



# Jaettu valo



Mitä näytteille tapahtuu  
Jyväskylän yliopistolla?

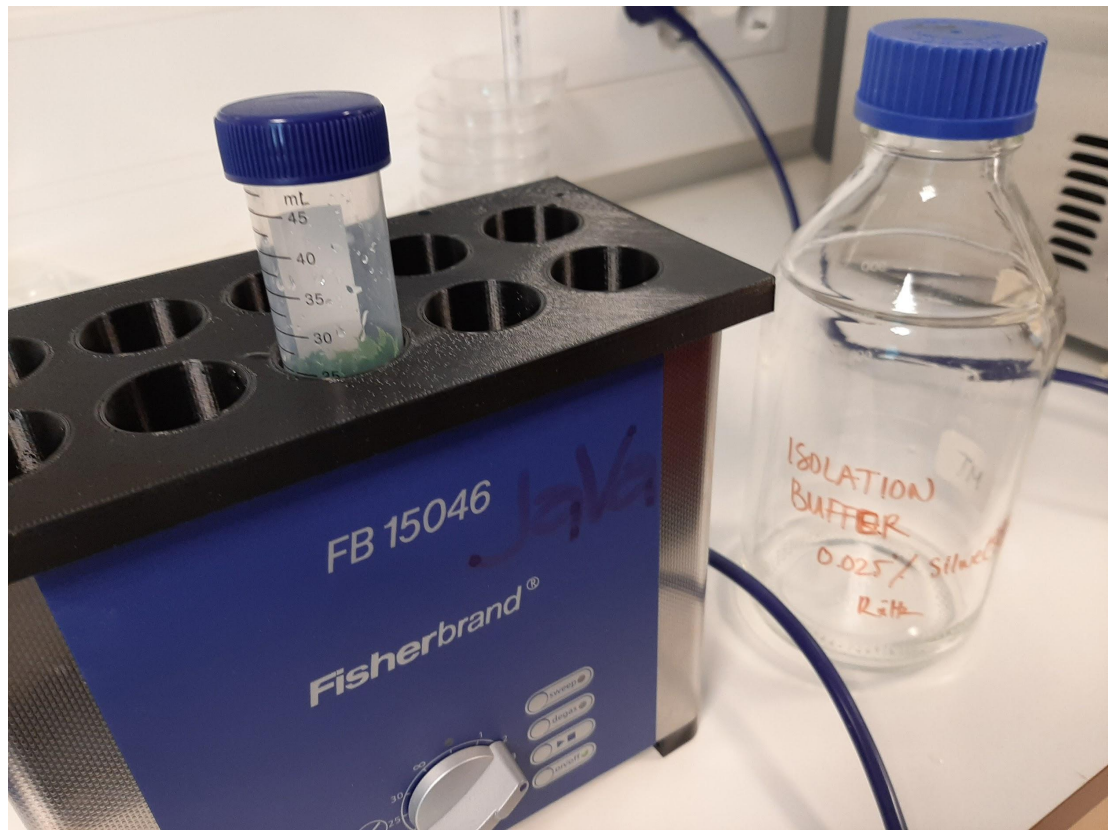
1. Lehtien pintamikrobien eristys
2. Lehtien sisäbakteerien eli endofyyttien eristys

# 1. Lehtien pintamikrobien eristys

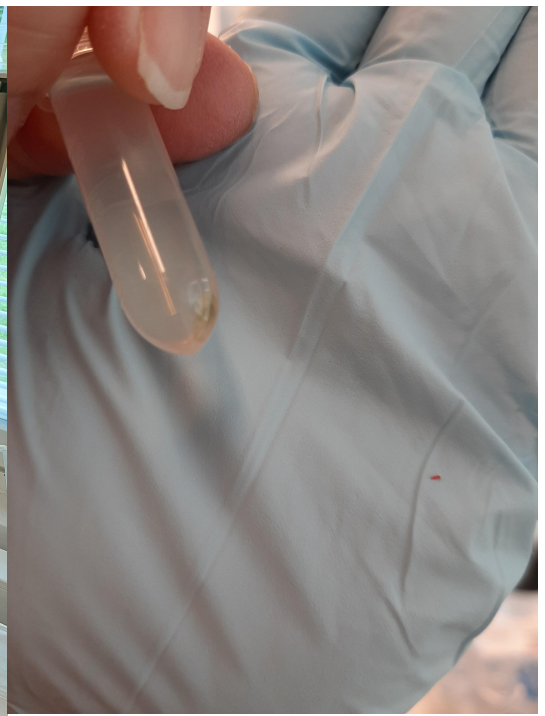




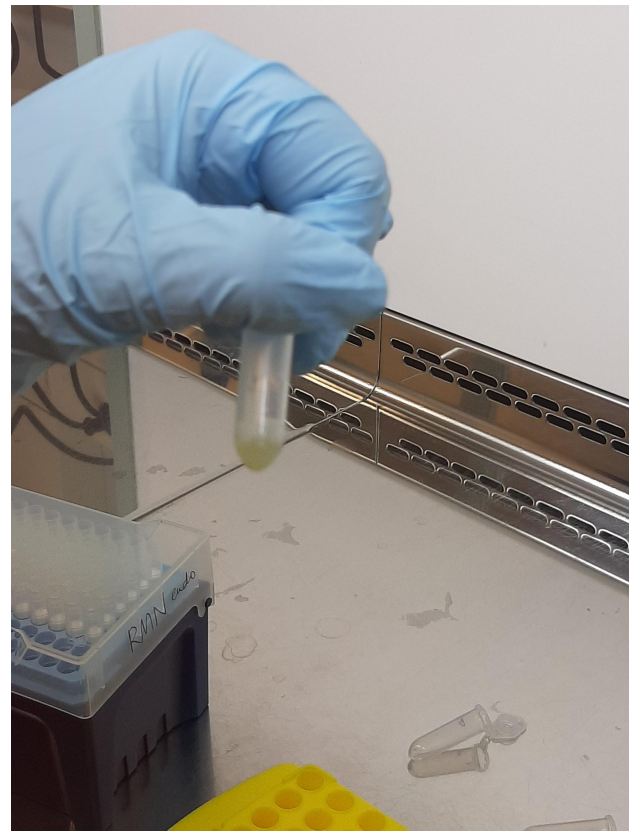
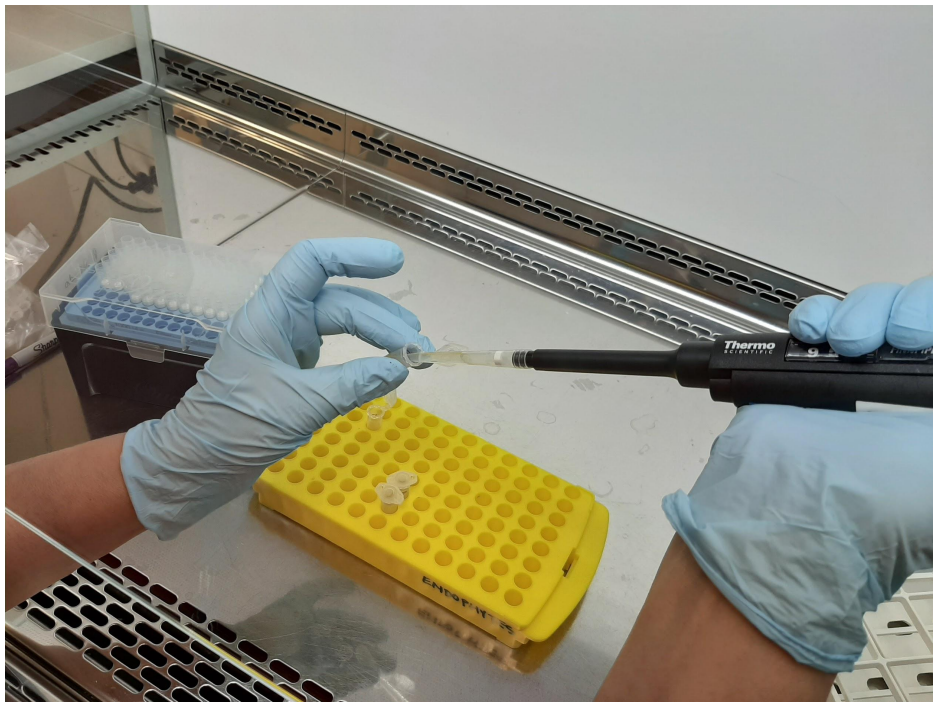
Lehdet laitetaan näyteputkioon. Tavoite on saada noin 3 g lehtiä putkioon.



Putkiloon lisätään eristysliuosta, jossa on pinta-aktiivista ainetta. Se liottaa kasvin pintavahan. Putkilo laitetaan SONIKAATTORIIN, joka tärisyttää lehtien pinnalta kaiken irrallisen (pintabakteerien lisäksi myös esim.kirvat ja rastaankakat).



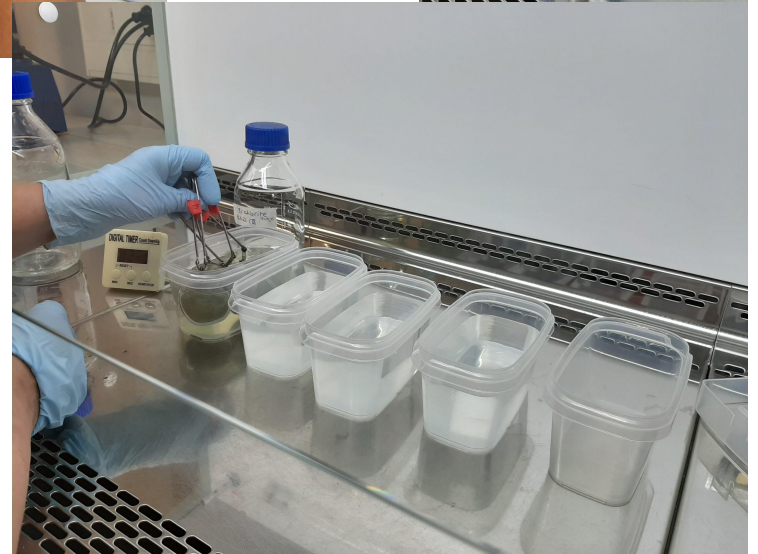
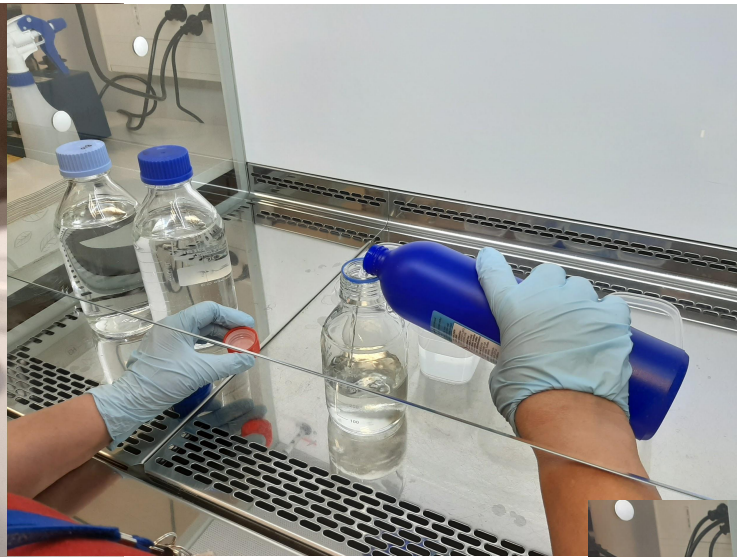
Putkilosta pipetoidaan neste neljään Eppendorf-putkeen. Putket asetellaan SENTRIFUUGIIN (lingon tieteellinen sisar) ja sentrifugoidaan 13000 G-voimalla, jotta konsentroituvat mahdollisimman pieneen osaan nestettä.



Ylimääräinen neste pipetoidaan pois ja kaikki neljä näytettä yhdistetään samaan putkeen odottamaan maljausta, mutta ennen sitä....

## 2. Lehtien sisäbakteerien eli endofyyttien eristys



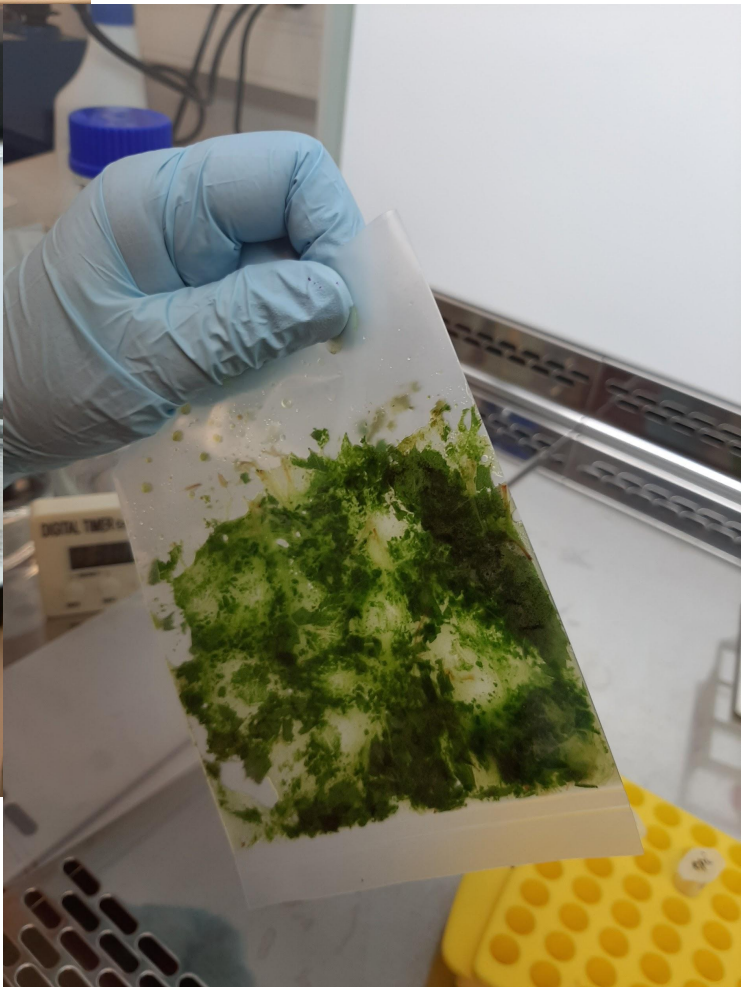
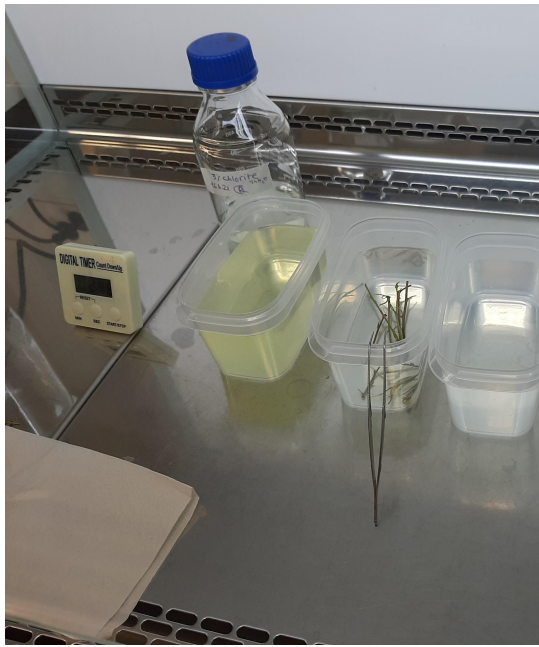


Näytelehdet laitetaan teesihteihin! :)  
Pintamikrobit tapetaan 3%:n kloriittiliuoksella.  
Kloriitti huuhdellaan pois steriilillä vedellä.

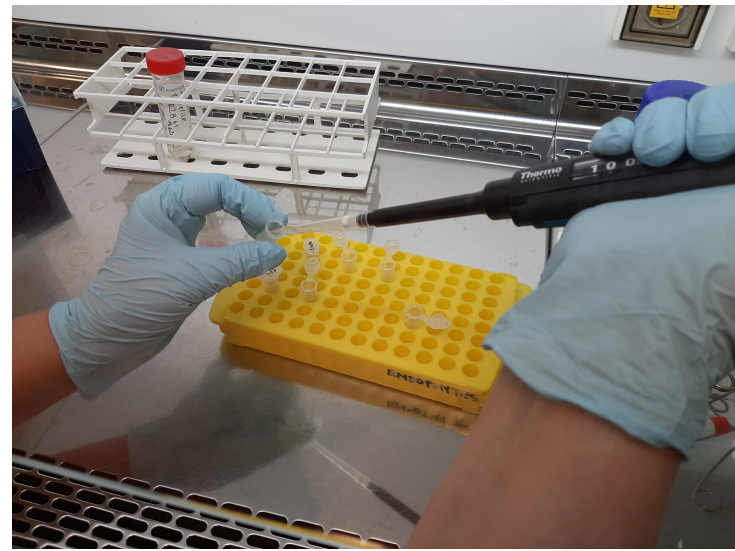


IonTorrent PGM  
sekvensointilaite – hieman  
kotimikroa isompi

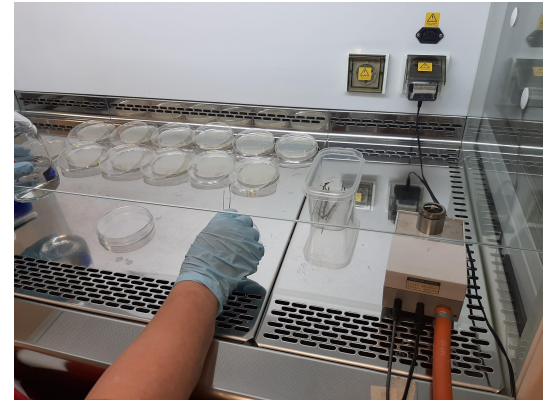
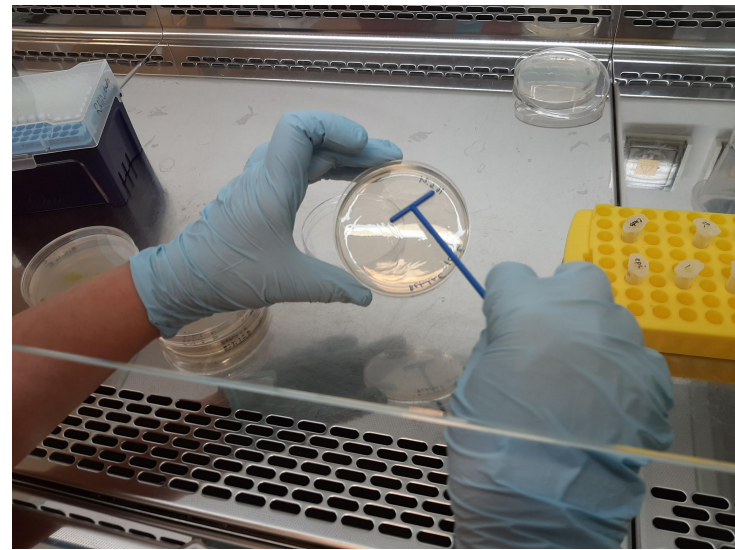
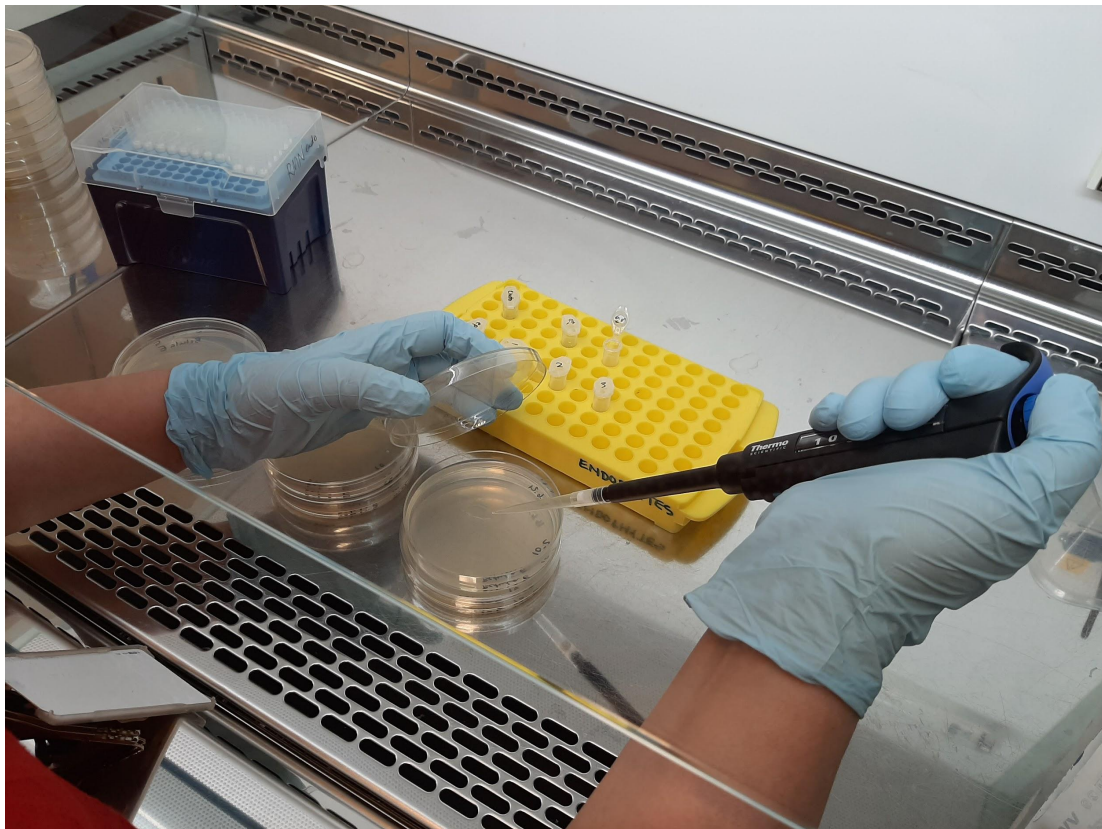
Lisäksi otetaan pieni näyte sivuun DNA-näytetteeksi, josta analysoidaan SEKVENSOINTILAITTEELLA kokonaisuus: keitä kaikkia siellä asustaa.



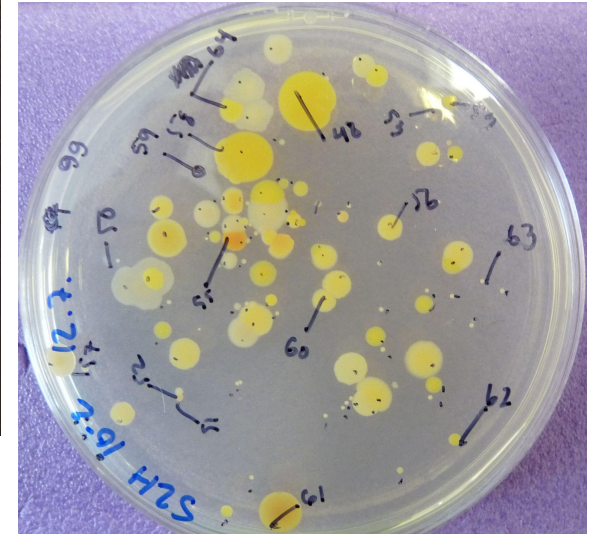
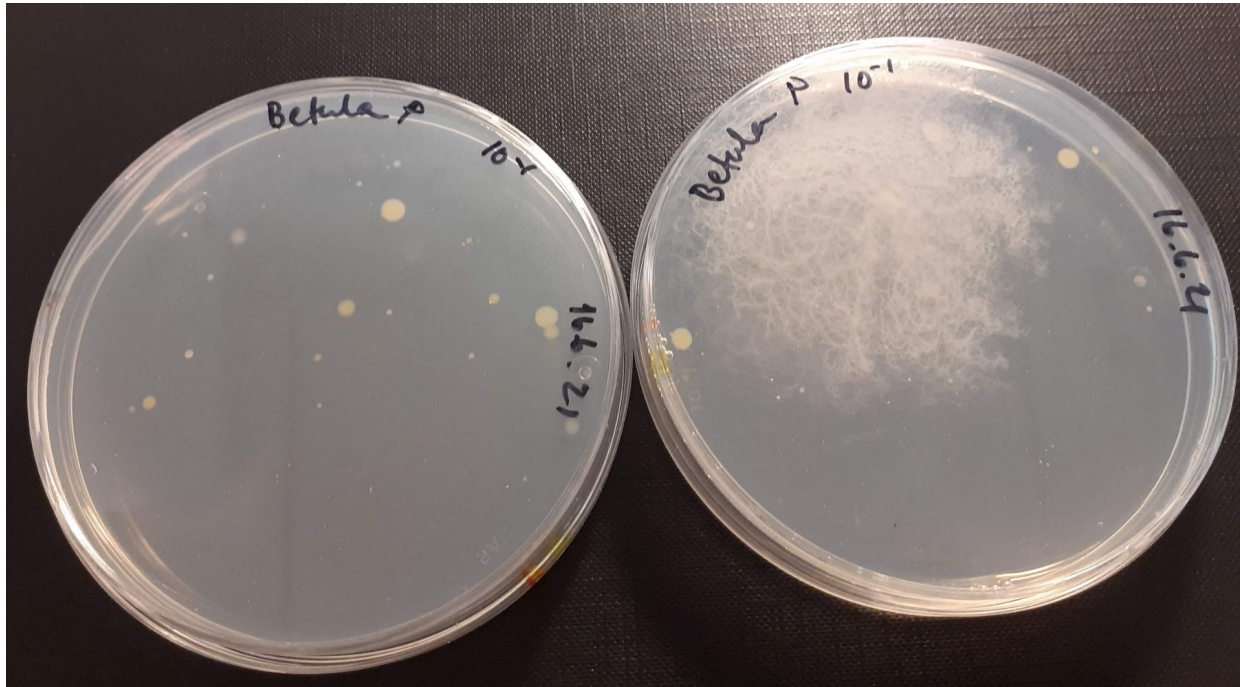
Koivun oksat steriloidaan samoin.  
Lehtinäytteet murskataan. (Riitta käytti tässä  
vasaraa - ja kielsi kuvaamisen :D )



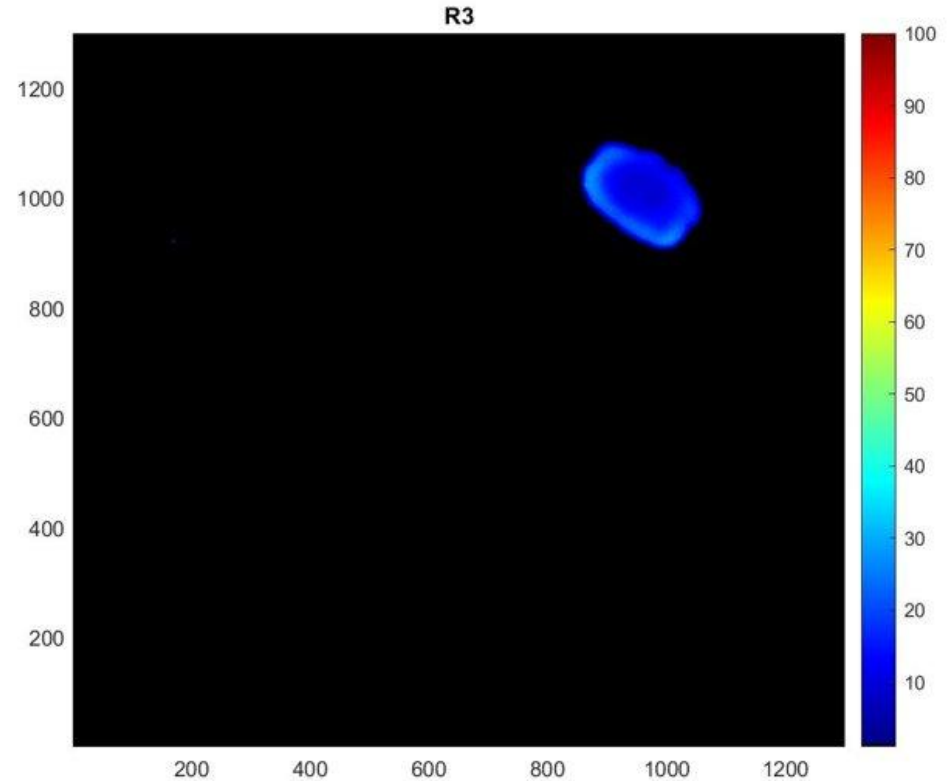
Murskauksessa syntynyttä nestettä otetaan pussista 5 ml, ja siitä tehdään laimennussarja: 1:10, 1:100. Laimennussarja tehdään myös pintabakteerinäytteille.



Liokset levitetään kasvamaan petriمالjoille (R2A). Pintabakteerien kasvatusalustassa on myös ihmiselle vaaratonta sienimyrkkyä. Ja sitten odotellaan, että bakteerit kasvavat!



Bakteeripesäkkeet ilmaantuvat maljoille päivien-viikkojen kuluessa. Osa bakteereista muodostaa pieniä pesäkkeitä, osa suuria kasvustoja. Osa pesäkkeistä on värittömiä, mutta monet ovat punaisia, oransseja tai keltaisia.



Pesäkkeet siirrostetaan uudelle maljalle, ja niiden kyky tuottaa klorofylliä testataan kuvaamalla maljat NIR-suodattimen läpi. NIR-suodatin päästää läpi vain lähi-infrapunavalon - näillä aallonpituuksilla nähdään vain bakteeriklorofylliä sisältävät pesäkkeet. Nämä bakteerit valitaan jatkotutkimuksiin: Näistä lisää projektin edetessä!