

[TOMO-POL] Polaryzacyjna optyczna tomografia dyfrakcyjna do wysokoprzepustowej i bezznacznikowej morfologicznej analizy kropli lipidowych w żywych komórkach.

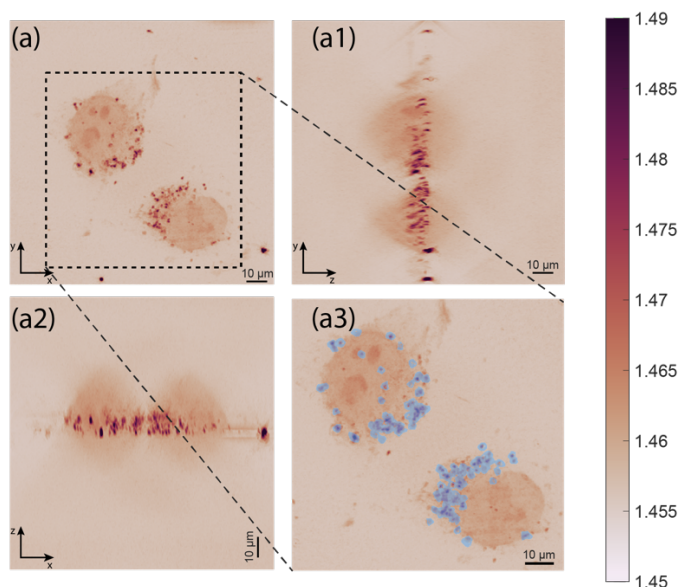
Kierownik projektu: Dr. inż. Piotr Zdańkowski, Politechnika Warszawska (Wydział Mechatroniki)

Rozwój procesów biologicznych i organizacja strukturalna związków biochemicznych w dużej mierze zależą od możliwości ich wizualizacji. Ta potrzeba stała się impulsem do globalnych działań mających na celu rozwój możliwości biomedycznych i klinicznych placówek do przeprowadzania kluczowych badań komórek i tkanek. Mimo swojej długiej historii, mikroskopia optyczna ciągle się rozwija, wprowadzając przełomowe techniki obrazowania, które oferują rozdzielczość na poziomie nanometrów, głębsze obrazowanie, szybszą pracę i bogatszą treść informacyjną.

Jedną z ważnych metod obrazowania mikroskopowego jest mikroskopia fluorescencyjna. Wykorzystuje ona bardzo małe cząsteczki, które świecą pod wpływem światła o określonym kolorze. Dzięki temu naukowcy mogą zobaczyć konkretną część badanej próbki, a reszta pozostaje ciemna. Ta technika bardzo się rozwinęła i pozwala na oglądanie rzeczy jeszcze mniejszych niż kiedyś. Ale ma też swoje minusy, na przykład może szkodzić badanym komórkom lub wymaga dodatkowych zabiegów przygotowawczych, a także nie można za jej pomocą dokonać ilościowych pomiarów badanych struktur.

Dlatego coraz częściej naukowcy używają metod, które nie wymagają dodatkowego barwienia, takich jak Ilościowa Mikroskopia Fazowa (IMF). Ta technika pozwala na nie-inwazyjne obrazowanie komórek i ich struktur bez wpływu na ich strukturę czy fizjologię. Technika ta jest niezwykle delikatna a do tego pozwala na ilościową analizę parametrów badanych próbek.

Zaproponowany projekt ma na celu stworzenie nowego systemu, który pozwoli na jeszcze lepsze badanie komórek, ze szczególnym naciskiem na zastosowanie do badania kropli lipidowych w nich zawartych. Opracowana metoda, Polaryzacyjna Optyczna Tomografia Dyfrakcyjna (P-OTD), będzie wykorzystywać polaryzację oraz oświetlenie z wielu kierunków do trójwymiarowej analizy parametrów badanych komórek. Lipidy przechowywane w kroplach lipidowych (KL) wykorzystywane są jako rezerwa energii, budulec organelli oraz do syntezy hormonów steroidowych. Postaramy się odpowiedzieć na pytania dotyczące tego, jak przejścia fazowe ciekłokrystalicznej formy estrów cholesterolu, będących elementami strukturalnymi, wpływają na KL: czy ma to znaczenie fizjologiczne? Czy jest to związane ze stresem, patologią czy procesami fizjologicznymi? Czy ogranicza dostęp lipidów do białek? Obecne badania KL głównie wykorzystują pracochłonną, zasobożerną i kosztowną mikroskopię elektronową. Dwójłomność może być wykrywana za pomocą jakościowej mikroskopii polaryzacyjnej, jednak nie można za jej pomocą ilościowo określić parametrów KL. Stąd Tomografia Dyfrakcyjna Optyczna Polaryzacyjna (P-OTD) jest idealnym narzędziem do analizy parametrów KL, ponieważ wykazano już, że gdy KL wchłaniają estry cholesterolu, ich struktura zmienia się z amorficznej na ciekłokrystaliczną, co wpływa na ich współczynnik załamania i dwójłomność.



Rysunek 1. Wyniki wstępne obrazowania komórek z kroplami lipidowymi w układzie optycznej tomografii dyfrakcyjnej. Projekcja minimalnej intensywności komórek HeLa z silnie zaznaczonymi kroplami lipidowymi, kolormapa przedstawia wartości współczynnika załamania.