DNA

في تجربة اليوم سنتعرف على بعض الإمكانات المدهشة للهندسة الوراثية. سنتعرف على المادة الوراثية(DNA), وسنراه بالعين المجردة وسنتعرف على إمكانية نقل قطع من DNA من كائن حي إلى آخر.

إدخال الDNA إلى خلايا البكتيريا:

في سلة الثلج أمامك 3 أنابيب:

الأنبوب	محتوى الأنبوب
0	فارغة
+	DNA
C	بكتيريا مؤهلة لإستقبال البكتيريا

إفحص إذا كان السائل في الأنبوب C قد ذاب، إذا لم يكن ذائباً استعن بالمرشد.

المرحلة الأولى: إضافة ال DNA إلى البكتيريا:

1. إضبط الماصة الأوتوماتيكية على 60 ميكرولتر و ضع مصاصة بيضاء (تيب)
2. انقل 60 ميكرولتر من البكتيريا بلأنبوبة C الى الأنبوبة المسماه ب +
3. انقل 60 ميكرولتر من البكتيريا بلأنبوبة C الى الأنبوبة المسماه ب **0**
4. أخلط الأنبوبين بلطف عن طريق النقر بالإصبع. تجنب تكون الفقاقيع.
5. ضع الأنابيب على حامل الأنابيب " القارب" الدائري وضع الأنابيب في الثلج لمدة 20 دقيقة.

في وقت الإنتظار إرجع إلى المرشد لإكمال النشاط.

المرحلة الثانية: إدخال ال DNA إلى البكتيريا

6. أنقل سلة الثلج مع الأنابيب إلى جانب الحوض المائي 42 ºC. أدخل القارب مع الأنابيب إلى الحوض لمدة 90 ثانية بالضبط (صدمة تسخين).
7. أنقل القارب بسرعة مع الأنابيب إلى الثلج وأبقها هناك لمدة 60 ثانية بالضبط (صدمة تبريد)

المرحلة الثالثة : عودة البكتيريا إلى طبيعتها و ترجمة الجين المسؤول عن المقاومة للمضادات الحيوية:

8. إضبط الماصة على 400 ميكرولتر و ضع تيب (مصاصة) أزرق.
9. أضف إلى كل الأنابيب **(0 و +)** 400 ميكرولتر من الوسط الغذائي LB
10. أخلط محتوى الأنابيب بلطف عن طريق النقر بالإصبع .
11- ضع الأنابيب في القارب و أدخله في الحوض المائي 37º C.
12- أبق الأنابيب هناك لمدة 15-30 دقيقة.

في وقت الإنتظار توجه إلى المرشد لإكمال العمل

المرحلة الرابعة: زراعة البكتيريا على وسط صلب

أمامك أربعة أطباق بتري تحوي وسط غذائي صلب، اثنان يحتويان المضاد الحيوي أمبيسلين و الآخران لا يحويان مضاد حيوي.

13- أكتب على أسفل الأطباق التي تحوي المضاد الحيوي:
+- وسط اختياري ، 0 - وسط اختياري و اكتب اسمك و التاريخ
14- أكتب على أسفل الطبقين الآخرين:
+- وسط عادي ، 0- وسط عادي

زراعة البكتيريا:

15- اضبط الماصة على 100 ميكرولتر و ضع تيب (مصاصة) أبيض.

16- أنقل 100 ميكرولتر من البكتيريا من الأنبوبة 0 إلى مركز الطبق 0- وسط عادي.

17- أنقل 100 ميكرولتر من البكتيريا من نفس الأنبوبة إلى الطبق 0 - وسط اختياري ثم ارم الغطاء الأبيض.

18- بواسطة عصا الزراعة وزع البكتيريا التي زرعتها على الطبق 0 – وسط عادي ثم أغلق الطبق.

19- بواسطة عصا الزراعة وزع البكتيريا التي زرعتها على الطبق 0 - وسط اختياري ثم أغلق الطبق.

20- أنقل 100 ميكرولتر من البكتيريا من الأنبوبة + إلى مركز الطبق +- وسط عادي.

21- أنقل 100 ميكرولتر من البكتيريا من الأنبوبة + إلى مركز الطبق +- وسط اختياري .

22- بواسطة عصا الزراعة وزع البكتيريا التي زرعتها على الطبق + - وسط عادي ثم أغلق الطبق.

23- بواسطة عصا الزراعة وزع البكتيريا التي زرعتها على الطبق + - وسط اختياري ثم أغلق الطبق.

24- بواسطة الورق اللاصق ألصق جميع الأطباق معاً. لا تلصق الأطباق من الجوانب.

25- احفظ الأطباق في حاضنة على درجة 37 ° C لمدة 24 ساعة ثم افحص ظهور المستعمرات البكتيرية.

إستخلاص DNA من خلايا الفم

1. على الطاولة أمامك يوجد كأس مملوء بالماء. أغسل فمك جيدا بهذا الماء لمدة 30 ثانية حاول أن تضيف لعاباً إلى الماء وهو في فمك.
2. أدخل الماء الذي في فمك إلى أنبوبة ذات غطاء أزرق.
3. أضف للأنبوب 1 مل من محلول الملح.
4. أضف 1 مل من محلول الدترجنت "المذيب".
5. أغلق الأنبوبة، ثم أمزج بلطف محتوى الأنبوب بواسطة قلبها من جهة إلى أخرى.
6. أنتظر دقيقتين.
7. في سلة الثلج التي أمامك يوجد أنبوب مملوء بالكحول. أضف الكحول " كل محتوى لأنبوب" للأنبوبة ذات الغطاء الأزرق وذلك بواسطة سكبه **ببطء** على جدار الأنبوب " استعن بالمرشد". **لاحظ** أن الكحول تكون طبقة فوق طبقة السائل الموجود داخل الأنبوب. **إحذر** لا تمزج هاتان الطبقاتان لأن من المفروض على DNA أن يتجمع بالمنطقة الفاصلة بين هاتان الطبقاتان.
8. انتظر ثلاثة دقائق ولاحظ كيف أن الـ DNA يخرج من الطبقة السفلى (الماء) إلى الطبقة العليا (الكحول).