

Аннотация курса  
**Большой практикум (Микробиология), часть 2.**  
**Молекулярные методы определения микроорганизмов**  
**к.б.н. Мигунова А.В.**

Бакалавриат, 4 курс, 8 семестр  
(максимум 2 группы по 6 человек, специализирующихся на каф. микробиологии)  
(4 зачетные единицы)

Цель курса - освоение современных молекулярных методов определения микроорганизмов

**Раздел 1.** Выделение ДНК *E.coli* и плазмидной ДНК.

Техника безопасности при работе с объектами исследования.

Методы выделения и очистки ДНК. ПЦР с универсальными и специфическими праймерами. Электрофорез в агарозном геле с бромистым этидием и фиксация результатов.

Специфика плазмидной ДНК. Механизмы устойчивости к антибиотикам. Проблемы возникающие при работе с ампициллином. Приготовление буферных и разрушающих растворов заданной концентрации и рН. Процентность, молярность, нормальность. Рост бактерий и амплификация плазмид. Сбор бактерий и их лизис. Разрушение клеток. Выделение ДНК. Очистка плазмидной ДНК от белков. Электрофорез ДНК в агарозном геле с бромистым этидием. Фиксация результатов.

**Раздел 2.** Трансформация *E.coli*.

Методы позволяющие получить компетентные клетки. Приготовление необходимых растворов, питательных и селективных сред. Получение клеток *E.coli* в логарифмической фазе роста. Трансформация с применением хлористого кальция. Проверка результатов эксперимента выращиванием *E.coli* на диагностических средах.

**Раздел 3.** Белковый электрофорез в полиакриламидном геле (Лаемли-форез).

Методы разрушения исследуемых клеток. Выделение белков и их очистка. Приготовление стоковых растворов, буферов и гелей. Гомогенизация клеток (механическое, химическое, термическое разрушение клеток) и приготовление образцов для фореза. Проведение электрофореза в полиакриламидном геле. Фиксация и интерпретация результатов.

**Раздел 4.** Серологические методы идентификации микроорганизмов. Методы иммунизации лабораторных животных и получения антисывороток. Определение титра антигенов и антител методом агглютинации. Определение серологической идентичности коллекционных штаммов микроорганизмов методом преципитации в агаровом геле по Оухтерлони. Поиск микроорганизмов в пробах методами прямой и непрямой иммунофлуоресценции. Иммуноблоттинг (вестерн-блоттинг)

**Раздел 5.** Фаготипирование на примере безопасной для человека системы вирусов и чувствительных к ним зеленых водорослей сем. *Phycodnaviridae*. Титрование вируса на суспензии чувствительной культуры в жидкой минеральной среде и в полужидком агаре.

**Раздел 6.** Особенности проведения полимеразной цепной реакции.