

Laboratori virtual: Assaig sobre bacteriòfags

Guia didàctica

Entra a la pàgina següent d'internet i segueix les instruccions per tal de fer l'experiment proposat.

- <http://amrita.vlab.co.in/?sub=3&brch=76&sim=719&cnt=1337>

OBJECTIUS:

- Demostrar la capacitat de replicació d'un bacteriòfag dins d'una cèl·lula hoste.
- Determinar la concentració del bacteriòfag en una suspensió.

PROCEDIMENT:

Segueix les instruccions una a una. Hauràs de traduir de l'anglès i parar el ritme del procés si et cal.

QÜESTIONS :

1. Escribeu en català un protocol resumit de l'experiment. Escribeu frases curtes, fes dibuixos o un esquema per cada un dels passos rellevants.
2. Indica:
 - a) Quines són les tres parts més importants de l'experiment?. Què s'obté en cada una d'elles?

Primera part : Dilució en sèrie de la mostra inicial del bacteriòfag, ja que volem saber quina és la seva concentració inicial. Al final s'obté un tub d'assaig on la concentració inicial de bacteriòfags ha estat diluïda 10^{10} vegades.

Segona part: Agafem 10 tubs d'assaig amb medi nutritiu tou i els hi afegim una quantitat petita coneguda del bacteri *Escherichia coli*, bacteri que servirà d'hoste per aquest virus.

Tercera part: Afegim el contingut de bacteriòfags d'un dels tubs de la sèrie diluïda, obtinguts a la primera part de l'experiment a un dels tubs que conté *Escherichia coli*. Ho mesquem bé i aboquem aquest contingut en una placa de Petri i la incubem a 37 °C durant 24h. Observem al microscopi i comptem el número de colònies bacterianes infectades i lisades pel virus.

- b) Quina diferència hi ha entre una micropipeta i una pipeta Pasteur?
- c) Per què és necessari passar la boca dels tubs d'assaig per la flama?

Per tal que no es contaminin amb microorganismes de l'ambient.

- d) Al final de l'experiment es compta el número de colònies a cada placa de Petri . Cada colònia bacteriana ha estat lisada pel bacteriòfag i per tant representa un determinat número de bacteriòfags capaç de matar una colònia bacteriana (PFU). Compta el número de PFUs a una de les plaques de Petri obtingudes.
- e) Si posem a una placa de Petri 0.1 ml del tub que conté el bacteriòfag en una dilució de 10^{-6} i al final de l'experiment comptem 48 PFU a la placa de Petri, quantes PFU hi ha en 1 ml de suspensió?

Al posar 0.1 ml hem comptat 48 PFU, per tant si haguéssim posat 1 ml hauríem comptat 480 PFU. A més, hem utilitzat un tub d'assaig que contenia el bacteriòfag, però en una concentració de 10^{-6} respecte a la seva concentració inicial. Per tant, si haguéssim utilitzat els bacteriòfags en la seva concentració inicial haguéssim obtingut el següent número de PFUs:

$$480 \times 10^6 = 480 \cdot 10^6 \text{ PFUs per ml}$$

Es a dir, a la suspensió inicial de bacteriòfags hi havia un número d'unitats de fag equivalent a aquell amb capacitat de lisar 480 colònies bacterianes. Si haguéssim obtingut un valor de $480 \cdot 10^9$ PFUs per ml significaria encara més càrrega viral i infecciosa a la suspensió de bacteriòfags inicial.