



Микробиология в XXI веке

Лекция 2

Микроорганизмы и методы их
исследования



ОПТИЧЕСКИЕ ПРИБОРЫ

x300



Микроскоп Левенгука

**1683 год – открытие бактерий
Антонием ван Левенгуком**

ОПТИЧЕСКИЕ ПРИБОРЫ

x1000

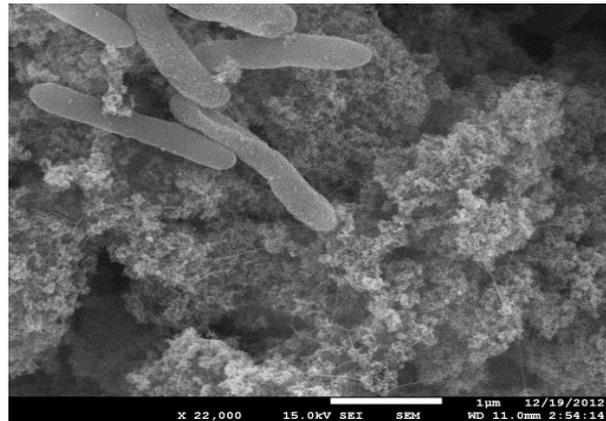
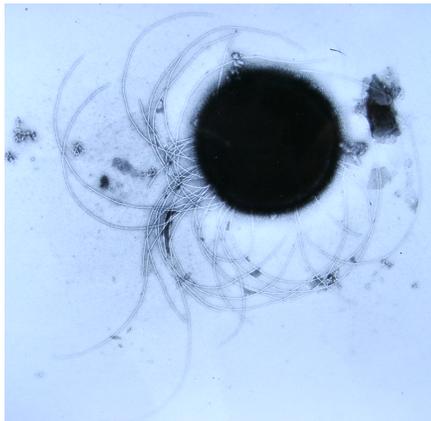
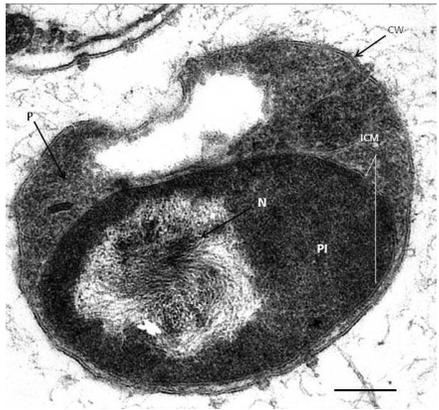
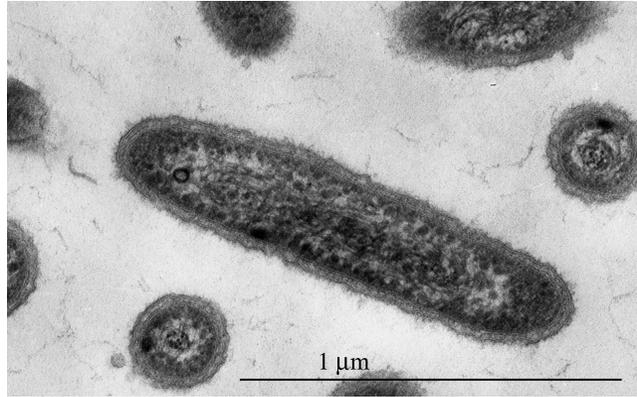
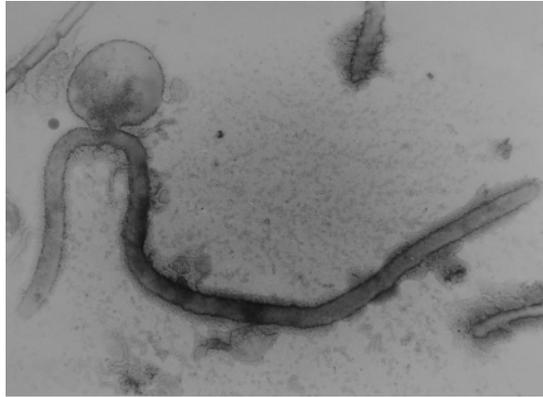


Современный световой микроскоп



Конфокальный микроскоп

ОПТИЧЕСКИЕ ПРИБОРЫ



x40000



Электронные микроскопы – трансмиссионный и сканирующий

Лабораторное культивирование

посев

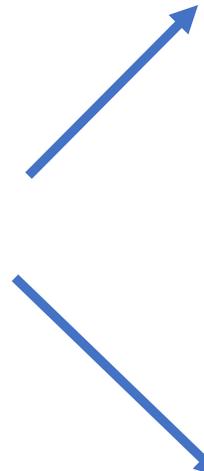
пересев



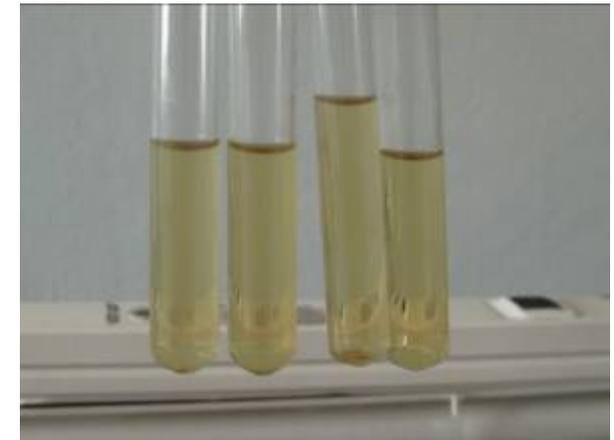
Природная проба



жидкая среда



Твердая среда



жидкая среда

культура

Лабораторное культивирование



- богатая среда – неопределенный набор органических субстратов (мясной бульон, картофельный отвар, молоко)
- синтетическая среда – известный богатый энергией субстрат и источник углерода (например, глюкоза), соли, содержащие биогенные элементы (азот, фосфор, серу), микроэлементы, витамины
- определенная концентрация ионов водорода – pH среды!!!
- перед посевом – стерилизация под ватной пробкой при температуре 120°C

Лабораторное культивирование



Инкубация в термостате при нужной температуре



На качалке, чтобы был лучший доступ кислорода

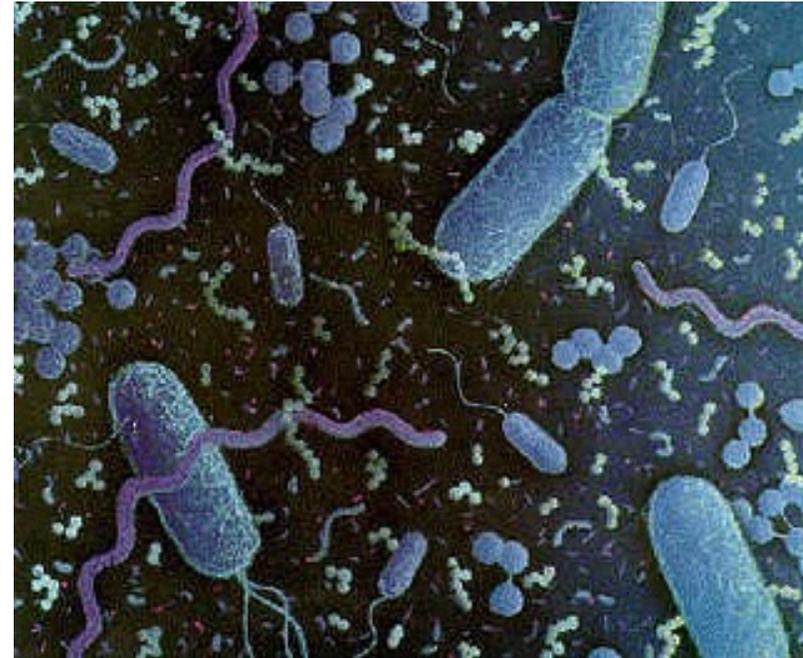


В анаэробном боксе, чтобы исключить доступ кислорода

Лабораторное культивирование



В ферментере с полным контролем всех параметров



Однако под микроскопом вы увидите смесь клеток разного вида

Как их изучать?

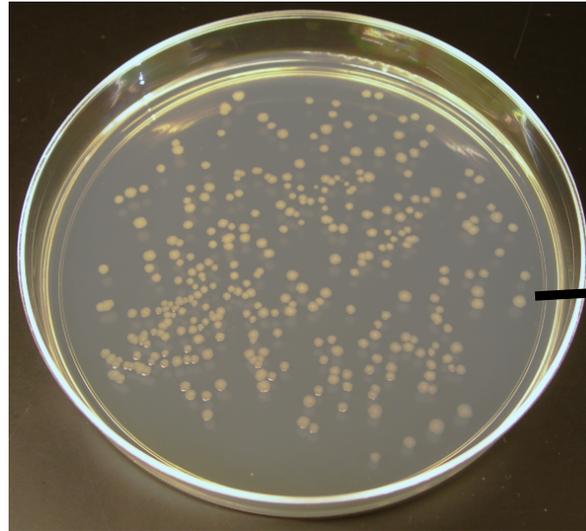
ЧИСТЫЕ КУЛЬТУРЫ

штамм



Роберт Кох

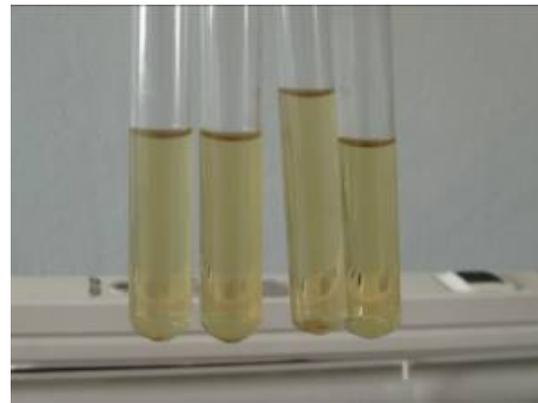
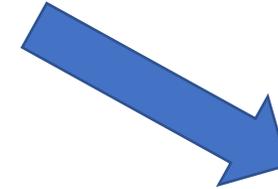
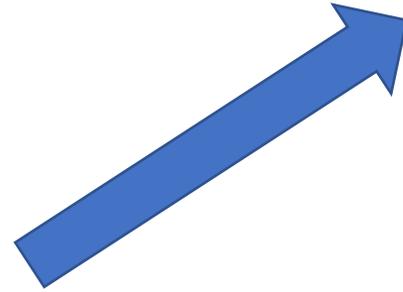
1881 г.: выращивание микроорганизмов на твердых средах → получение колоний
выделение чистой культуры, состоящей из идентичных клеток



ЧИСТЫЕ КУЛЬТУРЫ

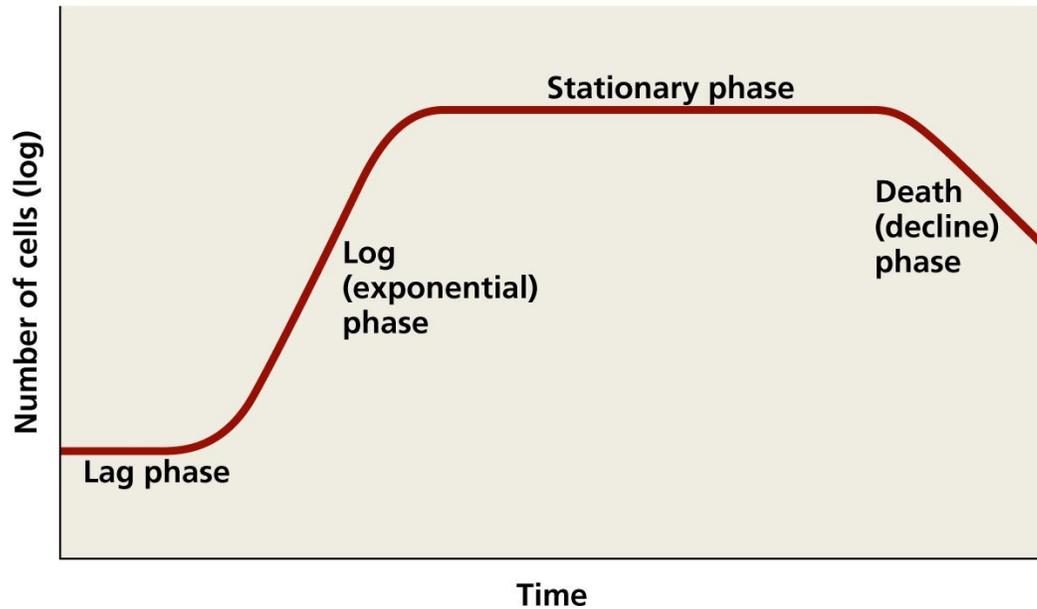


штамм



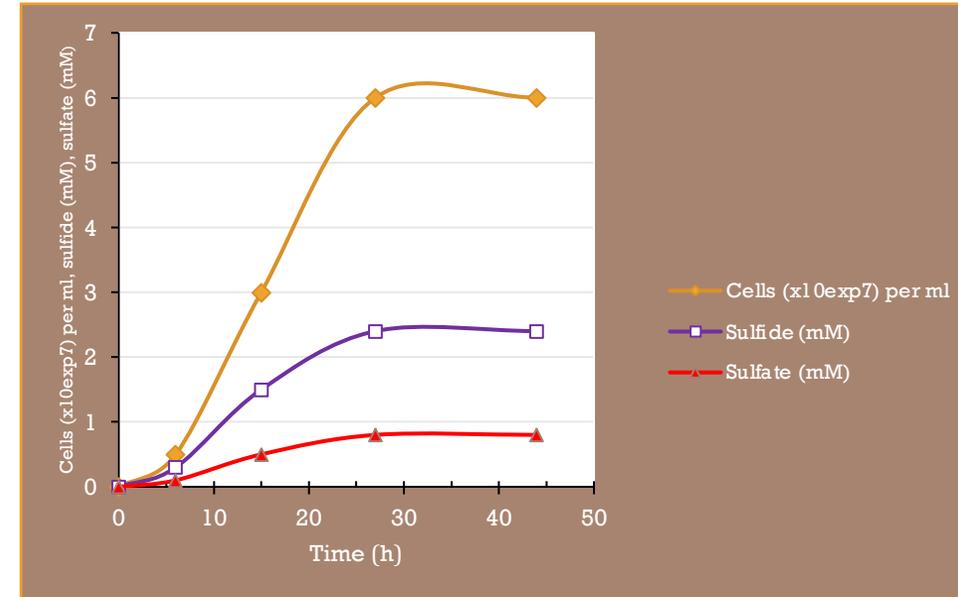
Мы можем вырастить любое количество абсолютно одинаковых клеток и работать с ними как с единым организмом

Рост микроорганизмов



Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Периодическая культура



Thermosulfurimonas dismutans



Рост микроорганизмов – это увеличение их числа

Основная характеристика – скорость деления клеток, которая выражается во времени удвоения числа клеток.

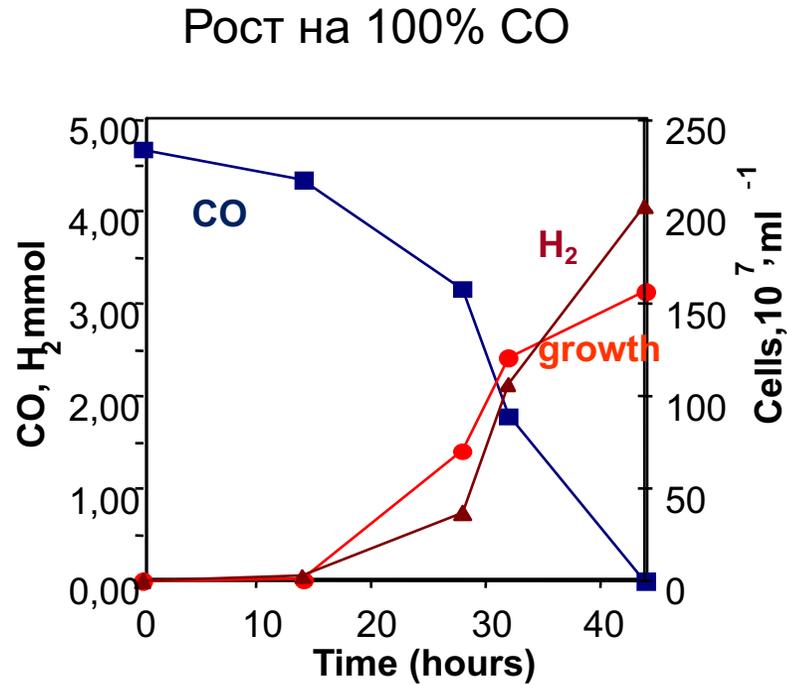
Рост микроорганизмов

Как можно регистрировать рост микроорганизмов?

- Увеличение мутности культуры (OD_{600})
- Прямой подсчет клеток под микроскопом
- Посев на твердую среду и подсчет колоний
- Определение количества белка в культуре

Рост микроорганизмов

Косвенные признаки – потребление субстрата
образование продуктов метаболизма



Анаэробное окисление CO с одновременным образованием водорода из воды



Термофильные бактерии
Гипертермофильные археи

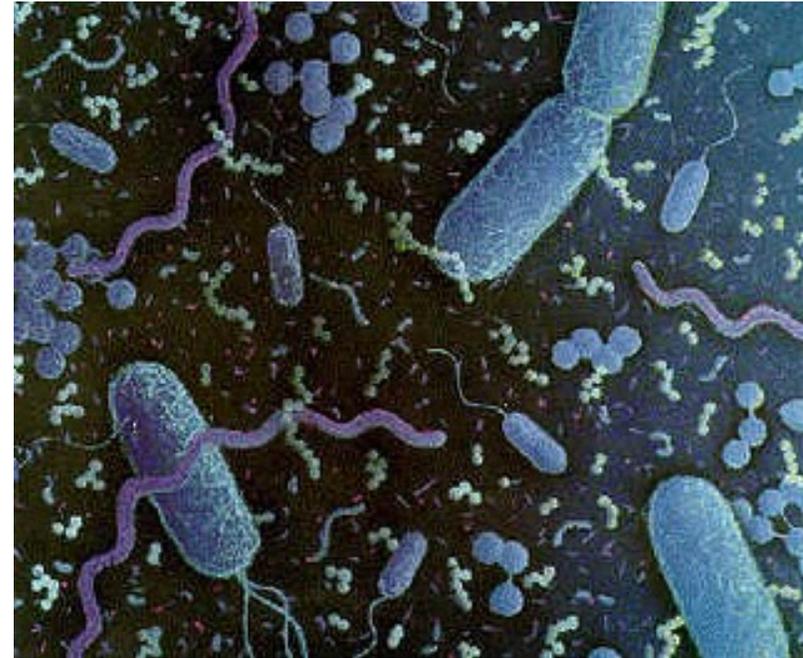
Возможности, которые дала нам техника чистых культур

- Сохранение свойств штамма (пересев культуры, лиофилизация, хранение в жидком азоте)
- Характеристика любых свойств штамма
- Исследование его метаболизма
- Исследование ферментативных активностей
- Анализ ДНК и сравнение штаммов

Лабораторное культивирование



В ферментере с полным контролем всех параметров



Однако под микроскопом вы увидите смесь клеток разного вида

Как их изучать?

НАКОПИТЕЛЬНЫЕ КУЛЬТУРЫ



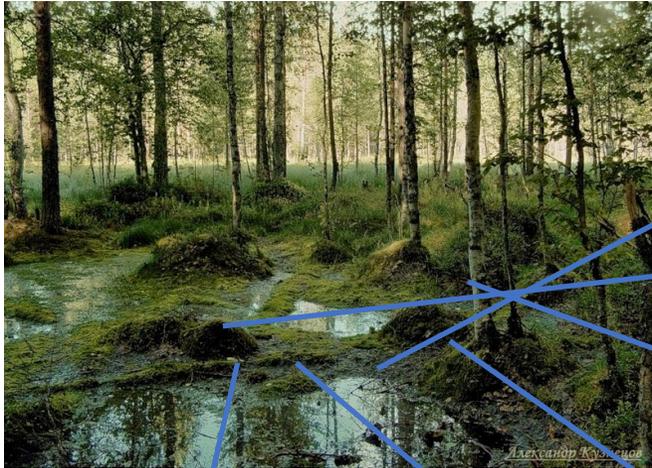
С.Н. Виноградский

Родился в 1853 г. в России
Умер в 1953 г. во Франции

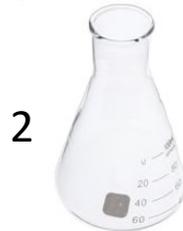
Открыл:

- хемосинтез (использование бактериями энергии неорганических веществ)
- ассимиляцию неорганического азота
- микробиологию окружающей среды (почвы)
- **накопительные культуры**

НАКОПИТЕЛЬНЫЕ КУЛЬТУРЫ



1



2



3



4



5



6

1 – целлюлоза, аэробные условия

2 – целлюлоза, анаэробные условия

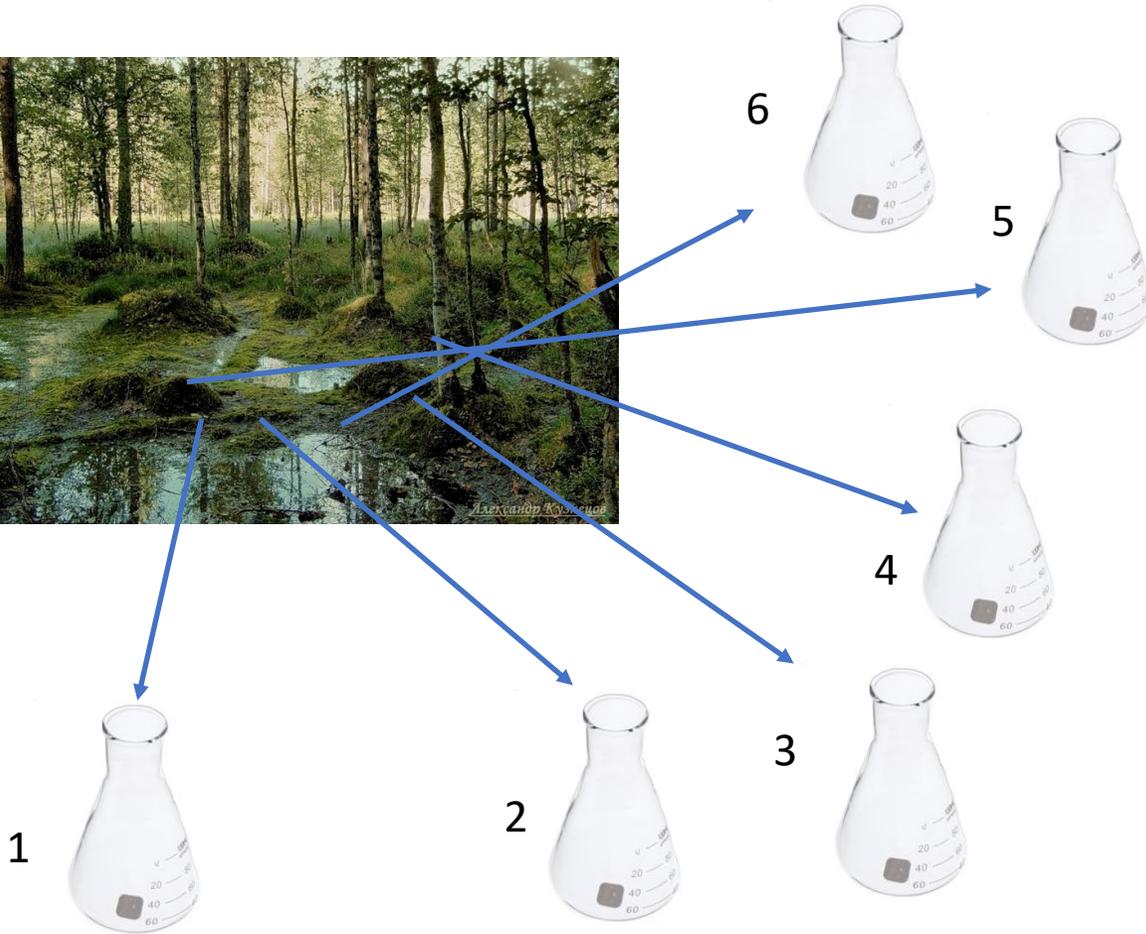
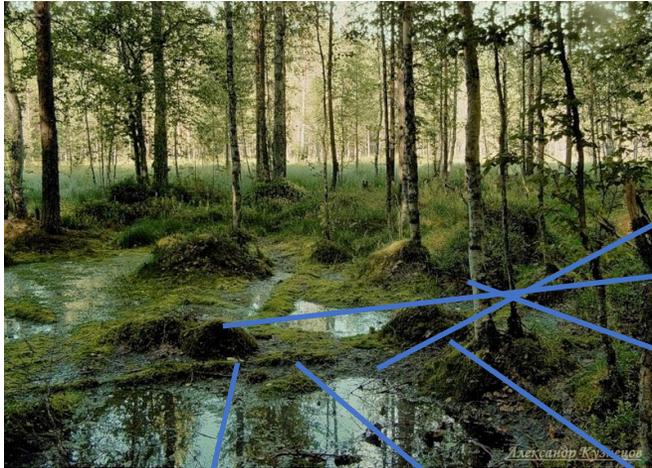
3 – лактат + сульфат, анаэробные условия

4 – ацетат + нитрат, анаэробные условия

5 – восстановленное железо, аэробные условия

6 – $\text{H}_2 + \text{CO}_2$, анаэробные условия

НАКОПИТЕЛЬНЫЕ КУЛЬТУРЫ



1 – целлюлоза, аэробные условия
Аэробные целлюлозолитики

2 – целлюлоза, анаэробные условия
Анаэробные целлюлозолитики

3 – лактат + сульфат, анаэробные условия
Сульфатредуцирующие бактерии

4 – ацетат + нитрат, анаэробные условия
Денитрифицирующие бактерии

5 – восстановленное железо, аэробные условия
Железоокисляющие бактерии

6 – $\text{H}_2 + \text{CO}_2$, анаэробные условия
Метаногенные археи

В последней четверти XX века выяснилось, что:

- Лишь 1% микроорганизмов известен в лабораторных культурах
- Свойства, демонстрируемые чистыми культурами, дают далеко не полную их характеристику

Геномы прокариот

- ДНК располагается в цитоплазме в виде кольцевой хромосомы
- Размер генома у прокариот очень сильно варьирует
- «Гены домашнего хозяйства» («House-keeping genes») – есть у всех
- Функциональные гены
- Гены-маркеры

РАЗМЕРЫ ГЕНОМОВ ПРОКАРИОТ

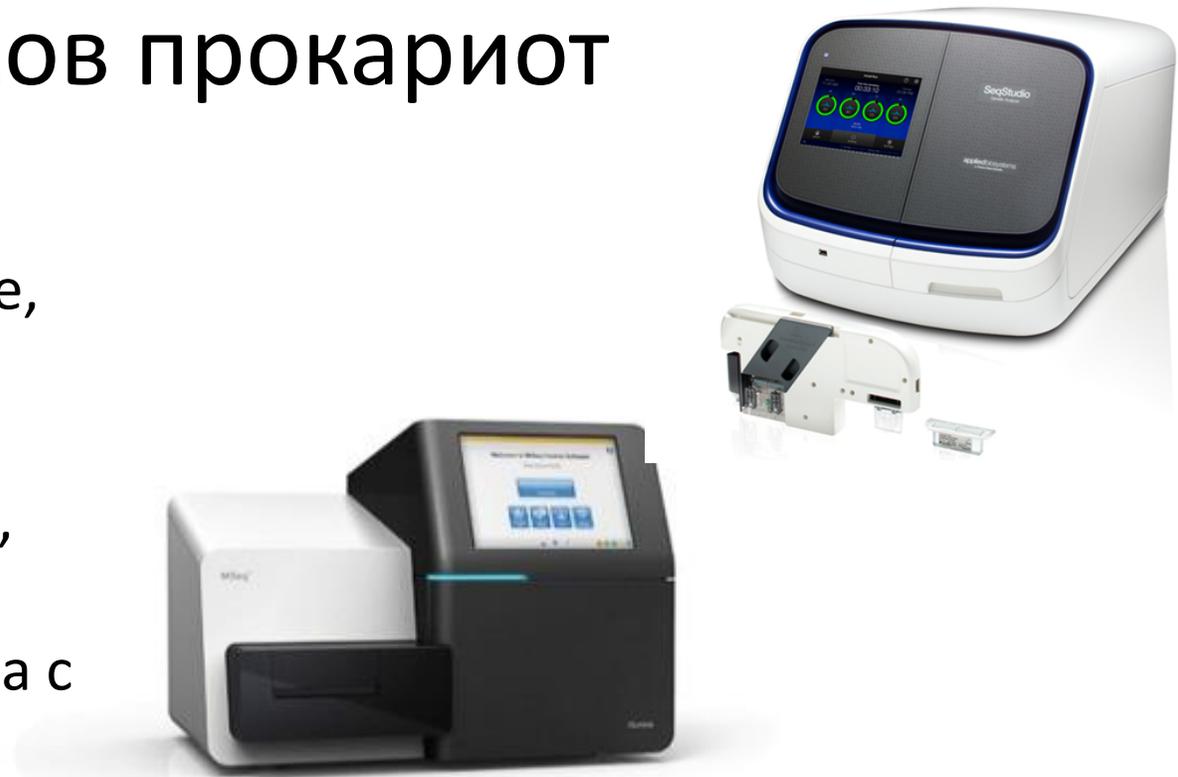
	Наименьший	Наибольший
Вирусы	1.8 Kb	2.47 Mb
Бактерии	112 Kb	13 Mb
Археи	0.5 Mb	5.7 Mb

Геном *E.coli* 4.6 Mb, 4288 генов

Геном человека 3.3 Gb, 20000-30000 генов

Секвенирование геномов прокариот

- Секвенирование по Сэнгеру (капиллярное, медленное, отдельные гены)
- Секвенирование нового поколения (NGS), или высокопроизводительное секвенирование (короткие участки генома с многократным перекрытием)
- Нанопора (вся хромосома целиком, но с ошибками)



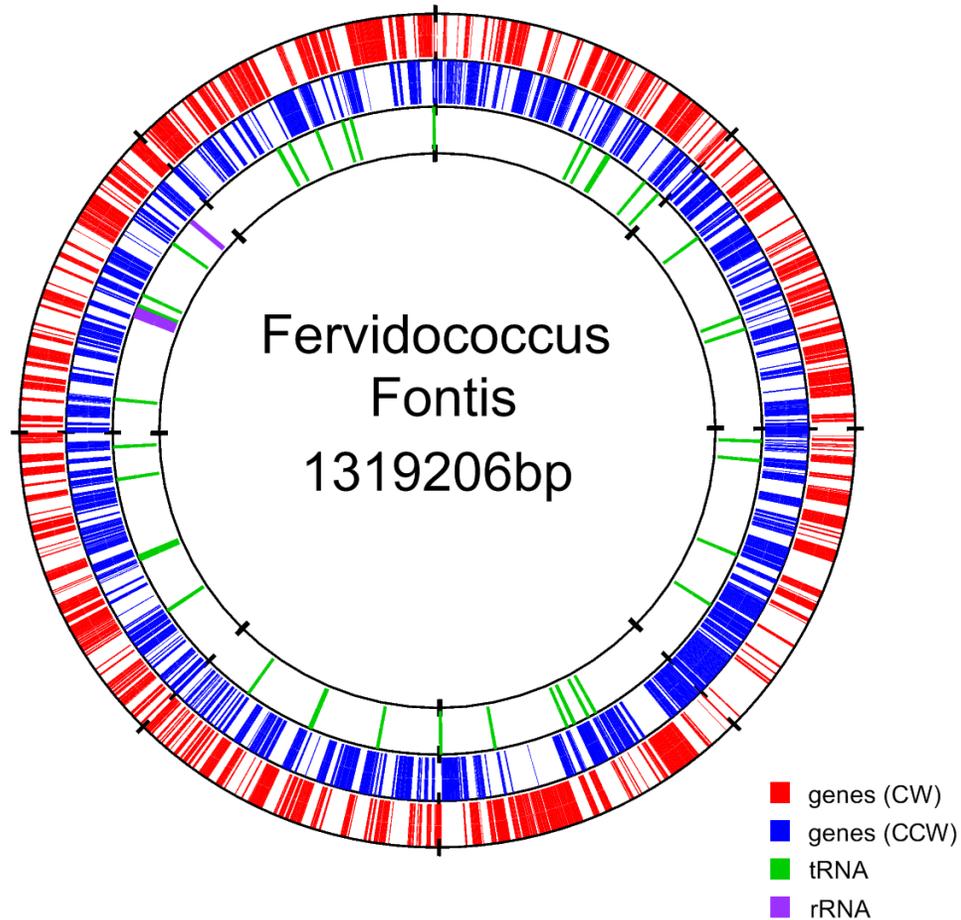
Аннотация генома

С помощью специальных компьютерных программ устанавливаются:

- Границы генов
- Функции отдельных генов

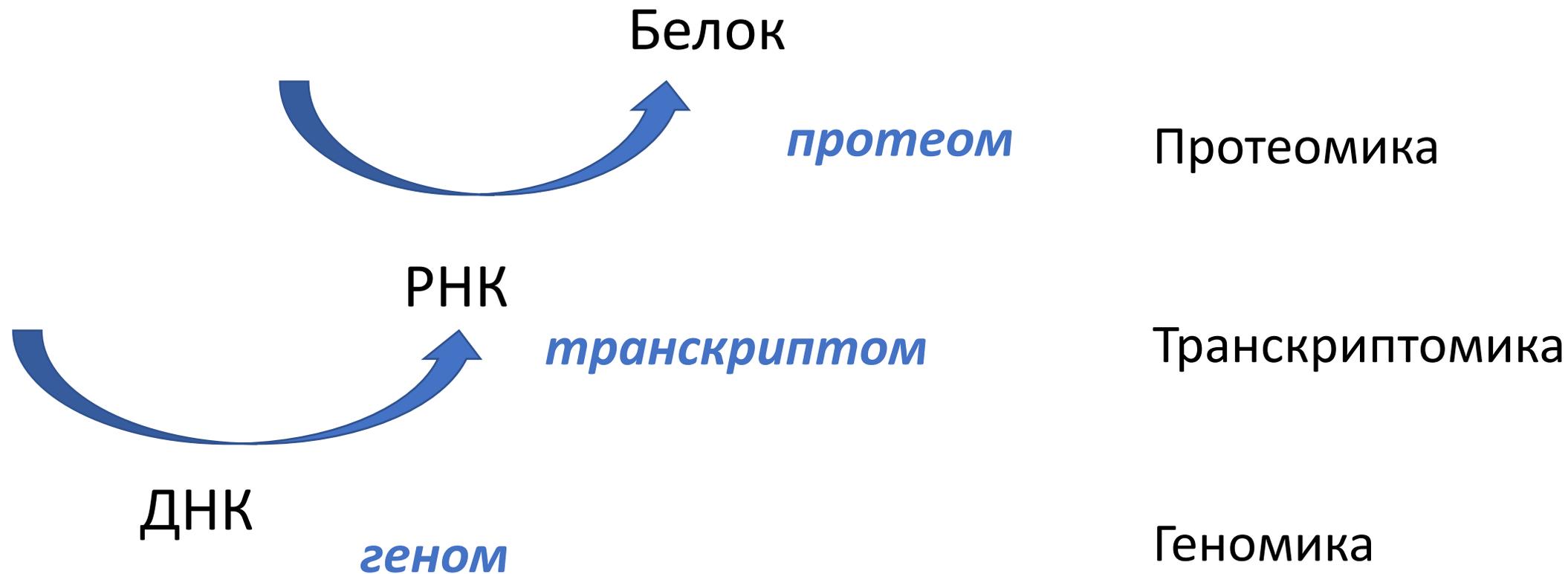
Функции генов устанавливаются по аналогии с генами из баз данных, для которых эти функции известны. Для того, чтобы уверенно приписать какому-то гену некую функцию, сходство аминокислотной последовательности кодируемого им белка с известным белком должно быть на уровне 50%.

Fervidicoccus fontis



Size:	1.3 MB
Protein-encoding genes	1407
Number of genes having homologs in GenBank:	1007
New genes with unknown functions	430
Unique genes	351

-ОМИКИ (-OMICS)



АНАЛИЗ ПРИРОДНЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ

КТО ТАМ ЕСТЬ?



ЧТО ОНИ ДЕЛАЮТ?

Профиль генов
16S рРНК

Метагеном

ДНК
РНК
Белки

Профили
функциональных генов

Метатранскриптом

Метапротеом