Nové poznatky o uchovávání produkčních kmenů mikroorganismů

Ing. HANA RYŠÁNOVÁ, Výzkumný ústav antibiotik a biotransformací, Roztoky u Prahy

Klíčová slova: konzervace, lyofilizace, skladování konzerva, ochranná média, kryoprotektiva

Úvod

Konzervace produkčních kmenů mikroorganismů lyofilizací se v našem ústavu provádí od roku 1982. Lyofilizační technika až do dnešní doby prošla dalším vývojem nejen v zahraničí ale i v ČSSR. Při šlechtiční mikroorganismů je nezbytně nutné vypracovat takový způsob konzervace, který zaručuje uchovávání získaných vlastností kultur. Jedna z vhodných metod je lyofilizace. Tato technika se v průběhu let vyvíjela a o její zdokonalení se zasloužily jednak vhodné upravené lyofilizační aparatury, jednak nové poznatky o lyofilizačních medicích s účinnými protektivními vlastnostmi.

Další vhodnou metodou je konzervace produkčních kmenů mikroorganismů tektým dusíkem, která se v současné době stále častěji pro své dobré výsledky používá. Mnozí autoři zkoušejí různé způsoby uchovávání bakteriálních kmenů, vhodnost protekčních médii, různé teploty a dobu při uskladnění lyofilizačních konzerv a uchovávání mikrobiologických materiálů v tektém dusíku.

Sourek [1] sledoval řadu jednoduchých a složených lyofilizačních prostředí v protekčním účinku na životnost více než 50 bakteriálních rodu patogenních mikroorganismů. Za podmíněk užité lyofilizační techniky ukázala optimální výsledky směsí telechního sérna nebo beraní defibrinované krve s roztokem laktosy (do finální koncentrace 5 až 10 %) a Anaerovo médium s peptonem.


Antheunisse [3] lyofilizoval bakterie, kvasinky a huby v médí, skladájící se z 5 % dextranu a 1 % glutamátu sodného při pH 7. Konzervy s lyofilizátům byly uchovávány v tmě a při pokojové teplotě. Po 6 letech uskladnění byla provedena zkouška životnosti organismů. Ze 48 druhů přežilo 31 velmi dobře (tj. 80 až 100 %) a 9 méně úspěšně (tj. z 50 až 80 %), nebo nepřežilo. Mnoha druhů z rodu Agrobacterium, Erwinia, Pseudomonas, Lipomyces a Microcylus se nepodařilo přežít vůbec. Výsledky tohoto experimentu byly porovnány se stejnými druhy bakterií, uchovávanými v ných jiným způsobem, a sice na šikmé agarové půdě v uzavřeném zkumavce.


Hubálek [5] testoval 20 druhů kvasinek 17 rodů na přežití v tektém dusíku při -196 °C, kde byly uloženy po dobu 75 dnů. Protekční prostředí obsahovalo: sladový extrakt (2,5 %), kvasničný extrakt (0,25 %), pepton (0,5 %), telecí sérum (15 %) a dimethylsulfoxid (10 %). Životnost buněk v tomto médii se rychlým nekontrolovaným zmrznutím a roztáčením v pevně uzavřených plastických ampulách dosahuje 2 až 98 %, průměrně 67 % při porovnání s životností buněk před zmrznutím. Pouze u 4 rodů bylo přežití nižší než 50 %.

Smentek [6] sledoval uchovávání 140 kmenů kvasinek v tektém dusíku při -196 °C se zřetelem na složení ochranného média. Nejlepší výsledky byly získány s ochrannou směsí obsahující dimethylsulfoxid, Skim Milk a Ficoll 400, kde 74 % zkoušených kmenů vykazovalo přežívání buněk vyšší než 60 %.


nebo dimethylsulfid. Všechny mikroorganismy byly po 1 roce uchovávání v tektém dusík uchováváno.


Homogenizace bakteriální kultury v lyofilizačním médii

Jako média se používají většinou aseptického inaktivovaného kožního séra, roztoku želatiny s glykosou (5 % a 5 %) nebo média Skim Milk (15%). Povrch

Významné rostlinné drobného a zralého a v buře se používá lyofilizační metoda pro uchovávání produktům mikroorganismů produkujících antibiotika na přístroji L2-9C z n. p. Frigera Kolín.

Předměry kultury

Předemrý se připojí a založí v laboratorii uvedeným pravidlem tak, že se vakuové skříně s tímto pokusem velmi úspěšný.

Vlastní dehydratační proces - sušení

Po zmrznutí se zapne váček a tká se vakumové skříně sníží až na hodnoty nižší, než je tenze páry nad ledem. Při sublimaci, ještě je po

Kapilary a zatavení pod vakum

Jedná se poté lyofilizace se zkumavky s obsahem kultury asi v poločasné délce vznikne zvětrávání světle zbarveného řízkového média. Ochranný obal

Konservy jsou uloženy ve skleněných ladicích při teplotě 5°C pod počátečním číslem lyofilizace. Jedná se zatím 2 až 3 roky se provádí revize jejich kvality.

Kromě uvedené metody je potřeba se zamítnout i významných faktorů, ovlivňujících samotný lyofilizační proces. Jsou to především:

1. Významným bodem je vstupní teplota lyofilizačního média. Do lyofilizačního média je několik drobného a zralého a v buře se používá lyofilizační metoda pro uchovávání produktům mikroorganismů produkujících antibiotika na přístroji L2-9C z n. p. Frigera Kolín.

2. Významné rostlinné drobného a zralého a v buře se používá lyofilizační metoda pro uchovávání produktům mikroorganismů produkujících antibiotika na přístroji L2-9C z n. p. Frigera Kolín.

3. Významné rostlinné drobného a zralého a v buře se používá lyofilizační metoda pro uchovávání produktům mikroorganismů produkujících antibiotika na přístroji L2-9C z n. p. Frigera Kolín.

4. Významné rostlinné drobného a zralého a v buře se používá lyofilizační metoda pro uchovávání produktům mikroorganismů produkujících antibiotika na přístroji L2-9C z n. p. Frigera Kolín.

5. Významné rostlinné drobného a zralého a v buře se používá lyofilizační metoda pro uchovávání produktům mikroorganismů produkujících antibiotika na přístroji L2-9C z n. p. Frigera Kolín.

6. Významné rostlinné drobného a zralého a v buře se používá lyofilizační metoda pro uchovávání produktům mikroorganismů produkujících antibiotika na přístroji L2-9C z n. p. Frigera Kolín.