

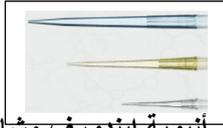
تمرین: التعرف على مبنى الميكروبيبت (الماصة الصغرى) ومبادئ استعمالاتها.

مفتاح النجاح في التجارب التي يتطلب بها نقل حجوم صغيرة من سائل كما هو الحال في البيولوجيا الجزيئية هو استعمال الميكروبيبيت.

في هذه الفعالية سنتعرفون على الميكروبيبيت وتتمرنوا على نقل حجوم صغيرة بواسطتها.

يجدر الانتباه.

- على غطاء كل ميكروبيبت مسجل مجال حجوم السائل الذي يمكن نقله بواسطتها. اختاروا الميكروبيبيت الملائمة لحجم السائل الذي تريدون نقله.
- إذا كان عليكم نقل $10\mu\text{l}$ سائل، اختاروا الميكروبيبيت المخصصة ل $2 - 20\mu\text{l}$ وعايروه لحجم $10\mu\text{l}$.
- لا تنقلوا بمساعدة الميكروبيبيت حجم أقل من $2\mu\text{l}$ أو أكبر من $20\mu\text{l}$.
- إذا حركتم عجلة الميكروبيبيت لقيمة أكبر من الحجم الأقصى للميكروبيبيت – تسبب ضرر للجهاز.
- لكل ميكروبيبيت يوجد تيب ملائم لها بكيره، وغالبا التيبات مختلفة الحجم تختلف عن بعضها بلونها.



أخذ عينة سائل أزرق اللون ونقله من أنبوبة ابندورف إلى أنبوبة ابندورف مشار إليها ب*.

أ. امسكوا الميكروبيبيت وأديروا عجلة ضبط الحجم بشكل يلائم نقل $10\mu\text{l}$ (استعينوا بالرسم التوضيحي).

- اعرضوا الميكروبيبيت أمام أعضاء مجموعتكم واطلبوا منهم أن يتأكدوا أنكم ضبطتم الحجم المطلوب بالميكروبيبيت.

ب. أدخلوا الطرف الرفيع للميكروبيبيت إلى داخل التيب وأضغظوا بلطف لوصل التيب بالميكروبيبيت.

- ارفعوا الميكروبيبيت وتأكدوا ان التيب موصول به ولا يقع منه.



ت. افتحوا غطاء أنبوبة الابندورف.

- اضغظوا ببطء بواسطة الإبهام على زر الضغط 1 في الميكروبيبيت حتى نقطة التوقف الأول (استعينوا بالرسم التوضيحي).

- ابقوا ضاغطين على زر الضغط 1 (لا تحرروا الإبهام) واغمسوا التيب في داخل السائل في الأنبوبة (تأكدوا ان التيب في قاع الأنبوبة وامتنعوا عن اصابة جدران الوعاء).

- ارفعوا ببطء زر الضغط 1.

- **انتبهوا: ممنوع رفع الزر بسرعة!** تأكدوا ان السائل دخل إلى داخل التيب.

ادخال العينة لأنبوبة ابندورف مشار لإليها *

ث. أدخلوا الميكروبييت في أسفل الأنبوبة (امتنعوا من ملامسة جدران الأنبوبة) اضغطوا على زر الضغط 1 حتى صمام التوقف الأول. إذا تبقت نقطة في التيب اضغطوا على زر الضغط حتى صمام التوقف الثاني.

- تابعوا السائل الذي يتحرر من التيب إلى الأنبوبة.
- أخرجوا بحذر الميكروبييت وضعوه فوق وعاء النفايات.
- اضغطوا على زر الضغط 2 وحرروا التيب المستعمل من الميكروبييت إلى وعاء النفايات. (يمكن اخراج التيب باليد أو عن طريق الضغط على زر الضغط 2، انظر الرسم التوضيحي).

المهمة 1: نقل عينة من سائل أزرق من انبوبة ابندورف لورق البارافيلم.

سير العمل:

تحت تصرفكم انبوبة ابندورف وفيها ماء مصبوغ بلون أزرق، ميكروبييت من نوع p20 (المخصص لنقل 20 µl)، تيبات، وقطعة من ورق البارافيلم.

أ. أمسكوا الميكروبييت:

- أديروا العجلة ليظهر الرقم في " الشباك " 10µl.
- أدخلوا الطرف الرفيع للميكروبييت إلى داخل تيب ملائم واضغطوا بلطف لوصل التيب بالميكروبييت.
- ارفعوا الميكروبييت وتأكدوا ان التيب موصول بالميكروبييت ولا يقع منه.
- ب. افتحوا غطاء أنبوبة الابندورف.

- اضغطوا ببطء بواسطة الابهام على زر الضغط 1 في الميكروبييت حتى التوقف الأول. ابقوا الزر مضغوطا.
- **في أثناء بقاء الزر مضغوطا، اغمسوا التيب في السائل الأزرق في الأنبوبة، تأكدوا ان التيب في قاع الأنبوبة امتنعوا من ملامسة الجدران. ارفعوا ببطء زر الضغط 1.**
- تأكدوا أن السائل الأزرق موجود داخل التيب. انتبهوا: ممنوع رفع زر الضغط بسرعة!
- ج. انقلوا 10µl سائل أزرق إلى ورق البارافيلم.

- اضغطوا على زر الضغط 1 حتى صمام التوقف الأول. اذا تبقت نقطة في التيب اضغطوا ببطء حتى صمام التوقف الثاني.

- تأكدوا أن السائل تحرر من التيب إلى ورق البارافيلم.

د. امسكوا الميكروبييت فوق وعاء النفايات واضغطوا على زر الضغط 2 وحرروا التيب المستعمل من الميكروبييت إلى وعاء النفايات. (يمكن اخراج التيب باليد أو عن طريق الضغط على زر الضغط 2).

هـ. أعيدوا تنفيذ التعليمات في البنود بـد أربع مرات حتى تحصلوا على 5 قطرات منفصلة من السائل الأزرق على ورق البارافيلم.

- أغلقوا غطاء انبوبة الابندورف.
- تمعنوا في القطرات، هل هن متساويات الحجم؟

- إذا لم تكن القطرات متساوية الحجم، نفذوا التعليمات في البنود ب – د حتى تحصلوا على 5 قطرات متساوية الحجم.
 - و. أمسكوا الميكروبيبيت وأديروا العجلة حتى يظهر الرقم في "الشباك" 2μ .
 - ز. أعيدوا تنفيذ التعليمات في البنود ب-د وانقلوا 2μ من انبوبة الابدورف إلى ورق بارفيلم نظيف.
 - أغلقوا غطاء انبوبة الابدورف.
 - تمعنوا في القطرات، هل هن متساويات الحجم؟
 - نظفوا مساحة سطح العمل بواسطة محارم رطبة أو قطن رطب.
- المهمة 2: نقل عينات من السائل الأزرق بأحجام مختلفة لأنبوبتين ابدورف.**

سير العمل:

- تحت تصرفكم أنبوبة فيها ماء صُنع باللون الأزرق (مياه زرقاء)، ميكروبيبيت، تيبات، أنابيب ابدورف، وعاء نفايات.
- أ. سجّلوا بقلم للتأشير الحرف **A** على غطاء إحدى أنابيب ابدورف التي بحوزتكم، وسجّلوا الحرف **B** على غطاء الأنبوبة الثانية.
- ب. أمسكوا الميكروبيبيت وأديروا العجلة حتى يكون الرقم في "الشباك" 6.7μ .
- استعينوا بالتعليمات العمل في المهمة **1 بنود ب-د**، وانقلوا 6.7μ سائل أزرق من الأنبوبة التي فيها سائل أزرق إلى انبوبة ابدورف **A**.
- ج. أعيدوا تنفيذ البند ب وانقلوا 4.3μ مياه زرقاء للأنبوبة **A**.
- سؤال 1:** ما هو الحجم الكلي للسوائل التي نقلتموها للأنبوبة **A** ؟
الحجم الكلي هو:
- د. لكي تفحصوا ما هو الحجم الكلي للسائل الذي نُقل إلى الانبوبة عليكم ضبط عجلة الميكروبيبيت للحجم الذي حسبتموه.
- صلوا الميكروبيبيت بتيب جديد أخرجوا بمساعدته كل السائل في الانبوبة **A**.
 - أمسكوا الميكروبيبيت وتمعنوا في السائل الذي في التيب. هل السائل موجود في قاع التيب؟
- انقلوا التيب مع السائل إلى وعاء النفايات.
- سؤال 2: كيف تعلمون هل الحجم الكلي للسائل الذي أدخل للأنبوبة مشابه لحجم السائل المحسوب؟
- هـ. انقلوا حجوم مختلفة من سائل أزرق إلى الأنبوبة **B**:
- 20μ سائل أزرق.
 - 42μ سائل أزرق.
 - 108μ سائل أزرق.

שאלה 3: חשבו את الحجم الكلي للسوائل التي نقلتموها للأنبوبة B ?

الحجم الكلي هو:

و. لكي نفحص ما هو الحجم الكلي للسوائل الذي نُقل إلى الأنبوبة يلزم ضبط عجلة الميكروبيبيت للحجم الذي حسبتم.

- صلوا تيب جديد بالميكروبيبيت وأخرجوا بمساعدته الحجم الكلي الموجود في الأنبوبة B.
- أمسكوا الميكروبيبيت وتمعنوا بالسائل الذي في التيب. هل السائل موجود في أسفل التيب؟
- انقلوا التيب والسائل الذي فيه إلى وعاء النفايات.
- نظفوا مساحة سطح العمل بواسطة محارم رطبة أو قطن مبلل.

سؤال 4: فسروا كيف تعرفوا هل الحجم الكلي للسائل الذي أدخل إلى الأنبوبة مشابه لحجم

السائل المحسوب؟

المهمة 3: نقل حجوم مختلفة من قاعدة NaOH ، حامض (خل الطبخ) وكاشف فنول أحمر إلى ورقق بارافيلم .

اعملوا بحذر حسب التعليمات واحرصوا على تغيير تيب بعد كل عملية نقل سائل.

لمعلوماتكم:

الكاشف فينول أحمر يتغير لونه مع تغير ال PH – في البيئة القاعدية يكون لونه أحمر وفي البيئة الحامضية يصبح لونه برتقالي- أصفر.

تحت تصرفكم أنابيب ايندورف مشار إليها بالأحرف "ق" وفيها قاعدة NaOH، أنبوبة ايندورف مشار إليها بالحرف "ح" وفيها حامض (خل الطبخ)، انبوبة ايندورف مشار إليها بالحرف "ك" وفيها الكاشف فينول أحمر، ميكروبيبيت من نوع p20 (المخصص لنقل أحجام تتراوح بين 2µl – 20µl)، تبيات، ورقق بارافيلم.

أ. بواسطة قلم للتأشير ارسموا على كل ورقق البارافيلم الجدول 1 "جدول تمرين".

الجدول 1: جدول تمرين.

	A	B	C
1			
2			
3			

ב. حسب المعلومات في الجدول 2 انقلوا الحجم المطلوب من كل محلول (حامض، قاعدة فينول أحمر) من أنبوبة إندورف ملائمة إلى المربع الملائم في الجدول الذي على ورق البارافيلم.

في كل مربع عليكم إضافة كميات من محلولين مختلفين واحدة فوق الأخرى.

احرصوا على وضع كل كمية في وسط المربع الملائم بحيث تتكون قطرة في مركز المربع.

ج. نفذوا التعليمات في البنود ج - د واستعينوا بتعليمات العمل في المهمة 1 البنود ب - د. في كل عملية نقل سائل عليكم تغيير الحجم في الميكروبييت وتبديل تيب.

- لمنع الأخطاء أثناء العمل، ضعوا إشارة $\sqrt{\quad}$ في السطر الملائم وفي المربع الملائم في الجدول 2.
د. بعد نقل الحجوم الملائمة من الفينول أحمر والقاعدة للخلية، A1 امتصوا القطرتين وأعدوها للخلية A1. هذه العملية تنفذ بواسطة ضغطة بطيئة على زر الضغط 1 عندما يكون التيب في الهواء فوق القطرات، حرروا زر الضغط والتيب مغمور في القطرات ثم اضغطوا بلطف مرة أخرى على زر الضغط 1 في نفس المكان على البارافيلم.

هذه العملية تخلط السوائل معا.

أعيدوا تنفيذ التعليمات البنود ج و د مع السوائل الملائمة لكل واحدة من المربعات في الجدول.

الجدول 2: حجوم المحاليل

	A	B	C
1	5 μ l فينول أحمر 5 μ l قاعدة	6 μ l فينول أحمر 4 μ l حامض	7 μ l فينول أحمر 3 μ l قاعدة
2	10 μ l فينول أحمر 10 μ l حامض	12 μ l فينول أحمر 8 μ l قاعدة	14 μ l فينول أحمر 6 μ l حامض
3	15 μ l فينول أحمر 15 μ l قاعدة	18 μ l فينول أحمر 12 μ l حامض	20 μ l فينول أحمر 10 μ l قاعدة

سؤال 1: قارنوا بين حجم القطرات على طول السطر (يمين ويسار) وعلى طول العمود (أعلى وأسفل). هل القطرات متساوية في حجمها؟

سؤال 2: ما الذي أدى للفروق في لون القطرات في الخليتين A1 و A2؟

سؤال 3: إذا اكملت المهمة كما يجب تستطيعوا ان تميزوا نموذج معين على سطح البارافيلم. ما هو هذا النموذج؟

نظفوا مساحة سطح العمل بواسطة محارم رطبة أو قطن مبلل.

التعرف على الميكروبييت



- لا تستعملوا الميكروبييت بدون تيب بتاتا!.
- استعملوا تيب جديد ونظيف لكل عملية نقل.