معايرة المجهر الضوئي

١- العدسة الشيئية ذات القوى الصغرى Low Power Objective Lenses (L.P)

وتكون قوة تكبيرها

أ. (4x)

ب. (10x)

٢- العدسة الشيئية ذات القوى الكبرى High Power Objective Lenses (H.P)

وتكون قوة تكبيرها (40x)

٣- العدسة الزيتية Oil Immersion

وتكون قوة تكبيرها (100x)

*قوة التكبير magnification power

هي خاصية زيادة سطح الجسم او تكبير الجسم وتختلف حسب نوعية المجهر وتتراوح من10-1000 مرة للمجهر الضوئي و 10-50 الف واكثر للمجهر الالكتروني . تقاس قوة تكبير المجهر الضوئي حسب المعادلة :

Magnification power of objective lens(Magnification power × X)= Magnification of eye lens

ملاحظة : 1 m = 1000 mm

1mm = 1000 micron (µ)

1 µ = 1000 mµ = 1000 nanometer (nm) = 10^{-9}

1 mµ(nm) =10 Angstrom (A°)

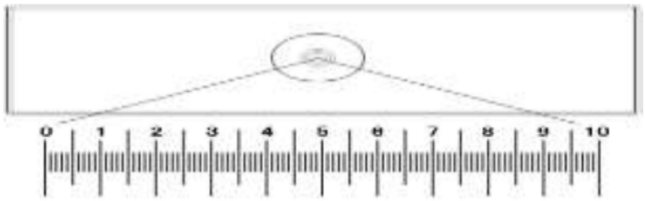
1 A°= 10^{-8} cm = 10^{-10} m

Microscopic Measurements القياسات المجهرية

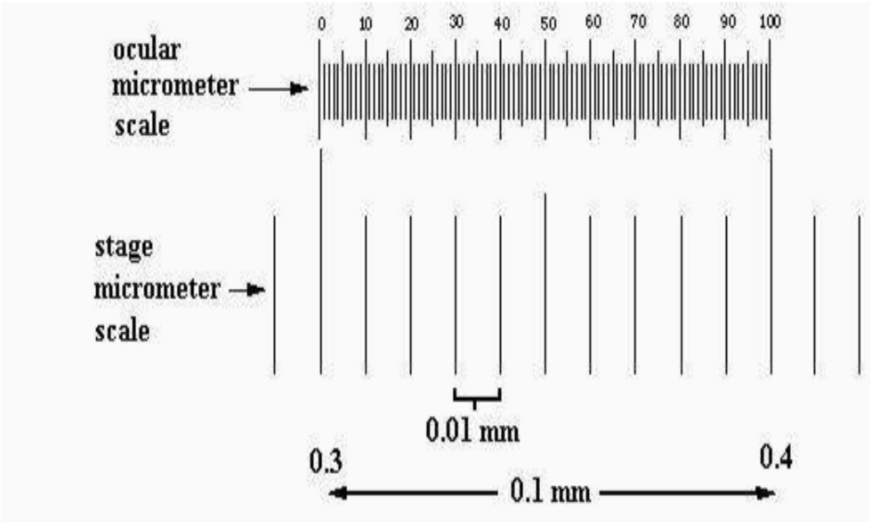
ان قياس اطوال أو اقطار الخلايا بالمجهر يعتمد على توفر الاتي:

1- الشريحة الزجاجية stage micrometer وهي سلايد(شريحة) زجاجية تحتوي على مقياس يعادل 10 ملم ومقسم إلى 100 قسم ثانوي لذا كل تدريجة (قسم ثانوي) تساوي100/10mm = 0.1 ملم(شكل 2).

شكل 2: الشريحة الزجاجية stage micrometer



2- العدسة العينية ocular micrometer وهي عدسة عينية تحتوي على مقياس خاص scale مقسم إلى عدد من الوحدات الثانوية وعادة تكون اصغر من تدريجات شريحة المنصةstage micrometer .وتعتمد عدد تدريجات العدسة العينية على قوة التكبير وعادة كل وحدة من stage micrometer تساوي 10 وحدات من ocular micrometer.



ولغرض قياس أطوال الخلايا يجب تطبيق الخطوات التالية:

1- معايرة العدسة العينية وتتم كالاتي:

أ- توضع stage micrometer على منصة المجهر stage.

ب - توضع العدسة العينية ocular micrometer في موضعها داخل العدسة العينية للمجهر eye lens.

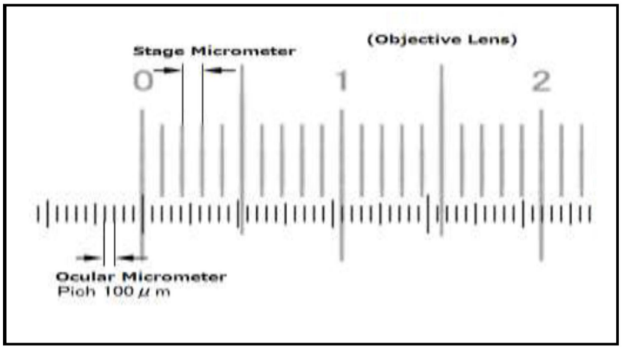
ج- يضبط المقياسين بحيث يكون احد القياسين فوق الآخر من بداية المقياس بحيث يتم تطابق تدريجات ocular micrometer مع تدريجات stage micrometer (على الصفر) لقوة تكبير معينة.

د- يتم حساب تدريجات العدسة العينية لاستخراج مكافئ ال ocular (Ocular equivalent)

حسب قوة التكبير من خلال المعادلة الآتية:

$$\text{Ocular micrometer divisions} = \frac{\text{No.of divisions of stage micrometer}}{\text{No.of divisions of ocular micrometer}} \times 100$$

يختلف المكافيء حسب قوى التكبير المختلفة فمثلا مكافيء قوة تكبير العدسة الشيئية 4 =25 من خلال تطبيق المعادلة السابقة.



2- بعد معرفة تدريجات العدسة العينية لقوة معينة يتم إزالة stage micrometer يتم وضع الشريحة المراد قياس اطوال او اقطار اي جزء منها.

3- لمعرفة الطول الحقيقي للخلية يتم ضرب عدد تدريجات العدسة العينية المساوية لطول الخلية في المكافيء حسب قوة التكبير.

مثال :

طول خلية ما يساوي5 تدريجات من (.ocular micro) على القوة 4X فما الطول الحقيقي للخلية مقاساً بالنانومتر؟

الطول الحقيقي=عدد تدريجات العدسة العينية×المكافيء حسب قوة التكبير

25×5=

nm125000= µ 125=

م4 : آلة القطع الدقيق الميكروتوم (Microtome)

الميكروتوم : وتعني كلمة Microtome في اليونانية : Micros اي Small (صغير) و Temnein اي cut (قطع).

المشراح او المقطاع الدقيق او المايكروتوم /الة صممت خصيصا لتقطيع شرائح مجهرية يقاس سمكها بالمايكرونات (المايكرون = 1/1000 من المليمتر) . المظهر العام والقاعدة الميكانيكية المبني عليها المقطاع الدقيق لكل الانواع هي واحدة .

●ويتكون أساسا من :

1- سكين حادة تعمل على عمل قطاعات رقيقة مع امكانية التحكم في سمك القطاع 4-10 ميكرون من خلال تدريج خاص يحتوي على مؤشر لتحديد سمك القطاع.

2- حامل يثبت عليه كتلة من شمع البرافين المجهزة والتي بها العينة المراد عمل قطاعات رقيقة جدا فيها.

● وهناك انواع تخصص كل نوع منها لتقطيع مقاطع مطمورة في الوسط الخاص لكل نوع وهي :-

1- الميكروتوم اليدوي : عبارة عن سكين حادة تعمل على تقطيع العينات قطاعات كبيرة مثل: قطاعات الأسماك .

2- ميكروتوم كامبرج Cambridge rocking microtome : يتكون من سكين في وضع ثابت والحافة الحادة إلى أعلى أما الكتلة الشمعية متحركة في اتجاه السكين بشكل قوس دائري مجرد تحريك الميكروتوم تلتقي الكتلة الشمعية مع السكين وتنفصل القطاعات على حسب السمك المطلوب

3- الميكروتوم الدوار- الدوراني Rotary microtome

يتميز الميكروتوم الدوار بأن السكين في وضع ثابت والكتلة الشمعية تتحرك إلى أعلى وإلى أسفل في اتجاه عامودي على السكين وبمجرد تحريك الميكرتوم تلامس الكتلة الشمعية السكين وتنفصل القطاعات بحسب السمك المطلوب وهو المشراح المصمم خصيصا لتقطيع شرائح من قوالب البرافين بسمك بين 3-8 مايكرون .

المايكروتوم الدوار

مايكروتوم كامبرج

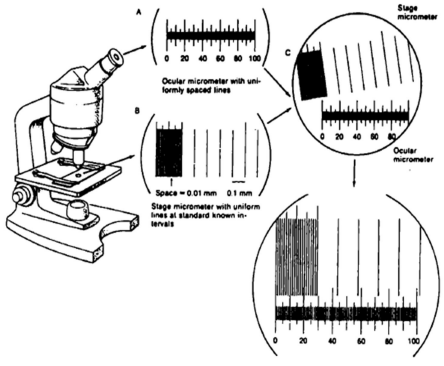
4- ميكروتوم الشرائح Sliding microtome

يتكون من سكين تتحرك في اتجاه أفقي للكتلة الشمعية , والكتلة الشمعية تكون ثابتة ومجرد التقاء السكين بالكتلة الشمعية تتكون قطاعات حسب السمك المطلوب وهو المشراح المصصمم لتقطيع شرائح من قوالب السيلويدين بسمك يتراوح بين 8-15 مايكرون.

5- Cryomicrotome : يتكون من غرفة تحوي الشرائح المنجمدة والتي تمرر في درجة حرارة منخفضة بعد الانجماد وتحت ضغط النتروجين السائل لكي يتم تهيئتها للتقطيع ومن ثم فحصها تحت المجهر.

cryo

Sliding



شكل- ١١: استعمال المقياس الدقيق micrometer في العدسة العينية ocular lens والعدسة الشيئية objective lens وذلك من أجل تعيين أبعاد التراكيب الدقيقة في الشرائح البايولوجية المدروسة.

ملاحظات:

- يمكن تمييز العدسة الزيتية عن بقية العدسات الشيئية حيث يكتب عليها كلمة Oil أو في بعض الأنواع بوجود حلقة سوداء تحيط بها.
- إن العدسة الزيتية Oil immersion lens لا يمكن استعمالها إلا بوضع قطرة من زيت السيدر Ceddar oil أو زيت البراقين النقي على العينة فوق الشريحة لمنع انكسار الضوء عن مساره وتشتته ومنع انحرافه خارج العدسة العينية مما قد يتسبب في عدم رؤية العينة بصورة واضحة لأن مسافة عمل العدسة الزيتية تبلغ 0.13 ملليمتر وان فتحة هذه العدسة صغيرة جداً ويرجع سبب استخدام زيت السيدر تحديداً إلى إن معامل انكساره يبلغ 1.52 وهو مساو لمعامل انكسار الضوء للشريحة الزجاجية.
- تقدر قوة تكبير المجهر = قوة تكبير العدسة العينية X قوة تكبير العدسة الشيئية
  أما قوة تكبير لعدسات الشيئية فهي مدونة على العدسات نفسها.
- ينبغي تنظيف العدسة الزيتية بعد الانتهاء من استعمال المجهر بالزايلول أو الزايلين Xylene وورق النشاف Lens paper لإزالة الزيت من العدسة .