

ΟΠΤΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ – ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΑΘΗΜΑ I: Εισαγωγή στο εργαστήριο

Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής

Δρ Χρ. Τσικρικώνα



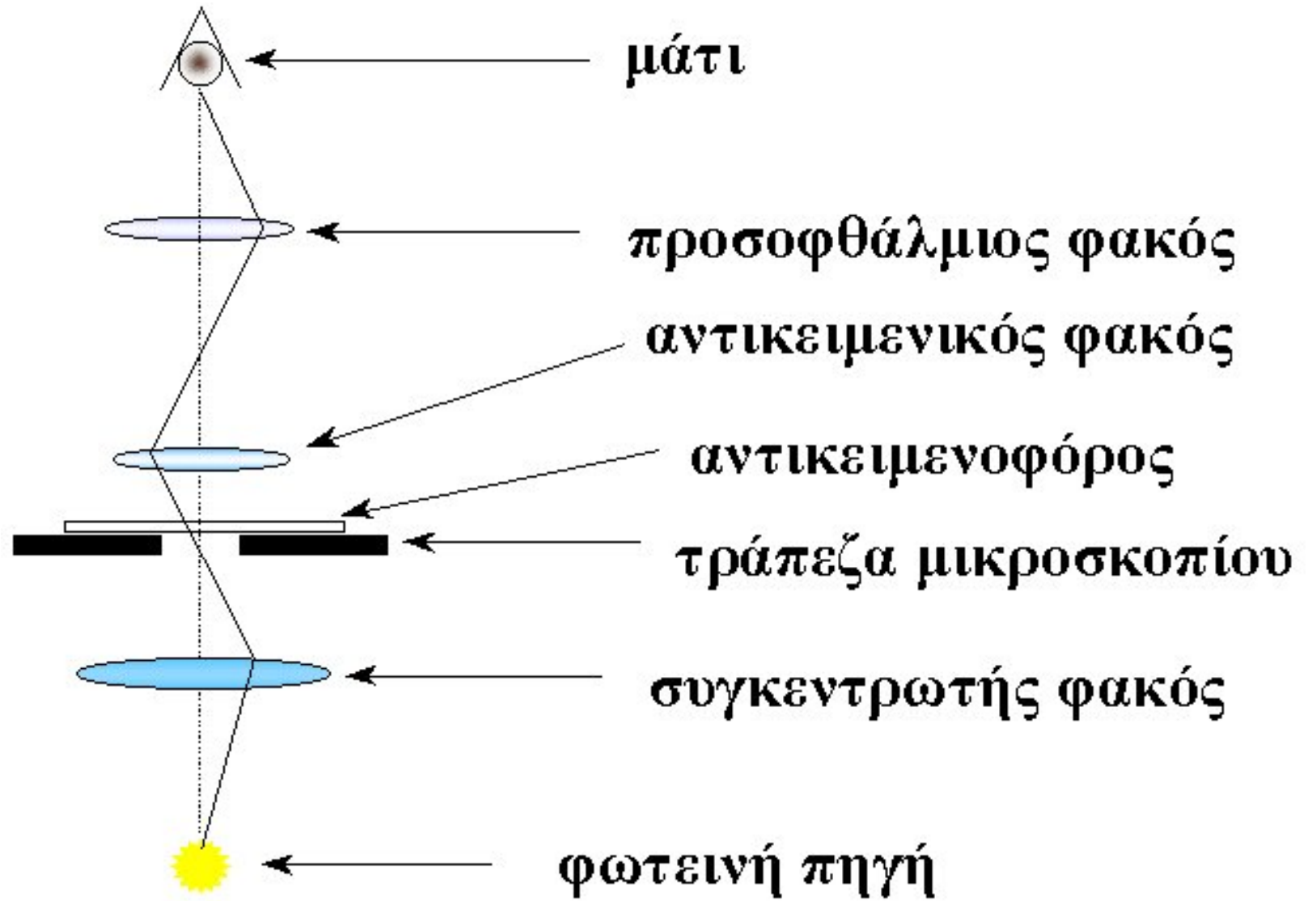
Οπτικό μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου

- **Οπτικό σύστημα**

σύστημα φακών κατάλληλα τοποθετημένων μεταξύ τους, ώστε όταν περνάει το ορατό φως από αυτούς, να επιτυγχάνεται μεγέθυνση του προς παρατήρηση αντικειμένου.

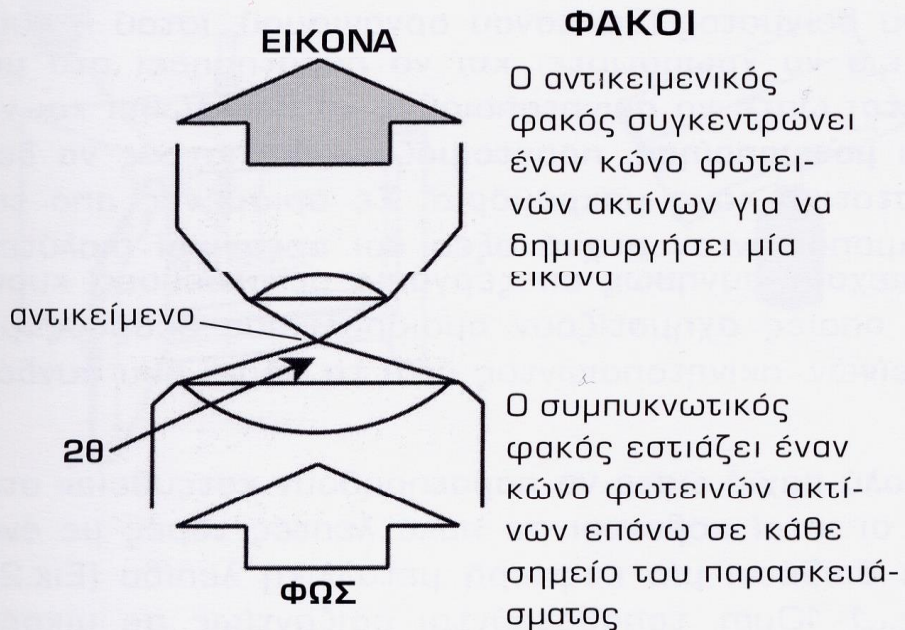
το **μικρότερο** μέγεθος μιας δομής που μπορεί ένα οπτικό όργανο να διακρίνει εξαρτάται από το **μήκος κύματος** της χρησιμοποιούμενης ακτινοβολίας.

Σχηματική
απεικόνιση
του **οπτικού**
συστήματος
ενός οπτικού
μικροσκοπίου



Διακριτικό όριο (δ):

Η μικρότερη απόσταση μεταξύ δύο αντικειμένων ή σημείων ώστε αυτά να μπορούν να διακριθούν ως ξεχωριστά σημεία



Διακριτική ικανότητα (Δ):

Η ικανότητα του μικροσκοπίου να διακρίνει ως χωριστά δύο γειτονικά μεταξύ τους σημεία

ΔΙΑΚΡΙΤΙΚΟ ΟΡΙΟ

Εξαρτάται από το πλάτος του κώνου φωτισμού
Και επομένως από τον αντικειμενικό & συμπυκνωτικό φακό

Υπολογίζεται βάσει του τύπου:

$$\delta = 0,61 \lambda / n \eta \mu \tau \theta$$

όπου:

θ = το μισό της γωνίας του κώνου των ακτίνων που συλλέγονται από τον αντικειμενικό φακό από ένα τυπικό σημείο στο παρασκεύασμα

n = ο συντελεστής διάθλασης του υλικού που διαχωρίζει το παρασκεύασμα από τον αντικειμενικό και τον συμπυκνωτικό φακό (συνήθως αέρας ή λάδι)

λ = το μήκος κύματος του χρησιμοποιούμενου φωτός (για το κοινό φως η συνηθισμένη τιμή είναι $0,53 \mu\text{m}$)

Διακριτικό όριο (δ)

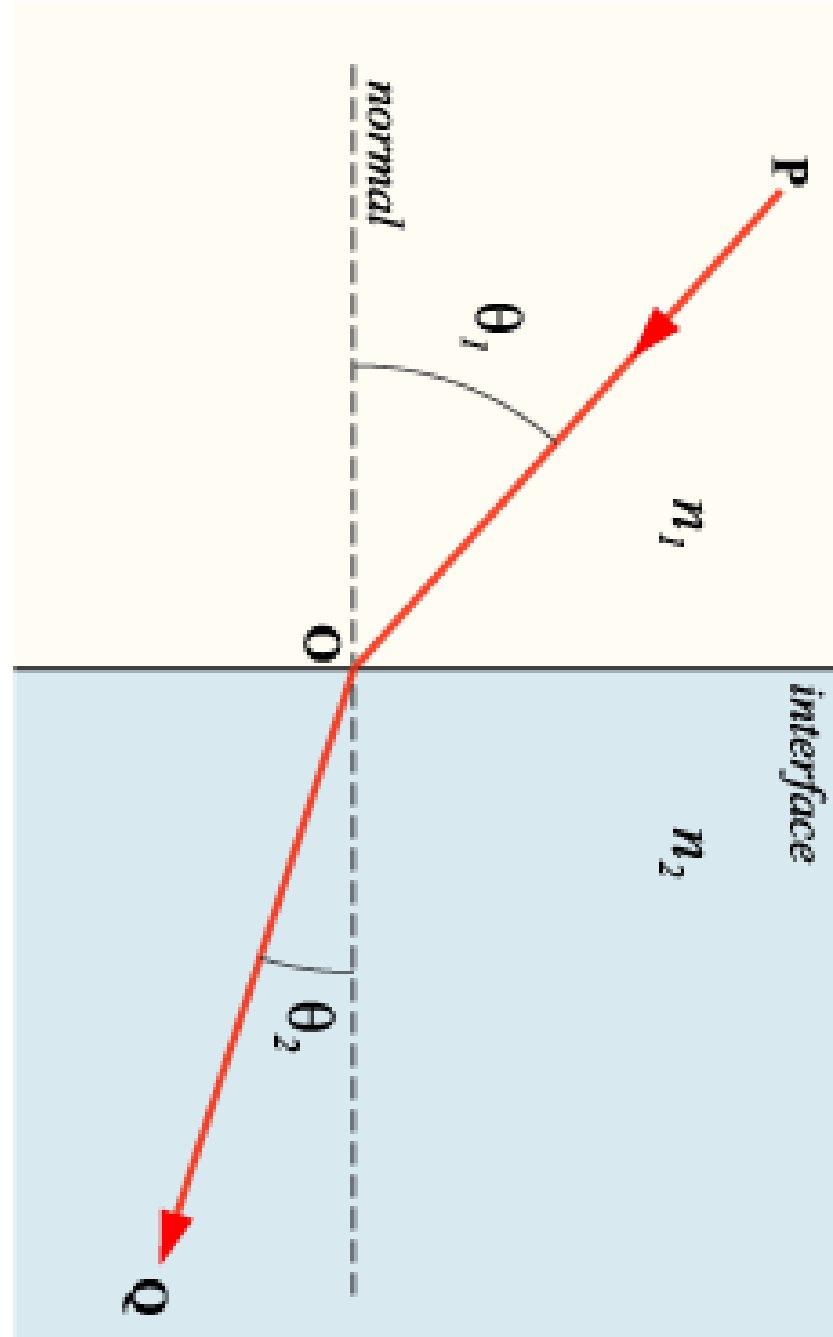
$$\delta = 0,61 \lambda / \text{AA}$$

Αριθμητικό άνοιγμα:

Εκφράζει την ικανότητα του φακού να συλλέγει το φως. Για ξηρούς φακούς η τιμή αυτή ΔΕΝ μπορεί να ξεπερνάει το 1.

Διάθλαση:

το φυσικό φαινόμενο της εκτροπής της ευθύγραμμης τροχιάς διάδοσης που υφίστανται τα φωτεινά κύματα όταν διέρχονται από ένα διαπερατό από αυτά μέσον σε άλλο



ΜΕΡΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟΥ

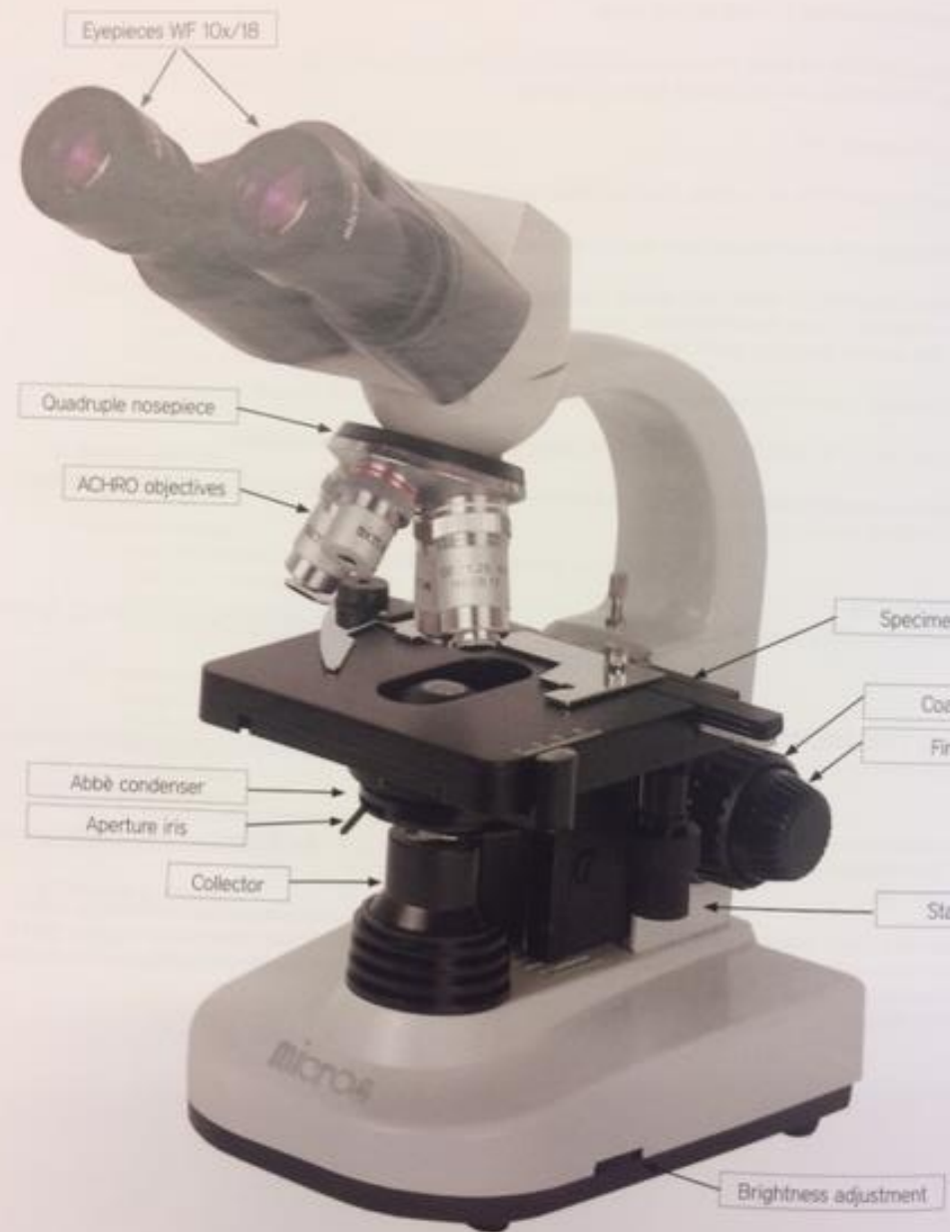
- Σκελετός-βραχίονας
- Διακόπτης τροφοδοσίας
- Προσοφθάλμιοι φακοί / προσοφθάλμιος σωλήνας
- Αντικειμενικοί φακοί / Δίσκος περιστροφής αντικειμενικών φακών
- Συμπυκνωτικός φακός
- Πηγή φωτός / λυχνία
- Κοχλίας ρύθμισης φωτός



Μέρη του μικροσκοπίου που σχετίζονται με την εστίαση

- Κοχλίες εστίασης
- Οδηγός αντικειμένου
- Αντικειμενοφόρος τράπεζα
- Διάφραγμα ανοίγματος
- φίλτρα/συμπυκνωτής

BINOCULAR VERSION

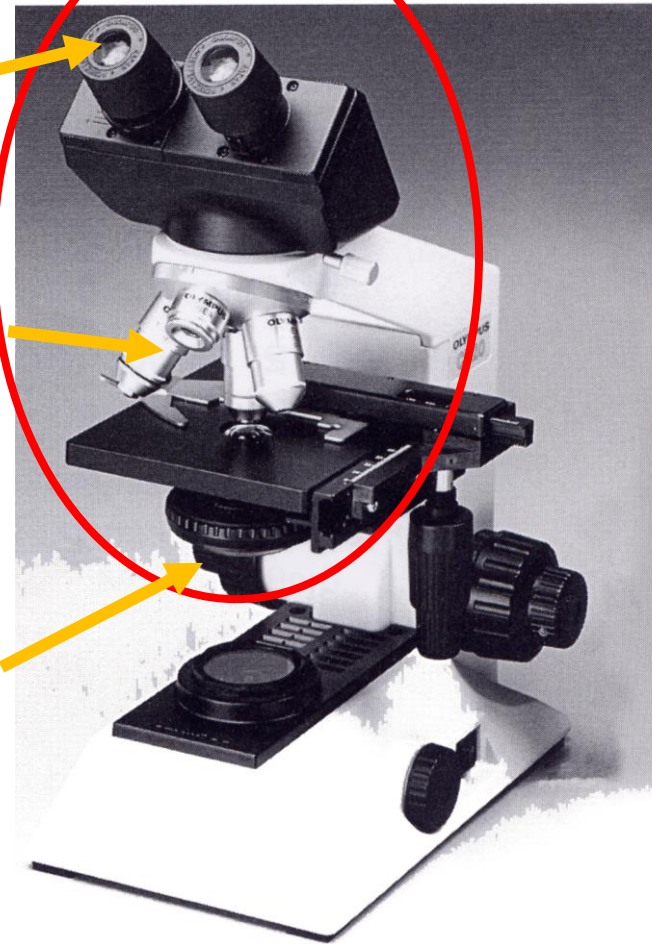


Το σύγχρονο μικροσκόπιο

Προσοφθάλμιος φακός

Αντικειμενικός φακός

Συμπηκνωτικός φακός

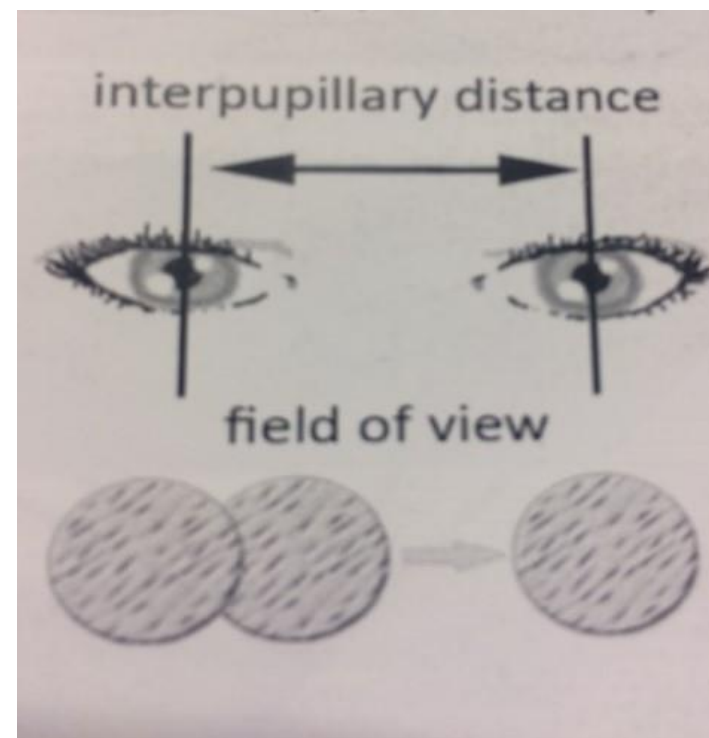


Δημιουργεί είδωλο
φανταστικό &
μεγεθυμένο

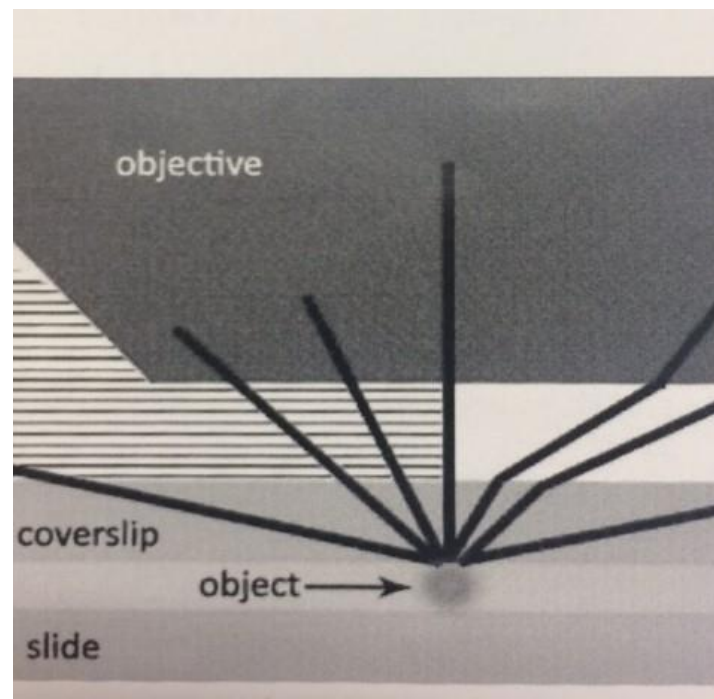
Δημιουργεί είδωλο
πραγματικό &
ανεστραμμένο

Άρα, πώς
πρέπει να
βάλουμε το
αντικείμενό
μας στην
τράπεζα;

Προσοφθάλμιοι φακοί

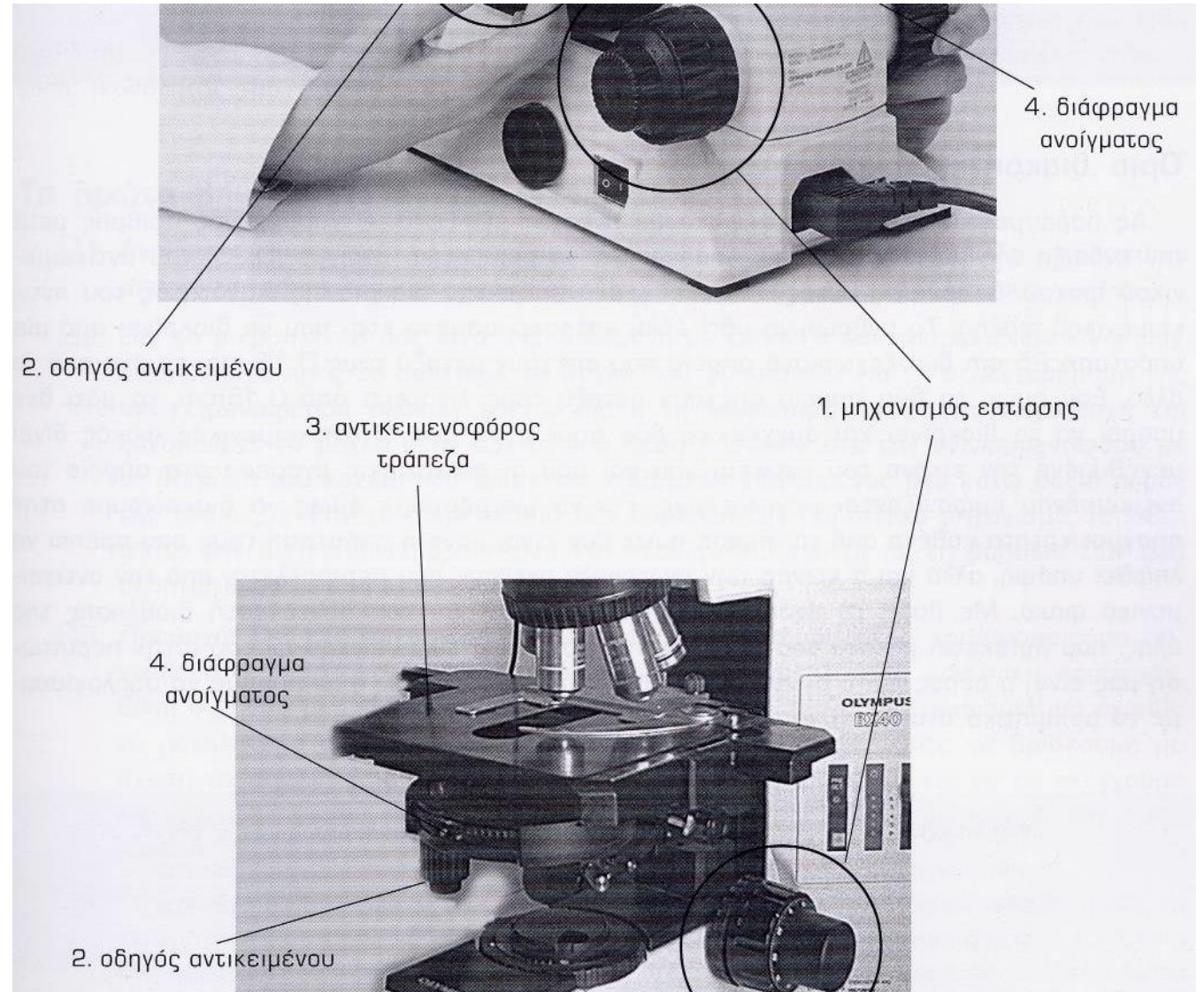


Αντικειμενικοί φακοί



Η παρατήρηση γίνεται σε **νερό**, γιατί η εκτροπή των ακτίνων και η εξασθένηση του ειδώλου στον αέρα λόγω διάθλασης είναι μεγαλύτερα

Σε περιπτώσεις μεγαλύτερης μεγέθυνσης φακών απαιτείται διαφορετικό υγρό, **μεγαλύτερου δείκτη διάθλασης** για να περιορίζεται η εκτροπή των ακτίνων



πώς παράγεται η μικροσκοπική εικόνα

Η μικροσκοπική εικόνα παράγεται σε **δύο στάδια**:

- στο πρώτο στάδιο, ο αντικειμενικός φακός δημιουργεί ανεστραμμένο είδωλο του αντικειμένου και στη μεγέθυνση που αναγράφεται πάνω του, ενώ
- στο δεύτερο στάδιο, αυτό το είδωλο αναπαράγεται από τον αμφιβληστροειδή του παρατηρητή, επιπλέον μεγεθυμένο από τους προσοφθάλμιους φακούς.

Έτσι η **συνολική μεγέθυνση** που προκύπτει στην εικόνα του αντικειμένου είναι το **γινόμενο** της μεγέθυνσης που δημιουργεί το σετ των δύο φακών, **αντικειμενικού και προσοφθάλμιων**.

Συνεπώς, ποια είναι τα πιο σημαντικά εξαρτήματα του οπτικού συστήματος;

**Άλλα
μικροαντικείμενα
που χρειάζονται
κατά τη
μικροσκοπία**

- Παρασκεύασμα
- Αντικειμενοφόροι πλάκες
- Καλυπτρίδες
- Βελόνη / λαβίδα / λεπίδες
- Φιαλίδιο νερού / χρωστικές
- πιπέτα

Όργανα που μας
βοηθούν στη
δημιουργία
παρασκευασμάτων
& στην
παρατήρηση

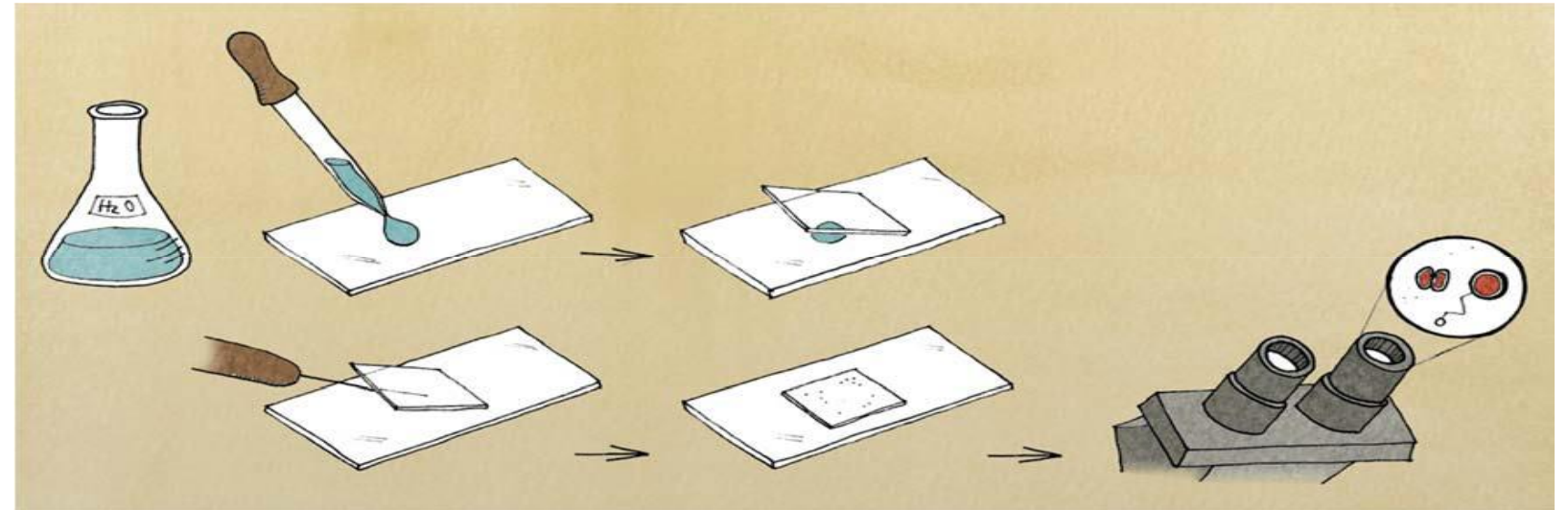


Τα παρασκευάσματα
μπορούν να είναι:

- ♣ Προσωρινά
- ♣ Ημιμόνιμα
- ♣ Μόνιμα

... να χρωματίζονται, να
στερεώνονται σε σταθερή
βάση κλπ

Παρασκευή προσωρινού παρασκευάσματος



http://repfiles.kallipos.gr/html_items/12018/askisi1/sample_preparation.html

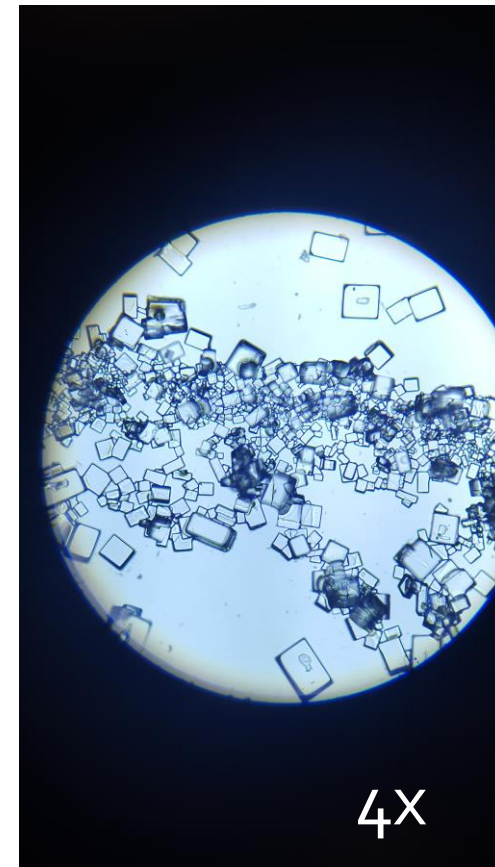
Τα ΜΗ στη μικροσκοπία

- **ΜΗΝ** ξεβιδώνετε και απομακρύνετε τους φακούς
- **ΜΗΝ** αγγίζετε τους φακούς ή το παρασκεύασμα στην περιοχή παρατήρησης με τα δάχτυλά σας
- **ΜΗΝ** μετακινείτε το μικροσκόπιο για να δείξετε κάτι στο διπλανό σας, απλά παραχωρήστε τη θέση σας
- **ΜΗΝ** ξεκινάτε ποτέ την τοποθέτηση του δείγματος, αν δεν έχετε βεβαιωθεί ότι η τράπεζα είναι κατεβασμένη και ο δίσκος γυρισμένος στον μικρότερο αντικειμενικό φακό
- **ΜΗΝ** χρησιμοποιείτε τον αντικειμενικό φακό 100x χωρίς τη χρήση καταδυτικού λαδιού
- **ΜΗΝ** αφήνετε τη λυχνία ανοιχτή και το μικροσκόπιο ξεσκεπαστο μετά το τέλος της παρατήρησης
- **ΜΗΝ** βγάζετε το δείγμα, εάν πρώτα δεν έχετε κατεβάσει την τράπεζα στο κατώτατο σημείο ώστε να αποφύγετε να αγγίξετε τους αντικειμενικούς φακούς.
- Γενικά οι αντικειμενικοί φακοί δεν πρέπει να έρχονται ποτέ σε άμεση επαφή με το παρασκεύασμα

Παρατήρηση έτοιμων παρασκευασμάτων κρυστάλλων NaCl

Τοποθετούμε την αντικειμενοφόρο πλάκα που μας δίνεται στην τράπεζα του μικροσκοπίου, αφού πρώτα βεβαιωθούμε ότι βρίσκεται στο **χαμηλότερο** σημείο και ο αντικειμενικός φακός είναι αυτός με τη **μικρότερη** μεγέθυνση.

(φακός 4x, 10x)



Τι θα δούμε?

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΦΥΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

A. Κύτταρα κρεμμυδιού

1. Σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα βάζουμε μια σταγόνα Iugol
2. Προετοιμάζουμε το παρασκεύασμα: κόβουμε το βολβό ενός κρεμμυδιού και αφαιρούμε έναν εσωτερικό χιτώνα. Στην εσωτερική πλευρά, χαράζουμε ένα πολύ μικρό τετραγωνάκι με ένα κοφτερό ξυραφάκι. Αφαιρούμε με λαβίδα τη λεπτή μεμβράνη
3. Τοποθετούμε το κομμάτι που αφαιρέσαμε στη σταγόνα της αντικειμενοφόρου πλάκας
4. «Στρώνουμε» το παρασκεύασμα στη σταγόνα (με τη βοήθεια ανατομικής βελόνας), προσέχοντας να μη διπλώσει η μεμβράνη
5. Τοποθετούμε την καλυπτρίδα υπό γωνία, σύροντάς την στο παρασκεύασμα
6. Παρατήρηση στο μικροσκόπιο: Τοποθετούμε το παρασκεύασμα στην τράπεζα και το στερεώνουμε. Παρατηρούμε όπως προαναφέραμε

Τι θα δούμε?

10X



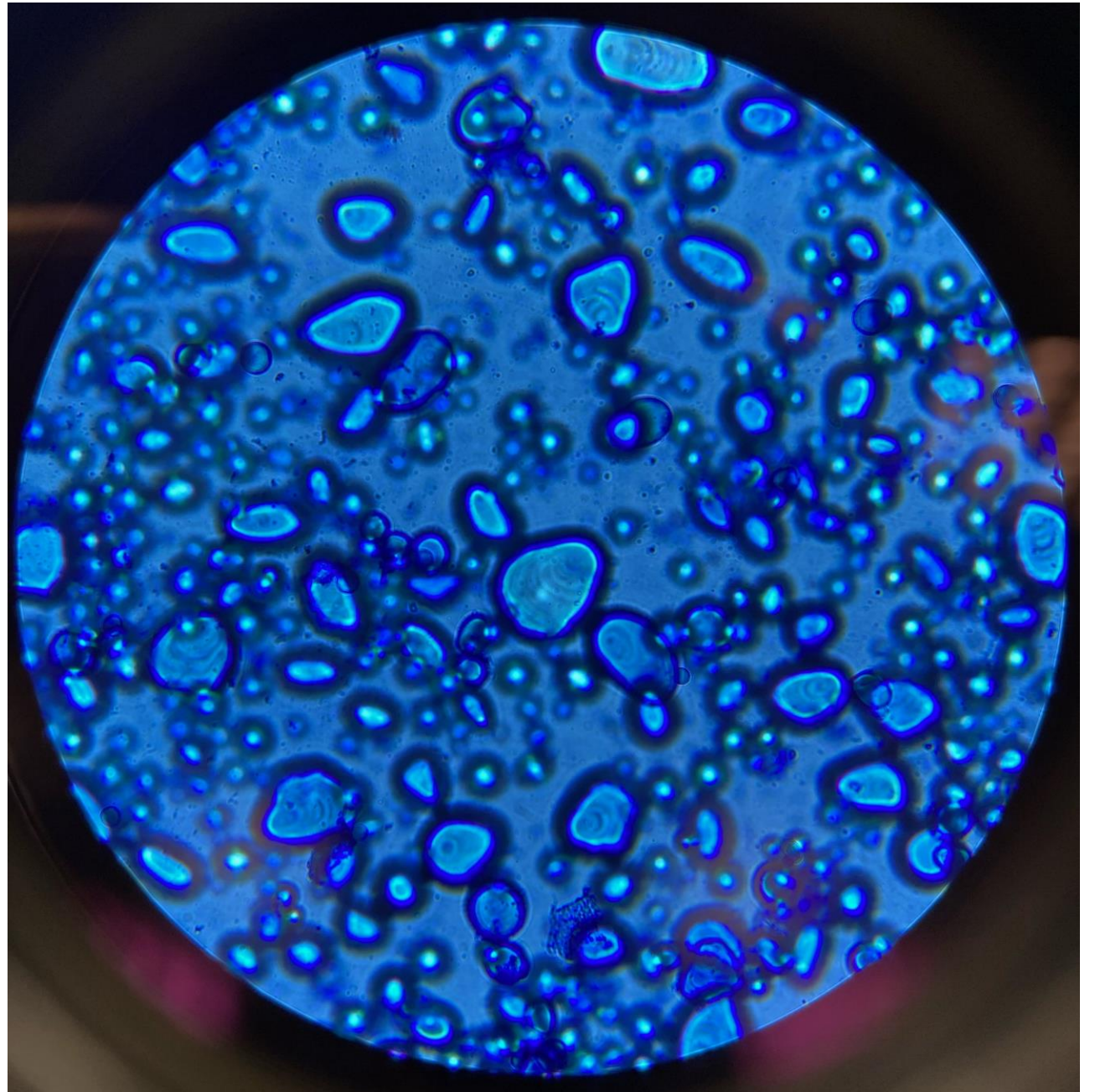
ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΦΥΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

B. Αμυλόκοκκοι πατάτας

1. Σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα προσθέτουμε 1 σταγόνα μπλε του μεθυλενίου ή Iugol.
2. Δημιουργούμε μια πολύ λεπτή τομή σε μια πατάτα. Τοποθετούμε το υλικό σε αντικειμενοφόρο.
3. Τοποθετούμε την καλυπτρίδα υπό γωνία, σύροντάς την στο παρασκεύασμα. Παρατηρούμε όπως προαναφέραμε.

Τι θα δούμε?

10X



Τι θα δούμε?

Αμυλόκοκκοι:

το άμυλο είναι αποταμιευτικός
πολυσακχαρίτης των φυτικών
κυττάρων

Χρωστική: μπλε του μεθυλενίου

