

Ime in priimek	Primož Pirih	
Naslov vaje	Osmotsko obnašanje celic	
Datum	24.10.1996	
Opombe		Pregledano

Namen vaje

Izmeriti stopnjo lize eritrocitov v vodi z različnimi koncentracijami natrijevega klorida z merjenjem absorpcije hemoglobina, sproščenega iz liziranih celic.

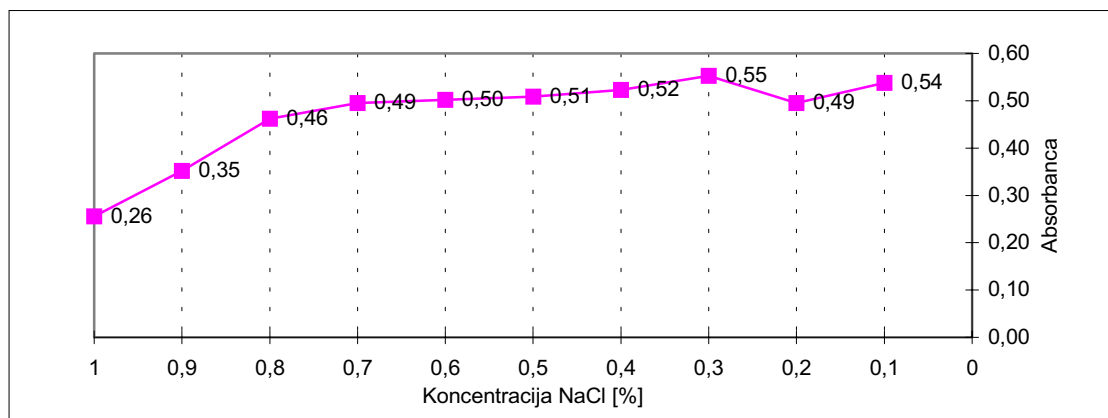
Material in metode

poskusni objekt: goveja kri

material: spektrofotometer, centrifuga, steklovina, raztopine NaCl, heparin, raztopina po Drabkinu

potek poskusa: pripravili smo koncentracijski vrsti raztopin NaCl (0.00%, 0.10% ... 1.00% in 0.30%, 0.32% .. 0.50%). Posameznim raztopinam smo dodali kri (0.5 ml krvi v 4 ml raztopine), centrifugirali in obdržali supernatant z raztopljenim hemoglobinom iz liziranih celic. V supernatant smo dodali raztopino po Drabkinu, ki spremeni valenco železovega atoma, tako da dobimo methemoglobin (rjav, kot posušena kri), ki ima absorpcijski vrh pri valovni dolžini 540 nm.

Rezultati



Območje praga hemolize je bilo v navodilih napačno podano, zato podajam le absorpcije grobe koncentracijske vrste. Absorpcija okrog 0,50 na velikem delu krivulje jasno pokaže, da smo merili na območju, kjer so že vsi eritrociti lizirali.

Diskusija

Liza celic je posledica razlike v osmotskih tlakih znotraj in zunaj celice. V primeru, ko je medij, v katerem so celice, hipotoničen, začne v celice vdirati voda. Povečan pritisk raztrga celično membrano, podobno kot poči balon, če ga preveč napihnemo. Zaradi lize membrane se iz eritrocitov sprosti hemoglobin. Z ugotavljanjem relativne koncentracije hemoglobina v raztopini lahko ugotovimo prag hemolize. Pričakujemo, da bo krivulja hemolize, ko zmanjšujemo koncentracijo soli, sigmoidna. Pri določenem pragu se bo ob majhnem zmanjšanju koncentracije soli količina liziranih celic začela močno povečevati, če pa to nadaljujemo, bomo dosegli stanje, ko bodo vse celice lizirale in bo v raztopini maksimalna koncentracija hemoglobina.

Celice imajo mehanizme, s katerimi se upirajo vdoru vode in lastnosti, zaradi katerih do določene meje zdržijo povečan pritisk. Mehanizmi (ionske črpalke) so aktivni in delujejo le pri živih celicah. Statični lastnosti (prisotnost citoskeleta in trdnost membrane) ostaneta še po smrti celice, vendar zaradi procesov razpadanja le omejeno dolgo.

Iz rezultatov je razvidno, da smo posneli le zgornji del sigmoidne krivulje, torej tisti del, kjer so že vse celice lizirale. Razlaga za to, da so bile celice tako občutljive in so lizirale tudi v (teoretično) izotonični solni raztopini, je to, da so bile poškodovane že pred poskusom, verjetno zaradi starosti krvi.

Če bi poskus ponovili, bi predlagal uporabo sveže krvi (najraje kar od prostovoljca) in sprotno ugotavljanje praga – dela krivulje z največjim naklonom, poleg tega pa bi bilo priporočljivo izvajati poskus vsaj v dveh paralelkah.