

# Konfokální mikroskop

**Konfokální mikroskop** je druhem světelného mikroskopu.

Při pozorování reálného preparátu, jehož tloušťka není zanedbatelná (ideální preparát pro světelnou mikroskopii má tloušťku blíží se nule) je pozorování zkresleno paprsky vycházejícími z hmoty nad a pod zaostřenou rovinou. Tomuto nepříznivému efektu zabraňuje právě využití konfokálního mikroskopu. Mimo této výhody poskytuje konfokální mikroskop možnost rekonstruovat 3D modely preparátu.

## Historie

Idea konfokálního mikroskopu pochází od **Marvina Minského**, který si ji patentoval již r. **1957**. V té době však zůstala bez odezvy, neboť Minsky nenašel vhodný zdroj světla pro konstrukci funkčního přístroje. O deset let později **M. Petráň** a **M. Hadravský** z **Lékařské fakulty UK v Plzni** patentovali konfokální mikroskop na bázi rotujícího Nipkowova kotouče. S tímto přístrojem (v odborné literatuře je znám pod názvem Tandem Scanning Confocal Microscope) byly poprvé získány kvalitní optické řezy silným preparátem, konkrétně mozkovou tkání. Tandemový konfokální mikroskop se však v praxi příliš nerozšířil. Éra konfokální mikroskopie začíná až koncem sedmdesátých let, kdy byl zkonstruován první spolehlivý konfokální mikroskop s rozmítaným laserovým paprskem.

## Princip

Zdrojem světla u konfokálního mikroskopu je laser (ultrafialové, infračervené nebo viditelné spektrum), který přes bodovou (konfokální) clonu a objektiv osvětluje preparát. Stejným objektivem poté prochází světlo odražené (případně emitované fluorescenční záření, pokud se jedná o fluorescenční konfokální mikroskopii). Paprsky prochází dichroickým zrcadlem a pokračují k bodové cloně, kde dochází k odfiltrování světla z jiných rovin. Nakonec paprsky vstupují do fotonásobiče (<https://cs.wikipedia.org/wiki/Foton%C3%A1sobi%C4%8D>), kde jsou zesíleny a detekovány.

Z uspořádání mikroskopu vyplývá, že v jednom kroku získáme informaci pouze o jednom bodu – pro získání obrazu celé roviny je nutné vytvořit serii snímků.

Podle mechanismu rastrování rozlišujeme:

- **konfokální mikroskop s rozmítaným laserovým paprskem (CLSM, LSCM)** – rastrování probíhá posouváním paprsku pomocí clony (umístěné mezi dichroické zrcadlo a objektiv) postupně do všech bodů roviny (podobný princip jako pohyb po stínítku televize), přibližná rychlost: 3 snímky/s
- **konfokální mikroskop na bázi rotujícího Nipkowova kotouče** – předchůdce rozmítaného laserového paprsku, rychlost až 60 snímků/s

Pokud je postupně nasnímáno dostatečné množství rovin, je možné pomocí počítače složit 3D model preparátu.

## Využití

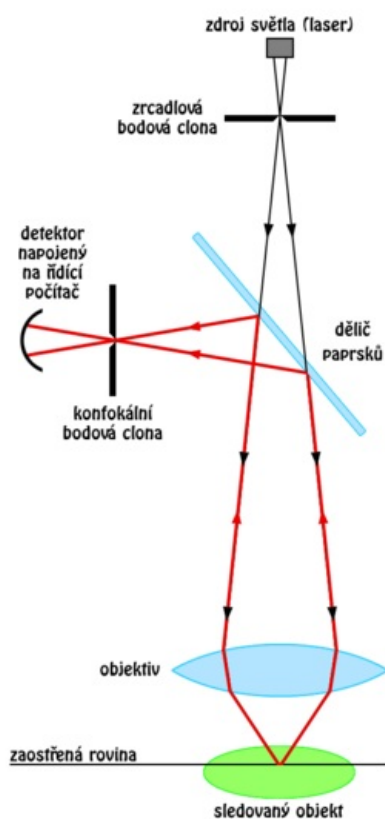
Konfokální mikroskop je využíván při studiu povrchových vlastností materiálů, vyhodnocování testů tvrdosti kovů a plastických materiálů, měření výšky strukturních elementů na polovodičových čipech. V biologii se uplatňuje při **studiu prostorových struktur buněk** (např. cytoskeletu). S výhodou je možné konfokální mikroskopy použít při studiu architektury neuronových sítí v mozkové tkáni při jejím barvení pomocí Golgiho metody. Také je možné studovat intracelulární **koncentrace iontů**, měřit **membránový potenciál** a intracelulární **pH**. Při použití imunofluorescenčních metod je možné studovat např. rozložení receptorů v membránách. V cytologii a cytogenetice se konfokální mikroskop používá při studiu **topologie buněčného jádra** (vnitřní uspořádání chromatinu).

## Odkazy



Fotografie konfokálního mikroskopu v zatemněné místnosti. Kontrastnější fotografii konfokálního mikroskopu naleznete například zde [1] (<https://www.ljmu.ac.uk/GERI/CEORG/Images/CONF1.jpg>)

## PRINCIP KONFOKÁLNÍHO MIKROSKOPU



Princip konfokálního mikroskopu

- Optický mikroskop
- Elektronový mikroskop

## **Použitá literatura**

- NAVRÁTIL, Leoš a Josef ROSINA. *Medicínská biofyzika*. 1. vydání. Praha : Grada, 2005. 524 s. ISBN 80-247-1152-4.
- KOČÁREK, Eduard, Martin PÁNEK a Drahúše NOVOTNÁ. *Klinická cytogenetika I.: úvod do klinické cytogenetiky, vyšetřovací metody v klinické cytogenetice*. 1. vydání. Praha : Karolinum, 2006. 120 s. ISBN 80-246-1069-8.
- <http://www.vesmir.cz/clanek/konfokalni-mikroskop>
- Confocal microscopy