

# Over fluorescentie

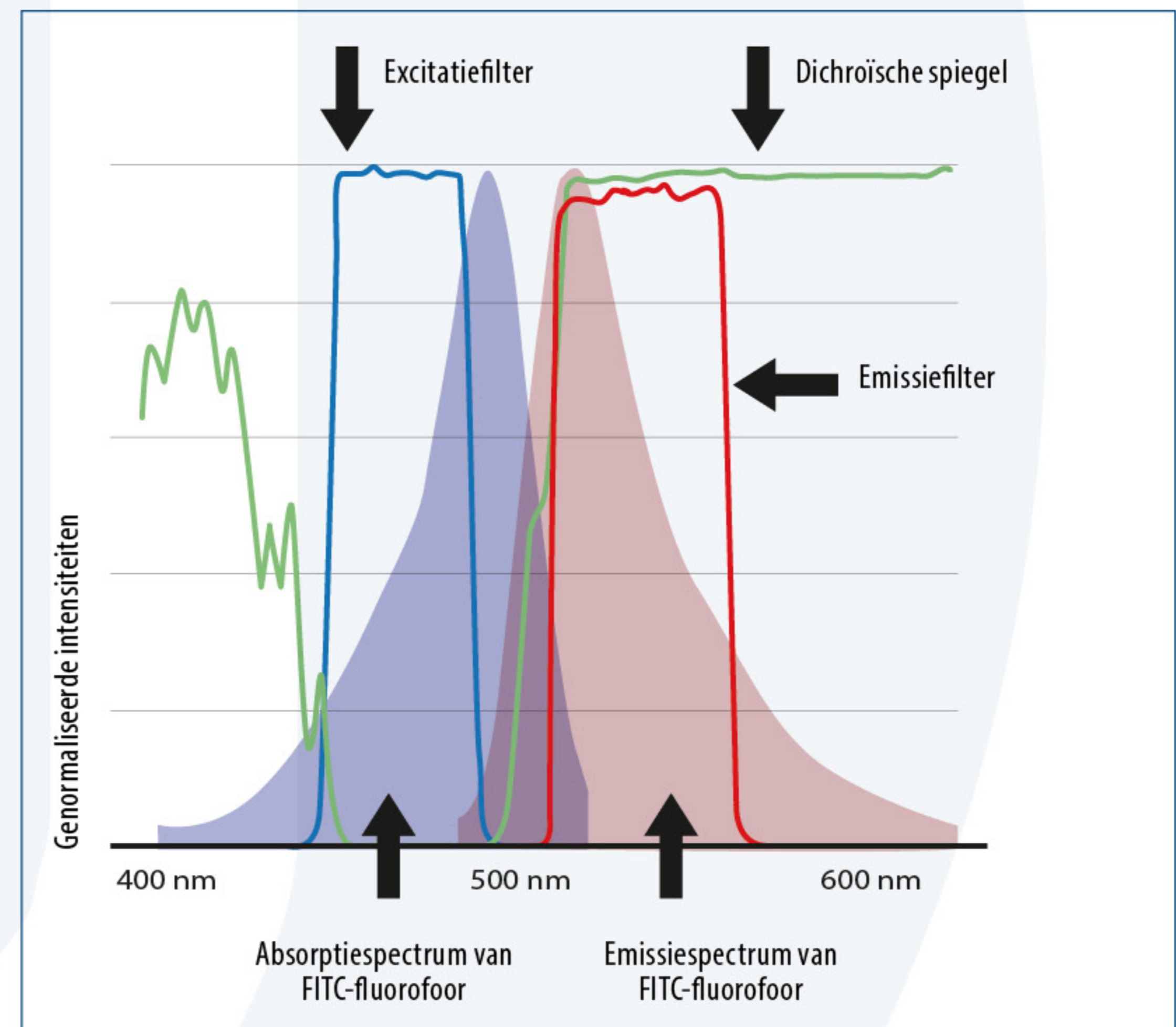
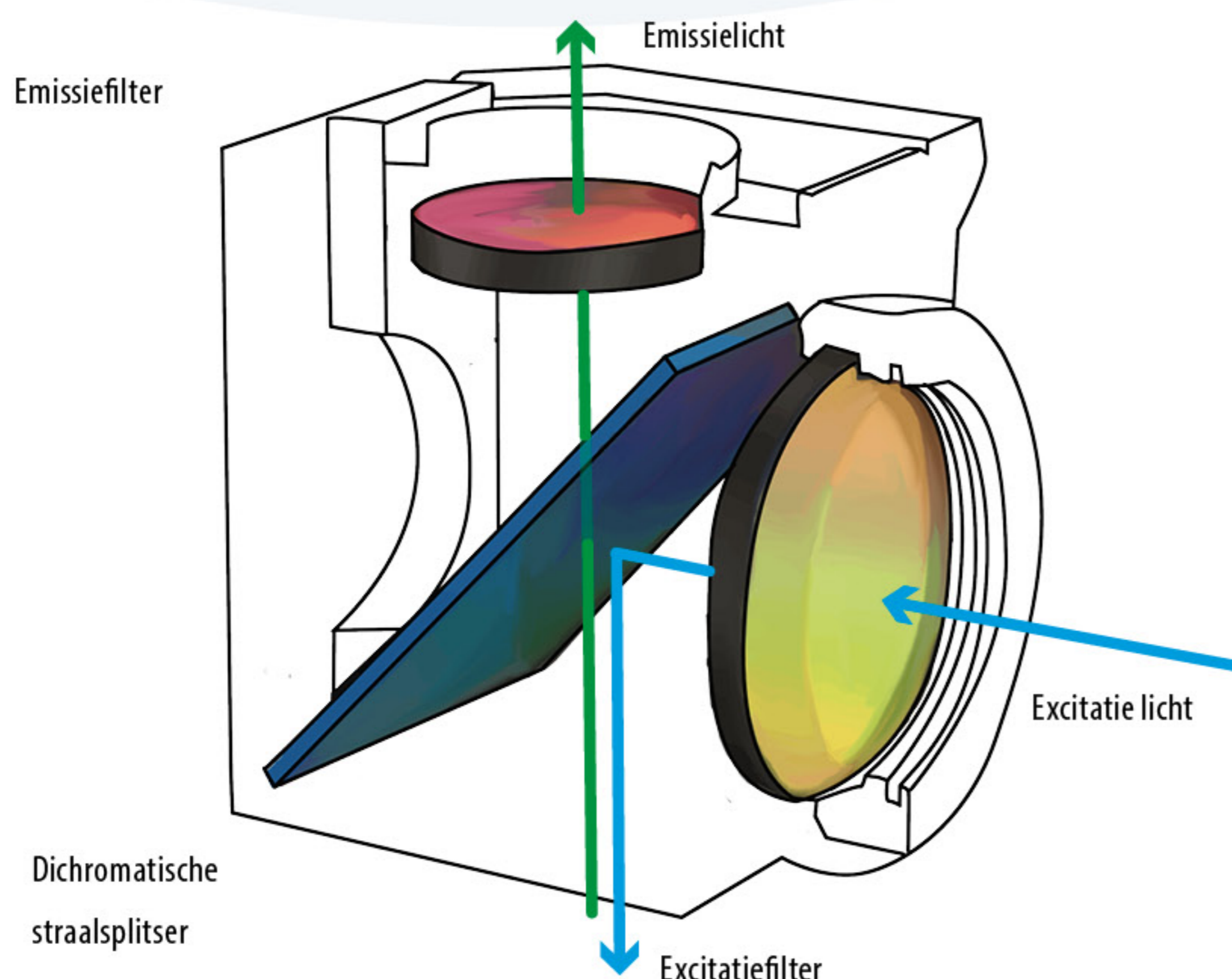
Het heeft vele jaren geduurd – sinds de ontdekking door Osamu Shimomura van de eerste eiwitten aequorine en groen fluorescerend eiwit (GFP) in de bioluminescente kwal *Aequorea Victoria* rond de jaren zestig – om een specifieke fluorescentiemicroscopie te ontwikkelen voor het maken van beelden van levende cellen, wat essentiële vooruitgang in de medische en biologische wetenschappen mogelijk heeft gemaakt. Tegenwoordig is het een belangrijk hulpmiddel geworden in de biowetenschappen en materiaalkunde

## INLEIDING TOT FLUORESCENTIE MICROSCOPIE

Fluorescentie is het fenomeen waarbij een fluorofor (chemische verbinding) na absorptie van specifieke excitatiefotonen vervolgens specifieke fotonen uitzendt. Fluorofor wordt gebruikt als kleurstof voor het kleuren van cellen, weefsels of materialen die onder een fluorescentiemicroscopie als markers kunnen worden waargenomen

## ONTWERP VAN EEN FLUORESCENTIE MICROSCOOP

De basisfunctie van een fluorescentiemicroscopie is om specifieke "excitatie"-golflengten op een gekleurd preparaat (met een specifieke fluorofor) te richten en de daaropvolgende zwakke emissiegolflengten op te vangen om de fluorescerende structuren op het netvlies van de ogen of op een beeldcamera zichtbaar te maken



Het excitatie licht van een microscoop voor fluorescentie wordt geleverd door een kwikdamplichtbron of een monochrome LED. De selectie van het specifieke fluorofor excitatie licht gebeurt door een zogenaamd emissie-interferentiefilter dat samen met een dichroïsche spiegel (straalsplitser) en het emissiefilter in een kubus is gemonteerd. Het gefilterde excitatie licht wordt verder door de dichroïsche spiegel via de objectieven naar het monster gereflecteerd

De fluorofor(en) in het monster absorberen deze excitatie-energie met een bepaalde efficiëntie (kwantumrendement) en beginnen de zogenaamde emissie-energie opnieuw uit te zenden, zichtbaar licht met langere golflengten dan het geabsorbeerde licht. Het emissielicht van het fluorescerende monster wordt opgevangen door het objectief, passeert de dichroïsche spiegel en wordt door het emissiefilter gescheiden van excitatie en andere ongewenste lichtgolflengten. Het gefilterde emissielicht wordt verder geprojecteerd naar de oculairs en/of de beeldsensor van de camera

