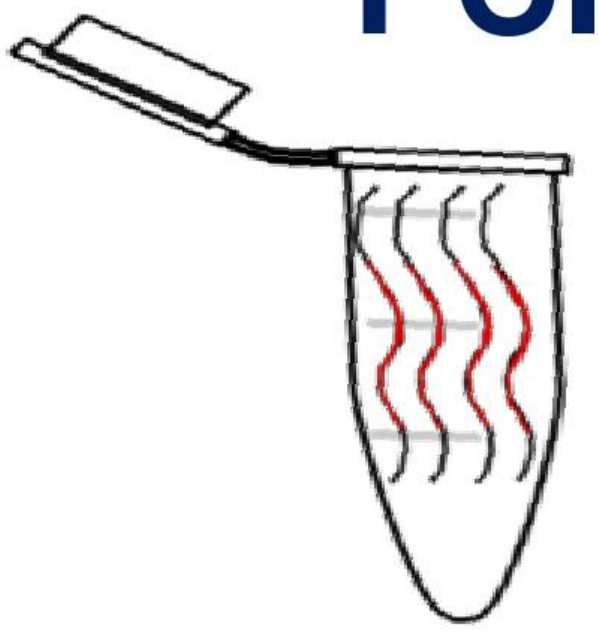
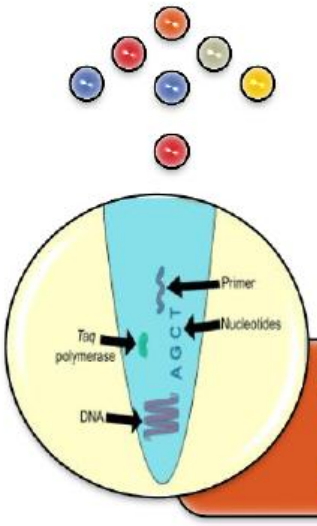
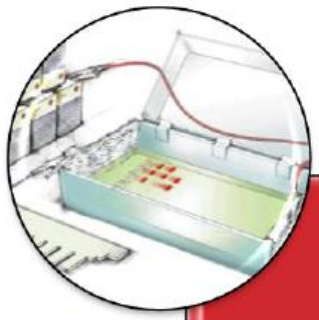
تفاعل البلمرة المتسلسل
PCR



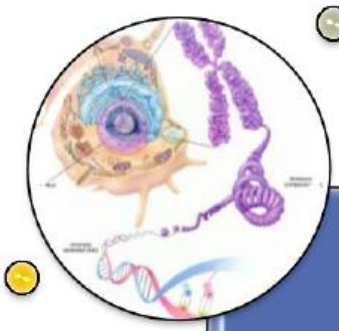
Privacy



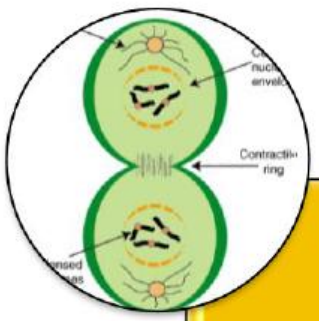
تفاعل البلمرة المتسلسل



التفريد الكهربي



استخلاص DNA



الانقسام الميتوزي

http://alazharyouth.yoo7.com/t680-topic

اهداف الدرس العملي

- **<u>الهدف العام للدرس العملى:</u>**

أن يتعرف الطالب على الجهاز الذى يمكن عن طريقه اكثار لجين معين او التفرقه بين الانواع من خلال ايجاد الجين المختلف.

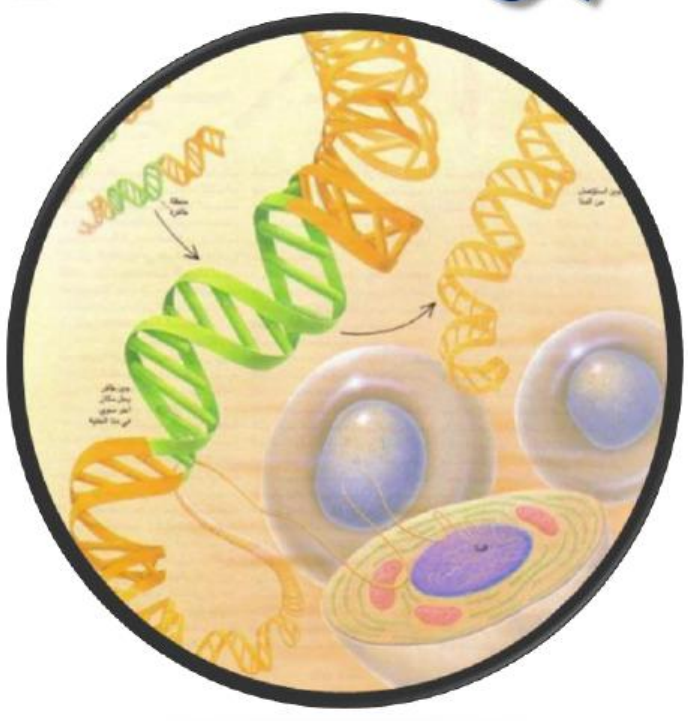
عناصر الاساسيه للدرس

Privacy

عناصر الدرس

- الفرق بين تكرار المادة الوراثية في الخلايا الحيه ومعملياً بواسطة PCR.
- مكونات تقنية PCR
- مراحل التقنية
- شكل جهاز Thermo cycler
- الكشف عن نجاح التقنية
- تطبيقات التقنية

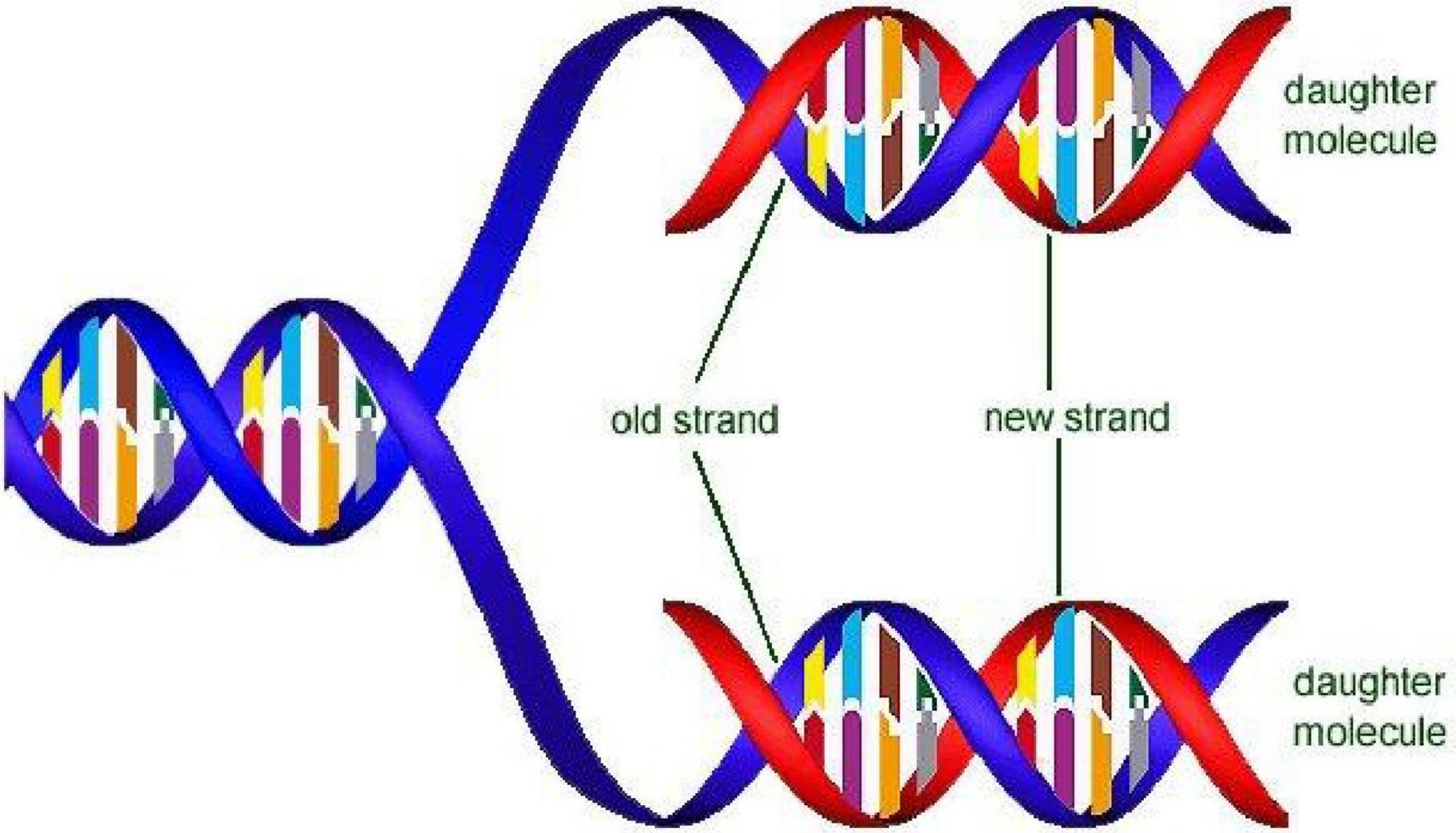
الفرق بين تكرار المادة الوراثية في الخلايا الحيه ومعملياً بواسطة PCR



http://www.oloommagazine.com/Articles/ArticleDetails.aspx?ID=206

Privacy

تكرار DNA في الخلايا الحيه



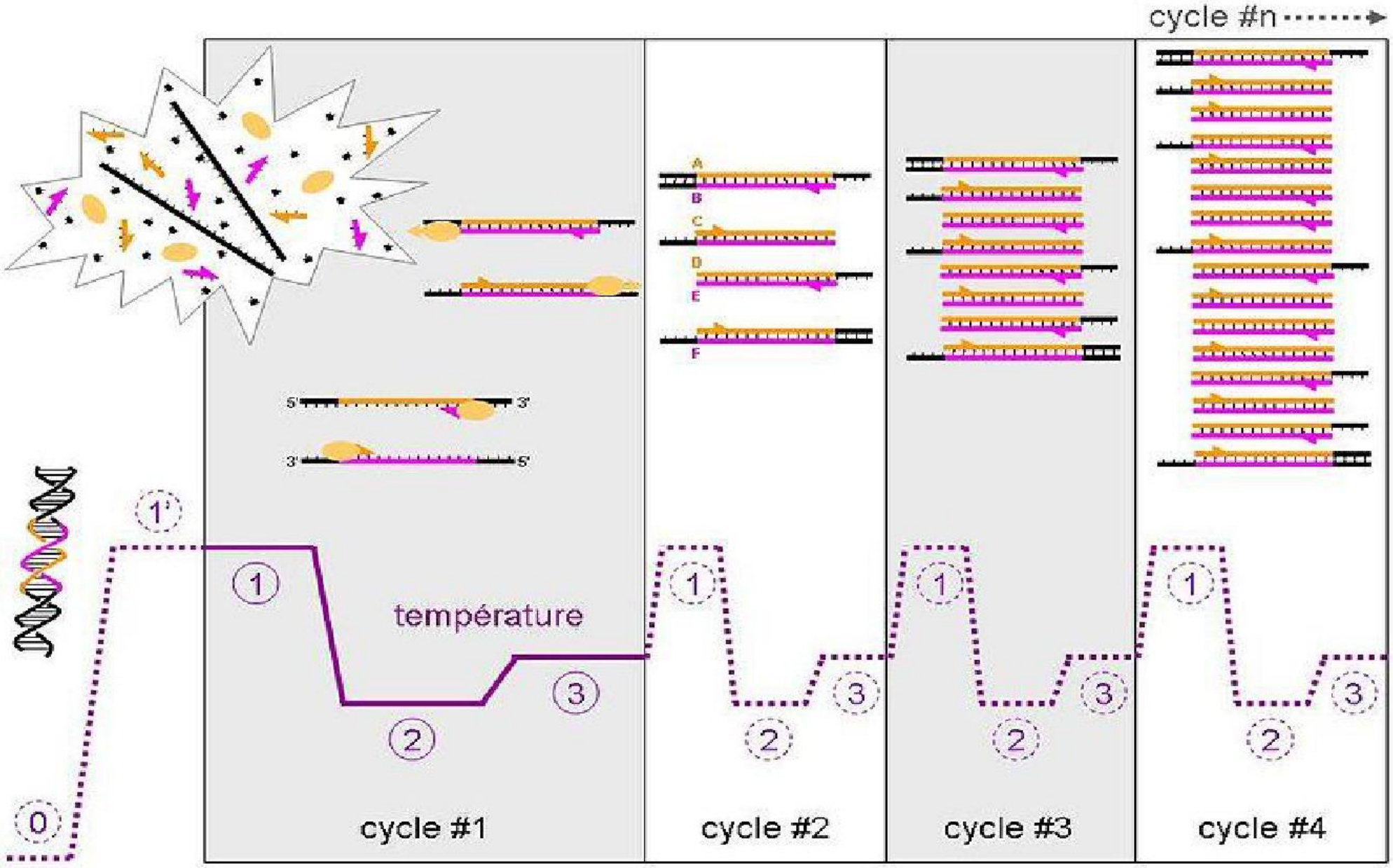
https://www.ied.edu.hk/biotech/eng/classrm/class_gene2.html

Privacy

تكرار DNA في الخلايا الحيه

- تقوم الخلية الحية بتكرار المادة الوراثية DNA تمهيداً للإنقسام الخلوي (كما في الإنقسام الميتوزي) ويتم ذلك باستخدام الإنزيمات ومجموعة من البروتينات حيث يتم فصل شريطي DNA عن بعضهما لتكوين ما يعرف بالقالب **Template** ثم تتحد قطعة صغيرة من **RNA** (البادئ Primer) مع أحد الخيطين المفردين من DNA، يلي ذلك بناء جزء مكمل للخيط المفرد (القالب) إعتمادا على البادئ (قطعة RNA) باستخدام إنزيم بناء DNA.

تكرار DNA بواسطة تقنية PCR



http://ed.ted.com/on/1GwJkDFE

تكرار DNA بواسطة تقنية PCR

يعتبر تفاعل البلمرة المتسلسل PCR إحدى تقنيات علم الأحياء الجزيئي Molecular Biology والتي تستخدم في إكثار قطعة محددة من DNA (جين أو جزء من جين أو تتابع معين من DNA) لملايين ومليارات المرات في ساعات محدودة (2- 4 ساعات) داخل المعمل *in vitro* محاكيا في ذلك التكرار الطبيعي لجزئ DNA داخل الخلية الحية *in vivo* مع بعض الاختلافات.

Privacy

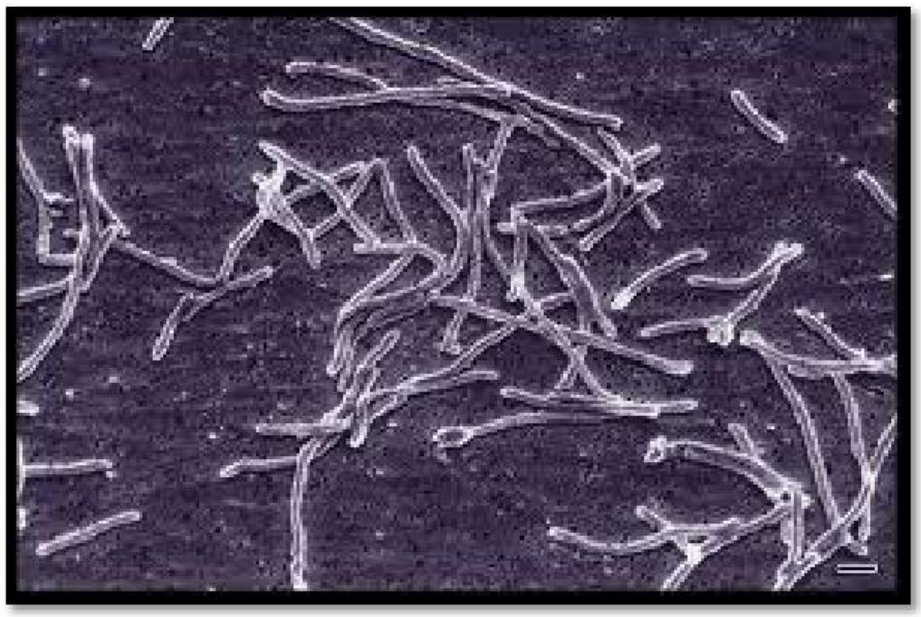
تكرار DNA بواسطة تقنية PCR

- يعتمد التفاعل على التغيير الفيزيائي في درجات الحرارة الاكثار او تكرار جزئ من DNA في المعمل باستخدام جهاز متخصص للتحكم في درجات الحرارة عن طريق التسخين والتبريد.
- التفاعل هو محاكاة للتكرار الحيوى لجينوم الكائنات الحية مع اختلاف اعتماد الأخير اعتمادا كاملا على الانزيمات الحيوية.

Privacy

تكرار DNA بواسطة تقنية PCR

- يعتمد التفاعل على انزيم بناء واحد معروف مجازا باسم Taq DNA polymerase، وهو اختصار نشأ من اسم الكائن المستخدم للحصول على هذا الانزيم المعروف باسم *Thermus aquaticus* او بكتيريا الآبار الحارة.

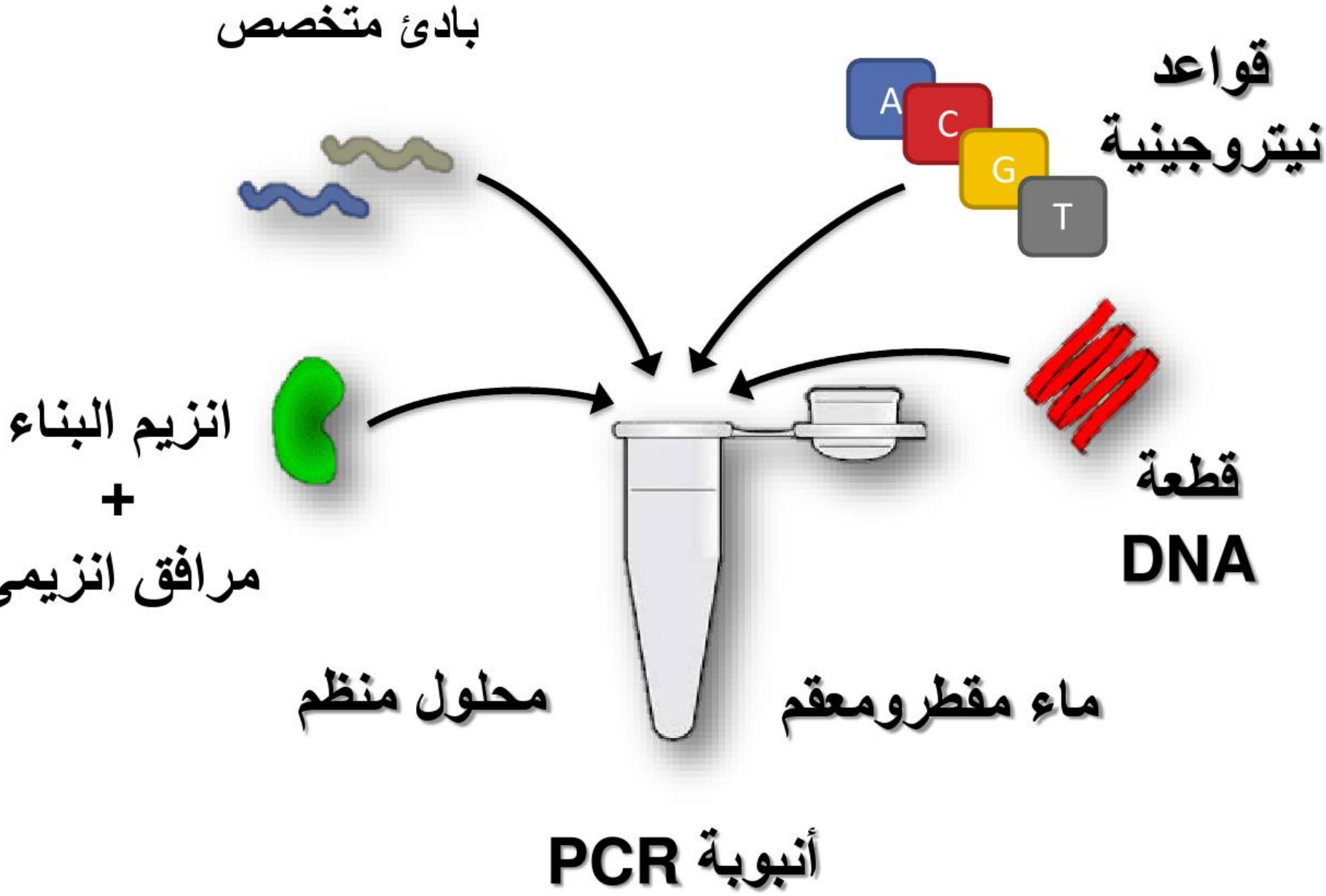


http://bioinfo.bact.wisc.edu/themicrobialworld/LAHT/b27.html
http://en.wikipedia.org/wiki/Thermus_aquaticus

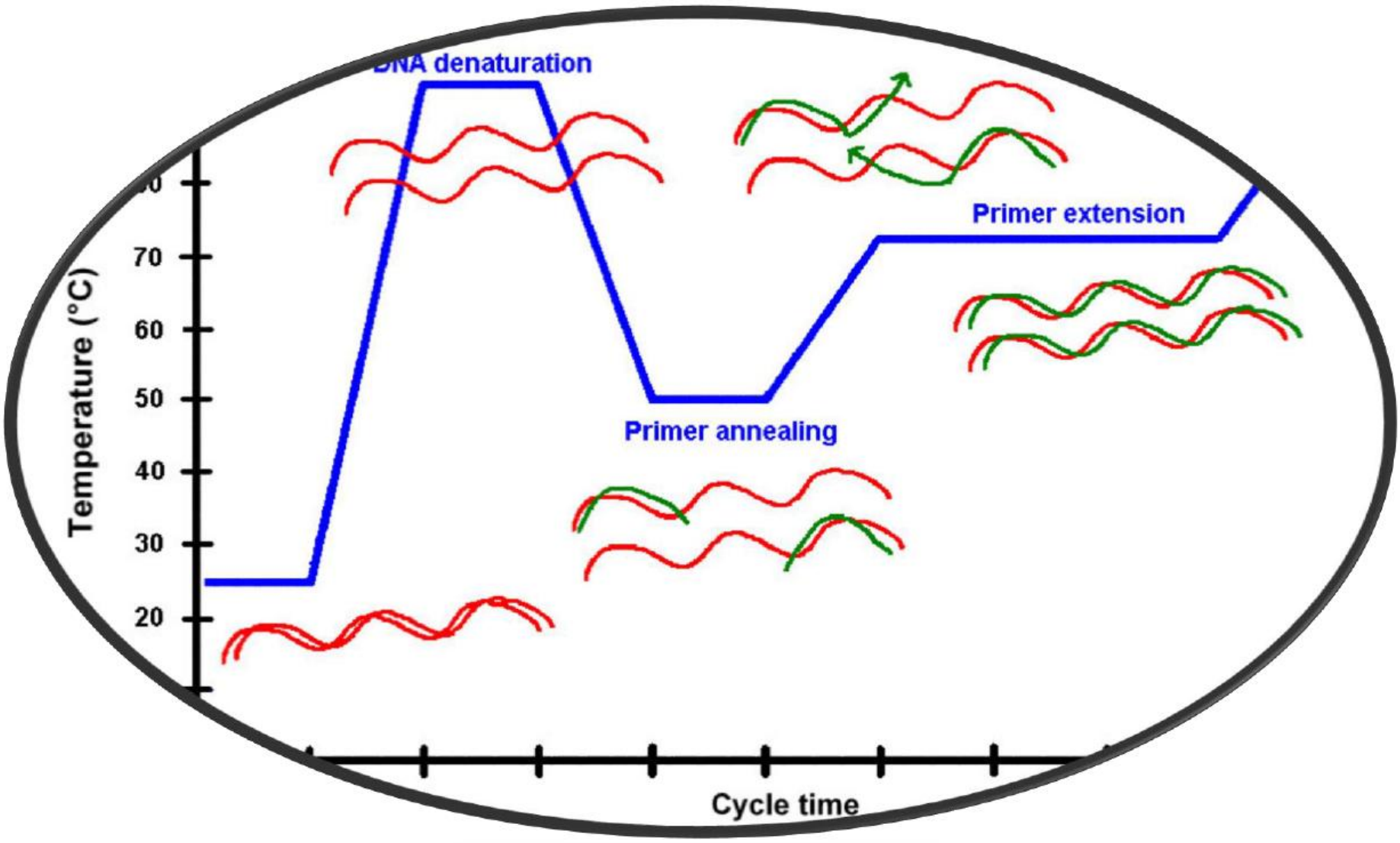
Privacy

مكونات تقنية PCR

مكونات التفاعل



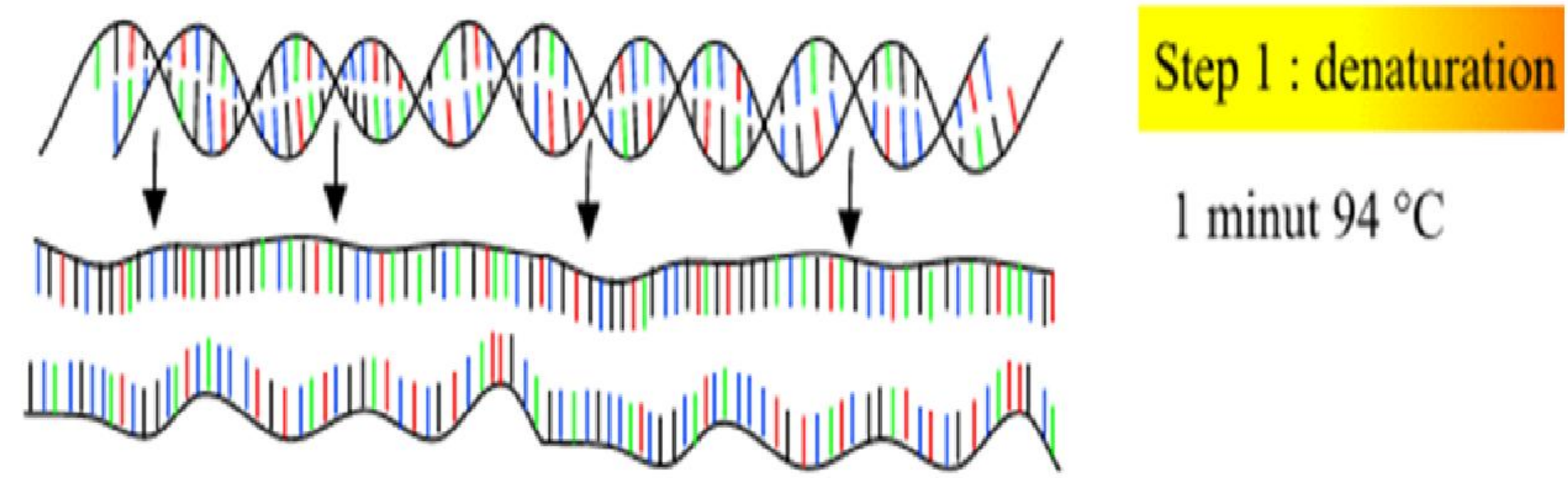
مراحل التقنية



http://biosistemika.com/workshops/qpcr-basics/

1.Denaturation at 94°C

يتم فيها تفكيك خيطي DNA عن بعدهم وذلك لان الروابط بين الخيطين هي روابط هيدروجينية لا تحتاج الا الى ارتفاع درجات الحرارة لكي تنكسر هذه الروابط .

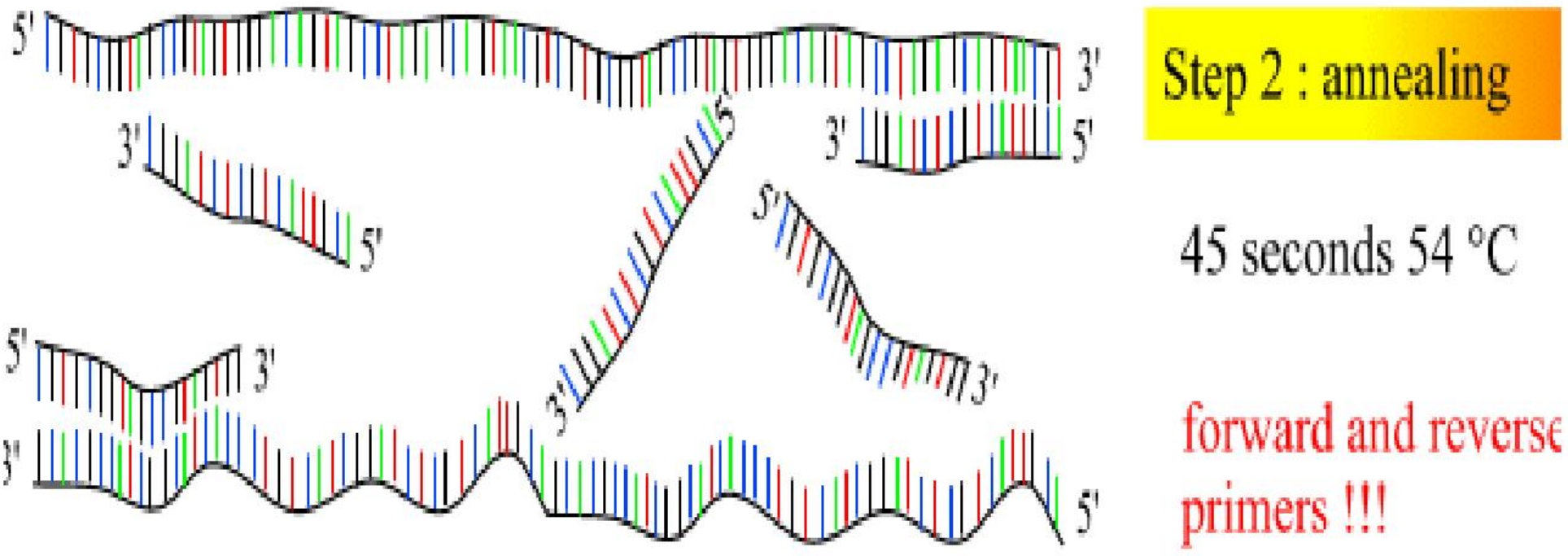


http://www2.le.ac.uk/departments/genetics/vgec/highereducation/topics/recombinanttechniques

Privacy

2. Annealing at 35-65°C

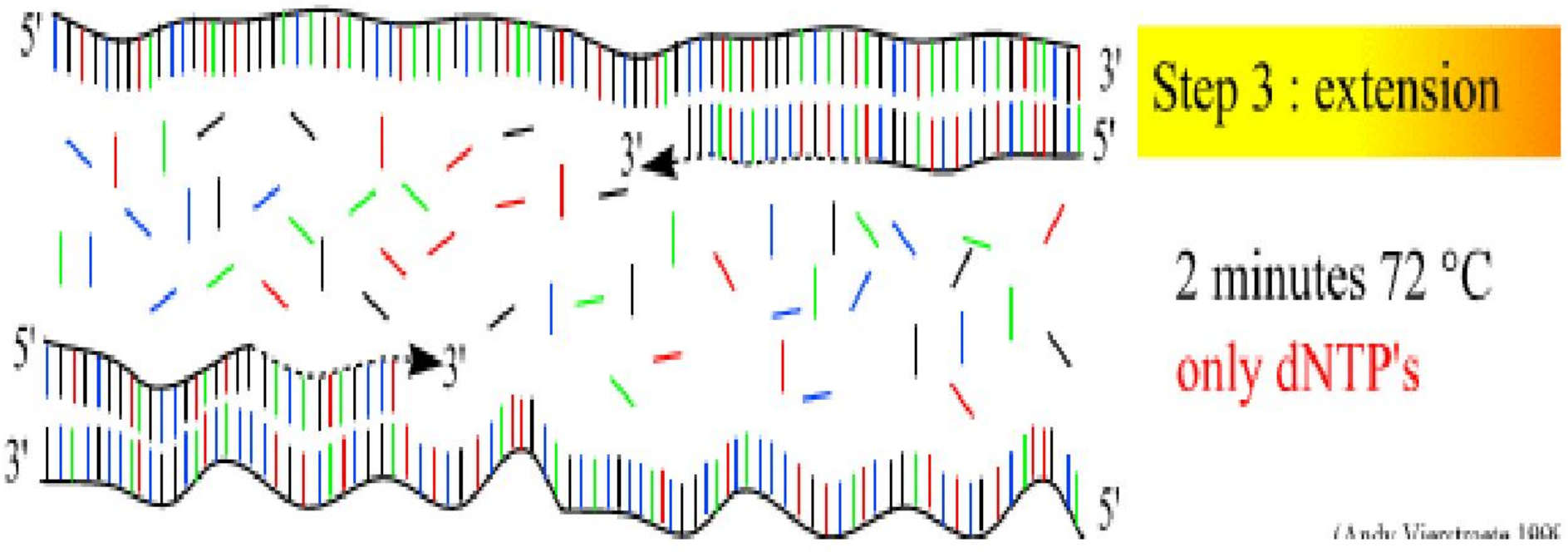
- هى درجة الحرارة اللازمة لارتباط الـ Primer مع قطعة الـ DNA المكمله لها



http://www2.le.ac.uk/departments/genetics/vgec/highereducation/topics/recombinanttechniques

3. Extension/Elongation at 72°C

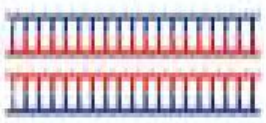
- هى الدرجة اللازمة لعمل انزيم *Taq*- polymerase لعمل الخيط الجديد



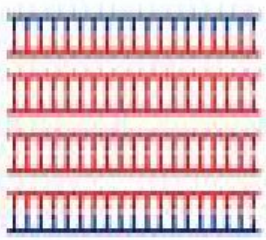
http://www2.le.ac.uk/departments/genetics/vgec/highereducation/topics/recombinanttechniques

حساب عدد النسخ المتحصل عليها

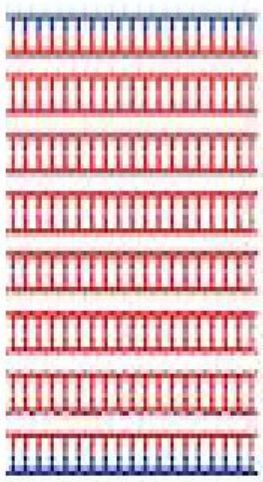
الدورة 1 → الدورة 2 → الدورة 3 → الدورة 4 ⇢ حتى 30 دورة



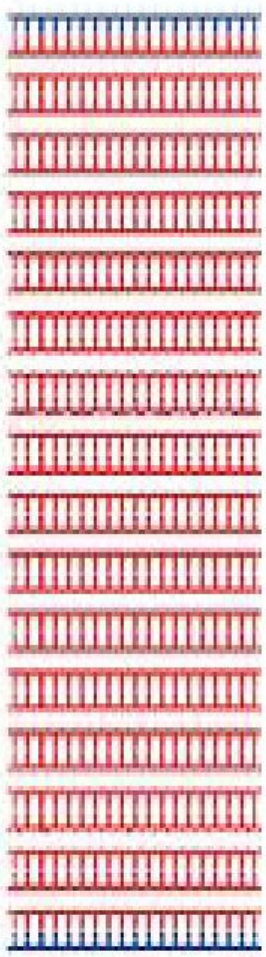
2^2 =4 نسخ



2^3 =8 نسخ



2^4 =16 نسخة



2^5 =32 نسخة

2^{31} =2 بليون نسخة

زيادة عدد النسخ هي زيادة أسية

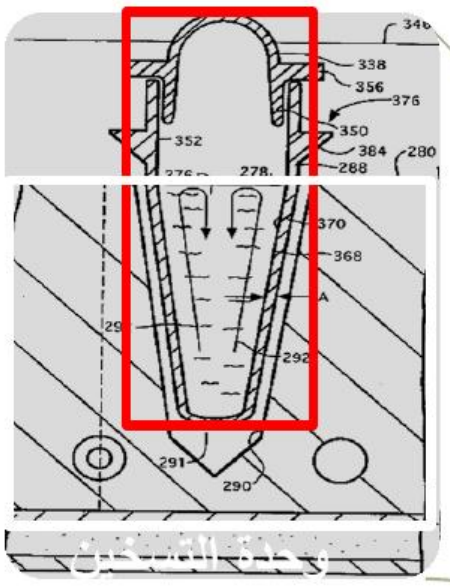
شکل جهاز Thermo cycler

http://imgarcade.com/1/thermocycler/

Privacy

Thermo cycler جهاز

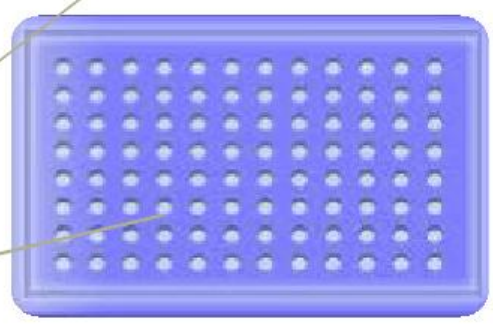
أنبوبة PCR



رؤية عرضية
داخل الوحدة

جهاز PCR

غطاء تسخين
Heat lid



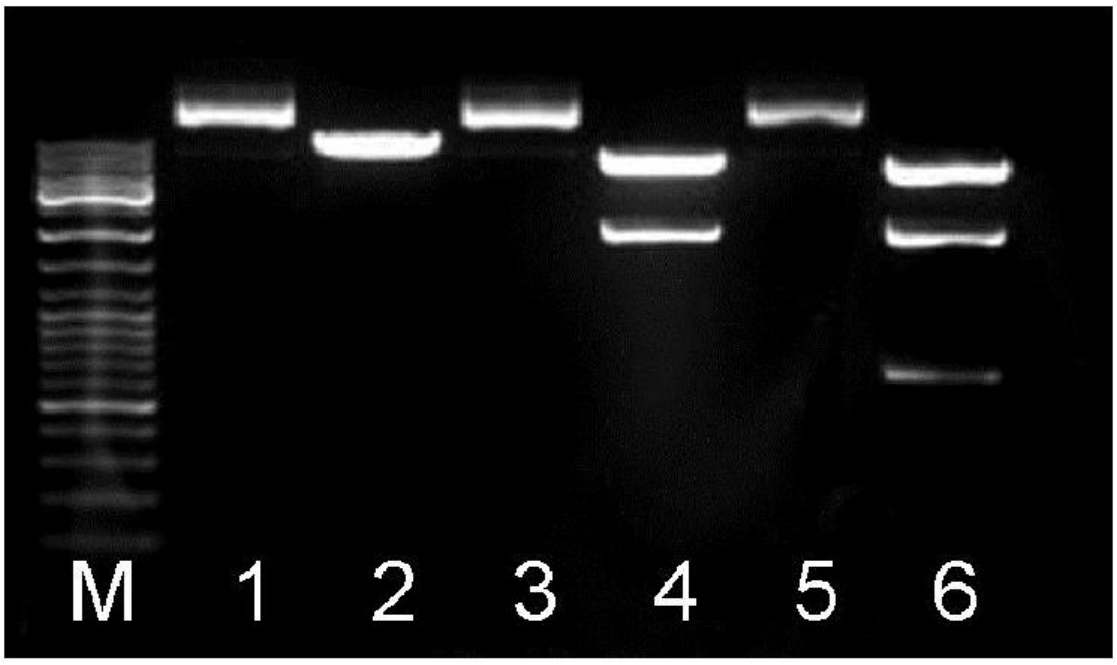
96 عينة
(12 عمود x 8 صفوف)

لوح التحكم
(شاشة لمس)

مراوح
التهوية

Privacy

الكشف عن نجاح التفاعل باستخدام تقنية التفريد الكهربى



Privacy

الكشف عن نجاح التفاعل باستخدام تقنية التفريد الكهربى