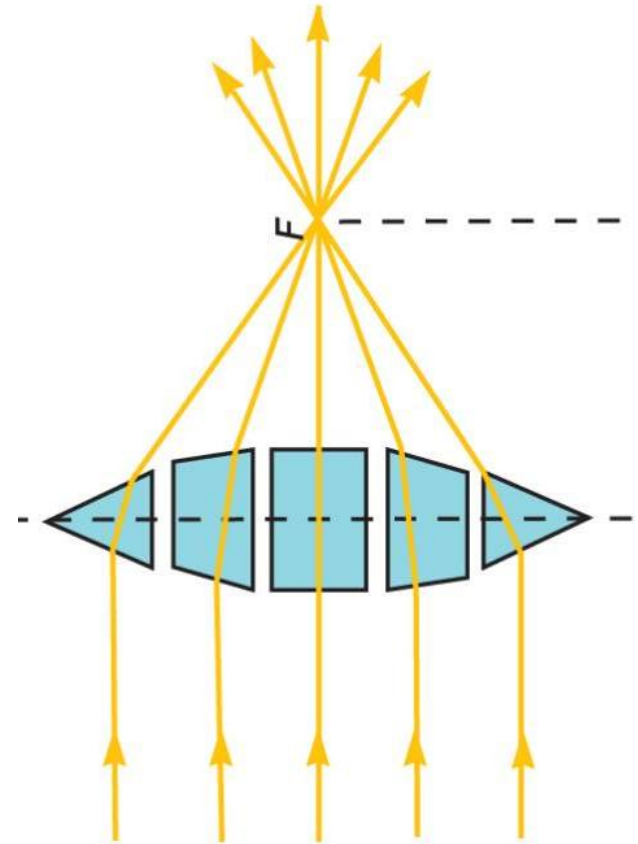
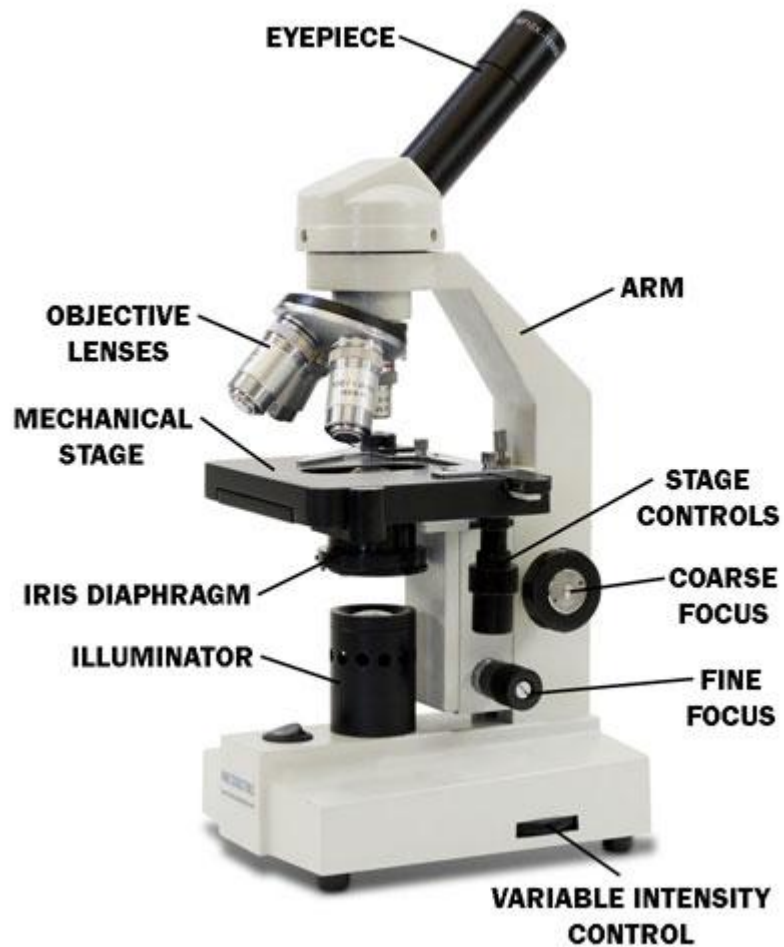
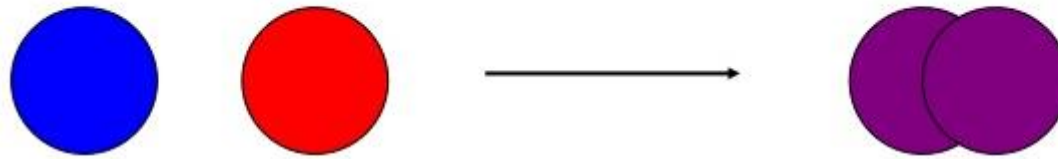


Oggi parliamo di Microscopio ottica (biologica)

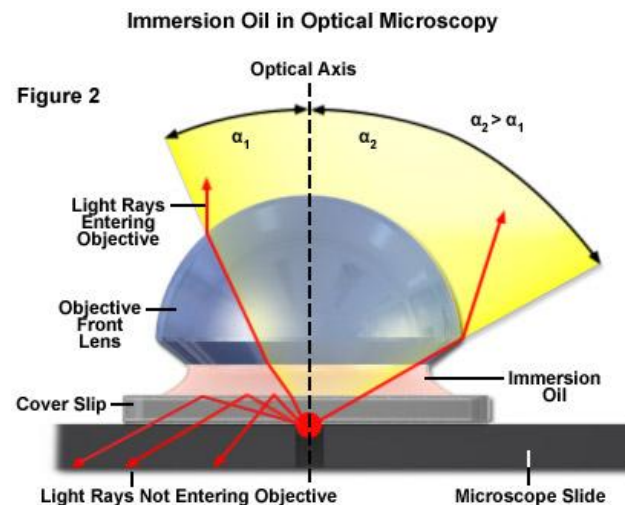


Resolution vs. Magnification



Actual

What We Might See



Range di microscopi ottici (ricordiamo che questo significa ingrandimenti con un'immagine nitida)

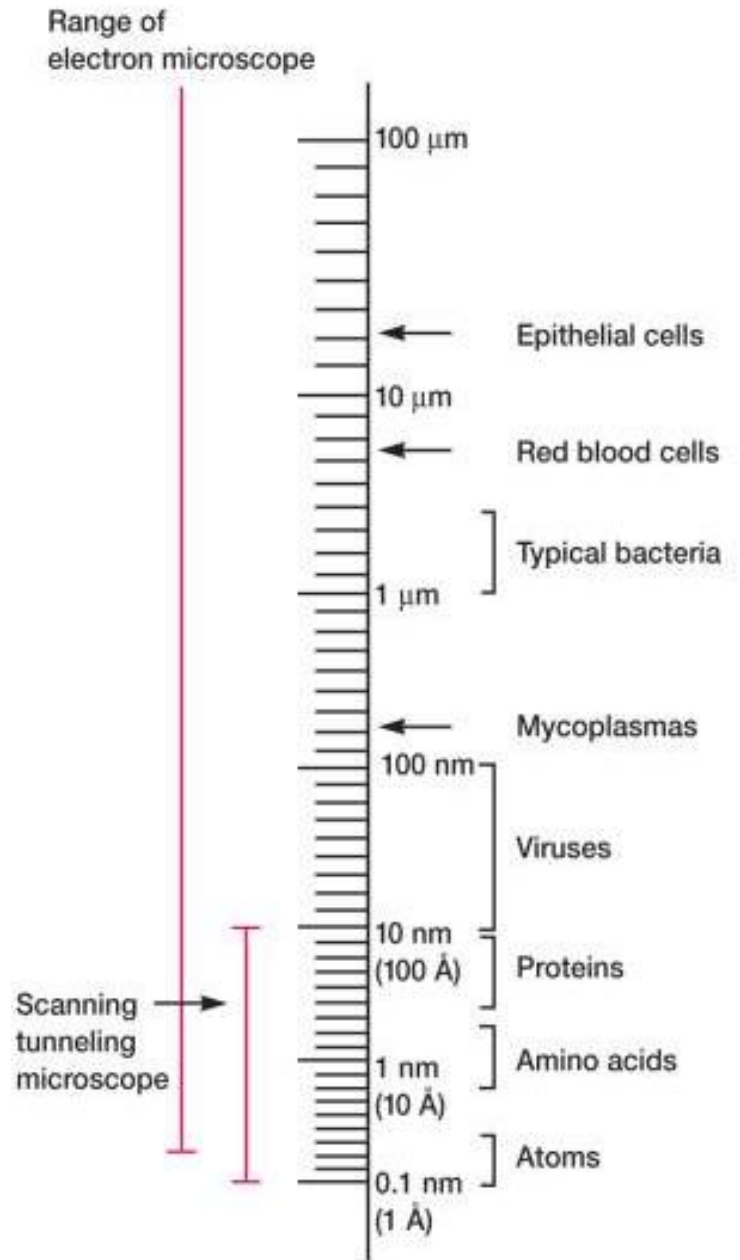
Giocattoli

Adatta per uso
nella scuola
(costo \geq €150)

Professionale

Consigli per scegliere:

http://www.cliped.it/come_scegliere_un_microscopio.htm



Limite dello spessore del campione: dobbiamo avere un campione sottile per permettere che la luce passi

Non possiamo semplicemente mettere un pezzo di legno o tessuto muscolare sotto il microscopio ottico e aspettarci di vedere le cellule. Questi campioni sono troppo spessi. La luce non può passare.

Strategie per superare questa limitazione di cui parleremo oggi:

1-Scegliere un campione sottile

2-Affettare

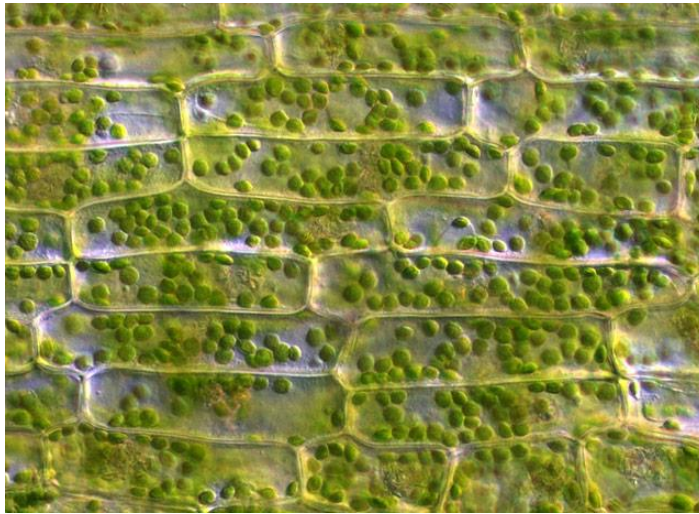
3-Strisciare

4-Schiacciare

5-Replicare

1-Scegliere un campione sottile

Per le piante si può utilizzare la pianta acquatica Elodea, che ha foglie composte da due soli strati di cellule. Queste piante sono disponibili presso i negozi di acquari a basso costo. Ci sono alcune esperimenti interessanti online da eseguire con queste piante.



2-Affettare



Troppo costoso



Alternative:



<http://www.leermiddelen.be/en/cylinder-microtome---mt5501>

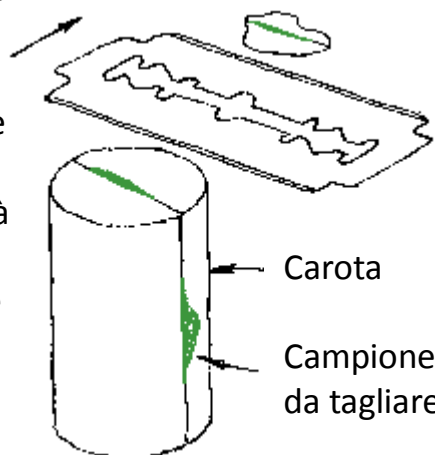
Cost €92.00

A seconda del campione, può essere possibile tagliare sezioni che sono sufficientemente sottili usando una lama di rasoio tenuta in mano (quindi senza comprare un microtomo). Per esempio carote, patate e gambo di girasole di 4-6 settimane sono facili, grazie alla loro consistenza.

Possiamo utilizzare la carota per tagliare altro materiale, ad esempio foglie, facendo prima un taglio verticale a metà di un pezzo di carota, e inserendo un pezzo di foglia nel taglio. La carota tiene con fermezza il campione per il taglio preciso.

Costo: quasi gratis

Raccogliere le sezioni sempre in acqua per evitare che si asciughino.

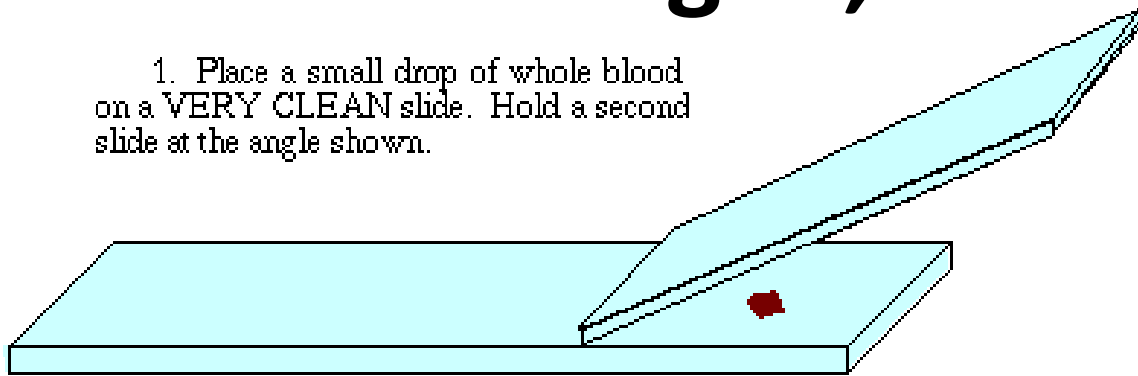


<http://www.leermiddelen.be/en/small-microtome-in-plastic>

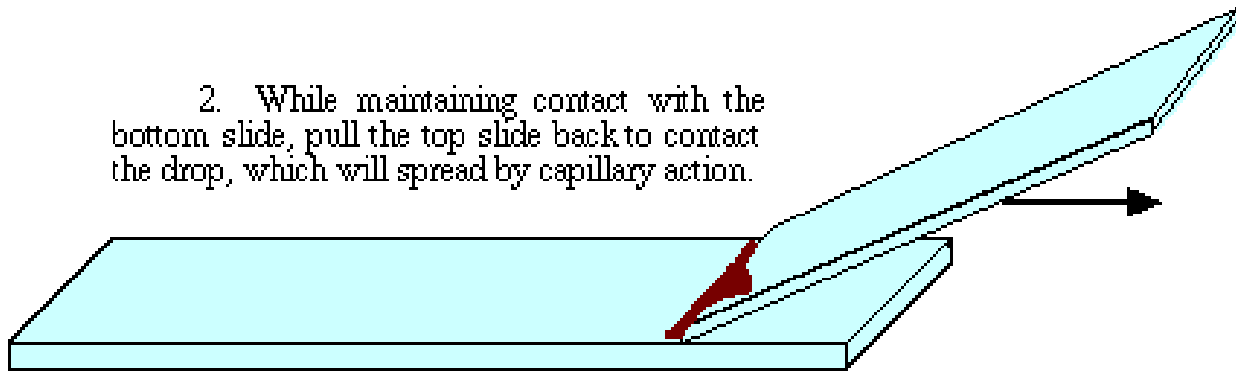
Cost: €5.70

3-Strisciare - sangue, saliva, ecc.

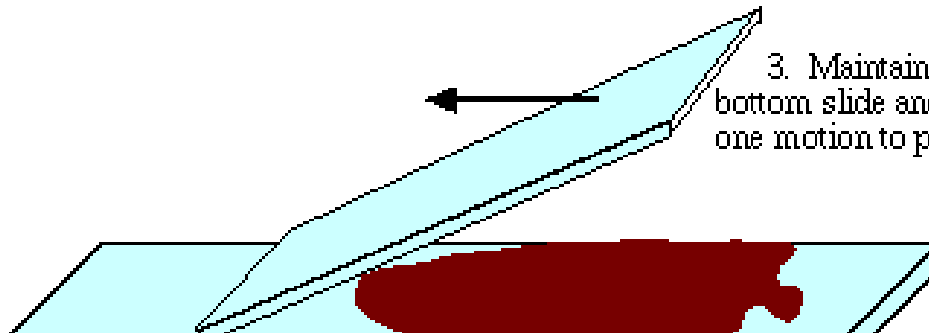
1. Place a small drop of whole blood on a VERY CLEAN slide. Hold a second slide at the angle shown.



2. While maintaining contact with the bottom slide, pull the top slide back to contact the drop, which will spread by capillary action.



3. Maintain firm contact with the bottom slide and push the top slide in one motion to produce the smear.



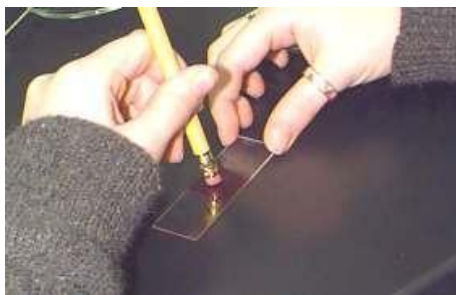
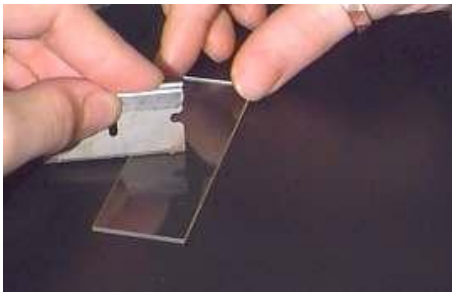
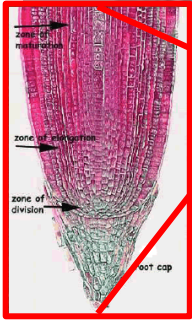
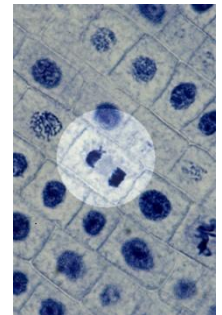
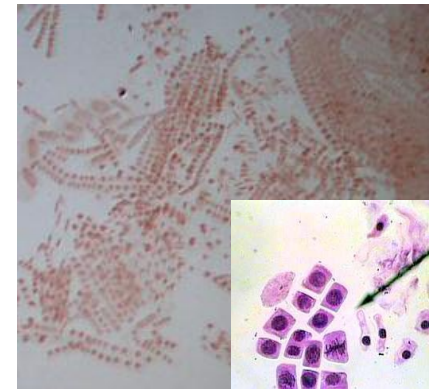
4- Schiacciare

Per vedere la mitosi nel l'apice radicale di cipolla.

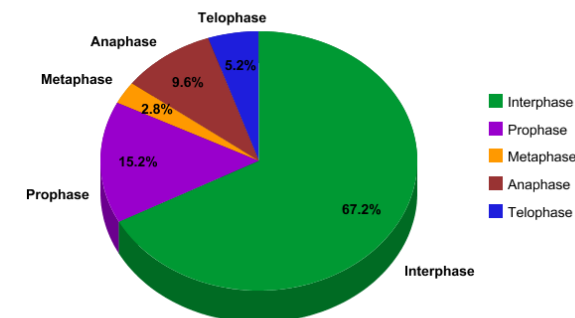
- Far germogliare le radici per 2 o 3 giorni.
- raccogliere 4 mm terminali di nuove radici
- posizionare in acido cloridrico 1N a 60 ° C per 15 minuti
- lavare in acqua fredda
- rimuovere ed eliminare il tappo radice (primi 0,5-1,0 mm della punta)
- tagliare delicatamente la radice in lunghezza e diffondere materiale sul vetrino
- colorante per il DNA (ematossilina o blu di toluidina) ;attendere 10 minuti
- applicare vetrino coprioggetto
- premere verso il basso con una forza consistente per “**schiacciare**” (appiattire) le cellule e diffondere i cromosomi. Il vetrino non deve muoversi lateralmente.

Questa tecnica è delicato e richiede pratica per avere successo. (Intesa come una sfida !!)

Si possono trovare buone risorse on-line per individuare le fasi della mitosi, contando quante cellule sono in ogni fase e calcolando l'indice mitotico



	Number of Cells				Percent of Total Cells Counted	Time in Each Stage
	Field 1	Field 2	Field 3	Total		
Interphase	52	54	62	168	67.2%	16.128 hrs.
Prophase	6	9	23	38	15.2%	3.648 hrs.
Metaphase	2	4	1	7	2.8%	0.672 hrs.
Anaphase	11	11	2	24	9.6%	2.304 hrs.
Telophase	4	6	3	13	5.2%	1.248 hrs.
Total Cells Counted				250	100%	1 Day

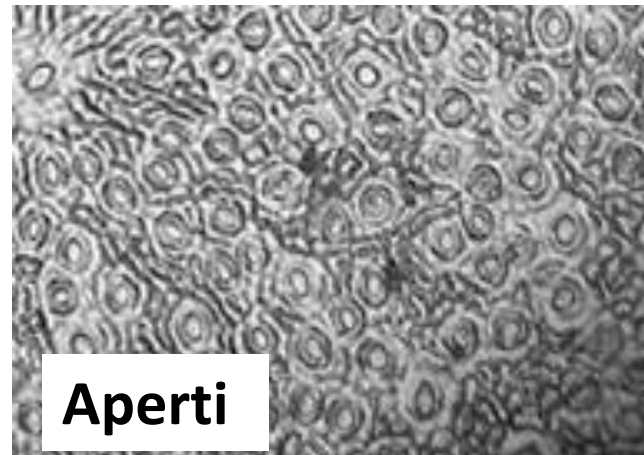
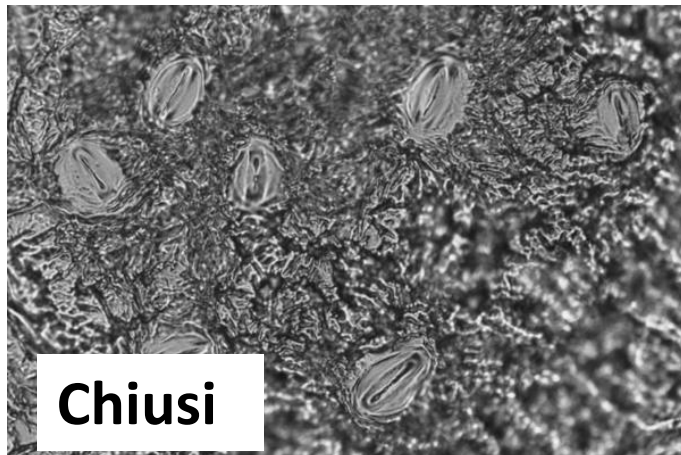


5-Replicare



Si può facilmente fare una replica accurata della superficie, per esempio, di una foglia, mediante l'applicazione di uno strato di smalto trasparente sulla foglia e rimuovendo la pellicola con attenzione dopo che si è asciugato. Per facilitare la rimozione precisa si può applicare prima un pezzo di nastro adesivo adiacente alla zona di interesse. Quindi applicare lo smalto sia sull'area di interesse che sul nastro. Lasciando una piega del nastro, è possibile rimuovere facilmente il nastro e con essa, la replica. Osservare al microscopio ottico per vedere gli stomi.

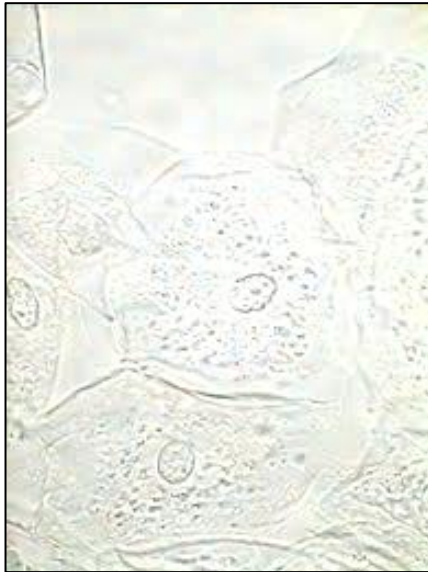
Alcuni esperimenti potrebbero prevedere il confronto della superficie superiore ed inferiore della foglia, il confronto di foglie di piante in un ambiente arido non innaffiato e dello stesso tipo di pianta conservata in un sacchetto di plastica (cioè 100% di umidità); o il confronto di piante grasse (pochi stomi) con foglie di piante erbacee (molti stomi sul lato inferiore)



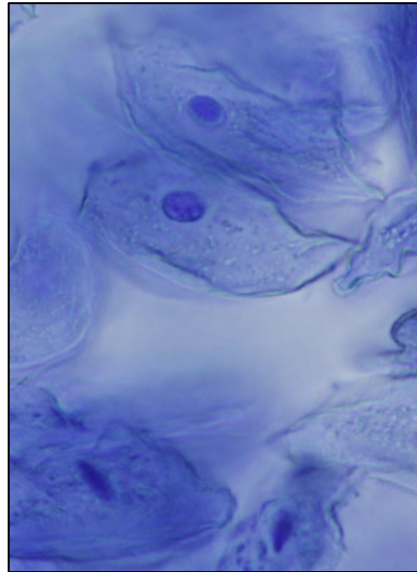
Colorazione

Poiché le cellule sono per lo più composte di acqua, a meno che non si tratti di globuli rossi o tessuto vegetale fotosintetico, sono spesso difficili da vedere al microscopio a causa della mancanza di contrasto. Esistono vari sistemi che aumentano il contrasto lavorando con la fisica della luce e interferometria ma sono molto costosi. Possiamo approfittare di coloranti che colorano differenzialmente vari componenti cellulari.

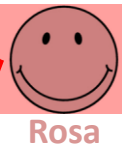
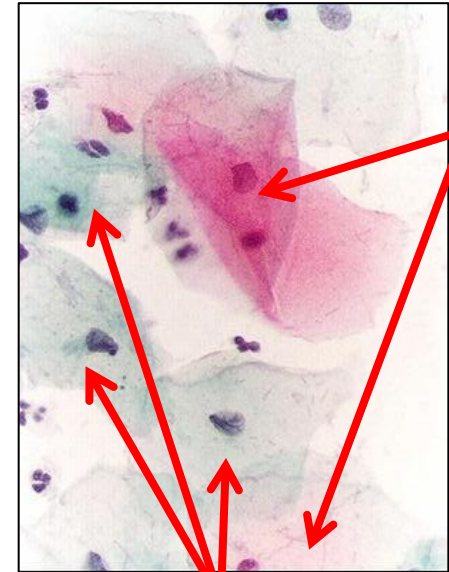
Senza colorante



Blu di metilene



colorazione vitale



La colorazione fornisce contrasto, ma anche informazioni sul campione:

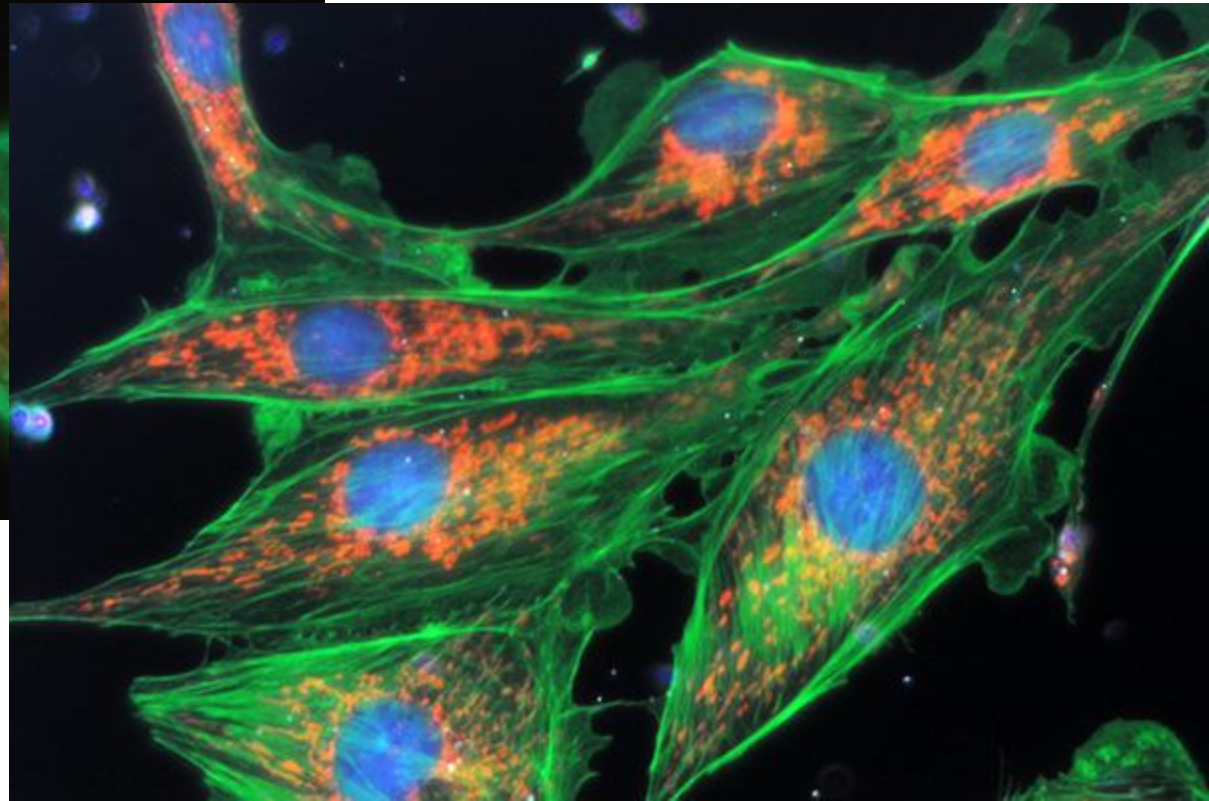
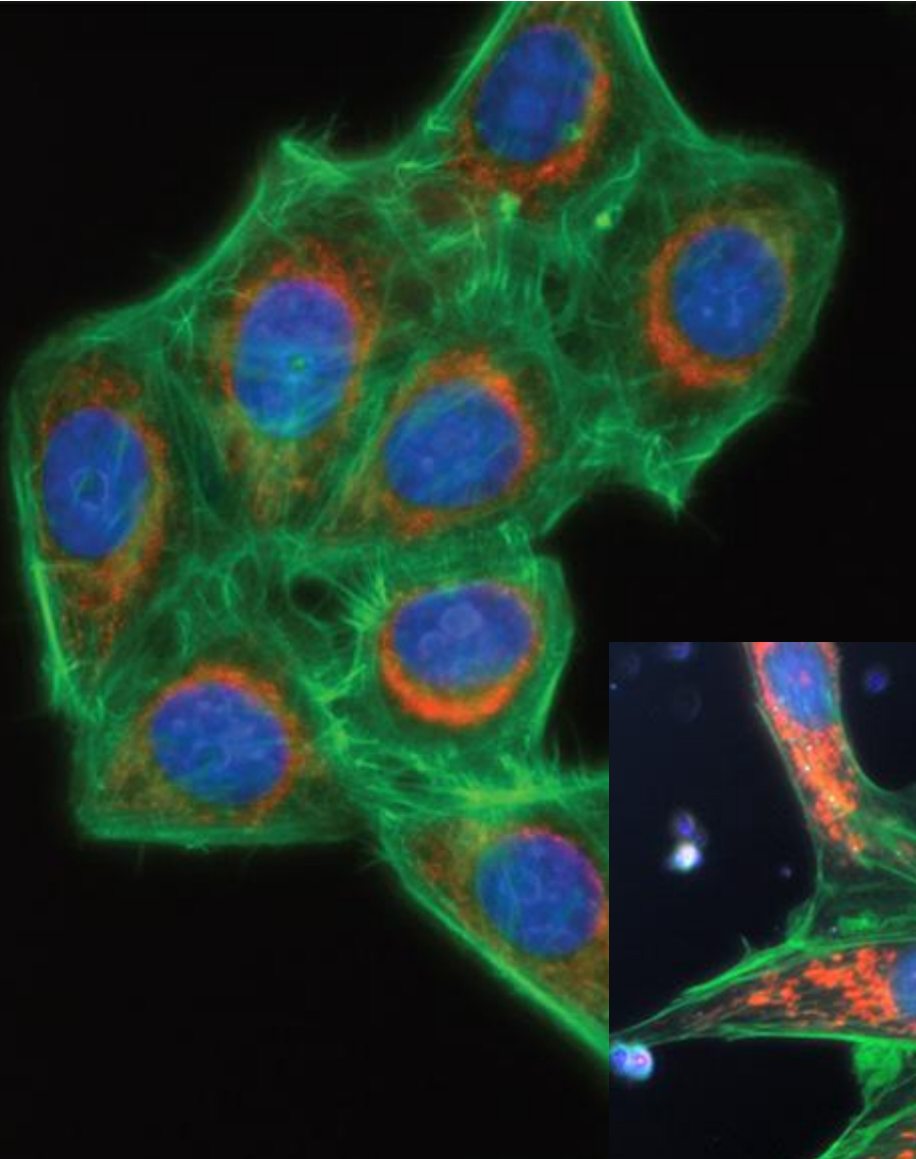
può rilevare presenza di:

- Amido
- Proteine
- Lipidi
- Acidi nucleici

anche la vitalità (**vivo** o **morto**) di una cellula usando i coloranti "vitali".

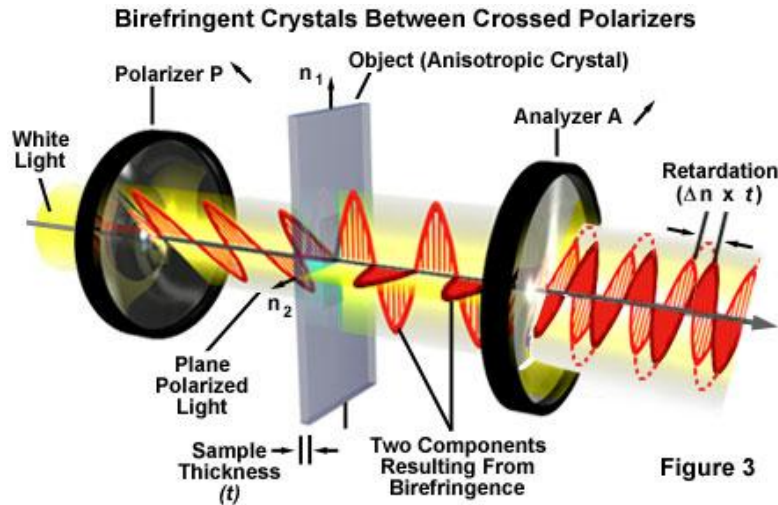
Colorazione

La colorazione fluorescente è in grado di fornire una ricchezza di informazioni e, allo stesso tempo, produrre belle immagini che sono sorprendenti... ma richiede reagenti e strumenti costosi.

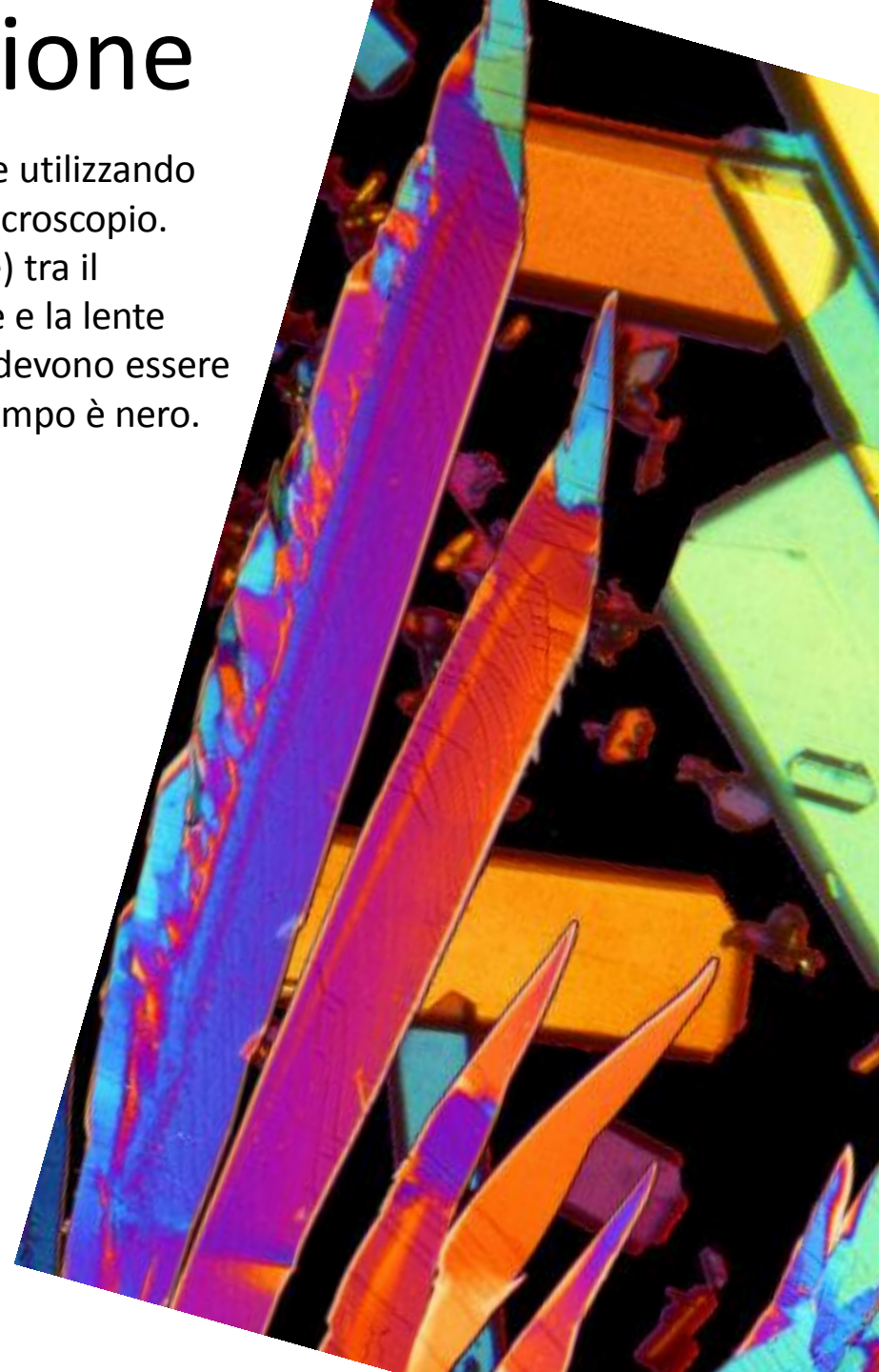


Polarizzazione

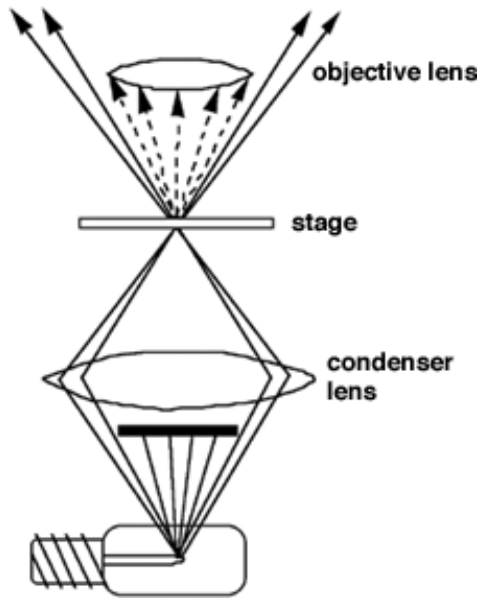
Possiamo produrre immagini straordinariamente belle utilizzando cristalli birfrangenti e alcune semplici modifiche al microscopio. Basta posizionare un filtro polarizzatore (lente da sole) tra il condensatore e il campione, e un altro tra il campione e la lente obiettivo del microscopio. Questi 2 filtri polarizzatori devono essere ruotati di 90° tra loro. In assenza di birifrangenza, il campo è nero. Quando è presente un cristallo birfrangente, viene prodotta un'immagine molto colorata.



In classe, abbiamo usato un vecchio paio di lenti da sole polarizzate e una soluzione satura di urea (concime acquistato presso il consorzio per € 2). Abbiamo spalmato una goccia di soluzione di urea su un vetrino e lasciata evaporare l'acqua, favorendo la formazione di cristalli in 5-10 minuti.



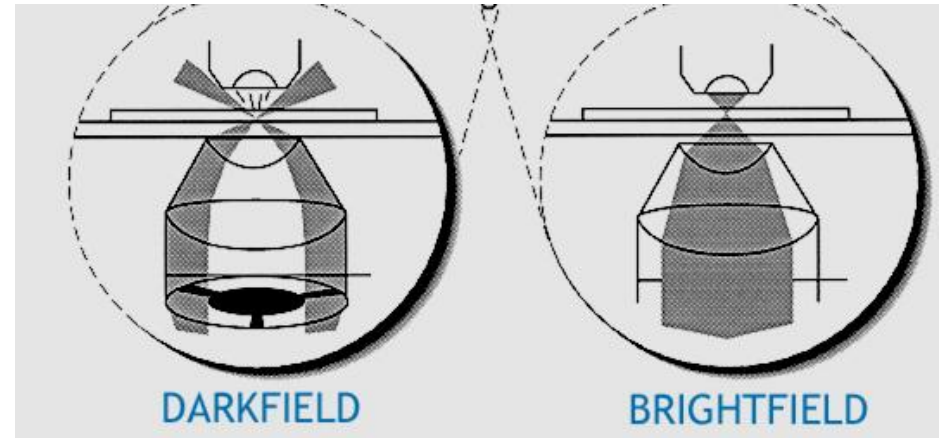
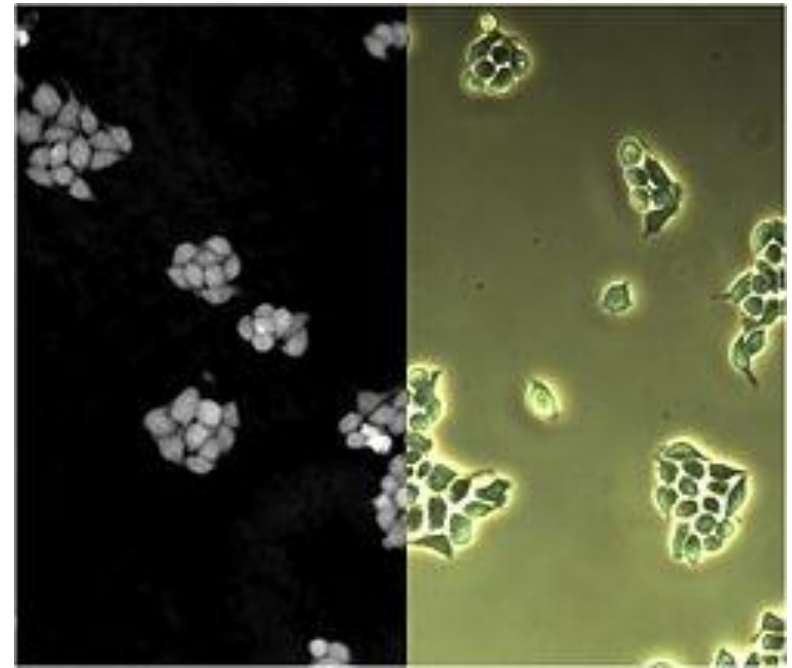
Dark Field



A volte vogliamo osservare creature vive al microscopio, senza colorarle (ucciderle). In questo caso, possiamo usare una tecnica nota come microscopia a campo scuro. L'applicando una semplice modifica al microscopio, possiamo vedere parameci, amebe e una miriade di altre creature, senza far loro del male. Ci sono molte istruzioni online per fare questa semplice modifica al microscopio a costo zero e alla portata di tutti.

Dark field

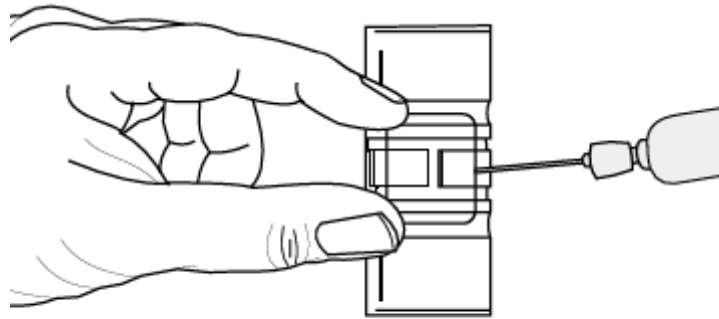
Bright field



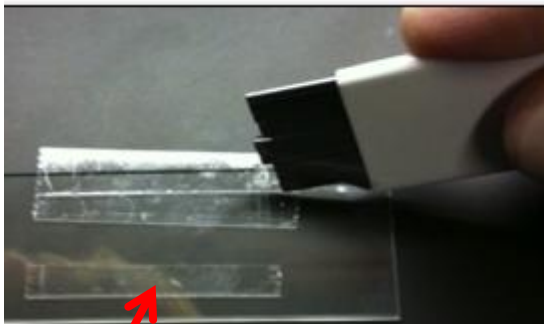
Camera di conta



Costoso



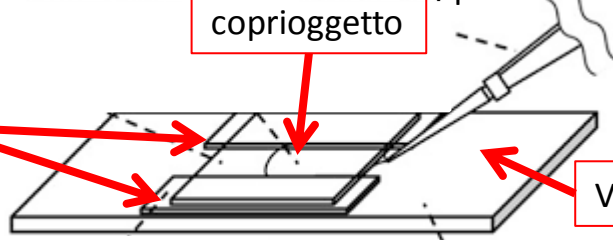
Fai da te



nastro biadesivo per fare spessore, anche più strati se necessario

coprioggetto

Vetrino



Possiamo costruire una semplice camera di conta con nastro adesivo e un rasoio: applichiamo diversi strati di nastro biadesivo ad un vetrino da microscopio, e quindi tagliamo il nastro nel centro per formare un pozzetto.

Mettiamo un copri vetrino sul pozzetto per formare una camera con una profondità uniforme. La nostra camera non avrà un volume definito assoluto o una griglia di conteggio come la camera professionale, ma possiamo delimitare lo spazio per contare in termini di campi ottici. Non conosciamo il volume preciso all'interno della nostra camera, ma questo non è importante se stiamo facendo misure relative nell'ambito di un esperimento. Appliciamo il campione con un pipetta.

Se avete domande, scrivetemi a: vernellmail@gmail.com