



# معمل التفاعل بين الأحياء

## الدقيقة

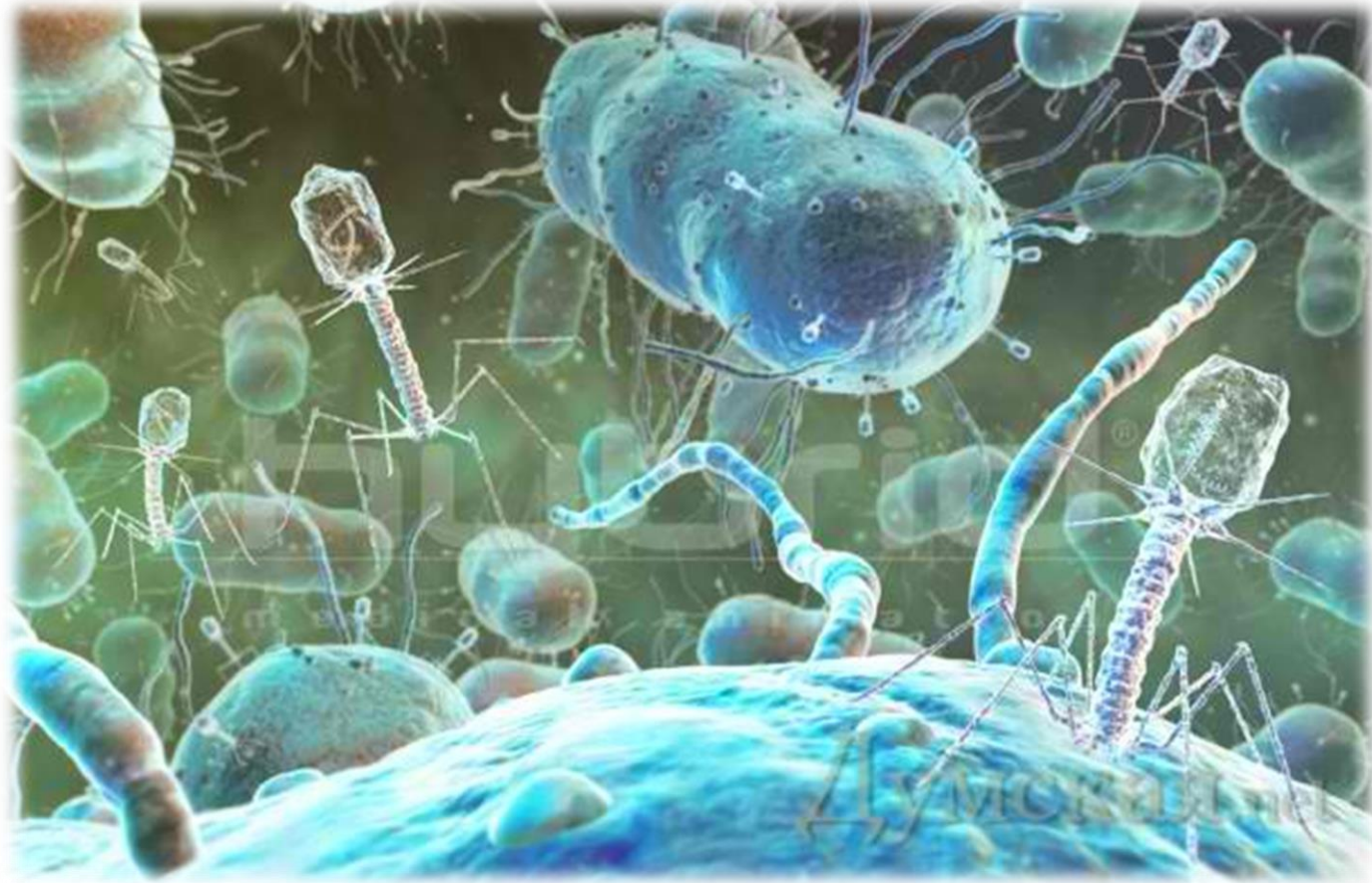
“ 345 MIC ”

نورة الكبيسي

الجوهرة العباد

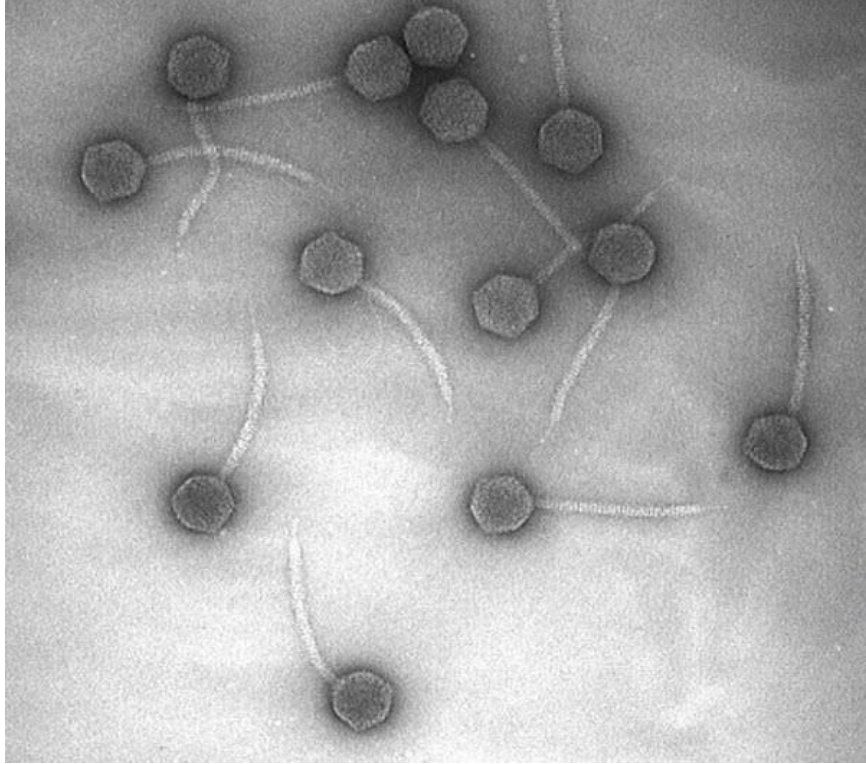
Nalkubaisi@ksu.edu.sa

2016



المعمل الخامس

علاقة التطفل بين الكائنات الحية الدقيقة Bacteriophage



**Bacteriophage  $\lambda$**

- الفيروسات البكتيرية ( البكتيريوفاج ).

- خواص الفيروسات البكتيرية.

- عزل وتنمية فيروسات البكتيريا.

- استعراض التجربة

- تتضمن طريقة العمل: تحضير الراشح الفيروسي ثم تطبيق

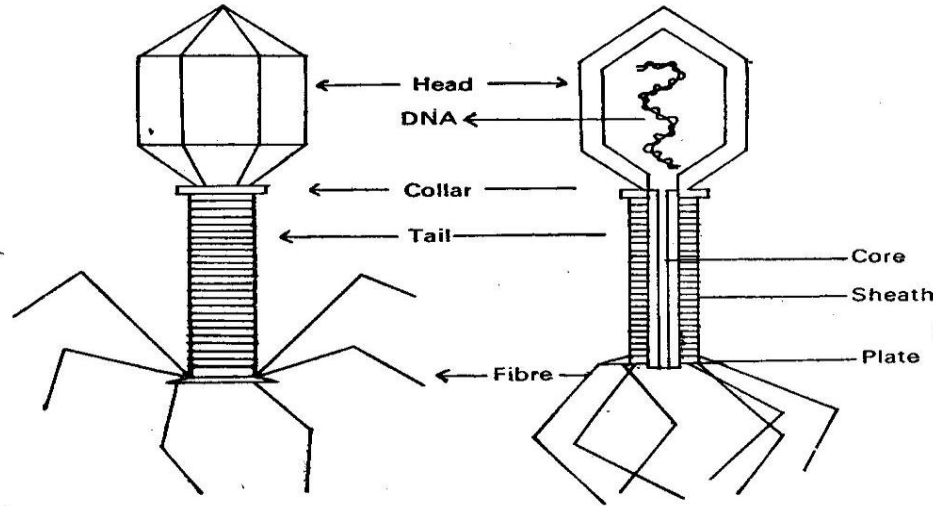
التجربة على أنواع بكتيرية مُختارة.





■ 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



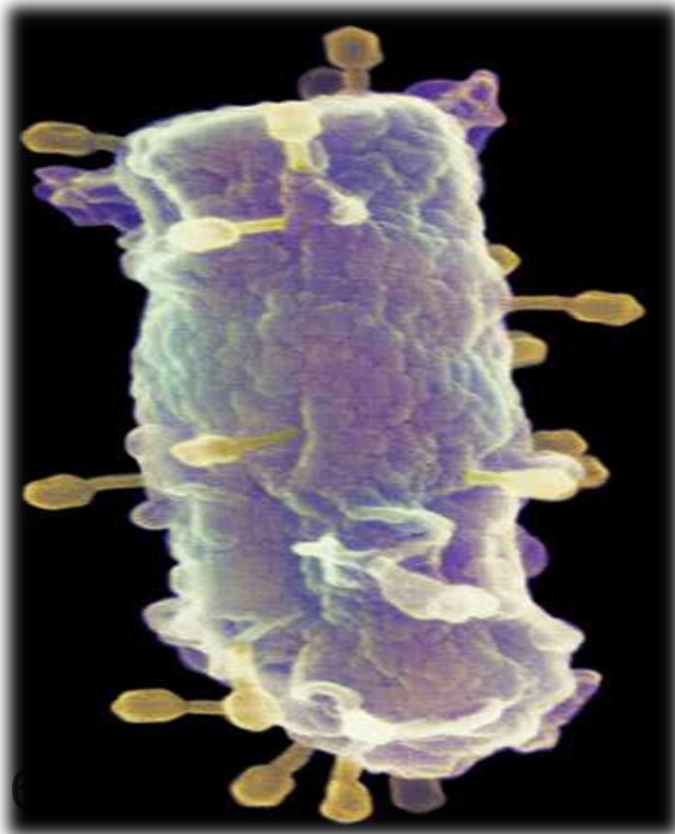
- تم اكتشافها في عام 1890 وتأكيدها من قبل العالم d'Hérelle حيث اعطى لها مسمى **bacteria-eater** بناء على فعل الفيروس للبكتيريا وهي اصل للكلمة اليونانية **phagein** التي تعني **to eat** ومن هنا جاءت التسمية.
- البكتيريوفاج تعرف أيضا باسم الفاجات وهي الفيروسات التي تصيب البكتيريا.
- تتطلب هذه الفاجات عائل 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 .



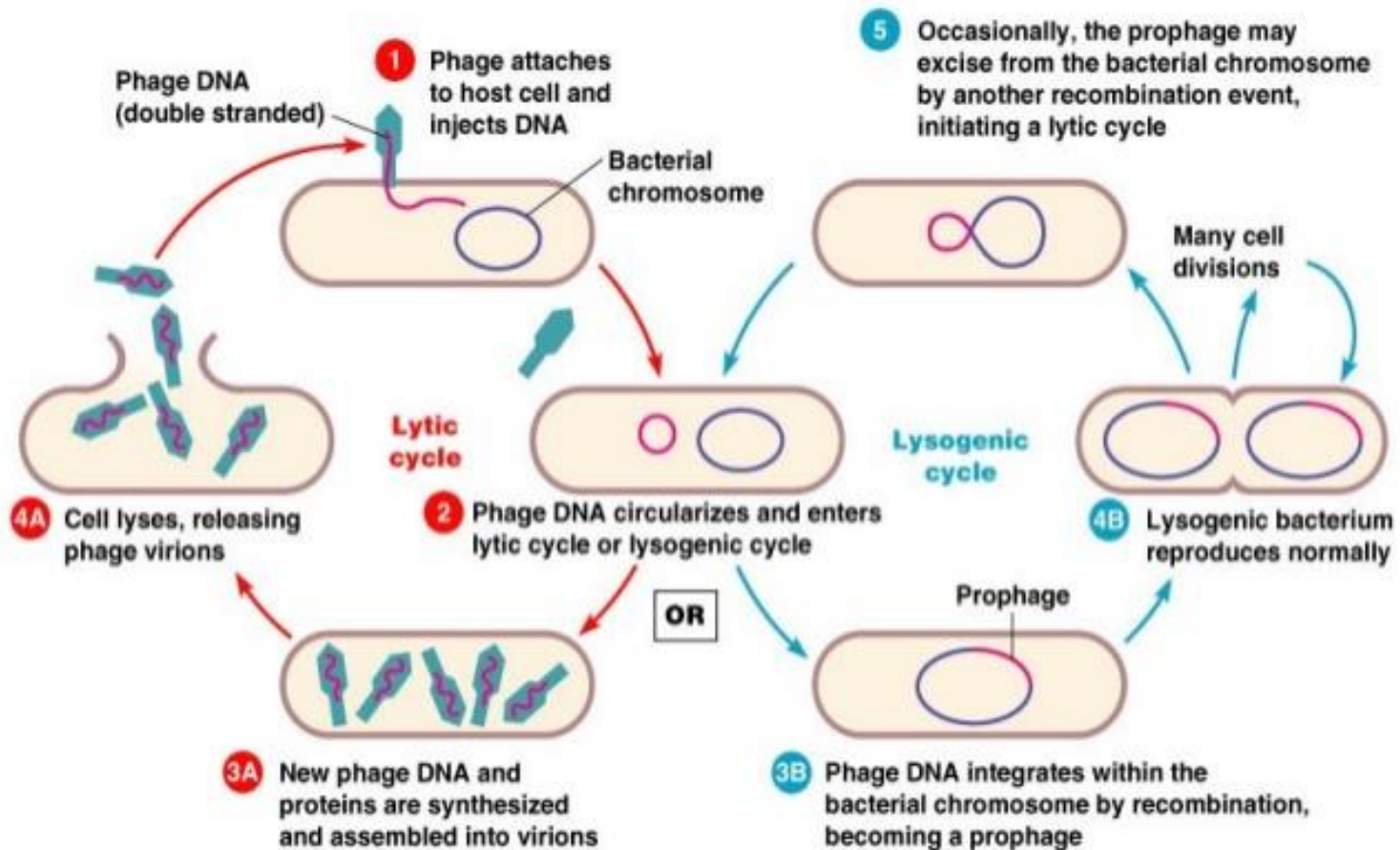
لديها مسلكين بناء على نوع الفاج :

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*.

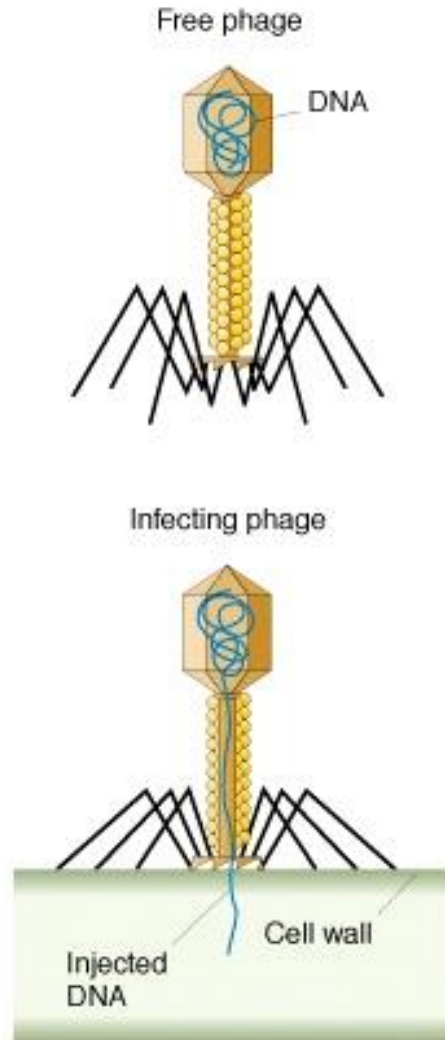
- وجود تركيبات خاصة تساعد على الإدمصاص ثم اختراق الجدار الحلوي مثل

**Fibers** فعند الإصابة يلتصق الفيروس على جدار الخلية البكتيرية في مناطق استقبال

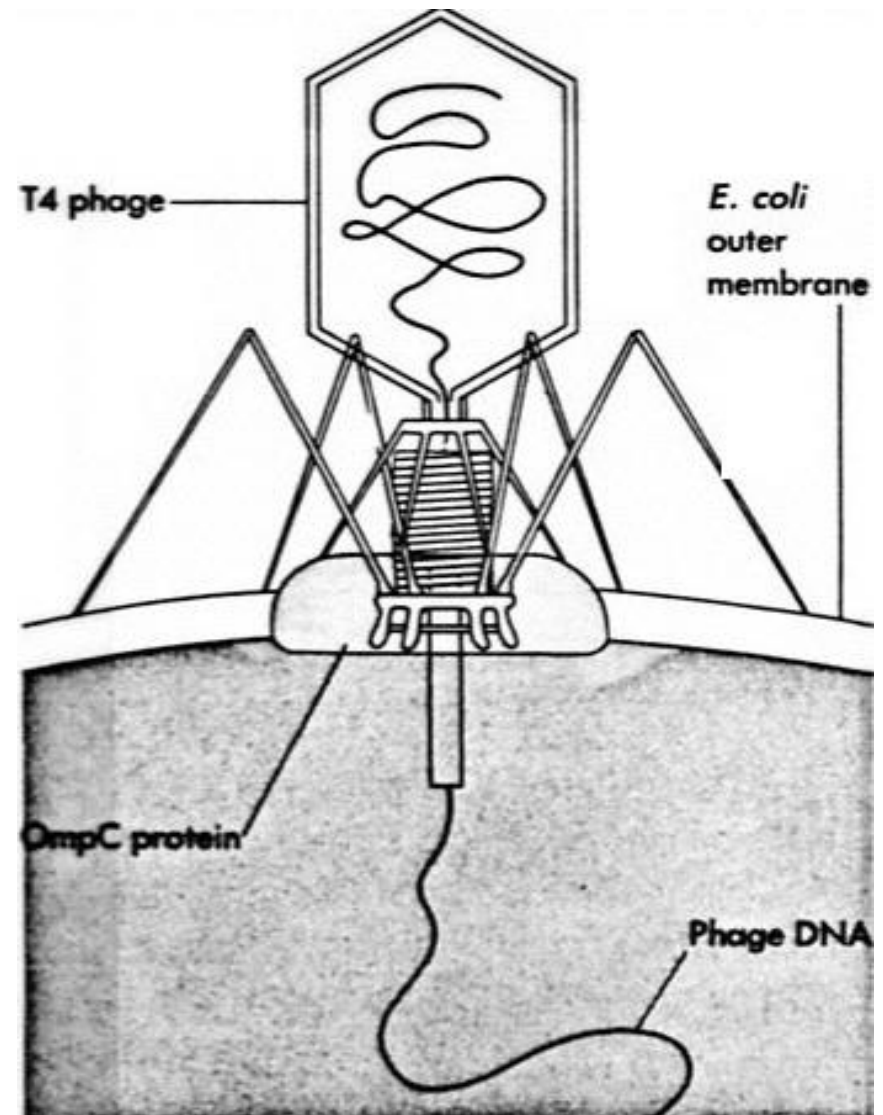
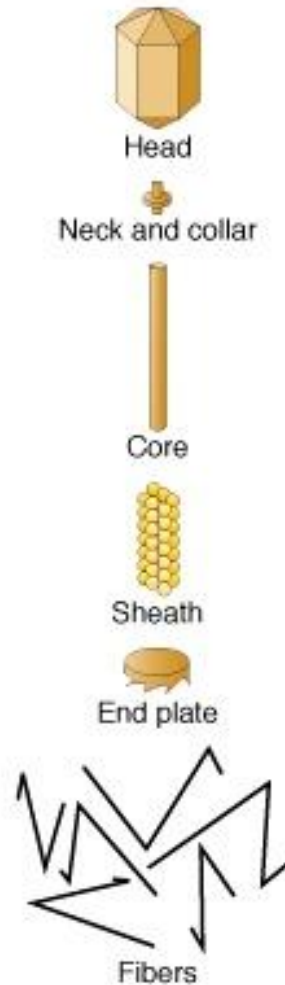
الفيروس عن طريق ألياف الذيل **Tail fibers** وينضغط العنق ليتم حقن الحمض النووي

الخاص بالفيروس ثم يتضاعف الفيروس داخل الخلية البكتيرية ويزيد من وحداته.





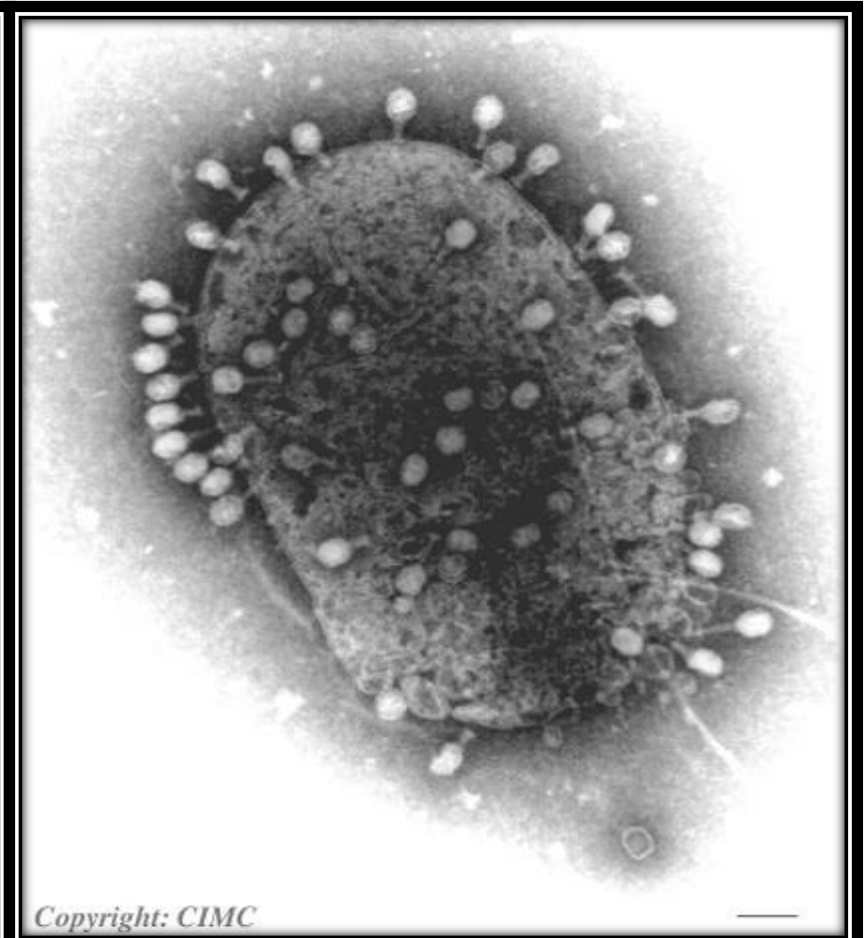
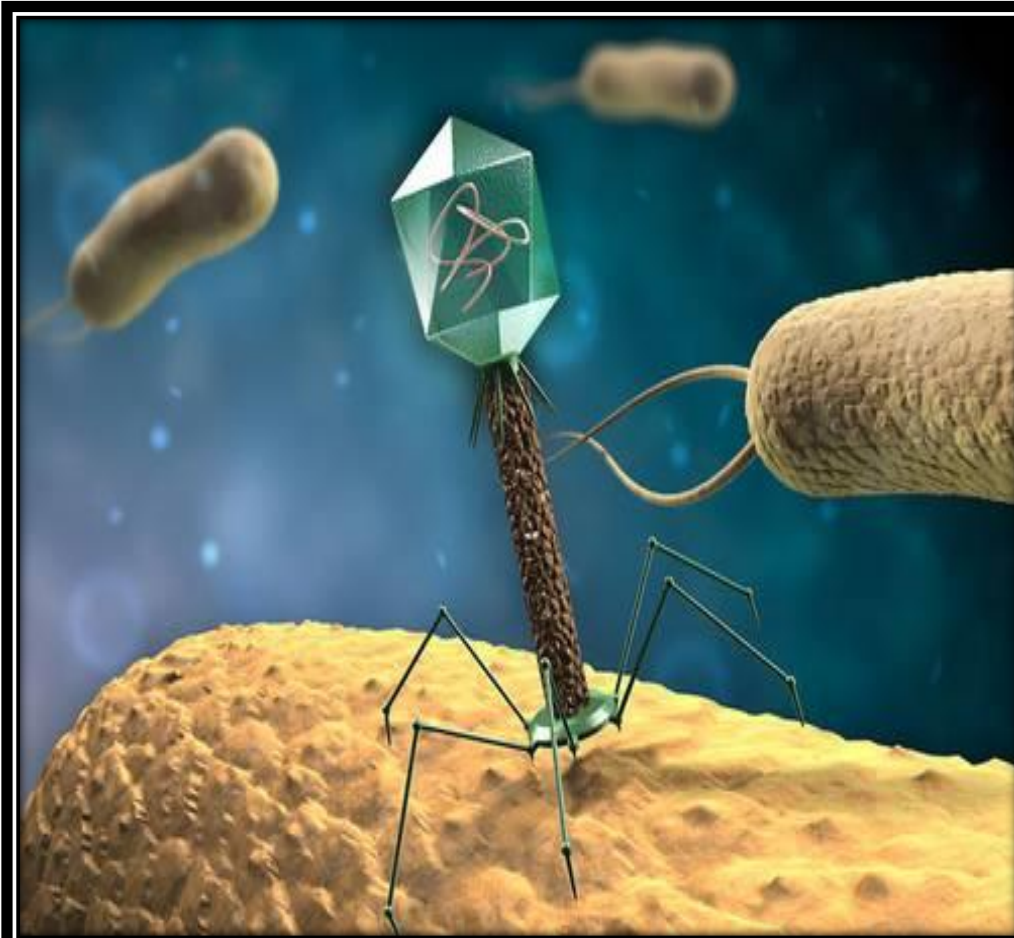
T4 phage components





## 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

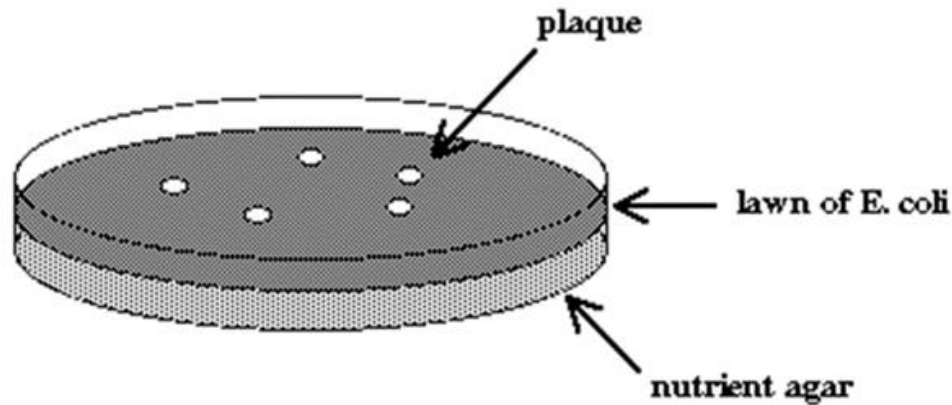
تحتوي كل انبوبة نمو بكتيري *Staphylococcus*, *E.coli*, *Bacillus*, *Pseudomonas*

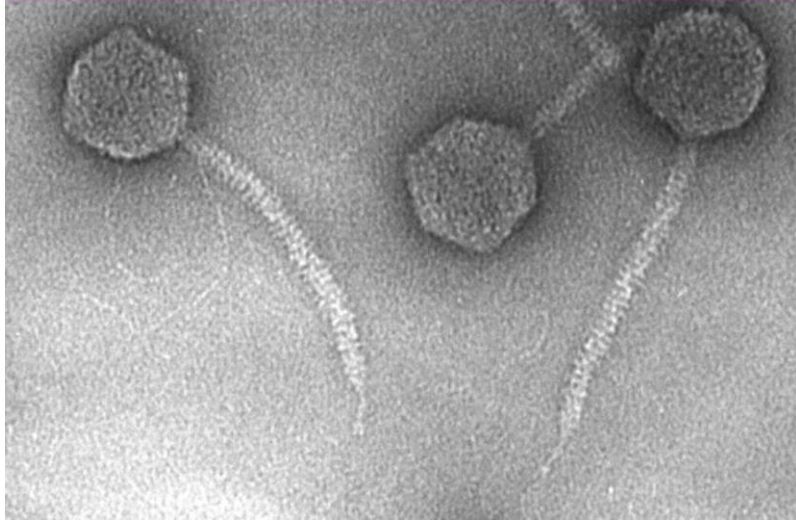
4. 4 Nutrient Agar plates

5. Swab cotton

6. Syringe

7. ظروف التعقيم





## تحضير الراشح الفيروسي

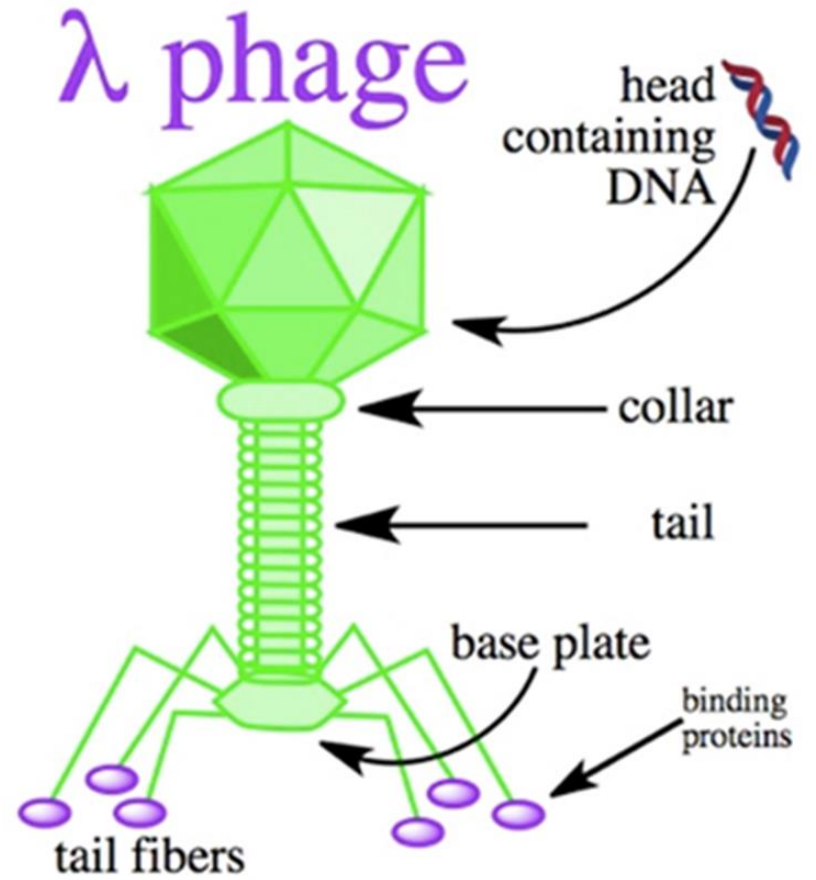
• انبوبة معلق التربة ( 1جم من التربة + 9مل ماء ) يعرض لجهاز Centrifuges 3500

لفة / دقيقة.

• يتم اخذ الرائق بواسطة ابرة ويترك الراسب.

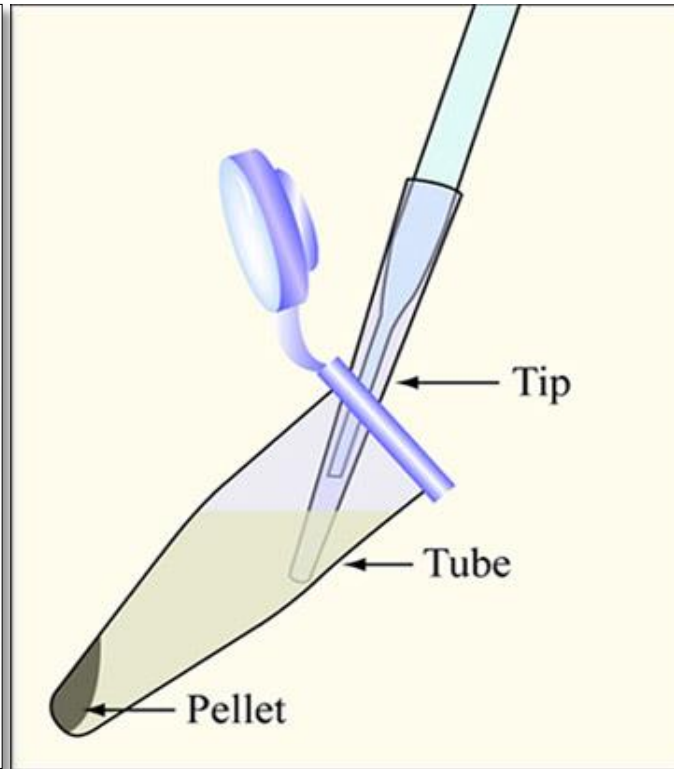
• يرشح الرائق بواسطة Millipore filter لأنبوبة معقمة وبهكذا حصلنا على الراشح.







## طريقة العمل





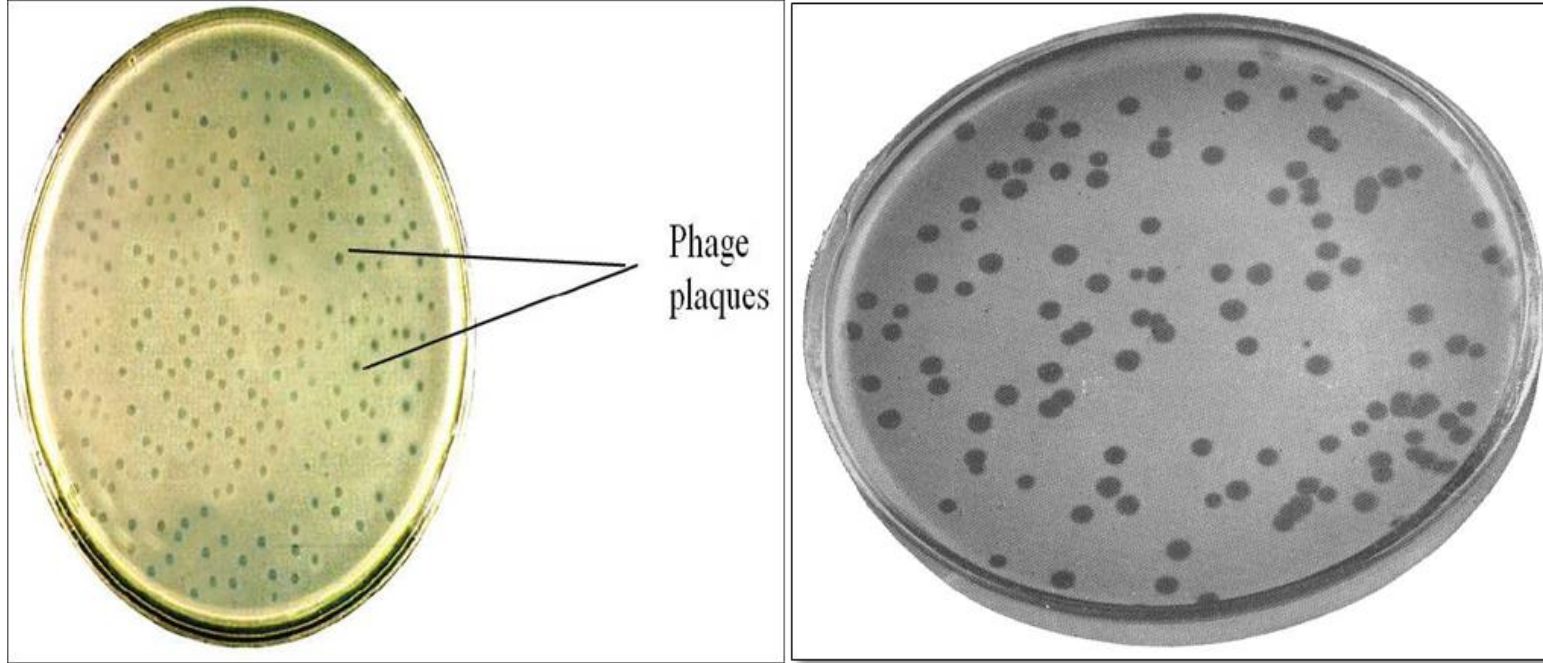
## طريقة العمل:

- 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 الأجار في اماكن متفرقة.
- اخيرا تعاد مرة أخرى الأطباق في الحضان لمدة 24 ساعة.

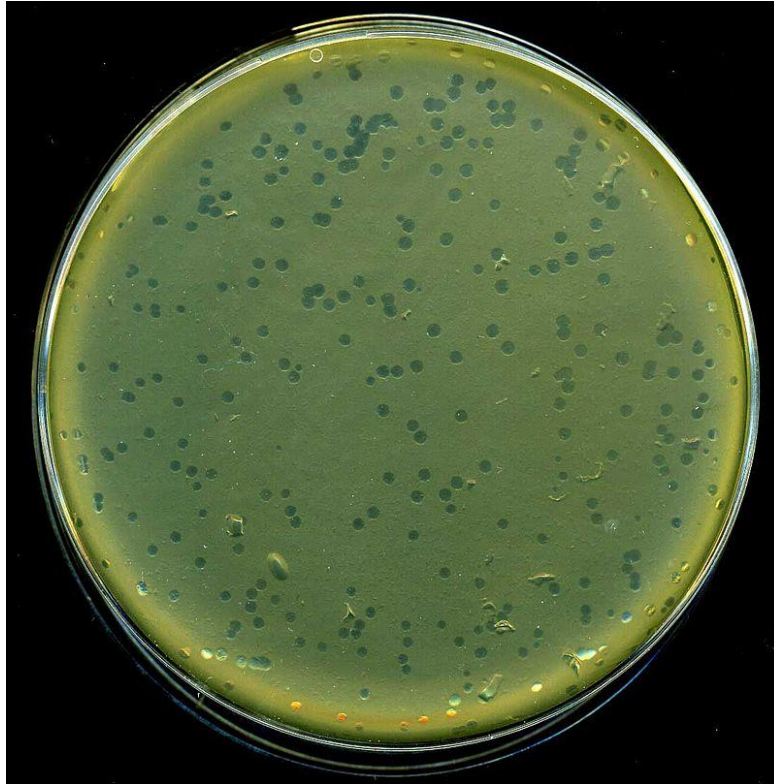


# النتيجة

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



# النتيجة



**Plaques of Lambda Phages on *E. coli***



# نهاية المعمل الخامس

