

Фіксація та фарбування



Biology

Microscopy / Cell Biology

Basics of Microscopy & Work Technology



Рівень складності

легко



Розмір групи

-



Час підготовки

10 хвилини



Час виконання

30 хвилини

This content can also be found online at:

<http://localhost:1337/c/64ca3416993eb60002c032ac>

PHYWE

Інформація для вчителів



Опис

PHYWE



Біологічні об'єкти досить швидко змінюються і розкладаються після того, як їх відокремлюють від живого організму. Для підтримання відносно природного стану необхідно використовувати хімічні речовини для затвердіння (денатурації) білка протоплазми. Цей процес називається фіксацією. Фіксація здійснюється для виготовлення постійних препаратів тривалого зберігання. Перед початком цих процедур препарати мають бути розрізані або підготовлені, залежно від матеріалу, щоб зробити їх проникними для світла.

Додаткова інформація для вчителів (1/5)

PHYWE

попередні знання



Учні мають бути знайомі з основними вимогами до біологічних об'єктів, що використовуються для мікроскопії. Вони також мають знати, як виконувати поперечні зрізи та фарбування препаратів.

Принцип



Учні дізнаються, як забарвлюється і фіксується біологічний об'єкт. Крім усього іншого, з нього виробляються постійні препарати.

Додаткова інформація для вчителів (2/5)

PHYWE

Мета



Учні мають навчитися робити фіксацію та дренаж зневоднення без фарбування, а також робити фіксацію за допомогою фарбування.

Завдання



1. Фіксація і зневоднення без фарбування
2. Фіксація за допомогою фарбування

Додаткова інформація для вчителів (3/5)

PHYWE

Зауваження щодо закупівлі матеріалів

Усі описані в цьому посібнику об'єкти здебільшого придатні для підготовки постійних препаратів. Тому інформацію щодо закупівлі матеріалів можна знайти в різних інструкціях. Дуже тонкі, а отже, якісні препарати можна виготовити за допомогою мікротома, а потім законсервувати, як описано нижче. У навчальних закладах такі ріжучі інструменти для приготування зрізів, як правило, недоступні, тому учням доводиться виконувати якомога тонші зрізи вручну та виготовляти препарати шляхом зняття шкірки за допомогою представлених у посібнику методик. Учні досягають успіху в цьому лише з певною практикою. Тому дуже важливо допомогти учням набути досвіду в мікроскопуванні, необхідного при підготовці постійних препаратів тривалого зберігання.

Додаткова інформація для вчителів (4/5)

PHYWE

Інструкції з виконання роботи (1/2)

Описані тут і на сторінці для учнів об'єкти слід розглядати як приклади. На ринку існують різні хімічні речовини (реагенти) для фіксації, деякі з яких є токсичними або канцерогенними.

Простим методом фіксації є денатурація (згортання) етанолом, який також використовується для зневоднення, яке відбувається у висхідному спиртовому ряду. При зневодненні об'єкти "проводять" по батареї спиртів зростаючої концентрації (70-100%). Якщо помістити об'єкти безпосередньо в безводний спирт, то внаслідок зміни концентрації (перенесення в спирт високої концентрації) сильна різниця в концентрації призведе до усадки, зморщування і деформації тканин. Зазначений час витримки поширюється тільки на тонкі та дрібні препарати. Для більших об'єктів завжди слід збільшити концентрацію спирту і подовжити час перебування (витримки) до декількох годин.

Інша інформація для вчителів (5/5)

PHYWE

Інструкції з виконання роботи (2/2)

Фіксація та зневоднення без фарбування

Перед початком роботи учні повинні мати всі необхідні матеріали, а також бути ознайомлені, як відбувається заливка препарату в Канадський бальзам (Canada Balsam). Для перших спроб рекомендується використовувати частини комах (крила мухи). Незважаючи на те, що ці матеріали вже досить сухі, найменші сліди води можуть зіпсувати препарат тривалого зберігання.

Фіксація за допомогою фарбування

Ця процедура особливо важлива для попередньої підготовки тонких препаратів. Мікроорганізми (водяні блохи тощо) підходять як первинні м'які зоологічні препарати. Також можна взяти невеликі шматочки зразків тканин (м'язова тканина) і повністю зневоднити їх. У результаті цього шматочки затвердіють. Перед включенням тканин до канадського бальзаму вони використовуються для приготування мікропрепаратів або препаратів шляхом зняття шкірки.

Вказівки з безпеки (1/3)

PHYWE



- Будьте уважні! В кінці заняття порахуйте кількість лез скальпеля, щоб уникнути нещасних випадків!
- Етанол та ізопропанол легкозаймисті. Погасіть все відкрите полум'я.
- Одягайте захисні окуляри!

Правила роботи з небезпечними речовинами наведено у відповідних паспортах безпеки.

Етанол (Етиловий спирт)

H225: Рідина і пара дуже легкозаймисті.

P210: Зберігати подалі від тепла, гарячих поверхонь, іскор, відкритого полум'я та інших джерел займання. Не паліть.

Вказівки з безпеки (2/3)

PHYWE



Правила роботи з небезпечними речовинами наведено у відповідних паспортах безпеки.

Ізопропан (Ізопропіловий спирт):

H225: Рідина і пара дуже легкозаймисті.

H319: Викликає сильне подразнення очей.

H336: Може викликати сонливість і запаморочення.

P210: Зберігати подалі від тепла, гарячих поверхонь, іскор, відкритого полум'я та інших джерел займання. Не паліть.

P305 + P351 + P338: У разі потрапляння в очі: обережно промийте кілька хвилин водою. За можливості зніміть усі контактні лінзи.

Вказівки з безпеки (3/3)

PHYWE



Правила роботи з небезпечними речовинами наведено у відповідних паспортах безпеки.

Ротихістол:

H226: Легкозаймиста рідина і пара.

H315 + H317: Викликає подразнення шкіри. Може викликати алергічні реакції шкіри.

H304: Може бути смертельним, якщо його проковтнути і вдихати.

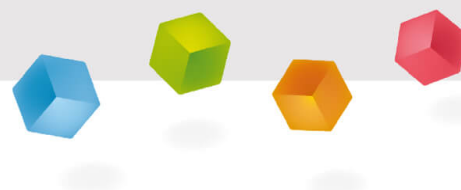
H400 + H410: Дуже токсичний для водних організмів. Дуже токсичний для водних організмів з довготривалим ефектом.

P301 + P310: Якщо проковтнули: Негайно зателефонуйте до токсикологічного інформаційного центру, лікарю або ...

P303 + P361 + P353: Контакт зі шкірою (або волоссям): Негайно видаліть весь забруднений одяг. Вимийте шкіру водою / прийми душ.

P210: Зберігати подалі від тепла, гарячих поверхонь, іскор, відкритого полум'я та інших джерел займання. Не паліть.

PHYWE



Інформація для учнів

Мотивація

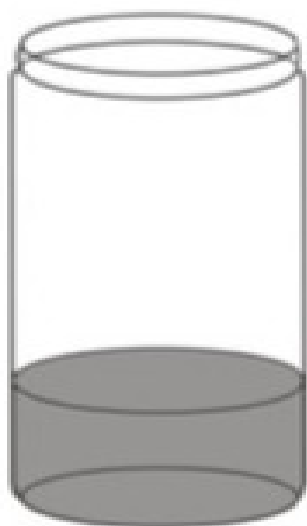
PHYWE



Біологічні об'єкти досить швидко змінюються і розкладаються після того, як їх відокремлюють від живого організму. Для підтримання відносно природного стану необхідно використовувати хімічні речовини для затвердіння (денатурації) білка протоплазми. Цей процес називається фіксацією. Фіксація здійснюється для виготовлення постійних препаратів тривалого зберігання. Перед початком цих процедур препарати мають бути розрізані або підготовлені, залежно від матеріалу, щоб зробити їх проникними для світла.

Завдання

PHYWE



1. Фіксація і зневоднення без фарбування
2. Фіксація за допомогою фарбування

Матеріал

PHYWE

Позиція	Матеріал	Пункт №.	Кількість
1	Пінцет, прямий, загострений, l=120 мм	64607-00	1
2	Препараційна голка, загострена, пластикова ручка	64620-00	1
3	Склянки з обідком, d = 30 мм, h = 50 мм, 10 шт.	33624-03	1
4	Склянка для реактивів, вузького горла, прозора, з різьбовою кришкою, 30 мл, SV	46190-00	6
5	Препараційна голка, ланцетоподібна, пластикова ручка	64621-00	1
6	Воронка, пластмасова, d=50 мм, PP	36890-00	1
7	Кульова піпетка, стандартна модель до 25 мл 3 клапани	47127-03	1
8	Градуйована піпетка, 10 мл	36600-00	1
9	Етикетки для мікропрепаратів, 120 шт.	64703-00	1
10	Набір хімічних реактивів для TESS advanced Біологія "Мікроскопія"	13290-10	1

Здійснення (1/2)

PHYWE

Фіксація і зневоднення без фарбування

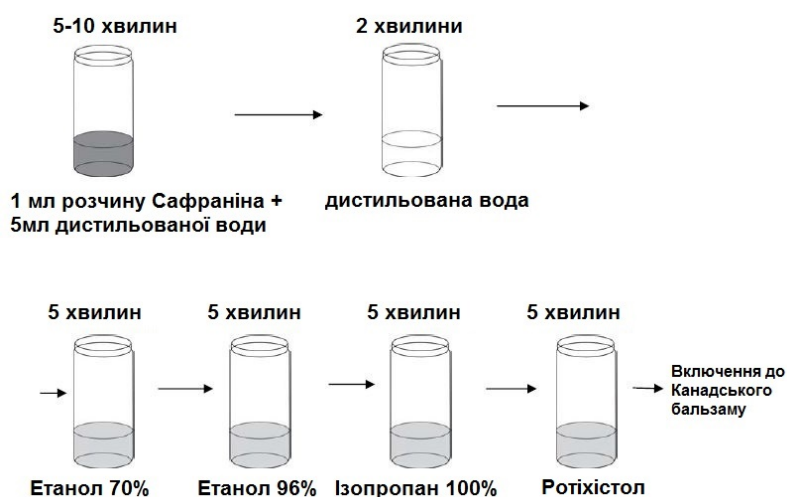
- Банки з вказаними речовинами надаються в зазначеному порядку. Висота заповнення: приблизно одна чверть.
- Кришки залишаються закритими до початку дренажу, щоб уникнути випаровування речовин.



Здійснення (2/2)

Фіксація за допомогою фарбування

- Банки з вказаними речовинами надаються в зазначеному порядку. Висота заповнення: приблизно одна чверть.
- Кришки залишаються закритими до початку дегідратації, щоб уникнути випаровування речовин.
- Переміщення зі склянки в склянку здійснюється обережно за допомогою пінцета.



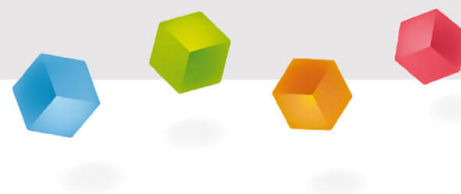
Здійснення (2/2)

Фіксація за допомогою фарбування

- Банки з вказаними речовинами надаються в зазначеному порядку. Висота заповнення: приблизно одна чверть.
- Кришки залишаються закритими до початку дегідратації, щоб уникнути випаровування речовин.
- Переміщення зі склянки в склянку здійснюється обережно за допомогою пінцета.



PHYWE



Протокол

Завдання 1

PHYWE

Виберіть правильні твердження

- ☐ Щоб зберегти природний стан, білок протоплазми повинен затвердіти (денатуруватися) за допомогою хімічних речовин.
- ☐ Перед початком роботи з препаратами їх необхідно зробити напівпрозорими, розрізавши або препарувавши.
- ☐ Фіксація виконується для виготовлення препаратів з дуже коротким терміном зберігання.
- ☐ Щоб біологічні об'єкти не змінювалися і не розкладалися, їх фіксують.

✓ Перевірити

Завдання 2

PHYWE

Метод фіксації та зневоднення без фарбування особливо підходить для частин комах, що містять хітин, а також для тонких ділянок деревини або пробки, які вже мають оптично розпізнавану структуру. Спирт видаляє воду зі зразка, щоб його можна було помістити в канадський бальзам.

☐ правильно

☐ неправильно

✓ Перевірити

Фіксація з фарбуванням підходить для зоологічних або ботанічних зразків, які ще не дуже добре структуровані оптично. Препарування (розрізання, відщипування тощо) можна проводити перед фіксацією або після неї, перед заливкою в канадський бальзам.

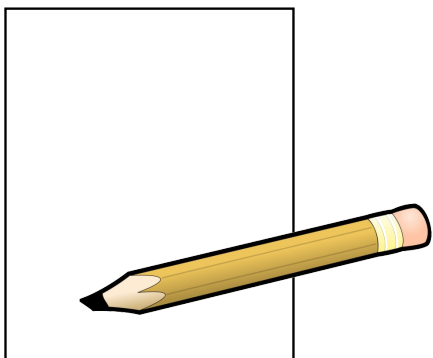
☐ правильно

☐ неправильно

Завдання 3

PHYWE

Обговоріть з однокласниками, з якими труднощами Ви зіткнулися під час підготовки. Спробуйте вирішити їх, обмінюючись інформацією.



Слайд

Оцінка / Усього

Слайд 19: Підготовка

0/3

Слайд 20: Численні завдання

0/2

Загальна сума

 0/5 Рішення Повторити