

# IŞIK ELEKTRON MİKROSKOPİSİ ve DOKU HAZIRLAMA TEKNİĞİ

Prof. Dr. A. Gürol BAYRAKTAROĞLU



13 Microscope composé,  
forme Pascalini, vers 1730  
Inv. 2274  
Compound microscope,  
Pascalini form, circa 1730

14 Microscope composé, vers 1751  
Rédité par Stargé  
Provenant de l'atelier de Jean de Chouart  
Inv. 7452  
Compound microscope, circa 1751

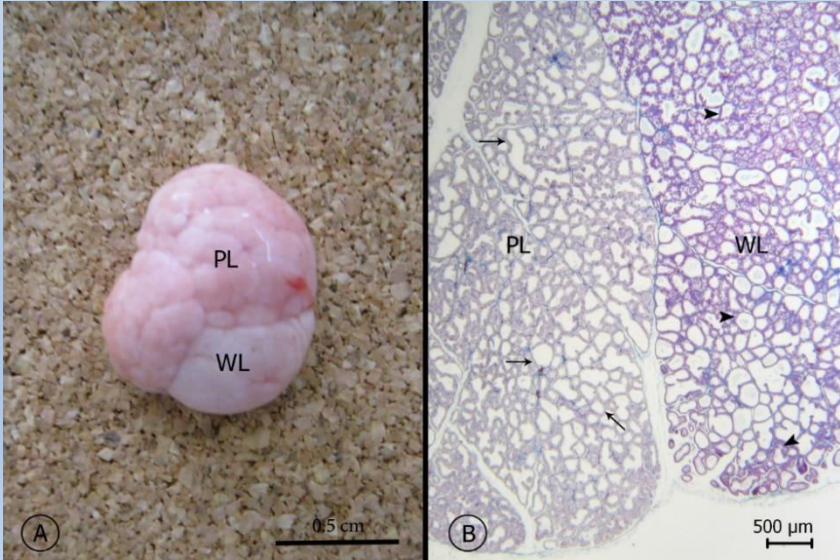
15 Microscope composé type  
Culpeper, milieu XVIII<sup>e</sup> siècle  
Coulpeper type  
Inv. 1818  
Culpeper type compound microscope,  
mid-18<sup>th</sup> century

# Hedefler

- 1. Işık mikroskopunun optik ve mekanik bölümlerini tanıma ve işlevlerini anlama**
- 2. Aydınlık alan ışık mikroskopunda görüntü oluşturma prensibini öğrenme**

# Niçin Mikroskop Kullanıyoruz?

Ayrım gücü (rezolusyon gücü) olarak tanımlanan iki noktayı birbirinden ayırt edebilme yeteneği, insan gözü için 40 mikrometredir. Histolojinin konusunu oluşturan hücre ve dokuların boyutları ise bu sınırın altındadır. Bu nedenle daha ince ayrıntıların incelenebilmesine imkan sağlayan çeşitli mikroskoplar geliştirilmiştir.



1mm=1000 µm

1 µm=1000 nm

- Işık, dalga özelliğine sahip olan ışıklardan oluşur. Bir cismin görülebilmesi için kendisi ışık yaymalı, ya da bir ışık kaynağından çıkarak cisme çarpan ışınların, gözün retinasına düşmesi gerekir. İnsan gözü, 4000-7000 Å arasındaki dalga boyuna sahip olan ışınları algılayabilir. Bu ışınlara görülebilir ışınlar denir.

# Mikroskop türleri

## Gözle ayırt edilen ışınların kullanıldığı mikroskop türleri

1. **Aydınlık alan mikroskobu**
2. **Karanlık alan mikroskobu**
3. **Faz kontrast mikroskobu**
4. **Polarizasyon mikroskobu**
5. **İnterferens mikroskobu**
6. **İnvert mikroskobu**

## Gözle görülmeyen ışınların kullanıldığı mikroskop türleri

1. **Ultraviyole mikroskobu**
2. **Fluoresan mikroskobu**
3. **Konfokal mikroskobu**
4. **Elektron mikroskoplar**

# II. Görülmeyen ışınların aydınlatma kaynağı olarak kullanıldığı mikroskoplar

- Ultraviole (UV) mikroskop

- Fluoresan mikroskopu

- Konfokal mikroskop

- Elektron Mikroskoplar

- I. Transmisyon (geçirmeli) EM, TEM
- Maksimum büyütmeleri X1.000.000, ayırım güçleri 0.1 nm'dir.
- II. Scanning (taramalı) EM, SEM
- Maksimum büyütmeleri X300.000, ayırım güçleri 4 nm'dir.

# ÇÖZÜMLEME GÜCÜ; Rezolusyon Gücü

Mikroskopta ayrıntılı net bir görüntü elde edilmesini sağlayan en önemli etken, iki parçacığın ayrı nesnelere olarak görülebildiği en küçük mesafe anlamına gelen çözümleme gücüdür. Görüntünün niteliği ve ayrıntılarının zenginliği mikroskobun çözümleme gücüne bağlıdır.



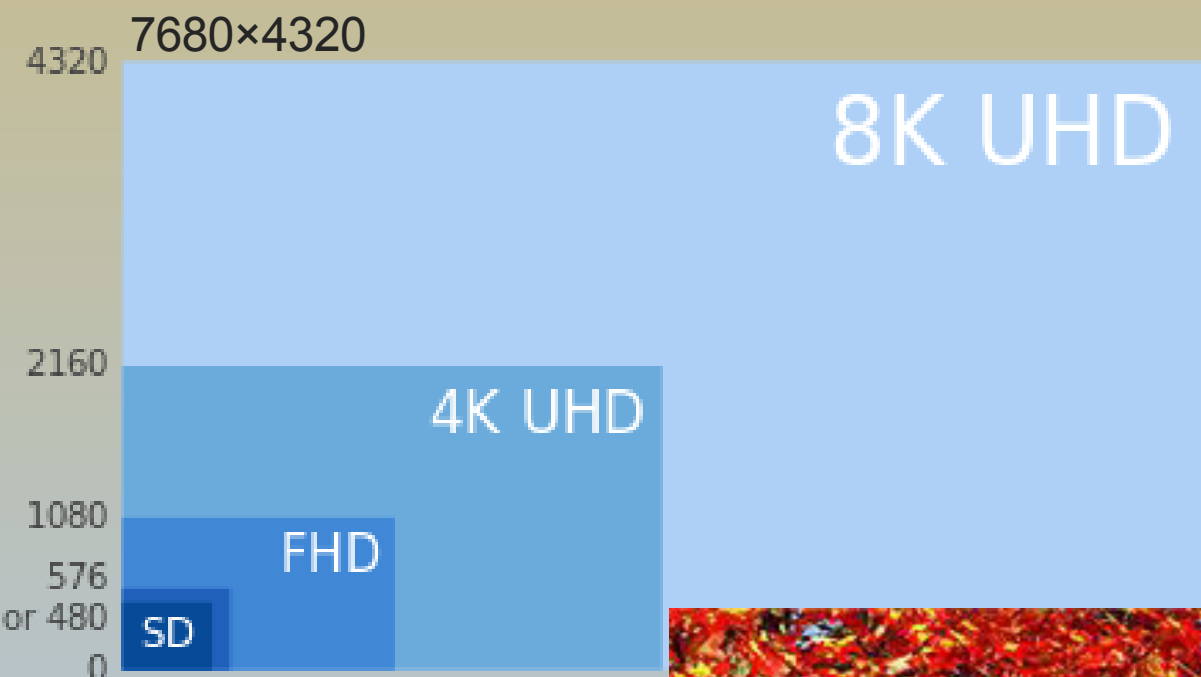
10x



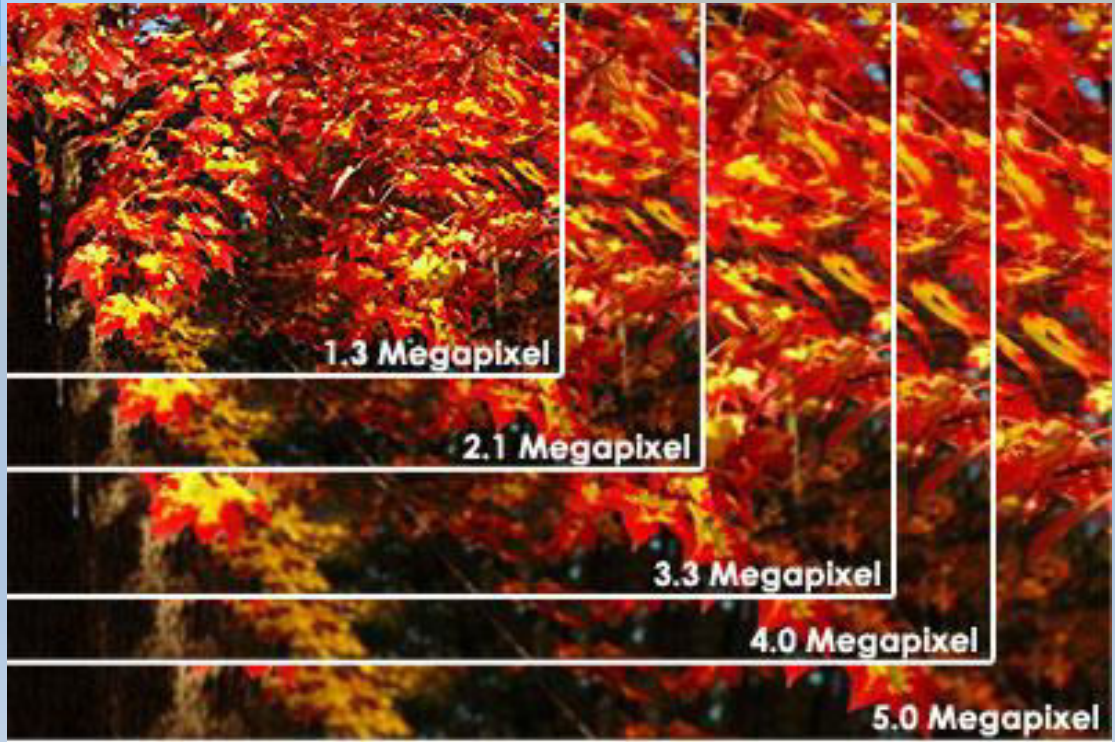
1000x

## Çözünürlük;

Birbirinden ayırt edilebilen iki nokta arasındaki en kısa mesafedir.



Dijital göstergelerde görüntünün elde edilmesini sağlayan ve kontrol edilebilen en küçük birimdir.





# Büyüterek inceleme aygıtları

Büyüteçler



Stereomikroskoplar



Bileşik ışık mikroskoplar



Elektron mikroskoplar



# IŞIK MİKROSKOBU

**Mikroskop, çeşitli merceklerin kullanılması ve bu merceklerin düzenlenmesi ile objelerin görüntülerinin büyütülmesine olanak veren ve biyolojik araŐtırmalarda sıklıkla kullanılan bir alettir.**



**Mikroskop, objelerin büyütülmesini sağlarken, dereceli bir şekilde büyütülen objelerin çözünürlüğünü veya netliğini de artırmaktadır.**

**Mikroskop hem *mekanik* hem de *optik* bölümlerden meydana gelir.**

**İŞIK MİKROSKOBUN  
MEKANİK BÖLÜMLERİ**

**TÜP** →

**REVOLVER** →

← **GÖVDE**

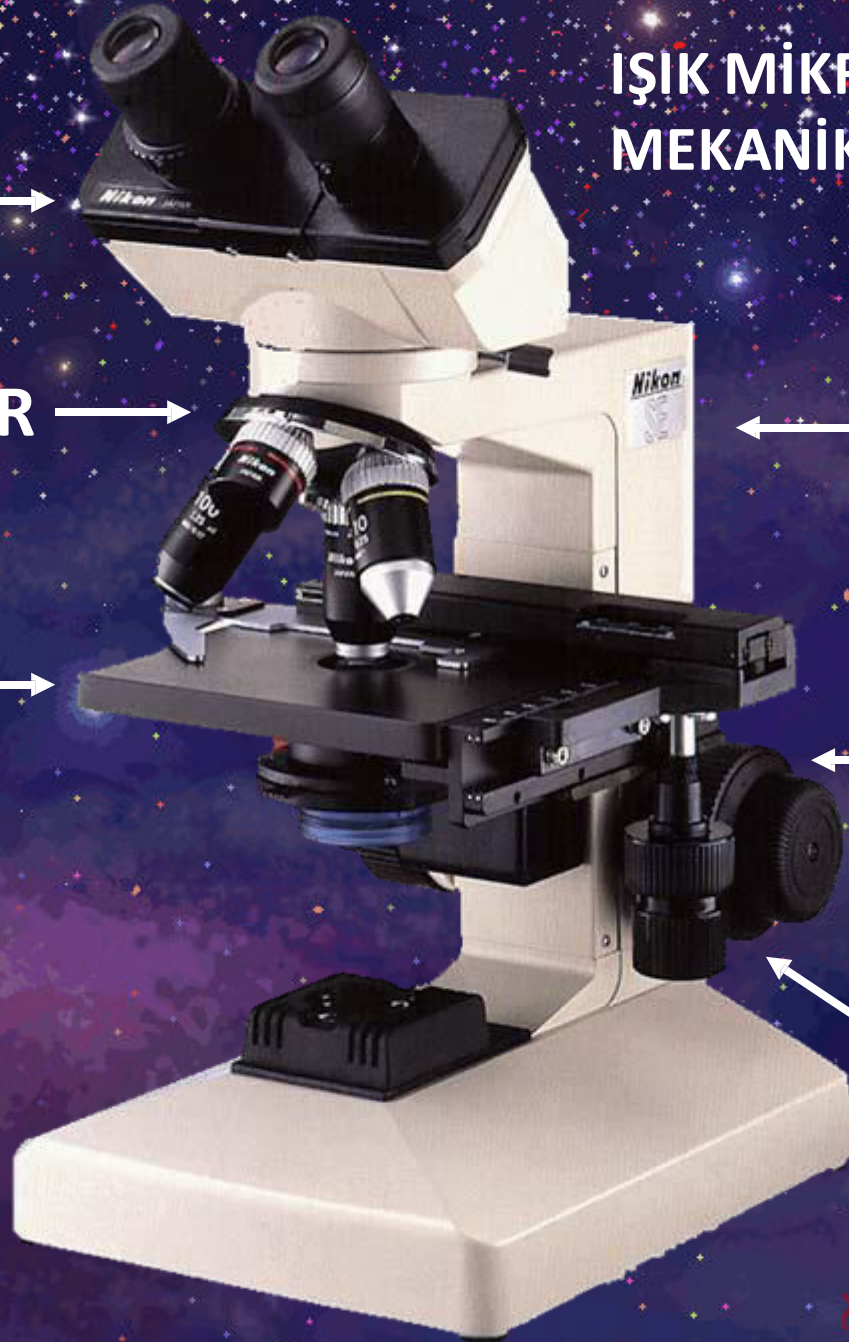
**SEHPA (TABLA)** →

← **MAKROVİDA**

← **MİKROVİDA**

**TABAN** →

← **ŞARYO**



• Işık mikroskopta, boyalı preparatlar genelde alttan aydınlatma ile incelenmektedir.

• Optik parçalar, üç mercek sisteminden oluşur:

1. Kondansatör
2. Objektif
3. Oküler



## OPTİK BÖLÜMLER

oküler



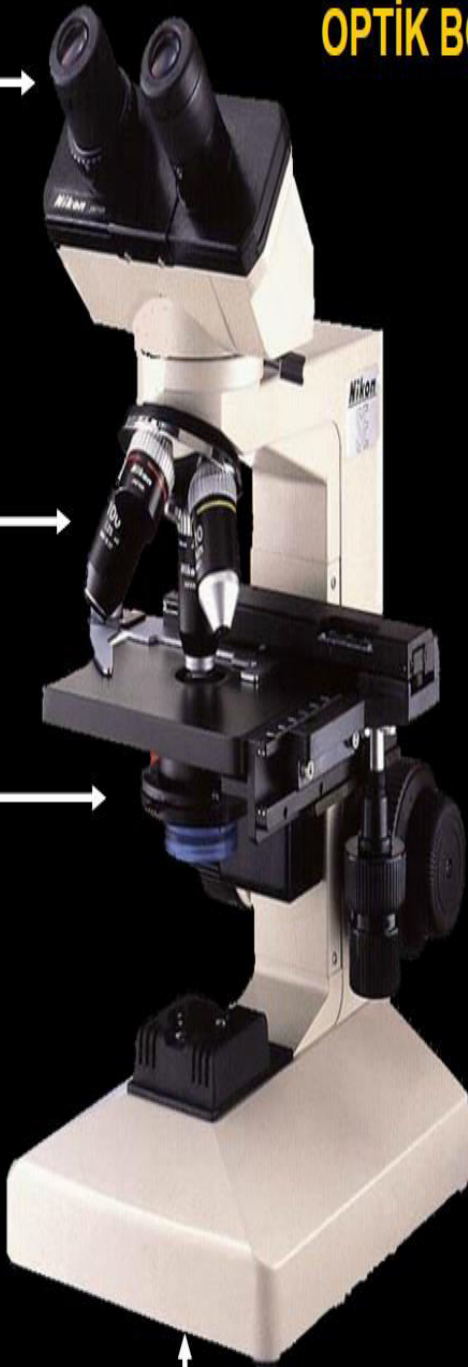
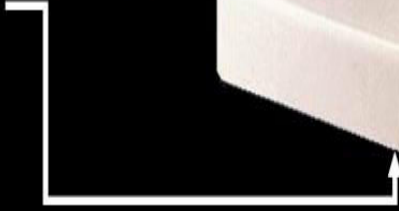
objektif



kondansör



ışık kaynağı



### **Kondansatör:**

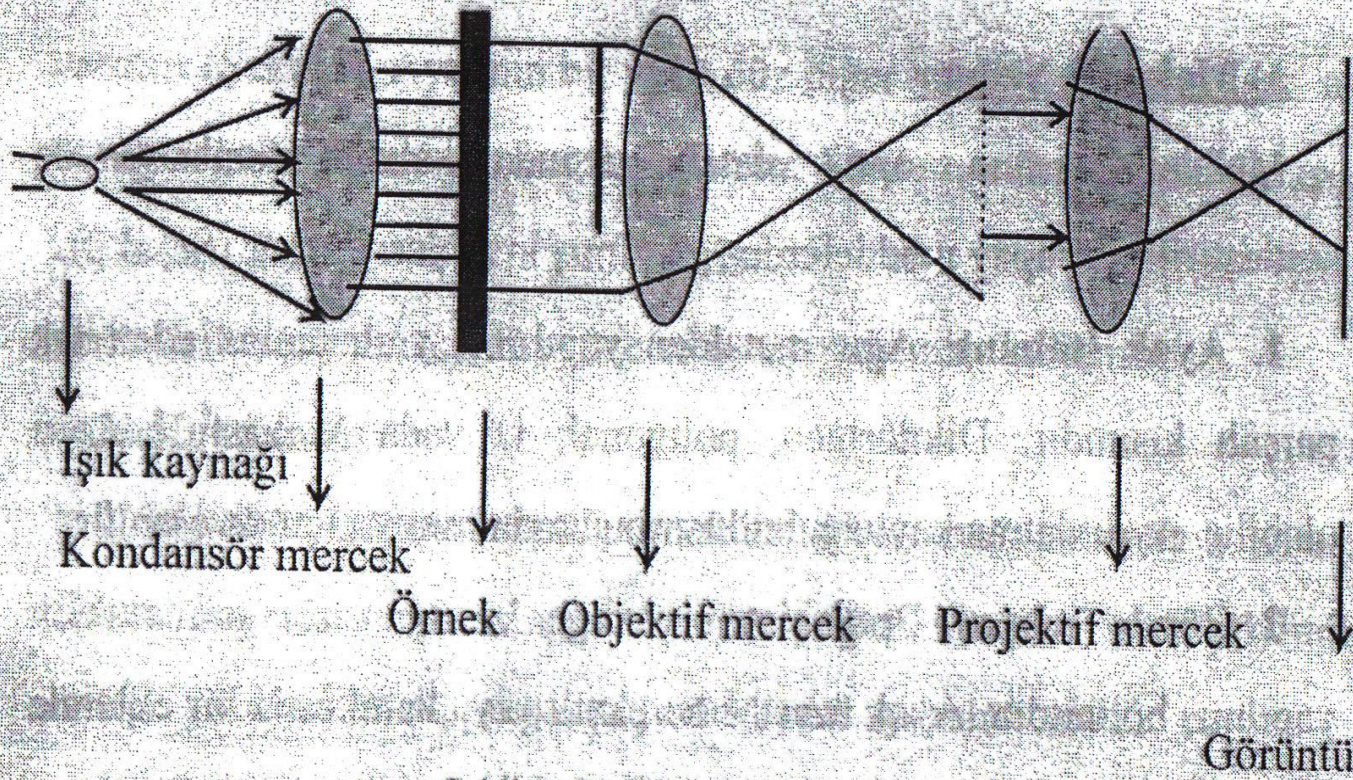
İncelenen nesneyi aydınlatan bir ışık demeti oluşturacak şekilde ışık kaynağından gelen ışığı toplayıp odaklar.

### **Objektif:**

İncelenen nesnenin aydınlatılan görüntüsünü okülere doğru büyütür ve izdüşümünü oluşturur.

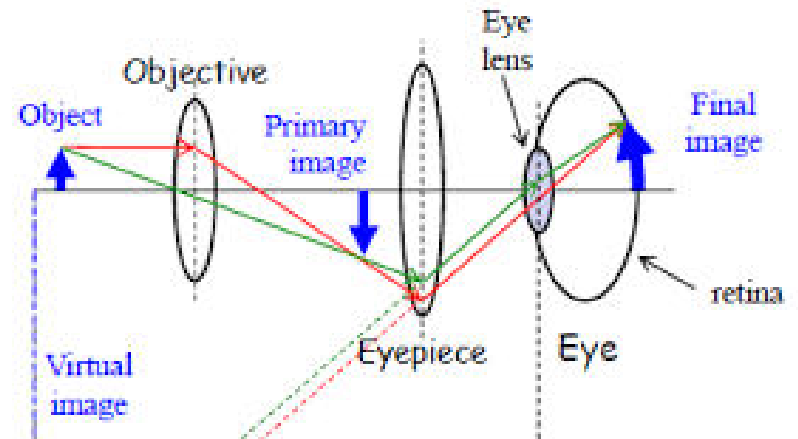
### **Oküler:**

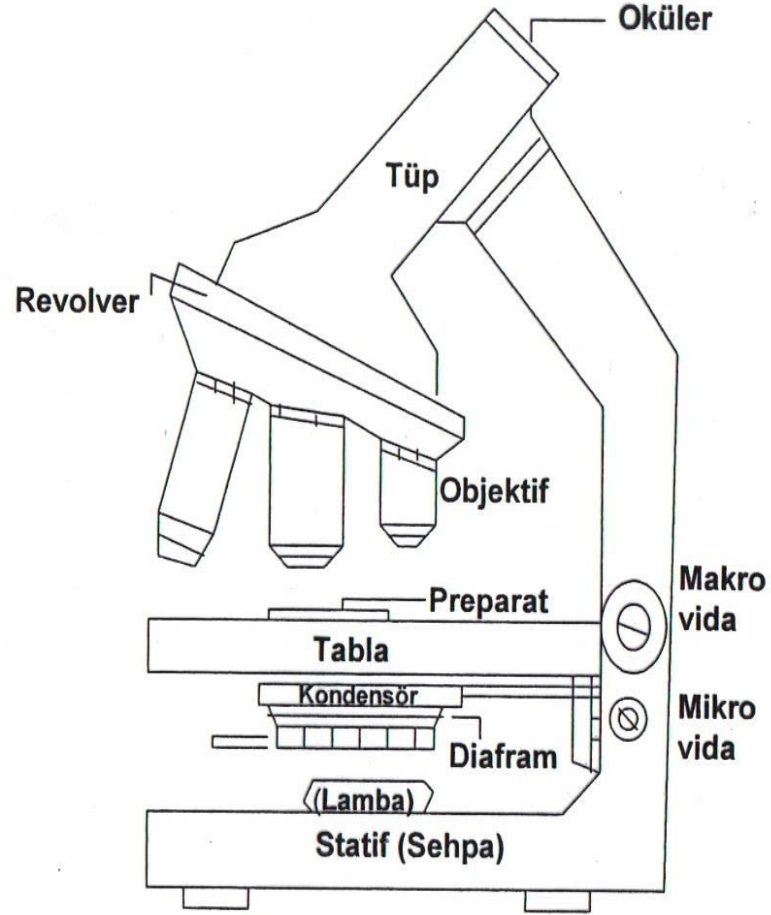
Görüntüyü daha da büyütür ve gözlemcinin retinası ya da bir fotoğraf plakası üzerine düşürür.



Şekil 1. Görüntünün oluşması

➤ Toplam büyütme, objektif ve oküler merceklerinin büyütme güçlerinin çarpımı ile elde edilir.



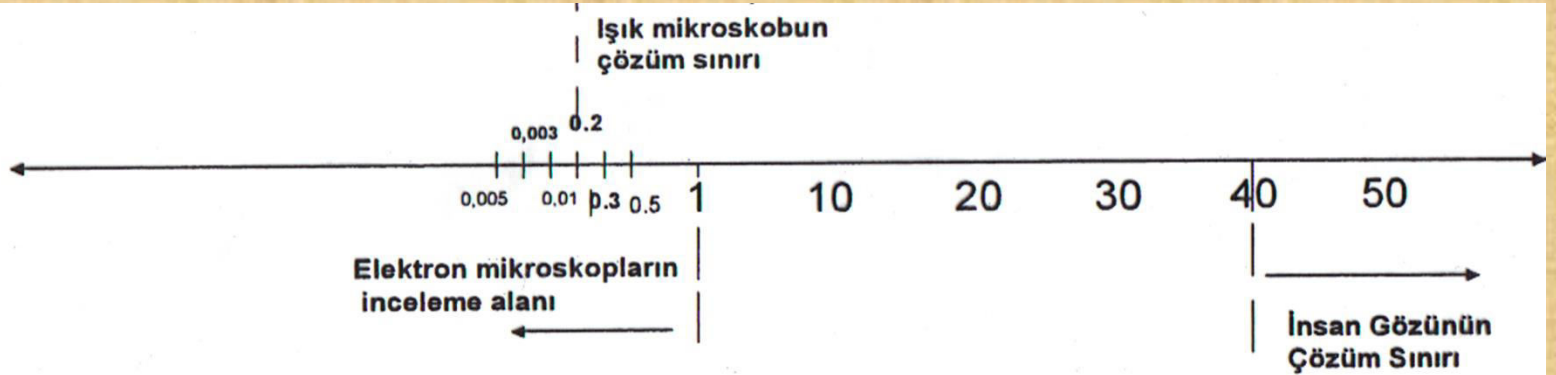


Şekil 2. Işık mikroskobun kısımları

$$1\text{mm} = 1000 \mu\text{m}$$

$$1 \mu\text{m} = 1000 \text{ nm}$$

Işık mikroskoplarının en yüksek çözümleme gücü yaklaşık  $0.2 \mu\text{m}$ 'dir; bu özellik 1000-1500 kez büyütmede iyi görüntü sağlar.  $0.2 \mu\text{m}$ 'den daha küçük nesnelere (zar ya da aktin filamanı gibi) bu aletlerle seçilemezler. Aynı şekilde aralarında  $0.2 \mu\text{m}$ 'den daha yakın mesafe olan iki mitokondri ya da iki lizozom gibi nesnelere de tek bir nesne olarak seçilir.



$$1 \text{ mikrometre}(\mu\text{m}) = 1/1000 \text{ mm}$$

$$1 \text{ angstrom} (\text{A}^\circ) = 1/1000 (\mu\text{m})$$

$$1 \text{ nanometre} (\text{nm}) = 10 \text{ A}^\circ$$



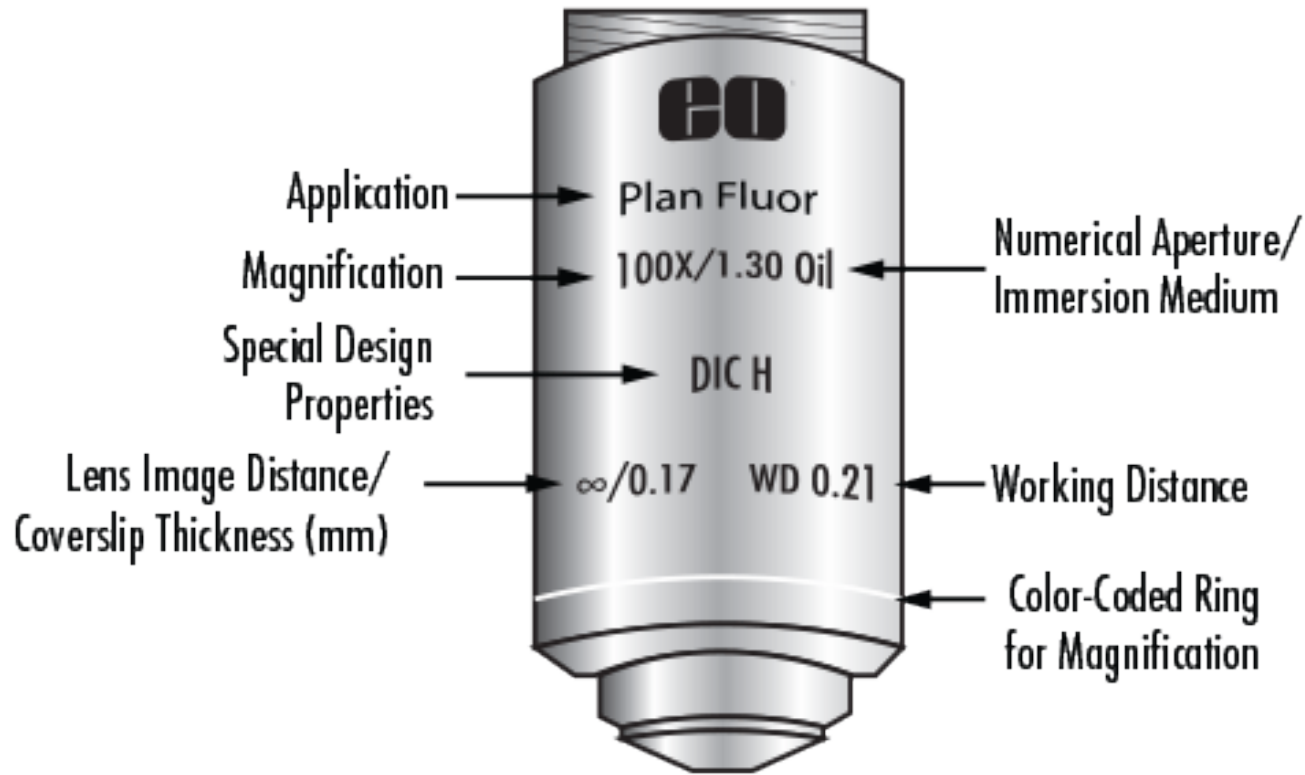
| Ocular lens | Objective lens | Total magnification |
|-------------|----------------|---------------------|
| 10X         | Red<br>4X      | 40X                 |
| 10X         | Blue<br>10X    | 100X                |
| 10X         | Yellow<br>40X  | 400X                |
| 10X         | White<br>100X  | 1000X               |



Büyütme ise; yüksek çözümüleme gücüyle beraber olduğunda değer taşır.

- Bir mikroskobun çözümüleme gücü, objektifinin kalitesine bağlıdır.
- Oküler merceği, objektifin sağladığı görüntüyü büyütür, çözümüleme gücünü etkilemez.

Bu nedenle farklı büyütme gücünde ki objektifler karşılaştırılırken, yüksek büyütme yapabilen objektiflerin, aynı zamanda yüksek çözümüleme gücüne de sahip olduğunu göz önünde tutmak yerinde olur.

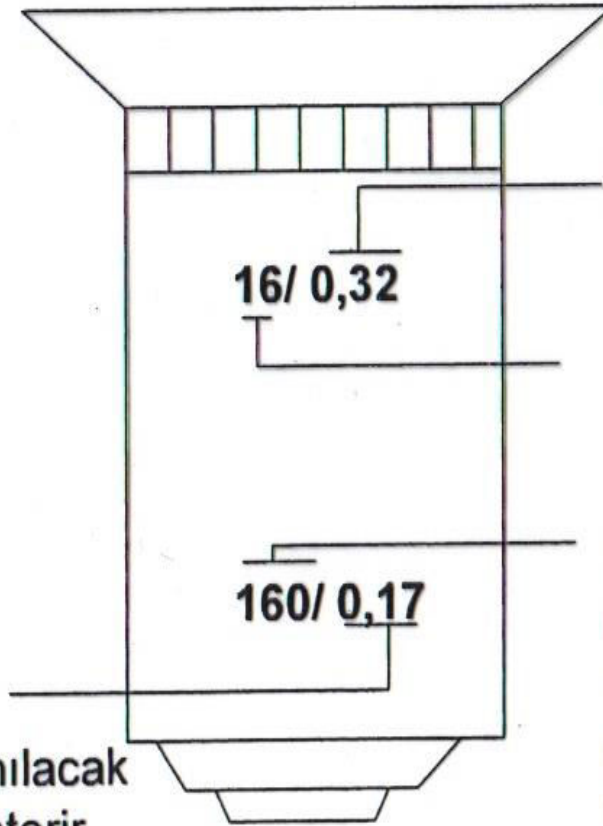


|               |       |      |     |     |        |            |            |           |       |
|---------------|-------|------|-----|-----|--------|------------|------------|-----------|-------|
| Magnification | 1X    | 2X   | 3X  | 4X  | 10X    | 20X        | 40X        | 60X       | 100X  |
| Color Code    | Black | Gray | Red | Red | Yellow | Light Blue | Light Blue | Dark Blue | White |

## 60x Plan Achromat Objective



**0,17:** Preparatın kapatılmasında kullanılacak lamelin kalınlığını gösterir.



**0,32:** Objektifin numerik apertürünü (sayısal açıklığını) gösterir. Bu sayı ne kadar büyükse objektifin rezolüsyon gücü o kadar yüksektir (0,32; 0,36 vs.).

**16:** Objektifin büyütme oranını gösterir (x 16).

**160:** Objektifin kullanılabileceği tüp uzunluğunu gösterir. Burada bazen  $\infty$  işareti de bulunabilir. Bu işaret objektifin değişik uzunluktaki tüplerle kullanılabileceğini gösterir.

# OBJEKTİFLER

- **Akromatik objektifler:** Sadece renk kusurları giderilmiş objektiflerdir. Geçirdikleri ışık kalitesi bakımından kusurludurlar.
- **Fluorit sistemli objektifler:** Işık kusurları bir dereceye kadar giderilmiş objektiflerdir.
- **Apokromat objektifler:** bu tip objektiflerde sferik (ışığı kırma gücü) ve kromatik bozuklukları hemen hemen hepsi giderilmiştir.
- Özellikleri kısaca belirtilen bu üç tür objektifte de netlik kusuru vardır. Şekillendirdikleri görüntünün her tarafı aynı anda net olmaz. Son yıllarda oluşan görüntünün düz bir şekilde elde edilmesine olanak sağlayan plan objektifler geliştirilmiştir. Bir mikroskopta en iyi kalitede görüntü **plan apokromat objektiflerle** elde edilir.

# Okülerler

Okülerler hem objektifler tarafından şekillendirilen «ara görüntüyü» tekrar büyütmele hem de, objektiflerin ışık kusurlarını düzeltmele görevlidirler. Objektiflerde olduğu gibi, okülerlerde de çeşitli derecede büyütenleri vardır. Herhangi bir objektifle her büyütmedeki oküler kullanılamaz.

Az büyüten objektiflerle fazla büyüten okülerler, fazla büyüten objektiflerle ise az büyüten okülerler kullanılmalıdır.

