



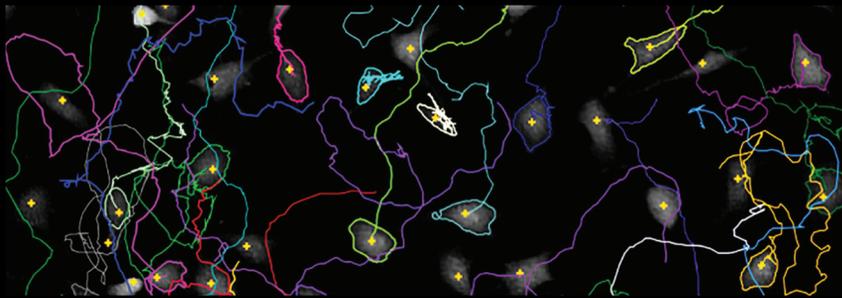
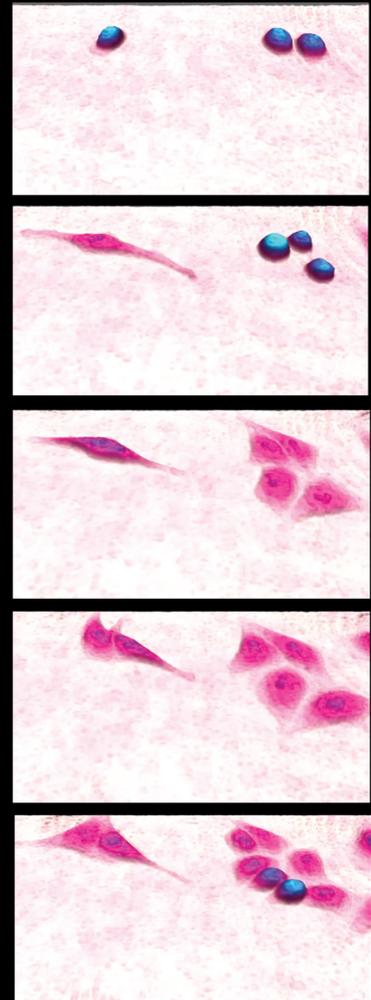
MICROSCOPIA DIGITALE OLOGRAFICA IN 4D

Rielaborazione dei dati raccolti in microscopia quantitativa di fase con il microscopio invertito per colture cellulari *HoloMonitor*, sistema integrato che opera all'interno di un incubatore, consentendo studi a lungo termine di popolazioni di cellule che crescono *in vitro* in un ambiente stabile.

A destra, una sequenza di fermoimmagini tratta da un *time-lapse* realizzato con *HoloMonitor Live Cell Imager*, un sistema che visualizza e accelera la crescita e gli spostamenti di cellule in coltura. I singoli *frame* corrispondono a cinque fasi di ciò che avviene in 42 ore all'interno di un rettangolo di 40 μm di base. I colori codificano per lo spessore delle cellule e aiutano a identificare la fase della loro crescita.

In basso a sinistra, singolo fermoimmagine di un altro video realizzato con *HoloMonitor Cell Tracking Assay*, un sistema dotato di un *software* di tracciamento per le cellule, in grado di calcolarne e rappresentare la velocità e la direzione del movimento di ogni singola cellula, fornendo inoltre più di 30 misure di forma per ogni cella tracciata.

Le immagini, realizzate con il sistema *HoloMonitor*, sono tratte dal sito *Phase Holographic Imaging PHI* (phiab.com).



Nonostante siano spesso decisamente belle, le immagini scientifiche, soprattutto quelle usate in Medicina, non sono solo un oggetto da guardare ma, ricordiamolo, innanzitutto uno strumento di lavoro. Ora, sebbene il lavoro della scienza sia certamente in prima istanza quello di conoscere (e quindi anche contemplare) i suoi oggetti, per chi fa ricerca il tempo che occorre per produrre un'immagine non è certamente un fattore trascurabile.

Mentre l'osservatore esterno considera normalmente solo il valore estetico-scientifico del risultato di una certa tecnica di imaging, per chi ci lavora i tempi e i modi necessari alla produzione delle immagini sono fattori determinanti, quando si tratta di scegliere che tecnica utilizzare per svolgere un certo compito. Soprattutto

quando occorre determinare la scala e l'articolazione del progetto di ricerca. Il grande valore della tecnica con cui sono state realizzate le immagini che presentiamo in questo numero sta appunto nella rapidità e nell'automaticità della loro realizzazione.

Nel numero scorso, abbiamo visto che la microscopia quantitativa a contrasto di fase, combinando i valori dell'intensità con quelli della fase dell'onda luminosa proveniente dal campione, permette di restituire la loro precisa misura nelle tre dimensioni. L'informazione del fronte dell'onda luminosa proveniente dall'oggetto è infatti registrata digitalmente come un ologramma, dal quale un computer calcola l'immagine 3D dell'oggetto usando un algoritmo di ricostruzione numerica. La precisione dei dati così ottenu-

ti permette a sua volta di rendere automatico il riconoscimento delle cellule e delle loro morfologie.

Con il sistema con cui sono state prodotte le immagini che presentiamo, la registrazione dei dati avviene direttamente all'interno di un microscopio invertito per colture cellulari. I dati vengono trasformati in brevi video, nei quali le cellule appaiono in movimento e con colori che indicano la fase del loro sviluppo o la velocità dei loro spostamenti, facilitando così l'analisi della moltiplicazione, della crescita e degli spostamenti delle singole cellule e delle popolazioni che vengono a formarsi. La proliferazione, la migrazione, la morfologia e la differenziazione cellulare possono così essere studiate in tempo reale, senza bisogno di marcare chimicamente o geneticamente le cellule.