

תרגיל: הכרת מבנה המיקרופיפטור ועקרונות השימוש בו

המפתח להצלחה בניסויים בהם נדרשת העברת נפחים קטנים של נוזל כגון בניסויים בביולוגיה מולקולרית הוא שימוש מדויק במיקרופיפטור. בפעילות זו תכירו את המיקרופיפטור ותתנסו בהעברת נפחים קטנים באמצעותו.

לתשומת לבכם

- על הדופן של כל מיקרופיפטור רשום טווח הנפחים של נוזל שניתן להעביר באמצעותו. בחרו את המיקרופיפטור המתאים ביותר לנפח הנוזל אותו תרצו להעביר. אם עליכם להעביר $10\mu\text{L}$ נוזל בחרו במיקרופיפטור המיועד ל- $2-20\mu\text{L}$ וכוננו אותו לנפח של $10\mu\text{L}$.
- אין להעביר בעזרת מיקרופיפטור זה נפח הקטן מ- $2\mu\text{L}$ או גדול מ- $20\mu\text{L}$. אם תסובבו את הבורג של המיקרופיפטור לערך הגדול מהנפח המרבי של המיקרופיפטור - תזיקו למכשיר.
- לכל מיקרופיפטור יש טיפ המתאים לו בגודלו ובדרך כלל, טיפים בנפחים שונים נבדלים זה מזה בצבעם.

לקחת דגימת נוזל בצבע כחול והעברתה ממבחנת אפנדורף למבחנת אפנדורף המסומנת ב *.

א. החזיקו את המיקרופיפטור וסובבו את הבורג באופן שיתאים להעברת $10\mu\text{L}$ (היעזרו באיור).

- הציגו את המיקרופיפטור לחברי הקבוצה ובקשו מהם לוודא שכיוונתם את הנפח הרצוי במיקרופיפטור.

ב. הכניסו את הקצה המאורך של המיקרופיפטור לתוך הטיפ ולחצו בעדינות לחיבור הטיפ למיקרופיפטור.

- הרימו את המיקרופיפטור וודאו כי הטיפ מחובר אליו ולא נופל ממנו.

ג. פתחו את מכסה המבחנת האפנדורף.

- לחצו באיטיות עם האגודל על לחצן 1 במיקרופיפטור עד למעצור הראשון

(היעזרו באיור).

- מבלי לשחרר את הלחיצה טבלו את הטיפ בתוך הנוזל שבמבחנה (וודאו כי הטיפ

הוא בתחתית המבחנה והימנעו מלגעת בדפנות הכלי).

- הרימו באיטיות את לחצן 1.

שימו לב: אסור להרים במהירות את הלחצן! וודאו שאכן הנוזל נכנס אל הטיפ.



הכנסת הדגימה למבחנת אפנדורף המסומנת ב*

- ד.** הכניסו את המיקרופיטור לתחתית המבחנה (הימנעו מלגעת בדפנות המבחנה) לחצו על לחצן 1 עד למעצור הראשון. אם נותרה טיפה בטיפ לחצו על המעצור **לאט** עד המעצור השני.
- עקבו אחר הנוזל המשתחרר מהטיפ אל המבחנה.
 - הוציאו בזהירות את המיקרופיטור והחזיקו אותו מעל כלי הפסולת.
 - לחצו על "לחצן 2" ושחררו את הטיפ המשמש מהמיקרופיטור אל כלי הפסולת. (הוצאת הטיפ מתבצעת באופן ידני או על ידי לחיצה על לחצן 2, ראו איור בעמוד 1).

משימה 1: העברת דגימה של נוזל כחול ממבחנת אפנדורף לנייר פרפילם.

מהלך העבודה:

- לרשותכם מבחנת אפנדורף ובה מים צבועים בצבע כחול, מיקרופיטור מסוג p20 (המיועד להעברת 2-20µL), טיפים, ופיסת נייר פרפילם.
- א.** החזיקו את המיקרופיטור:
- סובבו את הבורג כך שהמספר שיראה ב"חלון" יהיה 10µL.
 - הכניסו את הקצה המאורך של המיקרופיטור לתוך טיפ מתאים ולחצו בעדינות לחיבור הטיפ למיקרופיטור.
 - הרימו את המיקרופיטור וודאו כי הטיפ מחובר למיקרופיטור ולא נופל ממנו.
- ב.** פתחו את המכסה של מבחנת האפנדורף.
- לחצו באיטיות עם האגודל על לחצן 1 במיקרופיטור עד למעצור הראשון.
 - **כאשר הלחצן עדיין לחוץ**, טבלו את הטיפ בנוזל הכחול שבמבחנה, וודאו שהטיפ יהיה בתחתית המבחנה והימנעו מלגעת בדפנות הכלי. הרימו **באיטיות** את לחצן 1.
 - וודאו שהנוזל הכחול נמצא בתוך הטיפ. שימו לב: **אסור** להרים במהירות את הלחצן!
- ג.** העבירו 10µL נוזל כחול אל פיסת הפרפילם.
- לחצו על לחצן 1 עד למעצור הראשון. אם נותרה טיפה בטיפ לחצו **לאט** עד המעצור השני.
 - וודאו שהנוזל השתחרר מהטיפ אל נייר הפרפילם.
- ד.** החזיקו את המיקרופיטור מעל לכלי הפסולת לחצו על לחצן 2 ושחררו את הטיפ המשמש מהמיקרופיטור אל כלי הפסולת. (הוצאת הטיפ מתבצעת באופן ידני או על ידי לחצן 2)
- ה.** חזרו **ארבע פעמים** על ההוראות שבסעיפים ב-ד כך שתקבלו 5 טיפות נפרדות של נוזל כחול על נייר הפרפילם.
- סיגרו את המכסה של מבחנת האפנדורף.
 - התבוננו בטיפות, האם הן זהות בגודלן?

- אם הטיפות אינן אחידות בגודלן, חיזרו על ההוראות בסעיפים ב-ד, עד שתקבלו 5 טיפות זהות בגודלן.

1. החזיקו את המיקרופיפטור וסובבו את הבורג כך שהמספר שיראה על ה"חלון" יהיה $2\mu\text{L}$.
2. חיזרו על ההוראות בסעיפים ב-ד והעבירו $2\mu\text{L}$ ממבחנת האפנדורף אל נייר פרפילם נקי.
 - סיגרו את המכסה של מבחנת האפנדורף.
 - התבוננו בטיפות, האם הן זהות בגודלן?
 - נקו את משטח העבודה עם מגבונים לחים או צמר גפן לח.

משימה 2: העברת דגימות של נוזל כחול בנפחים שונים לשתי מבחנות אפנדורף

מהלך העבודה:

- לרשותכם מבחנה ובה מים שהוסף להם צבע כחול, מיקרופיפטורים, טיפים, מבחנות אפנדורף, כלי לפסולת.
- א. בעזרת עט סימון רשמו את האות A על המכסה של אחת ממבחנות אפנדורף שברשותכם ורשמו את האות B על המכסה של המבחנה השנייה.
 - ב. החזיקו את המיקרופיפטור וסובבו את הבורג כך שהמספר שיראה על ה"חלון" יהיה $6.7\mu\text{L}$.
 - היעזרו בהנחיות העבודה **במשימה 1 סעיפים ב-ד**, והעבירו $6.7\mu\text{L}$ נוזל כחול מהמבחנה שבה נוזל כחול למבחנת אפנדורף המסומנת A.
 - ג. חיזרו על סעיף ב והעבירו עוד $4.3\mu\text{L}$ מים כחולים למבחנה A.

שאלה 1: מהו הנפח הכולל של הנוזלים אותם העברתם למבחנה A?

הנפח הכולל הוא

ד. כדי לבדוק מהו הנפח הכולל של הנוזל שהועבר למבחנה יש לכוון את הבורג של המיקרופיפטור לנפח שחישבתם.

- חברו למיקרופיפטור טיפ חדש והוציאו בעזרת המיקרופיפטור את כל הנוזל שבמבחנה A.
- החזיקו את המיקרופיפטור והתבוננו בנוזל שבטיפ. האם הנוזל נמצא בתחתית הטיפ?
- העבירו את הטיפ ובו הנוזל לכלי הפסולת.

שאלה 2: כיצד תדעו האם הנפח הכולל של הנוזל שהוכנס למבחנה זהה לנפח הנוזל המחושב?

ה. העבירו נפחים שונים של נוזל כחול למבחנה B:

- $20\mu\text{L}$ נוזל כחול.

- 42 μ L נוזל כחול.

- 108 μ L נוזל כחול.

שאלה 3: חשבו מהו הנפח הכולל של הנוזלים שהעברתם למבחנה B?

הנפח הכולל הוא.....

1. כדי לבדוק מהו הנפח הכולל של הנוזל שהועבר למבחנה יש לכוון את הבורג של המיקרופיפטור לנפח שחישבתם.

- חברו למיקרופיפטור טיפ חדש והוציאו בעזרת המיקרופיפטור את נפח הנוזל המצוי במבחנה B.

- החזיקו את המיקרופיפטור והתבוננו בנוזל שבטיפ. האם הנוזל נמצא בתחתית הטיפ?

- העבירו את הטיפ ובו הנוזל לכלי הפסולת.

- נקו את משטח העבודה עם מגבונים לחים או צמר גפן לח.

שאלה 4: הסבירו כיצד תדעו האם הנפח הכולל של הנוזל שהוכנס למבחנה זהה לנפח הנוזל המחושב?

משימה 3: העברת נפחים שונים של בסיס NaOH, חומצה (חומץ בישול) ואינדיקטור פנול אדום אל פיסת נייר פרפילם.

עבדו בזהירות על פי ההוראות והקפידו להחליף טיפ לאחר כל העברה של נוזל.

לידיעתכם:
 האינדיקטור פנול אדום משנה את צבעו עם שינוי pH – בסביבה בסיסית צבעו אדום ובסביבה חומצית צבעו כתום- צהוב

לרשותכם מבחנת אפנדורף המסומנת באות **ב** ובה בסיס NaOH, מבחנת אפנדורף המסומנת באות **ח** ובה חומצה (חומץ בישול), מבחנת אפנדורף המסומנת באות **א** ובה אינדיקטור פנול אדום, מיקרופיפטור מסוג p20 (המיועד ללקיחת נפחים הנעים בין 2-20 μ L), טיפים, נייר פרפילם.

א. בעזרת עט דק לסימון סרטטו על **כל** נייר הפרפילם את טבלה 1 "טבלת תרגול".

טבלה 1: טבלת תרגול.

	A	B	C
1			
2			
3			

ב. על פי המידע שבטבלה 2 (עמוד 5) העבירו את הנפח הדרוש של כל תמיסה (חומצה, בסיס, פנול אדום) ממבחנת האפנדורף המתאימה לריבוע המתאים בטבלה שעל הפרפילם.

בכל ריבוע עליכם לטפטף שתי תמיסות שונות זו מעל זו.

הקפידו לטפטף כל טיפה במרכז הריבוע המתאים.

ג. בצעו את סעיפים ג-ד והיעזרו בהנחיות העבודה במשימה 1 סעיפים ב-ד. - בכל העברה של תמיסה, עליכם לשנות את הנפחים אותם תשאבו באמצעות המיקרופיפטור ולהחליף טיפ.

- כדי למנוע טעויות בזמן העבודה, סמנו "V" בשורה המתאימה ובמשבצת המתאימה שבטבלה 2.

ד. לאחר העברת נפחים מתאימים של פנול אדום ובסיס לתא 1A, שאבו את 2 הטיפות והחזירו אותן לתא 1A

- פעולה זו תעשה על-ידי לחיצה איטית על לחצן 1 כאשר הטיפ באוויר מעל הטיפות, שחרור של הלחצן ולחיצה עדינה נוספת על לחצן 1 באותו מקום על הפרפילם.

פעולה זו תערבב את הנוזלים יחד.

חזרו על הוראות סעיפים ג, ד עם הנוזלים המתאימים לכל אחת מהמשבצות שבטבלה.

טבלה 2: נפחים של תמיסות

	A	B	C
1	5µL פנול אדום 5µL בסיס	6µL פנול אדום 4µL חומץ	7µL פנול אדום 3µL בסיס
2	10µL פנול אדום 10µL חומץ	12µL פנול אדום 8µL בסיס	14µL פנול אדום 6µL חומץ
3	15µL פנול אדום 15µL בסיס	18µL פנול אדום 12µL חומץ	20µL פנול אדום 10µL בסיס

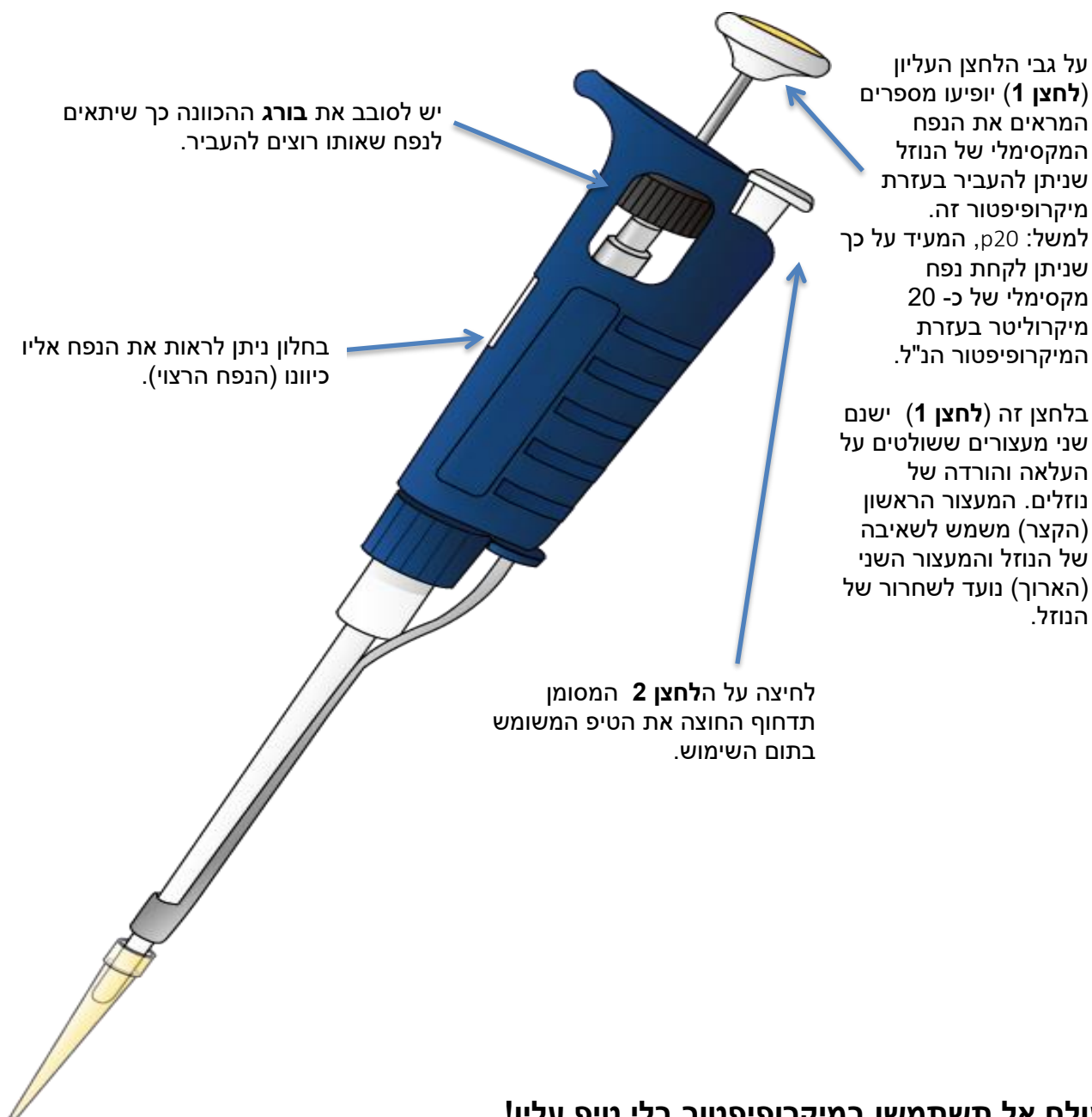
שאלה 1: השוו בין גודל הטיפות לאורך שורה (ימינה ושמאלה) ולאורך טור (למעלה למטה). האם הטיפות זהות בגודלן?

שאלה 2: מה גרם להבדלים בצבע הטיפות שבתאים 1A ו-2A?

שאלה 3: אם השלמתם את המשימה כראוי תוכלו להבחין בתבנית מסוימת על גבי הפרפילם. מהי התבנית שהנכם מזהים?

נקו את משטח העבודה עם מגבונים לחים או צמר גפן לח.

הכרת המיקרופיפטור



יש לסובב את בורג ההכוונה כך שיתאים
לנפח שאותו רוצים להעביר.

בחלון ניתן לראות את הנפח אליו
כיוונו (הנפח הרצוי).

על גבי הלחצן העליון
(לחצן 1) יופיעו מספרים
המראים את הנפח
המקסימלי של הנוזל
שניתן להעביר בעזרת
מיקרופיפטור זה.
למשל: 20, המעיד על כך
שניתן לקחת נפח
מקסימלי של כ- 20
מיקרוליטר בעזרת
המיקרופיפטור הנ"ל.

בלחצן זה (לחצן 1) ישנם
שני מעצורים ששולטים על
העלאה והורדה של
נוזלים. המעצור הראשון
(הקצר) משמש לשאיבה
של הנוזל והמעצור השני
(הארוך) נועד לשחרור של
הנוזל.

לחיצה על הלחצן 2 המסומן
תדחוף החוצה את הטיפ המשומש
בתום השימוש.

- לעולם אל תשתמשו במיקרופיפטור בלי טיפ עליו!
- השתמשו תמיד בטיפ חדש ונקי לכל העברה.