



Prezentačný deň vedy Výskumného centra AgroBioTech



Nitra, 18.05.2016





Laboratórium mikroskopických analýz

Možnosti využitia pre riešenie základných a aplikovaných vedecko-výskumných projektov

Ing. Jaromír Vašíček PhD., Ing. Lenka Kuželová, PhD.



Nitra, 18.05.2016

Výskumné zameranie laboratória

Živočíšne genetické zdroje (čerstvé a mrazené vzorky):

- **Analýza kvality ejakulátu hospodárskych zvierat**
- **Analýza kvality embryí hospodárskych zvierat**
- **Analýza kvality dospelých kmeňových buniek hospodárskych zvierat**

- **Plánujeme tiež analýzy rastlinných a mikrobiálnych vzoriek a analýzy pre potravinársky priemysel**

Prístrojové vybavenie laboratória:

- Ultramikrotóm LEICA EM UC7
- Kryotóm LEICA CM 1950
- Laboratórny digestor 2, typ DS1
- Optický svetelný mikroskop NICON ECLIPSE E100
- Invertný fluorescenčný mikroskop LEICA DMI 6000B s kamerou DCF 345 FX
- Transmisný elektrónový mikroskop JEM-2100 JEOL

Prístrojové vybavenie laboratória:

Ultramikrotóm



Kryotóm



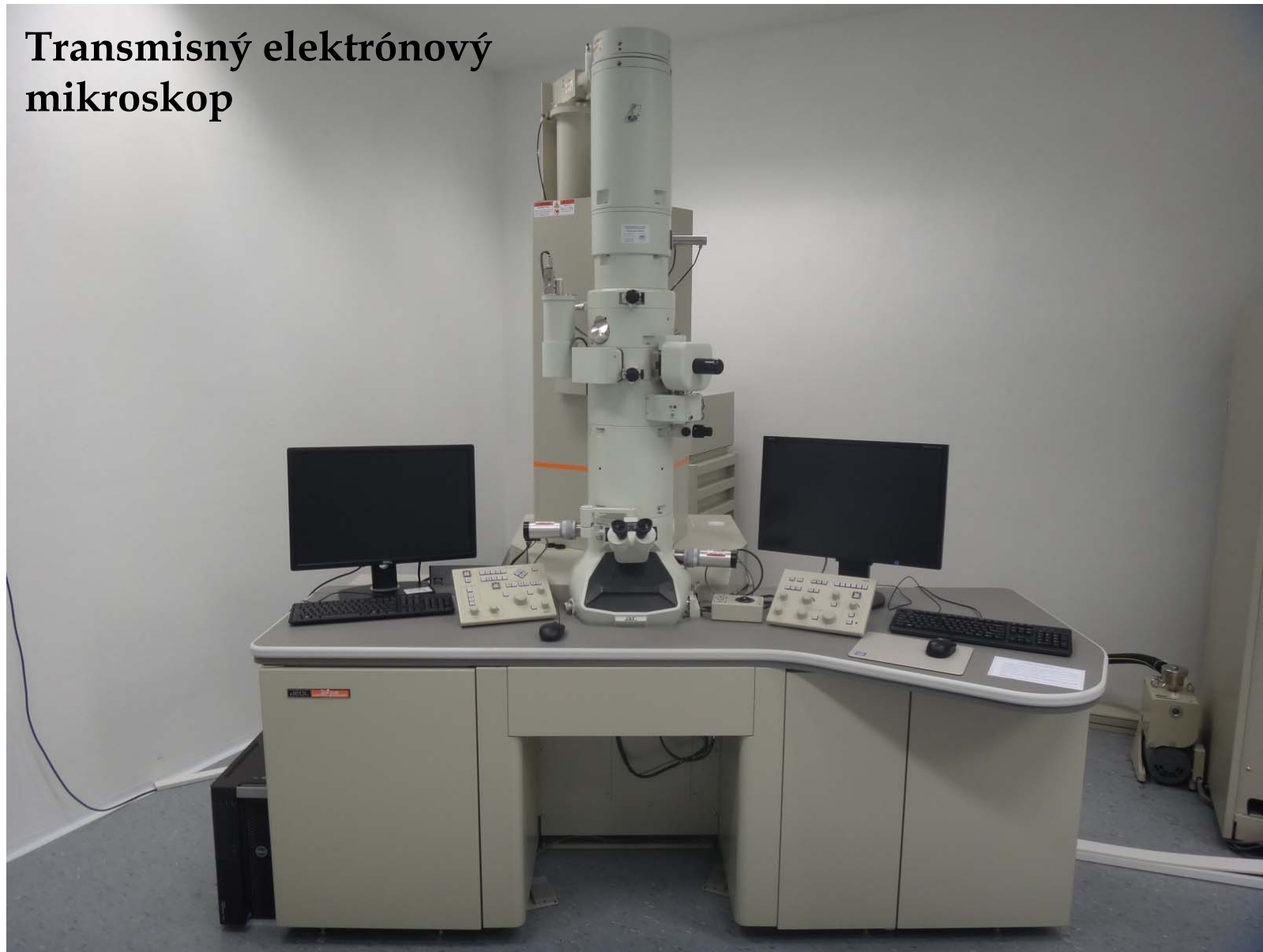
Prístrojové vybavenie laboratória:

Invertný fluorescenčný mikroskop



Prístrojové vybavenie laboratória:

Transmisný elektrónový
mikroskop



**Prístrojové vybavenie laboratória
živočíšnych biotechnológií zameraného
na bunkové kultúry (prof. Chrenek):**

- **Invertný svetelný mikroskop LEICA DM IL LED s kamerou EC3**
- **Optický svetelný mikroskop NICON ECLIPSE E100**
- **CO₂ inkubátor INCO 108 MEMMERT**
- **Termostat IN55 MEMMERT**
- **Vodný kúpeľ JULABO 13**
- **Laminárny box Labculture Class II ESCO**

Prezentačný deň vedy Výskumného centra AgroBioTech

Prístrojové vybavenie laboratória živočíšnych biotechnológií zameraného na bunkové kultúry (prof. Chrenek):

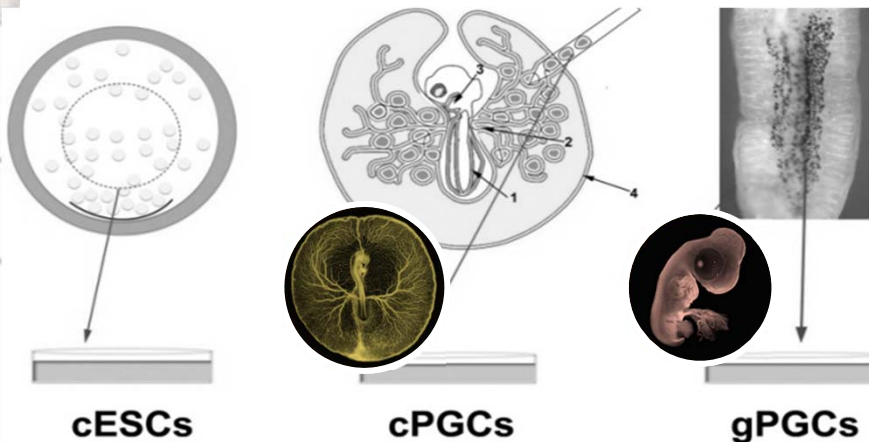


Invertný svetelný mikroskop



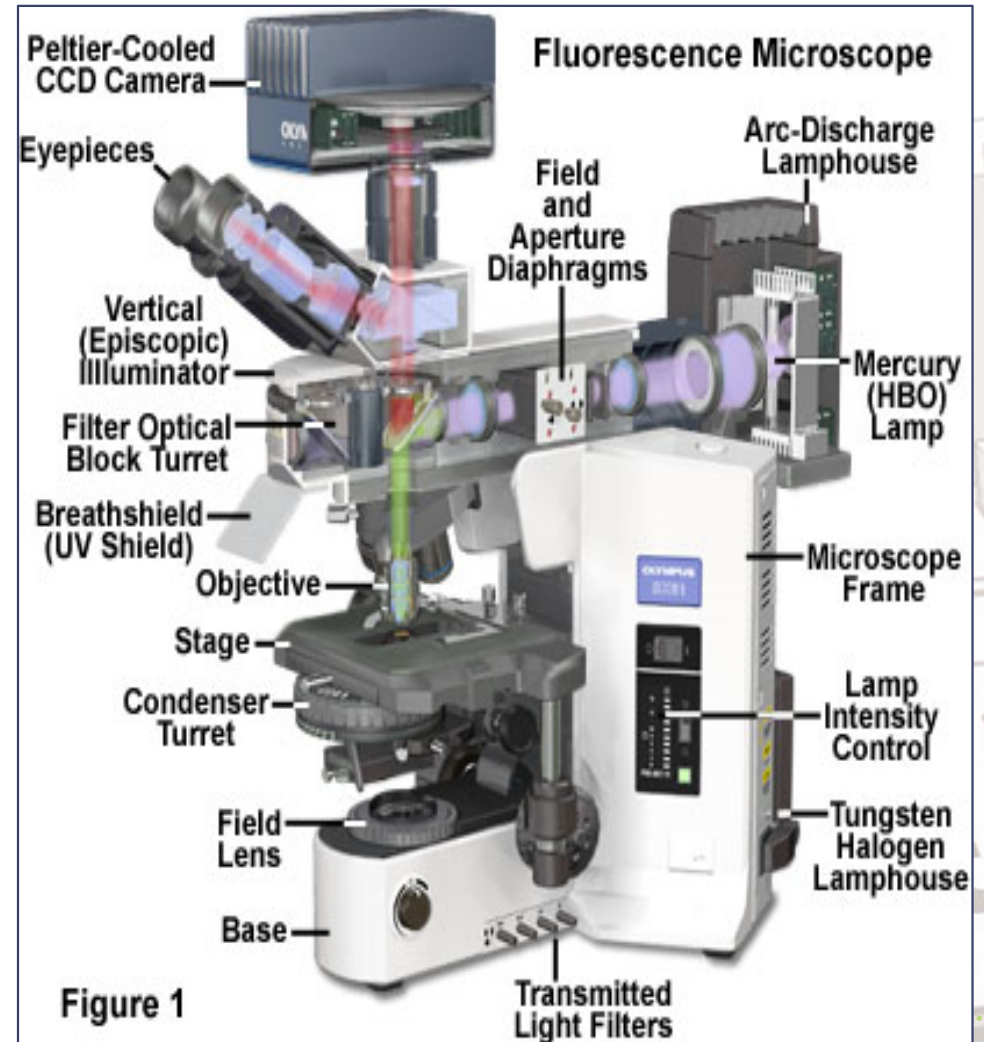
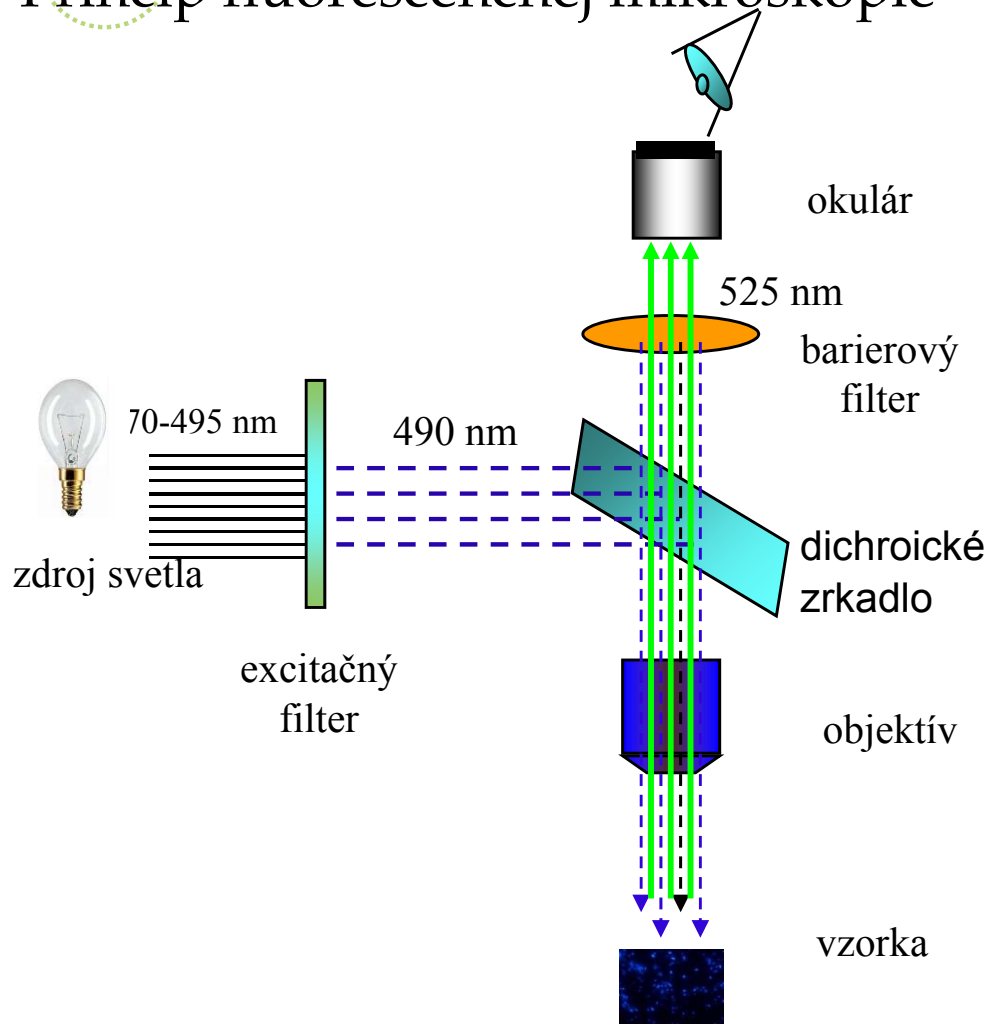
Bunkové kultúry

- APVV-0556-011, VEGA 1/0611/15, KEGA 011 UPJŠ-4/2014
- APVV-14-0043 - Kryouchovávanie živočíšnych genetických zdrojov na Slovensku (prof. Chrenek)
 - Izolácia , kultivácia, kryouchovávanie a hodnotenie kmeňových buniek hydiny:
 - a) embryonálne kmeňové bunky (ESC - Embryonal Stem Cells) - izolácia zo zárodočného terčíka žltka čerstvo znesených vajíčok
 - b) primordiálne zárodočné bunky (PGCs - Primordial Germ Cells) - izolácia
 - z krvi 2,5 - 3 dňového embrya
 - z gonád 5 - 7 dňového embrya



Fluorescenčná mikroskopia:

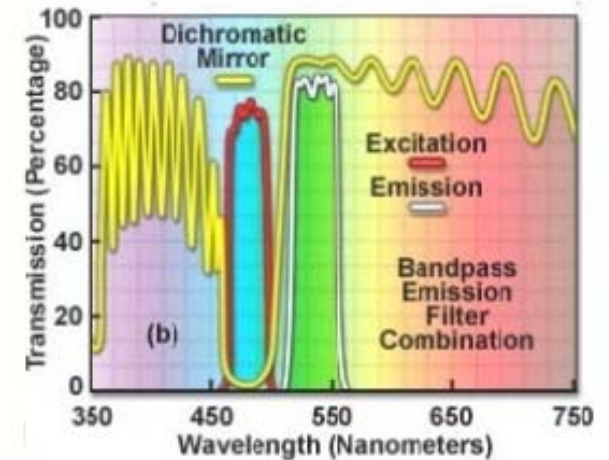
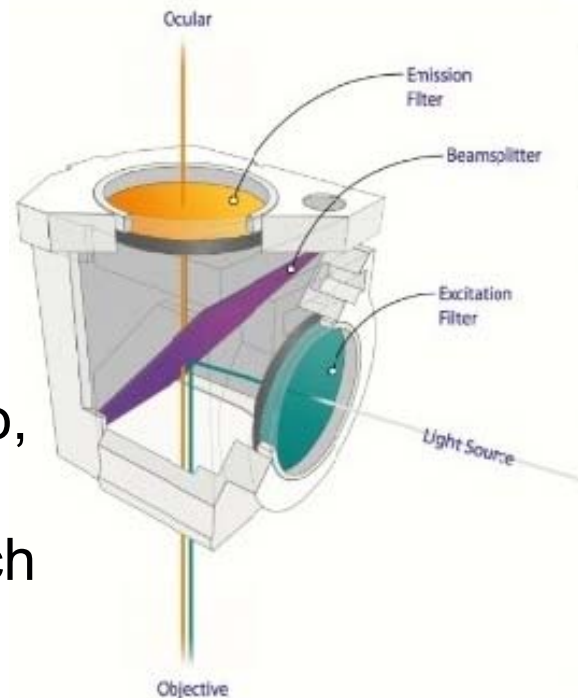
Princíp fluorescenčnej mikroskopie



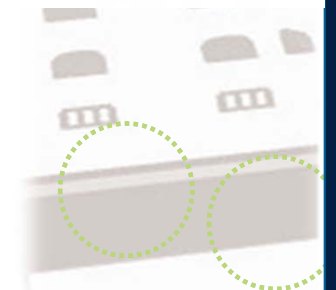
Fluorescenčná mikroskopia:

Využitie FM:

- **bunková biológia**
 - identifikácia bunkových organel,
 - zviditeľnenie niektorých bunkových štruktúr (jadro, cytoskelet)
 - sledovanie biochemických dejov
 - diagnostika a lokalizácia poškodenia buniek, tkanív, orgánov.
- **mikrobiológia**
 - identifikácia rôznych bakteriálnych rodov



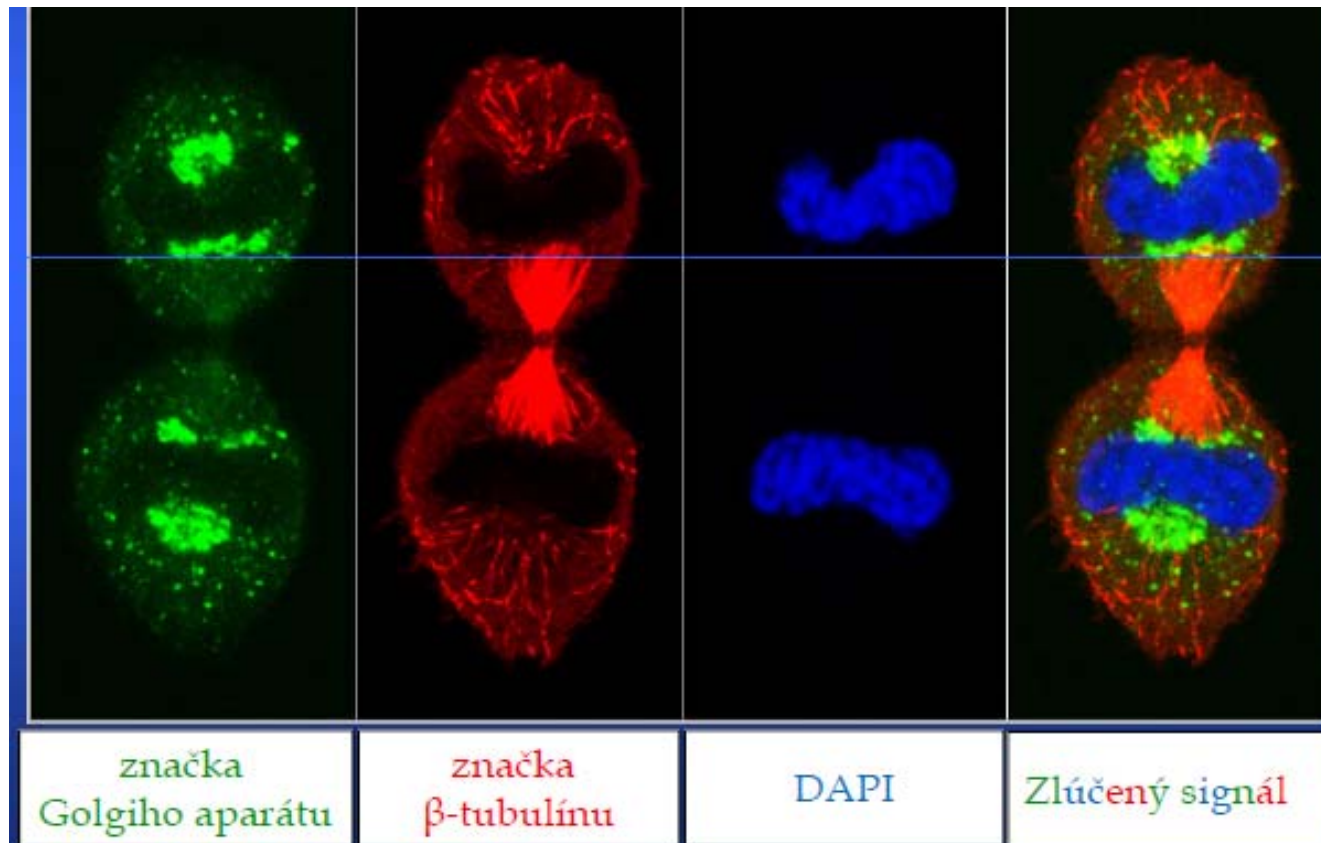
Chroma Technology Corp. - Handbook of optical filters



Fluorescenčná mikroskopia

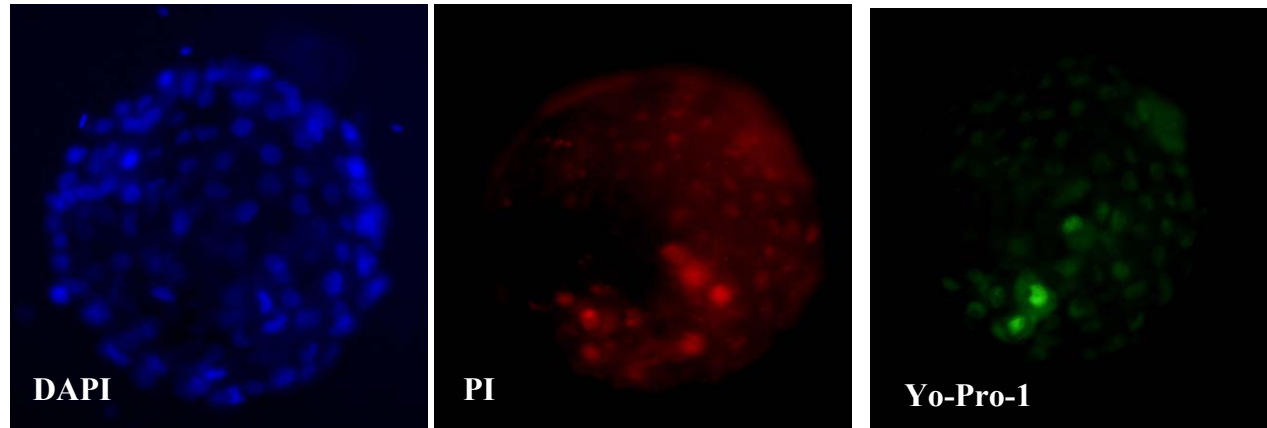
Poznáme množstvo proteínov (molekúl), ktoré sa vyskytujú v konkrétnom bunkovom kompartmente - majú špecifickú lokalizáciu. Protilátky k takýmto molekulám (resp. GFP-fúzie s príslušnými proteínmi) môžeme využiť ako značky (markery) daných kompartmentov/bunkových štruktúr.

Okrem protilátok a GFP-fúzií je možné ako značku použiť špecifické fluorescenčné farbivá (napr. DAPI - vytvára väzbu s nukleovými kyselinami).

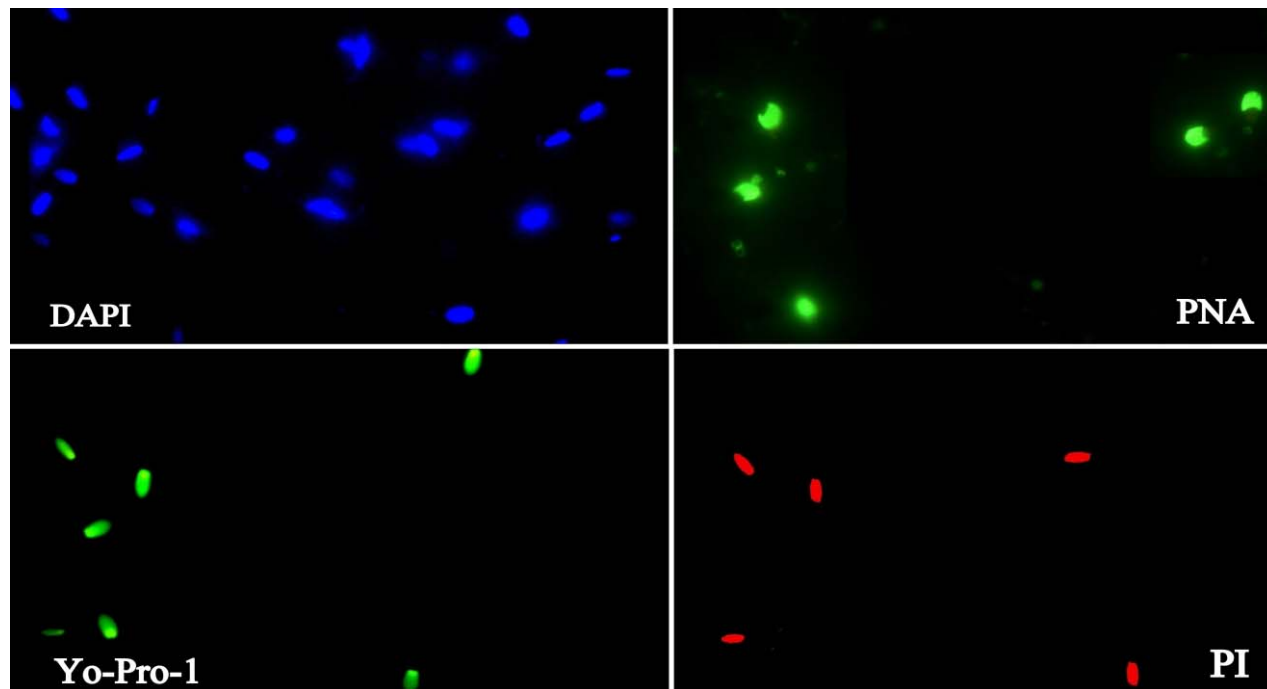


Fluorescenčná mikroskopia:

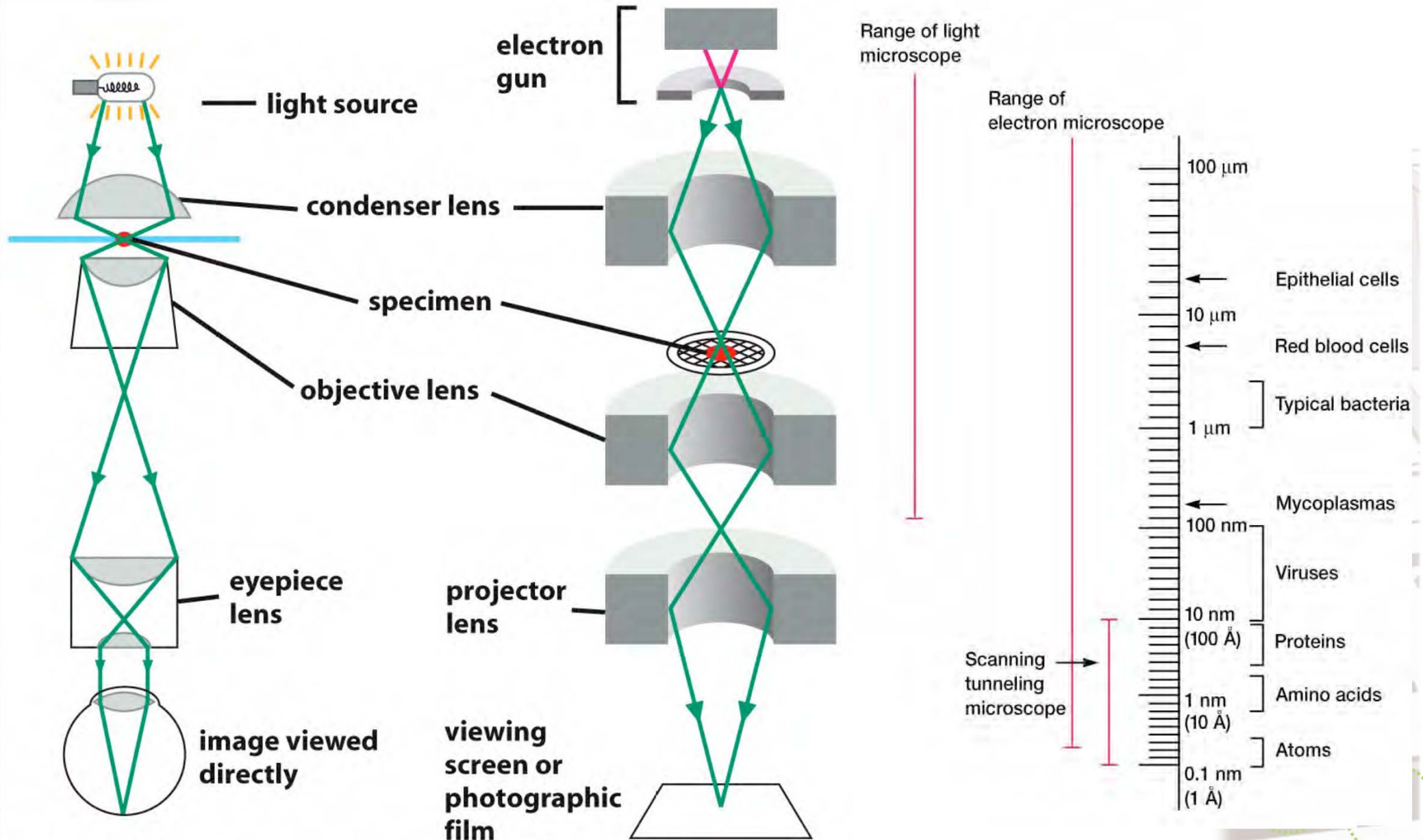
Embryo kráľika



Spermie kráľika

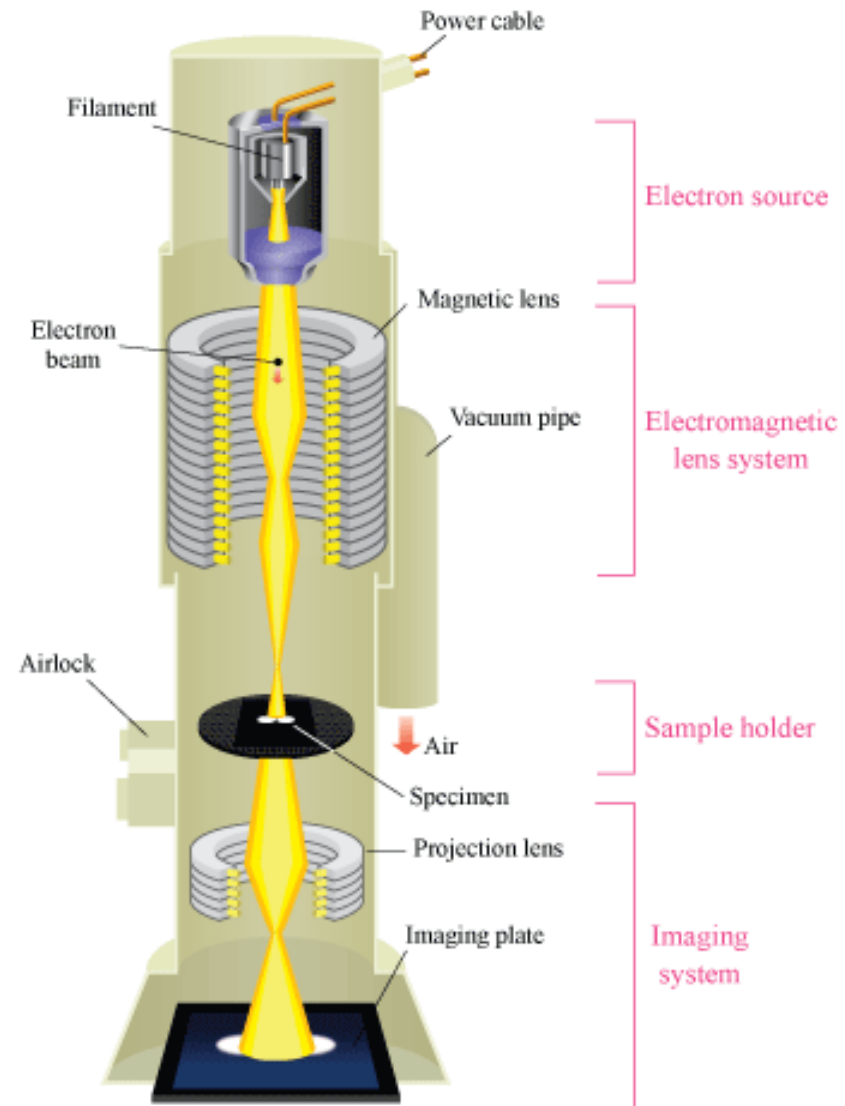


Transmisná elektrónová mikroskopia:



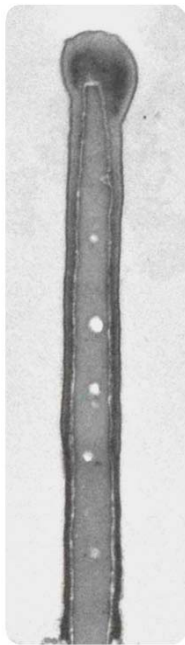
Transmisná elektrónová mikroskopia:

- zdroj vysokého napätia (200 kV)
- preparáty pre TEM o hrúbke 60 – 70 nm
- až 1 500 000x zväčšenie
- STEM: 5 000 000x
- ultraštruktúra biologických vzoriek (rastlinných, či živočíšnych tkanív resp. buniek, rôznych mikroorganizmov, baktérií a vírusov a pod.)



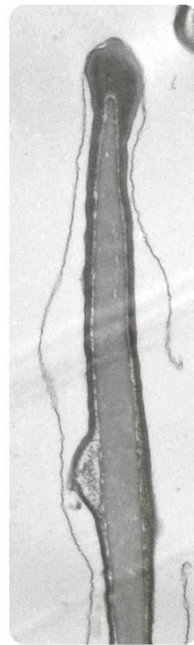
Transmisná elektrónová mikroskopia:

Grades of acrosome morphology of rabbit spermatozoa (membrane status)



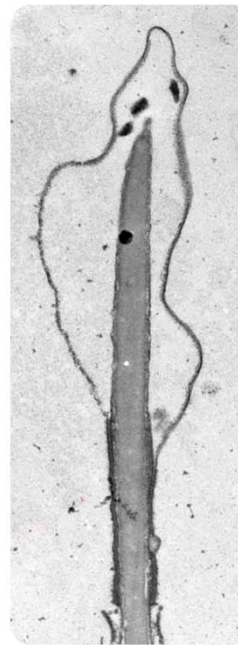
x 10 000

grade I – sperm with intact plasma membrane of the head and intact acrosome



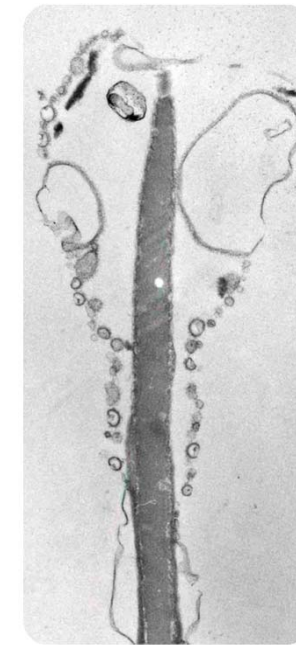
x 10 000

grade II – sperm with wavy plasma membrane



x 7 200

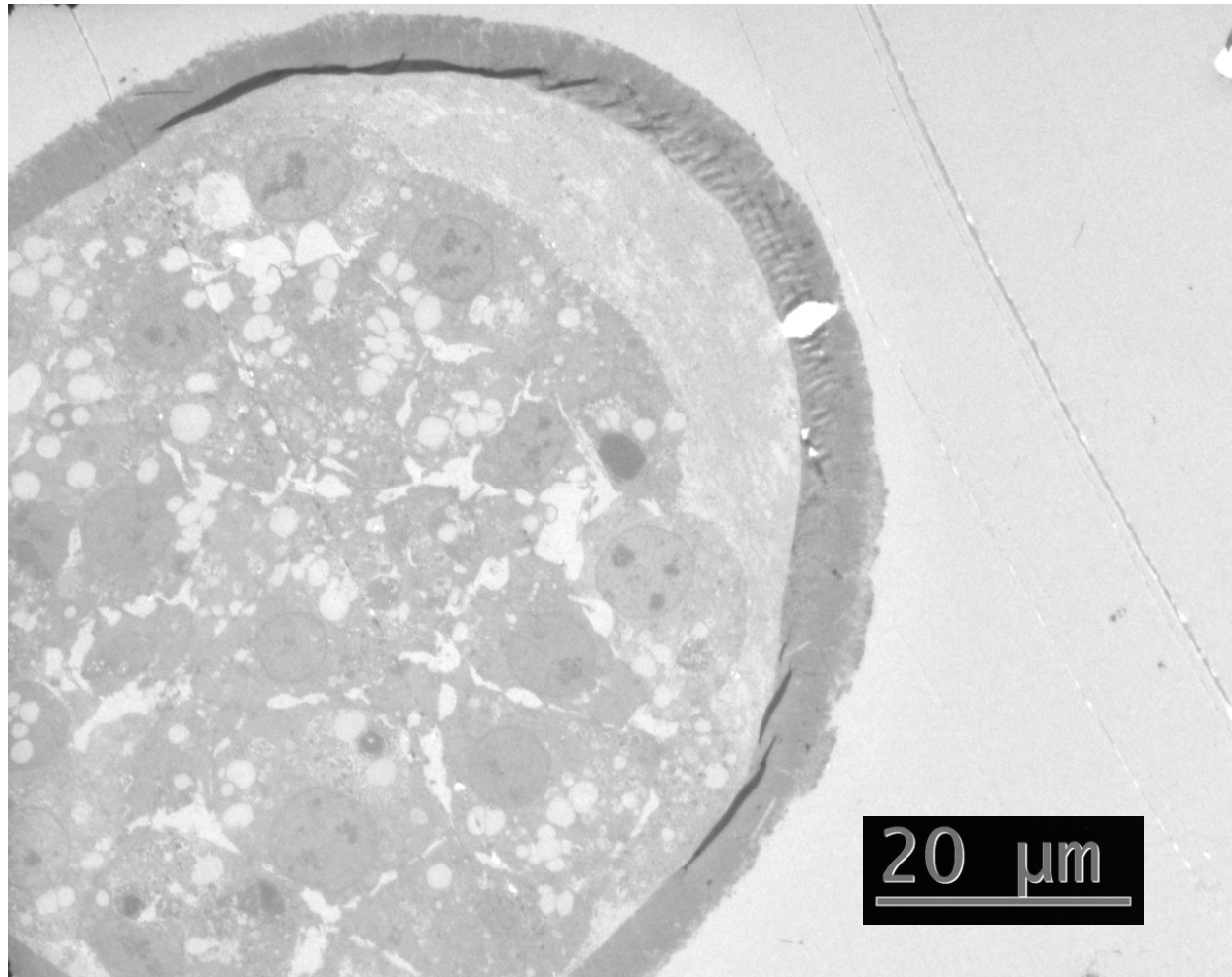
grade III – sperm with swollen or damaged acrosome



x 10 000

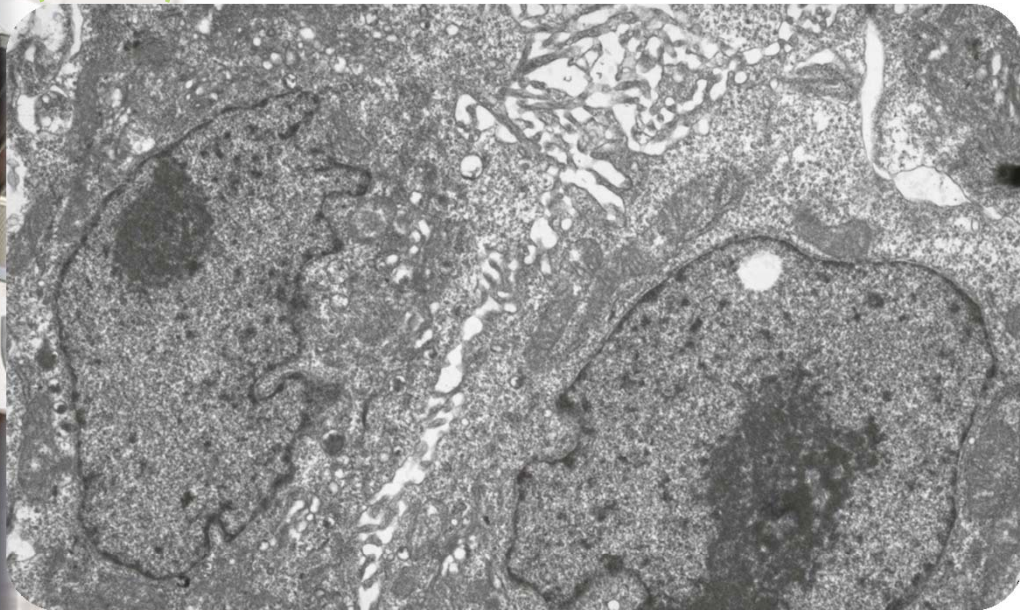
grade IV – sperm with pseudo-acrosomal reaction formed by vesicles and with loss of acrosomal content

Transmisná elektrónová mikroskopia:

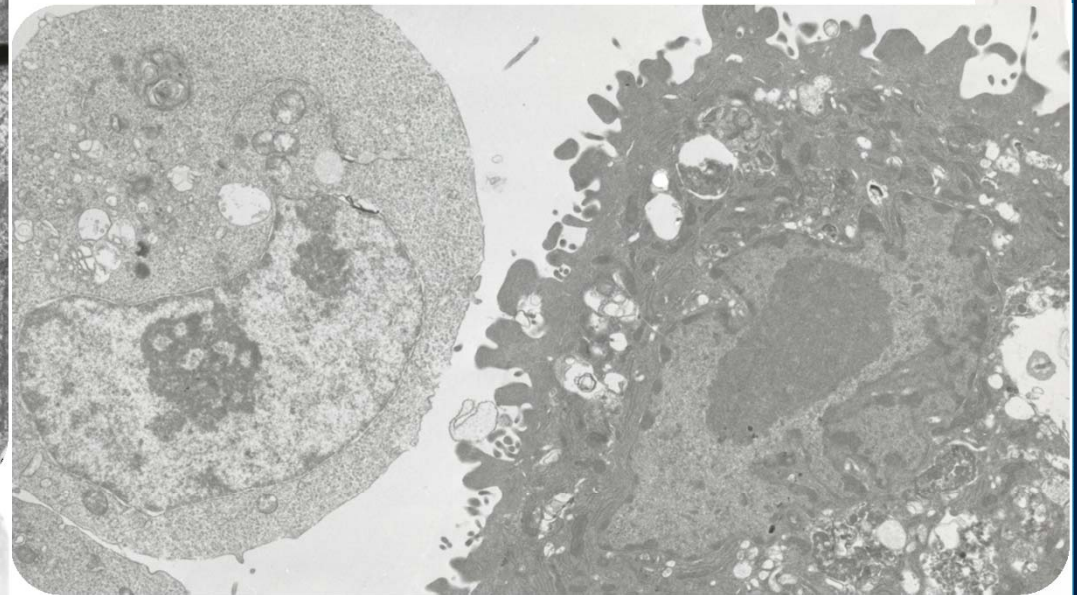


Cattle Embryo 200X

Transmisná elektrónová mikroskopia:



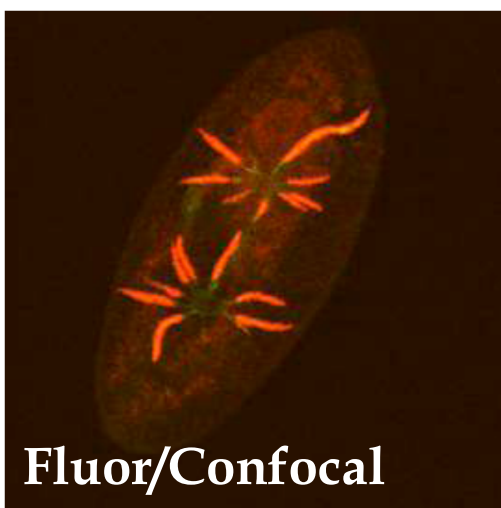
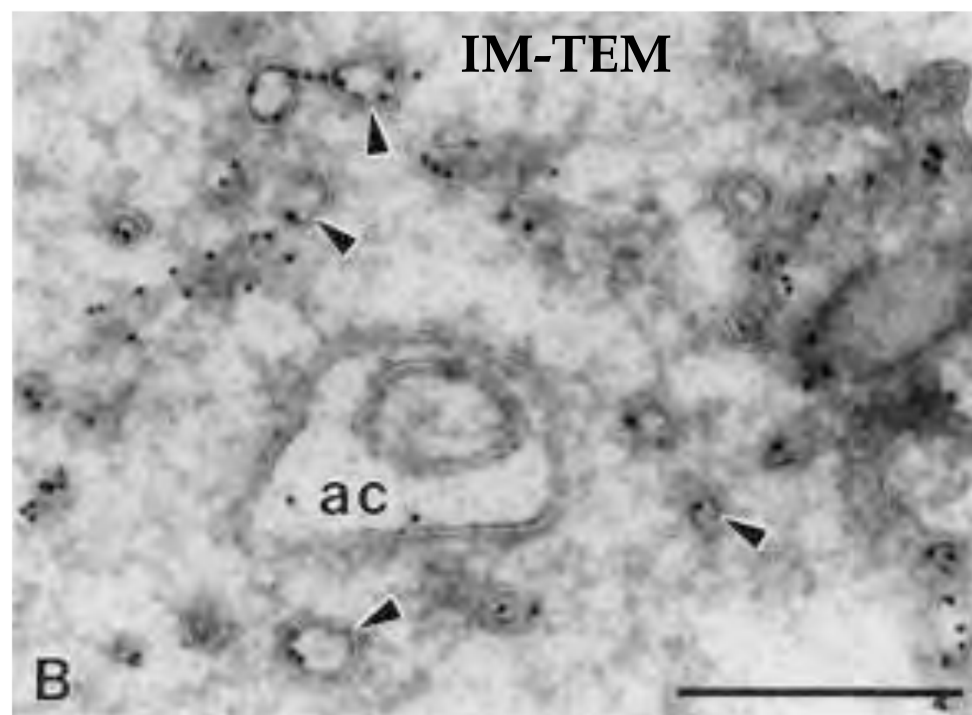
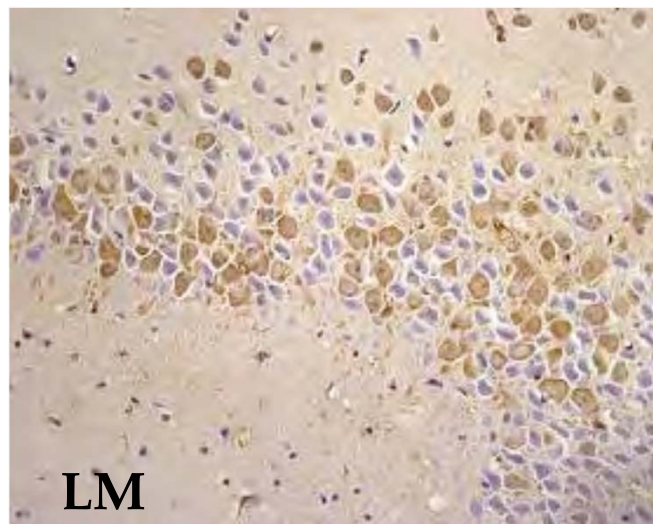
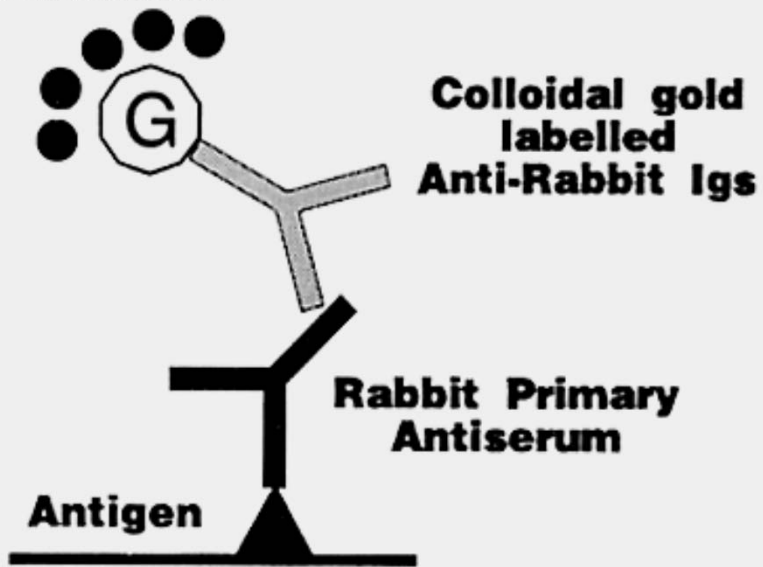
Rabbit Embryonic Stem Cells 7 200x



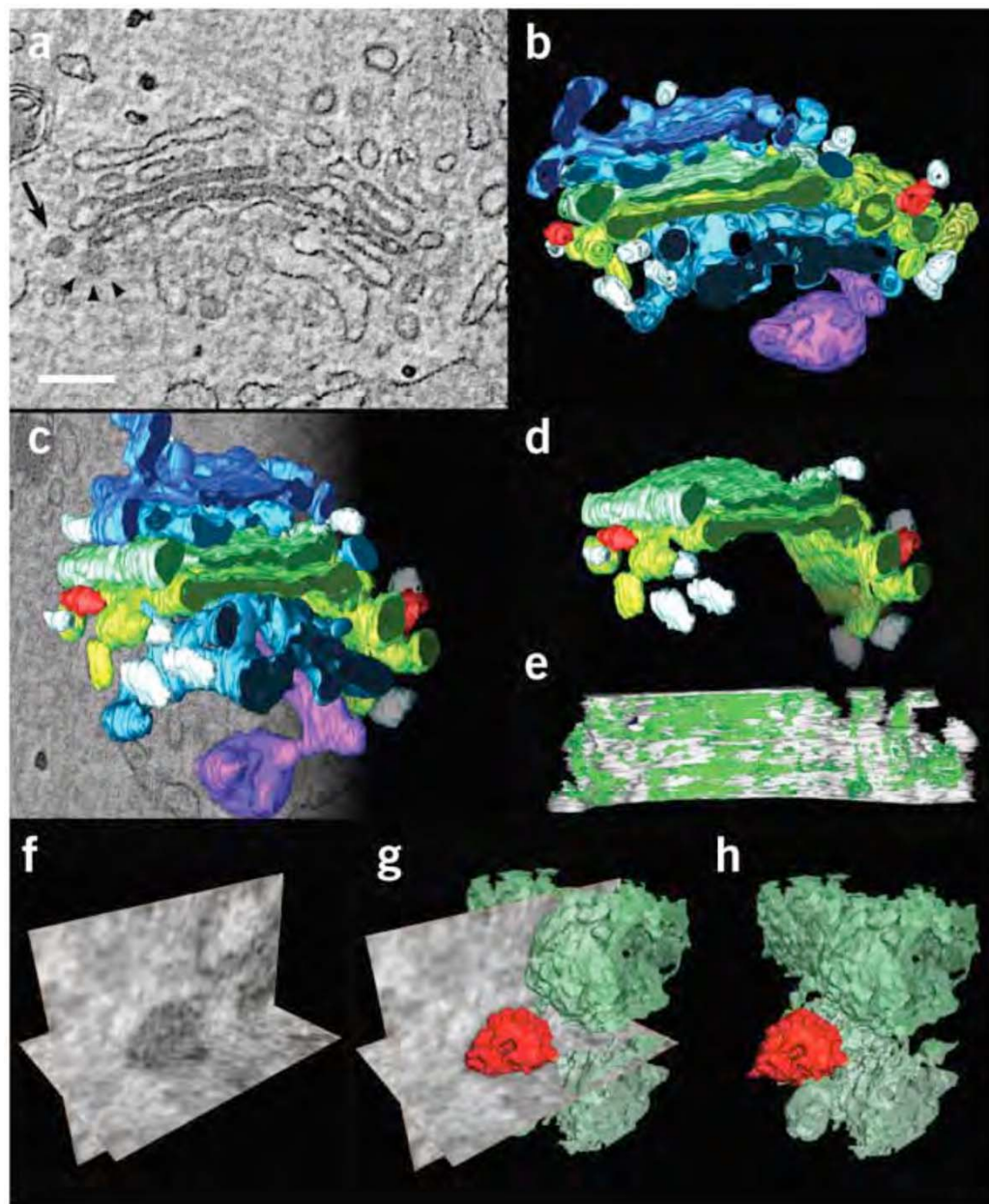
Fibroblast and rESC 4 800x

Imunoelektrónová mikroskopia:

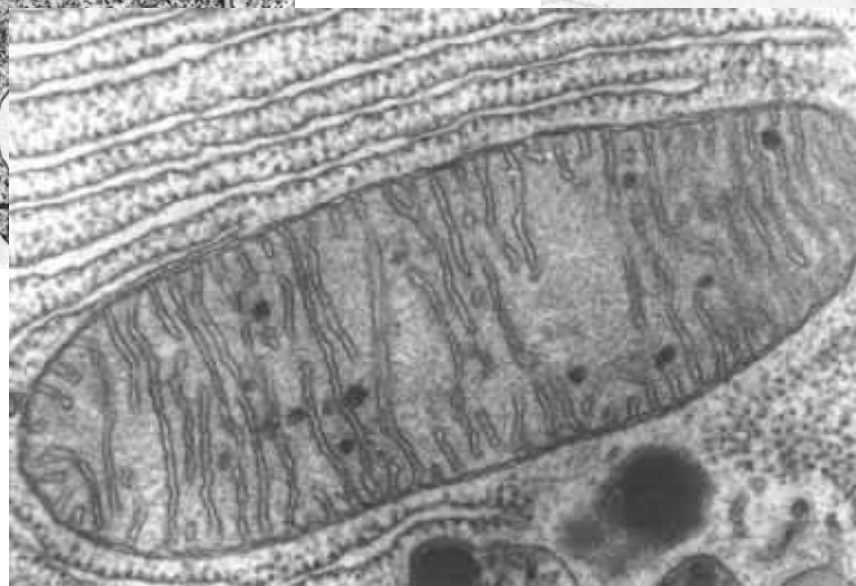
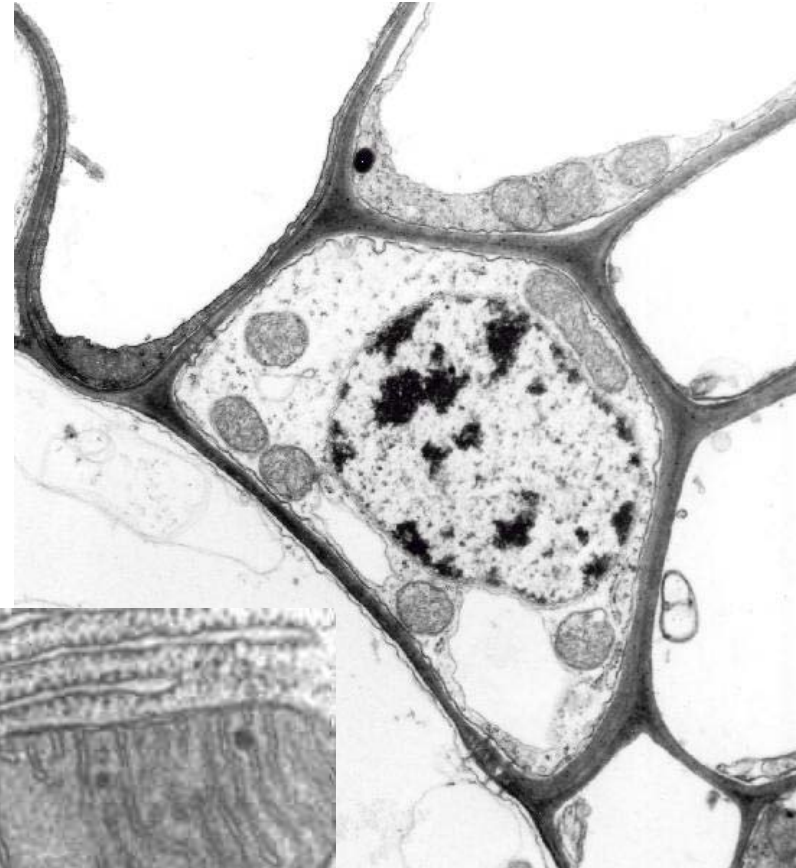
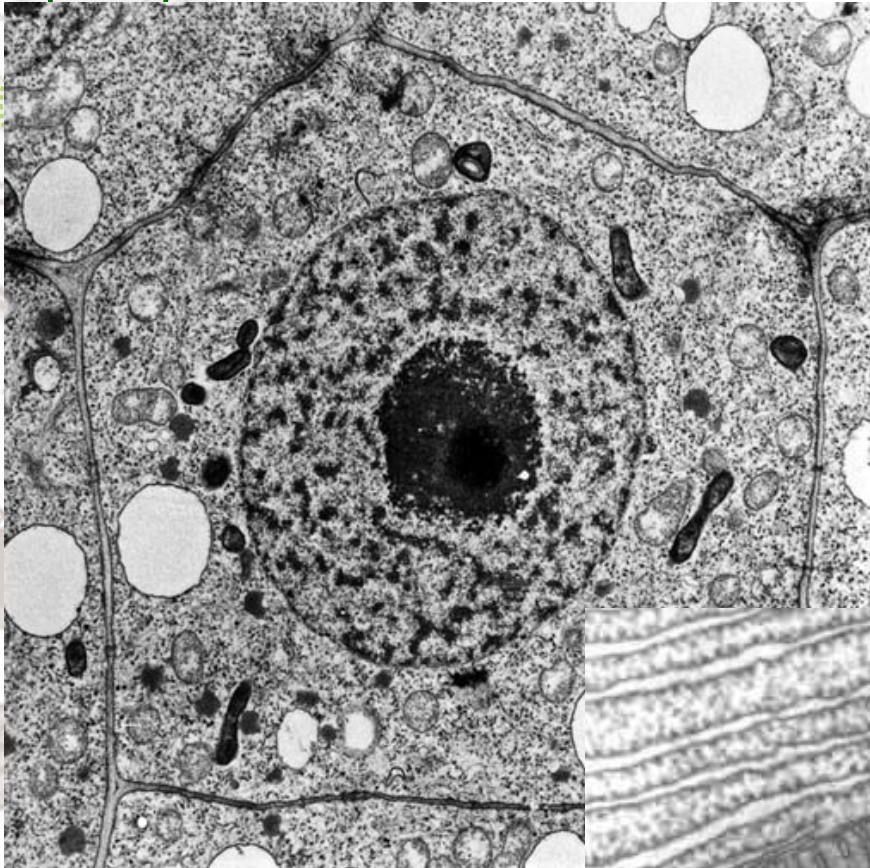
Silver enhancement



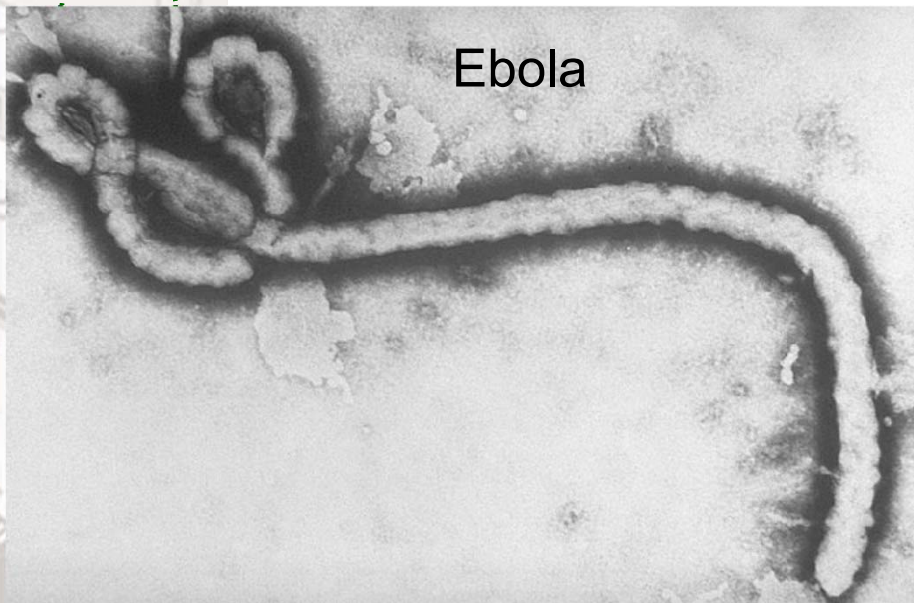
Elektrónová tomografia:



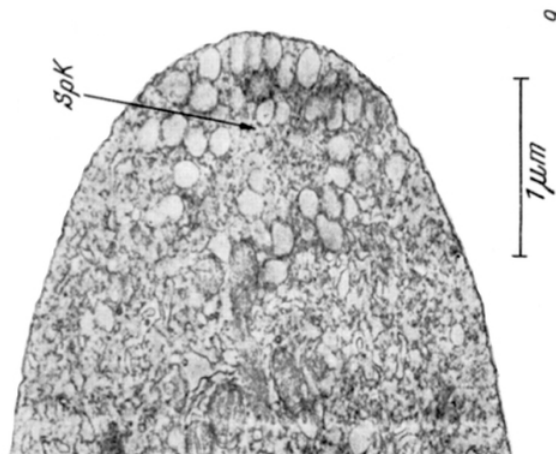
TEM a rastlinné vzorky:



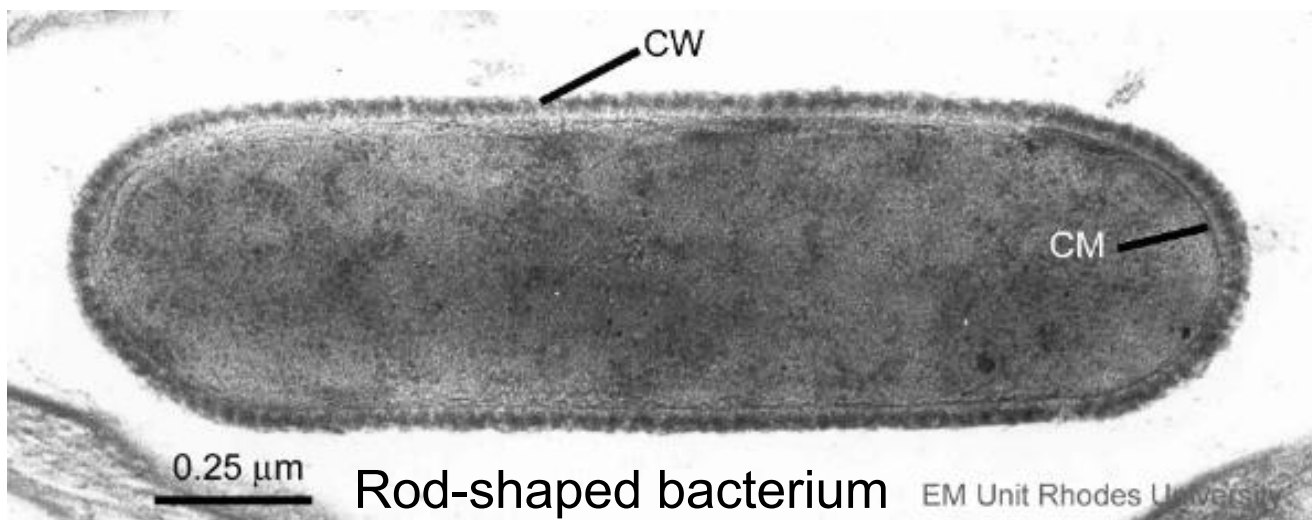
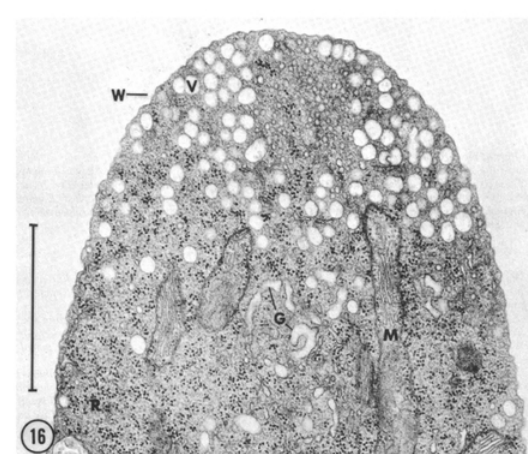
TEM a mikrobiálne vzorky:



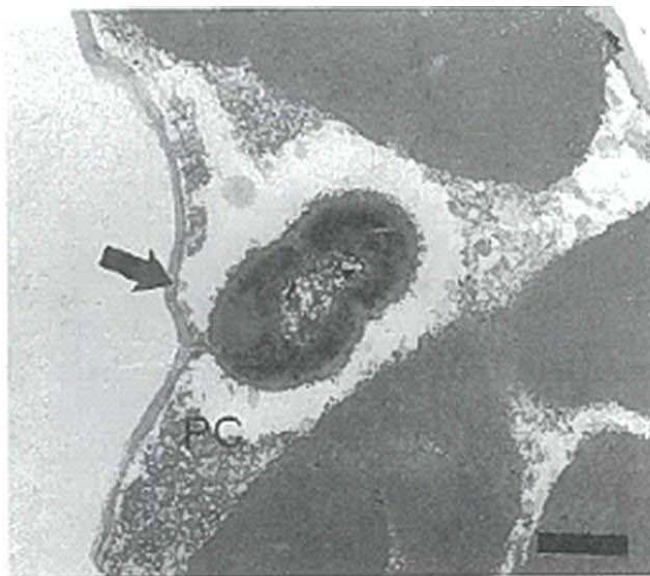
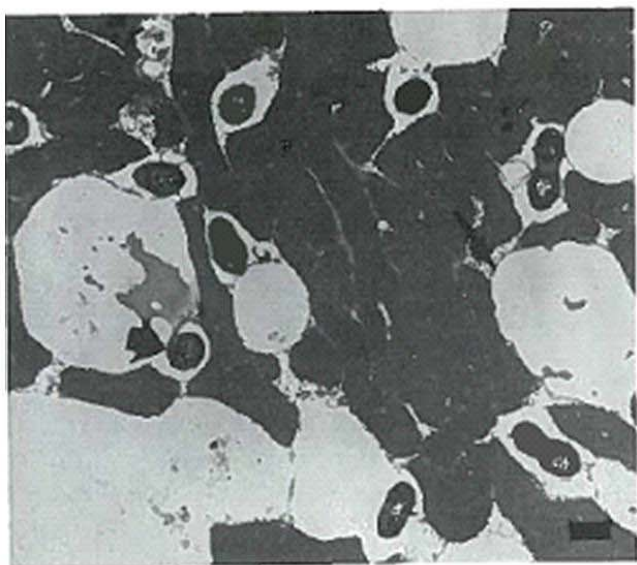
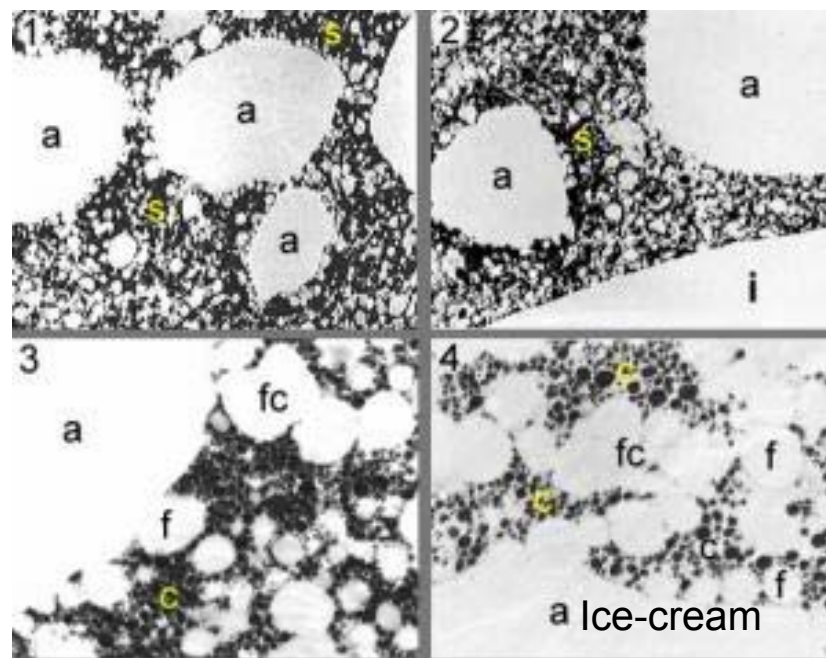
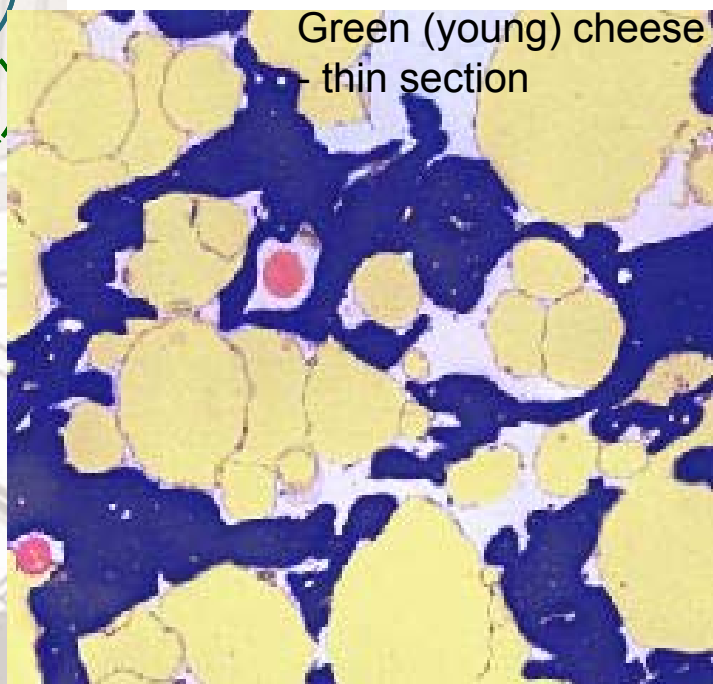
a *Polystictus versicolor* (KMnO₄)



b *Aspergillus niger* (OsO₄)



TEM a potraviny:



(*Lactococcus lactis*
subsp. *cremoris* KB)
location in full-fat
Cheddar cheese



**Ďakujeme Vám za pozornosť
a tešíme sa na spoluprácu**

