

# Konfokalmikroskopie

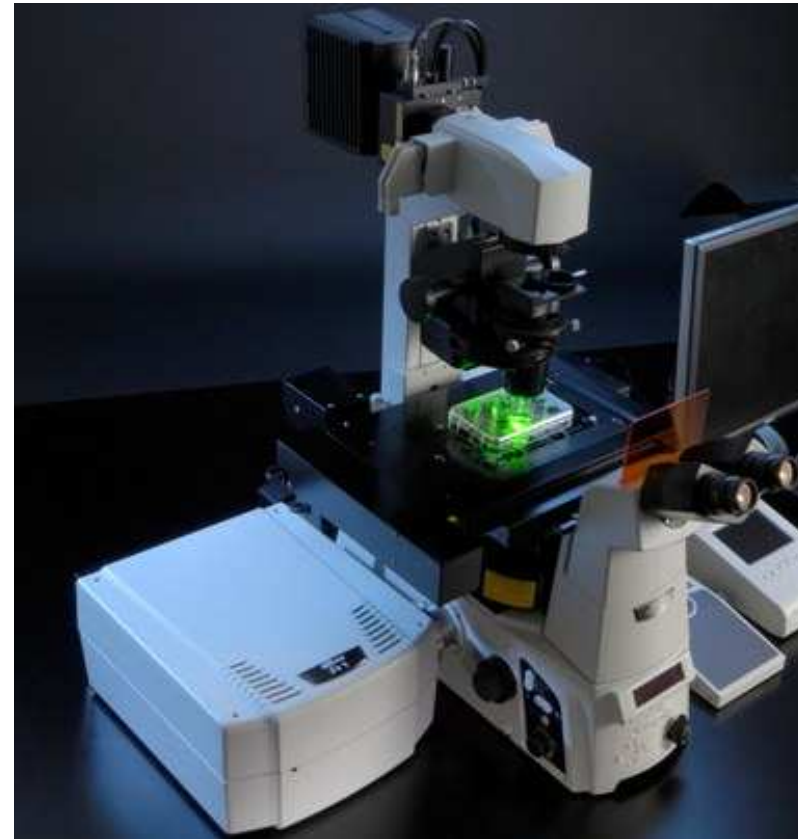
Amelie Beckmann – 23.05.2012

# Inhalt

- Prinzip
- Verschiedene Ausführungen
- Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie

# Konfokalmikroskop

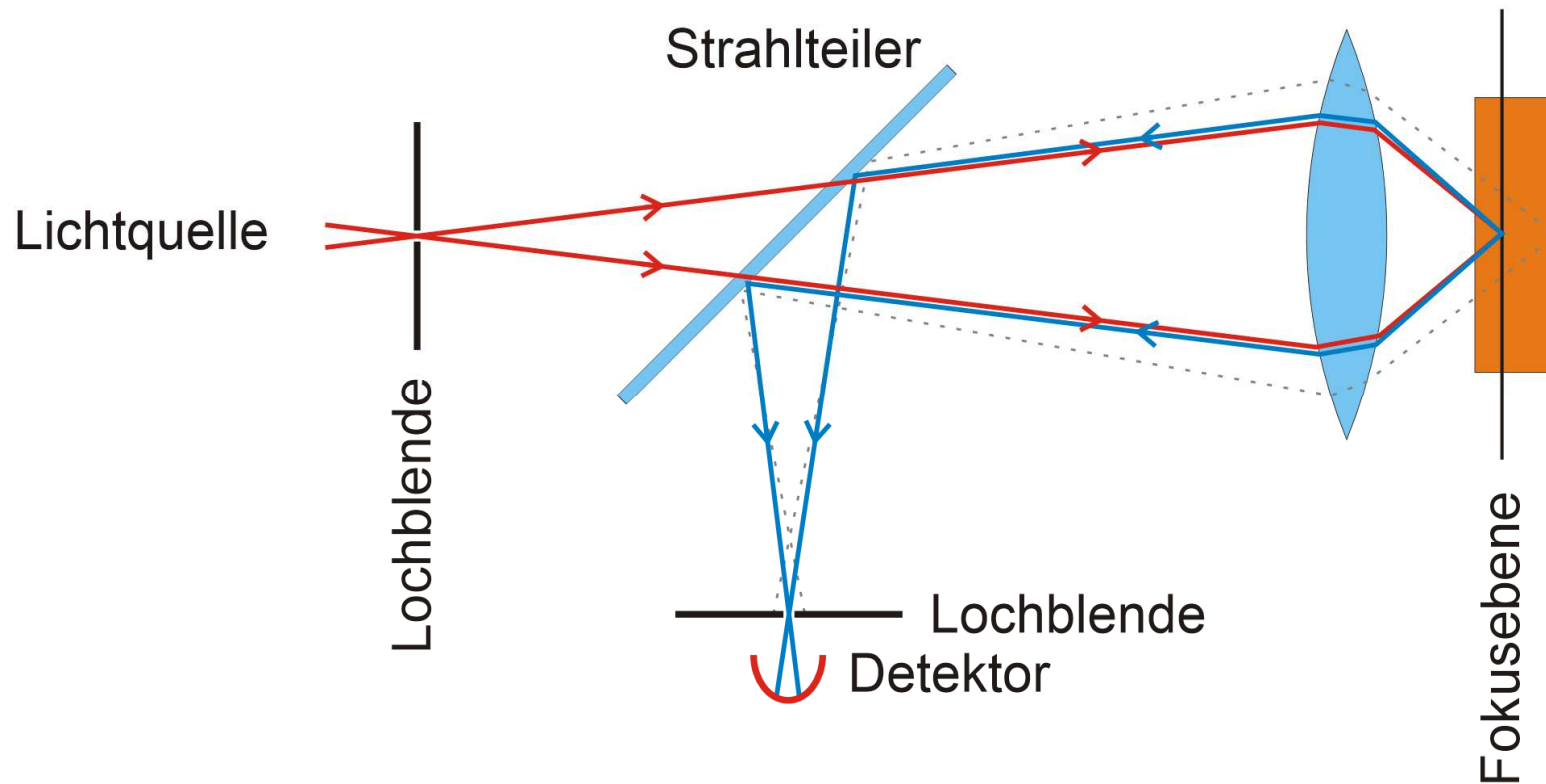
- Nur ein Lichtfleck wird zu jedem Zeitpunkt beleuchtet
- Präparat wird von Punkt zu Punkt abgerastert
- Lichtintensität von jedem Punkt wird gespeichert → spätere Rekonstruktion



[1]

# Prinzip

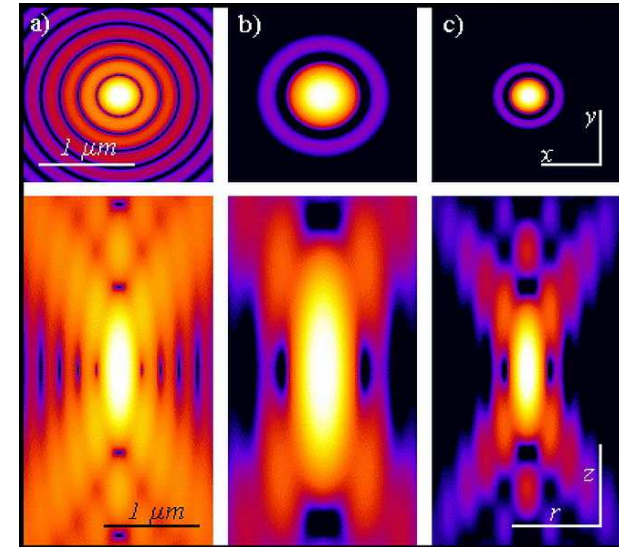
- Weißlicht oder Laser (eine Wellenlänge)



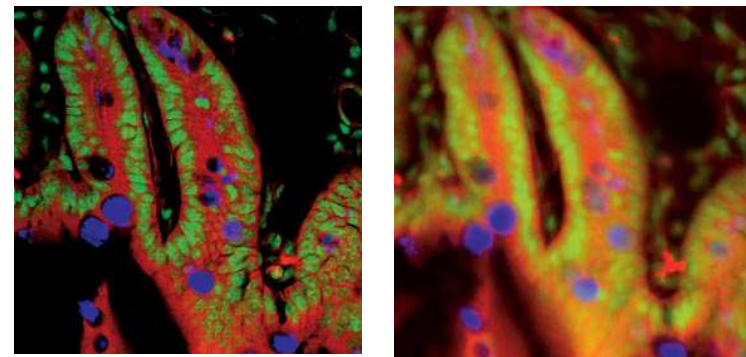
[2]

# Auflösung

- Auflösung: Abstand, den zwei Punkte haben müssen, um als getrennte Punkte durch das System wahrgenommen zu werden
- Die Beugung des Lichts an einer Blende bestimmt die Auflösung
- Durch die Abreicherung des Lichts, das von den nicht fokussierten Ebenen emittiert wird, kann eine 30 % bessere Auflösung erreicht werden



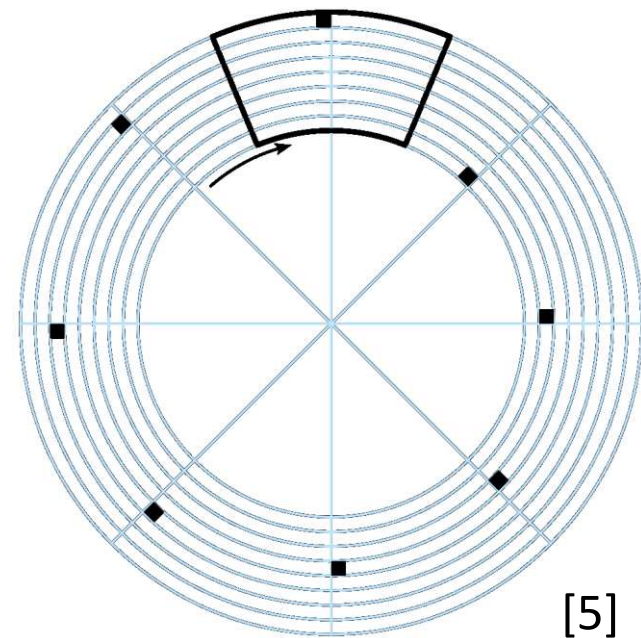
[3]



[4]

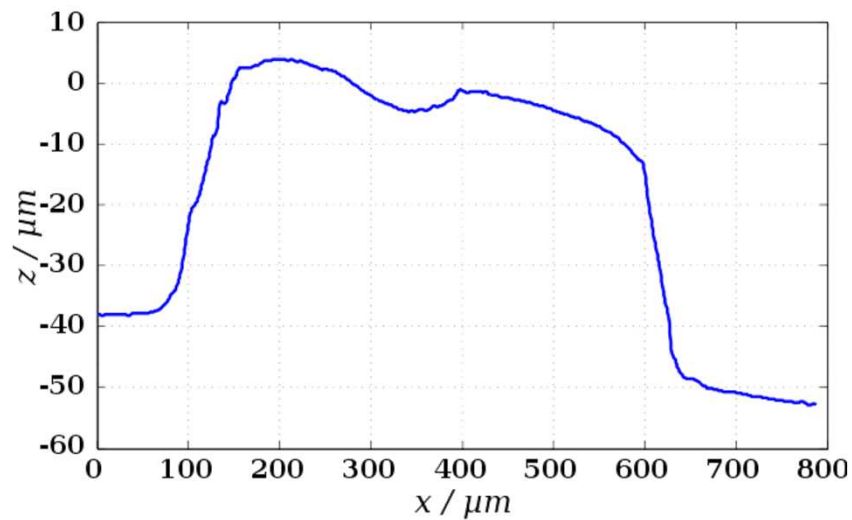
# Ausführungen

- Laser-Scanning-Mikroskope:
  - Punktscanner → bessere Auflösung
  - Linienscanner → höhere Geschwindigkeit
- Spinning Disk-Geräte:
  - Weißlichtmikroskop
  - Verwenden Nipkow-Scheibe → mehrere Messpunkte können gleichzeitig aufgenommen werden
  - In der Materialprüfung eingesetzt

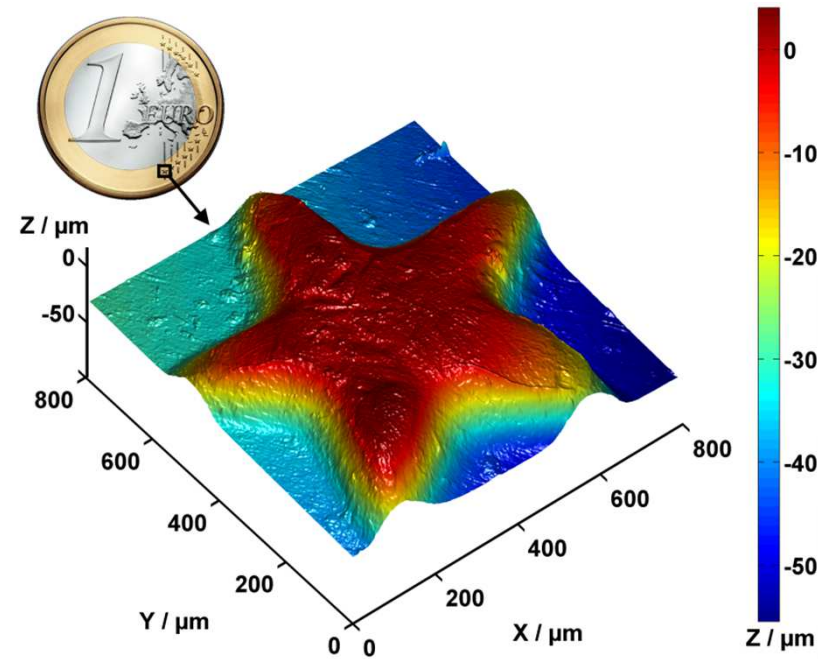


# Weißlichtmikroskop

- Bereits 1951 von H. Naora vorgestellt
- Sehr hohe Abtastrate

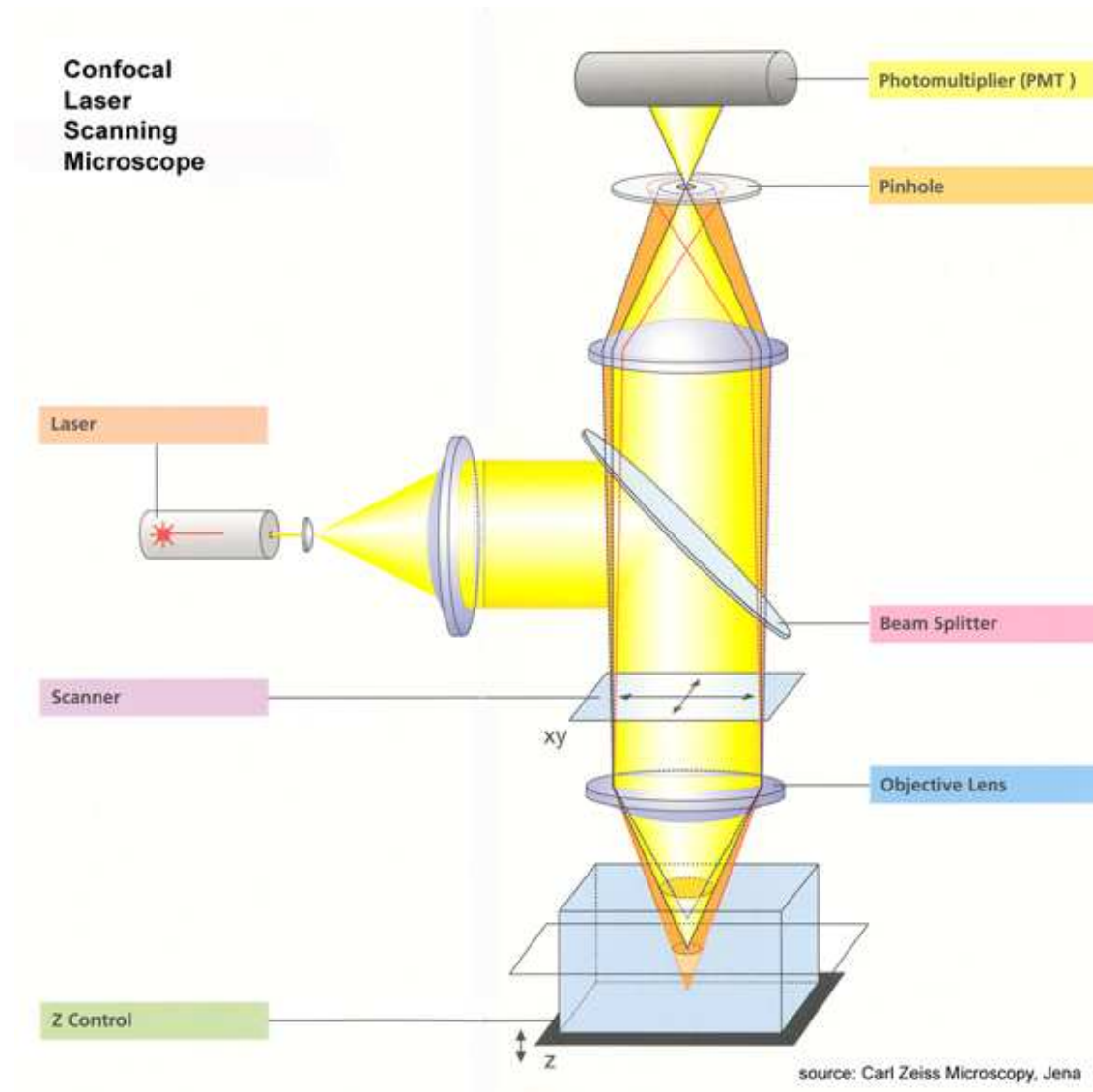


[7]



[8]

# Konfokales Laser Scanning Mikroskop

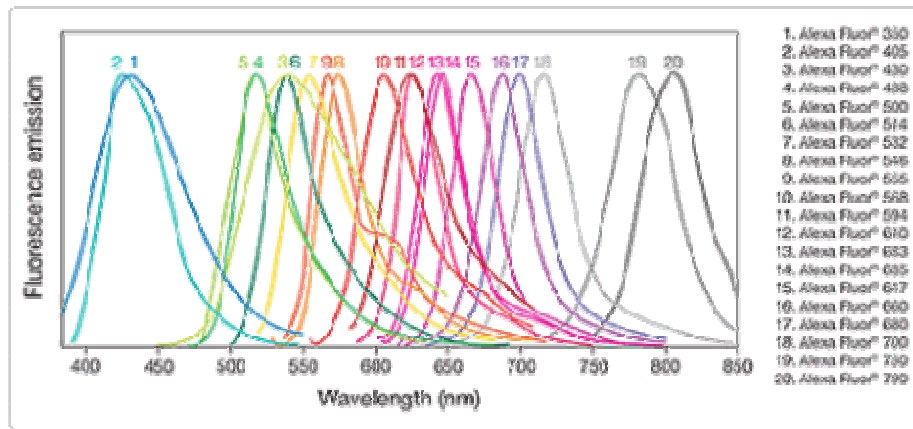


[9]



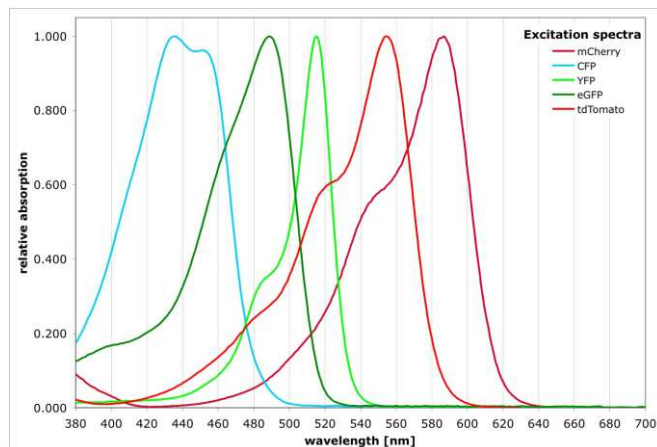
# Fluorophore

- Alexa-Fluorophore (Invitrogen):



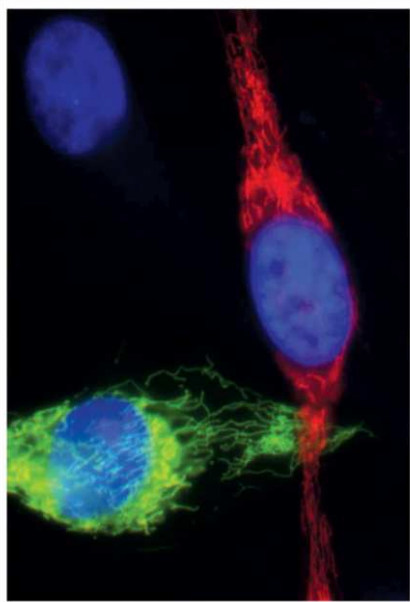
[10]

- GFP und Familie:



[11]

# Anwendungen

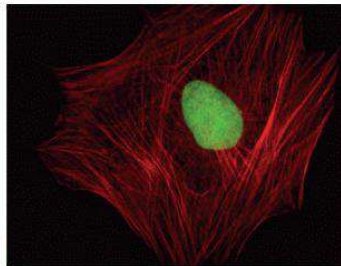
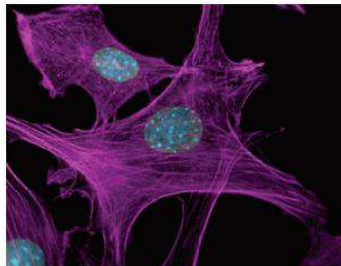


**HeLa-Zellen**  
Mitochondrien:  
- Mito-GFP  
- Mito-OFP  
Kerne:  
- blue-fluorescent  
Hoechst 33342

[12]

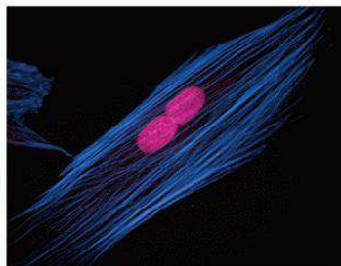
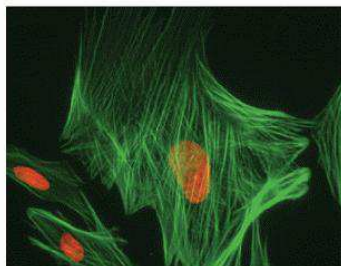


[13]

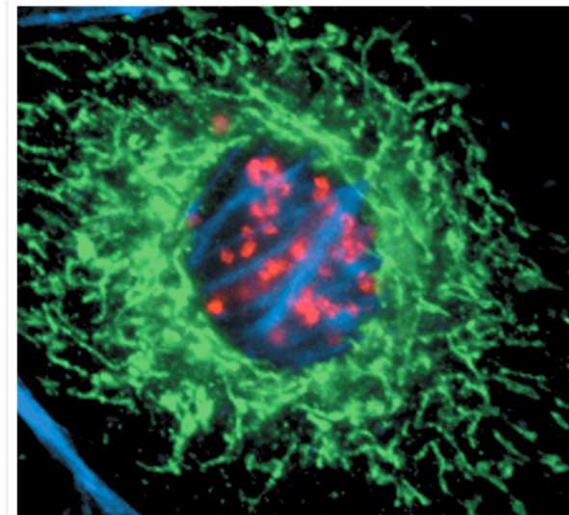


**Endothelzellen der  
Lungenarterie des  
Rinds.**

Kerne und F-Actin  
gefärbt mit  
unterschiedlichen  
Alexa-Farbstoffen



[14]



**Endothelzellen der  
Lungenarterie  
des Rinds.**

Actin: Alexa  
Fluor® 350 (blau)  
Histone: Alexa  
Fluor® 555 (rot)  
Mitochondrien:  
Alexa Fluor® 488  
(grün)

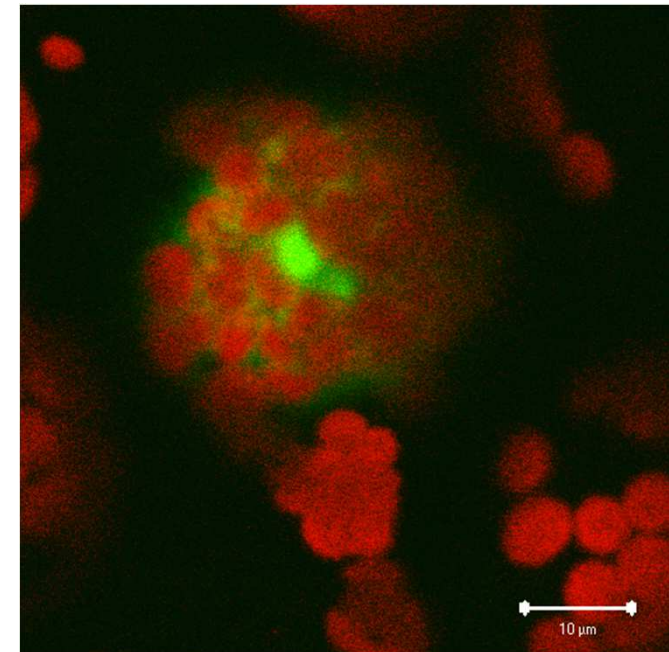
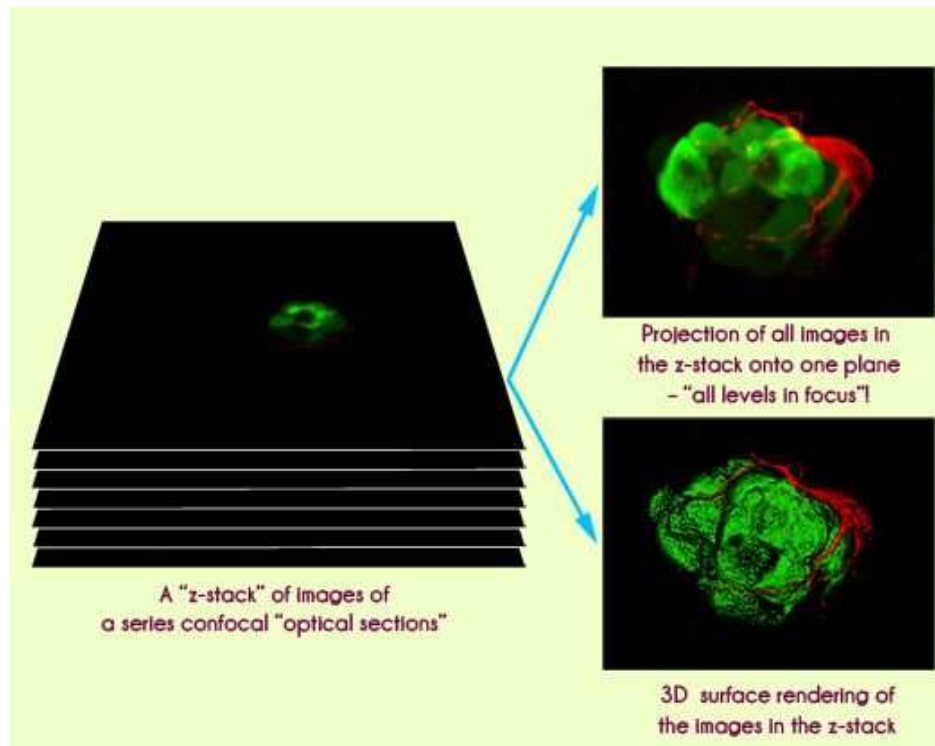
[15]

# Life Cell Imaging

- Möglichkeit, Bilder in einem gewissen Abstand voneinander zu machen → Dynamik in lebenden Zellen
  - [YouTube-Video Mitose Life Cell Imaging](#)

# 3D-Modellierung

- Mehrere z-Ebenen können einzeln fokussiert werden → mehrere Schnittebenen von einer Zelle



# Quellen

- [1]: <http://www.topnews.in/novel-laser-microscope-can-diagnose-skin-cancer-single-snapshot-2339955>
- [2]: [http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Konfokal\\_microskop\\_prinzip.svg&filetimestamp=20080729123619](http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Konfokal_microskop_prinzip.svg&filetimestamp=20080729123619)
- [3]: <http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:MultiPhotonExcitation-Fig7-doi10.1186slash1475-925X-5-36.JPG&filetimestamp=20081223185743>
- [4]: [http://www.zeiss.de/C1256CFB00332E16/0/C02FBE788001CDC3C1256E5C0026D36C/\\$file/45-0029\\_d.pdf](http://www.zeiss.de/C1256CFB00332E16/0/C02FBE788001CDC3C1256E5C0026D36C/$file/45-0029_d.pdf)
- [5]: [http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Nipkow\\_disk.svg&filetimestamp=20080219191829](http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Nipkow_disk.svg&filetimestamp=20080219191829)
- [6]: [http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Confocal\\_curve\\_schematic.svg&filetimestamp=20100213212208](http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Confocal_curve_schematic.svg&filetimestamp=20100213212208)
- [7]: [http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Confocal\\_measurement\\_of\\_1-euro-star\\_3d\\_profile\\_200.svg&filetimestamp=20100218082402](http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Confocal_measurement_of_1-euro-star_3d_profile_200.svg&filetimestamp=20100218082402)
- [8]: [http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Confocal\\_measurement\\_of\\_1-euro-star\\_3d\\_and\\_euro.png&filetimestamp=20100405110323](http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Confocal_measurement_of_1-euro-star_3d_and_euro.png&filetimestamp=20100405110323)
- [9]: <http://www.calm.ed.ac.uk/CALM%20UoE-CLSM%20tutorial%2001.html>
- [10]: <http://de-de.invitrogen.com/site/de/de/home/brands/Molecular-Probes/Key-Molecular-Probes-Products/alexa-fluor/Alexa-Fluor-Dyes-Across-the-Spectrum.html>
- [11]: <http://www.bio.utk.edu/cellbiol/markers/default.htm>
- [12]: <http://tools.invitrogen.com/content/sfs/gallery/high/g003711.jpg>
- [13]: <http://angelent.w281.bizcn.com/Article.aspx?ArticleID=103>
- [14]: <http://tools.invitrogen.com/content/sfs/gallery/high/g002664.jpg>
- [15]: <http://tools.invitrogen.com/content/sfs/gallery/high/g001987.jpg>
- [16]: <https://www.agronomy.org/publications/jeq/articles/39/6/1934>