



Microscopia a Super Risoluzione applicata alla ricerca sulle malattie dell'apparato muscolo-scheletrico

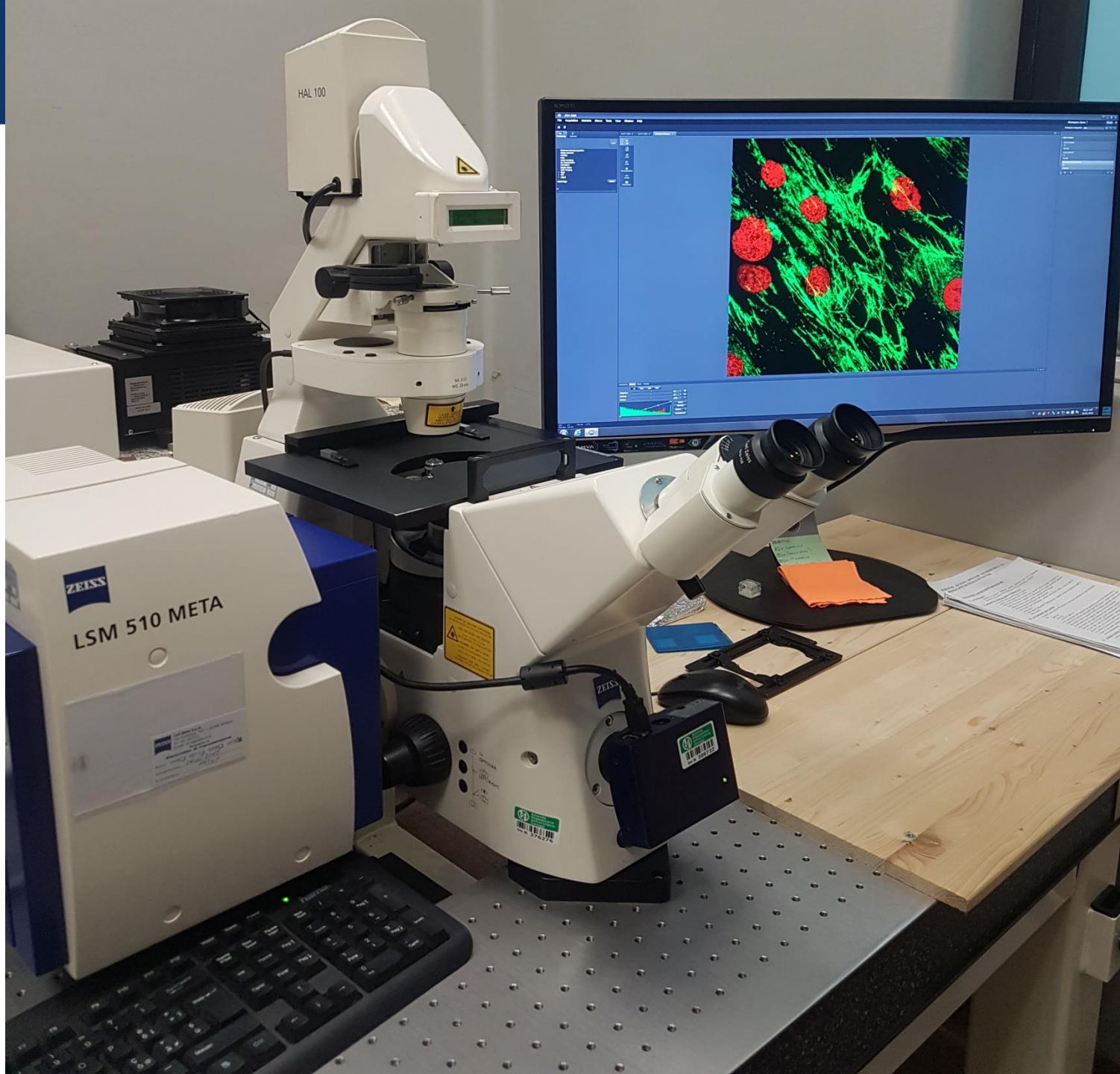
Dr.ssa Gaia Palmi

(Centro Denothe_UR2_Prof.ssa Maria Luisa Brandi_Dipartimento di Scienze
Biomediche, Sperimentali e Cliniche, Università degli Studi di Firenze)

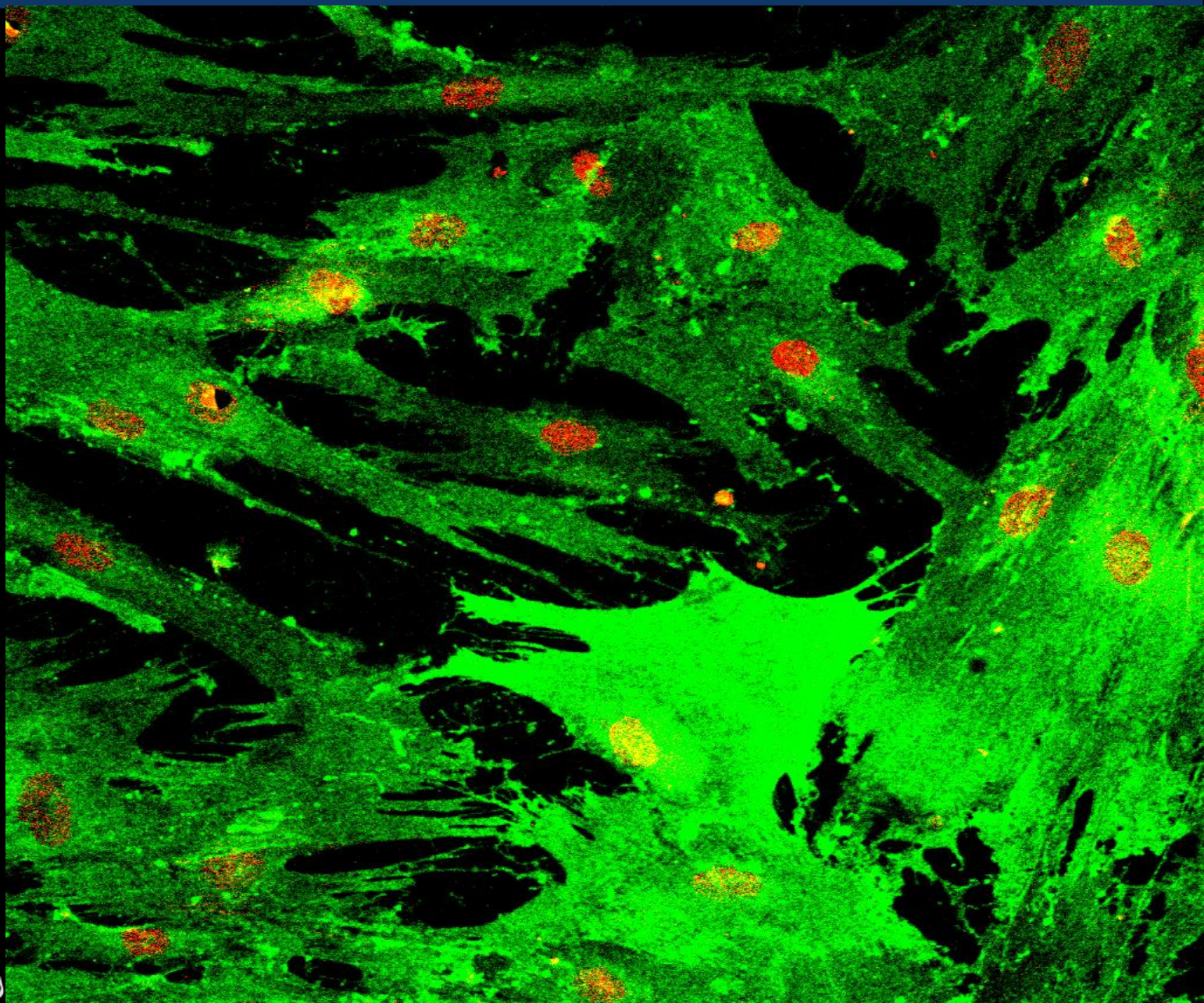




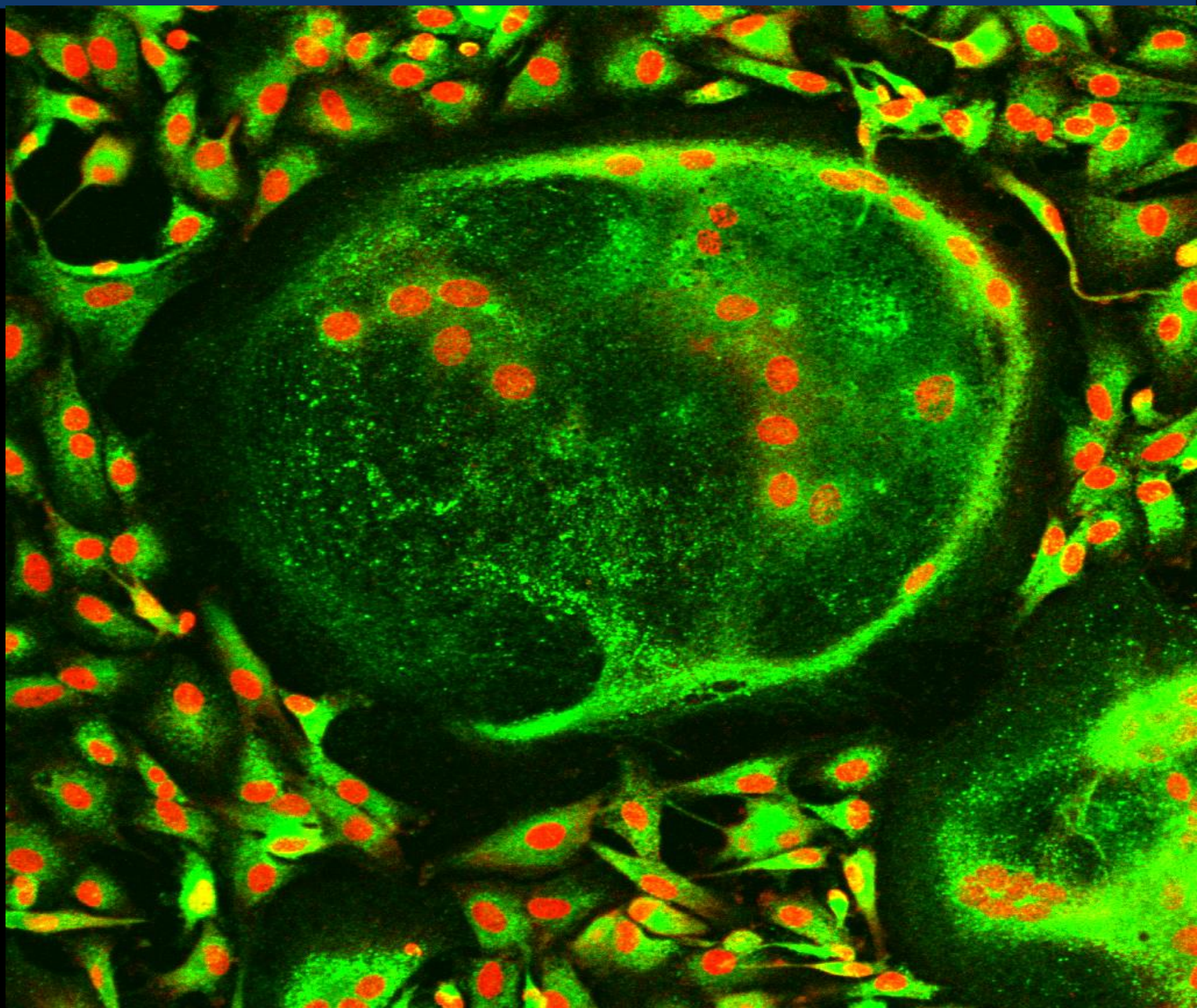
UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE



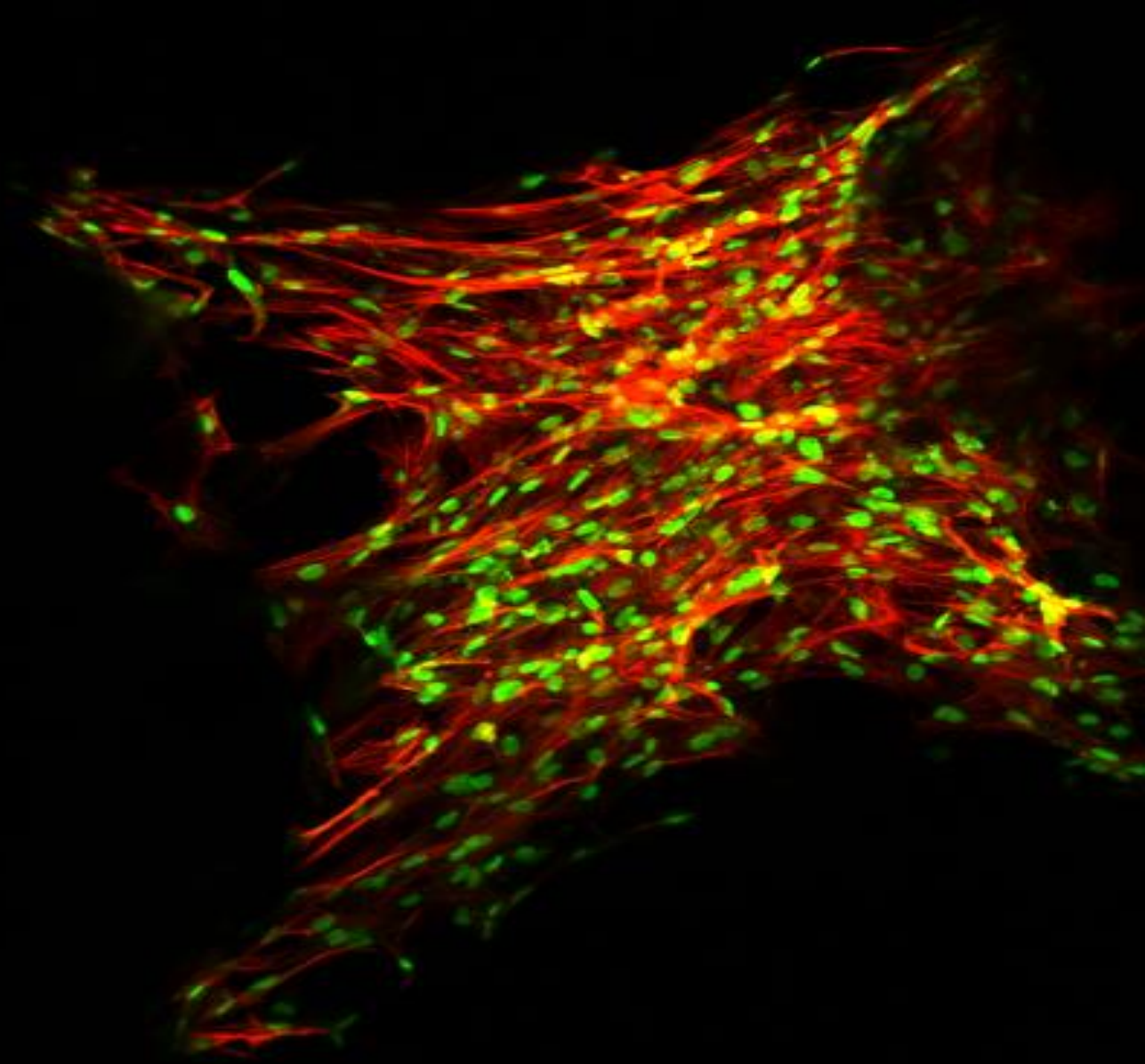
Espressione di
CD105 in una
linea di cellule
staminali
tumoral
di
Osteosarcoma.
In verde il
CD105. In
rosso i nuclei.
LSCM a colori
convenzionali.
Obiettivo 20x.



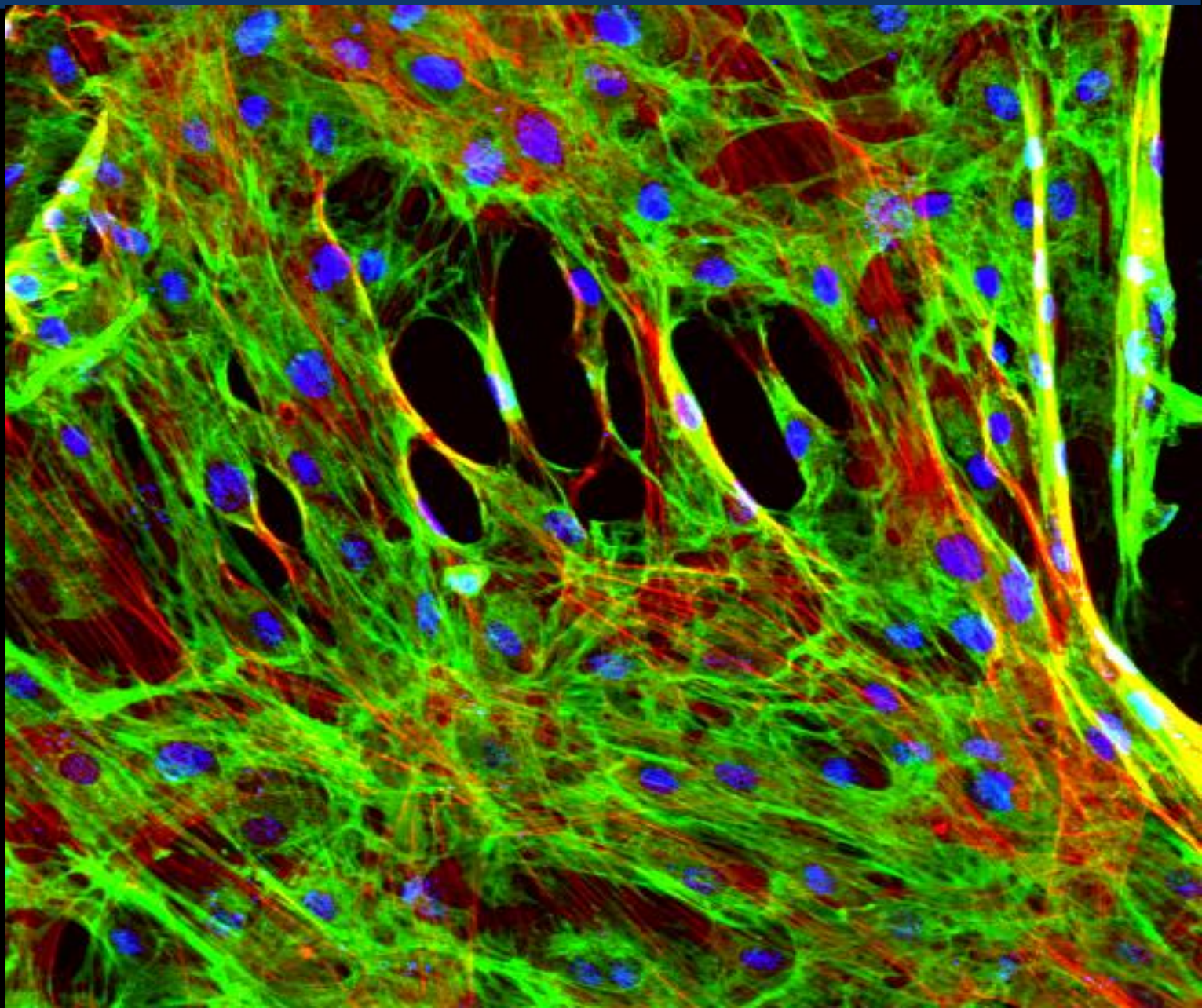
Coltura
primaria di
pre-osteoclasti
e di osteoclasti
maturi. In
verde
l'anticorpo
anti Fosfatasi
Acida. In rosso
i nuclei.
Osservazione
in LSCM a
colori
convenzionali.
Obiettivo 20x.



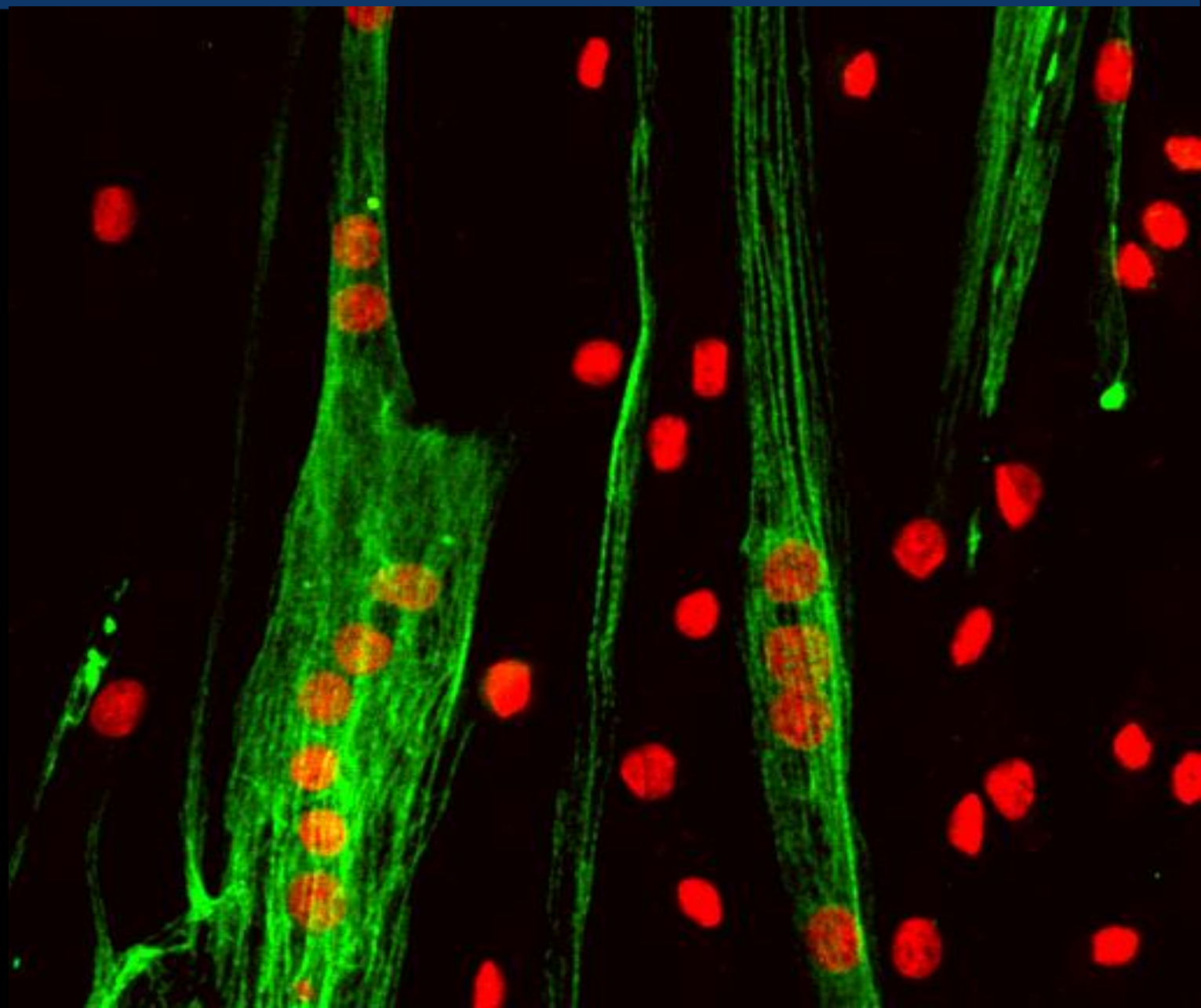
Cellule staminali
mesenchimali
cresciute su di un
biomateriale in
titanio. In verde i
nuclei e in rosso il
citoscheletro.
Osservazione in
LSCM a colori
convenzionali.
Obiettivo 20x.

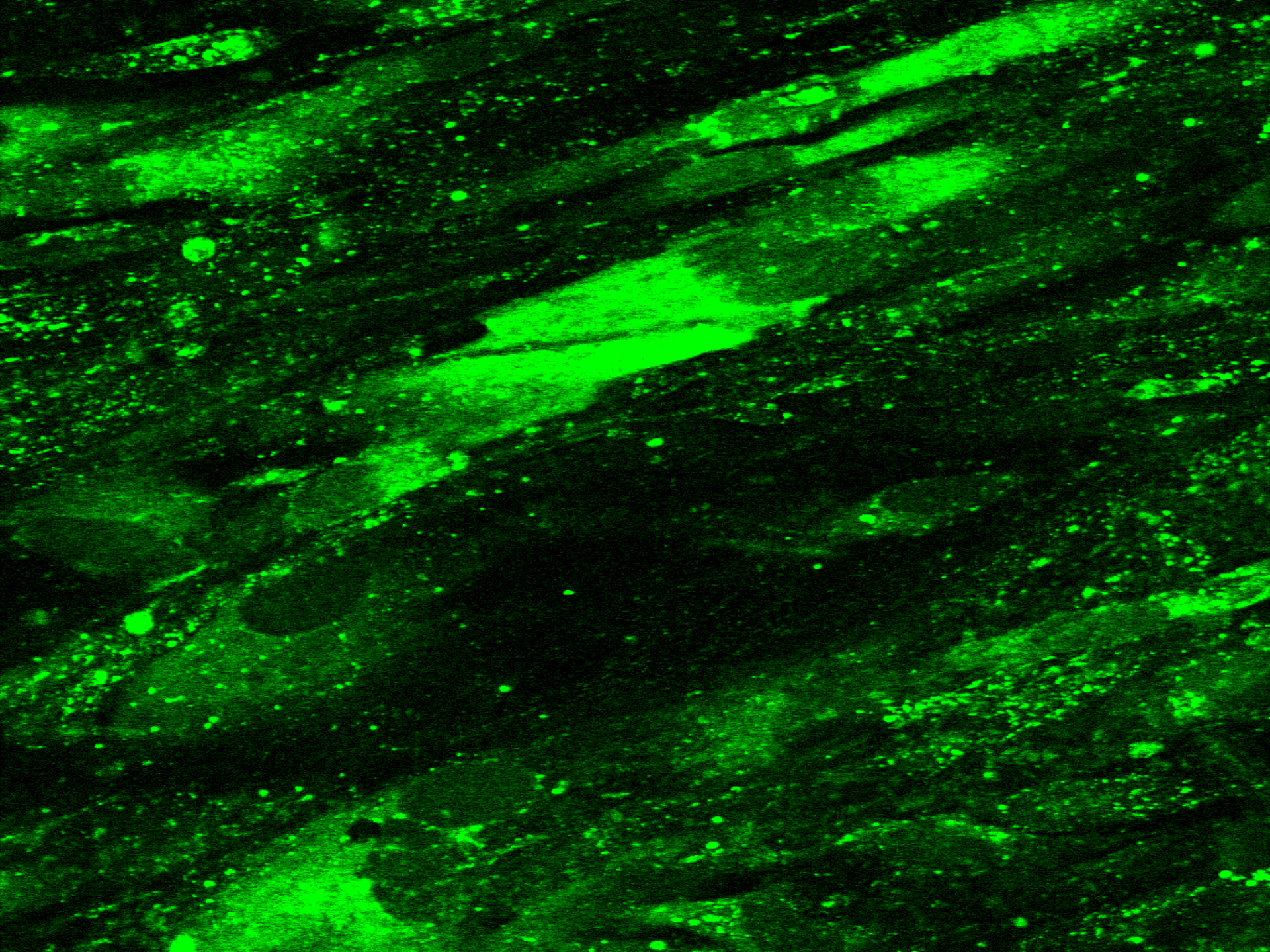


Cellule staminali
mesenchimali
cresciute su di un
biomateriale in
titanio. In verde la
fibronectina, in
rosso il
citoscheletro e in
blu i nuclei.
Osservazione in
LSCM a colori
convenzionali.
Obiettivo 20x.



Cellule satellite
differenziate in
miotubuli. In
verde la Miosina
Heavy Chain e in
rosso nuclei.
Osservazione in
LSCM a colori
convenzionali.
Obiettivo 20x.

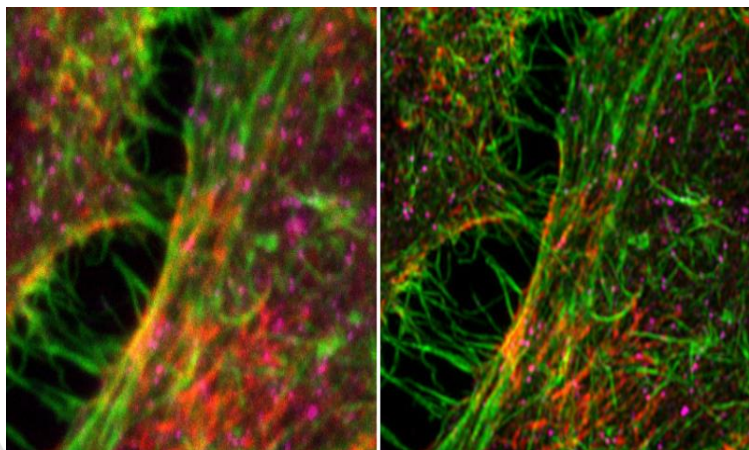




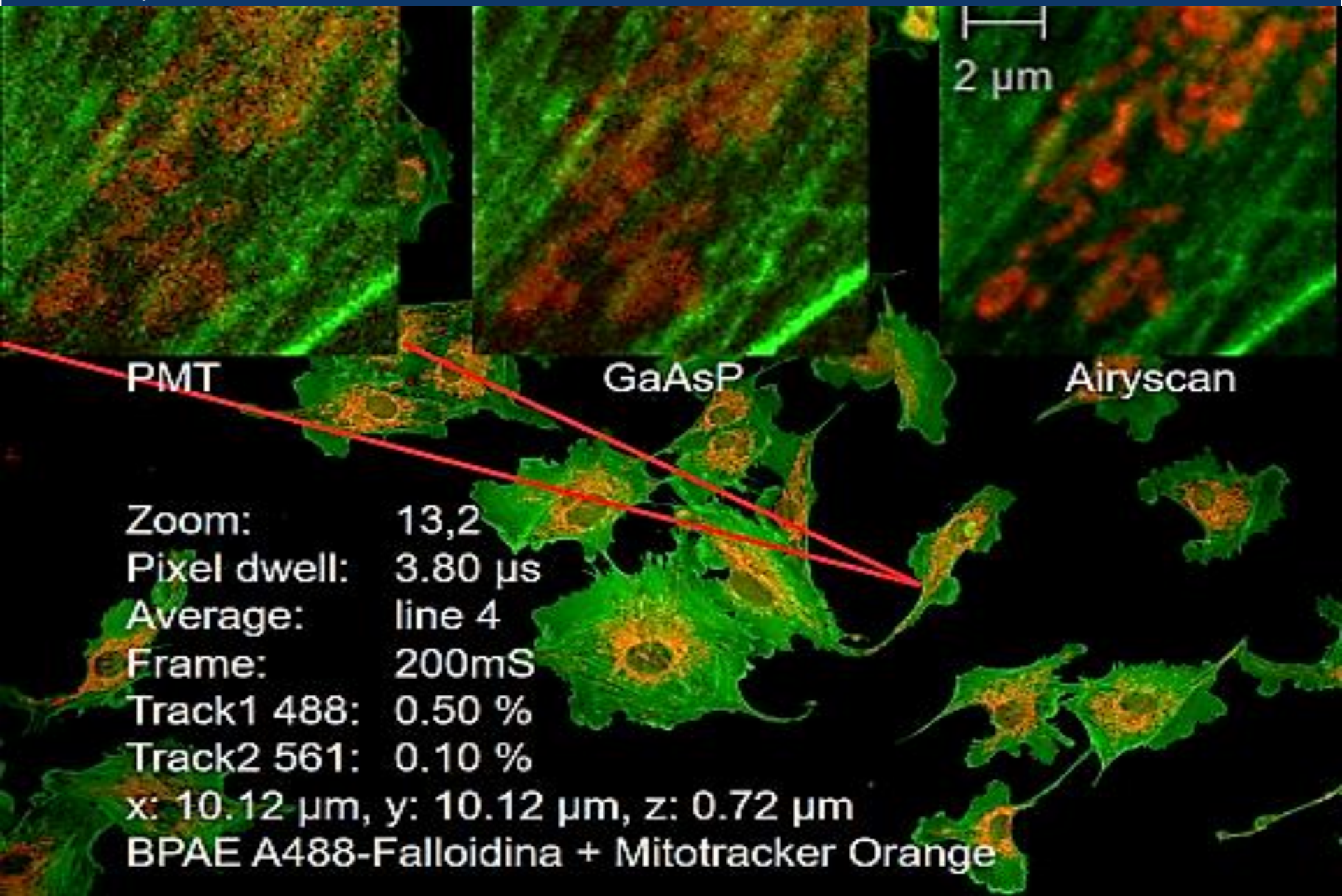


Imaging Confocale Rivoluzionato con Airyscan

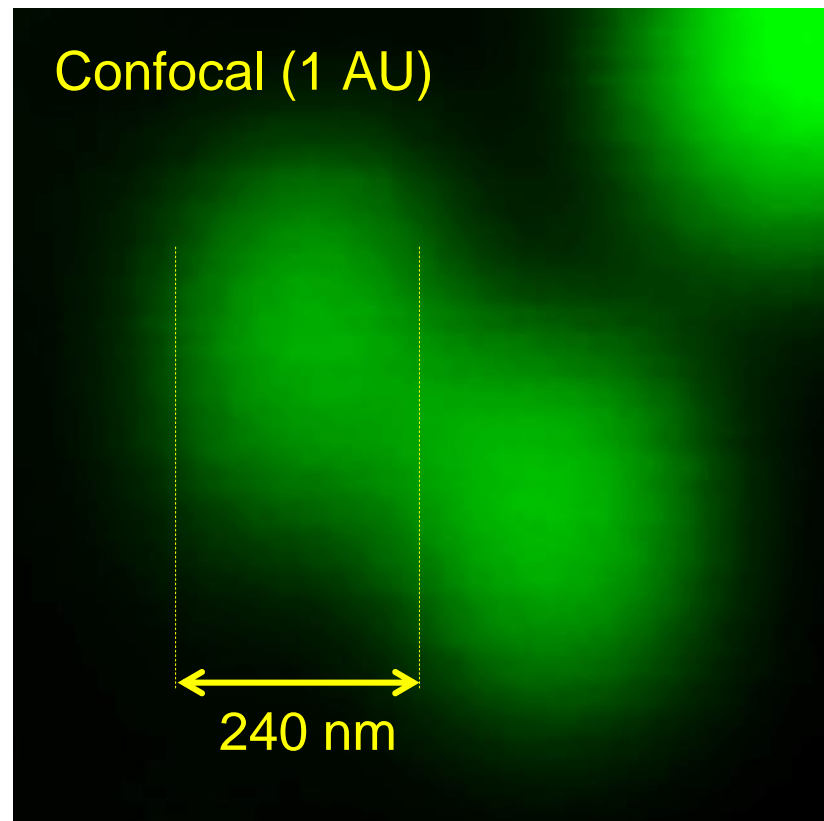
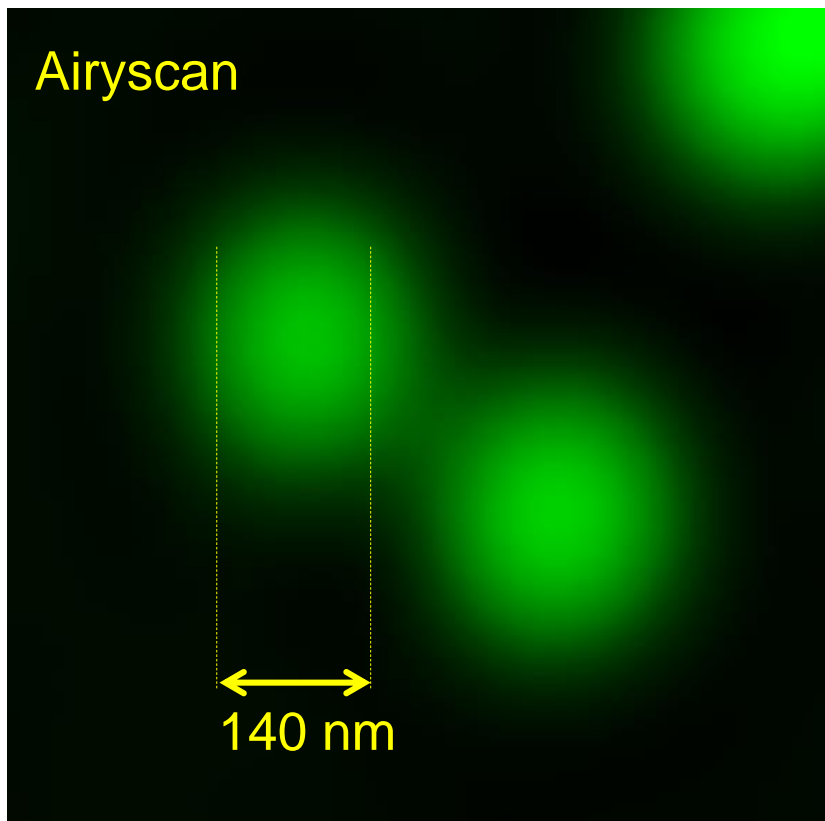
- Ottenere dati inaberranti e privi di rumore da campioni vivi e da marcature deboli, non c'è nulla di meglio che poter fornire maggiore sensibilità, risoluzione e velocità!
- Utilizzare i propri campioni multimarcati con qualsiasi colorante: grazie ad Airyscan è sempre possibile selezionare la strategia di acquisizione ottimale per il proprio campione. Perché cambiare colorazione ?
- Poter decidere di guadagnare 1.7x in risoluzione su tutte e tre le dimensioni significa – volume confocale 5x più piccolo. Oppure significa spingere la sensibilità oltre i limiti dei confocali convenzionali. Oppure utilizzare la maggiore sensibilità signal-to-noise per velocizzare l'acquisizione.



HeLa cells, Actin stained with Phalloidin-Alexa 546, AP3 with Alexa 488, DAPI. Courtesy of S. Traikov, BIOTEC, TU Dresden, Germany

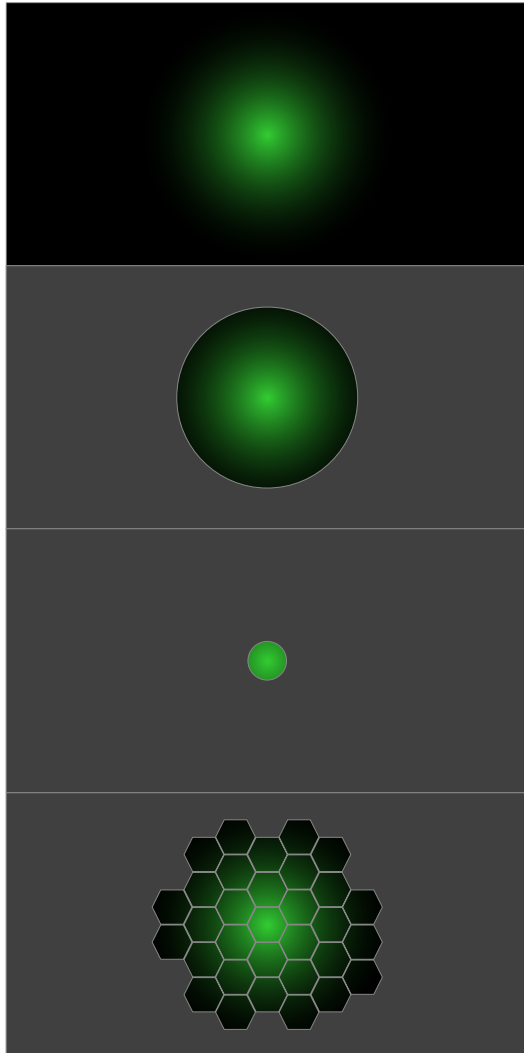


Airyscan supera le “tipiche limitazioni” con la sua matrice di rilevatori in parallelo



Miglioramento 1,7x: misurato usando beads da 40nm (eccitazione a 488 nm)
Tempo di acquisizione e potenza laser costanti.

Airyscan supera le “tipiche limitazioni” con la sua matrice di rilevatori in parallelo



Emissione di una sorgente puntiforme

Rilevamento confocale (pinhole: 1.0 AU)

- Impostazione comune nell'imaging biologico!
- Ottimo rapporto segnale-rumore (SNR)
- Potere risolutivo ben al di sotto delle massime potenzialità

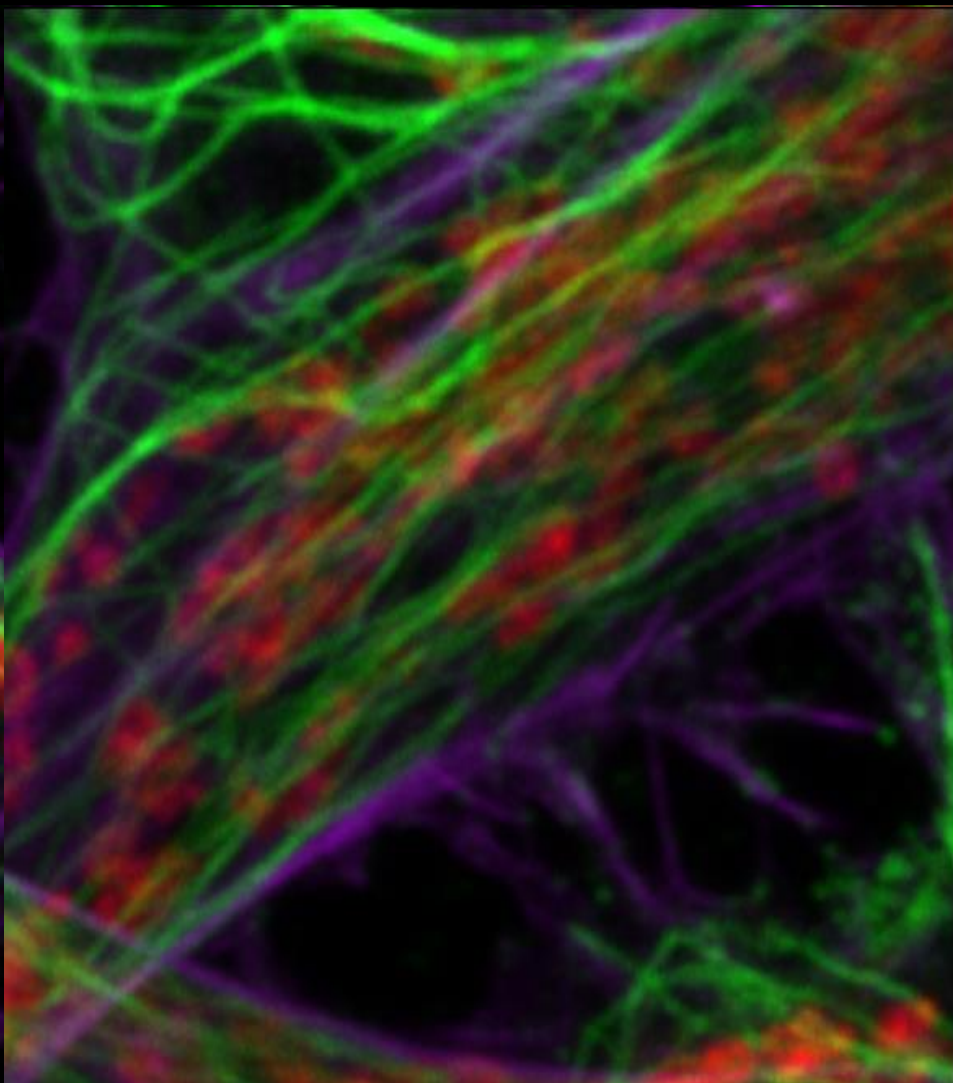
Rilevamento confocale strettissimo (pinhole: 0.2 AU)

- Risoluzione spaziale spinta
- Pessimo SNR (la quasi totalità del segnale è rigettato dal pinhole!)
- Apertura del pinhole non utilizzabile nel bioimaging!

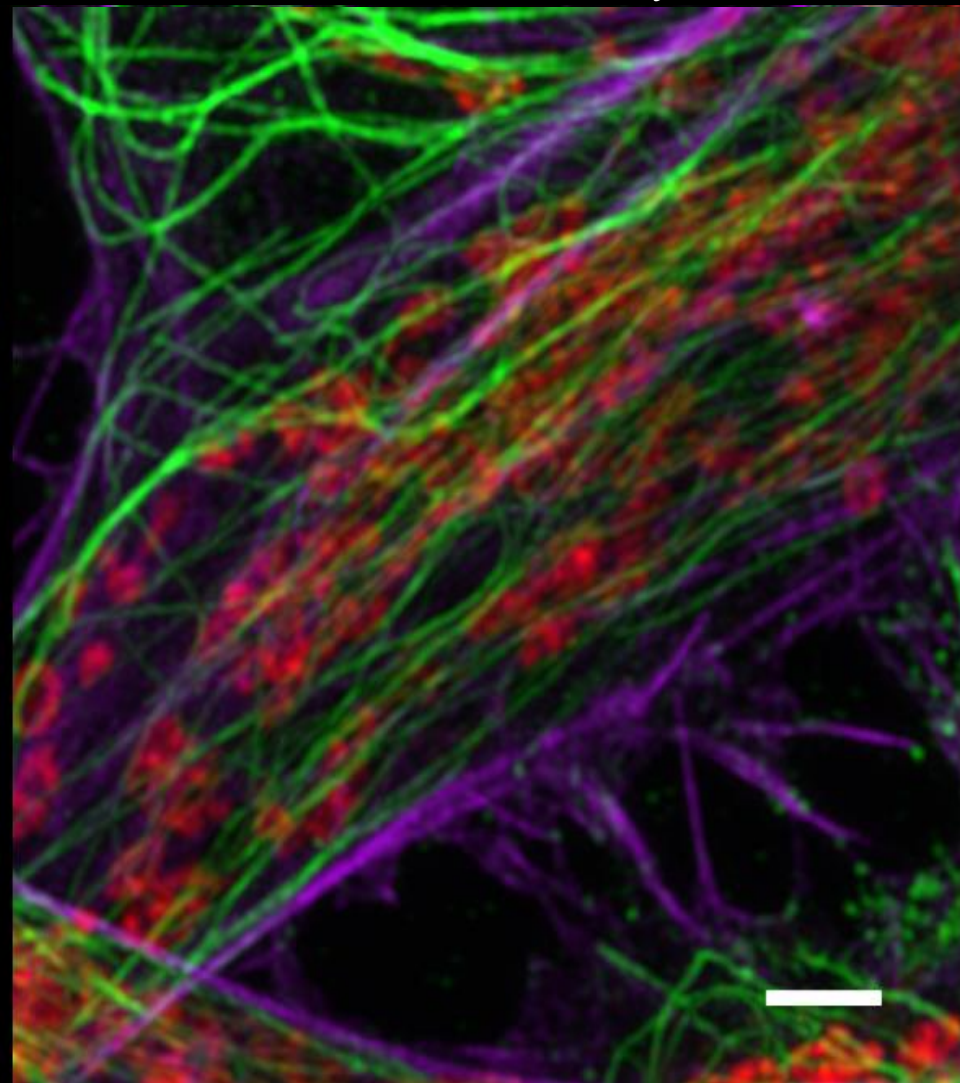
Airyscan: sovracampionamento “sub-Airy”

- Ogni elemento è comparabile ad un pinhole da 0.2 AU.
- La matrice acquisisce anche la luce normalmente bloccata da un pinhole con diametri così piccoli.

Confocal



LSM 800 with Airyscan



GRAZIE



"I DON'T KNOW WHAT THIS IS, BUT YOU SHOULD SEE HOW FAST IT'S GROWING!"