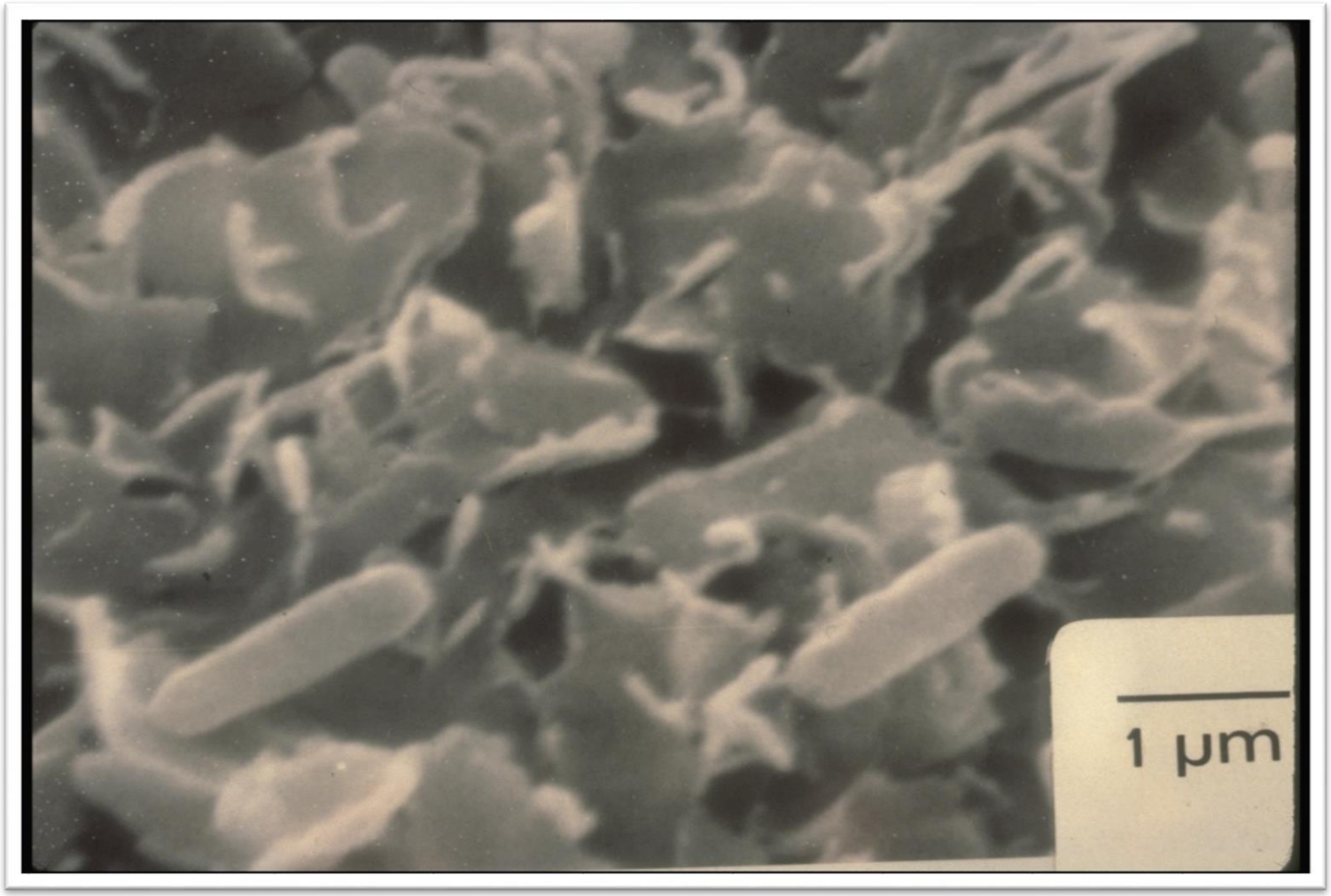
المعمل الثاني:
«طرق القياس في مختبر الأحياء الجزيئية»

«مقرر الأحياء الجزيئية»
251 حدق

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؟؟؟؟؟



بضعة ميكرونات

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 للجزئء الواحد من المركب.

يمكن حسابه باستخدام الجدول الدوري للعناصر الكيميائية.

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

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).

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 و4 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.

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

الجـــدول الـــدوري للعـنـاصـــر

	أ١												أ٢	أ٣	أ٤	أ٥	أ٦	أ٧	أ٨
١	1 H هيدروجين 1.008																		2 He هيليوم 4.003
٢	3 Li ليثيوم 6.941	4 Be بريليوم 9.012												5 B بورون 10.811	6 C كربون 12.011	7 N نيتروجين 14.007	8 O أكسجين 15.999	9 F فلور 18.998	10 Ne نيون 20.180
٣	11 Na صوديوم 22.990	12 Mg مجنيزيوم 24.305	٣ب	٤ب	٥ب	٦ب	٧ب	٨ب		١ب	٢ب		13 Al ألومنيوم 26.982	14 Si سيليكون 28.086	15 P فوسفور 30.974	16 S كبريت 32.066	17 Cl كلور 35.453	18 Ar أرجون 39.948	
٤	19 K بوتاسيوم 39.098	20 Ca كالسيوم 40.078	21 Sc سكانديوم 44.956	22 Ti تيتانيوم 47.88	23 V فاناديوم 50.942	24 Cr كروم 51.996	25 Mn منجنيز 54.938	26 Fe حديد 55.847	27 Co كوبالت 58.933	28 Ni نيكل 58.69	29 Cu نحاس 63.546	30 Zn خارصين 65.39	31 Ga جاليوم 69.723	32 Ge جرمانيوم 72.61	33 As زرنيخ 74.922	34 Se سيلينيوم 78.96	35 Br بروم 79.904	36 Kr كريبتون 83.80	
٥	37 Rb روبيديوم 85.468	38 Sr سترونشيوم 87.62	39 Y يتريوم 88.906	40 Zr زركونيوم 91.224	41 Nb نيوبيوم 92.906	42 Mo موليبدنوم 96.94	43 Tc تكنيتيوم (98)	44 Ru روثينيوم 101.07	45 Rh روديوم 102.906	46 Pd بلاديوم 106.42	47 Ag فضة 107.868	48 Cd كادميوم 112.411	49 In إنديوم 114.818	50 Sn تصدير 118.710	51 Sb انيمون 121.75	52 Te تيلوريوم 127.60	53 I يود 126.904	54 Xe زينون 131.29	
٦	55 Cs سيزيوم 132.905	56 Ba باريوم 137.327	57 La لانثانوم 138.906	72 Hf هفنيوم 178.49	73 Ta تانتالم 183.85	74 W تنجستن 183.85	75 Re رينيوم 186.207	76 Os أوزميوم 190.23	77 Ir إريديوم 192.22	78 Pt بلاتين 195.08	79 Au ذهب 196.967	80 Hg زئبق 200.59	81 Tl ثاليوم 204.383	82 Pb رصاص 207.2	83 Bi بزموث 208.980	84 Po بولونيوم (209)	85 At استاتين (210)	86 Rn رادون (222)	
٧	87 Fr فرانسيوم (223)	88 Ra راديوم 226.025	89 Ac اكتينيوم 227.028	104 Rf رذرفورديوم (261)	105 Ha هاهنيوم (262)	106 Sg سيبورجيوم (263)	107 Ns نيلسبوهريوم (262)	108 Hs هاسيوم (265)	109 Mt مينريوم (266)	110 Uun يونينيليوم (269)	111 Uuu يونينيوم (272)	112 Uub يونيبيوم (272)							

58 Ce سيريوم 140.115	59 Pr براسيوديميوم 140.908	60 Nd نيوديميوم 144.24	61 Pm بروميثيوم (145)	62 Sm ساماريوم 150.36	63 Eu يوروبيوم 151.965	64 Gd جادولينيوم 157.25	65 Tb تربيوم 158.925	66 Dy دسبروزيوم 162.50	67 Ho هولميوم 164.930	68 Er إربيوم 167.934	69 Tm ثوليوم 168.934	70 Yb يتربيوم 173.04	71 Lu لوتيتيوم 174.967
90 Th ثوريوم 232.038	91 Pa بروتكتينيوم 231.036	92 U يورانيوم 238.029	93 Np نبتونيوم 237.048	94 Pu بلوتونيوم (244)	95 Am امريكيوم (243)	96 Cm كوريوم (247)	97 Bk بركليوم (247)	98 Cf كالفورنيوم (251)	99 Es أينشتانيوم (252)	100 Fm فرميوم (257)	101 Md مندليفيوم (258)	102 No نوبليوم (259)	103 Lw لورنسيوم (260)

كم جراماً في المول؟

تختلف القيمه لكل مركب.

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

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

إذن : الوزن بالجرام = عدد المولات × الوزن الجزيئي

مثال 2: الصيغة البنائية او الكيميائية Formula weight لكلوريد البوتاسيوم هي KCl

الوزن الجزيئي لـ KCl = 39. 1 + 35. 45 = 74.55 (amu)

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):**

- عللي:

يستخدم الماء المقطر Distilled waterعادة 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.

الوحدة= مولار (M) = مول / لتر

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

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.

أمثلة على المولارية:

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

Molarity= 0.75 mol / 2.5=0.3 M

2- ماهي المولاريه لـ 40جم من هيدروكسيد الصوديوم NaOH المذابه في 2لتر من المذيب؟

المعلوم: الوزن بالجرام و حجم المحلول النهائي

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

الوزن الجزيئي للماده = 40جم /مول

إذن المول (mol)= عدد الجرامات / الوزن الجزيئي = 40جم / 40جم/مول = 1مول

2- نقسم عدد المولات / عدد اللترات.

المولارية = ½ مول / لتر = 0.5 مولار.

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 1مول 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 (النظامية) Normality (N):

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

النورمالية 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 النورمالية (المعياريه) 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.

أمثلة الجرام المكافيء (e.q)أو n:

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

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 × n
المولارية = المعيارية/ n= ½ مول /لتر

الوزن بالجرام = المول × الوزن الجزيئي = ½ × 74.09 = 37.05 جم / لتر.

هكذا يضاف ½ مول الى لتر المذيب للحصول على 1 عياري من هيدروكسيد الكالسيوم $Ca(OH)_2$

5- 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،...
- 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 400مل من ماء مزدوج التقطير Double Distilled Water(DDW). يعطي محلول 1X.

ماهو محلول 10X solution؟

هو محلول مخزن بتركيز 10مرات 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 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:

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

V1= [V2 X 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(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))

توحيد وحدات الحجم والوزن والتركيز في المحاليل

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

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.

«أسئـــلة»

- ماهو الميكرولتر Microliter؟

يرمز له (ul) ويماثل 1/1000000 لتر أو 1/1000 مل.

لديك 200 ul من محلول عينة الحمض النووي DNA ومحلول 3 مولار من محلول أسيتات الصوديوم NaOAc وترغبين في تحضير محلول من الحمض النووي DNA إلى 0.3 مولار من NaOAc لكن بإضافة العينة إلى الأخير سيتأثر الحجم الكلي للمحلول.

X هو كمية محلول أسيتات الصوديوم اللازم إضافتها= d[V1 + X]

d= عامل التخفيف (مثلا التحويل من 3مولار إلى 0.3 مولار فالتخفيف هو 1/10).

V= الحجم الابتدائي للمحلول.

X= كمية المحلول المركز التي سيتم إضافتها.

«أســئلـــة»

- نسبة المحلول Percent solution:

قد يتكون المحلول من نسبة (وزن/وزن) أو نسبة (وزن/حجم).

المحلول النسبي إما أن يتكون من «x» عدد الجرامات من المركب في 100 جرام من المذاب solute؛ أو «x»عدد جرامات المركب في 100 مل من المذاب، على التوالي.

Specific Gravity = wt/vol

«أســـئلة الواجب»

أجيبي عن السؤال التالي:

- **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 ؟؟**

«اسئلة الواجب»

- احسبي كمية Tris [Tris(Hydroxymethyl)Aminomethane]المطلوبة لتحضير 500مل من 1مولار من المحلول المخزن. علماً بأن الوزن الجزيئي= 121.14 (amu).
- احسبي كمية EDTA (Ethylene-diamine tetra-acetic acid) المطلوبة لتحضير 500مل 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 10جم ثم ترشح وتعقم بالأوتوكلاف.

«أمثلـــه»

- احسبي كمية β-mercaptophenol المطلوبة في 15مل من محلول الاستخلاص للحصول على تركيز 10mM .

تتوفر هذا الماده في صورة صلبة بتركيز 98% (وزن/وزن).

FW= 78.13.

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