المستشعرات البيولوجية - مخطط العمل:

حضن البكتيريا مع السم:

تجهيز تخفيفات السم (أو تجهيز اعدادات التجربة – إذا بدون تخفيفات)

↓

إضافة السم إلى البكتيريا

↓

تصفير السبكتروفوتومتر وقراءة درجة التعكر

↓

حضن البكتيريا في الحمام المائي 37 مع السم

ضبط الساعة ل 20 دقيقة - قراءة درجة التعكر كل 20 دقيقة

↓

بين الزمن 0-20:

شرح واعداد أنابيب التفاعل بالابندورف مع القفل (صفحة 4 أو 5)

اعداد أنابيب التفاعل (لا تستخدمها بعد!)

حفظ الأنابيب في الثلج وتغطيتها بورق الألومنيوم حتى استخدامها

↓

بين الزمن 20-40:

شرح عن الطرد المركزي وغسل البكتيريا وترقيم أنابيب ابندورف عادية للغسل

ترقيم أنابيب الغسل

↓

بين الزمن 40-60:

استراحة

↓

الحضن في الحمام المائي مع السم

بعد الزمن 60 – غسل البكتيريا:

استخدام أنابيب الغسل

نقل حصص بحجم 900µl بكتيريا لأنابيب الغسل

↓

عملية فراز لمدة 5 دقائق بسرعة 15000 دورة / دقيقة ← انتباه لوجود راسب! وسكب السائل العلوي

↓

راسب

تعليق الراسب ب- 500µl **محلول رقم 1 ابيض**

↓

عملية فراز لمدة 5 دقائق بسرعة 15000 دورة / دقيقة ← انتباه لوجود راسب! وسكب السائل العلوي

↓

راسب

تعليق الراسب ب- 350µl **محلول رقم 2 ازرق**

↓

راسب بكتيري معلق

↓

<u>تنفيذ التفاعل الأنزيمي:</u>

استخدام أنابيب التفاعل

نقل 100µl من الراسب المعلق للأنابيب مع خليط التفاعل اصفر

إضافة 50µl كلوروفورم

↓

مزج بجهاز الفورتكس

↓

حضن ب- 37 درجة مئوية ل- 30 دقيقة

↓

اعداد صحن القراءة ونقل حصص بحجم 100µl للقراءة وفقا للتعليمات

انتبهوا لإدخال السائل **إلى مركز الحجيرة، بدون كلوروفورم وبدون فقاعات**

<u>فيما يلي سير عمل موجز لتجربة المستشعرات البيولوجية:</u>

1. تجهيز اعدادات التجربة - بكتيريا + مواد سامة أو ما تريدون إضافته.
2. حضن ل-60 دقيقة بحمام مائي (*في هذا الوقت، يمكن القيام بشيئين:*
   أ. ترقيم أنابيب ابندورف عادية فارغة التي ستبقى على الطاولة (أ')،
   *ب. تحضير الأنابيب للخطوة 7، و تركها مغطاة بالثلج **حتى الوصول** للخطوة 7 (ب');*
3. بعد 60 دقيقة: نقل 900µl بكتيريا لأنابيب الابندورف الفارغة (أ')، وفرز البكتيريا.
4. تعليق البكتيريا ب- 500µl محلول الغسل 1.
5. فرز ثاني.
6. تعليق البكتيريا ب- 350µl محلول الغسل 2.
7. نقل 100µl بكتيريا من خطوة 6 للأنابيب الموجودة في الثلج مع "محلول التفاعل" (ب') وإضافة 50µl كلوروفورم.
8. حضن خليط التفاعل من خطوة 7 بدرجة حرارة 37 (*في هذا الوقت، يمكن نقل 100µl بكتيريا من خطوة 6 لصحن القراءة*).
9. نقل 100µl من خليط التفاعل لصحن القراءة.
10. قراءة النتائج.