

Blok 2: Nativní preparáty, fázový kontrast a Nomarského DIC

Pavel Kejík 2011

Obsah

- Nativní preparáty
- Fázový kontrast
- Nomarského DIC
- *Bacillus circulans* CCM 2048
- *Bacillus megaterium* CCM 2007
- *Nocardia carnea* CCM 2756
- *Rhodococcus erythropolis* CCM 277
- *Streptomyces griseus* CCM 3362

Nativní preparáty

- Suspenze živých, někdy barvených buněk, často v kapce sterilní vody či fyziologického roztoku
- Např. ke sledování dělení, pohybu, struktury či morfologie buněk
- Diagnostický význam především v parazitologii
- Často pozorovány metodou fázového kontrastu

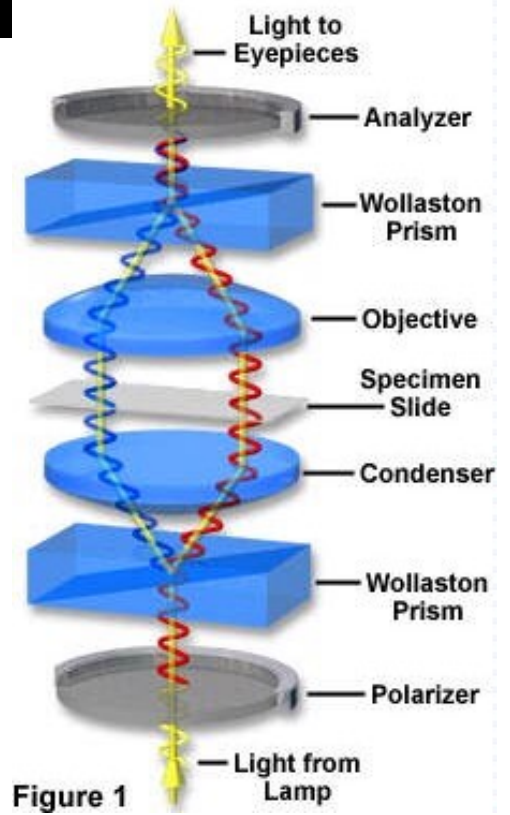
Fázový kontrast

- Druh mikroskopie, který používá clony pracující na principu tzv. fázové destičky, která vytváří ohybové spektrum
- Nebarevné struktury, které se liší od okolních indexem lomu a tloušťkou mění fázi procházejícího světla (neviditelné okem) – tato metoda převádí změny ve fázi na viditelné změny v intenzitě světla
- To po průchodu pozorovanými mikrobiálními částicemi vytváří „duhový efekt“, který umožňuje pozorování i nejjemnějších struktur u nebarvených a nefixovaných preparátů

Nomarského DIC (Diferenciální Interferenční Kontrast)

- Vložen pár Wollastonových hranolů a páru zkřížených polarizátorů tvoří řádný a mimořádný obraz posunutý o hodnotu menší než rozlišovací mez ($\sim 0,1\mu\text{m}$)
- Nepřítomnosti rušivé „aury“ kolem objektů jako u fázového kontrastu
- Při malých hloubkách ostrosti lze rozlišit stupňovité vrstvy ($\sim\text{nm}$)

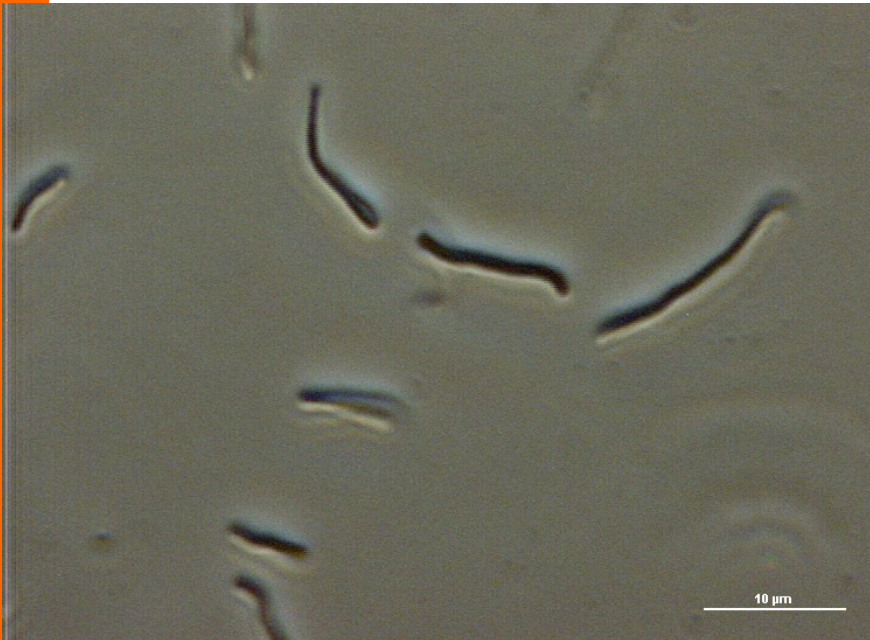
Schematic DIC Configuration



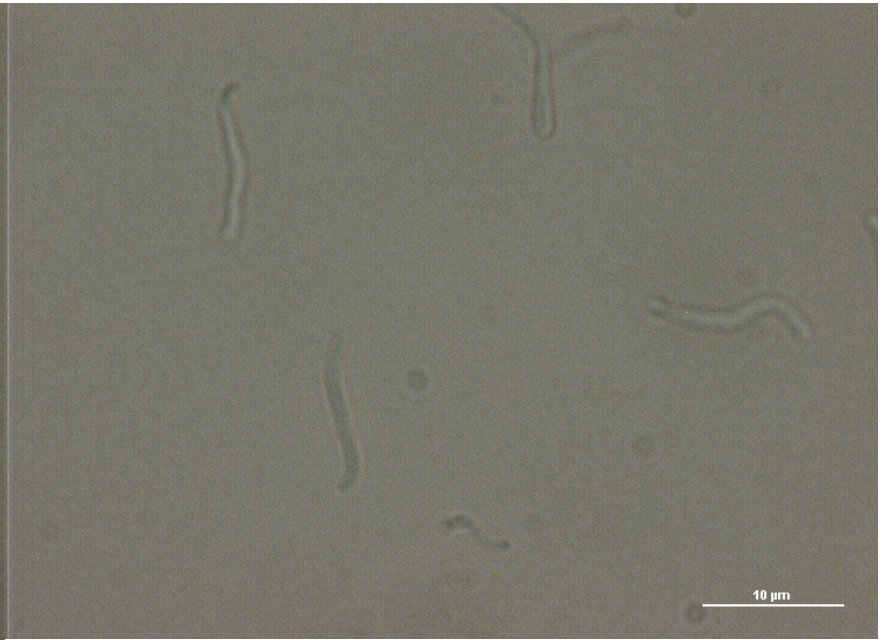
***Bacillus circulans* CCM 2048**

beze spor, misková kultura, nativní preparát

Fázový kontrast



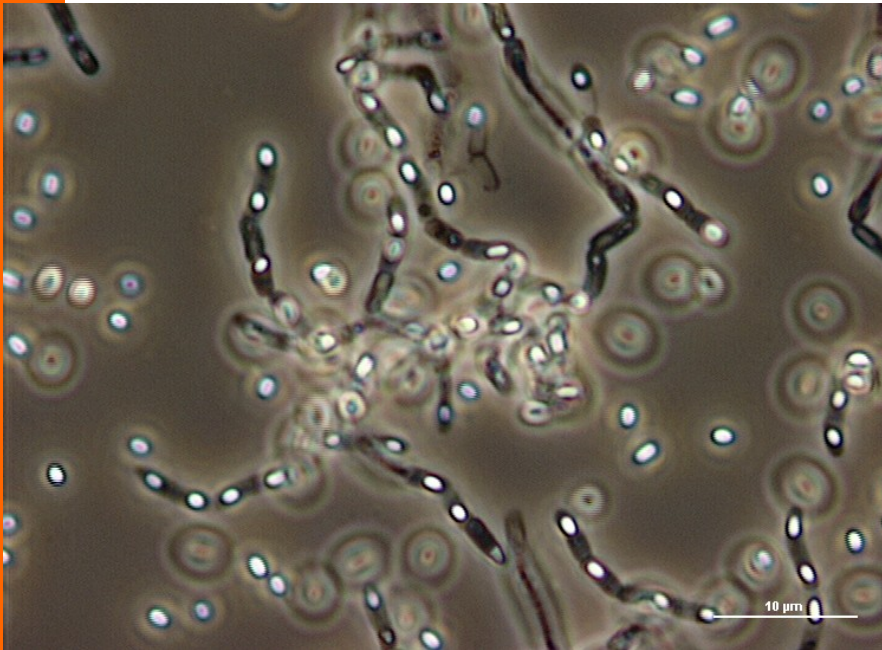
Nomarského DIC



***Bacillus megaterium* CCM 2007**

terminální a subterminální nevyklenující endospory misková kultura, nativní preparát

Fázový kontrast

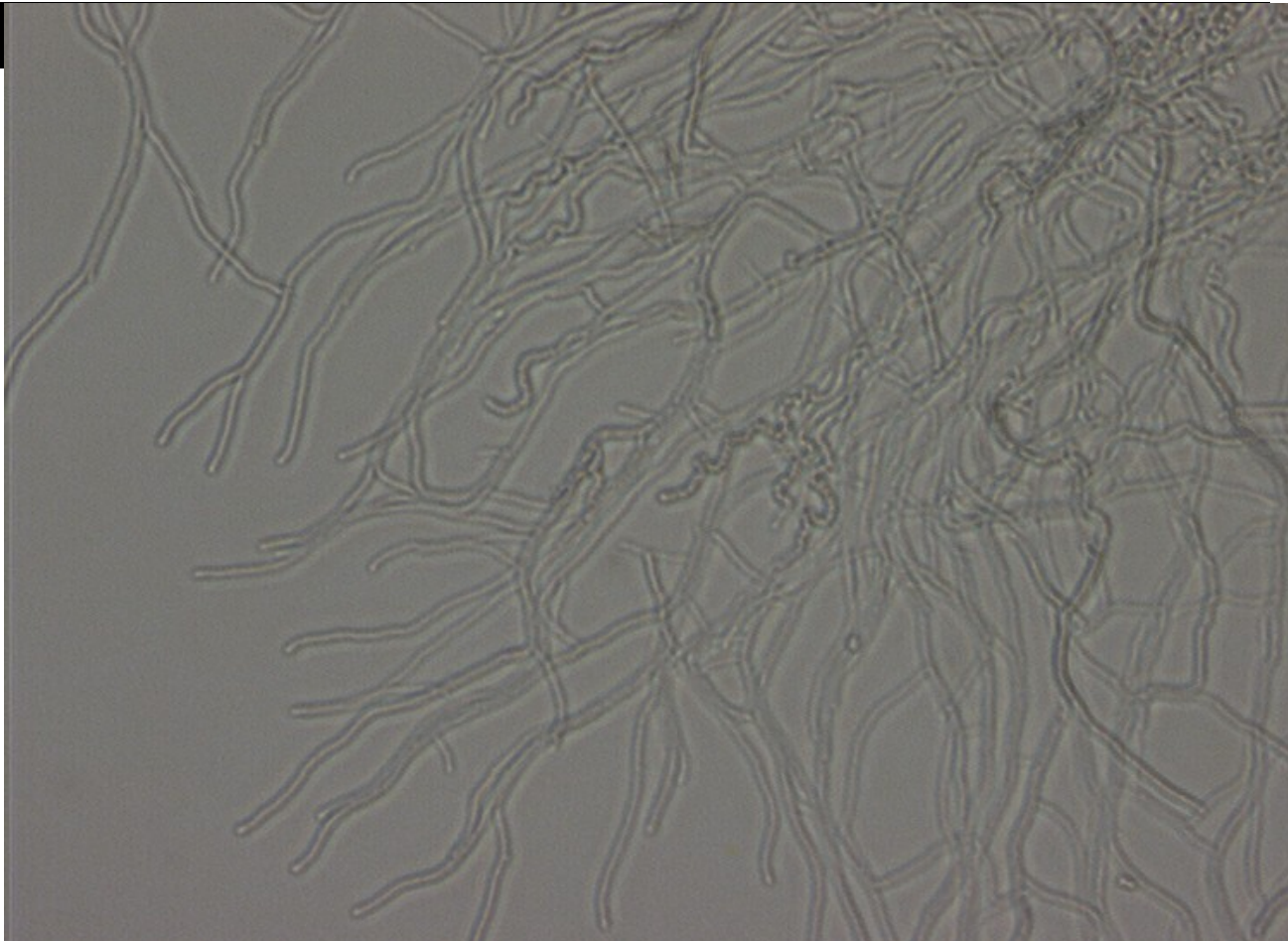


Nomarského DIC



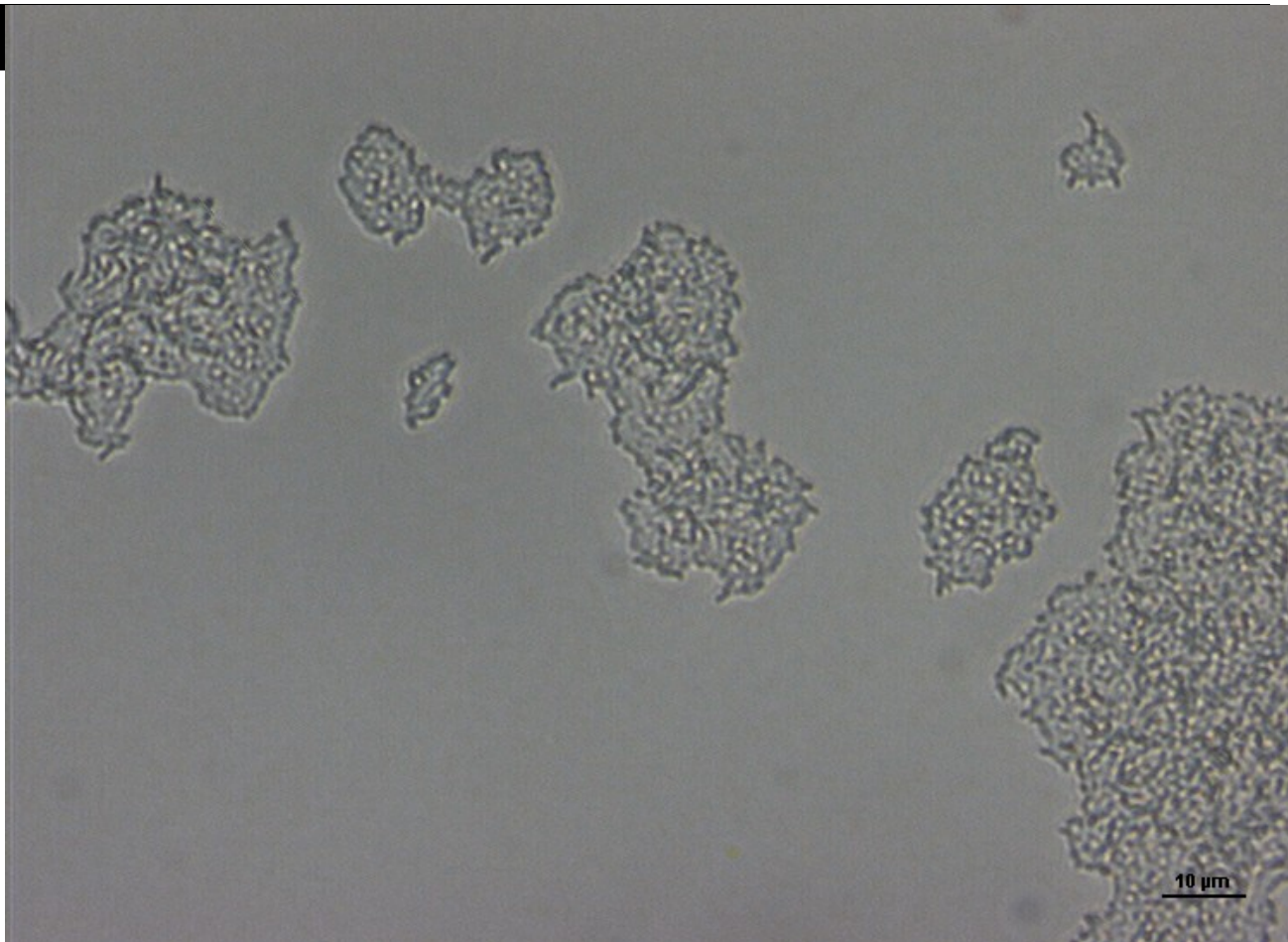
***Nocardia carnea* CCM 2756**

Kultivace na krycím skle 6 dní 30°C, nativní preparát, vzdušné mycelium a řetízky spor, nomarského DIC



***Rhodococcus erythropolis* CCM 277**

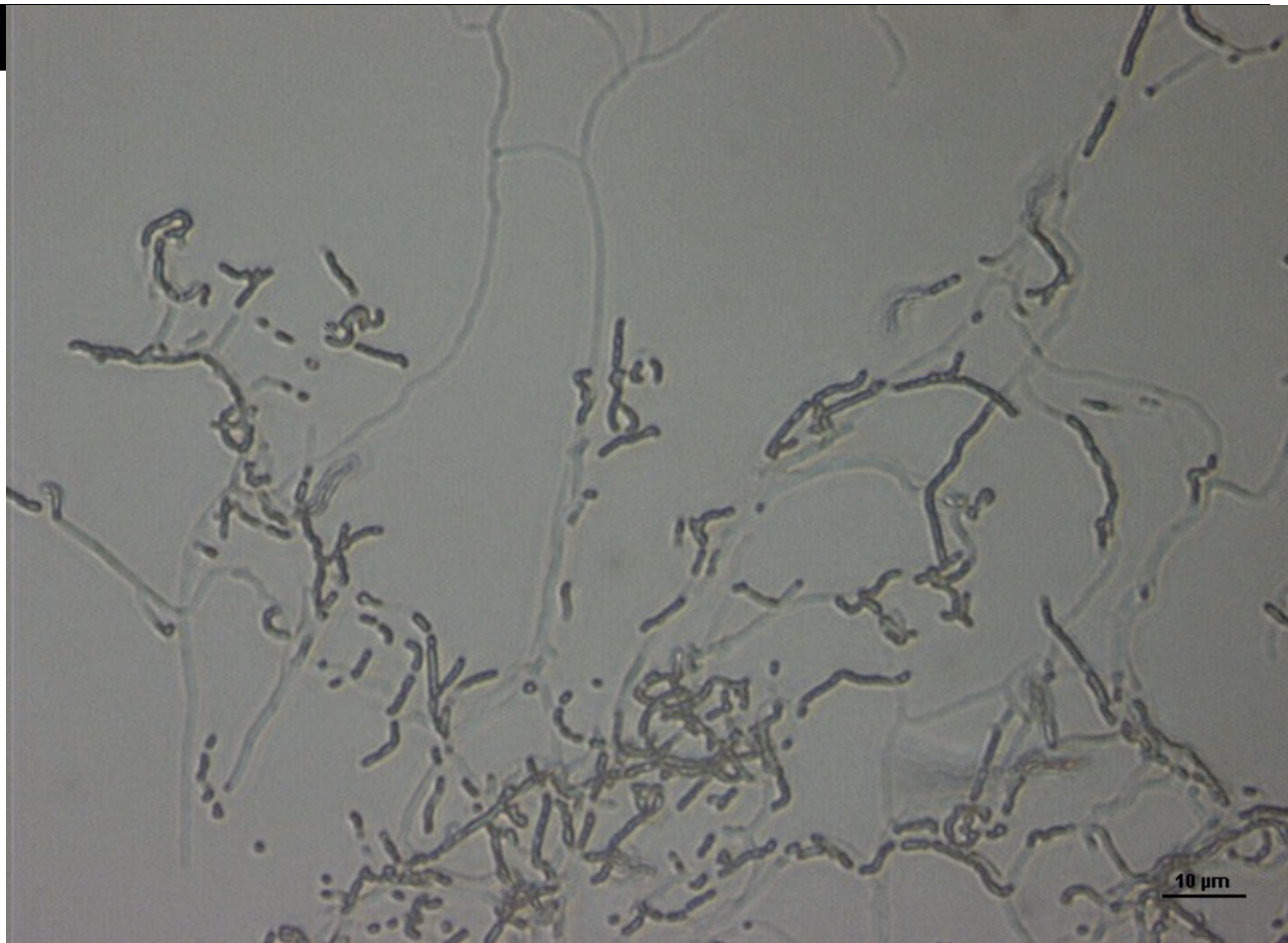
Kultivace na krycím skle 6 dní 30°C, nativní preparát, nepravidelné shluky buněk, nomarského DIC



kmen Actinobacteria, čeleď Streptomycetaceae, rod Rhodococcus

***Streptomyces griseus* CCM 3362**

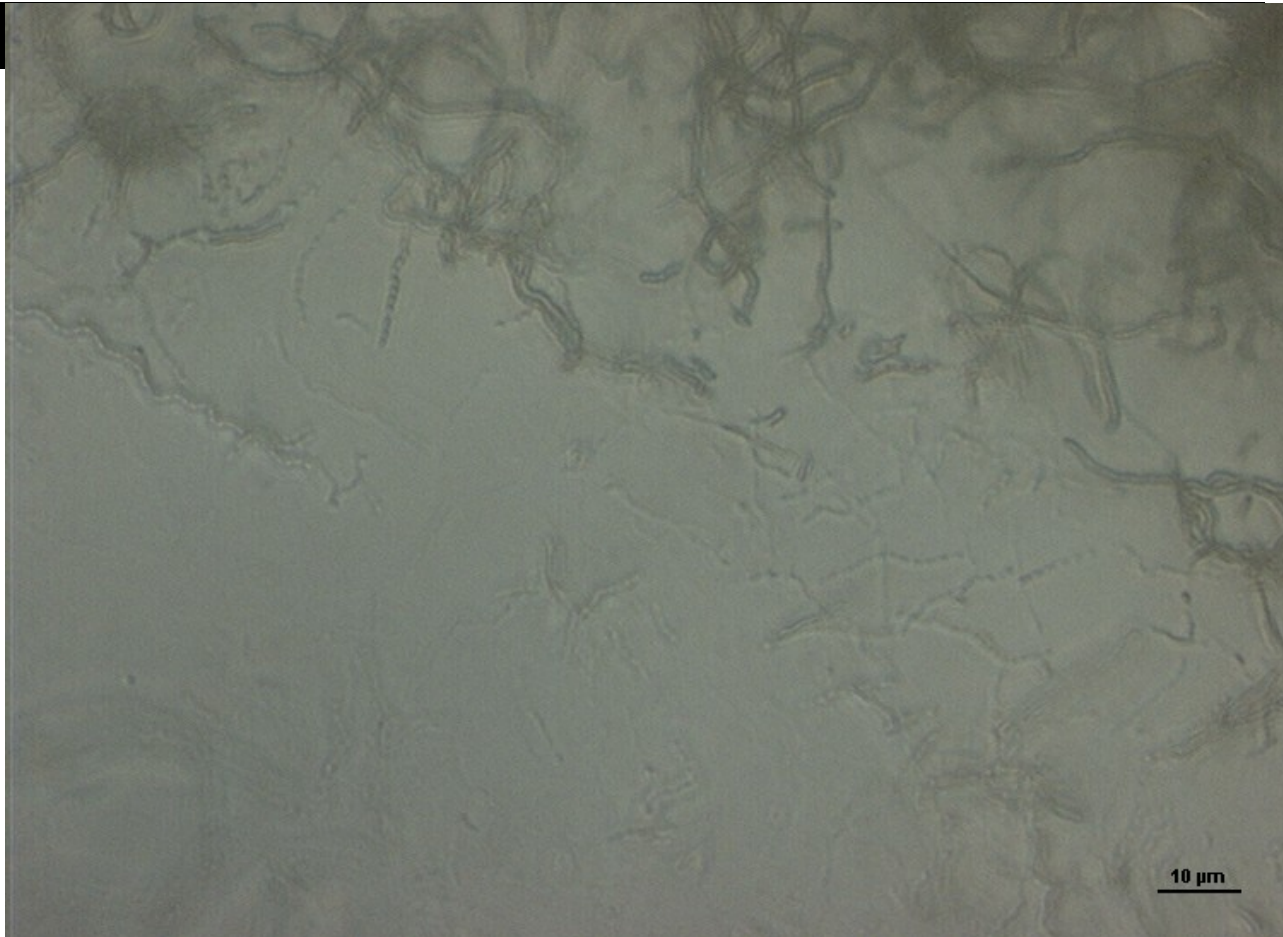
Kultivace na krycím skle 6 dní 30°C, nativní preparát, vzdušné mycelium a řetízky spor, nomarského DIC



kmen Actinobacteria, čeleď Streptomycetaceae, rod Rhodococcus

***Streptomyces griseus* CCM 3362**

Kultivace ve vlhké komůrce 6 dní 30°C, nativní preparát, vzdušné mycelium a řetízky spor, hybridní technika mikroskopování



Pozorování pohybu bakteriální buňky

- Důležité je především rozlišit pohyb buněk od Brownova pohybu
- Brownův pohyb je nahodilý a pohyb buněk je většinou přímočarý skrze zorné pole mikroskopu