

Carl Zeiss referenčni center za lasersko konfokalno mikroskopijo

Vodja: prof. dr. Robert Zorec

Nadgradnja konfokalnega mikroskopa nadgradi s super-ločljivostno mikroskopijo SIM in STED

Jernej Jorgačevski^{1,2},

¹Laboratorij za neuroendokrinologijo - Center molekularna celična fiziologija, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

²CELICA, biomedicinski center, d.o.o.

Mikroskop je nepogrešljivo orodje za raziskovanje celic. Poglavitni omejitvi pri mikroskopiranju celic pa sta prozornost večine celic in omejena ločljivost mikroskopov. Razvoj fluorescentne mikroskopije je v veliki meri rešil težave s kontrastom, zato je danes fluorescentna mikroskopija nepogrešljiva tehnika za neinvazivne raziskave celičnih struktur in fizioloških procesov v celicah. Poglavitna hiba običajnih fluorescentnih mikroskopov je, da ostro sliko fluorescence predmeta v eni ravnini zamegli neostra slika ozadja. To pomanjkljivost je odpravil konfokalni mikroskop, ki loči svetlobo, zbrano iz opazovane ravnine, od svetlobe ozadja. Vseeno pa je ločljivost konfokalnih mikroskopov, podobno kot ločljivost običajnih fluorescentnih mikroskopov, omejena zaradi uklona svetlobe na približno 200 nm. S superločljivostnimi mikroskopijami, ki jih zaradi izboljšane ločljivosti imenujemo tudi nanoskopije, pa lahko dosežemo do desetkrat boljšo ločljivost. Prva fluorescentna nanoskopija, ki je zaobšla omejitve v ločljivosti je bil nanoskopijo z vzbujenim praznjenjem emisije (STED). Za razvoj koncepta in prvega sistema STED je prof. Stefan W. Hell leta 2014 prejel Nobelovo nagrado za kemijo.

V Laboratoriju za eksperimentalno neuroendokrinologijo-Center molekularna celična fiziologija (Center LN-MCP) za zajemanje slik fluorescentno označenih vzorcev uporabljamo različne fluorescentne mikroskopije: konfokalno mikroskopijo, dvofotonsko mikroskopijo, nanoskopijo s strukturirano osvetlitvijo (SIM; z ločljivostjo ~100 nm) in nanoskopijo STED (z ločljivostjo ~40 nm). V predavanju bom razložil osnovni princip delovanja mikroskopij STED in SIM ter predstavil naš dvokanalni mikroskop STED ter nekaj primerov meritev na obeh sistemih.