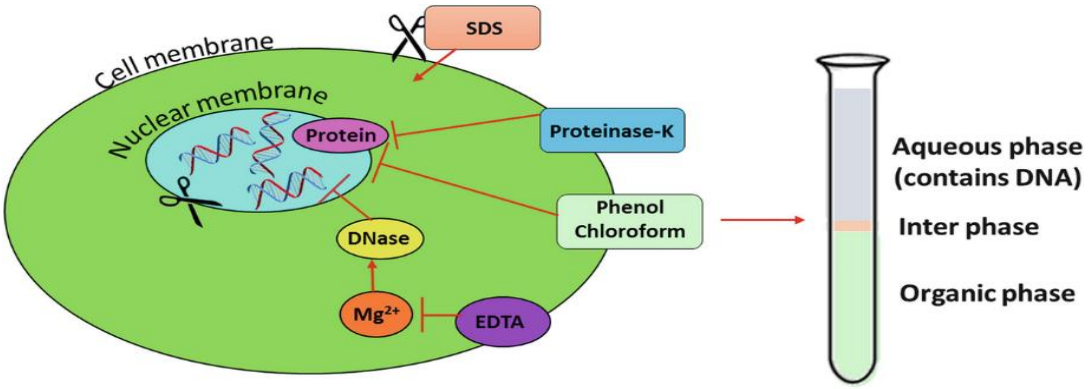
جامعة تكريت – كلية العلوم

البايولوجي الجزيئي العملي



إعداد

م.م. محمد خطاب عمر

نسخة 2023-2024م

ت	اسم التجربة
1.	الاجهزة المستخدمة في مختبر البايولوجي الجزيئي
2.	تحضير المحاليل وطرائق التعبير عنها
3.	المبادئ العامة لعزل الـ **DNA**
4.	عزل الـ **DNA** من عينات الدم
5.	عزل الحمض النووي من الدم (استخدام كت)
6.	عزل الـ **DNA** من عينات نباتية
7.	الامتحان الفصلي الاول
8.	عزل الـ **DNA** من البكتريا
9.	عزل الدنا من عينات الدم المخزونة على بطاقات **FTA cards**
10.	تقدير تركيز ونقاوة الـ **DNA**
11.	الترحيل الكهربائي باستخدام هلام الأكاروز
12.	تفاعل السلسلة المتبلمر **PCR**
13.	عزل الحامض النووي **RNA**
14.	استخلاص البروتينات
15.	الترحيل الكهربائيفي هلام متعدد الاكريلامايد **Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)**
15	الامتحان الفصلي الثاني

المختبر الاول: الاجهزة المستخدمة في مختبر البايولوجي الجزيئي

يوجد العديد من الاجهزة المتخصصة في مختبر البايولوجي الجزيئي ومن اكثرها شيوعا مايلي:

أولا : اجهزة الطرد المركزي **Centrifuges**

جهاز يستعمل لفصل الجزيئات الخلوية عن بعضها، حيث يقوم الجهاز بترسيب الخلايا بمعدل يعتمد على حجم وشكل وكثافة الخلايا. لا بد من موازنة أنابيب الطرد المركزي المتقابلة باستمرار مهما كانت السرعة المستخدم لأن هناك احتمال كبير في تحطم الأنابيب الزجاجية المحتوية على المحلول في حالة عدم الموازنة. يجب التذكر أنه عند عمل جهاز الطرد المركزي ، فأن الأنابيب تصبح بصورة أفقية تماما ، ولكن لا ينسكب المحلول لأنه يكون منجذبا إلى المركز ، ولهذا يجب تجنب ايقاف الجهاز بصورة مفاجئة. يمكن تقسيم أجهزة الطرد المركزي إلى:

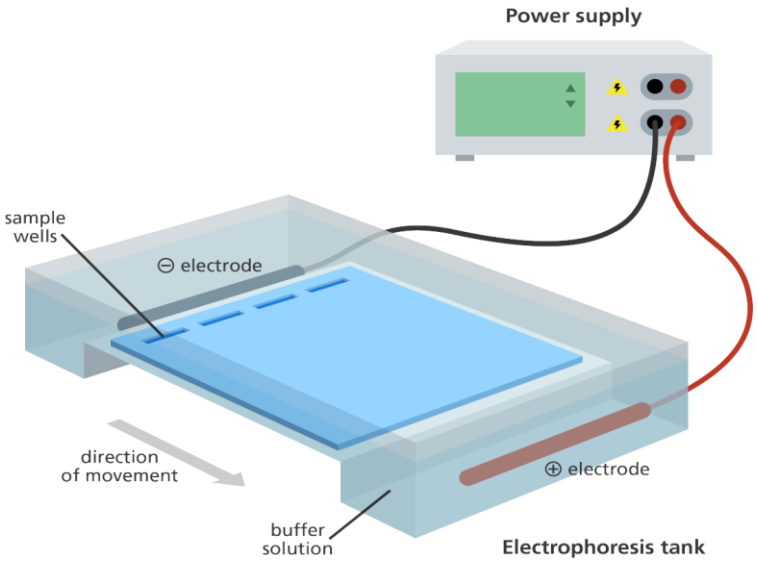
1. أجهزة الطرد المركزي العادي المبرد Cooling centrifuge: تستخدم لفصل الخلايا والمكونات الخلوية مع امكانية تحديد درجة الحرارة اثناء الطرد المركزي.
2. أجهزة الطرد المركزي الدقيق Microcenterfuge : أجهزة منضدية متخصصة. أما مبردة أو عادية، تصل سرعتها الى 15000 دورة لكل دقيقة ، وتستخدم فيها أنابيب خاصة (أنابيب ابندروف Eppendorf tubes) حجمها بين 0.5 الى 5 مل.
3. اجهزة الطرد المركزي عالية السرعة High-speed cooling centrifuge:تمتاز بقدرتها على الطرد المركزي بسرعة عالية وبذلك تصبح الحاجة الى التبريد اساسية لأن زيادة السرعة يعني تولد حرارة عالية جدا. لذلك تصمم أجهزة الطرد المركري عالية السرعة ليكون التبريد أساس فيها ، وتصل سرعة هذه الأجهزة الى 20000 دورة في الدقيقة، وتستخدم فيها أنابيب ذات أحجام من 5 مل فأكثر، وتستخدم هذه الأجهزة لفصل المواد استنادا إلى وزنها وكثافتها حيث تستخدم لفصل الدنا والرنا ، وكذلك لفصل الجزيئات البروتينية كالأنزيمات والهرمونات والببتيدات الاخرى.
4. أجهزة الطرد المركزي فائقة السرعة Ultra-centrifuge : تزيد سرعة هذه الأجهزة على 50000 دورة في دقيقة، وتعمل تحت ظروف مبردة . وفيها أجهزة لشفط الهواء الحار المتولد بسبب الاحتكاك العالي ، وتستخدم هذه

الأجهزة لفصل قطع الدنا و البلازميدات وفي تنقية االدنا و الرنا. ويتم الفصل اعتمادا على الكثافة حيث لا تترسب قطع الدنا في قاع انبوبة الطرد وانما تتجمع القطع بنفس الوزن الجزيئي والكثافة والشكل الفيزياوي بشكل حزم.

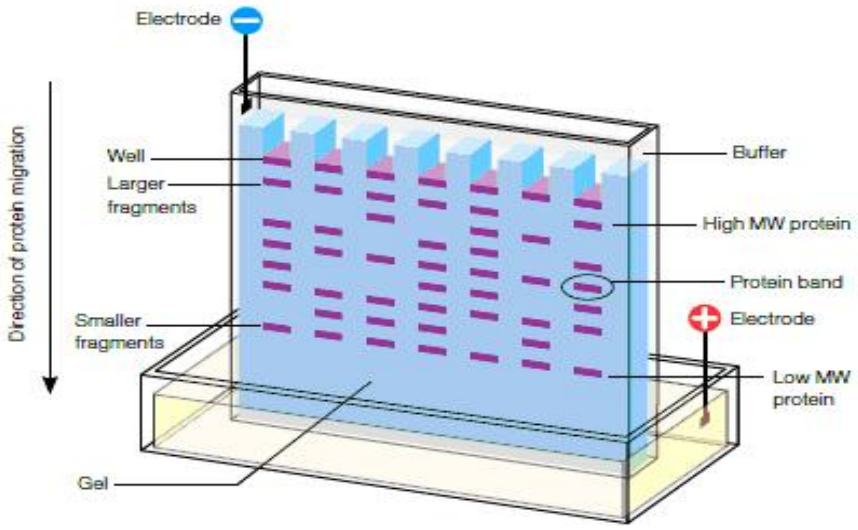
ثانياً: اجهزة الترحيل الهلامي **Gel Electrophoresis**

توجد عدة أنواع من أجهزة الترحيل الهلامي :

1. جهاز الترحيل الافقي Horizontal GE



2. جهاز الترحيل الانبوبي او الشعري capillary Tube GE
3. جهاز الترحيل العمودي Vertical GE



ثالثاً: جهاز المطياف الضوئي **Spectrophotometer**

جهاز يقرأ الامتصاصية Absorbance لكل مادة مذابة بأطوال موجية تتراوح ما بين 160-900 nm ،علما أن اطوال الاشعة فوق البنفسجية تتراوح ما بين 160–400 nm، بينما أطوال الضوء المرئي تقع ما بين .-400 900 nmيقاس تركيز الدنا بالطول موجي فوق بنفسجي عند 260 nm، بينما يقاس تركيز البروتين بالطول موجي فوق بنفسجي عند 280 nm.

رابعا :الكابينة البيولوجية Biological Cabinet

تسمى ايضا Laminar flow Cabinet، وهي حيز صندوقي مجهز بالاضاءة ومصدر للأشعة فوق البنفسجية ومنظومة لسحب الهواء وتعقيمه عبر مرشحات. يتم أنجاز كل الفعاليات البيولوجية في هذه الكابينة لاسيما المتعلقة منها بتجارب البايولوجي الجزيئي لتجنب حصول تلوث قدر الامكان .

خامسا: أجهزة التبريد والتجميد

تستخدم لحفظ المحاليل والعينات والمواد المستخلصة وتختلف بأحجامها ودرجة تبريدها، اذ لكل نموذج او محلول طريقة ودرجة حرارة معينة للحفظ تعتمد على طبيعة النموذج والفترة الزمنية المراد حفظها.

سادساً: جهاز الموجات الكهرومغناطيسية Microwave

جهاز تسخين الطعام باستخدام الموجات الكهرومغناطيسية الأقصر من موجات الراديو. يقوم الجهاز بتسخين الطعام عن طريق أطلاق جزيئات كهرومغناطيسية تتحرك بسرعة كبيرة وتصطدم بجزيئات الماء (الموجودة داخل الطعام مما يجعليها تعفقد توازنها وتدور بسرعة حوال نفسها. جزيئات الماء كمعظم الجزيئات الأخرى لها شحنة موجبة في أحدى النهايتين وشحنة سالبة في النهاية الأخرى، ولهذا تدور حول نفسها لغرض الوصول إلى حالة التوازن، ويؤدي دوران جزيئية الماء إلى توليد طاقة تؤدي الى دوران الجزيئات المحيطة بها مثل جزيئات البروتينات والكاربوهيدرات والشحوم وغيرها مما يؤدي إلى تسخين الطعام بسرعة. يستخدم هذا الجهاز في تحضير هلام الاكروز.

سابعاً : أجهزة التقطير Distillation units

هنالك عدة أنواع منها : –

1. جهاز المرحلة الواحدة Single stage : يقوم بتبخير الماء ثم تكثيفة لمرة واحدة.
2. جهاز المرحلتين Double stage: يقوم بتبخير الماء ثم تكثيفه لمرتين.
3. جهاز انتاج الماء اللايوني Demonized water: يقوم بازالة الأيونات من الماء ولكن لايعقمه.
4. جهاز الإنتاج ماء لا أيوني ومعقم معا ولهذا الماء أهمية كبيرة في مجال البايولوجي الجزئي.

ثامناً: الحمام المائي Water bath :

الحمام المائي عبارة عن جهاز مخبري مصنوعة من وعاء معدني على الأغلب مملوءة بالماء الساخن. يتم استخدامه لاحتضان العينات في الماء عند درجة حرارة ثابتة لفترة زمنية طويلة. تحتوي جميع الحمامات المائية على واجهة رقمية أو واجهة بمؤشر تتيح للمستخدمين بضبط درجة الحرارة المطلوبة.

وتستخدم أيضا الحمامات المائية لتسخين الكواشف ولتذويب بعض المواد و لحضن البيئات أو الخلايا النامية في الأطباق البترية، كما أنه يستخدم لتمكين تفاعلات كيميائية معينة تحدث عند درجة حرارة عالية. و يعتبر الحمام المائي مصدر مثالي لتسخين المواد الكيميائية القابلة للاشتعال بدلاً من اللهب المكشوف لمنع الاشتعال. كما تستخدم أنواع مختلفة من الحمامات المائية اعتمادا على نوع التطبيق . فالحمامات المائية يمكن استخدامها لبيئات العمل التي تتطلب درجة حرارة لا تتجاوز 99.9 درجة سيليزية.

تاسعاً: جهاز تحليل الاحماض الامينية :Amino Acid Analyzer : تستخدم لمعرفة تسلسل الاحماض الامينية في البروتين او البولي ببتايد وتركيزها ونسبها.

عاشراً: جهاز البلمرة المتسلسل **polymerase chain reaction :** سيتم التطرق اليه بمحاضرة مفصلة.