

Biološko tveganje

(Teorija je v skriptih na straneh 107-110.)

V biokemijskih laboratorijih so poleg vseh nevarnosti, ki prežijo v kemijskih laboratorijih, še dodatne nevarnosti. so namenjeni varnemu delu z biološkimi materiali. Njihov bistveni sestavni del so posebni filtri, ki zrak sterilizirajo. Vse biološke odpadke in ves material, ki so pri delu prišli v stik z vzorci, moramo, preden jih zavržemo ali operemo za ponovno uporabo.

Aseptično delo

Namen vaje: Spoznati načine sterilnega dela.

Potek dela:

1. V epruveto sterilno odpipetiraj 5 mL LB gojišča.
2. Nacepi bakterije *Escherichia coli* na trdno LB gojišče.

Homogenizacija tkiva in centrifugiranje

(Teorija je v skriptih na straneh 16-22.)

Namen vaje: Spoznavanje metod za homogenizacijo bioloških materialov in osnovnih pravil pri delu s centrifugo.

Uvod: Pri vaji bomo s homogenizirali goveja jetra in s centrifugiranjem ločili homogenat na dve frakciji, jedrno frakcijo, ki bo poleg celičnih jeder vsebovala tudi nerazbite celice, in citoplazemsko frakcijo.

Potek dela:

1. Približno 1 cm³ jeter nastrizi v čašo in dodaj 10 mL 0,25 M saharoze.
2. Malo pomešaj, prelij v stekleno posodo teflonskega homogenizerja in naredi 5-10 pasaž (1 pasaža je pot bata do dna in nazaj v začetni položaj).
3. Homogenat prefiltriraj skozi gazo.
4. V centrifugirko odpipetiraj 3 mL 0,32 M saharoze in s kapalko previdno dodaj homogenat, tako da se v centrifugirki naredita dve plasti. Pazi, da se plasti ne premešata.
5. Primerjaj težo svoje centrifugirke s centrifugirko enega od svojih kolegov, in če nista uravnoreženi, dodaj v lažjo še toliko homogenata, da bosta uravnoreženi. Upoštevaj tudi pokrovček.
6. Centrifugiraj 10 minut pri 1000 vrt./min. Supernatant previdno odlij v epruveto.
7. Usedlini dodaj 0,5 mL 10% NaDS.
8. V epruveto odpipetiraj 0,5 mL supernatanta in dodaj 0,5 mL 10% NaDS.

Odgovori na vprašanja:

1. Nariši, kaj si dobil po centrifugiranju, in na sliki navedi, kateri deli celic se nahajajo v spodnji in kateri v zgornji fazi.

2. Zakaj se je supernatant po dodatku detergenta zbistril?

3. Zakaj je usedlina po dodatku detergenta postala viskozna?

4. Od česa je odvisna sedimentacijska hitrost delca pri centrifugiranju?