Лабораторна робота № 7

Тема: **Оцінка ефективності посіву: підрахунок колоній, що утворилися на чашках Петрі.**

**Мета:** ознайомитися з методами підрахунку колоній клітин для визначення ефективності посіву на чашках Петрі (методика клонування).

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

**Питання для самопідготовки**

1. Хромосомний аналіз клітин у культурі
2. Кількісний аналіз клітин у культурі
3. Дослідження цитотоксичності клітин у культурі
4. Контамінація та шляхи її усунення
5. Культури специфічних клітин
6. Органотипові культури
7. Клонування клітин у культурі
8. Органотипова культура клітин

Хід роботи:

Завдання 1. **Забарвити колонії кристалвіолетом**.

1. Видалити середовище з чашок Петрі.
2. Промити фіз. розчином двічі.
3. Додати 3 мл метанолу (усі маніпуляції робити обережно, щоб не пошкодити колонії клітин) та фіксувати впродовж 10 хв.
4. Видалити метанов.
5. Додати відфільтрований розчин кристалвіолету таким чином, щоб уся поверхня чашки Петрі була вкрита барвником.
6. Видалити барвник.
7. Промити чашки Петрі дистильованою водою та залишити до повного висихання.

Завдання 2. **Підрахунок колоній.**

Порахувати ті колонії, які містять більше 50 клітин (100-1000 клітин). Проте, якщо більшість колоній містять 50 клітин, то їх необхідно враховувати. У такому випадку необхідно враховувати колонії, що містять більше 16 клітин.

Завдання 3. **Аналіз ефективності виживання клітин**.

Оцінити ефективність виживання клітин можна за формулою:

$${N\_{1}}/{N\_{2}}×100=PE$$

Де N1 – кількість сформованих колоній;

N2 – кількість посіяних клітин;

РЕ – ефективність культивування.