

Komplex Biolabor I. jegyzőkönyv

Csormai Borbála
ZZMDFE

2019.05.14.
ITK 342 biomikrofluidika labor

Mikrofluidika III.

Bevezető

A kilencedik laborgyakorlaton ismételten a mikrofluidikával foglalkoztunk. Ezen alkalommal mikrofluidikai szűrők hatékonyságát vizsgáltuk különböző áramlási sebességeken.

A Bürker-kamra

A Bürker-kamra egy olyan laboratóriumi segédeszköz, mellyel sejtszuszpenziók-ból kis mintát véve, a sejtszámot meghatározva, következtetni tudunk az oldat-ban lévő sejtek teljes mennyiségére.

Felépítése és használata

Egy vastagabb üveglemezből és egy vékony fedőlemezből áll. A vastag lemezre finom beosztás van karcolva. A kamra olyan, hogy ha a fedőlemezt a vastag lemezre helyezzük és azt leszorítjuk, akkor pontosan 0,1 mm vastag rés marad közöttük. A vizsgálandó anyagot ebbe a résbe helyezzük be a fedőlemez felhelyezése után úgy, hogy a vastag lemezbe vésett H alakú mélyedés szárai között található négyzetnél a fedőlemez széléhez cseppentjük. Mivel tudjuk a rés vastagságát és a vastag üveglemezen levő beosztások távolságát, a beosztások és a fedőlemez által határolt bármelyik téglalapot térfogatát meg tudjuk határozni, így meg tudjuk adni a térfogategységben található sejtek számát. [1]

Az élesztőgombás oldat

A gyakorlaton elvégzett méréshez élesztőgombás oldatot használtunk.
A törzsoldat koncentrációja: 0.01 g / 100 ml
Az oldatot szonikálással felkevertük, így az egymáshoz tapadt élesztőgombákat le tudtuk választani egymásról.

A mérés

Koncentráció számítása Bürker-kamra segítségével

Részecskék száma 1 μ l oldatban:

$$\frac{a}{b * c * d}$$

ahol:

- a - egy egységben található részecskék száma (db)
- b - egy egység felszíne (mm²)
- c - egy egység mélysége (mm)
- d - hígítás mértéke

A részecskéket Bürker-kamra segítségével, mikroszkóp használatával számoltuk meg, 5 különböző, véletlenszerűen választott egységben. A kapott eredményeket átlagoltuk. Majd a 6 mérőpáros eredményeit is átlagoltuk. Ezek alapján az egy egységre eső részecskék száma: 12,16 db sejt (átlagosan).
Esetünkben az egyenlet:

$$x = \frac{12,16}{0,04 * 0,1 * 1}$$

A kapott eredmény: 3040 db sejt.

A szűrés

A számoláshoz használt Bürker-kamrákat tisztítottuk, majd előkészítettük a szűrést.

Mikrofluidikai cellát használtunk, melynek egy bemenete és egy kimenete volt. A bementre helyeztük a tefloncsővel felszerelt, élsztős oldatot tartalmazó fecskendő. A kimentre helyezett tefloncső túlsó végét egy eppendorfbba helyeztük. A folyadék áramoltatásához fecskendőpumpát használtunk, melyet mérőpáronként más-más sebességre állítottunk:

3, 6, 9, 12, 15, 18 $\mu\text{l}/\text{min}$ -re.

Minden egyes sebességen pontosan 10 percen keresztül áramoltattuk a folyadékot a mikrofluidikai szűrőben, majd az idő leteltével ismét lemértük az oldat koncentrációját. (Az előzőekhez hasonlóan 5 véletlenszerűen kiválasztott egységekben számolva, átlagolva, majd a képletbe helyettesítve.)

A kapott eredmény: 408 db sejt.

A szűrési hatékonyság kiszámítása

- penetráció:

$$P = \frac{c_{out}}{c_{in}} * 100$$

Esetünkben: 13,4 %

- hatékonyság:

$$P = 100 - P(\%)$$

Esetünkben: 86,6 %

Az eloszlás



1. ábra. A részecskék mennyiségének eloszlása, x tengely: a különböző áramoltatási sebességek ($\mu\text{l}/\text{min}$), y tengely: a részecskék száma átlagosan

A tapasztalatok

A 1. ábráról leolvasható, hogy 3 mérőpár mérése sikertelen volt. Mivel egyes áramoltatási sebességekhez hiányosak az adataink, nehéz levonni egy végső következtetést. Látható, hogy a $9 \mu\text{l}/\text{min}$ -es és a $18 \mu\text{l}/\text{min}$ -es mérés eredménye közt kevés az eltérés, mégis a gyorsabb áramoltatás hatékonyabbnak bizonyul a szűrést tekintve.

Irodalomjegyzék

- [1] Sejtszámolás | Labtutorials is Biology Available Online: <https://labtutorials.org/2013/10/09/sejtszamolas/>