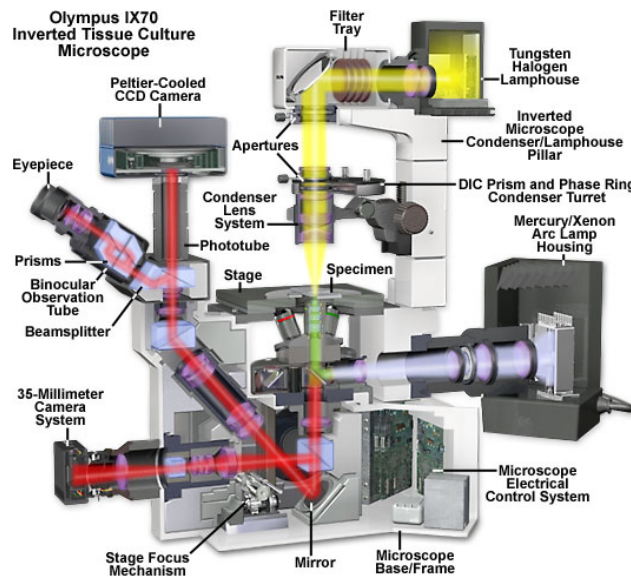


FLUORESCENCIA

JUAN BARBOSA - 201325901

La microscopía de fluorescencia es una importante técnica de microscopía ya que permite observar objetos diminutos con gran magnificación y resolución. En el caso de la fluorescencia no se usa luz transmitida sino luz reflejada (o luz emitida por la muestra).



El esquema general del camino óptico de un microscópio de fluorescencia se muestra en la figura anterior. Un haz de luz se hace insidir sobre un filtro pasa bandas, el cual se conoce como el filtro de excitación. Posteriormente el haz pasa por el espéjo dicróico, el cual refleja y transmite longitudes de onda específicas. Parte de la luz va en dirección en dirección a la muestra, donde la luz incidente excita los fluoróforos en la muestra. Estos pueden ser propios de la muestra (autofluorescencia) o tintes agregados a la misma. La luz emitida pasa através del dicróico hasta alcanzar el filtro de emisión, el cuál permite limitar la cantidad de fluoróforos detectados. Finalmente la luz llega al ocular, o a una cámara CCD.

1. Qué es un filtro de densidad neutra

Los filtros de densidad neutra son filtros que reducen la intensidad de la luz de forma homogénea para todas las longitudes de onda de la luz incidente.

2. Para qué la apertura numérica está optimizada para la cámara si se considera un factor de muestreo de 3?

En el datasheet se especifica que el tamaño de los pixeles es de $6.45 \times 6.45 \mu\text{m}$. En una ccd la luz se proyecta sobre el plano de los pixeles. Existen dos posibles efectos en la proyección, por un lado es posible que demasiados pixeles contengan al mismo punto de Airy, lo cual implica información redundante. En el caso opuesto cada pixel tendrá la información de varios círculos de Airy, lo cual no permite resolver los detalles.

El tamaño de la proyección será entonces:

$$P = \left(\frac{1.22\lambda}{2NA} \right) M \quad \text{M: magnificación, NA: apertura numérica} \quad (1)$$

La idea es que el tamaño de la proyección sea de 3 pixeles:

$$\left(\frac{M}{NA} \right) \approx \frac{3(6.45)}{0.244} \approx 60 \quad \text{con } \lambda = 500 \text{ nm} \quad (2)$$

3. **Qué campo de visión tienen los objetivos de 20x y 40x con la cámara dada?**