



תאריך עדכון: 16.5.18

דפים ללברנט

נושא: זיהוי הביטוי של גן מדווח בתאי מעי ובתאי שריר בנמטודות

טרנסגניות מסוג *C. elegans*

C. elegans הוא אורגניזם רב תאי קטן השייך לקבוצת הנמטודות. בניסוי נשתמש בפרטים טרנסגניים, שהוחדר להם גן מדווח LacZ שמקורו בחיידקים. החלבון המדווח הוא האנזים β -gal. אנזים זה מזרז פירוק לקטוז לשתי מולקולות חד סוכר. חוקרים מצאו כי האנזים יכול לפעול גם על חומר מלאכותי ששמו X-Gal. חומר זה הוא חסר צבע וכתוצאה מפעולת האנזים עליו נוצר חומר שצבעו כחול. בניסוי, הצבע הכחול של תאים במעי או בשריר של הנמטודה מאפשר לזהות את הרקמה שבה הגן התבטא. מומלץ לקרוא הסבר מפורט של כל שלבי הניסוי בקובץ "נמטודות למורה". **הצלחת הניסוי** תלויה בהקפדה על ביצוע כל ההנחיות המפורטות בהמשך ובכלל זה גם התייעצות עם המורה והרכז לגבי מועד ביצוע הניסוי ובדיקת התוצאות.

עבודה מדויקת של הלברנט בכל שלבי הביצוע כגון:

- שמירת הנמטודות בתנאים מתאימים,

- הכנת קרח יבש,

- שמירה על סביבה חשוכה לתמיסת X-Gal,

- עמידה בלוח זמנים.

ערכה לביצוע הניסוי: בתי הספר המנויים במרכז לפיתוח ולתמיכה במעבדות ביולוגיה יוכלו להזמין ערכה שבה יהיו חלק מהחומרים ומהציוד שנדרשים לביצוע הניסוי. הערכה מיועדת ל-8 קבוצות של תלמידים שבכל קבוצה יעבדו 2-4 תלמידים (ראו פירוט בעמוד 3).

לפני הזמנת הערכה מבר אילן, חשוב מאד לקרוא בעיון את רשימות הכלים והחומרים אותם יש להכין ואת אלו שכלולים בערכה (עמ' 3 - 7) ולבדוק האם יש לכם בבית הספר את כל שנדרש לביצוע הניסוי. אם חסרים לכם פריטי ציוד חשוב שתרכשו אותם בהקדם אצל ספקי הציוד למעבדות או תבדקו אפשרות לשאול אותם מבית ספר אחר. כך תוכלו לבצע את הניסוי במועד סמוך לקבלת הערכה מבר אילן.

נהלי הזמנת ערכה: את הערכה יש להזמין מהמרכז לפיתוח ותמיכה בבר אילן, **כשבועיים** לפני המועד שנבחר לביצוע הניסוי עם התלמידים. הלברנט יתקשר למרכז ויבדוק עם הצוות מהו המועד המתאים להגעת שליח מטעם בית הספר. בהתאם להנחיות שהלברנט יקבל, הוא יזמין שליח שיגיע לבר אילן, יקבל את הערכה וימסור אותה ללברנט בביה"ס.

לתשומת לבכם:

- חשוב לבצע את הניסוי לא יאחר משבועיים מיום קבלת הערכה בבית הספר.
- בית הספר יישא בהוצאות משלוח הערכה מבר אילן או שידאג לנציג מטעמו שיבצע איסוף עצמי.



תמיכה והתארגנות: בכל שאלה הקשורה להכנת הניסוי ניתן להתקשר למרכז לפיתוח ולהתייעץ עם הלבורנטיות שהתמחו בניסוי זה.

בכל שנה תתקיימנה במרכז השתלמויות למורים וללבורנטים בנושא ביולוגיה מולקולרית. אנו ממליצים לכם לעקוב באופן שוטף אחר המידע שיתפרסם בנושא זה [באתר המרכז](#).

בטיחות בעבודת ההכנה של הלבורנט ובעבודת המורה והתלמידים: הנמטודות אותן תקבלו ממרכז הפיתוח והתמיכה יסופקו על פני צלחת אגר מזין שעליה גדלים חיידקי E.Coli מזן OP50. הנמטודות ניזונות מהחיידקים ומתרבות על האגר. אמנם חיידקים אלה אינם פתוגניים, אך מטעמי זהירות אנו מחויבים **לעבוד עם כל המיקרואורגניזמים במשנה זהירות ובתנאים סטריליים**. לפיכך, כבר בשלב תכנון הניסוי חובה עליכם לקרוא בעיון את הסעיפים הרלוונטיים [בחוזרי הבטיחות](#) המתפרסמים באתר מפמ"ר ביולוגיה ולעבוד על פי ההנחיות שהתפרסמו בהם ("חוזר המנכ"ל החדש והמעודכן לבטיחות במעבדה מרץ 2015", "הנחיות לשמירה על בטיחות בעבודה במעבדה לביולוגיה", "עבודה במעבדה במיקרוביולוגיה").

ראוי לציין כי הקפדה על ההנחיות כוללת גם את הטיפול בפסולת ביולוגית במהלך הניסוי ובסיומו, ניקוי משטחי העבודה ורחיצת ידיים בסיום העבודה.

הערה: הנחיות ייחודיות לעבודה לפי כללי בטיחות בניסוי כלולות במסמך זה ובדפים לתלמיד.

הלבורנט חייב להקפיד ולעבוד על פי הנחיות הבטיחות בזמן שהוא מכין את הכלים והחומרים לניסוי ולהדריך את המורים והתלמידים בהנחיות אלה לפני ביצוע הניסוי ובמהלכו.

בטבלאות ובנספחים שבעמודים הבאים מוצג מידע על ההתארגנות לקראת ביצוע הניסוי:

בטבלה 1, מידע על הפריטים שבערכה שתסופק על ידי המרכז לפיתוח ותמיכה בבר אילן (עמ' 3).

בטבלה 2, מידע על הציוד שימצא על שולחן המורה בעת ביצוע הניסוי (עמ' 4).

בטבלה 3, מידע על הכלים והחומרים שהלבורנט צריך כדי להכין את כל הנדרש לכיתה ולכל קבוצת תלמידים (עמ' 5 - 12)

בנספח, מידע על טיפול באקונומיקה בסיום הניסוי. (עמ' 13 - 14)



טבלה 1: פריטים בערכה שתסופק על ידי המרכז לפיתוח ותמיכה וישמשו להכנת חומרים

שימוש בפריט בטבלה 3	לוח זמנים לעבודה עם הפריט	תנאי אחסון	לקבוצת תלמידים (ראו פרוט בטבלאות 2, 3) כלים וחומרים
1	יומיים לפני ביצוע הניסוי	שמירה במקרר	צלחת פטרי גדולה שבה אגר מזין, חיידקי E.Coli מזן OP50 ונמטודות מזן בר
2		שמירה במקרר	צלחת פטרי גדולה שבה אגר מזין, חיידקי E.Coli מזן OP50 ונמטודות מזן ROL
3		שמירה במקרר	צלחת פטרי גדולה שבה אגר מזין, חיידקי E.Coli מזן OP50 ונמטודות מזן UNC
4		שמירה במקרר	צלחת פטרי גדולה שבה אגר מזין, חיידקי E.Coli מזן OP50 עם נמטודות מסומנת "חלבון מדווח שריר"
5		שמירה במקרר	צלחת פטרי גדולה שבה אגר מזין, חיידקי E.Coli מזן OP50 עם נמטודות מסומנת "חלבון מדווח מעי"
5 - 1		שמירה במקרר	24 צלחות פטרי קטנות עם אגר מזין וחיידקי E.Coli מזן OP50.
5 - 1			5 מבחנות סטריליות מפלסטיק בנפח כ-15 מ"ל + פקק מתברג מפלסטיק
23		שמירה בתא ההקפאה של המקרר	מבחנת אפנדורף ובה 0.4 מ"ל תמיסת X-Gal, מסומנת "X-Gal" ועטופה ברדיד אלומיניום
13		4 מבחנות מפלסטיק בנפח 50 מ"ל + פקק	
9		8 מבחנות אפנדורף	
11		10 זכוכיות נושאות עם חומר מצמיד נמטודות	



טבלה 2: מידע על ציוד שימצא על שולחן המורה בעת ביצוע הניסוי

שם הפריט	הערות
קרח כתוש בכלי המסומן "אמבט קרח"	על שולחן המורה, ראו פריט 15
מבחנה פקוקה ובה 50 מ"ל אצטון שמתאים להכנסת 2 זכוכיות נושאות צמודות זו לזו	המבחנה בתוך בכלי עם קרח על שולחן המורה. ראו פריט 13
בלוק קרח יבש מאוחסן בתוך כלי עם מכסה	על שולחן המורה, מסייע להצמיד את הנמטודות למשטח, ראו פריט 21
תמיסת X-Gal	בערכה מבר אילן, במגש על שולחן המורה. ראו פריט 23
8 פיסות של רדיד אלומיניום בגודל כ- 15 X 15 ס"מ + 8 מדבקות	על שולחן המורה, מיועד לעטוף כל אחת מהזכוכיות הנושאות לאחר הוספת תמיסת X-Gal, ראו פריט 24
פיסות צמר גפן + בקבוק סגור ופקוק ובו כוהל 70% לחיטוי	במגש על שולחן המורה. מיועד לחיטוי השולחנות. ראו פריט 26
2 להבים של סקלפל / סכין חד	על שולחן המורה, משמש להסרת זכוכית מכסה מזכוכית הנושא. הפריט מיועד לשימוש המורה או הלבורנט
מיקרופיפטור + טיפים מתאימים להעברת 20 מיקרוליטר	אם יש ברשותכם רק פיפטור אחד , הניחו אותו וטיפים בנפח 20-30 מיקרוליטר על שולחן המורה.

לתשומת לבכם:

לפני תחילת העבודה חשוב מאד לנקות את שולחן העבודה של הלבורנט בכוהל 70%. לאחר שהכוהל יתייבש, על פי הצורך יש לעבוד בקרבת להבה דולקת.

בתום העבודה יש לנקות את המשטח בכוהל ולעקר את הציוד על פי ההנחיות ב "[חוזר המנכ"ל החדש והמעודכן לבטיחות במעבדה מרץ 2015](#)". הבטחת הבטיחות במעבדות עמ' 48 - 50.

ראו רשימה מפורטת של כל הפריטים וההערות בטבלה 3, בעמודים 5 – 12.



**טבלה 3: רשימות הכלים והחומרים
לפריטים המסומנים בכוכבית (*) יש הסבר / פירוט ברשימת ההערות**

מס' פריט	תיאור פריטים ורשימת הציוד והחומרים הנדרשים להכנתם	כמות לכיתה	כמות לקבוצה: 4 - 2 תלמידים
*1	<p>צלחת פטרי קטנה מסומנת "1" ובה אגר מזין, חיידקי E.Coli מזן OP50 ונמטודות מזן בר</p> <p>להכנה יומיים לפני הניסוי</p> <p>- צלחת פטרי גדולה עם נמטודות של פנוטיפ זן בר (בערכה מבר אילן) - 8 צלחות פטרי קטנות עם אגר מזין, חיידקי E.Coli OP50 לגידול נמטודות (בערכה מבר אילן) כ- 20 מ"ל מים סטריליים - 2 פיפטות סטריליות בנפח 10 מ"ל כל אחת - מבחנה סטרילית בנפח כ- 15 מ"ל + פקק סטרילי (בערכה מבר אילן) - כלי לפסולת</p>	8 צלחות	1
*2	<p>צלחת פטרי קטנה מסומנת "2" ובה אגר מזין, חיידקי E.Coli מזן OP50 ונמטודות מזן ROL</p> <p>להכנה יומיים לפני הניסוי</p> <p>- צלחת פטרי גדולה עם נמטודות מזן ROL (בערכה מבר אילן) - 4 צלחות פטרי קטנות עם אגר מזין, חיידקי E.Coli OP50 לגידול נמטודות (בערכה מבר אילן) - כ- 15 מ"ל מים סטריליים - 2 פיפטות סטריליות בנפח 10 מ"ל כל אחת - מבחנה סטרילית בנפח כ- 15 מ"ל + פקק סטרילי (בערכה מבר אילן) - כלי לפסולת</p>	4 צלחות המסומנות "2"	<u>אחת מהצלחות:</u> צלחת "2" או צלחת "3".
*3	<p>צלחת פטרי קטנה מסומנת "3" ובה אגר מזין, חיידקי E.Coli מזן OP50 ונמטודות מזן UNC</p> <p>להכנה יומיים לפני הניסוי.</p> <p>- צלחת פטרי גדולה עם נמטודות מזן UNC (בערכה מבר אילן) - 4 צלחות פטרי קטנות עם אגר מזין, חיידקי E.Coli OP50 לגידול נמטודות (בערכה מבר אילן) כ- 15 מ"ל מים סטריליים - 2 פיפטות סטריליות בנפח 10 מ"ל כל אחת - מבחנה סטרילית בנפח כ- 15 מ"ל + פקק סטרילי (בערכה מבר אילן) - כלי לפסולת</p>	4 צלחות המסומנות "3"	<u>אחת מהצלחות:</u> צלחת "2" או צלחת "3".



מס' פריט	תיאור פריטים ורשימת הציוד והחומרים הנדרשים להכנתם	כמות לכיתה	כמות לקבוצה: 4 - 2 תלמידים
*4	<p>צלחת פטרי קטנה מסומנת "A1" ובה אגר מזין, חיידקי E.Coli מזן OP50 ונמטודות שלהן גן מדווח בשריר</p> <p>להכנה יומיים לפני הניסוי .</p> <p>- צלחת פטרי גדולה עם נמטודות מסומנות "חלבון מדווח שריר" (בערכה מבר אילן)</p> <p>- 4 צלחות פטרי קטנות עם אגר מזין, חיידקי E.Coli OP50 לגידול נמטודות (בערכה מבר אילן)</p> <p>- כ- 15 מ"ל מים סטריליים</p> <p>- 2 פיפטות סטריליות בנפח 10 מ"ל כל אחת</p> <p>- מבחנה סטרילית בנפח כ- 15 מ"ל + פקק סטרילי (בערכה מבר אילן)</p> <p>- כלי לפסולת</p>	4 צלחות מסומנות "A1"	אחת מהצלחות: צלחת "A1" או צלחת "A2".
*5	<p>צלחת פטרי קטנה מסומנת "A2" ובה אגר מזין, חיידקי E.Coli מזן OP50 ונמטודות שלהן גן מדווח במעי</p> <p>להכנה יומיים לפני הניסוי.</p> <p>- צלחת פטרי גדולה עם נמטודות מסומנות "חלבון מדווח מעי" (בערכה מבר אילן)</p> <p>- 4 צלחות פטרי קטנות עם אגר מזין, חיידקי E.Coli OP50 לגידול נמטודות (בערכה מבר אילן)</p> <p>- כ- 15 מ"ל מים סטריליים</p> <p>- 2 פיפטות סטריליות בנפח 10 מ"ל כל אחת</p> <p>- מבחנה סטרילית בנפח כ- 15 מ"ל + פקק סטרילי (בערכה מבר אילן)</p> <p>- כלי לפסולת</p>	4 צלחות המסומנות "A2"	אחת מהצלחות: צלחת "A1" או צלחת "A2".
6	5 מ"ל מים מזוקקים במבחנה המסומנת "מים" בכך למבחנות או בכלי מתאים	8	1
*7	פיפטת פסטר לשימוש חד פעמי עשויה מפלסטיק ומכילת, בנפח 2 מ"ל	8	1
8	מיקרוסקופ + קופסה ובה לפחות 2 זכוכיות מכסות	8	1
9	מבחנת אפנדורף (בערכה מבר אילן)	8	1
*10	כן למבחנות אפנדורף	8	1
*11	זכוכית נושאת (בערכה מבר אילן) עם מדבקה	4 זכוכיות עם מדבקה בצבע אחד ו-4 בצבע אחר	1 מדבקה באחד מהצבעים



מס' פריט	תיאור פריטים ורשימת הציוד והחומרים הנדרשים להכנתם	כמות לכיתה	כמות לקבוצה: 4 - 2 תלמידים
*12	מיקרופיפטור (= פיפטור ידני) + טיפים מתאימים	8	1
*13	מבחנה בנפח 50 מ"ל (בערכה מבר אילון) ובה אצטון + פקק מתאים	4	
14	מלקטת (פינצטה)	8	1
*15	כלי ובו קרח גרוס	שולחן מורה	
16	כלי בנפח כ- 500 - 750 מ"ל המסומן "כלי פסולת"	8	1
*17	צלחת קטנה לשימוש חד פעמי או צלחת פטרי גדולה או מכסה לצלחת פטרי גדולה	8	1
18	משקפי מגן		משקפים לכל תלמיד
19	זוגות כפפות לטקס		זוג לכל תלמיד
20	ניר בריסטול שחור (פיסה שגודלה כ- 15X10 ס"מ)	8	1
*21	קרח יבש	שולחן מורה	-----
22	להב סקלפל / סכין חד	2 שולחן מורה	-----
23	תמיסת X-Gal במבחנת אפנדורף מסומנת תמיסת "X-Gal" (מבר אילון)	שולחן מורה	-----
*24	רדיד אלומיניום בגודל כ 15 X15 ס"מ + מדבקה	8 שולחן מורה	1
*25	צמר גפן טבול בכוהל 70% לחיטוי	שולחן מורה	
26	שעון קיר	1	----



הערות לפריטים מהרשימה שסומנו ב *

פריט 1: צלחת פטרי קטנה מסומנת "1" ובה אגר מזין, חיידקי א. קולי ונמטודות מזן בר

הערה: בהכנת צלחות 1 – 5 תצטרכו להשתמש במים סטריליים. מומלץ להכין כ- 100 מ"ל מים סטריליים בבקבוק סטרילי שניתן להכניס אליו פיפטה של 10 מ"ל.

- א. בעזרת עט דק לסימון שאינו מחיק רשמו "1" על המכסה של כל אחת משמונה צלחות אגר קטנות (בערכה מבר אילן).
- על מבחנה סטרילית (בערכה מבר אילן) רשמו "1".
- ב. לרשותכם צלחת פטרי גדולה עם נמטודות מפנוטיפי הבר (בערכה מבר אילן).
יומיים לפני הניסוי, העבירו באמצעות פיפטה סטרילית 12 מ"ל מים סטריליים לצלחת זו
- ג. שטיפת נמטודות המצויות על האגר שבצלחת הגדולה:
- ערבבו בעדינות את הנוזל בצלחת בעודה על השולחן. הטו את הצלחת והעבירו בעזרת פיפטה של 10 מ"ל את רוב הנוזל (כ-12 מ"ל) למבחנה הסטרילית.
פקקו את המבחנה והניחו אותה בכך מבחנות, אל תטלטלו את הנוזל במבחנה. העבירו את הפיפטה לכלי פסולת.
- לאחר כ- 10 דקות, הוציאו באמצעות פיפטה נקיה 4 מ"ל מהנוזל העליון שבמבחנה הסטרילית והעבירו אל כלי הפסולת.
- ד. ערבבו קלות את הנוזל שנותר במבחנה והעבירו כ- 1 מ"ל מנוזל זה לכל אחת מ-8 צלחות אגר קטנות שהכנת וסימנת.
- העבירו את המבחנה הסטרילית לכלי פסולת.
- ה. כסו כל אחת מהצלחות והניחו אותן להדגרה על שולחן המעבדה למשך יומיים.
- אין להפוך את הצלחות.
אין צורך להכניס את הצלחות לאינקובטור.
- ו. לפני ביצוע הניסוי, הוסיפו צלחת אחת למגש של כל קבוצה.

עזרת עט דק לסימון שאינו מחיק, רשמו "2" על המכסה של כל אחת מארבע צלחות אגר קטנות (בערכה מבר אילן).

פריט 2 : צלחת פטרי קטנה מסומנת "2" ובה אגר מזין, חיידקים ונמטודות מזן ROL

- א. בעזרת עט דק לסימון שאינו מחיק, רשמו "2" על המכסה של כל אחת מארבע צלחות אגר קטנות (בערכה מבר אילן).
- על מבחנה סטרילית (בערכה מבר אילן) רשמו "2".
- ב. לרשותך צלחת פטרי גדולה שבה נמטודות מזן ROL (בערכה מבר אילן).
יומיים לפני הניסוי, העבירו באמצעות פיפטה סטרילית 10 מ"ל מים סטריליים לצלחת בה מצוי זן ROL.
- ג. שטיפת נמטודות המצויות על האגר שבצלחת הגדולה:
- ערבבו בעדינות את הנוזל בצלחת בעודה על השולחן. הטו את הצלחת והעבירו בעזרת פיפטה של 10 מ"ל את רוב הנוזל (כ-10 מ"ל) למבחנה הסטרילית.
- פקקו את המבחנה והניחו אותה בכך מבחנות, אל תטלטלו את הנוזל במבחנה. העבירו את הפיפטה לכלי פסולת.
- לאחר כ- 10 דקות, הוציאו באמצעות פיפטה נקיה 6 מ"ל מהנוזל העליון שבמבחנה הסטרילית אל כלי הפסולת.



- ד. ערבבו קלות את הנוזל שנותר במבחנה והעבירו כ- 1 מ"ל מנוזל זה לכל אחת מ-4 צלחות אגר קטנות שהכנתם וסימנתם.
ה. העבירו את המבחנה הסטרילית לכלי פסולת.
ה. כסו כל אחת מהצלחות והניחו אותן להדגרה על שולחן המעבדה למשך יומיים.
ה. אין להפוך את הצלחות.
ה. אין צורך להכניס את הצלחות לאינקובטור.
ו. לפני ביצוע הניסוי, הוסיפו צלחת אחת למגש של כל אחת מ- 4 קבוצות (מבין 8 הקבוצות).

פריט 3: צלחת פטרי קטנה המסומנת "3" ובה אגר מזין, חיידיקים ונמטודות מזן UNC

- על מבחנה סטרילית (בערכה מבר אילן) רשמו "3".
חזרו על הוראות פריט 2, אך הפעם עם צלחות קטנות (בערכה מבר אילן) מסומנות "3" ועם צלחת פטרי גדולה שבה נמטודות מזן UNC (בערכה מבר אילן).
לפני ביצוע הניסוי, הוסיפו צלחת אחת למגש של כל אחת מ- 4 קבוצות שלא נתתם להן את צלחת "2".

פריט 4: צלחת פטרי קטנה עם נמטודות שלהן גן מדווח בשריר, מסומנת "A1"

- א. בעזרת עט דק לסימון שאינו מחיק, רשמו "A1" על המכסה של כל אחת מארבע צלחות אגר קטנות (בערכה מבר אילן).
ב. על מבחנה סטרילית (בערכה מבר אילן) רשמו "A1".
ב. לרשותכם צלחת פטרי גדולה שבה נמטודות המסומנת "חלבון מדווח שריר" (בערכה מבר אילן). יומיים לפני הניסוי, העבירו באמצעות פיפטה סטרילית 10 מ"ל מים סטריליים לצלחת בה מצויות נמטודות "חלבון מדווח שריר".
ג. שטיפת נמטודות המצויות על האגר שבצלחת הגדולה:
- ערבבו בעדינות את הנוזל בצלחת בעודה על השולחן. הטו את הצלחת והעבירו בעזרת פיפטה של 10 מ"ל את רוב הנוזל (כ-10 מ"ל) למבחנה הסטרילית.
- פקקו את המבחנה. והעבירו את הפיפטה לכלי פסולת.
- לאחר כ- 10 דקות, הוציאו באמצעות פיפטה נקיה 6 מ"ל מהנוזל העליון שבמבחנה הסטרילית אל כלי הפסולת.
ד. ערבבו קלות את הנוזל שנותר במבחנה והעבירו כ- 1 מ"ל מנוזל זה לכל אחת מ-4 צלחות אגר קטנות שהכנתם וסימנתם.
ה. העבירו את המבחנה הסטרילית לכלי פסולת.
ה. כסו כל אחת מהצלחות והניחו אותן להדגרה על שולחן המעבדה למשך יומיים.
ה. אין להפוך את הצלחות.
ה. אין צורך להכניס את הצלחות לאינקובטור.
ו. לפני תחילת הניסוי, הוסיפו צלחת אחת למגש של כל אחת מ- 4 קבוצות (מבין 8 הקבוצות)



פריט 5: צלחת פטרי קטנה עם נמטודות שלהן גן מדווח במעי, מסומנת "A2"

על מבחנה סטרילית (בערכה מבר אילן) רשמו "A2".
- חיזרו על הוראות פריט 4, אך הפעם השתמשו ב- 4 צלחות קטנות (בערכה מבר אילן) מסומנות "A2" ועם צלחת גדולה המסומנת "חלבון מדווח מעי" (בערכה מבר אילן).
לפני ביצוע הניסוי, הוסיפו צלחת אחת למגש של כל אחת מ- 4 קבוצות שלא נתתם להן את צלחת "A1".

פריט 7: פיפטת פסטר לשימוש חד פעמי עשויה מפלסטיק ומכילת, בנפח 2 מ"ל

סמנו בעזרת עט דק לסימון שאינו מחיק את הקו המציין 1.5 מ"ל (ראו צילום).



פריט 10: כן למבחנות אפנדורף

הכן יסופק כחלק מהערכה לבתי ספר שטרם התנסו בניסוי הטרנספורמציה.

פריט 11: זכוכית נושאת (בערכה מבר אילן)

הזכוכיות עברו טיפול מקדים וצופו בחומר מיוחד שיגרום להצמדות הנמטודות.
- הדביקו מדבקה עגולה, קטנה וצבעונית על אזור הצבוע בלבן שבקצה הזכוכית (על מדבקה זו התלמידים ירשמו את שמם).
- על 4 מבין הזכוכיות שמיועדות לנמטודות מצלחת A1 הדביקו מדבקה בצבע
- על 4 הזכוכיות האחרות שמיועדות לנמטודות מצלחת A2 הדביקו מדבקה בצבע אחר.
צבע המדבקה.....
- כל קבוצה תקבל זכוכית נושאת + אחת מבין הצלחות A1 או A2. התלמידים יבצעו את סעיפים ב- ח עם הצלחת והזכוכית שברשותם ובהמשך יצפו במיקרוסקופ של קבוצה אחרת.

פריט 12: מיקרופיטור (= פיפטור ידני)

אם אין ברשותכם פיפטור ואתם מתעניינים ברכישתו אצל ספקי ציוד למעבדה, בחרו פיפטור שמתאים למדידת 20 מיקרוליטר של נוזל.
מומלץ שנפח זה לא יהיה הנפח המינימלי של המכשיר, כלומר, רצוי ש- 20 מיקרוליטר יהיה בטווח הערכים שאפשר להשתמש בו במכשיר.
אם יש ברשותכם רק פיפטור אחד, הניחו אותו ואת הטיפים בנפח 20-30 מיקרוליטר על שולחן המורה.



פריט 13: מבחנה מפלסטיק בנפח 50 מ"ל ובה אצטון + פקק מתאים (בערכה מבר אילן)

- יש להכניס למבחנה אצטון 100%, בנפח מתאים כך שיכסה 2 זכוכיות נושאות.
- יש לפקוק את המבחנה ולשמור אותה בכלי ובו קרח כמפורט בפריט 15.
- את הכלי עם הקרח ובתוכו המבחנה יש להניח על שולחן המורה.

פריט 15: קרח כתוש בכלי המסומן "אמבט קרח"

- אפשר להכין כלי משותף לכל הקבוצות כך שיכנסו בו, לא בצפיפות, 4 מבחנות (פריט 13) שבכל אחת יש 2 זכוכיות נושאות.
- המבחנות עם האצטון (פריט 13) צריכות להיות בכלי עם הקרח החל מתחילת הניסוי.

פריט 16: כלי בנפח כ- 500-750 מ"ל המסומן "כלי פסולת"

- התלמידים יניחו את כל הכלים שבאו במגע עם החומר הביולוגי כגון פיפטות פסטר, זכוכיות נושא, טיפים, צלחת אגר זרועה בחיידקים, כפפות. הכלים והנזלים יעברו עיקור או השרייה באקונומיקה ע"פ ההוראות בדפי ה**נחיה** לניסויים במיקרוביולוגיה.

פריט 17: צלחת לשימוש חד פעמי או כלי מתאים

- הצלחת מיועדת לזכוכית נושאת שהוצאה מהמבחנה עם האצטון.

פריט 21: כלי עם מכסה מתאים ובו בלוק קרח יבש

- יש לקנות קרח יבש עד יומיים לפני תחילת הניסוי ולאחסן אותו בכלי מתאים עם מכסה ובטמפרטורת החדר.
- חשוב לתאם את מועד ההספקה עם אחד הספקים של קרח יבש. (לדוגמה, [ספק א](#), [ספק ב](#), [ספקים ג, ד](#))

פריט 22: להב סקלפל / סכין חד

- לאחר הקפאת התכשיר, בעזרת להב הסקלפל, הלבורנט או המורה יסירו בזהירות מהזכוכית הנושאת את הזכוכית המכסה.

פריט 23: 0.5 מ"ל תמיסת X-Gal במבחנת אפנדורף מסומנת "X-Gal"

- תמיסה זו מתפרקת באור. יש להקפיד שהמבחנה (בערכה מבר אילן) תהיה פקוקה ועטופה בנייר אלומיניום גם לאחר הוצאתה מהמקפיא.
- את המבחנה יש להוציא מתא ההקפאה ולהניחה על שולחן המורה בתחילת הניסוי.
- אם צבע התמיסה השתנה לוורוד, אין להשתמש בתמיסה.



פריט 24: רדיד אלומיניום בגודל כ 15 X15 ס"מ + מדבקה

לאחר שעוטפים ברדיד אלומיניום את כל אחת מהזכוכיות הנושאות, יש להדביק מדבקה ולרשום עליה את שם אחד התלמידים בקבוצה.

פריט 25 פיסות צמר גפן + בקבוק סגור ופקוק ובו כוהל 70% לחיטוי

- א. לפני תחילת הניסוי וודאו שאין מקור אש בחדר המעבדה.
- מסרו לתלמידים פיסות צמר גפן טבולות בכוהל 70% והנחו אותם לחטא את משטח העבודה שלהם. לאחר החיטוי יש להמתין לייבוש המשטח.
- ב. בסיום הניסוי הנחו את התלמידים לחזור על פעולת החיטוי.

פריט 26: שעון קיר

חשוב שהתלמידים ממקום מושבם יוכלו לעקוב אחר מחוג הדקות .

להזכרכם:

יש להכין תמיסת אקונומיקה ע"פ ההוראות ב**דפי הנחיה** לניסויים במיקרוביולוגיה ובתום העבודה של התלמידים יש לעקר את כל הנוזלים ואת כל הכלים שהיו במגע עם חיידקים ונמטודות.
פירוט מלא לגבי שימוש באקונומיקה ראו בנספח, עמודים 13 – 14.



נספח: עיקור וחיטוי בסיום העבודה (מקובץ "עבודה במעבדה במיקרוביולוגיה")

בסיום העבודה המיקרוביולוגית חשוב לעקר ולחטא את כל התמיסות, הכלים והמשטחים איתם עבדנו.

עיקור באוטוקלב

1. אספו את כל הנוזלים המכילים חיידקים לבקבוק. שימו לב! גם בשלב זה אין למלא את הבקבוק יותר מ2/3 מנפחו.
2. אספו את כל הצלחות המכילות חיידקים ואת הכלים החד פעמיים המזוהמים **לשקית מיוחדת המתאימה לאוטוקלב**.
3. הכניסו לאוטוקלב את הכלי ובו הנוזלים שאספתם (סעיף 1), את השקית (סעיף 2), ואת כל שאר הכלים שהזדהמו בזמן העבודה.
4. הפעילו את האוטוקלב על-פי הוראות היצרן.
5. לאחר הטיפול באוטוקלב, השליכו את הפסולת המוצקה לפח האשפה, שפכו את הנוזלים לביוב ושטפו את הכלים לשימוש חוזר.

עיקור בעזרת אקונומיקה

יש להקפיד על שימוש בכפפות ומשקפי מגן כדי להגן על הגוף (והבגדים) מנזקי האקונומיקה.

לעיקור הנוזלים:

1. אספו את כל הנוזלים המכילים חיידקים לבקבוק בעל שנתות.
2. מדדו את נפח הנוזלים המזוהמים והוסיפו עשירית הנפח אקונומיקה.
3. המתינו לפחות 20 דקות ושפכו לביוב.

לעיקור הכלים:

4. הכינו דלי עם נפח גדול של אקונומיקה מהולה פי 10.
5. הכניסו לדלי צלחות פטרי שגדלו עליהן חיידקים לאחר שהסרתם מהן את המכסה.
6. הכניסו לדלי כלים שהזדהמו בזמן העבודה.
7. המתינו 20 דקות לפחות.

שפכו את הנוזלים לביוב והשליכו את הפסולת המוצקה לפח האשפה. שטפו את הכלים לשימוש חוזר.

חיטוי משטח העבודה

1. צקו על משטח העבודה מעט תמיסת אתנול בריכוז 70% (לא 100%!). דאגו שלא יהיה מקור אש בקרבת מקום.
2. פזרו את האתנול על כל המשטח והניחו לו להתנדף.