BAKTEERIEN TUNNISTAMINEN

**TAUSTAA**

Työn tarkoituksena on perehtyä siihen, miten eri bakteerilajeja voidaan tunnistaa niiden biokemiallisten ominaisuuksien perusteella. Ennen työtä otetaan sopiva bakteerinäyte esimerkiksi iholta tai hengitysteistä. Bakteereja kasvatetaan yön yli ja maljoilta valitaan bakteeripesäkkeitä lähempään tarkasteluun.

Bakteerit voidaan jaotella niiden soluseinän rakenteen perusteella gram-positiivisiin ja gram-negatiivisiin. Gram-positiivisten bakteerien soluseinässä on monta päällekkäistä kerrosta peptidoglykaania. Sen sijaan gram-negatiivisilla peptidoglykaania on vain yksi kerros, mutta sen ulkopuolella on vielä toinen solukalvo. Värjäyksessä gram-positiiviset värjäytyvät violetiksi ja gram-negatiiviset vaaleanpunaisiksi.

Lisäksi työssä bakteereja luokitellaan kolmen entsyymiaktiivisuuden perusteella. Jotkin mikrobit pystyvät hajottamaan tärkkelyksessä olevaa amylaasia, mikä voidaan todeta jodilla, joka värjää tärkkelyksen violetiksi. Katalaasiaktiivisuustyössä tutkitaan, onko bakteerilla vetyperoksidin hajottamiseen tarvittavaa katalaasia. Oksidaasityössä taas tutkitaan, onko bakteereilla soluhengityksen elektroninsiirtoketjussa sytokromi c –entsyymiä.

**POHDITTAVAKSI ENNEN TYÖTÄ**

* Millä tavoilla bakteereita voidaan luokitella?
* Missä järjestyksessä eri työt kannattaa tehdä?
* Miksi bakteereita käsiteltäessä on kiinnitettävä huomiota aseptiseen (=puhtaaseen) työskentelyyn?

**TARVIKKEET**

* Gram-värjäyssarja ja työohjeet: <http://blogs.helsinki.fi/biopop-keskus/files/2015/09/gram_varjays_biopop.pdf>
* Katalaasityön välineet ja työohjeet: <http://blogs.helsinki.fi/biopop-keskus/files/2015/10/katalaasi_biopop.pdf>
* Amylaasityön välineet ja työohjeet: <http://blogs.helsinki.fi/biopop-keskus/files/2015/11/Amylaasi.pdf>
* Oksidaasityön välineet ja työohjeet: http://blogs.helsinki.fi/biopop-keskus/files/2016/05/oksidaasi\_biopop.pdf
* Bakteerimaljoja ja niille viljeltyjä bakteereja

**TYÖTURVALLISUUS**

Työssä käsitellään mikrobeja, joten työtakkia, suojalaseja ja suojahanskoja on käytettävä koko työn ajan. Juominen ja syöminen ei ole sallittua laboratoriossa! Muista pestä kätesi, kun poistut laboratoriosta. Mikrobit voidaan hävittää autoklavoimalla tai viemällä ne tappoliuokseen. Kaikki mikrobeja sisältävä jäte kerätään erikseen talteen ja tapetaan ennen hävittämistä. Työskentele varovaisesti kaasuliekin kanssa! Sammuta liekki aina, kun et tarvitse sitä.

**TYÖOHJE**

Tehtävänäsi on tunnistaa työssä käytettävät bakteerit gram-värjäyksen sekä amylaasi-, katalaasi- ja oksidaasiaktiivisuuden perusteella. Kustakin näistä työstä löydät erillisen työohjeen työpisteellä. Voit tehdä kokeet haluamassasi järjestyksessä. Tee kuitenkin amylaasiaktiivisuuskoe viimeiseksi, sillä sen jälkeen et voi enää käyttää maljalla olevia mikrobeja.

Työssä käytettävät mikrobit on valittu taulukossa olevista yhdeksästä mikrobikannasta:

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Bakteerin nimi | Kanta | Pesäkkeen ulkonäkö | Muoto | Gram | Amylaasi | Katalaasi | Oksidaasi |
| Bacillus subtilis | ATCC 4944 | Iso, harmahtava, rosoinen | Iso sauva | + | + | + | + |
| Bacillus megaterium | Vanha kokoelma | Iso, harmahtava, rosoinen | Iso sauva | + | + | + | - |
| Bacillus cereus | ATCC 10987 | Iso, harmahtava, rosoinen | Iso sauva | + | - | + | - |
| Escherichia coli | ATCC 11303 | Iso, harmaa, kiiltävä | Lyhyt, pieni sauva | - | - | + | - |
| Micrococcus luteus | DSM 20030 | Pieni, kirkkaankeltainen | Kokki, kuutiomuodostelmat | + | - | + | - |
| Pseudomonas aeruginosa | ATCC 10145 | Vihreänharmaa / sinivihreä, pigmentti liukenee | Sauva | - | - | + | - |
| Pseudomonas fluorescens | ATCC 13525 | Iso, kellanharmaa, kiiltävä | Sauva | - | - | + | + |
| Staphylococcus aureus | DSM 20231 | Pieni, kellertävä, tasaisesti pyöreä | Kokki | + | - | + | - |
| Streptococcus mutans | UAB90 | Pieni, pyöreä, sileä | Kokki, usein ketjuissa | + | + | - | - |

**POHDITTAVAKSI TYÖN JÄLKEEN**

* Voiko Gram-värjäyksen jälkeen päätellä bakteerien todellisen koon tai muodon?
* Oliko tuloksesi selkeä? Mistä mahdolliset ongelmat voisivat johtua?
* Mitä tarkoitetaan mikrobin puhdasviljelmällä?
* Ota selvää, mitä muita mikrobien määritysmenetelmiä on olemassa.
* Mitä amylaasi- ja katalaasientsyymit tekevät? Mikä merkitys on oksidaasilla?