

การขอใช้บริการ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope: TEM)

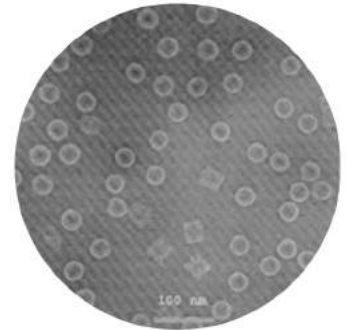
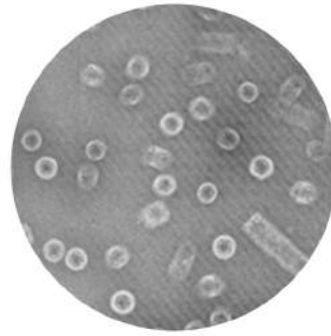
- **ผู้ขอใช้บริการติดต่อเจ้าหน้าที่**
เพื่อให้ข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบ
 - : **ระบุรายละเอียดของตัวอย่างให้ชัดเจน**
ความต้องการในการศึกษาลักษณะในระดับอนุภาคหรือโครงสร้างภายในเซลล์
(ผู้ให้บริการควรแนบเอกสารอ้างอิงมาเกี่ยวกับการศึกษาเฉพาะตัวอย่างนั้นๆ หรือใกล้เคียง)
 - : **ระบุความอันตรายของตัวอย่างที่ทำการศึกษาด้วย**
เพื่อความปลอดภัยของเจ้าหน้าที่และเครื่องมือ
- **นัดวันและเวลา** เพื่อขอรับบริการและวันส่งตัวอย่าง
- **กรอกแบบขอใช้บริการ วจบ.1**
- **นำส่งตัวอย่าง** โดยตัวอย่างต้องพร้อมสำหรับการนำเข้ากล้องเพื่อบันทึกภาพ
(อยู่บนตาข่ายรองรับตัวอย่าง หรือ grid พร้อมย้อมตัวอย่างมาแล้ว)
- **ใช้บริการกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน**
พร้อมนำแผ่นซีดีมา เพื่อบันทึกข้อมูล



แนะนำการย้อมพื้นหลังตัวอย่าง (Negative Staining) เพื่อบันทึกภาพด้วย TEM

ในงานทางจุลทรรศน์ศาสตร์ การย้อมพื้นหลังตัวอย่าง (Negative Staining) เป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับและใช้ในงานวิจัยทางจุลทรรศน์วิทยา โดยการเพิ่มความเปรียบต่างของตัวอย่างบางตัวอย่างด้วยของเหลวที่มีคุณสมบัติทึบแสง เทคนิคนี้พื้นหลังของตัวอย่างจะถูกย้อม ในขณะที่ชิ้นตัวอย่างไม่ถูกย้อมเลย สารที่นิยมใช้ในการย้อมแบบนี้ได้แก่ สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต, สารละลายยูรานิลอะซิเตต, สารละลายยูรานิลฟอสมัท, สารละลายกรดฟอสฟอรัส, สารละลายออสเมียมเตตระออกไซด์, สารละลายออสเมียมเฟอริกไซยาไนด์ และสารละลายออโรลูโคไทโอเนต เนื่องจากสารเหล่านี้ถูกดูดซับโดยสารทางชีวภาพได้เป็นอย่างดี ในขณะที่ทำให้ลำแสงอิเล็กตรอนเกิดการกระเจิงออก โครงสร้างหรืออนุภาคหรือสิ่งที่ต้องการศึกษาด้วยเทคนิคนี้ มักจะมีขนาดเล็กเกินกว่าที่จะส่องดูได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ดังนั้นเทคนิคการย้อมพื้นหลังตัวอย่างจึงใช้กันอย่างแพร่หลายในการแยกดูไวรัส, โมเลกุลโปรตีน, โมเลกุลสารขนาดใหญ่ที่รวมตัวกัน (macromolecule assemblies) เส้นใยไฟบริล (fibrils), ส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ที่อยู่ในเซลล์ (subcellular membrane fraction), ลิโปโซม (liposomes) และ เยื่อหุ้มเซลล์สังเคราะห์ (artificial membranes), พันธุกรรมดีเอ็นเอสังเคราะห์ (synthetic DNA array) รวมถึงสารละลายโพลิเมอร์ (polymers solution) ซึ่งที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ล้วนเป็นสารที่มีความสามารถในการทำให้อนุภาคอิเล็กตรอนกระเจิงออกได้น้อยมาก และใช้ในการประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของสาร (homogeneity), การกระจายตัว, ขนาด, รูปร่างและปริมาณ สำหรับขั้นตอนการย้อมด้วยวิธีนี้กล่าวโดยสังเขปได้ดังนี้ ตัวอย่างที่ต้องการศึกษาจะถูกดูดซับไว้บน Substrate (โดยทั่วไปที่นิยมใช้ คือ formvar carbon coated grid)

จากนั้นนำไปลอยบนหยดสีที่ต้องการย้อม ตามด้วยการล้างหยดสีออก และปล่อยให้แห้งในอากาศ (air dry) หรือปล่อยให้แห้งในโถดูดความชื้น จากนั้นนำเข้ากล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องผ่าน เพื่อทำให้ศึกษาและบันทึกภาพได้เลย จะเห็นได้ว่าการย้อมตัวอย่างด้วยวิธีนี้ มีสะดวก รวดเร็ว ใช้เวลาน้อยและดูตัวอย่างได้ทันทีโดยไม่ต้องผ่านกรรมวิธีที่ซับซ้อน



ภาพแสดงฮีโมไซยานินที่ผ่านย้อมพื้นหลังตัวอย่างด้วยสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้นร้อยละ 5 ผสมกับทริฮาโลส ความเข้มข้นร้อยละ 1 บนแผ่นฟิล์มคาร์บอน

ที่มา: (Kuo J. (2014). Electron Microscopy: Methods and Protocols 2nd ed. Humana press. Springer Science Business Media, New York. 799 pp.)

คุณอนุชา ซาเจริญ
นักวิทยาศาสตร์ ศูนย์บริการวิเคราะห์โครงสร้างจุลภาค สำนักงานการวิจัย