

TIME-LAPSE KÉPALKOTÁS ÉS SZÁMÍTÓGÉPES KÉPELEMZÉS AZ ÉLŐ RENDSZEREK DINAMIKÁJÁNAK VIZSGÁLATÁBAN

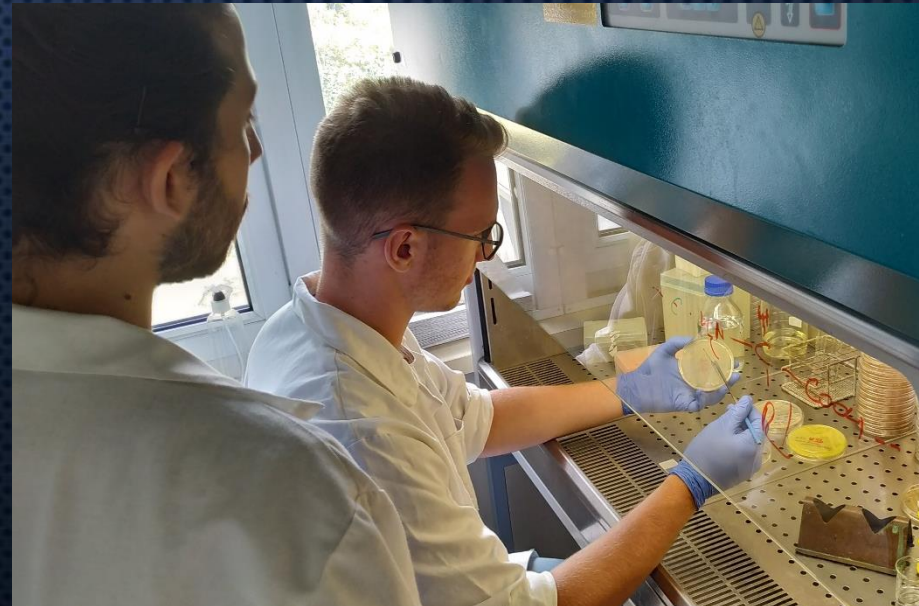
TÉMAVEZETŐ: DR. NAGY-SZEMÁN GÁBOR

DE – TTK Nyári Tábor
2021. 08. 23-28.

Készítette: Szolyka Levente

BEVEZETÉS

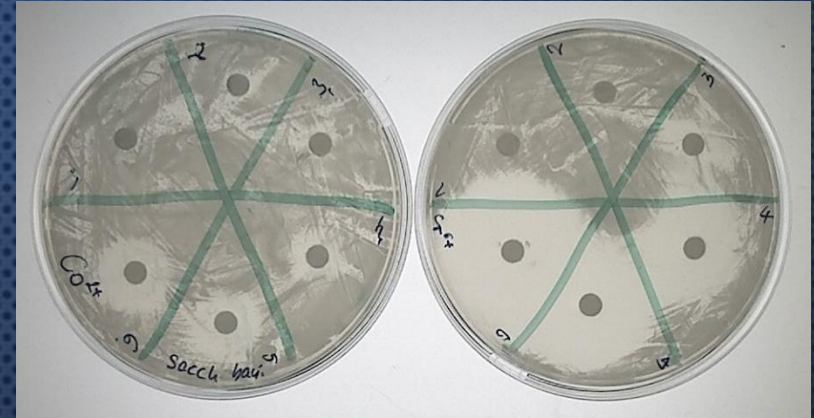
- Vizsgálataim azt a célt szolgálják, hogy összeállítsunk egy távelérési tesztrendszert, biotechnológiai és orvos diagnosztikai célokra, az antimikrobiális hatások gyors vizsgálatára.
- A kutatás során célunk az antibiográfiás- és nehézfém-tolerancia tesztek idő-és költség igényének csökkentése, az analízis idejének lerövidítése.
- A hét során a *Saccharomyces boulardii* tesztorganizmussal nehézfém-ion tolerancia teszteket hajtottunk végre, a klasszikus papírkorongos módszer és a hosszú távú videó felvételezés technikájának kombinálásával.



ALAPFOGALMAK

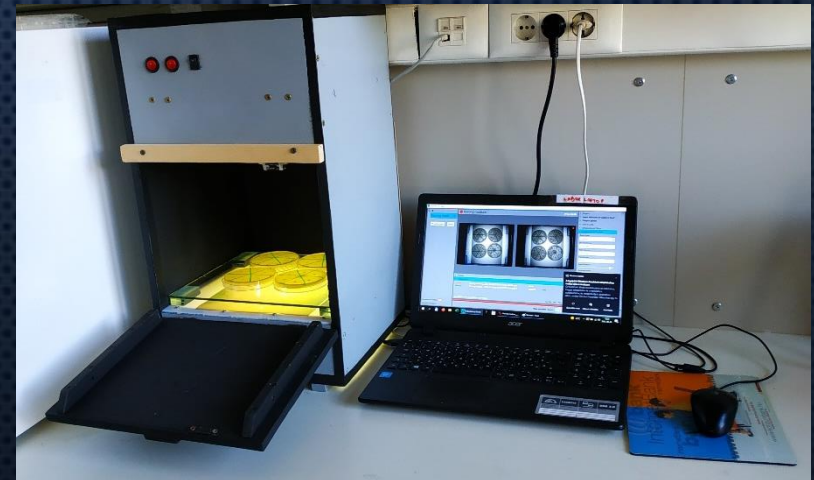
Papírkorongos módszer:

- állandó felület,
- ismert felvitt mennyiségek (fémionok, antibakteriális és antifungális anyagok stb.),
- növekedés kioltási gyűrűk.



Time-lapse felvételezési eljárás:

- DensiLab (N#000),
 - állandó hőmérséklet (32 °C),
 - állandó megvilágítás,
 - képszekvenciák felvétele.

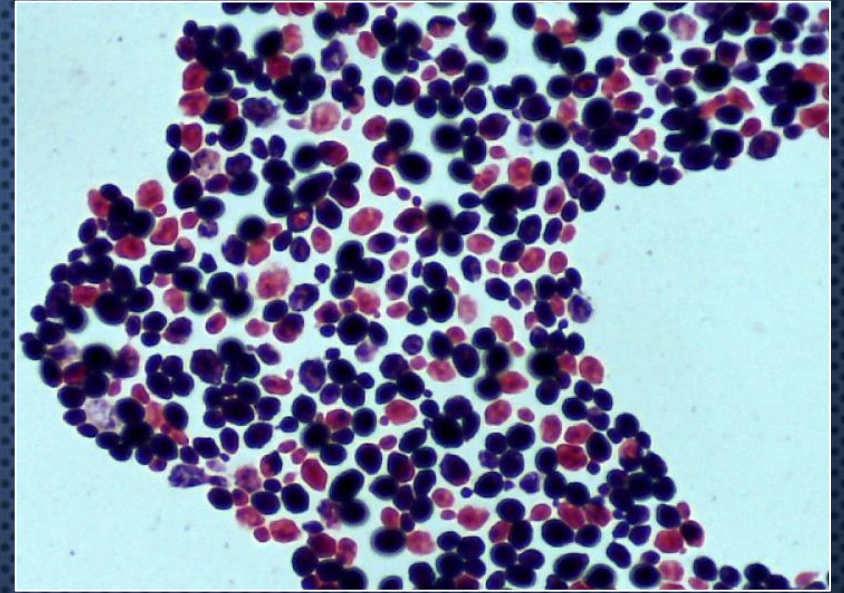


ANYAG ÉS MÓDSZER I.

- Alkalmazott táptalaj:
 - Sabouraud-féle 4 %-os dextrózos táptalaj (**SDA**) (10 g pepton, 40 g glükóz, 20 g agar literenként, pH=5.6)
 - 9 cm átmérőjű petricsészébe megöntve.
- Sejtszuszpenzió:
 - *Saccharomyces boulardii* $A_{600\text{nm}}=1,2$; 0,85 % nátrium-kloriddal készített sejtszuszpenzió.
- Pázsitos szélesztés:
 - A 24 órát pihentetett fentebbi **SDA**-ra 200 μl -t szélesztünk, lambdabotos technikával.

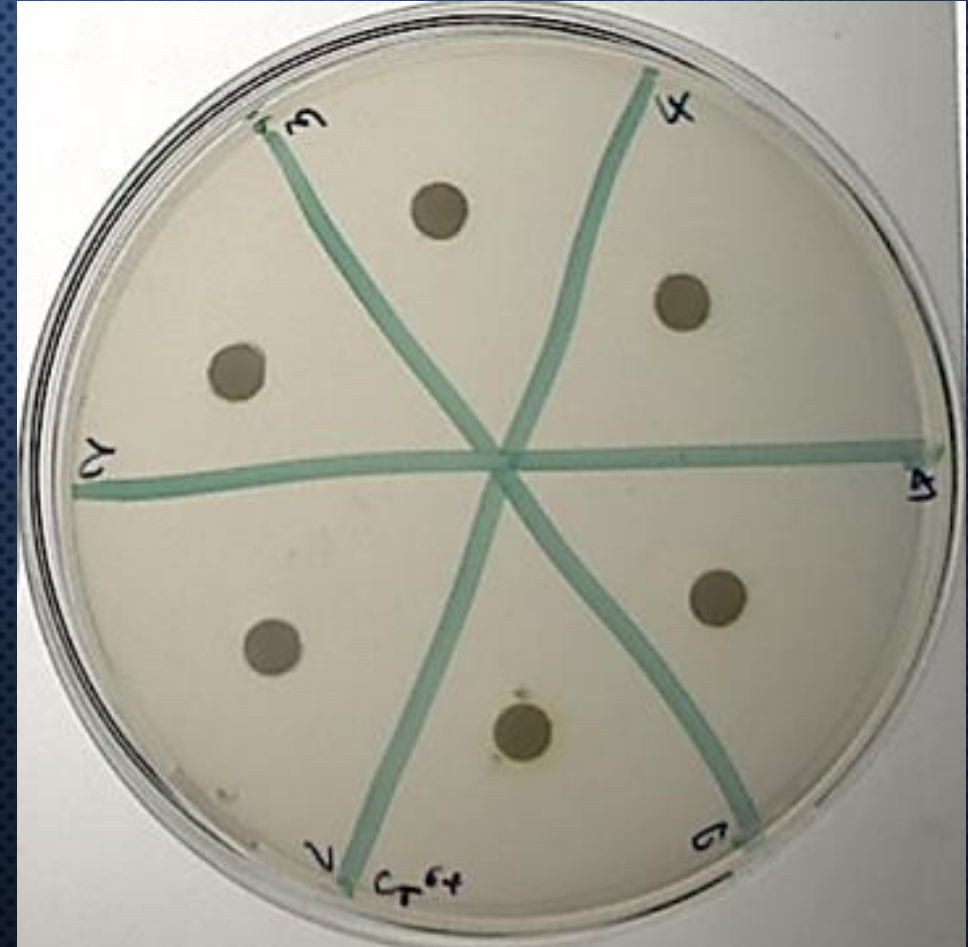
GRAM-FÉLE FESTÉS

1. Hőfixálás.
2. Festés: kristály-ibolyával (0,5 %), 2 perc.
3. Vizes mosás.
4. Kezelés Lugol-oldattal, 1 perc.
5. Alkoholos kimosás, amíg festéket old ki.
6. Vizes öblítés.
7. Utófestés: fuxinnal vagy saphranine (0,5%), 3-4 perc.
8. Vizes mosás.
9. Szárítás levegőn.
10. Vizsgálat: immerziós 100x objektívvel.



ANYAG ÉS MÓDSZER II.

- *Koncentráció gradiens:*
 - Törzsoldatok előállítása:
 - $4 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1} \text{ M}^{z+}$ fémion tartalmú vizes oldatok (Cr(VI)-; Co(II)-; Zn(II)-; Mn(II)-ion).
- Papírkorongokra ismert térfogatokat pipettáztunk (0,0; 2,5; 5; 10; 17,5; 25 μl)
- Felvitt anyagok végtömege: 0; 10; 20; 40; 87; 100 μg /korong fémiononként.

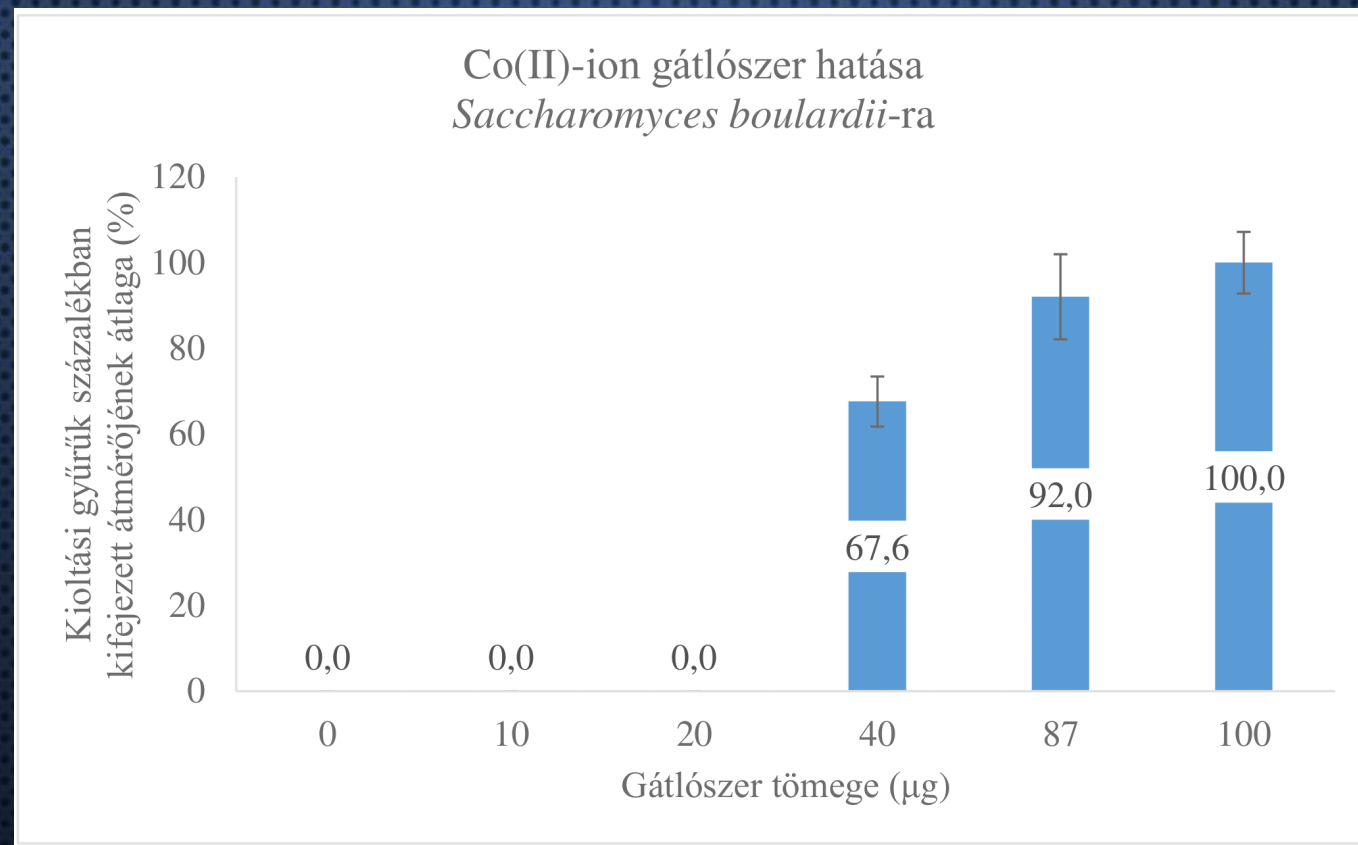


EREDMÉNYEK I.

Hosszú távú videó-felvételzés
eredményei, 30 perces
bontásban (bázis érték: 100 µg).

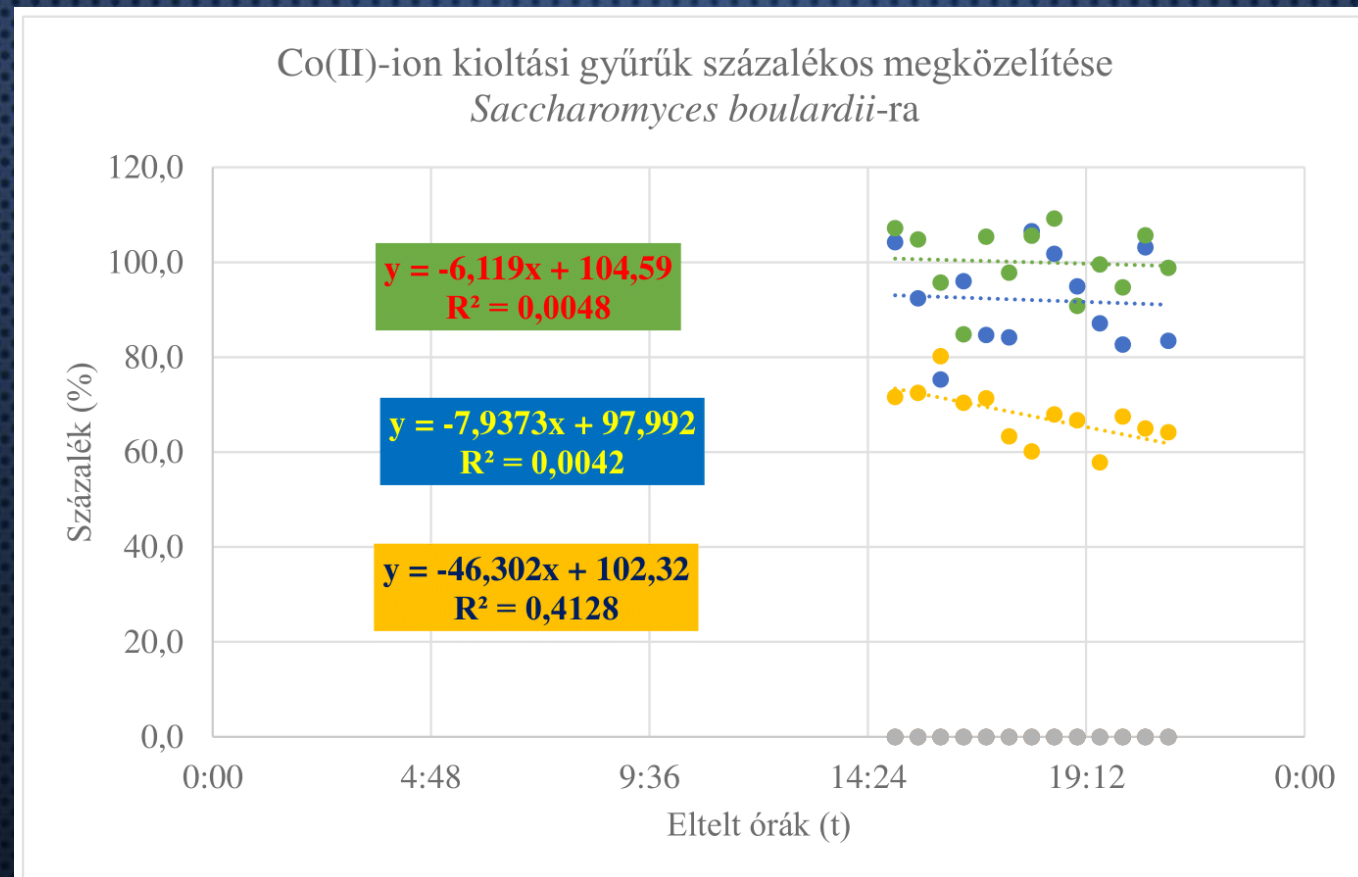
Co(II)-ion kioltási gyűrűk százalékos megközelítése <i>Saccharomyces boulardii</i> -ra						
Százalékokban megadva (bázis 100 µg Co(II)-ion)						
Szektor	1	2	3	4	5	6
m (µg)	0	10	20	40	87	100
15:00	0,0	0,0	0,0	71,6	104,3	107,2
15:30	0,0	0,0	0,0	72,5	92,4	104,8
16:00	0,0	0,0	0,0	80,2	75,3	95,7
16:30	0,0	0,0	0,0	70,4	96,0	84,8
17:00	0,0	0,0	0,0	71,3	84,7	105,4
17:30	0,0	0,0	0,0	63,3	84,2	97,8
18:00	0,0	0,0	0,0	60,1	106,5	105,6
18:30	0,0	0,0	0,0	68,0	101,8	109,2
19:00	0,0	0,0	0,0	66,7	94,9	90,8
19:30	0,0	0,0	0,0	57,8	87,1	99,5
20:00	0,0	0,0	0,0	67,5	82,7	94,7
20:30	0,0	0,0	0,0	65,0	103,2	105,7
21:00	0,0	0,0	0,0	64,2	83,4	98,8
Átlag	0,0	0,0	0,0	67,6	92,0	100,0
Szórás	0,0	0,0	0,0	5,8	9,9	7,2

EREDMÉNYEK II.



Hosszú távú videó-felvételezés eredményeinek átlaga (végponti állapot).

EREDMÉNYEK III.



Hosszú távú videó-felvételzés eredményeinek átlaga (dinamikus állapot;
zöld: 100 µg, kék: 87,5 µg, sárga: 40 µg, szürke: 20, 10 és 0 µg).

DISZKUSSZIÓ ÉS KITEKINTÉS

- A korongmódszer és a hosszú távú videó szekvencia analízis kombinációja alkalmasnak bizonyult a mikrobanövekedés gátlásának vizsgálatára.
- Tapasztalatunk szerint a korongmódszert a fémionok diffúziós koncentráció változása és a generációs idők hossza lényegesen nem befolyásolja a mért értékeket a *Saccharomycetales* rendben, a tenyésztési hőmérséklet helyes megválasztásával (hőmérsékleti optimum).
- A dinamikus felvételezéssel ezen állításunkat igazoltuk, a diffúziós növekedési görbék az egyenes egyenletével közelíthetők, időszerinti meredekségük kis mértékben változik (<10 %).
- Célunk a továbbiakban, hogy kidolgozzunk biotechnológiai és orvos diagnosztikai célra használható távelérési tesztrendszer, az antimikrobiális hatások gyors vizsgálatára.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom:

- Dr. Nagy-Szemán Gábor-nak
- Dr. Máthéné Dr. Szigeti Zsuzsa-nak
- Kovásznai-Oláh Richárd-nak
- Pinczés Gyula-nak
- Gombos Marcell
- Oláh Ádám József
- A Molekuláris Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék dolgozóinak
- A tábor szervezőinek.

KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!

