



معمل التفاعل بين الأحياء

الدقيقة

“ 345 MIC ”

نورة الكبيسي

الجوهرة العباد

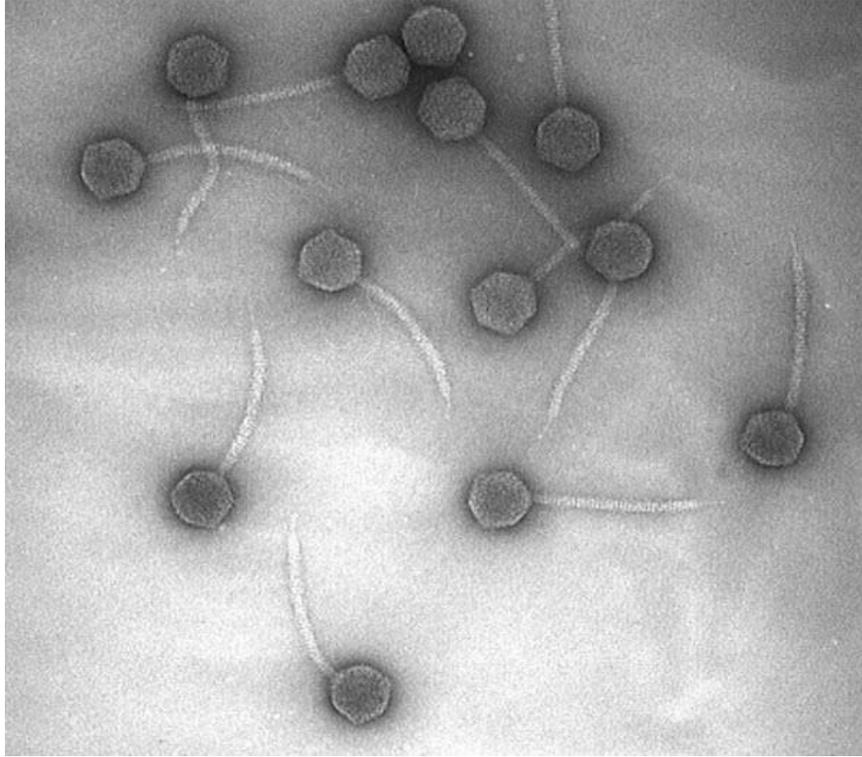
Nalkubaisi@ksu.edu.sa

2016



المعمل الخامس

علاقة التطفل بين الكائنات الحية الدقيقة Bacteriophage



Bacteriophage λ

- الفيروسات البكتيرية (البكتيريوفاج).

- خواص الفيروسات البكتيرية.

- عزل وتنمية فيروسات البكتيريا.

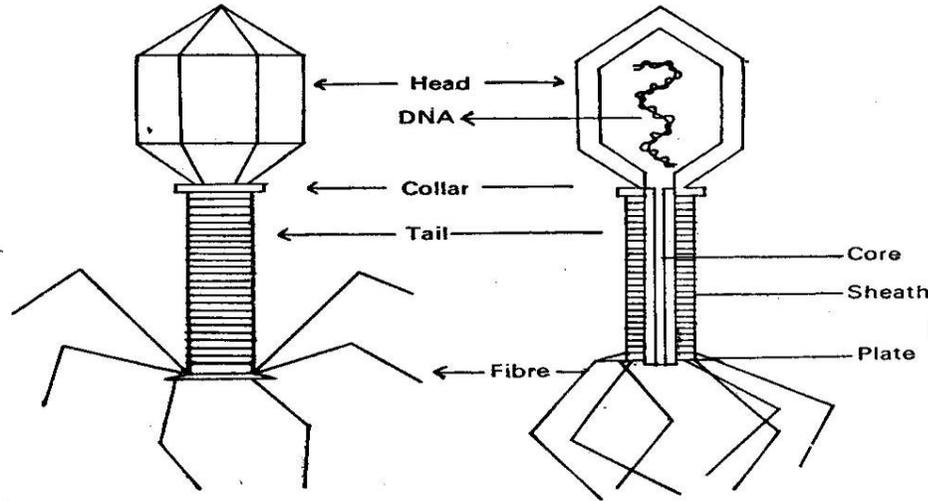
- استعراض التجربة

- تتضمن طريقة العمل: تحضير الراشح الفيروسي ثم تطبيق

التجربة على أنواع بكتيرية مُختارة.

■ هي كائنات غير خلوية متناهية في الصغر **non-cellular ultra microbes**.

■ لدراسة الفيروسات معملياً يُستخدم الفيروس البكتيري **Phage Lambda** كنموذج:



1. لأنه غير ممرض للإنسان.

2. كما أنه من الفيروسات البكتيرية التي يمكن تنميتها بسرعة نظراً لسهولة نمو البكتيريا العائل



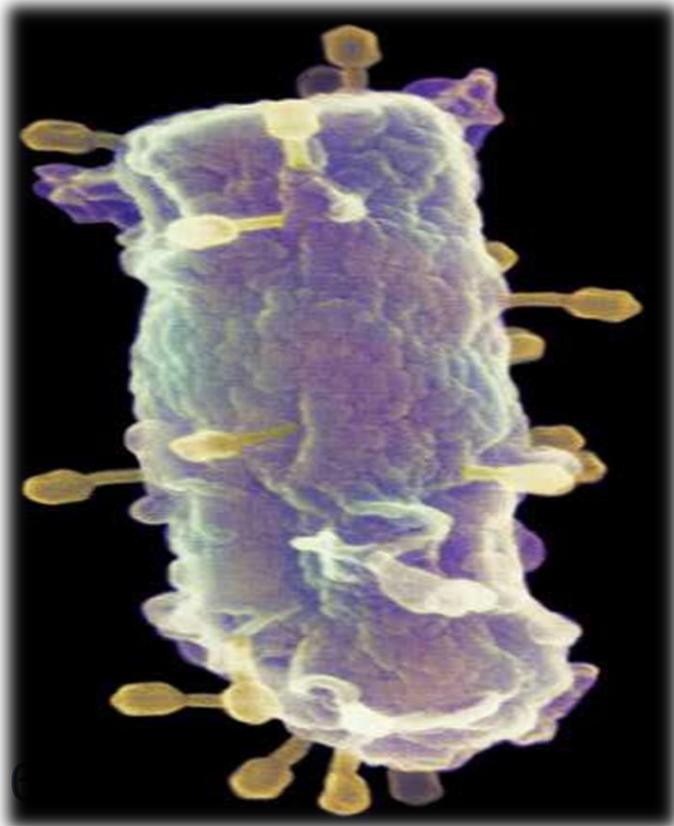
- تم اكتشافها في عام 1890 وتأكيدها من قبل العالم d'Hérelle حيث اعطى لها مسمى **bacteria-eater** بناء على فعل الفيروس للبكتيريا وهي اصل للكلمة اليونانية **phagein** التي تعني **to eat** ومن هنا جاءت التسمية.
- البكتيريوفاج تعرف أيضا باسم الفاجات وهي الفيروسات التي تصيب البكتيريا.
- تتطلب هذه الفاجات عائل من البكتيريا للتطفل ثم للتضاعف.
- تتكون من البروتينات و الحمض النووي **DNA or RNA**.
- تختلف الفاجات أيضا في الهيكل، والتي تتراوح بين البسيط إلى أكثر تفصيلا وتعقيدا.



خواص الفيروسات البكتيرية

1- متطفلة إجباريا Obligate parasite على خلايا البكتيريا فتسبب موتها وتحللها يمكن

الكشف عنها معملياً .



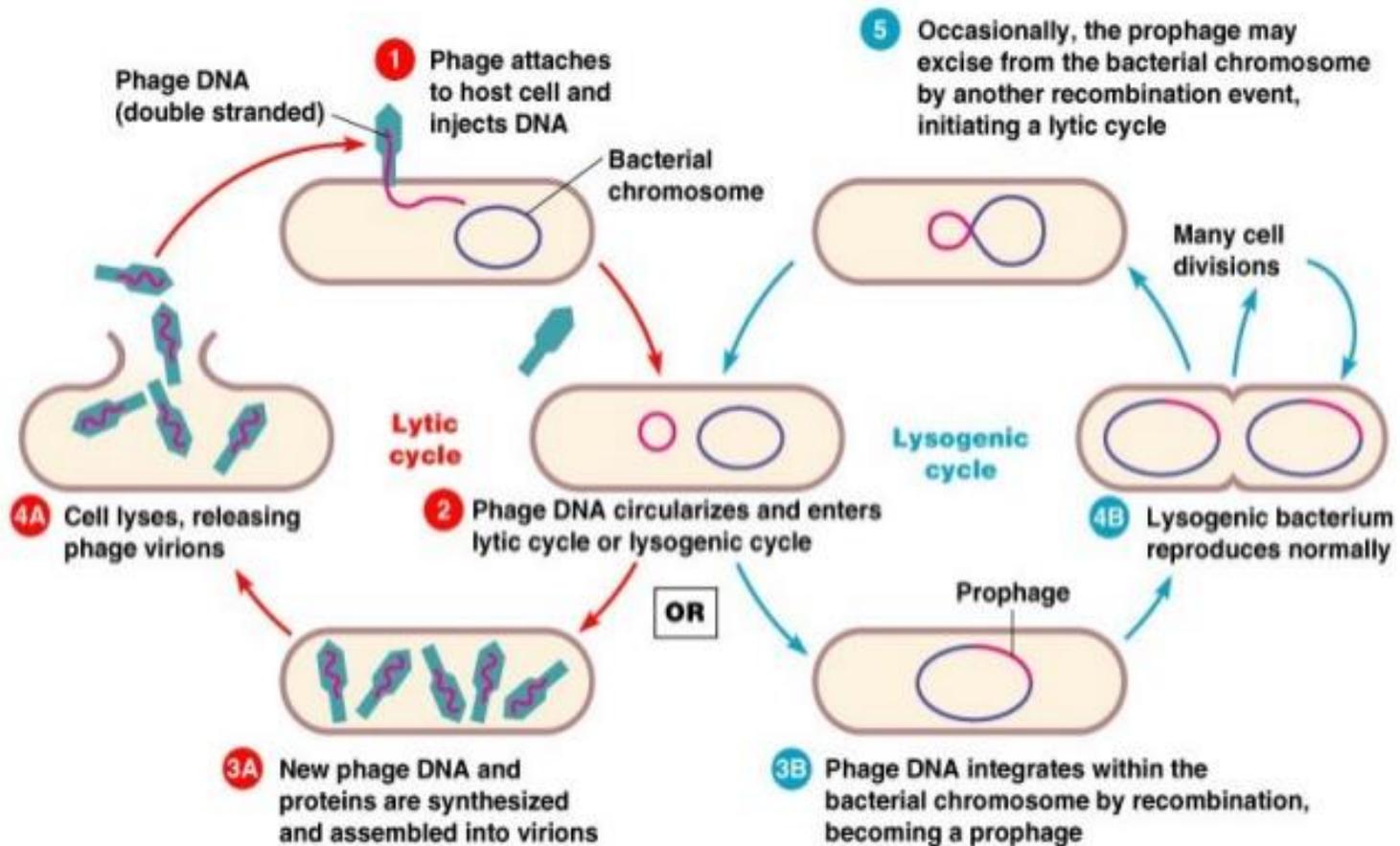
لديها مسلكين بناء على نوع الفاج :

Lytic

Lysogenic

Life Cycle

LIFE CYCLE :



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

SOURCE: Pearson Education 2004

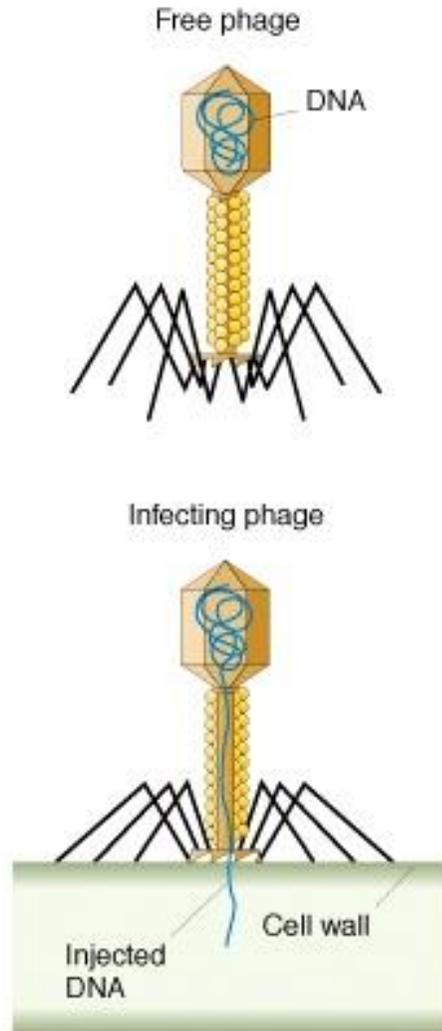


2- عالية التخصص:

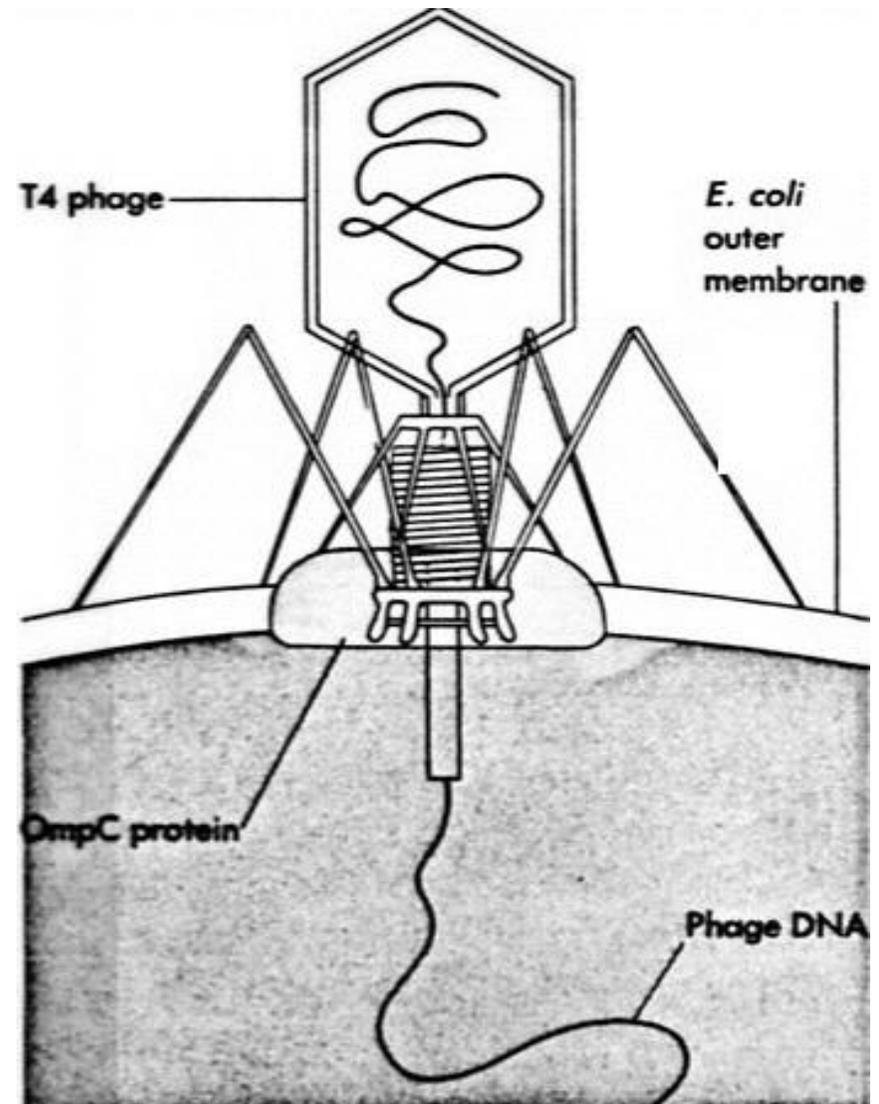
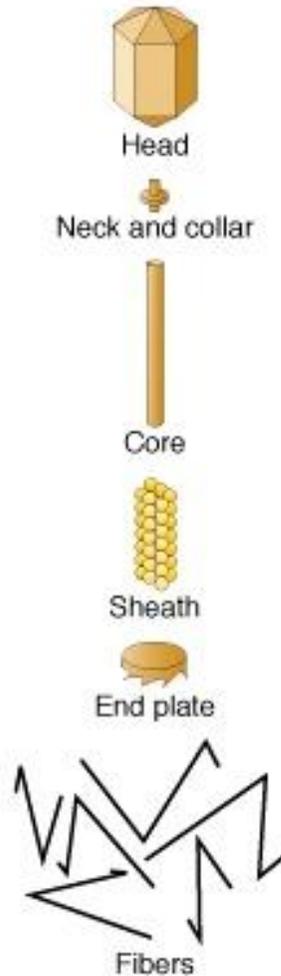
- تتطفل على واحد او عدد محدود من البكتيريا حيث تسمى بناء على مجموعة البكتيريا المتطفلة عليها مثال على ذلك:

الفاج المتطفل على بكتيريا القولون يسمى *Enterobacteria phage λ* and *colphage λ*.

- وجود تركيبات خاصة تساعد على الإدمصاص ثم اختراق الجدار الحلوي مثل **Fibers** فعند الإصابة يلتصق الفيروس على جدار الخلية البكتيرية في مناطق استقبال الفيروس عن طريق ألياف الذيل Tail fibers وينضغط العنق ليتم حقن الحمض النووي الخاص بالفيروس ثم يتضاعف الفيروس داخل الخلية البكتيرية ويزيد من وحداته.



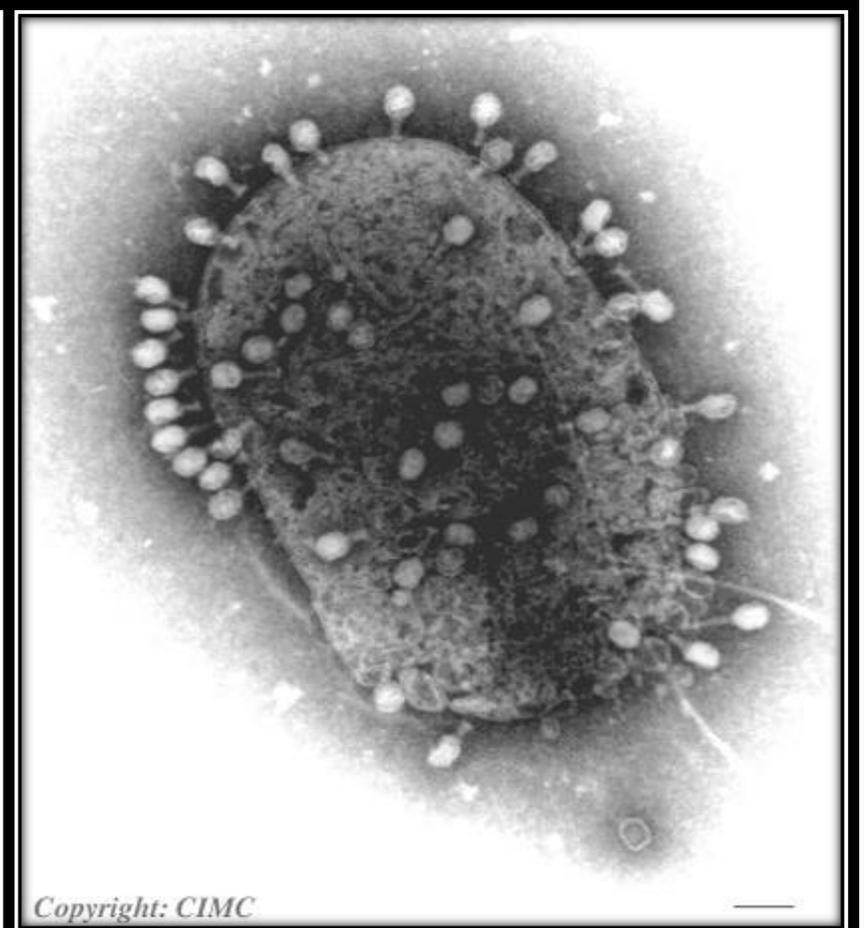
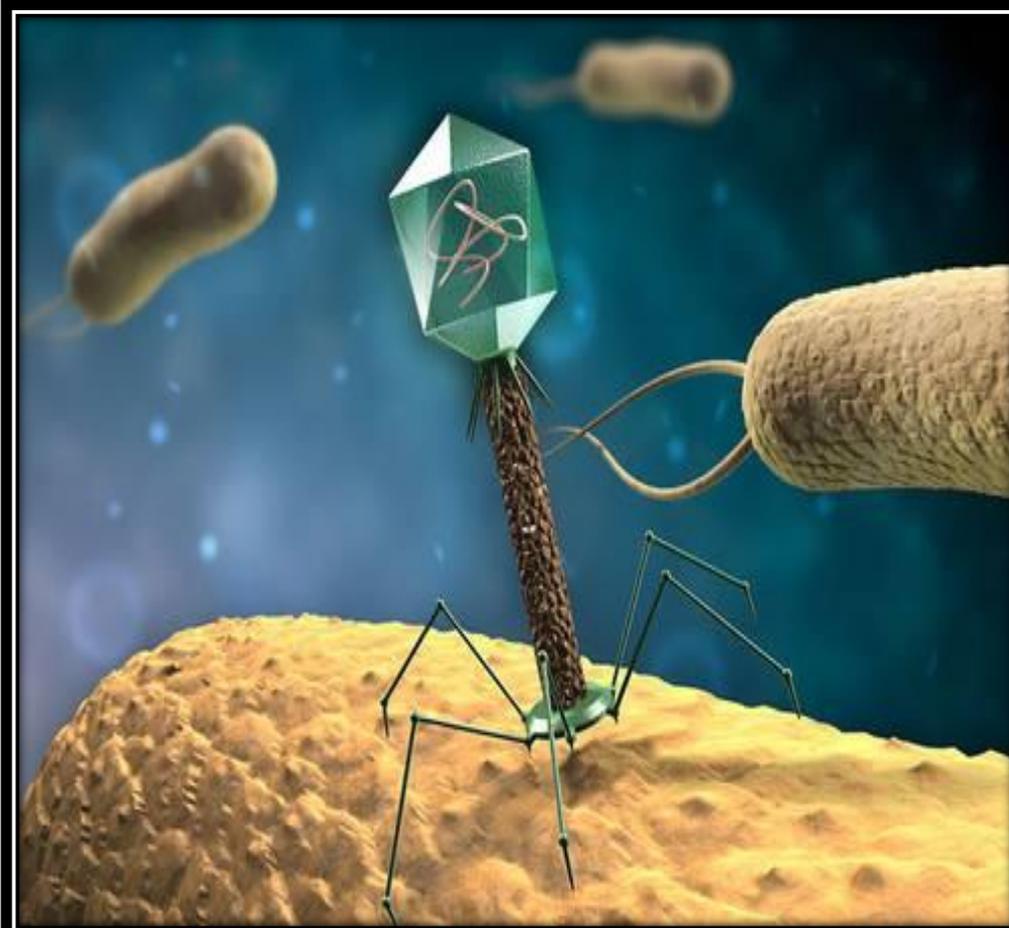
T4 phage components





الهدف من تجربة عزل وتنمية فيروسات البكتيريا (البكتيريوفاج)

دراسة العلاقة التطفلية للفيروس على البكتيريا.



Copyright: CIMC



الأدوات

1. راشح فيروسي

2. Millipore filter (Syringe Filter Assemblies)

3. 4 انابيب نحتوي على Nutrient broth

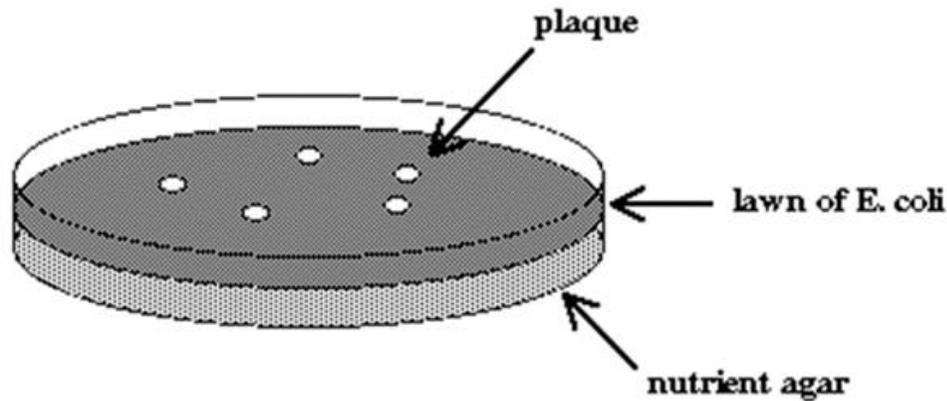
تحتوي كل انبوبة نمو بكتيري *Staphylococcus*, *E.coli*, *Bacillus*, *Pseudomonas*

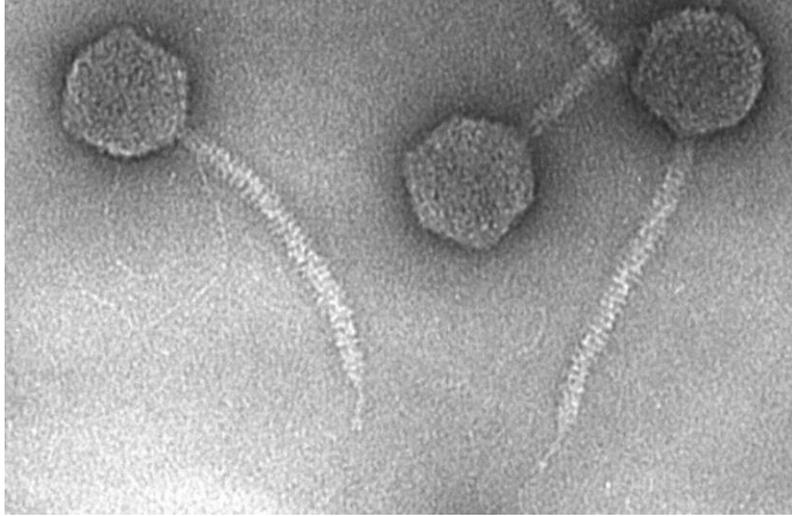
4. 4 Nutrient Agar plates

5. Swab cotton

6. Syringe

7. ظروف التعقيم





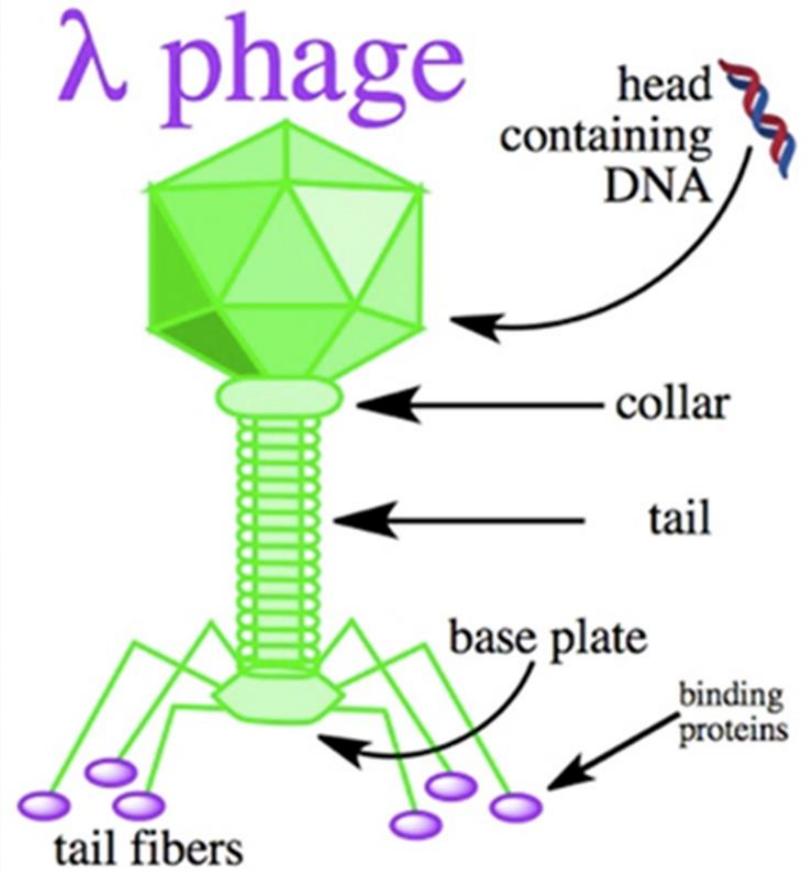
تحضير الراشح الفيروسي

• انبوبة معلق التربة (1جم من التربة + 9مل ماء) يعرض لجهاز Centrifuges 3500

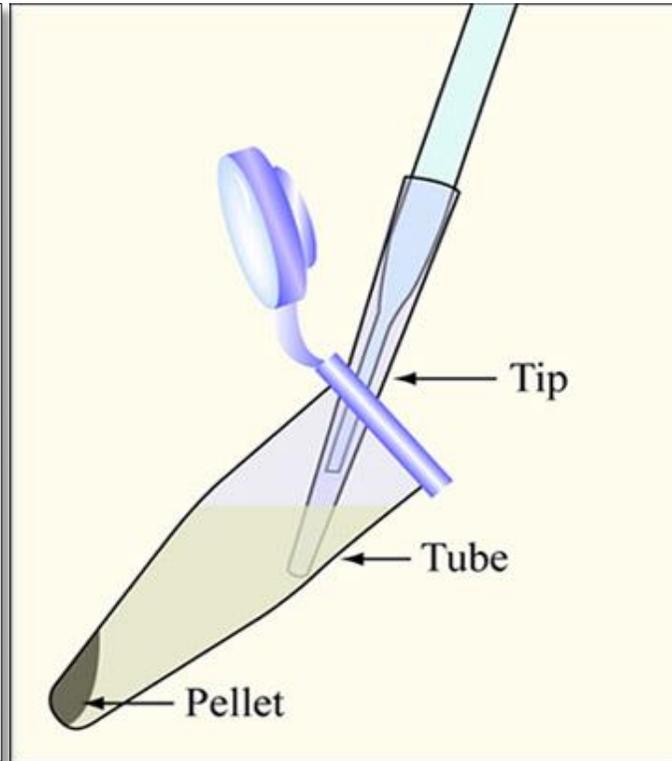
لفة / دقيقة.

• يتم اخذ الرائق بواسطة ابرة ويترك الراسب.

• يرشح الرائق بواسطة Millipore filter لأنبوبة معقمة وبهكذا حصلنا على الراشح.



طريقة العمل





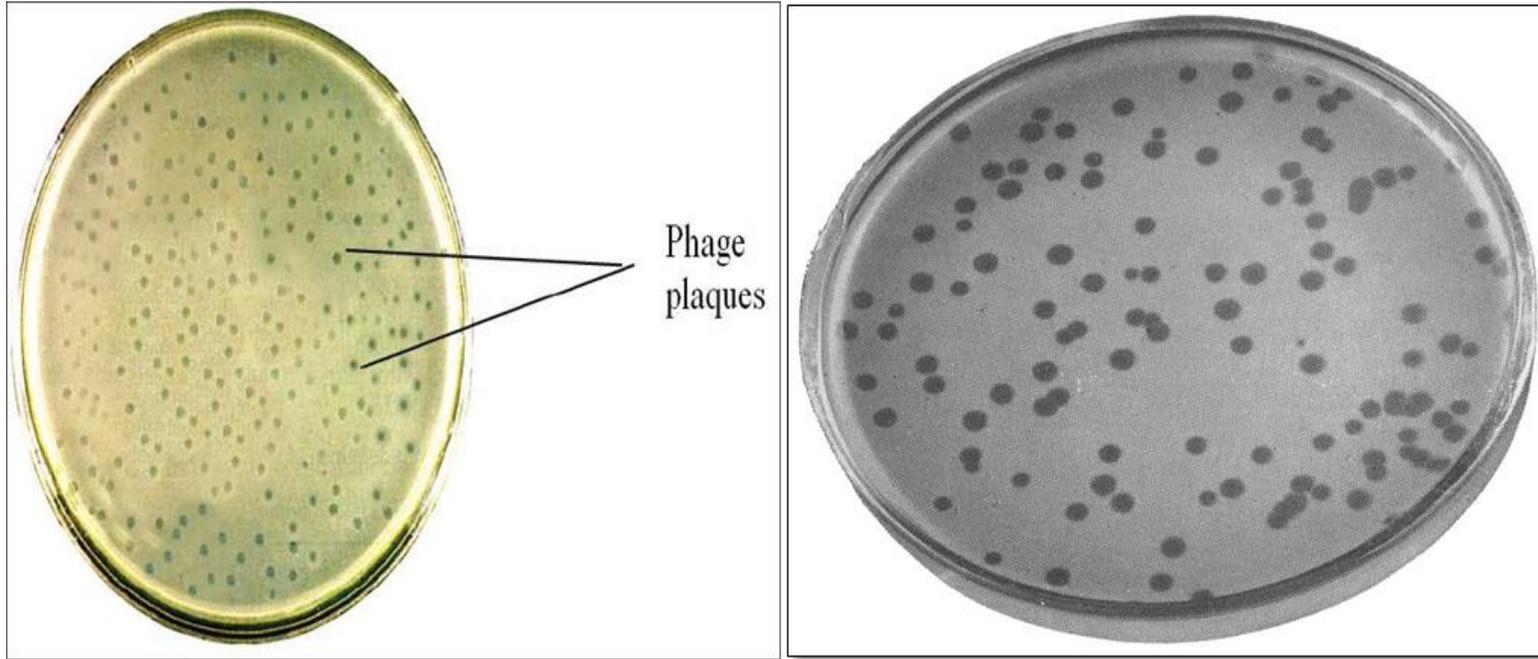
طريقة العمل:

- يتم العمل بإعداد ظروف التعقيم.
- تسجل بيانات على اطباق بتري (اسم البكتيريا _ تاريخ التجربة ... الخ).
- بواسطة الأعواد القطنية يتم تخطيط كل طبق تخطيط كامل بالبكتيريا.
- توضع الأطباق بحضان درجة 37م لمدة تتراوح (15 - 45 دقيقة).
- يتم أخذ الراشح الفيروسي باستخدام ابر الحقن.
- بعد انتهاء مدة التحضين يتم توزيع الراشح على طبق الآجار في اماكن متفرقة.
- اخيرا تعاد مرة أخرى الأطباق في الحضان لمدة 24 ساعة.

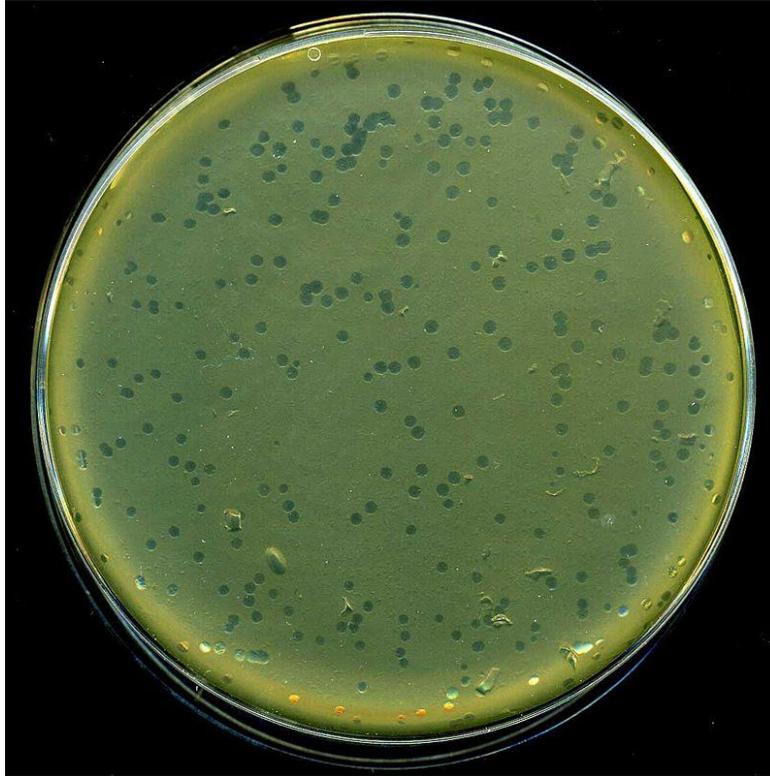


النتيجة

بعد تنمية المزرعة بكتيرية مع الفيروس على بيئة اجار مغذي فأن مظهر حدوث الإصابة هو ظهور مناطق رائقة خالية من النمو البكتيري وتسمى plaques .



النتيجة



Plaques of Lambda Phages on *E. coli*

نهاية المعمل الخامس

