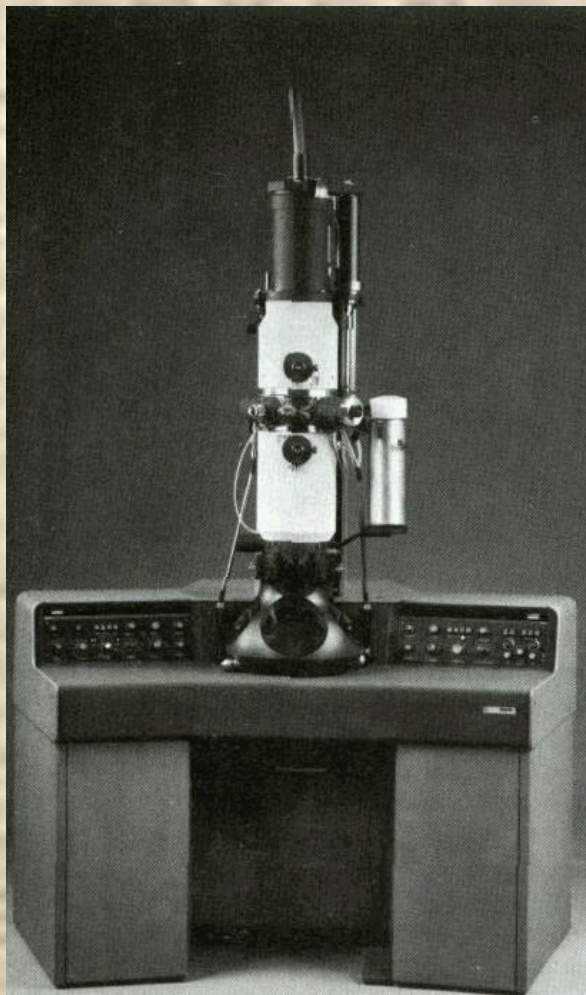
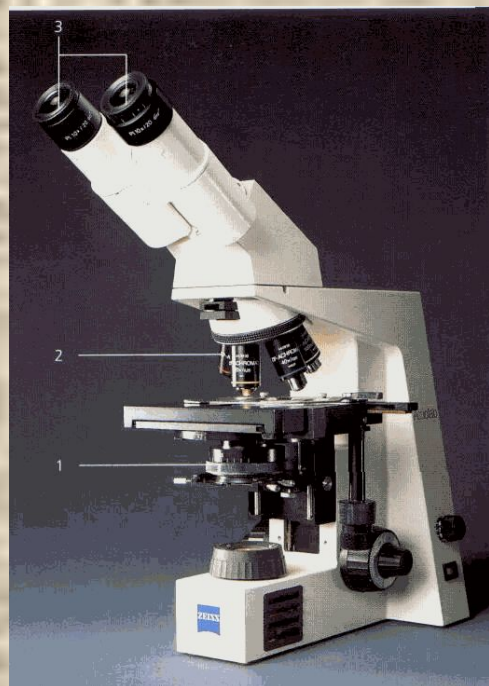


Лекція №2 МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ В БІОЛОГІЇ. МІКРОСКОПІЧНА ТЕХНИКА



План лекції №2

1. Фундаментальні теоретичні і прикладні проблеми біології
2. Сучасні методи дослідження в біології
 - Прилади для гістологічних досліджень
 - Методи приготування гістологічних препаратів
3. Світловий мікроскоп
4. Електронний мікроскоп

Для біології ХХ1 ст. характерні дві взаємозалежні тенденції у вивченні явищ життя

- розгляд цих явищ на різних рівнях організації (молекулярному, клітинному, організмовому, популяційному);
- прагнення до цілісного синтетичного пізнання живої природи, що надало прогресу наукам, які вивчають властивості живої природи на всіх структурних рівнях її організації (генетика, систематика, еволюційне вчення та ін.).

Живу матерію на різних рівнях організації досліджують різними методами

ОСНОВНІ З ЯКИХ —

- **Порівняльно-описовий (започаткував Арістотель),**
- **Експериментальний (буває польові та лабораторні) ,**
- **Моніторинг (постійне стеження за перебігом певних процесів в окремих популяціях, екосистемах, біосфері в цілому чи за станом певних біологічних об'єктів) і**
- **Моделювання (метод дослідження та демонстрування структур, функцій, процесів за допомогою їхньої спрощеної імітації).**
- **отримані результати обробляють за допомогою математично-статистичного аналізу**

Методи дослідження в гістології, цитології, ембріології

- Мікроскопи різних типів
- Комп'ютерна техніка
- Рентгеноструктурний аналіз
- Застосування ядерно-магнітного резонансу
- Радіоактивних ізотопів
- Електрофорезу і хроматографії
- Ультрацентрифугування клітинного вмісту
- Розділення і культивування клітин та інші.

Об'єктами дослідження слугують живі і фіксовані клітини і тканини, їх зображення, отримані в світлових і електронних мікроскопах

Методи дослідження фіксованих клітин і тканини

- **Фіксація** – забезпечує запобігання процесів розкладання
- **Ущільнення шматочків**, яке необхідне для приготування зрізів (просочування зневоднених матеріалів парафіном та інше)
- **Приготування зрізів**
- **Фарбування зрізів**

Методи дослідження хімічного складу і метаболізму клітин і тканин

- Цито- і гістохімічні методи (локалізація різних хімічних речовин в тонких структурах клітин і тканин, прояснення динаміки обмінних процесів, взаємозв'язок між обміном речовин і структурним елементом)
- Радіоактивні ізотопи
- Імунофлюоресцентний аналіз. Застосування антитіл для вивчення процесів диференціювання клітин.

Метод **фракціонування** клітинного складу, тобто розділяти і виділяти структури і макромолекули клітин – шляхом **ультрацентрифугуванням, хроматографією, електрофорезом** та інші.



Більшість сучасних дослідників вважають, що перший мікроскоп був створений А.Левенгуком.

Левенгук (Leeuwenhoek) Антоні ван (24.10.1632, Делфт, — 26.8.1723) – голандський натураліст, основоположник наукової мікроскопії, член Лондонського королівського товариства з 1680 р.).

Займався торгівлею мануфактурою і галантереєю. Використовуючи свій час для шліфовки оптичних скелець, Л. досяг в цьому великої досконалості. Виготовлені ним лінзи, які він вставляв в металічні тримачі з закріпленою до них голкою для насаджування об'єкта спостереження, давали 150—300-кратне збільшення.

За допомогою таких «мікроскопів» Л. вперше спостерігав и замальовував сперматозоїди (1677), бактерії (1683), еритроцити, а також найпростіші, окремі рослинні й тваринні клітини, яйця й зародки, м'язову тканину й багато інших частин і органів більш ніж 200 видів рослин і тварин.

Свої спостереження він описав у листах (всього до 300), які направляв головним чином в Лондонське королівське товариство.

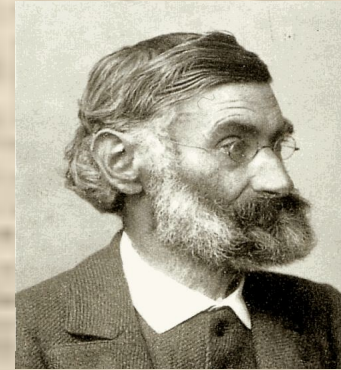


Одним з важливіших досягнень гістологічної техніки другої половини 19 століття є створення **мікротому**, приладу, який Дозволяє різати різні тканини и органи тварин і рослин **Ян Пуркін»є (1787 – 1869)** – чеський природознавець і громадський діяч; один із основоположників вчення про клітинну будову тварин і рослин, засновник пражської гітологічної школи. Автор багаточисельних робіт в області фізіології, анатомії, ембріології, гістології; його дослідження відіграли важливу роль в формуванні сучасної експериментальної фізіології.

Справжньої досконалості оптичний мікроском досяг в другій половині 19 ст., коли фізик і математик Ернст Аббе розробив сучасну теорію мікроскопу, на основі якої механік Карл Цейс створив перші об'єктиви апохромати.



Карл Цейсс (1816 - 1888).



Эрнст Аббе (1840 – 1905)

Готування гістологічного препарату

За характером взятого матеріалу розрізняють наступні види гістологічних препаратів:

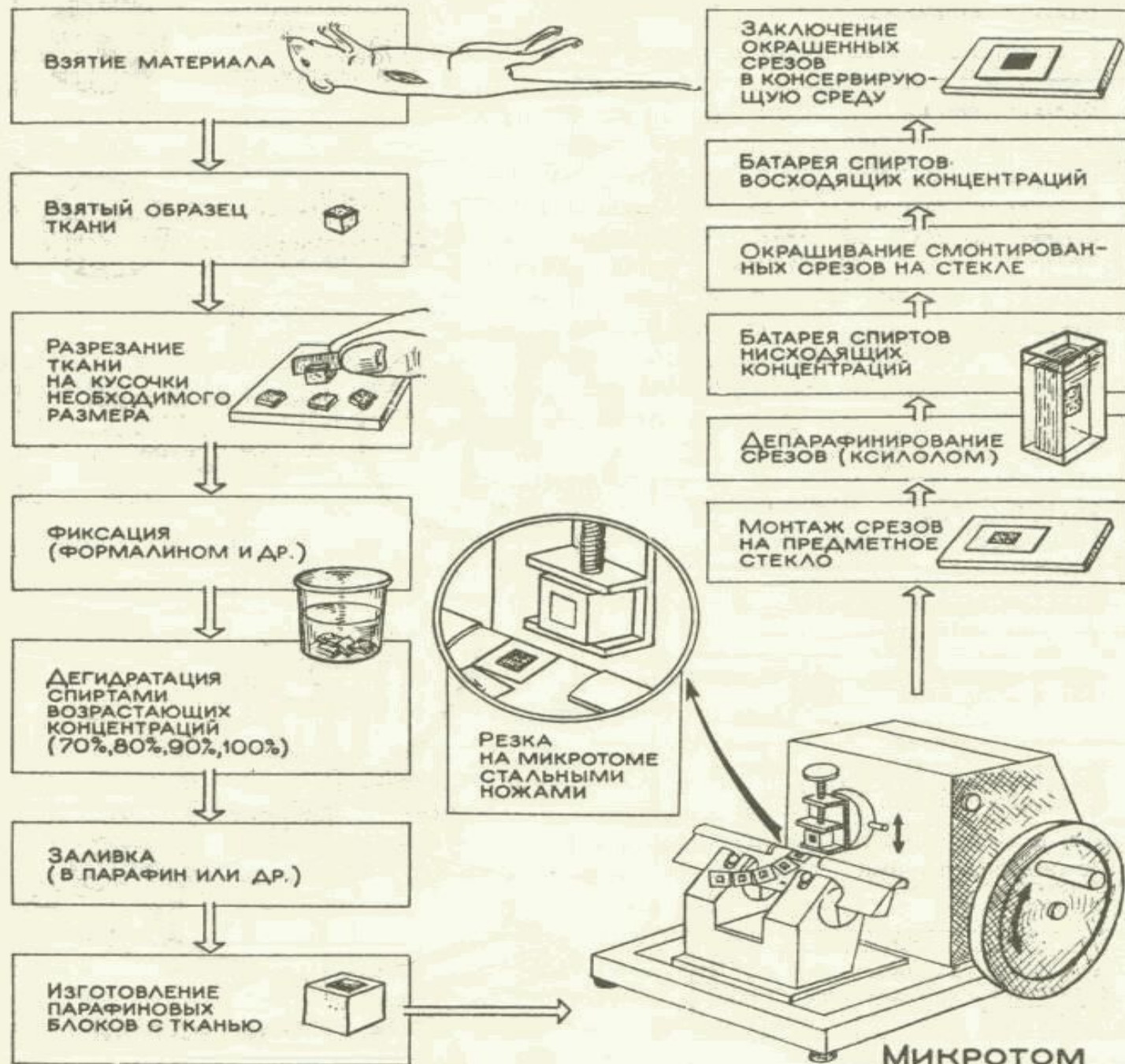
Зрізи органів (товщиною 5-15 нм)

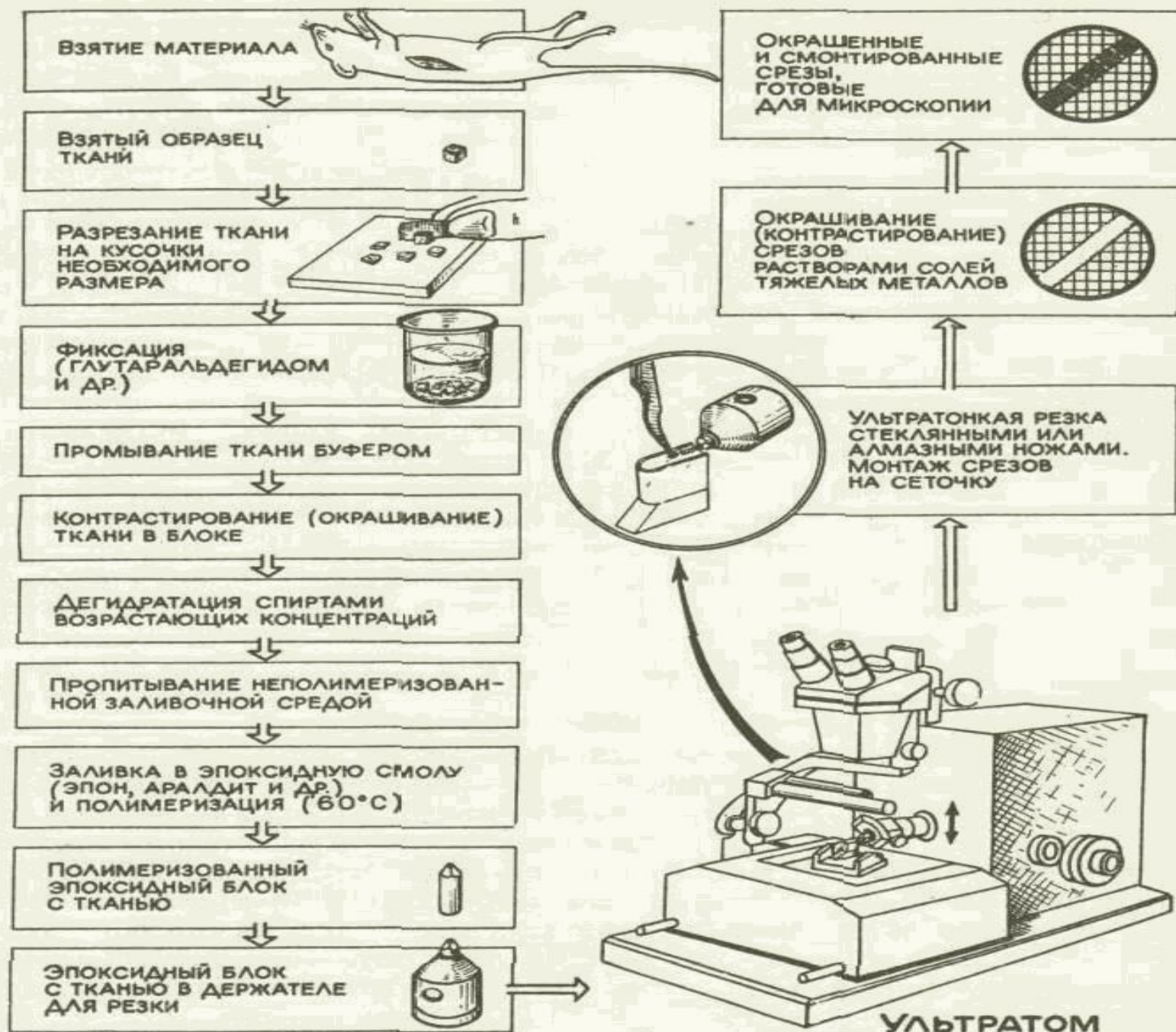
Мазки (крові, кісткового мозку) і **відбитки** (напр. селезінки)

Плівки (очеревини, м'якої мозкової оболонки)

Але частіше використовують зрізи.

Існують **методи фарбування** гістологічних препаратів, де використовують різні типи фарбників, які **дозволяють побачити як клітинні структури так і неклітинні (міжклітинну рідину)**

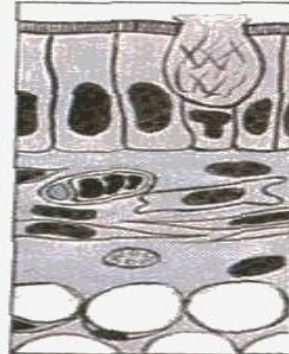




Hematoxylin
and eosin



Iron
hematoxylin



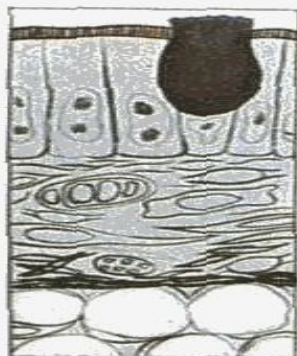
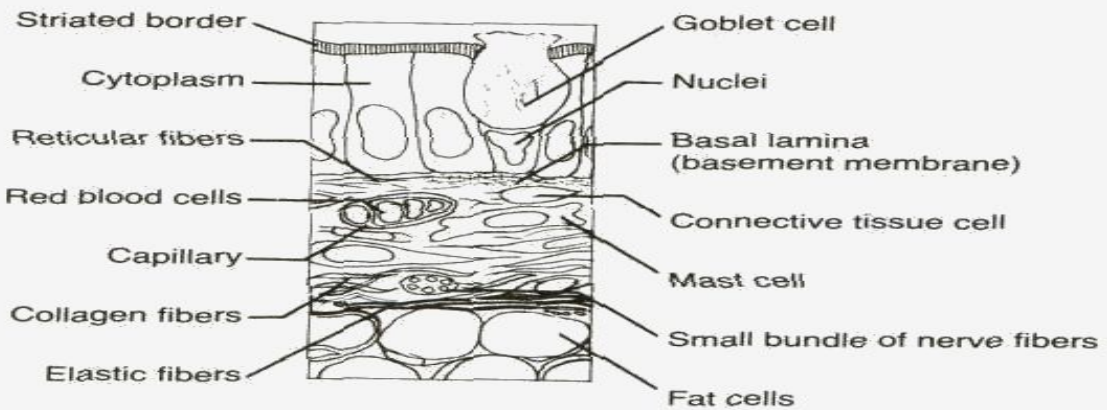
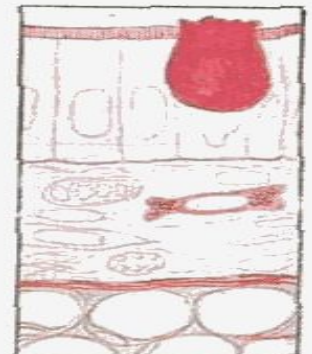
Mallory-Azan



Masson



Periodic
acid-Schiff



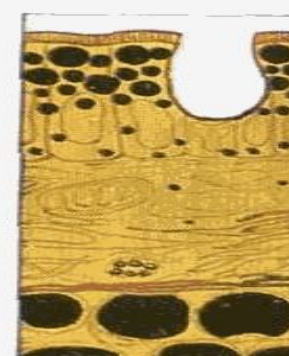
Silver
impregnation



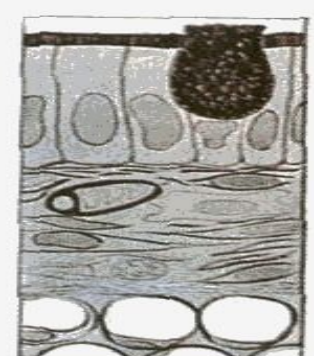
Orcein



Azure A



Sudan
black B



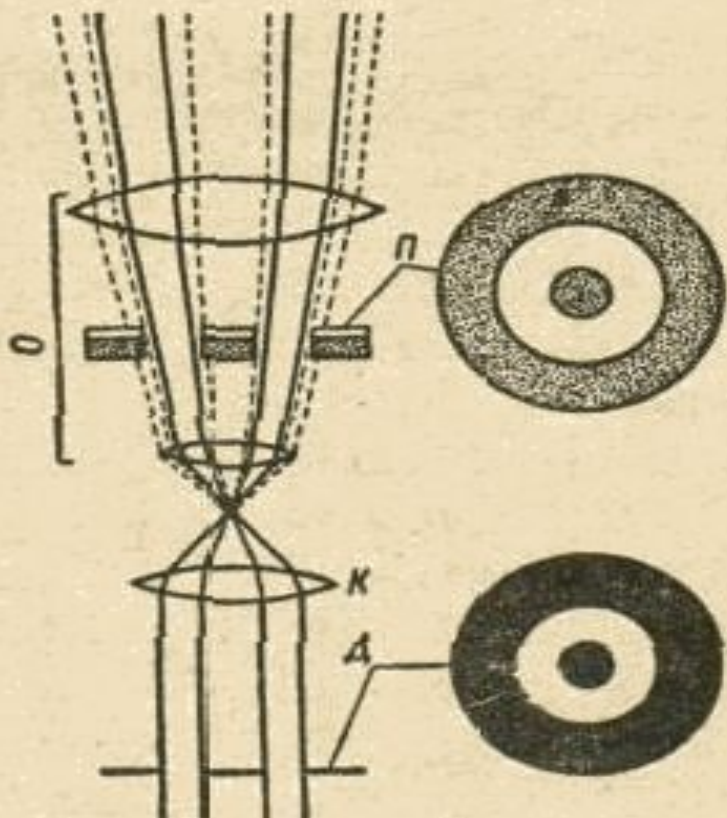
Alkaline
Phosphatase

Figure 8 See legend on opposite page

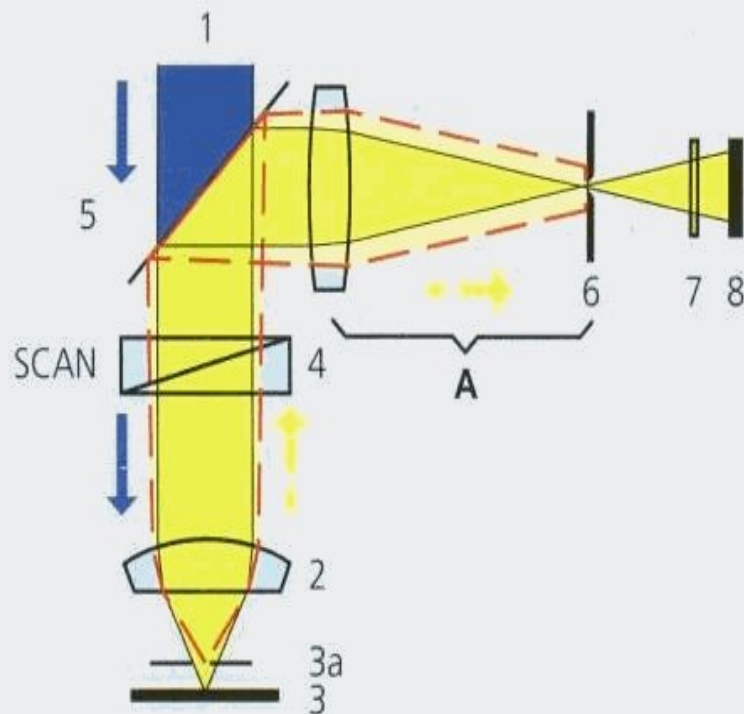


**Лінійні одиниці вимірювання, які використовуються
при гістологічних дослідженнях:**

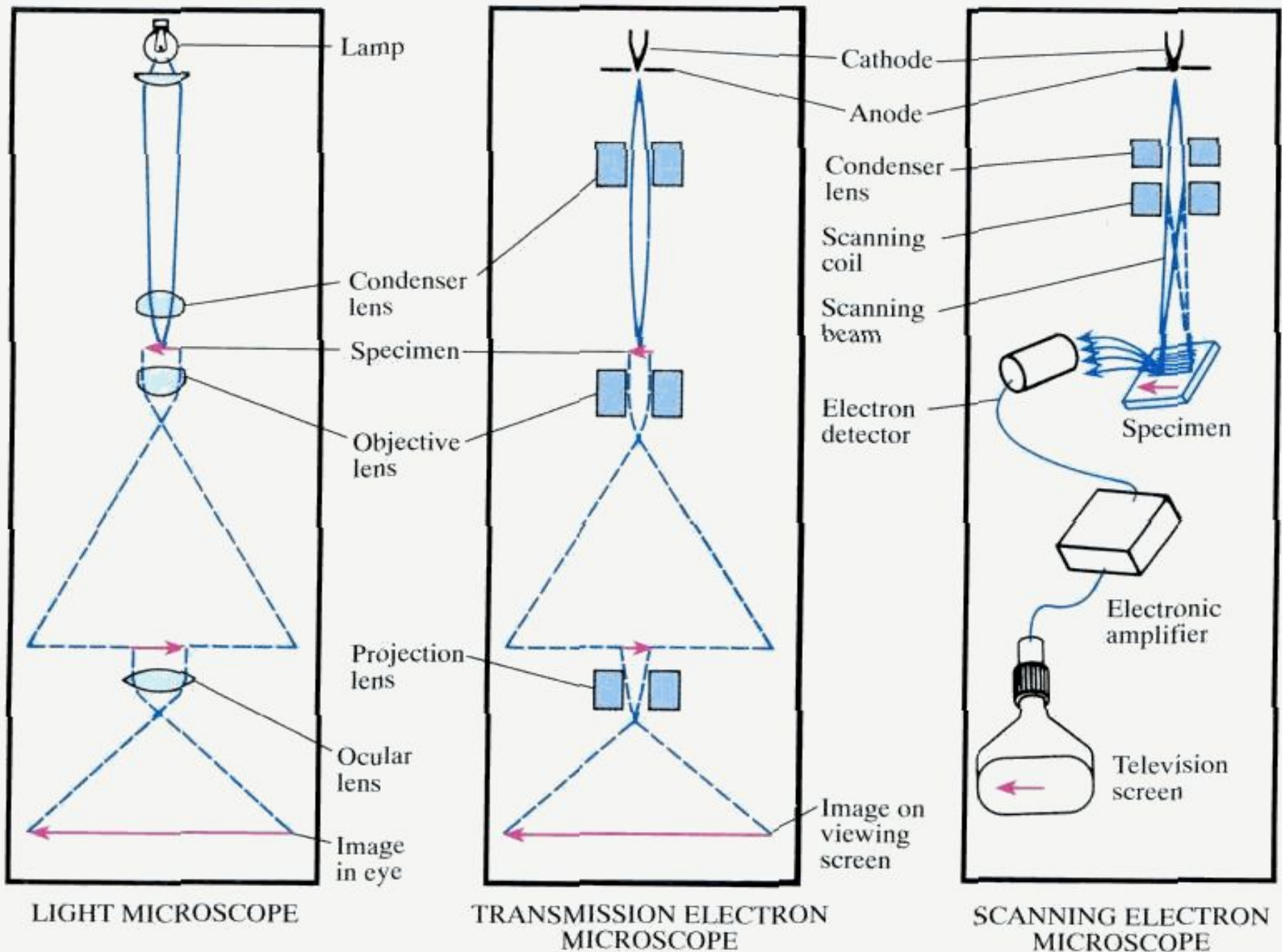
1 міліметр (1 мм) = 10^{-3} м = 10^3 мкм = 10^6 нм = 10^7 А
1 мікромметр (1 мкм) = 10^{-6} м = 10^{-3} мм = 10^3 нм = 10^4 А
1 нанометр (1 нм) = 10^{-9} м = 10^{-6} мм = 10^{-3} мкм = 10 А
1 ангстрем (1 А) = 10^{-10} м = 10^{-7} мм = 10^{-4} мкм = 10^{-1} нм



Фазово – контрастна
мікроскопія

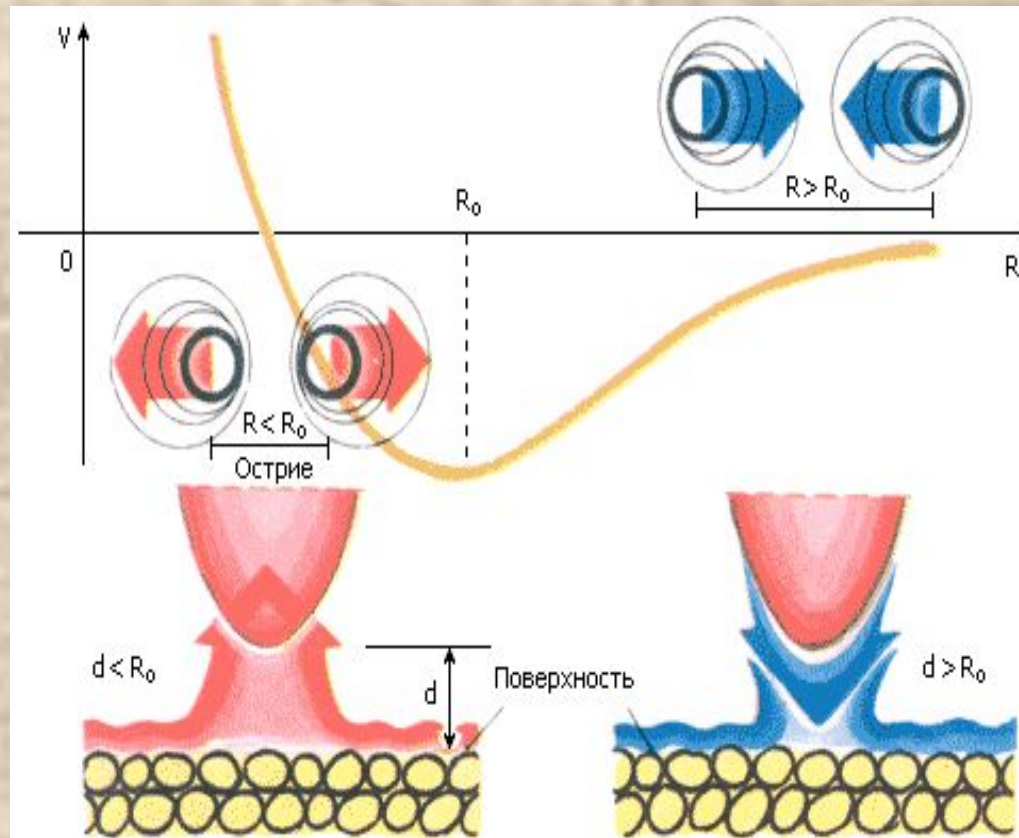
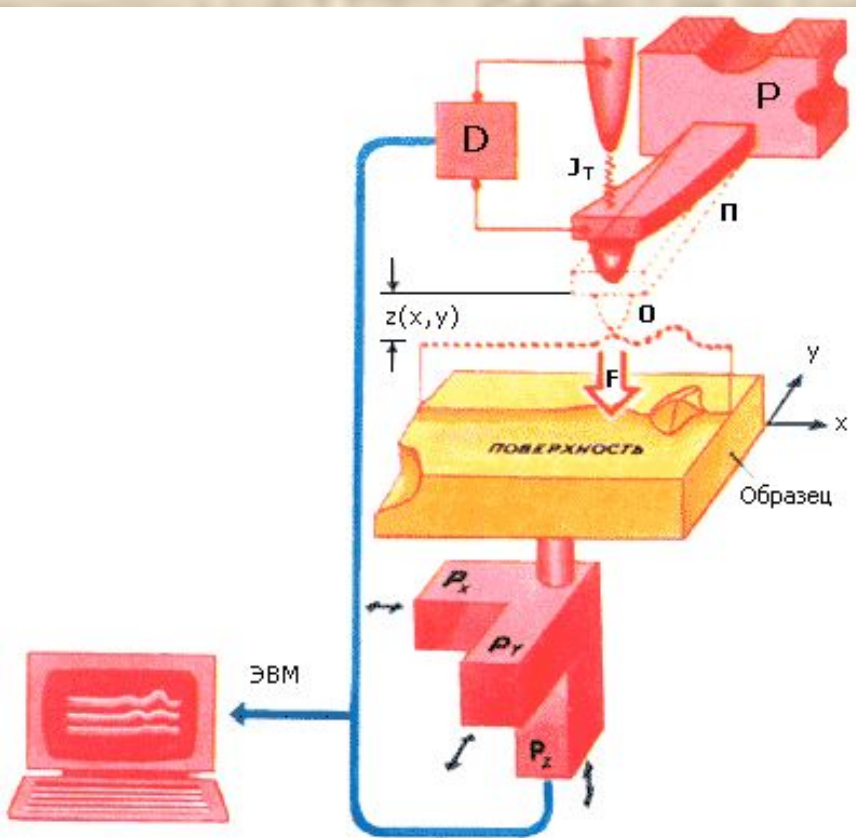


Конфокальна
мікроскопія





3D скануючий конфокальний мікроскоп зі спектрометром "Nanofinder S" незамінний для досліджень в нанобіотехнологіях, при комплексному аналізі таких об'єктів як напівпровідники, рідинні кристали, оптичні світловоди, полімери, фармацевтичні і біологічні речовини, поодинокі молекули і наночастинки.



В 1982 році два швейцарських фізика [Герд Бінніг](#) В 1982 році два швейцарських фізика Герд Бінніг і [Гейнріх Рорер](#), які працювали в Дослідницькій лабораторії фірми ІБМ в Цюриху (Швейцарія), зконструювали прилад зовсім нового типу, за допомогою якого Можливо розглядати окремі атоми на поверхні тіл. Авторам цього приладу – скануючого тунельного мікроскопа (скорочення – СТМ) – в 1986 році була присуджена Нобелівська премія.



Мікроскоп відліковий МПБ-2—
для вимірювання ширини розкриття тріщин.

обстеження будівель і споруд
http://www.stn.by/designed_works.php





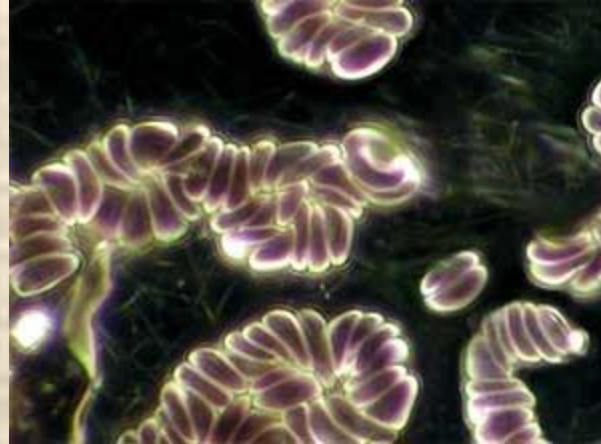
FOMS Мікроскоп

Цей міцний легкий у використанні мікроскоп призначений для перевірки керамічного торця коннектора на наявність подряпин, забруднень і інших проблем, які можуть вплинути на передачу інформації. Мікроскоп являється універсальним інструментом і придатний як для польових так і для лабораторних застосувань. Дуже мала кількість маніпуляцій потрібна для того, щоб впевнитись, що коннектор відповідає кращим вимогам.

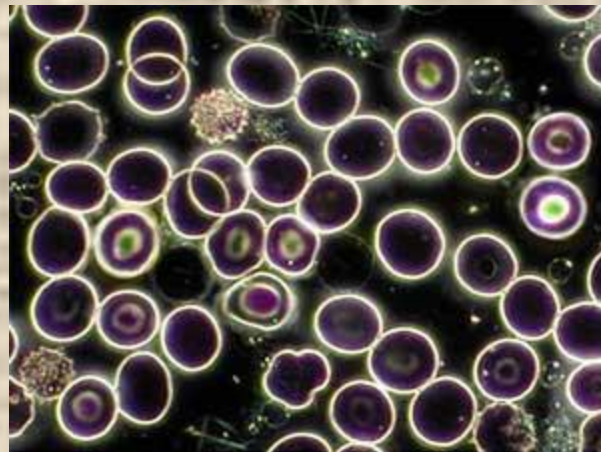
<http://www.exforussia.ru/catalog.html?id=78>



OLYMPUS



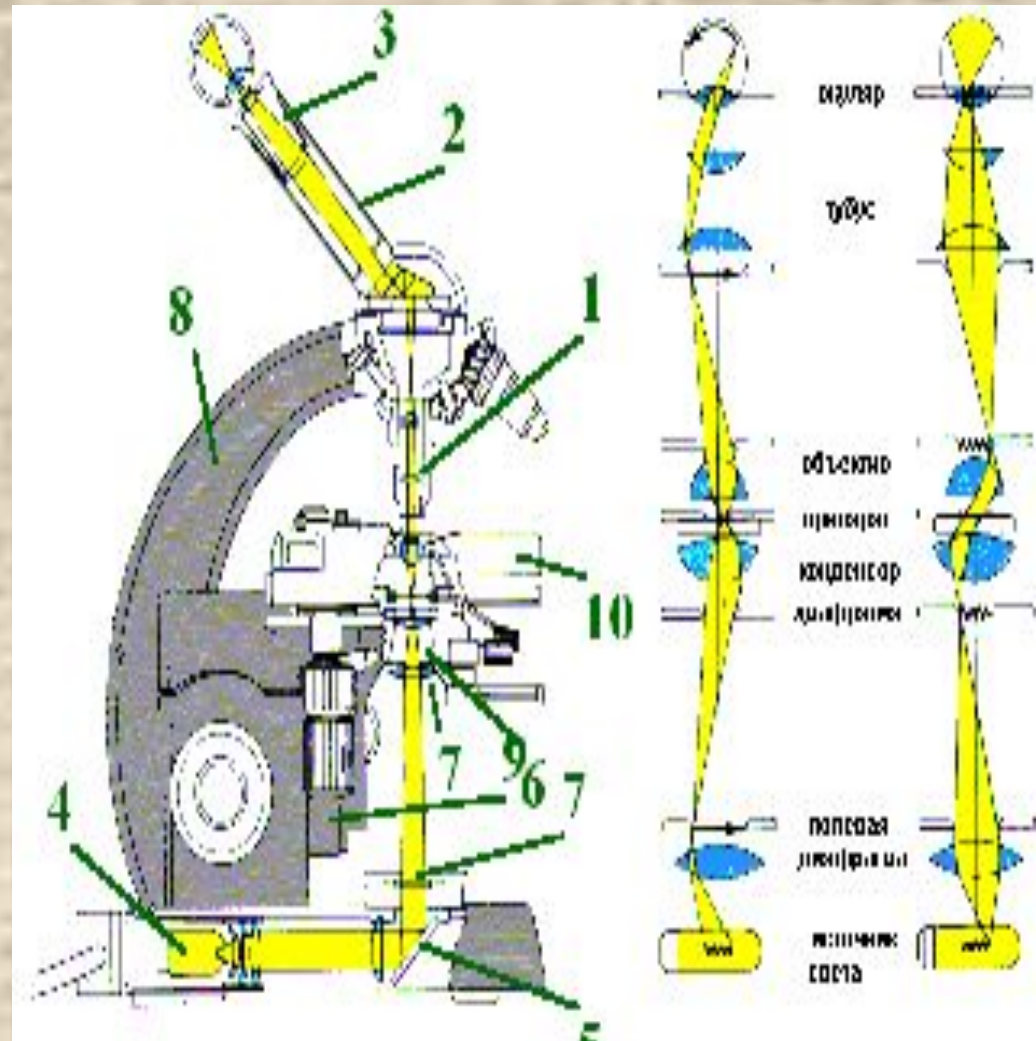
. <http://www.akond.ru/index.html>



Будова світлового мікроскопу

В мікроскоп входять 3 системи:

- **Оптична** (об'єктив -1, тубус -2, окуляр – 3)
- **Освітлювальна** (джерело світла – 4, дзеркало – 5, конденсатор – 6, діафрагма – 7)
- **Механічна** (тубус – 2, штати в 8, колонка – 9, предметний столик – 10)



Будова електронного мікроскопа



В електронному мікроскопі зразок опромінюється пучком електронів. Конструктивна особливість полягає в тому, що в електронному мікроскопі в якості лінз використовуються електромагнітні катушки.

Джерелом електронів є катод, а рушійною силою – різниця потенціалів між катодом і анодом, анод розміщений поблизу катода і має отвір посередині, через який проскакують електрони.

Щоб їх потік далі не послаблювався, в тубусі мікроскопа створюється вакуум.