

## قوس الوان

### تمرین استعمال فصل كهربائي هلامي ( اלקترولفورزا בג'ל) للطلاب

#### مقدمة:

فصل هلامي كهربائي هي طريقة تمكن فصل مركبات عن بعضها من خليط حسب سرعة حركة هذه المركبات في حقل كهربائي، مثل، فصل مقاطع DNA مختلفة.

يتم الفصل داخل جل أجروز وهو مركب هلامي (ليس صلبا ولا سائلا).

العوامل الأساسية التي تؤثر على سرعة حركة المركبات هي الشحنة الكهربائية لهذه المواد وكتلتها المولارية.

#### لمعلوماتكم

الكتلة المولارية هي الكتلة بالغرام لعدد ثابت من الجزيئات. كلما انت الكتلة المولارية للمادة أكبر كانت حركة جزيئاتها في الجيل أبطأ.

### مبدأ عمل جهاز فصل كهربائي هلامي (الالكتروفوريزا بالجيل)

يمكن توضيح أحد المبادئ الذي تعمل حسه هذه الطريقة بالوصف التالي:

" تخيلوا غابة كثيفة جدا وشائكة، فيها كل شجرة بعيدة خطوة واحدة عن الشجرة الأخرى. يريد فأر وإنسان أن يركضا في الغابة ويصلان من نقطة A إلى النقطة B كلاهما انطلق في نفس الوقت".

من يصل أولا؟ .....

فسروا تحديكم: .....

في جهاز الفصل الكهربائي الهلامي يوجد جل أجروز، بدلا من الغابة الكثيفة، مبناه شبكي. وبدل الإنسان والفأر اللذان يركضان في الغابة مركبات بأطوال مختلفة تتحرك في الجل.

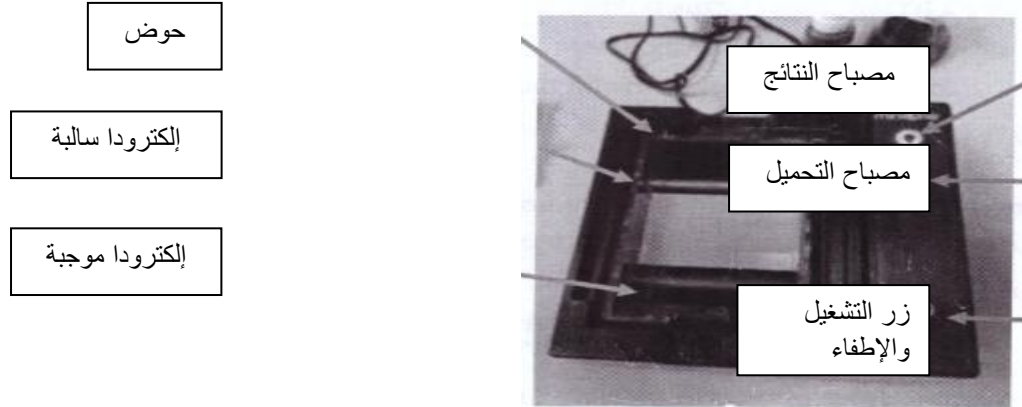
الجل في الجهاز مغمور بمحلول بوفر TAE الموصل للتيار الكهربائي. في الفراغات الصغيرة في الجل تتحرك المركبات ذوات شحنة كهربائية: ذوات الشحنة الموجبة تتحرك نحو الالكترودا السالبة، وذوات الشحنة السالبة تتحرك نحو الالكترودا الموجبة ( صورة 1).

في التمرين "قوس الألوان" ستتحصون حركة جزيئات صبغة في الجل وأيضا فصل أصباغ موجودة في الخليط.

تتأثر سرعة حركة جزيئات الأصباغ بالكتلة المولارية وبالشحنة الكهربائية وشدتها والمبنى الفراغي للجزيئات.

في البنود ي ح - ي ط ستتحصون فصل بين أصباغ مختلفة عن طريق مقارنة النتائج (بقع الألوان ومكانها في الجل) التي ستحصلون عليها عند فصل الأصباغ في الخليط مع نتائج حركة الأصباغ المنفردة، عندها ستتمكنون من أن تميزوا مركبات الخليط.

صورة 1: جهاز الفصل الهلامي الكهربائي ( أלקטרופورזה בגיל)



לأي اتجاه تتحرك الجزيئات ذات الشحنة الكهربائية السالبة؟ .....

لأي اتجاه تتحرك الجزيئات ذات الشحنة الكهربائية الموجبة؟ .....

في هذا التمرين ستتعرفون على جهاز الفصل الهلامي الكهربائي (أלקטרופورזה בגיל) وستستعملونه من أجل:

- فحص اتجاه حركة جزيئات الأصباغ (الجدول 2) والمسافة التي تقطعها.
- فصل جزيئات أصباغ موجودة في خليط عن بعضها. ماهية الأصباغ وصفاتها غير معروفة لكم.

**السؤال 1**

أ. فسّروا كيف تساعد صفات جل الأجرور بفصل الجزيئات التي في الخليط عن بعضه؟

ب. ما هي القوة التي تؤدي إلى حركة الجزيئات في الجيل؟

**السؤال 2**

ما هي أهمية محلول البوفر TAE الذي نضيفه إلى الحوض الذي في جهاز الفصل الهلامي الكهربائي (أלקטרופورזה בגיל)؟

### الجدول 1: ادوات ومواد.

قبل البدء بالعمل تعرّفوا على الأدوات والمواد التي بحوزتكم.

وصف الغرض	ملاحظات
جهاز الفصل الهلامي الكهربائي ( أלקטרופورזה בג'ל ) يشمل علبة، قالبان ومشط لتحضير الجل (صورة 1).	الجهاز موجود على طاولة المعلم
وعاء مشار إليه ب TAE وفيه محلول بوفر TAE	على طاولة المعلم يوجد وعاء فيه 125 ملل محلول بوفر لكل مجموعة
ميكروبيبيت بحجم $20 \mu\text{l} - 2 \mu\text{l} +$ نبيبات.	
وعاء نفايات للتبيبات المستعملة	
5 أنابيب ايندورف، في كل واحدة منها محلول مختلف من الصبغة (التفصيل في الجدول 2)	الكتلة المولارية لكل واحدة من الأصباغ مسجلة في الجدول 2
انبوبة ايندورف مشار إليها "خليط صبغات" وفيها خليط صبغات	غير معروفة لكم ماهية الأصباغ في الخليط
وعاء مشار إليه "أجروز" وفيه محلول جل أجروز	ما يقارب 25 ملل جل أجروز بتركيز 1%.
ورق تنشيف	حسب التعليمات أثناء التجربة ستسخنون الجيل حتى يتحول إلى سائل
سكين للاستعمال مرة واحدة	
ميزان حرارة	
قفازات، روب، نظارات وقاية.	

### الجدول 2: أسماء الأصباغ وكتلتها المولارية

أنبوبة الايנדورف	اسم الصبغة	الكتلة المولارية (غم/مول)
1	ميثيلين أزرق	319
2	أحمر متعادل	289
3	تيمول ازرق	466
4	أورنج G	452
5	سيرينين	351

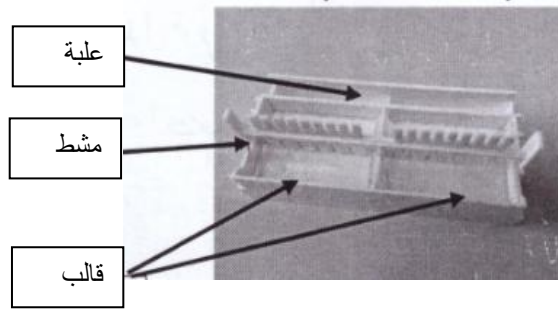
## סיר העמל

### 1. תחזיר הגל

אראו בתמען הבנוד א – י ב. תאכדו אן התעלמות ואכה לכמ וענדהא فقط אבדאו بالتنفيز.

أ. ثبتوا المشط في وسط القوالب (صورة 2).

صورة 2: علبه وبها مشط لتكوين آبار في الجيل وقالبين لسكب جل الأجرز



في البنود ب – د يلزم مرافقة عامل المختبر

ب. تحت تصرفكم وعاء فيه جل أجزز. حرزوا بواسطة سكين عدة شقوق (هذه العملية تؤدي إلى تسريع التسخين)

ج. أدخلوا الوعاء الذي فيه الجل إلى التسخين بميكروجال لمدة 10 ثواني. إذا لم ينصهر الجل أعيدوه إلى الميكروجال وسخنوا لمدة 10 ثوان أخرى.

د. اصهروا الجل حتى تحصلوا على محلول صاف. استعينوا بقفازات لحمل الأدوات الساخنة من أجل وضع الوعاء على طاولة المعلم.

اطلبوا من عامل المختبر ان يفحص إذا أصبح المحلول صاف. إذا لم ينصهر كل الجل أكملوا التسخين لمدة 10 ثوان أخرى.

هـ. اتركوا المحلول حتى يبرد لمدة 1-2 دقيقة.

بين الحين والآخر هزوا الوعاء بلطف حتى يبرد المحلول بشكل موحد.

أدخلوا ميزان حرارة للجل في الوعاء وانتظروا حتى يبرد المحلول ل 50 م ولكن لا تدعوه يتصلب.

و. اسكبوا الجل للقالب بحيث تكون أسنان المشط مغمورة في الجل، لكن قاعدة المشط تكون خارج الجل (صورة 2).

ز. انتظروا حتى تصلب الجل ( حوالي 10 دقائق، متعلق بدرجة الحرارة).

انتبهوا: لا تحركوا القالب حتى يتصلب الجل.

في البنود ح – ي ب يلزم مرافقة عامل المختبر

ح. اطلبوا موافقة عامل المختبر من أجل إخراج المشط من الجل المتصلب.

ط. عندما يتصلب الجل يجب إخراج المشط. افعلوا ذلك بالطريقة التالي:

אמסכו בטרפי המשט גר המגמורין פי الجل وأخرجوا المشط بلطف من الجل.

י. جففوا بلطف بواقي الجل في أطراف القالب بواسطة ورق تنشيف.

י א. تأكدوا ان صفيحة البلاستيك السفلى الموضوعه في قاع الحوض في جهاز الفصل الكهربائي الهلامي (אלקטרופורیزה) هي باللون الرمادي (هكذا تستطيعون أن تشاهدوا النتائج).

- ضعوا القالب في المكان المناسب في جهاز الفصل الكهربائي الهلامي (صورة 1).

י ב. انقلوا ببطء البوفر للحوض للجهاز، افعلوا ذلك بالطريقة التالية:

- انقلوا البوفر من القنينة إلى قارورة.

- بواسطة القارورة اسكبوا البوفر على سطح قالب الجل في الطرف القريب من الإلكترودا السالبة. بحيث يكون السائل في الحوض أعلى بقليل (1 – 2 ملم) من ارتفاع الجل في القالب.

## II. تحميل الآبار بالأصبغ

اقرأوا بتمعن البنود ي ج – ي د تأكدوا أن التعليمات واضحة وبعدها فقط ابدأوا بالتنفيذ.

י ג. عليكم نقل  $10\mu$  من المحلول من أنبوبة ابندورف المشار إليها "1" للآبار المناسبة في الجيل.

اعملوا حسب التعليمات التالية:

- استعينوا بميكروبيبيت بحجم 2 –  $20\mu$  (p20) واضبطوه لحجم  $10\mu$  ضعوا تيب ملائم.

- شغلوا مصباح التحميل (صورة 1).

- عليكم تنفيذ التحميل وأنتم متكونون على طاولة العمل بواسطة أكواعكم. (صورة 3). هذه الوضعية تثبت الميكروبيبيت.

- امتصوا محلول صبغة من انبوبة الابندورف 1 ( اغمسوا طرف التيب فقط في محلول الصبغة كي لا يعلق سائل اضافي في طرف التيب الخارجي).

- جففوا بلطف باقي الصبغة من الطرف الخارجي لطرف التيب.

- احملا الميكروبيبيت فوق الحفرة "1" (الأولى من جهة اليسار).

- أدخلوا تيب بلطف للبيئر وفرّغوا المحلول داخل البيئر.



صورة 3: طريقة مسك الميكروبيبيت أثناء تحميل الآبار بمحلول الأصبغ.

### תזכיר:

- بعد نقل المحلول يجب تبديل التيب بالميكروبييت.
- يجب رمي التيب المستعمل لوعاء النفايات.

י.ד. נְפְדוּא תעלימאט הבנדי ג.ב.א.למחולול פי אנבויע האבנדורף המשר המר "2" ואלבטר "2".

- بنفس الطريقة انقلوا المحاليل من الأنايبب 3، 4، 5، للبتر 3، 4، 5 على التوالي.
- خليط الأصباغ إلى البئر في أقصى اليمين (بئر 6).

הגדול 3: תרטיב תחמיל מחאליל האשבאג פי הגיל

1	2	3	4	5	6	رقم البئر
مثيلين أزرق	أحمر متعادل	تيمول أزرق	اورنج G	سيبرينين	خليط الأصباغ	الصبغة

- في نهاية التحميل أطفئوا مصباح التحميل، غطوا جهاز الفصل الكهربائي الهلامي بغطاء البلاستيك البرتقالي.

### III. تسيير الأصباغ في الجيل

ط. و. بعد أن تحصلوا على موافقة المعلم شغلوا جهاز الفصل الكهربائي الهلامي بواسطة الضغط على زر التشغيل .

ممنوع فتح علبة الجهاز ما دام الجهاز يعمل ويمر به تيار كهربائي!

يمكن تشغيل مصباح مشاهدة النتائج (صورة 1) لمدة قصيرة فقط.

ط.ز. بعد أن اشتغل الجهاز لمدة 5 دقائق انتبهوا أنكم تلاحظون تقدم الأصباغ في الج. إذا لم تروا ابتعاد الأصباغ عن الأبار على الأقل في قسم من الأبار – بلغوا المعلم.

ي. ز. أكملوا تشغيل الجهاز حتى يقطع محلول الصبغة الأسرع ثلثي المسافة من خط النهاية في طرف الج. سيستغرق ذلك حوالي 10 دقائق.

أثناء انتظاركم سجلوا الساعة أجبوا عن الأسئلة 3، 4.

### سؤال 3

חמל طلاب פי אבאר גהאז הפבסל הכהרבאני ההלאמי (אלקטרופורזיה) מאדתינ A וB להמא נפס הכתלה המולאריע. סיר الطلاب המאדתינ פי הגהאז. بعد 15 دقيقة فحصوا نتائج ووجدوا أن المادة بقي بالقرب من البئر، والمادة ابتعد 2 سم من البئر باتجاه الالكترودا الموجبة.

اقترحوا تفسيراً ممكناً لنتائج التجربة.

#### سؤال 4

סייר طلاب نفس الصبغة على جلين مختلفين ووجدوا أن الصبغة في الجل الأول ابتعدت 3 سم من البئر وفي الجل الثاني، في نفس الوقت، الصبغة ابتعدت 4 سم من البئر. في التفسيرين الصبغة تحركت نحو القطب الموجب. اقترحوا تفسيراً ممكناً للفروق في بعد الصبغة في الجلين.

#### IV. فحص النتائج

י. ח. بعد مرور 10 دقائق من الوقت الذي سجلتم في البند י ז نادوا المعلم وتشاوروا معه حول موعد اطفاء الجهاز.

بعد أن حصلتم على موافقة المعلم، أطفنوا الجهاز ولا تزيلوا الغطاء البرتقالي.

י. ط. أشعلوا مصباح النتائج (صورة 1) وانظروا على الجيل من خلال الغطاء.

- انتبهوا لوجود أو عدم وجود خطوط (bands) في كل واحد من الأعمدة.

تنبيه:

ضعوا كاميرا الهاتف النقال على الفتحة في القسم العلوي من الغطاء البرتقالي وصوروا النتائج التي حصلتم عليها في الجل. غالباً ما تظهر الخطوط في الصورة بارزة أكثر بالمقارنة مع يظهر بالمشاهدة.

أطفنوا مصباح النتائج وأزيلوا الغطاء البرتقالي.

- أخرجوا بحذر القالب والجل فيه من حوض الجهاز (صورة 1).

- والجل فيه من حوض الجهاز (صورة 1).

- بمساعدة عامل المختبر أو المعلم افصلوا بلطف الجل من القالب وضعوه على الورق الأبيض الذي على طاولتكم.

- صوروا النتائج مرة أخرى.

ك. أ. تأكدوا ان القالب الشفاف الذي كان بها الجل موجود على الطبق.

ك. ب. ارموا الجل، الأتاييب والقفازات إلى وعاء النفايات.

خذوا من عامل المختبر قطن منقوع بكحول، نظفوا مسطح العمل التي عملتم فيها. اغسلوا أيديكم بالماء والصابون.

