

Konservierung Von Mikroorganismen mit Glycerin

Einführung:

In diesem Versuch möchte ich einmal beschreiben, wie man Mikroorganismen für längere Zeit konservieren kann. In einem Vorversuch (Konservierung von Mikroorganismen), ging es um die recht aufwendige Konservierung mit Paraffin.

In diesem Versuch wird die Konservierung mit Glycerin realisiert.

Geräte:

Impföse (Stahl- oder Einweg-Ösen), Bunsenbrenner/Spiritusbrenner, Autoklav oder Dampfdruckkochtopf, wasserfester Stift, sterile Reagenzgläser, sterile Injektionsspritzen, Zellstofftücher, Einmalhandschuhe, Tiefkühltruhe (mind. -20°C),
Reaktionsgefäße (2,0ml), Etikettiergerät, Reaktionsgefäße-Ständer

Chemikalien:

Bakterienkultur
Desinfektionsmittel
sterile Kochsalzlösung (0,9%)
steriles Kulturmedium

Hinweise:

Es ist sehr wichtig auf peinlichste Sauberkeit zu achten. Befindet sich der Arbeitsplatz in der Nähe eines Fensters, ist dieses während des Arbeitens geschlossen zu halten.

Bei der Arbeit mit Mikroorganismen sind die allgemeinen Sicherheitsvorschriften für Laborarbeiten einzuhalten. Bei besonders empfindlichen Proben oder bei Pathogenen ist eine Sicherheitswerkbank zu verwenden.

Durchführung:

Zuerst legt man sich alle Arbeitsmaterialien die für diesen Versuch benötigt werden zurecht. Die Arbeitsfläche wird mit dem Flächendesinfektionsmittel gründlich gereinigt. Je nach Stärke des Desinfektionsmittels sind Handschuhe und eine Schutzbrille zu tragen. Bevor mit der Arbeit begonnen wird, muss der Bunsen- bzw. Spiritusbrenner entzündet werden. Mit Hilfe einer gut ausgeglühten Impfnadel wird ein wenig Zellmaterial aus der Vorkultur entnommen und in einem Reagenzglas mit ca. 2 ml steriler NaCl-Lösung suspendiert. Diese Zellsuspension wird in einem geeigneten Kulturmedium überführt und für 2 Tage bei geeigneter Temperatur, meist 35°C, bebrütet. Das Kulturmedium ist dem jeweiligen Stamm anzupassen (Pilze z.B. Malzextrakt-Kulturmedium, Bakterien z.B. CASO-Agar). Nun wird aus dieser Kulturlösung Zellmaterial entnommen und in 0,5 ml-Schritten in die Reaktionsgefäße überführt. Ebenfalls wird 1,0 ml steriles Glycerin hinzugefügt und beides gut durchmischt. Die Kulturen sind nun bereit zum einfrieren. Zur Vergrößerung der Zelldichte (Zellpellet) eignet sich, wenn vorhanden, eine Zentrifuge. Die Verwendung von Zellpellets erzielt eine bessere Lebensdauer und ist daher ratsam.

Erklärung:

Das Einfrieren von Zellen ist immer mit großen Verlusten verbunden. Beim Einfrieren gefriert das in den Zellen enthaltene Wasser und bildet dabei Eiskristalle, welche die Zelle von innen heraus zerstören (die Zelle platzt).

Bei Verwendung eines Frostschutzmittels, in diesem Fall Glycerin, wird dieses in die Zelle eingelagert und verdrängt dabei das Wasser. Da das Glycerin bei tiefen Temperaturen nicht gefriert, sondern nur seine Viskosität ändert, wird das Zellmaterial ideal geschützt.