

OBSAH

Strana

Metody mikroskopického výzkumu buněk a tkání živočichů

Úvod.	7
1. Mikroskopie.	11
1.1. Světelný mikroskop.	11
1.2. Pracovní postup při použití světelného mikroskopu.	13
2. Typy mikroskopů	14
2.1. Temné pole (zástin)	15
2.2. Fázový kontrast.	15
2.3. Polarizační mikroskop	17
2.4. Nomarského diferenciální interferenční kontrast.	17
2.5. Fluorescenční mikroskop	18
2.6. Konfokální mikroskop	20
3. Elektronová mikroskopie	21
3.1. Transmisní elektronový mikroskop	21
3.2. Řádkovací (rastrovací) elektronový mikroskop	23
3.3. Preparáty pro elektronovou mikroskopii	23
4. Rekonstrukce biologických objektů	24
5. Pozorované objekty	26
5.1. Nativní preparáty	27
5.2. Vitální barvení	28
5.3. Izolace, separace a disociace buněk	28
5.3.1. Mechanické postupy	28
5.3.2. Chemické postupy	28
5.3.3. Disociace buněk zárodku obojživelníků	29
5.3.4. Dezintegrace buněčných tkání	29
5.4. Tkáňové kultury	30
5.5. Frakcionace buněk a jejich složek	33
5.5.1. Tkáňové homogenáty	33
5.5.2. Ultracentrifugace, diferenciální odstředování	33
6. Pozorování fixovaných objektů a jejich struktur	34
6.1. Nátěry a roztlaky	34
6.2. Totální mikroskopické preparáty	35
6.3. Řezové mikroskopické preparáty	36
6.3.1. Příprava řezových preparátů	36
6.3.2. Barvení řezových preparátů	38
7. Speciální metody detekce buněčných struktur	39
7.1. Detekce maternální kontroly vývoje	39
7.1.1. Vitální barvení oocytů	40
7.1.2. Imunofluorescence a vitální barvení	40
7.1.3. Imunocytochemické a cytochemické metody pozorování struktur totálních preparátů	41
7.1.4. Autoradiografie	43

B. BUŇKY ŽIVOČICHŮ 47

8. Organizace živočišných buněk	47
8.1. Živočišné a rostlinné buňky	47

8.2.	Tvary buněk	48
8.3.	Velikost buněk	53
9.	Plazmatická membrána.	53
9.1.	Fagocytóza.	56
9.2.	Histochemická detekce cukerných složek plazmatické membrány pomocí lektinů	56
10.	Endoplazmatické retikulum	59
10.1.	Pozorování endoplazmatického retikula	59
11.	Golgiho komplex	61
11.1.	Pozorování Golgiho komplexu	62
11.1.1.	Znázornění Golgiho komplexu stříbřením	62
11.1.2.	Znázornění Golgiho komplexu metodou Da Fano	63
11.1.3.	Impregnace Golgiho komplexu	63
12.	Mitochondrie	63
12.1.	Pozorování mitochondrií	65
12.1.1.	Trvalé preparáty mitochondrií	66
12.1.2.	Vitální barvení mitochondrií	66
13.	Lyzozómy	67
14.	Cytozómy	68
15.	Cytoskelet	68
15.1.	Mikrofilamenta.	69
15.2.	Střední filamenta	70
15.3.	Mikrotubuly	72
15.4.	Cytoskeletální motory	74
15.5.	Mikroskopické pozorování cytoskeletu.	75
15.5.1.	Mikrofilamenta buněk tkáňových kultur	75
15.5.2.	Detekce cytoskeletálních proteinů protilátkou.	76
15.5.2.1.	Izolace tubulinu	76
15.5.2.2.	Produkce polyklonální protilátky	76
15.5.2.3.	Příprava gamaglobulinové frakce krevního séra.	76
15.5.2.4.	Visualizace tubulinu imunofluorescencí	77
15.5.2.5.	Metody nepřímé fluorescence	77
15.5.2.6.	Mikrotubuly buněk v buněčné kultuře	77
15.5.2.7.	Cytoskelet krevních buněk	77
15.5.2.8.	Mikrotubulární struktury na řezových preparátech oocytů a zárodků drápatky vodní	78
15.5.2.9.	Motorické proteiny mikrotubulů.	80
16.	Centrioly	81
16.1.	Pozorování centriol	82
17.	Buněčné inkluze	82
17.1.	Proteinové inkluze	82
17.2.	Lipidické inkluze	84
17.2.1.	Barvení lipidických inkluzí	84
17.3.	Glykogenové inkluze	85
17.3.1.	Barvení glykogenových inkluzí	86
17.4.	Pigmentové inkluze	86
17.5.	Keratohyalinové inkluze	87
18.	Buněčné jádro (nukleus)	88
18.1.	Demonstrace buněčného jádra	91
18.1.1.	Izolace zárodečného měchýřku	92
18.1.2.	Izolace buněčných jader ve vodním prostředí	92
18.1.3.	Barvení jader metylovou zelení - pyroninem	92
18.1.4.	Barvení struktur jádra obsahujících RNA	93
19.	Chromozómy	93