

Лаборатория микроскопирования

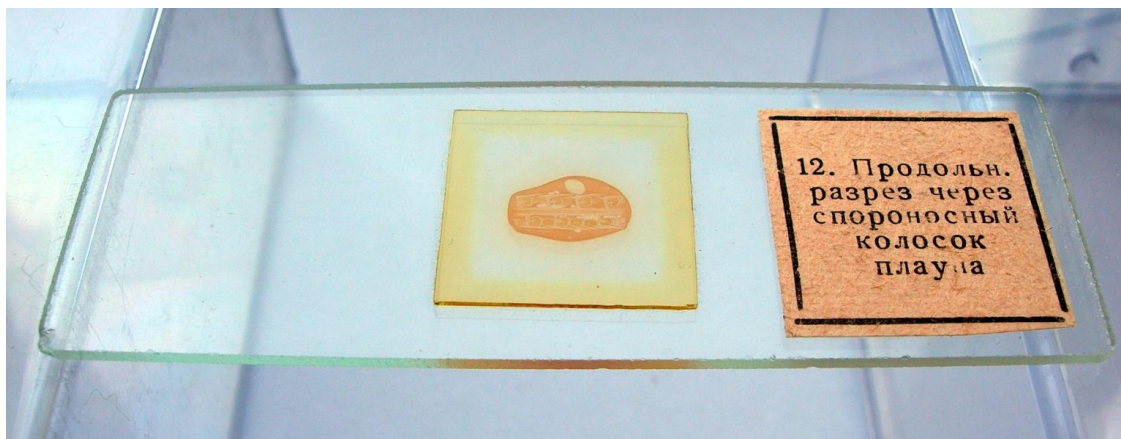
1. Приготовление микропрепаратов

Далеко не всё, что есть под рукой, имеет смысл класть на предметный столик и пытаться рассмотреть в окуляр микроскопа. Например, непрозрачные объекты (палец, монета) рассмотреть совсем не удастся, да и для рассматривания вполне достаточно сильной лупы.

Обычно для микроскопирования используют специально приготовленные микропрепараты. При приготовлении микропрепарата берется предметное стекло (размер 25×75 мм), на которое помещается рассматриваемый объект; обычно для лучшей сохранности и удобства использования объект накрывается сверху тонким покровным стеклом (размер 18×18 мм).

По способу приготовления и времени хранения различают:

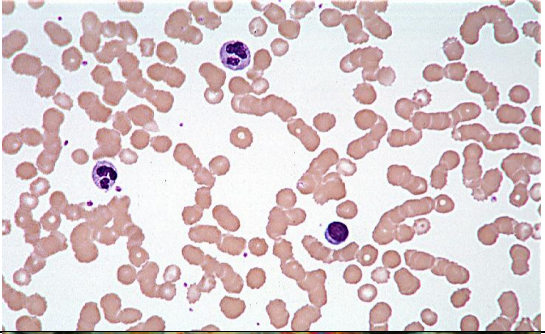
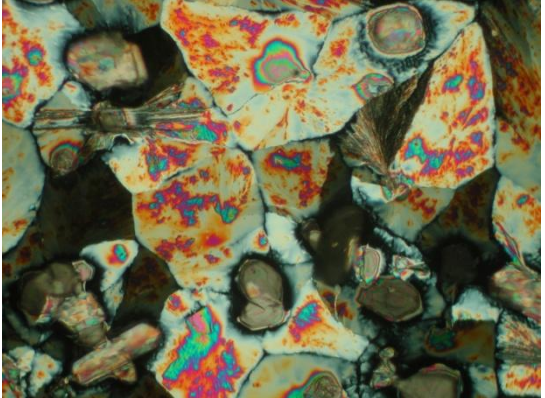
- **постоянные препараты** – объект помещен в прозрачную твердеющую среду (обычно канадский бальзам) и накрыт покровным стеклом; такие препараты могут храниться годами и десятилетиями, однако их приготовление весьма трудоемко (объект должен быть тщательно подготовлен: обезвожен, окрашен и др.);
- **временные препараты** – объект помещен в жидкую среду (вода, физиологический раствор, глицерин-желатин и др.), такие препараты годны для использования в течение нескольких часов, однако с ними можно проводить опыты (например, заменять воду солевым раствором определенной концентрации, добавлять краситель и др.).



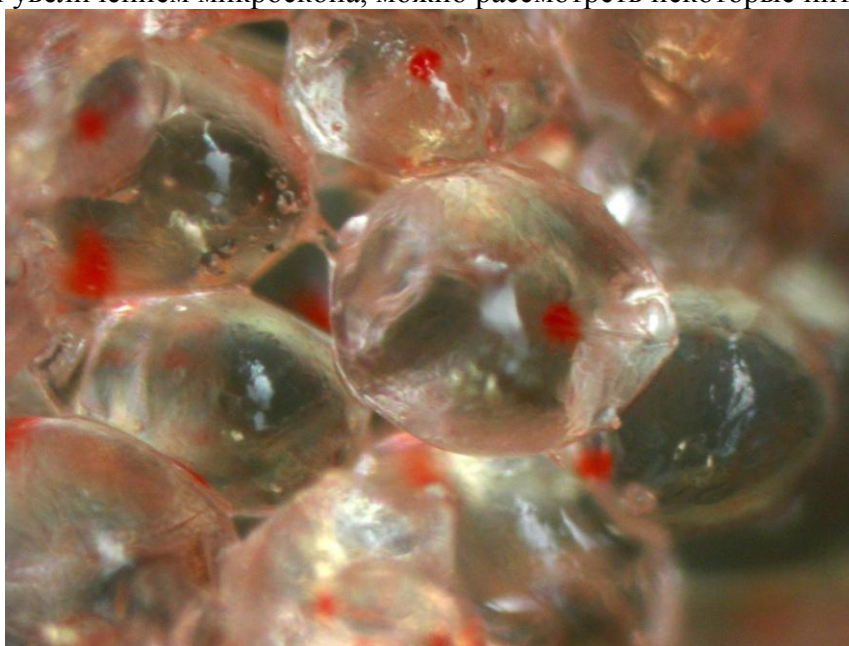
Постоянный препарат

В таблице представлены типы препаратов в зависимости от характера исследуемого объекта.

№	Тип	Описание	Постоянный/ временный	Пример
1	Тотальный препарат	Целый организм или его небольшие части (конечности, ротовой аппарат). Обычно требуют обработки (осветления)	Постоянный, временный	

2	Срез	Объект заливается в пластичный материал (парафин, акрил) и после его затвердевания разрезается на тонкие пластины с помощью микротомы (приспособления для получения тонких срезов)	Обычно постоянный	
3	Мазок	Токослойный препарат без покровного стекла (обычно препарат крови): капля с помощью полированного стекла размазывается по поверхности предметного стекла тонким слоем, высушивается	Временный, реже постоянный	
4	Шлиф	Тонкая (толщина 0,03-0,02 мм) пластинка горной породы или другого твердого образца (кости, окаменелости), приклеенная к покровному стеклу	Постоянный	

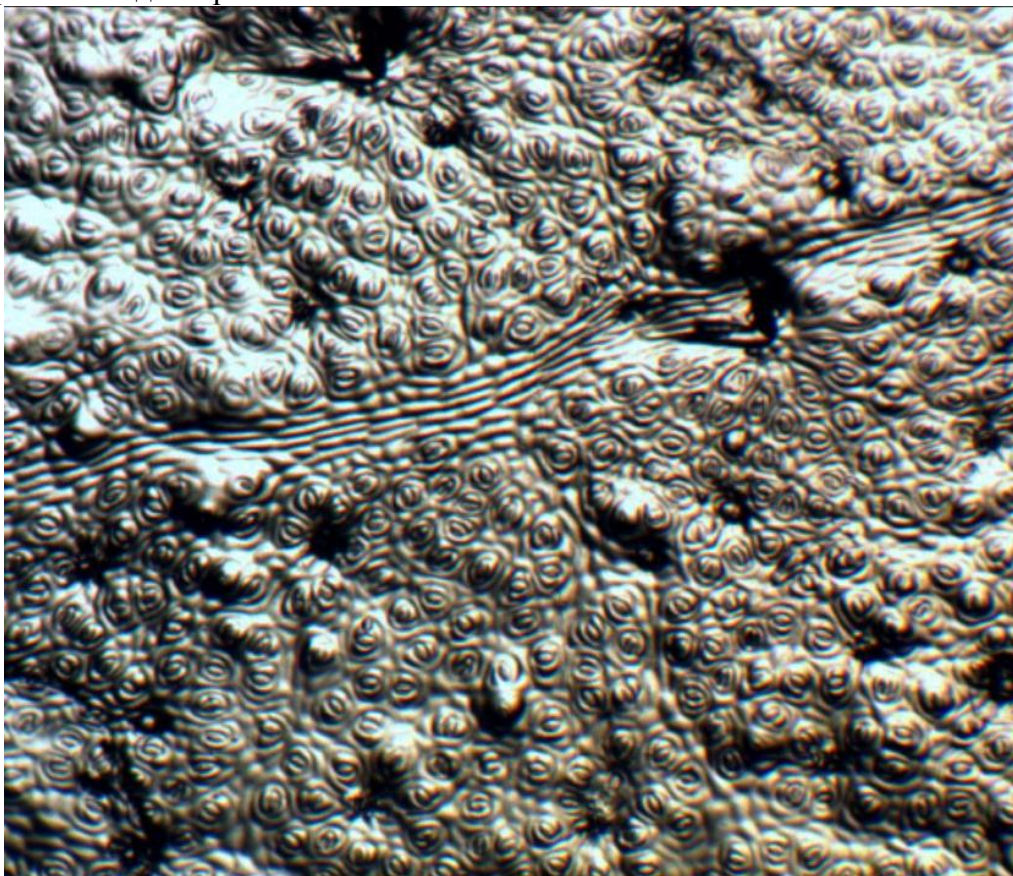
В некоторых случаях временный препарат можно рассматривать непосредственно, не накрывая покровным стеклом. Такой препарат будет практически невозможно рассмотреть резко сразу весь – какая-то часть его будет в фокусе, а остальное – нет. Но если рассматривать такой препарат с малым увеличением микроскопа, можно рассмотреть некоторые интересные объекты.



Микропрепарат клеток мякоти арбуза (без покровного стекла)

Так же в виде открытых временных препаратов можно вырастить кристаллы разных солей (ацетилсалициловой кислоты, или аспирина; медного купороса, или сульфата меди; красной кровяной соли, или гексацианоферрата калия). На предварительно очищенное от пыли и отпечатков пальцев наносится несколько капель водного или спиртового раствора соли (для лучшего качества кристаллов раствор предварительно лучше профильтровать, так как это позволит уменьшить количество точек кристаллизации и получить более крупные и аккуратные кристаллы). Каплям дают высохнуть (можно провести эксперимент с одним из стекол, нагрев его, с целью ускорения выпаривания, а другому дать растворителю испариться, а кристаллам – выпасть самостоятельно). Также можно рассматривать полуготовый микропрепарат на этапе процесса кристаллизации: можно увидеть, как кристалл увеличивается прямо на глазах или как вокруг зародыша твердого вещества возникает течение жидкости из-за разницы концентраций ионов.

Простой и эффектный способ изготовления микропрепаратов без срезов, позволяющий рассмотреть рельеф поверхности изучаемого объекта (например, листа растения, покровов тела насекомого) – метод **реплик**. При этом берется объект (например, лист растения), и на него наносится тонкий слой прозрачного лака для ногтей (достаточно небольшого пятна 5×10 мм). После того, как лак высохнет (примерно через 5-7 минут), к лаковому пятну приклеивается кусок липкой ленты; так реплика отделяется, после чего ее кладут на предметное стекло и рассматривают под микроскопом.



Реплика поверхности листа, видны устьичные клетки и жилка (микроскоп Микромед С-13, малое увеличение).

1.1. Приготовление временного препарата

Техника приготовления временного препарата хорошо известна по школьным опытам с кожицей лука. Кладем предметное стекло на стол (препараты всегда держат за боковые грани предметного стекла). В центр стекла помещаем 1-2 капли воды и объект исследования. Берем покровное стекло за боковые грани и осторожно накрываем им сверху каплю с объектом. Правильнее упереть покровное стекло одной из граней в предметное и медленно уменьшать

угол между стеклами так, чтобы накрыть каплю с объектом. Это уменьшает возможность появления пузырьков воздуха.

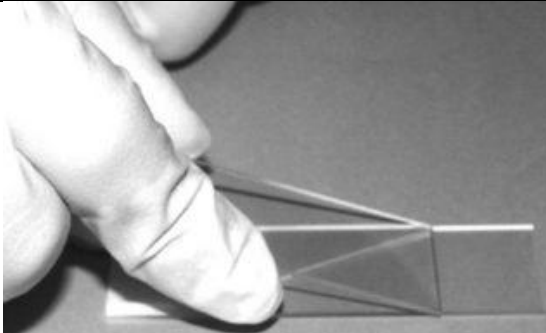


Накрывание объекта покровным стеклом

1.2. Приготовление мазка крови

Мазки крови для исследования крови готовят следующим образом.

Шаг	Описание	Фотография
1	Поместите небольшую каплю крови на лежащее на горизонтальной поверхности предметное стекло, с помощью стеклянной капиллярной пипетки (или непосредственно из места укола пальца перенесите выступившую каплю крови на конец стерильного предметного стекла, стараясь не касаться стекла проколотым участком кожи).	
2	Чистое шлифованное стекло помещается коротким ребром под углом 45° к предметному стеклу у края капли. Ждем, пока кровь расплывется под ребром стекла.	

3	Как только кровь растеклась по ребру, быстрым движением от капли проводим по предметному стеклу. Не следует сильно нажимать на стекло, так как при этом могут разрушиться форменные элементы крови.	
4	После приготовления мазок быстро сушат на воздухе до исчезновения влажного блеска, подержав его над абажуром лампы или помахав им в воздухе. Хорошо сделанный мазок тонкий, имеет желтоватый цвет и оканчивается «метелочкой». Густорозовые и красноватые мазки непригодны, так как они слишком толстые и клеточные элементы различить будет сложно.	

Изображения и описание с сайта <http://microtome.info/documents/micropreparaty.html>.

2. Некоторые особенности микроскопирования

Использование микроскопов на малом и большом увеличении достаточно хорошо известно по школьным опытам и не требует особо сложных навыков.

2.1. Иммерсионный объектив

Если в вашем распоряжении имеется микроскоп с иммерсионным объективом (он маркируется 100[×] МИ и черным кольцом, и имеет подвижную часть объектива, обращаемую к микропрепарату), то у вас есть возможность рассмотреть объекты с большим увеличением (однако для этого имеет смысл использовать мазки).

Порядок работы с объективом масляной иммерсии следующий.

1. Выведите из хода лучей сухой объектив (поверните барабан объективов так, чтобы ни один объектив не был обращен к препарату).
2. На препарат нанесите одну каплю иммерсионного (кедрового) масла; желательно иммерсионным маслом также немного смазать линзу этого объектива.
3. Повернув барабан объективов, введите иммерсионный объектив в ход лучей (до щелчка фиксации).
4. Опустите объектив до соприкосновения с каплей иммерсионного масла, затем, наблюдая в микроскоп, с помощью винтов грубой и точной фокусировки, произведите настройку на резкость.

При работе с иммерсионным объективом потребуется максимальная освещенность. После окончания исследования иммерсионный объектив нужно протереть мягкой оптической тряпочкой или батиновой, слегка смоченной специальной жидкостью для чистки оптики. Важно: любые другие виды объективов протирать нельзя!

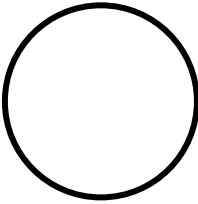
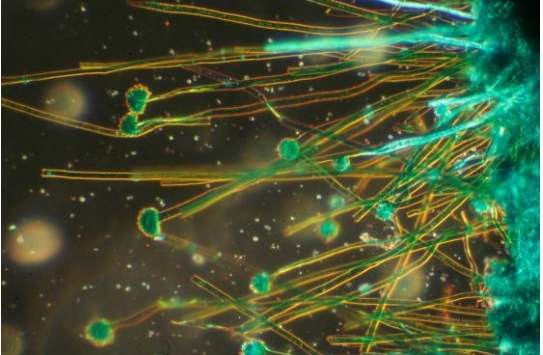
Применение вместо кедрового масла других масляных жидкостей не рекомендуется, т. к., если показатель преломления используемой иммерсии (например, вазелинового масла с показателем 1,48162) отличается от показателя преломления кедрового масла (показатель 1,515),

возможно снижение контраста, нечеткость изображения, уменьшение разрешающей способности.

2.2. Фотографии в косом освещении и темном поле

Для объемных препаратов (тотальные препараты насекомых, водорослей и др.) интересно использовать освещение, отличное от обычного просвечивающего. Для регулировки освещения в микроскопах используется конденсор – поворотное устройство с отверстиями разного диаметра и расположения. Используя специальные варианты конденсора, можно изменить характер освещения препарата, подчеркнув объем рассматриваемого объекта.

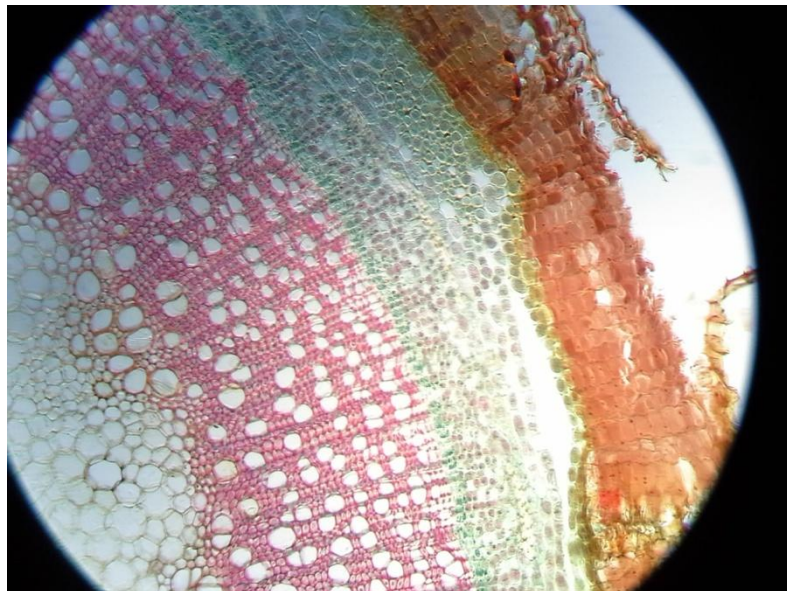
В таблице сравнивается работа с освещением разных типов.

№	Тип освещения	Способ создания	Вид зрачка объектива с вынутым окуляром	Пример
1	Обычное (просвечивающее)	Свет проходит через поле зрения равномерно.		
2	Косое	Свет проходит через препарат под углом, так как конденсор закрывает часть отверстия. Этого эффекта можно добиться притенения рукой или другой преградой часть светового потока перед зеркалом микроскопа		
3	Темное поле	Специальный конденсор закрывает центральную часть поля зрения, так что свет проходит с краев. При определенной тренировке такого эффекта также можно добиться, частично притеняя часть светового потока перед зеркалом микроскопа		

3. Съемка

Фотографирование настроенного на резкость микропрепарата с помощью камеры планшета особых трудностей не представляет, так как мы непосредственно контролируем то, что именно будем снимать. Настройки камеры планшета также зависят от типа устройства, которое

вы используете; так как камера планшета обычно имеет достаточно большую глубину резкости, даже при настройках камеры по умолчанию можно получить вполне качественное изображение.



Планшетный компьютер и микроскоп: съемка, фотография, кадр с выносками и обозначениями

4. Интернет-ресурсы

Лекция по микроскопированию для студентов:

- http://fep.tti.sfedu.ru/russian/ehamt/learn/nano-biology/lek_2.pdf

Простые опыты в домашних экспериментах:

- <http://edu.altami.ru/research-index/>

Сайты с историческими микроскопами и микропрепаратами:

- <http://www.victorianmicroscopeslides.com/slides.htm>,
- http://steampunker.ru/blog/interior_design/5342.html,
- <http://bibliodyssey.blogspot.com/2008/08/early-microscopes.html>,

- <http://marinni.livejournal.com/749561.html>.

Книга Роберта Гука (Robert Hooke) о микроскопировании “***Micrographia: Some Physiological Descriptions of Minute Bodies Made by Magnifying Glasses with Observations and Inquiries Thereupon***” доступна по этой ссылке:

- <http://www.gutenberg.org/files/15491/15491-h/15491-h.htm>.

Описание методики изготовления микроскопа Гука из бумаги в журнале «Science in School», № 22:

- ***Nektarios Tsagliotis Build your own microscope: following in Robert Hooke’s footsteps*** (Сделай свой микроскоп: по следам Роберта Гука) // Science in School, Issue 22, p.29-35, <http://www.scienceinschool.org/2012/issue22/microscope>.