

# Histologie a organologie cvičení Bi2080c

Vyučující: MVDr. Mgr. Monika Dušková, Ph.D.

Kancelář: A36/109, [duskova@sci.muni.cz](mailto:duskova@sci.muni.cz)

Požadavky na zápočet:

- Účast ve cvičení
  - Uznané všechny protokoly
  - Průběžné hodnocení: písemka v každém cvičení – 5 otázek, max 5 bodů limit 2 body
- Kdo nesplní limit z některé písemky, píše toto téma znovu při zápočtovém řízení
- Zápočtové řízení: poznávačka 2 preparátů přímo v mikroskopu (poznat, popsat, vysvětlit)

# Princip stavby živočišného organismu

## Stavba těla živočichů



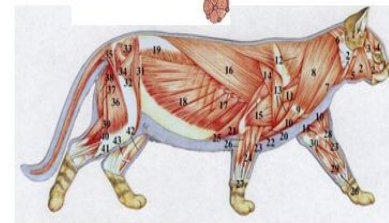
buňka



tkáň



orgán



orgánová soustava



organismus

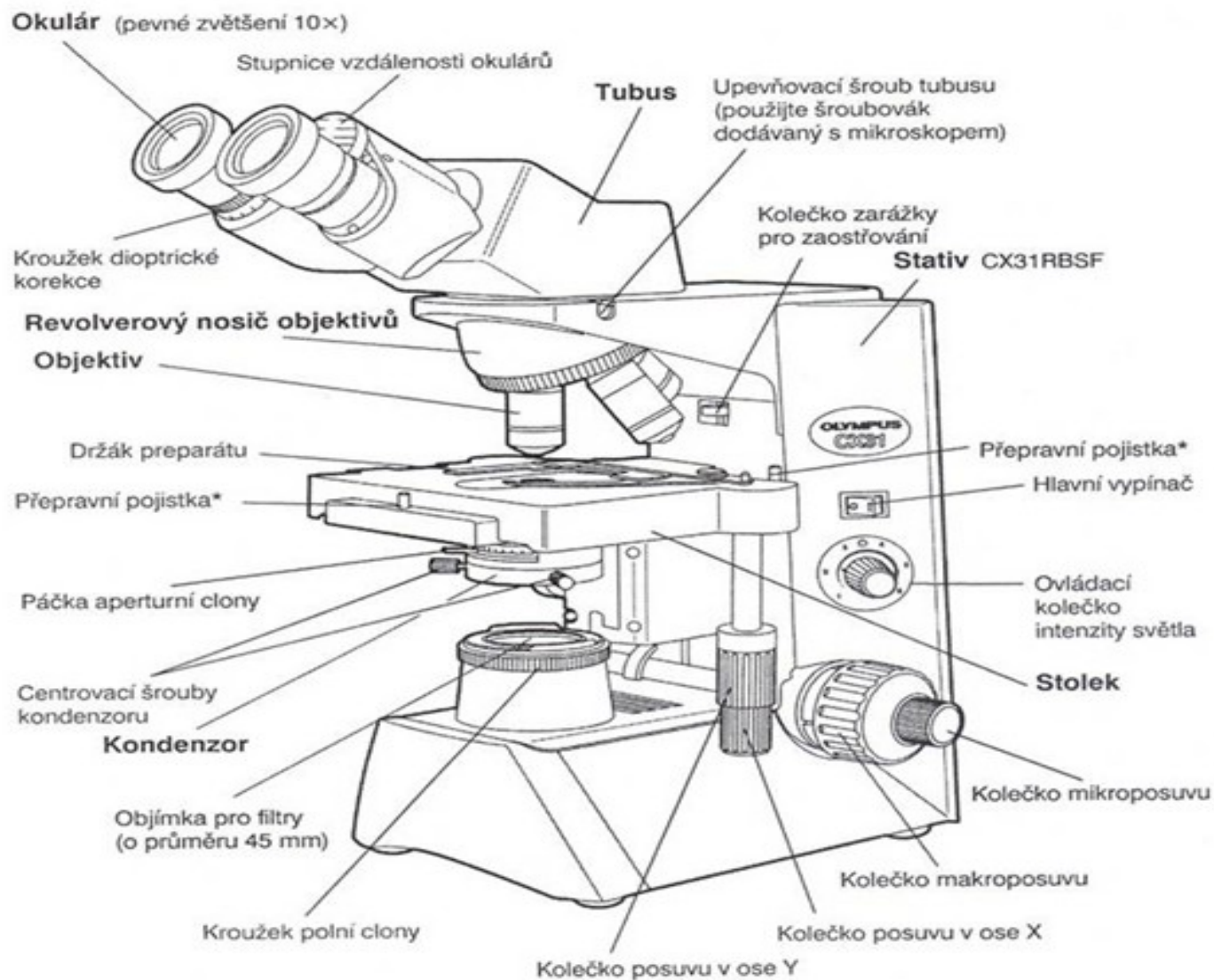
Tkáň – orgán – orgánová soustava

**Tkáň: soubor buněk se stejnou morfologií a funkcí**

**Orgán: je soubor tkání, jednotlivé typy tkání mohou být zastoupeny v různém poměru, většinou jeden typ tkáně má hlavní funkci**

**Orgánová soustava: soubor orgánů, které vykonávají společnou funkci**

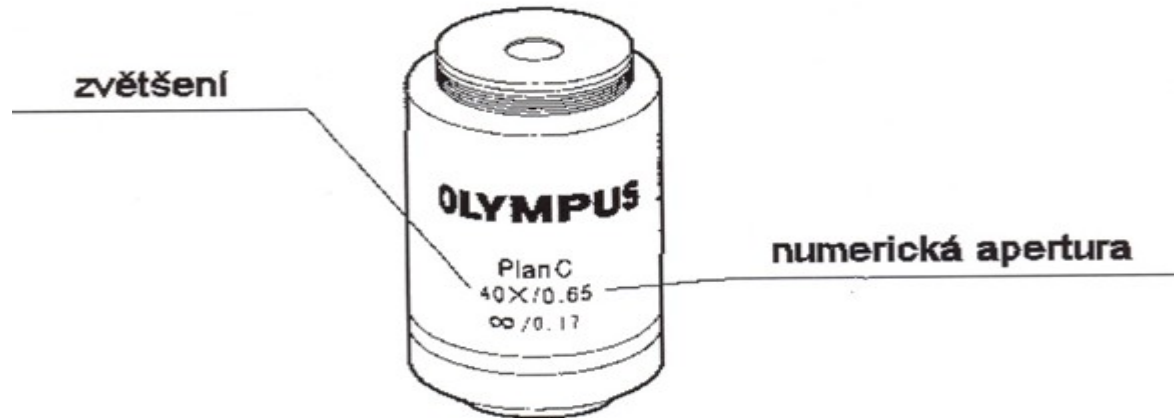
# Mikroskop Olympus



# Části mikroskopu

- **Mechanické:** podstavec, nosič, tubus, revolverový měnič objektivů, stolek s křížovým posuvem, mikrošroub, makrošroub
- **Osvětlovací:** zdroj světla, kondenzor, clona polní, clona aperturní
- **Optické:** okulár, objektiv

# Objektiv



**Rozlišovací schopnost:** nejmenší vzdálenost dvou bodů, které vnímáme jako oddělené  
 $d = \lambda/NA$ , kde lambda je vlnová délka použitého záření.

Lidské oko: 0,2 mm

Světelný mikroskop: 0,2  $\mu\text{m}$

Elektronový mikroskop: 0,2 nm !

**Numerická apertura:**  $NA = n \cdot \sin\alpha$ , kde n je index lomu prostředí a  $\alpha$  je tzv. otvorový úhel, který svírají dva nejkrajnější paprsky, které se ještě dostanou do sběrné čočky objektivu.

Více zvětšující objektivy mají vyšší hodnoty NA

**Pracovní vzdálenost:** vzdálenost mezi preparátem a spodní (sběrnou) čočkou objektivu

**Celkové zvětšení:** součin zvětšení objektivu a okuláru

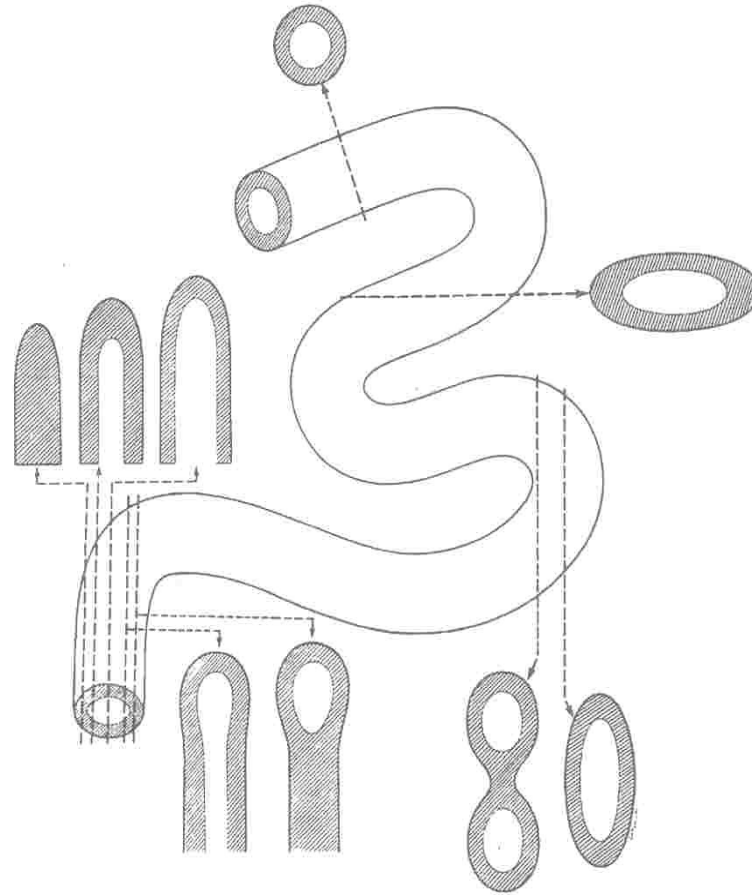
## Postup při mikroskopování

- zkontrolujeme mikroskop.
- zkontrolujeme preparát okem (proti světlu) – získáme orientační představu o počtu, umístění, velikosti mikroskopovaných objektů. Případně preparát očistíme (alkoholéther, alkohol).
- umístíme preparát krycím sklem nahoru na stolek, přichytíme svorkou. Stolek pomocí makrošroubu posuneme úplně nahoru až na doraz.
- začínáme mikroskopovat nejmenším objektivem (10x) tak, že se díváme do okuláru a pomocí makrošroubu pomalu pohybujeme stolek dolů až do okamžiku, kdy je obraz ostrý.
- chceme-li větší zvětšení, už neděláme nic s makrošroubem, pouze měníme objektivy a doostřujeme mikrošroubem. Stolek s preparátem tak zůstává v rovině ostrosti a už s ním nehýbeme, jinak by hrozilo proražení preparátu!

## Dobré rady na začátek I:

- Okulár: nastavitelná rozteč okulárů – upravit podle svých očí
- Očnice (gumové) – brání průchodu bočních paprsků do zorného pole oka, neohýbat je
- Objektiv: umístěn na revolverovém nosiči, existují suché a ponorné ( ty se používají se spolu s olejem a musí se po použití očistit rozpouštědlem) Pozor, aby objektiv byl přesně v optické ose, jinak není zorné pole osvětlené.
- Světlo – po zapnutí vypínače lze intenzitu regulovat kolečkem pod vypínačem
- Clony – jejich používání reguluje množství světla, které vstupuje do preparátu: polní clona (dole na zdroji světla), aperturní clona (na kondenzoru – malá páčka)
- Kondenzor: čím silnější objektiv, tím výše dát kondenzor (kolečko nalevo pod stolkem) a aperturní clonu nastavit ideálně na 80% numerické apertury objektivu
- Celkové zvětšení: vypočte se jako součin zvětšení okuláru (10x) a objektivu – napsáno na něm. 40x, 100x, 400x, 1000x (toto pouze s olejem. Imerzní objektiv).

# Jak může vypadat trubicovitý útvar



Obr. 1-6. Rozličný vzhled průřezů orgánem tvaru trubice. Šípky ukazují to, co je vidět v mikroskopu na úrovni jednotlivých rovin řezu.



# Práce s imerzním objektivem

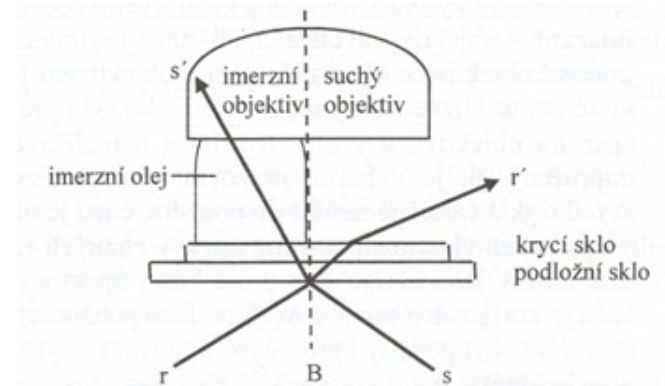
Imerzní – ponorný, označení černo – bílý pruh

**Nikdy nedávat imerzní olej na jiný než černo-bílý objektiv !!!**

## Správný postup při použití imerze:

1. Zaostrit sledovaný detail v preparátu pomocí objektivu 40x (modrého)
2. Revolverový nosič objektivů dát do mezipolohy
3. Do středu zorného pole kápnout přímo na preparát malou kapku imerzního oleje
4. Opatrně posunout do pracovní polohy objektiv 100x (černo-bílý). Kontrolovat pohledem z boku! Kapka oleje musí vyplnit prostor mezi čočkou objektivu a preparátem (objektiv se ponoří do oleje).
5. Doostřit mikrošroubem. Pozor už se nesmí pohybovat makrošroubem, hrozí proražení preparátu.

**Čištění:** očistit spodní čočku imerzního objektivu i preparát alkohol : éter 3 : 7. Provádět na konci cvičení (fuj, smrdí)



# Příprava trvalých preparátů

**Odběr tkáně:** tkáňový bloček do 1 cm<sup>3</sup>

**Fixace:** formaldehyd, etylalkohol, ledová kyselina octová

**Vypírání:** odstranit zbytky fixačního činidla

**Zalévání:** odvodnění vzestupnou alkoholovou řadou, parafin

**Krájení:** mikrotom

**Barvení:** odparafinování, zavodnění sestupnou alkoholovou řadou, hematoxylin – eozin, impregnace solemi stříbra

**Uzavírání:** montování, kanadský balzám

***Podrobnosti v textu na ISu „Práce s mikroskopem, morfologie buněk“***

# Úkoly:

- Seznámit se s obsluhou mikroskopu
- Naučit se pracovat s imerzním objektivem
- **Příští týden písemka:** teorie k mikroskopu a přípravě preparátů