

УДК 579.083.1

Маре-Анне РОМЕЙКИС, Элве ТИКК, Юлле КОЛЛИСТ

**МОДИФИЦИРОВАННЫЙ МЕТОД МИКРОКУЛЬТУР ДЛЯ СВЕТО-
И ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ
МИКРООБЪЕКТОВ**

*Mare-Anne ROMEIKIS, Elve TIKK, Ülle KOLLIST. MODIFITSEERITUD MIKROKULTUURIDE
MEETOD MIKROOBJEKTIDE VALGUS- JA ELEKTRONMIKROSKOOPILISEKS UURIMISEKS*

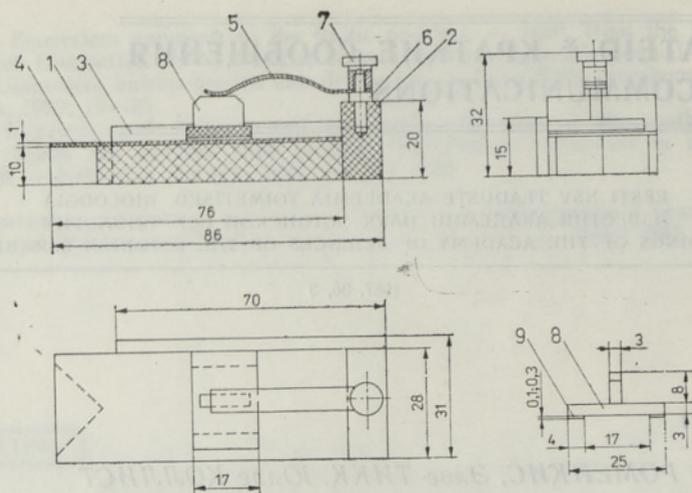
*Mare-Anne ROMEIKIS, Elve TIKK, Ülle KOLLIST. MODIFIED METHOD OF MICROCULTURES
FOR LIGHT AND ELECTRON MICROSCOPY OF MICROOBJECTS*

Методика микрокультур позволяет светомикроскопически проследить за развитием и ростом различных клеточных микропопуляций, в основном микроорганизмов. Микрокультуры выращиваются на тонких слоях агаризованной питательной среды или чистого агара на предметных или покровных стеклах микропрепарата (Pitzurra, 1953). Для более точного выбора необходимого материала, его приготовления (фиксация, окрашивание разными методами) и электронно-микроскопического исследования целесообразно использовать также методику микрокультур, но уже с определенной стандартной толщиной (0,1 или 0,3 мм) гелевого слоя (Сильвере, 1983). Для получения таких тонкослойных стандартных гелевых слоев сконструировано устройство (рисунок). Подложка (1) и шаблон гелевого слоя (8) выполнены из органического стекла.

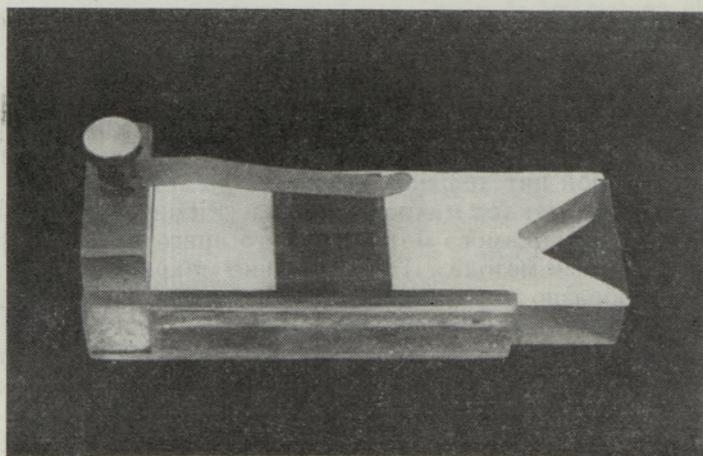
Гелевый слой получают следующим образом. На подложку, продезинфицированную спиртом, помещают стерильное предметное стекло и фиксируют его краями подложки (3). На предметное стекло ставят шаблон и фиксируют его прижимной пружиной (5), закрепленной на одном конце подложки. Пространство между предметным стеклом и шаблоном заполняется при помощи пипетки горячим раствором геля, толщину которого определяют по высоте ножек (9) на нижней стороне шаблона. Смонтированное таким образом устройство помещают в стерильный бокс. После застывания геля прижимную пружину отодвигают с шаблона, последний осторожно снимают с предметного стекла, на котором остается гелевый слой заданной толщины и размера. Этот слой выдерживают во влажной камере во избежание высыхания.

Наносить исследуемый материал (микробные клетки и др.) на слой геля следует капельками, чтобы избежать стекания препарата на предметное стекло. Выращенный на гелевых слоях материал хорошо поддается свето- и электронномикроскопическим исследованиям.

Настоящая модификация методики микрокультур и устройство для получения тонкослойных стандартных гелевых слоев разработаны и сконструированы А.-П. Сильвере. В память об учителе мы считаем своим долгом довести его работу до конца.



Устройство для получения тонкослойных стандартных гелевых препаратов: 1 — подложка, 2, 3 — ограничивающие края подложки, 4 — предметное стекло, 5 — прижимная пружина шаблона, 6, 7 — винтик к прижимной пружине, 8 — шаблон, 9 — ножи шаблона.



В целях более детального исследования различных фаз развития микроструктур изучена возможность обработки этих культур на предметных стеклах фиксаторами с последующей окраской. Установлено, что тонкослойные агаровые микрокультуры на предметных стеклах вполне удовлетворительно фиксируются глютаровым альдегидом, наносимым на культуру во влажной камере. Влажность достигается многократным ополаскиванием препарата водой или его погружением в воду.

Под фазово-контрастным микроскопом зафиксированный препарат хорошо просматривается и без окраски. Для более детального светомикроскопического изучения его можно окрашивать различными гистологическими красителями, например по Гимза—Романовскому (Ромейс, 1954). Окрашенные препараты можно высушивать и сохранять как сухие постоянные препараты-мазки, или заключать в подходящую среду (например, глицерин) под покровное стекло. При необходимости высушенные препараты можно опять вернуть во влажное состояние, покрыв их каплей воды и стеклом.

Описанные варианты таких светомикроскопических препаратов можно успешно применять в электронной микроскопии. Для этого под световым микроскопом отыскивают нужный материал, затем поднимают объектив (тубус) микроскопа и осторожно удаляют покровное стекло, не сдвигая предметного стекла. Проверив сохранность выбранного материала на агаровой пластинке и подняв тубус микроскопа достаточно высоко, вырезают (ориентируясь по световому пятну на препарате) кусочек агаровой пластинки с выбранным материалом. Дальнейшая обработка этой пластинки не отличается от проводимой с электронномикроскопическими препаратами. Чтобы избежать смыва с агаровой пластинки нужных для исследования объектов, их можно заключить в каплю расплавленного агара и обрабатывать в таком виде.

Модифицированный метод позволяет исследовать различные микрообъекты — как культивируемые в микрокультурах, так и изолируемые или собираемые (накапливаемые) на агаровом слое. В целом тонкослойные микрокультуры со стандартной толщиной (0,1 или 0,3 мм) заметно повышают точность препарирования микрообъектов, а во многих случаях — и продуктивность электронномикроскопического исследования за счет предварительного светомикроскопического подбора, концентрирования и ориентировки изучаемых объектов.

ЛИТЕРАТУРА

- Сильверс А.-П. Модификация метода микрокультур для свето- и электронномикроскопического изучения микропопуляций клеток и других микрообъектов. — Тез. докл. конф. «Современные методы электронной микроскопии и их применение». Таллин, 1983, 60—62.
- Ромейс Б. Микроскопическая техника. М., 1954.
- Pitzurra, M. Sulla colorabilità dei batteri durante il «periodo di latenza». — Boll. Ist. sieroterap. milanese, 1953, 32, N 9—10, 394.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
25/VI 1986

