



المعمل الثاني: «طرق القياس في مختبر الأحياء الجزيئية»

«مقرر الأحياء الجزيئية» العملي

251 حدق

Lab. 2

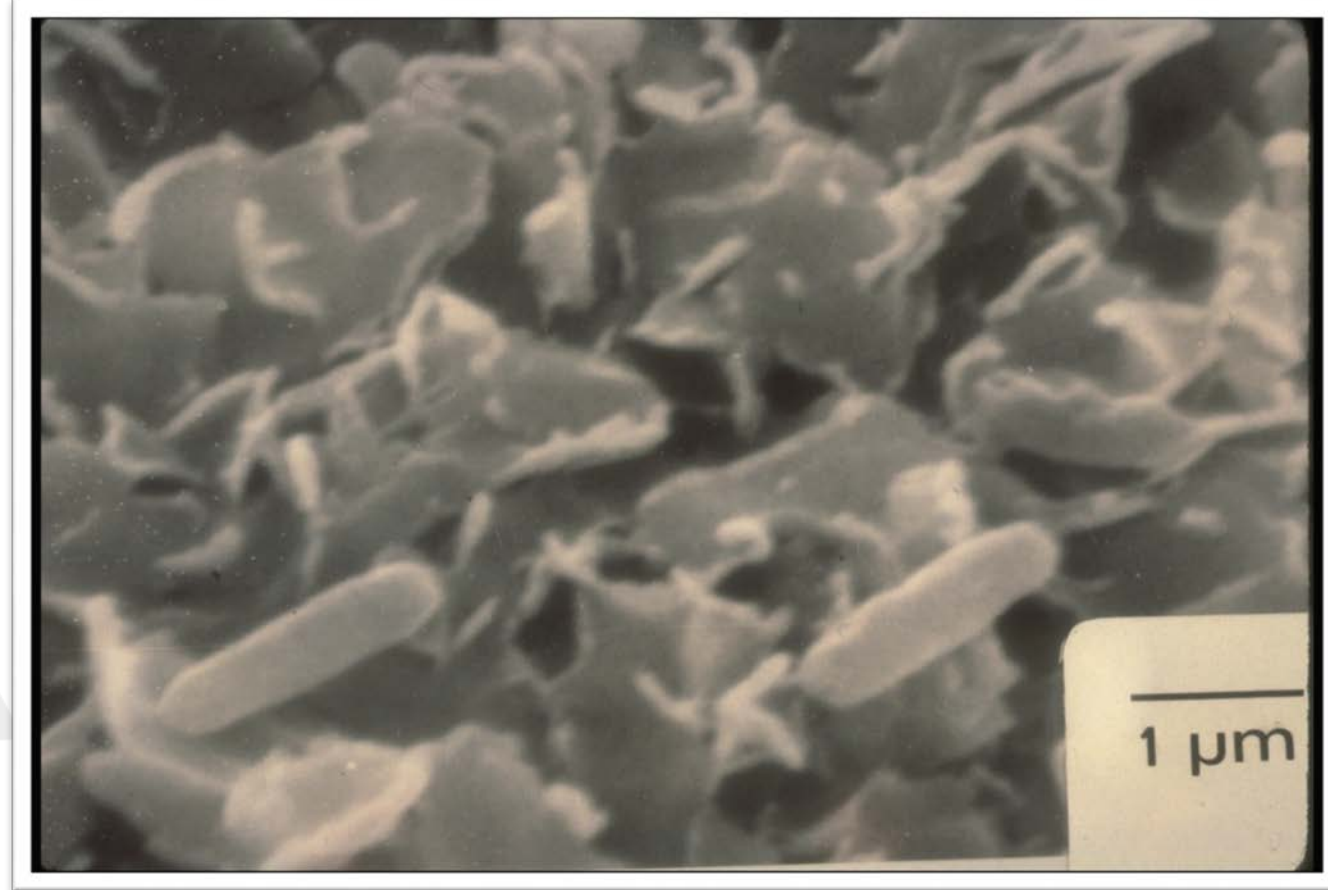


أولاً: الوحدات المستخدمة:

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 Milliliter (mL)
Micro- (μ)	= 10^{-6} m	=0.0000001 m	Microgram(μ g) or Microliter (μ L)
Nano- (n)	= 10^{-9} m	=0.0000000001 m	Nanogram(ng) or Nanoliter (nL)
Pico- (p)	= 10^{-12} m	=0.00000000000001 m	Picogram (pg) or Picolitre (pL) or picomole (pm)



ما هو حجم الخلايا البكتيرية??????



بضعة ميكرونات



ثانياً: المصطلحات الهامة في البيولوجيا الجزيئية:

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

مثال ١: لحساب وزن ١ مول من الماء. ننظر إلى الصيغة الكيميائية له H_2O .
: يساوي وزن ذرتين من الهيدروجين مضافاً إليه وزن ذره أكسجين
 $18.01534 = (1 * 15.9994) + (2 * 1.00797)$
وحدة كتلة ذرية Atomic force unit (amu).

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

يمكن حسابه باستخدام الجدول الدوري للعناصر الكيميائية.

كمية الوزن الجزيئي بالجرام لأي مركب تحتوي على ١ مول من المركب. أي أن «الوزن بالجرام يساوي القيمة الرقمية للوزن الجزيئي».

الصيغة الجزيئية أو البنائية تسمى (Formula weight).





كم جراماً في المول؟

تختلف القيمة 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.

المولارية = عدد المولات / حجم المحلول باللتر.

الوحدة = مولار (M) = مول / لتر

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

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.



٣- المولالية (m) Molality:

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 \times الوزن الجزيئي = $58.44 \times 1 = 58.44$ جم
يضاف إلى 1000 مل من الماء المقطر DDW.



٤ - العيارية Normality (N):

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

النورمالية $N = \text{عدد المكافآت الجرامية } n / \text{حجم المحلول باللتر}$.
فالمحلول الذي يبلغ تركيزه 1 عياري يعني أن 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 (المعياريه) والمولالية والمولارية

النورمالية = المولارية $\times n$

مثال: 3 مولار من H_2SO_4 هو نفسه محلول 6 عياري من الحمض نفسه.

مثال: محلول 1 مولار من $Ca(OH)_2$ هو نفسه 2 عياري 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



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 $1X$ (Ethylene-diamine tetra-acetic acid) Tris-EDTA (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:

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

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

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:

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

$$V1 = [V2 * C2] / C1$$



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



المحاليل والتخفيفات Solutions and Dilutions

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



«أسئلة الواجب»

أجيب عن السؤال التالي:

- محلول مائي من كرومات البوتاسيوم $K_2Cr_2O_7$ تركيزه ٠,٢٥ مولار.
- احسب الحجم اللازم أخذه من المحلول المركز للحصول على ٢٥٠ ملل من المحلول ذو تركيز ٠,٠١ مولار؟؟

Alghamdi

«اسئلة الواجب»

- احسبي كمية Tris [Tris(Hydroxymethyl)Aminomethane] المطلوبة لتحضير 500 مل من 1مولار من المحلول المخزن. علماً بأن الوزن الجزيئي = 121.14 (amu).
- احسبي كمية EDTA (Ethylene-diamine tetra-acetic acid) المطلوبة لتحضير 500 مل من محلول مخزن 0.5مولار. وزن الصيغة البنائية $FW = 372.2$
- ملاحظة: عادة تضاف الـ EDTA إلى الماء مزدوج التقطير ويضبط الـ pH عند 8 عادة باستخدام هيدروكسيد الصوديوم NaOH pellets 10 جم ثم ترشح وتعقم بالأوتوكلاف.



«أمثله»

• احسبي كمية β -mercaptophenol المطلوبة في 15 مل من محلول الاستخلاص للحصول على تركيز 10mM .
تتوفر هذا المادة في صورة صلبة بتركيز 98% (وزن/وزن).
FW = 78.13.

• احسبي الحجم الكلي للمحلول المطلوب للوصول إلى محلول بتركيز 80% من 100 مل من تركيز 95% من الإيثانول ETOH .
• لديك 300 μ l من الحمض النووي DNA في محلول منظم TE Buffer. ترغبين في إضافة ملح إليه ليترسب ويفصل عن الشوائب ولديك محلول 3 مولار من أسيتات الصوديوم. عليك أن تحسلي على محلول 0.3 مولار من الأسيتات مع الحمض النووي.



جدول تحضير المحاليل الخاصه بمعمل الأحياء الجزيئية

المحلول المنظم Buffers	المواد المكونه	التركيز	الوزن (جم)	الحجم (مل)
ALS-I	Glucose	0.05 M	0.9 gm	-
	TrisHCl (M.W.=121.14 g/mol)	1 M	2.5 ml
	EDTA (M.W.= 374.24g/mol)	0.5 M	2 ml
	Add to 100 ml using DDW			
ALS-II	NaOH (M.W= 39.99711 g/mol)	0.2 M	0.8 gm	-
	SDS (M.W= 288.372 g/mol)	1%	
	Add to 100 ml using DDW			
ALS-III	Potassium acetate (M.W= 98.14232 g/mol.)	3 M	29.5 gm	-
	Glacial acetic acid	11.5%	11.5 ml
	Add to 100 ml using DDW			



المحلول المنظم Buffers	المواد المكونه	التركيز	الوزن (جم)	الحجم (مل)
ALS-I	Glucose	0.05 M	0.9 gm	-
	TrisHCl (M.W.=121.14 g/mol)	1 M	2.5 ml
	EDTA (M.W.= 374.24g/mol)	0.5 M	2 ml
	Add to 100 ml using DDW			
ALS-II	NaOH (M.W= 39.99711 g/mol)	0.2 M	0.8 gm	-
	SDS (M.W= 288.372 g/mol)	1%	
	Add to 100 ml using DDW			
ALS-III	Potassium acetate (M.W= 98.14232 g/mol.)	3 M	29.5 gm	-
	Glacial acetic acid	11.5%	11.5 ml
	Add to 100 ml using DDW			



TER	TrisHCl (M.W= 121.14 g/mol)	1 M	10 ul
	EDTA (M.W= 374.24g/mol)	0.5 M	2 ul
	RNase A (M.W=)	0.2ml	2 ul
	To 1 ml using DDW			
CTAB Buffer	CTAB (M.W= 364.46 g/mol)		2 gm	-
	Tris (M.W= 121.14 g/mol)	1 M	10 ml
	EDTA (M.W= 374.24g/mol)	0.5 M	4 ml
	NaCl (M.W= 58.44277 g/mol)	5 M	28 ml
	PVP	-	1 gm	-
	HCl	pH=5	-	-
	Make up to 100 ml using DDW			



TBE Buffer 5X	Tris Base (M.W= 121.14 g/mol)		54 gm	-
	Boric acid (M.W= 61.83302 g/mol)		27.5 gm	-
	EDTA (M.W= 374.24g/mol)	0.5 M	20 ml
	Make up to 1 L DDW			
Agarose gel	Agarose	-	1 gm	
	TBE	1X	-	100 ml



مثال: تحضير المحلول المنظم ALS-I

- يعلم دورق معقم باسم ALS-I وينقل إليه نصف الحجم النهائي (100 ÷ 2 مل) من الماء المقطر منزوع الأيونات Distilled deionized water (DDW) باستخدام المخبر المدرج.
- يوزن 0,9 جم من الجلوكوز ويذاب في الحجم السابق تماماً باستخدام ساق زجاجية أو المقلب المغناطيسي magnetic stirrer.
- في دورق ذو سعة 100 مل يحضر المحلول Tris HCl ذو تركيز (1 M) بإذابة 1,2 جم من Tris HCl في 10 مل من الماء المقطر منزوع الأيونات Distilled deionized water (DDW).
- في دورق ذو سعة 100 مل يحضر المحلول EDTA ذو تركيز (0.5 M) بإذابة 0,19 جم من EDTA في 10 مل من الماء DDW.
- باستخدام المخبر المدرج (سعة 50 مل) يضاف 2,5 مل من محلول Tris HCl ذو تركيز (1 M) إلى 2 مل من المحلول EDTA ذو تركيز (0.5 M) ثم يكمل الحجم حتى 50 مل من الماء DDW وينقل الجميع الى الدورق ALS-I ليصبح الحجم النهائي 100 مل.



الواجب

أكملي حل الجدول بنفس الطريقة

Amal

Alghamdi