

2017

**Muğla Sıtkı Koçman
Üniversitesi, Sağlık
Hizmetleri Meslek
Yüksekokulu, Tıbbi
Hizmetler ve
Teknikler Bölümü,
Tıbbi Laboratuvar
Teknikleri Programı**

**Yrd. Doç. Dr. Öge
ARTAGAN**

[GENEL BİYOLOJİ DERSİ LABORATUVAR FÖYÜ]

Deney:1

Genel Biyoloji Laboratuvarında Çalışırken Uyulması Gereken Kurallar

A. Genel Biyoloji laboratuvarına gelirken;

1. Laboratuvar föyünüz her zaman yanınızda bulunmalıdır.
2. Deneylerle ilgili teorik bilgiler çalışılmalıdır.
3. Deneylerin yapıları derse gelmeden önce okunmalıdır

B. Genel Biyoloji laboratuvarında

1. Laboratuvarda yapacağınız çalışma ile ilgili anlatılacakları iyi dinleyiniz. Uyarılarını dikkate alınız.
2. Laboratuvar önlüğü giyilmek zorundadır.
3. Ciddi, düzenli çalışılmalı ve gürültü yapılmamalıdır.
4. Laboratuvarda bir şeyler yemek ve içmek kesinlikle yasaktır.
5. Çalışma esnasında saçlar uzun ise mutlaka toplanmalıdır.
6. Ayıraç şişelerinin kapakları asla değiştirilmemeli, her şişe kullanıldıktan sonra kendi kapağı ile hemen kapatılmalıdır.
7. Stok kimyasal maddelerin (sıvı-katı) içine pipet, baget, spatül gibi araçlar sokulmamalıdır. Bunların bir miktarı bir şişeye aktarılmalı ve kullanım oradan yapılmalıdır.
8. Laboratuvar deneyleri deney tüpleri ve ependorf tüpler içerisinde gerçekleştirilir. Bu deneylerde kullanılan kimyasal malzemelerin birçoğu tehlikelidir. Bu yüzden deney tüplerinden kimyasal madde aktarırken ellere, vücuda ve etrafa bulaşma olmamasına özen gösterilmelidir.
9. Bir yere kimyasal bir madde dökülürse hemen su ile yıkayıp temizleyiniz.
10. Deney tüplerinin parmakla kapatılıp çalkalanmasından kesinlikle kaçınılmalıdır
11. Cilde veya göze kimyasal madde sıçraması halinde bol su ile yıkanmalı ve laboratuvar da sorumlu kişiye haber verilmelidir.
12. Hiçbir zaman içinde kimyasal bulunan kap koklanmamalıdır.
13. Ağız yoluyla kimyasal çekilmemelidir, mutlaka puar kullanılmalıdır.

C. Genel Biyoloji laboratuvarı sonunda

1. Laboratuvar sonunda kullandığınız materyalleri temizleyip laboratuvar sorumlularına iade ediniz.
2. Laboratuvar sonunda çalışma masalarınızı mutlaka temiz bırakınız.
3. Laboratuvar sonunda hava gazı beklerinin kapalı olduğu kontrol edilmelidir.
4. Yaptığınız laboratuvar çalışması ile ilgili düzenli not tutunuz, laboratuvar çalışması ile ilgili size sorulan soruları cevaplandırınız.
5. Laboratuvara gelmeden önce, yapılacak laboratuvar çalışması ile ilgili teorik bilgilerin mutlaka okunarak gelinmelidir.
6. Çalışmalarda getirilmesi istenen araç ve gereçler (cam kalemi, jilet, lam, lamel, bistüri, vb) mutlaka getirilmelidir.
7. Çalışma süresince laboratuvar görevlilerinin çalışmaları ile ilgili istek, uyarı ve ikazlarına kesinlikle uyulmalıdır.
8. Deneylere başlamadan önce araç ve gereçlerin tam, eksiksiz ve kullanılır durumda olduğu kontrol edilmeli, gerektiğinde laboratuvar görevlilerinden yardım istenmelidir.
9. Deneyle ilgili tüm materyal doğru biçimde etiketlenmelidir.
10. Laboratuvarda kullanılan şişe ya da cam kaplardan kesinlikle bir şey içilmemelidir.
11. Kullanılan her araç ve gereç amacına uygun olarak kullanılmalı ve tüm cam, metal ve benzeri yardımcı araç ve gereçler kullanıldıktan sonra uygun şekilde temizlenmelidir.
12. Çalışma atıkları lavaboya atılmamalı ve dökülmemelidir. Bu iş için ayrılmış kaplara ya da paketlenerek çöp sepetine bırakılmalıdır.
13. Sterilizasyon gerektiğinde, gerekliliklere ve yöntemlere kesinlikle uyulmalıdır.
14. Asit veya herhangi bir kimyasal madde cilde dökülür veya değerse, hemen bol su ile yıkanmalı ve laboratuvar görevlisi haberdar edilmelidir.
15. Laboratuvarda bir şey yiyip içmeyiniz. Çalışmalardan sonra ellerinizi yıkayınız.
16. Amonyak, eter, kloroform, benzol, ksilol gibi zehirli, yanıcı, bayıltıcı, kolay uçucu maddeleri kullanırken kapların ağzını hemen kapatmayı unutmayınız ve bu gibi kimyasalları mutlaka kabin içinde açınız.
17. Eriyik ve boya hazırlayacağınız kapların temiz ve kuru olmasına dikkat ediniz.

18. Eriyik ve boya hazırlarken kullanacağınız baget, pipet, spatül, damlalık, manyetik balık gibi araçları bir boyadan diğerine, bir eriyikten diğerine sokmayınız. Temizledikten sonra ikinci kez kullanınız.
19. Ölçü araçlarını doğru kullanınız.
20. Yanıcı, patlayıcı maddeleri alevden uzak tutunuz.
21. Asitleri kullanırken çok dikkatli olunuz. Hiçbir zaman asit üzerine su ve sulu eriyikler dökmeyiniz.
22. Tehlikeli maddeleri lavaboya dökmeyiniz.
23. Boya ve eriyik hazırlarken miktarlarını, yüzdelelerini, seri ve sıra numaralarını, sürelerini önceden hazırlayacağınız bir plana bakarak izleyiniz.
24. Hazırladığınız boya ve eriyikleri etiketleyiz. Etikete hazırladığınız şeyin ne olduğunu, kimin hazırladığını ve hangi tarihte hazırlandığını yazınız.
25. Çalışmalar sonunda;
 - a. laboratuardan ayrılırken tüm araç, gereç ve eşyalar yerlerine dikkatlice yerleştirilmelidir.
 - b. Çalışma masası silinmeli, temizlenmeli ve bir sonraki çalışma için uygun bırakılmalıdır.
 - c. Laboratuardan çıkmadan önce havagazı ve su muslukları kapatılmalıdır.

Deney: 2

Pratiklerde Kullanılan Laboratuvar Araç Gereçlerin Tanıtılması

Laboratuvarlarda kullanılan araç ve gereçlerin tanıtımı ve kullanımı yapılacaktır. Bu laboratuvar uygulaması 2 hafta sürecektir.

CAM MALZEMELER:

Deney tüpü: Çapı 1,5 ile 1,8 cm; boyu 15-18 cm arasında olan cam malzeme. Besiyeri olarak kullanılan katı ve sıvı vasatların konulduğu tüplerdir.

Serolojik tüp: Çapı 1-2 cm, boyu 8-10 cm'dir. Titrasyon işlemlerinde ve biyokimyasal deneylerde kullanılır.

Santrifüj tüpü: Santrifüjlere sığacak boyda amaca göre uçları sivri veya yuvarlak 10-100 cm³ hacminde sağlam camdan veya plastikten yapılmış tüplerdir.

Fermentasyon tüpü: Genişçe bir tüpün içine ters olarak yerleştirilmiş küçük bir tüptür. Amacı, besiyerinde üreyen bakterilerin karbohidratlardan meydana getirdiği gazın teşekkülünü incelemektir.

Vidalı kapaklı tüp: Özellikle doku kültürlerini hazırlamakta kullanılır. Ayrıca uzun süre saklanacak kültürler için de kullanılır.

Balonlar: Vücudu küre şeklindeki altı düz olan, dar silindir şeklinde boynu olan cam kaplardır. 50 ml den 10 lt. kadar hacmi olabilir. Besiyeri ve çözeltilerin saklanması için kullanılır.

Balon joje (Volumetrik balon, dereceli balon): Çözelti hazırlanmasında kullanılır.

Erlenmayerler: Vücudu koni şeklinde ve tabanı düz olan kısa silindir şeklinde bir boynu olan cam kaptır. Balonların kullanıldığı yerlerde kullanılır.

Beherler: Çözelti ve sıvıların hazırlanmasında ve titrasyon için kullanılır.

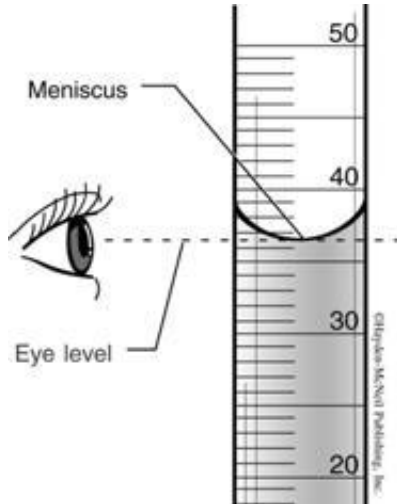
Şişeler: a) Damlalık: Kaliteli camdan yapırlar ve 2-1000 cm³ e kadar hacimde olurlar. Boya ve ayıraçların bulunduğu şişelerdir.

b) Vidalı kapaklı: Besiyerlerinin ve bazı çözeltilerin saklandığı şişelerdir. Yüzeyleri düz olanlar doku kültürlerinin hazırlanmasında kullanılır. Sterilizasyonda kapakları gevşek bir şekilde sterile verilir.

Petri Kabı: 1-2 cm yükseklikte, 5-8 cm çapında camdan yapılmış kapak ve kutudan ibarettir. Özellikle katı besiyerlerinin hazırlanmasında kullanılır. Bakteri, fungus vs. üretiminde kullanılır.

Mezur (Dereceli silindir): Silindir şeklinde dereceli cam malzemedir. Sıvıların ölçülmesinde kullanılır.

Sıvı hacmini ölçerken dikkat edilecek noktalar



1) Menisküs çizgisine dikkat edilmelidir: Özellikle küçük çaplı tüplerde, yüzey geriliminden dolayı sıvıların kavis oluşturan üst yüzeyine menisküs çizgisi denir. Eğer sıvı içinde bulunduğu kabı ıslatıyorsa (örneğin su) menisküs çizgisi konkavdır; civa örneğinde olduğu gibi sıvı bulunduğu kabı ıslatmıyorsa konvektir. Bütün ölçümler, menisküs çizgisi göz hizasına getirildikten sonra yapılmalıdır.

Renksiz sıvının seviyesi, menisküs çizgisinin altından okunmalıdır.

Renkli sıvının seviyesi, menisküs çizgisinin üstünden okunmalıdır.

Cıvanın seviyesi, menisküs çizgisinin üstünden okunmalıdır.

2) Hacmi ölçülecek sıvının sıcaklığı, ölçü aleti üzerinde yazılı olan kalibrasyon sıcaklığı (genellikle 20°C'dir) ile aynı olmalıdır.

Propipet: Kuvvetli asitlerin, çabuk buharlaşan ve buharları zararlı olan sıvıların çekilmesinde kullanılır.

Pipetler: Dereceli pipet : İstenilen miktarda sıvıyı bir yerden bir yere taşımada kullanılır.

Pipetin kullanılması

1. Pipet, sağ elle yere dik bir şekilde baş ve orta parmak arasında tutulur.
2. Pipetin ucu kabın cidarı ile tabanı arasındaki açı içinde duracak şekilde sıvı içine daldırılır ve sıvıdan dışarı çıkmamasına dikkat edilir. Aksi halde havada beraber emileceğinden sıvı ağza gelir.
3. Pipetin diğer ucundan ağızla düzgün bir emme yapılarak volüm çizgisinin biraz üstüne kadar pipet doldurulur.

4. Sonra süratle işaret parmağı ile pipetin üst deliği tıkanır. Nemli veya ıslak parmakla sıvı seviyesini ayarlamak güç olduğundan işaret parmağı kuru olmalıdır.
5. Sıvı ile dolu pipet biraz eğik tutulur. İşaret parmağına hafif ve yumuşak gevşeme hareketleri yaptırılır. Bu şekilde fazla sıvı atılır.
6. Sıvı tamamen boşaltılacaksa pipet dikey tutulur ve işaret parmağı kaldırılır, son kısmı üflenir.

Pasteur pipeti: Üzerinde derecesi bulunmayan çok az sıvı maddeyi bir başka yere aktarmaya yarayan pipetlerdir.

Otomatik Pipetler: Küçük miktardaki (μ l.) sıvıların çekilmesinde kullanılan ayarlanabilir pipetlerdir.

Otomatik pipet kullanımında dikkat edilmesi gereken unsurlar

1. Pipetin hacim aralığını pipetin basma yerinden ya da yan yüzden bakarak kontrol ediniz. Pipetin üzerinde belirtilen hacimler dışında kullanılamaz, kullanıldığı taktirde pipet bozulur.
2. İstenilen hacme uygun pipet seçilir ve bu pipete uygun tip seçilir. Genellikle pipetin üzerindeki renkler hangi tipin (ucun) kullanılacağını belirler.
3. Otomatik pipetlerde, pipete bastırıldığında iki kademe vardır.
4. İlk kademe, pipete hafifçe basıldığında ulaşılan kademedir ve sıvı alımında istenen hacimdeki sıvının alımını sağlar.
5. İkinci kademe, pipete daha kuvvetli bir biçimde bastırıldığında ve en sona ulaşan kademedir. Sıvının atımında kullanılır.
6. Sıvı alımında ikinci kademe sıvıyı alırsanız, istediğiniz miktardan fazlasını almış olursunuz. Bu da yanlışlığa neden olur ve sıvı, pipetin çeperine dolar, sonraki pipetlemede kontaminasyona neden olur. Böylece sonraki aktarımda pipet bozulur.

Baget-Düz: Ezme ve karıştırma işleminde kullanılan cam çubuktur.

Cam huni: Sıvıları ağzı dar kaplara boşaltırken ve süzme işlemi başladığı zaman kullanılır. İçlerine yerleştirilen süzgeç kağıtları huniden taşmayacak şekilde kesilmelidir.

Bağet: Karıştırma işleminde kullanılan cam çubuktur.

Lam: Genellikle 76X26 mm boyutlarında dikdörtgen şeklinde cam malzemedir. Preparat hazırlamada kullanılır. Thoma lamı, Howard lamı, çukur lam gibi özel tipte lamalar da bulunmaktadır.

Rodajlı Lam: Lamın üçte birlik kısmı buzlu camdan üretilmiştir. Bu kısma kurşun kalem ile yazı yazılabilir.

Lamel: genellikle 20X20 veya 22X22 mm boyutlarında yapılmış malzemedir. Lam üzerine hazırlanan preparatların kapatılması için kullanılır. Yuvarlak olan tipleri de bulunmaktadır.

Büret: Titrasyon işlemlerinde titre edilecek sıvıya damla damla diğer sıvıyı damlatmakta kullanılır.

Ayırma Hunisi: İki farklı fazı birbirinden ayırmada kullanılır.

Desikatör: Katı bileşiklerin kurutulması için vakum desikatörleri kullanılabilir. Kurutma için desikatörün dibine önce derişik H_2SO_4 , susuz $CaCl_2$, fosfor pentoksit, NaOH veya silikajel yerleştirilir. Sonra kurutulacak bileşik, bir kap içerisine konarak desikatörün rafına yerleştirilir ve desikatörün havası bir tromp veya vakum pompası yardımı ile alınır.

Sale: Dörtgen prizma şeklinde, camdan yapılmış kapaklı kaplardır. İçlerinde 4-7 lamın uzun ya da kısa kenarı üzerinde dik durmasını sağlayacak yivler açılmıştır. Preparatların boya, tampon, çözelti ve benzeri sıvılar içerisinde muamele edilmesi için gerçekleştirilmiştir.

Alkol Lambası: Özelerin steril edilmesinde ve şişelerin ağzının açılmadan önce alevden geçirilmesinde kullanılır.

Alkolometre: Alkolün yüzdesini belirlemede kullanılır.

DiğER MALZEMELER

Tüplük: Metal, plastik veya tahtadan yapılmış ve tüpleri koymak üzere üzerinde delikleri bulunan malzemedir. Sterilizasyonda kullanılacaksa metal tipleri tercih edilmelidir.

Lanset ve Frankel İğneleri: Preparat hazırlamak için parmaktan kan çıkarmada kullanılır.

Süzgeç kağıdı: Süzme işleminde kullanılır.

Düz katlanmış süzgeç kağıdı: Özellikle çökeltiye gereksinim olduğunda, süzgeç kağıdı huninin büyüklüğüne göre düzgün bir şekilde kesilir ve dörde katlanıp hazırlanır.

Pilili süzgeç kağıdı: Süzme yüzeyini arttırdığı için süzme işlemi çabuklaşır. Ancak buradan çökeltinin toplanması işlemi güçleşir.

Süzgeç kağıtları bir defa kullanılır ve işlem bittikten sonra atılır. Süzme işleminin çabuklaştırılması için sisteme vakum veya basınç uygulanabilir.

Flask: Kültür hücrelerinin yetiştirilmesi amacıyla kullanılan zemini özel kaplama maddeleri ile kaplı plastik materyal.

Cryotüp: (-196)°C'ye dayanıklı içinde hücre saklanan plastik tüp

Puar: Armut biçiminde pipet takmak için bir açıklığı bulunan, kalın plastik balonlardır. Pipetin ucuna takıldıktan sonra avuçta sıkılıp gevşetilerek vakum oluşması sağlanır. Böylece, pipetle sıvı çekme, boşaltma ya da püskürtme gibi işlerde kolaylık sağlar.

Mavi ve sarı tip: Otomatik pipetlerle birlikte kullanılır. Sıvı alımı ve boşaltılması gerçekleştirilir.

Spatül: Bir ucu düz öteki ucu kaşık şeklinde olabilen, 10-15 cm uzunluğunda metal ya da porselenden yapılmış, çeşitli genişlikte araçlardır. Tartım sırasında toz maddelerin alınıp tartım kabına aktarılmasında kullanılırlar.

Balık (Manyetik Bar): Hazırlanan sıvıların manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırılmasında kullanılır.

Pens: Maşa ya da makas biçiminde metalden yapılmış bir gereçtir. Elle tutulması mümkün olmayan ya da sakıncalı olan kimi materyal pens yardımı ile tutulabilir ve taşınabilir.

Bistüri: Elle kavranabilecek bir sap kısmı ve takılıp çıkarılabilen, çok keskin bir uçtan oluşur. Uç kısmı sterildir ve kullanılıp atılabilir. Çeşitli materyalin küçük parçalara ayrılması amacıyla kullanılır.

Diseksiyon İğnesi: Diseksiyon esnasında parçaların ayrılması amacıyla kullanılır.

Otoklav Bandı: Otoklav ettiğiniz malzemenin steril olup olmadığını gösteren belirli bölgeleri işaretli yapışkan etikettir.

Tüplük: Tahta ve metal olup, tüp koymaya yararlar.

Sporlar: Tüplerin taşınması için kullanılan tahta ya da metal aletlerdir. Üzerine takılan kısıklara tüp gibi istenilen malzeme tutturulur.

Cama yazar kalem: Bunlarla cam eşya üzerine işaret konur ve yazı yazılabilir. Isıya dayanıklıdır, renkleri farklı olabilir.

Laboratuvar çalar saati: Değişik süreler için kullanılan ve bunun için düğme ile ayarlanabilen, süre dolunca zille haber veren saatlerdir.

Pipetlik: Cam pipetlerin steril edilmesi amacıyla kullanılan silindir ya da dikdörtgen şekilli metal kutu.

Piset: Plastiten yapılmış şişelerdir. Gövde kısmına basınç uygulanarak, içlerine konulan sıvıyı (alkol, distile su gibi) kapaktan geçirilmiş plastik boru vasıtasıyla dışarı püskürtmeye yarar.

Bütün bunların dışında saat camı, havan ve eli, makas ve pensler, tüp fırçası, değişik hacimde enjektör ve iğneler, pH kağıtları, parafilm, 6, 12, 24 ve 96 kuyucuklu plakalar, lens kağıdı, boyama küveti, otoklavlanabilir şişe.

EKİM ALETLERİ

Öze: Platin ve okside olmayan tellerden halka şeklinde kıvrılmış bir uç kısmı ve bunun bağlandığı sopası vardır. Sıvı veya katı besiyerlerine mikroorganizmaların ekilmesinde kullanılır.

Eküvyon: Ucuna bir miktar pamuk sarılmış paslanmaz teldir. Bu telin tutulacak kısmı dışarıda kalacak şekilde pamuklanır. Deney tüpüne konur ve sterilize edilir. Boğaz, burun, yara, vajina ve gaitadan numune alınmasında kullanılır.

Dragalski Özesi: Petri kutusundaki katı besiyerinin yüzeyine yayma yöntemiyle ekim yapmak için kullanılan, cam baget veya pasteur pipetinden Bunzen beki alevinde özel bir biçimde kıvrılarak hazırlanan özedir.

STERİLİZASYON ALETLERİ

Otoklav: Basıncılı buharla sterilizasyon yapmaya yarar. Havagazı, petrol veya elektrikle çalışan ısı kaynağı ve bir kazandan ibarettir. Kapağı hava sızdırmaz. Sterilize olacak madde uygun şekilde ambalajlanır. Kapasitesine göre kazana su konur. Basınç ve zaman ayarı yapılır.

Pasteur Fırını: Altındaki ısıtıcılarla içinde yüksek ısıda kuru sıcak hava meydana getirilir. Bu fırında yüksek ısıda bozulmayan aletler sterilize edilir. Kuru cam malzemenin sterilizasyonu için 175 °C de 1 saat gereklidir.

Filtreler: Isı, kimyasal yolla ve ışınlandırma ile steril edilemeyen çözeltilerin, sıvıların ve besiyerlerinin ayrılmasında kullanılır. (Berkefel f., Chamberland, f., Pasteur, f., Seiltz f.,

Milipor filitre) Cam pamuğu, toprak, cam tozu, porselen filitreler vardır.

Su banyosu: (Ben mari) Yuvarlak veya dört köşe madeni bir kaptır. Elektrik ya da havagazıyla ısıtılır. Sürekli sabit ısıda tutma işleminde kullanılır.

U.V. Lambaları: Ultra viyole ışınlarıyla sterilizasyonu sağlar. Sıvı maddelerin, malzemenin ve havanın sterilizasyonunda kullanılır. Mutasyon (canlılardaki kalıtsal değişim) oluşturmak için kullanılır.

Diğer Aletler

Etüvler: Isı kaybını önleyecek şekilde aralarında cam pamuğu ve su gibi ayırıcı maddeler bulunan ve istenilen ısıda uzun süre tutabilen elektrikli alettir. Çift vidalı ve çift kapaklı ısı dolabıdır. Ekim yapılan besiyerlerindeki bakteri, fungus, doku kültürü, virüs üremesi için kullanılan alettir. Isı ayar dereceleri vardır.

Santrifüjler: Çöktürme işlemlerinde kullanılır. Devir sayısı isteğe göre ayarlanabilir. Sıvı maddelerin, bakteri ve hücrelerin tüp diplerine çöktürülmesi, hücre kısımlarının, kan serumunun plazmadan ayrılmasında kullanılır. Çoğunlukla gelişmiş olanları elektrikli dir. Kullanılabilen tüp sayısı ve hacmi değişir. Masa Sant. 3000-5000 rpm, Ultra Santrifüjler ise 10.000-100.000 rpm., lik dönüş hızına sahiptir.

pH metreler: Besiyerleri ve çözeltilerin pH larını ölçmekte kullanılır. (Asitlik, bazlık ya da nötr kavramı)

Deep-freeze: Doku kültürlerinin, bakteri suşlarının uzun süre saklandığı derin donduruculardır, buzdolabından (+4 °C den düşük) daha soğuk ısılarda, biyolojik ve biyokimyasal maddelerin saklanması için kullanılır (-20,-70).

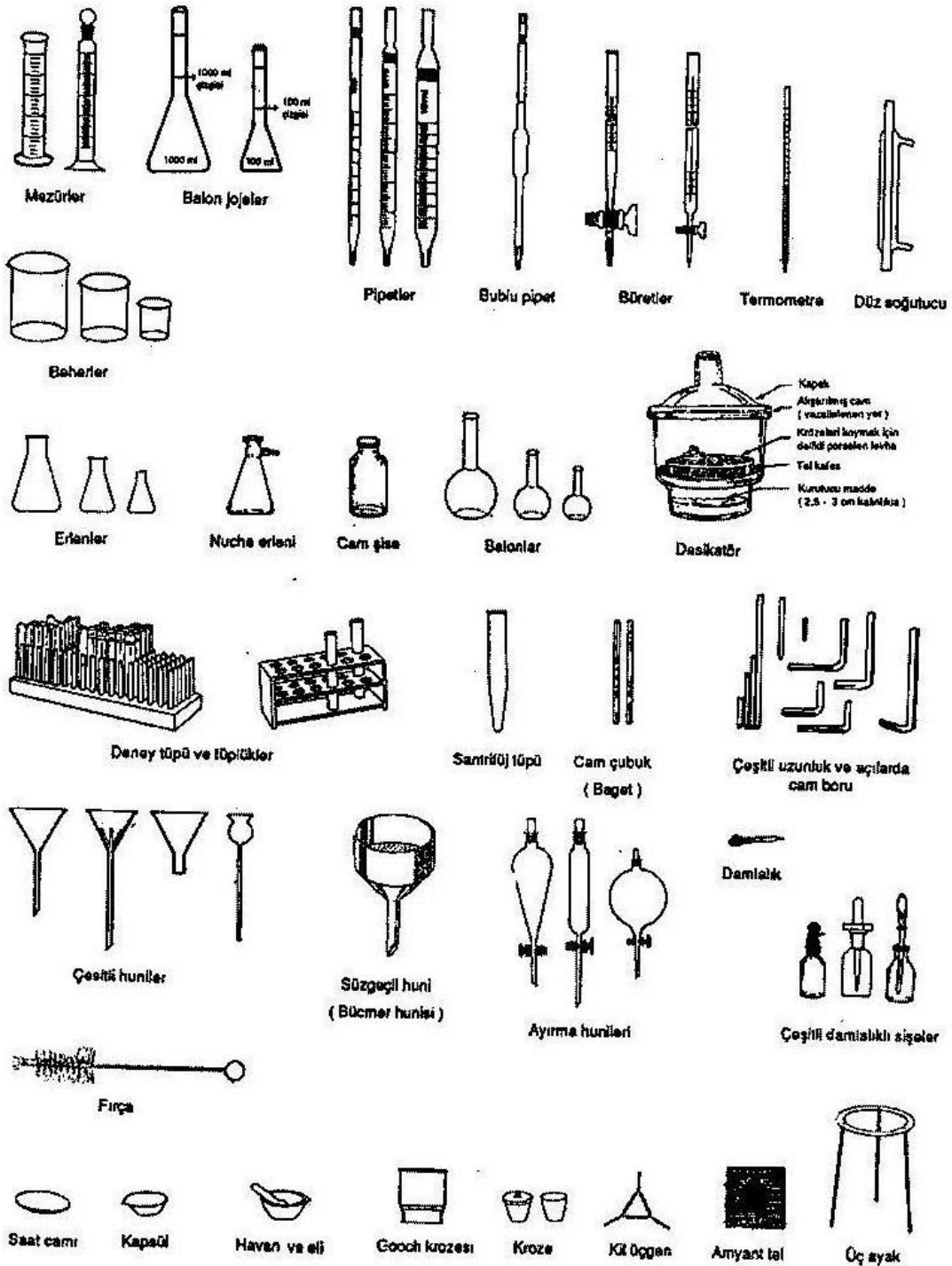
Teraziler: Laboratuvarlarda gerekli tartım işlerinde kullanılır. Ayrıca santrifüj tüplerinin karşılıklı dengelenmesinde kullanılan teraziler de vardır. Laboratuvarda kullanılan terazilerin kaba, hassas tipleri vardır.

Manyetik Karıştırıcı ve Isıtıcılar: Bir kimyasal çözeltinin içine konan parçalara daha kolay işlemlerini sağlamak için daha çok tespit ve dekalsifikasyon gibi işlemleri hızlandırmak amacıyla kullanılan araçlardır. Manyetik karıştırıcılarda tabla altında dönen bir manyetik alan oluşturulmaktadır. Çözeltiyi koyduğunuz kabın içine küçük, metal bir çubuk (manyetik balık) konur. Kap, tabla üzerine konduğunda manyetik alanın hareketine bağlı olarak metal çubuk dönmekte ve sıvıyı devamlı olarak karıştırmaktadır. Isı kimyasal reaksiyonların hızını etkileyen önemli bir faktördür. Bu araçların tablalarını ayarlanabilir derecelere kadar ısıtan

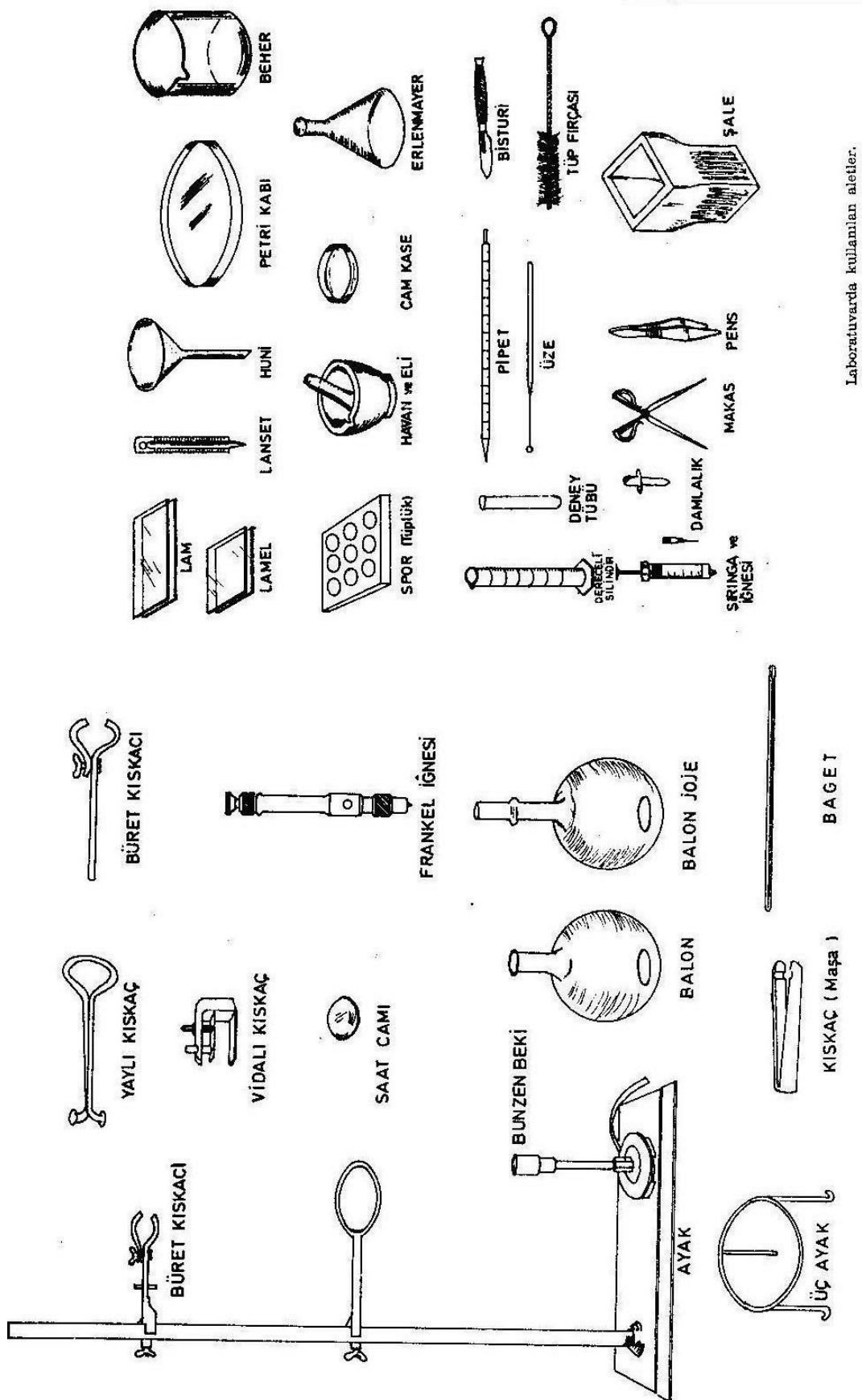
termostatlı elektrik devreleri de bulunabilir. Ayrıca bir reosta yardımı ile manyetik alanın dönüşü hızını da arttırıp azaltmak mümkündür.

Çalkalamalı Tabla: Mekanik karıştırıcılar bir elektrik motorunun yardımı ile bir tablayı düzenli olarak sallamaktadırlar. Buna bağlı olarak bu tablo üzerine konan

Vortex: Küçük miktarlardaki (örneğin bir tüpteki) sıvıların karıştırılmasında manyetik balık kullanılması materyal kaybına yol açabilir. Vorteks ise üst kısımdaki plastik yuvaya yerleştirilerek bastırılan tüp ve benzeri kaplar içersindeki sıvıların girdap oluşturacak şekilde döndürülmesiyle karıştırmayı sağlar.

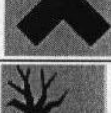


Çeşitli laboratuvar malzemeleri



UYARI İŞARETLERİ TANITIMI

Tehlike Sınıfları ve Sembolleri

• Patlayıcı, (Explosive-E)	
• Oksitleyici, (Oxidising-O)	
• Aşırı alev alıcı, (Extremely Flammable-F+) veya şiddetli alev alıcı, (Highly Flammable-F) veya alev alıcı (Flammable)	
• Çok toksik (Very Toxic-T+) veya toksik (Toxic-T)	
• Zararlı (Harmful) • Rahatsız edici (Irritant-Xi) • Hassasiyet yaratıcı (Sensitising- Xn or Xi)	
• Korozyif (Corrosive-C)	
• Kanserojen (Carcinogenic, Categories 1 and 2-T) • Kanserojen (Carcinogenic, Category 3-Xn)	 
• Mutajenik (Mutagenic, Categories 1 and 2- T) • Mutajenik (Mutagenic, Category3- Xn)	 
• Üreme açısından toksik (Categories 1 and 2-T) • Üreme açısından toksik (Category 3- Xn)	 
• Çevre için tehlikeli (Dangerous for the Environment- N)	

Deney 3-4

Mikroskop Çeşitleri ve Hücre Teorisi

Hücrelerin keşfi mikroskobun geliştirilmesi sayesinde olmuştur.

- İlk kez Robert Hook 1665'te basit bir ışık mikroskobu ile şişe mantarını incelerken gözlediği odacık şeklinde yapılara 'hücre' adını vermiştir.
- 1670' te Leevwenhoek hücreleri 300 kez büyüten bir mikroskopla: sperm, kırmızı kan hücresi, bakteri gibi farklı türde çeşitli hücreleri gözlemiştir.
- 1838'de Schleiden; bitkisel hücreleri inceleyerek, Schwann; hayvansal hücreleri inceleyerek 'Hücre teorisi'ni geliştirmiştir.

Hücre Teorisi

- Bitki ve hayvanlardaki yapısal ve işlevsel birim, çekirdekli hücrelerdir. Hücreler bağımsız olmalarına karşın birlikte iş görürler.
- Tüm canlılar hücrelerden oluşur.
- Hücreler önceden varolan hücrelerin bölünmesiyle oluşur.
- Günümüz ışık mikroskopları yaklaşık 1000 kez büyütme kapasitesine sahiptir. Ancak sadece büyütme ayrıntılı inceleme için yeterli değildir. Bir mikroskobun Rezolüsyon (Küçük mesafelerde ayrılmış objeleri ayırtetme gücü daha önemlidir). Örneğin bir ışık mikroskobu birbirine 0.2µm'den daha yakın olan yapıları ayırt edemez. Rutin olarak kullanılan birkaç farklı tip ışık mikroskobu vardır.

Aydınlık alan mikroskopisi: Işık direk olarak hücreden geçer. Işık hücre bileşenleri tarafından soğurulur. Farklı bölgeler kontrast farklılığıyla ayırt edilebilir. Kontrast farkını ortaya çıkarmak için protein ya da nükleik asitlerle tepkime veren boyalarla boyama yapılır. Boyama öncesinde hücreler sabitlenir (fiske edilir: alkol, asetik asit, formaldehit). Hücreler ölü olarak incelendiği için bu tip inceleme canlı(vital) hücrelerin gizlenmesi için uygun değildir.

Faz-kontrast mikroskopisi, Diferansiyel interferans-kontrast mikroskopisi: Her iki mikroskopi yönteminde hücrenin farklı bölgeleri arasındaki yoğunluk veya kalınlık farklılıklarını, kontrast farklılığına dönüştüren optik sistemlerdir. Canlı (boyanmamış) hücrelerin daha gelişmiş görüntülerinin elde etmesini sağlar. Hücre içindeki belirli molekülleri, görüntüleme amaçlı işaretleme yöntemleri sayesinde, ışık mikroskobisi moleküler analiz düzeyine ulaşmıştır.

Spesifik genler, RNA transkriptleri → işaretli probalar ile hibridizasyon

Proteinler → İşaretli antikorlar ile hibridizasyon

Floresans Mikroskopisi: Canlı ya da fikse edilmiş hücrelerde ilgilenilen molekülü işaretlemek için floresan boya kullanılır. Son yıllarda canlı hücre incelemelerinde, denizanasından elde edilen ‘yeşil floresan proteini (GFP)’ ile işaretleme yöntemi kullanılmaktadır.

Konfokal Mikroskopisi: Yüksek kontrastlı ve ayrıntılı görüntüler elde etmek için genellikle bir lazer ile sağlanan küçük bir ışık noktası numune üzerinde belirli bir derinliğe odaklanır ve geri gelen floresan ışık konfokal açıklıktan geçerek bir dedektörde toplanır. Böylece iki boyutlu bir görüntü elde edilir. Üç boyutlu görüntü kurgulamasıda yapılabilir.

Elektron Mikroskopisi: Işık mikroskopisinin çözünürlüğünün sınırlı olması ve hücre yapısının daha ayrıntılı analizi için: 1930’larda geliştirilmiş ve biyolojik örneklerde 1940 ve 1950’lerde Claude, Porter ve Palade tarafından kullanılmıştır. Elektronların dalga boyu, ışığın dalga boyundan yaklaşık 100000 kez daha kısadır. Işık mikroskopisi çözünürlüğünden 100 kat daha fazladır.

1. Tansmisyon elektron mikroskopisi (TEM)1939:

Pozitif boyama: Doku örnekleri ince kesitler halinde kesilir. Lipitler, proteinler ve nükleik asit ile reaksiyona girebilen ağır metal tuzları ile boyanır. Bu metal iyonları karanlık gözükecek olan hücre yapılarına bağlanır.

Negatif Boyama: Bakteriler ve izole edilmiş hücre içi organeller gibi bütün haldeki yapıların görüntülenmesinde kullanılır. Gözlenecek yapının çevresi elektron yoğunluklu bir boya tabakası ile kaplanır. Böylece karanlık arka plan üzerinde hücre yapısı aydınlık görülür.

Metal Gölgeleme: Hücre örneği üzerine platin gibi bir metal püskürtülür. Böylece bir gölge etkisi oluşur ve üç boyutlu görüntü ortaya çıkar

Dondurup Çatlatma: Özellikle zar yapılarının araştırılmasında önem kazanmıştır. Örnekler sıvı azotta dondurulup, mekanik darbelerle çatlatılır. Bu sayede lipid çift tabaka ikiye ayrılır. Daha sonra platin ile gölgelenir ve Elektron mikroskobunda incelenir.

2 Taramalı (Scaning) Elektron mikroskobu (SEM):

Hücrelerin üç boyutlu görüntülerinin elde edilmesi amacıyla kullanılır. Elektron demeti örneğin içinden geçmez. Hücrenin yüzeyi ağır metal ile kaplanır ve elektron demeti ile taranır. Örnek yüzeyinden saçılan ve geri gelen elektronlar üç boyutlu görüntüyü oluşturur.

Mikroskop Parçalarının Tanıtımı ve Preparat Hazırlanması

*Mikroskop bir yerden diğer bir yere taşınırken çarpma ve darbelerden uzak tutulmalı ve iki elle destek vererek taşınmalıdır. Sağ elinizle mikroskop kolunu tutarken sol elinizle mikroskopun altından destek vererek taşımayı gerçekleştiriniz. Mikroskop fişini taşımaya başlamadan sol elinize toplayınız.

*Mikroskop masa üzerinde çok kenara konulmamalıdır. Aydınlatma kablolarının mikroskop ayağı altında kalmamasına dikkat edilir.

*Mikroskopta incelemeye başlamadan önce okülerle ilgili iki ayarlamamanın yapılması gerekmektedir. Birincisi okülerler arasındaki mesafenin ayarlanmasıdır. İnsanlarda iki göz arasındaki mesafe farklı olabilir. Mikroskobu kullanacak kişi, iki oküleri birbirine yaklaştırıp uzaklaştırarak bu mesafeyi ayarlar. Sonuçta her iki gözle bakıldığında görüntü alanının tek ve düzgün bir yuvarlak olarak görülmesi gereklidir. İkinci ayarlama her iki gözünün görmesi aynı olmayan kişiler için önem taşımaktadır. Bunun için binoküler mikroskoplarda okülerlerden bir tanesi sabit iken diğeri döndürüldüğünde bir miktar alçalıp yükselecek tarzda yapılmıştır. Bunun için önce ayarlamayı yapacak kişi sabit okülerden o taraf gözü ile bakarken makro ve mikro vidaları kullanarak alanı en net gördüğü konuma getirir. Bundan sonra diğer okülerden bakılarak, oküler yuvasından sola veya sağa çevrilerek oküler en net görüntünün alındığı konuma getirilir. Bu ayara **diyoptri ayarı** adı verilmiştir.

*Mikroskopun ışığı açılır, ışık tablanın ortasındaki delikten geçecek şekilde ayarlanır. Preparat tablası aşağı indirilir ve en küçük büyüten objektif (4X) devreye sokulur. Revolyer çevrilerek objektifin görüş hattında olacak şekilde yuvaya oturması sağlanır. Objektifin yerine oturması önemlidir ve mutlaka kontrol edilmelidir. Objektif yuvaya oturduğu anda bir çıt sesi çıkarır.

*Preparat lamel üstte olacak şekilde tablaya yerleştirilir. Eğer tersi yapılırsa, lam lamele oranla daha kalın olduğundan ışığın kırılması fazla olduğundan görüntü net olmayacaktır. Büyük büyütmelede görüntü elde edilmesi olanaksızlaşacaktır.

*Yandan bakılarak makrovida ile objektif aşağı indirilir veya preparat tablası yukarı kaldırılarak görüntü netleştirilmeye çalışılır. Makrovida görüntüyü yakalamak için kullanılırken, mikrovida görüntünün netleştirilmesi için kullanılmaktadır. Bir elinizle preparatın tabla üzerinde şaryo ile hareketini sağlarken diğer elinizle mikrovida ile oynayarak netliğin sürekliliğini sağlayınız.

*Uygun bir görüntü elde etmek için ışığın şiddeti, diyafram ve kondansörün konumu ile oynanılır.

*Mikroskopta hiçbir zaman ilk ayarlanan görüş sahasının incelenmesi ile yetinilmez. İnceleme sürdürülürken gözler okülerlerde, bir el daima mikrovidada diğer el ise şaryoda olacak şekilde preparat hareket ettirilerek sağlıklı bir gözlem yapılabilir.

*4X'lik objektifte incelemenizi tamamladığınızda, 10X'lik objektifi, objektif yuvasına yerleştiriniz. Gözünüzü okülerden ayırarak doğru objektifin yuvasına oturmasını sağlayınız. Mikrovidayı hareket ettirerek görüntüyü netleştiriniz. 4X'lik objektifte net görüntü sağlandı ise büyük büyütmelelere geçildiğinde (10X veya 40X) sadece mikrovida ile netlik ayarı yapılır, makrovida ile asla oynanmaz.

*100X'lik objektif immersiyon yağı ile kullanılabilir, aksi taktirde objektifin çizilmesi meydana gelebilir.

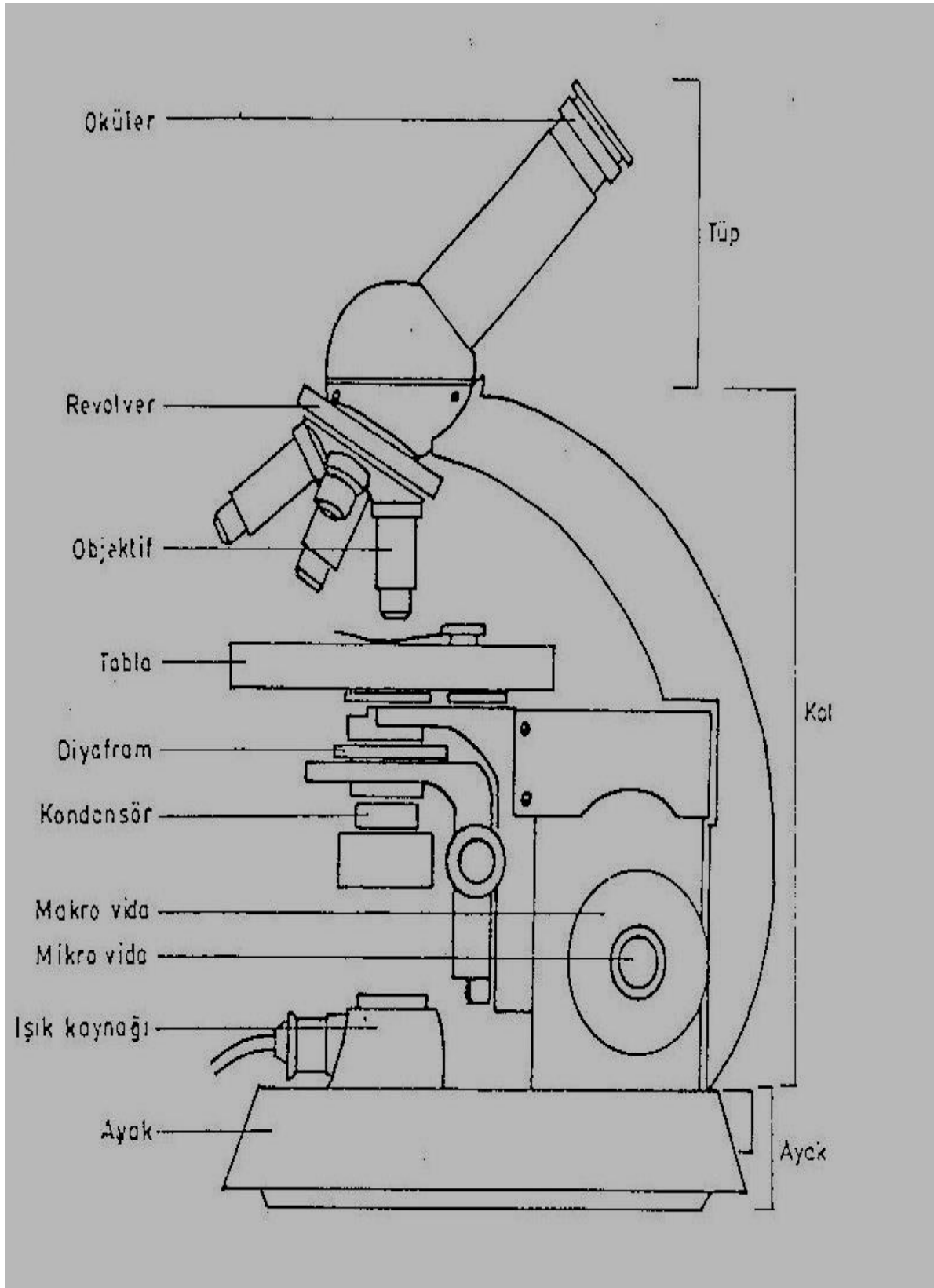
*Preparat değiştirileceği zaman mutlaka en küçük büyüten objektif (4X) devreye sokulur.

*Çalışmaya ara verildiğinde mikroskobun ışığı kapatılır ve 4X'lik objektifte bırakılır..

*İnceleme bittiğinde en küçük objektif devreye sokulduktan sonra preparat çıkarılır. Mikroskobun fişi çekilir ve kılıfı geçirilir.

*Mikroskobun merceklerinde (objektif, oküler, kondansör) temizlik yapılacaksa ince bir mercek kağıdı veya yumuşak dokulu bir tülbent kullanılmalıdır. Bu amaçla mendil veya önlük kullanılmamalıdır. Temizlik esnasında önce distile su ile mercekler temizlenir, eğer yeterli gelmezse %70'lik alkol, alkolde yeterli gelmezse ksilol ile temizleme yapılır. Merceklerin değeri mikroskobun yarı fiyatı kadardır, bu nedenle çizdirmemeye çalışılmalıdır.

İmmersiyon objektifi (100X) kullanılmışsa mutlaka kullanımdan hemen sonra objektif ksilol ile temizlenmelidir.



Şekil: Işık Mikroskobu Kısımları

Işık Mikroskobu Ve Stereo Mikroskopta İnceleme

İncelenecek materyalin lam ve lamel kullanılarak preparat haline getirilmesi gösterilecektir. Stereo mikroskopta inceleme yapılacaktır.

Gerekli Malzemeler: Işık mikroskobu, stereo mikroskop, lam, lamel, damlalık, 50 ml'lik beher, makas, hazır preparatlar.

1. Bir gazete ya da dergiden bir H harfi kesilerek bir lama yerleştirilir ve üzerine bir damla su damlatılır.
2. Lamel kapatılmadan önce biraz beklenir. Lamel, lam ile 45 derecelik bir açı yapacak biçimde tutulur ve yavaşça bırakılır. Tırnak ucu ile lamelin üzerine vurularak arada kalmış hava kabarcıklarının çıkması sağlanır.
3. Bakılacak nesne lam ile lamel arasına yerleştirilerek hazırlanan preparat mikroskobun tablası üzerine konur ve maşalarla sıkıştırılır. H harfi tabladaki deliğin ortasına gelene dek preparat hareket ettirilir ve en küçük objektifle bakmaya başlanır. Bu arada makro vida çevrilerek objektif aşağıya indirilir. Genelde objektifle preparat arasında 1 cm kalana kadar objektif aşağıya indirilir.
4. Okülere bakılarak H harfi belirli duruma geldikten sonra, mikro vida kullanılarak görüntünün elde edilmesi sağlanır.
5. Bir A harfi kesilerek yukarıda yapıldığı gibi bir preparat hazırlanır ve incelenir. Harfin mikroskoptaki görünüşü preparattaki duruşuna göre nasıldır?
6. Farklı renkte iki iplik parçasını (+) biçimde yerleştirerek bir preparat hazırlanıp, büyük objektiflerle incelendiğinde ipliklerin her yönü birden net olarak görülmez. Çünkü mikroskop ancak bir düzlemi net olarak görecektir. Bir düzlem net görünürken bunun dışında kalan kısımlar bulanık görünür. Bu nedenle kalın bir cismin tümünü aynı anda net olarak görmeye olanak yoktur.
8. Kurutulmuş böcek ve bitki örneklerini stereo mikroskopta inceleyiniz.
9. Size verilen hazır preparatları inceleyiniz.

Deney 5

***Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin incelenmesi**

Bira mayası hücrelerinden preparat hazırlanarak mikroskopta incelenmesi yapılacaktır.

Gerekli malzemeler: Lam, lamel, damlalık, deney tüpleri, spor, tüp maşası, 5 ml'lik cam pipetler, ışık mikroskobu, hazırlanmış bira mayası süspansiyonu, kurutma kağıdı, makas, Kongo kırmızısı çözeltisi.

1. Hazırlanmış bira mayası süspansiyonundan damlalık yardımı ile alarak, temiz bir lam üzerine bir damla damlatıp, üzerini lamel ile kapatıp inceleyip çizim yapınız.
2. Size 2 adet deney tüpünde 1er ml'lik bira mayası süspansiyonu verilecektir. Tüplerden birini tüp maşası ile tutarak 30 saniye kaynatınız. Bu işlem maya hücrelerini öldürecektir. Tüpün soğumasını bekleyiniz.
3. Kaynatılmış ve kaynatılmamış maya süspansiyonlarının her birine 5 er damla Kongo kırmızısı çözeltisi ekleyiniz.
4. Her iki tüpten birer temiz bir damlalık yardımı ile birer damla alarak lam üzerine ayrı ayrı preparat hazırlayınız. Büyük objektifle preparatları inceleyiniz. İki tüpteki maya hücreleri arasında herhangi bir fark görüyorsanız not ediniz.

Deney 6

Çözelti Konsantrasyonları Ve Çözelti Hazırlanması

Kimyasal veya biyokimyasal çalışmalarda çözeltiler (eriyikler, solusyonlar) önemli bir yer tutar. Çözelti, geniş anlamda, bir maddenin (katı, sıvı veya gaz olabilir) bir sıvı içerisinde dağılmasından meydana gelir. Dağılan maddeye çözünen madde(solute), dağılma ortamına yani sıvıya da çözücü solvent veya dispersiyon ortamı denir. Damıtık su en çok kullanılan çözücüdür.

Çözücüler çeşitli bakımlardan sınıflandırılabilir. Bir çözeltide birtek çözünmüş madde olabileceği gibi iki veya daha fazla madde de olabilir. Yani çözelti basit veya kompleks olabilir.

Çözünen maddenin büyüklüğüne göre çözeltiler iki gruba ayrılır:

- a) Gerçek Çözeltiler: Çözünen madde küçük moleküllü ise meydana getirdiği çözeltiye gerçek çözelti denir. Bu tip maddelere de kristalloid adı verilir. Kristallerin molekül ölçüleri genellikle 10 angstromdan (1 milimikron) küçüktür.
- b) Kolloidler: Polisakkaritler ve proteinler gibi büyük moleküllü maddelerin çözeltileri bu gruba girer. Genel bir tanım olarak kolloidler büyüklükleri 1-1000 milimikron arasında olan partiküllerin yaptıkları çözeltilerdir.

Çözünen madde molekülleri çözeltide iyonlaşmadan kalabilir veya iyonlarına ayrılmış olabilir. Bu durum da çözeltinin özelliklerini etkiler. İyonlaşan maddelerin çözeltileri elektrik akımını iletir ve bu tip çözeltilere Elektrolit adı verilir. Elektrolit olmayan çözeltiler ise yalıtkandır.

Eğer çözücü içerisinde dağılmış olan madde katı olup 1 mikrondan büyük parçacıklar halinde ise bu durumdaki karışıma süspansiyon denir, çözelti denmez. Bulanık dere suyu bu duruma güzel bir örnektir. Bir bakteri kültürünü bir miktar su içine aktarıp karıştırırsak bir bakteri süspansiyonu elde etmiş oluruz. Çünkü bu durumda su içinde dağılmış olanlar moleküller veya iyonlar değil milyonlarca molekülden organize olmuş partiküllerdir.

Bir sıvı içerisinde başka bir sıvı maddenin küçük damlacıklar halinde dağılmasından Emülsiyonlar meydana gelir. Emülsiyonlarda da karışma olayı moleküller seviyede değildir. Örneğin, süt içindeki yağ emülsiyon durumdadır, küçük damlacıklar halinde dağılmış

vaziyettedir. Nitekim zamanla bu küçük damlacıkların sütun yüzeyinde birikmesinden kaymak tabakası meydana gelir. Emülsiyonların süspansiyonlardan farkı dağılan maddenin katı yerine sıvı olmasından ibarettir. Emülsiyon, ancak birbirleriyle karışmayan (immiscible) sıvılardan meydana gelebilir. Örneğin, zeytinyağı ve su birbirleriyle karışmaz. Zeytinyağı su içinde iri damlalar halinde ayrı vaziyette durur. Bu durumda henüz emülsiyon sayılmaz. Bir miktar safra tuzları (öd tuzları) katılıp çalkalanırsa zeytinyağı küçük damlalara ayrılır ve su içinde dağılarak emülsiyon meydana getirir. Diğer taraftan zeytinyağı, eter gibi yağ eriten bir sıvı içinde gerçek çözelti meydana getirir. Alkol ve su gibi birbirine moleküler seviyede karışan sıvılarda emülsiyon değil, çözelti oluşturur.

Bütün kimyasal reaksiyonlarda nicel ölçüm yapabilmek için kullanılan çözeltilerin konsantrasyonlarını bilmek gereklidir. Konsantrasyon, çözeltinin belirli bir hacminde mevcut olan çözünen madde miktarına bağlı bir özelliktir. Çözeltinin belirli bir hacmi içinde çözünen madde miktarı ne kadar çoksa, çözeltinin konsantrasyonu o derece yüksektir. Belirli hacim olarak 1lt 'yi kabul edelim. Bu durumda bir çözeltinin konsantrasyonunu nicel olarak ifade etmenin yolu, 1 lt (=1000 ml) çözelti içinde bulunan çözünen madde miktarını belirtmekten ibarettir. Çözünen madde miktarı ise çeşitli birimlerle belirtilebilir.

A) AĞIRLIK / HACİM (= W / V) ÇÖZELTİ

Genel olarak çözünen madde katı ise gram olarak ağırlığını belirtiriz. Örneğin 5 g şekeri damıtık suda eriterek 1 lt 'ye tamamladığımızı düşünelim. Elimizdeki bu şeker çözeltisinin konsantrasyonu $5 \text{ g/lt} = 5 \text{ g/1000 ml}$ olur. Çoğu zaman bunu % 0.5 olarak yazarız. Çünkü binde beşlik şeker çözeltisi dediğimiz zaman şeker katı madde olduğundan 5 rakamının gram olarak ağırlığı gösterdiğini biliriz. 1000 rakamı da çözeltinin birim hacmini yani 1000 ml'yi göstermiş olur. Konsantrasyonu bu şekilde belirtince nicel hesaplar yapmak mümkün olur. % 0.5'lik şeker çözeltisi ile iş yapıyorsak, örneğin 80 ml 'lik çözeltide ne kadar şeker bulunduğunu bulabiliriz.

$$\frac{.....5\text{g}.....}{1000\text{ml}} \times 80\text{ml} = \frac{400 \text{ g.ml}}{1000\text{ml}} = 0.4 \text{ g}$$

B) HACİM / HACİM (V / V) ÇÖZELTİ

Çözünen madde sıvı ise litre olarak hacmini belirtiriz. Örneğin 0.4 lt metanolü (metil alkol) sulandırarak 1 lt 'ye tamamladığımızı düşünelim. Elimizdeki 1 lt 'lik çözeltide 0.4 lt metanol bulunuyor demektir. O halde çözeltinin konsantrasyonu

$$\frac{0.4 \text{ lt}}{1 \text{ lt.}} = 0.4 = \% 40$$

demektir. Yüzde kırklık metil alkol dediğimiz zaman 100 ml 'de 40 ml metanol kapsayan bir çözelti olduğunu kolayca anlarız. Çözünen madde sıvı olduğundan 40 rakamının ağırlık değil hacim belirttiğini biliriz.

C) Çözünen madde ister sıvı ister katı ister gaz olsun, miktarını belirtmenin diğer bir yolu da çözeltinin 1 lt 'sindeki mol sayısını söylemektir. Bir çözeltinin litrede mol sayısı şeklinde ifade edilen konsantrasyonuna molarite denir. Molarite en çok kullanılan konsantrasyon ifadesidir. Mol bildiğiniz bir maddenin molekül ağırlığı kadar gramı demektir. O halde; 2 g hidrojen = 1 mol hidrojen, 32 g oksijen=1 mol oksijen, 18 g su = 1 mol su, 44 g CO₂ = 1 mol CO₂ olur. Bütün maddelerin birer molü eşit sayıda molekül kapsar (6.02x10²³ Avagadro sayısı). Kimyasal reaksiyonlar moleküller arasında meydana geldiğinden çözeltideki maddelerin mol sayılarını bilmek büyük önem taşır.

1- MOLAR KONSANTRASYON (= hacim molar çözelti = M): Çözünen madde mol sayısının, lt ile gösterilen toplam çözeltiye oranı olup,

$$\text{Molarite (M)} = \frac{\text{Çözünen madde (mol sayısı)}}{\text{Çözelti (litre)}}$$

Şeklinde ifade edilir. Çözünen maddenin mol sayısını bulmak için, o maddenin kimyasal formülünde bulunan tüm atomların ağırlıklarını toplamak gerekir. Bu şekilde bulunan sayıya maddenin “formül gramı” da denir. Buna göre örneğin 12 M, çözelti 1.2 molar demek: 1.2 Mol ise, maddenin 1.2 mol’ü demek olup, ikisi birbirinden farklı ifadelerdir.

Örneğin, 1 lt, 0.3 M bakırsülfat (CuSO₄) çözeltisi hazırlamak için gerekli olan madde miktarı

Formül gram = (64) + (32) + (16 X 4) = 140 g (= 1 Mol = 1 M konsantrasyon için gerekli madde miktarı).

140 X 0.3 = 42 g (=0.3 Mol = 0.3 M konsantrasyon için gerekli madde miktarı)’dır.

O halde, 42 g CuSO₄ tartılarak alınıp, suyla çözülerek 1 lt’ye tamamlanırsa, istenen çözelti hazırlanmış olur.

2- NORMAL KONSANTRASYON (=NORMALİTE = N) : Normalite asidik veya bazik çözeltilerde çözeltinin 1 lt sinde bulunan H^+ veya OH^- iyonlarının mol sayısını gösterir. Bir mol HCl gazını (36.5 gr.) damıtık suda çözerek 1 lt.'lik çözelti hazırladığımızı düşünelim. Bu çözelti hidroklorik asittir ve molaritesi 1 dir. HCl molekülleri bu çözeltide H^+ ve Cl^- iyonlarına ayrılmış durumdadır. Yani çözeltimizin 1 lt 'sinde 1 mol H^+ iyonu bulunmaktadır. O halde çözeltimizin normalitesi de 1 dir.(1N). Halbuki 1 mol H_2SO_4 gazı damıtık suda eritilip 1 lt 'ye tamamlandığında meydana gelen çözelti 1 M sülfürik asit çözeltisi olur fakat normalitesi 2 olur. Çünkü bir molekül H_2SO_4 ' ün iyonlaşması iki H^+ iyonu vereceğinden çözeltimizin bir litresinde bir mol değil iki mol H^+ iyonu bulunacaktır.

Buraya kadar anlatılanları özetleyecek olursak bir çözeltinin konsantrasyonunu ifade etmek için en çok kullanılan yollar çözeltinin belirli bir hacmindeki (genellikle 1000 ml. sindeki):

- a) Çözünen maddenin ağırlığını
- b) " " hacmini
- c) " " mol sayısını
- d) Çözünen maddedeki H veya OH iyonlarının mol sayısını.

belirtmektedir. Bunlardan birincisi % ağırlık, ikincisi % hacim, üçüncüsü molarite dördüncüsü de normalite olarak çözeltinin konsantrasyonunu ifade eder.

Çeşitli kurlardaki laboratuvar çalışmalarımızda bu konsantrasyon ölçülerini kullanmak durumunda kalacaksınız. Bu çalışmada renkli bir maddeden bir seri çözelti hazırlayacaksınız. Çözeltinin içindeki çözünen madde miktarının azlığı çokluğu çözeltinin renk koyuluğundan anlaşılacaktır

Çözelti Hazırlama Kuralları

Belli derişimde çözeltiler hazırlanırken aşağıdaki kurallara uyulması gerekir.

1. Kullanılacak kimyasal maddeler olabildiğince arı olmalıdır.

2. Kullanılacak kimyasal maddelerin kütle yüzdesi, yoğunluk, formül kütlesi, içerdiği safsızlıklar gibi özellikleri varsa, bulunduğu kabın etiketinden veya el kitabından bulunmadır.
3. Kullanılacak cam malzeme çok temiz olmalıdır.
4. Kütle ve hacim ölçme işlemleri duyarlı yapılmalıdır.
5. Çözücüsü su olan çözeltilerde damıtık su kullanılmalıdır.
6. Uçucu ve nem çekici maddeler kullanıldığında çözeltiler olabildiğince hızlı ve derişik olarak hazırlanmalı, daha sonra istenilen derişime seyreltilmelidir. Ayrıca bu maddelerin buharlaşmasını ve nem çekmesini önlemek için, içinde bulundukları kapların kapakları uzun süre açık bırakılmamalıdır.
7. Çözünürken dışarıya ısı veren maddeler kullanıldığında, çözeltinin içerisinde hazırlandığı kap, akan musluk suyu altında soğutulmalıdır.
8. Gerekli çözücü ve çözünen miktarı doğru hesaplanmalıdır.
9. Çözüneni katı olan bir sıvı çözelti hazırlanırken, hesaplanan miktarda tartılan katı çözünen bir beherde az miktarda damıtık su ile çözüldükten sonra çözelti hacmine uygun olarak seçilen bir balon jojeye aktarılmalıdır. Madde kaybını önlemek amacıyla beher birkaç kez damıtık suyla yıkanmalı ve yıkama suları da balon jojeye aktarılmalıdır. Daha sonra balon joje ölçek çizgisine kadar damıtık su ile doldurulmalı ve kapağı kapatılıp birkaç kez ters çevrilerek homojen bir çözelti oluşturulmalıdır.
10. Çözüneni sıvı olan bir sıvı çözelti hazırlarken hesaplanan hacimde bir pipetle ölçülen sıvı çözünen, çözelti hacmine uygun olarak seçilen bir balon jojeye çeperlere bulaştırılmadan akıtılmalı ve balon joje ölçek çizgisine dek damıtık su ile doldurulduktan sonra kapağı kapatılıp birkaç kez ters çevrilerek homojen bir çözelti oluşturulmalıdır.
11. Derişik sülfürik asit (H_2SO_4) çözeltisi kullanılıyorsa, asla derişik sülfürik asit üzerine su konulmamalıdır. Çözeltinin hazırlanacağı balon jojeye çözelti hacminin yarısı kadar su konulduktan sonra derişik sülfürik asit çözeltisi yavaş yavaş ve sürekli karıştırılarak eklenmelidir. Ters durumda patlama olabilir.
12. Asit ve baz çözeltiler hazırlanırken balona veya erlene önceden bir miktar su konulur. Asit ve bazların üstüne direk olarak su ilave edilmez. Aksi takdirde balon veya erlen çok sıkışır ve patlayabilir. Çözünen maddenin nakli yapıldıktan sonra balona bir miktar çözücü katılır. Çözünme tam oluncaya kadar hafifçe sallanır. Bazen bek üzerinde ısıtmak gerekir. Ancak bu ısı ile bozulmayan maddelere uygulanır.

Çözeltilerin saklanması

Çözeltilerin büyük bir kısmı oda sıcaklığında saklanır. Bir kısmı ise buzdolabında saklanmalı, ışık ve nemden korunmalıdır. Stok çözeltiler her zaman eğer aksine bir kayıt yoksa buzdolabında saklanmalı, kullanılacağı zaman bir miktar şişeye aktarılmalıdır. Hazırlanan maddeler mutlaka etiketlenmelidir. Etiketlin üzerine ne olduğu, kimin tarafından hazırlandığı ve tarih mutlaka yazılmalıdır.

Yüzde Çözeltiler

A) Sıvılarda: Belirli hacimde sıvının 100 ml'e çözücü ile tamamlanmasıyla elde edilir.

Örnek: % 10 HCl (hidroklorik asit) hazırlamak için 10 ml HCl 100 ml'e çözücü ile tamamlanır.

B) Katılarda: Belirli ağırlıkta katı maddelerin çözülüp 100 ml'e tamamlanması ile elde edilir.

Örnek. % 10'luk CuSO₄ (bakır sülfat) hazırlamak için; 10 gr bakır sülfat tartılır. Çözücünde çözülür ve aynı çözücü ile 100 ml'e tamamlanır.

Gerekli malzemeler: Alkolometre, 10 litre %96'lık alkol, distile su, 1000 ml'lik mezür, farklı yüzdelerde 2'ser litre hazırlanmış 2 alkol serisi, hazırlanan alkollerin konulacağı kaplar.

1. Size verilen alkolü 1000 ml'lik mezüre boşaltınız.
2. İçine alkolometreyi batırarak %96'lık olup olmadığını kontrol ediniz.
3. %70'lik 1 litre alkol hazırlamak için gereken alkol ve distile su miktarlarını aşağıdaki şekilde hesaplayınız.

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$\frac{96}{100} \cdot X = \frac{70}{100} \cdot 100$$

X = Konulacak alkol miktarıdır, üzeri distile su ile 100'e tamamlanır. ! litre hazırlanacağı için çıkan miktarlar 10 ile çarpılır.

4. %70'lik alkol hazırlayınız. Hazırladığınız alkolün yüzdesini alkolometreyi kullanarak kontrol ediniz.

5. Yüzde oranlarını bilmediğiniz alkollerin alkolometre kullanılarak % kaçlık olduğunu bulunuz ve bu iki alkolü karıştırarak %70'lik alkol hazırlayınız.

Örneğin elinizde %80'lik ve %65'lik iki alkol var. Siz %55'lik 100 ml alkol hazırlamak istiyorsunuz.

$$M_1 \cdot V_1 + M_2 \cdot V_2 = M_T \cdot V_T$$

$$0,80 \cdot V_1 + 0,65 \cdot V_2 = 0,55 \cdot 100$$

$$0,80 V_1 + 0,65 (100 - V_1) = 55$$

$$0,80 V_1 + 65 - 0,65 V_1 = 55$$

$$0,15 V_1 = 10$$

$$V_1 = 66,66 = 67 \text{ ml}$$

67 ml % 80'likten, 33 ml %65'likten alarak birbirine tamamlayınız. Böylece 100 ml %55'lik alkol elde ettiniz.

Deney 7:

THOMA LAMI İLE SAYIM YÖNTEMİ

Sayım yapmak amacıyla kullanılan çok sayıda lam vardır.

Bunlar;

Improved Neubauer, Improved Neubauer, bright-line, Neubaure, Bürker, Bürker-Türk / Türk, Thoma, Fuchs-Rosenthal, Malassez, Nageotte'dir.

Thoma lamı mikroorganizma (özellikle maya) veya tıpta kan, sperm gibi hücrelerin sayımı amacıyla kullanılmaktadır. Thoma lamında iki sayım sahası bulunmaktadır Bir sayım sahasında 16 büyük kare, her büyük kare içinde de 25 küçük kare bulunmaktadır. Bazı Thoma lamalarında 25 büyük kare, her büyük kare içinde de 16 küçük kare bulunmaktadır. Yani bir sayım sahasında $16 \times 25 = 400$ ya da $25 \times 16 = 400$ küçük kare bulunmaktadır. Derinlikleri 0,1 (1/10) mm olan kare prizma şeklindeki bu bölüntülerin lamelle kapatılıp, oluşturdukları kapalı hacimde hücrelerin sayılması mümkün olmaktadır. Bir küçük karenin kenarı 0.05 mm'dir.

1 küçük kare olarak belirtilen kare prizmanın hacmi =

$$0,05 \text{ mm} \times 0,05 \text{ mm} \times 0,1 \text{ mm} = 0,00025 \text{ mm}^3 = 1/4000 \text{ mm}^3 \text{ 'dür.}$$

Bu sayım alanında $16 \times 25 = 400$ küçük kare olduğundan;

$$0,00025 \times 400 = 0,1 \text{ mm}^3 \text{ 'dür.}$$

$$1 \text{ ml} = 1 \text{ cc} = 1 \text{ cm}^3 = 1000 \text{ mm}^3 = 10\,000 \times 0,1 \text{ mm}^3$$

Sonuçlar ml (cm^3) olarak verileceği için sayım sonucu 10 000 ile çarpılır.

Thoma lamında büyük karelerin sınırları, ara çizgi ile belirtilmiştir. Uygulamada çoğu kere karıştırıldığı gibi, ara çizgi büyük karelerin sınırları değil, büyük karelerin sınırlarını belirleyen yardımcı çizgidir.

Sayımda genellikle büyük karelerin tümü dikkate alınmaz. Çapraz 4 büyük karedeki veya çapraz 5 büyük karedeki hücreler sayılır. Sayıma alınan büyük karelerin üst ve sol taraflarındaki çizgilerin üzerindeki hücreler sayıma alınmaz.

Toplam hücre sayısı şu şekilde hesaplanır.

1. Bir sayım sahasındaki 4 büyük çapraz kare sayılır ve 16 büyük karedekini bulmak üzere orantı kurulur.

$$\begin{array}{rcl} 4 \text{ büyük karede} & & X \text{ adet hücre} \\ 16 \text{ büyük karede} & & ? \text{ adet hücre} \end{array}$$

$$? = Y \text{ adet hücre}$$

2. İkinci sayım sahasındaki hücre sayısı da aynı şekilde hesaplanır.
3. İki sayım sahasının ortalaması alınır ve 10 000 ile çarpılarak 1 ml'deki hücre sayısı bulunur.

1. Maya hücreleri ile yapılacak sayımda dikkat edilecek hususlar

Kuru mayayı ılık su ile karıştırıp bir solüsyon elde edersiniz. Mayanın kendisi kuru olduğu için toplam maya sayısının hesaplanmasında dilüsyon faktörü ile çarpıma gerek yoktur.

2. Kan hücreleri ile yapılacak sayımda dikkat edilecek hususlar

Kanı alıp direkt sayım yapamazsınız. Kan hücrelerinin çok yoğun olması nedeniyle seyreltme yapmanız gerekir.

Örneğin 1 ml kan aldınız, 1 ml'de seyrelttiğiniz sıvıyı koydunuz. Böylece toplam 2 ml solüsyonunuz oldu. Hacim 2 katına çıktı. Dilüsyon faktörünüz 2'dir.

Hesaplama sırasında

$$\text{Hücre sayısı} \times \text{Dilüsyon Faktörü} \times 10^4$$

10^4 ile çarpım bize 1 ml'eki hücre sayısını verecektir.

3. Kültür hücreleri ile yapılacak sayımda dikkat edilecek hususlar

Hücre kültüründe yetiştirdiğiniz hücrelerin ölü mü yoksa canlı mı olduğunu belirlemek ve aynı zamanda sayım yapmak istiyorsunuz. Bu amaçla Trypan Blue adlı bir boya kullanmak istiyorsunuz.

Şu şekilde bir solüsyon hazırladığınızı düşünelim

0.5 ml Trypan Blue

0.3 ml seyrettiğiniz sıvı

0.2 ml Hücre süspansiyonu

Toplam: 1.0 ml'dir.

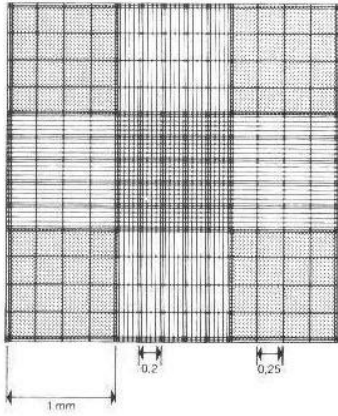
1 ml'deki hücre süspansiyonu 0.2 ml idi.

1 ml, 0.2 ml'in 5 katıdır. Bu durumda dilüsyon faktörünüz 5'tir.

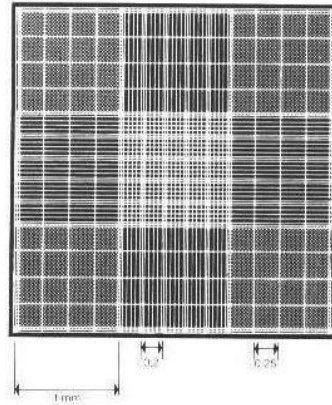
Gerekli malzemeler: Thoma lamı, lamel, 5 ml'lik cam pipet, bira mayası süspansiyonu, 10 mikrolitre alacak kapasitede otomatik pipetler ve uçları.

1. Bira mayasının bulunduğu tüp ya da beherin iyi karışmış olmasına dikkat ediniz. 10 μ l bira mayası süspansiyonundan alıp Thoma lamındaki üst kısımdaki sayım sahasına bırakınız.
2. Aynı işlemi ikinci sayım sahasına da uyguladıktan sonra lamel ile kapatınız.
3. Sayım işlemini yapıp, rapor şeklinde veriniz.

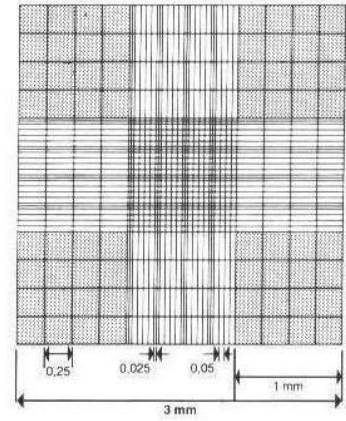
S A Y I M L A M L A R I



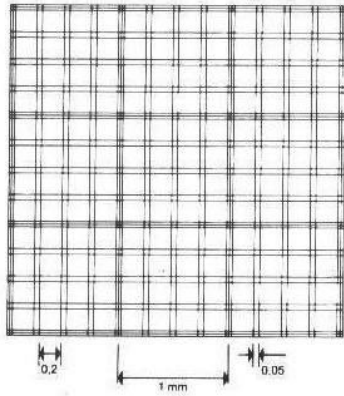
Improved Neubauer,



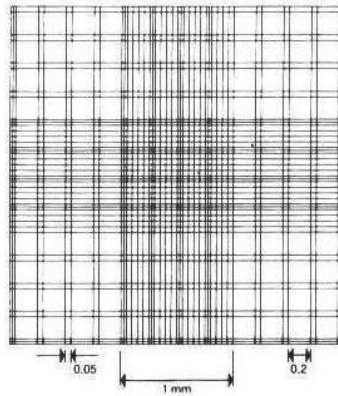
Improved Neubauer,
bright-line



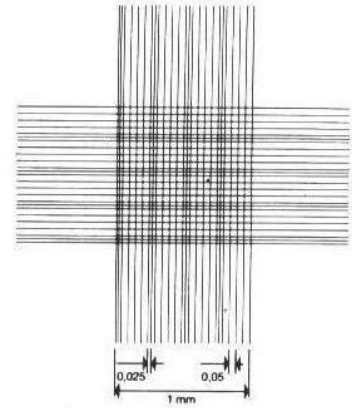
Neubauer,



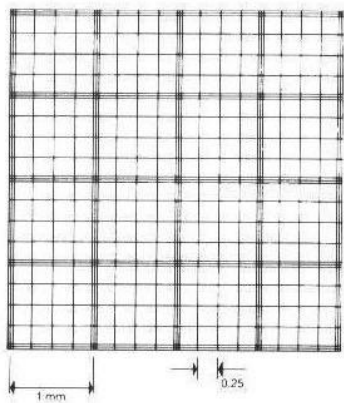
Bürker,



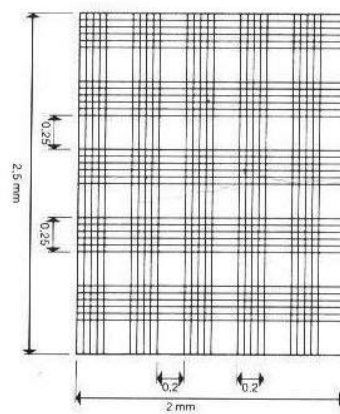
Bürker-Türk / Türk,



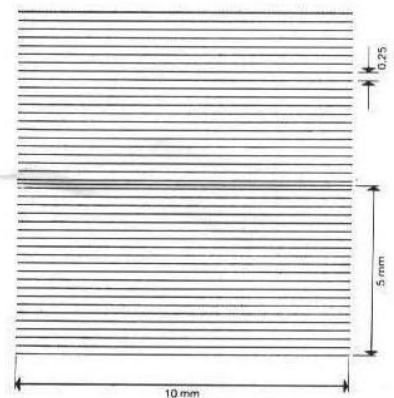
Thoma,



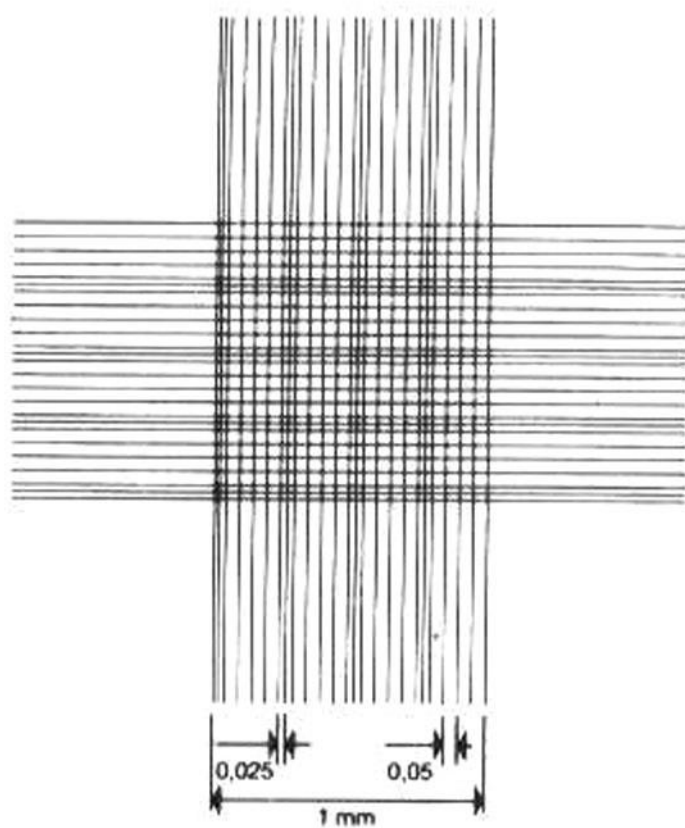
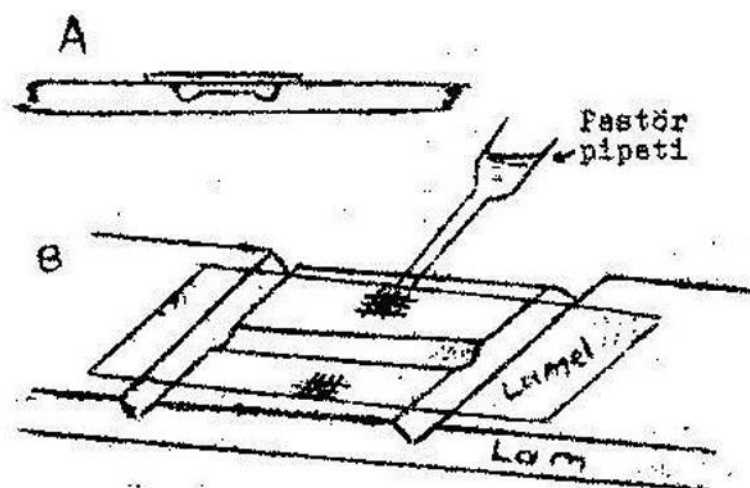
Fuchs-Rosenthal,



Malassez,



Nageotte,



Deney 8:

Kan Grubu Tayini

Kan grubu tayini antijen-antikor tepkimelerine bağı olarak gerçekleştirilmektedir. Bu nedenle kan grubu tayininin temelini kavrayabilmek için antijen ve antikor tanımları iyi bilinmelidir.

Antijen (aglutinojen): Antijenler, vücuda girdiklerinde bağışıklık sistemini uyarak kendisine karşı bir bağışıklık yanıtın oluşmasına neden olan yabancı madde ve mikroorganizmalardır. Genellikle protein ve polisakkarit yapısında canlı organizma kısımları ya da büyük moleküllü proteinler ile bunlara bağlanmış karbonhidratlar, nükleik ve lipidik yapılardır.

Antikor (aglutinin): Çok hücreli hayvansal organizmaların bağışıklık sistemi tarafından, kendi organizmalarına ait olmayan organik yapılara karşı geliştirilen glikoprotein yapılı moleküllerdir (immunoglobulin). Kendilerinin oluşmasında etkili olan antijenlerle özgül olarak birleşebilirler. Organizmaya dışarıdan giren yabancı moleküllerin neden olabileceği zarar verici etkilere karşı erken bir savunma oluşturarak koruyuculuk sağlarlar. IgG, IgM, IgA, IgD, IgE gibi çeşitleri vardır.

ABO Kan Grupları ve Kalıtımı

Kan gruplarının varlığı ilk kez 1901 yılında Karl Landsteiner adlı araştırmacı tarafından ortaya koyulmuştur. Farklı kan gruplarındaki insanların kanları biribirine karıştırıldığında, bazılarında kümelenme (çökelme, aglutinasyon) meydana gelirken, bazılarında çökelme görülmemektedir. Bu kümelenmeye alyuvarlarda bulunan farklı proteinler (antijen, aglutinojen) ile kan plazmasında bulunan çökticiler (antikor, aglutinin) neden olmaktadır.

- Alyuvarlarında **A antijeni** bulunduran kişiler **A kan grubuna** sahiptir.
- Alyuvarlarında **B antijeni** bulunduran kişiler **B kan grubuna** sahiptir.
- Alyuvarlarında hem **A antijeni** hemde **B antijeni** bulunduran kişiler **AB kan grubuna** sahiptir.
- Alyuvarlarında **antijen bulundurmayan** kişiler **O kan grubuna** sahiptir

Bu kan gruplarına sahip olan kişilerin kan plazmasında başka bir kanın alyuvarlarını çöktelen antikorlar bulunur.

- **A kan grubuna** sahip kişiler **anti-B antikor**u üretebilirler.
- **B kan grubuna** sahip kişiler **anti-A antikor**u üretebilirler
- **AB kan grubuna** sahip kişiler **anti-A ve anti-B antikorlarından hiçbirini** üretemezler.
- **O kan grubuna** sahip kişiler **anti-A ve anti-B antikorlarının her ikisini birden** üretebilirler.

A ve B antijenleri alyuvarların hücre zarlarında yer alan glikoprotein çeşitlerindendir. Anti-A ve anti-B antikorları ise, kan serumunda doğal olarak bulunan ve ilgili antijen vücuda girsin veya girmesin yaşamın çok erken evrelerinde alyuvarlar tarafından oluşturulan moleküllerdir. Yani ABO kan grupları ile ilgili antikorların diğer antikorlardan farkı, antijenlerle temas etmese bile kanda az miktarda bulunmalarıdır. Bir kişi hiçbir zaman mikrobik bir hastalığa tutulmadıkça ya da aşılanmadıkça o hastalığın antikoruna sahip olamaz. Ancak A kan grubu bir kişiye B kan grubundan kan verilmese bile kanında anti-B antikoruna sahiptir.

Kan grubu	Alyuvarlarında ki antijen	Plazmasında ki antikor	Kan verebildiği gruplar	Kan alabildiği gruplar	Anti-A antikor ile çökme durumu	Anti-b antikor ile çökme durumu
A	A antijeni	Anti-B antikor	A, AB	A, O	Çökme var	Çökme yok
B	B antijeni	Anti-A antikor	B, AB	B, O	Çökme yok	Çökme var
AB	A ve B antijeni	Antikor yok	Yalnız kendi grubu	Bütün gruplar (Genel alıcı)	Çökme var	Çökme var
O	Antijen yok	Hem anti-B hemde anti A antikor var	Bütün gruplar (Genelverici)	Yalnız kendi grubu	Çökme yok	Çökme yok

Tablo 1.1 Kan grupları ve özellikleri

Gruplar arası kan alış-verişi, dışarıdan verilen kandaki **antijenik yapıya karşı**, alıcının kanında **anikor oluşturulması** esasına dayanır. Vericinin kanında **antijenik yapı bulunuyorsa** ve alıcıda da bu antijenik yapıya karşı **antikor üretilebiliyorsa** çökelme meydana gelecektir. Ancak vericinin kanında, alıcıda antikor oluşumuna neden olacak bir antijenik yapı bulunmuyorsa çökelme meydana gelmez. Bu durumda vericide alıcının kanında bulunan antijenlerle çökelme oluşturabilecek bir antikor bulunsa dahi, bu çökelme kısmi bir çökelme (yarı çökelme) olacak ve tam çökelme gerçekleşmediği için hayati bir risk oluşturmayacaktır.

Örneğin, **A kan gruplu** bir kişide **A antijeni** bulunmaktadır.

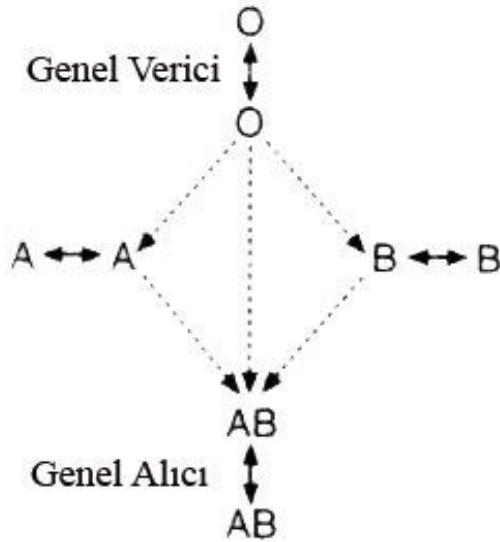
O kan gruplu bir kişide ise **antijenik yapı bulunmaz**. Ancak **O kan gruplu** kişi **hem anti-A hem de anti-B antikorlarını bulundurmaktadır**

O kan grubunda **antijenik yapı bulunmadığından** A kan grubundaki bir kişiye verildiğinde **herhangi bir antikor oluşumuna neden olmaz**. O kan grubunda az miktarda anti-A antikor doğal olarak bulunmaktadır. Ancak bu antikor A kan grubunda bulunan A antijeni ile birleşse dahi, çok az bir çökelme (yarı çökelme) meydana gelecek ve hayati bir risk oluşturmayacaktır. Bu nedenle, A kan gruplu kişi kendi grubunun yanı sıra O kan grubundan da kan alabilir.

Buna rağmen, kan grupları arasındaki en uygun kan alış-verişi, **her bireyin kendi grubuyla yaptığı alış-veriştir**. Buna **ideal kan alış-verişi** denir.

- ✓ İdeal olmayan gruplar arasındaki kan nakillerinde **yarı çökelme** veya **tam çökelme** olmaktadır.

Aşağıdaki şekilde (Şekil 1.1) **gruplar arası kan alış-verişi** gösterilmektedir. Normal çizgi ile gösterilen oklarla yapılan nakillerde **hiç çökelme meydana gelmez**. Kesik çizgi ile gösterilen oklarla yapılan nakillerde ise **yarı çökelme** meydana gelir.



Şekil 1.1 Gruplar arası kan alış-verişi

Rhesus (Rh) Faktörü

ABO kan gruplarının oluşmasını sağlayan antijenlere ek olarak bazı kişilerin alyuvarlarında fazladan antijenlerin bulunduğu gözlenmiştir. Bu antijenler ilk kez *Rhesus macacus* adındaki bir maymunun kanında tespit edilmiş ve 'Rh antijeni' olarak adlandırılmıştır. Bir kişinin alyuvarlarında Rh antijeni varsa Rh + yoksa Rh- 'tir. Rh – kan grubuna sahip kişilerin kan plazmasında Rh antijenini çökeltin anti-D antikorları bulunmaz. Ancak Rh antijeni ile biraraya geldiğinde anti-D antikor oluşur. Bu nedenle Rh – kan grubuna sahip bir birey Rh+ kan grubuna sahip bir bireyden kan alamazken bu kişiye kan verebilir.

Kan Uyuşmazlığı

Annenin kan grubu Rh-, bebeğin kan grubu Rh + olduğu durumlarda kan uyuşmazlığı ortaya çıkabilir. Hamilelik sırasında plasentada meydana gelebilecek bir hasar sonucunda embriyonun kanı annenin kanına geçer. Annenin kanına geçen Rh antijenlerine karşı anti-D antikor oluşur. Bu antikorlar plasenta yolu ile bebeğe geçer ve bebeğin alyuvarlarının çökmesine neden olur. Bebeğe meydana gelen bu hastalığa 'Eritroblastosis fetalis' denir. Bu olay düşüğe ya da ölü doğumlara neden olabilir. Bu durumu engellemek için gebelere 28. haftada anti-D iğnesi yapılmalıdır. Doğumdan sonra bebeğin kan grubu pozitif ise ilk 72 saat içinde yeniden anti-D uygulanmalıdır.

Materyal:

Lam lanset, pamuk, %70'lik etil alkol, kürdan, anti-A antibadi solüsyonu, anti-B antibadi solüsyonu ve anti-D antibadi solüsyonu.

Uygulanacak İşlem Basamakları:

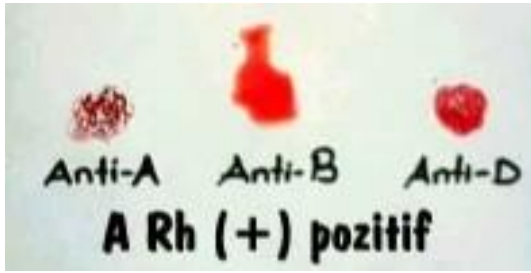
1. Bir adet temiz lam hazırlayınız.
2. Cam kalemi kullanarak lamı 3 bölgeye ayıracak şekilde çiziniz. Bu bölmeleri A, B ve C olarak işaretleyiniz.
3. Lamın A yazılan bölümüne bir damla anti-A serumu, B yazılan bölümüne bir damla anti-B serumu C yazılan bölümüne ise bir damla anti-D serumu damlatınız.
4. Sol elinizin orta parmağını uç kısmına doğru birkaç kez sıvazlayarak kanın parmak ucunda toplanmasını sağladıktan sonra %70'lik etil alkol damlatılmış pamuk ile parmağınızı siliniz.
5. Parmağınızın ucunu tek kullanımlık steril lanset ile hızlıca deliniz.
6. Parmağınızı deldikten sonra 1' er damla kanı sırayla anti-A, anti-B ve anti-D serumlarının üzerine damlatınız.
7. Her damla için ayrı kürdan kullanrak anti-A, anti-B ve anti-D serumlarını kan damlaları ile karıştırınız. Sonra lamları hafifçe öne ve arkaya doğru hareket ettirerek sallayınız.

Birkaç saniye içinde aglütinasyon oluşup oluşmadığına makroskopik ve mikroskopik olarak bakınız (Şekil 1.2).

- a. Eğer sadece anti-A ile aglütinasyon varsa, kan grubu A dır.
- b. Eğer sadece anti-B ile aglütinasyon varsa, kan grubu B dir
- c. Eğer hem anti-A hem anti-B ile aglütinasyon varsa, kan grubu AB dir.
- d. Eğer gerek anti-A gerek anti-B ile aglütinasyon yoksa, kan grubu 0 dır.
- e. Eğer anti-D ile aglütinasyon varsa kan grubu Rh +' dir.

Kan Grubu	Damlatılan Serum		
	Anti-A	Anti-B	Anti-D
AB, Rh +			
A, Rh +			
B, Rh -			
O, Rh -			

Şekil 1.2 Kan gruplarına göre çökelme (aglutinasyon) durumları.



Şekil 1.3 A Rh(+) kan grubu

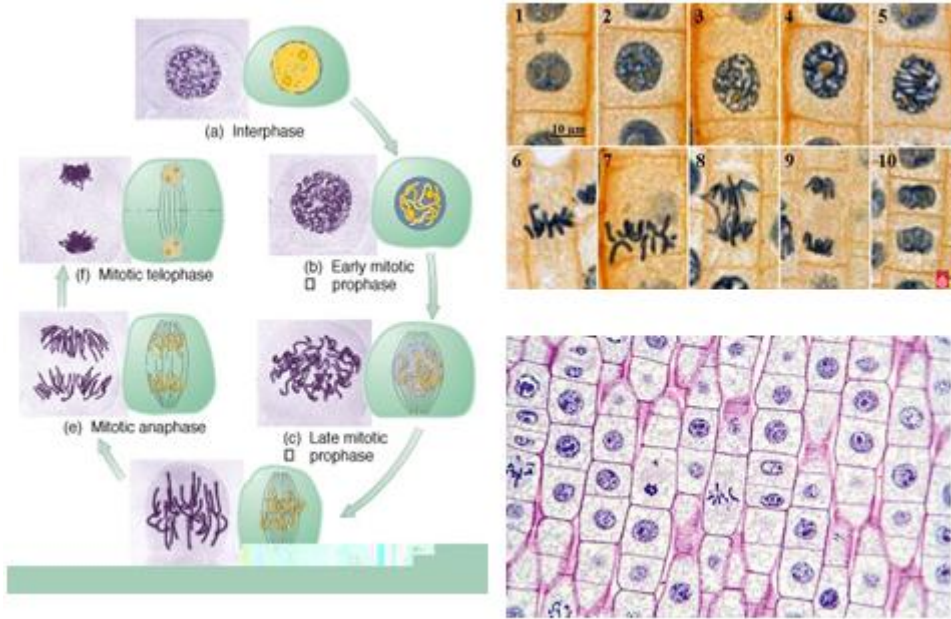
Deney 9-10

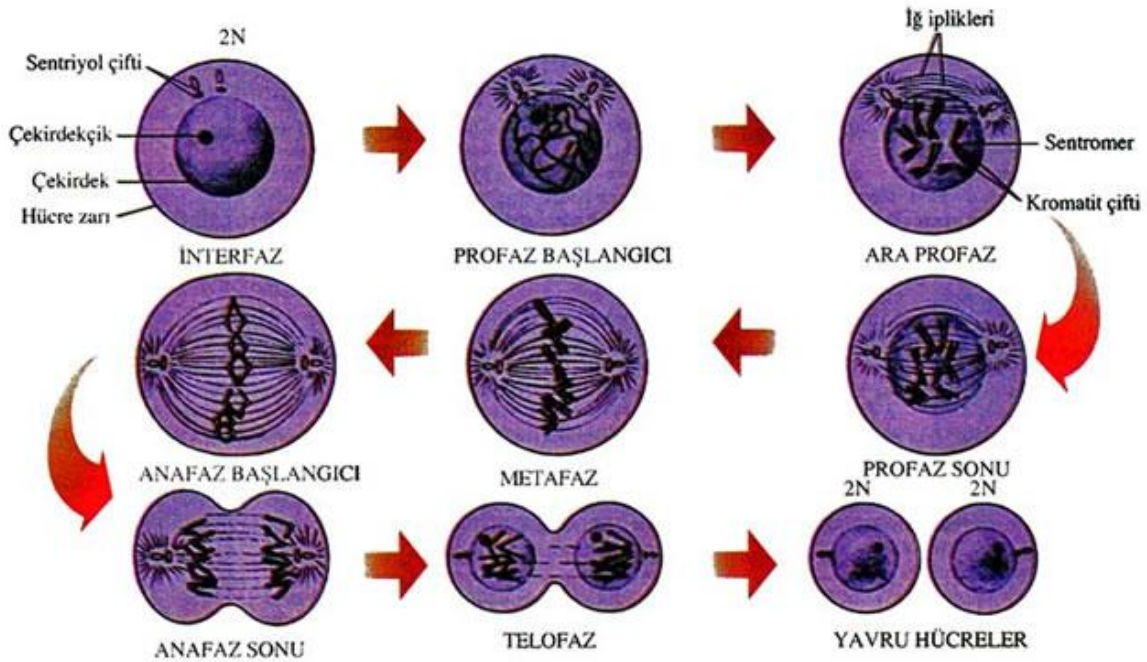
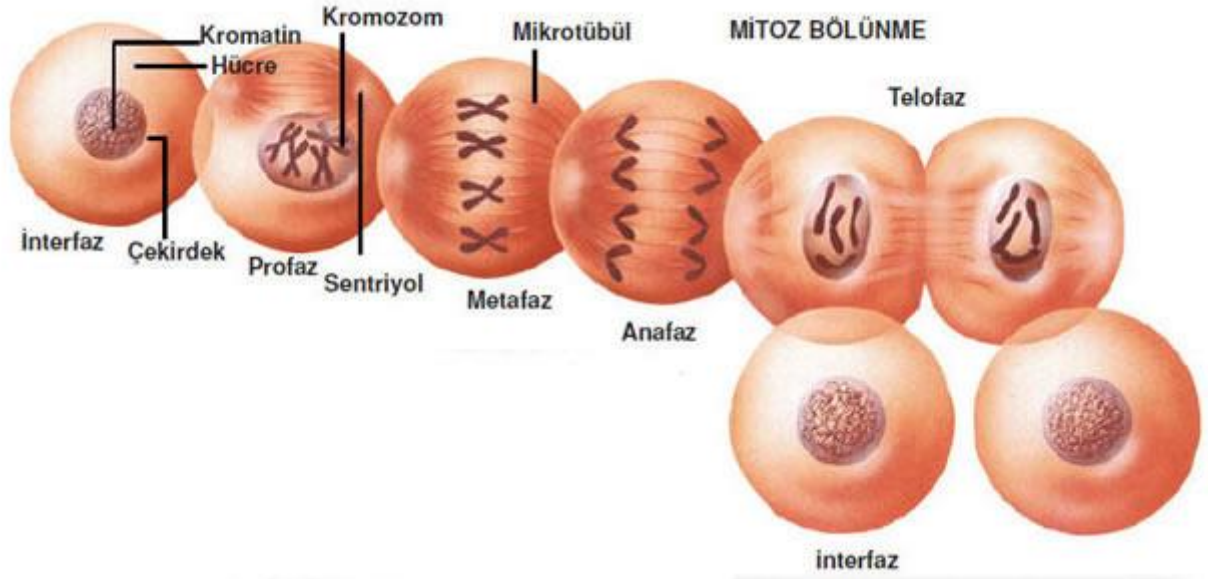
Mitoz Bölünmenin İncelenmesi

Gerekli malzemeler: Mitoz hazır preparatları, immersiyon yağı, ksilol, 70%'lik alkol, ışık mikroskobu.

Deneyin Yapılışı:

- Hazır preparatlar objektif ve oküler leri temizlenmiş ışık mikroskobunda 4X objektifde incelenmeye başlanır.
- Tesbit edilen mitoz safhası yüksek objektif büyötmelerinde incelenir, ihtiyaç duyuluyorsa immersiyon objektifde (100X) immersiyon yağı ilave edilerek incelenir ve fotoğraflanır.
- 100X objektif daha sonra ksilol veya 70% alkol ile temizlenir.
- Tüm mitoz safhaları tüm öğrenciler tarafından bulunana kadar preparat incelemeye devam edilir.





İnterfaz Evresi: Mitoz Hazırlık Aşaması

İnterfaz, bölünmüş bir hücrenin, yeniden bölünmek için geçirdiği bir hazırlık evresidir. Ökaryot hücrelerin yaşamının en uzun evresidir. Örneğin, insan deri hücresi bir günlük bölünmenin kabaca 22 saatini interfazda harcar.

G1 Evresi: Kontrol noktasında, hücrenin büyüklüğü ve DNA hasarı kontrol edilir. DNA kendini eşlerken hasar ve hata meydana gelmişse bu durumlar düzeltilinceye kadar hücre döngüsü durdurulur.

Sentez (S) evresi: DNA replikasyonu gerçekleşir. Hücre G1 evresinden bu evreye geçişte bölün emri alır hücreye bu emir verildikten sonra bölünme engellenemez. Kromatin iplikleri

sentromerde birbirine bağı, protein örtüden yoksun. Sentrzom kendini eşler. Hücre bu evreden sonra G2 evresine girer.

Büyüme (G2) evresi: Bölünme öncesi son hazırlık evresidir. Hücre bölünmesi için gerekli olan ATP, protein ve yapı moleküllerin sentezi sağlanır.

Profaz Evresi

Başlangıcında çekirdek içinde ince uzun kromatid iplikleri halinde görünen kromozomlar, yavaş yavaş helozon şeklinde kıvrılarak kalınlaşmaya başlar ve görülebilir duruma geçer. kalınlaşma ve kısalma anafaza kadar devam edebilir. Bu arada eş kromozomlar birbirlerinden fark edilemeyecek kadar sıkıca bağılırlar. Bu evrede birbirine sentromerlerle bağılanmış olarak duran kromozomların her birine kromatid denir. Sentrozomlar ayrılarak her biri bir kutba gitmeye başlar ve aralarında iğ iplikleri oluşur. Profazın sonuna doğru iğ iplikleri ile kromozomlar arasında bağılantı kurulurken, sentrozomlardan hücre zarına uzanan iğ iplikleri de oluşur ve çekirdek zarı eriyerek kaybolur, kromozomlar sitoplazma içerisine dağılır.

Metafaz Evresi

Kardeş kromotitler ekvatorial düzlemde bir çember gibi, bazen de karışık olarak ekvatorial düzlem üzerinde dizilirler ve sentrozomlar interfazda oluşturmuş olduğu iğ ipliklerini kromozomlara doğru göndermeye başlar. Hücrenin ortasında hafif boğumlanma olur. İğ iplikleri kardeş kromatitlere tutunur. Kromozomların en net görüldüğü safhadır.

Anafaz Evresi

Ekvatorial düzlemdeki kardeş kromozomlar kutuplara bu evrede taşınırlar. Kasılma özelliği olan sentrozomların iğ iplikleri sayesinde kromozomların yarısı bir kutba, diğer yarısı öbür kutba gider. Kromozomların kutuplara ulaşmasıyla bu evre sona erer. Bu evre de yaklaşık olarak 3-15 dakika sürer.

Telofaz Evresi

Çekirdek zarı yavaş yavaş oluşur. Kromozomlar uzayıp incelmeye başlar. Bölünme açısından çekirdek dinlenmeye geçerken, hücre metabolizması aktif hale geçer.

Bu evrenin oluşumu sürerken bir yandan da sitoplazma boğum yapmaya başlar. İğ ipliklerine dik olarak boğumlanan sitoplazmanın o bölgede jel hale geçerek iki oğul hücrenin sitoplazmasını ayırdığını ileri süren görüşlerde vardır. Stoplazmanın boğumlanarak ayrılması

sürecine sitokinez denir. Telofazın başlangıcından iki yeni hücrenin oluştuğu ana kadar geçen süre 30-60 dakikadır.

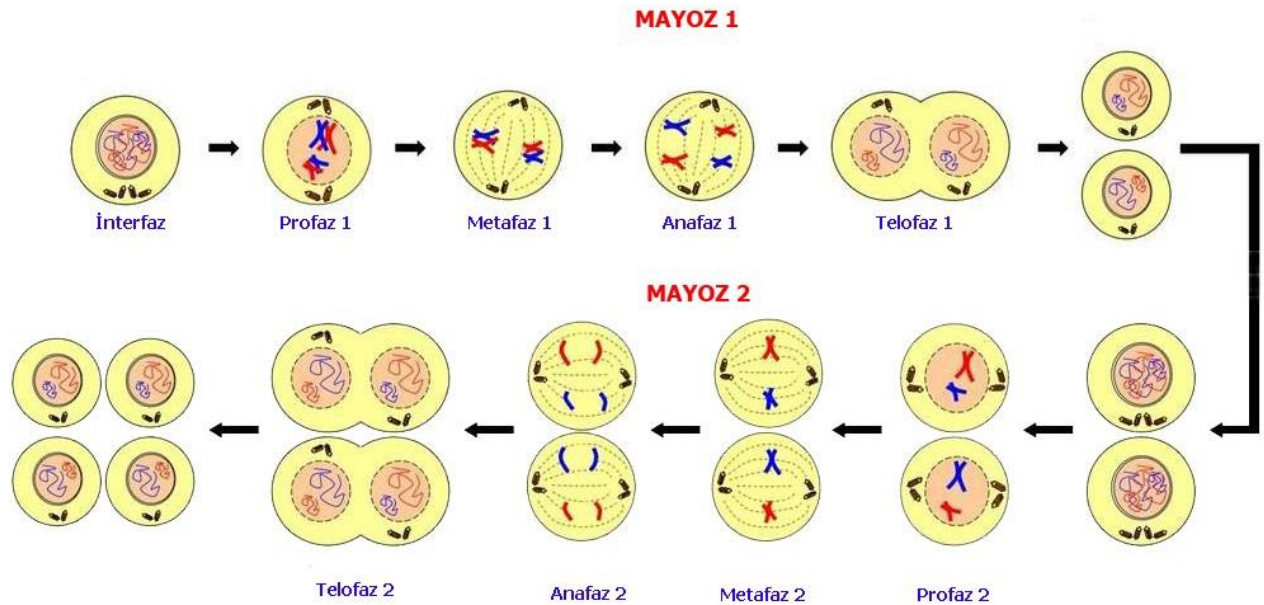
Deney 11-12

Mayoz Bölünmenin İncelenmesi

Gerekli malzemeler: Mayoz hazır preparatları, immersiyon yağı, ksilol, 70%'lik alkol, ışık mikroskobu.

Deneyin Yapılışı:

- Mayoz hazır preparatları, objektif ve okülerleri temizlenmiş ışık mikroskobunda 4X objektifde incelenmeye başlanır.
- Tesbit edilen mayoz safhası yüksek objektif büyütmelerinde incelenir, ihtiyaç duyuluyorsa immersiyon objektifde (100X) immersiyon yağı ilave edilerek incelenir ve fotoğraflarılır.
- 100X objektif daha sonra ksilol veya 70% alkol ile temizlenir.
- Mayoz I ve Mayoz II safhaları tüm öğrenciler tarafından bulunana kadar preparat incelemeye devam edilir.



Mayoz özel bir hücre bölünmesi şeklidir. Diploit Kromozomlu üreme ana hücreleri mayoz sonucunda diploit bir hücreden haploit kromozomlu dört hücre meydana gelir. Bu hücreler gelişerek gametleri oluştururlar. Testislerde sperm oluşturulmasına Spermatogenez, yumurtalıklarda yumurta oluşturulmasına Oogenez denir. Mayoz bölünme sırasında DNA tek bir kez kendisini kopyalar, homolog kromozomlar arasında Cross-Over olayı gerçekleşir ve

oluşan hücreler arasında genetik çeşitlilik meydana gelir. Bu nedenle, mayoz sonucunda oluşan gametlerin genetik yapısı birbirinin tıpatıp aynısı değildir.

İnterfaz:

DNA hücrede mitoz bölünmedeki gibi eşlenir. Her bir kromozom genetik olarak özdeş iki kromatitten oluşur. Kardeş kromatitler sentromer bölgesinden birbirine bağlıdır. Sentrozomlar eşlenir. İnterfaz evresinde üreme ana hücresinde büyüme, solunum, protein sentezi gibi metabolik olayların hızı çok yüksektir. İnterfaz evresi (G1, S, G2) I. mayozun başında geçer, II. Mayoz da tekrarlanmaz.

Profaz I:

Mayozun en uzun ve en karmaşık evresidir. Profazın erken evresinde kromatin iplikler sarılıp yoğunlaşarak kısalır, kalınlaşır. Anne ve babadan gelen homolog kromozomlar yan yana gelir ve birbiri üzerine kıvrılır. Kromozomlar kısaltmaya devam ederek mitozda olduğu gibi belirginleşmeye başlar ve son şeklini alır.

Homolog kromozom çifti yan yana geldiğinde dörtlü kromatit grupları oluşur. Bu dörtlü gruplara tetrat denir. Tetratların sayısı haploit kromozom sayısına eşittir. Bu evrede homolog kromozom çiftleri yan yana gelerek birbirleriyle sarmal yapar. Bu olaya sinapsis adı verilir. Sinapsis sırasında homolog kromozomların kardeş olmayan kromatitlerinin birbirine dokunan parçacıkları arasında gen değiş tokuşu olur. Bu olay krosing over olarak adlandırılır. Krosing over ile genetik bilgi alış veriş sağlanır.

Krosing over mayoz bölünmenin en önemli olayıdır. Parça değişimi olarak da adlandırılan bu olayla yeni gen kombinasyonları meydana gelir. Bu yolla aynı türün bireyleri arasında farklı özelliklerin ortaya çıkması sağlanmış olur. Aynı zamanda diğer olaylar mitozda olduğu gibi devam eder. Sentrozomlar birbirinden uzaklaşır, aralarında iç iplikleri oluşur. Çekirdek zarı parçalanır, çekirdekçik görünmez olur. Sitoplazmada serbest kalan tetratlar, kinetokorlarından iç ipliklerine tutunur.

Metafaz I:

Bu evrede homolog kromozomlar, tetratlar hâlinde ekvator düzlemine dizilir.

Anafaz I:

İğ ipliklerinin kısılmasıyla homolog kromozomlar zıt kutuplara doğru hareket eder. Bu şekilde homolog kromozomların ayrılması oluşacak hücrelerdeki kromozom sayısının yarıya inmesini sağlar.

Telofaz I:

Kromozomlar kutuplara ulaştığında her bir kutupta haploit kromozom takımı bulunur. Her bir kromozom iki kromatitlidir. Kromozomların çevresinde çekirdek zarı oluşur. İğ iplikleri kaybolur. Sitoplazma bölünmesi telofaz I ile aynı zamanda gerçekleşir. Sitoplazma bölünürken hayvan hücresinde boğumlanma, bitki hücresinde orta lamel oluşumu gözlenir. Sonuçta iki haploit hücre meydana gelir. Mayoz II başlamadan önce mayoz I'de olduğu gibi interfaz evresi görülmez. Dolayısıyla DNA kendini eşlemez. Yalnızca sentrozomların kendisini eşlediği görülür.

Mayoz II

Mayoz I sonunda meydana gelen haploit hücreler, mayoz II'de tekrar bölünür ve haploit kromozomlu 4 hücre meydana gelir. Mayoz II ana hatlarıyla mitoz bölünmeye benzer. Bu aşamada sadece kardeş kromatitler birbirinden ayrılır. Kromozom sayısında değişiklik olmaz.

Profaz II:

Telofaz I'den sonra görülen ve çok kısa süren bir evredir. Bazı organizmalarda telofaz I'den sonra hemen metafaz II evresi başlayabilir. Çekirdek zarı parçalanır. İğ iplikleri, kromatitlerin kinetokorlarına bağlanır.

Metafaz II:

Kromozomlar, hücrenin ekvator düzlemine düzgün bir şekilde dizilir.

Anafaz II:

Kardeş kromatitlerin sentromerleri birbirinden ayrılır. Her bir kromatit hücrenin zıt kutuplarına doğru çekilir.

Telofaz II:

Kromozomlar kutuplara çekilince çekirdek zarı oluşurken bir yandan da sitoplazma bölünmesi gerçekleşir ve hücre ikiye bölünür. Mayoz II sonunda diploit ($2n$) kromozom sayısına sahip bir hücreden haploit (n) kromozomlu dört hücre oluşur. Mayoz II sonunda oluşan bu hücreler gamet ise bölünme yetenekleri yoktur, spor ise bölünerek bir bireyi oluşturabilir.

Eşeyli üremenin temelini oluşturan mayoz, diploit bir hücrenin haploit (monoploit) bir gamet ya da spora dönüşmesiyle sona erer. Kromozom eşlenmesinin ve birbirini izleyen iki bölünmenin sonucunda oluşan haploit hücreler, her bir homolog çiftin bir üyesini alır. Böylece yeni bireylerin genetik çeşitliliğe sahip olması sağlanır

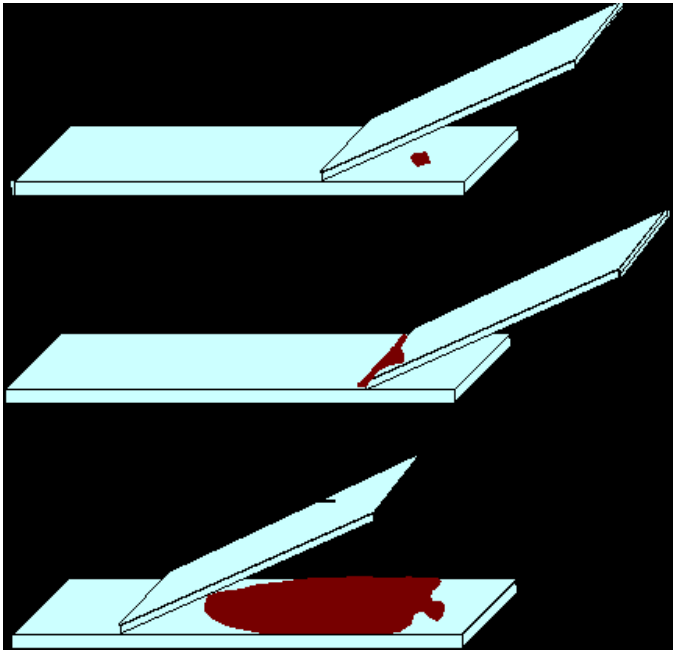
Deney 13-14

Kan Hücrelerinin İncelenmesi

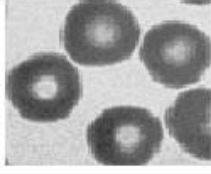
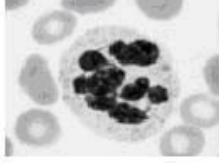
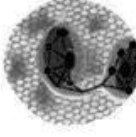
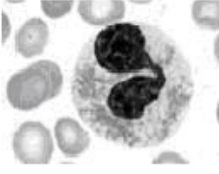
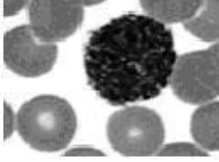
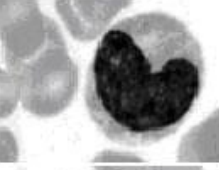
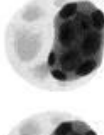
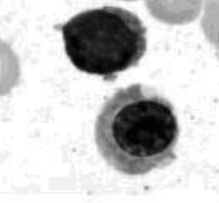
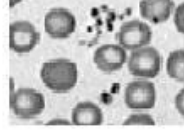
Malzemeler: % 70'lik Alkol, Pamuk, Lanset, %100 lük alkol, Gimsa boyası, Distile Su, Lam, Lamel

Deneyin Yapılışı:

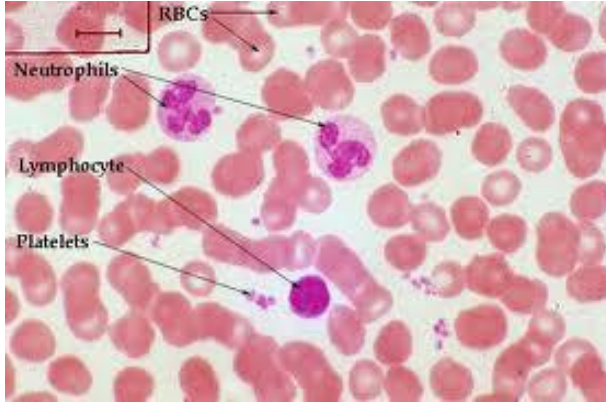
- Lam ve lameli iyice temizleyiniz
- %70 alkollü pamukla orta parmağın 1. boğumunun iç yüzünü siliniz ve baş parmağınızla orta parmağın iç yüzünü 3-4 kez sıvazlayınız.
- Baş parmağın ucuna kuvvetlice bastırarak parmağın orta kısmına lanseti sert bir darbe ile vurunuz.
- 1-2 kan damlasını akıttıktan sonra 3. damlayı temizlenmiş lamın bir ucuna yakın olacak şekilde damlatınız.
- Bu kan damlasını lamelle ince bir şerit halinde lamın üzerine yayınız. 2-3 dk kurumaya bırakınız.
- Lamın üzerine % 100 lük alkol dökerek fikse ediniz. Preparatı 2-3 dk kurumaya bırakınız.
- Preperatın üzerine Gimsa boyası dökerek 15-20 dk boyama yapınız.
- Preparatı distile su ile yavaşça yıkayarak boyayı gideriniz.
- Preparatı kurutup, mikroskopta tüm kan hücrelerini tek tek bulunana kadar incelemeye devam edilir.



Şekil 1: Preparasyon şekli.

	Kan Hücresi Tipi	Mikroskopik Görünüm
Kırmızı Kan Hücreleri (eritrositler)	 Eritrosit	
Beyaz Kan Hücreleri (lökositler)	 Granüllü Lökositler	
	 Eozinofil	
	 Bazofil	
	 Granülsüz Lokositler	
	 Lenfosit	
	 Trombositler	

Sekil 2: Kan hücrelerinin Morfolojileri



Şekil 3: Kan hücreleri Işık Mikroskobu Görüntüsü

Kan Hücreleri



Monosit



Lenfosit



Nötrofil



Eozinofil



Bazofil



Makrofaj



Eritrosit



Kanpalcukları

Şekil 4: Kan hücrelerinin Morfolojik Farklılıkları

Kaynaklar

<https://www.microscopyu.com/galleries>

<https://www.kan.gen.tr/kan-grubu-tayini.html>

<http://www.biyologlar.com/mikroskop-tipleri-patolojide-kullanım- Alanları>

<http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFFA AF6AA849816B2EF50E54D47BA0F0A73>

<https://tr.khanacademy.org/science/biology/cellular-molecular-biology/intro-to-cell-division>

http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Mikroskopik%20Say%C4%B1m.pdf

Koparal T.A., Anadolu Üniversitesi Sitoloji Labratuvar Föyü