

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 (الأكاروز هلام) معين ووسط خلال تسلیط عند Agarose والأكريلامايد متعدد هلام أو Polyacrylamide) كهربائي تيار.

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

لذا تستخدم تقنية الترحيل الكهربائي بشكل واسع في **علم الخلية**

وفي **الوراثة الجزيئية** molecular genetics لفصل cytology

الجزيئات الكبيرة. يمكن معرفة حجم هذه الجزيئات المقصولة على

الهلام من خلال مقارنتها بواسمات جزيئية قياسية standard

والتي ترحل بموازاة العينة الغير معروفة molecular markers

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 تحكم التي العوامل

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

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

(الكبيرة الجزيئات من أسرع بصورة

3 جم الثقوب ملائماً ذلك كان كلما صغيراً الثقوب حجم كان كلما

(بالعكس والعكس الصغيرة الجزيئات لفصل

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

تحطم إلى يؤدى هذا لأن جدا عالى يكون لا أن على الصغيرة لجزئيات

لفصل عادة يستخدم الواطىء التيار أما إليه تعرضها عند **الجزئيات**

التيار كان كلما لأنه جدا واطىء التيار يكون لا أن على الكبيرة لجزئيات

نسبة ازدادت الترحيل وقت ازداد وكلما كبيرا الترحيل وقت كان واطئا

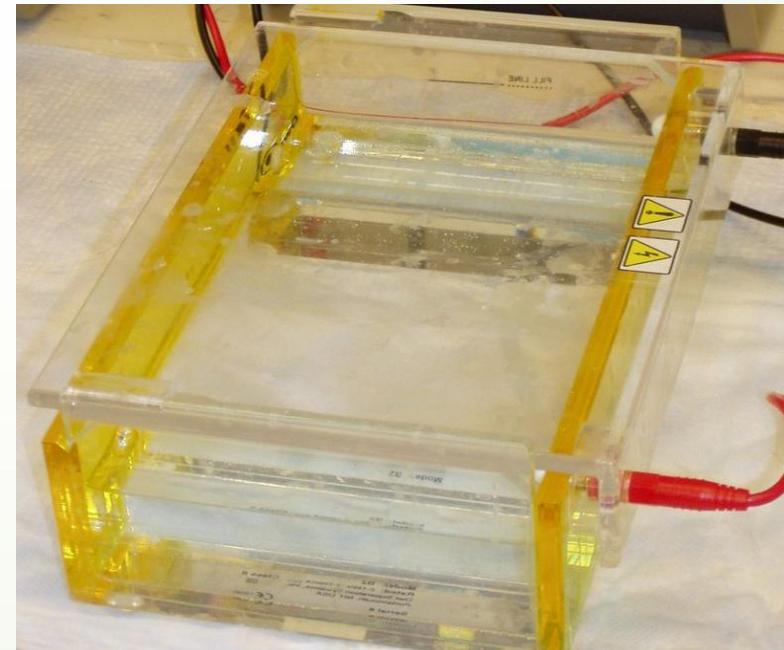
الانتشار حالة إلى المرحلة **الجزئيات** حزم تعرض **band diffusion**

(الهلام في الترحيل عملية أثناء مرغوب غير هو والذي

الأكاروز هلام وترحيل تحضير

الأكاروز؟ هلام في الكهربائي الترحيل لغرض توفيرها الواجب الأدوات ماهي

1. كهربائي ترحيل حوض electrophoresis chamber

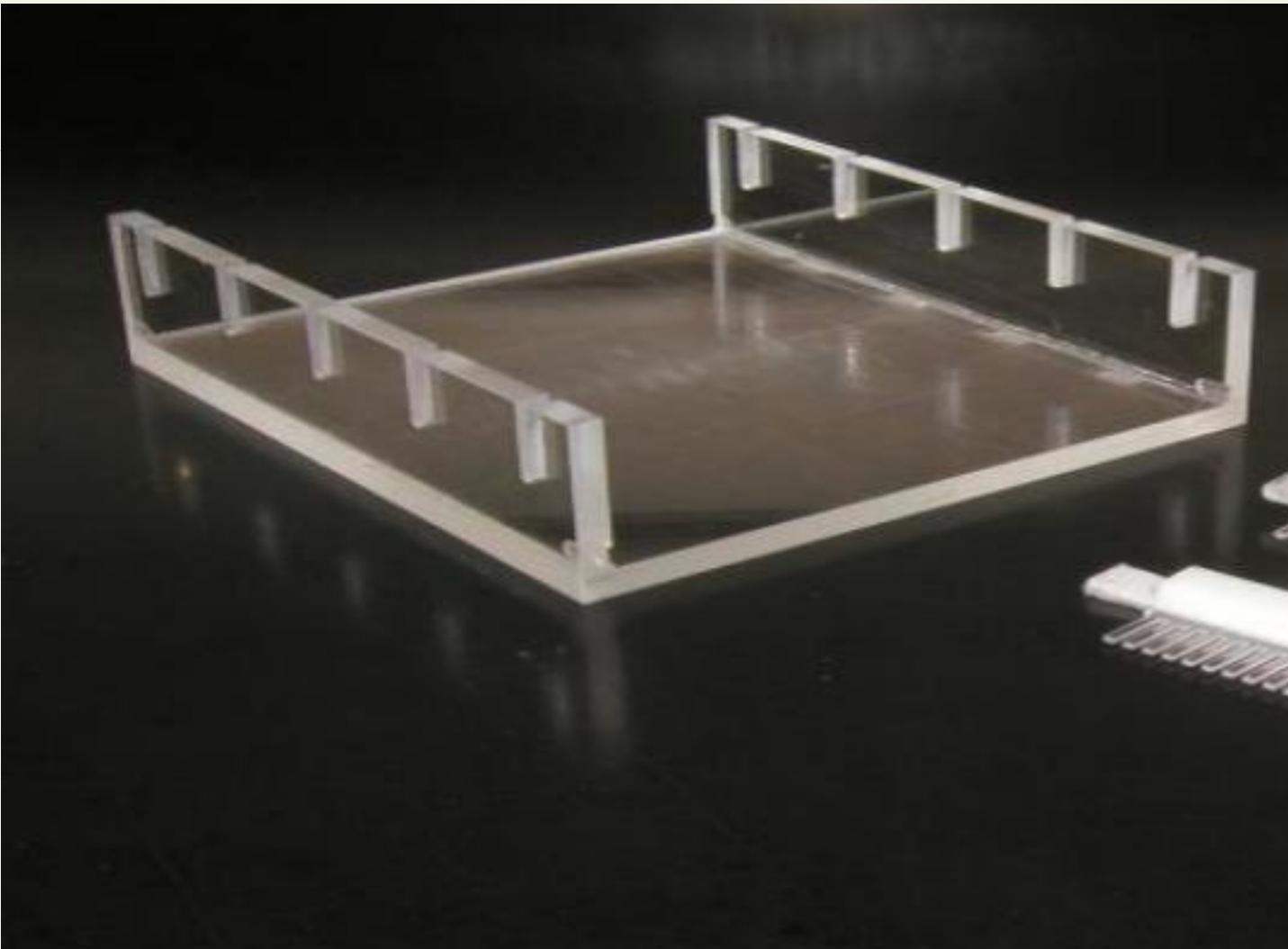




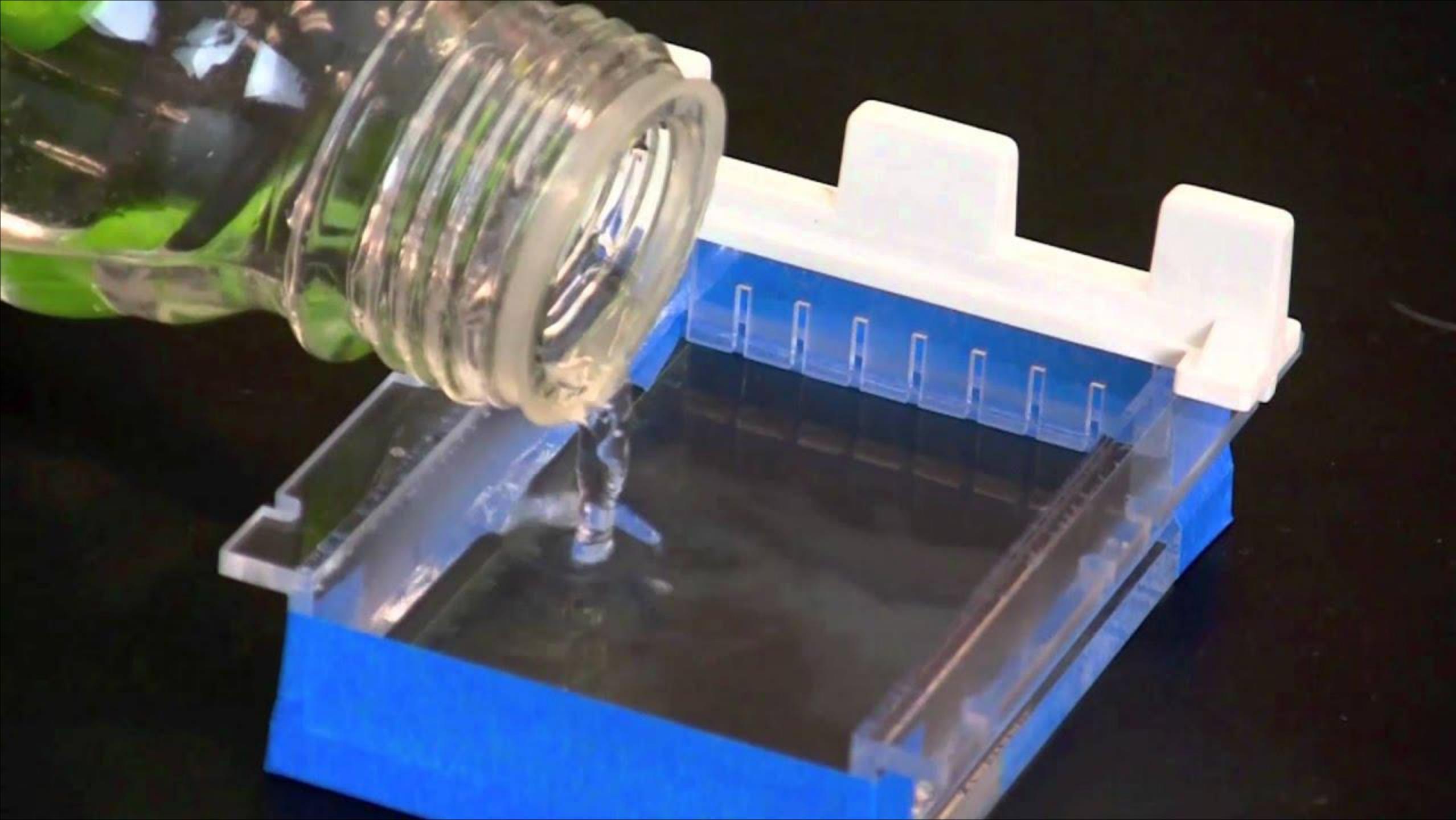
کهربائی ترحیل حوض

Act
Got

متعددة باحجام يتوفّر والذى gel casting tray الهلام صب وعاء 2. النهايات تغلق .UV البنفسجية فوق لأشعة نفاذ بلاستك من ويتألف قبل (النموذجية الماسكات توفّر عدم عند) tape شفاف بشرط حرارة الكهربائي الترحيل بعملية القيام قبل الشريط يزال ثم الهلام صب.



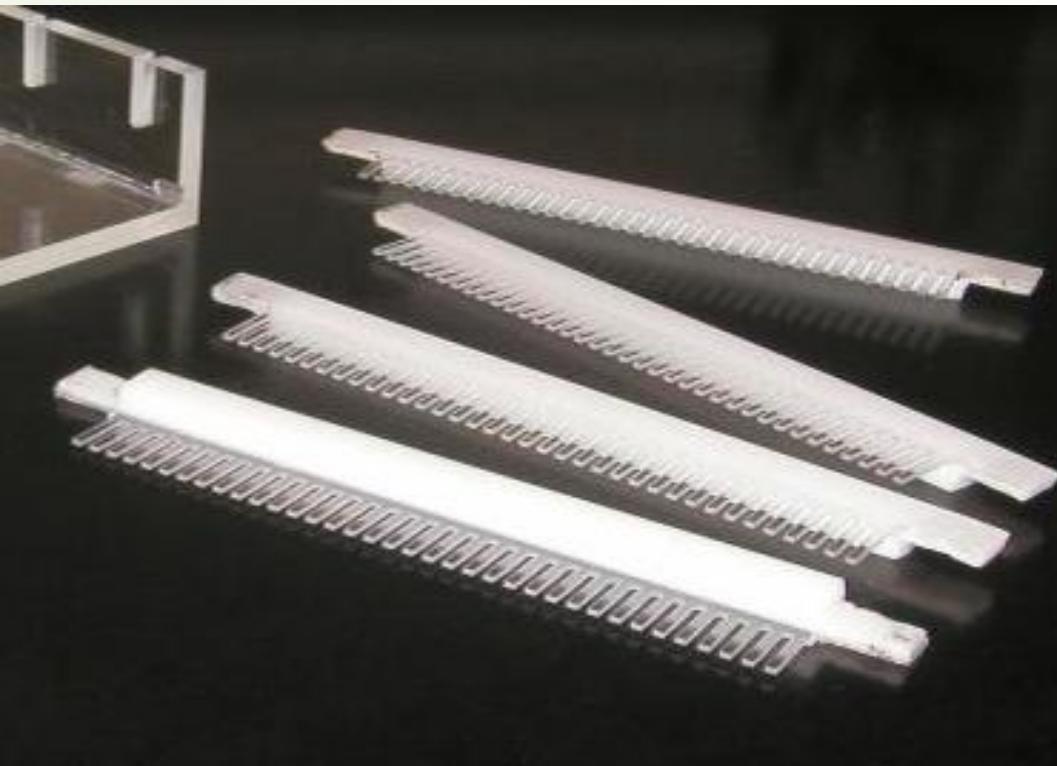
الهلام صب وعاء



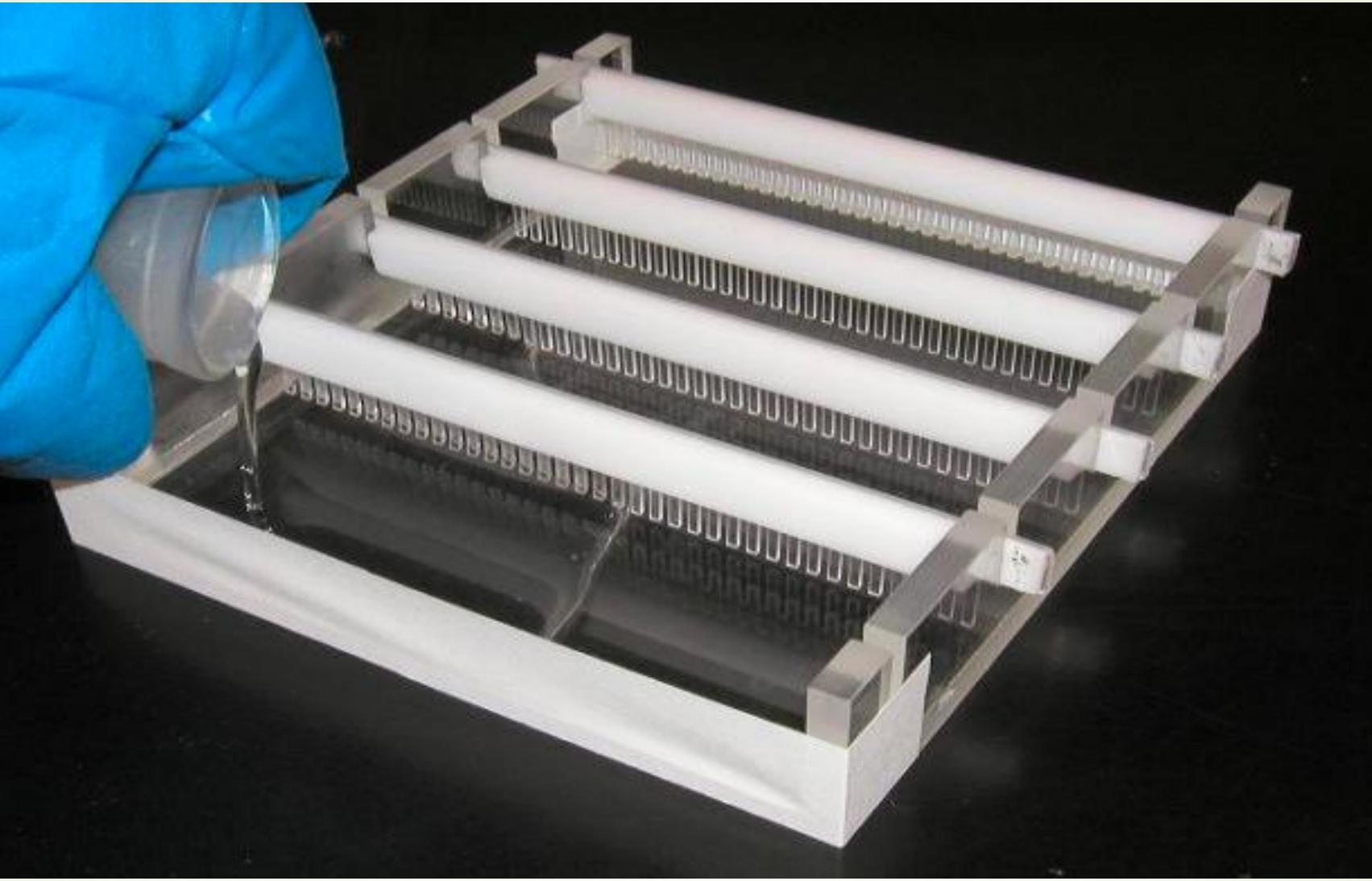
رفعه عند والذي حوله الأكاروز هلام يتصلب والتي **comb** المشط.

الـ عينات بها توضع التي الأماكن أي بالحفر يعرف ما يتكون

لمراد



comb



الذي وهو Electrophoresis buffer الكهربائي الترحيل محلول 4.

لوحدة السالب والقطب الموجب القطب بين الكهربائي التيار بنقل يقوم

اكتملت ولما التيار انتقل لما محلول وجود ولو لا الكهربائي الترحيل

الأحماض ترحيل في يستخدم الذي محلول يكون .الكهربائية الدائير

المكونات من يتالف أن فاما بنوعين عادة النووية

Tris-

المكونات من يتالف أن أو = TAE محلول ويدعى Acetate-EDTA

Tris-Borate-EDTA محلول ويدعى TBE.

أساسي مكون من تألفه والذى التحميل صبغة 5. Loading buffer

أو صبغة من كذلك الترحيل صبغة وتألف الانتشار حالة فيه تحدث وبالتالي

العينة مع الهلام في تهاجر والتي tracking dyes للتعقب صبغتين

ترحيلها أثناء العينات قطعتها التي لمسافة العينية بالمراقبة وتسمح

قبل من المقطوعة المسافة مقدار تعرف أنها كما .الهلام في كهربائيا

الترحيل من الانتهاء توقيت معرفة لنا يسهل بدوره وهذا المرحلة الجزيئات.

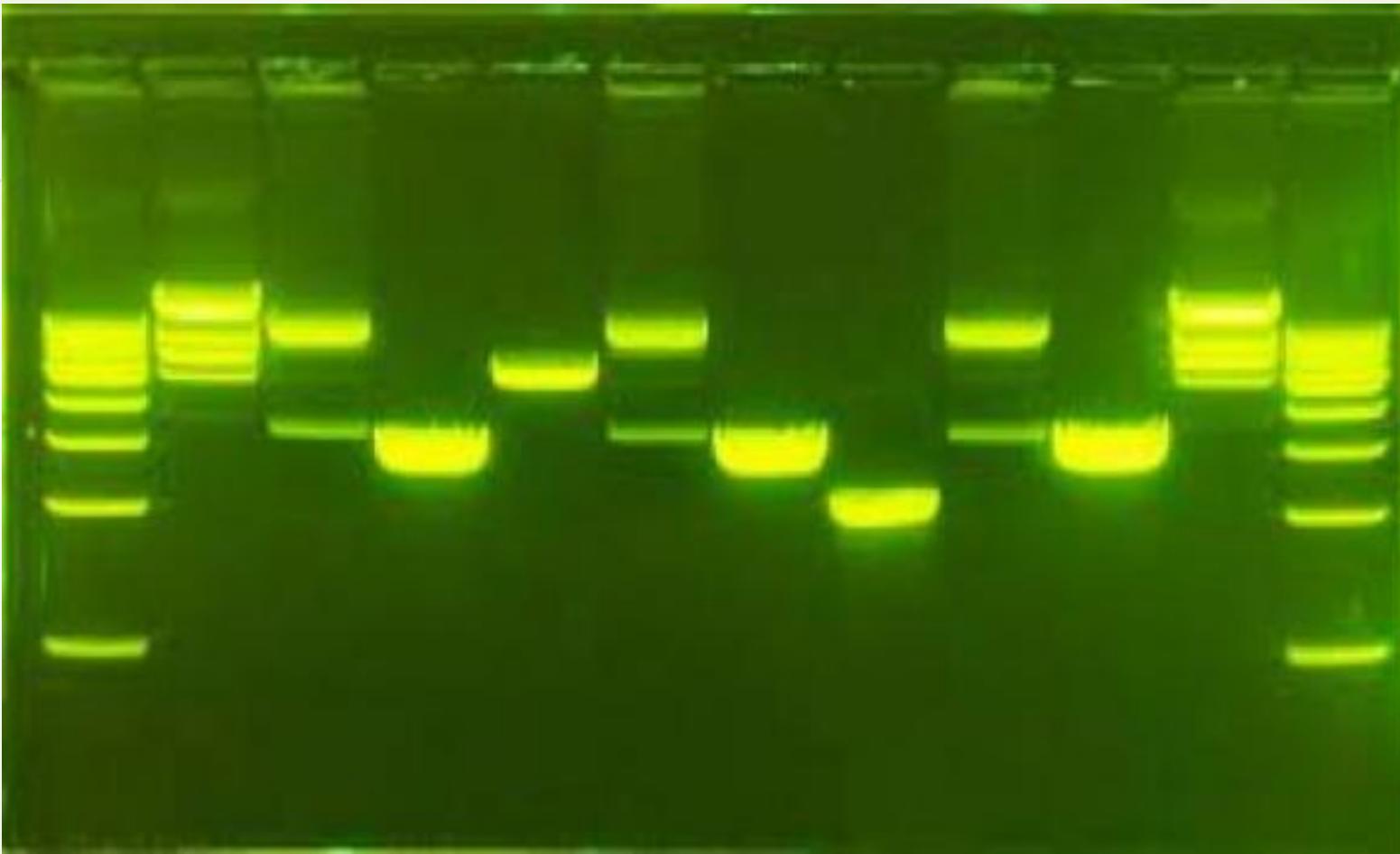


loading buffer

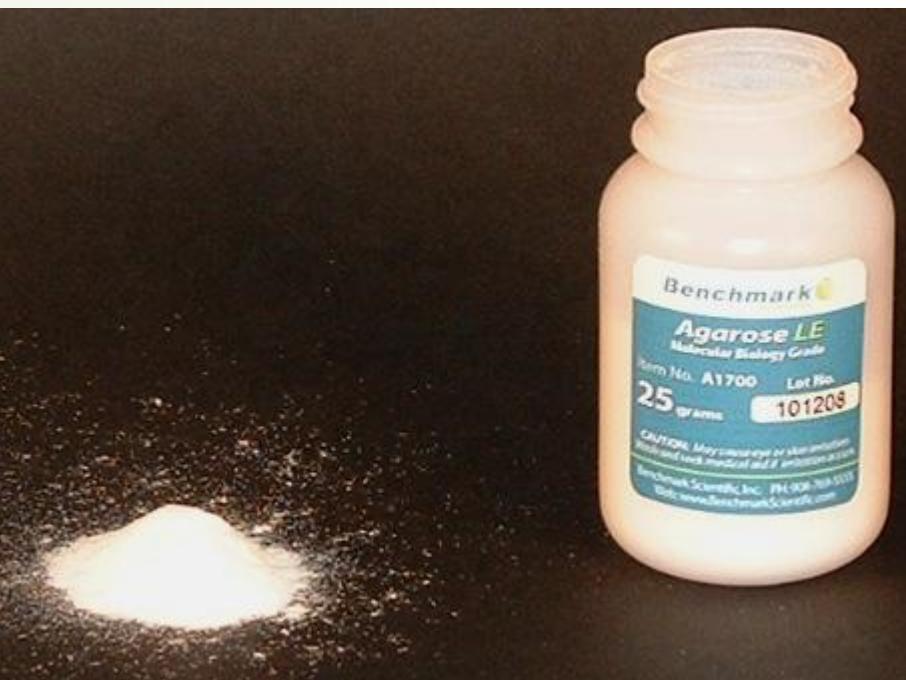
موقع معرفة يتم: 6. Ethidium bromide: الأثيديوم بروميد صبغة مسطحة جزئية عن عبارة هي والتي التصبغ خلال من DNA ال جزيئات التداخل بواسطة الشريط ثنائي DNA بال ترتيبين أزواج القاعدية. عندما تدخل الصبغة إلى منطقة DNA الداخلية الكارهة للماء والتي القاعدية بالازواج تتمثل.

يستخدم ذلك من بدلاً ولكن المجردة بالعين الصبغة رؤية يمكن ولا هذا 300 الموجي الطول فيه يستعمل والذي UV transluminator الـ جهاز البرتقالية - الحمراء المنطقـة في الضوء يشع أو يبعث والذي nm 360 - الضوئي للطيف.

أن و يجب معرفة مطفرة مادة هي الأثيديوم برومـيد صبغـة إن : ملاحظـة هذه مع التعـامل عند القـفازـات لـبس يـجب لـذا - خـطـرة كـيـمـيـاـيـة كـمـادـة تعـامل المـادـة.



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



الاكاروز مسحوق لوزن يستخدم : حساس الكتروني ميزان . 8.



والصبغات DNA الـ عينات لتحميل ماصة : مايكروبايبت 9.



بالتسخين الاكاروز لاذابة يستخدم مايكرويف 10.



ضوء بصندوق أَيضاً يُعرف والذِي **Transluminator** الْجهاز 11. جزيئات لرؤيَةِ الجهاز هذَا يُستخدم **UV lightbox** البنفسجية فوق الأشعة الْهلام في الْأثيديوم بروميد بصبغة المصبوغة **DNA** الْ

DNA الْجزيئات مشاهدة عند للعين واقيات استعمال يجب : ملاحظة البنفسجية فوق الأشعة من العينين لحماية وذلك الجهاز بهذا



