

Erilaiset valomikroskoopit ja niiden
hyödyntäminen opetuksessa

LuK-tutkielma
Turun yliopisto
Fysiikka
2025
Liina Mikkola
Tarkastaja:
FT Sari Granroth

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck-järjestelmällä

TURUN YLIOPISTO

Fysiikan laitos

Mikkola, Liina Erilaiset valomikroskoopit ja niiden hyödyntäminen opetuksessa

LuK-tutkielma, 17 s., 0 liites.

Fysiikka

huhtikuu 2026

Valomikroskopia on kuvantamismenetelmä, jolla saadaan näytteestä suurennettu kuva valoa hyödyntämällä. Tämän tutkielman tarkoituksena on antaa yleiskuva valomikroskopiasta ja esitellä yleisimmät valomikroskoppit. Lisäksi tutkielmassa perustellaan valomikroskoopin käytön hyödyllisyys fysiikan opetuksen tukena.

Tutkielmassa edetään valomikroskopian perusteista ja keskeisimmistä valomikroskoopin perusosista erilaisiin valomikroskooppeihin. Tavallisen valomikroskoopin lisäksi esitellään edistyneemmistä valomikroskoopeista fluoresenssimikroskooppi ja konfokaalimikroskooppi. Lopuksi pohditaan valomikroskoopin käytön hyödyntämistä optiikan opetuksen tukena, koska kokeellisuuden on havaittu olevan yhteydessä fysiikan osaamiseen.

Asiasanat: valomikroskopia, valo, polarisaatio, numeerinen aperttuuri, syvyysterävyys, fluoresenssi

Sisällys

Johdanto	1
1 Valomikroskopia	1
1.1 Valomikroskopian perusteet	1
1.2 Valomikroskoopin perusosat	2
2 Erilaiset valomikroskoopit ja niiden toimintaperiaatteet	5
2.1 Valomikroskooppi	5
2.2 Edistyneemmät valomikroskoopit	12
3 Valomikroskoopin käyttö fysiikan opetuksessa	15
4 Yhteenveto	15

Johdanto

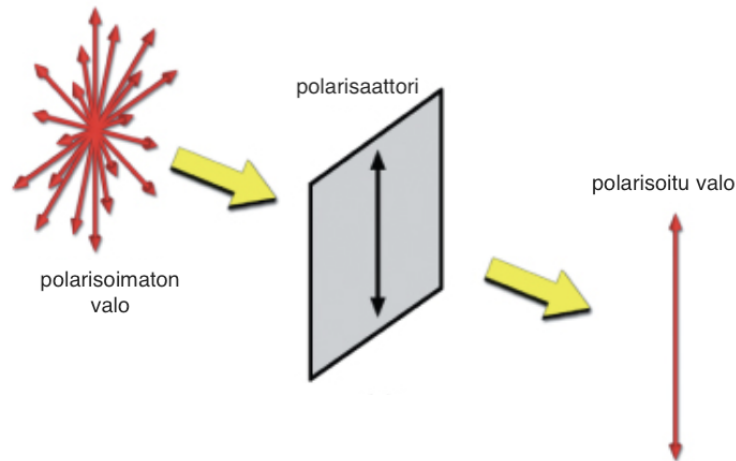
1 Valomikroskopia

Valomikroskooppi on laite, jolla valon ominaisuuksia ja ilmiöitä hyödyntämällä saadaan näytteestä suurennettu kuva [1]. Valon ja materiaalin tulee olla vuorovaikutuksessa keskenään, jotta kuvantaminen on mahdollista [2].

1.1 Valomikroskopian perusteet

Näytteestä saadaan tietoa valitsemalla sopiva kuvantamismenetelmä ja mikroskooppi. Valomikroskooppeja on erilaisia ja niihin on saatavilla erilaisia lisäosia riippuen halutusta tiedosta. Valomikroskopiassa käytetään näkyvää valoa, jonka aallonpituus on 400—700 nm eli se sisältää kaikkia värejä [3]. Tästä syystä mikroskoopin suorituskykyä rajoittaa aallonpituus [4]. Valomikroskoopin ulkopuolelta tuleva suora valo lamppuista tai auringosta voi haitata kuvantamista, jos se pääsee vaikuttamaan mikroskoopin eri osiin.[1]

Keskeisimmät valomikroskopiaan liittyvät fysiikan käsitteet ja ilmiöt ovat heijastuva valo, absorboituva valo, polarisaatio, vaihe-ero, diffraktio, numeerinen apertuuri, syvyysterävyys sekä valon ja materiaalin vuorovaikutus. Valo on aaltoliikettä, joka voi heijastua esimerkiksi näytteen pinnasta. Näytteen rakenne ja materiaali vaikuttavat heijastumiseen. Valo voi absorboitua aineeseen eli imeytyä siihen [5]. Käytännössä näkyvän valon tietyt aallonpituudet absorboituvat näytteeseen ja loput menevät näytteen läpi [5]. Täysin polarisoitunut valo värähtelee vain yhteen suuntaan, polarisaatiosuuntaan [3]. Valo voidaan polarisoida esimerkiksi polarisaattorin avulla [3]. Vaihe-erolla tarkoitetaan kahden aallon välillä olevaa saman vaiheen välistä matkaeroa. Diffraktio on ilmiö, jossa aalto taipuu kohdatessaan jonkin esteen. Syvyysterävyys kuvaa aluetta, joka erottuu suurennoksessa terävänä syvyys-suunnassa [1]. Tämän tarkennusetäisyyden ulkopuolelle jäävät alueet ovat kuvassa

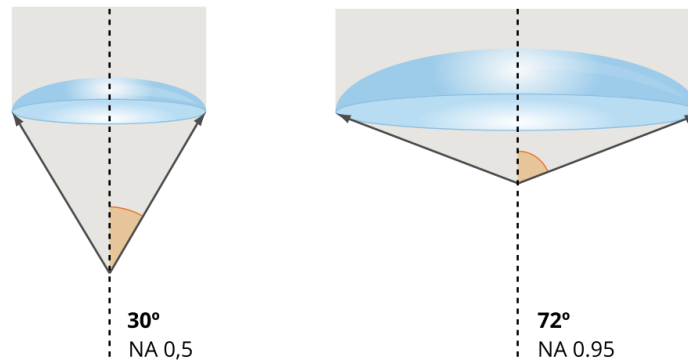


Kuva 1. Valo polarisoituu polarisaattorissa, joka päästää läpi vain tiettyyn suuntaan värähtelevää valoa. [6]

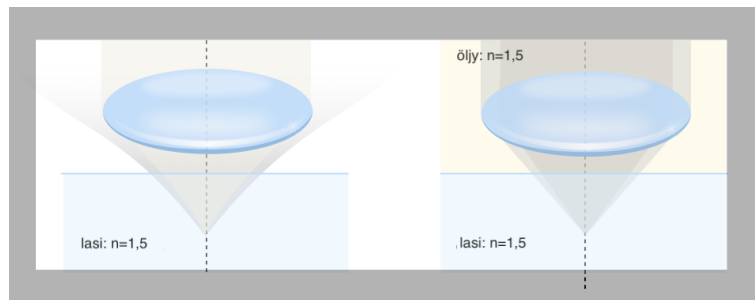
epätarkkoja. [2]

1.2 Valomikroskoopin perusosat

Numeerinen apertuuri (NA) ilmaisee valon vastaanottokulman objektiivissa. Kuvasta 2 nähdään, että suuremmalla vastaanottokulmalla NA on suurempi. NA määrittää objektiivin syvyyserävyuden, valonkeräystehon sekä erotuskyvyn.[7] Kuivaobjektiivissa objektiivin ja tarkasteltavan näytteen välissä on vain ilmaa. Kuivaobjektiivilla suurin saavutettava NA on 0,75. Parempi kuvanlaatu saadaan käyttämällä öljyimmissio-objektiivia, jolloin NA voi olla jopa 1,4. Tällöin objektiivin ja näytteen väliin on lisätty immersioöljyä, jolla on suurempi taitekerroin kuin ilmalla ja lähes sama taitekerroin kuin lasilla. Vesi-immersio-objektiivia käytetään tietynlaisien näytteiden kuvantamiseen, mutta sillä saavutettava kuvanlaatu on heikompi kuin öljyimmissio-objektiivilla saavutettava. Öljy- ja vesi-immersio-objektiiveissa valo ei taitu rajapinnassa niin paljon kuin linssin ja ilman rajapinnassa. Tällöin suurempi osa valonsäteistä pystytään hyödyntämään kuvantamisessa. Tätä havainnollistettu kuvassa 3. Suuri NA tarkoittaa suurempaa suurennosta, joten öljyimmissio-



Kuva 2. Numeerinen apertuuri kuvaa valon vastaanottokulman objektiivissa. Vastaanottokulma on objektiivin keskinormaalien ja reunan välinen kulma. [4]



Kuva 3. Vasemmalla kuivaobjektiivi, jossa linssin ja ilman rajapinnassa valo taittuu enemmän. Osa valonsäteistä taittuu pois objektiivista. Oikealla öljyimmersioobjektiivi, jossa valo ei taitu rajapinnassa niin paljon ja suurempi osa valonsäteistä saapuu objektiiviin. [4]

objektiivilla saadaan suurempi suurennos.[4]

Objektiivi koostuu linseistä, joilla näytteestä tuleva valo kerätään ja näytteestä saadaan tarkennettu suurennos. Objektiivi valitaan näytteestä haluttavien tietojen perusteella, koska objektiiveja on pienestä suurennoksesta suuriin suurennoksiin. Näytteestä voidaan haluta esimerkiksi suuremman rakenteen yleiskuva tai pieni yksityiskohta solun sisältä. Objektiivin tiedot löytyvät aina objektiivista.[4]

Okulaari on valomikroskoopin osa, josta näytettä katsotaan. Valolla voi olla sama tai eri optinen polku näytteestä silmään tai kameraan okulaarin läpi. Okulaaris- sa on linsejä, joiden tarkoitus on tarkentaa ja suurentaa objektiivin kautta saata-

va näytteen kuva katselukelpoiseksi. Valomikroskoopilla saavutettava suurennos on okulaarin suurennoksen ja objektiivin suurennoksen tulo [7].[4]

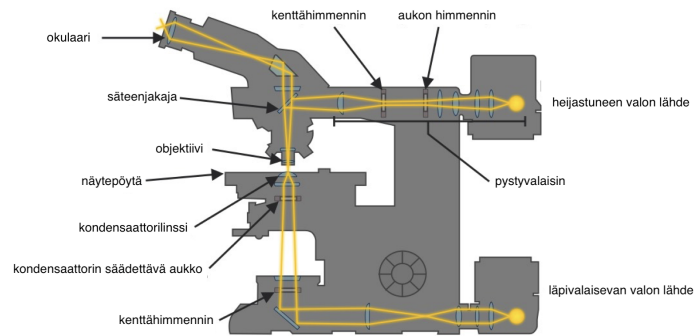
Linssin tärkein ominaisuus on NA. Linssin todellisella koolla ei ole väliä, mutta kustannustehokkainta on käyttää pientä linssiä. Linsseihin liittyy aberratiota eli virhettä, kuten pallopoikkeama ja kromaattinen aberratio. Linssit eivät ole siis täydellisiä, mutta niiden virhettä on mahdollista pienentää. Ulkopuolelta tuleva valo voi aiheuttaa sirontaa linssiin, mikä saattaa heikentää kuvan resoluutiota ja kontrastia. Silmässä on myös linssi, joka kohdistaa okulaarista lähtevät hajaantuvat valonsäteet verkkokalvolle, jossa näytteestä muodostuu kuva.[4]

Näytteen informaation havaitsemiseen käytetään detektoria eli silmiä ja/tai kameraa. Detektori havaitsee näytteestä tulevan valon. Kameralla voidaan tallentaa näytteestä kuva myöhempää tarkastelua ja tutkimusta varten. Valomikroskooppia voidaan säätää, jotta näytteen kuvanlaatu saadaan mahdollisimman hyväksi.[8]

Valomikroskoopin kuvanlaatuun vaikuttaa optinen kokoonpano eli mikroskoopin komponenttien laatu, järjestys ja niiden välimatkat. Näitä muuttamalla voidaan yrittää parantaa kuvanlaatua, jotta näytettä voidaan analysoida halutulla tarkkuudella. Optisen kokoonpanon lisäksi kuvanlaatuun vaikuttavat myös resoluutio ja kontrasti.[9]

Resoluutio eli erotettavien yksityiskohtien etäisyys toisistaan määräytyy mikroskoopin ominaisuuksien perusteella. Käytännössä näytteestä erotettavien pienten yksityiskohtien määrä kasvaa resoluution kasvaessa. Resoluutioon vaikuttaa NA.[9] Ihanteellisen linssin resoluutio on noin puolet valon aallonpituudesta ja parhaat objektiivit pääsevät hyvin lähelle tätä.[4]

Kontrasti mittaa värien välistä suurta eroa. Valkoisen ja mustan välillä on suuri kontrasti ja kahden harmaasävyä välillä pieni. Suuri kontrasti parantaa kuvanlaatua ja selkeyttää katsojalle tarkasteltavan näytteen eroja. Kontrastiin vaikuttavat näytteen ja mikroskoopin ominaisuudet.[9] Näytteessä vierekkäisten yksityiskohtien



Kuva 4. Yhdistelmämicroskoopin keskeisimmät osat. Näiden lisäksi valomikroskoopeissa voi olla erilaisia suodattimia, analysaattori, polarisaattori sekä erilaisia säätöruuveja parantamaan kuvanlaatua.[4]

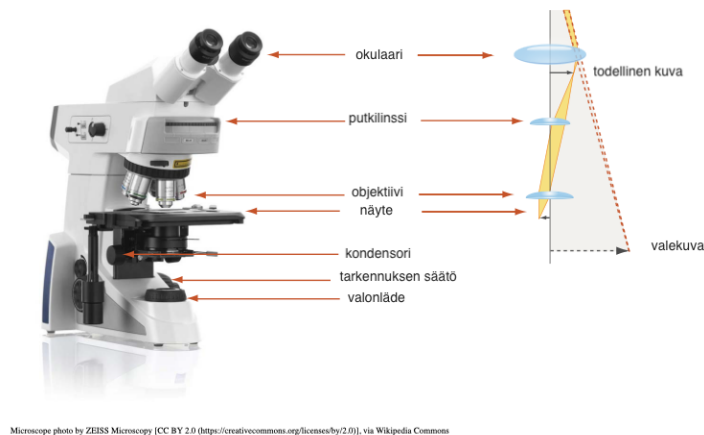
välinen kontrasti helpottaa yksityiskohtien tarkastelua ja analysointia. Näytteen ollessa tasainen ja yksityiskohtien puuttuessa näytteessä ei ole havaittavissa kontrastia, joten näytteestä ei saa välttämättä riittävää informaatiota.[4]

2 Erilaiset valomikroskoopit ja niiden toimintaperiaatteet

Erilaisia valomikroskooppeja ovat perusvalo-, stereo-, fluoresenssi-, konfokaali- sekä superresoluutiomikroskoopi. Näistä perehdytään perusvalo-, stereo-, fluoresenssi- ja konfokaalimikroskoopin toimintaan.

2.1 Valomikroskooppi

Perusvalomikroskoopissa (engl. compound microscope) objektiivi muodostaa todellisen, suurennetun ja käänteisen kuvan. Näyte on kauempana linssistä kuin sen polttopiste. Okulaari on sijoitettu lähelle tätä kuvaa, jolloin silmään saapuvat säteet näyttävät tulevan kauempana sijaitsevasta suuremmasta valekuvasta. Näytteestä heijastuvat säteet saapuvat linssiin, lähtevät siitä yhdensuuntaisesti eteenpäin ja saapu-



Kuva 5. Valonsäteiden kulku valomikroskoopissa näytteestä objektiivin ja linssin läpi okulaariin ja okulaarista silmään. [4]

vat samaa optista polkua pitkin okulaarista katsojan silmiin. Tätä havainnollistettu kuvassa 5. [4]

Nykyaikaisissa valomikroskoopeissa on sisäänrakennettu valaistusjärjestelmä. Valaistusjärjestelmän avulla näyte saadaan valaistua ja usein valaistusta on mahdollista säätää. Halutun lopputuloksen saavuttamiseksi valon säteet kohdistetaan, tarkennetaan ja aukkoja säädetään. Kokoojalinssi kerää valoa ja suuntaa sen kohti näytettä kondensorille. Kondensori kokoaa kokoojalinsiltä tulevat valonsäteet ja ohjaa ne näytteen läpi kohti objektiivia. Kenttähimmentimen avulla säädetään näytteeseen tulevaa valoa. [4]

Köhlerin valaistus on linssisysteemin avulla ohjattu valaistutapa, jolla yritetään saavuttaa optimaalinen kontrasti ja resoluutio. Valon täytyy valaista koko näyte tasanaisesti, jotta lopullinen kuvanlaatu olisi mahdollisimman hyvä. Lisäksi kaiken objektiiviin tulevan valon pitää olla kuvattavalta alueelta peräisin eikä sen ulkopuolelta. Nämä ehdot toteutuvat Köhlerin valaistuksessa.[8]

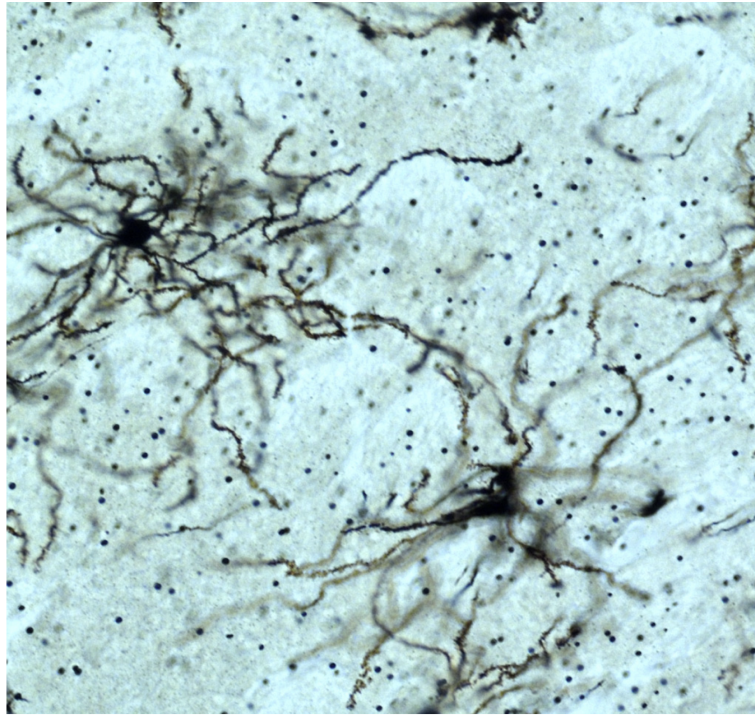
Läpivalonkuvantamisessa (engl. transmitted light) valo kulkee näytteen läpi. Tätä hyödyntävät kirkaskenttä, differentiaalinen interferenssikontrastikenttä (DIC), vaihe-, polarisoi- ja pimeäkenttä. Näitä menetelmiä voidaan hyödyntää tavallisella

valomikroskoopilla, jossa on riittävät lisävarusteet ja Koehlerin valaistus.[4]

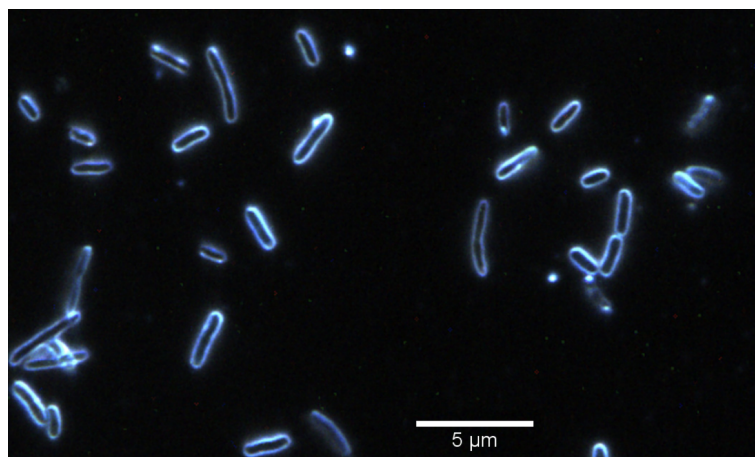
Kirkaskenttäkuvaus (engl. brightfield imaging) eli BF-kuvantaminen on yksinkertaisin mikroskoopin kuvantamismenetelmä. Tutkittava näyte on usein tumma ja näytteen ympärillä oleva vaalea alue luo kontrastin, jonka avulla näyte erottuu taustasta. Kuvassa 3 on kirkaskenttäkuva astrozyyteista. Kuvassa astrozyytit näkyvät tummana ja niiden ympäristö vaaleana. Menetelmässä käytetään yleensä LED-lamppua valonlähteenä. Kondensori kohdistaa valon näytteeseen. Tavallisessa mikroskoopissa se sijaitsee näytteen alapuolella ja käänteismikroskoopissa näytteen yläpuolella. Analysaattoria ja polarisaattoria käytetään edistyneemmissä BF-kuvantamisen tyypeissä. Analysaattori asetetaan valon kulkureitille objektiivin ja okulaarin väliin. Polarisaattori asetetaan myös valon kulkureitille toimimaan analysaattorin kanssa, jotta saadaan polarisoitua valoa. BF-menetelmää käytetään laajasti erilaisten näytteiden kuvantamisessa. Läpinäkyviä näytteitä tarkasteltaessa näyte on ensin värjättävä, jotta näyte saadaan kontrastin avulla näkyviin. BF-mikroskopian käyttökohteita ovat esimerkiksi värjättyjen kudoksenäytteiden diagnostiikka, värjättyjen solujen rakenteen tutkiminen ja immunohistokemia.[4]

Pimeäkenttämikroskopiassa näytteestä lähes kohtisuoraan heijastuva valo suunnataan objektiivin ulkopuolelle. Tällöin kyseinen osa kuvasta näyttää tummalta. Valo pääsee objektiiviin, jos näytteen jokin osa sirottaa tai heijastaa valoa pinnan normaaliin nähden suuressa kulmassa, ja tällöin kyseinen alue näyttää kuvassa kirkkaalta. Pimeäkenttämikroskoopilla voidaan korostaa pinnan muotoja ja epätasaisuuksia. Kuvassa 4 on tällä menetelmällä kuvattu bakteereja, joiden reunat korostuvat kuvassa kirkkaina. Tämä menetelmä on herkkä lialle ja kontaminaatiolle, koska ne sirottavat yleensä valoa enemmän kuin näyte.[4]

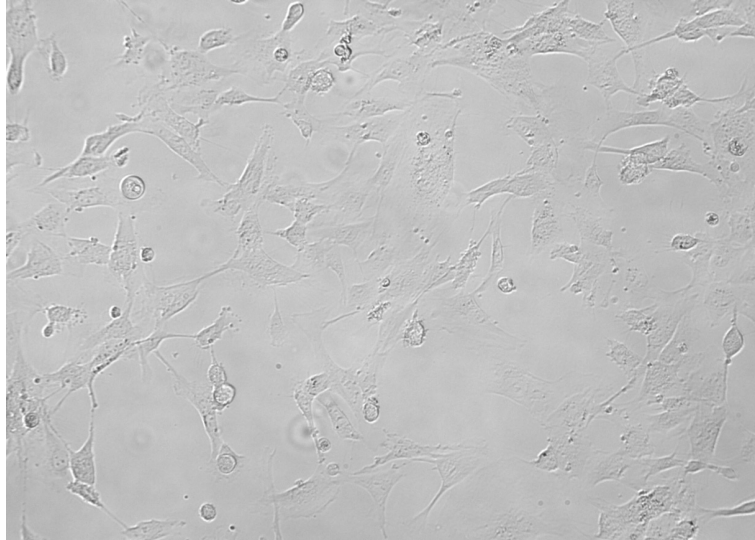
Vaihekontrastimenetelmässä taitekertoimien erojen avulla saadaan näytteen rakenteiden välinen kontrasti paremmaksi. Tätä menetelmää käytetään ohuiden ja värjäämättömien näytteiden tutkimiseen. Näytteen valoa sirottava rakenne näyttää



Kuva 6. Kirkaskenttäkuva astrozyyteista.[4]



Kuva 7. Pimeäkenttäkuva bakteerista. Daryl Webb [4]

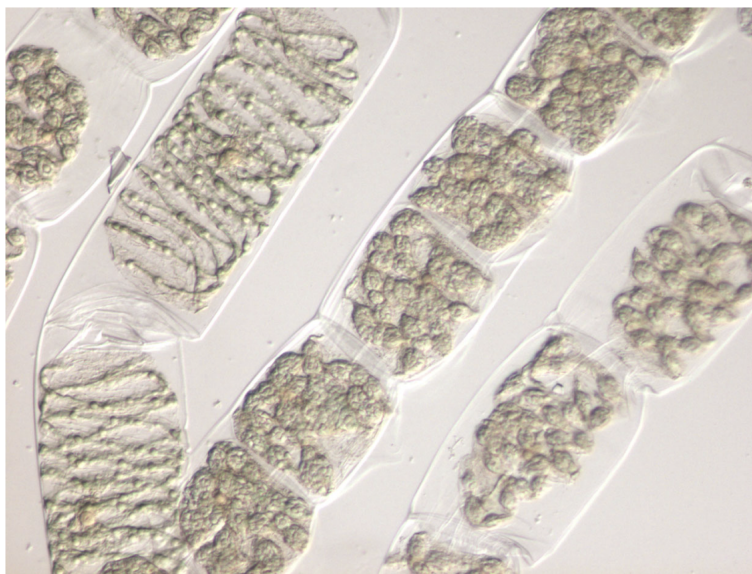


Kuva 8. Vaihekontrastikuva viljellyistä soluista. Louise Cole [4]

kuvassa ympäristöään tummemmalta. Suorat säteet luovat vaalean taustan, joten kuvaa on helpompi tarkastella. Valoa sirottavat rakenteet ovat taitekertoimeltaan suurempia, joten sironnut valo on suoraa valoa hieman jäljessä. Kuvassa 5 on esimerkkikuva vaihekontrastimenetelmällä kuvatuista viljellyistä soluista. [4]

Differentiaalinen interferenssikuvaus (engl. differential interference contrast imaging) eli DIC-kuvaus perustuu taitekertoimien muutokseen. Tämä menetelmä parantaa kontrastia ja mahdollistaa myös paksumpien värjäämättömien näytteiden visualisoinnin. Värjäämättömiä näytteitä voivat olla esimerkiksi kudoksenäytteet tai solunäytteet. Näytteen taitekertoimen muuttuessa kahden säteen välille muodostuu reittiero. Kontrasti riippuu näytteen taitekertoimien paikallisesta muutosnopeudesta. Tätä menetelmää käytetään esimerkiksi mikroinjektiotekniikoissa. Huomioitavaa on, että DIC-menetelmä toimii vain lasin läpi, joten tarkasteltavien näytteiden on oltava lasipohjaisissa ja -kannellisissa astioissa. Kuvassa 6 on DIC-menetelmällä kuvattu levää. [4]

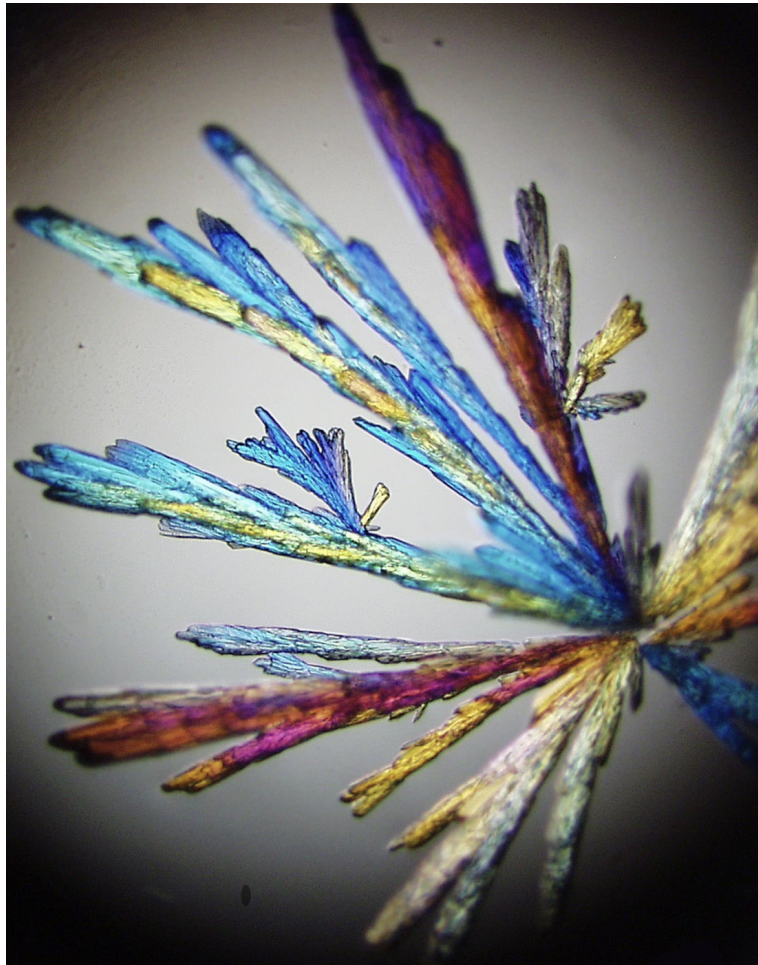
Polarisoitu valomikroskopia perustuu näytteen materiaalin kiderakenteeseen. Monilla kiteisillä materiaaleilla taitekertoimet ovat erilaiset kahdessa polarisaatiosuun-



Kuva 9. DIC-menetelmällä otettu kuva Spirogyrasta (levä). Louise Cole [4]

nassa eli ne ovat kahtaistaittavia. Polarisoimaton valo värähtelee kaikkiin suuntiin, mutta polarisaattori päästää läpi vain yhteen suuntaan värähtelevää polarisoitunutta valoa. Tätä valoa käytetään kahtaistaittavan näytteen valaisemiseen ja säteen kulkiessa näytteen läpi, se jakautuu kahteen komponenttiin. Komponenttien suunnat ja nopeudet määräytyvät materiaalin kiderakenteiden perusteella. Analysaattorissa säteet yhdistyvät, joka johtaa eriväristen, kirkkaiden tai tummien alueiden näkymiseen näytteessä. Polarisoidun valon ja materiaalin vuorovaikutus riippuu materiaalin rakenteesta. Tätä menetelmää ei voida käyttää isotrooppisilla aineilla, koska niiden kiderakenne on yksisuuntainen. Tällöin polarisoitu valo ei vuorovaikuta materiaalin kanssa. Tätä menetelmää käytetään esimerkiksi geologisessa tutkimuksessa mineraalien tunnistamiseen, materiaalitieteissä sekä arkeologisissa sovelluksissa. Kuvassa 7 on polarisoidulla menetelmällä kuvattu proteiinikidettä.[4]

Heijastunutta valoa käytetään läpinäkymättömiä näytteitä tutkittaessa. Näytettä valaistaan ylhäältä ja näytteen pinnasta heijastuvan valon avulla saadaan näytteestä kuva. Tätä menetelmää käytetään esimerkiksi kiville, hyönteisille, metalleille, elektronisille komponenteille, muoville ja arkeologisille löydöille. Useimmissa valo-



Kuva 10. Polarisoidulla menetelmällä otettu kuva proteiinkiteestä. Paul Rigby [4]

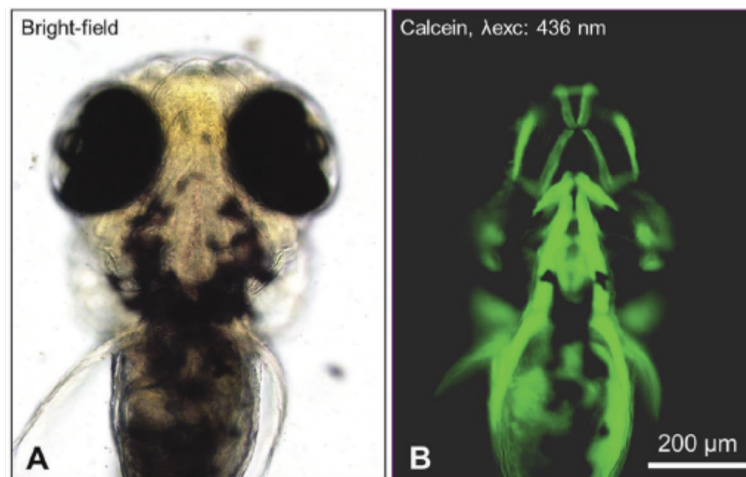
mikroskoopeissa on lamput valaisemaan näytettä läpi tai heijastaen. Läpivalaisumikroskopiassa näytettä valaistaan alhaalta päin. Heijastustilassa näytettä valaistaan ylhäältä päin. Heijastuneen valon mikroskoopeissa voidaan käyttää kirkaskenttä-, pimeäkenttä-, DIC- ja polarisaatiomenetelmiä kuvantamiseen. DIC-menetelmässä heijastuneen valon avulla mitataan korkeuseroa eikä taitekertoimien eroa.[4]

Stereomikroskoopissa on kaksi okulaaria ja objektiivia, jolloin kummallekin silmälle on erilliset optiset reitit. Perusvalomikroskoopissa kummallekin silmälle on sama optinen polku, jolloin näyte nähdään tietyllä tarkennetulla tasolla. Parempi syvyysterävyys ja näytteen kolmiulotteinen kuva saadaan erillisillä optisilla poluilla. Käytännössä stereomikroskooppi on perusvalomikroskooppi kaksinkertaisella optiikalla. Suurennokseen vaikuttaa objektiiviparin ja okulaarien suurennos, joka voi olla jopa 100-kertainen.[10]

Näytteen pintaan heijastetaan valoa, jolloin näytteen pintarakenteesta saadaan kuva. Valaistus on säädettävä ja näytettä voidaan valaista myös vinosti eri suunnista. Stereomikroskooppia käytetään analysoitaessa esimerkiksi kiinteiden aineiden pintoja, murtumapintoja, kasvistoa ja elektroniikkaa. Piirilevyjen valmistuksessa ja mikrokirurgiassa hyödynnetään stereomikroskooppia, jolla voidaan reaaliaikaisesti nähdä pienten yksityiskohtien lähelle. Stereomikroskooppia käytetään teollisuudessa laadunvalvontaan ja tuotteiden tarkastukseen. Suuri työskentelyetäisyys mahdollistaa isompien kappaleiden kuvantamisen sekä työvälineiden ja laitteiden käyttämisen kuvantamisen aikana.[10]

2.2 Edistyneemmät valomikroskoopit

Valomikroskopia kehittyy kokoajan ja nykyään on saatavilla edistyneempiä suuremman erotuskyvyn mikroskooppeja, kuten fluoresenssimikroskoopit, konfokaalimikroskoopit ja superresoluutiomikroskoopit. Virittyminen ja emissio liittyvät näihin menetelmiin. Virittymisellä tarkoitetaan valomikroskopiassa tilannetta, jossa näyte

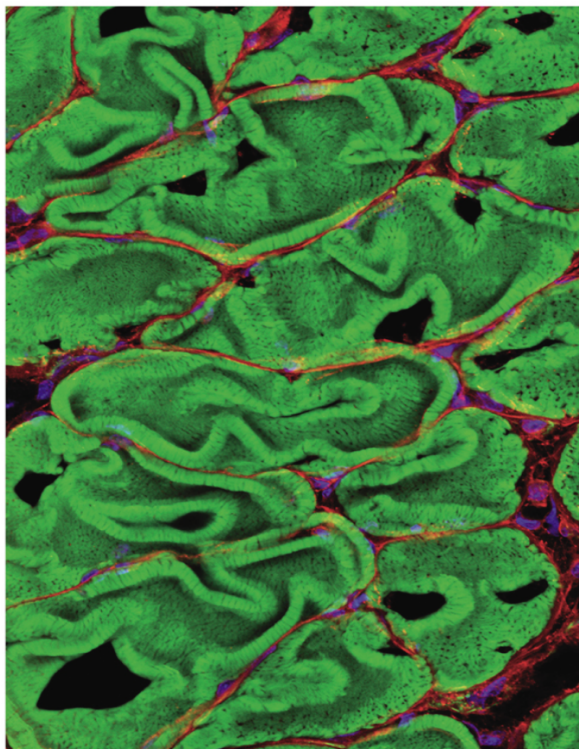


Kuva 11. Kuvassa vasemmalla on kirkaskenttäkuva ja oikealla fluoresenssimikroskoopilla otettu kuva seeprakalan luuston kehityksestä. Kalkkeutuneet rakenteet seeprakalan päässä lähettävät vihreää fluoresenssia, koska näyte on leimattu kalseiinilla.[11]

absorboi säteilyä ja atomit virittyy ylem্পään energiatilaan. Emissiolla tarkoitetaan tilannetta, jossa atomin viritystila purkautuu ja atomi emittoi fotonin, joka voidaan nähdä valona.[5]

Fluoresenssimikroskoopin toiminta perustuu näytteen fluoresoivaan materiaaliin. Näyte voi olla fluoresoiva luonnostaan tai se voidaan käsitellä fluoresoivilla aineilla, kuten fluorokromeilla. Näytettä valaistaan kirkkaalla viritysvälolla. Tällöin paljon himmeämpi emittoituva fluoresoiva valo voidaan havaita detektorilla tai silmin. Fluoresoivat alueet näkyvät tummaa taustaa vasten. Fluoresenssimikroskoopin etuna on, että sillä voidaan havaita jo hyvin pieniä määriä fluoresoivaa ainetta sisältäviä näytteitä. Näytteen erottaminen taustasta perustuu kontrastiin, joten kuvanlaatu on sitä parempi, mitä tummempi näytteen ei-fluoresoiva alue on. Fluoresenssimikroskoopilla voidaan tutkia esimerkiksi orgaanisia näytteitä, elävää materiaalia sekä epäorgaanisia materiaaleja. Lisäksi sitä käytetään esimerkiksi puolijohdeteollisuudessa. Kuvassa 8 on fluoresenssimikroskooppikuva seeprakalan luuston kehityksestä.[7]

Konfokaalimikroskooppi on pyyhkäisymikroskooppi, joka pyyhkäisee näytteen yli fokusoidulla säteellä (focused beam). Kuva luodaan piste pisteeltä säteen avulla.



Kuva 12. Rotan palleasta otettu konfokaalikuva.[6]

Valonlähteenä käytetään laseria, jotta saadaan riittävästi valoa pieneen pisteeseen. Objektiivi kohdistaa lasersäteitä näytteen pinnalla olevaan pisteeseen. Tästä pisteestä tuleva fluoresenssi kuvataan samalla objektiivilla ja fokusoidaan detektorin edessä olevaan neulanreikään. Yksi kuva sisältää vain tarkennustietoja tietyistä pisteistä. Kuvia kerätään useita ja jokaisen välillä muutetaan tarkennusta, jotta voidaan muodostaa tarkka kolmiulotteinen kuva näytteestä. Nykyään suosittu menetelmä on hajauttaa heijastunut valo spektriksi prisman tai diffraktiohilakerroksen avulla ja käyttää eri ilmaisimia havaitsemaan eri alueiden säteitä. Tällöin mitataan fluoresenssin spektri. Konfokaalimikroskoopissa on suodattimia, kuten lyhyt- ja pitkäpäästöiset suodattimet, kaistanpäästösuoittimet ja säteenjakajat. Kuvassa 9 on konfokaalikuva rotan palleasta.[4]

3 Valomikroskoopin käyttö fysiikan opetuksessa

Valomikroskooppia käytetään erilaisten materiaalien ja eliöiden tutkimiseen biologian opetuksen tukena. Sitä voisi hyödyntää fysiikan ilmiöiden ymmärtämiseen ja tutkimiseen osana opetussuunnitelman mukaista optiikan opetusta. Peruskoulussa ja lukiossa on erilliset opetussuunnitelmat. Peruskoulussa keskitytään valoon ilmiönä ja aaltona. Lukiossa opetellaan keskeisimpiä fysiikan käsitteitä ja ilmiöitä, jotka ovat helpompi ymmärtää kokeellisuuden kautta.

Kokeellisuus motivoi oppilaita tekemään tutkimuksia ja oppimaan uusia käsitteitä. Opeteltava teoria voidaan liittää kokeelliseen tutkimukseen ja oppilas voi analysoida sekä selittää tutkimansa ilmiön. Kokeellisuuden on havaittu olevan yhteydessä fysiikan osaamiseen. Oppimista tukee havaintojen pohtiminen, ilmiöiden ymmärtäminen sekä opettajan johdolla tutkimuksesta keskusteleminen.[12]

Optiikkaan liittyvä teoria liitetään kokeellisuuden avulla ymmärrettäväksi kokonaisuudeksi. Perusvalomikroskoopin tärkeimmät perusteet opetuksessa ovat oikeanlainen käyttö, osat sekä keskeisimmät fysiikan käsitteet ja ilmiöt. Oikeanlainen käyttö sekä mikroskoopin osat opetellaan opettajan johdolla. Säätäminen on tärkeää, jotta näytteestä saatava kuva on riittävän hyvä näytteen analysoimiseen ja johtopäätösten tekemiseen. Valomikroskoopin osien, kuten linssien ja polarisaattorien, merkitys on kaikessa optiikassa sama. Keskeisimpiä opeteltavia ilmiöitä ovat esimerkiksi valon aaltoluonne, diffraktio ja heijastuminen.

4 Yhteenveto

Tämä tutkielma on kirjallisuuskatsaus valomikroskopian perusteisiin, erilaisiin valomikroskooppeihin ja niiden hyödyttämiseen fysiikan opetuksessa. Valomikroskoopeissa on samanlaisia komponentteja ja optinen kokoonpano valitaan näytteestä tarvittavan informaation sekä kuvantamismenetelmän perusteella. Kuvantamismenetel-

miä ovat kirkaskenttä-, differentiaalinen interferenssikontrasti-, vaihe-, polarisoitu- ja pimeäkenttä. Valittavaan kuvantamismenetelmään vaikuttavat kuvattava näyte ja sen ominaisuudet.

Erilaisia valomikroskooppeja ovat perusvalomikroskooppi, stereomikroskooppi, fluoresenssimikroskooppi, konfokaalimikroskooppi ja superresoluutiomikroskooppi. Edistyneempiä valomikroskooppeja ovat fluoresenssimikroskooppi, konfokaalimikroskooppi ja superresoluutiomikroskooppi. Näillä mikroskoopeilla on suuri erotuskyky sekä ne perustuvat virittymiseen ja emissioon. Tässä tutkielmassa kerrotaan fluoresenssimikroskoopista ja konfokaalimikroskoopista.

Valomikroskooppia voi hyödyntää optiikan opetuksen tukena fysiikan opetuksessa yläkoulussa sekä lukiossa. Kokeellinen opetus auttaa ymmärtämään teorian käytännön kautta. Lisäksi kokeellisuuden on havaittu olevan yhteydessä oppimistuloksiin ja oppilaiden motivaatioon opiskella fysiikkaa.

Tekoälyn käyttö tutkielmassa

Tutkielmaa tehdessä ja tarkistaessa kirjoittaja ei ole käyttänyt tekoälyä.

Viitteet

- [1] I. Rantala ja K. Lounatmaa, *Biologinen valomikroskopia* (Yliopistopaino, 1998).
- [2] J. Andersin, P. Frondelius, J. Latva-Teikari ja H. Lehto, *FY5 Jaksollinen liike ja aallot, Fysiikka (LOPS2016)*, 1. ed. (Sanoma Pro Oy, 2022).
- [3] J. Andersin, P. Frondelius, J. Latva-Teikari ja H. Lehto, *FY7 Sähkömagnetismi ja valo, Fysiikka (LOPS2016)*, 1. ed. (Sanoma Pro Oy, 2023).
- [4] Microscopy Australia, Light & Fluorescence Microscopy - MyScope Training.
- [5] J. Andersin, P. Frondelius, J. Latva-Teikari ja H. Lehto, *FY8 Aine, säteily ja kvanttuminen, Fysiikka (LOPS2016)*, 1. ed. (Sanoma Pro Oy, 2023).
- [6] D. B. Murphy ja M. W. Davidson, *Fundamentals of light microscopy and electronic imaging*, 2nd edition ed. (Wiley-Blackwell, 2013).
- [7] M. W. Davidson ja M. Abramowitz, *Optical microscopy*, <https://cw.fel.cvut.cz/b172/media/courses/a6m33zsl/davidson-abramowitz-opticalmicroscopy.pdf> (4.12.2025).
- [8] J. Girkin, *A practical guide to optical microscopy* (CRC Press, Taylor & Francis Group, 2020).
- [9] B. A. Scalettar ja J. R. Abney, *Biomedical imaging in the undergraduate physics curriculum: Module on optical microscopy*, American Journal of Physics (2015).
- [10] S. Muthanandam, I. Fahi A, A. Santhadevy, R. Suganya, V. N ja U. G, *A review on stereomicroscope*, International Dental Journal of Student's Research (2024).
- [11] J. C. Stockert, kirjassa *Fluorescence Microscopy In Life Sciences*, toimittanut A. Blázquez-Castro (Bentham Science Publishers, 2017).
- [12] J. Viiri, *Luonnontieteiden opetuksen kehittämishaasteita 2012* (Opetushallitus, 2012).