

**Tantárgy: MIKROBIOLÓGIAI MÉRŐMÓDSZEREK**

**Kód:** AOMBMM4

**ECTS Kredit:** 4

**A tantárgyat oktató intézet:** Mikrobiális Biotechnológiai és Sejtbiológiai Tanszék

**A tantárgy felvételére ajánlott félév:** 4.

**Melyik félévben vehető fel a tárgy:** tavaszi

**A tantárgyfelvétel előfeltétele(i):** Prokarióták élettana, molekuláris virológia

**Kontaktórák száma:**

előadás: **0**                      szeminárium: **15**                      gyakorlat: **45**

**Előadó tanár:** Dr. Pusztahelyi Tünde egyetemi docens és munkatársai

**Tanulmányi felelős:** Dr. Pusztahelyi Tünde egyetemi docens  
pusztahelyi.tunde@science.unideb.hu

**A kurzus célkitűzései:** Fejlettebb szintű mikrobiális laboratóriumi technikák elsajátítása, differenciált szakmai anyag a gyakorlati készségek és képességek fejlesztésére. A megfelelő mikrobiológiai laboratóriumi elméleti háttér gyakorlatba történő áthelyezése. Laboratóriumi számítási készség fejlesztése, adatelemzés és értékelés gyakorlása.

**A kurzus rövid leírása:** Heterológ expresszió élesztő és *E. coli* rendszerben. A fehérje előállítás optimalizálása kísérleti fermentoros körülmények között. Antimikrobiális anyag biológiai értékmeghatározására alkalmazott technikák. Fehérjék immundetektálása ELISA eljárással, dot-blotban, ELIFA eljárásban. Antitest titermeghatározása. Fehérjék aktivitásának mérése. Bázikus és savas jellegű fehérjék vizsgálata. Izoenzim analízis gélelektroforézissel. PCR technikák. Tail PCR. RNS izolálás. RT-PCR alapjai. Nukleinsav gélelektroforézis.

**Kötelező irodalom:** -

**Vizsga típusa:** gyakorlati jegy

Óraszám/félév:

Előadás: 0  
Szeminárium: 15  
Gyakorlat: 45

**Tematika:**

**1. hét**

Szeminárium: Balesetvédelmi és tűzvédelmi oktatás. Sejtkoncentráció meghatározás módszerei. A mikrobiális növekedés vizsgálata.

Gyakorlat: Bakteriális sejtkoncentráció mérése denzitometriával. Spóraszámlálás sejtszámláló kamrában.

**2. hét**

Szeminárium: DNS és RNS koncentráció meghatározásának módszerei, a nukleinsav méretének meghatározási lehetőségei.

Gyakorlat: Plazmid izolálás és horizontális gélelektroforézis.

**3. hét**

Szeminárium: Heterológ fehérjeexpressziós lehetőségek. Expressziós vektorok.

Gyakorlat: E. coli heterológ expressziós rendszer indukciója.

**4. hét**

Szeminárium: Fehérjeexpresszió élesztő rendszerben.

Gyakorlat: Expressziós rendszer alkalmazása.

**5. hét**

Szeminárium: Kísérleti fermentor bemutatása.

Gyakorlat: Fehérjeexpresszió optimalizálása.

**6. hét**

Szeminárium: Antimikrobiális anyagok biológiai értékmeghatározása.

Gyakorlat: Antimikrobiális hatóanyag tesztelése. MIC érték meghatározása.

**7. hét**

Szeminárium: Fehérjék elleni antitest képzés gyakorlati jelentősége.

Gyakorlat: Antitest titer megállapítása.

**8. hét**

Szeminárium: Immunológiai módszerek. Szilárd hordozón és folyékony fázisban történő detektálási típusok.

Gyakorlat: ELISA eljárás alkalmazása. ELIFA eljárás ismertetése. Dot blot.

**9. hét**

Szeminárium: Fehérjék szerkezetének vizsgálati lehetőségei. Vertikális gélelektroforézis. Fehérje méret és szerkezet meghatározási lehetőségek. 1D és 2D gélelektroforézis összevetése.

Gyakorlat: Ismeretlen fehérje méretének meghatározása vertikális gélelektroforézisben.

**10. hét**

Szeminárium: Savas és bázikus jellegű fehérjék gélelektroforézise. Hidrofób és hidrofil fehérjék detektálásának lehetőségei.

Gyakorlat: Coomassie és ezüst festés.

**11. hét**

Szeminárium: Izoenzimek vizsgálati lehetőségei.

Gyakorlat: Izoenzim analízis antitesttel.

**12. hét**

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

### **13. hét**

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

### **14. hét**

Szeminárium: Génkönyvtárak és metagenomikai alapok.  
Gyakorlat: PCR termék vektorba illesztése. cDNS könyvtár készítésének alapjai.

### **15. hét**

Szeminárium: Számítási feladatok és a jegyzőkönyv konzultációja.

#### **Tantárgyi követelmények:**

*Követelményszint:* A gyakorlatokon és szemináriumokon való részvétel kötelező, hiányzás esetén a gyakorlatvezetővel való megbeszélés után pótolható. A hallgatók gyakorlati jegyzőkönyv formájában számolnak be tudásukról.

*Index aláírás:* feltétele a gyakorlatokon és szemináriumokon való eredményes részvétel és a gyakorlati jegyzőkönyv benyújtása

*Vizsga típusa:* gyakorlati jegy

*Érdemjegy javítás:* a gyakorlati anyagból történő beszámolóval lehetséges