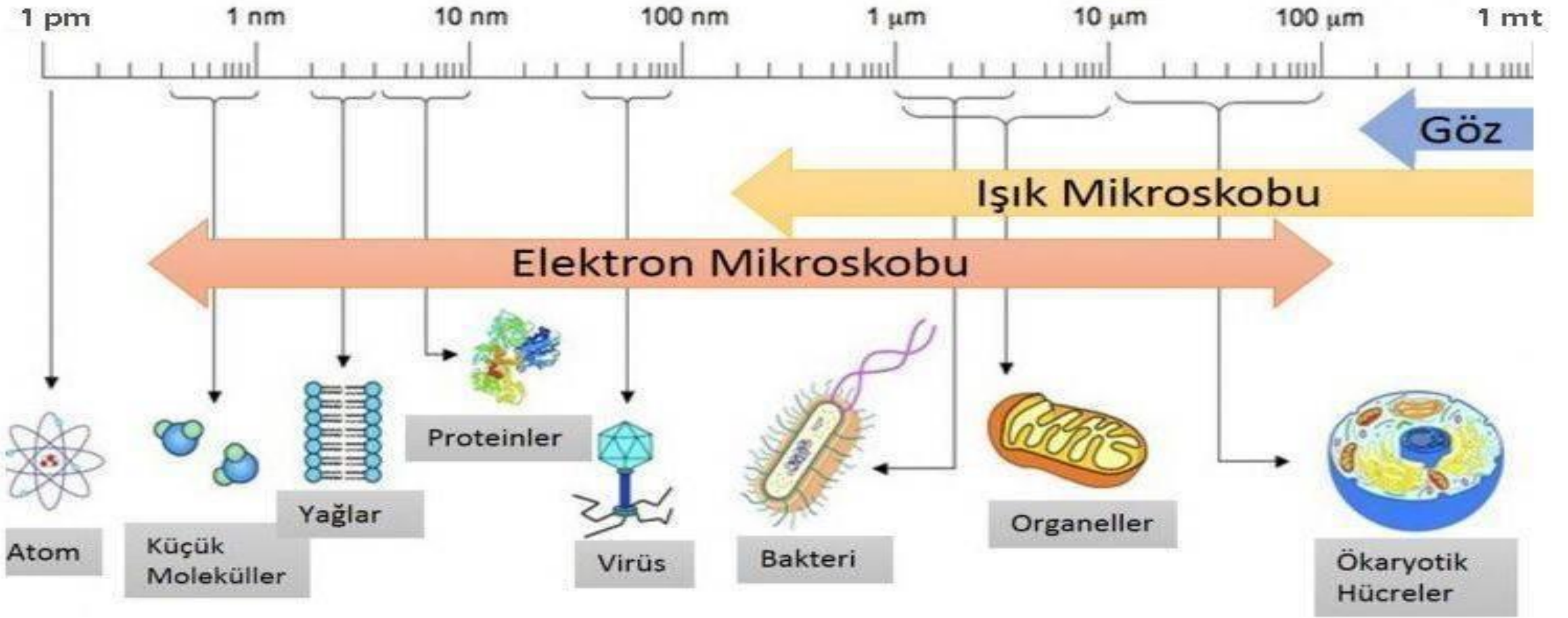


**Mikroskop insana önemini gösterdi, teleskop da önemsizliğini.**

**Manly P. Hall**



Bazı elektron mikroskoplar, 0,2 nanometre (nm)lik cismi net gösterebilmekteyken, en iyi optik mikroskoplar 250 nm'lik bir güce sahiptir.

# Elektron Mikroskobunun Tarihçesi

Fransız fizikçi Louis- Victor Broglie 1924'de, o döneme değin maddesel parçacık olarak kabul edilen elektronların aynı zamanda dalga özelliği gösterdiğini ortaya koymuştur. Elektronların dalga yapısı 1927'de saptanmış ve mikroskopta ışık yerine böyle bir dalganın kullanılmasının ayırma gücünü çok daha büyük ölçüde arttıracığı düşünülmüştür.



**Taramalı elektron mikroskobu ilk olarak 1935 yılında Almanya'da Knoll tarafından tasarlanmış bunu İngiltere, Fransa ve ABD'deki çalışmalar izlemiştir. 1938 yılında M. Von Ardenne Scanning- Transmission elektron mikroskobunu bir TEM (transmisyon elektron mikroskobu üzerine tarama parçası takarak elde etmiştir. Elektron mikroskobunda bir solid materyalin yüzey incelemesi 1942 yılında Zworykin tarafından gerçekleştirilmiştir.**

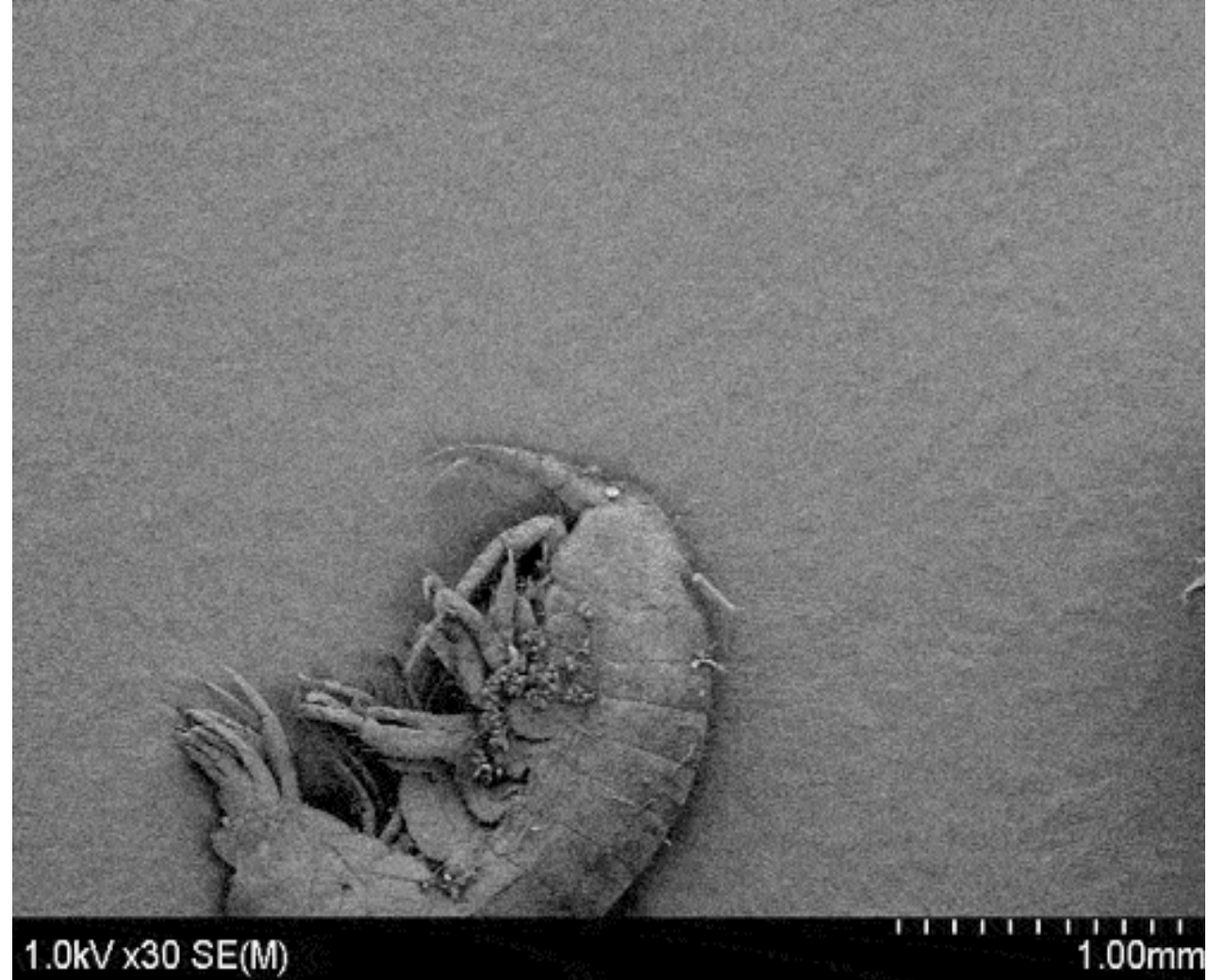
**Bu tasarımlar Cambridge Üniversitesi Mühendislik Fakültesinde Oatley ve arkadaşları tarafından 1949 yılında başlayan çalışmalar sonucu geliştirilmiştir. Bu aynı zamanda 1965 yılında ticari olarak pazarlanan ilk elektron mikroskobu olup STEREOSCAN adını almıştır. 1968 ve 1969 yıllarında aletin özellikleri çeşitli sempozyumlarda tanıtılmıştır. Günümüzde kullanılan elektron mikroskoplarının temel prensiplerine uyan elektron mikroskobu ise 1953 yılında Mc Mullan tarafından uygulamaya konulmuştur.**

- 1931 Von Borris ve Ruska TEM'i icat edildi.
- 1935 Max Knoll ilk SEM'i üretti (Berlin)
- 1965 ilk ticari SEM üretildi. (Cambridge Scientific Instruments)
- Çözünürlük (1965) : 50 nm



## **ELEKTRON MİKROSKOBU TİPLERİ:**

- a) Taramalı Elektron Mikroskobu  
(Scanning Electron Microscope)
- b) Geçirgen Elektron Mikroskobu  
(Transmission Electron  
Microscope)



**Elektron mikroskopunun temel prensibi termoiyonik olaya dayanır. Vakum altında kızıl dereceye kadar ısıtılmak suretiyle bir metalden elektron çıkarılmasına termoiyonik olay denir.**

**Metal bir filamentin (Wolfram teli gibi) ısıtılarak akkor haline geçmesi sonucu elektron saçılmaya başlar. Oluşan bu elektron demeti vakumlanmış kolonda eksen boyunca düz bir doğrultuda ve kayba uğramaksızın ilerler. Elektron mikroskopunda, görünür ışık yerine, dalga özelliğine sahip hızlı elektronlar kullanılmakta, böylelikle görünür ışık kullanılan mikroskoplara göre çok daha büyük bir lineer rezolüsyon limitine ulaşılmaktadır.**



# **Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope)**

**Taramalı elektron mikroskopu veya SEM (Scanning Electron Microscope), odaklanmış bir elektron demeti ile numune yüzeyini tarayarak görüntü elde eden bir elektron mikroskopudur. Elektronlar numunedeki atomlarla etkileşerek numune yüzeyindeki topografi ve kompozisyon hakkında bilgiler içeren farklı sinyaller üretir. Elektron demeti raster tarama düzeni (ızgara) ile yüzeyi tarar ve demetin konumu, algılanan sinyalle eşleştirilerek görüntü oluşturulur.**

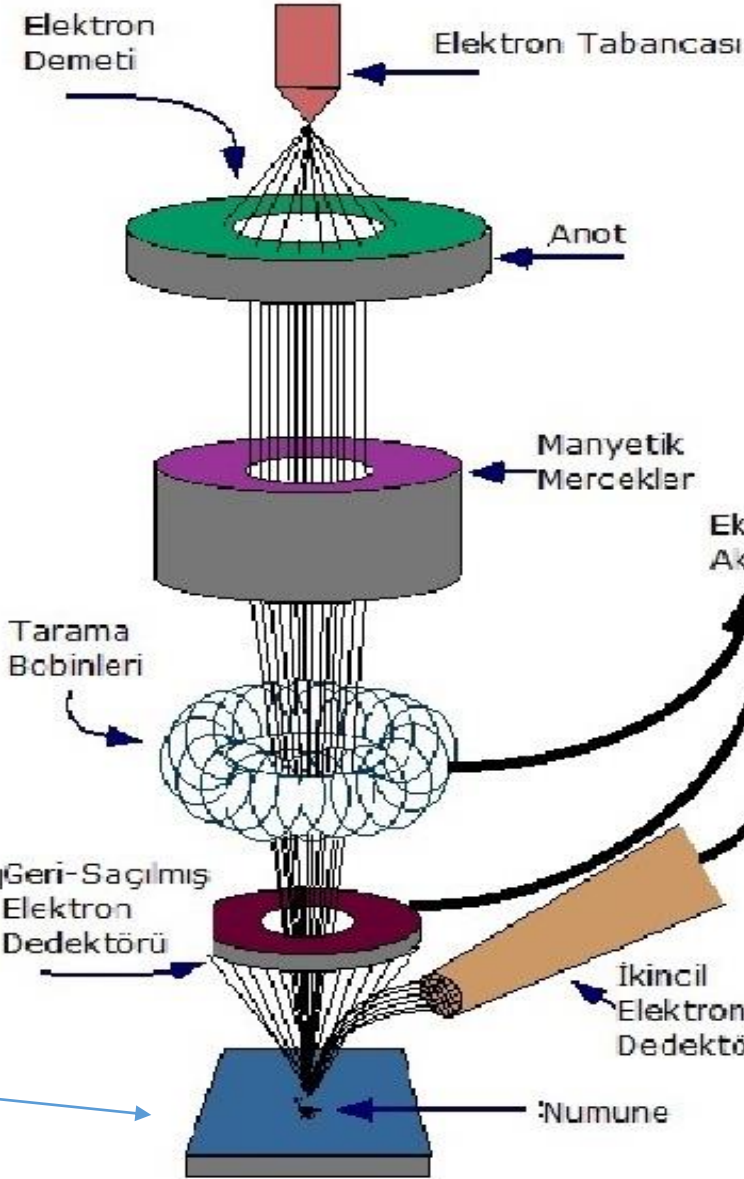
# **Taramalı Elektron Mikroskobu**

**Optik Kolon,**

**Numune Hücresi ve**

**Görüntüleme Sistemi olmak üzere üç temel kısımdan oluşmaktadır.**

Mikroskobun optik kolonu içinde;



Elektron demetinin kaynağı olan **Elektron Tabancası**

Elektronları numuneye doğru hızlandırmak için yüksek gerilimin uygulandığı **Anot Plakası**

**Tarama Bobinleri** numune yüzeyini taramak için demeti uygun şekilde saptırır

İnce elektron demeti elde etmek, demeti toplamak ve yönlendirmekte kullanılan **Kondansör ve Objektif Mercekleri**.

Bu merceğe bağlı çeşitli çapta **Apatürler (açıklık)** ve elektron demetinin numune yüzeyini taraması için **Tarama Bobinleri** yer almaktadır.

Üç boyutta hareket edebilen **Numune Kızağı**

## **Kondansör ve Objektif Mercekler**

**Tarama elektron mikroskopunda kondansör, objektif mercekler ve elektromanyetik mercekler oluşturmaktadır.**

**Kondansör mercekleri elektron demetini kesişme noktasında daraltıp yoğunlaştırarak demetin küçük bir görüntüsünü oluşturur.**

**Objektif mercekleri elektron demetini numune yüzeyine odaklar. Bu mercekler görüntünün kalitesi üzerine etkili olduğundan elektron mikroskopunun en önemli parçaları olarak kabul edilir.**

## **Tarama Bobinleri**

**Elektron demetinin numune yüzeyini tarayabilmesi için periyodik olarak soldan sağa ve aynı anda yukarıdan aşağıya kaydırılması gerekmektedir. Kaydırma işlemi tarama bobinleri yardımıyla yapılmaktadır. Elektron mikroskobunda analiz işlemi yapılacaksa demetin numune üzerinde seçilecek bir noktaya odaklanması gerekir ve bu odaklama işlemi de tarama bobinlerinden faydalanılarak yapılır.**

**Optik kolon içinde bulunan iki grup saptırma bobininden birinci grup elektron demetini optik kolondaki aperturlere (açıklık) göre merkezlemek için ikinci grup görüntü kaydırma işlemi için kullanılır. Demete istenilen yönde sabit bir sapma vererek numuneyi yerinden oynatmadan incelenen alan değiştirilir. Ancak demeti saptırmak suretiyle alan kaydırma işlemi çok küçük mesafelerden yapılabildiğinden sadece yüksek büyütmelelerde yararlanılabilmektedir.**

# Elektron Tabancaları

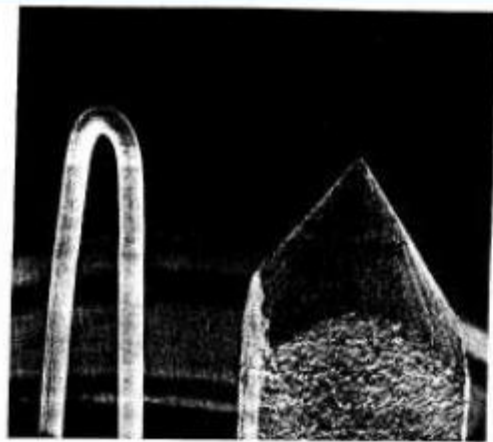
Örnek üzerine yoğunlaştıracak kadar elektron üreten kaynaklardır.

3 Çeşit elektron tabancası vardır.

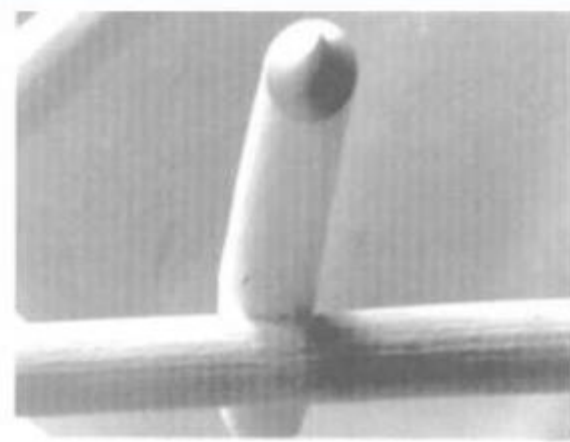
**Tungsten Tabanca**

**Lanthanum hexaboride (LaB6)**

**Field**



Tungsten Tel filament ve  
LaB6 uç



FEG filamantı



## **Tungsten Tabanca**

**Bu kaynakta yayınım yüzeyinin çok küçük olması için 120 um tungsten tel ince uç biçimi verecek şekilde bükülmüştür. İçinden geçen akımla filament ısınır.**

**2700 °C'ye kadar ısınır.**

**50-150 saat ömrü vardır.**

**Ucuzdur.**

**$10^{-3}$  Pa çalışma vakumla ihtiyaç duyar.**

## **Mikroskobun elektronik donanımı**

**Flaman akımı, mercek akımı ve uyarma gerilimi kararlı tutarak demet numune etkileşimi sonucunda çıkan sinyalleri algılamak, algılayıcılardan gelen sinyalleri işleyerek numunenin değişik özelliklerini yansıtan görüntülerin oluşumunu sağlamaktadır.**

**Taramalı elektron mikroskopunda temel prensip örnek yüzeyinden yansıyan elektronların bir toplayıcıda birikmesi ve bu biriken elektronların bir takım yansıtıcı aletler yardımı ile görüntü haline getirilmesidir.**

**Burada en büyük sorun alınan organik veya inorganik materyal üzerinde elektronların birikerek görüntü kayıplarına neden olması ya da elektron geçirgen örnekten yansımanın yeterince olmamasıdır ki, bu da örnek hazırlanma esnasında kullanılan kaplama maddeleri ile engellenmektedir.**

**Kaplayıcı ajan olarak altın, palladyum, gümüş, karbon ve alüminyum kullanılmaktadır. Özellikle hassas inorganik veya organik materyallerin elektron demetinin oluşturduğu akım gücü altında zarar görmesi (büyük büyütmelerde önemli ölçüde görüntü kayıplarına neden olmaktadır) kaplama yöntemiyle engellenmektedir.**

# Algılayıcılar

Elektron demeti - numune etkileşimi sonucunda; ikincil elektronlar, geri - saçılan elektronlar, karakteristik X ışınları, katodoluminisans , auger elektronları, soğurulan elektronlar ile numune gerilme sinyalleri oluşmaktadır. Soğurulan elektronlar numuneden toprağa giden akım olduğundan elektrik sinyali halinde olup bir algılayıcı gerektirmezler, güçlendirici devrelerle görüntü oluşumunda kullanılacak seviyeye getirilirler. Diğer sinyallerin her biri için özel olarak geliştirilmiş algılayıcılar vardır.

Görünü oluşturmada en yaygın olarak; ikincil elektronlar, geri saçılan elektronlar ve soğurulan elektronların sinyalleri kullanılmaktadır.

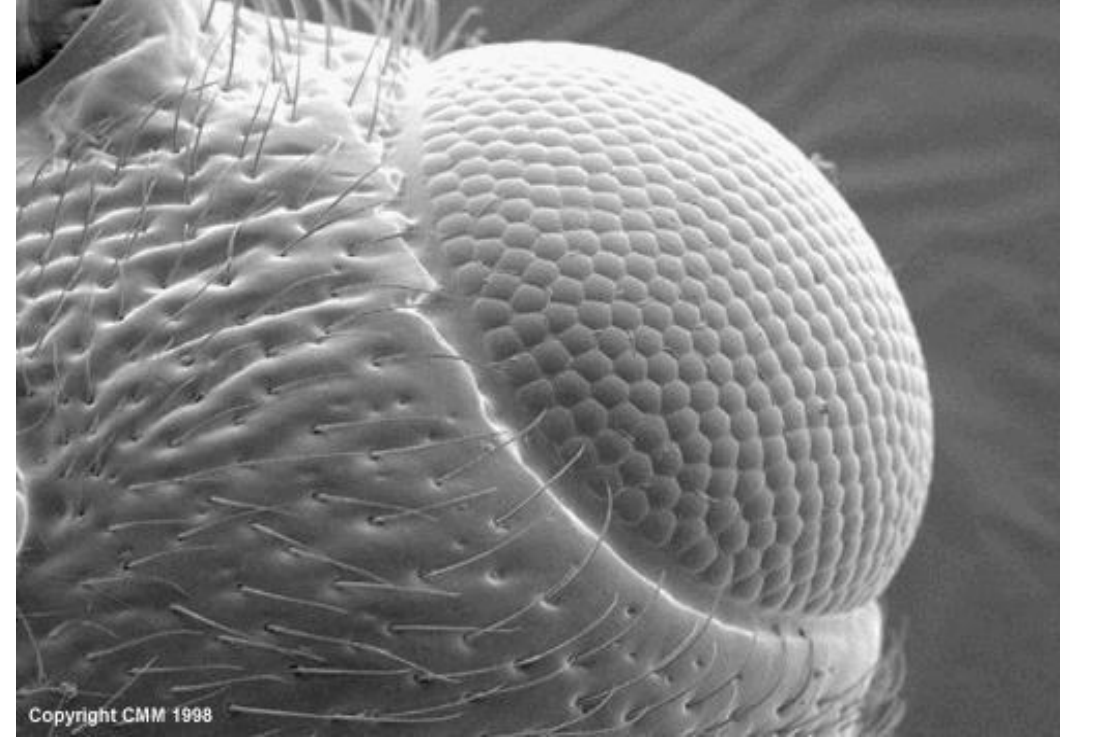
# **Görüntü Oluşumu**

**Akımı, çapı ve sapması bilinen bir elektron demetinin tek bir noktada numune yüzeyine çarpması sonucunda; ikincil, geri saçılan, soğurulmuş elektronlar ve X - ışınları gibi kaydedilen sinyaller oluşmaktadır. Elde edilen bu sinyaller algılayıcılar tarafından toplanarak , demetin çarptığı tek noktanın topografik ve bileşim görüntüsü belirlenmektedir. Numune yüzeyinin sadece demet çapı kadar bir noktasının özelliklerini incelemek yeterli olmayacağından daha geniş bir yüzeyin özelliklerini incelemek için numunenin veya demetin hareket ettirilmesi gerekmektedir.**

**Geçirimli Elektron Mikroskobu**  
**(Transmission Electron Microscopy )**

**TEM'in temeli incelenecek (çok ince bir) numuneden elektronların geçirilmesi yoluyla görüntüsünün alınmasına dayanır.**

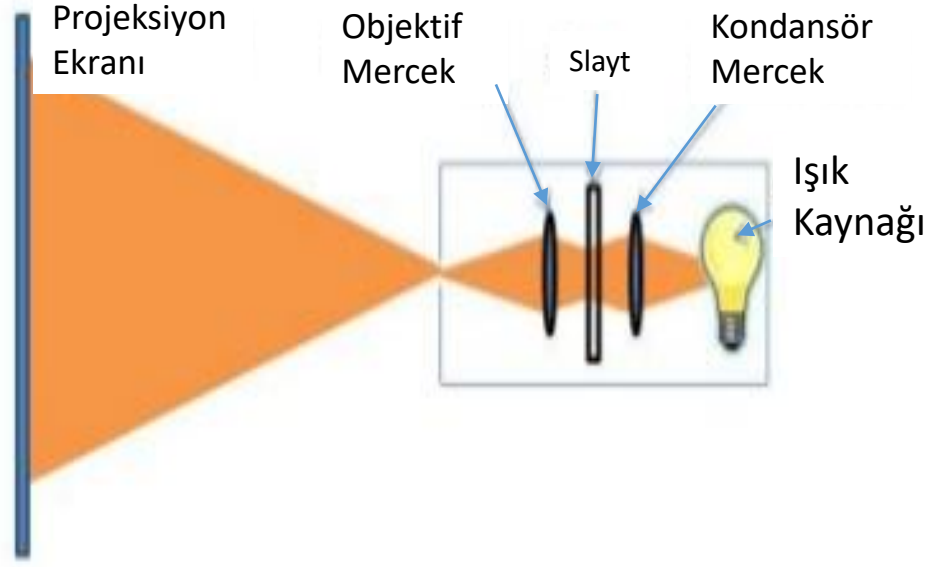
**Çalışma prensibi açısından klasik bir projeksiyon cihazına benzetilebilir.**



**Elektron mikroskobu altında eşek arısı gözü**



## Slayt Projektörü



Projeksiyon cihazında ışık kaynağından çıkan ışık bir mercek yardımıyla slayt filmi üzerine düşürülür.

Bu şekilde oluşan görüntü bir objektif merceği yardımıyla belli bir noktaya odaklanır (kesişim noktası).

Daha sonra görüntü bir ekrana yansıtılır ve ekran-kesişim noktası arasındaki mesafe değiştirilerek görüntünün büyüklüğü ayarlanabilir.

**TEM'de ise elektron demeti kondensör lens sistemi kullanılarak numune üzerine odaklanır.**

**Oluşan görüntü objektif lens yardımıyla belli bir noktaya odaklanır (kesişim noktası).**

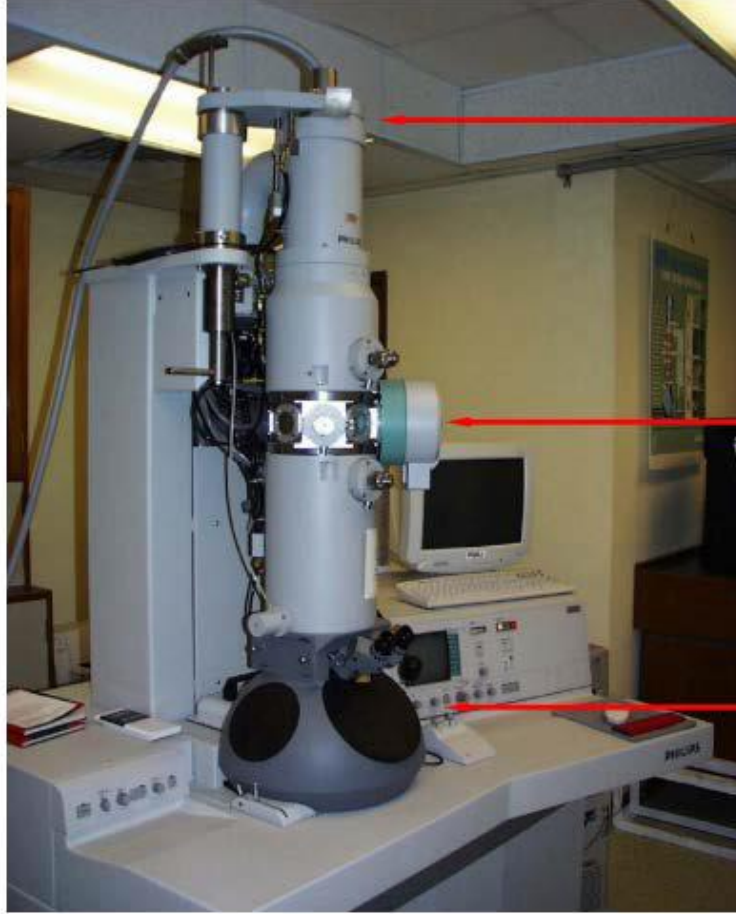
**Daha sonra bu görüntü bir floresan ekran üzerine düşürülür ve objektif lensler yardımıyla görüntünün boyutu değiştirilebilir.**

**Elektromanyetik lenslere uygulanan akımın değiştirilmesi , görüntünün büyütülüp küçültülmesini sağlayan bu lenslerin odak uzaklığını değiştirir.**



**Kafein kristalleri (400mikron)**

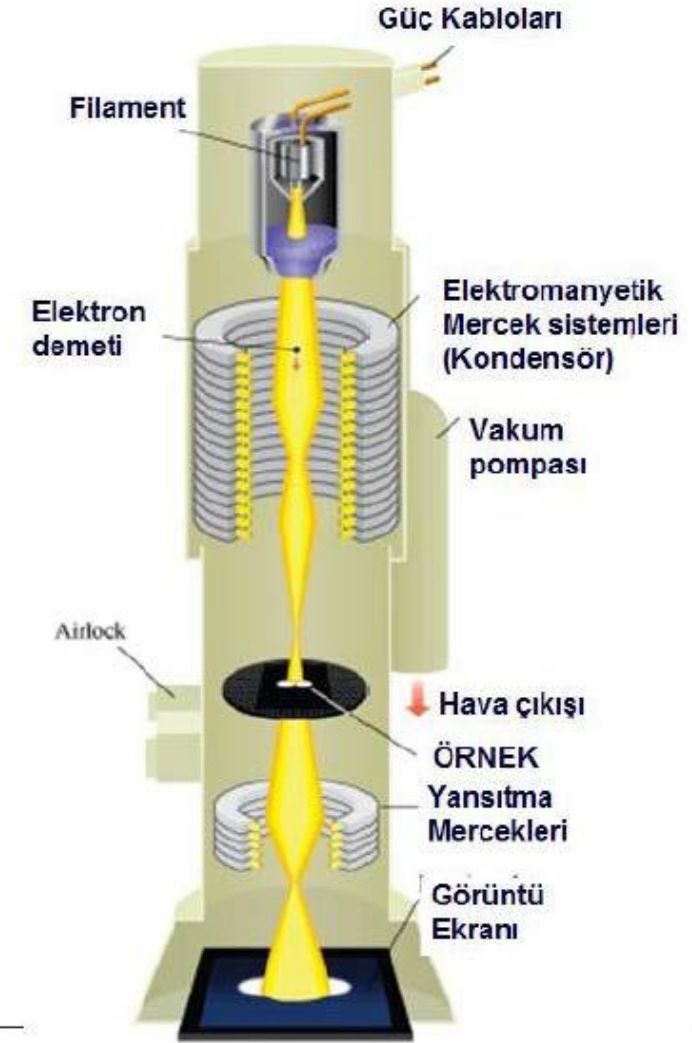
# Geçirimli mikroskop



Elektron tabancası

Numune girişi

Görüntü ekranı



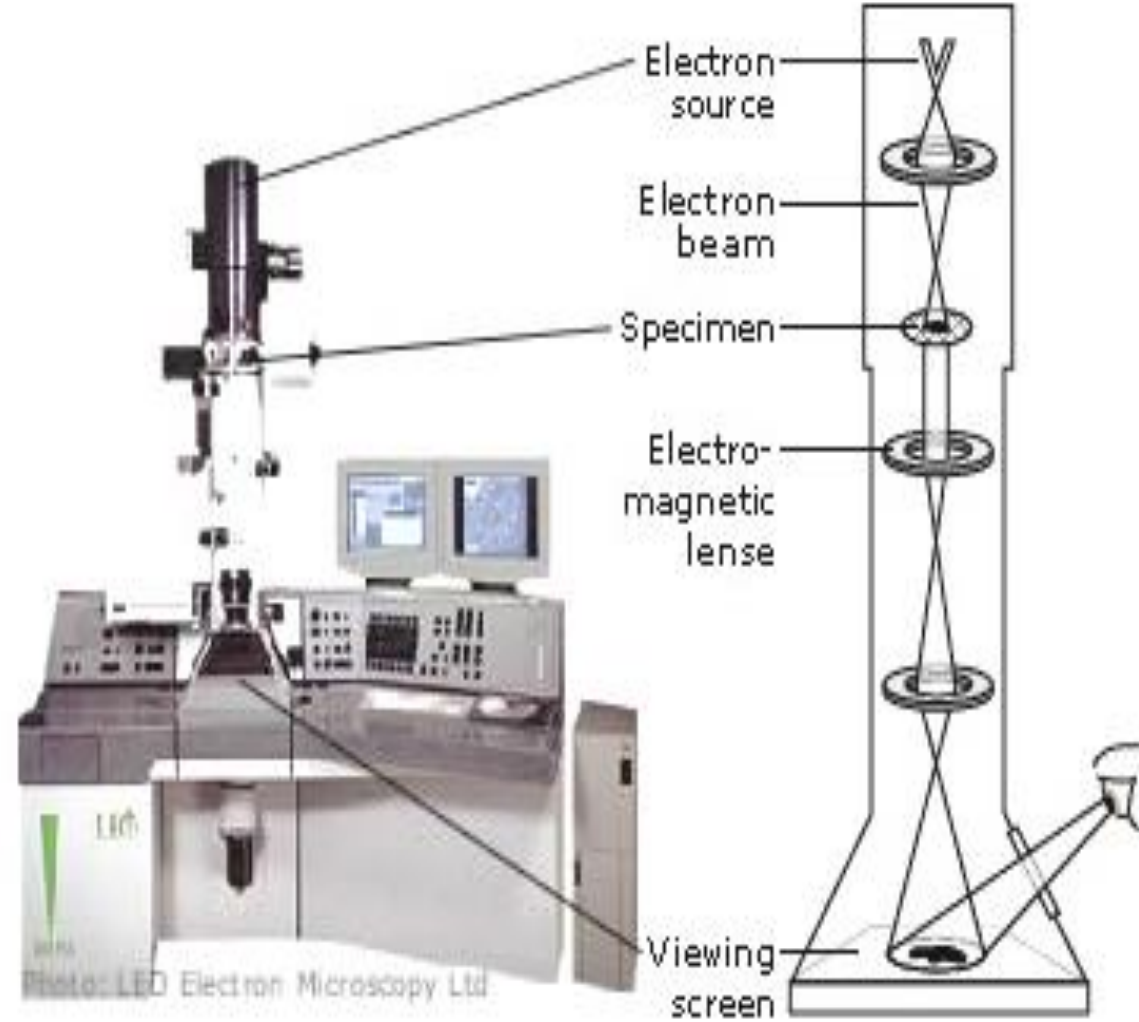
Bunlar optik mikroskoba benzer bir çalışma sistemine sahiptirler. Tek fark, ışık ışını yerine elektron ışını kullanılmasıdır. Fiziki çalışma sistemi tamamen farklı olmasına rağmen ,burada optik mercekler yerine elektron mercekleri kullanılır. Görüntü bir ekranda veya fotoğrafik levhada elde edilir. Elektronlar çok kolay yollarından sapabileceklerinden, bütün işlem ve görüntünün elde edilmesi tamamen bir vakum içerisinde gerçekleştirilir. Elektronlar tungstenden akkor flamanndan elektrikle ısıtılan elektron tabancasından elde edilir. Anodla, flaman arasında 100.000 voltluk bir potansiyel farkı tatbik edilir.

**Osaka Üniversitesi' nde bulunan 300kV  
hızlandırma voltajı ile çalışan TEM**



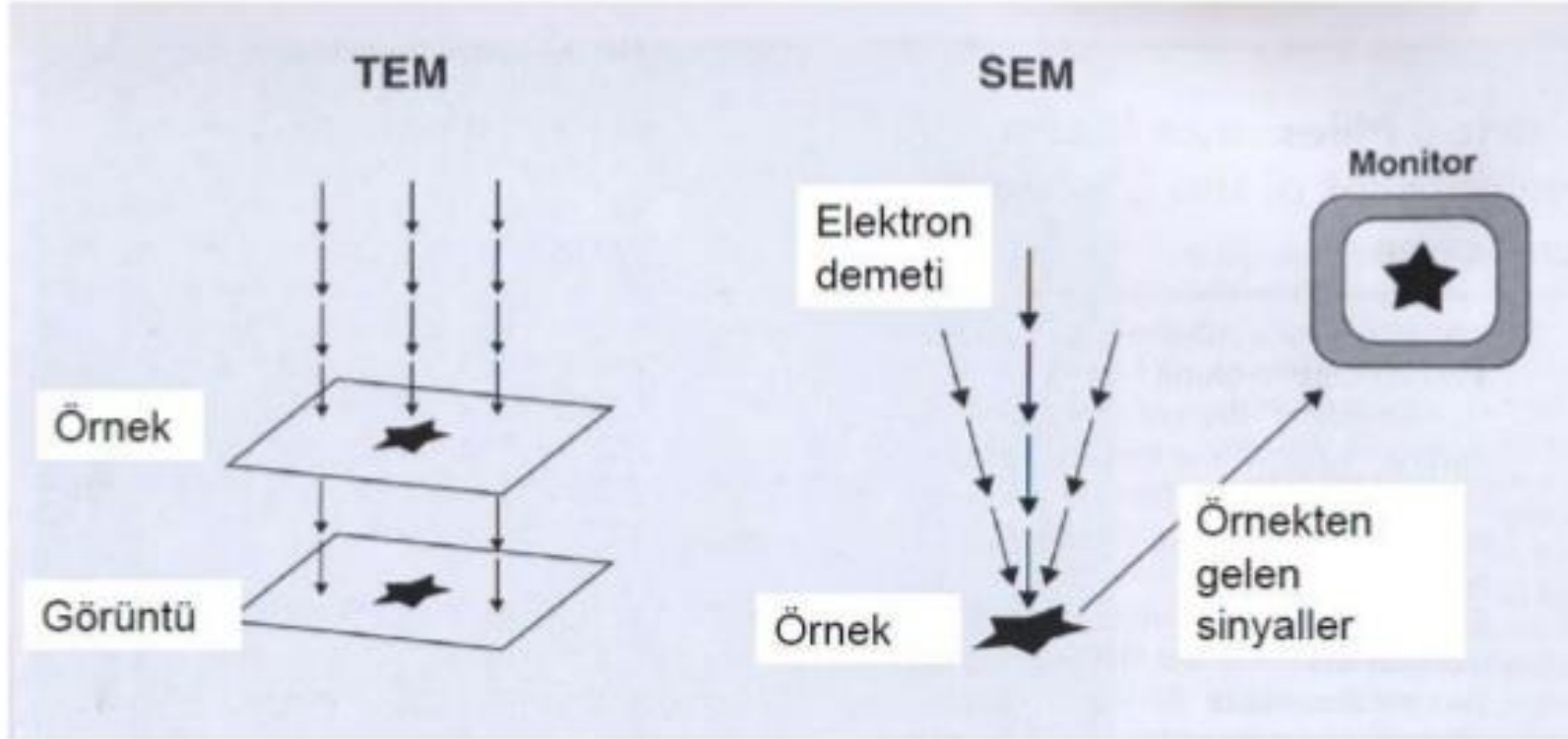


**Cisme en yakın olan elektron merceği, alette en önemli olanıdır. Bu mercek, 50-100 arasında ara bir büyütme elde eder. Büyütme işleminde, gelen ışın denemelerinin açısal genişliği küçüldüğü için, projektör sistemi bu büyütülmüş görüntüyü kolayca işler. Hemen hemen bütün elektron mikroskoplarında iki veya üç mercek mevcuttur. Bunlar 250-500.000 arasında bir büyütme sağlar.**



## TEM ve SEM'in Karşılaştırılması

Geçirimli Elektron Mikroskobunda (TEM) görüntü örnekten geçen elektronlarla oluşturulurken, Taramalı Elektron Mikroskobunda (SEM) örnekten yansıyan elektronlarla görüntü oluşturulur.



## TEM ve SEM'in

### Karşılaştırılması (Devam)

SEM ile yüzey morfolojisi incelenirken, TEM'de örnek derinlemesine incelenmektedir.

SEM'in örnek şekli hacimli ve büyükken, TEM'inki ince film tarzındadır.



Elektron mikroskobu altında tuz ve karabiber



# Avantajlar ve Dezavantajlar

## TEM

- 1000 kX büyütme
- Numune hazırlama zaman alıcı
- Numune iletken/yalıtkan
- WDS-EDS kullanılabiliyor
- Yüzey topoğrafyası incelenemez
- HREM ile kristalografik bilgi elde edilebilir
- Elektron kırınımı ile kristal yapı belirlenebilir
- 1.000.000 \$
- İşletmesi maliyetli ve uzmanlık gerektirir.

## SEM

- 100 kX büyütme
- Numune hazırlamak kolay
- Numune iletken olmak zorunda
- WDS-EDS kullanılabiliyor
- Kırılma yüzeyleri incelenebiliyor
- Kristalografik bilgi elde edilemez
- 500.000 \$
- İşletmesi nispeten daha kolaydır.

# **TEM ve SEM'in Kullanım Alanları**

**Günümüzde mikroskoplar birçok alanda inceleme yapmak için başvurduğumuz en önemli cihazlardır. Geçmişten beri kullanılan mikroskoplar günümüzdeki gelişmelerden sonra önemini daha da arttırmıştır.**

**Birçok bilim dalında, tıp ve adli tıp alanında, uçak ve otomobil sanayisinde, tekstil ve daha birçok sektörde kendine kullanım alanı bulmuştur.**

## SEM'İN KULLANIM ALANLARI

Medikal Kullanım

Adli Tıp

Metallerin İncelenmesi

Bilimsel Araştırmalar

Tekstil

## TEM'İN KULLANIM ALANLARI

Biyoloji alanında

Tıp alanında

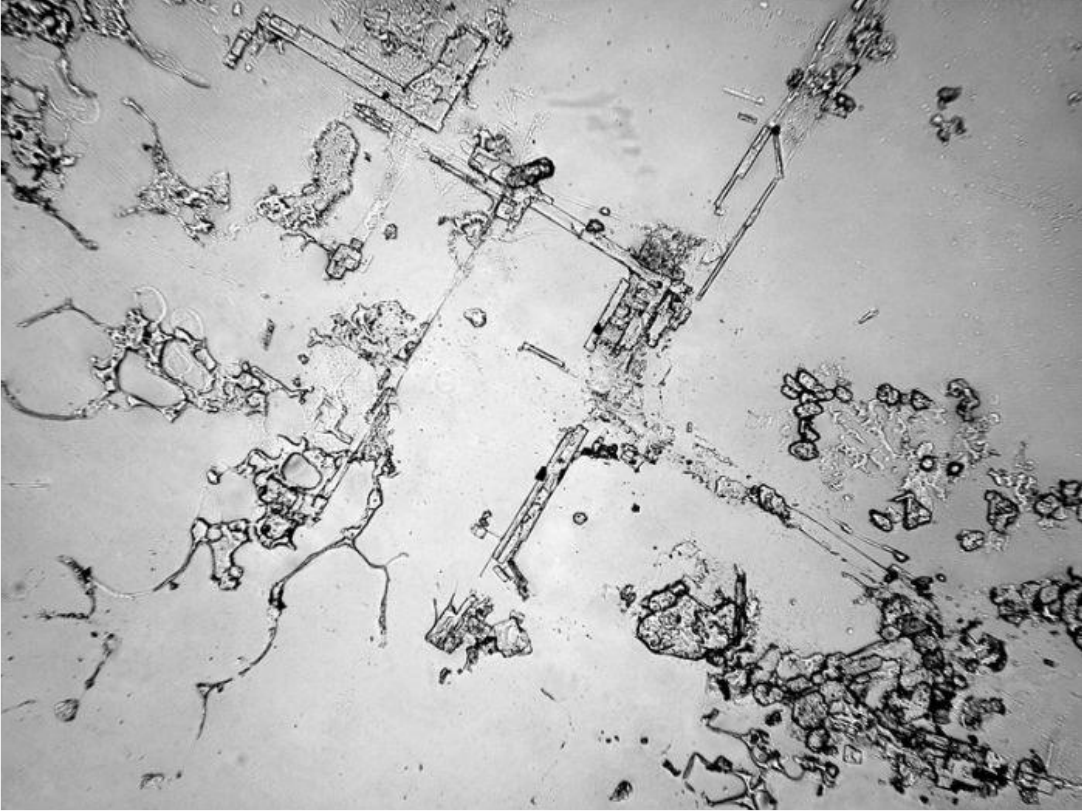
Madde bilimleri

Yeryüzü bilimlerinden elde edilen örneklerin iç yapılarını görüntülemekte kullanılır.

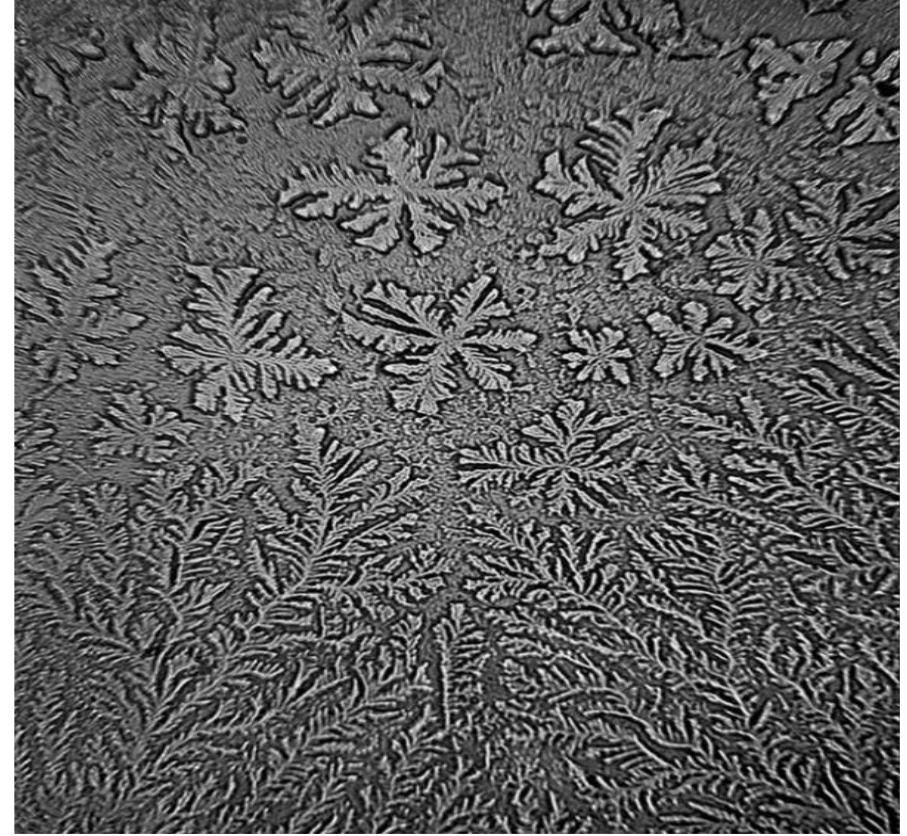


Elektron mikroskopuyla çekilmiş karınca yüzü

**Fotoğrafçı Rose Lynn Fisher Elektron mikroskop ile insanın farklı durumlarda ki gözyaşlarının fotoğraflarını çekti**



**Üzüntü Gözyaşları**

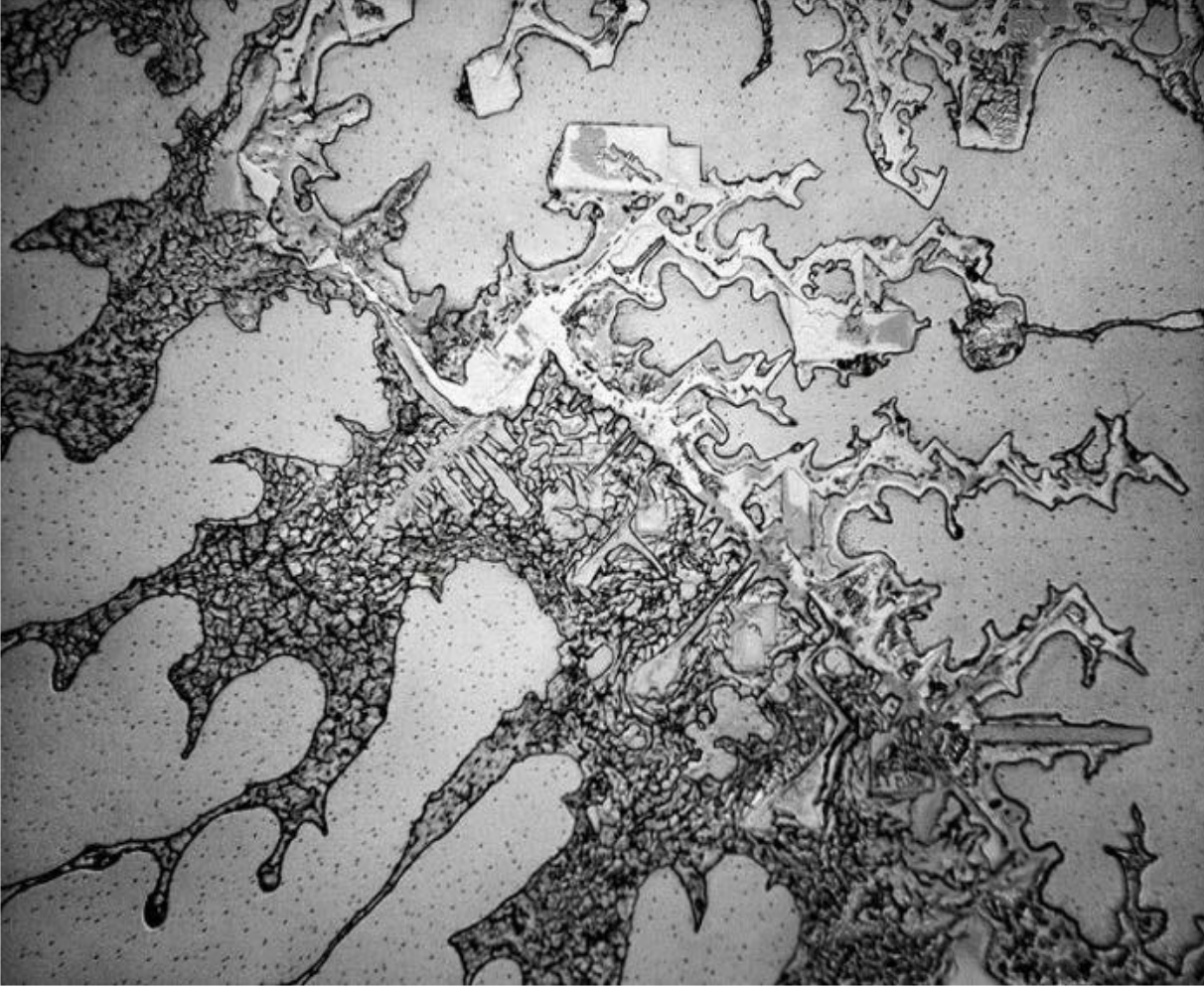


**Soğan doğrarken Gözyaşları**

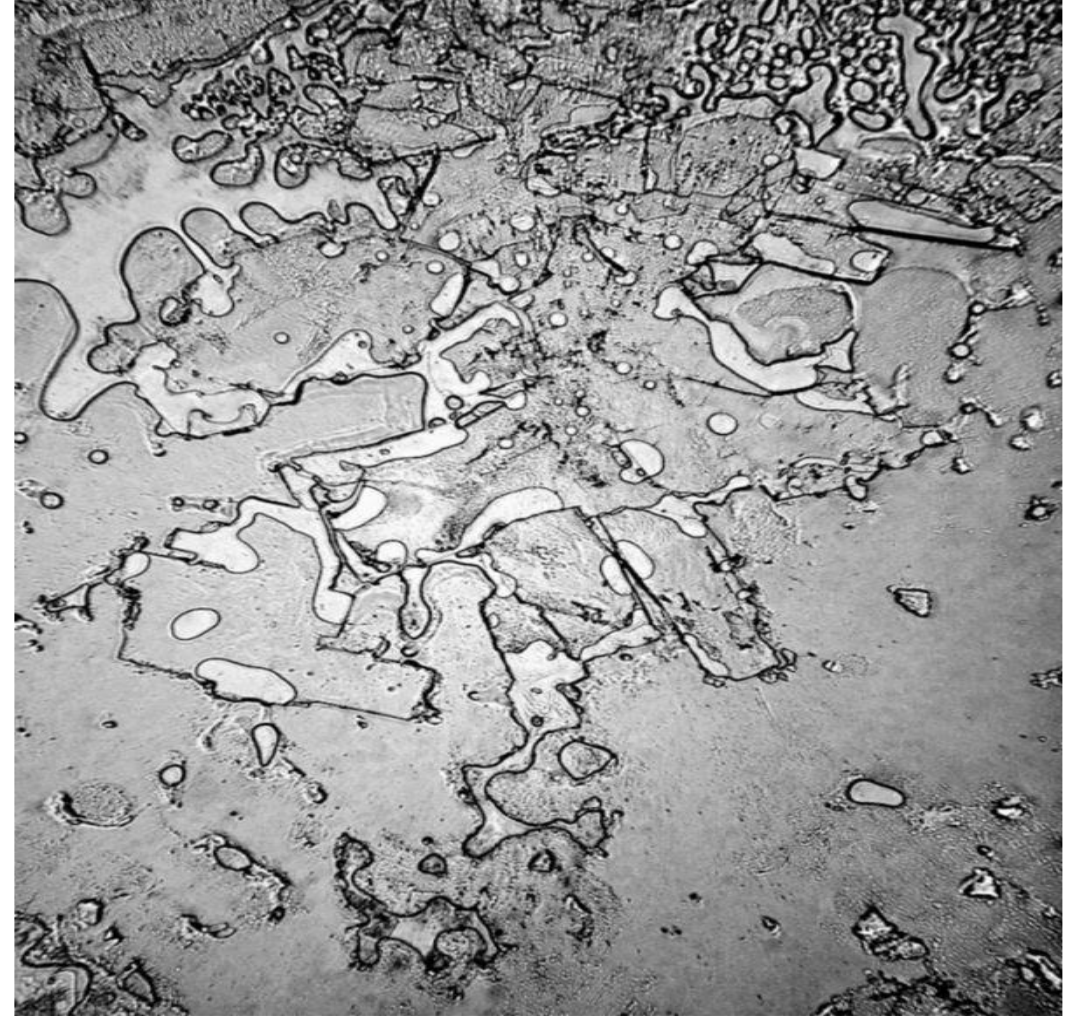


**Toz zerreciklerinin göze kaçması nedeniyle oluşan gözyaşları**





**Sevinç ve Umut Gözyaşları**



**Kahkaha Gözyaşları**



# 2017 NOBEL KİMYA ÖDÜLÜ



2017 Nobel Kimya Ödülü, biyomolekül yapıların görüntülenmesini sağlayan **kriyo-elektron mikroskobu** çalışmaları ile **Jacques Dubochet**, **Joachim Frank** ve **Richard Henderson**'a verildi.

X-RAY KRİSTALLOGRAFI



kristal oluşturan proteinlerin yapıları

NMR SPEKTROSKOPI



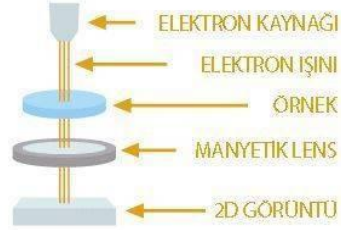
solüsyon içindeki küçük proteinlerin yapıları

KRİYO-EM

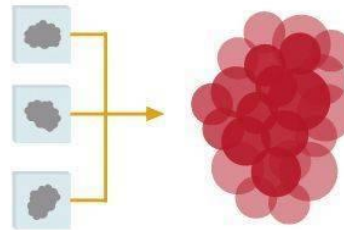


büyük, kristal oluşturmayan proteinlerin yapıları

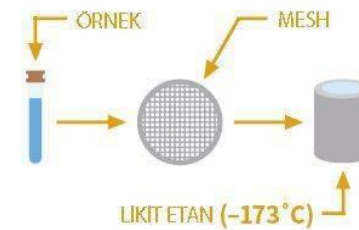
Kriyo-elektron mikroskobu (cryo-EM), biyolojik moleküllerin atomik çözünürlükte 3D görüntülerini sağlayan bir tekniktir. Daha önceki görüntüleme yöntemleri sağlanamayan kalitede yapıları gösterebilir.



**Henderson**, proteinleri görüntülemek için elektron mikroskobu kullanımının öncüsü oldu. 1990'da, bir proteinin (bakteriorhodopsin), ilk atomik çözünürlükte görüntüsünü üretti.



**Frank**, görüntü işleme yöntemi geliştirdi. Böylece mikroskoplardan alınan iki boyutlu görüntüler analiz edilerek malzemelerin üç boyutlu yapıları belirlenmeye başlandı.



Biyolojik örnekler EM sırasında vakum nedeni ile bozulur. **Dubochet**, suyun çok hızlı soğutulduğu bir yöntem geliştirerek biyomoleküllerin yapıları bozulmadan katılaşmasını sağladı.



## BU ARAŞTIRMA NEDEN ÖNEMLİ?

Kriyo-EM, proteinleri dondurarak işlevleri sırasında gözlenmelerine olanak sağlamıştır. Böylece proteinlerin nasıl hareket ve diğer moleküllerle etkileştiği izleyebiliyoruz. İlaç hedefleri ve biyolojik süreçlere dair bilgimizi geliştirebilir.

Kaynak: Nobel Prize in Chemistry Press release: [https://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/2017/press.html](https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2017/press.html)

PRESS RELEASE

4 October 2017

# The Nobel Prize in Chemistry 2017

The Royal Swedish Academy of Sciences has decided to award the Nobel Prize in Chemistry 2017 to

**Jacques Dubochet**

University of Lausanne, Switzerland

**Joachim Frank**

Columbia University, New York, USA

**Richard Henderson**

MRC Laboratory of Molecular Biology,  
Cambridge, UK

*“for developing cryo-electron microscopy for the high-resolution structure determination of biomolecules in solution”*



## Cool microscope technology revolutionises biochemistry

We may soon have detailed images of life's complex machineries in atomic resolution. The Nobel Prize in Chemistry 2017 is awarded to **Jacques Dubochet**, **Joachim Frank** and **Richard Henderson** for the development of cryo-electron microscopy, which both simplifies and improves the imaging of biomolecules. This method has moved biochemistry into a new era.

A picture is a key to understanding. Scientific breakthroughs often build upon the successful visualisation of objects invisible to the human eye. However, biochemical maps have long been filled with blank spaces because the available technology has had difficulty generating images of much of life's molecular machinery. Cryo-electron microscopy changes all of this. Researchers can now freeze biomolecules mid-movement and visualise processes they have never previously seen, which is decisive for both the basic understanding of life's chemistry and for the development of pharmaceuticals.

Electron microscopes were long believed to only be suitable for imaging dead matter, because the powerful electron beam destroys biological material. But in 1990, Richard Henderson succeeded in using an electron microscope to generate a three-dimensional image of a protein at atomic resolution. This breakthrough proved the technology's potential.

Joachim Frank made the technology generally applicable. Between 1975 and 1986 he developed an image processing method in which the electron microscope's fuzzy two-dimensional images are analysed and merged to reveal a sharp three-dimensional structure.

Jacques Dubochet added water to electron microscopy. Liquid water evaporates in the electron microscope's vacuum, which makes the biomolecules collapse. In the early 1980s, Dubochet succeeded in vitrifying water – he cooled water so rapidly that it solidified in its liquid form around a biological sample, allowing the biomolecules to retain their natural shape even in a vacuum.

Following these discoveries, the electron microscope's every nut and bolt have been optimised. The desired atomic resolution was reached in 2013, and researchers can now routinely produce three-dimensional structures of biomolecules. In the past few years, scientific literature has been filled with images of everything from proteins that cause antibiotic resistance, to the surface of the Zika virus. Biochemistry is now facing an explosive development and is all set for an exciting future.

---

**Jacques Dubochet**, born 1942 in Aigle, Switzerland. Ph.D. 1973, University of Geneva and University of Basel, Switzerland. Honorary Professor of Biophysics, University of Lausanne, Switzerland.

[www.unil.ch/dee/en/home/menuinst/people/honorary-professors/prof-jacques-dubochet.html](http://www.unil.ch/dee/en/home/menuinst/people/honorary-professors/prof-jacques-dubochet.html)

**Joachim Frank**, born 1940 in Siegen, Germany. Ph.D. 1970, Technical University of Munich, Germany. Professor of Biochemistry and Molecular Biophysics and of Biological Sciences, Columbia University, New York, USA.

<http://franklab.cpmc.columbia.edu/franklab/>

**Richard Henderson**, born 1945 in Edinburgh, Scotland. Ph.D. 1969, Cambridge University, UK. Programme Leader, MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, UK.

[www2.mrc-lmb.cam.ac.uk/groups/rh15/](http://www2.mrc-lmb.cam.ac.uk/groups/rh15/)