
Laboratoř elektronové mikroskopie

Rok pořízení	2016 - 2021
Financování	OP VVV <u>CORE FACILITIES</u> CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_017/0002515
Zodpovědná osoba	prof. MUDr. Jaroslav Mokřý, Ph.D.

V medicíně je světelná mikroskopie jednoznačně nejčastější metodou zobrazování a studia mikrostruktury zkoumaných objektů; především tkání a buněčných kultur, ale i neživých objektů, např. implantátů. Rozlišovací schopnost světelné mikroskopie, tj. schopnost rozlišit a zobrazit nejmenší objekty, je však omezena vlnovou délkou viditelného světla – fotonů. Běžná světelná mikroskopie tak neumožňuje odlišit dva body bližší než cca 250 nm. V posledních letech se však podařilo zvýšit rozlišovací schopnost optické mikroskopie pomocí metod superrozlišovací mikroskopie, která v nejlepších případech dokáže odlišit dva body bližší než cca 60 nm. Avšak na pozorování buněčné ultrastruktury, ultrastruktury materiálů (např. lomové plochy prasklých implantátů) atp. je to stále málo. Právě proto se využívají i jiné zobrazovací metody, a to především elektronová mikroskopie.

Elektronový mikroskop je obdoba světelného mikroskopu, ve kterém jsou fotony nahrazeny elektrony a skleněné čočky elektromagnetickými čočkami. Elektromagnetická čočka je v podstatě cívka, která vytváří vhodně tvarované magnetické pole. Rozlišovací schopnost elektronových mikroskopů se pohybuje u skenovacích elektronových mikroskopů řádově v jednotkách nanometrů a u transmisních elektronových mikroskopů v desetinách nanometrů, ale může být i lepší.

TEM

Transmisní elektronový mikroskop zobrazuje ultrastruktury vzorku pomocí svazku prošlých elektronů. Náš transmisní elektronový mikroskop **JEOL JEM-1400+**, který byl do projektu vložen jako věcný příspěvek, pracuje s urychlovacími napětími 40 – 120 kV. Je tak vhodný především pro pozorování biologických vzorků (typicky při urychlovacích napětích 80 – 120 kV), ultrastruktury nanomateriálů (kvantové tečky, nano grafen, nano partikule TiO₂ atp.) a tenkých materiálových vzorků, jejichž tloušťka je maximálně desítky nm. Ke generování elektronového svazku využívá mikroskop katodu LaB₆, která v porovnání s klasickou wolframovou katodou dosahuje vyšší intenzity svazku a rovnoměrnějšího ozáření vzorku. Maximální garantované rozlišení mikroskopu je 0,38 nm v případě bodového obrazu a 0,2 nm u mřížkového obrazu. Mikroskop umožňuje pozorování klasických vzorků na standardních mřížkách 3 mm. Je také **vybaven držákem a speciální evakuační stanicí** pro uchovávání a pozorování kryogenicky zmrazených vzorků. Dále umožňuje analýzu vzorků pomocí difrakce a systému EDS.



Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS, EDX, EDXS nebo XEDS); někdy také nazývána energy dispersive X-ray analysis (EDXA nebo EDAX) nebo energy dispersive X-ray microanalysis (EDXMA); je analytická metoda pro prvkovou nebo chemickou analýzu vzorků, která zjišťuje složení zkoumaného vzorku, a to pomocí analýzy charakteristického záření, které vzniká interakcí vzorku s dopadajícími elektrony. Náš mikroskop JEOL JEM-1400+ je vybaven EDS systémem firmy JEOL s SSD (Silicon Drift Detector), detektorem s aktivní plochou 30 mm², rozlišením 129 eV a speciálním beryliovým držákem.

Pro pozorování v transmisním elektronovém mikroskopu je potřeba připravit velmi tenké vzorky o tloušťce kolem 100 nm, aby je elektrony byly schopné prozářit a vytvořit dostatečně jasný obraz. K tomu se používá zařízení na krájení vzorků, tzv. ultra mikrotom. V našich laboratořích jsme schopni připravit a pomocí transmisního elektronového mikroskopu JEOL JEM-1400+ pozorovat nejen klasické ultratenké řezy se standardní fixací, kontrastováním a řezy pro imuno-detekci, ale také speciální vzorky zpracované velmi šetrnou metodou – kryogenickým zmrazením pro zachování maxima buněčné ultrastruktury a pro speciální imuno-detekční techniky. Přípravu takových vzorků provádíme pomocí kryo ultra mikrotomu **PowerTome PCZ** firmy **RMC Boeckeler s kryostanici** pro krájení hluboce zmrazených vzorků. PowerTome PCZ je schopen automatického krájení vzorků o volitelné tloušťce (0 nm – 15 nm) rychlostmi 0,1 – 100 mm/s. Díky tomu lze krájet vzorky speciálně připravené v pryskyřicích nebo zmrazené, a to za pomoci skleněných nebo diamantových nožů. Velikost (rozměry) vzorků je přibližně jako léková kapsle (do 8 mm).

SEM

Skenovací (či také rastrovací nebo řádkovací) **elektronový mikroskop** je další zobrazovací zařízení pro pozorování ultrastruktury povrchů zkoumaných vzorků. Pro zobrazování se používá úzký svazek elektronů, který postupně skenuje povrch materiálu a z každého místa provádí analýzu signálů pomocí sady detektorů. Náš skenovací elektronový mikroskop **JSM-IT500HR/LA** firmy **JEOL** je vybaven detektory sekundárních elektronů (**SED**), detektory zpětně odražených elektronů (**BED**) pro vysoké i nízké vakuum a EDS detektorem s SDD čipem, aktivní plochou 30 mm² a rozlišením 129 eV s detekcí prvků od Be po Pu. Mikroskop umožňuje pozorování vzorků ve vysokém i v nízkém (min. do 150 Pa) vakuu. Dosahuje rozlišení ?1,5 nm při urychlovacím napětí 15 kV ve vysokém vakuu (řádově 10⁻⁶ – 10⁻⁷ Pa) a ? 1,8 nm při urychlovacím napětí 15 kV při nízkém vakuu (do 150 Pa). Nízké vakuum se používá pro biologické vzorky s nenulovým obsahem vlhkosti.

Autor textu: doc. RNDr. Aleš Bezrouk, Ph.D.