

# Microscopía confocal

Gill Hartley, Laboratorio de ciencias de la defensa y tecnología de laboratorio (DSTL)

Traducción: Jesús Gil, Würzburg, DE (SEI)



## Tecnología

La microscopía confocal utiliza como fuente de luz un láser para controlar la profundidad de campo y un "pinhole" (colimador de orificio delimitante) para eliminar la luz desenfocada, lo que permite la visualización de la imagen en un plano horizontal simple.

Si consideramos la imagen de un microscopio normal como algo parecido a mirar a través de un libro transparente, donde se pueden ver imágenes de todas las páginas solapadas, la microscopía confocal nos permitiría visualizar cada página por separado (ver diagrama). Esto es útil para determinar la localización exacta de estructuras celulares y objetos, como bacterias infectantes. Si se toman suficientes imágenes de las piezas se pueden construir modelos tridimensionales.

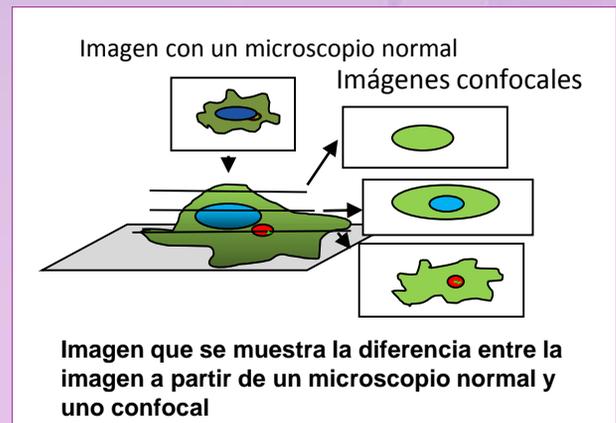
Las imágenes deben teñirse con **colorantes** o **anticuerpos fluorescentes** o poseer **fluorescencia natural**. Los colorantes son excitados a través de un haz de láser (con una longitud de onda apropiada), emitiendo luz con una longitud de onda inferior, la cual es detectada.

Se pueden crecer células en portaobjetos o placas de cultivo especiales, lo que permite que las imágenes pueden ser tomadas *in situ*, sin modificar las delicadas estructuras celulares, así como estudiar las interacciones célula-célula.

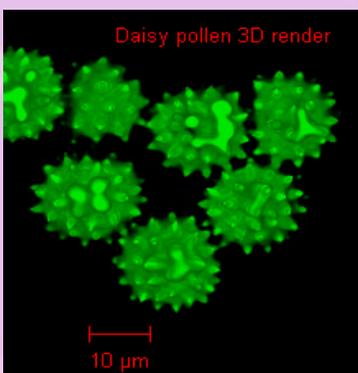
## Imágenes

Para asegurar que solo se recoge la luz que proviene del plano horizontal se requiere un cuidadoso ajuste. Cuando se consigue, la correlación espacial del tejido marcado es posible y con tinciones duales podemos colocalizar estructuras (**Imagen 1**).

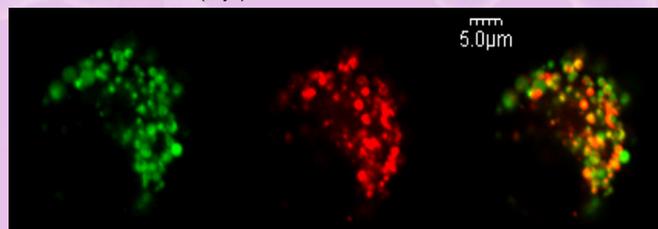
Si se toman múltiples imágenes a distintas profundidades del tejido se pueden generar imágenes 3D de la célula completa que puede ser visto posteriormente como un conjunto de imágenes, una película o una estructura 3D (**Imagen 2**). Las imágenes pueden ser vistas desde distintas perspectivas (**Imagen 3**).



**Imagen 1.** Proteínas intracelulares de vacuolas (verde) colocalizadas en vacuolas ácidas (rojo).



**Imagen 2.** Polen con fluorescencia natural visto en 3D.



**Imagen 3.** Bacterias intracelulares vistas desde distintas perspectivas

