

TBML0105 MIKROBIOLÓGIAI MÉRŐMÓDSZEREK

Heti óraszám: 0+0+3

Kredit: 4

Megkövetelt előzmény: TBME0003

Tantárgyfelelős: Dr. Pusztahelyi Tünde

A tantárgy oktatója: Dr. Emri Tamás, Dr. Pusztahelyi Tünde, Dr. Leiter Éva

Számonkérés formája: gyakorlati jegy

A tantárgy oktatásának célja: Alapvető mikrobiális laboratóriumi technikák elsajátítása, differenciált szakmai anyag a gyakorlati készségek és képességek fejlesztésére.

A tantárgy tematikája: MIC. Colony forming unit (CFU) meghatározása. Biológiai érték meghatározás. Specifikus növekedési ráta meghatározása. Antifungális fehérjék detektálása ELISA eljárással. Enzimaktivitás mérések (kitináz, hexózaminidáz, proteáz). Fermentáció, antifungális fehérjék termelésének fokozása a fermentációs paraméterek optimalizálásával. RAPD PCR. Antifungális anyagok tisztítása és detektálása poliakrilamid gélelektroforézissel. Izoenzim analízis poliakrilamid gélelektroforézissel, fehérjék heterológ expressziójának optimalizálása.

Ajánlott irodalom:

Harley, J.P., Harley, J.: Laboratory Exercises in Microbiology. McGraw-Hill Science/Engineering/Math

1. hét

Gyakorlat: Balesetvédelmi és tűzvédelmi oktatás. Sejtkoncentráció meghatározás módszerei. A mikrobiális növekedés vizsgálata. Bakteriális sejtkoncentráció mérése denzitometriával. Spóraszámlálás sejt számláló kamrában.

2. hét

Gyakorlat: DNS és RNS koncentráció meghatározásának módszerei, a nukleinsav méretének meghatározási lehetőségei. Plazmid izolálás és horizontális gélelektroforézis.

3. hét

Gyakorlat: Heterológ fehérjeexpressziós lehetőségek. Expressziós vektorok. *E. coli* heterológ expressziós rendszer indukciója.

4. hét

Gyakorlat: Fehérjeexpresszió élesztő rendszerben. Expressziós rendszer alkalmazása.

5. hét

Gyakorlat: Kísérleti fermentor bemutatása. Fehérjeexpresszió optimalizálása.

6. hét

Gyakorlat: Antimikrobiális anyagok biológiai érték meghatározása. Antimikrobiális hatóanyag tesztelése. MIC érték meghatározása.

7. hét

Gyakorlat: Fehérjék elleni antitest képzés gyakorlati jelentősége. Antitest titer megállapítása.

8. hét

Gyakorlat: Immunológiai módszerek. Szilárd hordozón és folyékony fázisban történő detektálási típusok. ELISA eljárás alkalmazása. ELIFA eljárás ismertetése. Dot blot.

9. hét

Gyakorlat: Fehérjék szerkezetének vizsgálati lehetőségei. Vertikális gélelektroforézis. Fehérje méret és szerkezet meghatározási lehetőségek. 1D és 2D gélelektroforézis összevetése. Ismeretlen fehérje méretének meghatározása vertikális gélelektroforézisben.

10. hét

Gyakorlat: Savas és bázikus jellegű fehérjék gélelektroforézise. Hidrofób és hidrofil fehérjék detektálásának lehetőségei. Coomassie, Ponceau és ezüst festés.

11. hét

Gyakorlat: Izoenzimek vizsgálati lehetőségei. Izoenzim analízis antitesttel.

12. hét

Gyakorlat: Az enzimaktivitás mérésének elvei. Glükózaminidáz aktivitás mérése eltérő körülmények között.

13. hét

Gyakorlat: A molekuláris technikák a mikrobiológiában. PCR alkalmazási lehetőségek. Nested PCR, tail PCR, RT-PCR, long PCR, RT-PCR alapjai. PCR reakció összeállítása.

14. hét

Gyakorlat: Génkönyvtárak és metagenomikai alapok. Számítási feladatok és a jegyzőkönyv konzultációja. PCR termék vektorba illesztése. cDNS könyvtár készítésének alapjai.

15. hét

Konzultáció, a gyakorlati jegyzőkönyv követelményeinek megbeszélése.

Tantárgyi követelmények:

Követelményszint: A gyakorlatokon való részvétel kötelező, hiányzás esetén a gyakorlatvezetővel való megbeszélés után pótolható. A gyakorlat tömbösített formában történik a hallgatókkal egyeztetett időpontban. A hallgatók gyakorlati jegyzőkönyv formájában számolnak be tudásukról.

Az aláírás feltétele: a gyakorlatokon való eredményes részvétel és a gyakorlati jegyzőkönyv benyújtása

Érdemjegy javítás: a gyakorlati anyagból történő beszámolóval lehetséges