

X WORKSHOP TEÓRICO-PRÁTICO DO

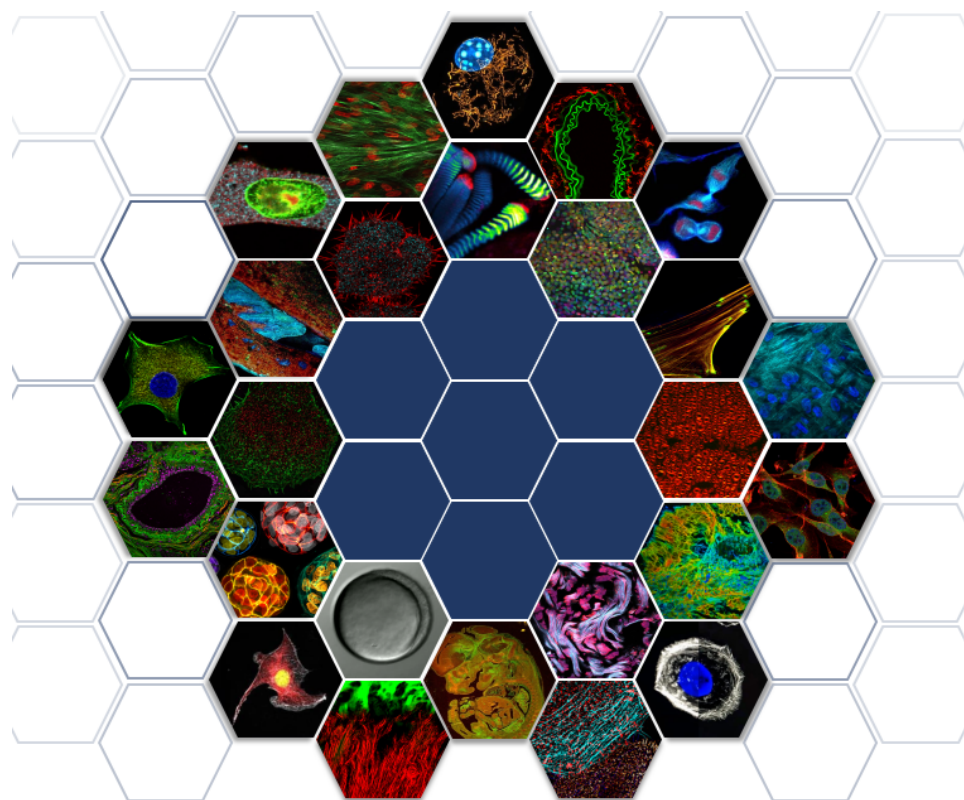
INFABIC

17-21 e 24-27 de outubro de 2022

ESCOLA • PRÁTICAS • MINICURSO IMAGEJ/FIJI

Inscrições em: inct-infabic.net.br





X WORKSHOP TEÓRICO-PRÁTICO DO

INFABIC

17-21 e 24-27 de outubro de 2022

ESCOLA • PRÁTICAS • MINICURSO IMAGEJ/FIJI

Inscrições em: inct-infabic.net.br



MICROSCOPIAS ESPECIAIS: DIC, polarização, fluorescência

**Mariana Ozello Baratti
Vitor Bianchin Pelegati**

Microscopia de Luz

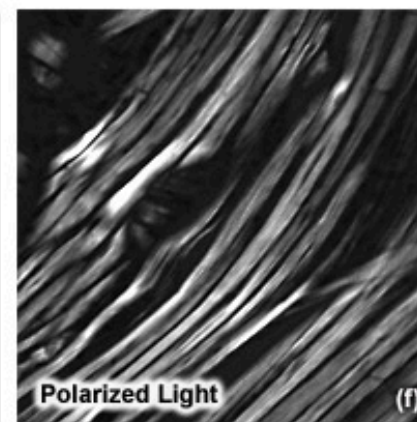
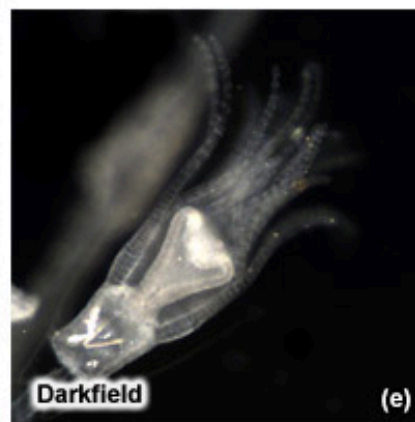
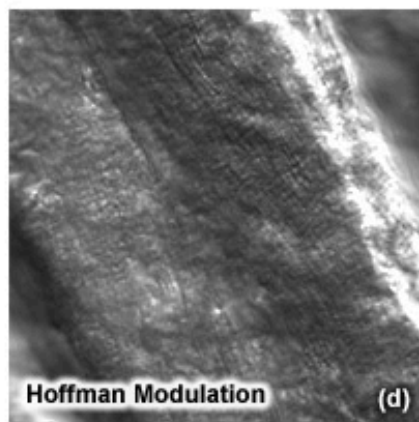
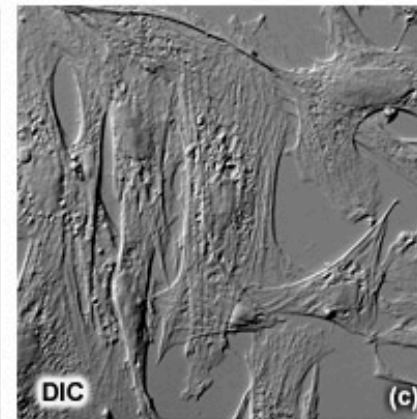
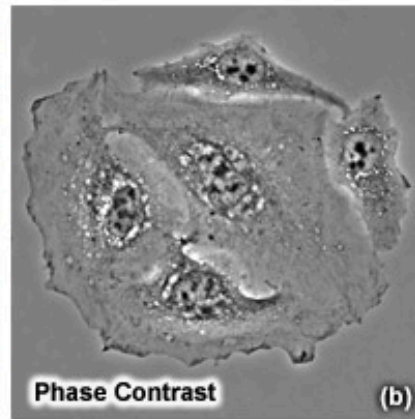
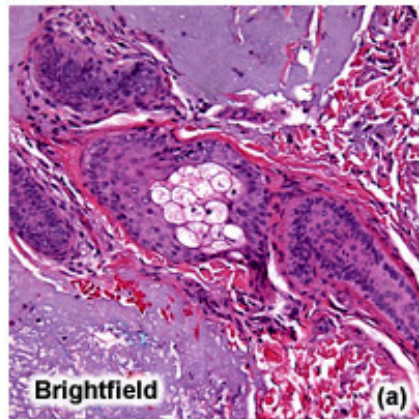
Uso de luz visível para observar



- Campo Claro – Bright Field
- Campo Escuro – Dark Field
- Contraste de Fase – Phase Contrast
- DIC (Differential Interference Contrast)
- Luz Polarizada
- Fluorescência

Microscopia de Luz

Uso de luz visível para observar



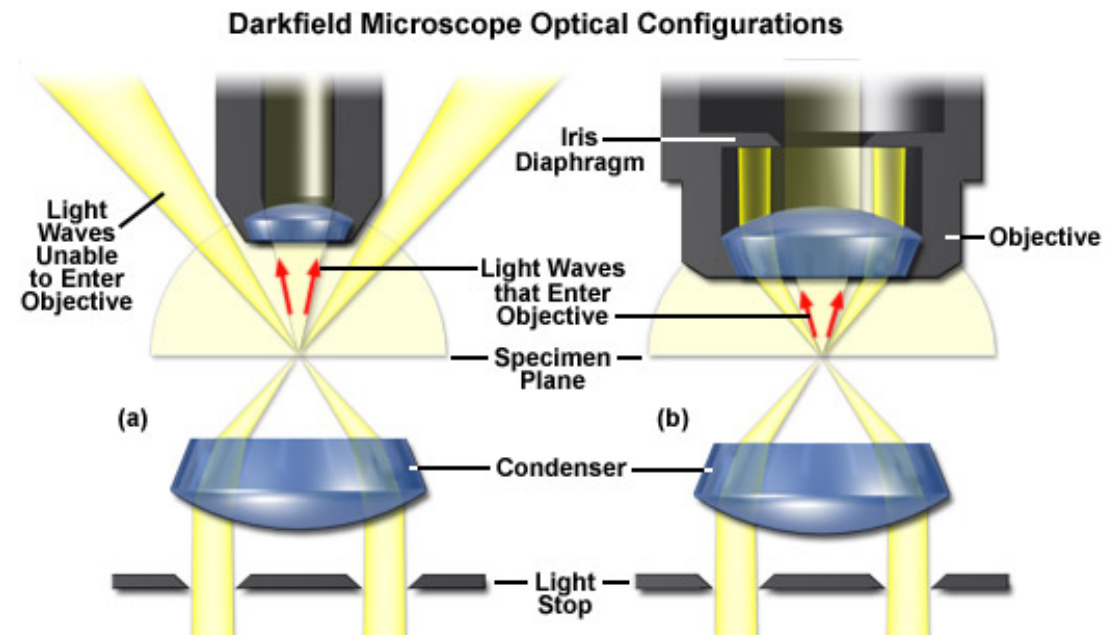
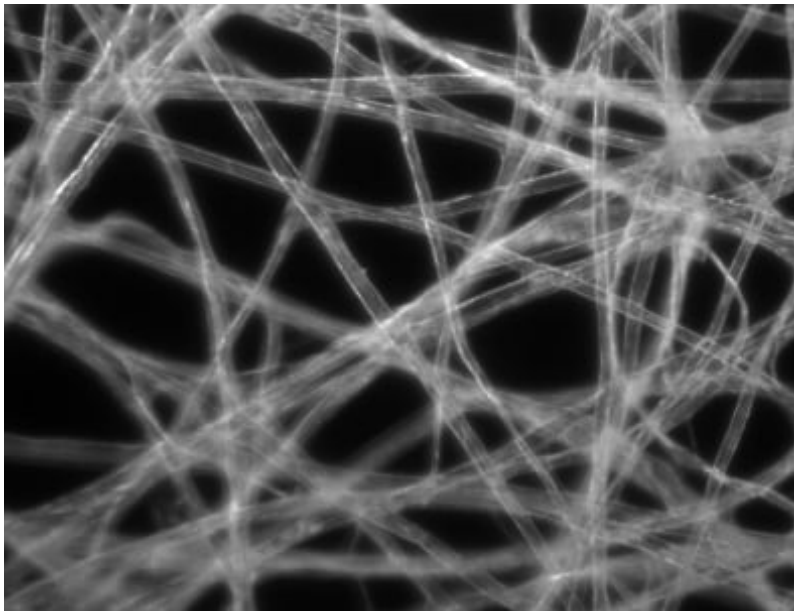
Microscopia de Campo Claro



- Iluminação transmitida, ou seja a luz passa pela amostra.
- Toda área é iluminada – ajustada para a iluminação de Köhler
- Ideal para amostras coradas (ex. Hematoxila e eosina, etc...)

Microscopia Campo Escuro – Dark Field

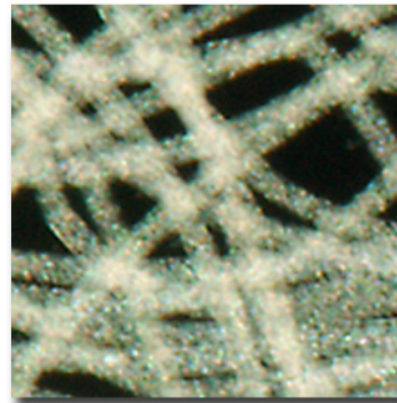
- Iluminação com condensador especial. Para transmitir um cone de luz oco que não entra na objetiva de forma direta.
- Fundo (background) fica escuro



Microscopia Campo Escuro – Dark Field



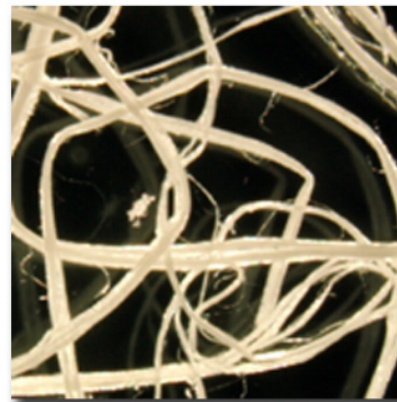
(a)



(b)



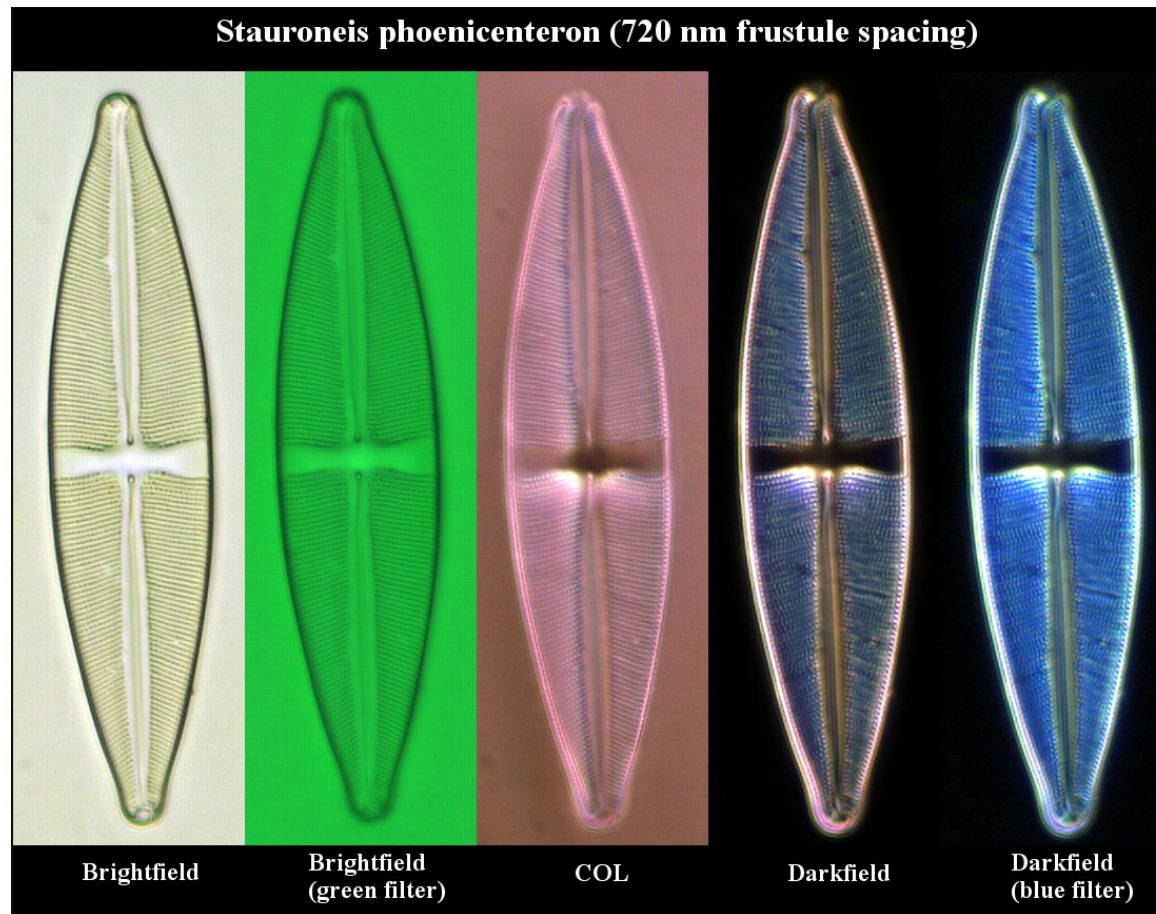
(c)



(d)

<https://www.microscopyu.com/techniques/stereomicroscopy/darkfield-illumination>

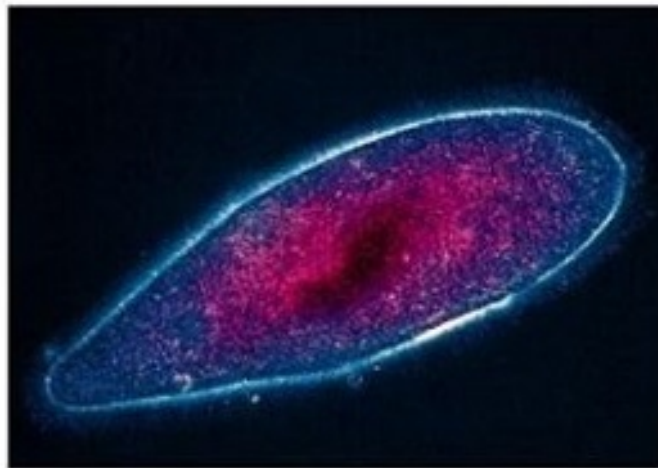
Combinações com filtros



Microscopia de Contraste de Fase – Phase Contrast



Brightfield



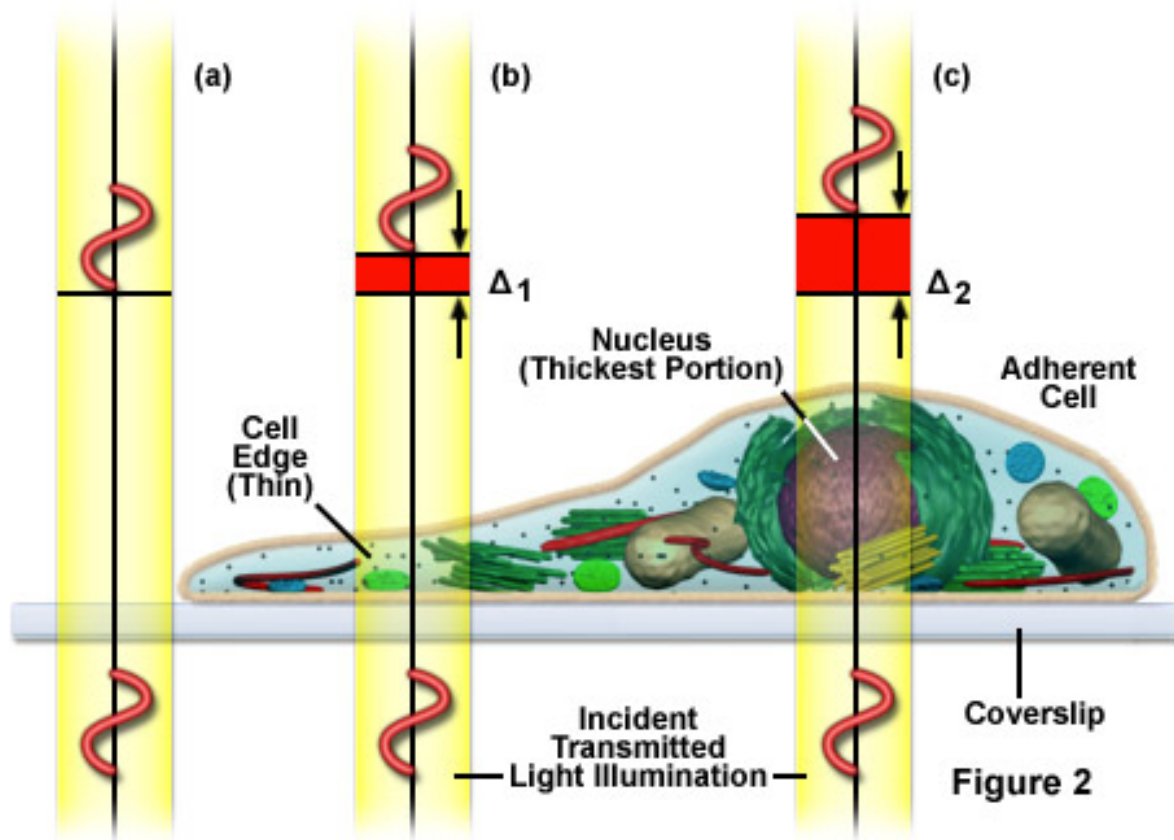
Darkfield



Phase-contrast

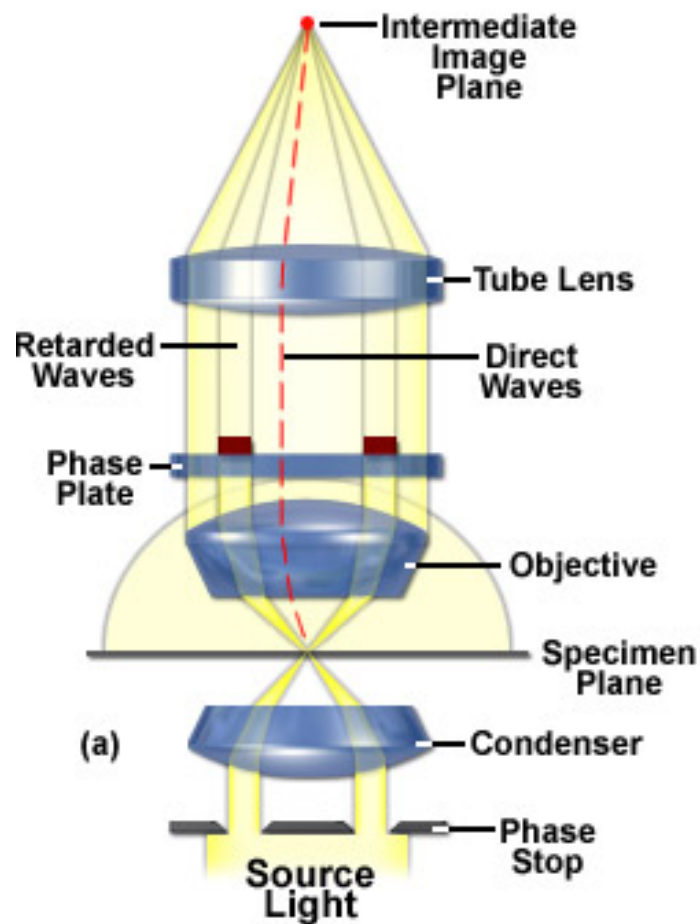
Microscopia de Contraste de Fase – Phase Contrast

Phase Contrast Imaging of Transparent Thin Specimens



- Espécimes finas não coradas não absorvem luz suficientes para ficarem visíveis com uso de campo claro, mas atrasam a fase da luz em aproximadamente $\frac{1}{4}\lambda$.
- Luz que não é desviada é adianta em $\frac{1}{4}\lambda$ em relação a luz que passa pela espécime. Diferença de $\frac{1}{2}\lambda$ causa interferência destrutiva e aumento de contraste.

Microscopia de Contraste de Fase – Phase Contrast



Phase Contrast Optical Train and Condenser Components

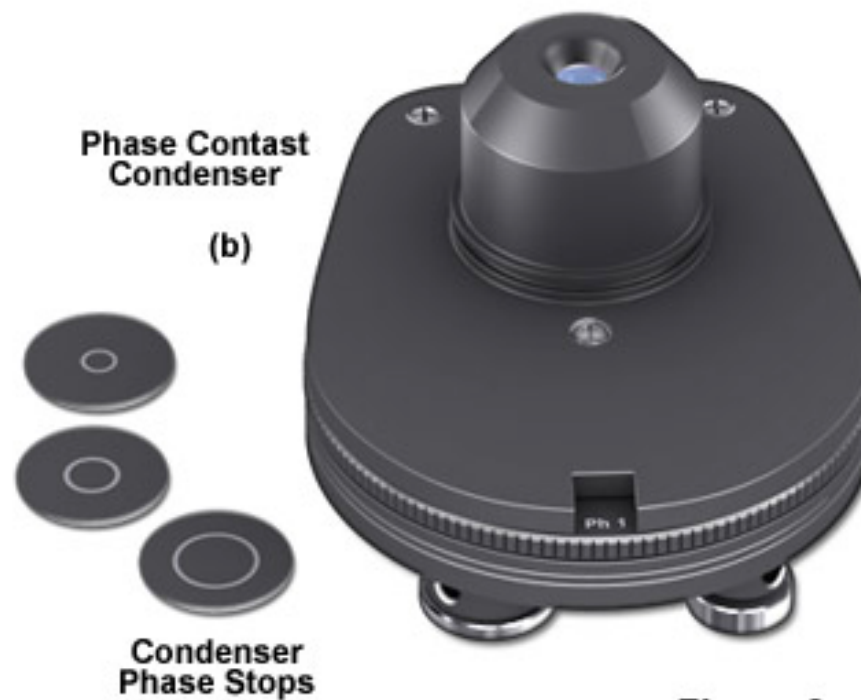
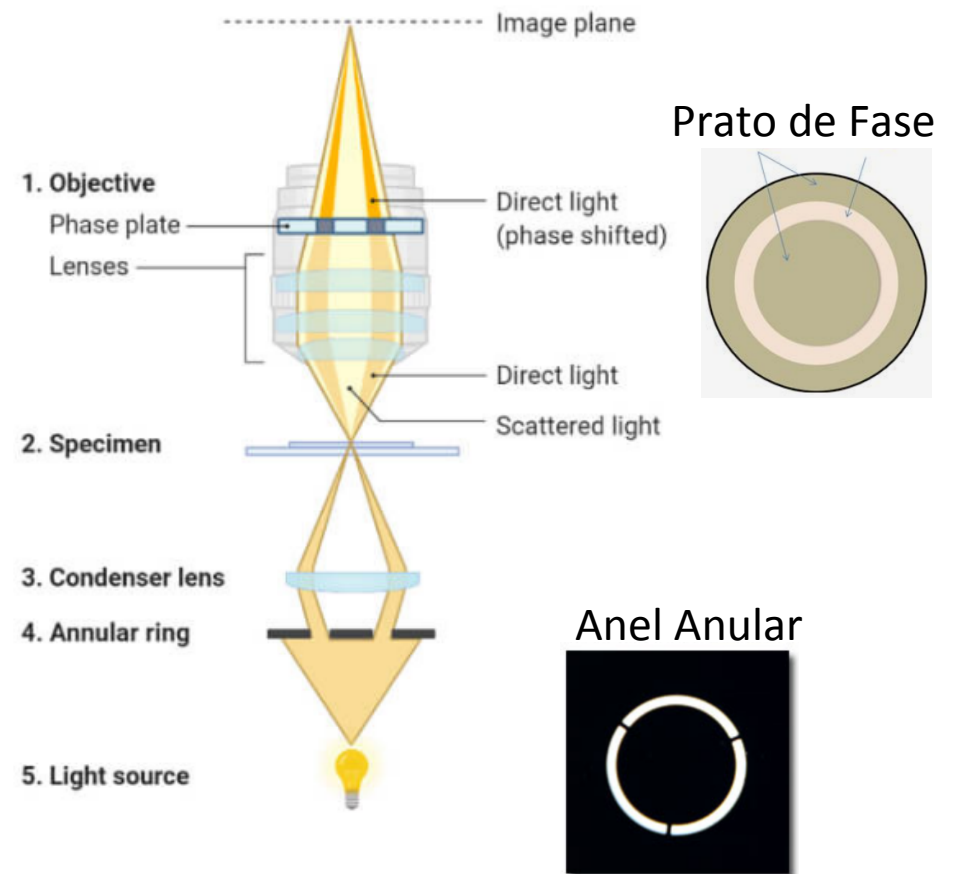


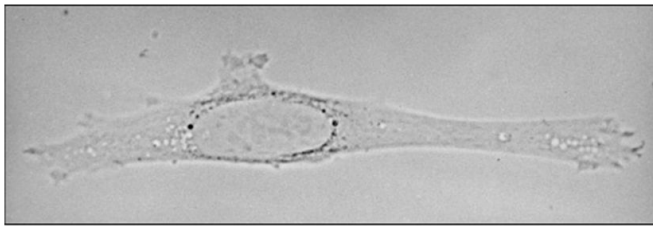
Figure 3

Microscopia de Contraste de Fase – Phase Contrast

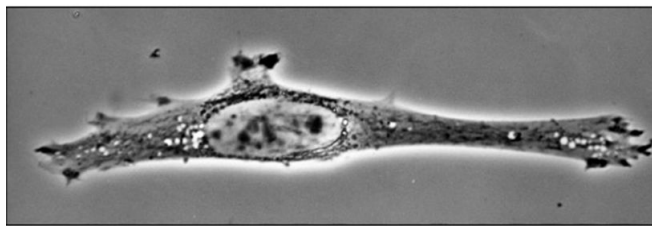
- Uso de interferência destrutiva é para melhorar o contraste das células e amostras transparentes finas.
- A iluminação é feita através de um anel anular colocado entre a luz e o condensador..
- Placa de fase (phase plate) colocada no fundo da objetiva.
- Raios não difratados passam pela ranhura da placa
- Resultado: melhor contraste nas imagens.



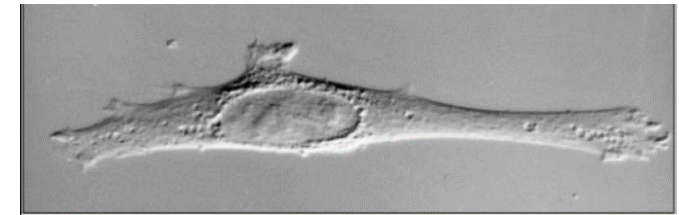
DIC – Differential Interference Contrast



Campo Claro



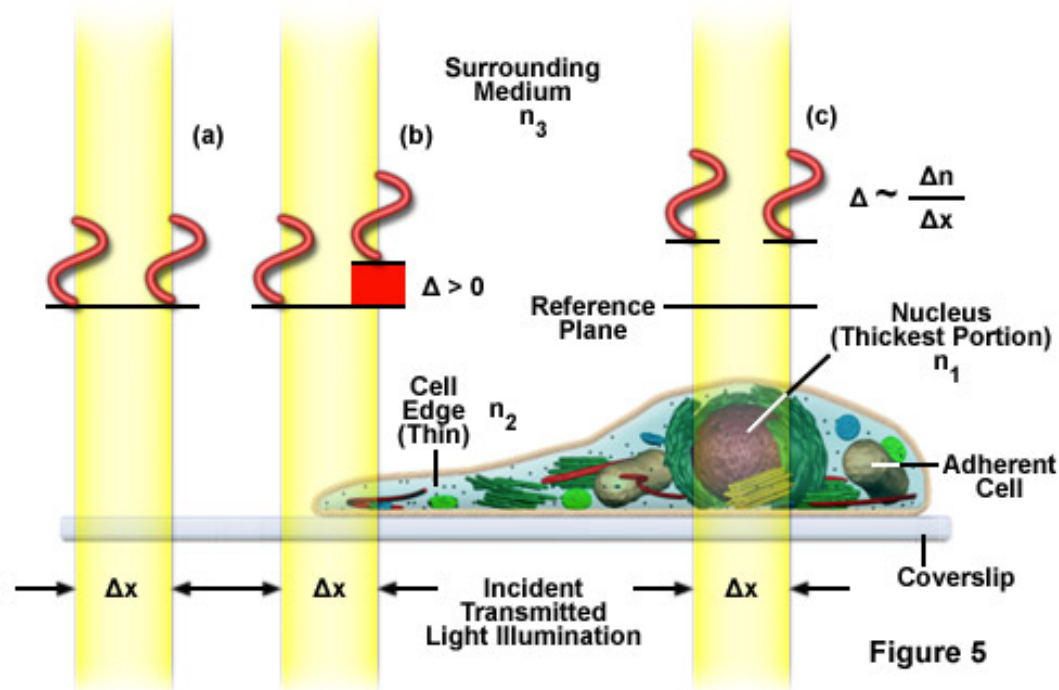
Contraste de fase



DIC

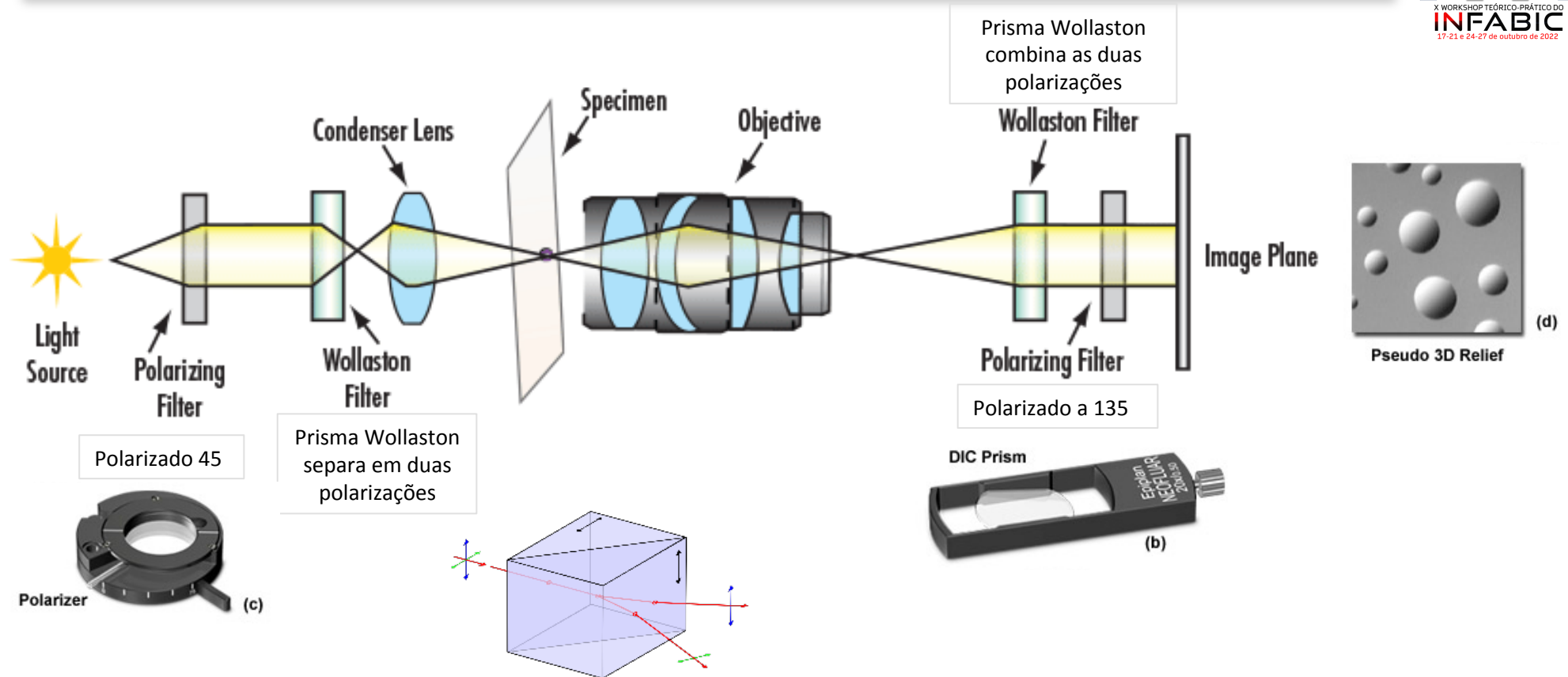
DIC – Differential Interference Contrast

Differential Interference Contrast Imaging of Transparent Thin Specimens



- Diferenças de gradiente e índice de refração em amostras finas
- Permite visualizar algumas organelas
- Pseudo aparência 3D

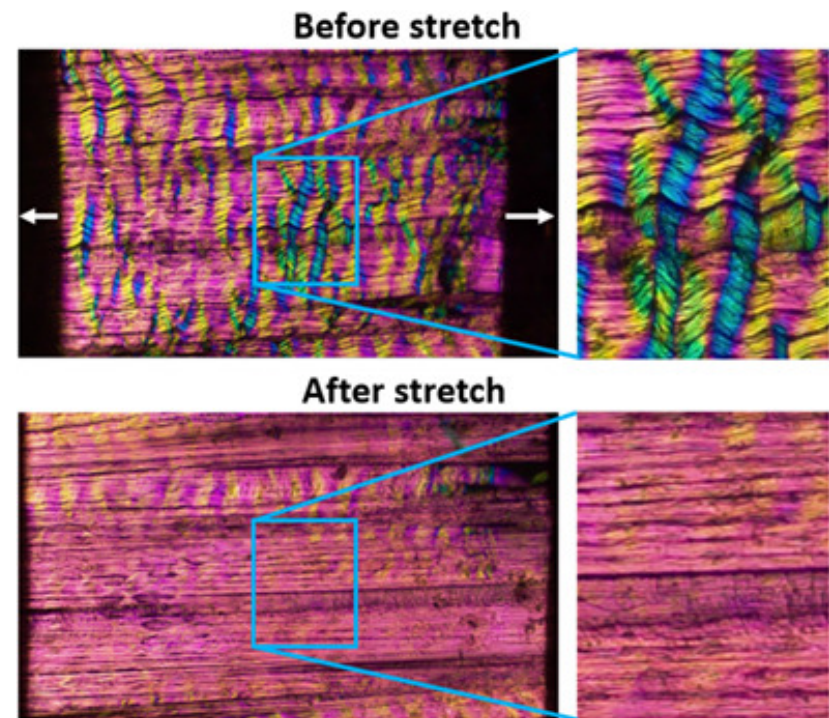
DIC – Differential Interference Contrast



Microscopia de Luz Polarizada



- Aumenta contraste melhorando a qualidade de imagens de materiais birefringentes.
- Alto grau de sensibilidade podendo ser usado para estudos quantitativos e qualitativos.



Microscopia de Luz Polarizada



Polarized Light Microscope Optical Pathways and Components

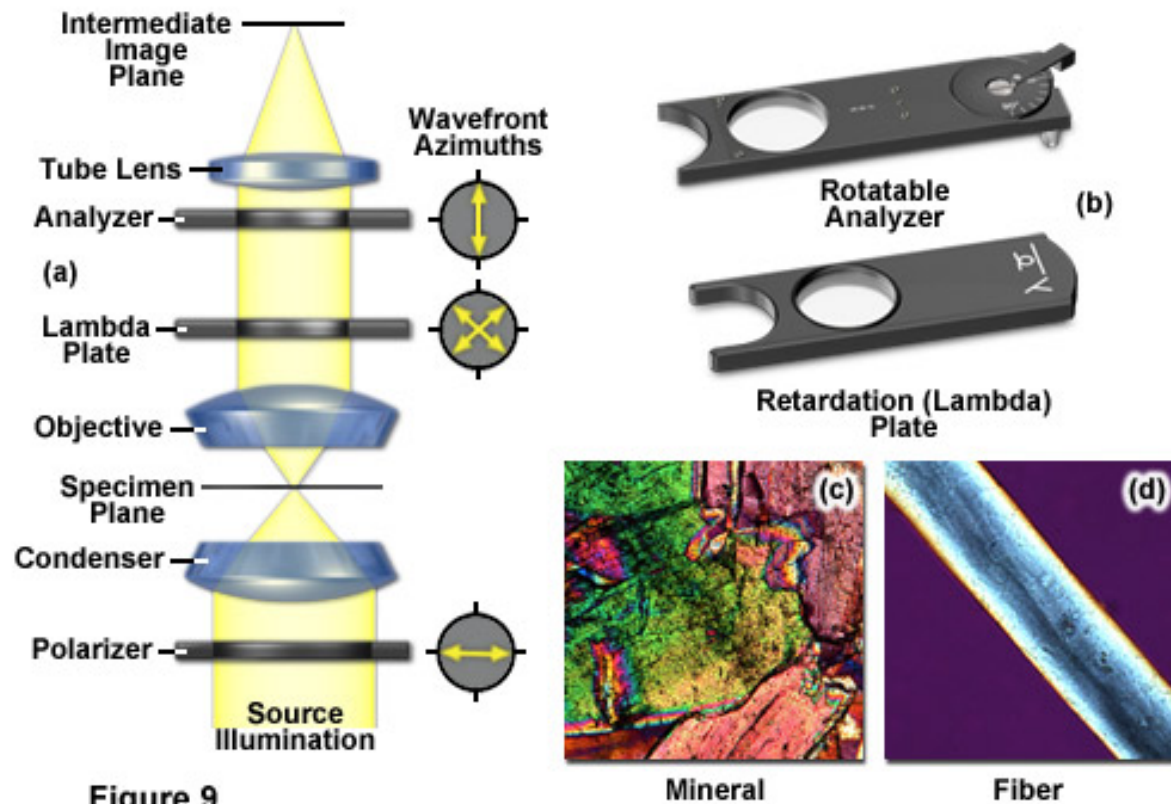


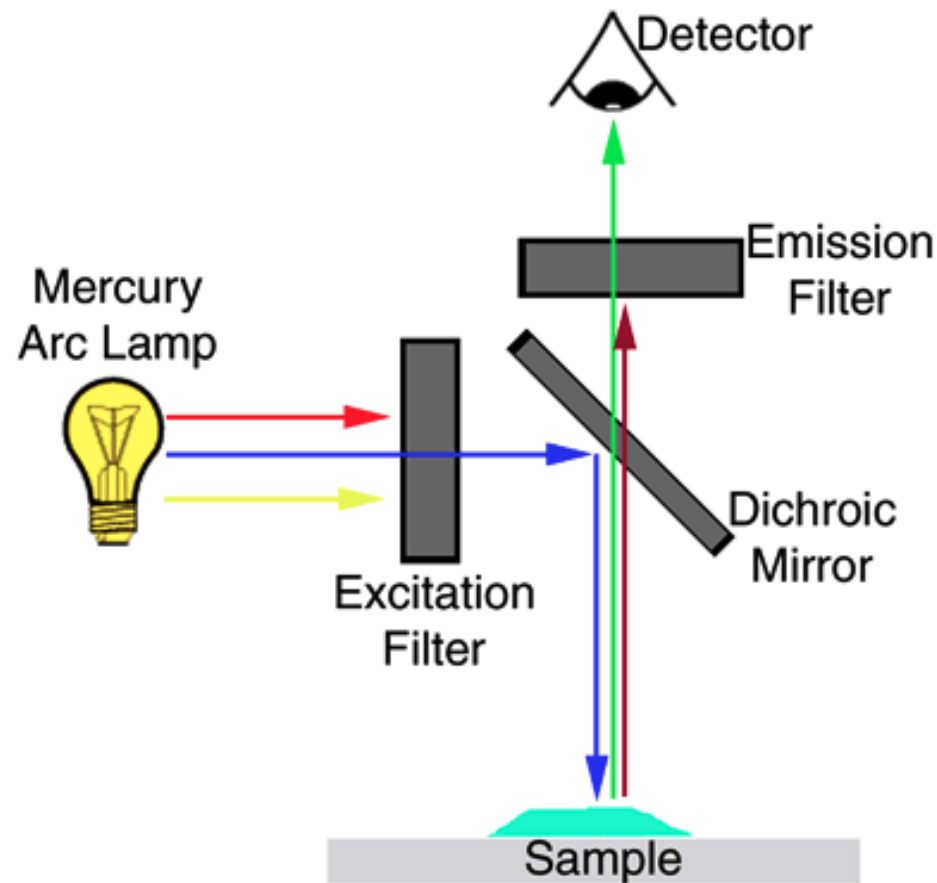
Figure 9

Microscopia de Fluorescência



- Alto contraste
- Alta sensibilidade
- Multipla marcação
- Análise de amostras fixadas ou vivas
- Alta especificidade de marcação
- Rapidez na aquisição da imagem

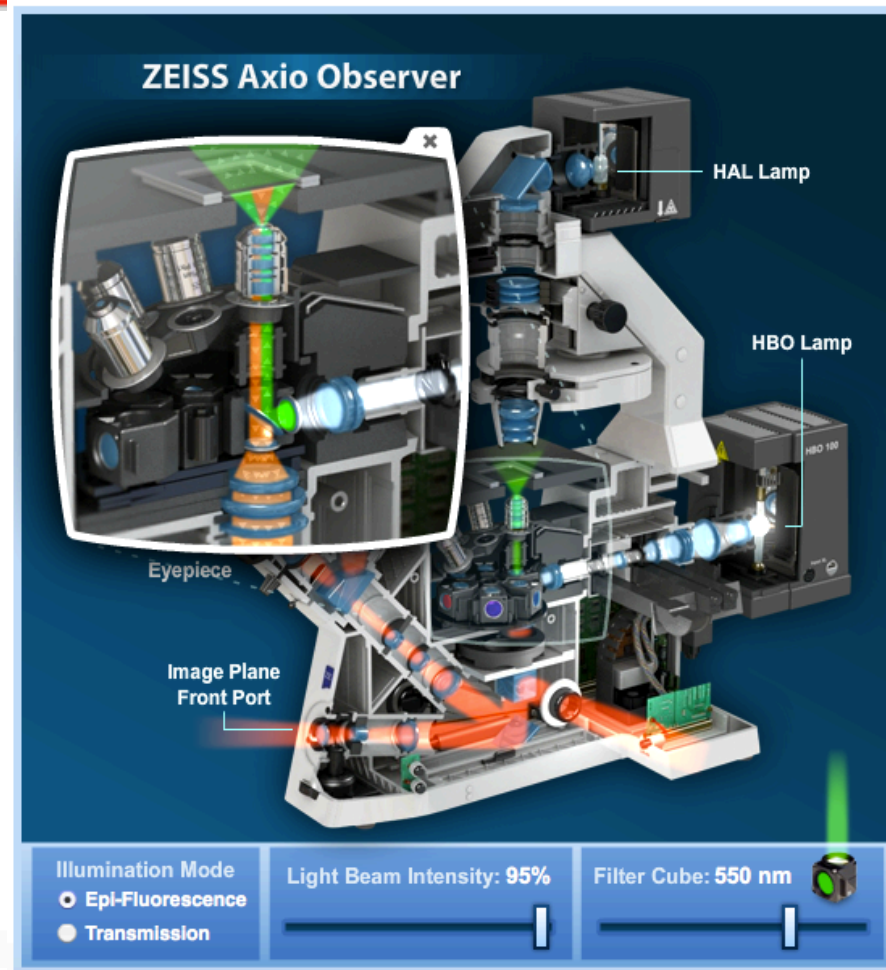
Microscopia de Fluorescência



Microscopia de Fluorescência



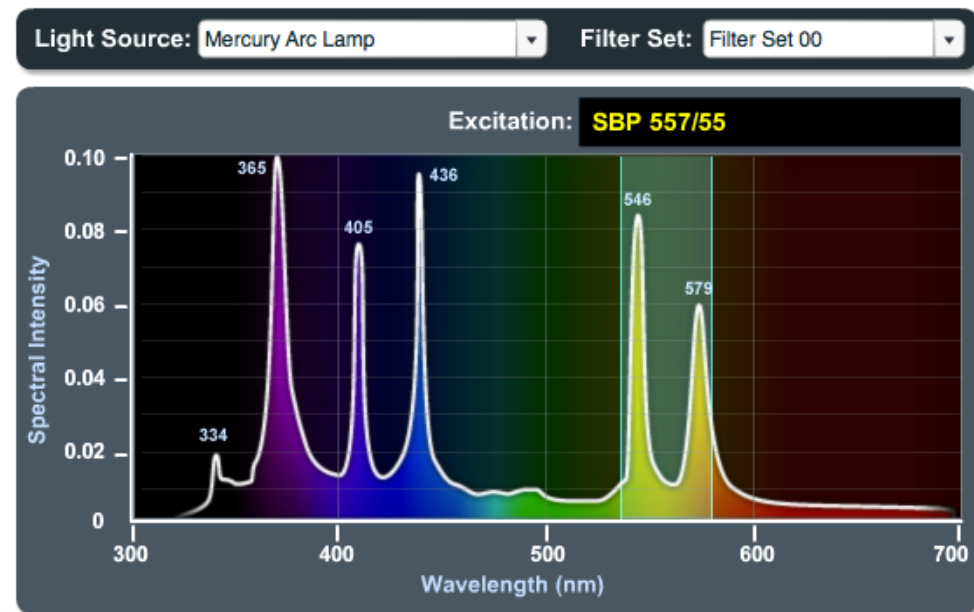
Microscopia de Fluorescência



Fontes de Iluminação



Lâmpadas Fluorescentes: Mercúrio, LED, Xenon etc...

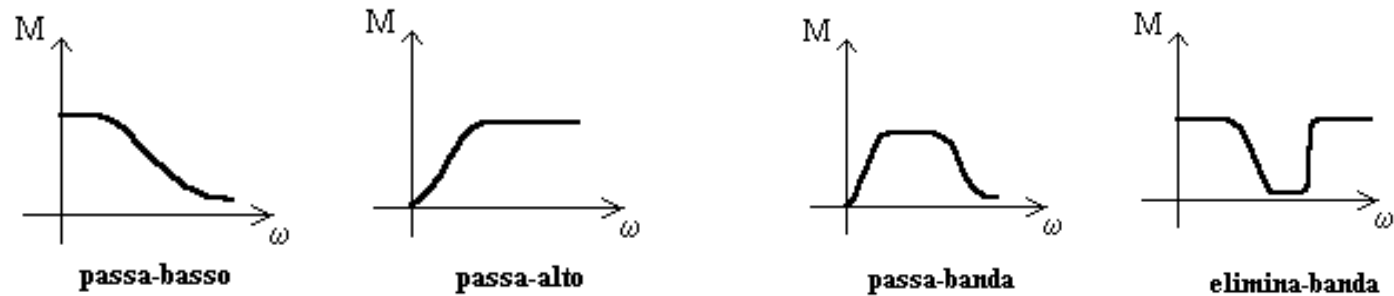


Filtros

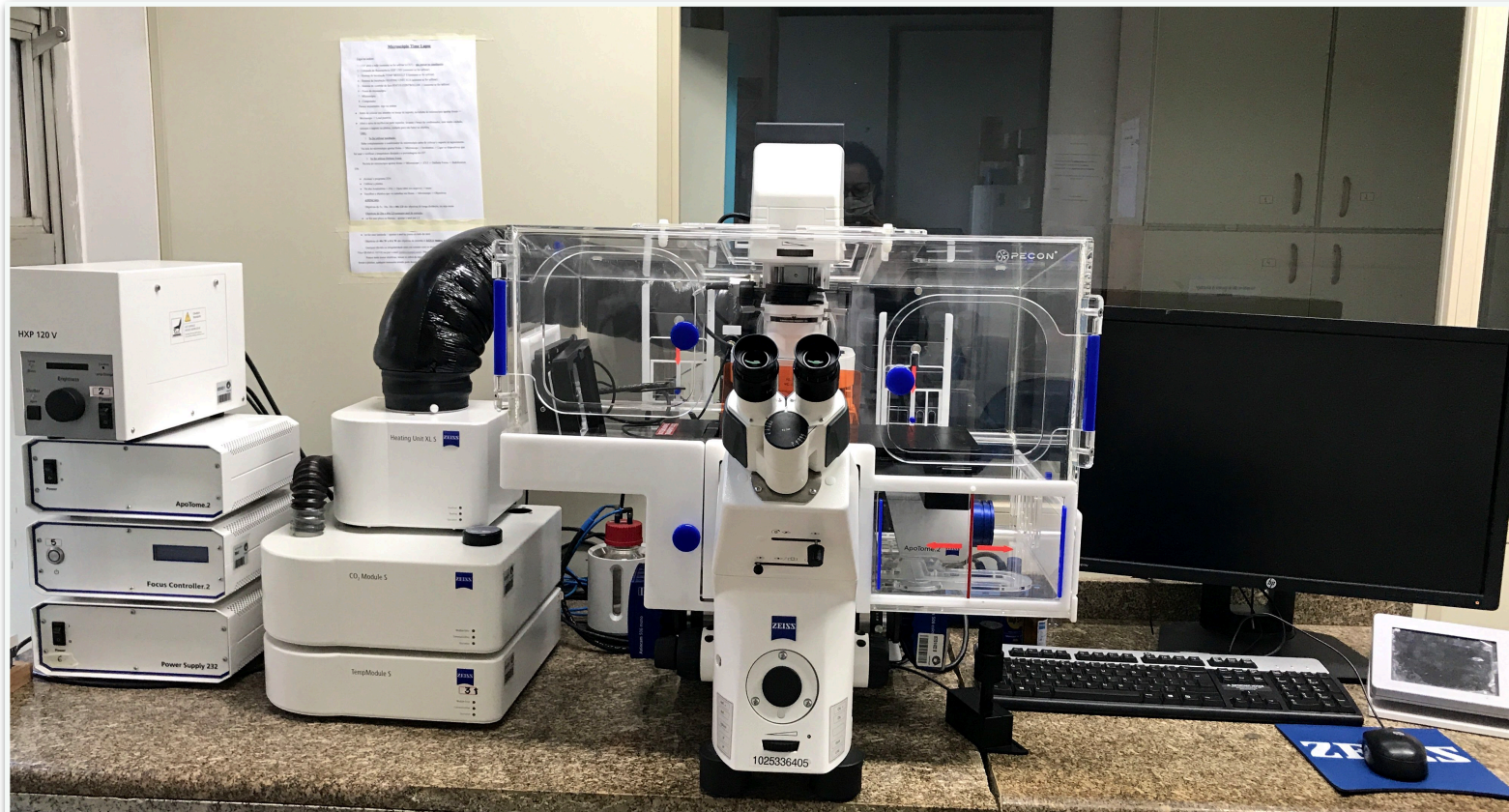
Fluorescence Filter Set Configurations



Figure 8



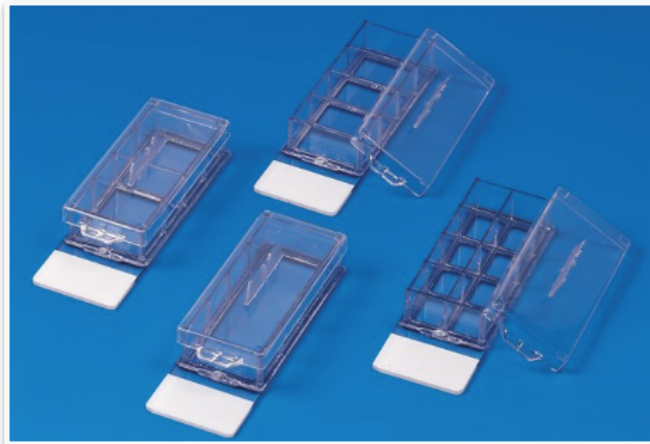
Microscópio Invertido Fluorescência – Apotome



Controle de Temperatura e CO2



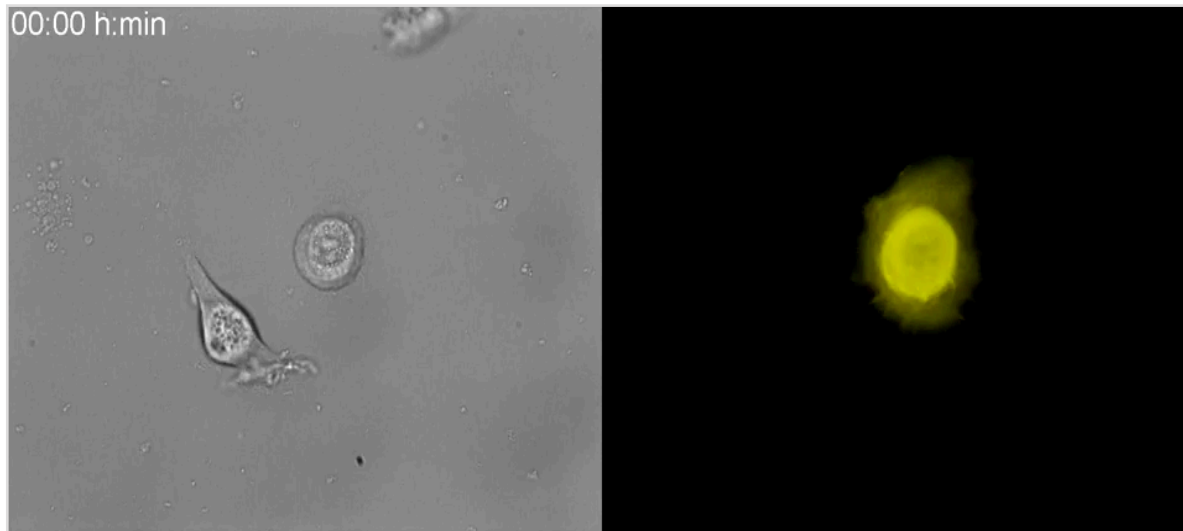
Placas de especificas



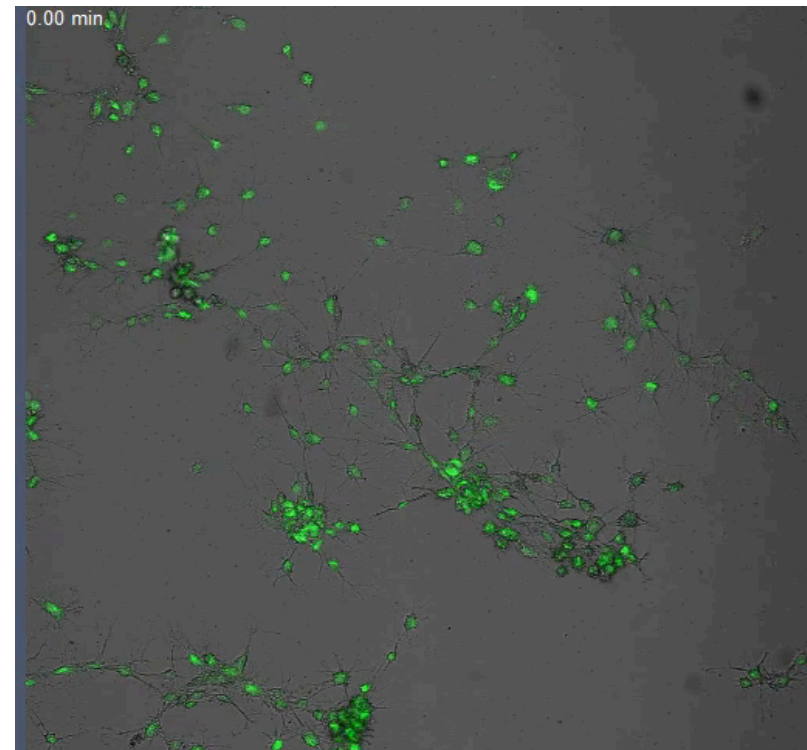
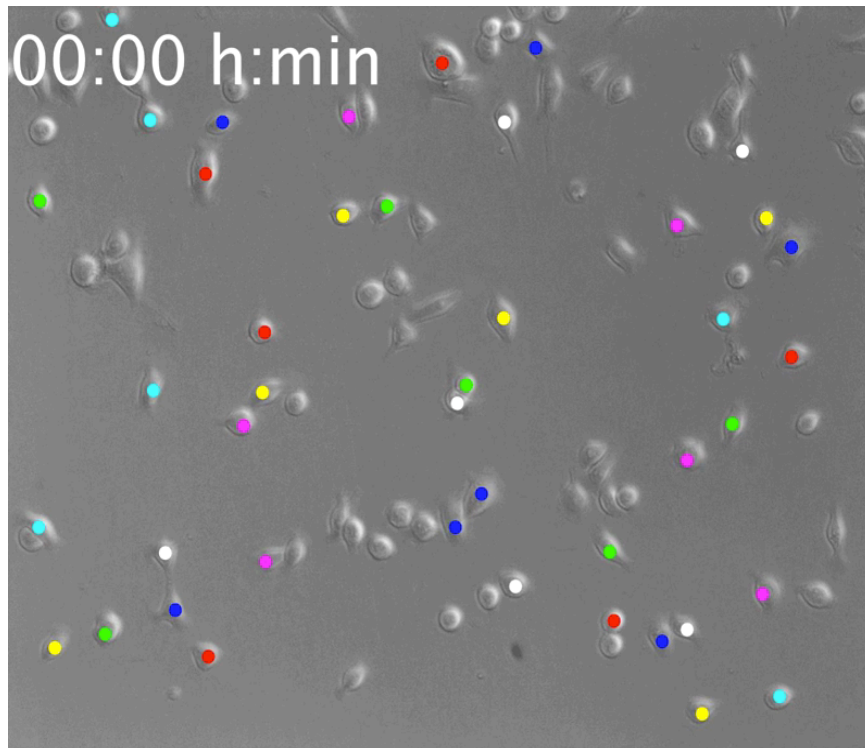
Microscopia de Fluorescência

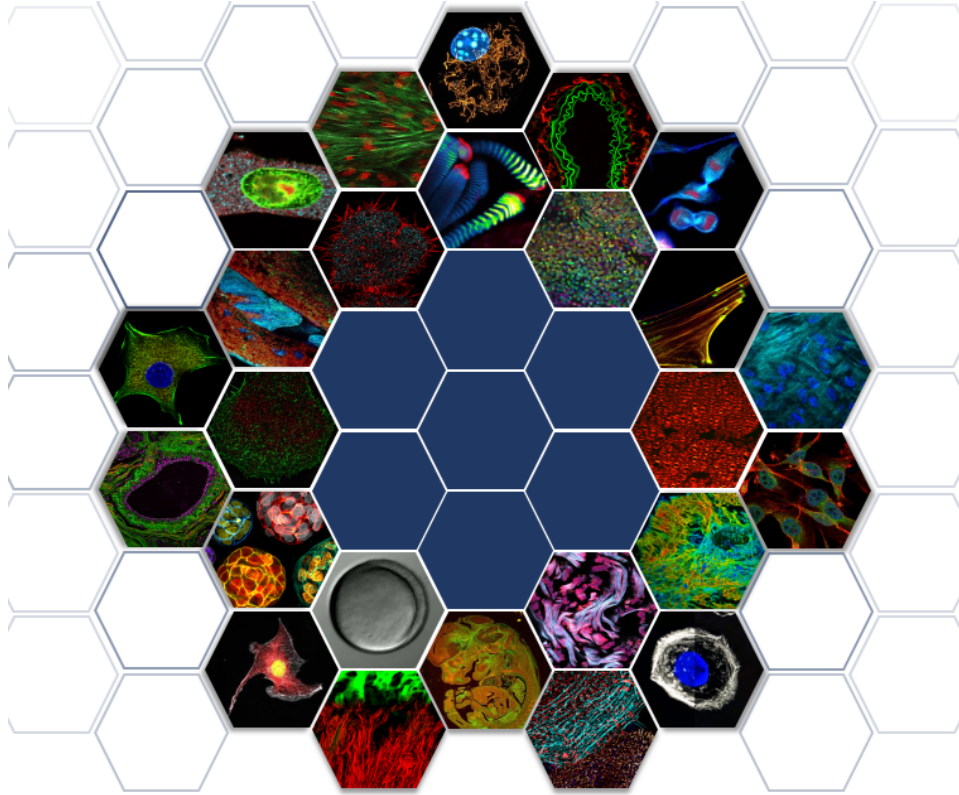


Time Lapse



Microscopia de Fluorescência





X WORKSHOP TEÓRICO-PRÁTICO DO

INFABIC

17-21 e 24-27 de outubro de 2022

ESCOLA • PRÁTICAS • MINICURSO IMAGEJ/FIJI

Inscrições em: inict-infabic.net.br



<https://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/index.html>