

Název úlohy:

VIZUALIZACE BUNĚČNÉ STĚNY

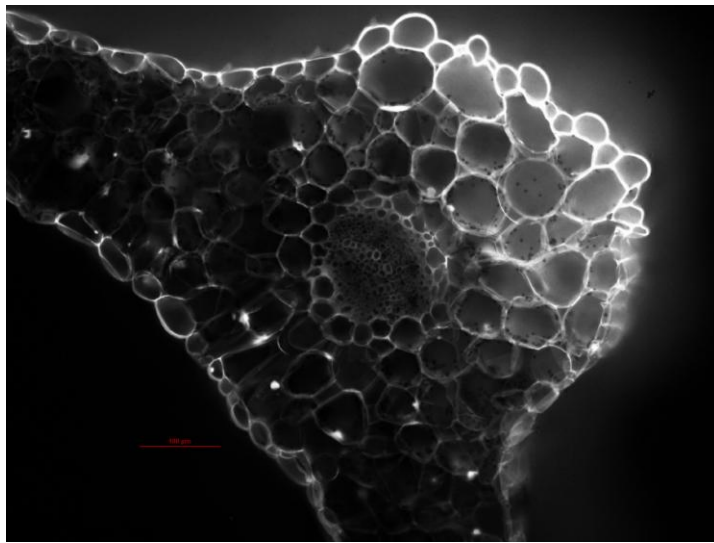
Rostlinný materiál:

Buňky tabákové linie BY-2

Princip vizualizace:

Calcofluor white (Fluorescent Brightener 28, Sigma-Aldrich, kat. č. F3543) je fluorescenční barvivo, vázající polysacharidy celulózy a chitinu, které jsou součástí buněčných stěn hub a rostlin. Používá se k detekci kvasinek, patogeních hub a také k vizualizaci buněčných stěn rostlinných buněk.

Excitační maximum calcofluoru je v oblasti UV světla ($E_{x,max}$ 355 nm), k detekci emise lze použít rozpětí vlnové délky mezi 400 až 440 nm ($E_{m,max}$ 433 nm).



Obrázek 1. Příčný řez listem Arabidopsis značený calcofluorem.

Postup vizualizace

10 μ l zásobního roztoku calcofluoru (10 mg/10 ml dest. vody) přidejte k 1 ml suspenze buněk BY-2. Po 10 minutách inkubace několikrát promyjte MS mediem.

Úkol:

Pozorujte strukturu buněčné stěny tabákových buněk ve fluorescenčním či konfokálním mikroskopu. Popište strukturu buněčné stěny, vzájemnou polohu mikrofibril a jejich polohu vůči ose buňky.