

NOWOCZESNE METODY MIKROSKOPII OPTYCZNEJ W BADANIACH UKŁADÓW BIOLOGICZNYCH

Kamila Natkaniec

Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej

Opiekun naukowy dr Kamil Awskiuk

ABSTRAKT

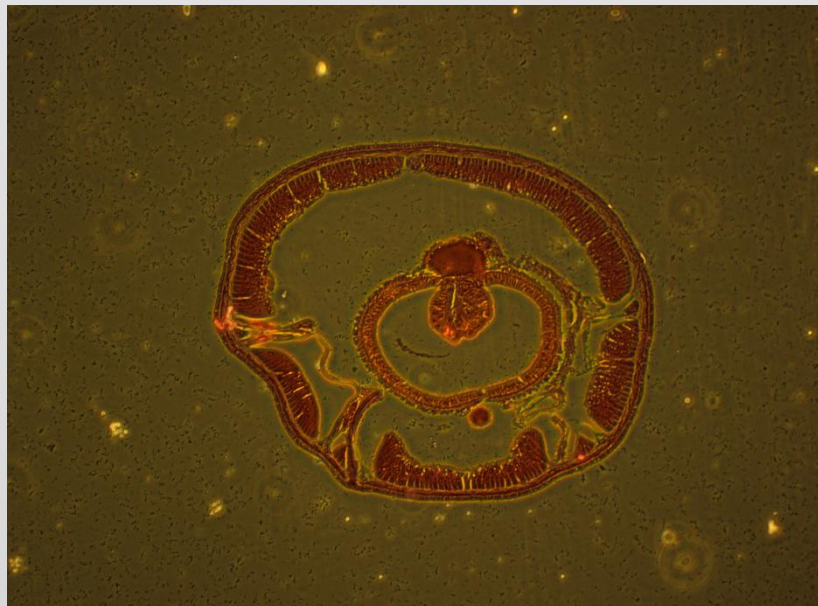
Wykorzystując metody mikroskopii optycznej: kontrastowo-fazową, różnicowo-interferencyjną oraz fluorescencyjną obserwowano próbki biologiczne, komórki drożdży piekarniczych oraz proliferację komórek raka pęcherza moczowego po 24, 72 i 144 godzinach.

Wyznaczono średnie wartości średnic komórek *Sacharomyces Boulardii*: $4,72(40)\mu\text{m}$ oraz komórek drożdży: $6,23(45)\mu\text{m}$.

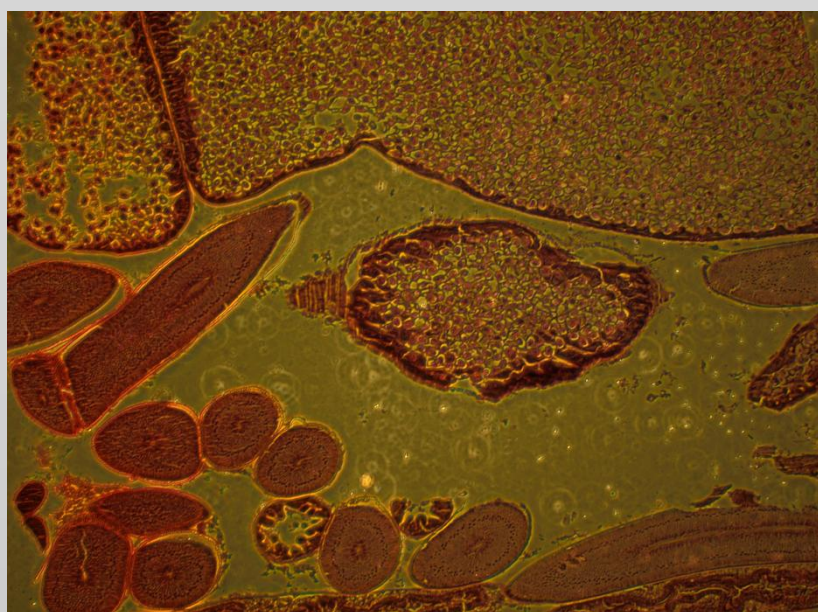
MIKROSKOP KONTRASTOWO - FAZOWY

Jego działanie polega na przekształceniu zmian fazowych fali świetlnej w badanej próbce na zmiany natężenia światła w obrazie mikroskopowym.

W takim mikroskopie można ujrzeć przedmioty nieabsorbujące promieniowania elektromagnetycznego, ale zmieniające jego fazę. Służy głównie do obserwowania przedmiotów nie wykazujących naturalnego kontrastu (np. błona skrzydeł owadów).



Rys.1 Dżdżownica – przekrój poprzeczny [PHD, 20x]



Rys.2 Samica obleńca – przekrój podłużny [PHD, 20x]



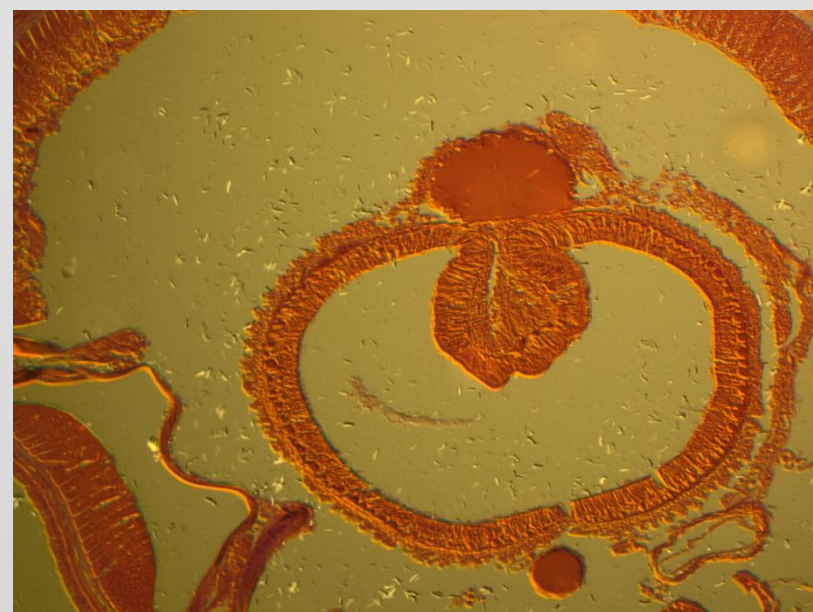
Rys.3 Odnóże pszczoły [PHD, 40x]

MIKROSKOP Z KONTRASTEM RÓŻNICOWO - INTERFERENCYJNYM

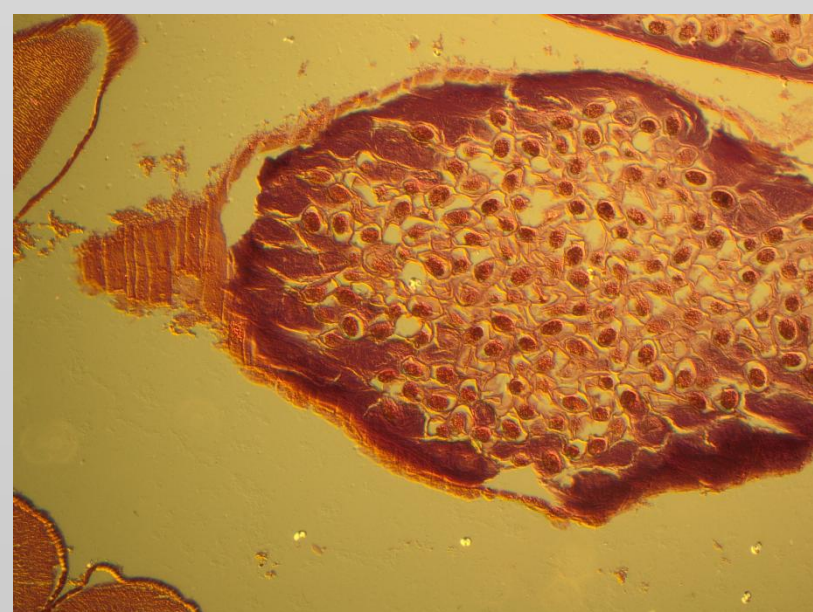
Ten układ optyczny uwidacznia struktury różniące się współczynnikiem załamania światła, wykorzystując bardzo nieznaczne przesunięcie w fazie interferujących promieni świetlnych, rzędu zdolności rozdzielczej obiektywu mikroskopowego.

+Zaletą tej metody jest wykorzystanie pełnej apertury numerycznej, uzyskanie obrazu o wysokiej rozdzielczości oraz zastosowanie tzw. barwienia optycznego.

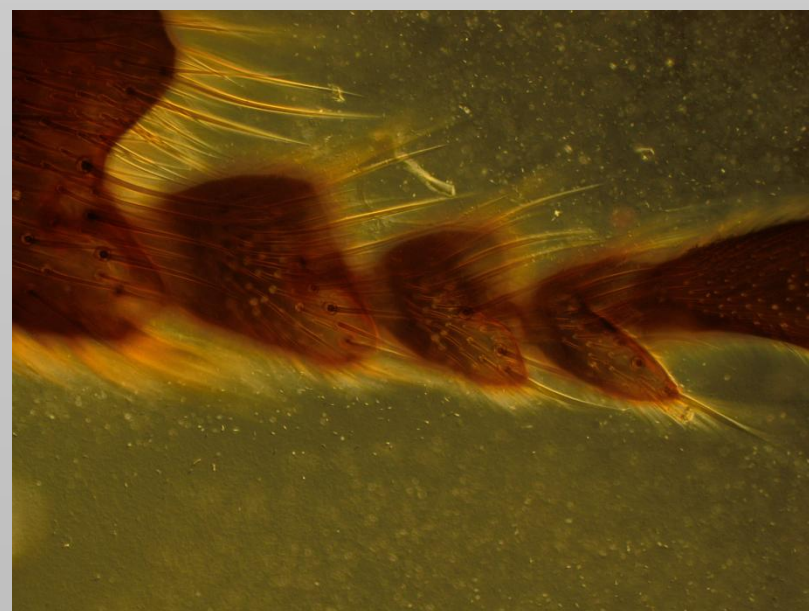
-Minusem jest ograniczenie zastosowania – stosowanie naczyń do hodowli z plastiku lub szkła powoduje uzyskiwanie niewiarygodnych obrazów.



Rys.4 Dżdżownica – przekrój poprzeczny [DIC, 20x]



Rys.6 Samica obleńca – przekrój podłużny [DIC, 40x]

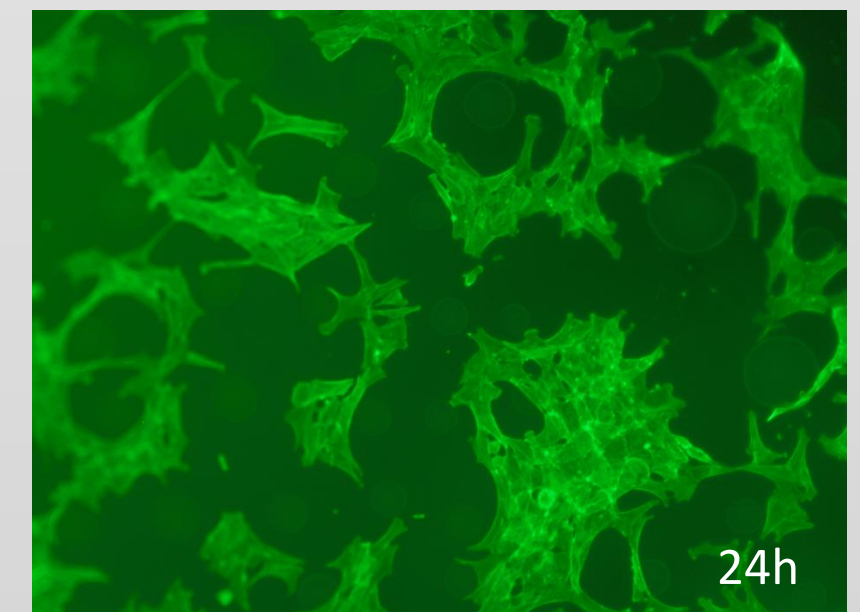


Rys.6 Odnóże pszczoły [DIC, 40x]

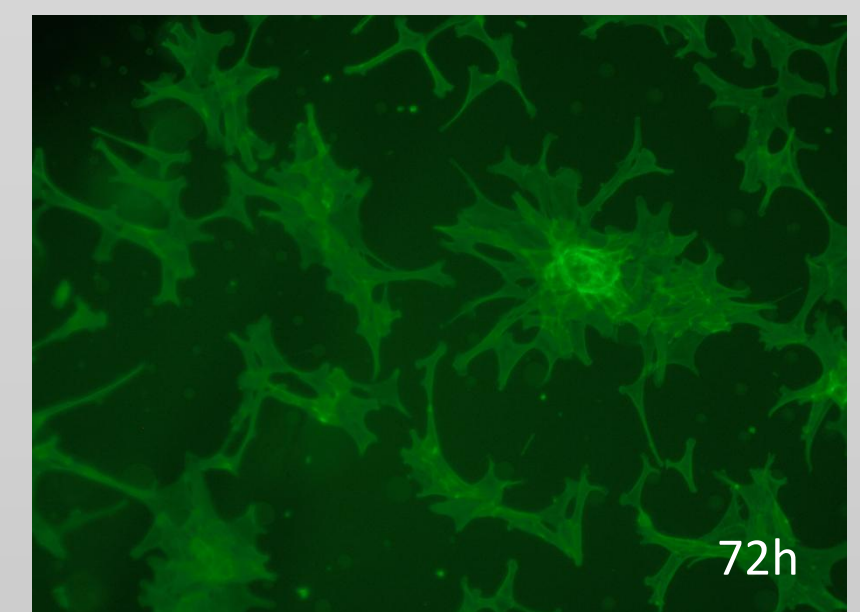
MIKROSKOP FLUORESCENCYJNY

Technika ta wykorzystuje zjawisko **fluorescencji**. W źródle światła jest emitowana wiązka o szerokim zakresie długości fal, następnie przechodzi przez filtr, który z całego zakresu wybiera wąski zakres długości fali (zwykle ultrafiolet, niebieski lub zielony zakres światła). Wiązka następnie pada na zwierciadło dichroiczne, odbija się na nim i trafia na obiektyw, a stamtąd na próbkę. Wiązka wracając przechodzi przez filtr fali emitowanej, w którym jest pozabawiana światła nie pochodzącego z próbki.

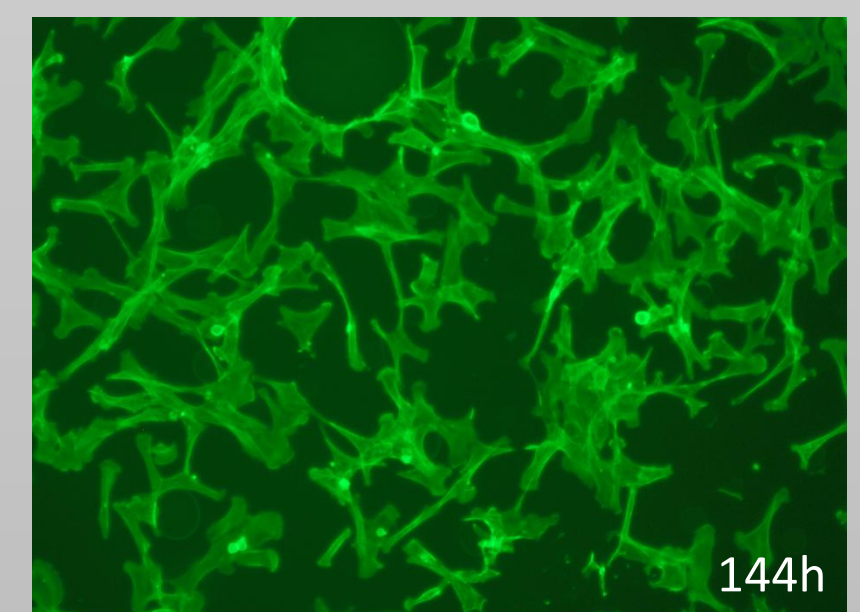
Metoda ta pozwala na uzyskanie wysokiej jakości obrazów o wysokim kontraście. Jej wadą jest inwazyjność na preparaty.



24h



72h



144h



Rys.7 Drożdże

Komórki drożdży są owalne i mają średnicę około 5 do 10 mikrometrów. Komórki *Sacharomyces Boulardii* mają średnicę około 5 mikrometrów (źródło: Wikipedia).

Zmierzone wartości średnic to odpowiednio:
-dla komórek ***Sacharomyces Boulardii*** wynosi $4,72(40)\mu\text{m}$
-- dla komórek **drożdży piekarniczych** wynosi $6,23(45)\mu\text{m}$



Rys.8 *Sacharomyces Boulardii*

Literatura:

http://www.fizyka.uj.edu.pl/II_pracownia/PDF/Z3.pdf