

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное бюджетное государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Оренбургский государственный университет»
Химико-биологический факультет
Кафедра биохимии и микробиологии

Лабораторный минимум

Лабораторная работа №1 по
«Генетике микроорганизмов»

Давыдова Ольга Константиновна, к.б.н., доцент

План:

- Правила работы с реактивами
- Взвешивание
- Приготовление растворов
- Автоматическая пипетка
- Планирование эксперимента



Правила работы с реактивами

- То, что высыпано/отлито из стоковой банки назад не попадает ни при каких условиях.
- Из стоковой банки можно отсыпать/отлить либо в чистую ёмкость, либо в ёмкость, предназначенную только для того же реактива.
- В стоковые банки нельзя "лазить" градуированными или автоматическими пипетками. Из них можно только отливать (но не касаясь краем) в ваши собственные "стоковые" банки/пробирки.
- Чем можно лазить внутрь общей банки? Ничем - самое лучшее решение, но практически не (или очень трудно) осуществимое, поэтому
 - * чистый (а часто и простерилизованный) металлический или пластиковый шпатель;
 - * в некоторых банках можно оставлять пластиковые шпатели, которые затем можно держать чистым пинцетом;
 - * чистая стеклянная или пластиковая пипетка.

Правила работы с реактивами

Посуду с реактивом нужно брать так, чтобы этикетка оказалась в ладони. Это делается для того, чтобы случайные потеки не испортили надпись.

Обращайте внимание на маркировку.

Пользуйтесь только надписанными реактивами.

При необходимости отмечайте дату вскрытия емкости с реактивом для учета длительности хранения.

На банке с реактивом можно найти:

- Название и молекулярная формула;
- Каталожный номер и название фирмы;
- Номер партии (lot number);
- Дата, до которой продукт годен к употреблению;
- Условия хранения.

Эта информация является важной, перепишите ее.



Взвешивание

Взвешивание "x"g реактива:

- установить на весы "пустую" ёмкость;
- установить "0";
- насыпать реактива до "x"g.

Реактив "слежался":

- * закрыть банку, как следует потрясти;
- * раздробить, используя шпатель или стерильную пипетку;

Если при взвешивании реактив попал на весы: Ни в коем случае НЕ СДУВАТЬ!!! Нужно аккуратно снять чашку (и, если надо, верхний кожух весов); кожух вымыть и насухо протереть; весы протереть влажной тряпкой/салфеткой, насухо вытереть; всё собрать.

После работы весы нужно выключить.



Приготовление растворов

■ Существует множество способов измерения концентрации и количества веществ. Тем, кто работает в нашей лаборатории необходимо свободно обращаться по крайней мере с двумя типами единиц: "молями" и "процентами".

■ *Моль.*

■ Моль - единица измерения количества вещества. 1 моль - такое количество вещества в котором содержится 6.022×10^{23} (число Авогадро) молекул этого вещества. Моль - единица безразмерная (что-то типа "штук", "дюжин", "сотен").

■ Однако, когда пишут "М" обычно имеют в виду не количество, а концентрацию: моль/литр. Эта единица измерения имеет размерность [1/L].

■ Когда имеют в виду действительно количество почему-то пишут "mol" (безразмерная величина). Вполне можно написать, что $M = \text{mol/L}$.

■ Реально пользоваться этой единицей измерения можно лишь зная "молекулярный вес вещества" - вес 1 моля (6.03×10^{23} молекул). Обозначается этот вес "Mr", "Mw", и измеряется в граммах.

■ Молекулярный вес можно найти:

- непосредственно на банке с реактивом;
- в справочнике или каталоге;
- рассчитать по молекулярной формуле.

Приготовление растворов

- *Процентное содержание.*
- Процентное содержание - отношение количества данного вещества к количеству всего раствора, выраженное в процентах.
- В зависимости от того, что понимается под количеством, процентное содержание будет "массовым" (w/w - weight/weight), "объёмным" (v/v - volume/volume) или "смешанным" (например w/v - weight/volume). Первые две единицы измерения безразмерные, и поэтому проблем обычно не вызывают; третья - размерная величина.
- Весьма печально, но часто не указывается явно какой именно процент имеется в виду (тогда остаётся только догадываться, чаще всего (хотя и не обязательно) подразумевается [g/ml]).

Вода

■ В лаборатории имеется вода трёх сортов:

- * *водопроводная* для заваривания чая; мытья рук, лабораторной посуды, форежных камер.
- * *дистиллированная* для ополаскивания лабораторной посуды, форежных камер, приготовления бактериальных сред.
- * в редких случаях, *фильтрованная, деионизованная, бидистиллированная*.



Автоматическая пипетка

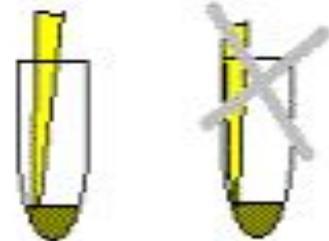
- Объем, выставленный на пипетке, равен объему жидкости в типе, только в том случае, если эта жидкость - вода при комнатной температуре.

- Особенно внимательно нужно работать с горячими, холодными, вязкими растворами и растворами с небольшим поверхностным натяжением.

- С заметной частотой случается, что отбирается неправильный объём (некачественный тип, тип неплотно одет, тип не сразу коснулся жидкости, тип закупорился каким-нибудь сгустком). Поэтому нужно контролировать работу пипетки "на глаз".

- не надо глубоко погружать тип в отбираемую жидкость (особенно в случае вязких жидкостей);

- следует обращать внимание, чтобы тип не касался ничего лишнего своей внешней поверхностью.



Автоматическая пипетка

Правила работы:

- отжать пипетку до первого упора;
- жидкость отбирать прямо с поверхности, тип глубоко не опускать;
- выдавливать жидкость, отжав пипетку до второго упора (по возможности на стенку пробирки или на поверхность жидкости – лучше не капать и не погружать тип глубоко).

Для того, чтобы жидкость не попала внутрь автоматической пипетки

- отжимать поршень вверх обязательно плавно;
- не класть на стол пипетку с надетым типом;
- не сбрасывать тип, в котором есть жидкость.

Помимо автоматических пипеток для измерения объема могут быть использованы градуированные стаканы и мерные цилиндры



Планирование эксперимента

- Не приступайте к эксперименту, если точно не знаете, что и как нужно делать.
- Часто общепринятая точка зрения основана на одиночном эксперименте или на чьем-то сообщении, которое может оказаться мнением (особенно, когда не было специальных исследований). Если на такой информации базируется важный момент ваших планов (или "непреодолимое препятствие"), стоит самому убедиться в достоверности.
- Отдельно хочется остановиться на работе, в основе которой лежат чужие результаты (недоделанный проект). Это очень опасное мероприятие, десять раз подумайте, прежде чем ввязываться в такое дело.
- Часто имеет смысл начинать работу "в параллель" сразу по нескольким направлениям до того момента, как одно из них не начнет приносить плоды. Это требует больших усилий на старте, но они окупаются, когда вы прекращаете работу над менее успешными вариантами.
- Решение о том, стоит ли проводить работу должно оцениваться по формуле:
(ожидаемый результат) x (вероятность удачи)
(затраченное время) x (цена)

Планирование эксперимента

- Планируя эксперимент, ставьте перед собой задачу в виде вопроса, а не в виде метода, который нужно применить.
- Используйте все индивидуальные особенности вашей задачи. Не применяйте слепо стандартный метод. Вы планируете, как вам предстоит провести кусок жизни, а не пишете страницу в учебник.
- Готовьте план всего эксперимента, а не его части. Заранее обратите внимание на этапы, требующие длительного (или не от вас зависящего) периода подготовки.
- Если вы разрабатываете новую методику, существенным выигрышем будет возможность проконтролировать отдельно каждый шаг. Оптимизация многостадийных протоколов: разбейте протокол на отдельные этапы, придумайте для каждого простые контроли и проводите в параллель оптимизацию всех этапов. Если предполагается, что какой-то шаг является сомнительным местом метода - начните отработку условий с него.
- Экспериментальные результаты могут быть интерпретированы только при наличии контролей (положительных и отрицательных).
- Старайтесь не изменять больше одного параметра за раз.
- Не надейтесь на вашу сверхчеловеческую память. Записывайте все, что вы делаете.

До встречи в лаборатории!

