**<u>מכאורה (הגברה) جينات حشرات وبكتيريا "ولباخيه" بطريقة ال PCR – للطالب</u>**

**أقرأوا بتمعن الخلفية النظرية والشرح عن كل واحد من المركبات المطلوبة لعملية المكاثرة في PCR.**

**في الملفات**: التعرف على طرق الفصل الكهربائي الهلامي (אלקטרופוריזה בג'ל) وال PCR واستعمالاتها، المضادات الحيوية، الأقراص السحرية.

**<u>الأهداف:</u>**

- التعرف على طريقة عمل تمكّن مضاعفة DNA لعدد كبير من النسخ بواسطة جهاز ال PCR.
- فهم المبادئ والعمليات البيولوجية التي تعتمد عليها طريقة PCR.
- فهم عملية مضاعفة جينات معينة في ال DNA الكامل.

**<u>خلفية:</u>**

خلال العمل سننفّذ مكاثرة مقطع DNA خاص من كل ال DNA الجينومي الذي تم استحضاره من الحشرات في المرحلة ب. تعتمد الطريقة لمكاثرة ال DNA مرات عديدة على مضاعفة مقطع معين من DNA خاص لحشرة ومقطع آخر خاص ببكتيريا الولباخيه، بواسطة جهاز ال PCR.

يمكن ايجاد معلومات مهمة عن الخلفية العلمية لعملية ال PCR والمبادئ التي تعتمد عليها الطريقة في التجربة : <u>التعرف على طرق الفصل الكهربائي الهلامي وال PCR واستعمالاتها.</u>

للبكتيريا ريبوزوم يختلف بمبناه عن ريبوزوم حقيقيات النواة. الجين المخصص للتعرف على بكتيريا ولباخيه هو منطقة مكودة للوحدة الصغيرة في مبنى ال RNA الريبوزومالي (16S rRNA) الخاص ببكتيريا ولباخيه فقط.

لمعلوماتكم:

الوحدة 16S rRNA في الريبوزوم البكتيري هي وحدة مبنية من RNA الذي يركب الريبوزوم البكتيري. يُبنى الريبوزوم من وحدتين ثانويتين صغيرة وكبيرة. 16S rRNA يُشكّل جزءا من الوحدة الصغيرة وطوله 1450 قاعدة من قواعد RNA.

الميتوكندريا والبروتينات التي فيها تُميّز أحياء حقيقة النواة فقط. الجين المخصص للتعرف على DNA الحشرات هو جزء من المنطقة المكوّدة لبروتين في الميتوكندريا من نوع سيتوكروم اوكسيداز 1 (CO1) وهو بروتين موجود في الغشاء الداخلي للميتوكندريا ويؤدي وظيفة في عملية التنفس الخلوي.

وحدة سودبرغ المشار إليها بالرمز S، تُستعمل لتعريف أطوال الوحدات الثانوية للريبوزوم. هذه الوحدة تبين وتيرة ترسيب المادة في جهاز القوة الطاردة عن المركز.

**ارشادات عمل للطالب:**

قبل البدء في العمل استعينوا بالقائمة التي في الجدول وافحصوا الأغراض التي تحت تصرفكم.

| على طاولة الطلاب | على طاولة المعلم |
|---|---|
| • ميكروبيبيت 20- 200µL<br>• ميكروبيبيت 2 – 20µL<br>• وعاء فيه تيبات للميكروبيبيت.<br>• قلم للتأشير على الزجاج ذو خط رفيع وبارز.<br>• حوض فيه مكعبات جليد.<br>• 8 أنابيب PCR لها جدران دقيقة + حامل أنابيب مناسب.<br>• انبوبة ابندورف مشار اليها **ماء** وفيها ماء مرّ بتعقيم وتصفية. بدون نوكلؤزات<br>• انبوبة ابندورف مشار اليها **W+** وفيها عيّنة DNA استخرجتموها من حشرة أعديت بولباخيه.<br>• انبوبة ابندورف مشار اليها **W-** وفيها عيّنة DNA من حشرة لم تُعدَ بولباخيه.<br>• أنابيب ابندورف مشار اليها بـ **DNA1 - DNA5** وفيها عيّنات DNA استخرجتموها من حشرات قمتم بجمعها.<br>• أنبوب ابندورف مشار اليها بـ **DNA6** وفيها عيّنة DNA من حشرة أعديت بـ ولباخيه استخرجناها لكم (ضابط يفحص طريقة العمل: عملية استخراج ال DNA وبرنامج عمل جهاز PCR).<br>• انبوبة ابندورف مشار اليها **MIX PRIMER** وفيها خليط من البرايميرات للجين CO1 وللجين 16S rRNA<br>• انبوبة ابندورف مشار اليها **MIX TAQ** وفيها الانزيم DNA بوليميراز TAQ، خليط نيوكلؤتيدات في بوفر<br>• وعاء للنفايات. | • جهاز PCR<br>• تابلت (مرحلة ب) |

**انتبهوا !!!**

**طوال كل فترة التجربة يجب حفظ كل أنابيب الابندورف في حوض فيه مكعبات جليد:**

التي تحوي ال DNA ، البوادئ (برايميرات) - MIX P ، إنزيم MIX TAQ ، بوفر وماء.

**<u>סיר העמל:</u>**

اقرأوا بتمعن البنود كل واحد من البنود قبل البدء بالتنفيذ، تأكدوا أن التعليمات واضحة وبعدها فقط ابدأوا بالتنفيذ. في نهاية تنفيذ بند معين يُفضّل الاشارة بـ √ لمنع الالتباس.

<u>مرحلة أ – تحضير أنابيب التجربة</u>

في هذه المرحلة ستدخلون كل المركبات الحيوية لمكاثرة مقاطع DNA في جهاز ال PCR إلى أنبوب التجربة.

1. نظّفوا مساحة سطح العمل التي أمامكم، والأدوات اللازمة (ميكروبيبيت، حامل أنابيب، وعاء نفايات، وعاء للجليد) بواسطة قطن مشبع بايثانول 70 %.

2. اشيروا إلى 8 انابيب PCR بحجم 0.2 ملل بـ **W+ , W-, DNA1 –DNA5, DNA6**.

**من المهم** ان تكتبوا على غطاء الأنبوبة وأيضا على جوانبها. من الممكن أن تُمحى العلامة. كذلك أضيفوا اسمًا أو علامة تعريف بارزة لمجموعتكم على الأنابيب.

**انتبهوا:** هناك حاجة ب 8 أنابيب PCR (7 انابيب لعمليات استخلاص DNA من مرحلة عمل سابقة وانبوبة اضافية DNA6).

**الجدول 1:** مصدر ال DNA في المحلول

| اشارة الأنبوبة | مصدر ال DNA في المحلول |
|---|---|
| W+ | DNA تمّ استخلاصه من حشرة أعديت بـ ولباخيا |
| W- | DNA استخلصتموه من حشرة لم تُعدَ بـ ولباخيا (ضابط) |
| DNA1 –DNA5 | DNA تمّ استخلاصه من حشرات جمعتموها |
| DNA6 | DNA تمّ استخلاصه لكم من حشرة أعديت بـ ولباخيا |

**انتبهوا:** أحجام المحاليل التي ستستعملونها صغيرة جدا عليكم المحافظة على دقة عالية في العمل مع الميكروبيبيتات.

3. اقرأوا المعلومات في الجدول 2 وانقلوا الكميات المطلوبة من الماء بواسطة ميكروبيبت مناسب (P20) وفيه تيب نظيف، لكل واحدة من أنابيب PCR الثمانية المشار إليها بـ: **W+ , W-, DNA1 –DNA6.**

- تأكدوا ان كل السائل تحرر من التيب إلى قاع الأنبوبة.
- انقلوا التيب إلى وعاء النفايات.
- تذكّروا أن تُغيّروا تيب بعد كل عملية نقل ماء <u>لكل واحدة</u> من الأنابيب.
- أشيرو بـ √ في الجدول بالسطر " ماء".

4. بدّلوا التيب وأعيدوا تنفيذ التعليمات في البند 3 مع خليط MIX PRIMER .

**<u>الجدول 2</u>**: <u>الأحجام المطلوبة للمواد المختلفة لعملية ال PCR لكل أنبوبة/علاج:</u>

| المواد | الحجم (ميكروليتر µl) |
|---|---|
| ماء مقطر | 2.5 |
| MIX TAQ خليط الإنزيمات، dNTPs، بوفرات | 12.5 |
| MIX PRIMER خليط يشمل الأربع بوادئ (برايمرات) | 8 |
| الحجم الكلي للعيّنة | 23 |

**انتبهوا:**

في البنود 5- 7، يجب نقل السائل من القسم العلوي من الأنابيب بدون خضّ الأنابيب لئلا تعوم المواد الصلبة الموجودة في قاع الأنابيب.

5. بدّلوا تيب وانقلوا 2µl من محلول DNA **من أنبوبة ابندورف المشار إليها بـ +W** لأنبوبة PCR المشار إليها بـ +W من أجل الحصول على الحجم الكلي 25µl.

- يجب التأكد ان كل السائل تحرر من التيب إلى قاع أنبوبة ال PCR.
- انقلوا التيب إلى وعاء النفايات.

6. بدّلوا تيب وانقلوا 2µl من محلول DNA **من أنبوبة ابندورف المشار إليها بـ -W** لأنبوبة PCR المشار إليها بـ -W من أجل الحصول على الحجم الكلي 25µl.

- يجب التأكد ان كل السائل تحرر من التيب إلى قاع أنبوبة ال PCR.
- انقلوا التيب إلى وعاء النفايات.

7. بدّلوا تيب وانقلوا 2µl من محلول DNA **من أنبوبة ابندورف المشار إليها بـ DNA1** لأنبوبة PCR المشار إليها بـ DNA1 من أجل الحصول على الحجم الكلي 25µl.

- يجب التأكد ان كل السائل تحرر من التيب إلى قاع أنبوبة ال PCR.
- انقلوا التيب إلى وعاء النفايات.
- أعيدوا تنفيذ البند 7 مع كل واحدة من الأنابيب **DNA6 – DNA2**.

8. سدّوا الأنابيب واضغطوا بلطف على قاع كل الأنبوبة لكي تخلطوا المواد في الأنابيب.
9. ضعوا كل واحدة من أنابيب PCR التي فيها الحجم الكلي 25µl في وعاء مكعبات الجليد.

**انتبهوا:** افحصوا تقدمكم مع المعلم في مراحل التجربة حتى الآن. **فقط بعد الحصول على موافقة المعلم، أكملوا التجربة.**

<u>مرحلة ب: مكاثرة في PCR.</u>

10. انقلوا كل أنابيب PCR الأربعة إلى جهاز PCR. في اللحظة التي تدخل كل المجموعات العينات إلى جهاز PCR، نادوا المعلم لتشغيل الجهاز.

برمجة جهاز ال PCR: سيبرمج المعلم او عامل المختبر الجهاز حسب التعليمات المفصلة في الجدول 3 ويشغلون الجهاز. البروتوكول في البرنامج سيسمّى "ولباخيا".

**الجدول 3: برمجة جهاز ال PCR**

| عدد الدورات | درجة الحرارة م | الزمن (ثواني) |
|---|---|---|
| 1 | 94 | 120 |
| 30 | 94 | 30 |
| | 49 | 45 |
| | 68 | 60 |
| 1 | 68 | 600 |

11. عمل الجهاز سيستمر حوالي 110 دقائق، عندما ينتهي برنامج عمل PCR أخرجوا انابيبكم من الجهاز وضعوها في حامل أنابيب مناسب.

**انتبهوا:**

- افحصوا العلامات التي سجلتموها على الأنابيب، إذا لزم المر سجّلوا ثانية على ظهر الأنابيب. انقلوا حامل الأنابيب إلى الثلاجة حتى البدء بتنفيذ المراحل القادمة.
- التعرّف على الجينات التي كاثرتموها بمساعدة جهاز PCR سننفذها بمساعدة طريقة الفصل الكهربائي الهلامي.

أثناء الانتظار رتّبوا طاولة العمل ونظّفوا الطاولة والأدوات بواسطة ورق تنشيف وايثانول وأجيبوا عن الأسئلة 1 – 8

**أجيبوا عن الأسئلة 1 – 8**

1. فسّروا لماذا اختراع جهاز PCR شكّل شق طريق في أمام البحث العلمي – فسّروا ما هي اهمية تكنولوجيا ال PCR في مجال الطب؟ أعطوا مثال.
2. أ. اذكروا ما هي الجينات التي اخترنا لمكاثرتها بواسطة جهاز PCR.

   ب. لماذا حسب رأيكم تمّ اختيار 2 فقط من الجينات لمكاثرتها بواسطة جهاز PCR.

   جـ. لماذا تم اختيار هذان الجينان تحديدا؟
3. فسّروا لماذا كان من المهم اضافة خليط البوادئ (البرايميرات) لجهاز PCR.
   - هل البرايميرات التي تمّ اختيارها خاصة بالجين الذي نريد مكاثرته؟ علّلوا اختياركم.
   - فسّروا لماذا لكل جين نريد مكاثرته يجب اضافة برايمرين مختلفين
4. فسّروا ماهي أهمية اضافة خليط انزيمات TAQ للعملية.
5. ما هي درجة الحرارة التي تكون فيها الإنزيمات نشطة؟ ما هو هذه مصدر الإنزيمات حسب رأيكم؟
6. فسّروا لماذا برمجة جهاز PCR تشمل مرحلة تسخين حتى 94 م.
7. فسّروا العملية الدورية في جهاز ال PCR.
8. لماذا، اثناء العمل، يُستعمل ماء عديم النوكلؤزات وليس ماء مقطر عادي؟ ما هو مصدر النوكلؤزات في الماء؟

**<u>تجربة – تسيير عينات DNA من حشرات بجهاز الفصل الكهربائي الهلامي (אלקטרופוריזה) في جل أجروز – للطالب.</u>**

**<u>مقدمة</u>**

المرحلة التي ستدربون عليها اليوم، تسيير عينات في جهاز الفصل الكهربائي الهلامي، هي المرحلة الأخيرة في عملية سوف تحددون فيها إذا كانت الحشرات التي تعاملتم معها تحمل ببكتيريا ولباخيه التكافلية.

لكي تستطيعوا ان تنفّذوا التجربة عليكم التعرف واستعمال:

- طريقة فصل مقاطع DNA بجل أجروز.
- سلّم DNA (DNA Ladder ) في تسيير مقاطع DNA بجل اجروز.

**<u>تذكّروا</u>**

في المرحلة الأولى من التجربة استخلصتم DNA من خلايا الحشرات، لاحقًا في المرحلة الثانية من التجربة، كاثرتم ال DNA في جهاز PCR. اما اليوم ستستعملون طريقة الفصل الكهربائي الهلامي لكي تعرفوا إن كان هناك أكثر من نوع واحد من DNA في العينة التي استخلصتم من الحشرات.

فصل هلامي كهربائي (אלקטרופוריזה) هي طريقة تمكن فصل مركبات عن بعضها من خليط حسب سرعة حركة هذه المركبات في حقل كهربائي، مثل، فصل مقاطع DNA مختلفة.

يتم الفصل داخل جل أجروز وهو مركب هلامي (ليس صلبا ولا سائلا).

العوامل الأساسية التي تؤثر على سرعة حركة المركبات هي الشحنة الكهربائية لهذه المواد وكتلتها المولارية.

مقاطع DNA تتحرك داخل جل أجروز مغمور في محلول بوفر TAE الموصل للتيار الكهربائي. المقاطع هي ذوات شحنة كهربائية سالبة ولذلك ستتحرك نحو الالكترودا الموجبة. تعيين طول مقاطع ال DNA (بوحدات أزواج قواعد نيتروجينية – bp )يتم عن طريق مقارنتها لسلم DNA (DNA Ladder) .

في نهاية تسيير العينات في جهاز الفصل الكهربائي الهلامي (אלקטרופוריזה) سوف تستطيعون تحديد هل عينات ال DNA التي استخلصتموها وكاثرتموها في المراحل السابقة من التجربة تحتوي بالإضافة ل DNA الحشرة تحتوي على أيضا على DNA بكتيريا ولباخيا.

هذا التحديد سيتم بواسطة كشف جينات عن طريق قياس طول جزيء DNA في النواتج وقارنتها بمقاطع DNA من حشرة أعديت بولباخيه.

أحد الجينات التي تمت مكاثرتها هو جين ميتوكندري طوله 708 زوج قواعد، هذا الجين موجود في كل الخلايا حقيقية النواة ولذلك نجده في خلايا الحشرة.

الجين الآخر الذي تمت مكاثرته هو جين خاص بالبكتيريا 16SrRNA (جين مكوّد ل RNA رايبوزومالي فيه طفرة خاصة ببكتيريا ولباخيه) وطول المقطع الذي تضاعف في PCR هو 436 زوج قاعدة.

**تذكّروا**

لكي نستطيع التعرف على ال DNA في الجل تلزم كميات كبيرة من DNA ومادة تصبغه SMART GLOW. أضاف عامل المختبر هذه المادة أثناء تحضير الجل وقد ارتبط بين جديلتي ال DNA.

**الجدول1: التعرف على المواد والأدوات المطلوبة للتجربة**

قبل البدء في العمل استعينوا بالقائمة التي في الجدول وافحصوا الأغراض التي تحت تصرفكم.

| وصف الغرض | مكان الغرض |
|---|---|
| • جهاز الفصل الكهربائي الهلامي | • طاولة المعلم |
| • قالب فيه جل أجروز | • طاولة المعلم |
| • وعاء مشار إليه بـ TAE وفيه محلول بوفر TAE | • طاولة المعلم |
| • انبوبة ابندورف سُلّم DNA - **DNA Ladder** | • طاولة المعلم |
| • 5 أنابيب PCR ، مشار اليها DNA5-DNA1 | • طبق على طاولتك |
| • أنبوبة PCR مشار اليها +W. | • طبق على طاولتك |
| • أنبوبة PCR مشار اليها -W. | • طبق على طاولتك |
| • أنبوبة PCR مشار اليها DNA6. | • طبق على طاولتك |
| • ميكروبيبيت 2 – 20µL + تيبات | • طبق على طاولتك |
| • وعاء نفايات للتيبات المستعملة. | • طبق على طاولتك |
| • ورق تنشيف + قنينة مغلقة ومسدودة فيها كحول 70% للتعقيم. | • طبق على طاولتك |
| • قفازات.. روب .. نظارات وقاية. | • طبق على طاولتك |

**<u>مراحل العمل:</u> في البنود أ – ب يلزم مرافقة عامل المختبر**

أ. تأكدوا ان صفيحة البلاستيك السفلى الموضوعة في قاع الحوض في جهاز الفصل الكهربائي الهلامي هي باللون الأسود (هكذا تستطيعون أن تشاهدوا النتائج).

- ضعوا القالب في المكان المناسب في جهاز الفصل الكهربائي الهلامي (صورة 1).

ب. انقلوا ببطء البوفر للحوض الجهاز، **افعلوا ذلك بالطريقة التالية**:

- انقلوا البوفر من القنينة إلى قارورة.
- بواسطة القارورة اسكبوا البوفر على سطح قالب الجل في الطرف القريب من الإلكترودا السالبة. بحيث يكون السائل في الحوض أعلى بقليل ( 1 – 2 ملم) من ارتفاع الجيل في القالب.

**صورة 1: جهاز الفصل الهلامي الكهربائي ( אלקטרופורזה בגיל)**

**المرحلة أ: تحميل الآبار بعينات DNA**

تحت تصرفكم جيل أجروز فيه 9 ابار. في هذه المرحلة ستحملون في الجل عينة من سائل من كل واحد من الانابيب الثمانية (DNA1 –DNA6 , W-,W+).

جـ. عليكم نقل 10µl محلول من أنبوبة ابندورف مشار إليها DNA LADDER للبئر المناسبة في الجل.

**افعلوا ذلك بالطريقة التالية:**

- اضبطوا الميكروبيبيت ملائم لحجم 10µl وصلوا تيب ملائم.
- شغلوا مصباح التحميل في جهاز الفصل الكهربائي الهلامي.

- بواسطة الميكروبيبيت امتصوا DNA LADDER 10µl (موجود على طاولة المعلم)
- أمسكوا الميكروبيبيت فوق البئر "1" (الأولى من اليسار)
- ادخلوا التيب الى البئر بلطف وفرغوا السائل الى داخل البئر. انقلوا التيب الى وعاء النفايات.

**صورة 2: طريقة مسك الميكروبيبيت أثناء تحميل الآبار بمحلول الأصباغ.**

**لمعلومتكم**: DNA Ladder هي خليط من عينات من مقاطع DNA ذوات أطوال معروفة. يستعمل لمعرفة أطوال جزيئات ال DNA المفحوصة.

**تذكّروا:**

- بعد كل عملية نقل محلول يجب تغيير التيب بالميكروبيبيت.
- يجب القاء كل تيب مستعمل إلى وعاء النفايات.

د. أعيدوا تنفيذ التعليمات في البند جـ مع محلول في أنبوبة PCR المشار إليها DNA1 في البئر 2.

- بنفس الطريقة انقلوا المحاليل من أنابيب DNA2 – DNA6 للآبار 3، 4، 5، 6، 7 بالتلاؤم وكذلك المحاليل من أنابيب PCR المشار إليها W+ و-W للآبار 8 – 9.

**جدول 2 – الترتيب الذي تمّ به تحميل العينات من انابيب PCR حمّلت بالجل**

| البئر | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| نوع السائل المحمّل | DNA Ladder | DNA1 | DNA2 | DNA3 | DNA4 | DNA5 | DNA6 | W+ | W- |

- في نهاية التحميل أطفئوا مصباح التحميل، غطوا الجهاز بالغطاء البلاستيك البرتقالي.

**مرحلة ب- تسيير عينات DNA في الجل**

هـ. بعد أن أخذتم موافقة المعلم شغلوا الجهاز بواسطة الضغط على زر التشغيل.

**يمنع فتح علبة الجهاز مادام الجهاز يعمل ويمر به تيار كهربائي**

**مصباح مشاهدة النتائج يمكن تشغيله لفترة قصيرة فقط**

و. بعد أن اشتغل الجهاز لمدة 5 دقائق انتبهوا أنكم تلاحظون بتقدم ال DNA في الجل. اذا لم تروا تقدم العينات في الجل نادوا المعلم.

ز. أكملوا تشغيل الجهاز حتى تقطع عينة الصبغة الأسرع ثلثي المسافة من خط النهاية في طرف الجل. سيستغرق ذلك حوالي 15 دقائق.

ح. **أطفئوا الجهاز ولا تزيلوا الغطاء البرتقالي.**

ط. أشعلوا مصباح النتائج (صورة 1) وانظروا على الجيل من خلال الغطاء.

- انتبهوا لوجود أو عدم وجود **خطوط** (פסים bands) في كل واحد من الأعمدة.

**ي. ضعوا كاميرا الهاتف النقّال على الفتحة في القسم العلوي من الغطاء البرتقالي وصوروا النتائج التي حصلتم عليها في الجيل. غالبًا ما تظهر الخطوط في الصورة بارزة أكثر بالمقارنة مع يظهر بالمشاهدة.**

ي أ. أطفئوا مصباح النتائج وأزيلوا الغطاء البرتقالي.

- أخرجوا بحذر القالب والجيل فيه من حوض الجهاز (صورة 1).
- والجيل فيه من حوض الجهاز (صورة 1).
- بمساعدة عامل المختبر أو المعلم افصلوا بلطف الجيل من القالب وضعوه على الورق الأبيض الذي على طاولتكم.
- صوروا النتائج مرة أخرى.

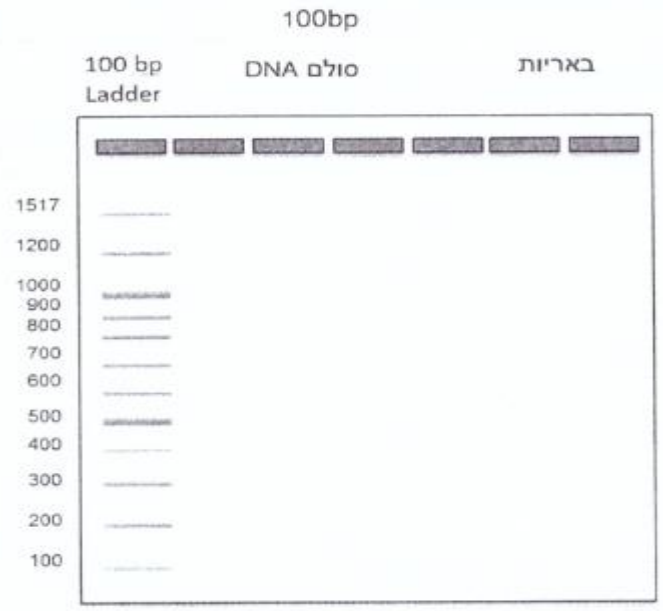
ي ب. تأكدوا ان القالب الشفاف الذي كان بها الجيل موجود على الطبق.

ي جـ. ارموا الجل، الأنابيب والقفازات إلى وعاء النفايات.

**ي د. خذوا من عامل المختبر قطن منقوع بكحول، نظّفوا مسطّح العمل التي عملتم فيها. اغسلوا أيديكم بالماء والصابون.**

**ورقة جمع النتائج**

**تعليمات:** بعد أن نفّذتم التجربة بكل مراحلها أشيروا إلى النتائج التي حصلتم عليها في الجل.




الكترودا سالبة -

الكترودا موجبة +

جدول تلخيص النتائج

| أسماء الطلاب | رقم البئر | محتوى البئر | نوع الحشرة التي استخلص منها ال DNA | نتائج: DNA مكوّد ل RNA في الحشرة (-/+) | نتائج: DNA مكوّد للإنزيم CO1 (-/+) |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | LADDER | | | |
| | 2 | DNA1 | | | |
| | 3 | DNA2 | | | |
| | 4 | DNA3 | | | |
| | 5 | DNA4 | | | |
| | 6 | DNA5 | | | |
| | 7 | DNA6 | | | |
| | 8 | W+ | | | |
| | 9 | W- | | | |

**أجيبوا عن الأسئلة التالية:**

1. أي أنواع وأصناف حشرات جُمعت من قبل طلاب الصف وما هو الصنف الأكثر شيوعًا؟
2. في أي نوع حشرات تكرارية العدوى بالولباخيه كانت الأعلى؟
3. هل الفرضية الأولية حول تكرارية الولباخيه كانت صحيحة؟ فسّروا لماذا نعم او لماذا لا وعللوا بالاعتماد على النتائج.
4. قدّروا طول / كبر كل واحد من مقاطع الجينات التي كاثرناها في عملية PCR وسيّرناها في الجل؟ فسّروا تحديدكم.
5. فسّروا ما هي أهمية وظيفة البحث الذي أجريتم لإيجاد حشرات مصابة بالولباخيه لصحة الإنسان؟