



## פרוטוקול للطالب - فعالية انزيم الليزوزيم

**تجربة رقم 1: فحص تأثير درجة الحرارة على وتيرة ونسبة عمل انزيم الليزوزيم**  
**افتح الملف "نتائج الليزوزيم" المحفوظ في طاولة العمل (desktop) واحفظه ثانية في ملف H تحت عنوان**  
**اسمك**

### سير العمل:

1. رقم ثلاثة انابيب اختبار بالارقام: 1,2,3 باستخدام قلم التاشير.
2. انقل 3 ملل من معادل الفوسفات  $pH = 6.3$  الى كل واحد من انابيب الختبار باستخدام الماصة.
3. استخدم ماصة اوتوماتيكية ذات الحجم 1000 ميكرو لتر واضبطها على ال 500 ميكرو لتر ثم البسها ذراع اسقاط (تيب) ازرق.
4. اضف لكل واحد من انابيب الاختبار 500 ميكرو لتر من محلول الليزوزيم (بتركيز 0.05 ملغم لملل).
5. اخلط محتوى الانابيب بخفة باستخدام الدوامة.
6. ادخل انابيب الاختبار الى الاوعية المائية الملائمة لمدة 3-5 دقائق:

رقم الانبوب	درجة الحرارة في الوعاء المائي (°C)
1	25
2	37
3	65

في هذه المرحلة, على درجة حرارة السائل, الذي سيتم حدوث التفاعل بين الانزيم ومادة الاساس فيه, ان تصل الى نفس درجة حرارة الوعاء المائي .

7. اضبط جهاز السبكتروفوتومتر على طول الموجة 450 نانومتر.
8. صفر جهاز السبكتروفوتومتر بواسطة انبوب اختبار يحوي ماء موجود في حامل انابيب الاختبار.
9. استخدم ماصة اوتوماتيكية ذات الحجم 1000 ميكرو لتر واضبطها على ال 500 ميكرو لتر ثم البسها ذراع اسقاط (تيب) ازرق. ابتداء من المرحلة رقم 10 من التجربة, عليك ان تفحص مدى تعكر السائل الذي يحدث فيه التفاعل كل دقيقة لمدة خمس دقائق.

قبل ان تبدأ بالعمل تاكد من انك جاهز لتنفيذ تكملة التجربة وحافظ على تنفيذها بسرعة.

يتم حدوث التفاعل الانزيمي في الوعاء المائي في درجة الحرارة المناسبة, وفحص مدى التعكر يتم في جهاز السبكتروفوتومتر الموجود على طاولة العمل. حافظ على التعليمات التالية:

- ✓ **اخلط** محتوى انبوب الاختبار قبل كل قراءة. (الجراثيم تترسب في انبوب الاختبار).
  - ✓ بعد القراءة, **قم بإرجاع** انبوب الاختبار الى الوعاء المائي الملائم بسرعة بقدر الامكان.
- حافظوا على نظام مراحل التجربة:** مراحل العمل 10-21 يتم تطبيقهم على انبوب الاختبار رقم 1 فقط. بعد نهاية المرحلة 21 يتم تطبيق المراحل 10-21 على انبوب الاختبار رقم 2. بعد نهاية المرحلة 21 يتم تطبيق المراحل 10-21 على انبوب الاختبار رقم 3.



10. **אחלט** האניוב האختבארי הזי יכוי אראתימ איהא.
11. אכרא האניוב האختבארי רקמ 1 רקא מן וועא המאי ונשה איהא.
12. אצא אל האניוב האختבארי רקמ (1) 500 מיקרולטר מן אראתימ.
13. אחלט מחתוי האניוב בואסטה אואמה ואחא מדי התכר פי אניוב האختבארי בסרעה.
14. אאגל התניאה פי אגאול המרק לאחא.
15. אאבאט האעה (stopper) על די איהא.
16. אעד בסרעה אניוב האختבארי אל וועא המאי זי ארה ארה 25°C .
17. אעד מרוו איהא אכרא אניוב האختבארי מן וועא המאי.
18. אחלט מחתוי האניוב בואסטה אואמה.
19. אנשה אניוב האختבארי איהא ואחא בסרעה מדי התכר. אאגל התניאה.
20. אעד אניוב האختבארי אל וועא המאי זי ארה ארה 25°C .
21. אעד תאניא מראחל האעל 13-17, אל איהא למה אמש אאנק.
22. אעד תאניא מראחל האעל 9-21 באסתאא האניוב האختבארי רקמ 2 וועא המאי זי ארה ארה 37°C
23. אעד תאניא מראחל האעל 9-21 באסתאא האניוב האختבארי רקמ 3 וועא המאי זי ארה ארה 65°C

אגאול לתאניא התאניא:

מדי תכר [OD <sub>(450)</sub> ] האנאל הזי יאאא פי ההתאעל			
3	2	1	רקמ אניוב האختבארי
65	37	25	אזמן (באאיהא) / ארה ארה (°C)
			0
			1
			2
			3
			4
			5



### תجربة رقم 2: تأثير DTT على وتيرة ونسبة عمل انزيم الليزوزيم

افتح الملف "نتائج الليزوزيم" المحفوظ في طاولة العمل (desktop) واحفظه ثانية في ملف H تحت عنوان

اسمك

سير العمل:

1. رقم اربعة انابيب اختبار بالارقام: 1,2,3, 4 باستخدام قلم التاشير.
  2. انقل 3 ملل من معادل الفوسفات  $pH=6.3$  الى انابيب الاختبار 1 و 3 باستخدام الماصة.
  3. انقل 2 ملل من معادل الفوسفات  $pH=6.3$  الى انابيب الاختبار 2 و 4 باستخدام الماصة.
  4. استخدم ماصة اوتوماتيكية ذات الحجم 1000 ميكرو لتر واضبطها على ال 500 ميكرو لتر ثم البسها ذراع اسقاط (تيب) ازرق.
  5. اضف لكل واحد من انابيب الاختبار 500 ميكرو لتر من محلول الليزوزيم (بتركيز 0.05 ملغم لملل).
  6. استخدم ماصة اوتوماتيكية ذات الحجم 1000 ميكرو لتر واضبطها على ال 1000 ميكرو لتر ثم البسها ذراع اسقاط (تيب) ازرق.
  7. اضف الى انبوبي الاختبار رقم 2 و 4 1000 ميكرو لتر DTT.
  8. اخلط انابيب الاختبار الاربعة.
  9. ادخل انبوبي الاختبار رقم 1 و 2 الى الوعاء المائي ذي درجة حرارة  $25^{\circ}C$  وانبوبي الاختبار رقم 3 و 4 الى الوعاء المائي ذي درجة حرارة  $65^{\circ}C$   
في هذه المرحلة, على درجة حرارة السائل, الذي سيتم حدوث التفاعل بين الانزيم ومادة الاساس فيه, ان تصل الى نفس درجة حرارة الوعاء المائي .
  10. اضبط جهاز السبكتروفوتومتر على طول الموجة 450 نانومتر.
  11. صفر جهاز السبكتروفوتومتر بواسطة انبوب اختبار يحوي ماء موجود في حامل انابيب الاختبار.
  12. استخدم ماصة اوتوماتيكية ذات الحجم 1000 ميكرو لتر واضبطها على ال 500 ميكرو لتر ثم البسها ذراع اسقاط (تيب) ازرق.
- ابتداء من المرحلة رقم 12 من التجربة , عليك ان تفحص مدى تعكر السائل الذي يحدث فيه التفاعل كل دقيقة لمدة خمس دقائق.
- قبل ان تبدا بالعمل تاكد من انك جاهز لتنفيذ تكملة التجربة وحافظ على تنفيذها بسرعة.
- يتم حدوث التفاعل الانزيمي في الوعاء المائي في درجة الحرارة المناسبة, وفحص مدى التعكر يتم في جهاز السبكتروفوتومتر الموجود على طاولة العمل. حافظ على التعليمات التالية:
- ✓ اخلط محتوى انبوب الاختبار قبل كل قراءة. (الجراثيم تترسب في انبوب الاختبار.
- ✓ بعد القراءة, قم بإرجاع انبوب الاختبار الى الوعاء المائي الملائم بسرعة بقدر الامكان.
- حافظوا على نظام مراحل التجربة: مراحل العمل 13-24 يتم تطبيقهم على انبوب الاختبار رقم 1 فقط. بعد نهاية المرحلة 23 يتم تطبيق المراحل 13-24 على انبوب الاختبار رقم 3, وفي النهاية يتم تطبيق هذه المراحل على انبوب الاختبار رقم 4.
13. اخلط الانبوب الاختباري الذي يحوي الجراثيم جيدا.



14. אخرج الانبوب الاختباري رقم 1 من الوعاء المائي ونشفه جيدا.
15. اضع الى الانبوب الاختباري رقم (1) 500 ميكرو لتر من الجراثيم.
16. اخلط محتوى الانبوب بواسطة الدوامة وافحص مدى التعكر في انبوب الاختبار بسرعة.
17. سجل النتيجة في الجدول المرفق لاحقا.
18. اضبط الساعة (stopper) على دقيقة.
19. اعد بسرعة انبوب الاختبار الى الوعاء المائي ذي درجة حرارة 25°C .
20. بعد مرور دقيقة اخرج انبوب الاختبار من الوعاء المائي.
21. اخلط محتوى الانبوب بواسطة الدوامة.
22. نشف انبوب الاختبار جيدا وافحص بسرعة مدى التعكر. سجل النتيجة.
23. اعد انبوب الاختبار الى الوعاء المائي ذي درجة حرارة 25°C .
24. اعد تنفيذ مراحل العمل 15-17, كل دقيقة لمدة خمس دقائق.
25. اعد تنفيذ مراحل العمل 11-22 باستخدام الانبوب الاختباري رقم 2 والوعاء المائي ذي درجة حرارة 25°C
26. اخرج انبوب الاختبار رقم 3 من الوعاء المائي واعد تنفيذ مراحل العمل 11-22 باستخدام الوعاء المائي ذي درجة حرارة 65°C.
27. اخرج انبوب الاختبار رقم 4 من الوعاء المائي واعد تنفيذ مراحل العمل 11-22 باستخدام الوعاء المائي ذي درجة حرارة 65°C.
28. انقل النتائج الى الجدول الموجود في الحاسوب.

جدول لتسجيل النتائج:

مدى تعكر [OD <sub>(450)</sub> ] السائل الذي يحدث فيه التفاعل				
4	3	2	1	رقم الانبوب
65		25		درجة الحرارة (°C)
+	-	+	-	الزمن (بالدقيقة)/وجود عامل مختزل
				0
				1
				2
				3
				4
				5



### תجربة رقم 3: تأثير تراكيز مختلفة من المادة 3-NAG على وتيرة ونسبة عمل انزيم الليزوزيم

افتح الملف "نتائج الليزوزيم" المحفوظ في طاولة العمل (desktop) واحفظه ثانية في ملف H تحت عنوان

اسمك

سير العمل:

1. رقم ثلاثة انابيب اختبار بالارقام: 1,2,3 باستخدام قلم التاشير.
  2. انقل 3 ملل من معادل الفوسفات الى كل واحد من انابيب الختبار باستخدام الماصة.
  3. استخدم ماصة اوتوماتيكية ذات الحجم 1000 ميكرو لتر واضبطها على ال 500 ميكرو لتر ثم البسها ذراع اسقاط (تیب) ازرق.
  4. اضف لكل واحد من انابيب الاختبار 500 ميكرو لتر من محلول الليزوزيم (بتركيز 0.05 ملغم لملل).
  5. استخدم ماصة اوتوماتيكية ذات الحجم 100 ميكرو لتر واضبطها على ال 100 ميكرو لتر ثم البسها ذراع اسقاط (تیب) ابيض.
  6. اضف 100 ميكرو لتر 3-NAG بتركيز 0.5mg/ml الى الانبوب الاختباري رقم 2.
  7. استخدم ماصة اوتوماتيكية ذات الحجم 100 ميكرو لتر واضبطها على ال 100 ميكرو لتر ثم البسها ذراع اسقاط (تیب) ابيض جديد.
  8. اضف 100 ميكرو لتر 3-NAG بتركيز 5mg/ml الى الانبوب الاختباري رقم 3.
  9. اخلط محتوى الانابيب الثلاثة.
  10. ادخل انابيب الاختبار الى الوعاء المائي ذي درجة حرارة  $37^{\circ}\text{C}$ .
  - في هذه المرحلة, على درجة حرارة السائل, الذي سيتم حدوث التفاعل بين الانزيم ومادة الاساس فيه, ان تصل الى نفس درجة حرارة الوعاء المائي.
  11. اضبط جهاز السبكتروفوتومتر على طول الموجة 450 نانومتر.
  12. صفر جهاز السبكتروفوتومتر بواسطة انبوب اختبار يحوي ماء موجود في حامل انابيب الاختبار.
  13. استخدم ماصة اوتوماتيكية ذات الحجم 1000 ميكرو لتر واضبطها على ال 500 ميكرو لتر ثم البسها ذراع اسقاط (تیب) ازرق.
- ابتداء من المرحلة رقم 14 من التجربة, عليك ان تفحص مدى تعكر السائل الذي يحدث فيه التفاعل كل دقيقة لمدة خمس دقائق.
- قبل ان تبدا بالعمل تاكد من انك جاهز لتنفيذ تكملة التجربة وحافظ على تنفيذها بسرعة.
- يتم حدوث التفاعل الانزيمي في الوعاء المائي في درجة الحرارة المناسبة, وفحص مدى التعكر يتم في جهاز السبكتروفوتومتر الموجود على طاولة العمل. حافظ على التعليمات التالية:
- اخلط محتوى انبوب الاختبار قبل كل قراءة. (الجراثيم تترسب في انبوب الاختبار).
  - بعد القراءة, قم بإرجاع انبوب الاختبار الى الوعاء المائي الملائم بسرعة بقدر الامكان.
- حافظوا على نظام مراحل التجربة: مراحل العمل 14-25 يتم تطبيقهم على انبوب الاختبار رقم 1 فقط. بعد نهاية المرحلة 25 يتم تطبيق المراحل 14-25 على انبوب الاختبار رقم 2. بعد نهاية المرحلة 25 يتم تطبيق المراحل 14-25 على انبوب الاختبار رقم 3.
14. اخلط الانبوب الاختباري الذي يحوي الجراثيم جيدا.



15. אخرج الانبواب الاختباري رقم 1 فقط من الوعاء المائي ونشفه جيدا.
16. اضع الى الانبواب الاختباري رقم (1) 500 ميكرو لتر من الجراثيم.
17. اخلط محتوى الانبواب بواسطة الدوامة وافحص مدى التعكر في انبواب الاختبار بسرعة.
18. سجل النتيجة في الجدول المرفق لاحقا او في الجدول الموجود في الحاسوب.
19. اضبط الساعة (stopper) على دقيقة.
20. اعد بسرعة انبواب الاختبار الى الوعاء المائي ذي درجة حرارة 37°C .
21. بعد مرور دقيقة اخرج انبواب الاختبار من الوعاء المائي.
22. اخلط محتوى الانبواب بواسطة الدوامة.
23. نشف انبواب الاختبار جيدا وافحص بسرعة مدى التعكر. سجل النتيجة.
24. اعد انبواب الاختبار الى الوعاء المائي ذي درجة حرارة 37°C .
25. اعد تنفيذ مراحل العمل 17-23 , كل دقيقة لمدة خمس دقائق.
26. اعد تنفيذ مراحل العمل 13-24 باستخدام الانبواب الاختباري رقم 2 و من ثم باستخدام الانبواب الاختباري رقم 3 .
27. انقل النتائج الى الجدول الموجود في الحاسوب.

جدول لتسجيل النتائج:

مدى تعكر [OD <sub>(450)</sub> ] السائل الذي يحدث فيه التفاعل			
رقم الانبواب	1	2	3
الزمن (بالدقيقة)	بدون اضافة	3-NAG (0.5mg/ml)	3-NAG (5mg/ml)
0			
1			
2			
3			
4			
5			



## פרוטוקול לطلاب – بلورة زلايات

عليك المحافظة على العمل بدون استخدام القفازات

### تأثير تركيز الملح NaCl على عملية البلورة:

على طاولة العمل تجدون انابيب اختبار والتي تحتوي على المواد التالية:

- DDW – ماء مقطر مرتين.
- محلول ليزوزيم بتركيز 46 mg/ml.
- محلول NaCl بتركيز 4.8M.
- معادل NaAcetate بتركيز 1M , pH=4.8.
- كل المواد مرشحة, كي نمنع الحصول على بلورات غير خاصة.

### سير العمل:

1. رقموا ثلاثة انابيب اختبار من النوع ابندروف بالارقام: 1, 2, 3.
2. انقلوا المواد التالية الى انابيب الاختبار:

كمية المواد التي عليك اضافتها الى الانابيب (ميكرو لتر)			التركيز النهائي لل	رقم الانبوب
4.8M NaCl	1M NaAcetate	DDW (ماء)	NaCl (M)	
125	100	775	0.6	1
250	100	650	1.2	2
375	100	525	1.8	3

لدى المرشد صحن يحوي 24 بنار صغيرة مع جسيرات. السطح العلوي لكل بنر صغيرة مغطى بالفازلين والذي يساعد لاحقا في تغطية البنار الصغيرة باستخدام زجاجات التغطية (انظروا الرسم التوضيحي المرفق لاحقا).

3. رقموا 3 بنار صغيرة بالارقام 1-3, واكتبوا عليها اسماءكم.
4. اضيفوا 1 ملم من انبوب الاختبار رقم 1 الى البنر الصغيرة رقم 1.
5. انقلوا 5 ميكرو لتر من المحلول الموجود في البنر الصغيرة الى التجويف الموجود في الجسير.
6. اضيفوا الى التجويف الموجود في الجسير 5 ميكرو لتر من محلول الزلايات ثم غطوا البنر الصغيرة باستخدام زجاجة التغطية.

احفظوا الصحن في مكان مكيف (ما يقارب ال 20°C). بعد يومين , افحصوا محتوى كل بنر صغيرة باستخدام المجهر binocular , وافحصوا فيما اذا نجحتم في الحصول على بلورات.



### תאثير درجة الحمضية على انتاج البلورات:

على طاولة العمل تجدون انابيب اختبار والتي تحتوي على المواد التالية:

- DDW – ماء مقطر مرتين.
  - محلول ليزوزيم بتركيز 46 mg/ml.
  - محلول NaCl بتركيز 4.8M.
  - 3 محاليل من المعادل NaAcetate بتركيز 1M, بدرجات حامضية مختلفة : pH=3.8, pH=4.8, pH=5.8.
- كل المواد مرشحة, كي نمنع الحصول على بلورات غير خاصة.

### سير العمل:

1. رقموا ثلاثة انابيب اختبار من النوع ابندروف بالارقام: 1, 2, 3.
2. انقلوا المواد التالية الى انابيب الاختبار:

كمية المواد التي عليك اضافتها الى الانابيب (ميكرو لتر)			رقم الانبوب
1M NaAcetate	4.8M NaCl	DDW (ماء)	
pH=3.8, 100	250	650	1
pH=4.8, 100	250	650	2
pH=5.8, 100	250	650	3

لدى المرشد صحن يحوي 24 بئار صغيرة مع جسيرات. السطح العلوي لكل بئر صغيرة مغطى بالفازلين والذي يساعد لاحقا في تغطية البئار الصغيرة باستخدام زجاجات التغطية (انظروا الرسم التوضيحي المرفق لاحقا).

3. رقموا 3 بئار صغيرة بالارقام 1-3, واكتبوا عليها اسماءكم.
4. اضيفوا 1 ملم من انبوب الاختبار رقم 1 الى البئر الصغيرة رقم 1.
5. انقلوا 5 ميكرو لتر من المحلول الموجود في البئر الصغيرة الى التجويف الموجود في الجسير.
6. اضيفوا الى التجويف الموجود في الجسير 5 ميكرو لتر من محلول الزلاليات ثم غطوا البئر الصغيرة باستخدام زجاجة التغطية.

احفظوا الصحن في مكان مكيف (ما يقارب ال 20°C). بعد يومين , افحصوا محتوى كل بئر صغيرة باستخدام المجهر binocular , وافحصوا فيما اذا نجحتم في الحصول على بلورات.





בנאר صغيرة لبلورة زلايات:

