

Μικροσκόπιο Η/Μ: Χαρακτηριστικά, Μέθοδοι προετοιμασίας δειγμάτων, εφαρμογές

Ενώ τα οπτικά μικροσκόπια (όπως είδαμε στην προηγούμενη εργασία) έχουν διακριτικό όριο της τάξης των $200\text{nm} = 2000 \text{ Angstrom}$ ένα σύγχρονο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μπορεί να έχει διακριτικό όριο της τάξης των $1 - 2 \text{ Angstrom}$ επιτρέποντας μας πιο λεπτομερείς παρατηρήσεις.

Οι κύριοι τύποι ηλεκτρονικών μικροσκοπίων είναι τα διέλευσης και σάρωσης ενώ άλλοι τύποι είναι τα ατομικής διακριτικότητας, σαρωτικό ακουστικό μικροσκόπιο, τριών διαστάσεων (ανάλυσης της τραχύτητας) και σαρωτικό ηλεκτρονικό εκπομπής πεδίου.

Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης λειτουργεί ως εξής: Ηλεκτρόνια που εκπέμπονται θερμιονικά και επιταχυνόμενα με τη βοήθεια υψηλής τάσης περνούν από τη σωληνοειδή άνοδο και συγκεντρώνονται από τους συγκεντρωτικούς φακούς και εστιάζονται στο παρασκεύασμα με τη βοήθεια του αντικειμενικού φακού. Όσα από τα ηλεκτρόνια σκεδάστηκαν λίγο ή καθόλου από το παρασκεύασμα συνεχίζουν την πορεία τους μέσα από τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία των επόμενων φακών για να καταλήξουν στην οθόνη. Έτσι το είδωλο του παρασκευάσματος σχηματίζεται στην οθόνη αυτή και η μεγέθυνση του καθορίζεται από τους ηλεκτρομαγνήτες γιατί όπως είναι γνωστό από την ηλεκτρονική οπτική η εστιακή απόσταση ενός φακού μπορεί να μεταβάλλεται με μεταβολή του ρεύματος που τον διαρρέει. Έτσι σε αντίθεση με το φωτονικό μικροσκόπιο εδώ οι περισσότερες λειτουργίες πραγματοποιούνται ηλεκτρονικά (όχι μηχανικά).

Για να παρατηρήσουμε τα δείγματα μας στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο χρειάζεται να κάνουμε κάποιες προπαρασκευαστικές εργασίες όπως μονιμοποίηση, αφυδάτωση, εμποτισμό, μικροτόμηση και αύξηση της ηλεκτρονικής πυκνότητας (χρώση).

Η μονιμοποίηση επιτυγχάνει την πλήρη παρεμπόδιση της αυτόλυσης και την διατήρηση της δομής και της θέσης των οργανιδίων του κυττάρου. Επιτυγχάνεται είτε με ψύξη είτε με μικροκύματα είτε με χημικούς τρόπους (με χρήση αιθανόλης, μεθανόλης ή αλδευδών)

Η αφυδάτωση απομακρύνει όλα τα μόρια του νερού με χρήση αιθανόλης ή ακετόνης.

Ο εμποτισμός στο μέσο έγκλεισης γίνεται με την χρήση παραφίνης ή ακρυλικών και εποξικών ρητινών. Είναι απαραίτητος γιατί ακόμα και μετά την μονιμοποίηση οι ιστοί παραμένουν μαλακοί και εύθραυστοι.

Η μικροτόμηση γίνεται με μικροτόμους ή υπερμικροτόμους και το πάχος των τομών ποικίλει. Για το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο κυμαίνεται από 200 ως 1000 Angstrom .

Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης προορίζεται κυρίως για την παρατήρηση επιφανειών και το διακριτικό του όριο είναι 7 Angstrom. Δείχνει τρισδιάστατες ασπρόμαυρες απεικονίσεις των δειγμάτων τα οποία έχουν προηγούμενα υποστεί την κατάλληλη προετοιμασία ξήρανσης και δυνατότητα διέλευσης των ηλεκτρονίων. Τα δείγματα δεν χρειάζεται να μικροτομηθούν και μπορούν να είναι και ολόκληροι οργανισμοί (πχ ένα αυγό μύγας, ένα κουνούπι κτλ)

Ο ψευδοχρωματισμός αποτελεί διαδικασία μετατροπής ασπρόμαυρων εικόνων φωτονικού ή ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σε έγχρωμες. Μας βοηθάει πάρα πολύ καθώς μας δίνεται η δυνατότητα της εκτίμησης ποσοτικών και ποιοτικών χαρακτηριστικών.

Η στερεοηλεκτρονιογράφηση βοηθά στη σωστή εκτίμηση των σχέσεων ανάμεσα στα μορφολογικά χαρακτηριστικά του παρασκευάσματος και στηρίζεται στη λήψη δύο φωτογραφιών με διαφορετικές κλίσεις.

Η ηλεκτρονική μικροσκοπία πολύ υψηλής τάσης αναπτύχθηκε ως τεχνολογία για να μπορούν να παρατηρηθούν ζωντανά (και κατά συνέπεια μεγάλου πάχους) δείγματα. Αυτό έχει επιτευχθεί εν μέρει και χρησιμοποιείται για παρατήρηση τομών κυττάρων μέχρι 3 mm, λεπτών τομών καθώς και ολόκληρων κυττάρων (έτσι έχουμε καταφέρει να παρατηρήσουμε ολόκληρο το συγκρότημα του κυτταροσκελετού του κυττάρου).