مقدمه:

اندازه گیری ابعاد سلول

اندازه هر سلول در یک بافت مشخص نه تنها در پیکر موجودات مختلف بلکه در پیکر یک موجود نیز ممکن است متفاوت باشد. پس دانستن اندازه یک سلول در بافت های مختلف به تشخیص سلول و محل آن در بافت مخصوص، هم چنین در تشخیص حالات غیرعادی(بزرگ و یا کوچک شدن سلول و یا توقف رشد سلول) که ممکن است برای سلول اتفاق بیفتد کمک می نماید. از این امر می توان پی به وجود بیماری در نمونه برد. از روش اندازه گیری ابعاد جهت اندازه گیری و شناسایی برخی اندامک ها مانند میتوکندری، هسته و پلاستها نیز استفاده می گردد.

در میکروسکوپ نوری برای اندازه گیری ابعاد سلول از میکرومتر چشمی یا اکولر مدرج (Eye Piece Micrometer) و میکرومتر صفحه ای یا لام مدرج (Stage Micrometer) استفاده می شود.

اکولر مدرج: رایج ترین روش اندازه گیری ابعاد در میکروسکوپ نوری استفاده از اکولر مدرج است. این اکولر نوعی عدسی چشمی است که جایگزین عدسی چشمی در میکروسکوپ می شود. این عدسی دارای خطی است که به صد قسمت مساوی تقسیم شده است و خطوط تقسیم آن شماره گذاری شده است، اما واحد مشخص و ثابتی ندارد. بنابراین از لام مدرج استفاده می شود.

لام مدرج: لامی همانند لام های معمولی است که در میان آن دایره سیاه رنگی دیده می شود که برای دسترسی آسان به خط مدرج میانی لام روی آن قرار دارد. در داخل دایره خطی به طول یک میلی متر وجود دارد که به صد قسمت مساوی تقسیم شده است اما بدون شماره گذاری است. پس کوچکترین تقسیم بندی در این لام برابر 01/0 میلی متر یا 10 میکرون است. دقت شود که هرگز مواد پاک کننده مانند گزیلن روی این خط کشیده نشود زیرا باعث پاک شدن آن می شود. می توان به جای لام مدرج از لام هموسیتومتر نیز استفاده نمود.

 اندازه گیری ابعاد سلول ها,اجزا و اندامکهای کوچک با استفاده از میکروسکوپ نوری یکی از راههای تشخیص گونه ها ی مختلف موجودات زنده است. رایجترین روش اندازه گیری ابعاد سلول در میکروسکوپ نوری استفاده از عدسی چشمی خاصی به نام میکرومترچشمی(اکولر مدرج) است.در روی عدسی خطی وجوددارد که به تعدادی درجات مساوی تقسیم شده است(معمولا100 درجه) تقسیمات میکرومتر دارای مقیاس مشخص وثابتی نیست زیرا بزرگنمایی میکروسکوپ بابزرگنماییهای مختلف عدسی شیئی فرق میکند.پس قبل از به کاربردن میکرومتر باید مقیاس ودرجات آن را برای بزرگنمایی های مختلف بدست آورد.به این منظور از میکرومتردیگری موسوم به لام مدرج میکرومتری یا میکرومتر صفحه ای استفاده می شود.این میکرومتر از یک لام شیشه ای که در بخش میانی آن با دایره سیاهرنگ مشخص شده یک فاصله میلیمتری به 100 قسمت مساوی تقسیم شده که کوچکترین تقسیم بندی این میکرومتر برابر0.01میلی متر یا10 میکرون است.

طرز تعیین مقیاس درجات میکرومتر چشمی:

عدسی چشمی میکرومترداررا در محل مستقرساخته ولام میکرومترداررا روی صفحه میکروسکوپ قرار دهید وبعدازپیداکردن بخش مدرج لام باکم کردن نور (بستن دیافراگم) تصویرراواضح کرده باحرکت دادن لام میکرومتردار روی صفحه یاچرخاندن عدسی چشمی درجات دومیکرومتررا برهم منطبق کرده به صورتی که صفردودرجه بندی وامتداد درجات روی هم باشد.طول تقسیمات دومیکرومتر باهم مساوی نیستند.در بزرگنمایی های کمتر عدسی شیئی تمام بخش مدرج لام بخشی از میکرومترچشمی را میپوشاند.دربزرگنماییهای بیشتر تمام تقسیمات اکولر مدرج روی بخشی از تقسیمات لام مدرج قرارگرفته وبدین ترتیب درهربزرگنمایی باشمردن تعدادی از تقسیمات اکولر مدرج که بر تقسیمات میکرومترصفحه منطبق است ونیز به همراه مقیاس تقسیمات لام مدرج مقیاس درجات اکولر مدرج برای بزرگنماییهای مختلف بدست میاید.پس از بدست آوردن مقیاس هربزرگنمایی لام میکرومتر را برداشته و اندازه گیری ها را با اکولر مدرج انجام میدهیم.

برای اندازه گیری ابعادسلول با تعدادی از سلولها درزیرمیکروسکوپ سروکارداریم که از نظر اندازه کمی باهم متفاوت اند برای اندازه گیری دقیق باید میانگینی از اندازه چند سلول بدست آورد.تعداد نمونه برای تعیین میانگین صحیح مشخص نیست وبستگی به نوع نمونه ودرجه تغییرپذیری آن دارد.هرچه تفاوت اندازه ها بیشترباشد تعدادنمونه های لازم برای گرفتن میانگین افزایش میابد.برای بدست آوردن حداقل تعدادنمونه لازم برای گرفتن میانگین بایدابتدا میانگین ابعاددونمونه رابطورتصادفی بگیریم و همین کاررابرای 4یا5 نمونه انجام دهیم سپس نتایج را روی نمودار رسم کرد بصورتی که محورعمودی میانگین ومحورافقی تعداد نمونه لازم راقرارمیدهیم.نمودارابتدا شکسته وخمیده ونامنظم است ولی بتدریج تعدادنمونه بیشترمیشود منحنی به صورت خط راست ومستقیم موازی محورافقی بوجودمیاید.اگر ازمحل تشکیل منحنی مستقیم بر محور افقی خطی رسم کنیم حداقل تعداد نمونه لازم برای تعیین میانگین بدست میاید.هرچه تعدادنمونه بیشتر وتصادفی ترانتخاب شونددقت اندازه گیری بیشتراست .

طول سلول(میکرون) = عدد کالیبره عدسی موردنظر × تعداد درجات پوشش دهنده طول سلول

به دلیل اینکه در اندازه گیری با جمعیتی از سلول ها از نظر اندازه روبرو هستیم، بنابراین طول 10 سلول را به طور تصادفی اندازه گیری کرده و با کمک دو فرمول زیر میانگین و انحراف معیار اندازه گیری را بدست می آوریم.

سپس طول واقعی سلول و انحراف معیار واقعی سلول را از روابط زیر محاسبه کنید:

طول واقعی سلول(میکرون) = عدد کالیبره عدسی موردنظر × عدد میانگین طول سلول

انحراف معیار واقعی سلول(میکرون) = عدد کالیبره عدسی موردنظر × عدد انحراف معیار

 اندازه گیری سطح میدان دیدمیکروسکوپ:

یکی ازکاربردهای لام مدرج اندازه گیری سطح میدان دید میکروسکوپ دربزرگنماییهای مختلف است که با تعیین قطردایره میدان دید(تعداددرجات میکرومتر لام منطبق برقطردایره دید)در هربزرگنمایی بدست می آید. یکی ازمواردی که از سطح میدان دیداستفاده میکنیم تعیین تعداد یافراوانی ساختارویژه ای درواحد سطح نمونه میکروسکوپی است.به این منظور,پس ازمحاسبه سطح میدان دید تعدادساختارمورد نظررادر میدان دید میکروسکوپ میشمارند سپس باتناسب تعدادواحدسطح نمونه برحسب نوع واحدسطحی که موردنظراست بدست میاورند.

موادوابزار:

میکروسکوپ، میکرومترocular(چشمی)، میکرومترstage(صفحه ای)، بشره پیاز

روش:

1.میکرومترچشمی راروی سکوی مدور درون عدسی چشمی قراردادیم به طوری که درجه بندی ها درداخل میکرومتر چشمی قابل مشاهده باشند.

2.میکرومتر صفحه ای راروی stageمیکروسکوپ قراردادیم و تمرکز کردیم روی درجه بندی ها با استفاده از قدرت لنز عدسی چشمی پایین

3.دو شاخص را برهم منطبق قراردادیم وثبت کردیم .عدد قسمت میکرومتر صفحه ای با چشمی برابرشدند.

4.میکرومتر صفحه ای راازstage برداشتیم ولام آماده رازیرمیکروسکوپ بابزرگنمایی پایین قراردادیم .سپس اندازه سلول را به دست آوردیم.

نتیجه وبحث:

ابتدا عدد کالیبره را حساب کردیم ؛5/2

2×10=20 میکرومتر

20/8=5/2میکرومتر

تعدادسلول×کالیبره=71×5/2=5/177 (طول سلول)

(عرض کم):5/2×21=5/52

(عرض زیاد):5/2×36=90

میانگین عرض ها:25/71

تعدادسلول :25/71×5/177=875/12646میکرومتر

646876/12میلی مترمربع

هسته سلول: