

الطفرة  
**MUTATION**



طريقة الزرع المتكرر  
**REPLICA PLATE**



## الزراع المتكرر RIPLCA PLATE

### ■ المبدأ Principle:

- عمل روتيني متكرر في معمل البكتيريا ويتم بنقل العزلات التي تنمو في وجود مادة غذائية رئيسية لنمو النوع البكتيري المستخدم إلى وسط آخر انتقائي أو كاشف للطفرات التي قد تظهر.



## RIPLCA PLATE

■ تستخدم لتحديد الأنماط الجينية للكائنات الدقيقة

(**GENOTYPES**) لعدد من المستعمرات باستخدام

أوساط غذائية إنتقائية "Selective media".

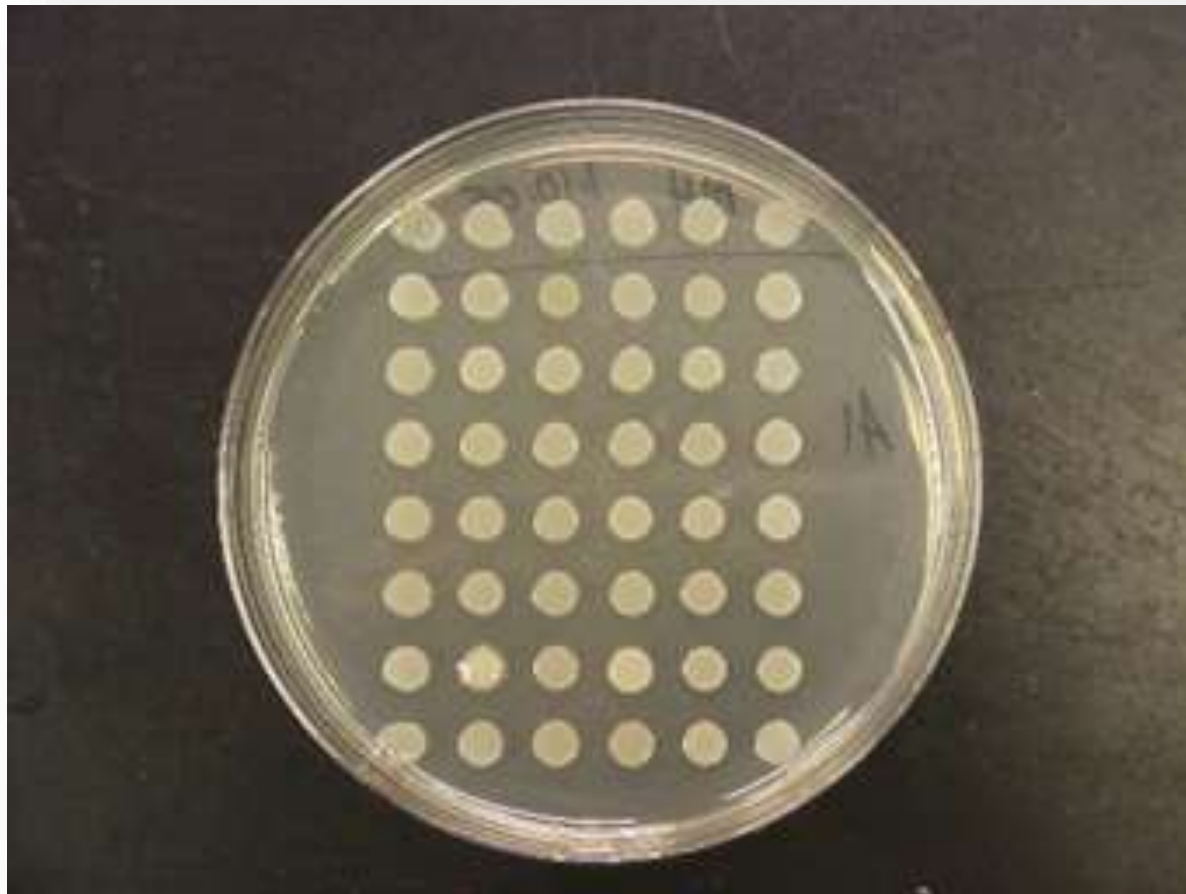


## الغرض THE PURPOSE

■ التمكن من التمييز والمقارنة بين الطبق الرئيسي  
Master plate والأطباق الثانوية لإجراء مسح  
كشفي عن طراز جيني genotype أو طراز شكلي  
phenotype معين للسلالة الميكروبية.



## التعريف THE DEFINITION



■ هي تقنية يتم خلالها تلقيح طبق رئيسي أو أكثر **Master plate** و عدة أطباق ثانوية **secondary plate** تحتوي على أوساط غذائية صلبة (الآجار) إنتقائية (قد تفتقر إلى مغذيات ضرورية أو تحتوي على مواد كيميائية مثبطة للنمو مثل المضادات الحيوية) وتلقح جميعا بنفس المستعمرات للسلالة الميكروبية المنقولة من طبق أولي **primary plate** بطريقة تسمح بنسخ النمط المكاني الأصلي للمستعمرات عليه.

تعتمد التقنية على ضغط قرص مغطى بقماش القطيفة (له قطر 8 سم) ثم تطبع على الأطباق الثانوية بخلايا المستعمرات التي نقلت من الطبق الأصلي.

بشكل عام يتم نقل عدد كبير من المستعمرات (حوالي 30-300) يتم تكرار زرعها بالطباعة بسبب صعوبة تخطيط كل منها على حده في طبق منفصل.



# FIRST STEP الخطوة الأولى

## 1. إعداد الطبق الرئيسي Master Plate

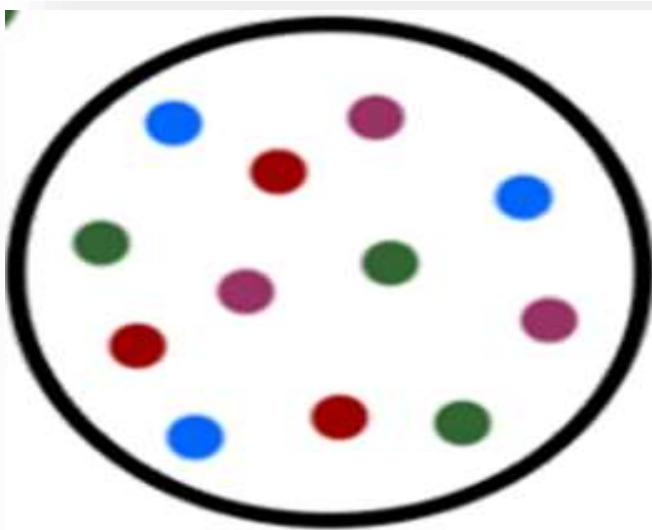
■ يحتوي على الآجار الكامل Complete Media

■ Agar

■ حيث يحتوي على الأحماض الأمينية، الفيتامينات، و  
المرافقات الإنزيمية

■ للحصول على نمو لكل الطرز الجينية للبكتيريا  
المستخدمه .

■ To Allow all bacteria to grow

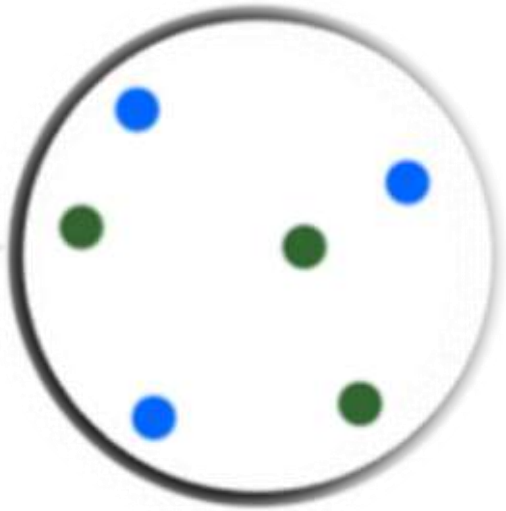


Master Plate



## الخطوة الثانية SECOND STEP

### 2. إعداد الأطباق الثانوية Secondary plate



هذا الطبق انتقائي يحتوي على الأجار الكامل وينزع منه مادة مغذية تشخيصية واحدة.

■ حيث يسمح بنمو البكتيريا المستهدفة فقط

.Targeted bacteria

- **Only the targeted bacteria to grow**



# الخطوة الأخيرة LAST ONE

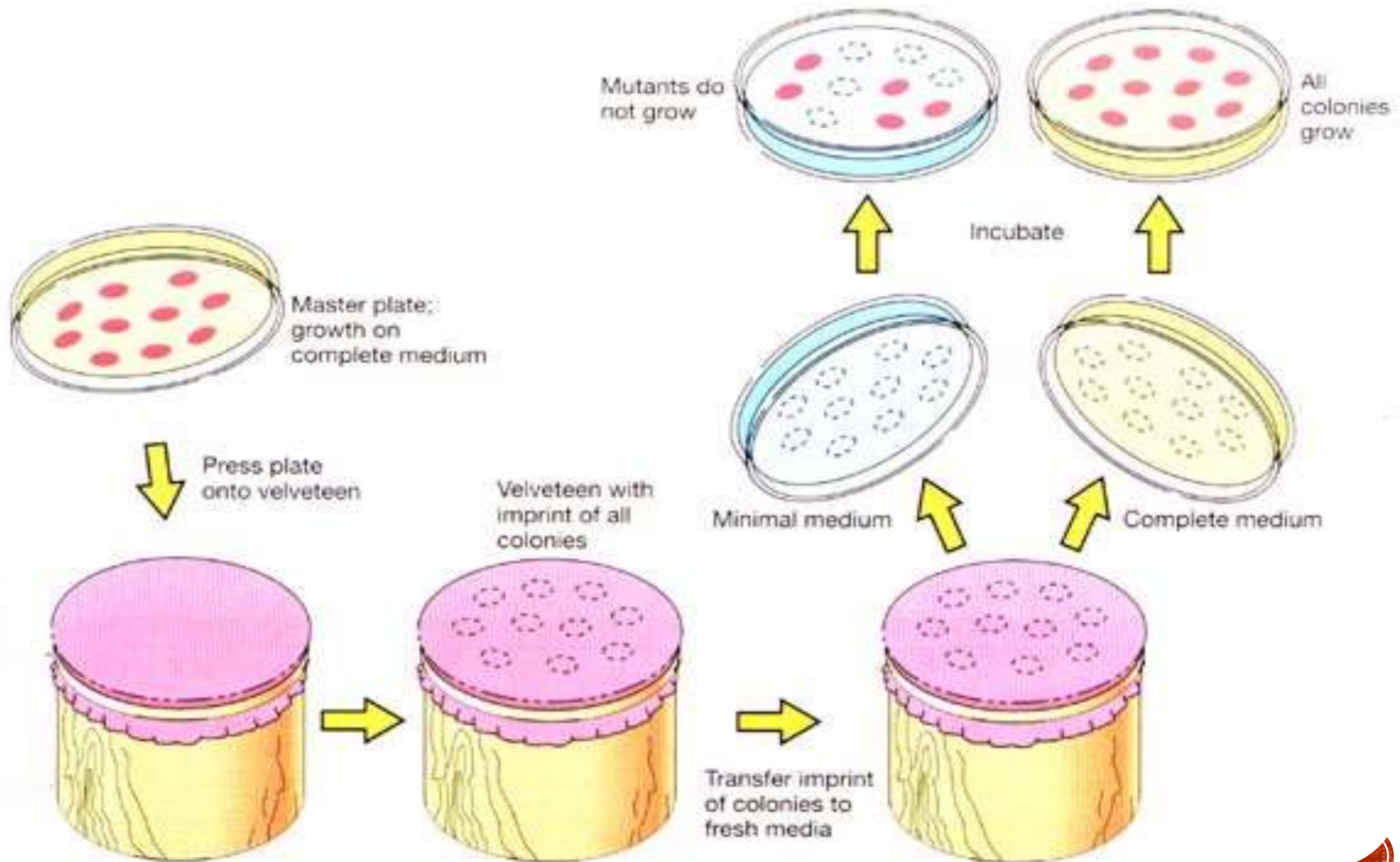
■ يحضن الطبق الرئيسي بعد إعداده

■ ثم يطبع Stamped

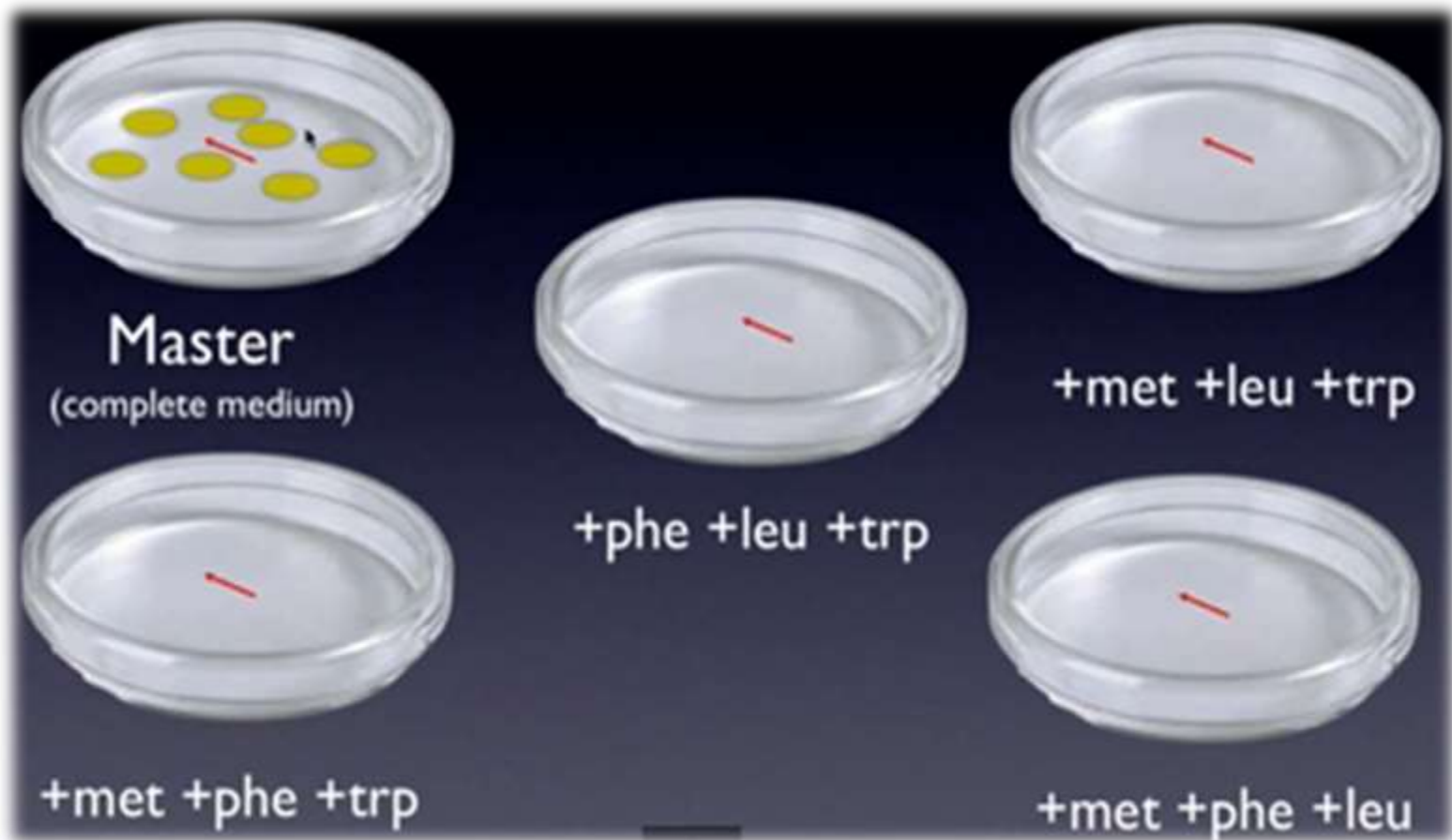
■ على الآجار الإنتقائي.



# طريقة العمل Procedure



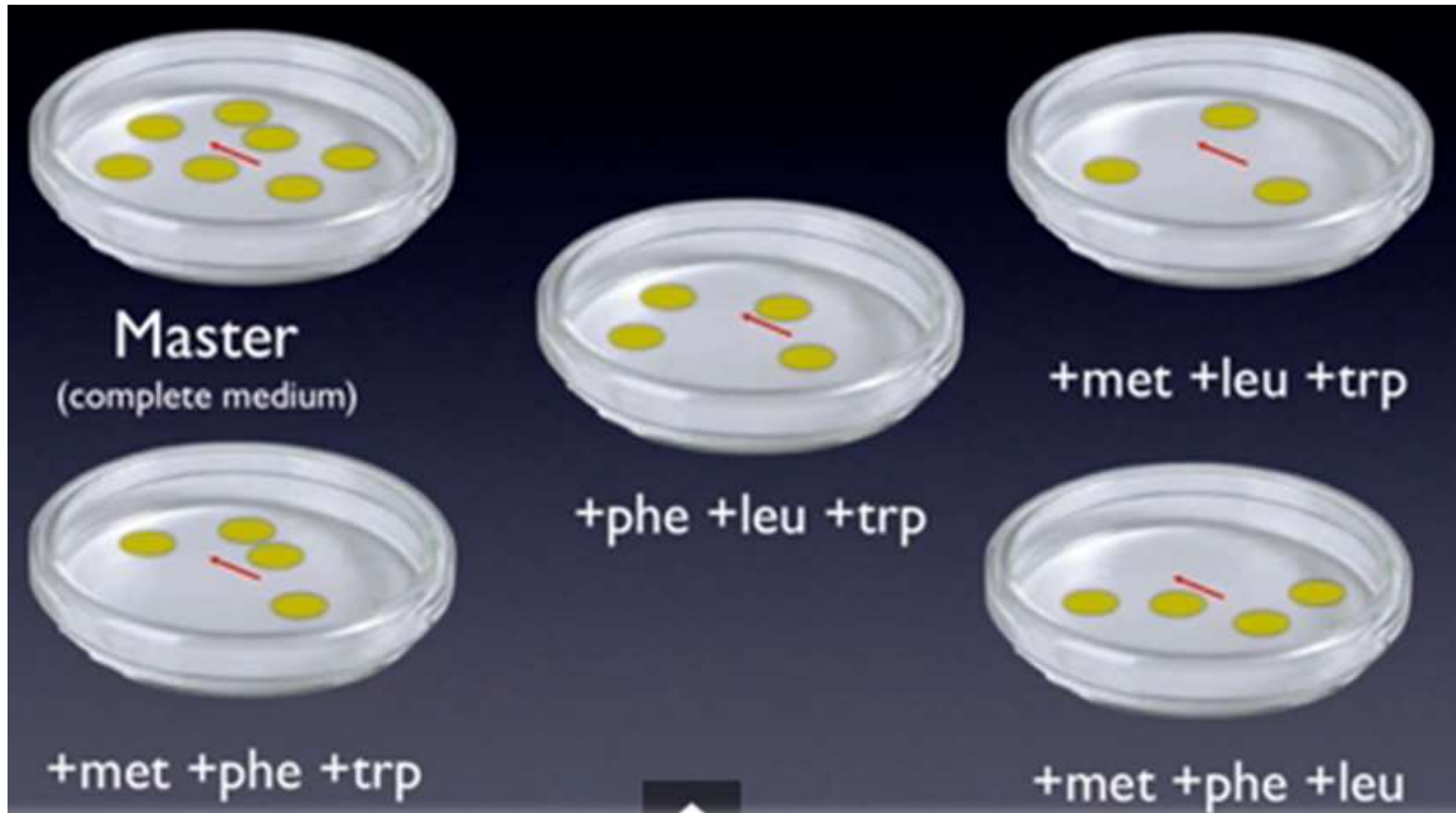
تحديد الأنماط الجينية  
**Determining Genotypes**  
أولاً: قبل التحضين



تحديد الأنماط الجينية

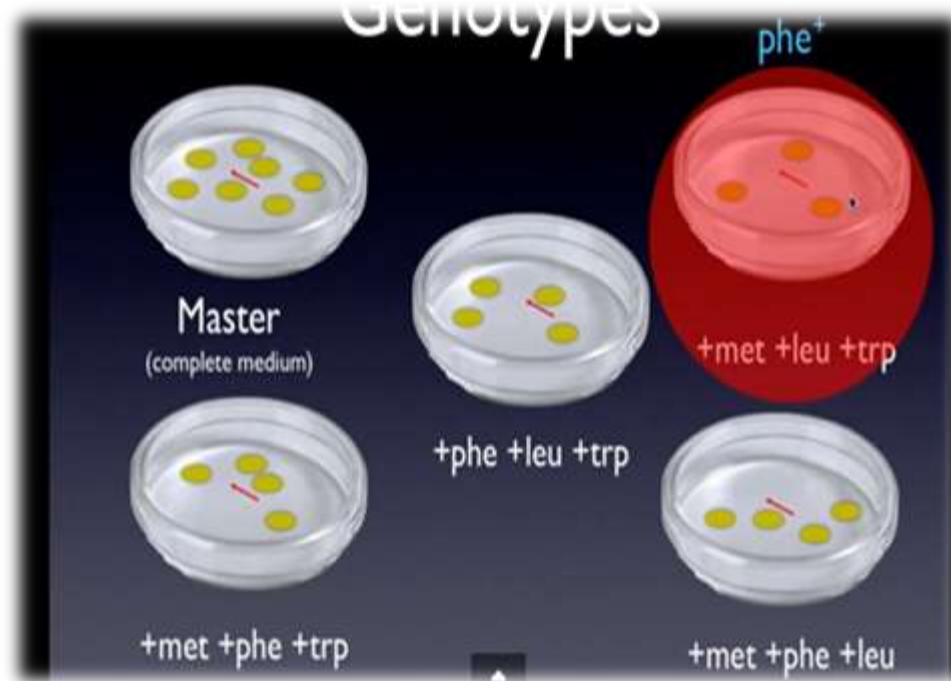
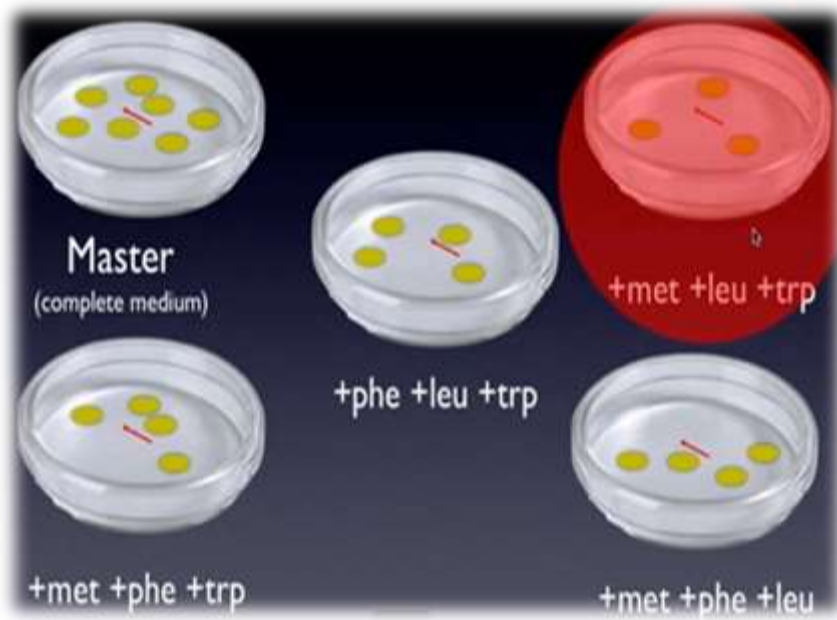
## Determining Genotypes

ثانياً: قبل التحضين





# genotypes



# Genotypes



Master  
(complete medium)



+met +phe +trp



+phe +leu +trp



+met +leu +trp



+met +phe +leu

# Genotypes



Master  
(complete medium)



+met +phe +trp



+phe +leu +trp



+met +leu +trp



+met +phe +leu



# Genotypes

phe<sup>+</sup>



Master

(complete medium)

met<sup>+</sup>



+phe +leu +trp



+met +leu +trp



+met +phe +leu



+met +phe +trp



# Genotypes

phe<sup>+</sup>



Master

(complete medium)

met<sup>+</sup>



+phe +leu +trp



+met +leu +trp



+met +phe +trp

leu<sup>+</sup>



+met +phe +leu



# Genotypes



Master

(complete medium)



met<sup>+</sup>

+phe +leu +trp



phe<sup>+</sup>

+met +leu +trp



leu<sup>+</sup>

+met +phe +trp



trp<sup>+</sup>

+met +phe +leu

# Genotypes



Master

(complete medium)

met<sup>+</sup> phe<sup>-</sup> leu<sup>+</sup> trp<sup>-</sup>



met<sup>+</sup>

+phe +leu +trp



phe<sup>+</sup>

+met +leu +trp



leu<sup>+</sup>

+met +phe +trp

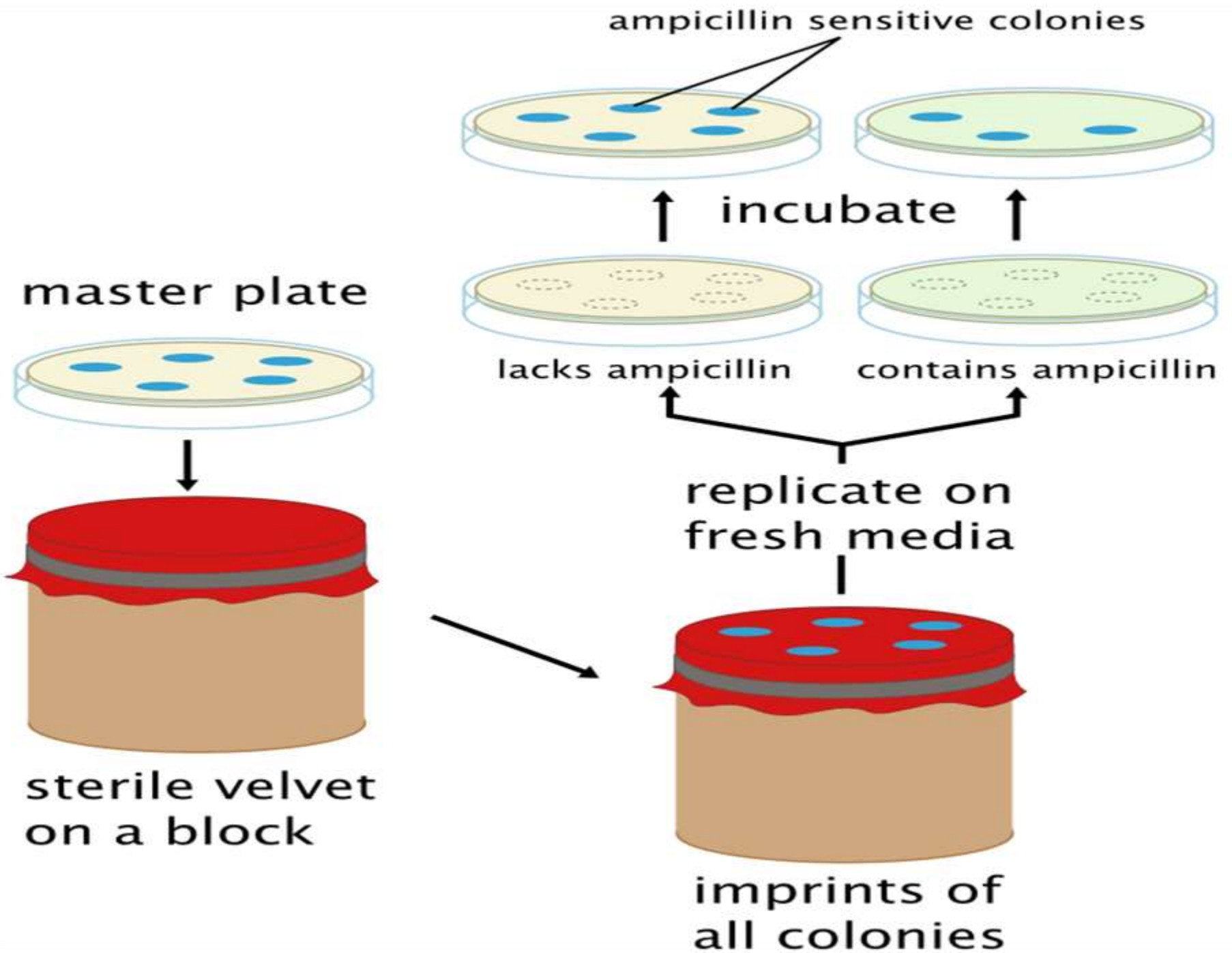


trp<sup>+</sup>

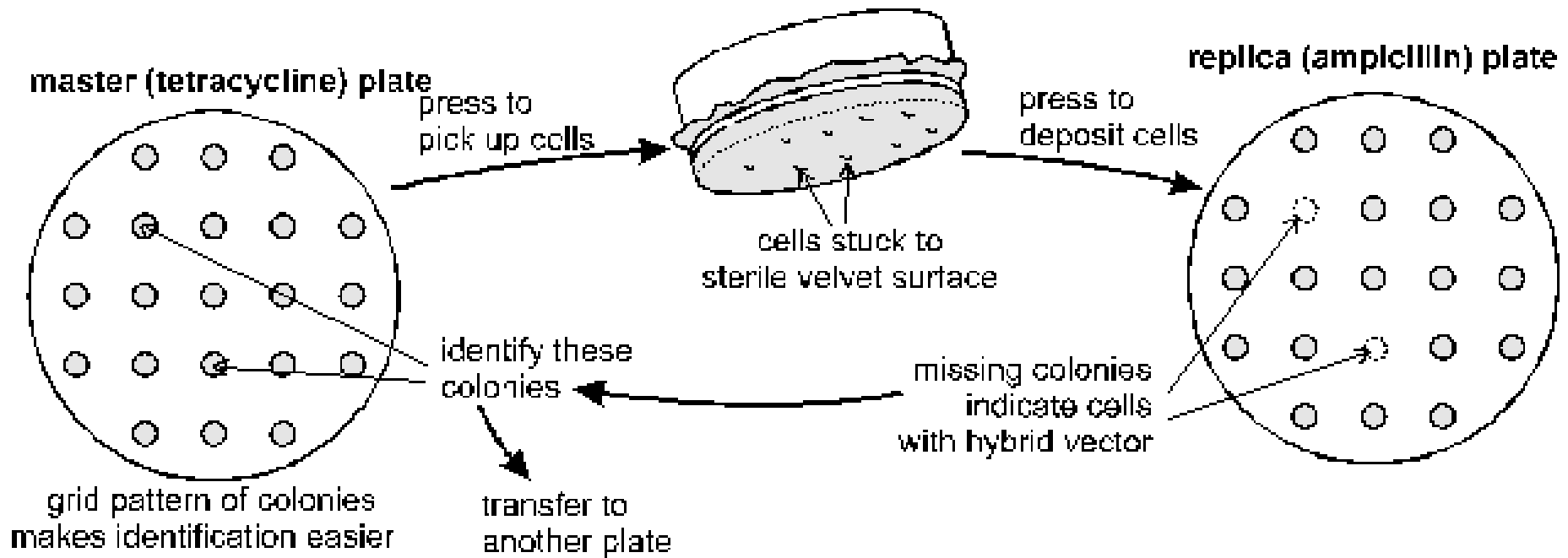
+met +phe +leu

مثال : الكشف عن وجود الطفريات باستخدام وسط  
انتقائي يحتوي على مادة مثبّطة مثل المضاد  
الحيوي (أمبسلين **AMPICILLIN**)





# ANTIBIOTIC RESISTANCE CLONES DETECTION BY REPLICA PLATING METHOD



# النتائج

