



МИКРОСКОПЫ MAGUS

2 часть. Инвертированные биологические микроскопы

МАРИНА ЛОБАЧ

Научный руководитель проекта MAGUS



ИНВЕРТИРОВАННЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ МИКРОСКОПЫ

Эти микроскопы предназначены для проведения работ с клеточными культурами тканей и других объектов, находящихся в питательной среде в специальной лабораторной посуде с толщиной дна до 1,2 мм. Используются в научных учреждениях и микробиологических лабораториях.

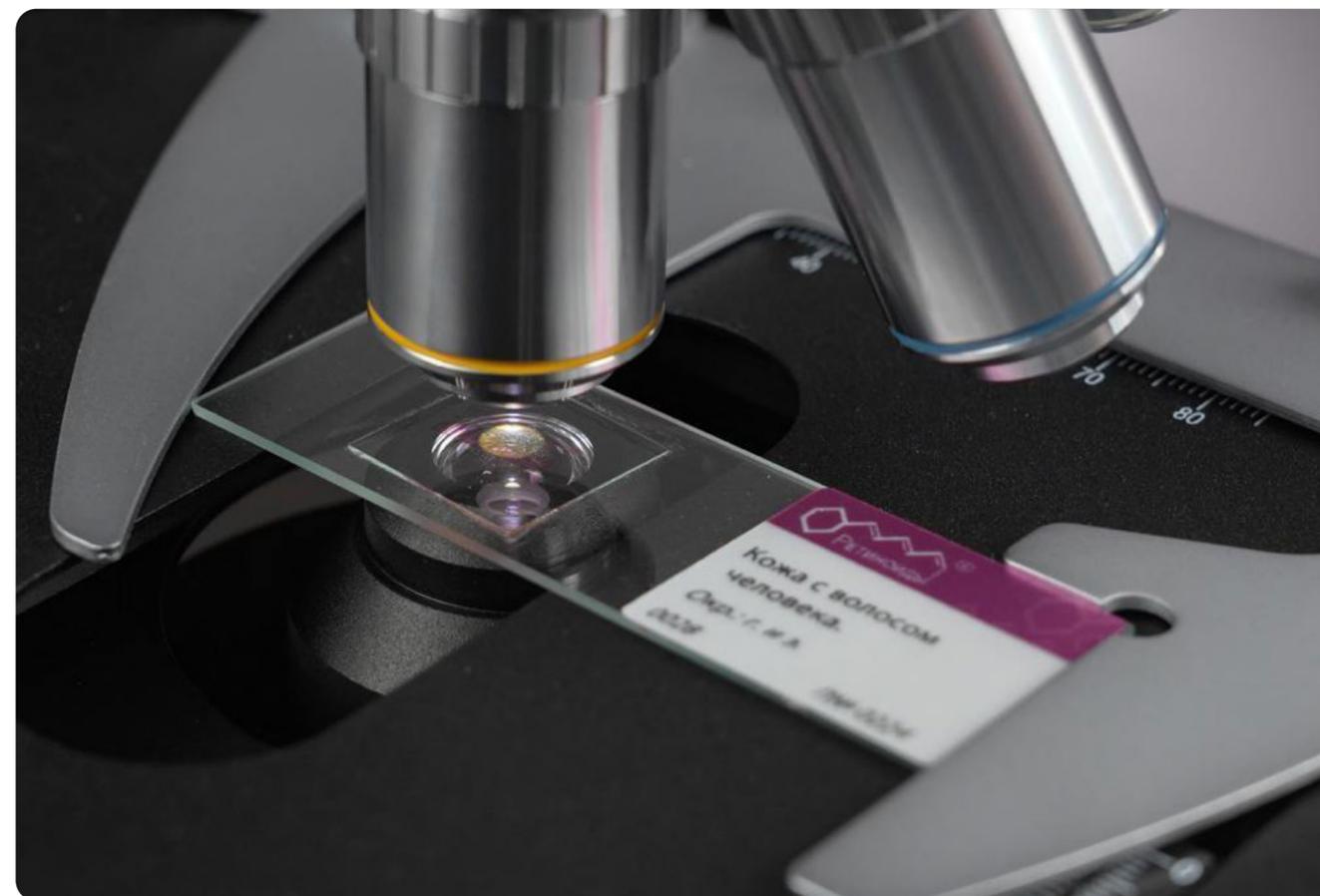


ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ПРЯМОЙ МИКРОСКОП

Объективы прямых биологических микроскопов имеют короткий фокус и рассчитаны на работу с объектами с покровным стеклом толщиной 0,17 мм.

Осветительная система микроскопа рассчитана на работу с объектами на предметном стекле толщиной 1–1,2 мм.



ПРЯМОЙ МИКРОСКОП:

Образец исследования располагается на предметном стекле толщиной 1–1,2 мм

и накрывается покровным толщиной 0,17 мм.

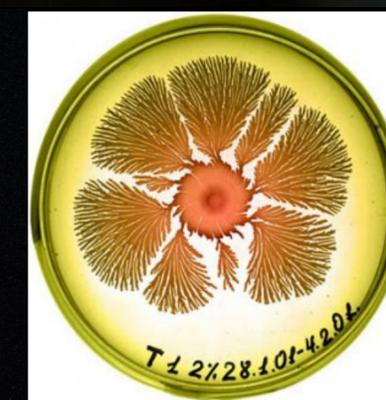


ИНВЕРТИРОВАННЫЙ МИКРОСКОП:

Для культивирования бактерий используют чашки Петри. Это прозрачный пластиковый или стеклянный контейнер.

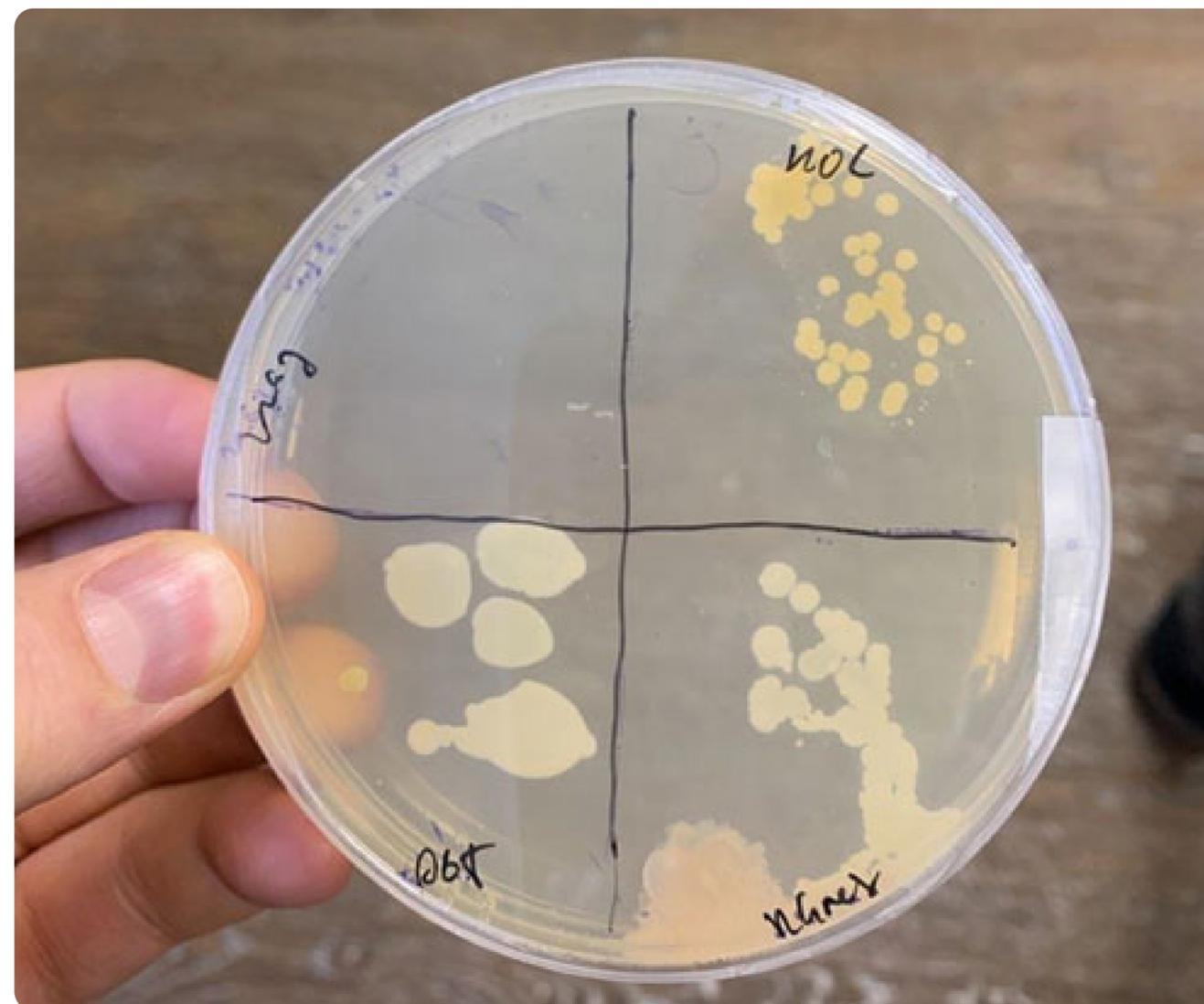
Питательную среду, например агар-агар, помещают на дно чашки Петри. Эта среда обеспечивает источник пищи для бактерий. На среду помещают бактерии и запечатывают чашку. Для ускорения роста бактериальной культуры некоторые культуры нагревают.

Через несколько часов, дней или недель колония вырастет.



ЗАЧЕМ ЭТО НУЖНО?

1. Для обнаружения бактерий. Это когда врач говорит:
— Возьмем анализ на посев.
2. Специалисты-бактериологи «выращивают» патогенные микроорганизмы, чтобы исследовать их чувствительность к лекарственным средствам и помочь врачам-клиницистам в лечении пациентов. Хотя зачастую медицина исследует чувствительность бактерий к лекарствам прямо на пациентах, а не на бактериях в чашке Петри.



ИНВЕРТИРОВАННЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ МИКРОСКОПЫ

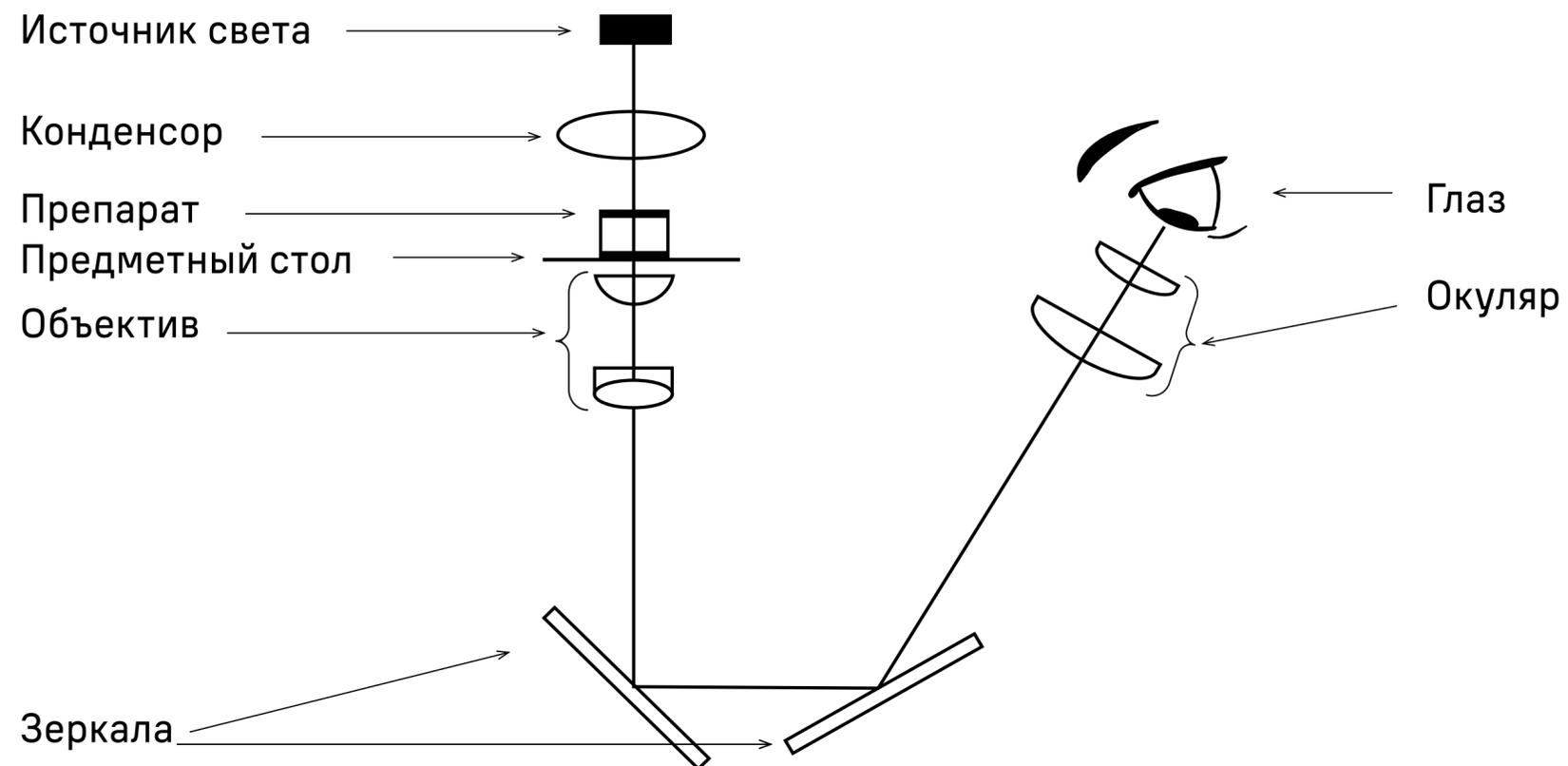
Чтобы разместить на предметном столике микроскопа чашку Петри или другой лабораторный сосуд с образцом для исследования, понадобится устройство с инвертированной конструкцией.

**ПРЯМЫЕ МИКРОСКОПЫ
НЕ ПОДХОДЯТ!!!**

**Фото справа:
ТАК НЕ РАБОТАЕТ**



СХЕМАТИЧЕСКОЕ ИЗОБРАЖЕНИЕ ПРИНЦИПА ДЕЙСТВИЯ ИНВЕРТИРОВАННОГО МИКРОСКОПА



ИТОГО

- Объекты исследования — клеточные колонии, живые клетки, культуры.
- Объект располагается в чашках Петри, многолуночных планшетах, флаконах и роллерных бутылках.
- Микроскопы обладают специальными объективами скорректированными на толщину дна посуды — вместо покровного стекла исследование происходит через дно стеклянной посуды.
- Объектив располагается под объектом, а осветитель располагается над объектом. Работа ведется в проходящем свете.
- Так же, как у прямых микроскопов, есть обычное освещение и по Кёлеру — с полевой и апертурной диафрагмой.

СВЕТЛОЕ ПОЛЕ И ФАЗОВЫЙ КОНТРАСТ

Исследования клеточных культур тканей, осадков жидкостей, находящихся в специальной посуде.

В проходящем свете по методу светлого поля и фазового контраста.



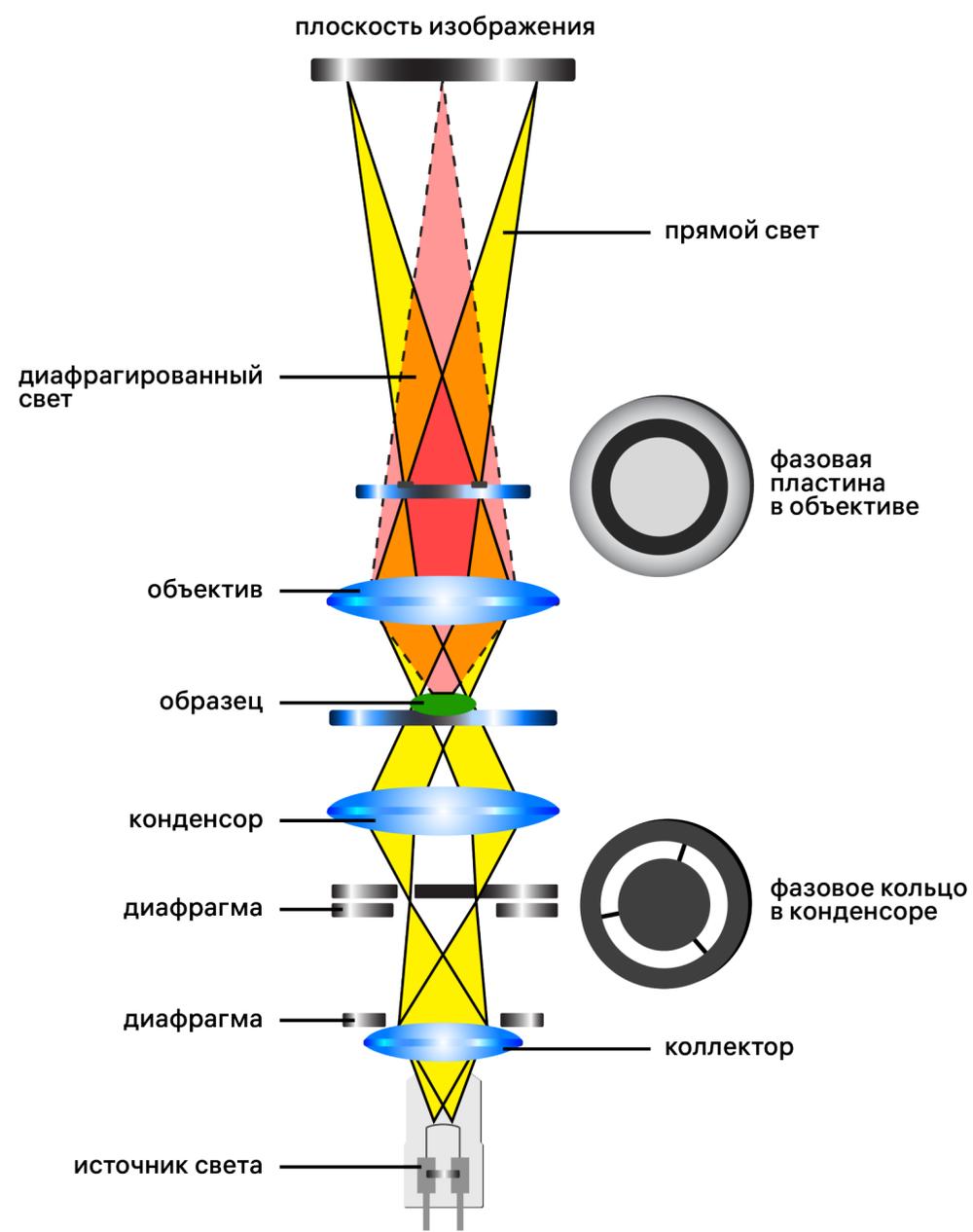
СВЕТЛОЕ ПОЛЕ, ФАЗОВЫЙ КОНТРАСТ И ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ

Исследования клеточных культур тканей, осадков жидкостей, находящихся в специальной посуде.

В проходящем свете по методу светлого поля и фазового контраста.

В отраженном свете в свете видимой люминесценции.





При попадании света из одной среды в другую его скорость изменяется пропорционально разнице показателей преломления этих двух сред и пропорционально толщине образца.

Биологический объект в среднем замедляет движение волны света на $1/4$ длины волны — $\lambda/4$

Относительная фазовая задержка формируется в два этапа:

1. сначала дифрагированные волны отстают по фазе на четверть длины волны после выхода из образца;
2. прямые волны либо бегут (или отстают) по фазе при прохождении через фазовую пластину, расположенную в задней фокальной плоскости объектива — сдвиг еще на четверть.

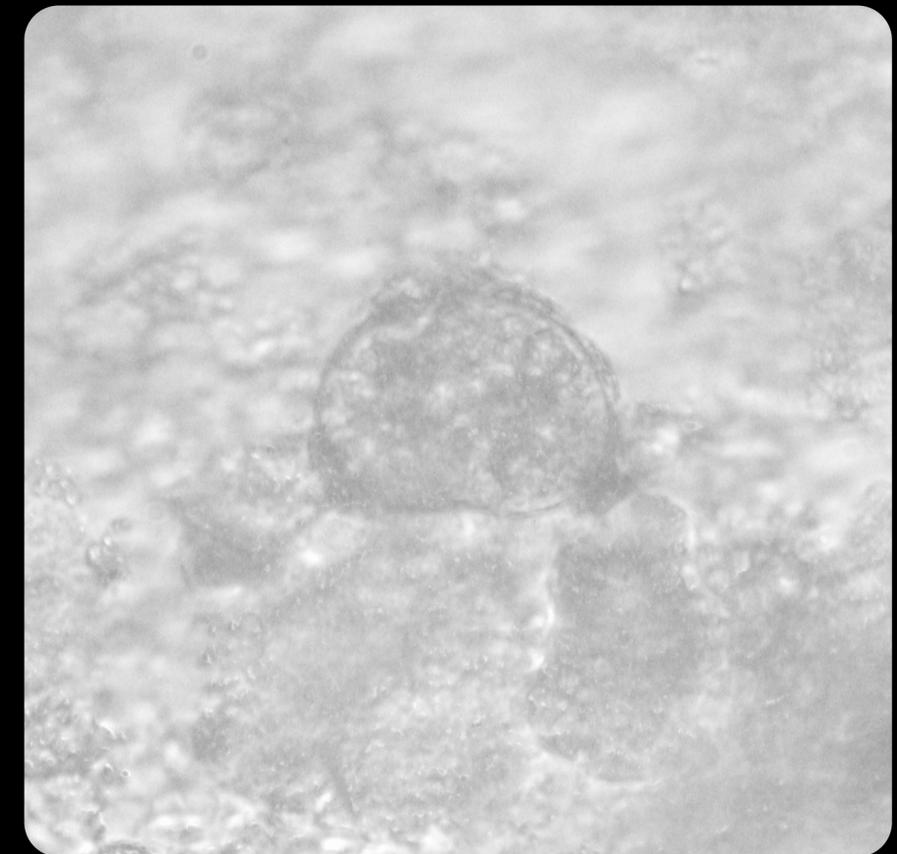
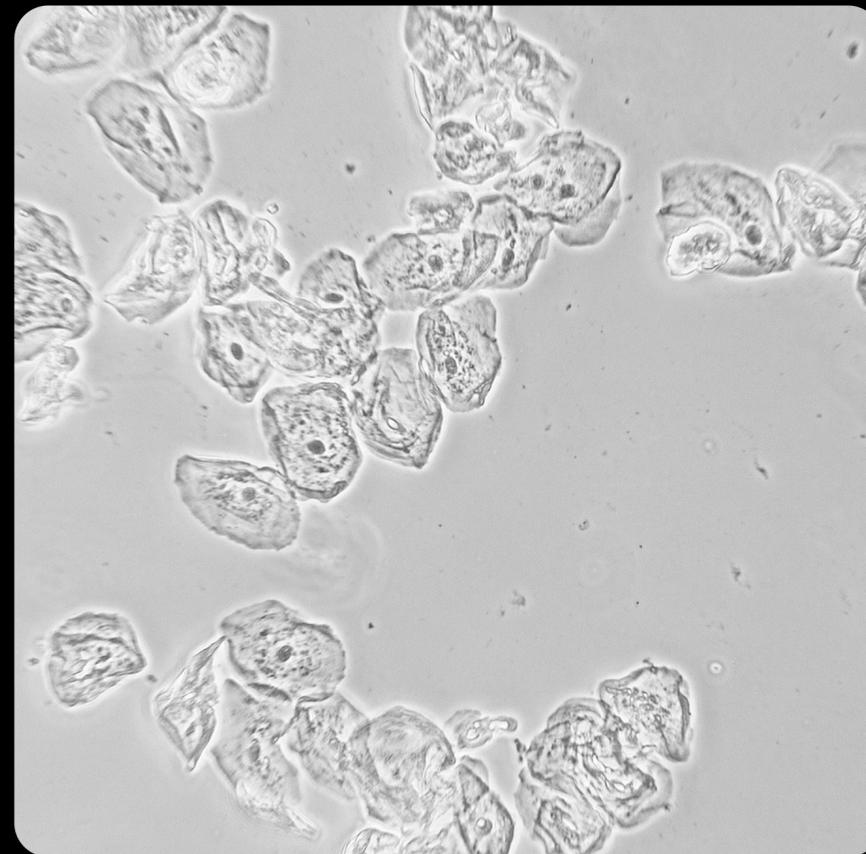
Для преобразования светпольного микроскопа в фазово-контрастный необходимы два специальных вспомогательных устройства:

1. кольцевая диафрагма в передней фокальной плоскости конденсора,
2. внутренняя фазовая пластина объектива, соответствующая по диаметру и оптически связанная с кольцом конденсора.

Мы не видим сдвиг фазы, но видим разницу амплитуд. Интерференцию световых лучей мы будем видеть как увеличение контраста.

ФАЗОВЫЙ КОНТРАСТ

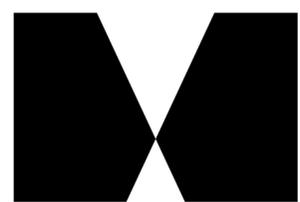
- Прозрачные неокрашенные образцы не поглощают свет. В результате различия интенсивности на изображении небольшие. В светлом поле прозрачный образец визуализируется не отчетливо.
- При прохождении света через прозрачные образцы происходят небольшие фазовые сдвиги. Фазовые изменения возникают из-за различных показателей преломления в прозрачных объектах. Они зависят от толщины, состава и геометрии объекта. Фазовые сдвиги мы не можем увидеть глазами.
- В фазово-контрастной микроскопии эти фазовые сдвиги трансформируются в изменения амплитуды. Разницу в амплитуде мы наблюдаем как различный контраст изображения.
- Преимущество: возможность исследовать живые клетки в их естественном состоянии, не убивая их окрашиванием.



ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

- МЕДИЦИНА,
- КЛЕТОЧНАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ,
- БИОТЕХНОЛОГИЯ,
- ФАРМАКОЛОГИЯ,
- ТОКСИКОЛОГИЯ,
- ВИРУСОЛОГИЯ,
- ГИДРОБИОЛОГИЯ,
- СЕЛЬСКОЕ ХОЗЯЙСТВО,
- ЭКОЛОГИЯ И ДР.





MAGUS

ОБЪЕКТИВНОЕ ПРЕВОСХОДСТВО