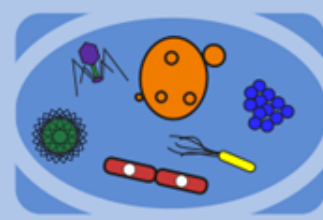


5. – 6. cvičení

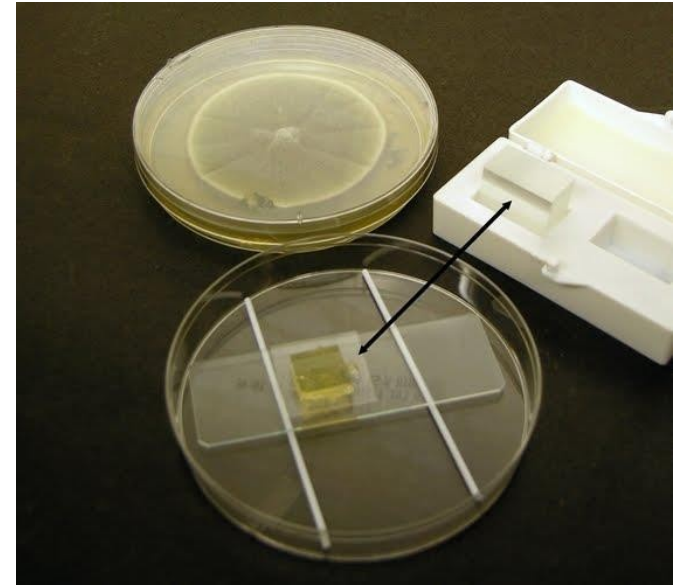
Skříčkové kultury a fluorescence

Fidrich (2020)

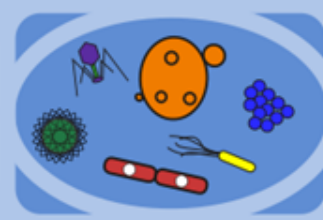
Skličkové kultury I.



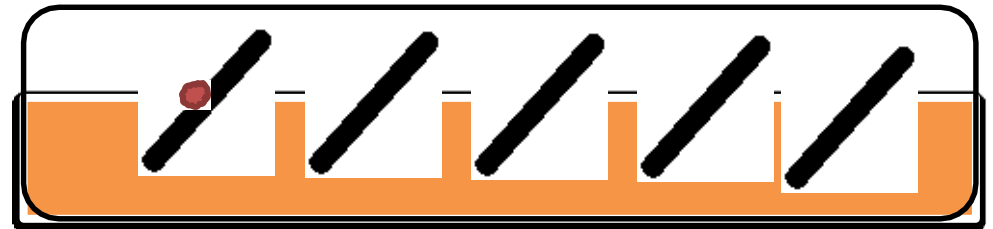
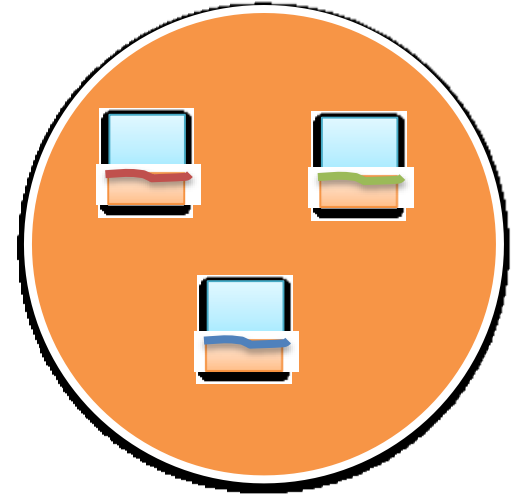
1. Podložní sklíčko umístit na sklenené kuličky/skleněné tyčinky v sterilní Petriho misce
2. Tenký bloček agaru umístit na podložní sklíčko (sterilním skalpelem)
3. Zočkovat kulturu po okraji agarového bločku
4. Přidat asi 5 ml sterilní destilované vody, těsně pod podložní sklíčko
5. Bloček agaru přikryjeme krycím sklíčkem
6. Zavřít Petriho miskou a nechat kultivovat



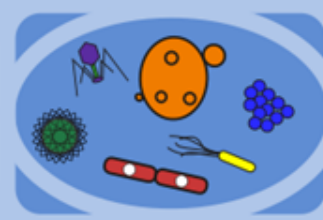
Skličkové kultury II.



1. Zapíchnout sterilní krycí sklíčko do agaru (cca 45 úhel)
2. Zaočkovat kulturu na agar podél okraje krycího sklíčka
3. Zavřít Petriho misku a kultivovat



Co pozorovat?



- 1x sklíčková kultura na podložném sklíčku na kuličkách
- 1x sklíčková kultura na misce s krycími sklíčkami
- sklíčko s narostlou kulturou položit nárustem na podložní sklo
- pozorovat při zvětšení 400x (obj 40)
- 100 objektiv s imerzí v jasném poli nebo Nomarského kontrastem

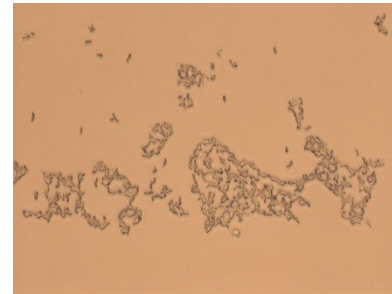
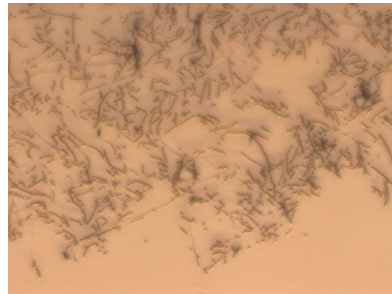
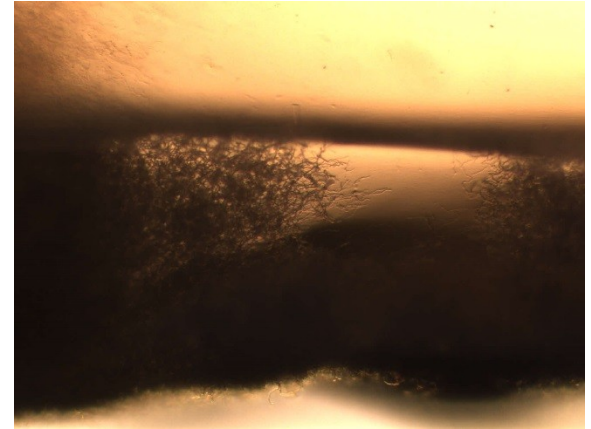
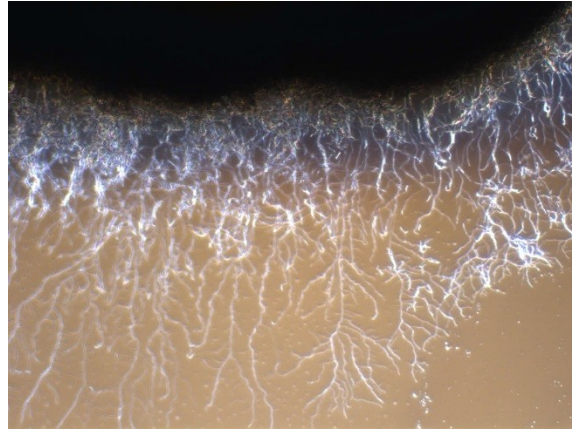
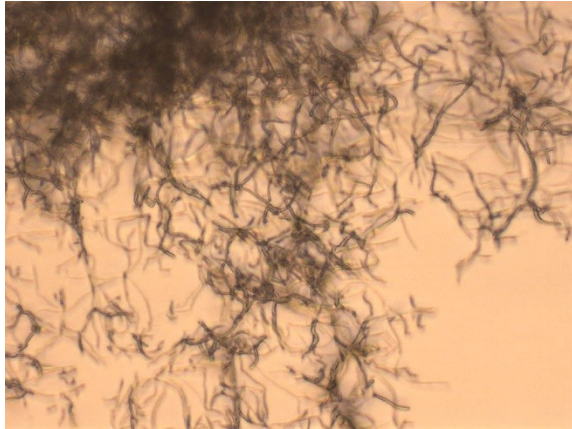
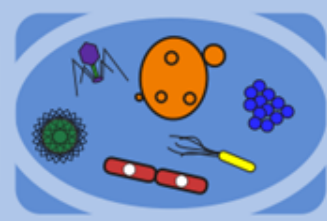
5 denní kultury:

Rhodococcus erythropolis (M8 or MPA)

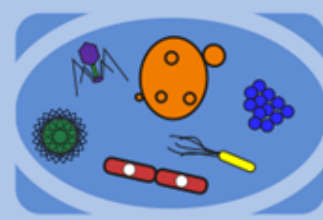
Nocardia carnea (M8)

Streptomyces griseus (M15)

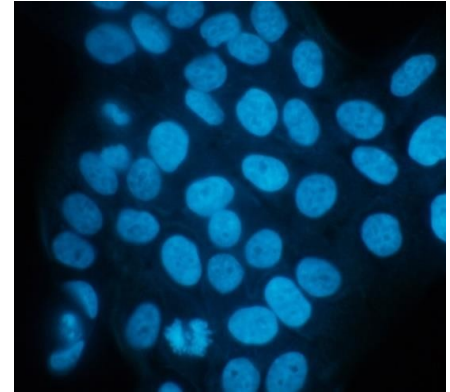
Co pozorovat?



Fluorescence - DAPI



1. Nalít sterilní destilovanou vodu do zkumavky (cca 5 ml)
2. Do zkumavky napipetovat 2-4 kultury (přibližně 25 μ l 24-hodinové kultury z každé)
3. Profiltrovat kulturu s vodou pomocí bakteriálního filtru
4. Filtr nechat volně uschnout (je možné nastříhat na menší části)
5. **PRACOVAT BEZ SVĚTLA (V ŠERU)**
6. Na filtr nanést asi 20 μ l DAPI
7. Vložit do lednice na 10 min
8. Filtr promýt postupně: destilovaná voda -> etanol -> dest. voda
9. Filtr nechat volně uschnout (přikrýt)
10. Na podložní sklíčko nanést kapku imerzního oleje -> umístit filtrační papír -> kapka imerzního oleje -> krycí sklíčko -> imerzní olej -> pozorování pomocí fluorescenčního mikroskopu



Co pozorovat?

