

# Konfokální fluorescenční mikroskopie

M. Blažek<sup>1</sup>, J. Kíni<sup>2</sup>, F. Svoboda<sup>1</sup>, V. Štefaníková<sup>3</sup>, J. Valík<sup>2</sup>  
<sup>1</sup> SŠTE Brno, <sup>2</sup> Gymnázium Tišnov, <sup>3</sup> Gymnázium Příbor  
matej.blazek@hotmail.com

## Abstrakt

Iluze 3D zobrazení ve 2D – biologicko-fyzikální průlom v oblasti mikroskopie

## Úvod

Cílem našeho projektu bylo vytvoření dokonalého 2D zobrazení buněčných struktur pomocí konfokálního mikroskopu.

## Příklad konfokálního zobrazení:



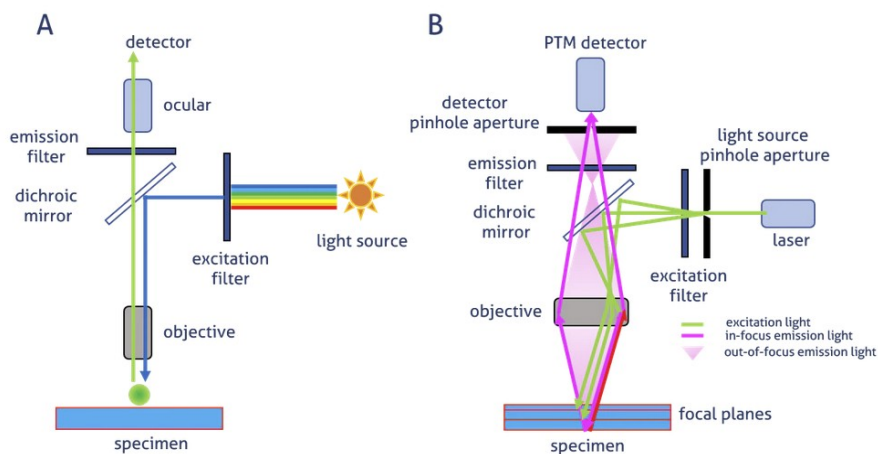
Obrázek 1: Embryo platýze

<https://www.optixs.cz/mikroskopy-a-prislusenstvi-40k/konfokalni-mikroskopy-89k/kompaktni-konfokalni-mikroskop-andor-bc43-cf-312p>

Za použití **fluorescence** – jev, při kterém látka absorbuje elektromagnetické záření o určité vlnové délce a následně emituje elektromagnetické záření o (zpravidla) větší vlnové délce,

**Autofluorescence** – někdy rostliny obsahují barviva, jež nám umožňují je pozorovat bez použití nějakého dalšího barvení

**Epifluorescenční uspořádání** – zaznamenává se obraz, vzniklý záznamem signálu z celé tloušťky vzorku (3D) do 2D projekce, kdy dochází ke kumulaci ostrého obrazu z ohniskové (fokální) roviny, a neostrých obrazů před a za ohniskovou rovinou.



Obrázek 2: rozdíl elektronový mikroskop a fluorescence

<https://www.ptglab.com/news/blog/if-imaging-widefield-versus-confocal-microscopy/>

**Konfokální metoda zobrazení** – výsledný obraz se získává (a případně kompletuje) z řezů, tedy záznamu obrazu pouze z fokální roviny. Tím se dosahuje podstatného zvýšení rozlišení a lepší reprodukce struktury transparentního vzorku v hloubce. Vzniká dokonalejší „iluze“ prostorového zobrazení.

## Metodika

Pracovali jsme na špičkovém konfokálním mikroskopu (jediném v ČR).



Obrázek 3: Andor BC43 CF

<https://www.optixs.cz/mikroskopy-a-prislusenstvi-40k/konfokalni-mikroskopy-89k/kompaktni-konfokalni-mikroskop-andor-bc43-cf-312p>

Použité vzorky: lodyha konvalinky (*Convallaria majalis*), obarvenou pokožku cibule (*Allium cepa*), list buku lesního (*Fagus sylvatica*) a slivoně myrobalán (*Prunus cerasifera*).



Obrázek 4: Nikon SMZ 745T

<https://microscopecentral.com/products/nikon-smz-745t-trinocular-stereo-microscope-0-67x-5-0x>



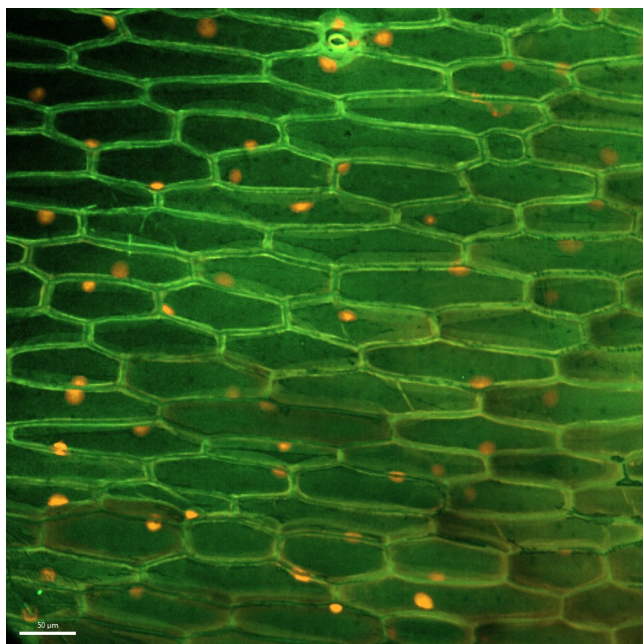
Obrázek 5: Nikon Eclipse L150

<https://microscopecentral.com/products/nikon-l150-reflected-light-brightfield-darkfield-microscope>

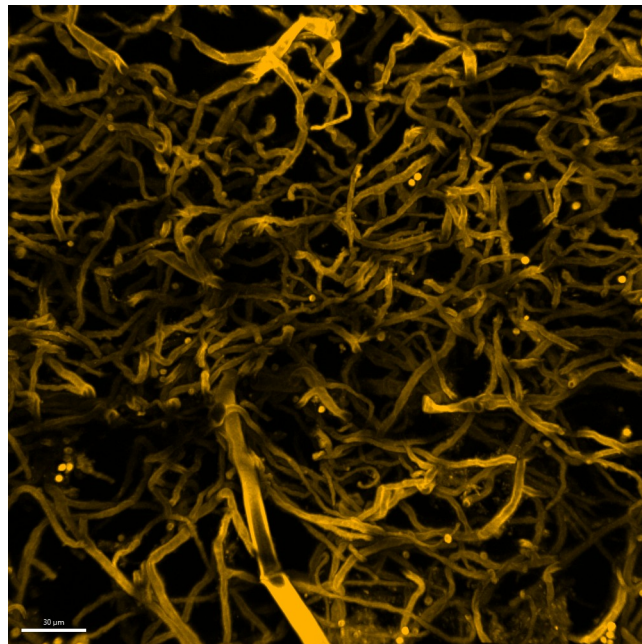
K porovnání se snímky jsme používali tyto elektronové mikroskopy s různými rozlišeními.

## Výsledky a diskuze

Byli jsme tedy schopni se vnořit do mikrosvěta a nanosvěta a vidět detailní složení rostlinných buněk, ale také například konfokální zobrazení platýze (1. obrázek v úvodu)



Obrázek 7: epidermis cibule



Obrázek 6: vlákna černé plísně

## **Závěr**

Každý jsme si vyzkoušeli vytvořit vlastní obrázek konfokálního zobrazení listu či stonku, jenž jsme utrhlí před fakultou. Zjistili jsme, že mikroskopie není jen finančně, ale i zrakově a časově náročný obor, který vyžaduje hodně úsilí a léta tvrdé práce. Celý tento projekt byl pro nás velikou výzvou, kterou jsme zcela zvládli (kolega málem ztratil vizi).

## **Poděkování**

Chtěli bychom velice poděkovat panu doktorovi Janu Proškovi, který nás celým projektem ochotně provázel a také panu doktorovi Miroslavu Dvořákovi za zpestření programu lasery.