

SPEKTROSKOPIA**CHEMIA st.2****Instrukcja do ćwiczenia nr 2****WIZUALIZACJA KOMÓRKOWYCH STRUKTUR
LIPIDOWYCH Z ZASTOSOWANIEM SELEKTYWNEGO
BARWIENIA**

1. Zapoznaj się z podstawowymi informacjami dotyczącymi możliwości wybarwiania struktur lipidowych w komórkach ludzkich linii komórkowych.
2. Zapoznaj się z charakterystyką czerwieni oleistej (OR) stosowanej w LLSM do wybarwiania lipidów. Uzasadnij możliwość zastosowania lasera o linii emisji 532 nm w planowanym eksperymencie.
3. Zapoznaj się z protokołem barwienia komórkowych struktur lipidowych stosowanym w LLSM.
4. Dokonaj barwienia struktur lipidowych komórek przygotowanych do wykonania eksperymentów.
5. Zarejestruj obrazowanie Ramana dla próbki komórek niewybarwionych OR oraz po wybarwieniu OR z wykorzystaniem konfokalnego mikroskopu Ramana.
6. Dla próbki komórek wybarwionych zastosuj z wykorzystaniem oprogramowania mikroskopu konfokalnego Ramana filtry umożliwiające wizualizację struktur lipidowych w oparciu o fluorescencję barwnika.
7. Analogiczną analizę z zastosowaniem filtrów wykonaj dla próbki niebarwionej OR.
8. Dokonaj analizy struktur lipidowych z zastosowaniem mikroskopu fluorescencyjnego.
9. Przygotuj sprawozdanie z wykonanego ćwiczenia.

Sprawozdanie z ćwiczenia nr 2 powinno zawierać:

- a) Cel wykonanego ćwiczenia.
- b) Wstęp teoretyczny dotyczący struktur lipidowych występujących w komórkach ludzkich oraz możliwości ich wizualizacji w oparciu o widma Ramana oraz barwienia fluorescencyjne.
- c) Charakterystykę OR stosowanej w barwieniach.
- d) Opis wykorzystanej w ćwiczeniu aparatury
- e) Obrazowanie Ramana komórek niebarwionych oraz wybarwionych OR.
- f) Analizę obrazowania Ramana komórek niebarwionych oraz wybarwionych OR.
- g) Obrazowanie komórek otrzymane z zastosowaniem mikroskopu fluorescencyjnego.
- h) Analizę obrazowania komórek otrzymanego z zastosowaniem mikroskopu fluorescencyjnego.
- i) Wnioski wpływające z wykonanego ćwiczenia.
- j) Wykaz literatury

Termin oddania sprawozdania: **2 tygodnie** od daty wykonania ćwiczenia.

Sprawozdanie należy umieścić złożyć w sekretariacie MITR,

ul. Wróblewskiego 15, budynek C2.

Opracowanie: dr hab. inż. Beata Brożek-Płuska, prof. uczelni
dr inż. Monika Kopeć