

# TRANSMİSYON ELEKTRON MİKROSKOBU – 1

Elektron mikroskopunun icadından ve biyoloji alanına girişinden sonra ışık mikroskoplarıyla seçilemeyen çeşitli hücre organellerinin ince yapıları hakkında ayrıntılı bilgiler elde edilip, yapı-fonksiyon ilişkileri daha güçlü olarak açıklanabilmiştir. Bu gelişim zaman zaman eski klasik bilgilerin değişimine de sebep olmuştur.

# Elektron Mikroskoplarının Kullanıldığı Alanlar

- Günümüzde elektron mikroskobu yalnız biyoloji ve tıp alanında kullanılmamaktadır. Mineraloji, metallurji, jeoloji, kolloid kimyası, ilaç, fotoğraf, elektronik, uzay sanayi, tekstil gibi teknik alanlara da yayılmış ve bu alanlardaki araştırmalarda ve rutin çalışmalarda çok önemli görevler üstlenmiş bulunmaktadır.

- Elektron mikroskoplar, ışık mikroskoplardan farklıdır.
- Işık mikroskopları **ışık**tan ve **mercek**lerden yararlanırlar.
- Elektron mikroskopta **elektron**lardan ve **manyetik alan**lardan yararlanılır.
- Işık mikroskopta kullanılan **cam lenslerde ışığın sapma prensiplerinin** benzeri, elektron mikroskopta **elektronların elektromanyetik alanlarda sapma prensiplerine** dayanır.
- Elektron kaynağı olarak kullanılan **tungsten** flamanın (**katod**) yüksek derecede ısıtılmasıyla oluşan elektronlar, flamanın karşısındaki **anot** tarafından toplanır ve yönlendirilerek sürekli bir elektron dalgası oluşturulur.

- Bu elektronlar görmek istediğimiz dokulara yönlendirilir.
- Dokuların içinden geçen elektronların toplanması neticesinde elde edilen görüntüler, incelememize olanak sağlar.
- Elektron mikroskopta ışık mikroskopta olduğu gibi camdan yapılmış bilinen mercekler kullanılmaz. Çünkü elektronlar ancak mikrometreden çok daha az olan kalınlıklardan geçebilirler.
- Ayrıca elektronlar elektrik yüküne sahip oldukları için elektromanyetik alanlar aracılığı ile saptırılabilirler.
- Bu durumda elektron mikroskoplarda böyle elektromanyetik alanlar mercek olarak kullanılır.
- **Elektromanyetik mercekler** bir bobin ve manyetik alan yapabilen çelik bir kısımdan oluşur.

- Tungsten flaman (**katod**), diyafram, cisim yuvası, mercek olarak kullanılan elektromanyetik alanlar ile floresan ekranı taşıyan, elektronların geçtiği kolon içinde çok yüksek bir **vakum** mevcuttur.
- Eğer burada gerekli vakum sağlanamazsa elektronlar gelişigüzel sapar görüntü elde edilemez.
- Elektron mikroskopta bu özel koşulları sağlamak için yüksek gerilim tertibatı ile difüzyon ve rotatif pompalardan meydana gelen **vakum tertibatı** bulunur.
- İlk mercek, elektron huzmesini, örnek kesitin üzerine odaklayabilen bir **kondansatörden** oluşur.
- Bazı elektronlar örnek üzerindeki atomlarla etkileşime girip yönlerini değiştirirken, diğerleri etkileşmeksizin örneği kolayca geçerler.

- Örneğe doğru yönlendirilen elektronlar odaklanmak üzere objektif merceğine ulaşır, büyütülen görüntü diğer merceklerden geçerken (projektör merceği) daha da büyütülür ve görüntü ekranının üzerine düşürülür.
- Mercek olarak kullanılan elektromanyetik alanlar (**kondensör merceği**, **objektif merceği** ve **projeksiyon merceği**) cismin büyütülmüş görüntüsünü floresan bir ekran üzerine düşürür.
- İstenirse bu görüntünün fotoğrafı çekilerek elektron mikrograf denilen filmler elde edilir.

Elektron mikroskoplar iki çeşittir.

\*Geçirimli Elektron Mikroskop (**Transmission Electron Microscope – TEM**),

\*Taramalı Elektron Mikroskop (**Scanning Electron Microscope – SEM**)

- Bir elektron mikroskopunun (SEM veya TEM) bizlere herhangi bir görüntüyü aktarabilmesinin altında güçlü bir fizik ve mühendislik altyapısı bulunmaktadır.
- Elektronların oluşturulması, doku örneğine gönderilmesi, gönderilen elektronların yoğunluğu, manyetik alanlardan oluşan merceklerin kullanımı ve son olarak doku örneğinden geçirilen elektronların toplanması ve çözümlenmesi ile beraber farklı yoğunluktaki kinetik enerjileriyle ekran üzerinde siyah-beyazın tonlarında görüntülerin elde edilmesi zorlu bir süreci kapsar.



## Elektron Mikroskoplarının Çalışması

- Bir elektron mikroskobunda elektronun incelenecek doku örneğine ulaşana kadar, oldukça detaylı hesaplamalar sonucu belirlenmiş bir sistem bulunmaktadır.
- İlk olarak, incelenecek doku örneği elektron mikroskobuna yerleştirildikten sonra ortam **vakuma** alınır.
- Elektron mikroskobunda prensip, vakumlu bir ortamda, incelenecek olan doku örneğine elektron göndermek ve bu işlem sonrası dokudan saçılan veya doku içinden geçen elektronları toplayarak görüntüyü ekrana yansıtmaktır.
- Elektron mikroskopta bu özel koşulları sağlamak için yüksek gerilim tertibatı ile difüzyon ve rotatif pompalardan meydana gelen **vakum tertibatı** bulunur.

## Elektron Mikroskoplarının Çalışma Prensipleri

- Elektron kaynağı olarak **katod** görevi gören tungsten **flaman** kullanılır.
- Bu flamanın yüksek derecede ısıtılması ile (-) yüklü **elektronlar** elde edilir ve bu elektronlar flaman karşısındaki (+) yüklü **anot** tarafından toplanıp, yönlendirilerek sürekli bir elektron dalgası oluşturulur.
- **Anot**, ortasında delik bulunan (+) yüklü metal bir plaktır.
- Katot ile anot arasındaki yük farkı 60.000-120.000 volt'a ulaşınca elektronlar yüksek bir kinetik enerji kazanırlar ve anot'un merkezi deliğinden demetler halinde sürekli olarak geçerler.
- Bu sayede farklı dalga boylarında elektron huzmeleri oluşturulur.
- Bu düzenek **elektron tabancası** olarak bilinir.

## Elektron Mikroskoplarının Çalışması

- Elektron tabancası ile elektron üretilerek cisme doğru elektronlar gönderilir.
- Buradaki vakumun amacı, elektronların hedefe yani doku örneğine doğruca, saçılmadan ilerlemesini sağlamaktır.
- Doku örneğine doğru yönlendirilen elektronlar odaklanmak üzere **objektif merceğine** ulaşır, büyütülen görüntü diğer merceklerden geçerken daha da büyütülür ve görüntü ekranının üzerine düşürülür.
- Elektron mikroskop kesitleri için kullanılan boyaların içinde bulunan ağır metaller doku kesitindeki lipid membranlar üzerinde çökelti yaparlar.
- Elektronlar doku kesitindeki ağır metallerle karşılaştınca kinetik enerjilerinin bir kısmını kaybederler.

## Elektron Mikroskoplarının Çalışma Prensipleri

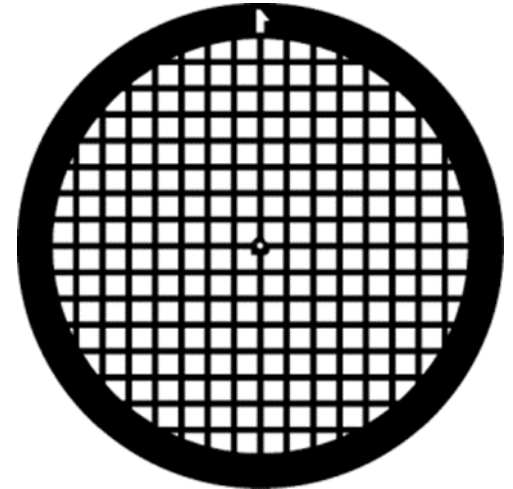
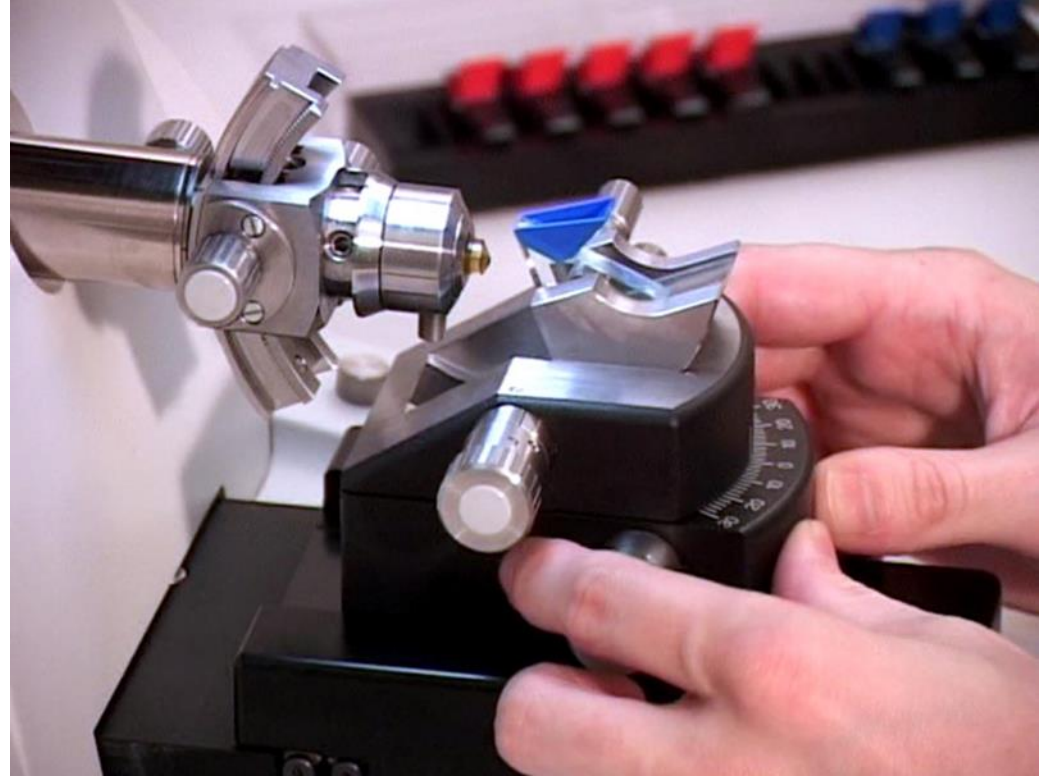
- Bir elektron demeti, ne kadar çok ağır metalle karşılaşursa o kadar az bir kinetik enerjiyle kesitin diğer tarafına geçer.
- Doku kesitini terkeden elektron demetleri alt bölmelerdeki elektromagnetik alanlardan da geçerek floresan ekran üzerine odaklanır.
- Elektronlar, floresan ekrana çarpınca görülür hale gelerek ışık saçarlar.

## Elektron Mikroskoplarının Çalışma Prensipleri

- Sahip oldukları farklı yoğunluktaki kinetik enerjileri nedeniyle ekran üzerinde siyah-beyaz tonlarında doku kesitlerine ait görüntüler elde edilir.
- Doku örneğinin görüntüsü elektronların doğrudan geçtiği alanlara karşılık gelen kısımlara (daha aydınlık görünüm ya da elektron geçirgen),
- Elektronların emildiği alanlara (daha koyu ya da elektron yoğun görünüm) karşılık gelecek şekilde beyaz, siyah ve gri bölgeler şeklinde izlenir.

- TEM'de kontrast ve çözünürlüğü artırmak amacıyla, doku incelemeye hazırlanırken tespit ya da dehidratasyonu sağlayan çözeltilerin içine genellikle ağır **metal iyonları** katılır.
- Bunlar, hücrelerdeki makro moleküllere bağlanarak elektron yoğunluğunu ve görülebilirliğini artıran **osmium tetroksit, kurşun sitrat** ve **uranil** bileşikleridir.

- TEM için çok ince kesitler (40-90 nm) alınması gerekir.
- Bu yüzden dokular sert bir epoksi ortamına gömülür ve kesitler cam veya elmas bir bıçakla alınır.
- Kesitler, incelenmek üzere mikroskobun sütununa yerleştirilecek olan küçük metal taşıyıcı elekler (grid) üzerine toplanır.



## KAYNAKLAR

1. Glauert, A. M. (1975): Practical Methods in Electron Microscopy, Fixation Dehydration and Embedding of Biological Specimens, American Elsevier Publishing, New York.
2. Kuo, J. (2007): Electron Microscopy Methods and Protocols, Humana Press, Totowa, New Jersey.
3. Leica Mikrosysteme GmbH Wien (2005) EM Specimen Preparation, [www.em-preparation.com](http://www.em-preparation.com).
4. Sağlam, M. (1977): Elektron Mikroskopide Tespit Gömme ve Boyama Problemleri, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
5. Pease, D. (1960): Histological Techniques for Electron Microscopy, Academic Press Inc, USA.