

Заняття № 10.

Тема: Бактеріофаги. Генетика мікроорганізмів.

Мета – ознайомитися із методами титрування ага та полімеразно-ланцюгової реакції.

Питання для підготовки

1. Особливості генетичного апарату прокаріот
2. Природа бактеріофагів та їх застосування у медичній мікробіології
3. Форми мінливості бактерій
4. Мутації та рекомбінації у бактерій
5. Плазміди
6. Роль знань про генетику мікроорганізмів у медичній мікробіології
7. Прийоми генетичних методів діагностики інфекційних захворювань
8. Генна інженерія та її значення

ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

Робота 1. Вивчення реакцій наростання титру бактеріофагу.

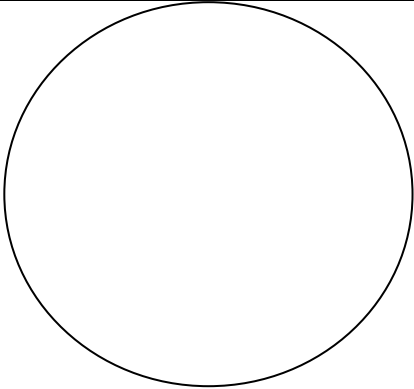
Розглянути демонстраційні чашки з реакціями наростання титру бактеріофагу. Охарактеризувати особливості реакції, чим вони спричинені:

Робота 2. Титрування бактеріофага методом агарових шарів.

Проведення титрування бактеріофага отриманого зі стерильного фільтрату фаголізатів бактерій роду *Staphylococcus* методами Горація, Фюрта, Фішера, Отто.

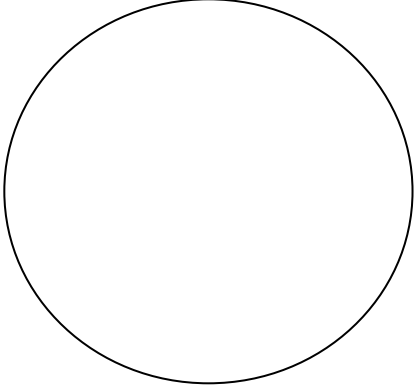
Для точного визначення активності фагових часток у 1 мл препарату використовують метод титрування фагу за Горація. Для цього до 0.5 мл культури *Staphylococcus*, вирощеної на бульйоні додають 1 мл препарату бактеріофагу (у розведенні 10^{-4}) та перемішують. Інкубацію проводять протягом 5 хв. Після цього до цієї суміші додають 0.5 мл розплавленого агару (0.7 %). Після перемішування виливають до чашки Петрі з попередньо залитого першого шару із бактеріями. Після застигання чашку ставлять до термостату на 8 годин.

Після культивування підраховують кількість «негативних» колоній. Визначену кількість колоній надалі необхідно помножити на розведення. За прикладом: 1 мл розчину з фагом у розведенні 10^{-4} спричиняє виникнення 7 негативних колоній, тоді титр фага вважається $7 \cdot 10^{-4}$ фагів. Отриманий результат зарисуйте та зробіть відповідний підсумок.

	Висновок:
---	-----------

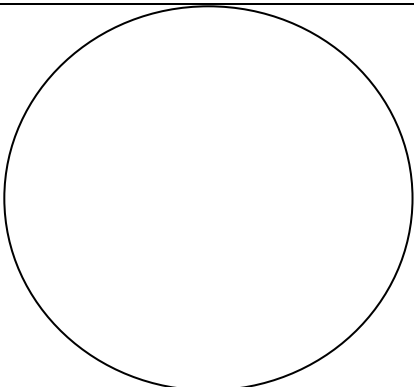
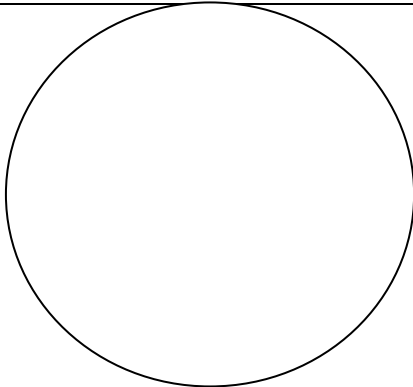
Робота 3. Титрування бактеріофага методом Фішера.

Попередньо, дно чашки Петрі розкреслити на рівні квадрати. Після цього, чашка заливається МПА та проводиться посів культури роду *Staphylococcus* методом газону. По завершенню 10 хв після посіву до відповідних квадратів вносять одну краплю зависі досліджуваного бактеріофагу. Отриманий результат зарисуйте та зробіть відповідний підсумок.

	Висновок:
---	-----------

Робота 4. Дослідження трансдукції.

До лактозо-негативної культури, об'ємом 1 мл (вирощеної у бульйоні) додати 1 мл помірного фагу *E. Coli* (попередньо отриманого після УФ-опромінення лактозо-позитивної культури). Отруману суміш культивувати протягом 40 хв та посіяти до чашки Петрі із середовищем Ендо. Паралельно зробити контрольний посів лактозо-позитивної культури. Отриманий результат зарисуйте та зробіть відповідний підсумок.

	
---	--

Висновок: _____

Робота 5. Знайомство із принципами методу полімеразно-ланцюгової реакції.

Використовуючи літературні джерела, схематично зарисуйте етапи проведення ПЛР-аналізу для виявлення збудника певної інфекції (на прикладі *Mycobacterium tuberculosis*).

Зазначте переваги та недоліки цього методу дослідження та запишіть свою думку у вигляді висновку.

Висновки: _____

Підпис чергового _____

Підпис викладача _____