

СИСТЕМА ПІДГОТОВКИ CRYO-SEM ДЛЯ СКАНУЮЧОЇ МІКРОСКОПІЇ

Романенко С. Л.

Науковий керівник - канд. техн. наук, асистент Бородай І.І.

Харківський національний технічний університет сільського господарства
імені Петра Василенка

(61050, Харків, Різдяна, 19, каф. Інтегрованих електротехнологій та процесів,
тел. (057) 712-28-33), E-mail: irina.boroday@gmail.com

Скануючий електронний мікроскоп (SEM) став одним з фундаментальних інструментів, які використовуються при вивченні зовнішньої морфології і структури біологічних зразків. Останнім часом він став важливим інструментом у вивченні коннектоміки і клітинних взаємодій з досягненнями в методах послідовної блокової візуалізації, наприклад, з використанням фрезерування сфокусованим іонним пучком (FIB).

Cryo-SEM є одним з найбільш значних досягнень в візуалізації біологічних поверхонь в їхньому природному стані без будь-якої хімічної фіксації, яка заморожує або кріоімобілізує зразок і переводить його в охолоджену стадію перед візуалізацією.

Скануючий електронний мікроскоп стикається з неминучим фактом, що рідина є фундаментальною частиною практично всіх життєвих наук - і багатьох матеріалів - зразків. Оскільки вода займає до 90% деяких тканин тварин і рослин, вона являє собою найбільш серйозну проблему зразків для більшості мікроскопістів. Cryo-SEM - це швидкий, надійний і ефективний спосіб подолання цих несуттєвих проблем підготовки SEM. Крім того, метод широко використовується для спостереження «важких» зразків, таких як зразки з більшою чутливістю пучка і нестабільного характеру.

Важливо додати, що часто не беруть до уваги, можливість використовувати Cryo-SEM для вивчення динамічних процесів (промислових чи інших) з використанням серії зразків з тимчасовим дозволом. Незважаючи на те, що за допомогою цього методу можна підтримувати грубу морфологію, зразки можуть потенційно сублімувати в умовах високого вакууму, збільшуючи тим самим ризик зарядки. Це часто вимагає, щоб заморожені зразки були покриті напиленням або відображені в середовищі зі змінним тиском. У разі біологічних зразків це дало відмінне розуміння їх фізичної архітектури.

Зразок швидко охолоджується і переноситься під вакуумом у камеру SEM. Камера підготовки відкачується або за допомогою роторного насоса, або за допомогою спеціальної турбомолекулярної насосної системи. Зразок може бути зруйнований, сублімований («протравлений»), щоб показати велику деталізацію, та покритий металом шляхом розпилення або вуглецем шляхом термічного випаровування. На всіх етапах процедури зразок підтримується при «безпечній» температурі, звичайно нижче -140°C .