

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 7

ТЕМА: РОЗДІЛЕННЯ КЛІТИН ТА РЕЧОВИН У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ

Значення теми:

У клінічних і санітарно-гігієнічних лабораторіях центрифугування використовують для відокремлення еритроцитів від плазми крові, згустків крові від сироватки, щільних частинок від рідкої частини сечі, тощо. Для цієї мети застосовують або ручні центрифуги, або центрифуги з електроприводом, швидкість обертання яких можна регулювати. Метод центрифугування широко застосовується в біології, медицині та техніці, нерідко замінюючи процеси фільтрування, відстоювання і віджимання.

Знати:

- загальну будову центрифуги;
- порядок роботи із центрифугою;

Вміти:

- поділяти механічні суміші методом центрифугування;



Запитання для обговорення:

1. Кров та її функції.
2. Загальна характеристика еритроцитів.
3. Характеристика лейкоцитів: різновиди, функції.
4. Характеристика тромбоцитів.
5. Склад і властивості плазми.

Короткий зміст теми

Центрифугування - це поділ механічних сумішей на складові частини дією відцентрової сили. Прилади, що застосовуються для цієї мети, називають центрифугами. Принцип дії центрифуги заснований на створенні великої відцентрової сили, під впливом якої швидкість поділу компонентів суміші, вміщеній у центрифугу, збільшується в багато разів у порівнянні зі швидкістю поділу їх під дією сили тяжіння.



Поділ суміші ведеться в пробірках найрізноманітнішої форми і об'єму.



При роботі на великих швидкостях використовують пробірки з поліетилену, так як скляні лопаються. Розташовані в роторі одна проти іншої пробірки з оброблюваним

матеріалом повинні бути врівноважені. Цим здійснюється рівномірне навантаження на вал ротора і забезпечується рівномірне обертання валу центрифуги. Для врівноваження пробірок застосовують особливі ваги.

Дослід № 1 Відмивання еритроцитів від плазми за допомогою центрифугування

Матеріали і реактиви: штатив для пробірок, фізіологічний розчин, 2 скляні центрифужні пробірки, піпетки, ваги, центрифуга

Хід роботи. Після осадження еритроцитів протягом першої доби зберігання у крові збирають плазму. Відмивання еритроцитів від плазми проводять наступним чином: еритроцити розбавляють (1:2) фізіологічним розчином, потім отриману суспензію центрифугують протягом 3 хвилин при 3000 об/хв, надосад знімають. Процедуру відмивання повторюють ще раз – доки осад не буде прозорим.

Дослід 2. Приготування м'язового екстракту

Матеріали і реактиви: дистильована вода, м'язова тканина, чашка Петрі, ножиці, фарфорова ступка, марля, 2 центрифужні полімерні пробірки, піпетки.

Хід роботи. 2-3 г м'язової тканини подрібнюють у чашці Петрі ножицями та поміщують у фарфорову ступку, де розтирають з 5-6 мл дистильованої води. Отриману м'язову кашицю фільтрують через два шари марлі. Після цього отриманий екстракт переносять у центрифужні пробірки і центрифугують при 3 000 об / хв протягом 10 хв. Надосад використовують в якості вихідного матеріалу для визначення різних речовин.

Дослід 3. Виявлення в м'язовому екстракті за допомогою біуретової реакції білка

Матеріали і реактиви: скляні пробірки, піпетки, дистильована вода, м'язовий екстракт, 10%-ний розчин гідроксиду натрію, 1%-ний розчин сульфату купруму.

Хід роботи. До 5 крапель м'язового екстракту доливають 10 крапель 20 %-го розчину NaOH, потім 2 краплі 1%-го розчину CuSO_4 . З'являється рожеве або рожево-фіолетове забарвлення.

Дослід 4. Отримання безбілкового фільтрату

Матеріали і реактиви: м'язовий екстракт, 5% -ий розчин трихлороцтової кислоти, піпетки, 2 полімерні центрифужні пробірки, центрифуга

Хід роботи. У мікропіпетку набирають 0,5 мл отриманого екстракту або іншого біологічного розчину (наприклад, плазма або сеча), вносять його в центрифужну пробірку і додають 0,5 мл 5%-ого розчину трихлороцтової кислоти. (Обережно! Це їдка речовина.) При наявності білка розчин мутніє. Вміст пробірки перемішують, переносять у центрифужні пробірки і центрифугують при 3 000 об / хв протягом 5 хв. Білок при цьому осідає. Безбілковий фільтрат (він повинен бути прозорим) зливають і використовують для подальшого аналізу (наприклад, для визначення глюкози).

Зробити висновки.