

10. darbs Paraugu sagatavošana skenējošajai elektronmikroskopijai (SEM)

Sagatavojamie paraugi:

1. Hloroplasti
2. Putekšņi
3. Raugs

1. Hloroplasti

- ❑ piestā saberž lapu, kuras garums ir 6 cm pa galveno dzīslu, 0,2 M nātrija kakodilāta ($C_2H_6AsO_2Na \cdot 3H_2O$) buferšķīdumā (13);
- ❑ filtrē caur filtrpapīru,
- ❑ izfiltrēto šķīdumu iepilda Ependorfa mēģenē (1 ml);
- ❑ pielej 1 ml 4% glutaraldenīna fiksatoru nātrija kakodilāta buferšķīdumam;
- ❑ sakrata 1 minūti mikrospinā *Vortex FV-2400*;
- ❑ fiksē 10 minūtes Ependorfa mēģenēs, kuras ievietotas Ependorfa mēģeņu statīvā;
- ❑ centrifugē 3 minūtes, ar ātrumu 3000 apgriezieni centrifūgā *MiniSpin*;
- ❑ paraugu skalo, nosūcot fiksatoru ar mikropipeti un pielejot 2 ml nātrija kakodilāta buferšķīdumu;
- ❑ sakrata 1 minūti mikrospinā *Vortex FV-2400*;
- ❑ centrifugē 3 minūtes, ar ātrumu 3000 apgriezieni centrifūgā *MiniSpin*;
- ❑ paraugu skalo, nosūcot buferšķīdumu ar mikropipeti un atkārtoti pielejot 0,5 ml nātrija kakodilāta buferšķīduma;
- ❑ sakrata aptuveni 1 minūti mikrospinā *Vortex FV-2400*;
- ❑ paraugu turētāju notīra ar etanolu, paraugu turētāju saņem gumijas cimdos vai ar pinceti
- ❑ uzpilda 100 mikrolitrus uz parauga turētāja;
- ❑ žāvē vietā, kur paraugam nevar piekļūt putekļi, piemēram, žāvējamā skapī;
- ❑ gaissausi paraugi tiks apputrināti ar zelta-platīna sakausējumu.

2. Putekšņi

- ❑ paraugu turētāju notīra ar etanolu, paraugu turētāju saņem gumijas cimdos vai ar pinceti;
 - ❑ paraugu turētājam pielīmē elektrovadošu divpuslīpīgu līmplēvi;
 - ❑ ar pinceti atdala no tabakas zieda putekšņnīcu;
 - ❑ putekšņus uzkrata uz līmplēves;
 - ❑ paraugu turētāju ievieto Petri traukā un pārsedz.

3. Raugs

- ❑ paraugu turētāju notīra ar etanolu, paraugu turētāju saņem gumijas cimdos vai ar pinceti;
- ❑ uzpilda pa 100 mikrolitriem rauga suspensijas uz diviem paraugu turētājiem;
- ❑ žāvē vietā, kur paraugam nevar piekļūt putekļi, piemēram, žāvējamā skapī;

a) gaissausi paraugi tiks apskatīti SEM;

b) gaissausi paraugi tiks apputrināti ar aerosolu *GRAPHIT 33* (ražotājs – *CRC INDUSTRIES EUROPE*).