

المعمل الثاني:
« طرق القياس في مختبر الأحياء الجزيئية »

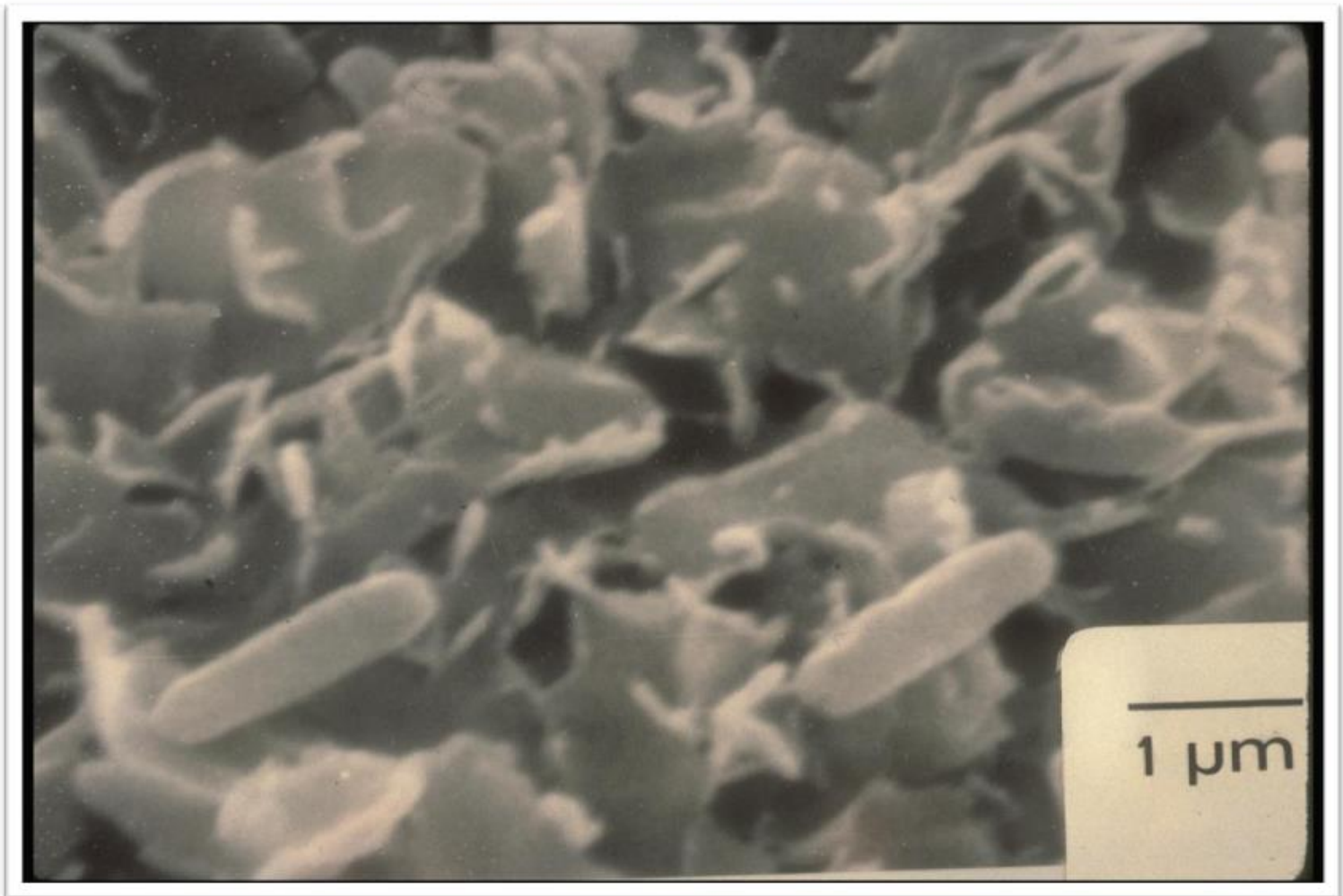
« مقرر الأحياء الجزيئية »

251

أولاً: الوحدات المستخدمة:

Prefix-	الصيغة العلمية	Decimal equivalents	Example Units
Kilo- (K)	$= 10^3 \text{ m}$	$=1000 \text{ m}$	Kilogram(Kgm) or liter(L)
Milli-(m)	$=10^{-3} \text{ m}$	$=0.001 \text{ m}$	Milligram (mg) or Milliliter (mL)
Micro- (μ)	$=10^{-6} \text{ m}$	$=0.0000001 \text{ m}$	Microgram(μg) or Microliter (μL)
Nano- (n)	$=10^{-9} \text{ m}$	$=0.0000000001 \text{ m}$	Nanogram(ng) or Nanoliter (nL)
Pico- (p)	$=10^{-12} \text{ m}$	$=0.0000000000001 \text{ m}$	Picogram (pg) or Picolitre (pL) or picomole (pm)

ما هو حجم الخلايا البكتيرية؟؟؟؟؟؟



ثانياً: المصطلحات الهامة في البيولوجيا الجزيئية:

١- الوزن الجزيئي (MW) Molecular weight والمول (Mol) Mole:

الوزن الجزيئي للمركب هو مجموع الأوزان الذرية لكل العناصر المكونة للجزء الواحد من المركب.



يمكن حسابه باستخدام الجدول الدوري للعناصر الكيميائية.

مثال ١: لحساب وزن ١ مول من الماء. ننظر إلى الصيغة الكيميائية له H₂O.

:. يساوي وزن ذرتين من الهيدروجين مضافاً إليه وزن ذره أكسجين

(amu) Atomic force unit وحدة كتلة ذرية $18.01534 = (1 * 15.9994) + (2 * 1.00797)$.

لحساب الوزن الجزيئي نحتاج:

الجدول الدوري للعناصر الكيميائية-آله حاسبه

1 - الحصول على الجدول الدوري للعناصر الكيميائيه.

2 - التعرف على العناصر المكونه للمركب.

مثل حمض الكبريتيك sulfuric acid صيغته البنائيه H_2SO_4

توضح عدد ونوع الذرات في المركب، وفيه 2 ذرة هيدروجين وذرة كبريت و 4 ذرات أكسجين.

3 -تحديد وتسجيل الوزن الذري لكل ذرة،الوزن الذري للهيدروجين=

1.0079 ولذرة الكبريت= 32.6 ولذرة الأكسجين= 15.9994 .

4 - يحسب الوزن الجزيئي لحمض الكبريتيك بضرب عدد ذرات الجزيء في الوزن الذري لكل ذره.

ذريه $2 (1.0079 *) + 1 (32.06 *) + 4 (15.9994 *) = 49.8$ وحدة كتلة

Periodic Table of the Elements 2006

1 H 1.01																	18 He 4.00
3 Li 6.94	4 Be 9.01											13 B 10.81	14 C 12.01	15 N 14.01	16 O 15.99	17 F 19.00	18 Ne 20.18
11 Na 22.99	12 Mg 24.31											13 Al 26.98	14 Si 28.09	15 P 30.97	16 S 32.07	17 Cl 35.45	18 Ar 39.95
19 K 39.10	20 Ca 40.08	21 Sc 44.96	22 Ti 47.87	23 V 50.94	24 Cr 52.00	25 Mn 54.94	26 Fe 55.85	27 Co 58.93	28 Ni 58.69	29 Cu 63.55	30 Zn 65.41	31 Ga 69.72	32 Ge 72.64	33 As 74.92	34 Se 78.96	35 Br 79.90	36 Kr 83.80
37 Rb 85.47	38 Sr 87.62	39 Y 88.91	40 Zr 91.22	41 Nb 92.91	42 Mo 95.94	43 Tc (98)	44 Ru 101.07	45 Rh 102.91	46 Pd 106.42	47 Ag 107.87	48 Cd 112.41	49 In 114.82	50 Sn 118.71	51 Sb 121.76	52 Te 127.60	53 I 126.90	54 Xe 131.29
55 Cs 132.91	56 Ba 137.33	57 La 138.91	72 Hf 178.49	73 Ta 180.95	74 W 183.84	75 Re 186.21	76 Os 190.23	77 Ir 192.22	78 Pt 195.08	79 Au 196.97	80 Hg 200.59	81 Tl 204.38	82 Pb 207.2	83 Bi 208.98	84 Po (209)	85 At (210)	86 Rn (222)
87 Fr (223)	88 Ra (226)	89 Ac (227)	104 Rf (261)	105 Db (262)	106 Sg (266)	107 Bh (264)	108 Hs (270)	109 Mt (268)	110 Ds (281)	111 Rg (272)							

58 Ce 140.12	59 Pr 140.91	60 Nd 144.24	61 Pm (145)	62 Sm 150.36	63 Eu 151.97	64 Gd 157.25	65 Tb 158.93	66 Dy 162.50	67 Ho 164.93	68 Er 167.26	69 Tm 168.93	70 Yb 173.04	71 Lu 174.97
90 Th 232.04	91 Pa 231.04	92 U 238.03	93 Np (237)	94 Pu (244)	95 Am (243)	96 Cm (247)	97 Bk (247)	98 Cf (251)	99 Es (252)	100 Fm (257)	101 Md (258)	102 No (259)	103 Lr (262)

كم جراماً في المول؟

تختلف القيمه لكل مركب.

المول (mol): وزن المادة المذابة بالجرام (weight in grams) «مقسوم على الوزن الجزيئي (MW) للمادة.

$$\text{Mole} = \frac{\text{Weight in grams}}{\text{Molecular Weight (MW)}}$$

إذن : الوزن بالجرام = عدد المولات × الوزن الجزيئي

مثال ٢: الصيغة البنائية او الكيميائية Formula weight

لكلوريد البوتاسيوم هي KCl

الوزن الجزيئي لـ KCl = 39.1 + 35.45 = 74.55 (amu)

ما هو المحلول؟

- هو خليط متجانس من المركبات حيث تظهر كل الجسيمات كجزيئات أو أيونات مفردة (مذيب+مذاب).

يمكن التعبير عن تركيز المحلول بعدة طرق، مثل:

- ١- المولارية (M) : **Molarity**
- ٢- المولالية (m) : **Molality**
- ٣- العيارية (N) : **Normality**

• علي:

يستخدم الماء المقطر Distilled water عادة في تحضير المحاليل؟
يجب استخدام المحاليل المنظمة Buffers في جميع اختبارات الأحياء
الجزيئية؟

٢ - المولارية (M) : Molarity

المولارية هي عدد مولات المذاب في لتر من المحلول.

$$\text{المولارية} = \frac{\text{عدد المولات}}{\text{حجم المحلول باللتر}}$$

$$\text{الوحدة} = \text{مولار (M)} = \frac{\text{مول}}{\text{لتر}}$$

$$\text{Molar (mol/L)} = \frac{\text{No. of Moles (mol)}}{\text{Liters (L)}}$$

مثال: المحلول ذو المولارية ١ مولار يحتوي على ١ مول من المادة المذابة في الحجم النهائي للمحلول.

لتحضير محلول 1 مولار من كلوريد البوتاسيوم KCl يوزن 74.55 جم ويذاب في ١ لتر من الماء المقطر DDW.

أي 74.55 جم من الملح في لتر من المحلول النهائي. أي أن الوزن المحسوب يذاب في حجم صغير من الماء ثم يكمل الحجم الكلي للمحلول إلى ١ لتر. وهذا يختلف عن إضافة 74.55 جم إلى لتر من الماء.

أمثلة على المولارية:

١- ماهي مولارية 0.75 مول من المذاب في 2.5 لتر من المذيب؟

$$\text{المولارية} = \frac{0.75}{2.5} = 0.3 \text{ مولار}$$

٢- ماهي المولارية لـ 40 جم من هيدروكسيد الصوديوم NaOH المذاب في 2 لتر من المذيب؟
المعلوم: الوزن بالجرام و حجم المحلول النهائي

١- نحول الجرامات إلى مولات. يحسب الوزن الجزيئي للمركب أولاً ثم نحسب المول .

$$\text{الوزن الجزيئي للماده} = 40 \frac{\text{جم}}{\text{مول}}$$

$$\text{إذن المول (mol)} = \frac{\text{عدد الجرامات}}{\text{الوزن الجزيئي}} = \frac{40 \text{ جم}}{40 \frac{\text{جم}}{\text{مول}}} = 1 \text{ مول}$$

٢- نقسم عدد المولات / عدد اللترات.

$$\text{المولارية} = \frac{0.5 \text{ مول}}{1 \text{ لتر}} = 0.5 \text{ مولار.}$$

٣- المولالية (m) Molality:

هي عدد المولات من المذاب في الكيلوجرام الواحد من المذيب.

$$\text{المولالية} = \frac{\text{عدد مولات المادة المذابة}}{\text{كتلة المذيب بالكيلوجرام}}$$
$$\text{الوحده} = \frac{\text{مول}}{\text{كجم}}$$

مثال: ١ مولال (1m) من محلول كلوريد الصوديوم NaCl يحتوي 1 مول من NaCl في الكيلوجرام الواحد من الماء.

أي الوزن بالجرام = المول × الوزن الجزيئي = ×1
58.44 = 58.44 جم

يضاف إلى ١٠٠٠ مل من الماء المقطر DDW.

٤- العيارية (النظامية) Normality (N):

أهم الطرق للتعبير عن تركيز المحلول، وتستخدم عادة للأحماض Acids والقواعد Bases .
لربط بين كمية المذاب إلى الحجم الكلي للمحلول.

$$\text{النورمالية } N = \frac{\text{عدد المكافآت الجرامية } n}{\text{حجم المحلول باللتر}}$$

فالمحلول الذي يبلغ تركيزه ١ عياري يعني أنّ كل واحد لتر من المحلول يحوي مكافئ جرامي واحد من المذاب

حيث $n =$ للأحماض = عدد أيونات الهيدروجين H^+ في الصيغة البنائية للحمض.
أما للقواعد $n =$ عدد أيونات الهيدروكسيل OH^- في الصيغة البنائية للقاعدة.

هناك علاقة بين النورمالية (المعيارية) والمولالية والمولارية

$$\text{النورمالية} = \text{المولارية} \times n$$

مثال: ٣ مولار من H_2SO_4 هو نفسه محلول 6 معياري من الحمض نفسه.

مثال: محلول ١ مولار من $Ca(OH)_2$ هو نفسه ٢ معياري من القاعدة نفسها.

أمثلة الجرام المكافية (e.q) أو n:

قيمة n	الحمض او القاعده
1	حمض الهيدروكلوريك HCl
2	هيدروكسيد الكالسيوم Ca(OH)_2
3	حمض الفوسفوريك H_3PO_4
3	حمض البوريك H_3BO_3
1	حمض الخليك الثلجي CH_3COOH Glacial acetic acid

مثال على العيارية:

لتحضير محلول 1 عياري من هيدروكسيد الكالسيوم Ca(OH)_2 .
المعلوم: الوزن الجزيئي = 74.09 وقيمة العيارية = 1 عياري
بالتعويض في: المعيارية = المولارية $\times n$

$$\text{المولارية} = \frac{\text{المعيارية}}{n} = \frac{1}{2} \frac{\text{مول}}{\text{لتر}} = 0.5 \text{ مول/لتر}$$

$$\text{الوزن بالجرام} = \text{المول} \times \text{الوزن الجزيئي} = \frac{1}{2} \times 74.09 = 37.05 \text{ جم / لتر.}$$

بالتالي يضاف $\frac{1}{2}$ مول الى لتر المذيب للحصول على 1 عياري من
هيدروكسيد الكالسيوم Ca(OH)_2 .

المحاليل والتخفيفات Solutions and Dilutions

٥- المحلول الأساس أو المحاليل المخزنة Stock Solutions:

يحضر المحلول الأساسي عادة ويجب تخفيفه للحصول على التركيز النهائي المطلوب للعمل.

تعريف: هو المحلول المركز (له تركيز عالي) الذي يتم تخفيفه عادة إلى تركيزات أقل للحصول على محلول العمل الذي يتم استخدامه في الاختبارات.

- يرمز لها عادة بـ nX و $n = 1, 2, 3, \dots$
- مثل: $5X$ يماثل خمس مرات من قوة تركيز محلول العمل؛ ويخفف بنقل 1 جزء من المحلول المخزن إلى 5 أجزاء من المحلول النهائي.
- مثال: يخلط 100 مل من محلول مخزن $5X$ و 400 مل من ماء مزدوج التقطير (Double Distilled Water (DDW)). يعطي محلول $1X$.

ما هو محلول $10X$ solution؟

هو محلول مخزن بتركيز 10 مرات أعلى من محلول العمل.

لعمل محلول $1X$ من محلول مخزن $10X$ ، يتم التخفيف لعشر مرات 10-fold dilution.

مثال: محلول $1X$ Tris-EDTA (Ethylene-diamine tetra-acetic acid) (TE) من محلول مخزن $10X$ TE يساوي 100 مل من الأخير يخفف في حجم نهائي 1 لتر من الماء.

العمليات الحسابية التي تتم على المحلول الأساس Stock Solution

تصف المعادلة التالية المحددات المختلفة:

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

حيث:

C1 (ت ١): تركيز المحلول الأساسي (قبل التخفيف) مولار

V1 (ح ١): حجم المحلول الأساسي بالملل

C2 (ت ٢): تركيز المحلول النهائي (بعد التخفيف) مولار

V2 (ح ٢): حجم المحلول النهائي بالملل

عادة يكون حجم المحلول الأساسي (ح ١) V1 (المطلوب للوصول إلى تركيز نهائي محدد بإضافة الماء DDW) هو المجهول لذلك نعوض بالمعادلة التالية:

$$V1 = \frac{C2 * V2}{C1}$$

$$\frac{ح2 \times ت2}{ت1} = ح1$$

تحضير التخفيفات من المحلول الأساس :Making Dilutions from Stock solution

• عند تحضير المحاليل لا بد من توحيد الوحدة المستخدمه لكل من :الحجم والوزن والتركيز في نفس المعادلة.

• مثال: من الخطأ كتابة المعادلة في الصورة التاليه:

$$V1(160 \text{ مل}) * C1 (160 \text{ ملجم/لتر}) = V1(\text{المجهول}) * C2(\text{المطلوب } 3 \text{ جم/لتر})$$

الصورة الصحيحة:

$$V1(160 \text{ مل}) * C1 (160 \text{ ملجم/مل} \times 1000) = V1(\text{المجهول}) * C2(\text{المطلوب } 3 \text{ جم} \times 1000 / \text{لتر} \times 1000)$$

توحيد وحدات الحجم والوزن والتركيز في المحاليل

التركيز	الوزن	الحجم
جم/مل gm/mL	جم	مل
جم/لتر Gm/L	جم	لتر
كجم/مل Kg/mL	كجم	مل
كجم/لتر Kg/L	كجم	لتر
ملجم/مل Mg/mL	ملجم	ملل
ميكروجرام/ميكرو لتر Ug/uL	ميكروجرام	ميكرو لتر
نانوجرام/ميكرو لتر Ng/ul	نانوجرام	ميكرو لتر

Homework

لديك عينة DNA تركيزها 643ng ما هو الحجم اللازم أخذه منها للحصول على 200µl و ذو تركيز 10ng.

احسبي كمية Tris [Tris(Hydroxymethyl)Aminomethane] المطلوبة لتحضير 500مل من 1مولار من المحلول المخزن. علماً بأن الوزن الجزيئي = 121.14 (amu).

تم إذابة 40g من كلوريد الأمونيوم (NH₄Cl) في كمية كافية من الماء ليصبح حجم المحلول 260ml، احسبي مولارية المحلول .