

MODULARIZACE VÝUKY EVOLUČNÍ A EKOLOGICKÉ BIOLOGIE

CZ.1.07/2.2.00/15.0204



Metodologie molekulární fylogeneze a taxonomie hmyzu

Bi7770

Andrea Tóthová



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Potenciální rizika

biologické riziko – infekce

chemické riziko – karcinogenní látky

fyzikální riziko – elektrický proud,
popálení

Bezpečnostní pravidla v laboratoři

Všeobecné:

ochrana oděvu (laboratorní plášť), ochrana rukou (latexové rukavice)

- **nevhodné** – sandály, volné dlouhé rukávy, rozpuštěné dlouhé vlasy

Přísný zákaz požívání jedla a pití!

Práce s těkavými chemikáliemi provádět v odvětrávaném digestoři

Při přechodu z jedné místnosti do jiné měnit rukavice, nepřemísťovat žádné pomůcky!!!

Žádné chemikálie neočichávat, neochutnávat!

Při práci s otevřeným ohněm dbát zvýšené opatrnosti!

Při práci musí být **zachován klid** a udržována **maximální čistota**.

Pracuje se s maximální pozorností a rozmyslem.

Ramena odstředivek musí být stejnoměrně zatížena.

Odstředivky musí být během centrifugace uzavřeny, víko nesmí být otevřeno, dokud přístroj není opět v klidu. Většina centrifug je chráněna proti předčasnému otevření pojistkou

V případě jakýchkoliv nejasností se ptát vyučujícího a důsledně dodržovat jeho pokyny!

Neprovádět neautorizované experimenty!



Symboly



Corrosive



Flammable



Explosive



Dangerous



Very toxic



Bio-Hazard

Pre-PCR místnost

Provádí se zde extrakce DNA, příprava PCR mixu

Před zahájením práce očistit pracovní prostor – líh, UV, atd

Obeznámit se se základy bezpečného pipetování kapalin

Při práci s neznámými látkami si ověřit stupeň škodlivosti

Při manipulaci s tekutým dusíkem dbát na zvýšenou opatrnost a použít bezpečnostní pomůcky

Post-PCR místnost

Zde probíhá PCR, elektroforéza produktů a jejich purifikace

Před použitím dekontaminovat pracovní prostor,
vybrané chemikálie, spotřební plast

Obeznámit se s ovládáním přístrojového vybavení

V části ELFO **VŽDY** používat pouze věci označené
„ELFO“ a tyto nikam jinam do zbytku místnosti
nepřesouvat

V části ELFO dbát zvýšené opatrnosti při manipulaci s
mutagenním barvivem a vším, co s ním přijde do kontaktu,
vyhnout se „ořapávání“ jakýchkoli zařízení
kontaminovanými rukavicemi, po práci prostor očistit lihem

V případě kontaminace použít líh k opláchnutí a
kontaminovanou věc vysvítit pod UV světlem

Post-PCR místnost

Použité gely vyhazovat do nebezpečného odpadu,
důkladně očistit transiluminátor i pracovní plochu

PCR produkty neskladovat v pre-PCR místnosti

**Při opouštění místnosti VŽDY vyhazovat použité
rukavice do nebezpečného odpadu!**

Základy pipetování

Pipety se vzduchovým sloupcem

Techniky pipetování v příloze pípet se vzduchovým sloupcem se mohou lišit podle typu pipetovacího rozstupu.

Standardní pipetování

1. Ověřte správnou instalaci pipety na vzduchový sloupec.
2. Zkontrolujte, zda je vzduchový sloupec naplněn vzduchem.
3. Nastavte požadovanou objemovou hodnotu.
4. Ověřte, zda je vzduchový sloupec naplněn vzduchem.
5. Nastavte požadovanou objemovou hodnotu.
6. Pipetujte požadovaný objem vzduchem.

Důležité upozornění: Při pipetování vzduchem je důležité používat vzduchový sloupec s uzavřeným vzdušným sloupcem.

Reverzní pipetování

Údržba pipety

Postup čištění pipety Eppendorf Research[®] plus[®]

* Vždy používejte pipety s objemem 1000 µl, 1 - 10 ml a 100 µl.

A. Průčištění pipety

Průčištění pipety je nezbytné pro zachování její přesnosti a spolehlivosti. Průčištění pipety je nezbytné pro zachování její přesnosti a spolehlivosti.

B. Čištění pipety

Ukončení práce

1. Vyjměte pipetu z držáku.
2. Odstraňte vzduchový sloupec z pipety.
3. Vyjměte pipetu z držáku.
4. Vyjměte pipetu z držáku.

Odstranění vzdušného sloupce

1. Pipetujte vzduch do pipety.
2. Pipetujte vzduch do pipety.
3. Pipetujte vzduch do pipety.
4. Pipetujte vzduch do pipety.

Odstranění vzdušného sloupce

1. Pipetujte vzduch do pipety.
2. Pipetujte vzduch do pipety.
3. Pipetujte vzduch do pipety.
4. Pipetujte vzduch do pipety.

C. Pipetování pipety

1. Pipetujte vzduch do pipety.
2. Pipetujte vzduch do pipety.
3. Pipetujte vzduch do pipety.
4. Pipetujte vzduch do pipety.

D. Pipetování pipety

1. Pipetujte vzduch do pipety.
2. Pipetujte vzduch do pipety.
3. Pipetujte vzduch do pipety.
4. Pipetujte vzduch do pipety.

E. Pipetování pipety

1. Pipetujte vzduch do pipety.
2. Pipetujte vzduch do pipety.
3. Pipetujte vzduch do pipety.
4. Pipetujte vzduch do pipety.

Pipety s přímým kontaktem píče (positive displacement pipette)

Pipety s přímým kontaktem píče jsou vhodné pro pipetování viskózních a lepkavých látek. Tyto pipety vyžadují speciální údržbu a kalibraci.

Pipeta Eppendorf Research

- Na přesnost
- Zpětný
- Čistota
- Čistota
- Čistota
- Čistota
- Čistota
- Čistota

Ochrana vzorků

důkladné označení laboratorních
zkumavek

špičky pro jedno použití

správné pipetování

První pomoc

Při poleptání kůže kyselinami a louhy se postižené místo ihned dostatečně opláchně proudem studené vody. Při větším potřísnění se pak vyhledá lékařská pomoc. Zvláště nebezpečná poleptání způsobují kyselina fluorovodíková, kyselina dusičná, kyselina sírová, alkalické hydroxidy, peroxid vodíku a fenol.

Zasažené oko se ihned vypláchně proudem studené vody, přiloží se sterilní obvaz a ihned se vyhledá lékařská pomoc.

Při popálení ohněm nebo horkými předměty je třeba postižená místa ihned ochladit ledovou vodou nebo přikládáním igelitových sáčků s vodou a ledem (ne samotný led). Části oděvu stmelené s popáleninami se zásadně neodstraňují. Při opaření je nutno co nejrychleji stáhnout nasáklý oděv, popálené plochy se kryjí jen sterilním obvazem (žádné masti nebo zásypy). Při těžších popáleninách nebo popálení většího rozsahu je třeba vyhledat lékařskou pomoc.

Při úrazu elektrickým proudem, je-li postižený pod napětím, je nutno nejprve přerušit přívod proudu nebo postiženého vyprostit tak, že je zachránce dostatečně izolován od země suchou dřevěnou, gumovou nebo skleněnou podložkou. Zabezpečí se dýchání, srdeční činnost a přivolá se lékařská pomoc.

Při vzniku řezných ran, např. laboratorním sklem, se krvácející rána omyje proudem vody, případně desinfikuje. K dezinfekci menších ran je možno použít Ajatin, Famosept, Septonex nebo roztok manganistanu draselného. Rána se přelepí rychloobvazem Spofaplast nebo ováže. Jsou-li v ráně cizí tělesa, např. střepiny skla, musí je vyjmout lékař. Při rozsáhlejším krváčení se přiloží kompresní obvaz a vyhledá lékařské ošetření.

Zdravotní stav, který představuje riziko při práci v biologické laboratoři, je každý povinen oznámit vedoucímu cvičení, který rozhodne o dalším postupu.

Ženy jsou povinné ohlásit vedoucímu cvičení své těhotenství. Těhotným ženám je zakázána práce v biologických laboratořích, v nichž by jim hrozilo zdravotní riziko spojené s charakterem prováděné práce a s prostředím laboratoře.

Každý, kdo pracuje v biologické laboratoři, je rovněž povinen se řídit požárními a místními pracovními předpisy.

Přístrojové vybavení laboratoří

Laminární PCR box

- využíván pro sterilní v molekulární genetice, např. při míchání reakční směsi pro PCR nebo reakční směsi při štěpení DNA restrikčními enzymy

pre-PCR



Inkubátor typu dry-bath

pre-PCR

centrifuga používána při přípravě vzorků v molekulární genetice, např. při izolaci DNA, RNA nebo při přípravě buněčných lyzátů pro analýzu proteinového profilu mikroorganismů



Biohazard flow-box

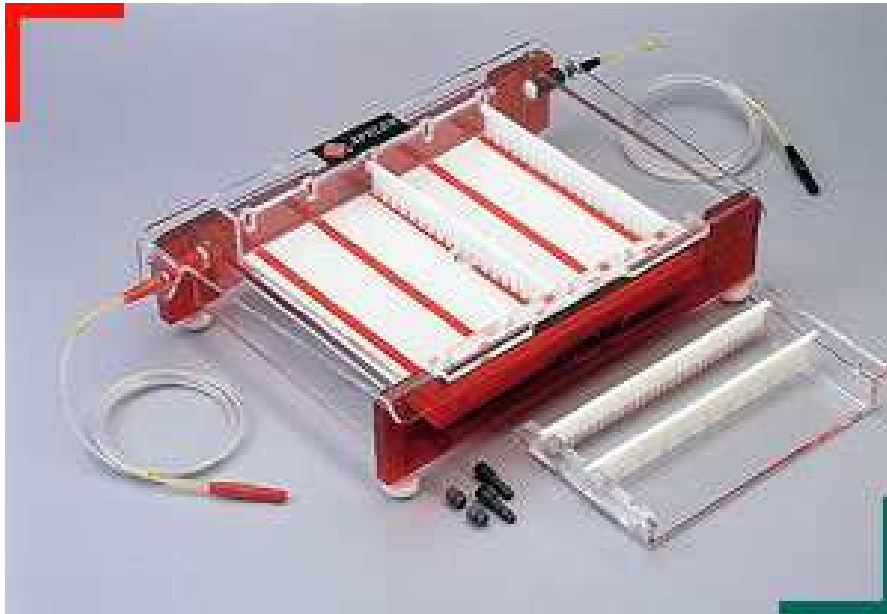


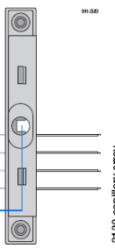
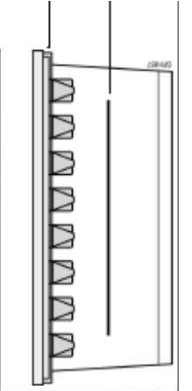
Biohazard box využíván pro sterilní práci s DNA a jejími produkty – uvnitř zajištěné sterilní prostředí díky HEPA filtrům

PCR termocykler -
přístroj využíván pro
provedení
polymerázové
řetězové reakce



Dokumentální systém pro elektroforézu - Pomocí tohoto systému lze zdokumentovat výsledky horizontální gelové elektroforézy nukleových kyselin i vertikální elektroforézy (proteinová SDS PAGE) a následně je pomocí příslušného software analyzovat a zpracovat





3130 capillary array



Svou nepozorností a nedisciplinovaností můžete ohrozit nejen sebe, ale i své okolí a další generace!!!