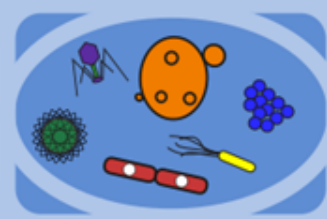


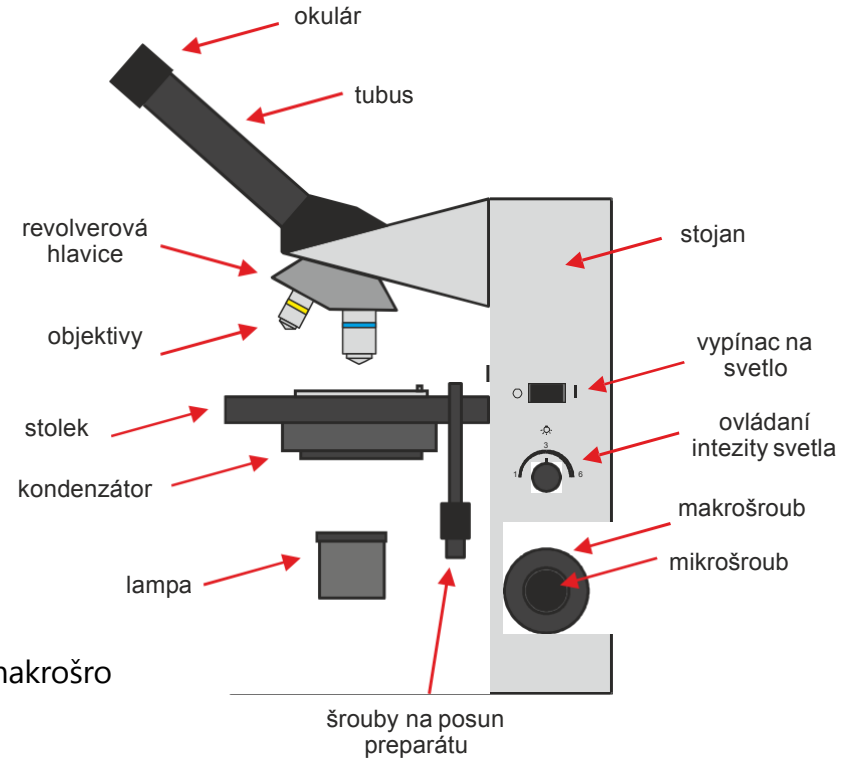
1. cvičení

Gramovo barvení, negativní barvení, nativné preparát

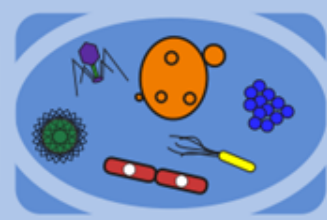
Mikroskop



- Z řeckého slova:
 - mikros- malý
 - skopein- pozorovat
- Hans a Zacharias Jansennovi
 - první použitelný mikroskop
- Anthony van Leeuwenhoek
- Části mikroskopu:
 - Mechanické
 - stativ s podstavcem, stolek se svorkami, mikro- a makrošro
 - Optické
 - Okuláry, binokulární hlavice, objektivy, kondenzor



Mikroskopie



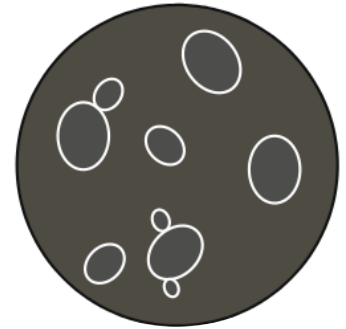
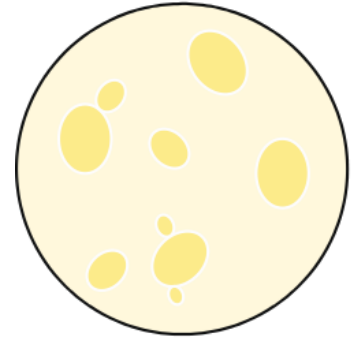
- Světelná mikroskopie

- Metoda světelného pole

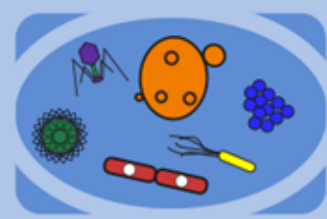
- světlo prochází pozorovaným objektem
- obraz z objektivu je skutečný, zvětšený a převrácený

- Metoda tmavého pole

- do roviny objektu vstupují jen okrajové velmi šikmé světelné paprsky (díky kondenzoru)



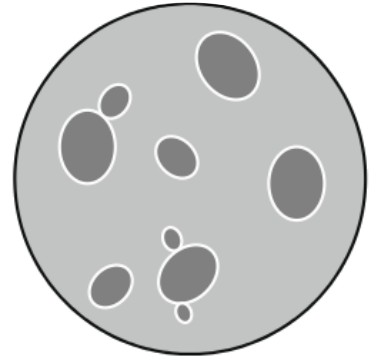
Mikroskopie



- Světelná mikroskopie

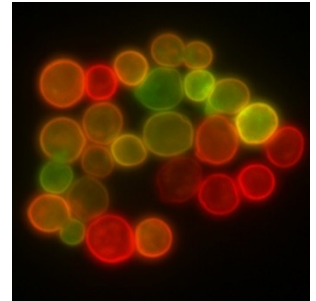
- Metoda fázového kontrastu

- vystoupení i nejmenších struktur, které jsou v běžném světle skoro neviditelné

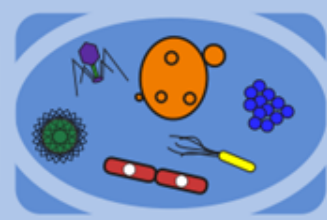


- Fluorescenční mikroskopie

- detekce a pozorování fluoreskujících látek ve vzorku



Mikroskopie



- Elektronová mikroskopie

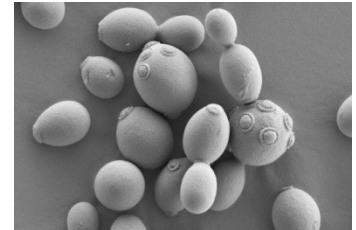
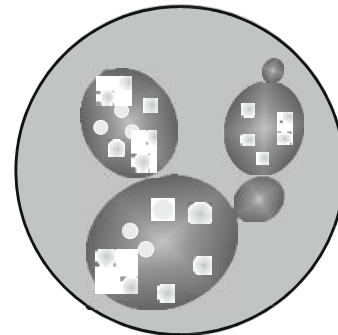
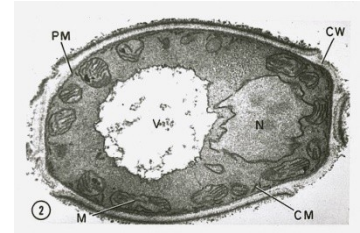
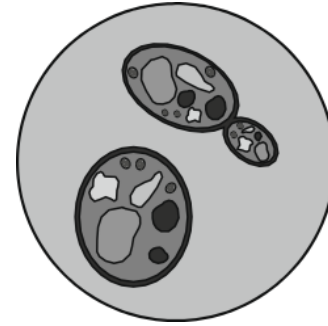
- pozorování objektů o velikosti jednotek nm
- použití elektronů místo fotonů zvyšuje rozlišovací schopnosti

- Transmisní (TEM)

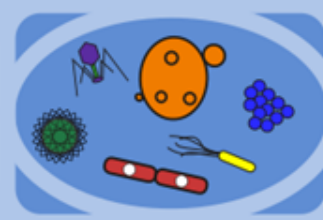
- proud elektronů prochází objektem
- vzorky nesmí obsahovat vodu

- Skenovací/rastrovací (SEM/REM)

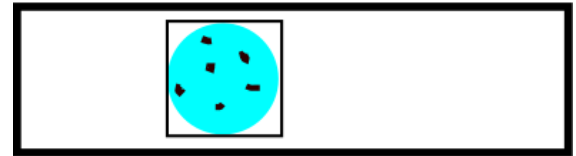
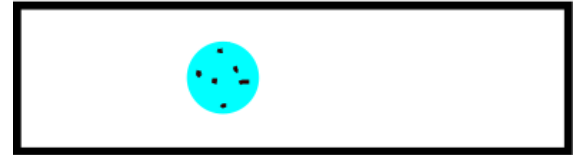
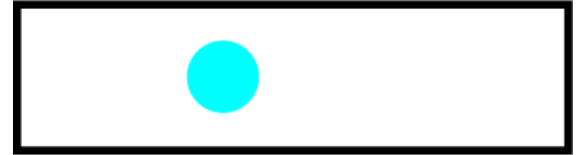
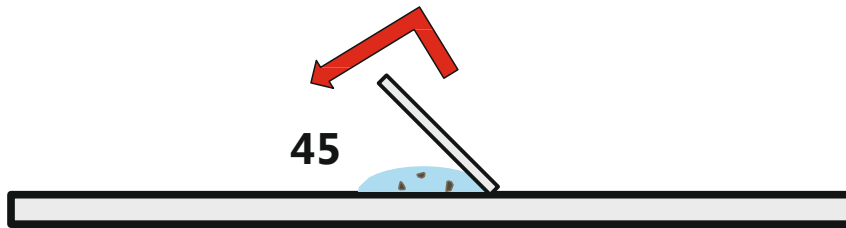
- proud elektronů se odráží od povrchu objektu



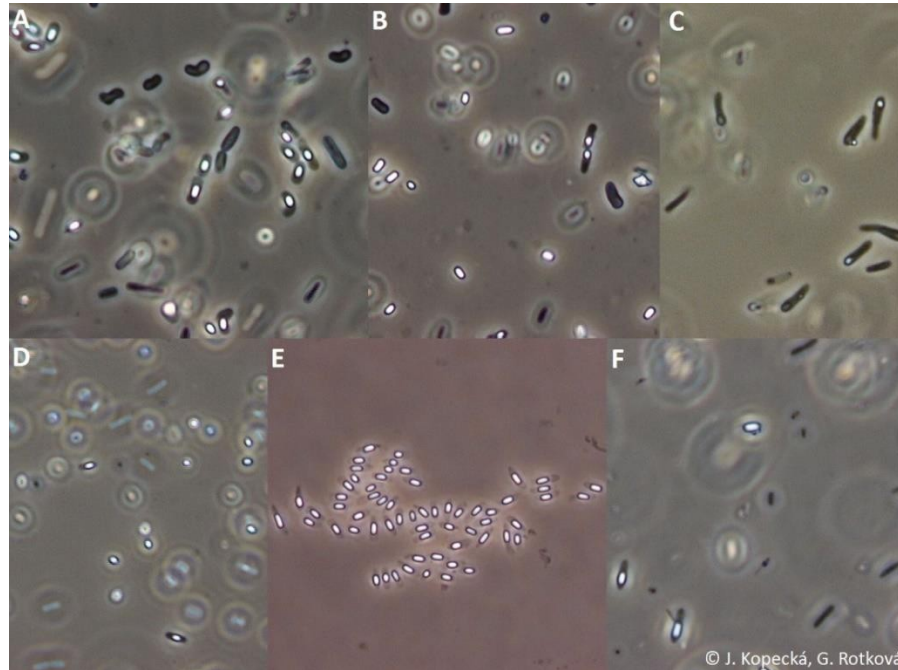
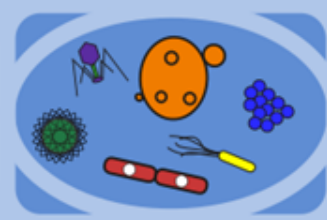
Nativní preparát



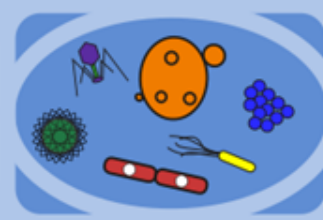
1. Kapka vody
2. Přenést malé množství kultury do kapky vody
 - Neroztírat kapku po preparáte
3. Přikrýt krycím sklíčkem
4. Pozorovat
 - Světlé pole
 - Fázový kontrast



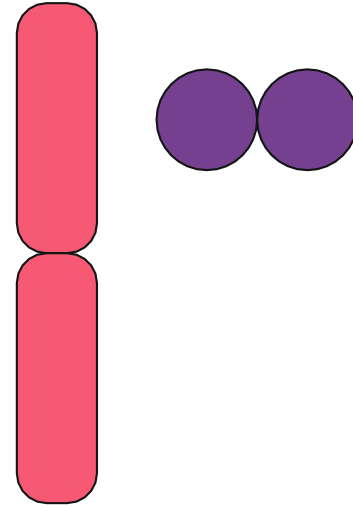
Nativní preparát



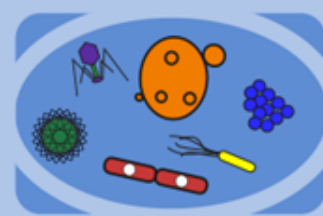
Mikroskopický preparát



- Barvíme:
 - buňky (tvar, typ buněčné stěny, shluky)
 - vitální test (mrtvé buňky/živé buňky)
 - složky/struktury (spory, pouzdra)
 - prostředí (okolí)
- Fixace preparátu plamenem
 - usmrcení buněk
 - lepší příjem barviva
 - přilnutí k podložnímu sklíčku

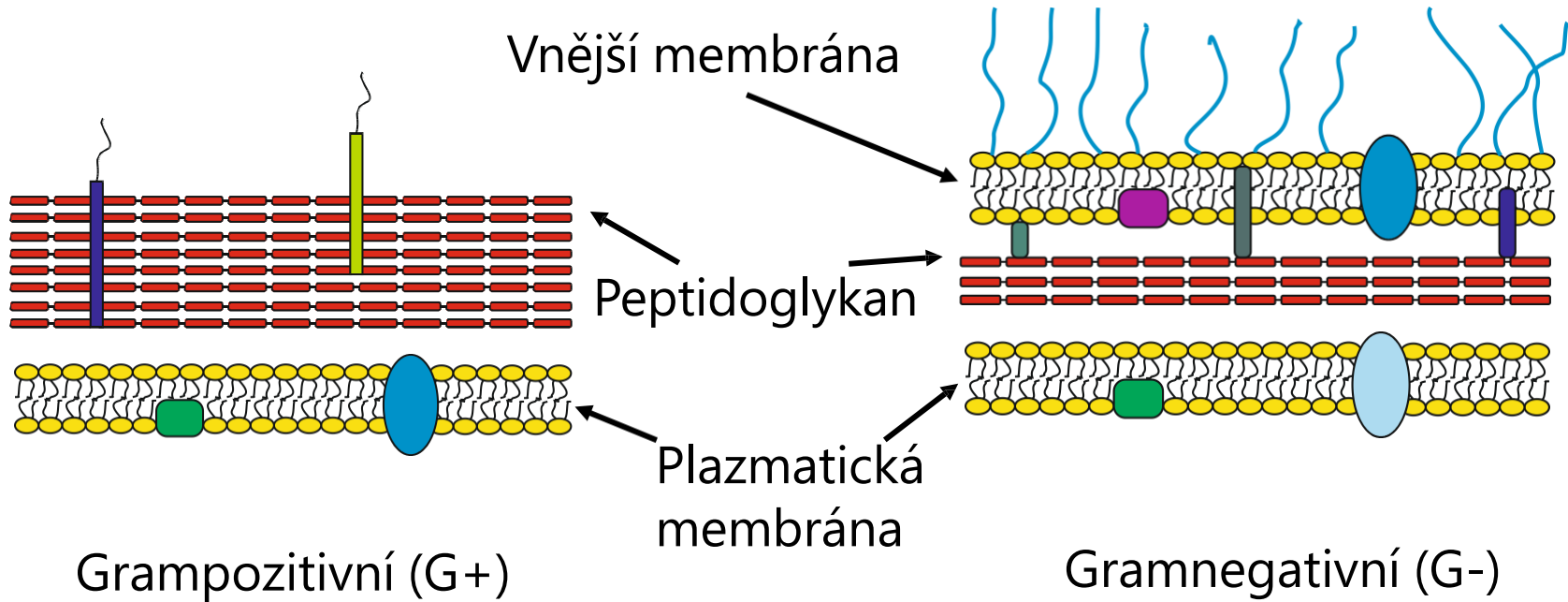
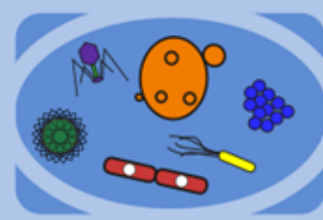


Gramovo barvení

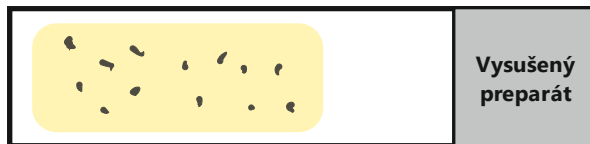
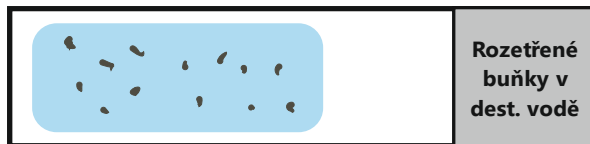
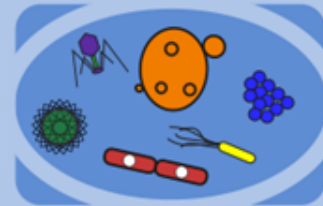


- Rozlišení **G+** a **G-** bakteriálních buněk
- Fixace preparátu plamenem
- **Krystalová violet'** (1 min)
 - oplach H_2O
- **Lugolův roztok** (30 s)
 - oplach H_2O
 - oplach (3-5 s) / převrstvení (10-15 s)
- **Safranin** (1 min)
 - oplach H_2O

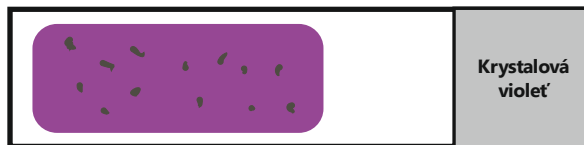
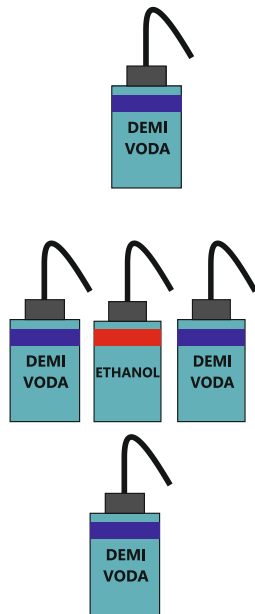
Buněčná stěna G+ a G- bakterií



Barvení dle Grama



Fixace (3x protažení plamenem)



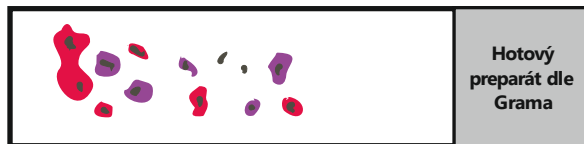
60 s



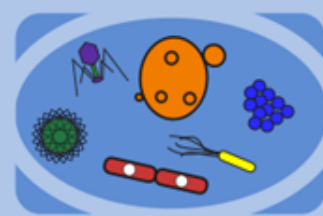
30 s



60 s



Negativní barvení



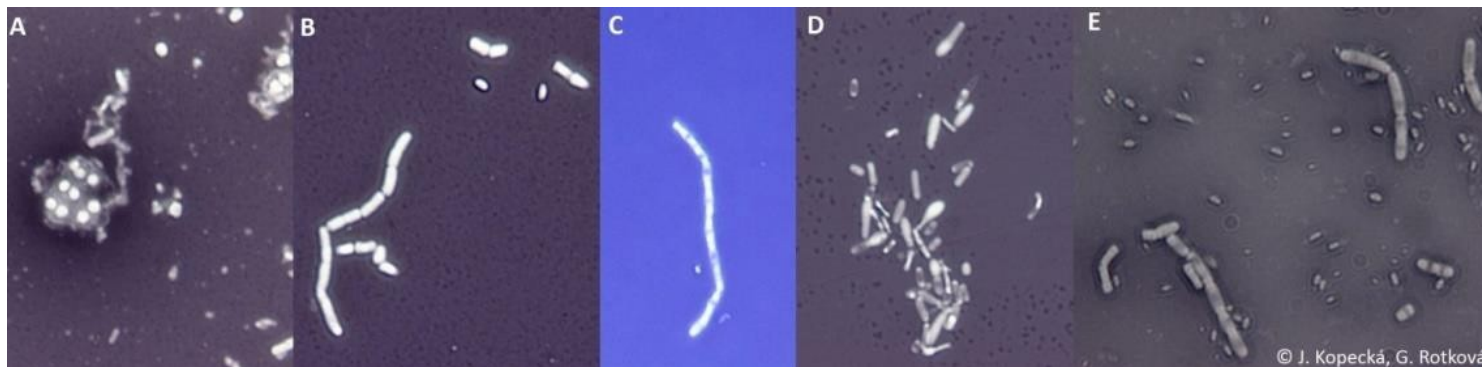
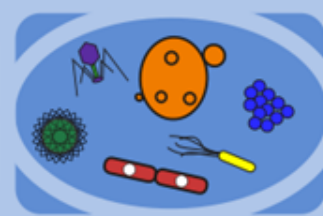
○ Nigrosin

1. Kapka nigrosinu + kultura
2. Rozetřít pomocí druhého podložního sklíčka

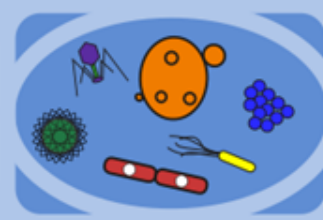
○ Kongo červeně

1. Kapka Kongo červeně + kultura
2. Rozetřít pomocí druhého podložního sklíčka
 - Opláchnout 1% HCl (změna barvy)

Negativní barvení



Co pozorovat?



- Nativní preparát (2)
 - 2x rod *Bacillus*
 - 1x rod *Bacillus* + 1x libovolně
- Gramovo barvení (3)
 - 1x G+ kultura
 - 1x G- kultura
 - 1x smíšená kultura
- Negativní barvení (1)
 - 1x nigrosin / Kongo červeň

Bacily:

Bacillus sphaericus
Bacillus cereus
Bacillus megaterium
Paenibacillus polymyxa

Koky:

„*Azotobacter vinelandii*“
Leuconostoc mesenteroides
Sporosarcina ureae
Staphylococcus aureus
Micrococcus luteus

Tyčinky:

Serratia marcescens
Escherichia coli

Archaea:

Halobacterium sp.

Eukaryota: (barví se jak G+)

Saccharomyces cerevisiae
Yarrowia lipolytica
Hanseniaspora uvarum