Қ. И. Сәтбаев атындағы
Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті

Лекция 10.

ның негізгі зертханалық әдістері

BIO4291 МИКРООРГАНИЗМДЕР БИОТЕХНОЛОГИЯСЫ

Лектор: PhD Қамшыбаева Г.Қ.

Оқыту нәтижелері

- - микроорганизмдермен жұмыс істеу, күту және зерттеуде қолданылатын алты түрлі процедуралардың процестері мен мақсаттарын қысқаша сипаттаңыз.
- - оптикалық микроскоптың негізгі жоспарын құрыңыз және үлкейту мен ажыратымдылықты ажыратыңыз
- - негізгі зертханалық процедураларды сипаттау;
- - микроскоппен жұмыс жасаудың детальдары мен микроскоппен жұмыс істеудің негізгі ережелері;
- - бактериологиялық ілмекпен, бактериологиялық пробиркамен, спирт шамымен жұмыс істеу техникасын білу;
- - жағындыны дайындау, бекіту, бояу техникасын сипаттау;
- - микроорганизмдердің дақтарын дайындауды білу.
- - мысалдар келтіре отырып, теріс және оң бояуды ажырату.
- - қарапайым, дифференциалды және құрылымдық дақтарды, оның ішінде олардың қолданылуын ажырату.
- - зертханада микробтарды өсіру үшін орталардың маңыздылығын түсіндіру.

Зертханалық қауіпсіздік ережелері

1. Зертханада ақ халат киіңіз.
2. Зертханада тамақ ішуге және ішуге болмайды.
3. Зертхана алдында және одан кейін қолыңызды сабынмен жақсылап жуыңыз.
4. Зертханалық орындықты зертханаға дейін және кейін дезинфекциялау құралымен тазалаңыз.
5. Зертхана аймағынан дақылдарды алмаңыз





Зертханалық талаптар

- Ақ халат
- Сіріңке
- Сабын
- Маркер
- Орамал
- Тығыз пластикалық пакет
- Резеңке
- Жалпы бойынша нұсқаулық





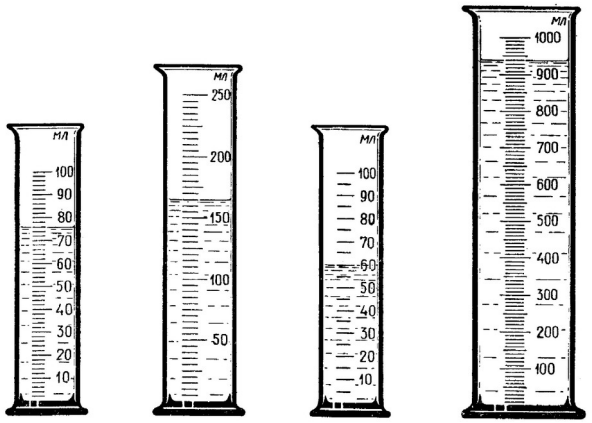




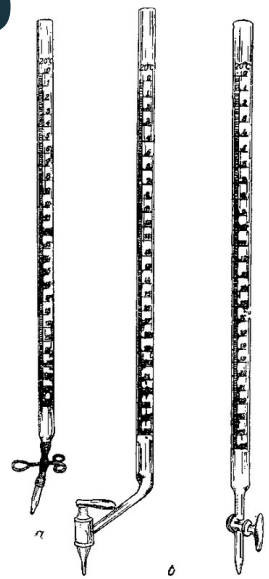

Зертханалық ыдыстар



Өлшеу пипеткалары



Өлшеу цилиндрлер



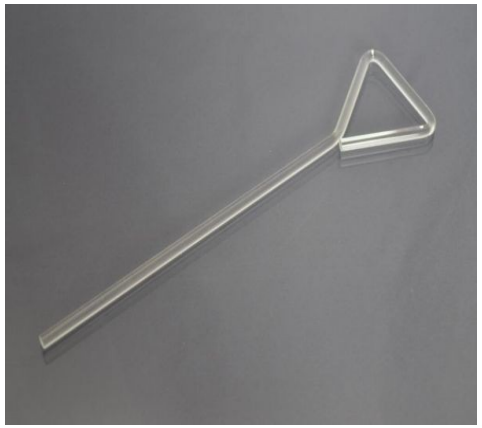
Бюреттер



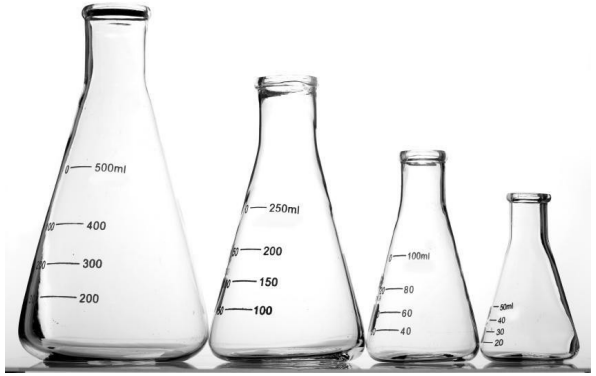
Химиялық стакан



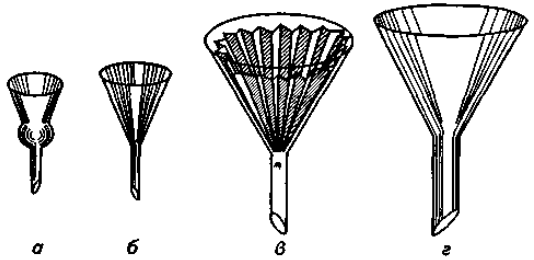
Петри ыдыстары



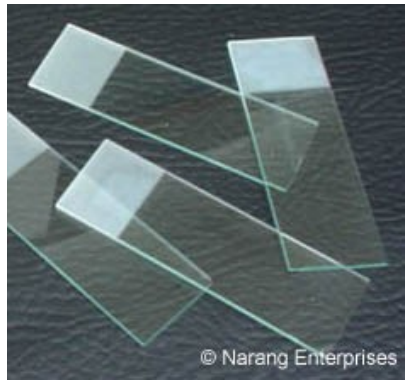
Дригальский шыны қалақшасы



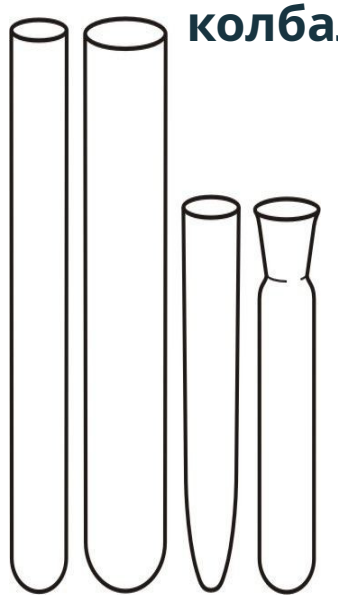
Конус тәрізді колбалар



Шұңқырлар



Микроскоп



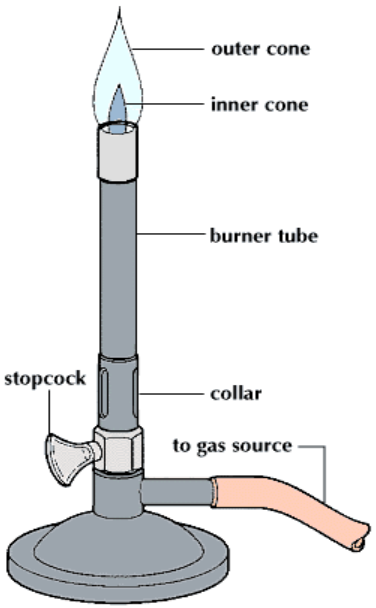
Пробиркалар



Пинцет



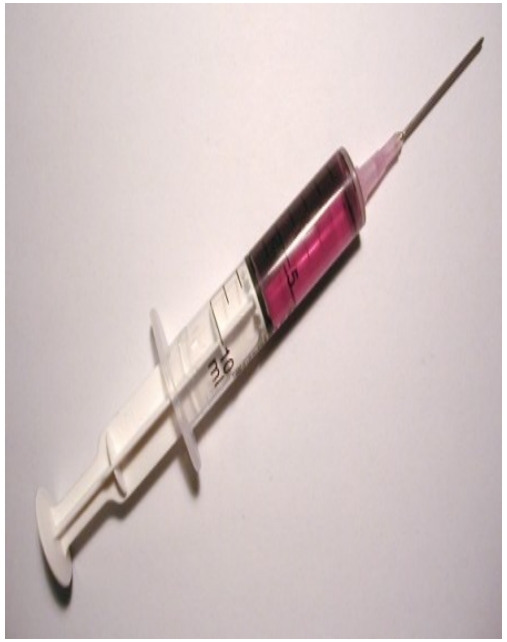
спиртовка



Бунзен оттығы



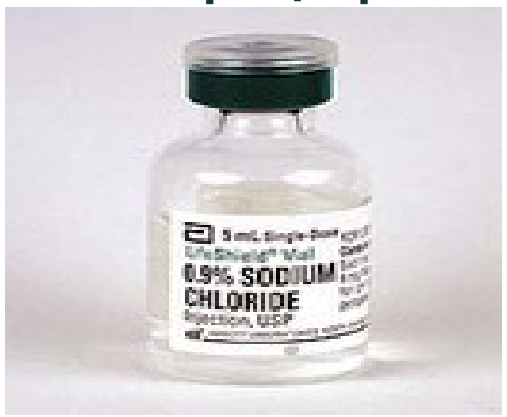
Стерильді шыныаяқтар



Шприцтер



Бояу ерітінділері



Ерітінді



Автоклав

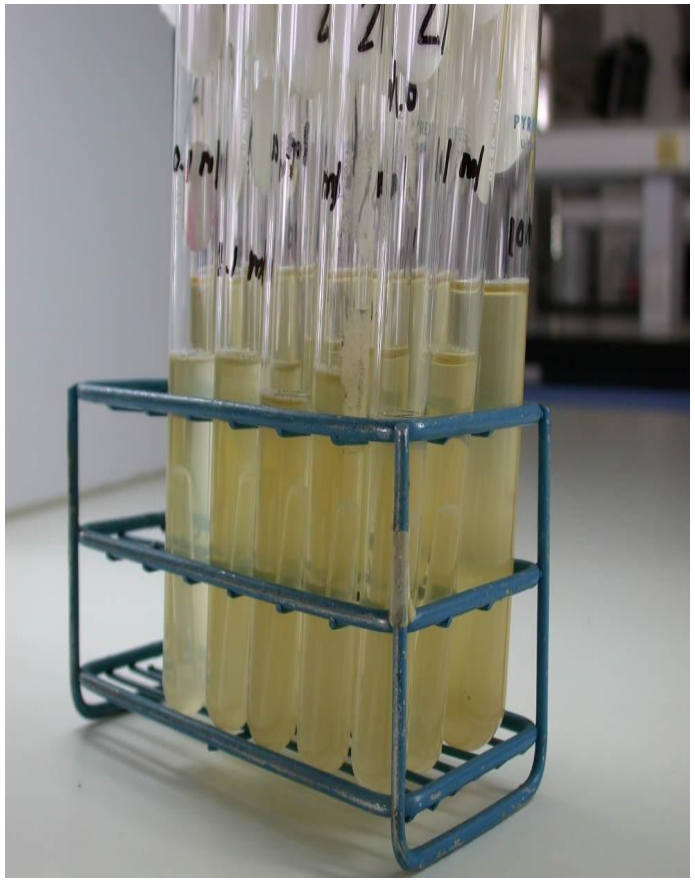


Инкубатор

Acquaint yourself with microbiology lab



ламинарлы шкаф



Түтіктердегі сұйық орта



Түтіктердегі қатты орта



Термостат - тұрақты температура сақталатын құрылғы. Көптеген микроорганизмдердің көбеюі үшін оңтайлы температура 37 ° С. Термостаттар құрғақ ауа мен су болып табылады. Микроорганизмдерді өсіру үшін қолданылады.



Кептіру шкафы (пастер пеші) зертханалық шыны ыдыстарды және басқа материалдарды зарарсыздандыруға арналған.



әдістеріне шолу процедуралардың алты түрі

Техника	Процесс қатысады	Мақсаты мен нәтижесі
Егу	Үлгіні өсу үшін қоректік заттармен қамтамасыз ететін ортаның контейнеріне салу және өсірудің бірінші кезеңі	Көрінуді жоғарылату үшін; жасанды ортада микробтарды өңдеуге және басқаруға және үлгіде не болуы мүмкін екенін талдауға мүмкіндік береді
Инкубация	Өсірілген ортаны оңтайлы өсу жағдайына шығару, әдетте бірнеше сағаттан бірнеше күнге дейін	Көбейтуді ынталандыру Микробтар санының көбеюі одан әрі сынау үшін қажетті жоғары мөлшерді қамтамасыз етеді.
Оқшаулау	Бір -бірінен макроскопиялық түрде ажыратуға болатын жеке микробтарды бөлу және оқшауланған колонияларға жету әдістері *	Бір колониядан олардың таза болуын қамтамасыз ету үшін қосымша дақылдарды жасау; яғни одан әрі бақылау мен тестілеу үшін микробтардың бір ғана түрінен тұрады

әдістеріне шолу процедуралардың алты түрі

Техника	Процесс қатысады	Мақсаты мен нәтижесі
Тексеру	макроскопиялық және жасушалардың пайда болуын микроскопиялық түрде бақылау	Үлгілердегі микробтардың бастапқы сипаттамаларын талдау. Жасушаның дақтары жасушаның түрі мен морфологиясы туралы ақпаратты ашуы мүмкін.
Ақпарат жинау	Биохимиялық және ферменттік сипаттамаларды, иммунологиялық реакцияларды, дәрілік заттарға сезімталдықты және генетикалық құрылымды талдайтын процедураларды қолдана отырып, дақылдарды тестілеу.	Нақты деректерді беру және микробтардың жалпы профилін құру. Бұл сынақ нәтижелері мен сипаттамалар соңғы санаттағы, сәйкестендірудегі негізгі анықтауыштарға айналады.
Сәйкестендіру	Түпнұсқадағы микробтардың түрлерін түпкілікті анықтауға көмектесу үшін жиналған деректерді талдау; бұл әр түрлі схемалар арқылы жүзеге асады	Бұл осы микробтардың табиғаты мен рөлін одан әрі зерттеу үшін негіз жасайды; ол сонымен қатар инфекцияны диагностикалауда, тамақ қауіпсіздігінде, биотехнологияда және микробтық экологияда көптеген қосымшаларды ұсына алады.

Мақсат

Микроорганизмдерді зертханада өсіру

Ағзалар табиғатта болған кезде лабораторияда неліктен өсіріледі?

- Зерттеулер үшін үлкен мөлшер қажет
- Қызығушылық тудыруы үшін
- Рекомбинантты ақуыз экспрессиясы
- Өнеркәсіптік қосымшалар

- Микроорганизмді зертханада өсіру үшін ... оларға **тамақ беріңіз**!
- Қоректік заттар:

  1) Макронутриенттер (C, H, O, N, P, S, K +, Ca2 +)

  2) Микроэлементтер (Zn2+, Mn2+)

Тамақтан басқа, бактериялардың көбеюі үшін басқа заттар қажет

- Температура
- pH

Микроорганизмдерді өсіруді бастамас бұрын:
Қандай тамақтану мен қандай жағдай қажет екенін біліңіз

Бактерияларды өсіру туралы жалпы хаттама

- Тасымалдаушы «пластиналарды» құю
- Медиа табақшалардағы бактериялардың көбейюі
- Табақтан «колонияны» «таңдау».
- Сұйық мәдениетті «егу»

Барлығын стерильді жағдайда жасау керек !!

Стерильді жағдайлар - неге?

- Бактериялық үлгіңіздің қоршаған орта микроорганизмдерінен ластануын болдырмау үшін
- Патогендік микроорганизмдермен жұмыс істегенде өте маңызды

Стерильді жағдайлар - қалай?

1) Тасымалдағышты автоклавтаңыз (121 ° C және 20 psi дейін қыздырыңыз)



Стерильді жағдайлар - қалай?

2) Этанол шашылған ламинарлы сорғышта стерильді петри табақтарын, тамшуыр ұштарын, пластикалық түтіктерді қолданың



Стерильді жағдайлар - қалай?

3)

- Әрқашан қолғап киіңіз

- Бактериялық дақылдармен жұмыс істегенде тамақ ішпеңіз / басқа заттарды ұстамаңыз / ұялы телефондарыңызға қарамаңыз

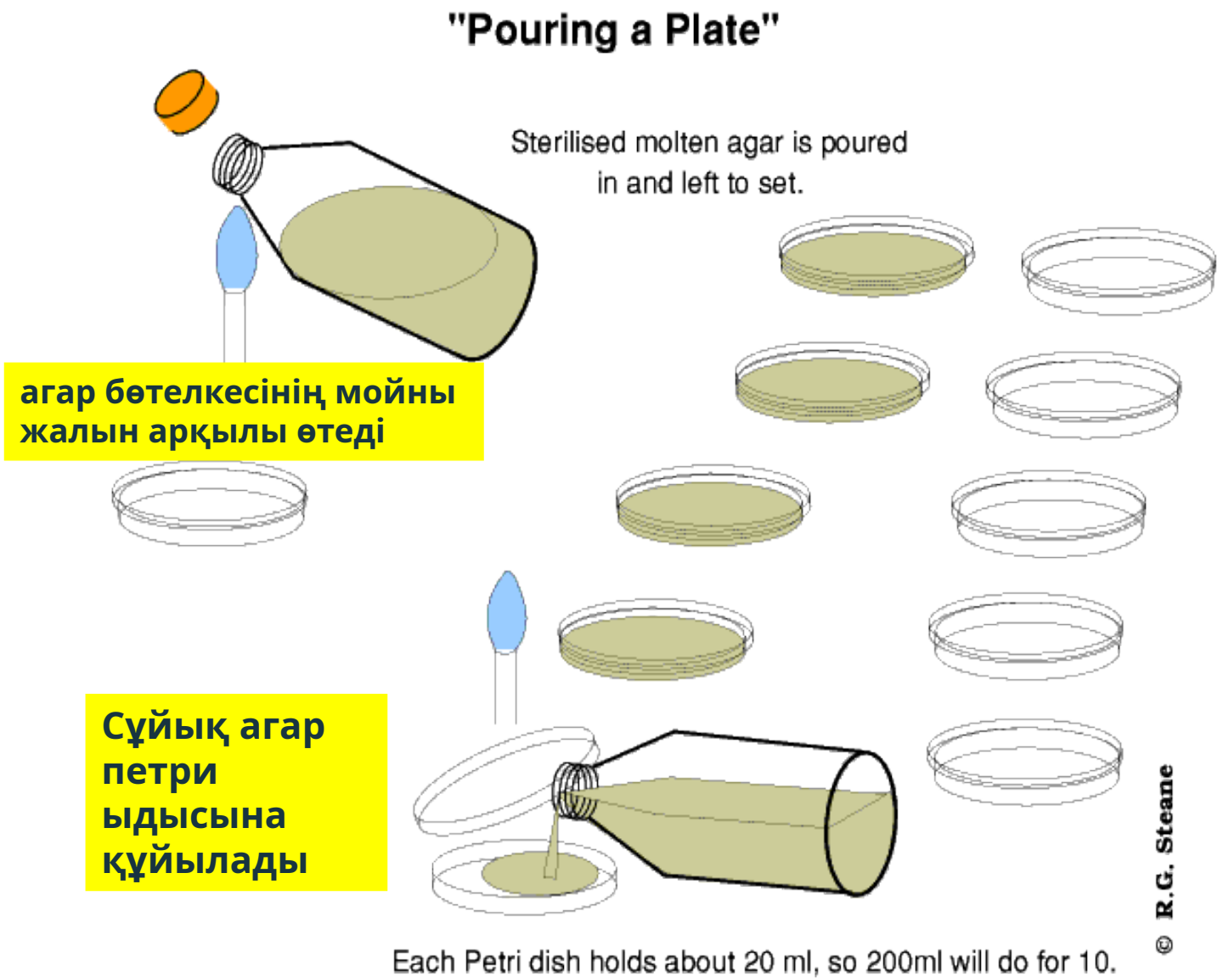
Бактерияларды өсіру туралы жалпы хаттама

- **«Пластиналарды» құю - асептикалық әдіс**
- Медиа табақшалардағы бактериялар
- Табақтан «колонияны» «таңдау».
- Сұйық мәдениетті «егу»

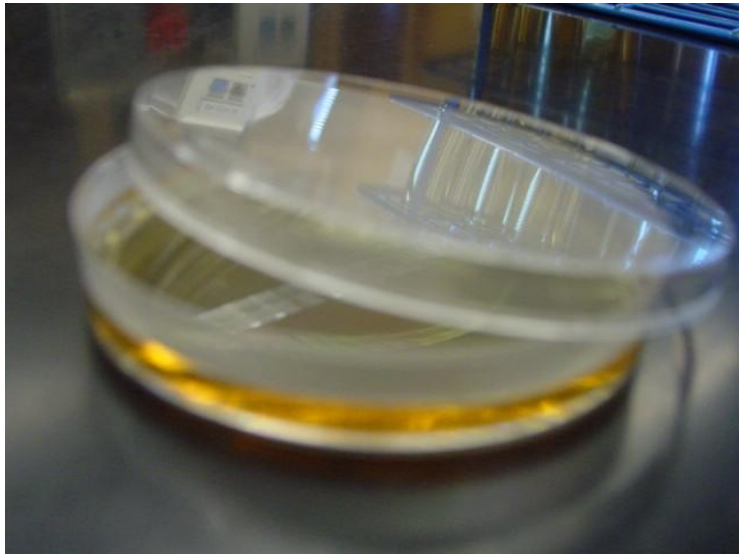
Пластиналарды құю

- Петри табақшаларына автоклавты қоректік орталар (қоректік заттар + агар) құйылады. Агар - салқындаған кезде қататын з

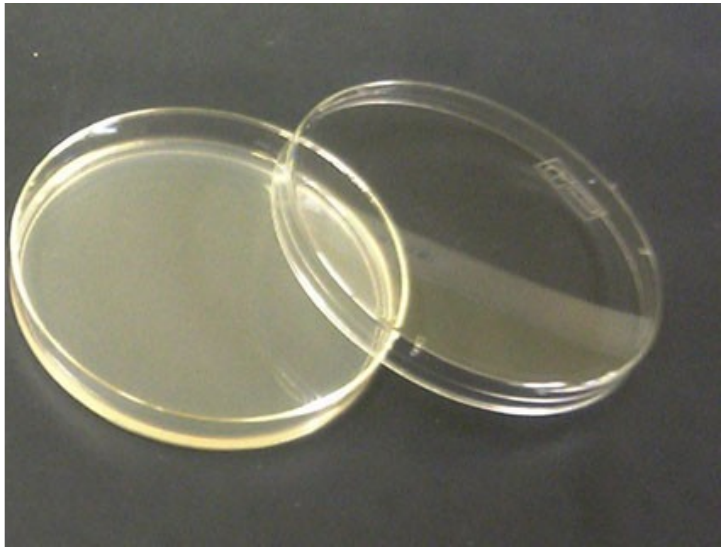



"Pouring a Plate"
Sterilised molten agar is poured in and left to set.
агар бөтелкесінің мойны жалын арқылы өтеді
Сұйық агар петри ыдысына құйылады
Each Petri dish holds about 20 ml, so 200ml will do for 10.
© R.G. Steane

Агарды құю



Жаңа құйылған



Салқындағаннан кейін

LB (Lysogeny Broth / Luria Bertani) Агар

1) Агар
2) триптон
3) Ашытқы сығындысы
4) NaCl

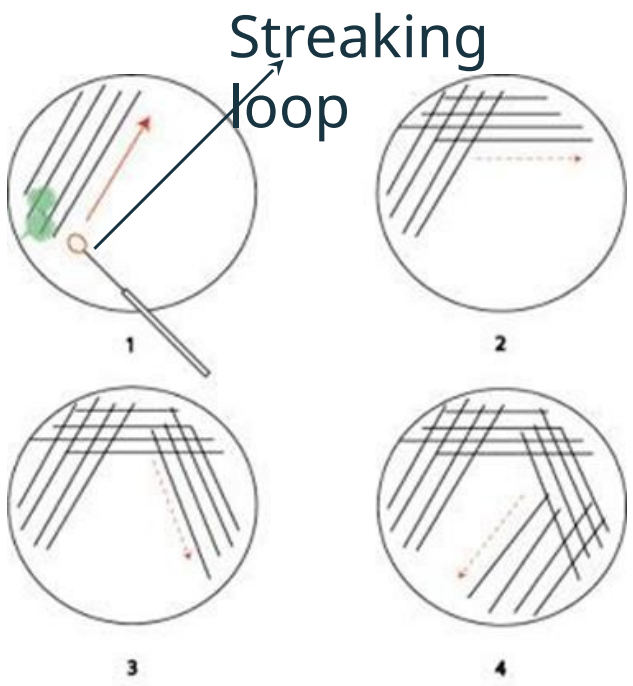
MacConkey Agar (грамтеріс бактерияларды көбейтуге арналған селективті орта)

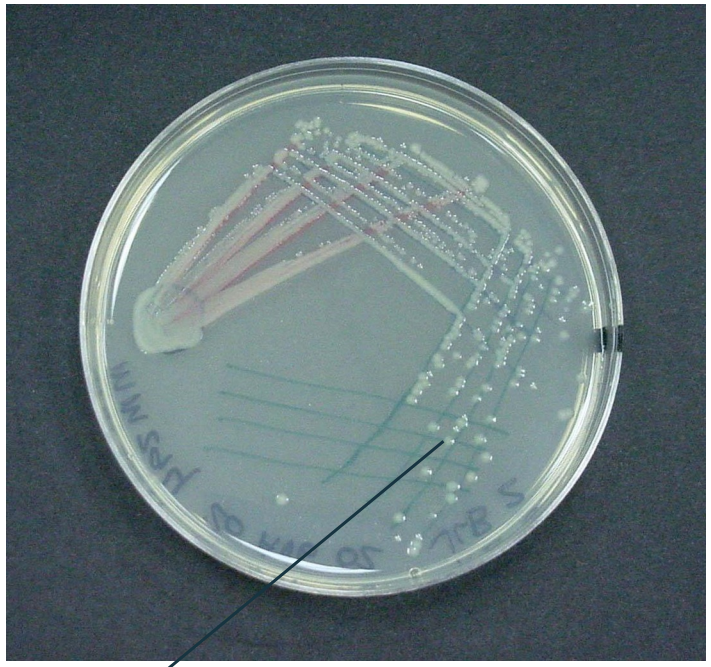
1) агар
2) Желатиннің, казеиннің және жануар ұлпасының ферментативті қорытылуы
3) NaCl
4) Өт тұздары мен кристалды күлгін: грам оң микроорганизмдерді тежеу үшін.
5) Бейтарап Қызыл: pH индикаторы (pH 6,8 төмен қызыл түспен)
6) лактоза

Лактозаны пайдаланатын бактериялар: Қызғылт колониялар
Лактозаны пайдаланбайтын бактериялар: ақ

Бактерияларды өсіру туралы жалпы хаттама

- Тасымалдаушы «пластиналарды» құю
- Медиа табақшалардағы бактериялар
- Табақтан «колонияны» «таңдау».
- Сұйық мәдениетті «егу»





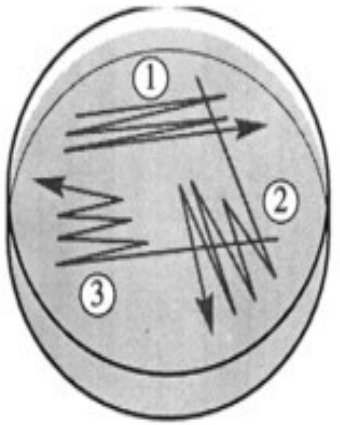
Колониялар (әртүрлі өлшемдер, пішіндер, түстер)

Бактериологиялық әдіс

Таяқшаны Қыздыру



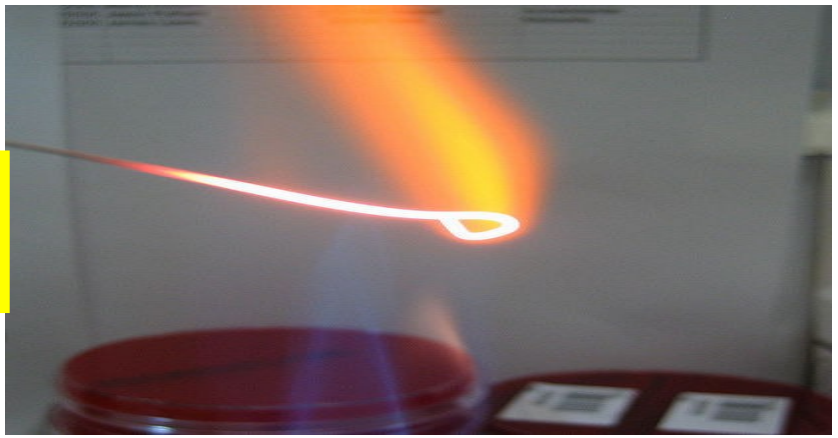
10 секундқа салқындатыңыз



Streaking with inoculation loop



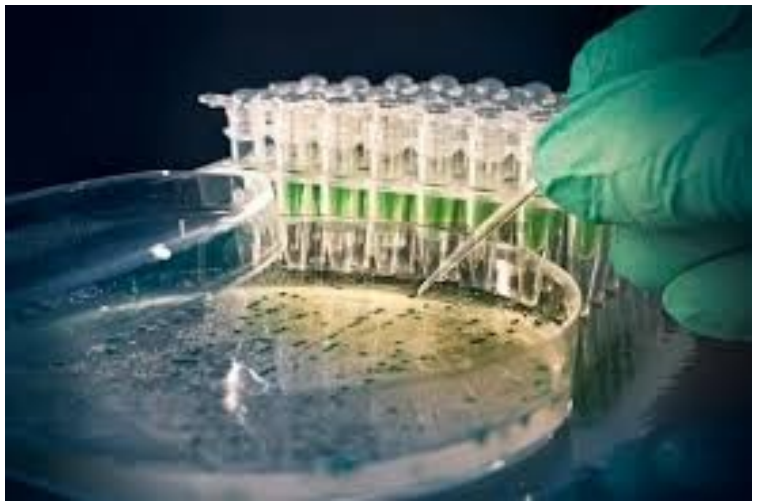
Growth on plate



Бактерияларды өсіру туралы жалпы хаттама

- Тасымалдаушы «пластиналарды» құю
- Медиа табақшалардағы бактериялар
- Табақтан «колонияны» «таңдау».
- Сұйық мәдениетті «егу»

Колонияны таңдау және сұйық дақылға егу



Таңдалған колонияны салыңыз бактериялар сұйық ортада өседі

Колония жинау

Бактерияларды өсіру туралы жалпы хаттама

- Тасымалдаушы «пластиналарды» құю
- Медиа табақшалардағы бактериялар
- Табақтан «колонияны» «таңдау».
- Сұйық мәдениетті «егу»

Микроскоп

- Микроскоптың екі негізгі сипаттамасы: ұлғайту, * объектілерді үлкейтетін етіп көрсету қабілеті және ажырату қабілеті, бөлшектерді көрсету мүмкіндігі.

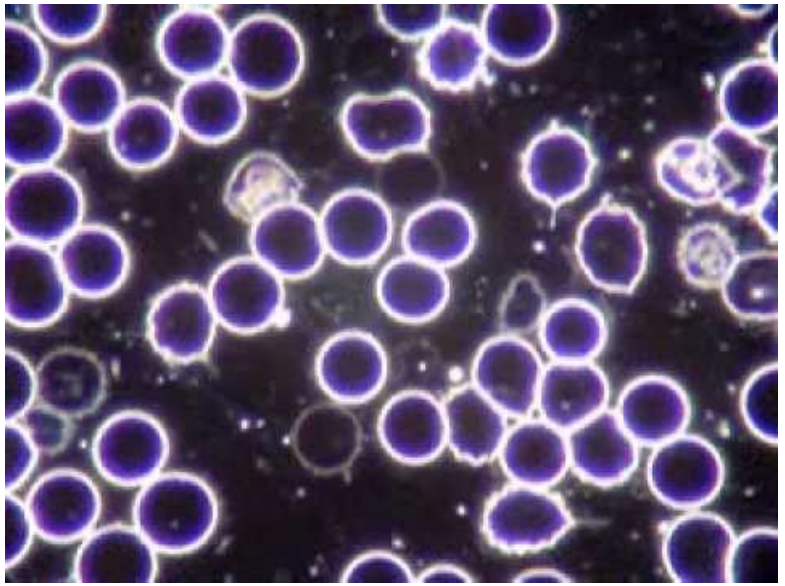
Оптикалық микроскоптардың салыстырмалы суреттері

Жарық өрісті микроскоп



Тірі, боялмаған үлгілерді бақылау үшін ең жақсы; үлгі ашық, өріс қара; кішірейтілген ішкі жасушалық бөлшектері бар үлгі контурын қамтамасыз етеді.

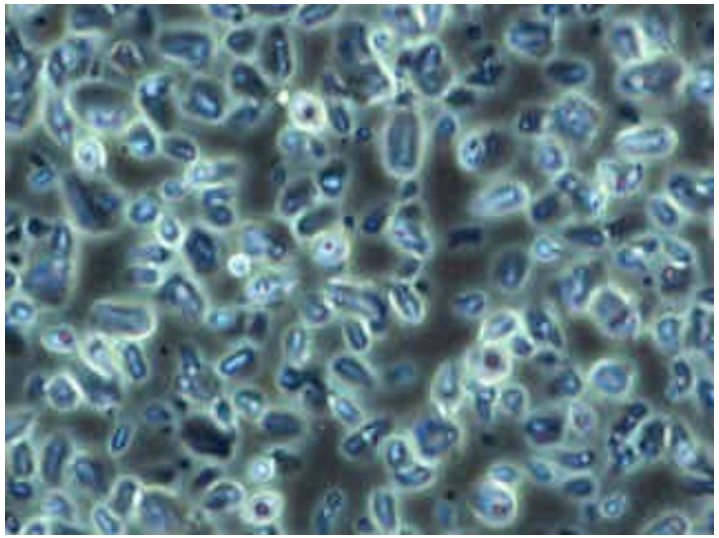
Тірі және консервіленген боялған үлгілерге арналған жалпы көп мақсатты микроскоп; үлгі қараңғы, өріс ақ;

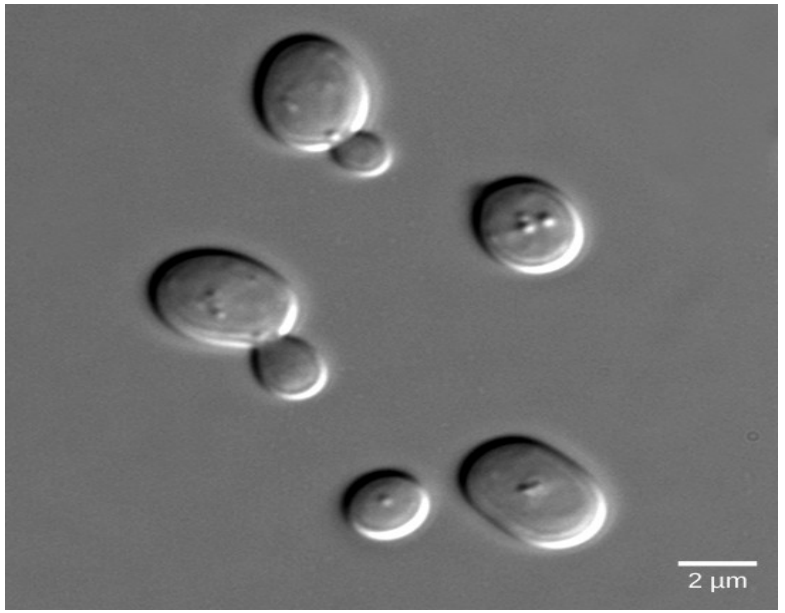


Қараңғы далалық микроскоп

Фазалық-контрастты микроскоп

тірі үлгілердің үш өлшемді суреттерін ұсынады.



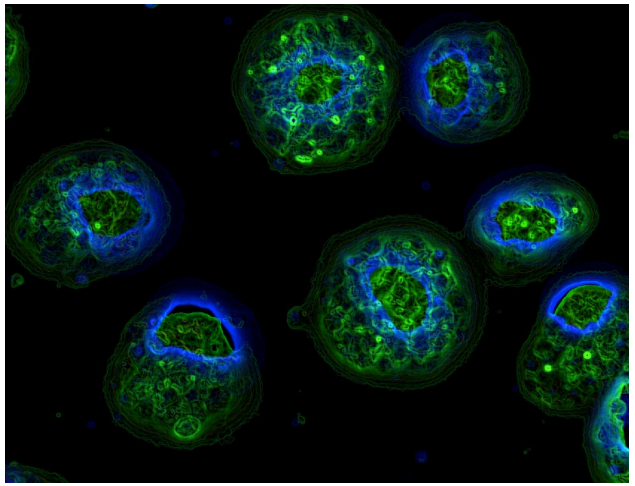


Тірі үлгілер үшін пайдаланылады; үлгі сұр фонға қарсы; ішкі ұялы детальдар көрінеді

Дифференциалды интерференциялық контрастты микроскоп

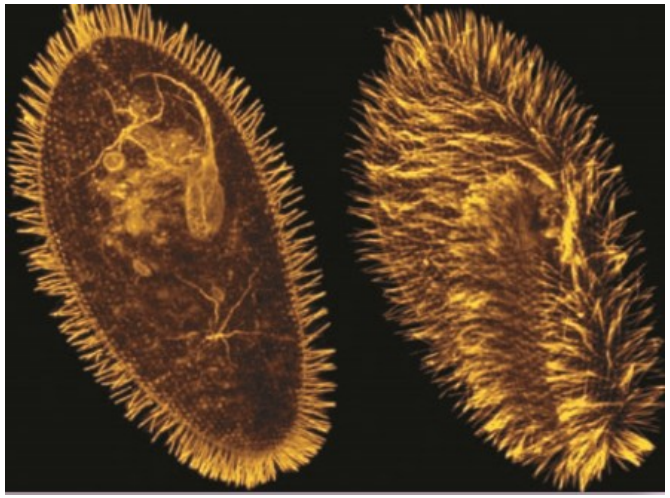
Арнайы функциялары бар оптикалық микроскоптардың модификациясы

Флуоресцентті микроскоп



Үлгіні жарықтандыру үшін ультракүлгін сәуле қолданылады.

Конфокальды микроскоп



Конфокальды микроскоптар көрінетін немесе ультракүлгін сәулелерді пайдалана алады.

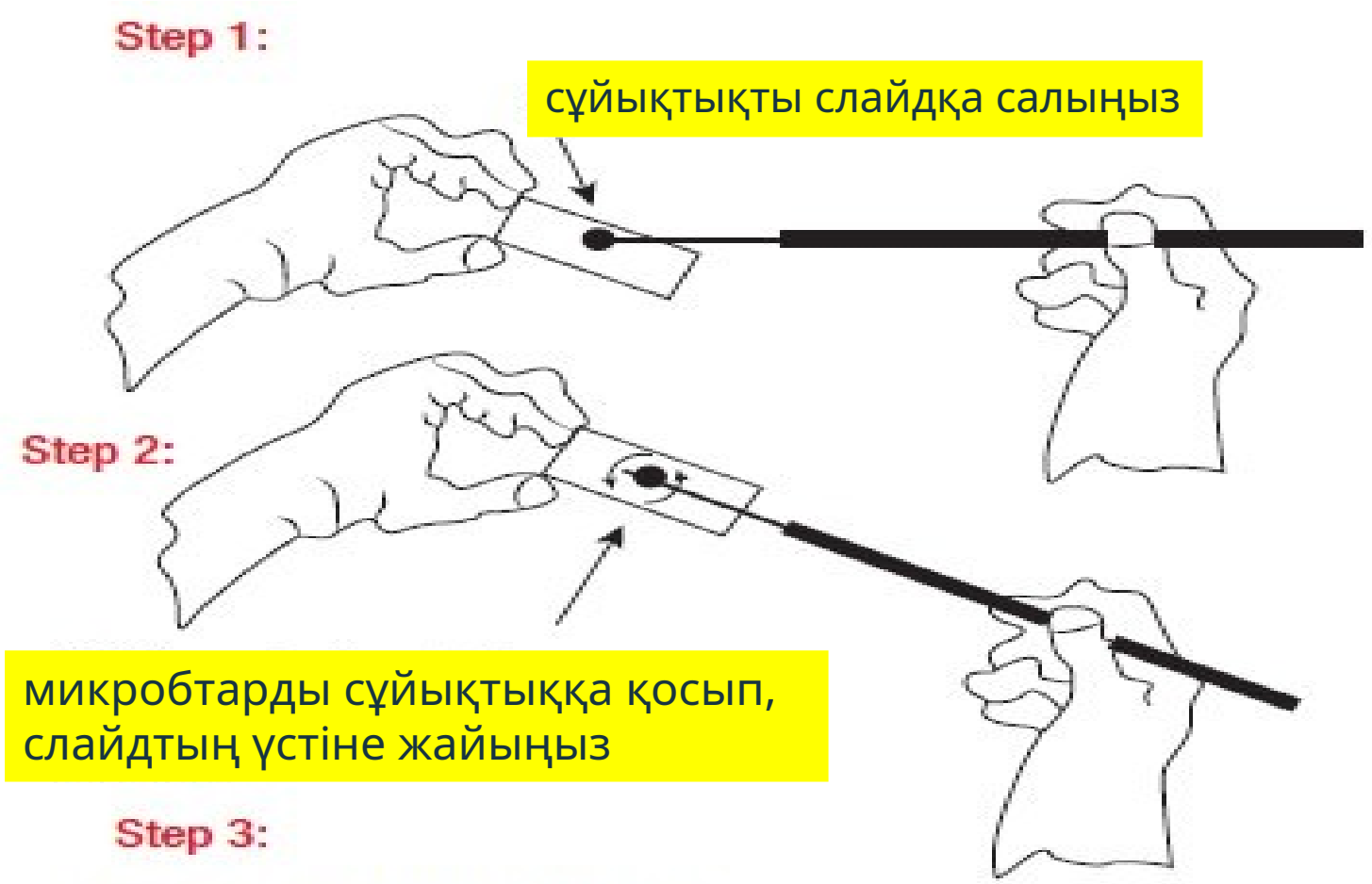
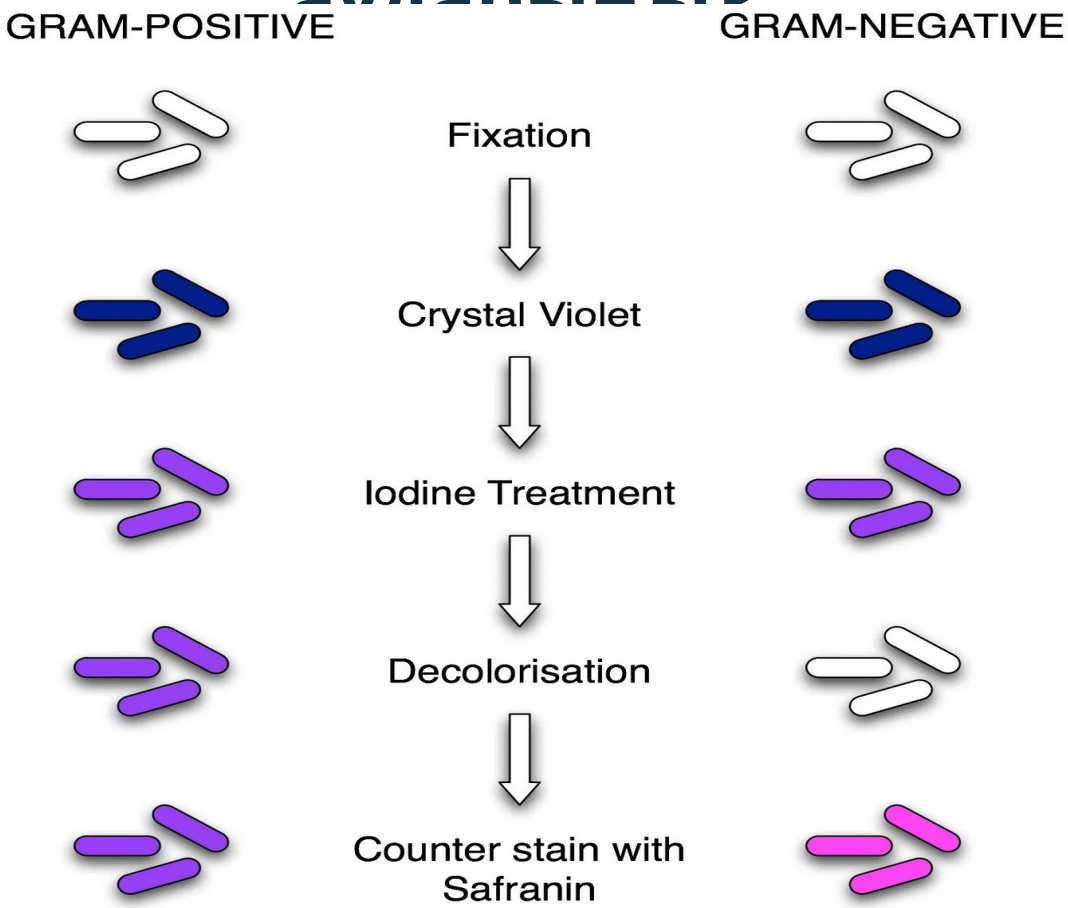
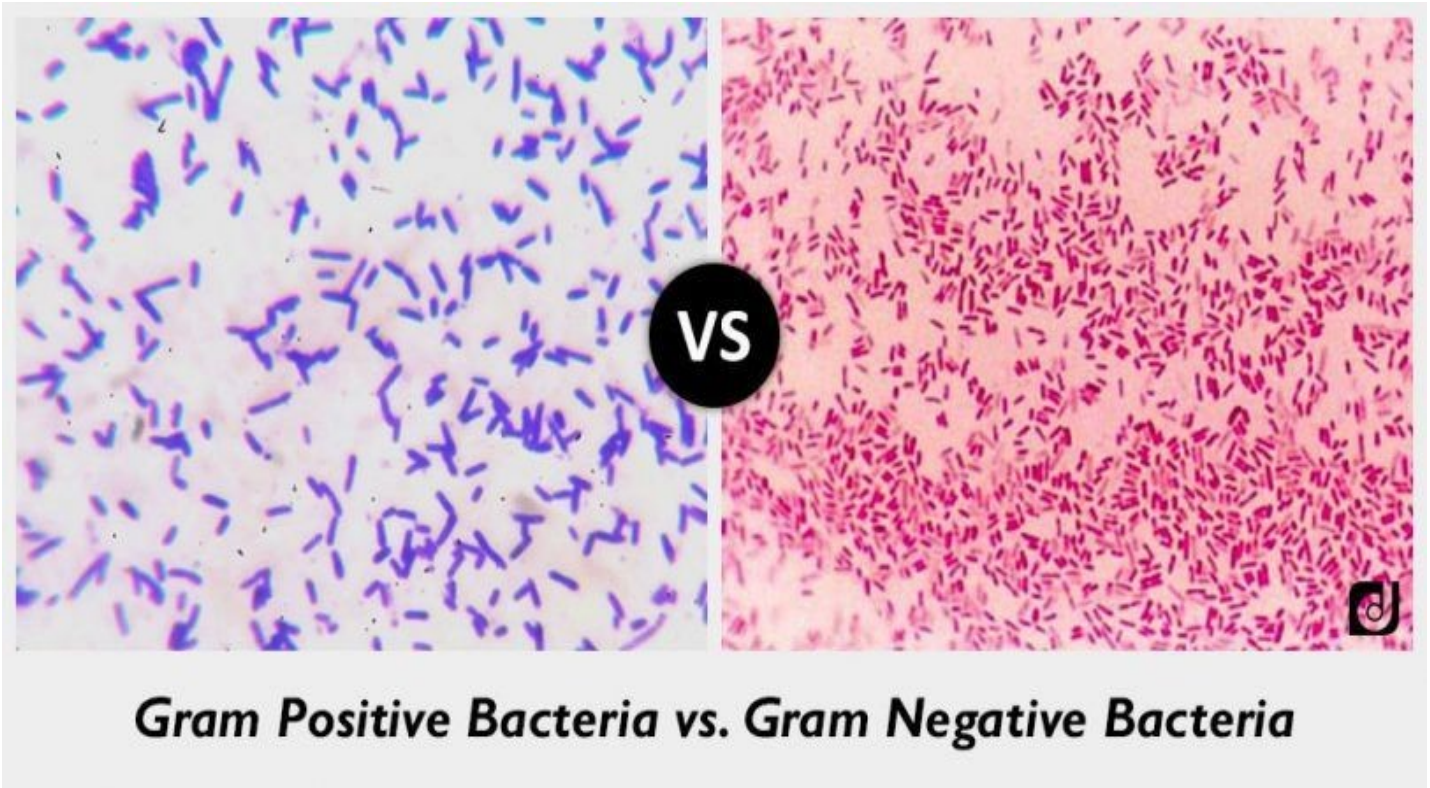


Figure 3.4: жағынды дайындау

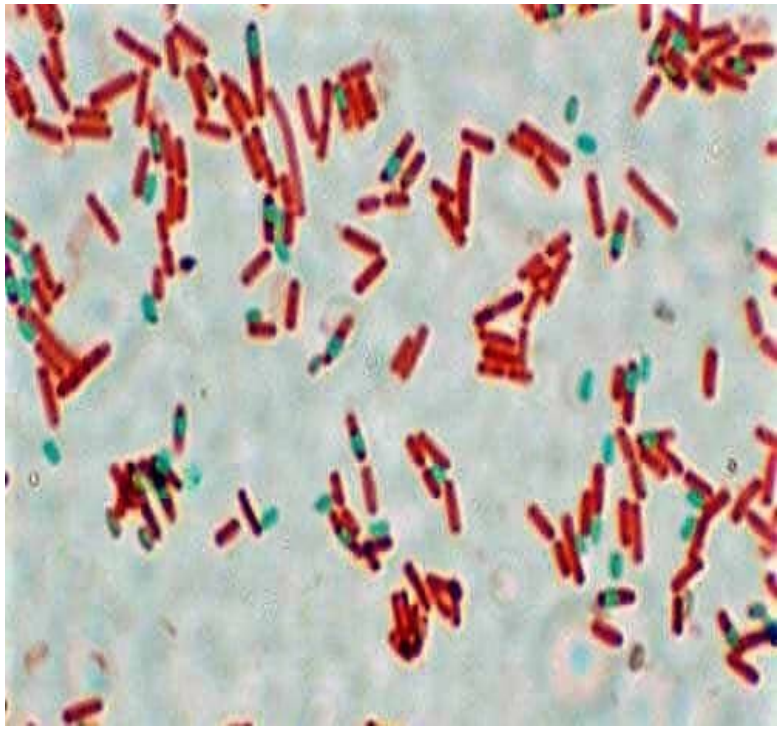
Граммен бояу процедурасы; әр қадамнан кейін түс өзгеруіне назар аударыңыз





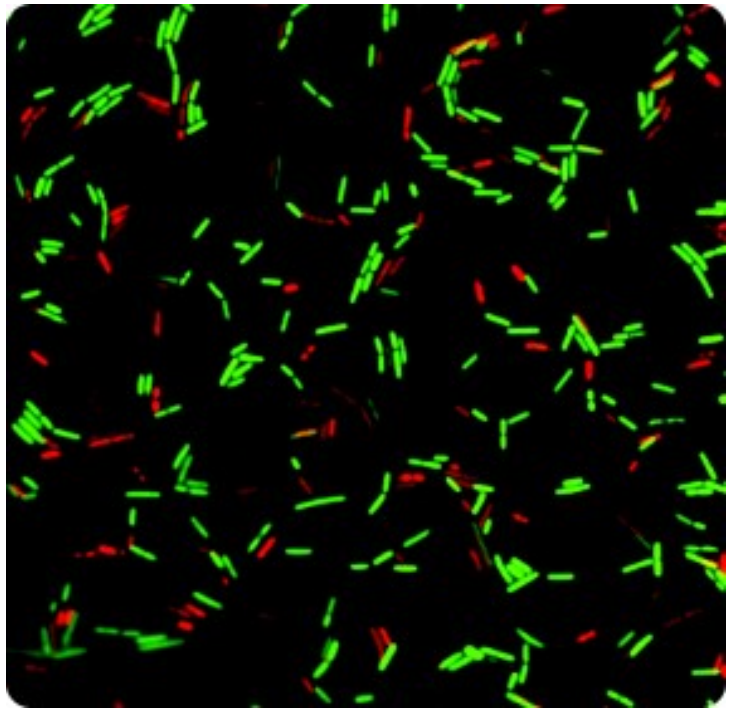
Gram Positive Bacteria vs. Gram Negative Bacteria

Дифференциалды дақтар Жасуша түрлерін ажырату үшін екі бояғышты қолданыңыз



Споралар (жасыл) және вегетативті жасушаларды (қызыл) көрсететін споралы дақ

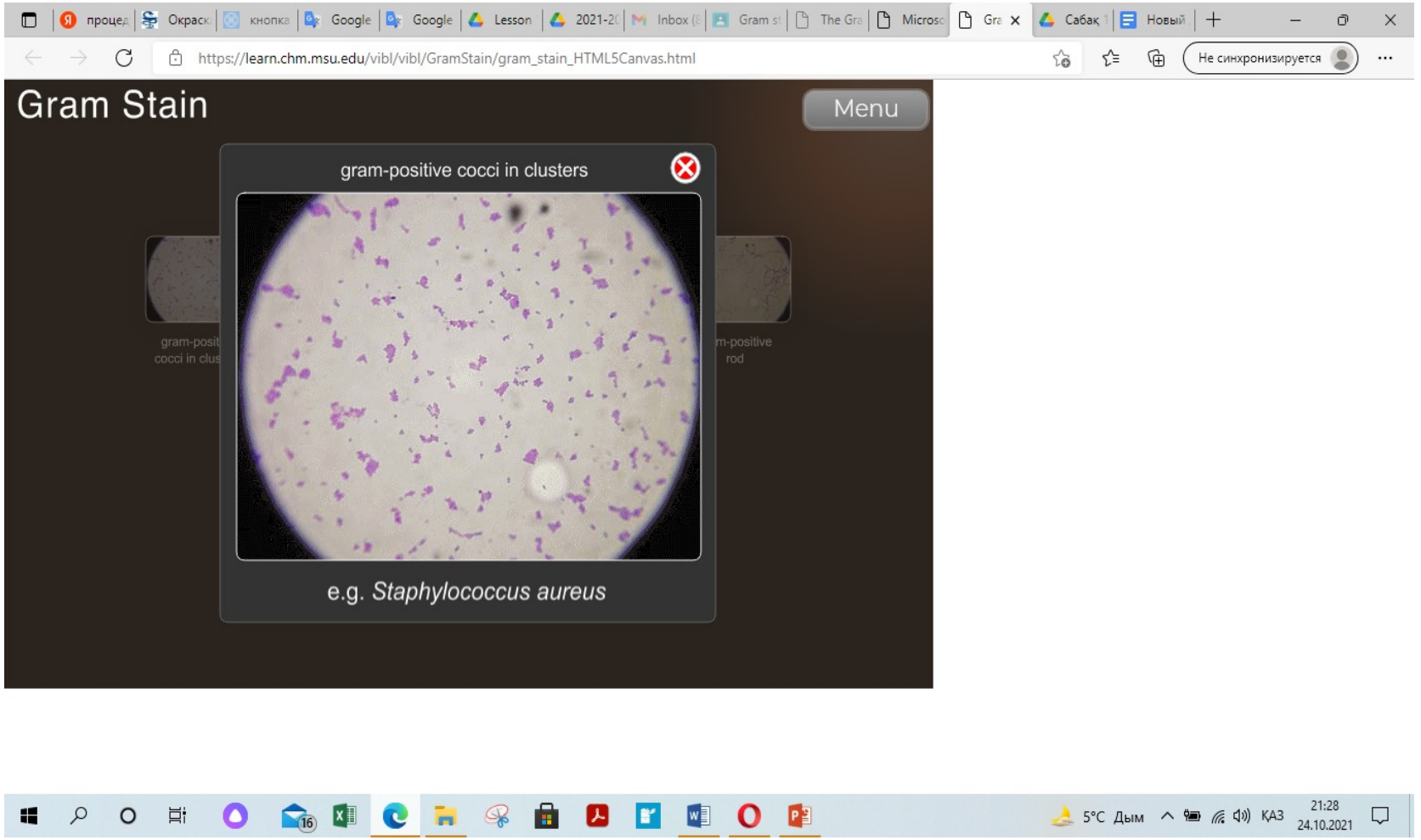
Құрылымдық дақтар Жасуша бөлшектерін жақсарту үшін қолданылатын арнайы дақтар



Бактериялық хромосоманың (жасыл) және жасуша мембранасының (қызыл) флуоресцентті дақтары

Video

- https://slideplayer.com/slide/6318772/


https://learn.chm.msu.edu/vibl/vibl/GramStain/gram_stain_HTML5Canvas.html
Не синхронизируется
Gram Stain
Menu
gram-positive cocci in clusters
e.g. Staphylococcus aureus
5°C Дым
ҚАЗ
21:28
24.10.2021


Gram Stain
Menu
gram-positive cocci in chains
e.g. Streptococcus pyogenes
https://learn.chm.msu.edu/vibl/vibl/GramStain/gram_stain_HTML5Canvas.html
Не синхронизируется


https://learn.chm.msu.edu/vibl/vibl/GramStain/gram_stain_HTML5Canvas.html
Не синхронизируется
Gram Stain
Examine Examples
Menu
1000x magnification
5°C Дым
ҚАЗ
21:27
24.10.2021