

Fluorescenční mikroskopie

verze pro UČITELE

RNDr. Vanda Janštová, KUDBi, PřF UK v Praze

Cíl:

- Studenti znají a umí vysvětlit princip fluorescenční mikroskopie.
- Studenti vědí o možnosti zapůjčení fluorescenčního mikroskopu firmy Olympus „Mikroskop pro vzdělávání CX21“, z PřF UK na střední školy a pokud je to relevantní, o této možnosti informují dále.
- Studenti (budoucí učitelé na ZŠ a ŠŠ) jsou schopni samostatné práce s tímto fluorescenčním mikroskopem, tj. umí připravit fluorescenční preparát a tento mikroskopovat a demonstrovat studentům.

Pomůcky:

Fluorescenční mikroskop Olympus CX21 – součástí příslušenství je FluoLED - LED Fluorescence Illuminator 480 nm (viz Obr.1.) excitační vlnová délka.

Mikroskop lze snadno a bezpečně přepravovat. Součástí sady je fotoaparát Olympus a jeho příslušenství.



Obr.1. Fluorescenční mikroskop Olympus CX21 a FluoLED

Materiál:

Krycí a podložní sklíčka, (destilovaná) voda, párátko, preparační sada, vlastní bukální epitel, rostlinné a jiné preparáty, parsteurovy pipety (kapátka), žiletky

Způsob a podmínky zapůjčení mikroskopu Olympus CX21 s LED Fluorescent Illuminator:

Mikroskop je majetkem PřF UK. Je k dispozici pedagogům ZŠ a ŠŠ, kteří si ho po dohodě budou moci půjčit. Kontakt: Vanda Janštová (vanda.vilim@gmail.com), <http://www.natur.cuni.cz/biologie/ucitelstvi/skoly/pristroje/zapujceni-pristroju-a-vybaveni>

Opěrné termíny:

Mikroskop, fluorescence, fluorofor, fluorochrom, foton, absorpce, emise, vlnová délka

www podpora

<http://natur.cuni.cz/parasitology/parpages/mikroskopickatechnika/>

http://is.muni.cz/el/1431/podzim2007/Bi7230/um/3973768/12_mikroskopie.pdf

<http://www.olympusmicro.com/>

<http://www.microscopyu.com/>

<http://kfrserver.natur.cuni.cz/anatomiez/cviceni.htm>

Zadání:

Pozorujte připravené fluorescenční preparáty a preparáty s autofluoreskujícími objekty, které si sami zhotovíte.

- Zapneme zdroj světla
- Na stolek vsuneme preparát
- Nastavíme si jeden z objektivů s nejmenším zvětšením
- Díváme se ze strany a makrošroubem přiblížíme stolek k objektivu buď do krajní polohy, nebo tak aby se preparát téměř dotknul objektivu
- Nastavíme si optimální vzdálenost okulárů a oddalováním stolku od objektivu najdeme rovinu ostrosti makrošroubem
- Doostříme mikrošroubem
- Intenzitu světla regulujeme kondenzorovou clonou (pod stolkem)
- Pozorovaný objekt nastavíme doprostřed zorného pole a přetočíme nástavec s objektivy na větší zvětšení
- Doostříme mikrošroubem

Příprava preparátů:

- Kápnout kapku vody na podložní sklíčko
- Vložit do ní objekt (pyl, bakterie, pokožka listu, hmyz, vlas, chlup, kůže, vlněné vlákno apod.)
- Přikrýt krycím sklíčkem a pozorovat

V případě bukálního stěru (výhody použití těchto buněk ve výuce – jediný bezpečný zdroj vlastních buněk žáků):

- Setřít epiteliální buňky sliznice v ústní dutině pomocí párátko
- Rozetřít po podložním sklíčku a nechat zaschnout
- 10 min fixovat ethanolem (stačí i 70% denaturovaný), nechat zaschnout
- Barvit akridinovou oranž (zásadité barvivo odvozené z akridinu, které se váže na DNA (barví se zeleně) a RNA (barví se tmavě červeně, 500/562 nm, prostupuje membrány. Zelená monomerová fluorescence pochází z komplexů monomerů s dvouřetězcovými DNA nebo RNA, zatímco

oranžová fluorescence pochází od komplexů dimerů sondy s jednořetězcovými nukleovými kyselinami. Spektrální parametr daný poměrem intenzit oranžové a zelené fluorescence (I640/I540) akridinové oranže charakterizuje stupeň spirálnosti nukleových kyselin)

V případě řezu rostlinnými orgány dbejte na bezpečnost. Veďte řez vždy směrem od prstů, případně řezejte na podložním sklíčku. Oblepte jednu stranu žiletky leukoplastí.

Bezpečnost práce:

- na práci s etanolem dohlíží pedagog
- při řezání dbáme na bezpečnost a poučíme studenty jak správně připravit řezy (návod najdete výše na odkazu na stránky Katedry experimentální biologie rostlin)

Zařazení do RVP-G

Člověk a příroda:

provádění soustavných a objektivních pozorování, měření a experimentů (především laboratorního rázu) podle vlastního či týmového plánu nebo projektu, k zpracování a interpretaci získaných dat a hledání souvislostí mezi nimi

Ve fyzice

Žák využívá zákony šíření světla v prostředí k určování vlastností zobrazení předmětů jednoduchými optickými systémy

Učivo: optické spektrum, foton a jeho energie; korpuskulárně vlnová povaha záření a mikročástic

V biologii

Žák objasní stavbu a funkci strukturních složek prokaryotních a eukaryotních buněk

Učivo: buňka – stavba a funkce