



# الجزئي الحياة علم عملي الخامسة المحاضرة الرابعة المرحلة

رجب هيثم .د العملي المادة مدرس  
م.د عزيز حسن صالح

## الترحيل الكهربائي بالهلام Gel Electrophoresis

هي تقانة تستخدم لفصل الجزيئات المشحونة (ذات الشحنة الكهربائية) مثل (proteins و RNA و DNA) الأكاروز هلام) معين وسط خلال تسليط عند (Polyacrylamide الأكريلاميد متعدد هلام أو Agarose كهربائي تيار.

إن الجزيئة ذات الشحنة السالبة تهاجر وتتجذب إلى القطب الموجب،  
والجزيئات ذات الشحنة ال موجبة سوف تهاجر وتتجذب نحو القطب  
السالب. يتم الترحيل في هلام يتكون من **ثقوب مجهرية دقيقة** ويقوم  
هذا الهلام بإعاقة **حركة الجزيئات المختلفة** من خلال التأثير المنخلي  
لثقوبه الدقيقة حيث إن الجزيئات الصغيرة تهاجر بشكل أسرع خلال  
الاهلام من الجزيئات الأكبر والتي تواجه مقاومة احتكاكية أثناء حركتها  
في شبكة الهلام الدقيقة.

لذا تستخدم تقنية الترحيل الكهربائي بشكل واسع في علم الخلية  
cytology وفي الوراثة الجزيئية molecular genetics لفصل  
الجزيئات الكبيرة. يمكن معرفة حجم هذه الجزيئات المفصولة على  
الهلام من خلال مقارنتها بواسمات جزيئية قياسية standard  
molecular markers والتي ترحل بموازاة العينة الغير معروفة  
خلال الترحيل الكهربائي في الهلام.

تحمل جزيئات الـ DNA والـ RNA شحنة سالبة بسبب عمودها  
الفقري المحتوي على الفوسفات. أما البروتينات فإنها تحمل شحنات  
مختلفة على سطحها باختلاف شحنات الأحماض الأمينية الموجودة  
فيها.

## الهلام في الجزيئات بحركة تتحكم التي العوامل

1.(موجبة أو سالبة كانت لو إذا فيما) الشحنة

2.الهلام خلال تتحرك الصغيرة فالجزيئات) الجزيئي وزنها أو حجمها

(الكبيرة الجزيئات من أسرع بصورة

3حجم الثقوب ملائما ذلك كان كلما صغيرا الثقوب حجم كان كلما

(بالعكس والعكس الصغيرة الجزيئات لفصل

السريع للفصل العالي الكهربائي التيار يستخدم) الكهربائي التيار قوة 4.

**تحطم** إلى يؤدي هذا لأن جدا عالي يكون لا أن على الصغيرة للجزيئات

لفصل عادة يستخدم الواطيء التيار أما .إليه تعرضها عند **الجزيئات**

التيار كان كلما لأنه جدا واطيء التيار يكون لا أن على الكبيرة الجزيئات

**نسبة ازدادات** الترحيل وقت ازداد وكلما كبيرا الترحيل وقت كان واطئا

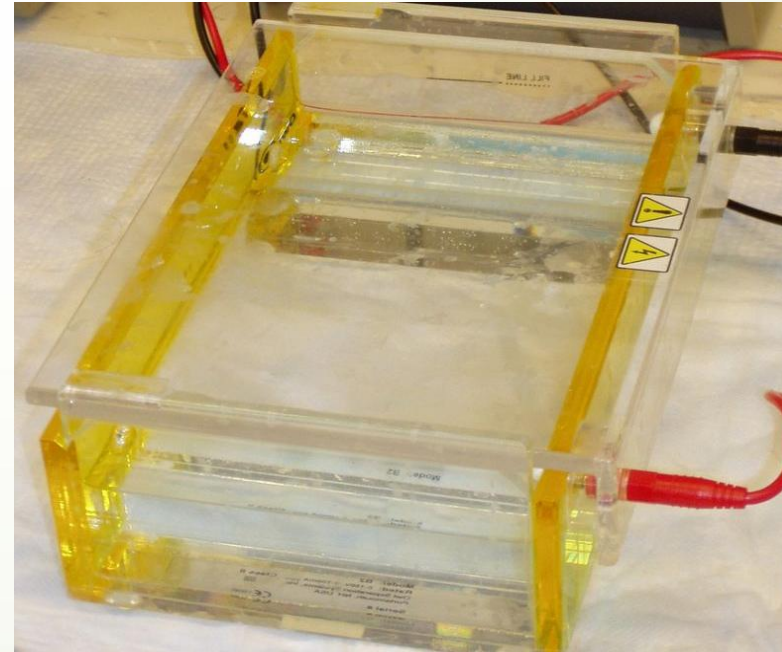
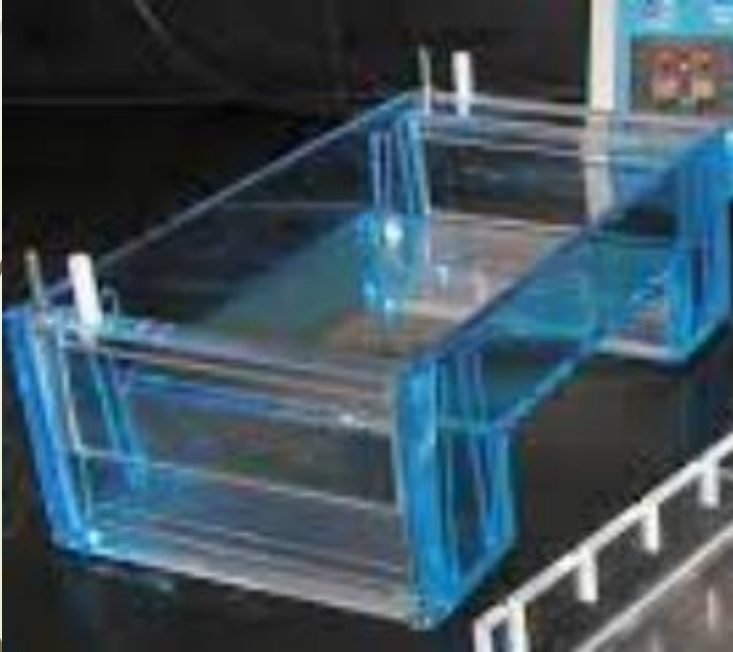
**band diffusion الانتشار حالة إلى المرحلة الجزيئات حزم تعرض**

(الهلام في الترحيل عملية أثناء مرغوب غير هو والذي

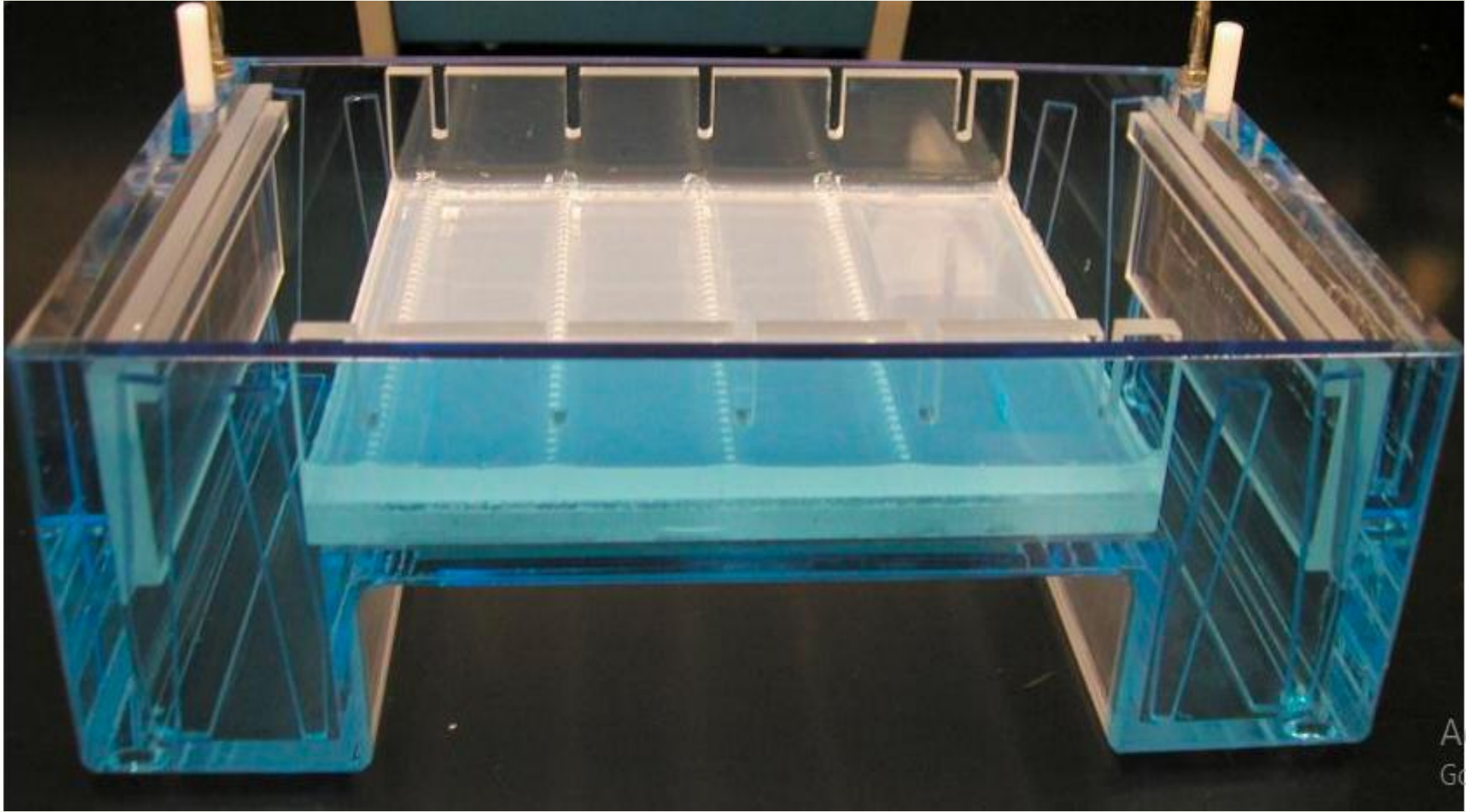
## الأكاروز هلام وترحيل تحضير

الأكاروز؟ هلام في الكهربائي الترحيل لغرض توفرها الواجب الأدوات ماهي

### 1. electrophoresis chamber كهربائي ترحيل حوض

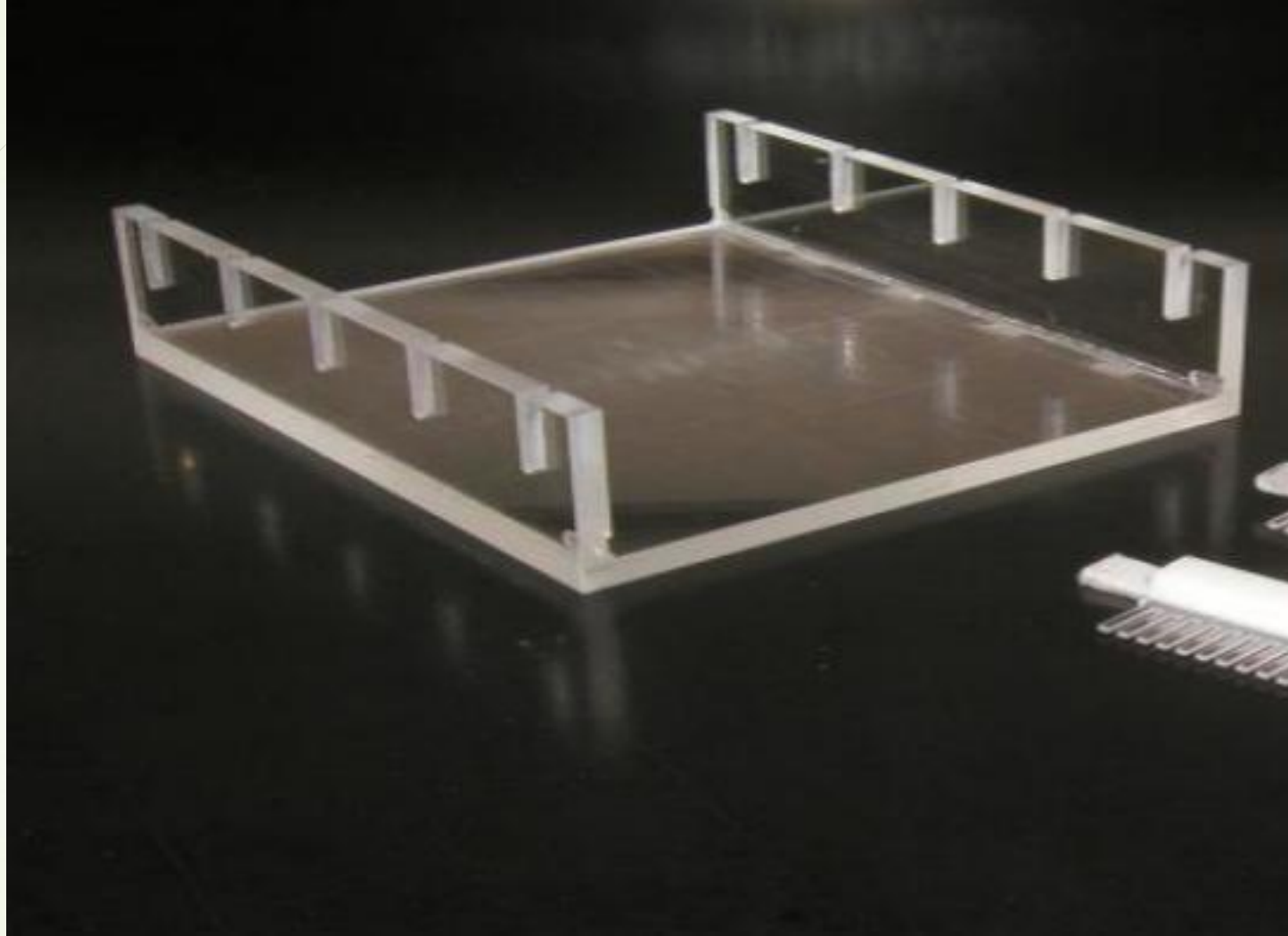






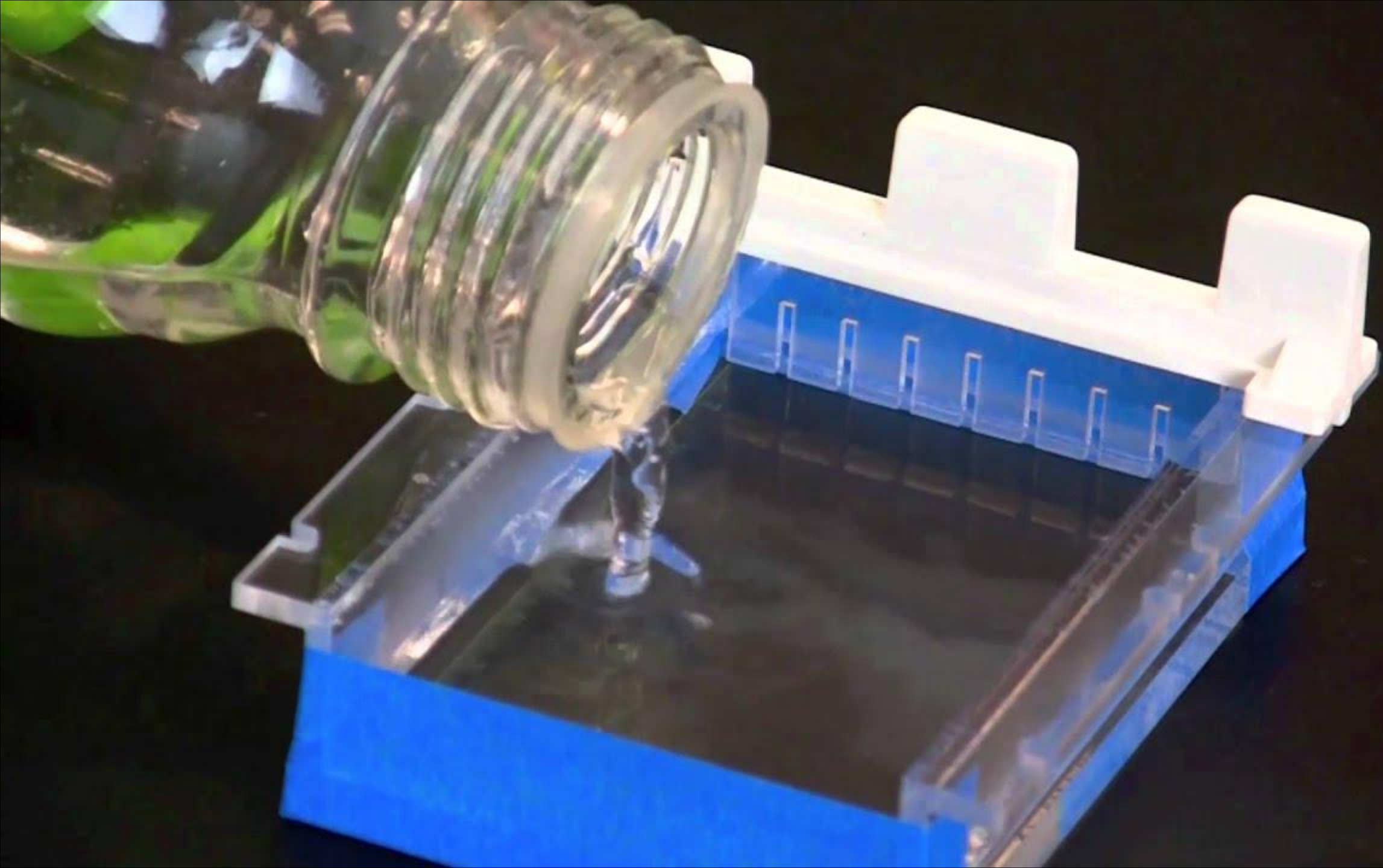
كهربائي ترحيل حوض

**متعددة باحجام** يتوفر والذي gel casting tray الهلام صب وعاء 2.  
النهايات تغلق UV. البنفسجية فوق للأشعة نفاذ بلاستيك من ويتألف  
قبل (النموذجية الماسكات توفر عدم عند) tape شفاف بشريط الحرة  
الكهربائي الترحيل بعملية القيام قبل الشريط يزال ثم الهلام صب



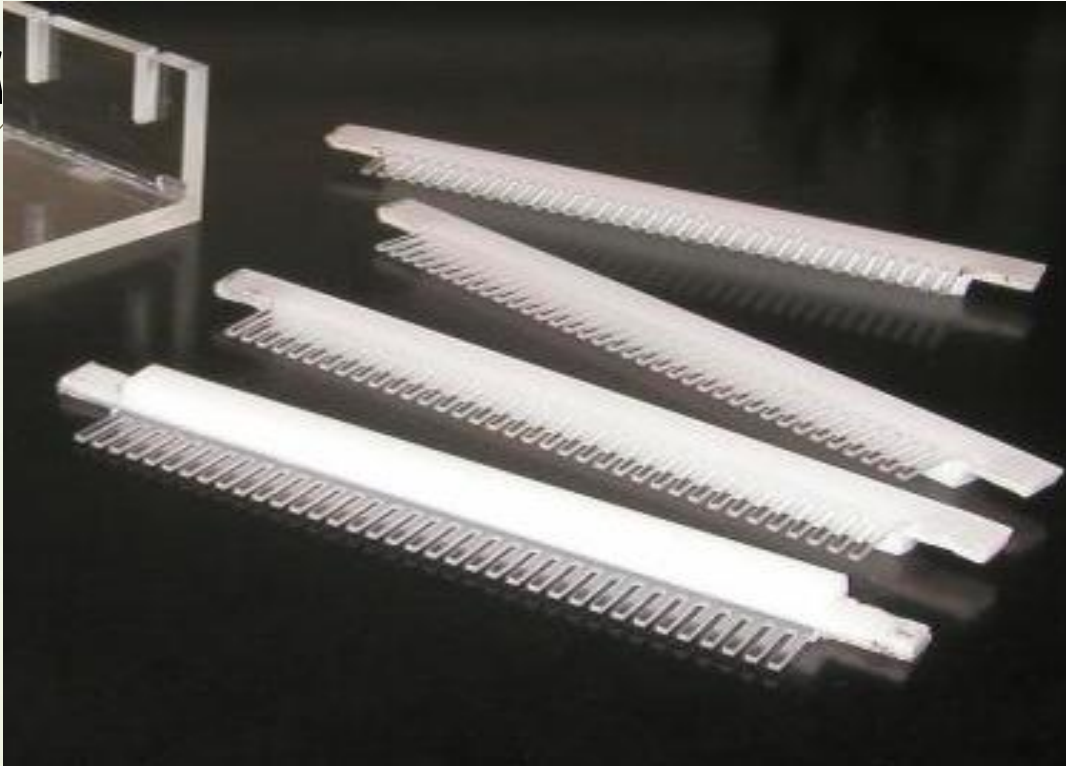
الهلام صب وعاء



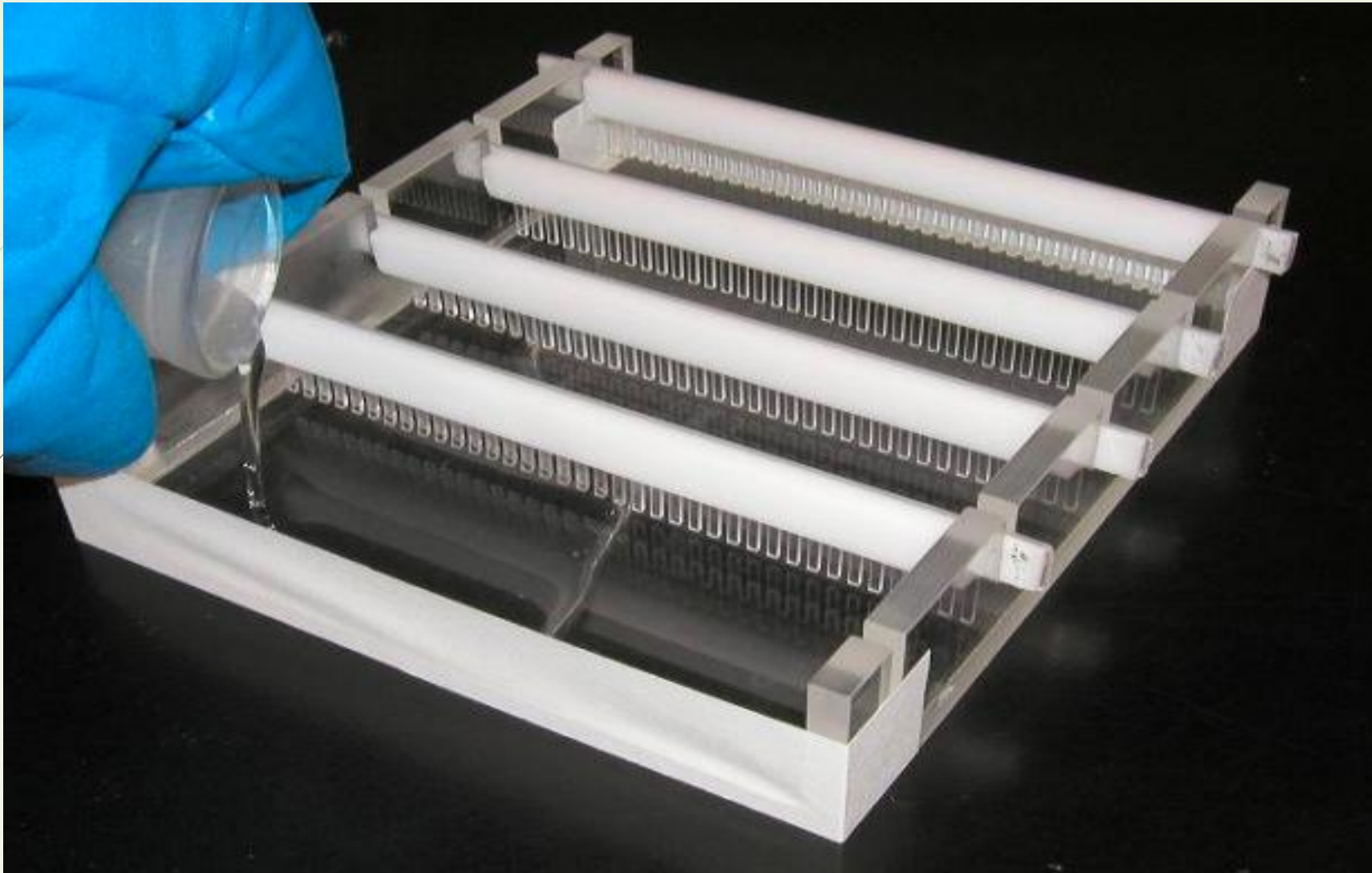


رفعه عند والذي حوله الأكاروز هلام يتصلب والتي comb المشط 3.  
الـ DNA عينات بها توضع التي الأماكن أي بالحفر يعرف ما يتكون

المراد



comb





الذي وهو Electrophoresis buffer الكهربائي الترحيل محلول 4.

لوحة السالب والقطب الموجب القطب بين الكهربائي التيار بنقل يقوم

اكتملت ولما التيار انتقل لما المحلول وجود ولولا الكهربائي الترحيل

الأحماض ترحيل في يستخدم الذي المحلول يكون. الكهربائية الدائر

المكونات من يتألف أن فأما بنوعين عادة النووية **Tris-**

المكونات من يتألف أن أو TAE= محلول ويدعى **Acetate-EDTA**

TBE. محلول ويدعى **Tris-Borate-EDTA**

أساسي مكون من تتألف والذي Loading buffer التحميل صبغة 5. المراد بالحفرة "تسقط" بأن للعينة يسمح لكي (glycerol كليسروول) كثيف العالية النوعية الكثافة وبسبب (DNA ال- ترحيل حالة ففي). منها ترحيلها الموقع يحتل فانه DNA ال- محلول أما العلوي الموقع يحتل فانه للكليسروول وفي الهلام في DNA ال- جزيئات تثبيت على بدوره يعمل وهذا السفلي يؤدي قد هذا فان أخرى كثيفة مادة أية أو الكليسروول وجود عدم حالة الهلام في DNA ال- تثبيت عدم إلى بدوره



أو صبغة من كذلك الترحيل صبغة وتتألف الانتشار حالة فيه تحدث وبالتالي  
العينة مع الهلام في تهاجر والتي tracking dyes للتعقب صبغتين  
ترحيلها أثناء العينات قطعها التي لمسافة العينية بالمراقبة وتسمح  
قبل من المقطوعة المسافة مقدار تعرف انها كما .الهلام في ً كهربائيا  
الترحيل من الانتهاء توقيت معرفة لنا يسهل بدوره وهذا المرحلة الجزيئات

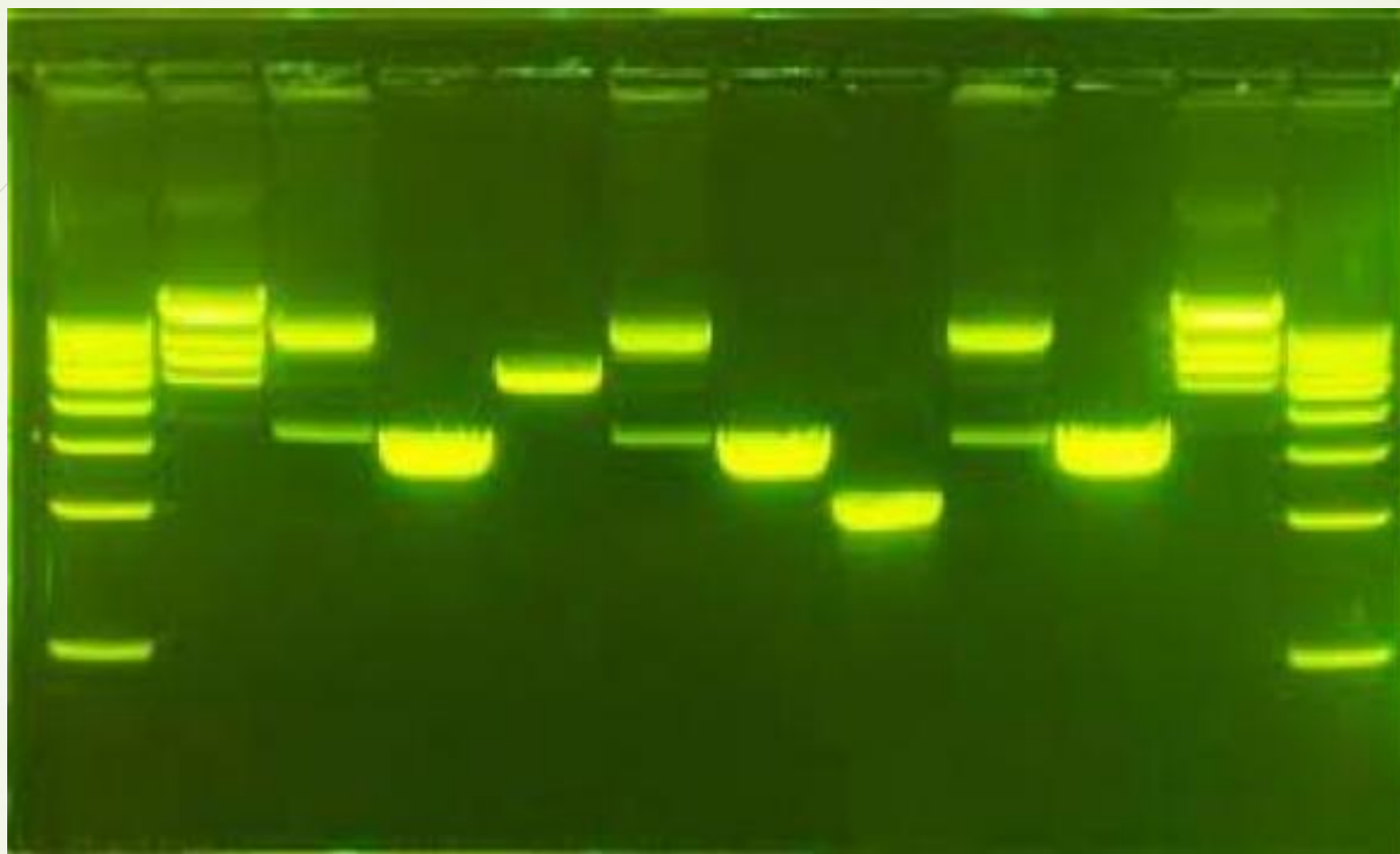


loading buffer

مواقع معرفة يتم Ethidium bromide: الاثيديوم بروميد صبغة 6.  
مسطحة جزيئة عن عبارة هي والتي التصبيغ خلال من DNA ال جزيئات  
التداخل بواسطة الشريط ثنائي DNA بال ترتبط بين أزواجه القاعدية.  
عندما تدخل الصبغة إلى منطقة DNA الداخلية الكارهة للماء والتي  
القاعدية بالازواج تتمثل.

يستخدم ذلك من بدلا ولكن المجردة بالعين الصبغة رؤية يمكن ولا هذا  
300 الموجي الطول فيه يستعمل والذي UV transilluminator ال- جهاز  
البرتقالية - الحمراء المنطقة في الضوء يشع أو يبعث والذي 360 nm -  
الضوئي اللطيف.

أن ويجب معروفة مطفرة مادة هي الاثيديوم بروميد صبغة إن: ملاحظة  
هذه مع التعامل عند القفزات لبس يجب لذا - خطرة كيميائية كمادة تعامل  
المادة.



**Agarose مسحوق 7:-** هو عبارة عن سكريات متعددة قابلة للتصلب مثل النشا يستخدم في الأوساط ويتم الحصول عليه من أنواع خاصة من الطحالب وهناك عدة أنواع منه ويستخدم بتراكيز معينة في الزراعة النسيجية.



## الأكاروز مسحوق لوزن يستخدم :حساس الكتروني ميزان 8.



## 9. والصبغات DNA الـ عينات لتحميل ماصة : مايكروباييت





## بالتسخين الاكاروز لاذابة يستخدم :مايكرويف 10.



ضوء بصندوق ّ أيضا يعرف والذي Transluminator الـ جهاز 11.  
جزيئات لرؤية الجهاز هذا يستخدم UV lightbox البنفسجية فوق الأشعة  
الهلام في الاثديوم بروميد بصبغة المصبوغة DNA الـ

**DNA الـ جزيئات مشاهدة عند العين واقيات استعمال يجب :ملاحظة**  
**البنفسجية فوق الأشعة من العينين لحماية وذلك الجهاز بهذا**



