

Biologinių objektų fluorescencinė mikroskopija

Darbo užduotys:

1. Ardymo-surinkimo būdu susipažinti su fluorescencinio mikroskopo Liomam-2 principine optine schema (pasidaryti jos brėžinį).
2. Sukalibruoti mikroskopo didinimą.
3. Pasigaminti/pasiruošti bandinius mikroskopijai: a) svogūno lukšto atplaišą; b) špinato lapo gabalėlį; c) vienaląsčių dumblių ląsteles; ar kitų dėstytojo nurodytų objektų.
4. Užregistruoti pagamintų bandinių mikroskopinius vaizdus CCD kamera, naudojant 10x, 20x ir 40x didinantį objektyvą.
5. Surasti lapo žioteles ir chloroplastus, apskaičiuoti vidutinį vienaląsčių dumblių ląstelių dydį.
6. Užregistruoti vienaląsčių dumblių bandinio mikroskopinius fluorescencijos vaizdus CCD kamera, naudojant tuos pačius didinimus, kaip fazinio kontrasto atveju.

Darbo eiga:

1. Susipažįstame su mikroskopo sandara ir nusibraižome mikroskopo optinę principinę schemą (išsiaiškinti, kam reikalingi visi elementai!).
2. Paleidžiame vaizdų registravimo programą Qcapture ir užregistruojame žinomo dydžio objekto, kurį nurodo dėstytojas, vaizdus Qimaging kamera su įvairiais objektyvais ir sukaliuojame mikroskopo didinimą.
3. Svogūno lukšto atplaišą padedame ant objektinio stikliuko, ant viršaus uždėdame dengiamąjį stikliuką ir priklijuojame lipnia juosta.
4. Du žaliosios špinato lapo dalies gabalėlius padedame ant objektinio stikliuko (skirtingomis pusėmis į viršų), ant viršaus uždėdame dengiamąjį stikliuką ir priklijuojame lipnia juosta.
5. Užregistruojame vaizdus Qimaging kamera. Atliekame tai, parinkdami įvairius didinimus ir ekspozicijos trukmes.
6. Tiriant dumblių ląsteles esančias tirpale: užlašiname lašą tirpalo ant objektinio stikliuko ir uždėdame dengiamąjį stikliuką.
7. Užregistruojame fluorescuojančių ląstelių vaizdus fazinio kontrasto ir fluorescencijos režimais, parinkdami įvairius didinimus ir ekspozicijos trukmes.
8. Apskaičiuojame vidutinį dumblių ląstelių dydį.

Klausimai:

1. Kam reikalingas mikroskopo objektyvas ir dichroinis veidrodis?
2. Kam reikalingi spalviniai filtrai žadinimo ir detekcijos šakose?
3. Kokią procedūrą vadiname mikroskopo kalibravimu?
4. Kokias struktūras matome lape? Kokias svogūno lukšte?
5. Kaip reikia pakeisti kameros ekspozicijos trukmę, pasirinkus didesnio didinimo objektyvą, ir kodėl?
6. Kas yra fluorescencija?

7. Kuo fluorescencinis mikroskopas skiriasi nuo optinio?