

Microscopi
d'epifluorescència

Microfotografia d'un fibroblast captada amb epifluorescència

Microscopi d'epifluorescència

Marca
Nikon

Model
Eclipse 80i

Especificacions tècniques

- Estatiu de configuració recta. Moviment en els eixos X i Y d'alta precisió.
- Objectius:
 - > Plan Fluorita 4x (O.N. 0,13), 10x (O.N. 0,3) i 40x (O.N. 0,75).
 - > Plan Apocromàtic 60x (O.N. 1,4) i 100x (O.N. 1,4) d'immersió.
- Preparat per la visualització de les mostres a través de contrast diferencial d'interferència (DIC).
- Làmpada d'halur metàl·lic de 100 W de llarga vida útil. Presència de filtres atenuadors.
- Mòdul d'epifluorescència:
 - > Blocs de filtres: DAPI, Cy3, FITC i Cy5.
- Sistema de captació d'imatge:
 - > Càmera digital refrigerada monocroma d'alta sensibilitat.
 - > Resolució d'1,37 Mp.
 - > Possibilitat de combinar temps d'exposició de milisegons o hores.
- Software:
 - > Càlcul de distàncies, àrees, determinació d'escala, eliminació del soroll de fons, etc.
 - > Captura d'un pla d'enfoc amb diferents filtres i superposició en una sola imatge.
 - > Capacitat de crear microfotografies de diferents plans d'enfoc i solapar-les generant una única microfotografia final.
 - > Comtatge automàtic de cèl·lules.

Descripció de la tècnica

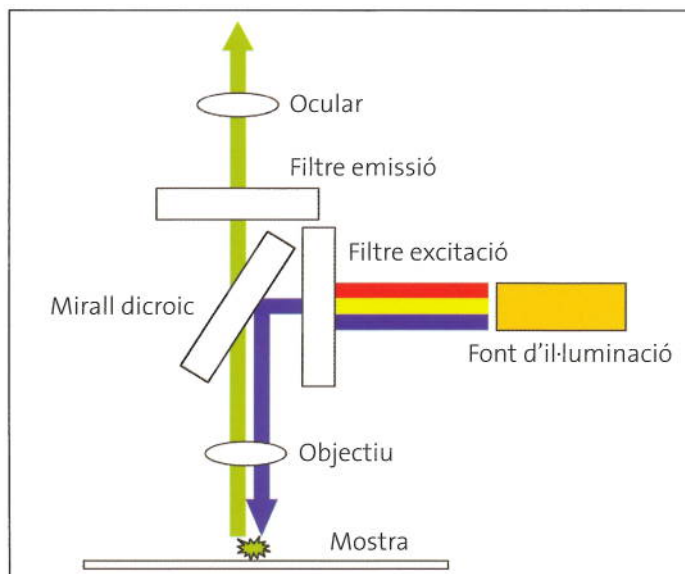
En un microscopi d'epifluorescència a diferència d'un microscopi òptic convencional, la llum incideix sobre la superfície de la mostra, no l'atravessa sinó que la lent il·lumina i rep la llum emesa per la mateixa. El seu funcionament es basa en la propietat de fluorescència de determinades molècules anomenades fluorocroms amb les que es marquen les mostres per ser observades específicament.

La font d'il·luminació emet un feix de llum a diferents longituds d'ona cobrint tot l'espectre, des d'IR fins a UV. El feix de llum passa a través d'un filtre d'excitació que selecciona la longitud d'ona específica per excitar el fluorocrom. Posteriorment, el feix de llum seleccionat és reflectit pel mirall dicroic i incideix sobre la superfície de la mostra. El fluorocrom és excitat emetent fluorescència a una longitud d'ona superior arribant als oculars i/o detector.

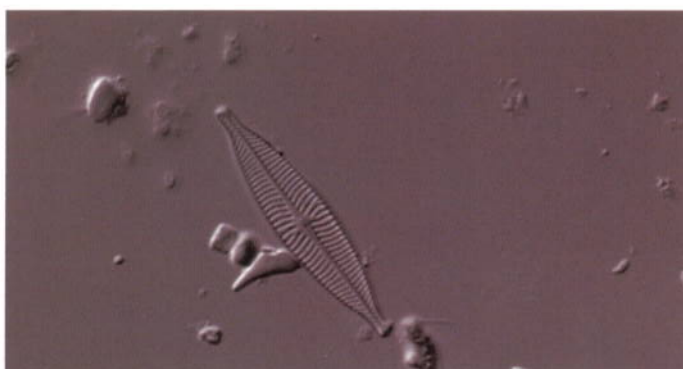
L'equip permet treballar amb la tècnica DIC o Nomarski, que permet incrementar el contrast natural d'una mostra transparent sense necessitat de tènir-la aprofitant els diferents índexs de refracció. A través de l'ús de prismes col·locats en el camí òptic, s'afavoreixen els retards de la longitud d'ona del feix de llum abans i després d'atravessar la mostra. Els feixos de llum es recombinen just abans d'arribar als oculars, generant imatges on es poden apreciar diferències d'intensitat i de color en un mateix espècimen. Amb l'ús d'aquesta tècnica s'aconsegueix obtenir un efecte pseudotrídimensional de la mostra.

Aplicacions

- > Hibridació *in situ* per la detecció d'ARN ribosomal amb sondes fluorescents.
- > Quantificació específica i automàtica de cèl·lules en ambients aquàtics.
- > Marcatge de mol·lècules en cèl·lules i teixits per a la seva caracterització i identificació.
- > Determinació de qualitat d'aigües a través de la determinació de les estructures algals.



Esquema de funcionament d'un microscopi d'epifluorescència



Microfotografia de una diatomea presa amb DIC