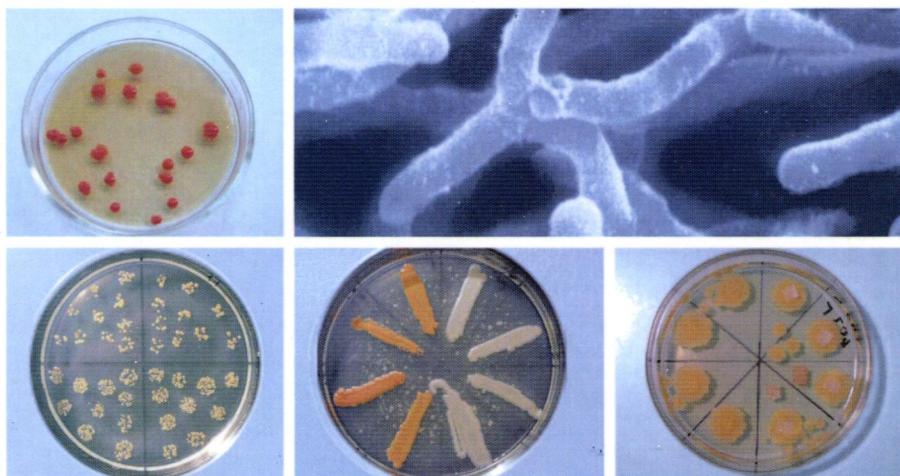


И. Б. Ившина

# БОЛЬШОЙ ПРАКТИКУМ •МИКРОБИОЛОГИЯ•



И. Б. Ившина

# БОЛЬШОЙ ПРАКТИКУМ «МИКРОБИОЛОГИЯ»

*Допущено Учебно-методическим объединением  
по классическому университетскому образованию  
в качестве учебного пособия  
для студентов высших учебных заведений,  
обучающихся по направлению 020400.62 «Биология»  
(профиль «Микробиология»)*



Санкт-Петербург  
2014

УДК 579.2+579.8(57.06)

ББК 28.4

И17

**Рецензенты:**

д-р биол. наук, проф., чл.-корр. РАН

*B. B. Михайлов,*

д-р мед. наук, проф., засл. деят. науки РФ

*Э. С. Горовиц*

**Ившина, И. Б.**

И17

Большой практикум «Микробиология» : учебное пособие / И. Б. Ившина. — СПб. : Проспект Науки, 2014. — 112 с.

ISBN 978-5-903090-97-6

Содержит лабораторные работы по определению систематического положения прокариотных организмов. Описаны методы современной полифазной таксономии. Рассмотрены способы определения хемотаксономических характеристик бактерий (тип клеточной стенки, компоненты свободных полярных и неполярных липидов, чувствительность к антибиотикам и др.). Изложены принципы и методы иммуноцитофлуоресцентного анализа, позволяющие проводить экспрессную идентификацию бактерий на основе их антигенных характеристик. Охарактеризованы уровни таксономического разрешения изложенных методов дифференциации бактерий.

Предназначено для студентов вузов, будет полезно биологам и специалистам в смежных областях знаний.

УДК 579.2+579.8(57.06)

ББК 28.4

ISBN 978-5-903090-97-6

© И. Б. Ившина, 2014

© ООО «Проспект Науки», 2014

# **Содержание**

<b>Список принятых сокращений . . . . .</b>	<b>6</b>
<b>Предисловие . . . . .</b>	<b>7</b>
<b>Введение . . . . .</b>	<b>9</b>
<b>1. Хемотаксономические признаки . . . . .</b>	<b>12</b>
1.1. Хемотип клеточной стенки . . . . .	13
ЗАДАЧА I. Установление хемотипа клеточных стенок коринеформных и нокардиоформных актинобактерий . . . . .	15
Занятие 1. Определение моносахаридного состава гидролизатов целых клеток . . . . .	15
Занятие 2. Определение изомеров диаминолимелиновой кислоты в гидролизатах клеток . . . . .	18
1.2. Липидный состав клеток . . . . .	21
ЗАДАЧА II. Количествоное определение неочищенных суммарных липидов . . . . .	26
Занятие 3. Определение общего содержания липидов гравиметрическим методом . . . . .	26
ЗАДАЧА III. Таксономическая специфичность состава жирных кислот бактериальных клеток . . . . .	27
Занятие 4. Определение свободных жирных кислот у бактерий . . . . .	29
1.3. Свободные миколовые кислоты . . . . .	32
ЗАДАЧА IV. Установление типа миколовых кислот у коринеформных и нокардиоформных актинобактерий . . . . .	34
Занятие 5. Определение свободных миколовых кислот методом тонкослойной хроматографии метанолизатов целых клеток . . . . .	34
1.4. Фосфолипиды бактерий . . . . .	37
ЗАДАЧА V. Таксономическая специфичность фосфолипидов бактериальных клеток . . . . .	39
Занятие 6. Определение типа фосфолипидов актинобактерий . . . . .	39

---

1.5. Менахиноны бактерий . . . . .	42
<b>ЗАДАЧА VI. Таксономическая специфичность менахинонов . . . . .</b>	42
Занятие 7. Выявление менахинонов у актинобактерий . . . . .	42
1.6. Чувствительность к антибиотикам . . . . .	44
<b>ЗАДАЧА VII. Выявление уровня антибиотикочувствительности коринеформных и нокардиоформных актинобактерий . . . . .</b>	46
Занятие 8. Определение чувствительности бактерий к антибиотическим веществам дискодиффузионным методом . . . . .	46
Занятие 9. Идентификация непатогенных актинобактерий на основе анализа антибиограмм с использованием программы <i>Identification</i> . . . . .	49
<b>2. Иммунохимический анализ . . . . .</b>	55
2.1. Иммунодиффузионный анализ . . . . .	56
<b>ЗАДАЧА VIII. Идентификация актинобактерий с использованием иммунодиффузионного метода . . . . .</b>	58
Занятие 10. Идентификация актинобактерий методом двойной иммунодиффузии в агаровом геле по Оухтерлони . . . . .	58
2.2. Иммунофлуоресцентный анализ . . . . .	61
<b>ЗАДАЧА IX. Детекция и идентификация актинобактерий с использованием иммунофлуоресцентного метода . . . . .</b>	67
Занятие 11. Иммуноиндикация нокардиоформных актинобактерий в чистой культуре с помощью непрямого метода флуоресцирующих антител. . . . .	67
Занятие 12. Выявление и дифференциация родококков в составе смешанных популяций непрямым методом флуоресцирующих антител . . . . .	72
<b>Словарь . . . . .</b>	79
<b>Указатель латинских названий . . . . .</b>	90
<b>Рекомендуемая литература . . . . .</b>	92
<b>Приложение 1. Способ получения культур из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов . . . . .</b>	95
<b>Приложение 2. Наборы коллекционных бактериальных культур для обеспечения практических занятий . . . . .</b>	98
<b>Приложение 3. Получение видоспецифических поликлональных иммунных сывороток . . . . .</b>	100

<b>Приложение 4.</b> Количественное определение общего белка по методу Лоури–Фолина . . . . .	102
<b>Приложение 5.</b> Правила работы с дозаторами (пипетками) переменного объема . . . . .	104
<b>Приложение 6.</b> Средства для мытья лабораторной посуды . . . . .	105
<b>Приложение 7.</b> Средства для обработки рабочего стола . . . . .	106
<b>Приложение 8.</b> Обработка предметных стекол . . . . .	106
<b>Приложение 9.</b> Методические инструкции по подготовке исследовательского отчета по лабораторной работе . . . . .	107