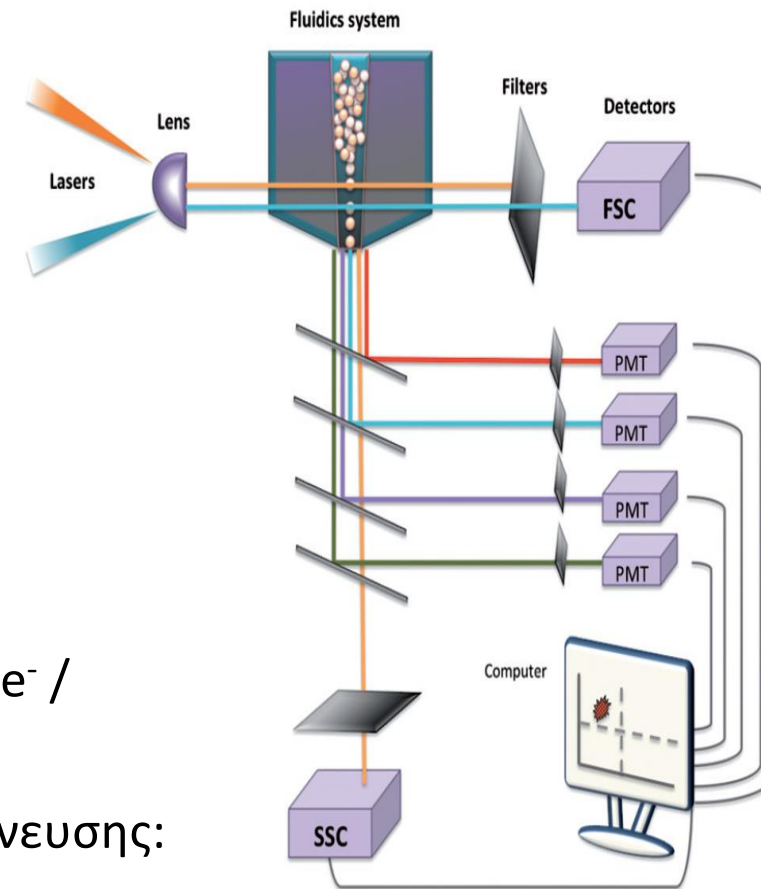
Ανιχνευτές

1. Φωτοδίοδοι (Photodiodes, PDs)

- ανίχνευση ισχυρών σημάτων (FSC, SSC)
- υψηλή κβαντική απόδοση
- χαμηλή ευαισθησία λόγω απουσία ενίσχυσης σήματος (gain)

2. Φωτοπολλαπλασιαστές (Photomultiplier Tubes, PMTs)

- ανίχνευση ασθενέστερων σημάτων (φθορισμός)
- χαμηλότερη κβαντική απόδοση από τις PD
- υψηλότερη ευαισθησία λόγω υψηλής ενίσχυσης σήματος (έως $10^7 e^-$ / φωτόνιο)
- εύρος ανίχνευσης: 300-800nm, βέλτιστη αποτελεσματικότητα ανίχνευσης: 300-400nm / max: 650nm



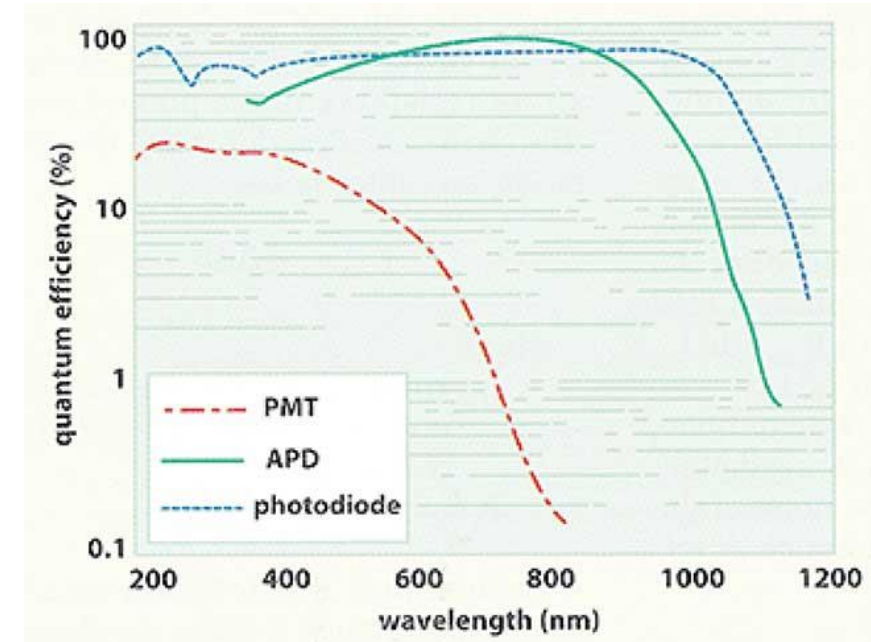
Ανιχνευτές

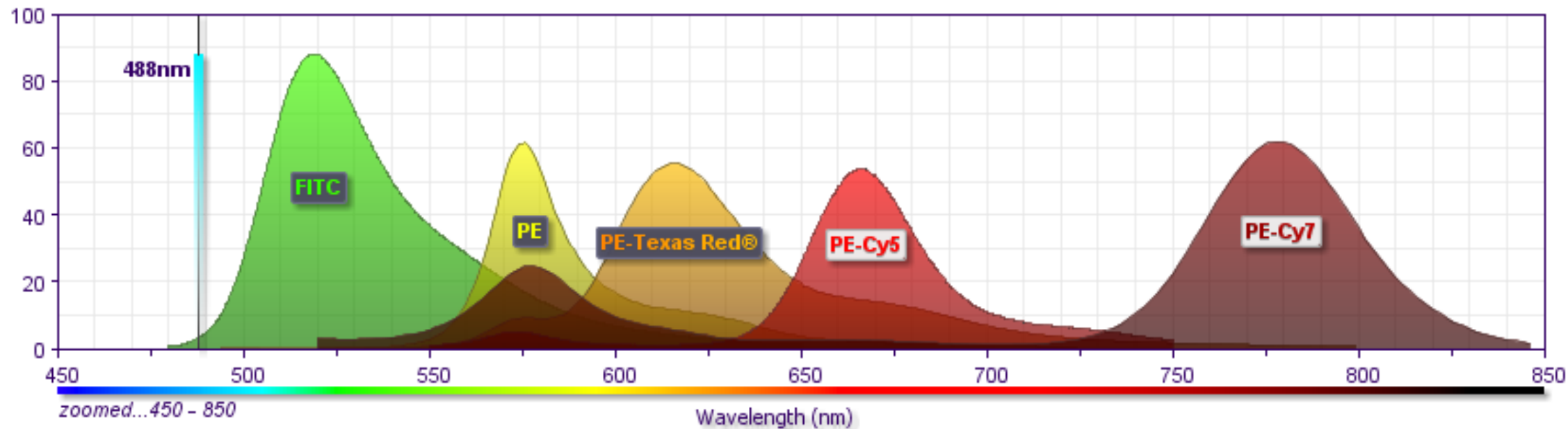
3. Avalanche Φωτοδίοδοι (Avalanche Photodiodes, APDs)

- ανίχνευση της υπέρυθρης ακτινοβολίας
- αυξημένη ευαισθησία σε μήκη κύματος $>700\text{nm}$
- υψηλότερη κβαντική απόδοση από τους PMTs

4. Διατάξεις συζευγμένου φορτίου (Charge-coupled Devices, CCD)

- υψηλή κβαντική απόδοση (80-90%)
- υψηλή αποτελεσματικότητα ανίχνευσης ακτινοβολίας 500-800 nm
- μεγάλος χρόνος απόκρισης που περιορίζει την ταχύτητα ανάλυσης (acquisition rate)
 - imaging flow cytometry





Ευχαριστώ!