المختبر السابع

**الترحيل الكهربائي بالهلام**

**gel electrophoresis**

يعرف الترحيل الكهربائي بأنه حركة الأيونات والجزيئات العملاقة المشحونة charged macromolecules (كالـ DNA, RNA, proteins) خلال وسط معين (هلام الأكاروز أو هلام متعدد الأكريلامايد) الحادثة عند تسليط تيار كهربائي.

إذا كان للجزيئة محصلة شحنة سالبة أو موجبة, فإنها سوف تهاجر في المجال الكهربائي – إن الجزيئة ذات الشحنة السالبة (الأنيون anion) تهاجر وتنجذب إلى القطب الموجب ( الأنود anode), والجزيئات ذات الشحنة الموجبة (الكاتايون cation) سوف تهاجر وتنجذب نحو القطب السالب (الكاثود cathode). يتم الترحيل في هلام يتكون من ثقوب مجهرية دقيقة microscopic pores , ويقوم هذا الهلام بإعاقة حركة الجزيئات المختلفة من خلال التأثير المنخلي sieving effect لثقوبه الدقيقة, حيث إن الجزيئات الصغيرة أو المدمجة تهاجر بشكل أسرع خلال الهلام من الجزيئات الأكبر أو غير المتناظرة, والتي تواجه مقاومة احتكاكية frictional resistance أثناء حركتها في شبكة الهلام الدقيقة gel meshwork. لذا تستخدم تقنية الترحيل الذكهربائي بشكل واسع في علم الخلية cytology وفي الوراثة الجزيئية molecular genetics لفصل الجزيئات الكبيرة العملاقة macromolecules. 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.

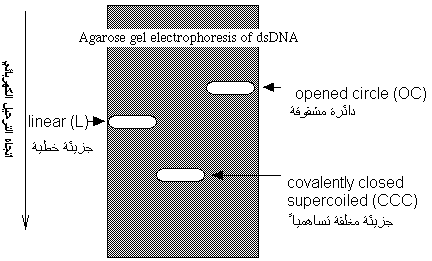
تحمل جزيئات الـ DNA والـ RNA شحنة سالبة أصيلة بسبب عمودها الفقري المحتوي على الفوسفات. أما البروتينات, فإنها تحمل شحنات مختلفة على سطحها باختلاف شحنات الأحماض الأمينية الموجودة فيها. ولهذا وبالنسبة للبروتينات فقط, فان محصلة شحنة الجزيئات تلعب دورا مهما في حركتها في الهلام.

* **العوامل التي تتحكم بحركة جزيئات الـ DNA في الهلام:**

1. الشحنة charge (فيما إذا لو كانت سالبة أو موجبة)
2. حجمها أو وزنها الجزيئي formula weight (فالجزيئات الصغيرة تتحرك خلال الهلام بصورة أسرع من الجزيئات الكبيرة)
3. حجم الثقوب pore size (كلما كان حجم الثقوب صغيرا كلما كان ذلك ملائما لفصل الجزيئات الصغيرة والعكس بالعكس)
4. قوة التيار الكهربائي the strength of the electrical field (يستخدم التيار الكهربائي العالي للفصل السريع للجزيئات الصغيرة بشكل عام ولكن على أن لا يكون عالي جدا لأن هذا يؤدي إلى تحطم الجزيئات عند تعرضها إليه. أما التيار الواطيء فيستخدم عادة لفصل الجزيئات الكبيرة التي تتشوه عند الارتفاع البسيط لقوة التيار, ولكن على أن لا يكون التيار واطيء جدا لأنه كلما كان التيار واطئا كان وقت الترحيل كبيرا, وكلما ازداد وقت الترحيل ازدادت نسبة تعرض حزم الجزيئات المرحلة إلى حالة الانتشار band diffusion والذي هو غير مرغوب أثناء عملية الترحيل في الهلام)

تهاجر جزيئات الـ DNA ثنائية الشريط بشكل مختلف اعتمادا على كون الـ DNA دائري circular أو خطي linear. تهاجر الجزيئات الخطية عبر ثقوب الأكاروز بشكل يشبه الأفعى من خلال الثقوب. أما الجزيئات الدائرية المغلقة تساهميا ً covalently closed circular molecules أو CCC فأنها مدمجة compact أكثر لذا تهاجر عبر الثقوب بسهولة أكبر. وغالبا ما تهاجر الجزيئات الخطية ببطء أكثر مقارنة بجزيئات الـ CCC.

هنالك نوعين من الـ DNA الدائري: النوع المغلق closed, والنوع المفتوحopened. وفي حالة النوع المغلق أو CCC, فان كل أحماضها النووية ترتبط بواسطة آصرة فوسفاتية ثنائية الأستر phosphodiester bond وتكون كذلك ملتفة بشكل فائق supercoiled. أما النوع المفتوحopen circle (OC) , فلها على الأقل آصرة من نوع phosphodiester مكسورة. يدعى الـ opened DNA بالـ DNA المسترخي أو relaxed DNA, لأن الضغط الموجود في جزيئات الـ CCC قد تم تحريره, حيث أن شقا واحدا في الآصرة phosphodiester هو كفيل بالتخلص من عملية اللف الفائق supercoiling بشكل كامل.



**شكل** **يبين ترحيل ثلاث جزيئات DNA لها نفس التسلسل إلا أنها تختلف بالشكل فقط.**

ولو أن كل جزيئات الـ DNA أعلاه لها نفس عدد النيوكليوتيدات ونفس الـ formula weight, إلا أنها تهاجر بشكل مختلف خلال الهلام.