

Faskontrastmikroskopi

Faskontrastmikroskopi är en variant av ljusmikroskopi. Det var den holländske fysikern Frits Zernike som år 1934 avslöjade att man med hjälp av fas och amplitud skillnader kunde skapa en kontrast skillnad i ett prov. Denna upptäckten kom att ge honom nobelpriset i fysik år 1953.

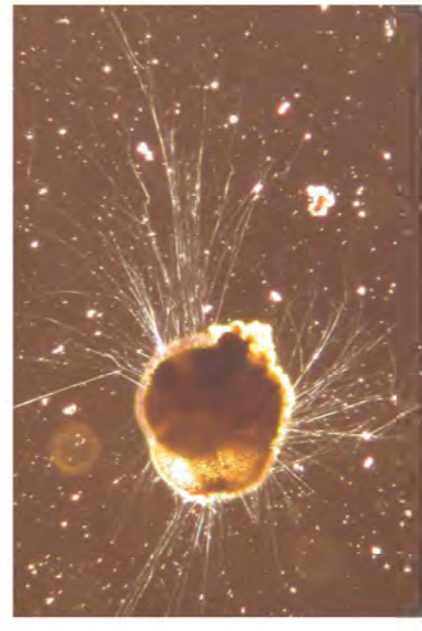
Användningsområden

Faskontrastteknik har medfört stora framsteg inom medicin och biologi. Detta beror på att man genom att utnyttja faskontrast kan få fram tydliga förstoringar på genomskinliga prover utan att behöva färga eller på annat sätt påverka provets naturliga form. Med hjälp av ett faskontrastmikroskop är det möjligt att studera olika biologiska processer exempelvis celldelningen, med en högkontrast utan att påverka på provet.

Skillnader och likheter med ljusmikroskop

Mikroskopet som använder faskontrast är inte så olika jämfört med vanliga ljusmikroskop. Oftast är mikroskopet byggda för att kunna använda flera olika mikroskoperingstekniker som används för att analysera olika typer av preparat eller för att ta kolla på olika saker hos samma preparat. Detta har flera fördelar, man behöver inte ha flera olika mikroskop för att studera olika saker i labbet vilket självklart sparar pengar och plats. Det är också smidigt att kunna skifta mellan olika tekniker medan man tittar på samma preparat så att man kan få fram olika attribut hos preparatet.

Faskontrastmikroskopin utnyttjar att olika delar i ett prov har olika brytningsindex och ger oss därför möjlighet att studera genomskinliga prover. Tidigare var man tvungen att preparera genomskinliga prover med till exempel färg för att kunna analysera proven något som man slipper med faskontrasttekniken.



Anöban Ammonia Topida, wikipedia commons.

Produkt

Företagen som tillverkar mikroskop är förutom specialiserade företag ofta samma som tillverkar till exempel digitalkameror och andra optiska instrument. Detta dels för att man i dagens läge ofta använder digitalkameror tillsammans med mikroskop och dels för att den optiska tekniken är relativt lik.

Exempel på företag som tillverkar mikroskop är Olympus och Nikon. Ett mikroskop som använder faskontrastmikroskopi kommer från Olympus och har det föga fantasieggande namnet Olympus CX41. Det här mikroskopet används för rutinkontroller och undersökningar inom biologi och medicin och kan använda många olika mikroskoperingstekniker, däribland faskontrast.

Mikroskopet är uppbyggd precis som mikroskopet du har sett i skolan tidigare med möjlighet att montera digitalkamera och ett antal olika okular. Det behövs bara en liten tilläggssats för att kunna köra faskontrastmikroskopi med en rörlig fasplatta (som kan puttas ut och in beroende om man vill använda faskontrastmikroskopi eller inte) och tre olika objektivi för faskontrast (med förstoring 10, 40 och 100 gånger). Mer än så behövs inte för att kunna använda mikroskopet som normalt, men med faskontrast.

Det är svårt att säga exakt hur mycket ett sådant här mikroskop kostar eftersom det finns så pass mycket variationsmöjligheter och företaget inte säljer mikroskopet med fasta priser utan mot kostnadsförslag. Man kan dock hitta exempel på hur mycket det kan kosta på internet och ett mikroskopset som vi hittade kostade runt 27 000 kronor (Spach Optics Inc.).



Mikroskopet Olympus CX41, Olympus CO.

Faskontrast-mikroskopets uppbyggnad

Faskontrastmikroskopets (FK-mikroskopets) uppbyggnad påminner väldigt mycket om det klassiska ljusmikroskopet. Faktiskt så skiljer bara små detaljer i form av två plattor som saknas hos ljusmikroskopet. Dessa två är fasdelaren och fasplattan (se condenser annulus respektive phase plate i figuren nedan).

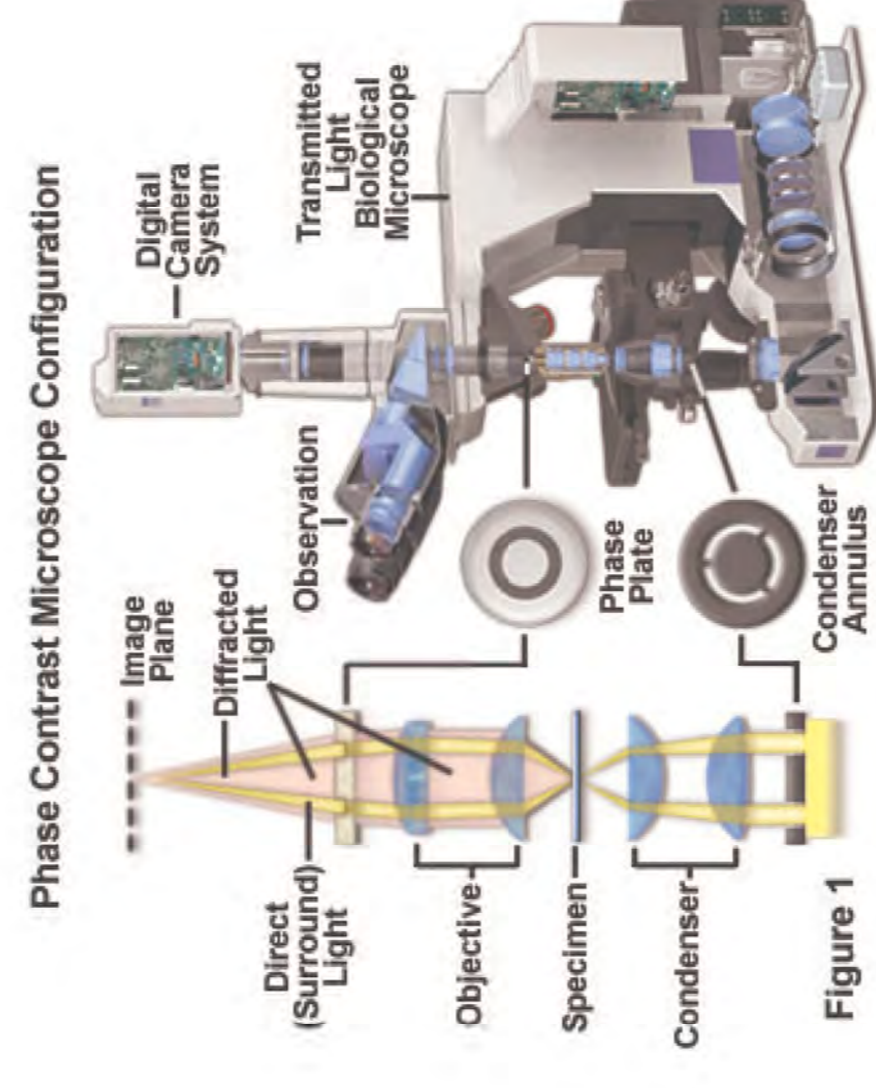
Vi ska nu följa ett knippe ljusstrålars väg genom den fantastiska världen inuti ett faskontrastmikroskop. Vår resa börjar i en ofta använd halogenlampa där våra strålar tar fart . Det första våra vänner träffar på är en samlingslins bestående av en konvex glaslins och skickas därefter rakt mot fasdelaren (se condenser annulus i figuren nedan).

i figuren). Fasdelaren är en väldigt intressant del av FK-mikroskopet och är en svart och ogenomskinlig platta som har en ringformig och genomskinlig öppning i mitten. Lyckligtvis är denna placerad på nästa samlingslins (se condenser i figuren) främre fokalplan så strålarna kan flyga vidare ända fram till scenen (se specimen i figuren), där provexemplaret hålls tortyriskt fast. Efter det att våra vänner åkt

igenom provexemplaret kommer de fram till objektivet (se objective i figuren), som samlar upp strålarna och sänder dem vidare mot fasplattan.

Denna platta består av en genomskinlig glasskiva med en ringformig, ogenomskinlig, svart platta, som man skulle kunna kalla inversen av fasdelaren på matematiskt språk. Hursomhelst slutar resan upp med mikroskopets okular, som består av två (eller tre) binokulära linser och leder våra vänner rakt in i dina ögon!

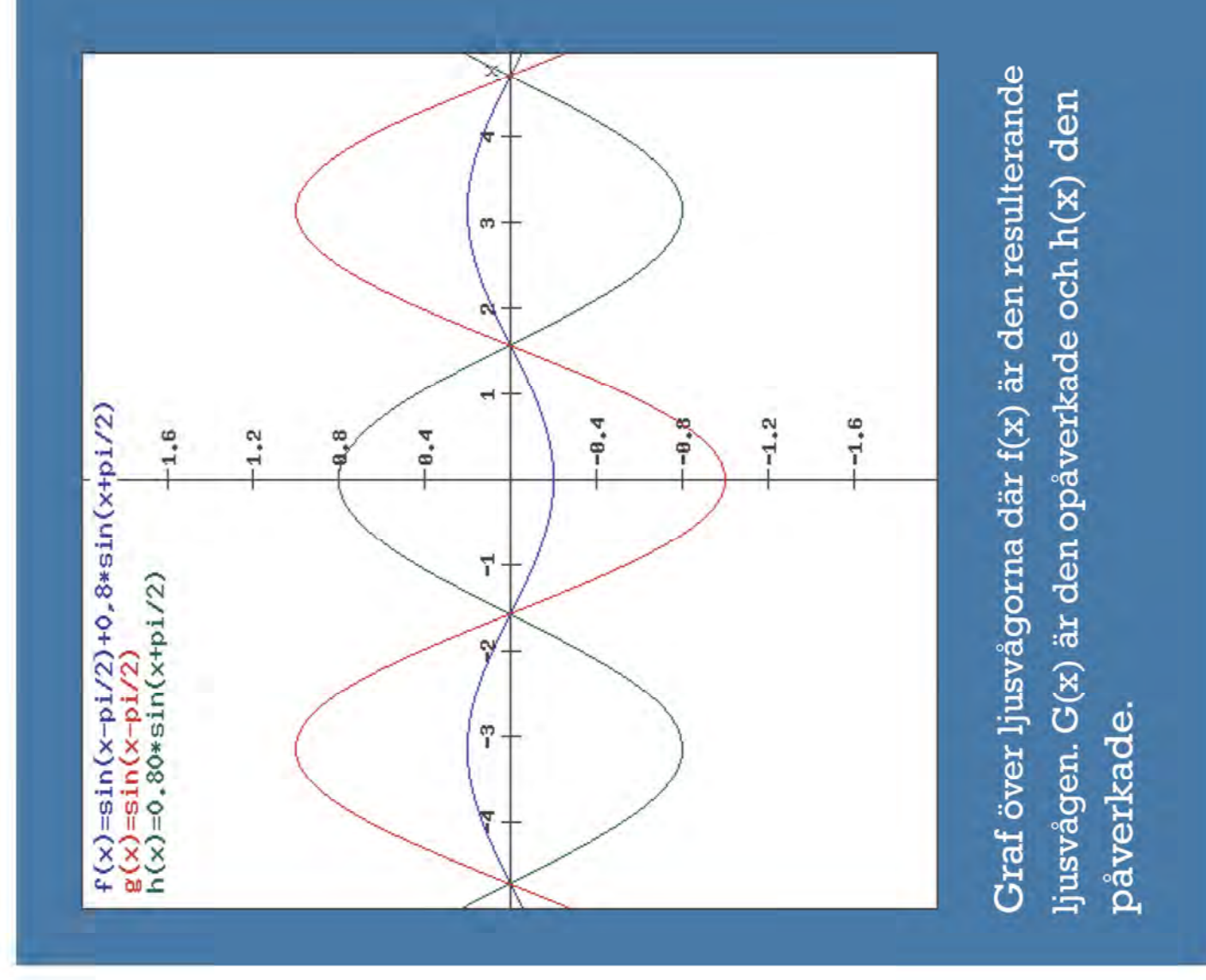
Viktigt att notera är att fasplattan sitter på objektivets bakre fokalplan och att den i förhållande till fasdelaren gör en perfekt överlappning. För att justera denna överlappning använder man sig antingen av ett fas-teleskop (se källa 2 för mer info) som installeras isället för ett av okularets observationsrör eller en Bertrand lins (se källa 2 för mer info) som finns inbyggd i okularets kikare.



Tekniken i faskontrastmikroskopet

I ett faskontrastmikroskop utnyttjar man ljusets vågegenskaper för att studera prov. Ljus utbreder sig bekant som en våg. Då två ljusvågor möts så reagerar dem på varandra. Vid möte av två toppar får vi en hög topp och vid möte av en topp och den dal så släcker dem ut varandra. Då man vill studera biologiska prov är de ofta genomskinliga för ögat. Dock har biologiska prov skillnader i sitt brytningsindex som inte är jämnt fördelat över provet. En cellvägg kan ge upphov till ett högre brytningsindex. Då ljus går igenom ett ämne uppstår ett fasskifte. I faskontrastmikroskopet skickar man parallella ljusstrålar igenom ett prov. De strålar som går igenom material med högt brytningsindex blir ofta påverkade av ett fasskifte med 90 grader. De strålar som går igenom tomt prov lämnas opåverkade. Igenom att låta de opåverkade strålarna sedan bli negativt fassförskjutna med 90 grader kommer opåverkade strålars dalar att motverka de påverkade strålarnas toppar.

Rent teoretiskt så får vi en svart punkt då 1 stråle fassförskjuts i provet och en lämnas opåverkad. Om båda strålarna lämnas opåverkade så får vi en vit punkt i vår bild. Dock blir inte alla strålar helt påverkade eller opåverkade. Detta resulterar i att slutbilden även innehåller gråskalor. I verkligheten är dock större delen av strålarna som inte blir fassförskjutna något som man korrigerar igenom att minska de opåverkade strålarna med en 60-90% i optiken



Källor:

[[] Fickman oland. (2005-06-28). Phase Contrast Microscopy. https://www.microscopy-uk.org.uk/mag/feature.php?article=phasecontrast/phaseindex.html [2010-11-02]

[[] Fofarata oland. (2010-10-10). Phase Contrast vs. Bright-Field Microscopy. https://www.microscopy-uk.org.uk/mag/feature.php?article=phasecontrast-vs-bright-field-microscopy [2010-11-02]

[[] Rene van Wesel. (2004-03-xx). Color Phase Contrast. http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/indexmag.html/http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/announcements/phase.html [2010-11-02]

[[] David B Caprette. (2010-05-09). Phase Contrast Microscopy. http://www.rutgers.edu/~biohab/methods/microscopy/phase.html [2010-11-02]

[[] Olympus CO. (2006-07-07). System Microscope CX41, CX2 Series (Brochyr) http://resources.olympus-europe.com/micro/catalog/C12579450051DEZ19420ID-201140838FC12870BD004D4908_CX41_NEW.pdf [2010-11-02]

[[] Spach Optics Inc. (Online publiceringsdatum). OUTLINE CX41 PHASE CONTRAST MICROSCOPE WITH REMOVABLE HEAD (Internetutgåva) http://www.spachoptics.com/CX41_PHASE_p/olympus-cx41-phase.htm [2010-11-02]

[[] Douglas B. Murphy, Ron Oldfield, Stanley Schwartz, Michael W Davidson. Introduction to Phase Contrast Microscopy (2010). New York: McGraw-Hill

[[] Douglas B. Murphy, Ron Oldfield, Stanley Schwartz, Michael W Davidson. Introduction to Phase Contrast Microscopy (2010). http://www.microscopy.com/articles/phasecontrast/phasecontrast.html

Grupp 12a

Handledare: Hans Lundberg
Direa Osman, Christoffer Wedding, Anthony Varady, John Wahnström