

Microscopi confocal

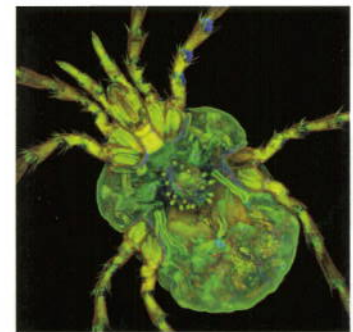
## Microscopi confocal

Marca  
**Nikon**

Model  
**CS1**

### Especificacions tècniques

- Estatiu de configuració recta (90i) amb motorització en eix X,Y i Z d'alta precisió.
- Objectius:
  - > Plan Apocromàtic 4x (O.N. 0,2) i 10x (O.N. 0,45).
  - > Plan Apocromàtic 40x (O.N. 1,3), 60x (O.N. 1,4) i 100x (O.N. 1,4) d'immersió.
- Mòdul d'epifluorescència:
  - > Blocs de filtres de fluorescència: DAPI, Cy3 i FITC.
- Mòdul confocal:
  - > Escombrat mono i bidireccional.
  - > Bancada amb 3 línies de làser:
    - Multilínia 458/488/515 nm
    - 555 nm
    - 639 nm
  - > Sistema opto-acústic per modular la potència dels làsers.
  - > Mòdul de detecció amb tres fotomultiplicadors.
  - > Resolució de la imatge fins a 2048x2048 píxels.
- Software:
  - > Captura d'un pla focal amb diferents canals i superposició en una sola imatge.
  - > Experiments de *time-lapse*.
  - > Anàlisis de múltiples regions d'interès (ROI) amb diferents formes.
  - > Realització d'experiments FRET i FRAP.



Microfotografia d'un àcar d'aigua (Protzia eximia)

### Descripció de la tècnica

El desenvolupament de la microscòpia confocal ha resultat ser un dels avanços tecnològics més rellevants en el camp de la microscòpia òptica. Els principals avantatges que ofereix en front de la microscòpia òptica tradicional són l'obtenció d'imatges amb major nitidesa, contrast i resolució, i sobretot la possibilitat d'obtenir seccions òptiques de la mostra, el que permet el seu estudi tridimensional.

El principi de la microscòpia confocal es basa en eliminar la llum fluorescent provinent dels plans fora d'enfoc. Es duu a terme la il·luminació d'una petita zona de la mostra i es pren només el feix de llum que prové del pla focal, eliminant aquells provinents dels plans focals superiors i inferiors.

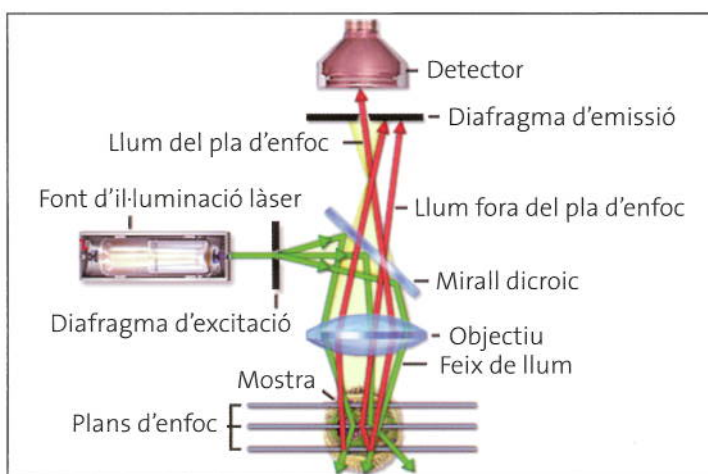
El funcionament del microscopi ve donat per l'ús de dos diafragmes confocals i d'un làser com a font d'il·luminació. La llum procedent del làser passa per un primer diafragma (diafragma d'excitació) és reflectida pel mirall dicroic i mitjançant la lent de l'objectiu s'enfoca en un punt concret de l'espècimen.

La fluorescència emesa pel pla d'enfoc retorna pel mateix camí òptic, passa a través del mirall dicroic i posteriorment per un segon diafragma (diafragma d'emissió) col·locat en front del detector que enregistra la senyal. El detector transforma els fotons emesos pel pla d'enfoc que es digitalitzen en format imatge.

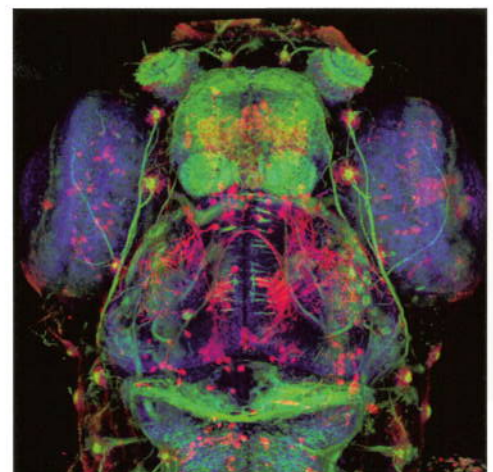
L'ús del microscopi confocal ofereix altres avantatges respecte al microscopi d'epifluorescència, ja que inclou l'habilitat de controlar la profunditat del camp, i la capacitat d'obtenir múltiples seccions òptiques que permeten reconstruccions tridimensionals de l'espècimen. L'obtenció de seccions òptiques més o menys gruixudes ve determinada pel diàmetre del diafragma de detecció, l'obertura numèrica de l'objectiu i la longitud d'ona del feix de llum.

### Aplicacions

- > Estudis d'expressió gènica.
- > Hibridació *in situ* per la detecció d'ARN ribosomal amb sondes fluorescents.
- > Visualització i detecció de proteïnes, àcids nucleics i lípids a través de la tècnica FRET (transferència de energia per resonància fluorescent).
- > Observació del moviment intracel·lular a través de la tècnica FRAP que determina la recuperació de la fluorescència després d'un fotoblanquejat. La recuperació de la fluorescència a la zona cremada es relaciona amb el desplaçament o difusió de la molècula tractada.
- > Mesures de concentracions d'ions intracel·lulars.
- > Reconstrucció tridimensional de cèl·lules o teixits, relacionat amb transport intracel·lular, endocitosis, etc.



Esquema de la microscopia confocal



Microfotografia del cap d'un peix zebra (*Danio rerio*)