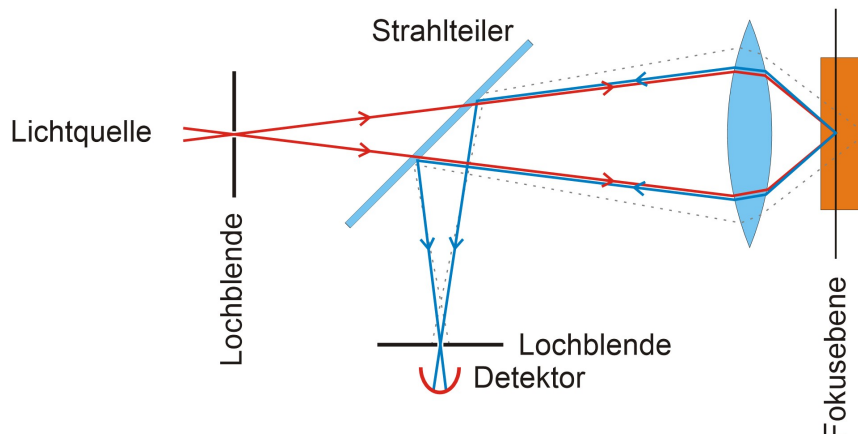


Konfokalmikroskopie



[1]

Das Prinzip eines Konfokalmikroskops ist darauf ausgelegt, dass zu jedem Zeitpunkt nur ein einzelner Punkt des zu untersuchenden Objekts zu jedem Zeitpunkt beleuchtet wird. Ein Konfokalmikroskop funktioniert mit Weißlicht und mit Laserlicht, am häufigsten wird jedoch die Laserlicht-Variante verwendet [2]. Aus einer Lichtquelle wird ein Lichtstrahl emittiert, der durch eine Lochblende fokussiert wird. Anschließend trifft der Lichtstrahl auf einen dichroitischen Spiegel, der Licht mit der Wellenlänge des emittierten Lichtstrahls passieren lässt. Der Lichtstrahl fällt anschließend auf das Objekt. Das Licht wird bei der Weißlichtmikroskopie reflektiert, bei der Laserlicht-Variante wird Licht einer anderen Wellenlänge als der des Anregungslichts emittiert. Der dichroitische Spiegel reflektiert dieses Licht, sodass es durch eine Lochblende, die der erneuten Fokussierung dient, auf den Detektor trifft. Der Detektor besteht meistens entweder aus einer CCD-Kamera oder aus einem Photomultiplier. So wird zu jedem Zeitpunkt nur ein einzelner Lichtpunkt aufgenommen und das Objekt nach und nach abgerastert. Die Lichtintensitäten jedes einzelnen Punkts werden gespeichert, um nachher das Bild rekonstruieren zu können [2], [3], [4]. Durch die Lochblende wird Licht, dass von einer anderen als der gerade fokussierten Ebene reflektiert wird, abgereichert, sodass mit einem Konfokalmikroskop eine bis zu 30 % bessere Auflösung als mit einem normalen

Weißlicht- oder Fluoreszenzmikroskop erreicht werden kann.

Neben den Punktscanning-Geräten, gibt es noch weitere Ausführungen, die entweder einen Linienscanner oder eine Nipkow-Scheibe verwenden. Bei den Linienscannern wird eine ganze Bildreihe in x- oder y-Richtung gescannt. Dem Vorteil der erhöhten Scangeschwindigkeit steht jedoch eine schlechtere Auflösung entgegen. Die Nipkow-Scheibe wird oft im Zusammenhang mit der Weißlichtkonfokalmikroskopie verwendet. Sie ist aus mehreren parallel zueinander angeordneten Ringen aufgebaut, die jeweils ein Loch besitzen. Die Scheibe wird nun in eine Drehbewegung versetzt, wobei bei einer hohen Drehgeschwindigkeit scheinbar das gesamte Bild zu sehen ist. Da diese Ausführung eine sehr hohe Abtastrate besitzt, wird es vorwiegend in der Materialprüfung eingesetzt [2], [3].

In den Naturwissenschaften wird hingegen die Laserlicht-Punktscanner-Variante verwendet, da hier die Auflösung und Qualität der Bilder wichtiger ist als die zeitliche Komponente. Diese Mikroskope tragen den Namen *Confocal Laser Scanning Microscopes (CLSM)*. Da sie mithilfe von Fluoreszenz funktionieren, sind die benötigten Fluorophore ein wichtiger Faktor. Sie müssen durch die Wellenlänge des Laserlichts angeregt werden können und durch den dichroitischen Spiegel reflektiert werden. Heutzutage gibt es neben dem am häufigsten verwendeten *Green Fluorescent Protein (GFP)* und seiner Protein-Familie Fluorophore jeder erdenklichen Anregungs- und Emissionswellenlänge zu kaufen [3].

Neben der verbesserten Auflösung gegenüber herkömmlichen Mikroskopen bietet ein CLSM weitere Vorteile wie das Life Cell Imaging oder die Grundlagen für eine 3D-Modellierung. Beim Life Cell Imaging können z.B. Transportprozesse in einer Zelle mithilfe des Fluorophors in Echtzeit verfolgt werden. Die 3D-Modellierung kann auf der Grundlage erfolgen, dass Bilder über verschiedene z-Ebenen hinweg aufgenommen werden können. So erhält man einen Querschnitt der Zelle aus verschiedenen Ebenen, die nachher zu einem 3-Modell gerendert werden können [2].

[1] http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9b/Konfokal_mikroskop_prinzip.svg

[2]: <http://de.wikipedia.org/wiki/Konfokalmikroskop>

[3]: <http://www.konfokalmikroskop.de/>

[4]: <http://de.wikipedia.org/wiki/Laser-Scanning-Mikroskop>