Лабораторна робота № 4

Тема: **Аналіз кривої росту культури.**

**Мета:** провести аналіз кривої росту культури клітин, освоїти разрахунок основних характеристик росту популяції клітин.

**Обладнання:** лабораторний посуд, гемоцитометр (камера Горяєва), 0,25% трипсин, поживне середовище, дистильована вода, 70% етанол, вата, мікроскоп, трипановий синій, нейтральний червоний.

Хід роботи:

Завдання 1. **Первинний підрахунок.**

Результати підрахунку, що отримали внаслідок прямого підрахунку у камері гамоцитометру – це кількість клітин на 1 мл трипсинізованої культури.

Завдання 2. **Кількість клітин на чашку Петрі.**

При використанні трипсину у об’ємі 1 мл кількість клітин на чашку Петрі буде співпадати з результатами первинного підрахунку. При додаванні 0,5 мл трипсину – отриманий результат необхідно розділити на 2 для отриманні кількості клітин у флаконі.

Завдання 3. **Кількість клітин на 1 мл культурального середовища (концентрація клітин).**

Розділіть кількість клітин у чашці Петрі на об’єм середовища, що використовувалося для культивування.

Завдання 4. **Кількість клітин на 1 см3 поверхні (клітинна щільність).**

Розділити кількість клітин у чашці Петрі на площу поверхні чашки Петрі.

Завдання 5. **Складання графіку залежності клітинної щільності (кл./см2) та клітинної концентрації (кл./см2) від часу культивування (таблиця)**.

1. По вертикальній осі відмітити концентрацію або щільність клітин у логарифмічній шкалі, по горизонтальній осі відмітити час культивування у лінійній шкалі.
2. Спираючись на отриманий графік визначити час lag-фази, логарифмічного росту та фазу плато.

Таблиця

Дані, отримані при підрахунку кількості клітин у чашках Петрі

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Культура клітин, що інкубувалася з 10% вмістом сироватки | | Культура клітин, що інкубувалася з 15% вмістом сироватки | |
| дата | Концентрація клітин,  клітин/мл | дата | Концентрація клітин, клітин/мл |
| 27.02.2020 | 6,03\*106 | 27.02.2020 | 6,03\*106 |
| 28.02.2020 | 6,48\*106 | 28.02.2020 | 6,94\*106 |
| 2.03.2020 | 7,89\*106 | 2.03.2020 | 8,05\*106 |
| 3.03.2020 | 11,57\*106 | 3.03.2020 | 12,58\*106 |
| 4.03.2020 | 13,41\*106 | 4.03.2020 | 16,87\*106 |
| 2.03.2020 | 16,18\*106 | 2.03.2020 | 17,12\*106 |
| 10.30.2020 | 16,56\*106 | 10.30.2020 | 17,15\*106 |
| 11.03.2020 | 16,05\*106 | 11.03.2020 | 16,98\*106 |

**Питання для контролю:**

1. Вимоги до якості і складу поживних середовищ.
2. Первинні та трансформовані культури.
3. Пересів клітинних культур.
4. Техніка дисоціації.
5. Трипсин. Проназа. Колагеназа. Версен.
6. Механічні методи дисоціації клітин.
7. Підрахунок живих клітин.
8. Клітинні основи росту.
9. Ріст організму та середовище.
10. Клітинна проліферація.
11. Диференціювання.
12. Вплив зовнішніх умов на ріст та розвиток організму.
13. Контроль та аналіз клітинного циклу.
14. Основні фази росту культури: лаг-фаза (фаза затримки росту), експоненціальна фаза, перед стаціонарна фаза, стаціонарна фаза, фаза відмирання культури.
15. Підрахунок клітин у гемоцитометрі та електронному лічильнику