



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم و فناوری های زیستی، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی
و میکروبیولوژی، آزمایشگاه میکروبیولوژی



آزمایشگاه زیست سلولی باکتریها

رنگ آمیزی دانه های متاکروماتیک

1

زمینه ی نظری

2

بسیاری از میکروارگانیزمها فسفات غیرآلی PO_4^{3-} را به شکل گرانولهای پلی فسفات ذخیره می کنند. این گرانولها می توانند تجزیه شده و به عنوان منابع فسفات برای بیوسنتز نوکلئیک اسید و بیوسنتز فسفولیپید مورد استفاده قرار گیرند و در برخی ارگانیزمها نیز می توانند برای تولید ترکیب پرانرژی ATP به کار روند.

فسفات در محیط های طبیعی اغلب ماده ی مغذی محدود کننده است. بنابراین، در صورتی که سلولی بر حسب اتفاق در وفور فسفات قرار گیرد، توانایی ذخیره ای آن به عنوان پلی-فسفات برای استفاده های بعدی سودمند خواهد بود.

بعضی از باکتری ها مواد فسفات را به صورت مواد پلی فسفات ذخیره می کنند که به آنها دانه های ولوتین یا دانه های متاکروماتیک گفته می شود؛ که در واقع پلی مر خطی ارتو فسفات با پیوندهای استری هستند. این دانه ها با رنگ تولوئیدن بلو یا متیل آبی رنگ آمیزی می شوند و به رنگ بنفش تا قرمز در می آیند. از آنجایی که این دانه ها قادرند رنگ ماده رنگی را تغییر دهند لذا به آنها متاکروماتیک می گویند (متاکرومازی = تغییر رنگ)؛ زیرا این باکتری متیلن بلو را به رنگ قرمز یا نوع متفاوتی از آبی تبدیل می کند. دانه های متاکروماتیک به شدت رنگ پذیر هستند و از آنجایی که این دانه ها معمولا در دو قطب سلولی باکتری وجود دارد لذا به آنها دانه های قطبی نیز گویند.

ترکیب شیمیایی دانه‌های ولوتین در باکتری‌های مختلف متفاوت می‌باشد و معمولاً از متافسفات پلی‌مریزه با RNA، لیپید و پروتئین تشکیل شده است.

از جمله باکتری‌های مهم بیماری‌زا که دارای دانه‌های متاکروماتیک هستند می‌توان به کورینه باکتریوم دیفتریا اشاره نمود. این باکتری طی شرایط استرس محیطی و کاهش میزان فسفر محیط از این دانه‌ها استفاده می‌نماید. منبع فسفات برای ساخت ATP، اسید نوکلئیک، فسفو لیپید مورد استفاده قرار می‌گیرد. در واقع هدف اصلی از ذخیره‌ی دانه‌های فسفات در باکتری تولید انرژی می‌باشد. از لحاظ کلی منبع فسفات یکی از منابع محدود در محیط می‌باشد و هنگامی که مقداری فسفر در محیط یافت شود باکتری‌هایی که توانایی تولید ولوتین را در خود دارند شروع به ذخیره‌ی آن می‌کنند و به نوعی می‌توان گفت که این باکتری‌ها قدرت بیشتری برای زیستن دارا می‌باشند و ذخیره‌ی فسفات یک نوع مکانیسم بقا به حساب می‌آید.

برخی از گرانول های ذخیره ای به صورت آزاد در سیتوپلاسم هستند و برخی در پوششی از پروتئین و فسفولیپید؛ دانه های پلی فسفات از گرانول هایی هستند که به صورت آزاد در سیتوپلاسم وجود دارند.



رنگ آمیزی به روش آلبرت

Demonstration of the bacilli is only indicative of the possible presence of *Corynebacterium diphtheriae* in the specimen.

Culture is confirmatory.

مواد و وسایل

➤ ۱- کشت باکتری کورینه باکتریوم

➤ ۲- محلول آلبرت A

➤ ۳- محلول آلبرت B

رنگ آمیزی به روش آلبرت

مواد لازم: رنگ آلبرت

آلبرت A: مالاشیت سبز- الکل ۹۵٪- اسید استیک گلاسیال- تولوئیدین بلو

رنگ ها را در الکل حل نموده سپس به آن مقداری آب مقطر و اسید استیک گلاسیال اضافه نموده و در نهایت مابقی آب مقطر اضافه می شود. رنگ تهیه شده را ۲۴ ساعت انکوبه نموده و پس از فیلتر نمودن استفاده می کنیم.

محلول لوگل: یدور پتاسیم - ید:

در مقدار کمی از آب مقطر، ید و یدور را کاملاً حل نمایید، بعد با آب مقطر حجم را به ۳۰۰ میلی لیتر می رسانیم

شرح آزمایش

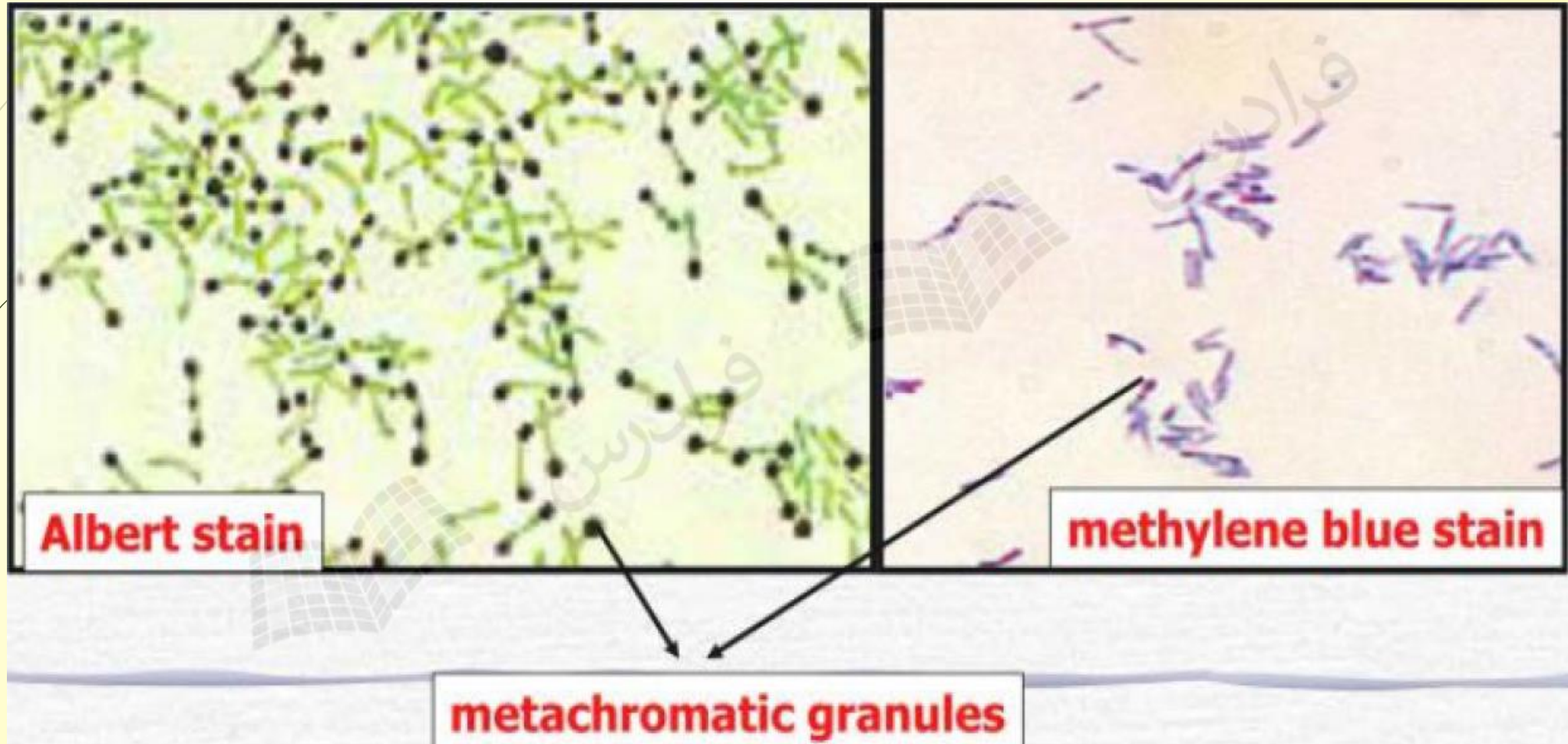
9

- به طور معمول از باکتری‌های جنس کورینه باکتریوم جهت رنگ آمیزی دانه‌های متاکروماتیک استفاده می‌شود.
- ۱- ابتدا فروتی را تهیه کرده و فیکس می‌کنیم.
- ۲- رنگ آلبرت A را به مدت ۵ دقیقه روی لام می‌ریزیم.
- ۳- لام را شستشو می‌دهیم.
- ۴- رنگ آلبرت B را به مدت ۱ دقیقه روی لام قرار می‌دهیم.
- ۵- لام را شستشو داده، خشک کرده و زیر میکروسکوپ می‌بینیم.

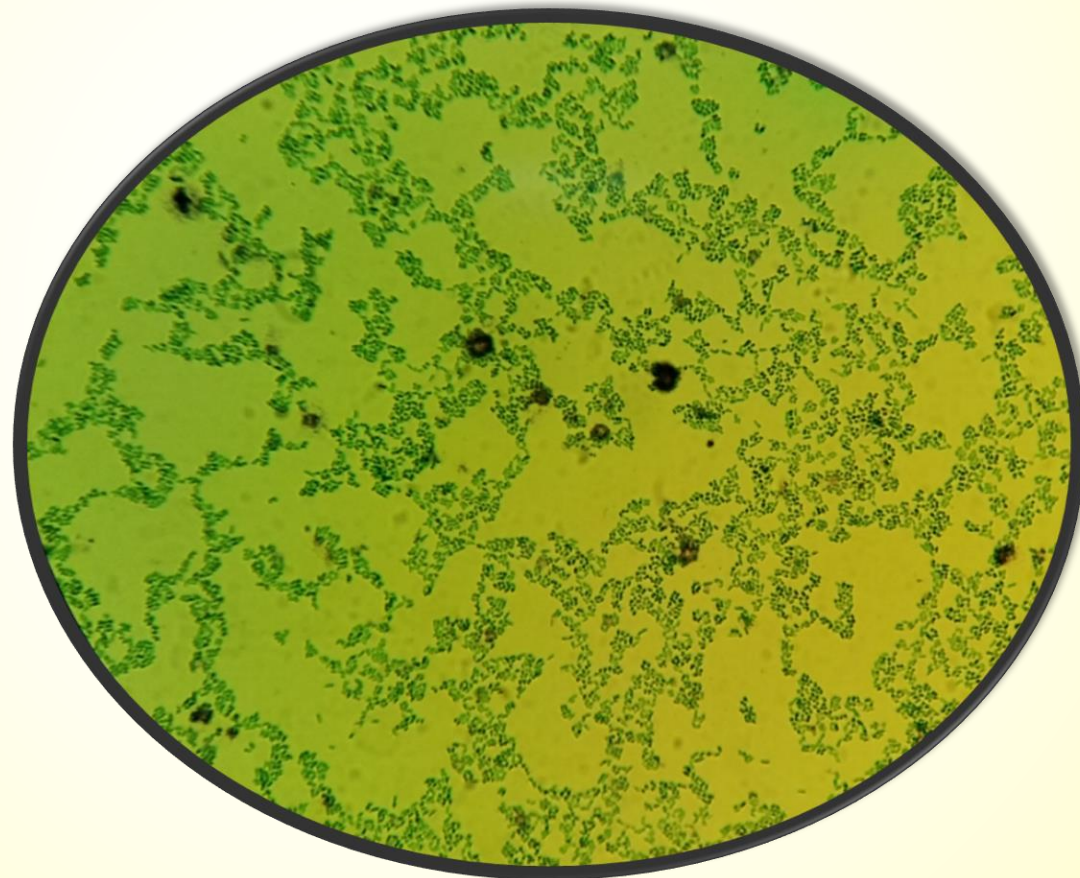
نتیجه گیری :

▶ باکتری‌ها را به رنگ سبز کم رنگ و دانه‌های متاکروماتیک را به صورت برجسته با رنگ بنفش که به طور معمول در دو سر یا انتهای باکتری وجود دارد، مشاهده می‌کنیم.

دانه های متاکروماتیک



دانه های متاکروماتیک در کورینه باکتریوم گلوتامیکوم



تهیه کننده : سهیلا عباسی

رنگ آمیزی به روش نایسر

13

مواد لازم:

رنگ نایسر:

محلول A: متیلن بلو، اتانول ۹۵٪، گلاسیال استیک اسید، آب مقطر
محلول B: کریستال ویوله، اتانول ۹۵٪، آب مقطر

برای تهیه رنگ نایسر دو محلول A و B را با هم مخلوط می کنیم.

محلول دوم: محلول بیسمارک ۲٪ آب مقطر

رنگ آمیزی به روش نایسر

14

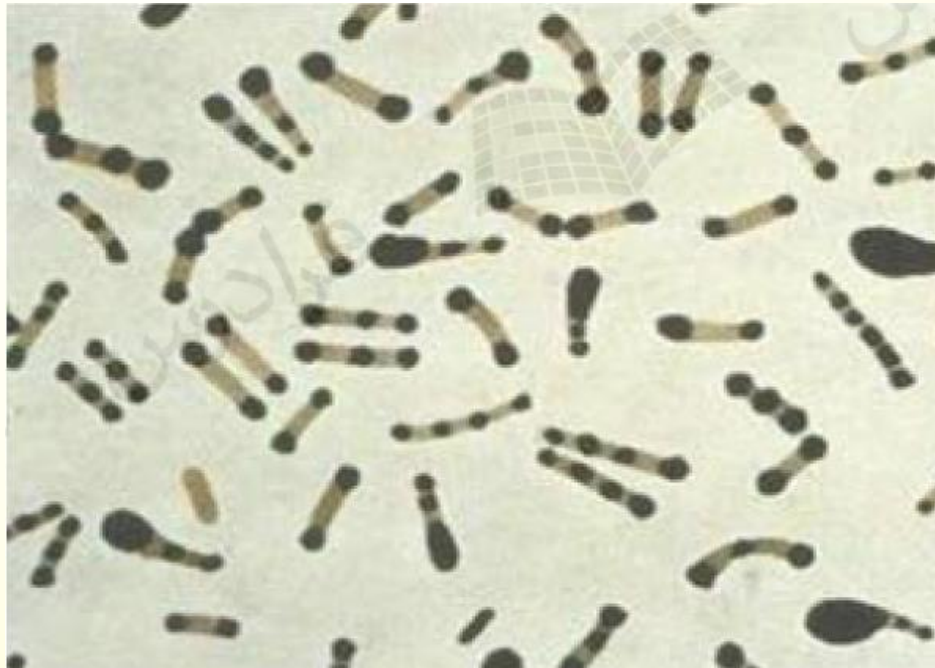
روش انجام آزمایش:

- گسترشی از کورینه باکتوریوم تهیه می کنیم.
- صبر کنید تا گسترش خشک شود سپس با حرارت آن را ثابت می کنیم.
- با رنگ نایسر به مدت ۱۰ ثانیه گسترش را پوشانده و سپس با آب شستشو می دهیم.
- با محلول ۲٪ بیسمارک به مدت ۳۰ ثانیه گسترش را می پوشانیم.
- لام را با آب شسته و صبر کنید تا خشک شود.
- با عدسی ۱۰۰ میکروسکوپ مشاهده می کنیم.

رنگ آمیزی به روش نایسر

نتیجه:

در این روش دانه های کروماتیک به رنگ آبی تیره و باکتری ها به رنگ قهوه ای مشاهده می شود.

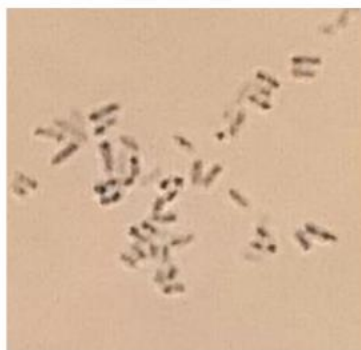



تهیه کننده : سهیلا عباسی

رنگ آمیزی به روش نایسر



تهیه کننده : سهیلا عباسی



A photograph taken from the interior of a cave, looking out through a large opening. On the left side of the opening, a waterfall flows down a rocky ledge. The rest of the view is dominated by a dense forest of tall, thin trees with vibrant green foliage. The cave's interior is dark and textured, with the ground in the foreground appearing to be a mix of sand and small rocks. The overall scene is serene and natural.

از حسن توجه شما سپاسگزارم