بعض اهم الاجهزة والتجهيزات المختبرية المستخدمة في مختبرات علم الحياة الجزيئي وطرق استخدامها والغرض من الاستخدام :

Dr. Duraid Hamada

Lecture 8

Practical Molecular Biology

11 January 2022

fppt.com

لاً : اجهزة الطرد المركزي Centrifuges

تكون بسرع مختلفة ابتداء من 1000 دورة في الدقيقة الى 50000 دورة في الدقيقة . اذ تستخدم الاجهزة الصغيرة Minifuge (Microfuge) في تجارب التحول الوراثي Transformation وفي تجارب استخلاص الـ DNA او الـ RNA ،اذ تصل قوة طرد هذه الاجهزة الى 12000 دورة في الدقيقة ، و انواع تصل سرعتها الى 50000 دورة في الدقيقة في تجارب تنقية الـDNA وهذه الاجهزة ينبغي ان تعمل تحت ظروف تبريد Under-coolingان مبدأ عمل اجهزة الطرد المركزي تختصر الوقت لفصل الجزئيات في الخليط، ويعتمد مبدأ هذه الأجهزة على الدوران السريع؛ فلو وُضع خليطُ ما في أنبوب اختبارٍ وُضع بدوره في جهاز طردٍ مركزيٍّ، ستبدأ الجزيئات الكبيرة للخليط بالابتعاد خارجًا بشكلٍ أسرع من الجزيئات الصغيرة التي تبقى قريبةً من المركز.

fppt.com

ثانياً :اجهزة تبريد

ينبغي توفر اجهزة تجميد Deep freezers الى جانب وجود الثلاجة العادية ، وتكون على نوعين :الاول يصل تبريده الى (- 20) مْ لحفظ انزيمات القطع Restriction enzymes والـ DNA لفترات قصيرة ، الثاني يصل الى (- 70) مْ لاستخدامه خلال عمليات ترسيب الاحماض النووية وحفظ العينات البكتيرية او الانزيمات .

fppt.com

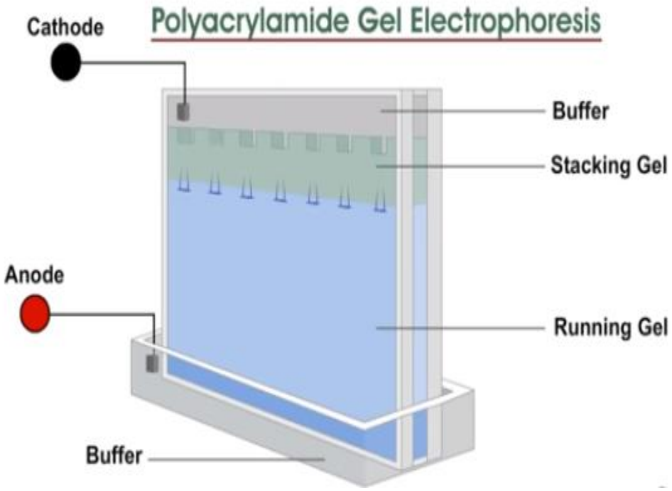
ثالثاً : اجهزة الترحيل الكهربائي Electrophoresis

توجد على نوعين: Agarose gel electrophoresis و Polyacrylamide gel electrophoresis

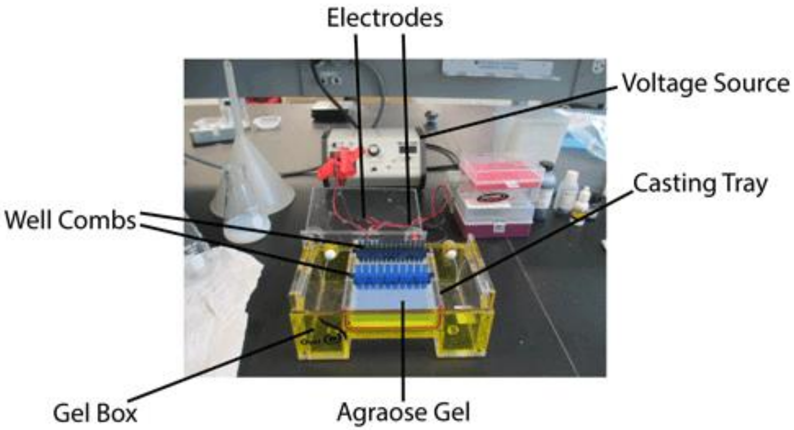
الاول يستخدم في فصل وتقدير حجم قطع الـDNA بعد تكسير جزيئات الـDNA بانزيمات القطع وكذلك في الحكم على درجة نقاوة الـDNA الذي تم عزله من الكائن الحي قيد الدراسة ، الثاني يستخدم في عملية تحديد تتابع Sequencing الـDNA وكذلك في الترحيل الكهربائي للبروتينات وللقُطع ذات الاحجام الصغيرة جدا من الـDNA.

fppt.com

اجهزة الترحيل الكهربائي



Polyacrylamide Gel Electrophoresis



Agarose Gel Electrophoresis

fppt.com

رابعاً :

انواع زجاجيات تشمل اطباق بتري وأنابيب اختبار وماصات مدرجة ودوارق و فلاسكات وكذلك Micropipettes سواء المدرجة او الثابتة الحجم تختلف احجامها من (1-200 مايكرولتر) وتوجد انواع لقياس احجام تصل الى 1000 مايكرولتر تدريجها من 100-1000 مايكرولتر ، و انواع من 10-100مايكرو والأخيرة تقيس احجام من 0.5 – 10 مايكرو (تستخدم في تقنية الـPCR) احجام اقل من 1 مايكرولتر.

تتضح اهمية تواجد هذه الامكانيات اذ تبين للذهن ان كمية انزيم القطع وقُطع الـDNA المستخدمة في مثل هذه التجارب لا تتعدى

1-2مايكرو ، وتوفر هذه الماصات الدقة الكبيرة عند السحب .

fppt.com

خامساً :

حمامات مائية Water bath وكذلك Ice bath (حمام ثلجي) لترسيب الـDNA ، ميازين حساسة Sensitive balances وحاضنات وهزازات Shakers وهزازات انابيب Vortex ، اجهزة المطياف الضوئي Spectrophotometer ولعل أكثر استخداماته شيوعًا هي قياس تركيز العينة الملونة المجهولة في تحليل الاغذية ، ولكن يمكن استخدامه أيضا لقياس انتشار أو الانعكاس الطيفي . إن استخدام الاسبكترو ليس حكرًا على مجالات الفيزياء، فهو يستخدم أيضا في مختلف الحقول العلمية كالكيمياء، والكيمياء الحيوية، و علم الأحياء الجزيئي.

وجهاز لضبط PH المحاليل PH meter ، ورق خاص لتعليم كل الادوات التي تستخدم في مثل هذه التجارب وأقلام تعليم خاصة markers ، تبات Tip بأحجام مختلفة ، انابيب ابندروف بأحجام تتراوح من 5 مل وصولا الى 0.5 مل قابلة للاستخدام للطرد المركزي وجهاز الـ magnetic stirrer (هزاز +مسخن) لخلط ومزج المواد الكيميائية .

fppt.com

صور توضح الاجهزة

Spectrophotometer

Vortex Mixer

fppt.com

سادساً :

جهاز الـ PCR وجهاز التصوير المقطعي UV Light لتصوير نتائج ترحيل قطع الـDNA على هلام الاكاروز او تصوير نتائج الـ PCR.

PCR

fppt.com

استخلاص البروتينات :

Dr. Duraid Hamada

Lecture 1

Practical Molecular Biology

2 November2021

fppt.com

توجد البروتينات في كل المخلوقات الحية. وتعد هي حجر الاساس في بناء وادامة الخلية والتي تضم الاف من الجزيئات البروتينية المختلفة في خواصها الكيميائية والفيزيائية التي يؤدي كل منها دوراً محدداً في حياة الخلية.

تستخلص البروتينات من مصادرها المختلفة للاغراض الاتية:

fppt.com

1 . تنقيتها وفصل جزيئات البروتينات المختلفة كل على انفراد.

2 . دراسة الخواص الحيوية والكيميائية والفيزيائية للبروتينات المستخلصة لمعرفة خواص هذه البروتينات.

3 . مقارنة البروتينات المستخلصة من مصادر مختلفة لتحديد افضل هذه المصادر لاستخدامها في التغذية.

fppt.com

الية الاستخلاص:

تعتمد الية استخلاص البروتينات على عدة عوامل منها:

1 . موقع هذه البروتينات حيث يختلف موقع هذه البروتينات في الخلية. فهناك بروتينات توجد في غشاء الخلية وهناك بروتينات في السايتوبلازم وهناك بروتينات بروتينات موجوده في داخل عضيات الخلية مثل المايتوكوندريا وجهاز كولجي.

2 . قوة ارتباط البروتينات حيث تتباين قوة ارتباط البروتينات في الخلية لذا يجب استعمال محاليل ذات قوة ايونية عالية لفك ارتباط البروتينات المرتبطة بشكل قوي مع انسجة الخلية بينما يمكن استعمال محاليل ذات قوة ايونية قليلة للبروتينات الضعيفة الارتباط بانسجة الخلية.

fppt.com

الهدف من التجربة:

سوف يتم في هذه التجربة استخلاص البروتينات النباتية باستخدام عدة محاليل استخلاص ذات قوة ايونية مختلفة لغرض استخلاص نسب متفاوته من البروتينات.

ملاحظة:

كلما زادت القوة الايونية لمحاليل الاستخلاص كلما حصلنا على من البروتينات في المستخلص وذلك لان القوة الايونية العالية تعمل على فك ارتباط البروتينات من جدران الخلايا.

fppt.com

الادوات و المواد المطلوبة:

1 . اوراق نباتية (اي جزء نباتي يمكن الحصول علية).

2 . ماء مقطر.

3 . ملح طعام NaCl .

4 . خلاط كهربائي.

5 . قطعة من قماش الململ لغرض الترشيح.

6 . جهاز الطرد المركزي.

fppt.com

<u>طريقة العمل:</u>

1 . يتم وزن 100 غم من الاوراق النباتية التي يمكن الحصول عليها.

2 . يتم تقطيع هذه الاوراق الى قطع صغيرة يصل حجمها الى 0.5 سم.

3 . يتم وضع هذه القطع الصغيرة في الخلاط الكهربائي ويضاف لها 50 مل من ***محاليل الاستخلاص المحضرة مسبقاً والتي تشمل:***

1 . ماء مقطر فقط.

2 . ماء مقطر حاوي على 5 % كلوريد الصديوم.

3 . ماء مقطر حاوي على 10 % كلوريد الصديوم.

4 . ماء مقطر حاوي على 15 % كلوريد الصديوم.

5 . ماء مقطر حاوي على 20 % كلوريد الصديوم.

fppt.com

4 . يتم هرس الخليط بواسطة الخلاط الكهربائي لمدة 10 دقائق او لحين تجانس المحلول.

5 . يتم ترشيح الخليط بواسطة قطعة قماش الململ وبعد التخلص من الشوائب يتم اجراء الطرد المركزي لمدة نصف ساعة بسرعة 3000 دورة / الدقيقة لغرض فصل الرائق عن الراسب.

6 . بعد انتهاء عملية الطرد المركزي يتم فصل الرائق عن الراسب والذي يمثل المستخلص البروتيني الخام.

7 . يتم وضع كمية معينة من الرائق المستحصل علية في انبوبة اختبار حوالي 5 مل ويتم ضرب الانبوبة بباطن الكف لعدة مرات وبسرعة حيث يلاحظ تكون رغوة في اعلى المحلول وهذا يدل على وجود البروتين في المستخلص.

ملاحظة:

من المفترض ان تزداد الرغوة المتكونة في المحاليل الحاوية على نسبة اعلى من الملح.

fppt.com

الية ترسيب البروتينات بفعل الحامض :

Dr. Duraid Hamada

Lecture 3

Practical Molecular Biology

23 November2021

fppt.com

تستخدم الاحماض لغرض ترسيب البروتينات ولكنها تكون ضارة للبروتين حيث تؤدي الاحماض الى تحطيم شكل البروتين وبالتالي يصبح غير قادر على البقاء في المحلول بصورة ذائبة حيث تعمل الحوامض على تحطيم الاواصر الرابطة بين الاحماض الامينية وبالتالي تؤدي الى ان يفقد البروتين شكلة الطبيعي وتستخدم هذه الطريقة في بعض الاحيان لترسيب بروتين الحليب (الكازين) في الحصول على الجبن كما يتم استخدام هذه الطريقة لترسيب البروتينات النباتية لادخالها في الصناعات الغذائية.

fppt.com

المواد المطلوبة:

1 . انابيب اختبار زجاجية.
2 . حامض HCl المركز.
3 . حليب (مصدر بروتين حيواني).
4 . حمص (مصدر بروتين نباتي).

fppt.com

طريقة العمل:

1 . يؤخذ 25 مل من الحليب ويوضع في بيكر زجاجي ثم يتم اضافة قطرات من الحامض الية لحين حصول تجبن للحليب بعدها يتم اجراء الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة نصف ساعة يتم اهمال الرائق والحصول على الراسب.

2 . يؤخذ 100 غم من الحمص ويتم اضافة 500 مل من الماء المقطر الية ويغلى على النار لمدة نصف ساعة بعدها يتم عزل ماء الغلي الذي يحتوي على البروتينات الذائبة التي تسربت الى الماء من حبات الحمص ويتم اضافة قطرات من الحامض الى الماء لحين حصول تعكر في المحلول وهذا يدل على ترسيب البروتينات بعدها يتم اجراء الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة نصف ساعة ويتم اهمال الرائق والحصول على الراسب.

fppt.com

ترسيب البروتينات :

Dr. Duraid Hamada

Lecture 2

Practical Molecular Biology

16 November2021

fppt.com

بعد ان يتم اجراء الاستخلاص يجري ترسيب البروتينات من المستخلص الخام لغرض تخليصها من مختلف المواد غير البروتينية لها كما تستعمل طريقة الترسيب لتركيز محاليل البروتينات بالاضافة الى فصل البروتينات بعضها عن بعض. تترسب البروتينات من محاليلها بازالة الماء المذيب منها حيث تصبح البروتينات غير ذائبة وتستعمل لهذا الغرض انواع عديدة من الاملاح منها املاح كبريتات الامونيوم كما قد تستعمل الحوامض لهذا الغرض.

fppt.com

الية الترسيب بفعل الاملاح:

تتكون البروتينات بصوره عامة بارتباط عدد من الاحماض الامينية والتي تحمل بعضها الشحنة الموجبة والبعض الاخر يحمل الشحنة السالبة. فاذا كان عدد الاحماض الامينية الموجبة اكثر من السالبة امتلك البروتين شحنة موجبة وبالعكس اي اذا كان عدد الاحماض الامينية السالبة اكثر من الموجبة سوف يمتلك البروتين شحنة سالبة وهذا مايعطي الاستقرار للبروتينات في محاليل الاستخلاص ويجعلها تكون بصورة ذائبة ولأجل ترسيب هذه البروتينات يجب ان تستخدم مواد معدنية تعمل على معادلة شحنة البروتين وتجعلها متعادلة اي يكون البروتين ذو شحنة تساوي صفر وبذلك لايتمكن البروتين من البقاء في المحلول بصورة ذائبة ولاجل ترسيب هذه البروتينات يجب ان تستخدم مواد معدنية تعمل على معادلة شحنة البروتين وتجعلها متعادلة اي يكون البروتين ذو شحنة تساوي صفر.

fppt.com

وبذلك لايتمكن البروتين من البقاء في المحلول بصورة ذائبة وتحصل عندها حالة الترسيب لهذا تستخدم الاملاح لهذا الغرض مثل ملح كلوريد الصوديوم NaCl وملح كبريتات الامونيوم $(NH_4)_2SO_4$ حيث تعمل الشحنة الموجبة للامونيوم على معادلة الشحنة السالبة للكاربوكسيل في الاحماض الامينية بينما تعمل الشحنة السالبة للكبريتات على معادلة الشحنة الموجبة لمجموعة الامين في الاحماض الامينية وبذلك يتم ترسيب البروتينات على هذا الاساس.

fppt.com

المواد المطلوبة:

1 . انابيب اختبار زجاجية.

2 . محلول مشبع لكبريتات الامونيوم حيث يحضر باذابة الملح لدرجة الاشباع في الماء المقطر وغالباً مايتم الحصول على درجة الاشباع من اذابة 90 غم من الملح في 100 مل من الماء المقطر او يتم اضافة الملح بصورة تدريجية ويتم اذابتة وتتكرر العملية الى ان يتوقف الملح المضاف عن الذوبان بسبب وصول المحلول الى حالة الاشباع.

3 . مصدر للبروتين.

fppt.com

طريقة العمل:

1 . يؤخذ حجم معين من رائق الاستخلاص اي ان المستخلص الذي تم الحصول علية يجري له طرد مركزي و يؤخذ الجزء الرائق فقط منه وليكن الحجم 25 مل او 50 مل.

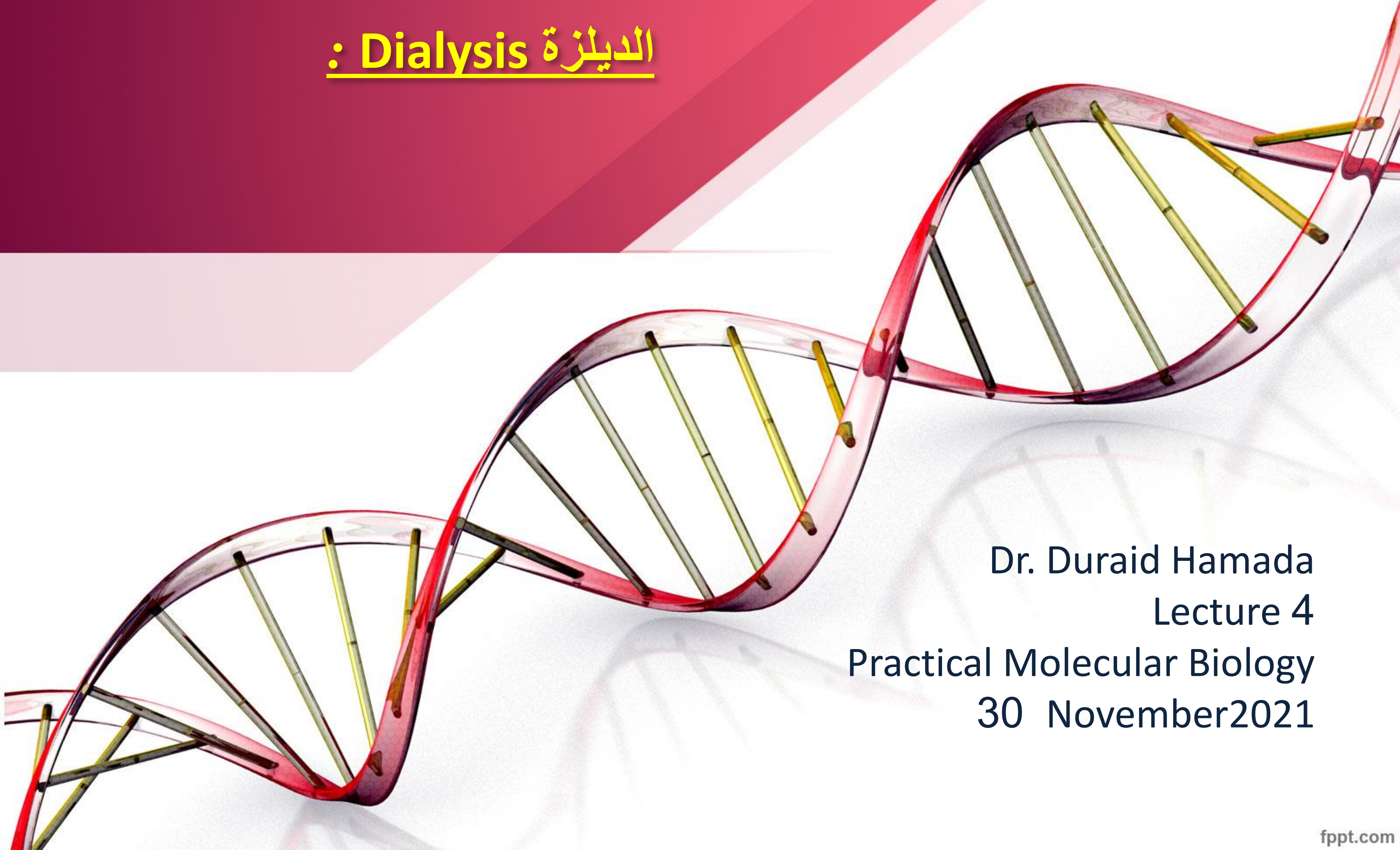
2 . يضاف محلول كبريتات الامونيوم المشبع تدريجياً مع الرج البطيء.

3 . تبدأ عملية الترسيب عند ظهور العكارة للبروتين المرسب في محلول الاستخلاص.

4 . يتم عزل البروتين المرسب بواسطة الطرد المركزي بسرعة مقدارها 3000 دورة / دقيقة لمدة نصف ساعة.

fppt.com

الديلزة Dialysis :



Dr. Duraid Hamada

Lecture 4

Practical Molecular Biology

30 November2021

fppt.com

الديلزة او الفصل الغشائي : هي العملية التي تجري للمستخلص البروتيني الذي يتم ترسيبة بواسطة ملح كبريتات الامونيوم اذ تهدف هذه العملية الى التخلص من الملح والحصول على البروتين بشكل نقي وخالي من اي نسبة من الملح.

fppt.com

الاساس العلمي :

تعتمد هذه الطريقة على استخدام اكياس خاصة تدعى اكياس الديلزة والتي تحتوي على فتحات دقيقة تسمح بمرور الملح من خلالها الى خارج الكيس ودخول الماء الى داخل الكيس بينما لاتسمح للبروتين الخروج من الكيس اذ تتم هذه العملية بحصول التنافذ الغشائي بين الملح داخل الكيس و الماء خارج الكيس حيث يكون تركيز الملح مرتفع في داخل الكيس بينما يكون منعدم في خارج الكيس (الماء المقطر) لذا فانه يجب ان تحصل حالة تعادل بين التركيزين وعلية سوف يخرج الملح من داخل الكيس الى الخارج وبذلك سوف يتم التخلص من هذا الملح الذي يوجد مع البروتين وبالتالي فاننا سوف نحصل على البروتين بصورة منفردة وخالية من اي اثر للملح.

fppt.com

المواد المطلوبة :

1. مستخلص بروتيني مرسب بواسطة كبريتات الامونيوم.
2. بيكر زجاجي.
3. ماء مقطر.
4. اكياس ديلزة.

DIALYSIS
MEMBRANES

fppt.com

طريقة العمل:

1 . يتم وضع المستخلص البروتيني المرسب بواسطة كبريتات الامونيوم في كيس الديلزة ويتم غلقة بصورة محكمة.

2 . يوضع كيس الديلزة في البيكر الزجاجي الحاوي على الماء المقطر ويترك لمدة 24 ساعة لغرض حصول التنافذ الغشائي بين الملح والماء ويتم تبديل الماء 3 مرات على الاقل خلال المدة.

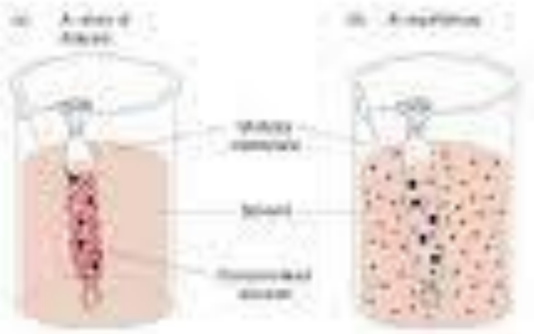
3 . بعد مرور الوقت اللازم 24 ساعة يتم رفع الكيس من الماء المقطر الذي سيكون حاوي على الملح ويجري فتحة وافراغة من المستخلص البروتيني الذي سوف يكون خالي من الملح والذي يعد في هذه الحالة بروتين نقي.

fppt.com

Uses of dialysis

- To remove unwanted small molecules from a protein solution

  - DNA
  - salts
  - detergents
  - small proteins



- For buffer exchange

fppt.com

: Freeze - Drying التجفيد

Dr. Duraid Hamada

Lecture 5

Practical Molecular Biology

12 December 2021

fppt.com

بعد الحصول على المستخلص البروتيني الخالي من الملح يجب ان يجري التخلص من الماء المرافق له والحصول على البروتين بشكل بلوري ولذا يجب استخدام طريقة تضمن عدم التأثير على فعالية التركيب البروتيني ولذا تستخدم طريقة التجفيد لهذا الغرض.

fppt.com

الاساس العلمي :

تعتمد هذه الطريقة على استخدام ضغط مخلخل وخفظ درجة الحرارة الى حوالى – 80 م° بعد ان يتم تجفيد المادة المراد تجفيدها وبوجود الضغط المخلخل سوف تحدث حالة التسامي اي تحول المادة من الحالة الصلبة الى الغازية دون المرور بالحالة السائلة وبذلك يجري بلورة البروتين بهذه الطريقة دون التأثير على فعالية وتركيب البروتين.

fppt.com

المواد المطلوبة :

1. المستخلص البروتيني الذي تم ديلزتة.
2. جهاز التجفيد.

fppt.com

طريقة العمل:

1 . يتم تجميد المستخلص البروتيني الذي تم ديلزته.

2 . يوضع النموذج البروتيني المجمد في جهاز التجفيد ويترك لمدة 24 ساعة.

3 . بعد انتهاء المدة المحددة للتجفيد يتم اخراج النموذج والذي سوف يكون بشكل بلوري يتم حفظة في قنينة مغلقة.

fppt.com

ملاحظة:

يمكن حفظ البروتينات المعاملة بهذه الطريقة لعدة سنوات دون ان يحصل اي تأثير على فعالية هذه البروتينات.

fppt.com

استخلاص الحامض النووي (DNA) من مادة غذائية (الفراولة)

DNA Extraction from Strawberry

Dr. Duraid Hamada

Lecture 6

Practical Molecular Biology

14 December 2021

fppt.com

الأحماض النووية هي بوليمراتٌ حيوية أو جزيئاتٌ حيوية كبيرة ضروريةٌ لكافة أشكال الحياة المعروفة. يُعتبر مصطلح الحامض النووي شاملًا للحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين (DNA) والحمض النووي الريبوزي(RNA) ، وهي تتألفُ من نيوكليوتيداتٍ، التي تتكون من ثلاث مكونات : سكر خماسي الكربون (سكر الرايبوز)، ومجموعة فوسفات، وقاعدة نيتروجينية .إذا كان السكر ريبوزًا فإنَّ المبلمر هو حمض نووي ريبوزي (RNA)، أما إذا كان السكر مشتقًا من الريبوز على هيئة ريبوز منقوص الأكسجين فإنَّ المبلمر الناتج هو حماض نووي ريبوزي منقوص الأكسجين. (DNA)

تُعد الأحماض النووية الجزيء الأكثر أهميةً في جميع الجزيئات الحيوية. تُوجد بكثرةٍ في جميع الكائنات الحية، حيثُ تعمل على إنشاء وتشفير ثم تخزين المعلومات الخاصة بكل خليةٍ حيةٍ لكلٍ كائن حي على وجه الأرض. وبدورها تعملُ على نقل هذه المعلومات والتعبير عنها داخل وخارج نواة الخلية (إلى العمليات الخلوية الداخلية وفي النهاية إلى الجيل التالي لكلٍ كائنٍ حي). تُحتَوى المعلومات المُشفرة وتُنقل عبر تسلسل الحامض النووي، والذي يُوفر ترتيبًا سُلمي للنيوكليوتيدات داخل جزيئات الحامض النووي الريبوزي والحامض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين.

fppt.com

تُربط سلاسل النيوكليوتيدات لتشكيل السلسلة الرئيسية الحلزونية، وتُجمع في سلاسلٍ من أزواجٍ القواعد المُختارة من القواعد النتروجينية وهي: الأدينين، والسايتوسين، والكوانين، والثايمين، واليوراسيل. يُوجد الثايمين فقط في الحامض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين (DNA) واليواسيل فقط في الحامض النووي الريبوزي (RNA). باستعمال الأحماض الأمينية والعملية المعروفة باسم التخليق الحيوي للبروتين، فإنَّ تسلسلًا معينًا في الحامض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين (DNA) لهذه الازواج من القواعد النتروجينية يُتيح تخزين ونقل تعليماتٍ مشفرةٍ مثل الجينات

fppt.com

أما في الحامض النووي الريبوزي (RNA)، فإنَّ تسلسل الأزواج من القواعد النتروجينية يُزودُ لتصنيع بروتيناتٍ جديدةٍ تُحدد الإطارات والأجزاء ومعظم العمليات الكيميائية لجميع أشكال الحياة.

تمتاز طريقة الاستخلاص بكونها بسيطة وفعالة للحصول على الحامض النووي، وتعد الفراولة الناضجة مصدر ممتاز لاستخلاص الحامض النووي لأنها سهلة السحق وتحتوي على إنزيمات تدعى بالـ Pectinases والسليلوزات Cellulases التي تساعد على تحطيم جدران الخلايا. والأهم من ذلك الفراولة لها ثماني نسخ من كل كروموسوم (Octoploid)، لذلك يتم الحصول على كمية كبيرة من الحامض النووي المعزول.

fppt.com

الأدوات والمواد المطلوبة :

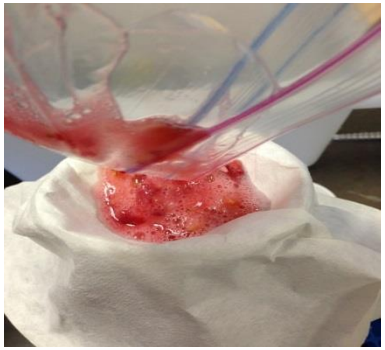
- اكواب بلاستيكية او بيكرات.
- ورق ترشيح او قطع شاش معقم.
- ماصات بلاستيكية.
- ملاعق للقياس.
- قمع.
- اكياس بلاستيكية مغلقة النهاية بسدادة .
- ملح الطعام(كلوريد الصوديوم) بمقدار 2 ملعقة صغيرة.
- 100 مل سائل تنظيف الصحون.

fppt.com

- 900 مل ماء مقطر.
- كحول اثيلي او ايزوبروبيلي مبرد حوالي 20 مل.
- انابيب اختبار.
- قطع فراولة (مزالة القمة الخضراء).

fppt.com

طريقة العمل :



1. امزج الملح والماء مع سائل التنظيف في بيكر، اترك المزيج جانبا.
2. يعد هذا المزيج سائل الاستخلاص extraction liquid.
3. ضع الانبوبة الحاوية على الكحول الاثيلي او الايزوبروبيلي في الثلج (الفريز freeze).
4. هيئ القمع وغطيه بورقة الترشيح او قماش الشاش وضع نهاية انبوب القمع في البيكر.
5. ضع قطع الفراولة في الاكياس البلاستيكية واضغط على الكيس لإفراغه من الهواء ،اغلقه باحكام.
6. باستخدام اصابعك، اهرس واسحق مزيج الفراولة جيدا لمدة 2 دقيقة الى ان يصبح شبه سائل.
7. ضع حوالي (10 مل) من سائل الاستخلاص المحضر في الخطوة 2 الى كيس مهروس الفراولة ،اخرج جميع الهواء المتبقي واحكم اغلاق الكيس.
8. اضغط مزيج الفراولة بأصابعك لمدة 1 دقيقة.

fppt.com

9 . صب المزيج من الكيس الى داخل القمع، اترك الراشح يتجمع في البيكر الى ان يصفى تماما بدون ان يتبقى اي سائل في القمع.

10 . اترك ورق الترشيح ولب الفراولة جانبا، صب محتويات البيكر من الراشح في انبوب زجاجي لما يقارب ربع حجمه (حوالي 3 مل).

11 . اضف الكحول المبرد بحذر على جدار الانبوب الزجاجي ، يجب ان يكون الكحول طبقة في قمة سائل الفراولة، يترك بدرجة حرارة الغرفة لمدة 3-2 دقائق على حامل الانابيب مع مراعاة عدم رج انبوبة الاختبار. نلاحظ تجمع خيوط الحامض النووي البيضاء وتترسب في طبقة الكحول.

fppt.com

12. اجمع كتلة الحامض النووي المتكون باستخدام الملقط او الـstick او الماصة البلاستيكية وانقله الى ابندروف تيوب ، وهذا يمثل DNA الحاوي على جينات الفراولة.

13. ولملاحظة الDNA تحت المجهر، توضع الكتلة على شريحة نظيفة وبلطف تمتد باستخدام عودان خشبيان. وبذلك يكون من السهل رؤية الألياف .

fppt.com

- بالنتيجة تم الحصول على خيوط طويلة و هي. DNA ومشاهدة خط فاصل بين الايثانول و محلول الفراولة،
- - استخدم في هذه الطريقة (محلول) غسيل و تنظيف الأطباق (Detergent) الذي ساعد على تكسير واذابة الأغشية البلازمية للخلايا المؤلفة من طبقتين من اللبيدات المفسفرة وتكوين مركبات معقدة مع الدهون والبروتينات التي تدخل في تركيب الغشاء البلازمي مما ادى إلى ترسيب الدهون والبروتينات وخروجهما من المحلول، يتحد مركب المنظف مع الغشاء الخلوي والغشاء النووي ويكونان معاً مركب بالتالي يستطيع DNA الموجود داخل النواة من التحرر كما يستخدم في عملية عزلDNA بهذه الطريقة ملح الطعام (كلوريد الصوديوم) NaCl

fppt.com

0

- وذلك لأن كاتيونات الصوديوم تعادل الشحنات السالبة الموجودة على مجموعات الفوسفات في الحامض النووي مما يؤدي إلى إخفاء أو تغطية (Shading) هذه الشحنات الموجودة طبيعياً على الحامض النووي وهذا يجعل جزيئات الحامض النووي لا تتنافر مع بعضها البعض وبالتالي يمكن ترسيبها وخروجها من المحلول في وجود الكحول الذي يسحب الماء من حول جزيئات الحامض النووي. ويساعد ملح الطعام على ازالة البروتينات المرتبطة مع الـDNA ويحافظ على بقائها ذائبة في الطبقة المائية وبذلك لا تترسب مع الـ DNA في طبقة الكحول العضوية.
- يساعد استخدام كحول الايثانول او الايزوبروبانول على ترسيب الـ DNA، عند اخراج الـ DNA من المحلول تميل خيوطه للتجمع مع بعضها البعض مما تجعله مرئيا، وبالتالي تلتف الخيوط الطويلة للـDNA حول الماصة او العود الناقل عند لفها طويلا حول خيوطه الموجودة في الطبقة الوسطى بين الطبقتين العليا العضوية والسفلى المائية.

fppt.com

Electrophoresis الترحيل الكهربائي

الترحيل الكهربائي بواسطة هلام الأگاروز

Agarose Gel Electrophoresis

Dr. Duraid Hamada

Lecture 9

Practical Molecular Biology

18 January 2022

fppt.com

تعد عملية الترحيل الكهربائي بواسطة هلام الأگاروز واحدة من الطرق الفيزيائية المهمة التي يمكن بواسطتها تحديد حجم الـ DNAإن مبدأ هذه الطريقة هو هجرة الـ DNAمن خلال فتحات صغيرة موجودة ضمن شبكة معقدة لمادة الاگاروز عند تسليط تيار كهربائي وتكون هذه الهجرة من القطب السالب (الأسود)بإتجاه القطب الموجب (الأحمر) نظراً لكون الشحنة التي يحملها ال DNAشحنة سالبة بسبب وجود مجموعة الفوسفات .هناك ثلاثة عوامل تؤثر على هجرة الـ DNAضمن هلام الاگاروز وهي :

حجم ال DNA.

شكلة.

القوة الأيونية للمحلول المنظم (Buffer) وعادة يُستخدم Tris- TBE Borate EDTA كمحلول منظم لجميع التجارب المستخدمة في هذا الموضوع لذا ستكون القوة الأيونية ثابتة.

تشبة عملية الترحيل الكيربائي بعملية النخل sieving process إذ تهاجر قطع ال DNAذات الأحجام الصغيرة بصورة أسرع من تلك القطع التي تتميز بكبر أحجامها, لذا تكون العلاقة خطية بين الحجم

fppt.com

ومعدل الهجرة ويُستثنى من ذلك القطع ذات الأحجام الكبيرة جداً إذ تتطلب مثل هذه القطع وقت إضافي لكي تستطيع إختراق فتحات هلام الأگاروز واتمام عملية الهجرة لذا فلا تنطبق العلاقة الخطية عملياعليها. يمكن التحكم في أحجام فتحات هلام الأگاروز من خلال تركيزه فكلما زاد التركيز سيزداد تماسك هلام الأگاروز وبالتالي تقل أحجام الفتحات وكلما قل التركيز ستزداد أحجام الفتحات ، إلا أن التركيز القياسي لهلام الأگاروز هو 1% والذي يمكن أن يرحل من خلاله قطع DNA تتراوح أحجامها من 0.2-30 kb.

أكثر أنواع ال DNA المستخدم في علم الاحياء الجزيئي والهندسة الوراثية عبارة عن بلازميدات ، ويُعرف البلازميد على إنه قطع DNA تكون أما على شكل تركيب ملتف بشدة Super

fppt.com

- coiled اوعلى شكل دائري مفتوح Open-circularأو على شكل خيطي Linearإذ توجد هذه القطع داخل خلايا الكائن الحي وتكون مستقلة عن الكروموسوم.
- تختلف معدل هجرة البلازميدات خلال هلام الأگاروز إعتماداً على أشكالها في حالة تساوي الحجوم ، إذ نلاحظ أن الشكل Super coiled يكون أكثر سرعة في هجرته من الشكل Open-circularنتيجة لقلة الاحتكاك مع هلام الأگاروز وبالتالي تكون الإعاقة قليلة خلال الحركة ,كذلك الحال بالنسبة إلى الشكل الخطي Linear ايضا تكون قوة الإحتكاك أقل مما هو علية في Open-circularإلا إنها تكون أكثر من Super coiled. يمكن القول من خلال ماتقدم أن لشكل الـ DNA تأثير كبير على سرعة هجرة DNAخلال هلام الأگاروز إذ نلاحظ ثلاثة حزم للـ DNAغير المهضوم بإنزيمات التقييد على هلام الأگاروز في مواقع مختلفة إعتماداً على سرعة هجرتها .في حالة ترحيل DNA بشكلية Super coiledو Open-circular مقطوعين بإنزيم تقييد واحد سيتحول هذين الشكلين إلى الشكل الخطي وبالتالي ستكون الحزم في موقع واحد.

fppt.com

يوجد عدد مختلف من الصناديق(الأوعية) لأجهزة الترحيل الكهربائي وتكون

بحجمين يُطلق عليها إسم الغواصة submarine وذلك لأن شريحة الهلام تكون مغطاة بصورة كلية بمحلول منظم الترحيل الكهربائي buffer يسمى النوع الكبير BRLموديل H5) وتكون أبعاد الوعاء الخاص بشريحة الهلام 11×14 cm) ويمتاز هذا النوع بإمكانية نقل صينية الهلام وهي حاوية على الهلام من مكان لآخر خارج صندوق الجهاز .بينما النوع الصغير baby gel هو BRLموديل H6) وتكون أبعاد الوعاء الخاص بشريحة الهلام) 50×75 mmففي هذا النوع لايمكن نقل صينية الهلام خارج الصندوق وذلك لأنها ملتصقة بالصندوق ولايمكن فصلها عنه .توجد أنواع أخرى من baby gel تكون مصنوعة من قبل Carolina Biologicalففي هذه الأنواع يمكن تحريك صينية الهلام كما في النوع H5. تنوعت أحجام أجهزة الترحيل الكهربائي لأغراض خاصة ويبقى النوع H5هو الأكثر إستعمالاً ، بينما يلجأ عادة إلى baby gel للفحوصات السريعة لاتتجاوز مدة الترحيل فيها على 30-40 دقيقة إلا أن كفاءتها لاتكون كبيرة ، إن الأنواع H5و Carolinaيمكن أن يُستعمل فيها مشط واحد يوضع في أعلى الهلام أو أن يُستخدم فيها مشطين إذ يوضع المشط الآخر بمنتصف الهلام وبهذه الطريقة يمكن مضاعفة عدد العينات المراد الكشف عنها.

fppt.com

صبغة الترحيل

Tracking Dye

صبغة الترحيل هي عبارة عن محلول يتكون من السكروز أو الكليسرول حاوي على صبغة ، ووظيفة هذه الصبغة هي جعل عملية الترحيل الكهربائي مرئية يمكن تتبعها من خلال النظر إلى وعاء الترحيل، أما السكروز أو الكليسرول تعمل على زيادة كثافة العينة عند وضعها في حفرة الهلام وبالتالي نضمن عدم طفو العينة للأعلى واستقرارها في أسفل الحفرة.

هناك العديد من الصبغات المستخدمة لهذا الغرض إلا أن أكثرها شيوعاً واستعمالاً هي صبغة

Bromophenol blue او Orange G. تعتمد عملية إختيار الصبغة على أحجام قطع الـ DNA المراد ترحيلها وبالتالي على سرعة عملية الترحيل الكهربائي ، نلاحظ أن صبغة Bromophenol blue تكون أقل سرعة من حركة Orang G لذا فإذا أردنا تتبع عملية الترحيل إلى النهاية نستخدم Bromophenol blue. من هذا نستنتج إنه يجب إتخاذ القرار منذ البداية أي من الصبغتين يجب إستعمالها إعتماداً على حجم قطع الـ DNA وسرعة عملية الترحيل.

Orange G: 0.25% ORANGE g (Sigma cat # O-1625) dissolved in 50% sucrose.

Bromophenol Blue: 0.25 g bromophenol blue

0.25 g xylene cyanol

1.0 ml 1M Tris, pH 8

49 ml water

50 ml glycerol

fppt.com

خطوات طريقة عمل الترحيل الكهربائي
General Protocol or Running

1 . حضر %1من الأگاروز في 200 ml من TBE إذ يعتبر هذا التركيز هو التركيز المثالي إلا أنه يجب تقليل هذا التركيز في حالة ترحيل قطع كبيرة من DNA أو زيادته في حالة القطع الصغيرة.

تُضاف صبغة Ethidium bromide بتركيز 0.5 µl في هذه المرحلة أي إلى كل من المحلول المنظم buffer والأگاروز إلا أنه في بعض الأحيان لاتُضاف هذه الصبغة في هذه المرحلة وانما تُضاف في نهاية عملية الترحيل إلى الهلام ، لكن من الأفضل إضافة صبغة Ethidium bromide في بداية الترحيل وذلك لكي يتسنى الكشف عن الحزم تحت UV بين فترة وأخرى أثناء عملية الترحيل ثم يُكمل الترحيل. يجب أن لايغيب عن البال أن صبغة Ethidium bromide هي مادة لها القابلية على التداخل مع DNA وبالتالي ستغير من حالة ال DNA

fppt.com

مما يؤدي إلى تأثيرها على معدل الهجرة ، وأن هذا التغير لا يكون بنسبة ثابتة نظراً لكون القطع. الكبيرة من ال DNA تحتوي على كمية أكبر من هذه الصبغة مقارنة مع قطع DNA الصغيرة الحجم وبالتالي ستكون هذه الحالة إحدى المشاكل التي قد تؤثر على صحة النتائج وخصوصاً إذا كان الغرض من التجربة هو رسم خارطة القطع أو التحديد الدقيق لأحجام قطع الـ DNA لذا يُفضل في بعض الأحيان أن تُجرى عملية الترحيل الكهربائي بغياب صبغة Ethidium bromide.

2 . يتم إذابة الأگاروز في Microwave على درجةحرارة معينة لمدة 2.5 دقيقة ويجب الإنتباه إليه و تركه إلى أن يذوب تماماً (في حالة غليان الأگاروز أكثر من الحد المسموح به سيؤدي ذلك إلى إتلاف المكان فيجب في هذه الحالة ا زلة الأگاروز وتنظيف المكان جيداً)بعد إذابته تماماً يبرد الأگاروز بواسطة الحمام المائي بدرجة حرارة 60°C حتى نستطيع مسكه باليد .في حالة صب الأگاروز وهو لازال حاراً سيؤدي ذلك إلى إلتواء الوعاء البلاستيكي المخصص للهلام في جهاز الترحيل الكهربائي.

3 . يجب سد نهايات صينية الهلام بشريط لاصق.

4 . يُصب الأگاروز في صينية الجهاز بسمك 5-7 mm ثم يوضع المشط ويترك إلى أن يتصلب.

5 . بعد تصلب الأگاروز تماماً يزال الشريط اللاصق من النهايات وتوضع صينية الهلام في مكانها أي في صندوق الترحيل ، ثم يُضاف المحلول المنظم buffer حتى يغطي الهلام بإرتفاع 2 mm.

6 . تُضاف العينات إلى هلام الأگاروز ثم توصل الأقطاب ، يجب على الباحث أن يتذكر دائماً أن شحنة الـ DNA سالبة فيجب وضع العينات بالقرب من القطب السالب(الأسود)لكي تكون الحركة بإتجاه القطب الموجب(الأحمر) .

fppt.com

7. يتم تشغيل الجهاز بعد ضبط الفولتية والوقت إعتماداً على نوع جهاز الترحيل ففي حالة Baby gel يكون مقدار الفولتية لها 80فولت لمدة 40 دقيقة ، أما في حالة H5 فيكون مقدار الفولتية 125-110فولت لمدة ساعتين أو 15فولت ليوم كامل .إن إستعمال فولتيات عالية في الترحيل الكهربائي سيؤدي إلى زيادة حرارة الهلام وبالتالي تشوه الحزم.

8 . بعد إنتهاء عملية الترحيل الكهربائي يجب إطفاء الجهاز وفصل الأقطاب.

9 . يؤخذ الهلام ويوضع في جهاز ال U.V. Transilluminator وذلك لفحص حزم الـ DNA المتكونة بعد الترحيل(تقرأ نتائج الترحيل بملاحظة تكون حزم وهاجة برتقالية ناتجة من ارتباط صبغة Ethidium bromide مع الـ DNA).

fppt.com

الملاحظات:

تعد صبغة Ethidium bromide مادة مسرطنة فيجب التعامل معها بحذر أي إرتداء الكمامات والكفوف والصداري.

*يمكن التخلص من صبغة بروميد الأثيديوم الزائدة عن طريق غسل الهلام بالماء ويمكن الإحتفاظ بهذه الصبغة الزائدة للإستعمالات اللاحقة.

*تظهر في بعض الأحيان الحزم بصورة باهته (أي مختفية تقريباً عند فحصها تحت UV تكون هذه الحالة بسبب الإمتصاص الزائد للصبغة من قبل الهلام فيتم إ زلة هذه الصبغة الزائدة بواسطة عملية Destaining وذلك بتغطية الهلام بالماء لمدة ساعة.

فيديو توضيحي

https://youtu.be/rGQDgYn2AYY

fppt.com

تفاعل البلمرة المتسلسل

POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

Dr. Duraid Hamada

Lecture 7

Practical Molecular Biology

28 December 2021

fppt.com

في الطبيعة

- تحفظ المعلومات الوراثية و انتاج المواد لصنع الخلايا و الحفاظ عليها في داخل الحامض النووي (DNA). و تقوم الخلية بمضاعفة كمية الحامض النووي وقت انقسام الخلية بشكل تلقائي و بشكل سريع مع وجود نظام تصحيح للأخطاء خلال النسخ. و تبلغ سرعة النسخ والمضاعفة إلى 1000 قاعدة نيتروجينية بالثانية (داخل النظام الحيوي) وهي كما ذكرنا تحدث في الخلية في وقت التكاثر والانقسام فقط .

- ومع التطور في مجال التكنولوجيا الحيوية والذي يقوم على التعامل مع الحامض النووي (DNA) بشكل أساسي ، استدعى ذلك العلماء على أن يبحثوا عن طريقة أو تقنية تقوم على مضاعفة كمية الحامض النووي (DNA) بشكل كبير، خارج النظام الحيوي (الخلية)

fppt.com

مكتشف تقنية الـ PCR

كانت فكرة الاكتشاف بواسطة عالم كيميائي تتضمن فصل الحامض النووي DNA و صنع نسخ كثيره منه .. وفعلا تحققت هذه الفكرة المبدعة..... بواسطة العالم د. كري مولس Dr. Kerry Mullis في عام 1983 (و قد حصل على جائزة نوبل في الكيمياء عام 1993) خطرت له فكرة أن يفصل الحامض النووي DNA ويصنع منه نسخ كثيرة .. وقام بنشر اختراعه لتقنية البي سي ار PCR فكانت هذه التقنية بوابة لكثير من التطورات المتسارعة في مجال التكنولوجيا الحيوية ، من أهم الأسباب التي ساعدت هذه التقنية على الانتشار عدم اعتمادها على النظام الحيوي(أي الخلية) و التحكم بكمية الحامض النووي (DNA) و وسرعة في الإنتاج .

fppt.com

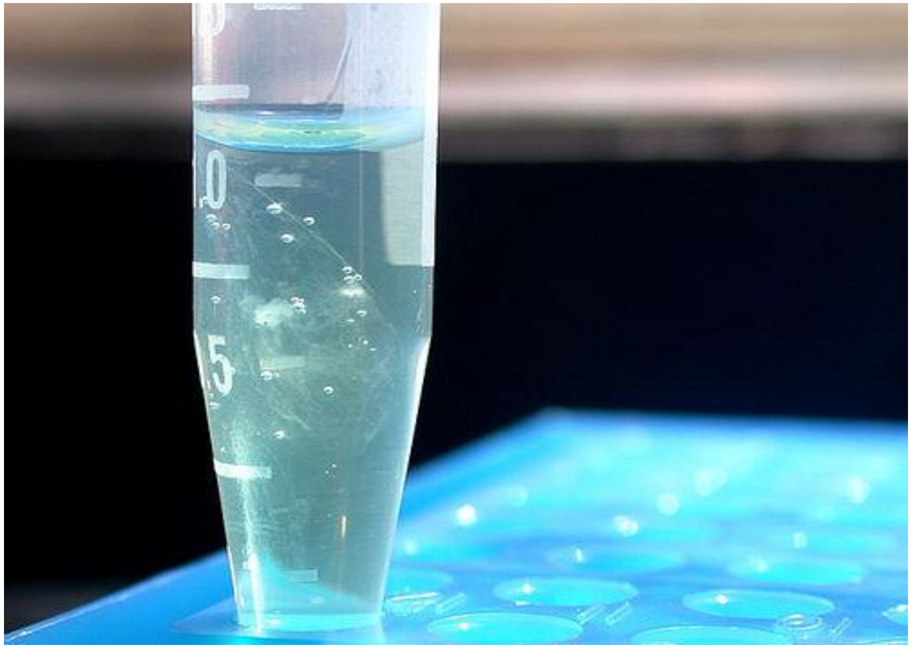
ما هو PCR

هو تقنيـة مختبريـه تـم اكتشـافها عـام 1983م تقريبـاً تقـوم علـى إكثـار نسـخ الحـامض النـووي (DNA) خـارج النظـام الحيـوي . أي أنـهـا طريقـة لنسـخ الحـامض النـووي فـي المختبـر. و لـذلك فهـي تقتيـة حيويـة لاستنسـاخ قطعـة محـددة مـن الحـامض النـووي و مضـاعفة إنتاجها لكي يتسنى إجراء عليها اختبارات و فحوصات إضافية.

fppt.com

ما هي متطلبات PCR

1- التفاعل او يسمى قالب الحامض النووي (DNA Sample).



ما هي متطلبات PCR

2- البادئات (Primers) :

نوعان :

- أمامي (Forward)
- خلفية (Reverse)

وهي تسلسل من القواعد النيتروجينيه في شريط واحد قصير

(20-25 bp) مكمل لبداية الجزء المراد تضخيمه في الحامض النووي .

fppt.com

ما هي متطلبات PCR

3- انزيم التفاعل (Taq plymerase) :

- مستخرج من سلالة بكتيرية تسمى *Thermus aquaticus* التي تتواجد طبيعيا في الينابيع الحارة.
- وهو الإنزيم الذي يقوم ببناء وترتيب القواعد النيتروجينية (وحدات الحامض النووي (DNA).
- لا يتأثر بدرجات الحرارة المرتفعة .
- درجة الحرارةالمثلى له 72 °م.

fppt.com

ما هي متطلبات PCR

4- القواعد النتروجينية (Nitrogen Base dNTPs):

- أدنين Adenine
- ثايمين Thymine
- جوانين Guanine
- سايتوسين Cytosine

fppt.com

ما هي متطلبات PCR

5- محلول منظم (PCR Buffer 10x)

شوارد مناسبه أهمها شارد المغنسيوم Mg+2 التي تعتبر عامل متمم Cofactor لتنظيم البوليمراز.

6- ماء مقطر (DW)

fppt.com

ما هي متطلبات PCR

7- جهاز تفاعل البلمرة التسلسلي (Thermocycler) :

يقوم هذا الجهاز بتغير درجة الحرارة بشكل سريع ودقيق و متتالي لأن درجة الحرارة مهمة في عملية التضاعف .

fppt.com

خطوات تقنية PCR
ثلاث مراحل في الدورة الواحدة

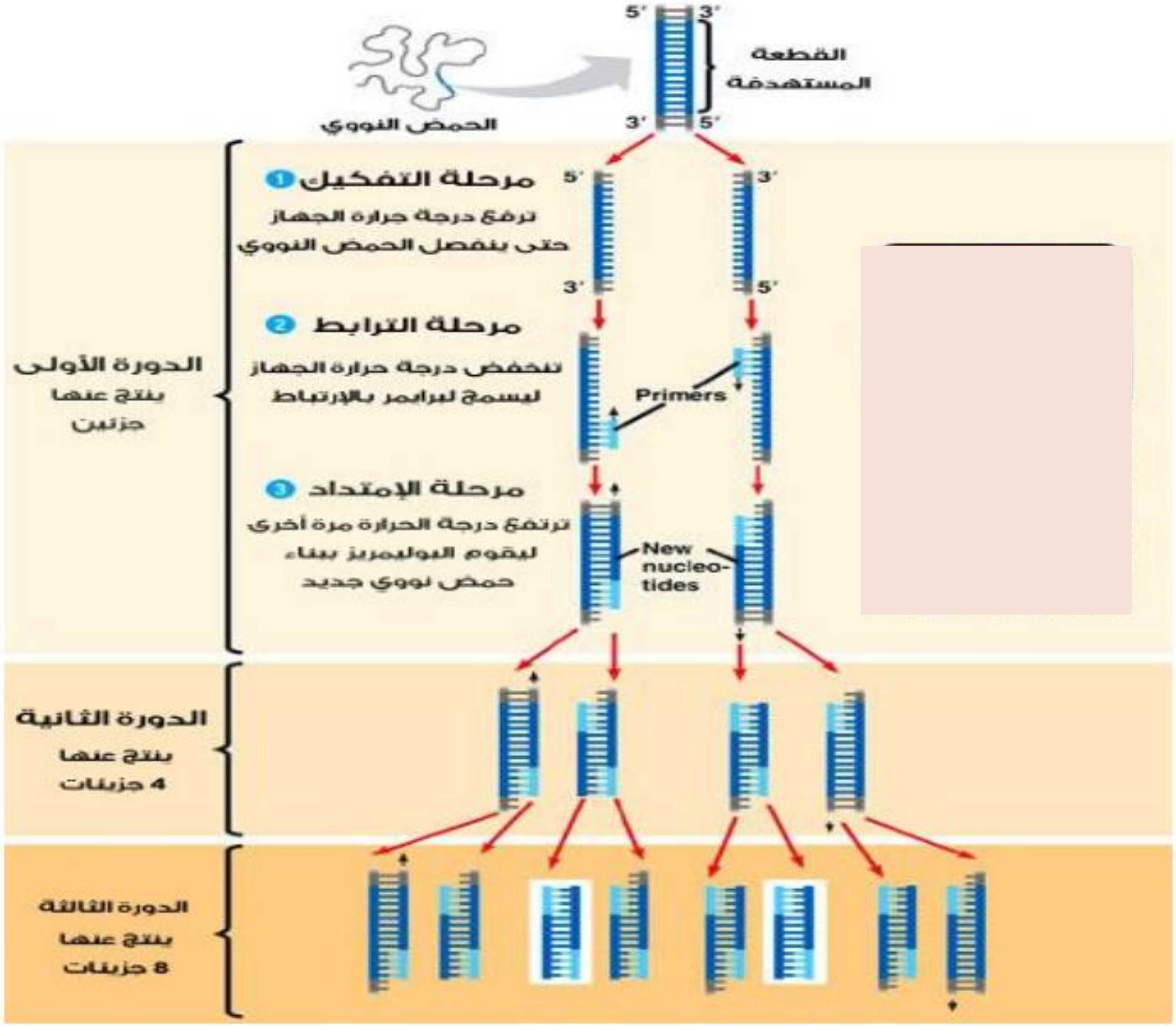
1. مرحلة التفكيك Denature : رفع الحرارة إلى 94 ْم وذلك لفك الحامض النووي (DNA) الأصل .

2. مرحلة الالتصاق Anneal : إنزال الحرارة إلى ما بين 55-60 ْم ليقوم البريمر بالألتصاق فيزيائياً بواسطة الاواصر الهيدروجينية مع الحامض النووي (DNA) الأصل .

3. مرحلة الامتداد Extend : ثم يقوم برفع درجة الحرارة إلى 75 ْم ليقوم البلمريز بعمله في بناء الحامض النووي (DNA) الجديد .

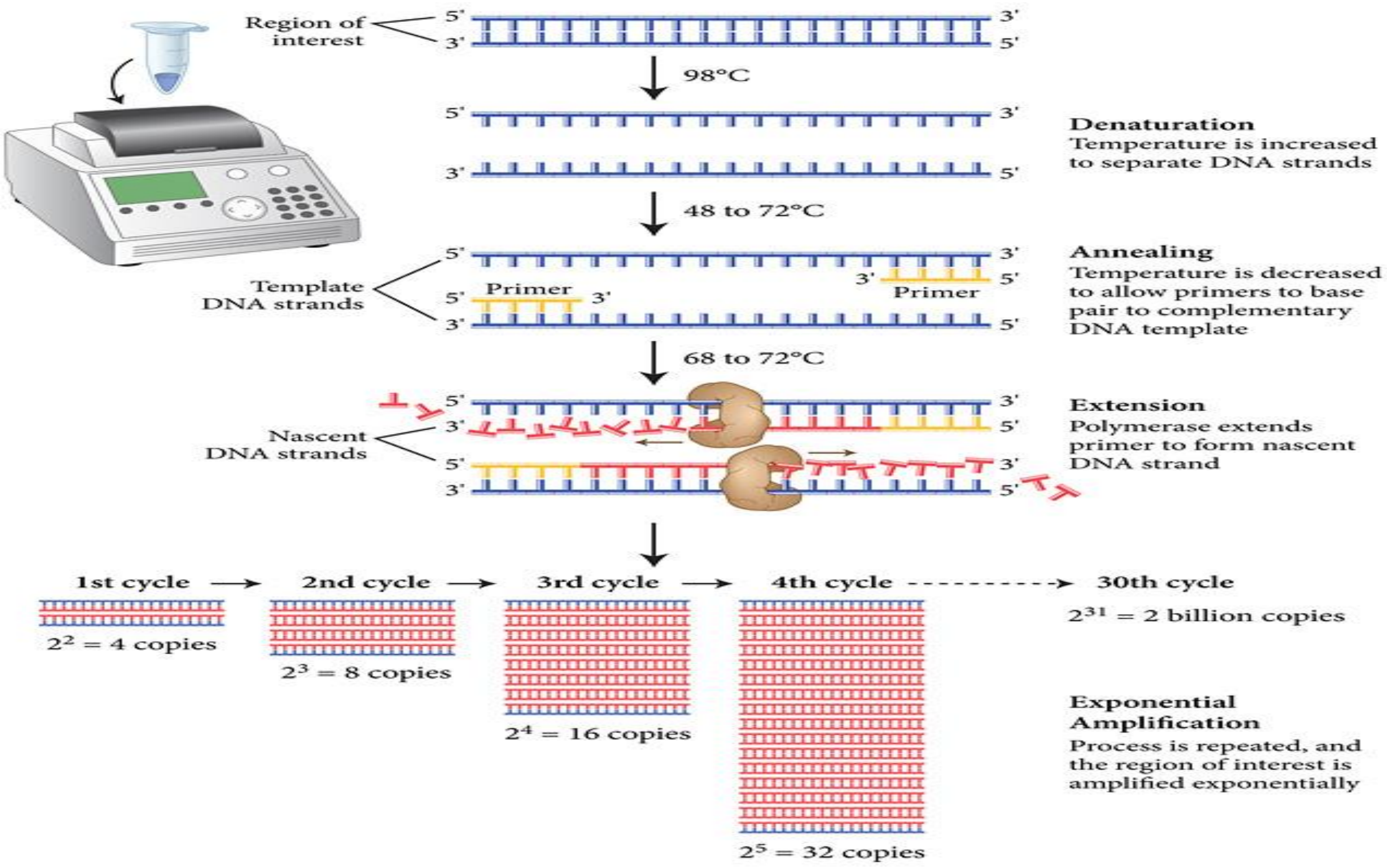
وهذه المراحل الثلاث تعتبر دورة كاملة وفيها يصبح الحامض النووي (DNA) الأصل قد تضاعف ، وتعتمد كمية ناتج الحامض النووي (DNA) على عدد الدورات (والصورة التالية توضح العملية) .

fppt.com


الحمض النووي
5'
3'
القطعة المستهدفة
3'
5'
مرحلة التفكيك 1
ترفع درجة حرارة الجهاز حتى ينفصل الحمض النووي
مرحلة الترابط 2
تنخفض درجة حرارة الجهاز ليسمح لبرايمر بالإرتباط
Primers
مرحلة الإمتداد 3
ترتفع درجة الحرارة مرة أخرى ليقوم البوليمريز ببناء حمض نووي جديد
New nucleo-tides
الدورة الأولى
ينتج عنها جزئين
الدورة الثانية
ينتج عنها 4 جزيئات
الدورة الثالثة
ينتج عنها 8 جزيئات

fppt.com

خطوات تقنية PCR
ثلاث مراحل في الدورة الواحدة



fppt.com

طريقة عمل جهاز PCR

يجهز Master Mix في أنبوبة وذلك بوضع جميع المكونات ما عدا عينة التفاعل

	المكونات	الكمية بالمايكروليتر (X 1)
1	ماء مقطر (d.H2O)	17
2	محلول منظم (PCR buffer 10x)	2.5
3	خليط القواعد النتروجنية (dNTPs)	2
4	بادئ أمامي (forward Primer)	0.6
5	بادئ خلفي أو عكسي (reverse primer)	0.6
6	إنزيم عديد البلمرة (Taq polymerase)	0.3
7	عينة التفاعل (DNA sample)	2
	المجموع الكلي بالمايكروليتر μl	25

fppt.com

طريقة عمل جهاز PCR

- نضيف 23 مايكروليتر من المزيج الرئيسي على كل أنبوب من أنابيب PCR ثم نضيف 2 مايكروليتر من عينه الدنا (DNA).
- نضع جميع الأنابيب في جهاز الطرد المركزي 3000 دورة في الدقيقه لمدة دقيقه واحدة لخلط جميع العينات وإزلة جميع الفقاعات ..

fppt.com

نظام التفاعل

باستخدام لوحة المفاتيح وشاشة عرض الجهاز يتم ادخال الدورة المصممة لأي قطعة من الحامض النووي المفصول .

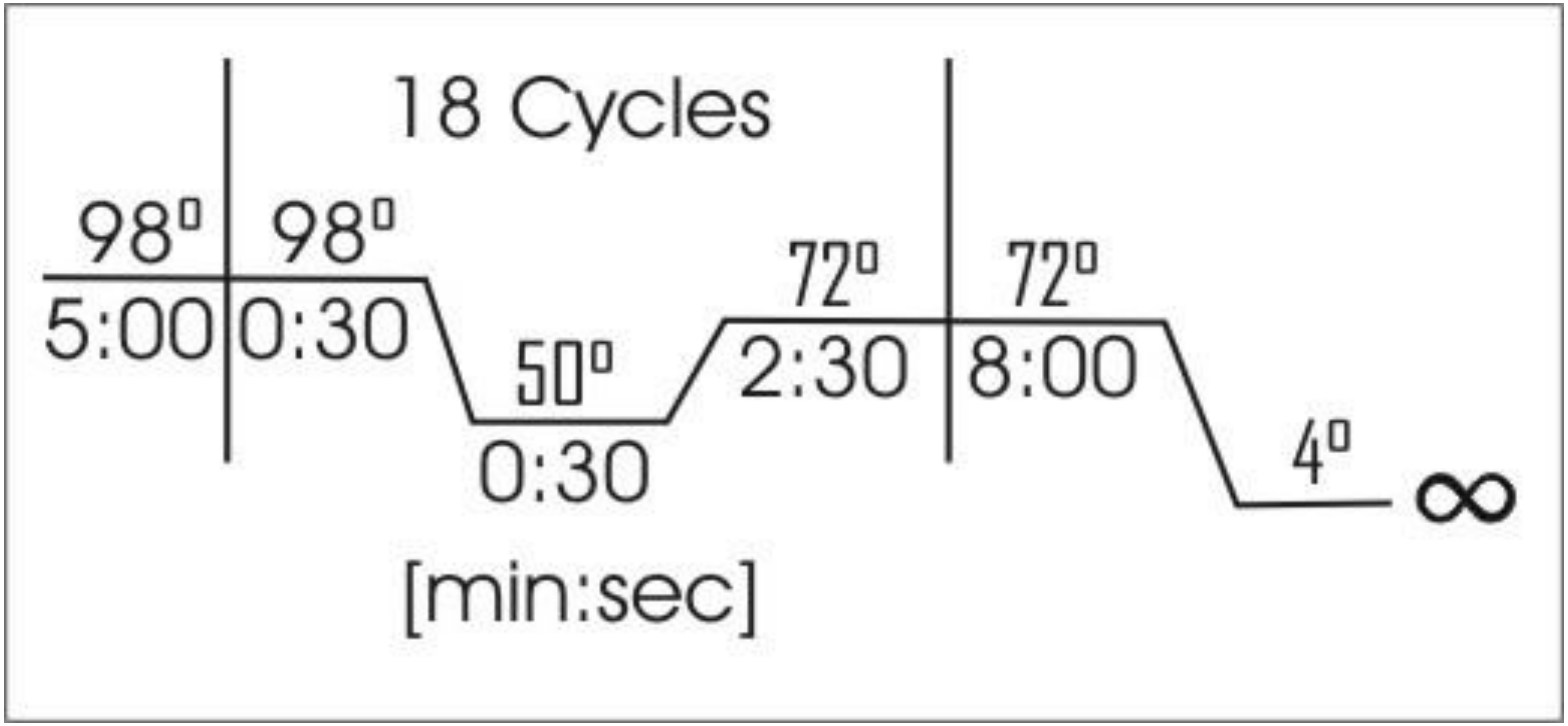
الخطوات	درجة الحرارة	الوقت	التفاعل
1	98˚c	5:00	تنشيط الأنزيم والتهيئة لمرحة تفكيك الحامض النووي DNA
2	98 ˚c	0:30	مرحلة التفكيك
3	50˚c	0:30	مرحلة الإلتصاق (درجة البادئ)
4	72 ˚c	2:30	مرحلة الإمتداد
5	إعادة الخطوة رقم 2 الى 4 لـ 18 دورة		
6	72˚c	8:00	ضمان اكتما مرحلة الإمتداد وإعادة التصاق الشريطين مع بعضهما واكمال عدد الدورات للنسخ
7	4˚c	∞	حفظ العينة

fppt.com

نظام التفاعل

fppt.com

نظام التفاعل



fppt.com

تطبيقات تقنية PCR في مجال الاغذية

لتقنية PCR تطبيقات كثيرة في مجال الصناعات الغذائية ومنها :

1. التعرف على المنتجات التي تدخل بها منتجات دهن الخنزير.
2. التفريق بين انواع الحليب ومعرفة مصادره.
3. الكشف عن البكتيريا المرضية والمتلفة المتواجدة في المنتجات الغذائية من خلال الكشف عن جينات البكتيريا وخصوصا الجينات المسؤولة عن انتاج السموم البكتيرية .
4. الكشف والتمييز بين انواع الحوم ،التي تخلط من اجل الغش.

fppt.com

أنواع PCR

1. **PCR العادي** : وهو ما تم شرحه والتطرق اليه في الخطوات السابقة .
2. **rtPCR** : وهو اختصار لـ (Real Time PCR) : وهذا النوع يقوم على نفس المبدأ ولكن الخلاف الوحيد يكون مربتط الجهاز بكمبيوتر لتحديد الوقت الحقيقي لبدء التفاعل ومن ثم الكمية الحقيقية لعدد نسخ الحامض النووي (DNA) ويعتمد ذلك على وجود قواعد نيتروجينية حرة مشعة لتحديد ذلك . مما يسهل على الباحثين الوقت لتحدد وجود الجين المطلوب أو لا ، وكمية الجين بدون الوصول إلى نهاية الدورات الحرارية المحددة.

اليوم العالمي لل DNA هو 25 / ابريل.

fppt.com

https://youtu.be/XHHP5D8A5Qk

fppt.com