مقرر «البيولوجيا الجزيئيه»
Molecular Biology
251 حدق

أمل الغامدي
ahamdan1@ksu.edu.sa

توزيع الدرجات

- التقارير Reports:5 درجات
- الاختبار قصير Quiz بعد 5 معامل: 5 درجات

التقييم العمليLab. Work: 5 درجة

- الإختبار النهائي Final: 15 درجة

- موعد الإختبار: الأربعاء: 9 شعبــان 1439 هـ
  – معمل L65 (10-12 ص)

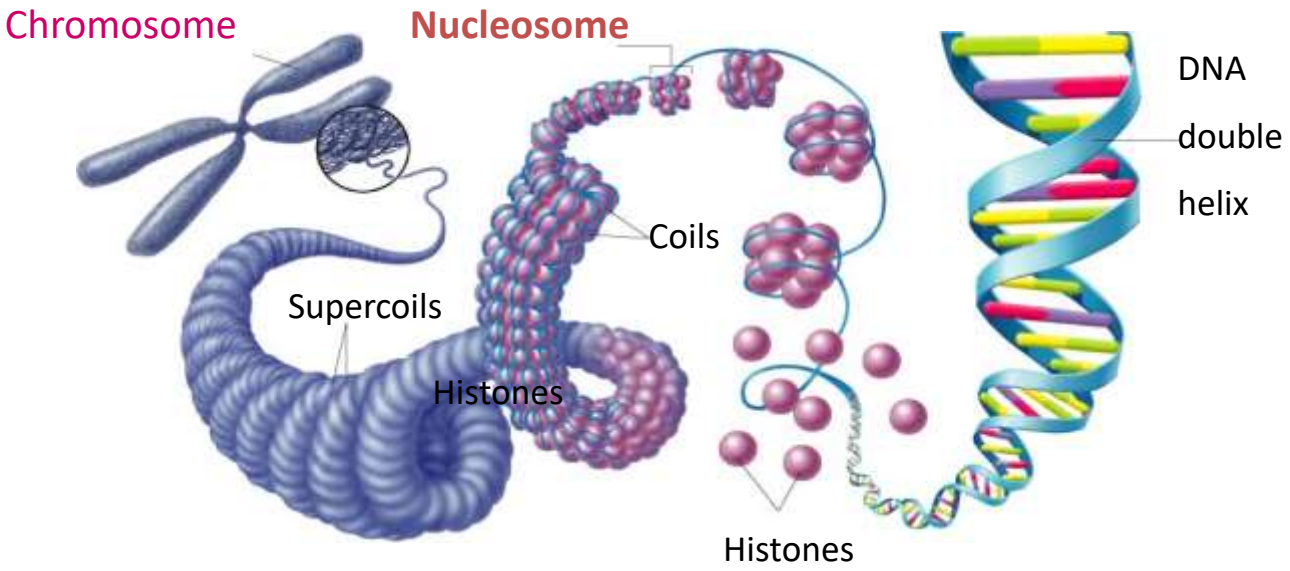
المحاور الأساسية

- ماهية التجارب العملية في المقرر.
- طريقة التعرف على انواع الكائنات الحية من خلال الجزيئات المعلوماتيه.
- ماهي الجزيئات المعلوماتيه؟ ولماذا سميت بذلك؟
- أهم القوانين والمصطلحات والطرق المستخدمة لتحضير المحاليل المنظمه.

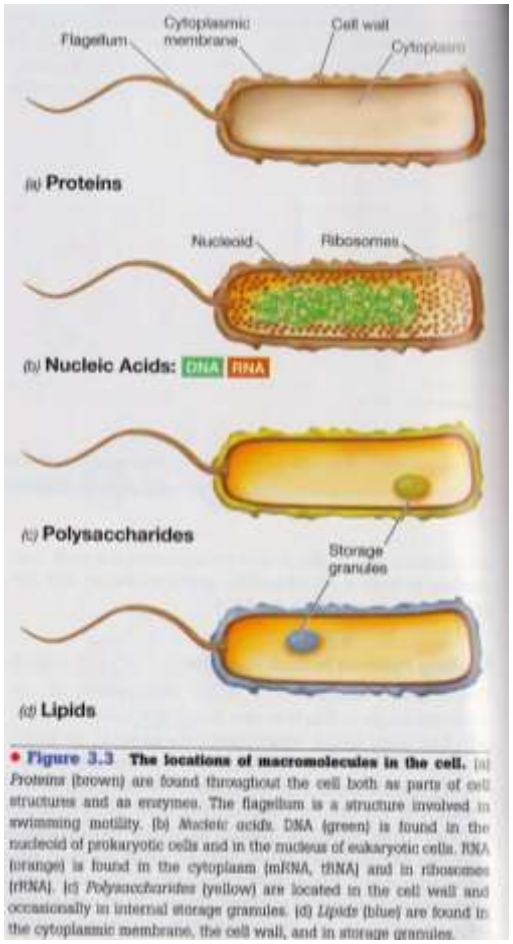
علم البيولوجيا الجزيئية Molecular Biology

- **تعريف: هو العلم الذي يختص بدراسة التركيب الوراثي(الجينات) ووظائف الكائن الحي على المستوى الجزيئي .**

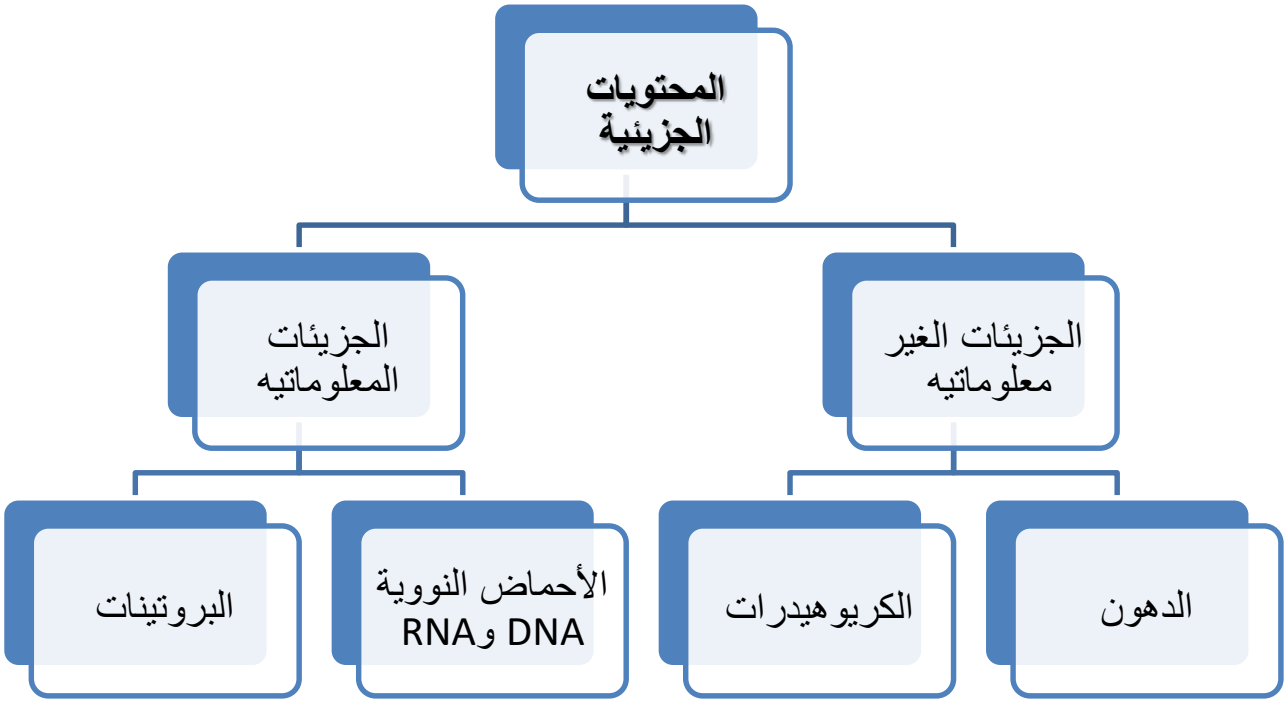
- **المادة الوراثية (الجينوم) للكائن الحي تتكون من مجموع المعلومات الجينيه وتشفر في الحمض النووي Deoxyribonucleic Acid (DNA).**



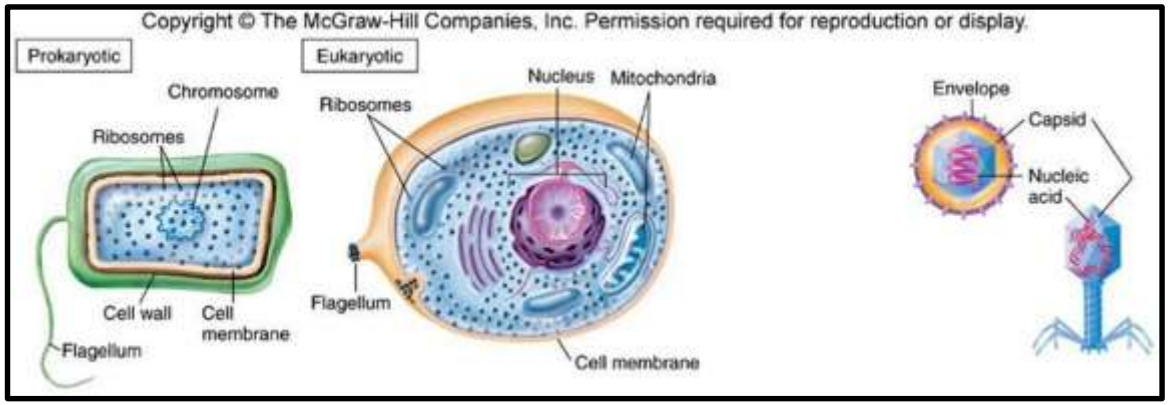
المحتويات الجزيئية للخليه

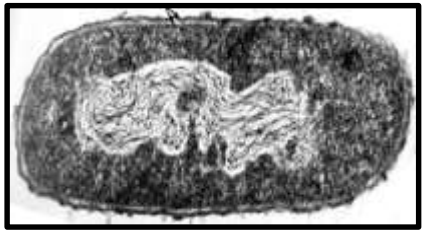


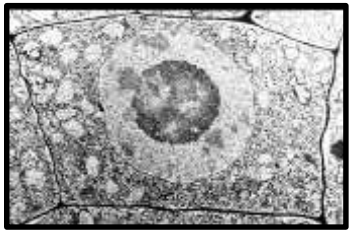
• **Figure 3.3 The locations of macromolecules in the cell.** (a) *Proteins* (brown) are found throughout the cell both as parts of cell structures and as enzymes. The flagellum is a structure involved in swimming motility. (b) *Nucleic acids*. DNA (green) is found in the nucleoid of prokaryotic cells and in the nucleus of eukaryotic cells. RNA (orange) is found in the cytoplasm (mRNA, tRNA) and in ribosomes (rRNA). (c) *Polysaccharides* (yellow) are located in the cell wall and occasionally in internal storage granules. (d) *Lipids* (blue) are found in the cytoplasmic membrane, the cell wall, and in storage granules.

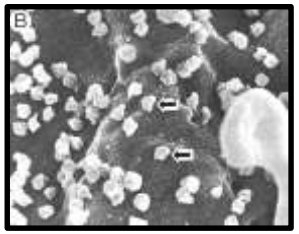


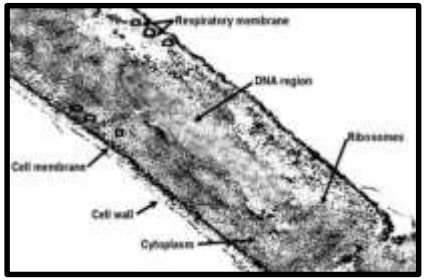
الفرق بين خلايا بدائيات النواة وخلايا حقيقيات النواة
Electron Micrograph for Prokaryotes and Eukaryotes

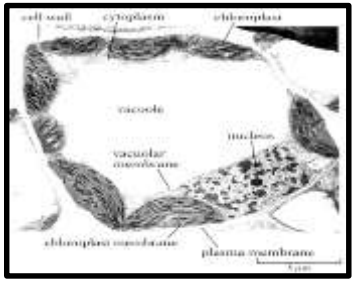












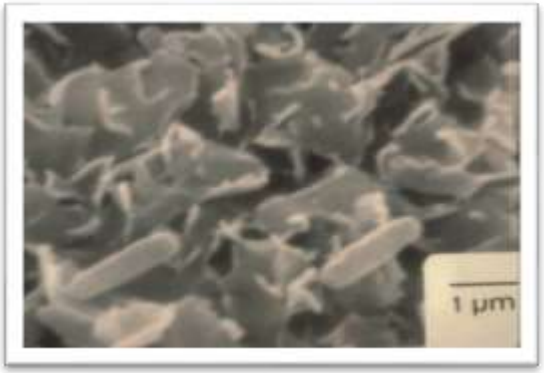
الغرض من دراسة الجزيئات الكبرى (الأحماض النوويه والبروتينات) :

- دراسة تركيب الجزيئات الكبيره في الخليه وكيفية انتظامها مع بعضها لتكوين عضيات الخليه وللقيام بالوظائف البيوكيميائية للخلية.
- استخلاص الجزيئات الكبرى للخلايا الدقيقة واستخدامها كأدوات للتطبيقات في مجال الهندسة الوراثية. مثل اسنخلاص الأحماض النووية والبروتينات لدراسة المكونات الوراثية للخلية.
- استغلالها في تعريف الكائنات الدقيقة وتصنيفها وراثياً.
- استخدام البروتينات الخلوية والإنزيمية في الصناعه.
- الكشف عن وجود الطفرات.

«طرق القياس في مختبر الأحياء الجزيئية»

أولا: الوحدات المستخدمة:

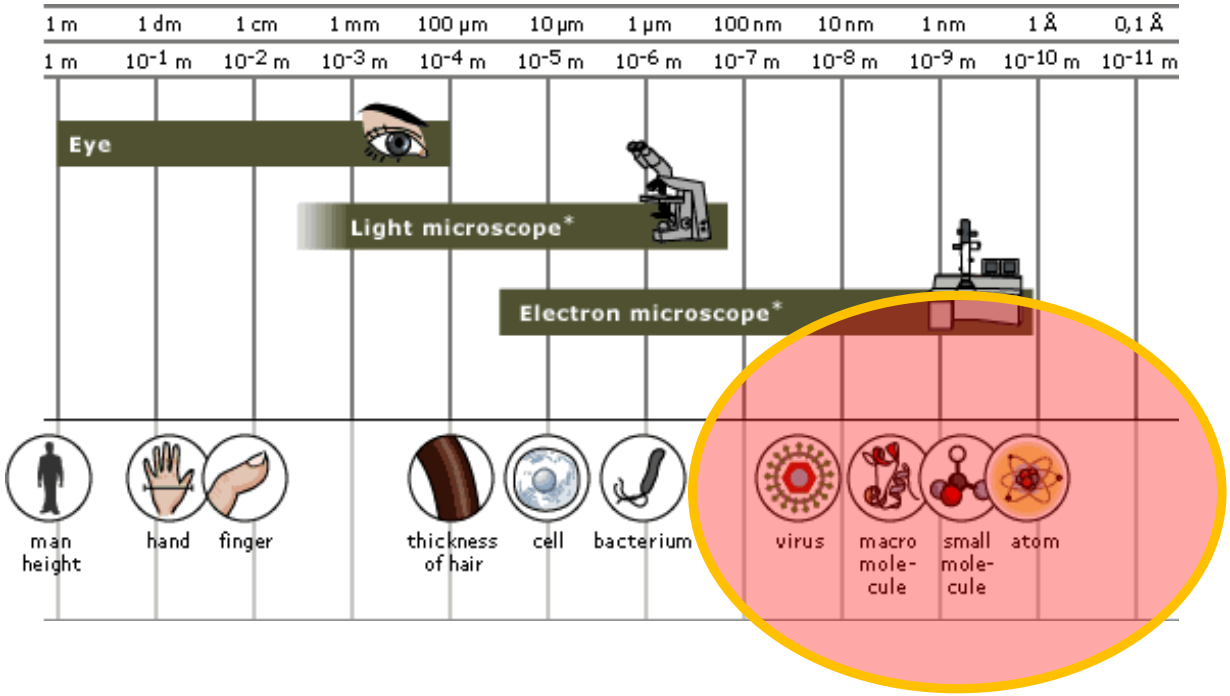
Prefix-	الصيغة العلمية	Decimal equivalents	Example Units
Kilo- (K)	= 10^3 m	=1000 m	Kilogram(Kgm) or liter(L)
Milli-(m)	=10^{-3} m	=0.001 m	Milligram (mg) or Milliletre (mL)
Micro- (µ)	=10^{-6} m	=0.0000001 m	Microgram(µg) or Microliter (µL)
Nano- (n)	=10^{-9} m	=0.0000000001 m	Nanogram(ng) or Nanoliter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



ما هو حجم الخلايا البكتيريه؟

فحص الجزيئات الكبرى للخليه

يستخدم المجهر الالكتروني Electron Microscope (E.M.) بنوعيه الماسح Scanner (SEM) و النافذ Transmitted (TEM).



ثانياً: المصطلحات الهامة في البيولوجيا الجزيئية:

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

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

كمية الوزن الجزيئي بـ**الجرام** لأي مركب تحتوي على 1 مول من المركب.
أي أن «الوزن بالجرام يساوي القيمة الرقمية للوزن الجزيئي».

الصيغة الجزيئية أو البنائيه تسمى (Formula weight).

مثال: الصيغة البنائية او الكيميائية Formula weight لكلوريد البوتاسيوم هي KCl
الوزن الجزيئي لـ KCl = 39. 1 + 35. 45 = 74.55 (amu)

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

ماهو المحلول؟

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

يمكن التعبير عن تركيز المحلول بعدة طرق، مثل:

1- المولارية Molarity (M) :
2- المولالية Molality (m):
3- العيارية Normality (N):
4- النسبة المئوية الوزنية (w/v %)
5- النسبة المئوية الحجميه (v/v %) وهذه أقل استخداماً

- عللي:

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

2- المولارية Molarity (M) :

المولارية هي عدد مولات المذاب في لتر من المحلول.

المولار= عدد المولات/حجم المحلول باللتر. $\text{Molar(mol/L)} = \frac{No.of\ Moles\ (mol)}{Liters\ (L)}$

الوحدة= مولار (M) = مول / لتر

مثال: المحلول ذو المولارية 1 مولار يحتوي على 1 مول من المادة المذابة في الحجم النهائي للمحلول.

لتحضير محلول 1 مولار من كلوريد البوتاسيوم KCl يوزن 74.55 جم ويذاب في 1 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 1 لتر.

وهذا يختلف عن إضافة 74.55 جم إلى لتر من الماء.

3- المولالية Molality (m):

هي عدد المولات من المذاب في الكيلوجرام الواحد من المذيب.

المولالية = عدد مولات المادة المذابة/ كتلة المذيب بالكيلوجرام.

الوحده=مول/ كجم

مثال: 1 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 1000 مل من الماء المقطر DDW.

4- العيارية Normality (N):

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

العيارية N= عدد المكافآت الجرامية n / حجم المحلول باللتر.
فالمحلول الذي يبلغ تركيزه 1 عياري يعني أنّ كل واحد لتر من المحلول يحوي مكافيء 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 العياريه والمولالية والمولارية
النورمالية= المولارية × n
مثال: 3 مولار من H_2SO4 هو نفسه محلول 6معياري من الحمض نفسه.
مثال: محلول 1 مولار من $Ca(OH)_2$ هو نفسه 2 معياري من القاعدة نفسها.

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

5- المحلول الأساس أو المحاليل المخزنة Stock Solutions:

يحضر المحلول الأساسي ذو التركيز العالي عادة ويجب تخفيفه للحصول على التركيز النهائي المطلوب للعمل باضافة الماء مزدوج التقطير (DDW)

- يرمز لها عادة بـ nX و n= 1،2،3،...

ماهو محلول 10X solution؟

هو محلول عالي التركيز يماثل تركيزأعلى 10مرات 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 TE 10X يساوي 100مل من الأخير يخفف في حجم نهائي 1لترمن الماء.

العمليات الحسابية التي تتم على المحلول الأساس Stock Solution

تصف المعادلة التالية المحددات المختلفة:

C1*V1 = C2*V2

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

حيث:

C1: تركيز المحلول الأساسي (قبل التخفيف) مولار

V1: حجم المحلول الأساسي بالملل

C2: تركيز المحلول النهائي (بعد التخفيف) مولار

V2: حجم المحلول النهائي بالملل

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

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

- 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(160ملل)* C1(160ملجم/لتر)= V1(المجهول)*C2(المطلوب 3جم/لتر))

الصورة الصحيحة:

V1(160ملل)* C1(160ملجم/ملل× 1000)= V1(المجهول)*C2(المطلوب 3جم× 1000/لتر× 1000))

المحاليل والتخفيفات
Solutions and Dilutions

- ماهو الفرق بين المحلولين كل منهما 1% (حجم/حجم) (v/v) و (وزن/حجم) (w/v)؟

- المحلول الأول (حجم/حجم) 1% : أي ان نسبة المادة الكيميائية السائلة هي 1% من حجم المحلول الكلي.
- مثال: محلول الجليسرول 1% سيحتوي 1 مل من الجليسرول في حجم نهائي 100مل.

- المحلول الثاني (وزن/حجم) 1%: أي أن المادة الكيميائية تكون في صورة صلبة حيث يعني محلول 1% منها ؛إضافة ا جم من المادة في 100مل.
- مثال:محلول Sodium Dodecyl Sulphate(SDS) 1% سيتكون من 1 جم من SDS في حجم نهائي 100 مل.

«أســـئلة الواجب»

- محلول مائي من كرومات البوتاسيوم $K_2Cr_2O_7$ تركيزه 0.25 مولار. احسب الحجم اللازم أخذه من المحلول المركز للحصول على 250 ملل من المحلول ذو تركيز 0.01 مولار ؟؟

- ما وزن كبريتات الأمونيوم $(NH_4)_2SO_4$ التي يلزم إذابتها في 350 g من الماء لتكوين محلول تركيزه (0.3) molal؟ الأوزان الذرية:(H =1, N = 14, O = 16, S = 32)

- محلول هيدروكسيد البوتاسيوم المائي تركيزه (40 % وزناً) احسب التركيز بالمولارية.

  الأوزان الذرية :(H = 1, O = 16, K = 39)

المطلوب للمعمل القادم:

- لكل مجموعه

– طباعة ورقة التدريب على استخدام الماصه الدقيقه Micropipette.

– احضار ماركر ثابت permanent marker.