دانشگاه اصفهان
دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، آزمایشگاه میکروبیولوژی

آزمایشگاه میکروب شناسی صنعتی (بیوتکنولوژی میکروبی)

الف) تهیه کشت پنی سیلیوم کرایزوژنوم بر روی محیط کشت PDA(کشت خالص)

ب) تولید آنتی بیوتیک پنی سیلین

ج) تست و بررسی آنتی بیوتیک تولید شده

دکتر سهیلا عباسی

زمینه نظری

الکساندر فلمینگ در سال ۱۹۲۹ به طور اتفاقی **پنی سیلین** را کشف کرد. این آنتی بیوتیک ارزشمند که قدیمی ترین آنتی بیوتیک محسوب می شود توسط قارچ **پنی سیلیوم کرایزوژنوم** و تعدادی از مخمر ها تولید می شود.

در طبقه بندی آنتی بیوتیک ها از نظر مکانیسم عمل جزء آنتی بیوتیک های تخریب کننده دیوار سلولی باکتری ها محسوب می شود و از نظر شیمیایی یک ترکیب پپتیدی می باشد که از چند اسید آمینه حلقوی تشکیل شده است. یکی از حلقه ها بتالاکتام نام گذاری شده و به همین دلیل به این آنتی بیوتیک ها بتالاکام گفته می شود.

در میکروب شناسی صنعتی و در فرایند های تخمیری-صنعتی سوش های اصلاح شده پنی سیلیوم کرایزوژنوم مورد استفاده قرار می گیرند که سوش های موتان یافته و یا مهندسی ژنتیکی شده در حال حاضر ۸۰ هزار میکروگرم پنی سیلین در هر میلی لیتر تولید می کنند که نسبت به سوش فلمینگ (۱۰-۱ میکروگرم بر میلی لیتر) از نظر واقعی تولد پنی سیلین بسیار متفاوت است.

آزمایش «الف»

❖ تهیه کشت پنی سیلیوم کرایزوژنوم بر روی محیط کشت PDA(کشت خالص)

مواد و وسایل لازم :

۱-کشت یاسوسپانسیون پنی سیلیوم کرایزوژنوم

۲-محیط کشت PDA

۳-لوپ(فیلد و پلاتین)

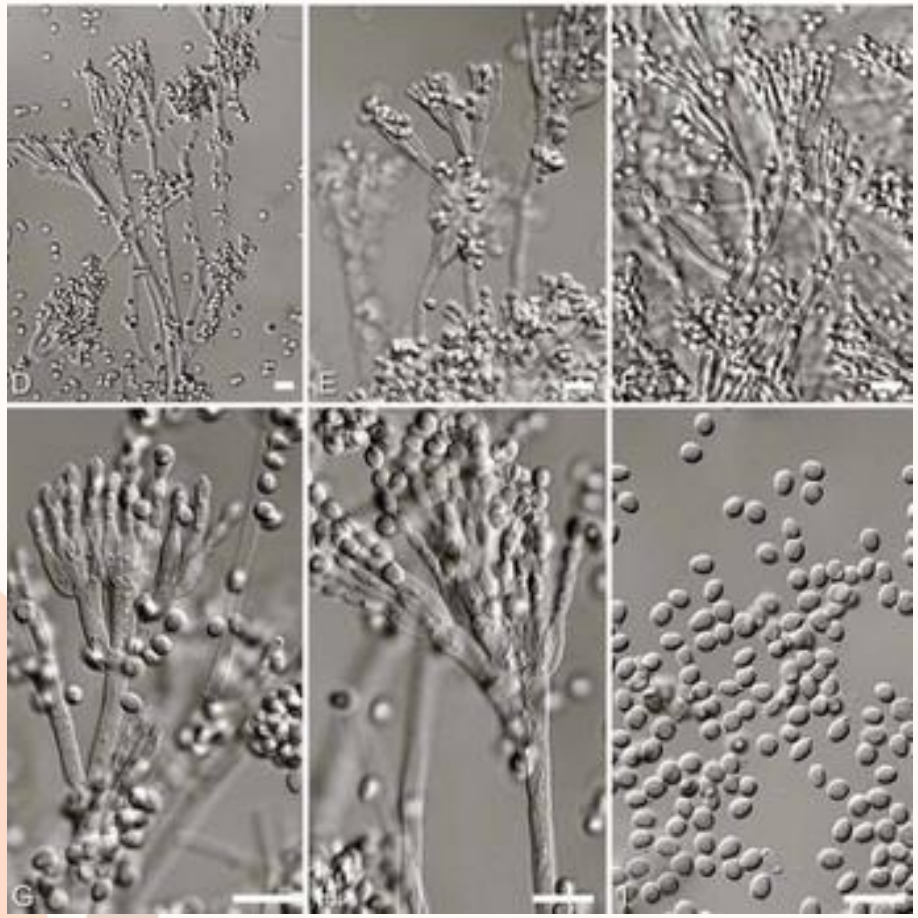
روش کار آزمایش «الف»

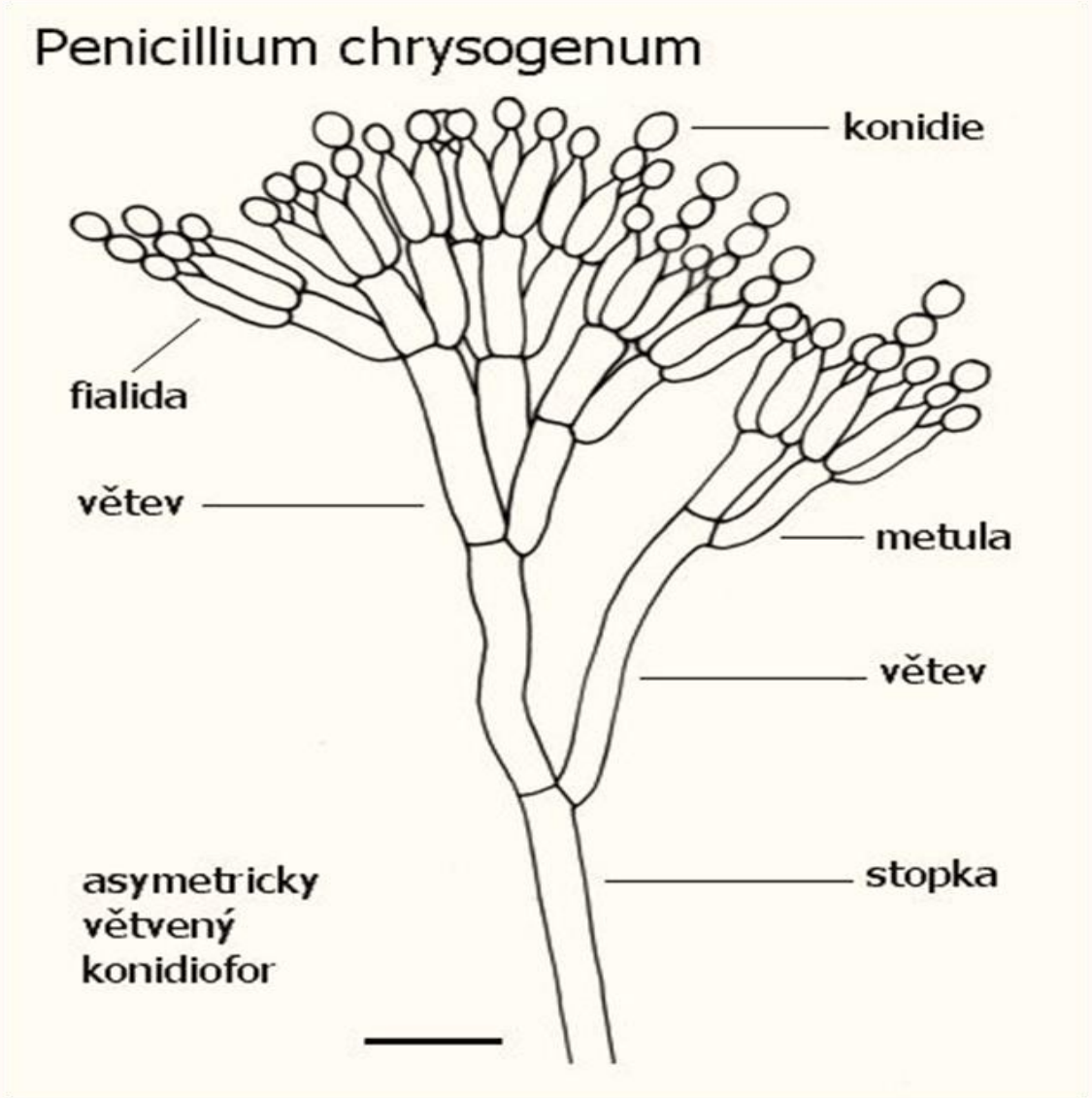
۱- ضمن مشاهده و مطالعه کلنی های پنی سیلیوم کرایزوژنوم با استفاده از لوپ استریل خنک شده مقداری از کلنی های آن را به دقت برداشت نموده و روی محیط کشتPDA تلقیح کنید و یا از سوسپانسیون اسپور های پنی سیلیوم کرایسوژنوم استفاده کنید و آن را روی PAD تلقیح کنید.

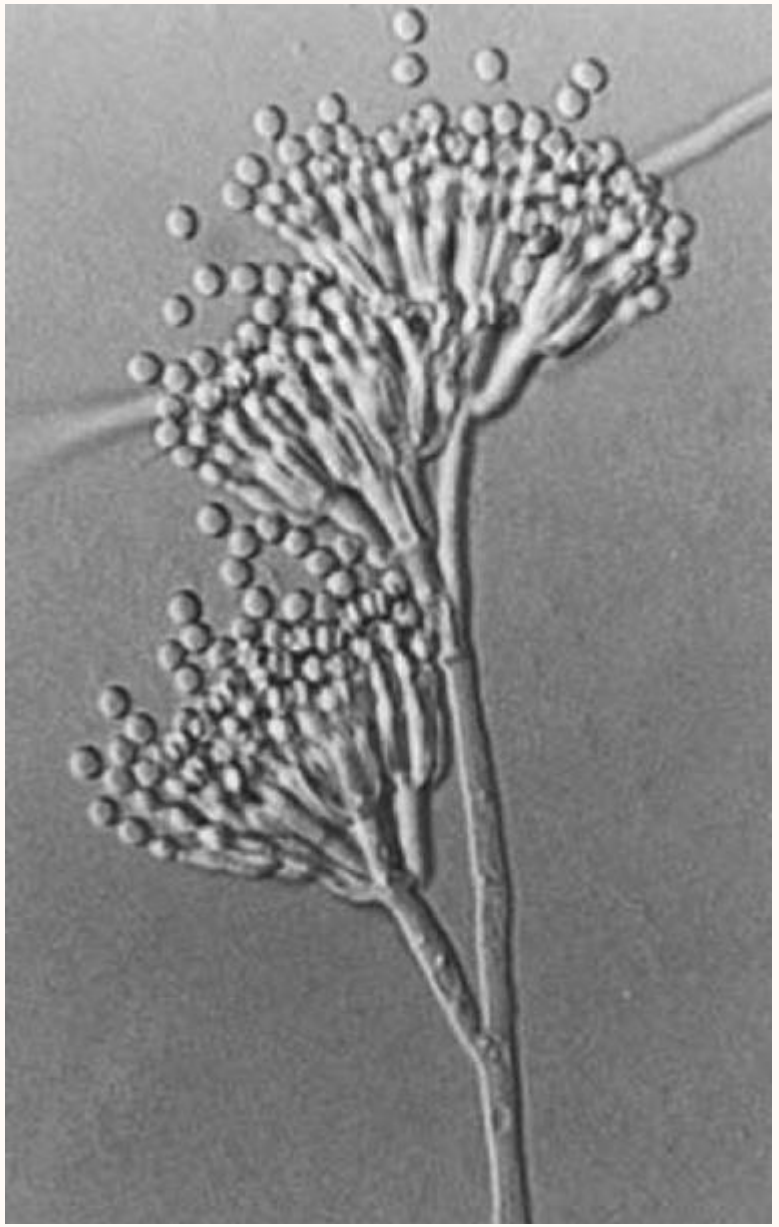
۲- پلیت تلقیح شده را به مدت یک هفته در درجه حرارت ۲۵ °C قرار دهید.

۳- پس از مدت اتوگذاری از کلنی های ایجاد شده آزمایش بعدی(تولید آنتی بیوتیک) را انجام دهید.

پنی سیلیوم کرایزوژنوم




Penicillium chrysogenum
konidie
fialida
větev
metula
větev
stopka
asymetricky
větvený
konidiofor



آزمایش «ب»

❖ تولید آنتی بیوتیک پنی سیلین

مواد و وسایل لازم برای آزمایش :

۱- کشت خالص پنی سیلیوم کرایزوژونوم

۲- محیط کشت لاکتوز برات یک غلظتی دو غلظتی و یک غلظتی حاوی ۵ درصد گلوکز

۳- دستگاه شیکر

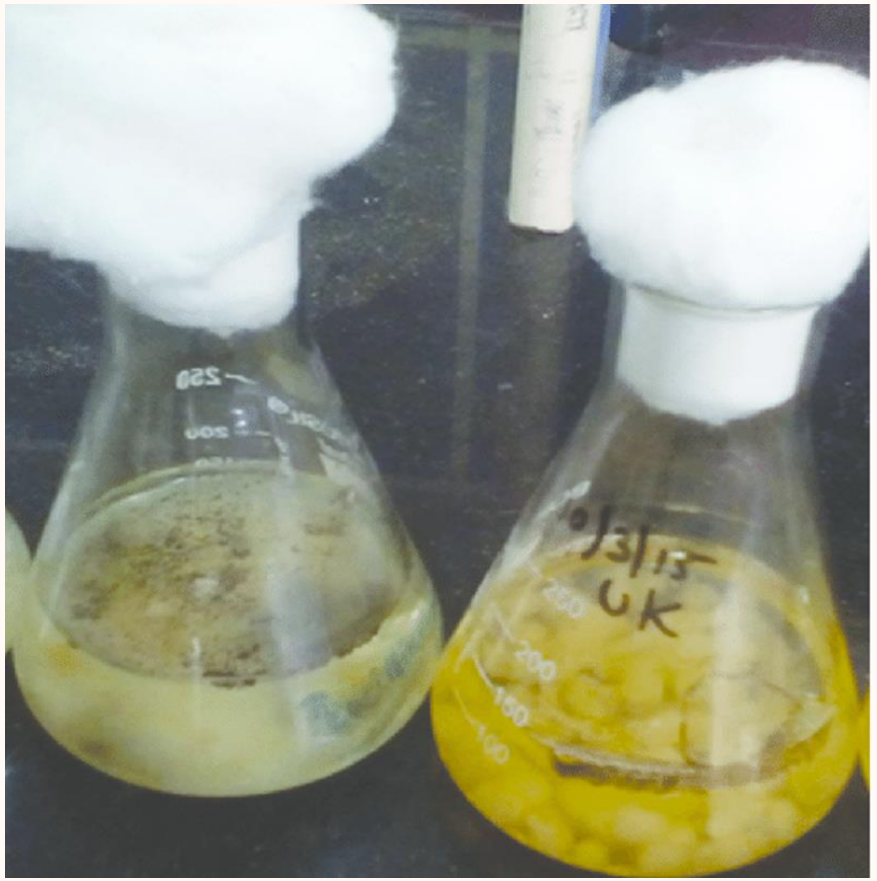
روش کار آزمایش «ب»

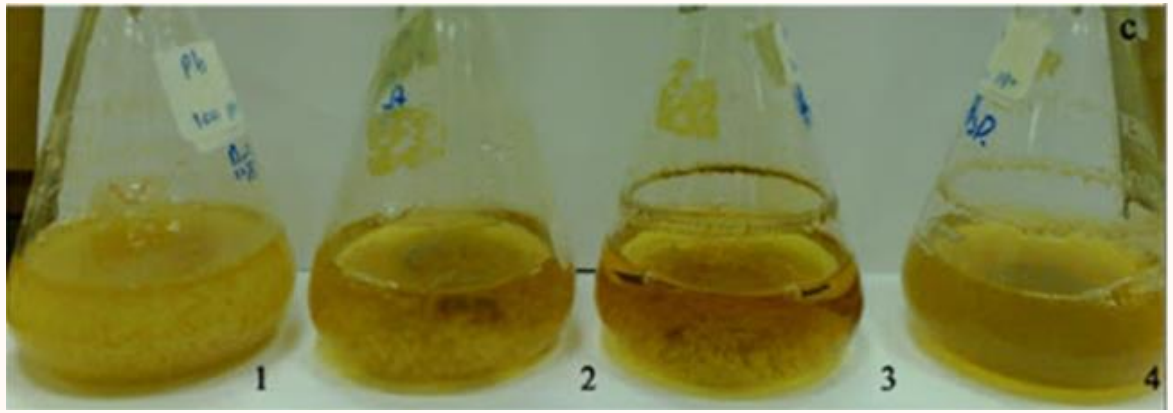
۱- با استفاده از لوپ استریل خنک شده مقداری از کلنی های قارچ پنیسیلیوم را به محیط کشت های لاکتوز براث اضافه کنید.

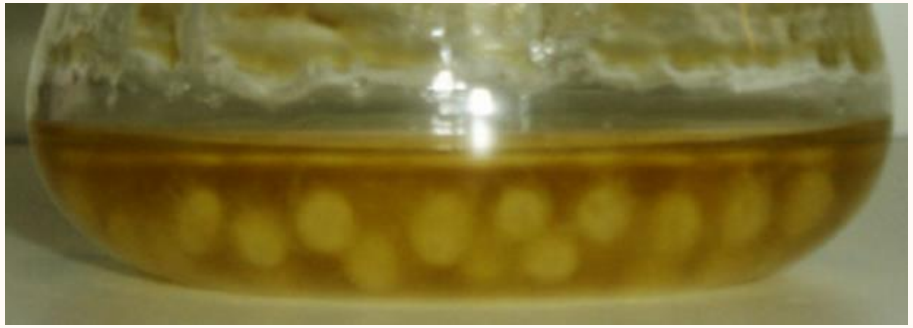
۲- سپس محیط کشت های تلقیح شده را روی شیکر قرار دهید (به مدت یک هفته) و دستگاه را روشن کنید. و در طول هفته دو دفعه مراحل رشد و خصوصیات کلنی های قارچ پنی سیلیوم را مشاهده و یادداشت نمائید.

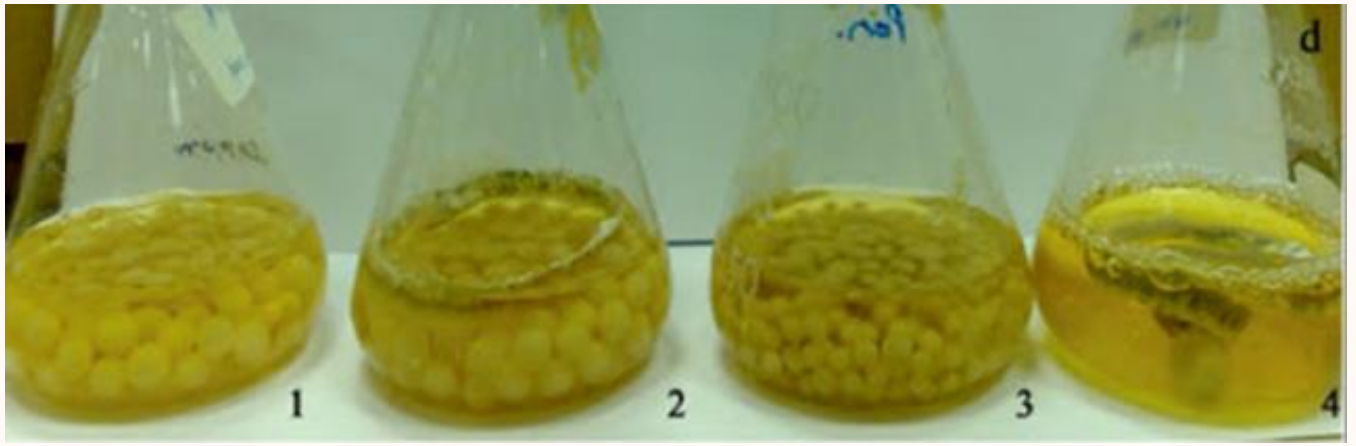
۳-بعد از یک هفته (جلسه ی آینده) کشت های تهیه شده را از روی شیکر بردارید و کنار شعله آزمایش زیر را انجام دهید.

200
IN GERMANY




c
1
2
3
4




d
1
2
3
4

آزمایش «ج»

❖ تست و بررسی آنتی بیوتیک تولید شده

مواد و وسایل لازم برای آزمایش :

۱- محیط کشت پنی سیلیوم کرایزوژنوم آماده

۲- بلاد آگار

۳- دیسک کاغذی استریل

۴- سوآپ سر پنبه ای استریل

۵- پنس استریل

این تست با انجام آزمایش آنتی بیوگرام به روش کربی- بائر و با استفاده از باکتری استرپتوکوکوس فکالیس و محیط کشت آگار خوندار انجام می‌شود.

روش کار آزمایش «ج»

۱- با استفاده از سوآپ سرپنبه ای استریل باکتری استرپتوکوکوس فکالیس یا استافیلوکوکوس آرئوس را بر روی محیط کشت بلاد آگار به صورت چمنی کشت دهید.

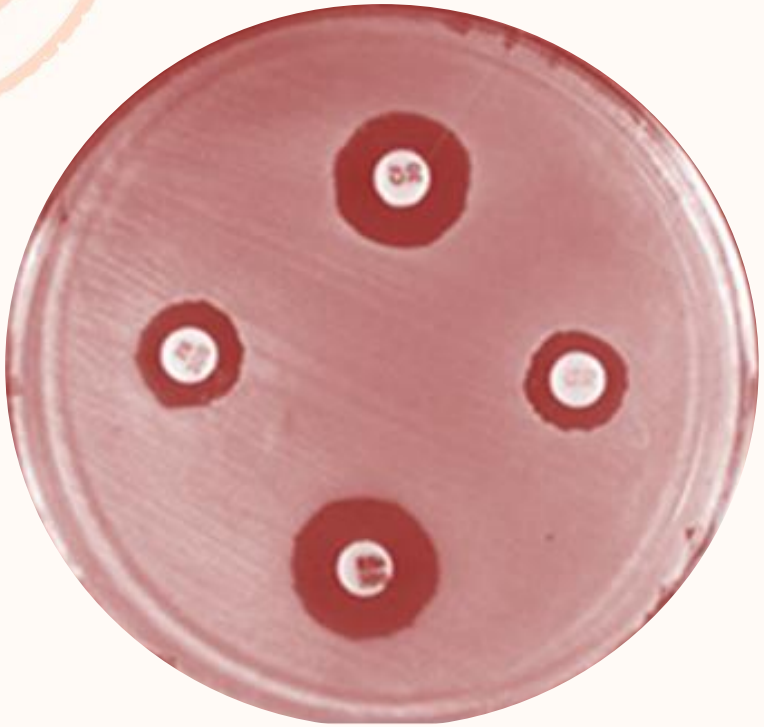
۲- با استفاده از پنس استریل خنک شده یک دیسک کاغذی استریل را از داخل پتری دیش بردارید.

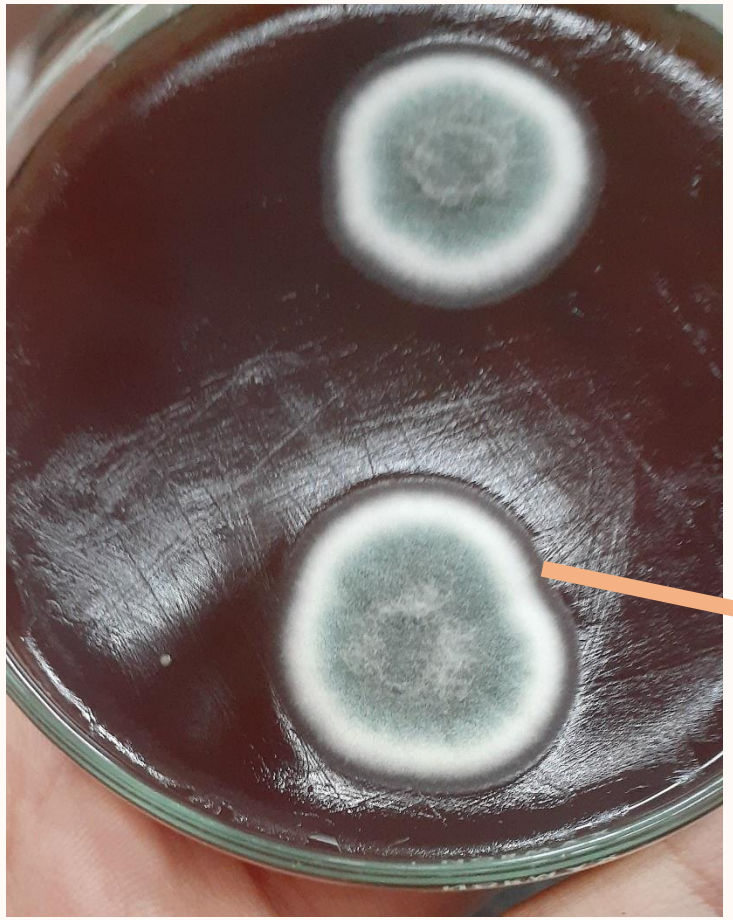
۳- با رعایت تکنیک‌های آسپتیک درب محیط کشت قارچ را برداشته و کاغذ را داخل محیط کشت تولید فرو ببرید تا کاغذ کاملاً به محیط کشت آغشته شود.

۴- با رعایت اصول آسپتیک درب پلیت بلاد آگار تلقیح شده را باز کنید و کاغذ حاوی آنتی بیوتیک را در محل مناسب قرار دهید.

۵- پلیت آزمایش را به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار دهید.

۶- پس از ۲۴ ساعت پلیت را از داخل انکوباتور خارج و نتیجه آزمایش را بررسی و یادداشت نمایید.





هاله عدم رشد

با تشکر از توجه شما
با آرزوی موفقیت و
سلامتی