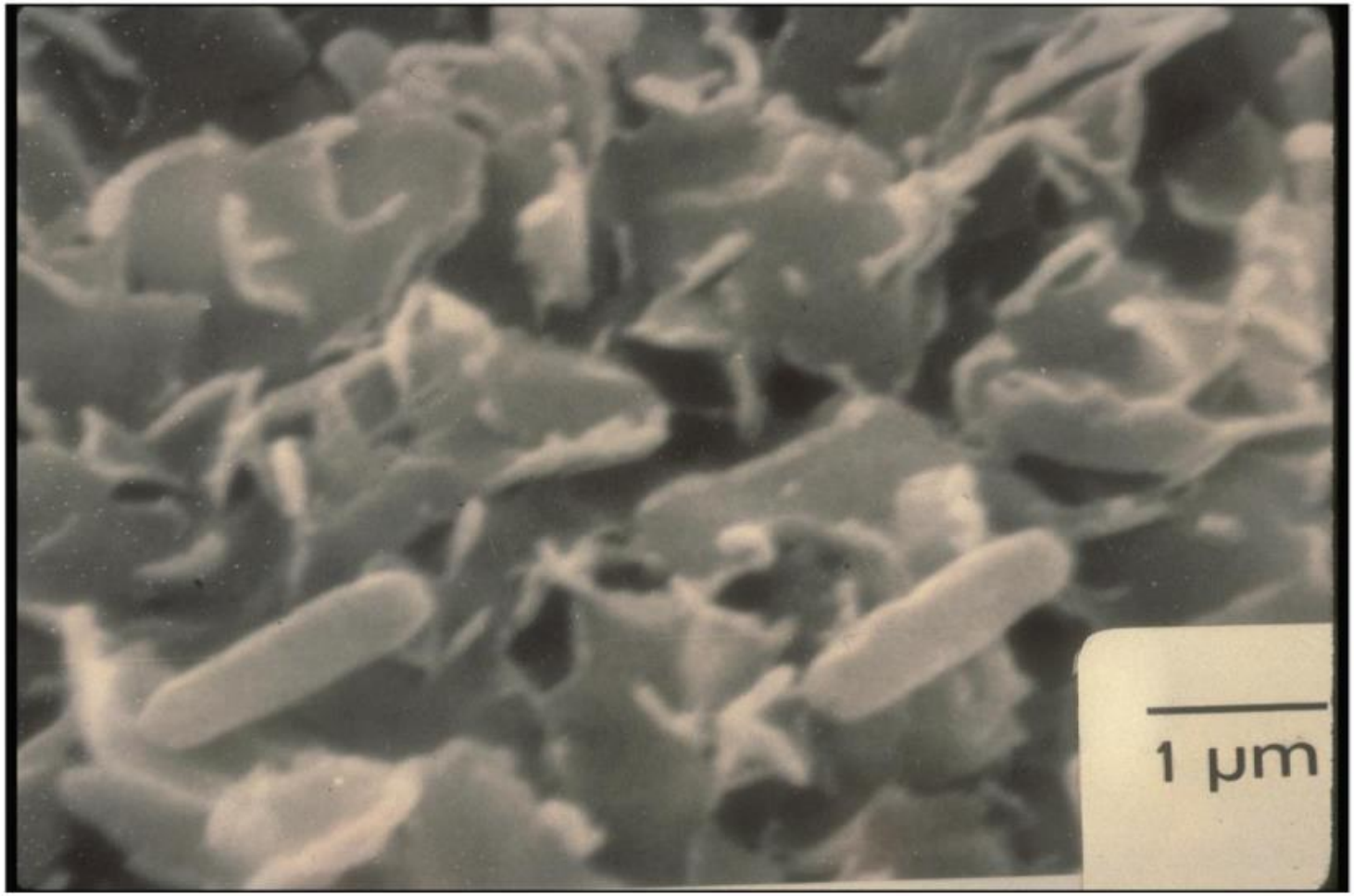
المعمل الثاني:
» طرق القياس في مختبر الأحياء الجزيئية «

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؟؟؟؟؟؟



ثانياً: المصطلحات الهامة في البيولوجيا الجزيئية:

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

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

يمكن حسابه باستخدام الجدول الدوري للعناصر الكيميائية.

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

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.

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

Periodic Table of the Elements 2006

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1 H 1.01																	2 He 4.00
3 Li 6.94	4 Be 9.01											5 B 10.81	6 C 12.01	7 N 14.01	8 O 15.99	9 F 19.00	10 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.

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

إذن : الوزن بالجرام = عدد المولات × الوزن الجزيئي

مثال ٢: الصيغة البنائية او الكيميائية Formula weight لكلوريد البوتاسيوم هي KCl

الوزن الجزيئي لـ KCl = 35. 45 + 39. 1 = 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:

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

- عللي:

يستخدم الماء المقطر Distilled water عادة في تحضير المحاليل؟

يجب استخدام المحاليل المنظمة Buffers في جميع اختبارات الأحياء الجزيئية؟

٢- المولارية Molarity (M) :

المولارية هي عدد مولات المذاب في لتر من المحلول.

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

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

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

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 0.75مول من المذاب في 2.5لتر من المذيب؟

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

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

المعلوم: الوزن بالجرام و حجم المحلول النهائي

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

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

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

٢- نقسم عدد المولات / عدد اللترات.

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

٣- المولالية Molality (m):

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 .
للربط بين كمية المذاب إلى الحجم الكلي للمحلول.

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 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: ٣ مولار من H_2SO4 هو نفسه محلول 6معياري من الحمض نفسه.
مثال: محلول ١ مولار من $Ca(OH)_2$ هو نفسه ٢ 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 ١ عياري من هيدروكسيد الكالسيوم $Ca(OH)_2$.

المعلوم: الوزن الجزيئي = 74.09 وقيمة العيارية = ١ عياري

بالتعويض في : المعيارية = المولارية × n

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

الوزن بالجرام = المول × الوزن الجزيئي = $\frac{1}{2}$ × 74.09 = 37.05 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= ١،٢،٣،...
- 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

حيث:

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

V1 (ح ١): حجم المحلول الأساسي بالملل

C2 (ت٢): 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:

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

$$\text{ح١} = \frac{\text{ت2} \times \text{ح2}}{\text{ت1}}$$

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× ١٠٠٠)= V1(المجهول)*C2(المطلوب 3جم× ١٠٠٠/لتر× ١٠٠٠))

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

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 .