



آزمایشگاه تحقیقاتی ژنیران

درسنامه دوره

کارآموزی

میکروبیولوژی

(پیش نیاز دوره آموزشی)

به طور کلی دانش میکروبی شناسی، علم مطالعه میکروارگانیسم ها می باشد که به طور مستقیم و یا چشم غیر مسلح قابل مشاهده نمی باشند. این گروه بزرگ از میکروارگانیسم ها به صورت تک سلولی یا پر سلولی در طبیعت یافت می شوند. میکروارگانیسم ها از فراوانی و همچنین تنوع بیولوژیک بالایی برخوردار هستند. برای راحتی درک تنوع باکتری ها بایستی اشاره کرد، باکتری ها حدود ۹۰ درصد توده سلولی کل بیوسفر را شامل می شوند. انسان نیز ارتباط نزدیکی با میکروارگانیسم ها دارد؛ بیش از ۹۰ درصد سلول های بدن ما را میکروب ها تشکیل داده اند. باکتری ها به طور متوسط در دستگاه گوارش انسان وزنی به میزان ۱ کیلوگرم دارند، و هر فرد بالغ سالانه بخشی از وزن خود را از طریق باکتری های مدفوع از دست می دهد. تعداد ژن های موجود در این فلور روده ای بسیار فراتر از میزان آن در ژنوم خودمان است (۱۵۰ برابر)، و حتی در ژنوم ما، ۸ درصد محتوای DNA از بازماندگان ژنوم های ویروسی منشا گرفته است. بررسی میکروارگانیسم ها از لحاظ ویژگی هایی همچون شکل، اندازه، ساختار و عملکرد و ویژگی های بیوشیمیایی و ژنتیکی، بخش اعظم دانش مربوط به زیست شناسی را تشکیل می دهند.

برای اطلاعات بیشتر ویدیوهای زیر را تماشا کنید:

<https://www.aparat.com/v/fU67o>

<https://www.aparat.com/v/DOMG4>

حائز اهمیت است که میکروارگانیسم های موجود در طبیعت یک ارتباط مدام با همدیگر دارند که در علم اکولوژی این ارتباط بین ارگانیسم ها به انواع همیاری، همزیستی و رابطه انگلی تقسیم بندی می شود. علم زیست شناسی ارگانیسم ها را به دو دسته کلی پروکاریوت ها و یوکاریوت ها تقسیم بندی می کند. پروکاریوت ها به ارگانیسم هایی اشاره دارد که DNA در حصار هسته محصور نمی باشد یا به عبارتی ناحیه ی DNA از لحاظ فیزیکی مجزا از سیتوپلاسم نمی باشد. در حالی که در یوکاریوت ها DNA با اندامکی با نام هسته از سیتوپلاسم مجزا می شود. از جمله میکروارگانیسم های یوکاریوتی می توان به جلبک ها ((algae، قارچ ها ((Fungi، کپک ها ((Slime molds و تک یاخته ها ((Protozoa اشاره نمود.

برای درک تنوع میکروارگانیسم ها و بهره مندی از آن ها در علوم پزشکی، زیست شناسی، ژنتیک و سایر علوم مرتبط بایستی تعیین هویت ((Identification)، طبقه بندی ((Classification و نامگذاری ((Nomenclature صورت بگیرد که همگی مرتبط به دانش رده بندی یا Taxonomy می باشند. یکسری معیارهایی برای طبقه بندی باکتری ها وجود دارد که از آن جمله می توان به مواردی همچون

- رشد بر روی محیط ها
- بررسی میکروسکوپی
- آزمون های بیوشیمیایی
- آزمون های ایمنی شناختی (سروتیپ ها، سرورگروه ها و سروارها) اشاره نمود.

در اینجا اشاره ی مختصری در ارتباط با موارد فوق الذکر ارائه می شود.



- رشد بر روی محیط ها

محیط های کشت به سه دسته محیط های غیرانتخابی، محیط های انتخابی و محیط های افتراقی اشاره نمود. محیط های غیرانتخابی به منظور جداسازی باکتری های ناشناخته از نمونه ی مورد مطالعه استفاده می شوند که از آن جمله می توان به بلاد آگار و شکلات آگار اشاره نمود.

از آنجایی که تنوع میکروارگانیسم ها در نمونه های مورد مطالعه زیاد می باشد، به منظور حذف باکتری های غیر مرتبط از محیط های انتخابی استفاده می شود. که اساس تهیه محیط های انتخابی استفاده از عوامل مهارتی همانند آنتی بیوتیک ها می باشد که از جمله ی این عوامل مهارتی می توان به کلیستین ، نالیدیکسیک اسید و املاح صفراوی مانند سدیم دزوکسی کولات اشاره نمود.

جهت جداسازی میکروارگانیسم های خاص میتوان از محیط های افتراقی که حاوی فاکتور های متعدد رشدی هستند، استفاده نمود. به عنوان مثال گروه انتر و باکتریاسه بر اساس متابولیز کردن قند لاکتوز در محیط های افتراقی واجد این قند به خوبی قابل تشخیص هستند.

- بررسی میکروسکوپی

<https://www.aparat.com/v/nf5wa>

در مبحث بررسی میکروسکوپی، به طور کلی انواع میکروسکوپ ها را می توان به

- میکروسکوپ نوری
- میکروسکوپ الکترونی
- میکروسکوپ لیزر اسکنینگ هم کانون (-Confocal Scanning Laser Microscope CSLM)
- میکروسکوپ های اسکنینگ وابسته به پروب (Scanning Probe Microscope) اشاره نمود.

میکروسکوپ نوری: در این نوع میکروسکوپ منبع نور استفاده شده جهت مشاهده ی نمونه نور مرئی می باشد.

از انواع این میکروسکوپ ها می توان به میکروسکوپ های زمینه روشن (Bright-Field Microscope)، میکروسکوپ تباين فاز ((Phase Contrast Microscope، میکروسکوپ زمینه تاریک ((Dark-Field Microscope، میکروسکوپ فلورسنت و میکروسکوپ تبايني تداخلی تمایز دهنده (Differential Interference Contrast-DIC) اشاره نمود.

میکروسکوپ الکترونی: در این نوع از میکروسکوپ ها جهت مشاهده نمونه از امواج الکترونی استفاده می شود.

عموما دو نوع میکروسکوپ الکترونی با نام های میکروسکوپ الکترونی ترانس میشن (Transmission Electron Microscope-TEM) که بی شباهت به میکروسکوپ نوری نیست و میکروسکوپ الکترونی اسکنینگ (Scanning Electron Microscope) وجود دارد.

میکروسکوپ های اسکنینگ وابسته به پروب خود به دو دسته میکروسکوپ های اسکنینگ نقب زن (Scanning tunneling microscope) و میکروسکوپ با توان اتمی (Atomic Force Microscope) تقسیم می شوند.

- آزمون های بیوشیمیایی

از جمله آزمون های بیوشیمیایی می توان به سنجش تولید آنزیم هایی همچون کاتالاز، کواگولاز، دکربوکسیلاز ها، دامینازها، اکسیداز، پروتئیناز و اوره آز؛ تجزیه کربوهیدرات، مصرف سیترات، سولفید هیدروژن، اندول، واکنش نیترات، تجزیه O نیتروفنیل-بتا-د-گالاکتوزید ((ONPG، و آزمون وژ-پروسکوئر (Voges-Proskauer) اشاره نمود.

• آزمون های ایمنی شناختی

<https://www.aparat.com/v/uVjpk>

آزمون ایمنی شناسی در ارتباط با کاربرد آنتی بادی هایی می باشد که با ساختار های سطح سلول باکتری مانند لیپو پلی ساکراید ((LPS، فلاژن یا آنتی ژن ها واکنش می دهند. آزمون های ایمنی شناسی در طبقه بندی و افتراق سویه های باکتریایی در سطوح پایین تر و در نهایت بیماری شناسی کاربرد دارد.

به طور کلی باکتری ها به دو دسته یوباکتری ها و آرکی باکتری ها تقسیم می شوند که یوباکتری ها دارای دیواره ی پپتیدوگلیکانی هستند که در مقابل آرکی باکترها، فاقد پپتیدوگلیکان هستند.

یوباکتری ها به سه دسته یوباکتری های گرم منفی و یوباکتری های گرم مثبت و یوباکتری های فاقد دیواره سلولی تقسیم می شوند که در اینجا به تفاوت های این دو گروه اشاره می شود.

یوباکتری های گرم منفی به گروهی از باکتری ها گفته می شود که دارای سه لایه ی پوششی با نام های غشای خارجی، فضای پری پلاسمی حاوی لایه ی پپتیدوگلیکان و غشای سیتوپلاسمی می باشند. یوباکتری ها غالباً به صورت تقسیم دوتایی تکثیر می یابند. اندام حرکتی به صورت فلاژل یا خزیدن یا اصطلاحاً **Gliding** می گویند. باکتری های فتوتروف، غیرفتوتروف و گونه های هوازی، بی هوازی، بی اختیاری و میکروآئروفیل در این گروه می توانند قرار بگیرند.

یوباکتری های گرم مثبت دارای دیواره سلولی از نوع گرم مثبت می باشند. یوباکتری های گرم مثبت از یک دیواره ی سلولی و غشاء سیتوپلاسمی و لایه پپتیدوگلیکان تشکیل شده اند. همانند یوباکتری های گرم منفی اندام حرکتی از نوع فلاژل می باشد و تکثیر از نوع تقسیم دوتایی است. البته برخی از باکتری های گرم مثبت اسپور نیز تولید می کنند. یوباکتری های گرم مثبت هتروتروف های کموسنتتیک (**Chemosynthetic Heterotrophs**) می باشند و گونه های هوازی، بی هوازی و بی هوازی اختیاری در گروه باکتری های گرم مثبت قرار می گیرند.

یوباکتری های فاقد دیواره سلولی، همانطور که از اسمشان مشخص است فاقد دیواره ی سلولی هستند و پیش سازهای پپتید و گلیکان را نمی سازند. تکثیر یوباکتری های فاقد دیواره سلولی، از طرق مختلفی مانند جوانه زدن، قطعه قطعه شدن و یا تقسیم دوتایی صورت می گیرد. یک ویژگی یوباکتری های فاقد دیواره ی سلولی این است که برای رشد نیاز به کنترل دارند.

آرکی باکتری ها یک گروه از ارگانسیم هایی هستند که توانایی زیستن در شرایط متغیر و شدید محیطی مانند شرایط نمک زیاد، درجه حرارت بالا و شرایط بی هوازی را دارا می باشند که اصطلاحاً به این گروه از ارگانسیم ها اکستروموفیل گفته می شود. آرکی باکتری ها برحسب اینکه قادر به رشد در چه شرایط محیطی هستند می توانند به گروه های مزوفیل، ترموفیل و ... دسته بندی می شوند. تکثیر آرکی باکتری ها به صورت تقسیم دوتایی، انقباض، جوانه زدن و قطعه قطعه شدن انجام می پذیرد. آرکی باکتری ها خصوصیات مشترک زیادی با یوکاریوت ها دارند. عدم وجود پپتید و گلیکان، دارا بودن لیپیدهای ایزوپرنوئید دی اتر و همچنین وجود توالی های اختصاصی RNA ریبوزومی منجر به تمایز آرکی باکتری ها از یوباکتری ها می شود.

کشت باکتری ها

فرآیند کشت مربوط به تکثیر میکروارگانسیم ها می باشد، که با فراهم آوردن شرایط محیطی و نیازهای متابولیکی مناسب عمل تکثیر صورت می گیرد. باکتری ها و همینطور سایر میکروارگانسیم ها برای تولید انرژی مورد نیاز خود حداقل بایستی یکی از روش های تخمیر، تنفس و فتوسنتز را انجام دهند. همچنین باکتری ها برای اینکه رشد کنند بایستی تمامی نیازهای غذایی آن ها که به صورت عناصر ضروری در محیط کشت هست، تامین شود که از جمله این منابع غذایی می توان به منبع کربن، منبع نیتروژن، منبع سولفور، منبع فسفر، منابع عناصر معدنی و فاکتورهای رشد اشاره نمود. جهت کشت میکروارگانسیم هایی همچون باکتری ها میتوان از انواع روش های مختلف جهت تکثیر در محیط کشت استفاده نمود. از جمله این روش ها میتوان به روش های کشت چمنی، چند مرحله ای، خطی، عمقی و سطحی اشاره نمود.

بنا به شرایط مختلف نوع کشت مورد نظر در محیط ها تغییر می کند، برای مثال برای انجام تست های آنتی بیوگرام از روش کشت چمنی و برای جداسازی باکتری های مختلف از روش کشت چندمرحله ای استفاده می شود.

تهیه شده در آزمایشگاه ژنیران

۱۳۹۹-۲۰۲۰

www.geniranlab.ir

