

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

ОСНОВЫ СВЕТОВОЙ МИКРОСКОПИИ И ЦИФРОВОЙ МАКРО- И МИКРОФОТОГРАФИИ

Учебно-методическое пособие

Составители:
А.В. Лавлинский,
И.Э. Мазурова

Издательско-полиграфический центр
Воронежского государственного университета
2011

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1. Основы светомикроскопической техники.....	5
1.1. Классификация световых микроскопов.....	5
1.2. Основные элементы устройства микроскопа. Характеристика оптической и механической систем световых микроскопов.....	6
1.3. Определение увеличения и разрешающей способности микроскопа при разных комбинациях окуляра и объектива.....	10
1.4. Установка рационального освещения при микроскопических исследованиях и микрофотосъемке прозрачных объектов по методу светлого поля.....	12
2. Техника измерения объектов под микроскопом с применением окуляр-микрометра и объект-микрометра. Определение масштаба увеличения изображения.....	14
3. Статистическая обработка результатов.....	18
4. Изучение числа и общей морфологии митотических хромосом в норме. Понятие кариотипа.....	22
4.1. Общая морфология митотических хромосом.....	22
4.2. Основные морфометрические характеристики хромосом в кариотипах.....	24
5. Микрофотосъемка на основе аналоговой фотографии.....	26
5.1. Техника аналоговой (галогенно-серебряной) фотографии.....	27
5.2. Микрофотографирование.....	28
6. Применение цифровой фотографии в медико-биологических исследованиях. Анализаторы изображения.....	30
6.1. Понятие цифровой фотографии, макро- и микрофотография.....	30
6.2. Устройство и основные принципы работы цифровых фотоаппаратов.....	34
6.3. Цифровая микрофотография в биологии. Основные принципы работы и особенности применения анализаторов изображения в медико-биологических исследованиях.....	36
7. Техника микрофотографирования с применением цифровой камеры-окуляра DCM.....	42
7.1. Техническая характеристика цифровой камеры-окуляра DCM.....	42
7.2. Порядок работы с цифровой камерой-окуляр DCM при изучении микропрепаратов.....	43
7.3. Получение микрофотографий и их последующая обработка.....	45
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	47
ЛИТЕРАТУРА.....	52

1.2. Основные элементы устройства микроскопа. Характеристика оптической и механической систем световых микроскопов

Световой микроскоп включает в себя две конструктивно-функциональные части: оптическую и механическую. Структурная схема блоков и частей светового микроскопа представлена на рис. 1.

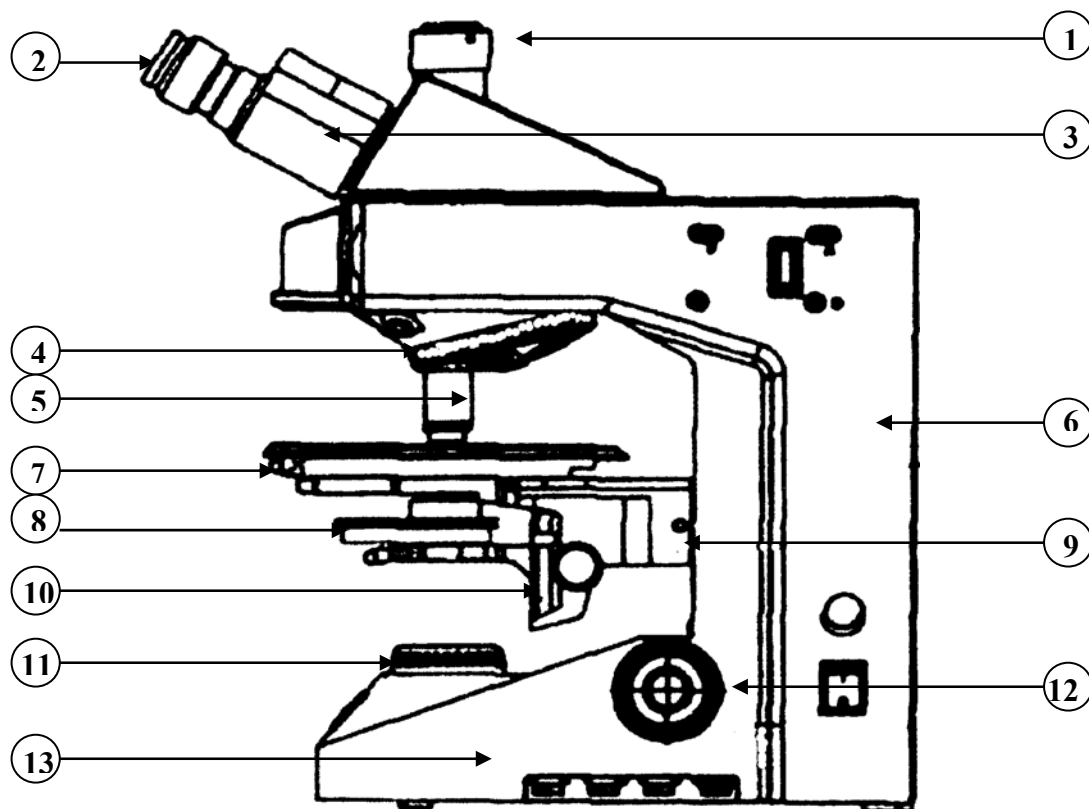


Рис. 1. Структурная схема блоков и частей тринокулярного светового микроскопа:

1. Узел крепления сменных насадок (визуальных, фотографических, телевизионных, различных передающих устройств).
2. Окуляр.
3. Визуализирующий блок.
4. Узел смены объективов (револьверное устройство).
5. Объективы (сменные).
6. Кронштейн для крепления или стойка (тубусодержатель).
7. Предметный столик.
8. Конденсор.
9. Узел крепления сменных предметных столиков.
10. Узел крепления конденсора, а также его фокусирующего и центровочного перемещения.
11. Узел крепления светоделительных элементов (блоков для отраженного света; блоков светофильтров, в т. ч. люминесцентного осветителя).
12. Фокусирующий механизм грубой и точной настройки микроскопа на резкость (макро- и микровинт).
13. Основание штатива микроскопа.

Оптическая система микроскопа включает в себя три основных функциональных блока: осветительный, воспроизводящий, визуализирующий.

Осветительный блок предназначен для создания равномерного светового потока, который проходит через объект (проходящий свет) или отражается от него (отраженный и падающий свет), а также для обеспечения условий точного воспроизведения объекта по цвету, форме и разрешению элементов в конечном увеличенном изображении. Осветительный блок включает: источник света (лампа и электрический блок питания); оптико-механическую систему, расположенную за лампой. Для микроскопов проходящего света оптико-механическая часть состоит из **коллектора, полевой ирисовой диаграммы и конденсора со встроенной апертурной ирисовой диафрагмой**. В микроскопах отраженного света роль конденсора играет объектив.

В современных микроскопах отечественного и зарубежного производства применяются встроенные в основание микроскопа осветительные системы с галогенными, ксеноновыми или ртутными лампами. Мощность галогенных ламп 6 В 20 Вт, 12 В 30–40 Вт. В исследовательских и универсальных моделях лампы более мощные – 12 В 100 Вт. Для выравнивания света обычно применяются светофильтры.

Коллектор. При встроенной осветительной системе проходящего света коллекторная часть линзы расположена вблизи источника света в основании микроскопа и предназначена для увеличения размера светящегося тела (лампы). Вблизи коллектора располагается **полевая диафрагма микроскопа**. Полевая ирисовая диафрагма регулирует интенсивность светового потока, направленного от источника света к объекту.

Конденсор. Оптическая система конденсора предназначена для увеличения количества света, поступающего от осветителя на объект. В его состав входит несколько линз, основное назначение которых превратить параллельные лучи, идущие от осветителя, в сходящиеся. По сути, конденсор представляет собой светосильный короткофокусный объектив, который должен иметь апертуру (см. далее Апертура объектива), равную апертуре объектива (условие Аббе).

В микроскопах отраженного света проблема качества конденсора решена просто – за счет абберационного качества объектива.

Воспроизводящий блок предназначен для создания увеличенного изображения объекта в промежуточной плоскости – плоскости изображения. Воспроизводящий блок включает объектив и промежуточную оптическую систему. Современные микроскопы последнего поколения базируются на оптических системах объективов, скорректированных на "бесконечность". В отличие от микроскопов предыдущего поколения с конечной длиной тубуса 160 мм, современные имеют дополнительную линзовую систему, называемую "тубусной", которая параллельные пучки света, выходящие из объектива, "собирает" в плоскости изображения микроскопа и обеспечивает, таким образом, само изображение.

Объектив состоит из фронтальной и последующей частей. Фронтальная линза (или система линз) обращена к препарату и является основной при построении изображения соответствующего качества, определяет рабочее расстояние и числовую апертуру объектива. Последующая часть в сочетании с фронтальной обеспечивает требуемое увеличение, фокусное расстояние и качество изображения, а также определяет конструкцию объектива и микроскопа в целом (высоту объектива и длину тубуса микроскопа).

Визуализирующий блок предназначен для получения изображения объекта на сетчатке глаза, фотоматериале, матрице цифровой камеры.

Визуализирующий блок включает следующие элементы: визуальная насадка (монокулярная, бинокулярная или бинокулярная с фото-видеовыходом); окуляры для наблюдения; система дополнительного увеличения; проекционные насадки, в том числе дискуссионные для двух и более наблюдателей; рисовальные аппараты; адаптерные (согласующие) элементы систем анализа и документирования изображения, имеющие дополнительное увеличение.

Микроскоп отраженного света (например, люминесцентный) имеет аналогичные воспроизводящую и визуализирующую части, но в качестве конденсора выступает объектив.

Механическая система микроскопа. Основным конструктивно-механическим блоком микроскопа являются штатив, который включает в себя следующие основные части: основание и тубусодержатель (рис. 1).

На основании крепится весь микроскоп. В простых микроскопах на нем устанавливают осветительные зеркала или самостоятельные осветители. В более сложных моделях осветительная система встроена в основание с блоком питания или без него.

Одним из основных и точных элементов, входящих в механическую часть микроскопа, является предметный столик, предназначенный для крепления препарата и фиксации его в определенном положении под микроскопом. Форма столиков бывает округлой (в старых моделях) и прямоугольной. Они бывают неподвижные, координатные, поворотные (на ограниченный угол) и вращающиеся (центрируемые и не центрируемые).

На стол устанавливают препаратодержатели и препаратоводители. Последние практически не применяются в современных микроскопах, кроме поляризационных микроскопов.

Параметры микроскопа. К основным параметрам микроскопа и соответственно его оптических частей относятся: увеличение; разрешающая способность; линейное поле на предмете; степень исправления aberrаций.

Общее увеличение микроскопа зависит: а) от увеличения объектива; б) от увеличения окуляра; в) промежуточных увеличивающих систем. Так, например, при оценке увеличения анализатора изображений (АИ) увеличение окуляра не влияет на общее увеличение системы, т. к. он не участвует в формировании изображения. Увеличение АИ зависит от увеличения объектива, промежуточных линз и адаптера камеры (см. параграф 6).