



Faculty of Social Sciences
The Pinchas Churgin
School of Education

הפקולטה למדעי החברה
בית הספר לחינוך
ע"ש פרופ' פ. חורגין

משרד החינוך, המזכירות הפדגוגית
הפיקוח על הוראת הביולוגיה
המרכז לפיתוח ותמיכה במעבדות הביולוגיה
בבתי הספר



שיטות עבודה מתקדמות בביולוגיה מולקולרית הרצה בג'ל אלקטרופורזה

השתלמות מורים

תשע"ט

ציוד שיימסר בהשאלה מהמרכז לפיתוח ותמיכה בבר אילן



הערה: לכל ניסוי שהמורה יבחר לבצע
תשלח בנוסף ערכת חומרים מתאימה
לארבע קבוצות תלמידים.

- מכשיר PCR
- טאבלט להפעלת מכשיר ה-PCR
- מיני צנטריפוגה
- וורטקס
- מכשיר אלקטרופורזה בג'ל
- מיקרופיפטור 2-20 μ L
- מיקרופיפטור 20-20 μ L
- מיקרופיפטור 100-1000 μ L
- מעמד למבחנות PCR
- מעמד למבחנות אפנדרוף
- מתאמים

כמו כן ישלח גם ציוד מתכלה: מבחנות PCR, נייר ספיגה וכותשים.

נהלי הזמנת ערכה

את הערכה יש להזמין מהמרכז לפיתוח ותמיכה בבר אילן, **חודש לפני המועד** שנבחר לביצוע הניסוי עם התלמידים.

הלבורנט יתאם עם צוות המרכז את מועד הגעת שליח מטעם בית הספר לבר אילן.

הציוד יימסר במרכז המעבדות בבר אילן. נציג המוסמך לחתום על הציוד (מורה או לבורנט) יגיע לבר אילן לקבל את ציוד.

לתשומת לבכם:

- עליכם לבחור את הניסויים שתבצעו ולהזמין את הציוד הנדרש מראש ואת ערכת החומרים הנדרשת מראש מהמרכז בבר אילן.
- בזמן איסוף הערכה יש לוודא כי כל הציוד שהוזמן וערכת החומרים הנלווים שהוזמנו מצויים בחבילה ולוודא שלא חסרים פריטים. צריך לדאוג מבעוד מועד למרכיבים שאינם בחבילה אך נדרשים כמו: טיפים, מבחנות אפנדורף ולהזמין מהספק.
- חשוב לבצע את הניסוי לא יאחר מחודשיים מיום קבלת הערכה בבית הספר.



הכרת שיטות עבודה מתקדמות בביולוגיה מולקולרית ויישומן בניסוי פרוייקט הוולבכיה

תרגול:

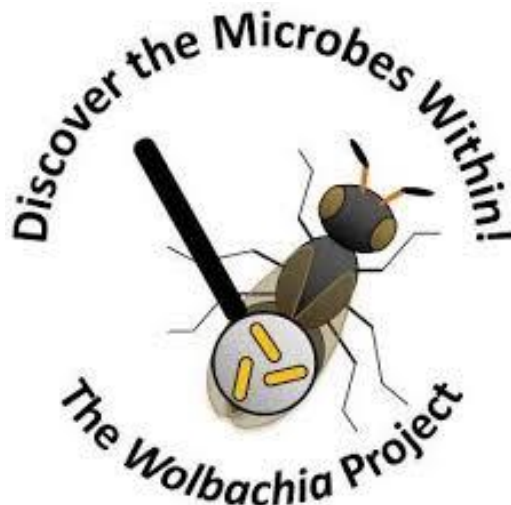
- עבודה במיקרופיפטור.
- עבודה באלקטרופורזה בגל.
- בדיקת עמידות לחומר אנטיביוטי אמצעות תרגול עבודה ב- PCR ואלקטרופורזה בג'ל.

ניסוי פרוייקט הוולבכיה:

- הפקת DNA של חרקים (מדובקים ושאינם מודבקים בחיידק הוולבכיה).
- שימוש ב- PCR ואלקטרופורזה בג'ל לזיהוי גנים יחודיים של חרקים ושל חיידק הוולבכיה.

הרצת דגימות DNA מחרקים באלקטרופורזה בג'ל

DNA מחרקים שהגברנו [באמצעות PCR](#)



הוראות בטיחות:



- יש לעבוד על פי ההנחיות המפורטות בחוזר מנכ"ל, [בחוזרי הבטיחות](#), [בעדכון החדש](#) להוראות בטיחות בשימוש בחומר חי ובדפי העבודה לתלמיד וללבורנט.
- חובה להשתמש בחלוק, בכפפות ובמשקפי מגן בעת ביצוע העבודה המעשית
- בחלק משלבי העבודה רצוי לעבוד לאחר ניקוי משטח העבודה
- יש לנקוט משנה זהירות בעת עבודה עם ציוד חשמלי, עם כהל 70% ועם אקונומיקה.
- בתחילת העבודה ובסופה יש לרחוץ ידיים עם מים וסבון ולחטא את משטחי העבודה עם אלכוהול 70%.

שלבי העבודה: מה שנעשה עד היום , מה נעשה היום ואופציות לעתיד



איסוף חרקים
ומיונם



מיצוי DNA



הגברת
DNA
PCR



Gel Electrophoresis



Bioinformatics



פרוייקט הוולבכיה – רצף הוראה ולוח זמנים

לוח זמנים מומלץ מספר שיעורים	הנושא
1	מבוא: חשיבות פרוייקט הוולבכיה
1	חרקים: מבנה ומחזור חיים
	איסוף חרקים בשעות הפנאי של התלמידים
1	חרקים: הוצאת גונדות (אם יש צורך)
3-4	הפקת DNA על פי הפרוטוקול והחומרים הנדרשים להפקת הDNA
1	הגברה ב-PCR של הגנים: CO1 ו- rDNA 16s
2	הרצה באלקטרופורזה בג'ל
	דיון בתוצאות הניסוי - הדיון יעשה במסגרת בתיאום מול כל קבוצה



ידע מוקדם נדרש:

תוכן ביולוגי:

- מבנה ה-DNA
- תהליך הכפלת ה-DNA
- מ-DNA לחלבון
- יחסי גומלין
- מבנה התא האאוקריוטי והפרוקריוטי
- חרקים: מבנה החרקים ורבייתם
- הדברה ביולוגית וכימית

מיומנויות טכניות:

- עבודה עם מיקרופיפטורים בנפחים קטנים
- הגברת גנים באמצעות PCR
- הכנת ג'ל אגרוז
- הטענה בג'ל אגרוז
- שימוש במכשיר אלקטרופורזה בג'ל

מטרות: היכרות עם פרויקט הוולבכיה וחשיבותו

- התלמיד יבין את הקשר בין תגלית מדעית – חשיבות גילוי חיידק הוולבכיה, חשיבות מיפוי שכיחות חרקים מודבקים בחיידק הוולבכיה, לבין שיטות חקר, פתוח שיטות ביוטכנולוגיות והתרומה לבריאות האדם.
- התלמיד יבין כי ליצורים שונים יש גנים יחודיים שמסייעים לזיהוי שלהם.
- התלמיד יכיר שיטה להפרדת קטעי DNA באמצעות ג'ל אלקטרופורזה.
- התלמיד יתנסה בויזואליזציה של דגימות DNA.



חומרים וציוד המסופקים על-ידי המרכז בבר אילן הנדרשים לשלב זה:

חומרים	ציוד
אבקת אגרוז	מכשיר אלקטרופוריזה בג'ל MINIONE המכשיר כולל קופסה, 2 תבניות ו-2 מסרקים.
צבע SMART GLOW	מיקרופיפטור p20
DNA LADDER	כן למבחנות PCR
תמיסת בופר TAE	מיניצנטריפוגה



חומרים וציוד שאינם מסופקים על-ידי המרכז בבר אילן:

ציוד
מבחנות אפנדורף
טיפים מתאימים למיקרופיפטור
שקיות BioHazard
ציוד נוסף כללי – פריטים נפוצים במעבדה המופיעים ברשימת ציוד בקובץ הנחיות ללבורנט



הגברת שני גנים באמצעות ה-PCR:

Cytochrome Oxidase (CO1) - 708bp

גן אאוקריוטי שמור, המקודד לאחד מנשאי האלקטרונים בתהליך הזרחון החמצוני במיטוכונדריה – מאפיין את החרק

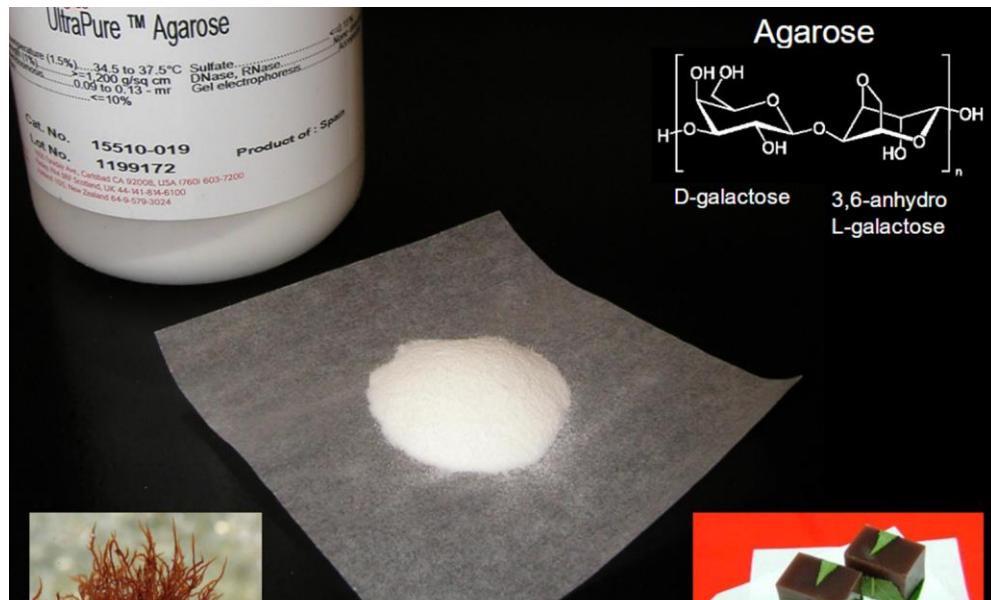
r DNA 16S - 438bp

מקטע שמור מגן המקודד ל-RNA ריבוזומאלי בפרוקריוטים – מאפיין את חיידק הוולבכיה

שילבי העבודה:

1. הכנת הג'ל אגרוז בתוספת צבע SMART GLOW ומזיגתו לתבנית ובה מסרק.
2. הכנסת התבנית עם הג'ל למכשיר האלקטרופורזה – (שילבים שנעשים ע"י הלבורנט).
3. הטענת הג'ל בדגימות ה-DNA באגרוז.
4. הרצת ה-DNA באלקטרופורזה בג'ל.

אבקת אגרוז המופקת מאצות



המסת אבקת האגרוז בבופר TAE



Agarose is insoluble at room temperature (left)

מידע על ציוד שימצא על שולחן המורה או הלבורנט

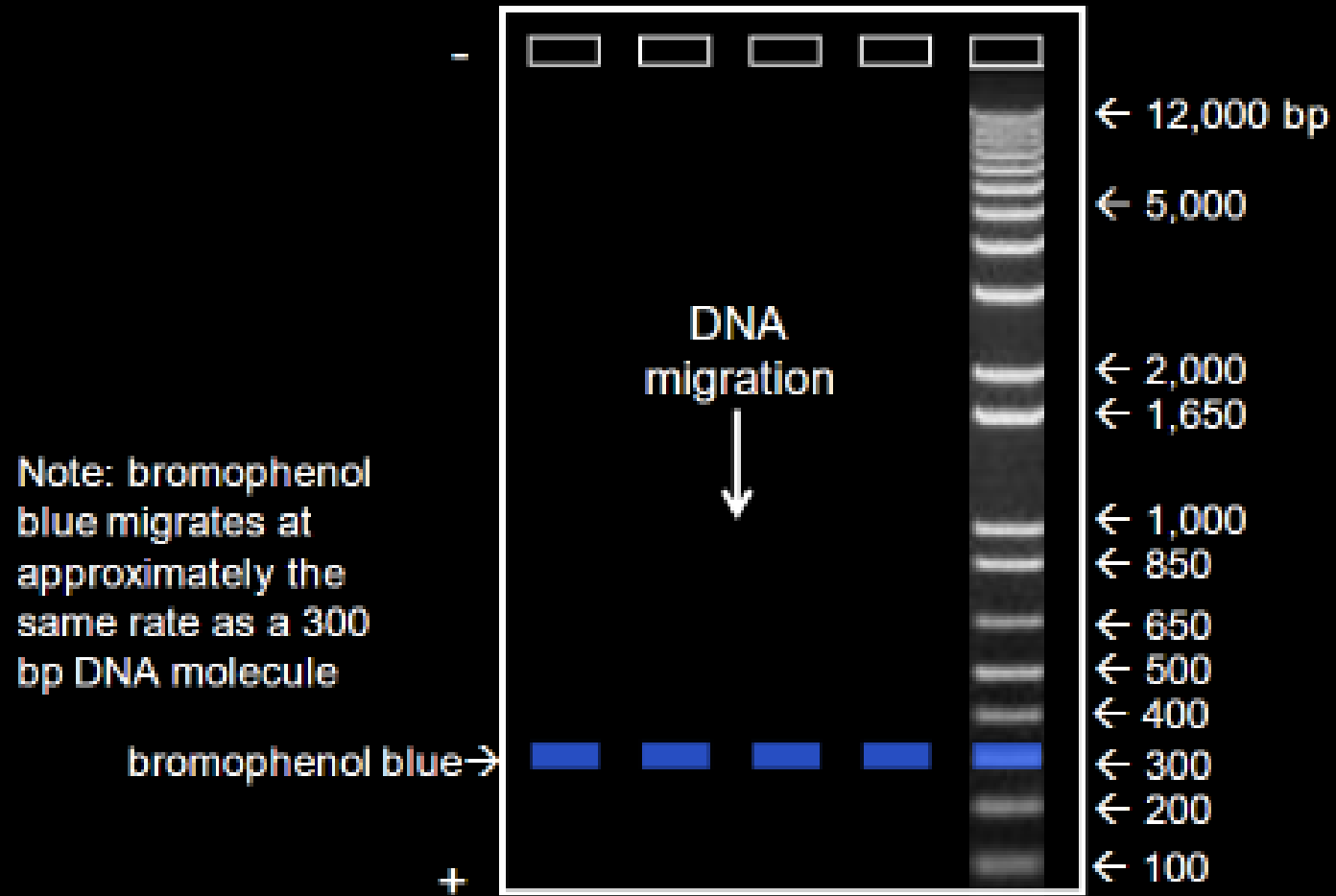
בעת ביצוע הניסוי:

שם הפריט	הערות
כלי מסומן TAE ובו תמיסת בופר TAE	משמש למילוי נפח המיכל במכשיר ג'ל אלקטרופורזה.
ג'ל אגרוז לכל קבוצה (מכיל צבע smart glow)	אם הג'ל הוכן מראש יש לשמור עטוף בניילון נצמד במקום חשוך.
מכשיר אלקטרופורזה בג'ל MINIONE	א. רק כאשר התלמידים מוכנים להטעין את תמיסות דגימות DNA יש להכניס למכשיר את התבנית ובה הג'ל אגרוז ב. במכשיר מסוג MINIONE יש להניח בבסיס קופסת הג'ל משטח פלסטיק שחור ולא אפור שמאפשר לראות את התוצאות בברור.
מיקרוגל / פלטת חימום	מיועד להמסת הג'ל
מחזיק סירים (מחזיק לנשיאת כלים חמים)	להחזקת הכלי ובו תמיסת הארוז החמה

הציווד לתלמיד:

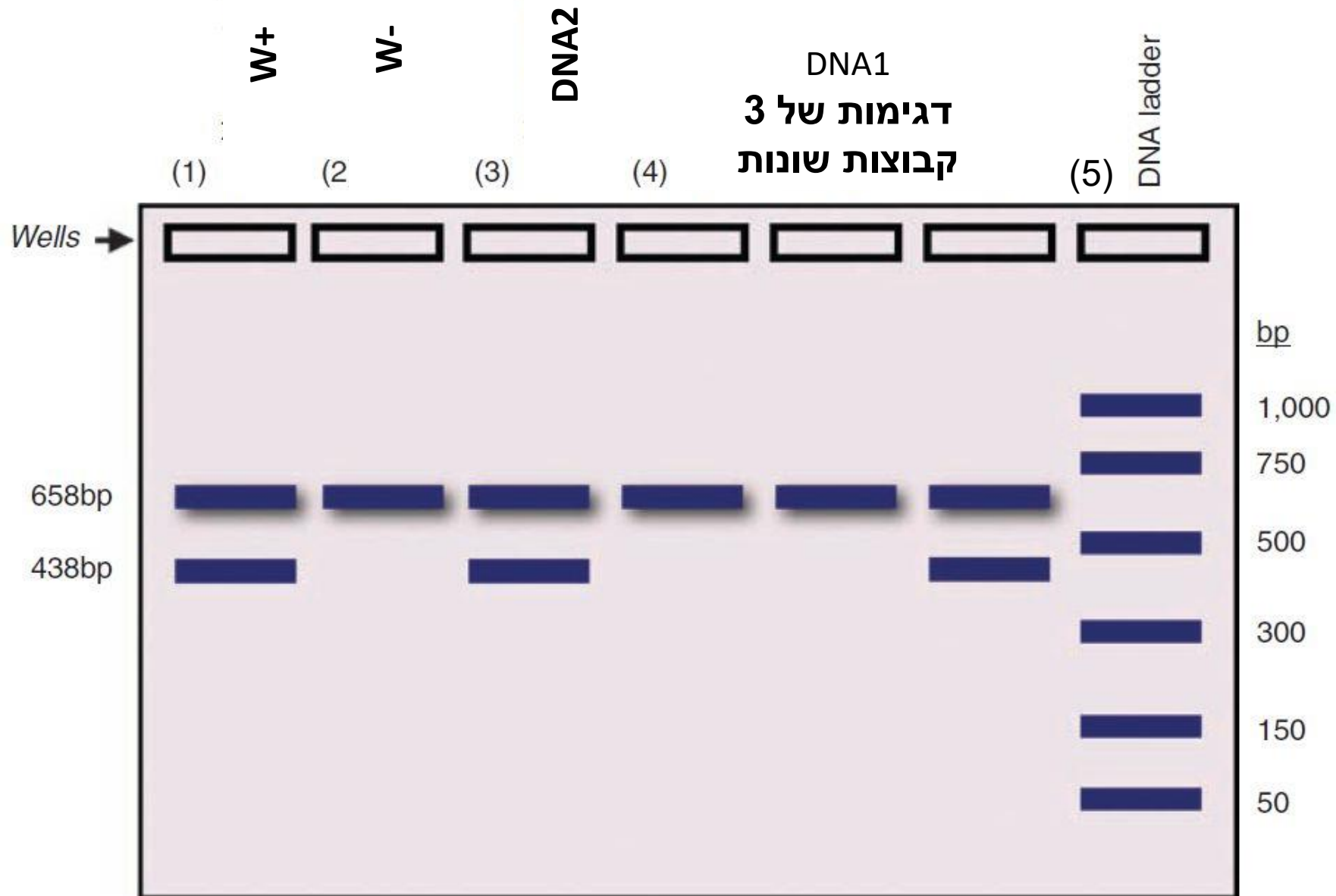
כמות לקבוצה: 2 - 4 תלמידים	תיאור פריטים ורשימת הציווד והחומרים
1	מיקרופיפטור מתאים לנפח של 20µL
10	טיפים
4	מבחנות PCR ובהן דגימות ה- DNA שהפקתם
1	כלי המסומן פסולת בנפח של כ 500 מ"ל
1 לכל תלמיד	משקפי מגן
זוג לכל תלמיד	כפפות לטקס
לכל תלמיד	חלוק מעבדה
1	נייר לבן לצפייה בתוצאות
1	סכין לשימוש חד פעמי
1	מד טמפרטורה

DNA Ladder Standard



Inclusion of a DNA ladder (DNAs of known sizes) on the gel makes it easy to determine the sizes of unknown DNAs.

דוגמה לתוצאות: הרצת דגימות DNA באלקטרופורזה בג'ל אגרוז





דיון בתוצאות ובמסקנות:

1. איזה סוגי חרקים נאספו על ידי **תלמידי** הכתה ומה היה הסוג השכיח ביותר?
2. באיזה סוג חרקים שכיחות ההדבקה בוולבכיה הייתה הגבוהה ביותר?
3. האם ההשערה הראשונית לגבי שכיחות הוולבכיה היתה נכונה? הסבירו מדוע או מדוע לא ונמקו בעזרת התוצאות שנצפו.
4. העריכו את גודלו / אורכו של כל אחד מקטעי הגנים אותם הגברנו בתהליך PCR והרצנו בג'ל? הסבירו את קביעתכם.
5. הסבירו מהי החשיבות של עבודת החקר שעשיתם למציאת חרקים מודבקים בוולבכיה לבריאות האדם?



המלצות להצלחת הביוחקר המולקולרי:

- לעבוד בכתה עם עד 4 קבוצות במקביל או: מומלץ לבצע את הניסוי בשני סבבים שבכל אחד מהם מחצית ממספר התלמידים
- לקראת הפרוייקט כדאי לערוך שיעור מבוא משותף לכל הכתה – סיפור הוולבכיה הוא תגלית מדעית / סיפור ביולוגי אקטואלי שמעורר עניין בתלמידים וורלוונטי לתוכנית הלימודים
- לפני כל שלב בניסוי יש לקרוא עם התלמידים ולהסביר את הנחיות העבודה
- אחרי שלב הפקת ה-DNA ואחרי שלב ה-PCR ניתן לשמור בהקפאה את מבחנות הניסוי.
- ניתן להכין את הג'לים עד 24 שעות לפני הניסוי, לעטוף בניילון נצמד ולאחסן בקופסה אטומה ובמקום חשור.

נקודות לדיון:

- פרוייקט הוולבכיה כנושא על לעבודת חקר כתתית או מספר קטן של קבוצות ביוחקר.
- הצעה: לארגן יום שיא ובו לבצע את כל שלבי פרוייקט הוולבכיה, מהפקת ה-DNA ועד הרצה בג'ל.
- האם מראש נבחר חרקים קטנים שאין צורך לבודד מהם את הגונדות?
- האם העבודה המעשית תהיה מול הלבורנט או המורה?
- מהם הקריטריונים לבחירת תלמידים שיתמחו בעבודות הביוחקר המולקולרי?
- כיצד מתאימים את הנחיות הביוחקר לביוחקר מולקולרי (לוח זמנים, דרישות, תוצרים).
- האם יש לבחור נושא הרחבה יעודי לפרוייקט הביוחקר המולקולרי?



**לפרטים נוספים, להתייעצות ולרעיונות נוספים
ניתן לפנות לד"ר עומר חורש או לאפרת לינק במרכז לפיתוח ותמיכה
במעבדות הביולוגיה בבתי הספר
אוניברסיטת בר אילן**

מייל (עומר): ochkg1@gmail.com
מייל (אפרת): efratlink@gmail.com