

Cvičení 4
20.11. (10:00 – 13:00h) a 27.11. (8:00 – 12:00h)

Téma: pohyb buněk

Náplň cvičení:

- porovnat pohyb buněk *Micrococcus luteus* - Brownův pohyb (nativní preparát)
- barvení bičků
- očkování do polotekutého media

každý týden 15 misek polotekutého media, barvičky na bičky

Mikroorganismy – od každého prosím 2 misky, mikrokok stačí jedna:

Bacillus cereus CCM 2010

P. fluorescens CCM 2115T

Proteus vulgaris CCM 1799

E. coli CCM 3954

Sphaerotilus natans CCM 2349

Micrococcus luteus CCM 169 – pro srovnání nativního preparátu

POZOROVÁNÍ BIČKŮ

Pozorování pohybu bičku - visutá kapka

nativní preparát

- kapka suspenze buněk v mediu na podložní sklo, nepřekrývat krycí, pozorování objektivem 20, nezanořovat!! Nomarského kontrast. Pro vitalitu buněk je důležitý dostatek kyslíku (citlivější buňky se hýbou jen nahoře). Je nutno opatrně proostřovat na horní část kapky – dostatek O₂.

Barvení bičků:

Závisí na způsobu kultivace. Kultivace buněk vhodná v tekutém mediu. Staré buňky odhazují bičky.

Fixace, speciální barvicí metody pro světelný mikroskop. Barvička obsahuje mořidlo tanin, které se obalí kolem bičku, jeho průměr se znásobí a zviditelní.

Postup:

- a) opatrně připravíme nativní preparát na odmaštěné podložní sklíčko
- b) opatrně překryjeme krycím sklem
- c) vedle krycího sklíčka kapka barvičky
- d) prosajeme filtračním papírem
- e) pozorování pod imerzí

Barvička na barvení bičků: roztok I (10 dílů) a II (1 díl), zamražený

Roztok I: 10ml 5% vod.roztoku fenolu, 2g taninu, 10ml Kal (SO₄)₂ . 12 H₂O

Roztok II: nasycený roztok krystalové violeti (12g) v ethanolu (10ml, 96%)