

# **TBMG7015\_BT MIKROBIOLÓGIAI MÉRŐMÓDSZEREK**

**Heti óraszám: 0+1+3**

**Kredit: 4**

**Megkövetelt előzmény: -**

**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

**Tematika:**

## **1. hét**

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

Gyakorlat: Bakteriális sejtkoncentráció mérése denzitometriával. Spóraszámlálás sejt számláló 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 alkalmazásának bemutatása.

## **5. hét**

Szeminárium: Kísérleti fermentor bemutatása.

Gyakorlat: Fehérjeexpresszió optimalizálása.

## **6. hét**

Szeminárium: Antimikrobiális anyagok biológiai érték meghatározása.

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 bemutatása. Dot blot.

### **9. hét**

Szeminárium: Fehérjék szerkezetének vizsgálati lehetőségei. Vertikális gélelektroforézis. Fehérjeméret 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, Ponceau 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. Számítási feladatok és a jegyzőkönyv konzultációja.

Gyakorlat: PCR termék vektorba illesztése. cDNS könyvtár készítésének alapjai.

### **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

*Érdemjegy javítás:* a gyakorlati anyagból történő beszámolóval lehetséges