



كلية العلوم

القسم : علم الحياة

السنة : الرابعة

المادة : وراثه جزيئية

المحاضرة : الخامسة /نظري/

{{ مكتبة A to Z }}

مكتبة A to Z : Facebook Group

كلية العلوم ، كلية الصيدلة ، الهندسة التقنية

يمكنكم طلب المحاضرات برسالة نصية (SMS) أو عبر (What's app-Telegram) على الرقم 0931497960



الوراثة الجزيئية

Molecular Genetics

المحاضرة الخامسة



مخطط المحاضرة:

✓ الهندسة الوراثية وإنتاج النباتات
المحورة وراثياً:

سنتناول:

1- عزل الـ DNA.

2- هضم بأنزيمات التحديد:

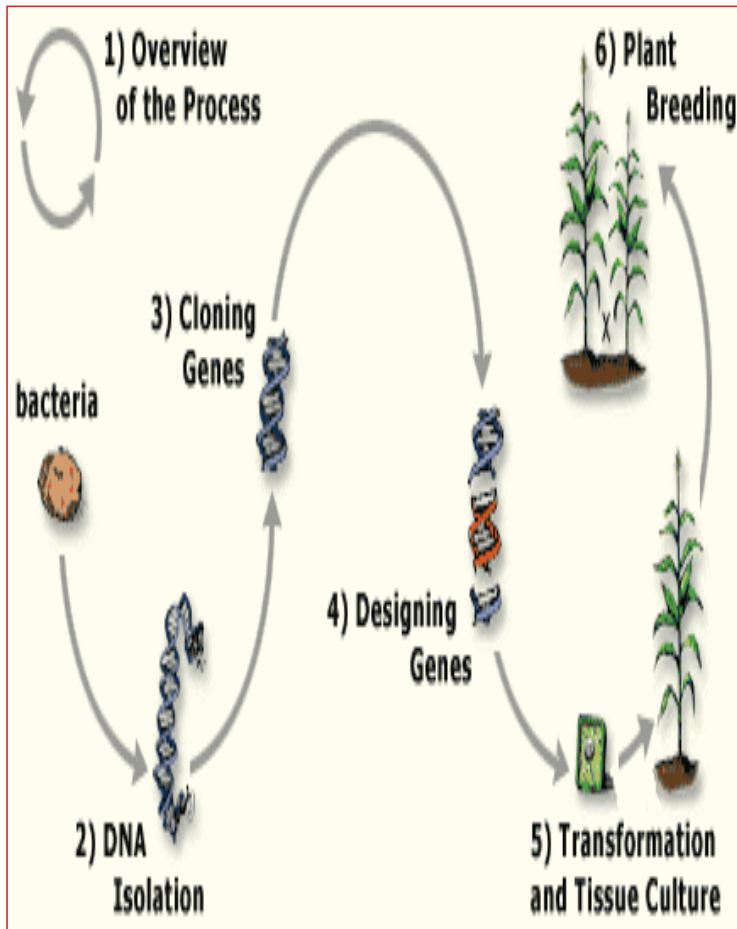
- ماهي انزيمات التحديد؟

- ما الغاية منها؟

- ماهي خصائصها؟

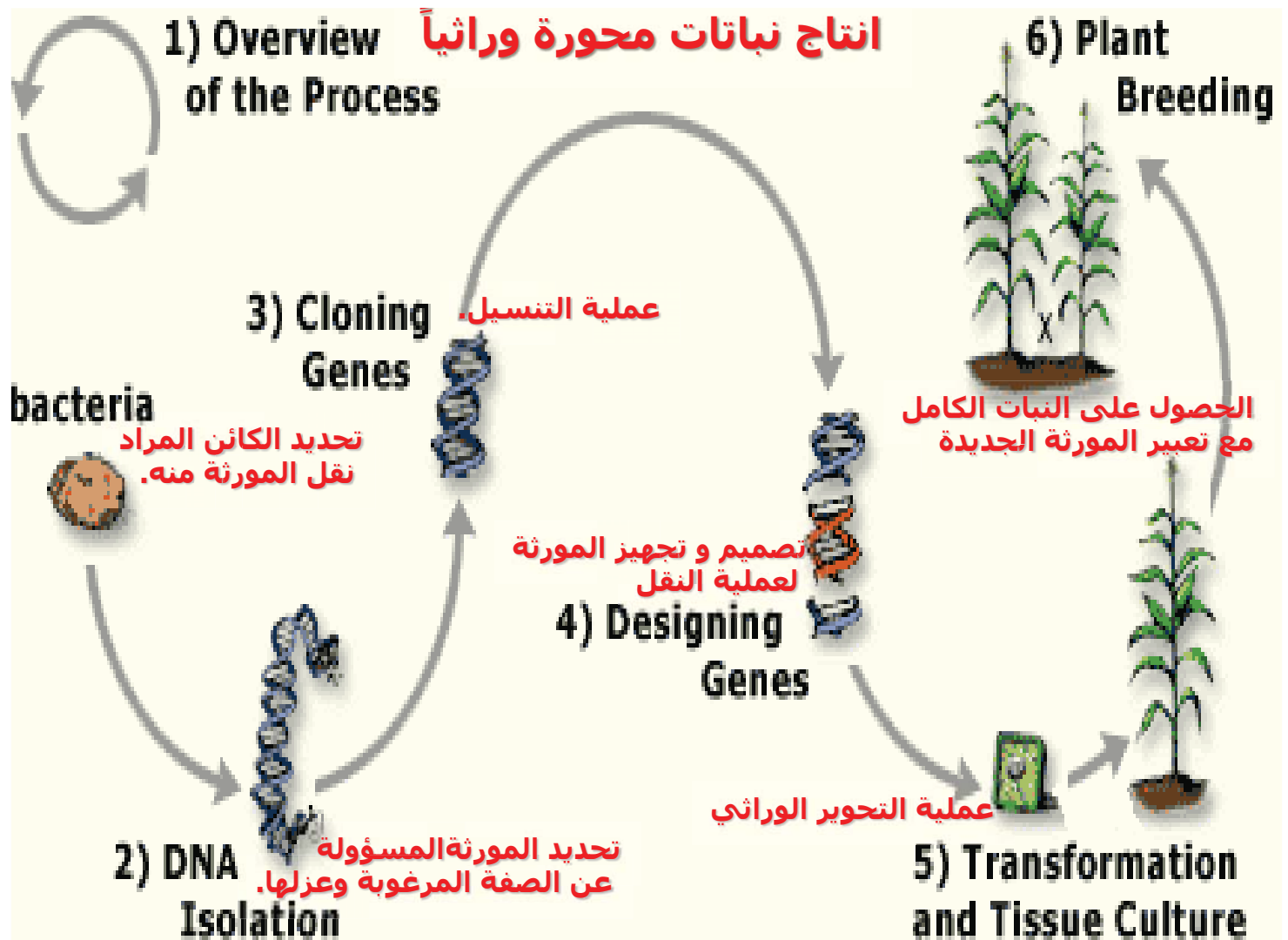
- ماهي أنواعها؟

- ماهي المثلثة؟



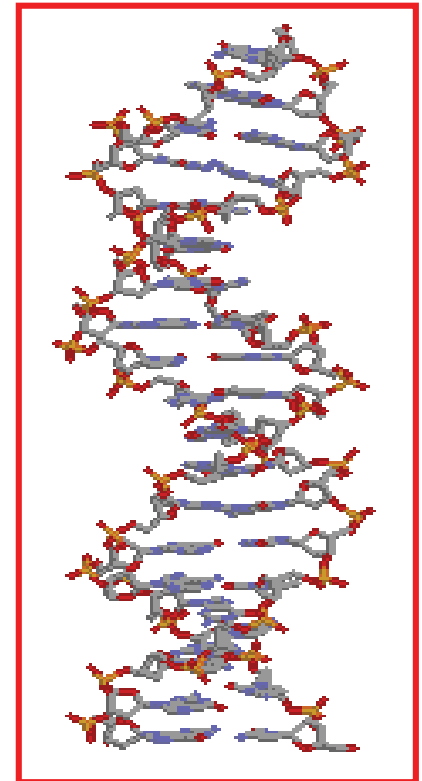
تقنيات الـ DNA المعاد ارتباطه (المؤشب)

Recombinant DNA Technology



عزل واستخلاص الـ DNA

DNA Extraction

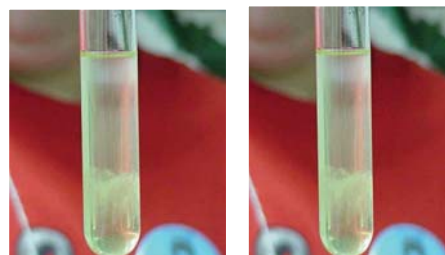


PLANT GENOMES

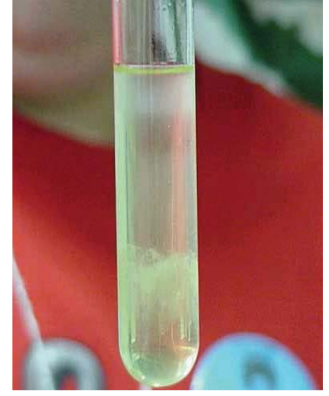
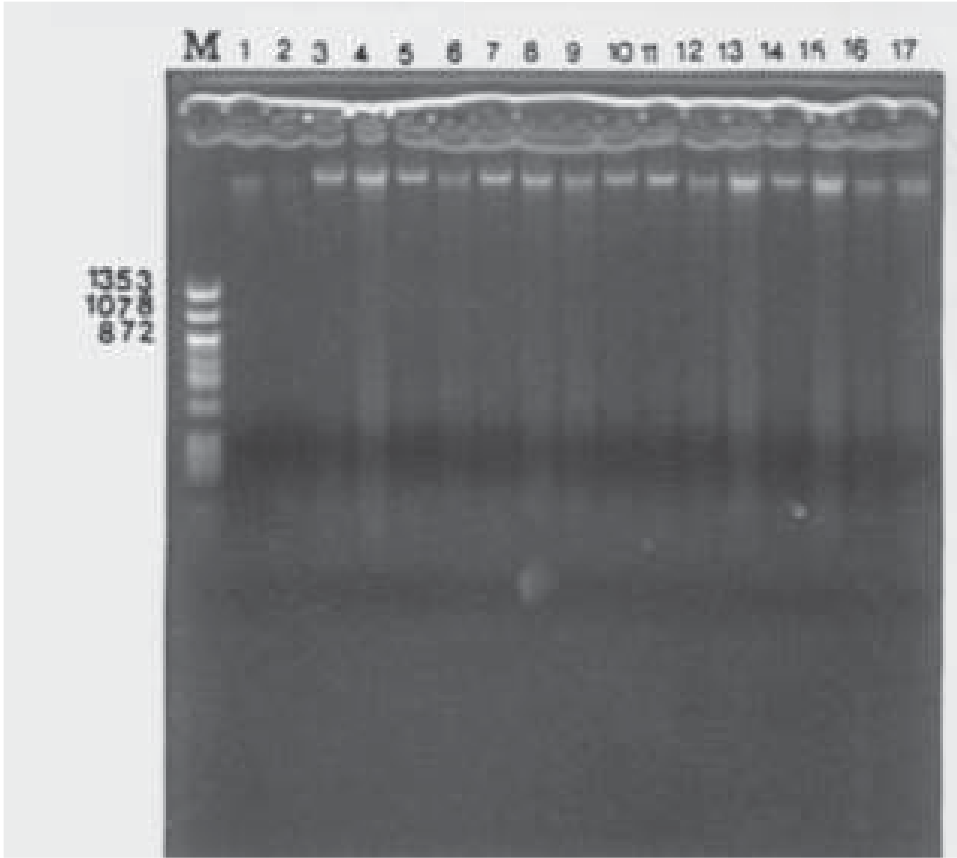
SIZE (haploid genome)	(bp)
Arabidopsis thaliana	1.9×10^8
Rice	5.8×10^8
Soybean	1.1×10^9
Tomato	2.2×10^9
Maize	2.5×10^9
Bread wheat	1.7×10^{10}
Human Genome size	3.2×10^9
Number of genes	30 - 35,000

المجينات النباتية

الوزن الجزيئي للمجين
الأرابيدوبسيس
الأرز
فول الصويا
البندورة
الذرة الصفراء
القمح الطري
الانسان
عدد المورثات



ال DNA



عملية التنسيل: Cloning

تهدف للحصول على قطعة DNA معينة او مورثة محددة بشكل نقي وبكمية كبيرة، من خلال:

- عزل قطعة معينة من ال DNA أو مورثة محددة.
- تحديد الناقل الذي سيستخدم في عملية التنسيل.
- هضم ال DNA المراد تنقيته و ال DNA الخاص بالناقل بانزيمات التحديد.
- عملية الربط والحصول على ال DNA (المؤشب) المعاد ارتباطه.
- ادخال DNA الناقل المؤشب لخلايا المضيف.
- اختيار الخلايا التي تحوي على الناقل المؤشب.
- مكاثرة ال DNA المؤشب والحصول عليه بكمية كبيرة.
- فصل ال DNA المنسل عن DNA الناقل.

أنزيمات التحديد أو أنزيمات القطع Restriction Enzymes, 1971



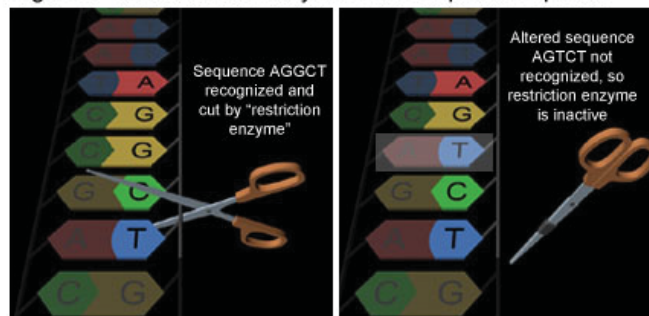
انزيمات التحديد: Restriction enzymes

* تتعرف على مقاطع نيوكليوتيدية معينة وتقوم بحلمهة وهضم جزيئة الـ DNA عندها منتجة قطعا متباينة في عددها ووزنها الجزيئي (طولها) ومتشابهة بنهايتها تسمى قطع التحديد.

* لا يقتصر عمل الانزيمات على جزيئات DNA محددة، إنما تعمل على كافة أنواع الـ DNA مزدوج السلسلة.

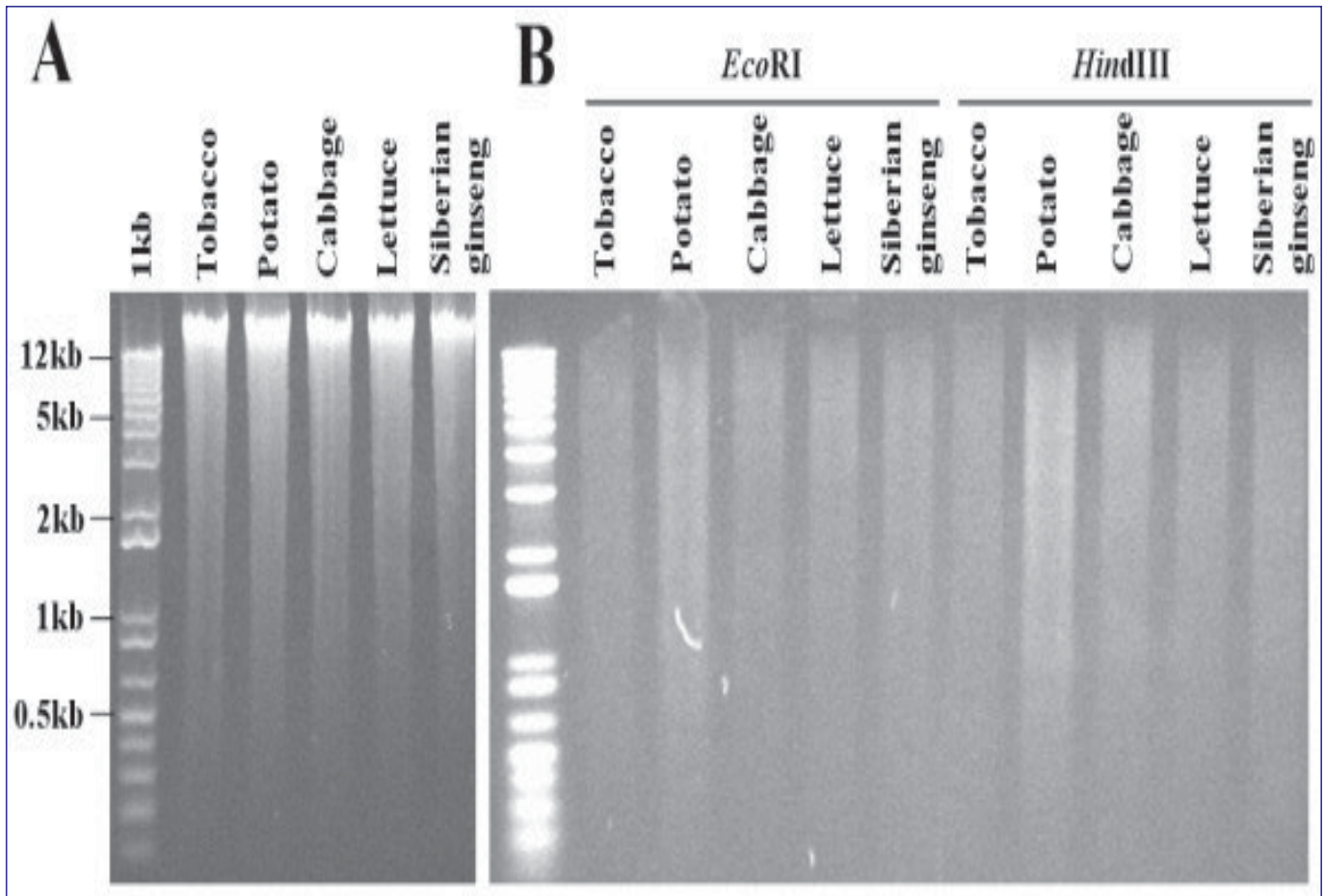
المقصات البيولوجية

Figure Y-3: Restriction Enzymes Are Sequence Specific



Since the restriction enzyme only cuts at a particular DNA sequence, in this case "AGGCT", the enzyme will only cut when it recognizes this exact sequence. Even if as little as one letter is changed (for example, from G to T), the restriction enzyme will no longer cut.

DNA JI



لماذا نحتاج انزيمات التحديد؟

Why we need restriction enzymes?

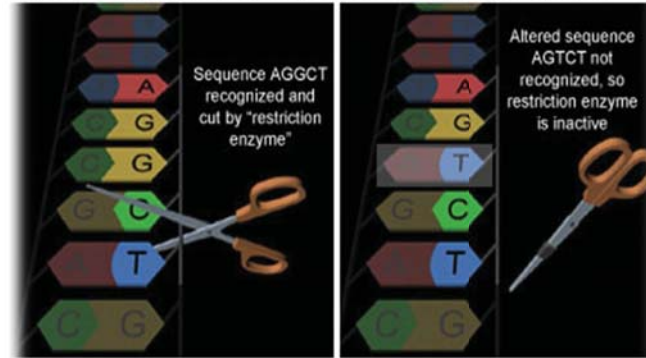


الغاية من استخدام أنزيمات التحديد:

- تقطيع جزيئات الـ DNA الكبيرة الى قطع بحدود 200-2Kbp،
لسهولة التعامل معها.

-الحصول الدائم على نفس القطع عند اجراء عمليات الهضم
لنفس الـ DNA مع نفس الانزيمات.

Figure Y-3: Restriction Enzymes Are Sequence Specific

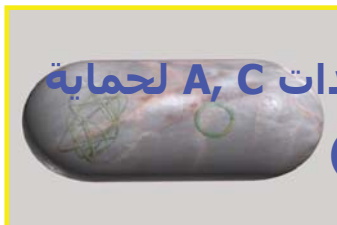


Since the restriction enzyme only cuts at a particular DNA sequence, in this case "AGGCT", the enzyme will only cut when it recognizes this exact sequence. Even if as little as one letter is changed (for example, from G to T), the restriction enzyme will no longer cut.



خصائص انزيمات التحديد:

- ذات مصدر بكتيري وتختلف تبعاً للسلالة البكتيرية المستخلصة منها.
- أنزيمات قطع داخلي تتعرف على مقاطع محددة.
- تهضم الـ DNA بمواقع محددة وثابتة.
- تشكل النظام الدفاعي الطبيعي للبكتيريا.
- يقوم بهضم DNA البكتريوفاج الذي يهاجم البكتيريا ويحد من هجومه.
- لا يهضم DNA نفس البكتيريا، بسبب عمليات المثلة **METHYLATION**



- تتم المثلة (إضافة مجموعة الميثيل) على النيوكليوتيدات A, C لحماية
DNA البكتيريا من أنزيماتها (لا تعد تتعرف عليها وتقطعها)

-هي الأساس في عمليات التنسيل.

كتابة اسماء أنزيمات التحديد

* يشتق اسم انزيم التحديد من اول حرف من جنس الكائن + اول حرفين من اسم النوع + الرابع للسلالة، والرقم روماني يدل على زمن (ترتيب) تحديده بالسلالة.

Titles of restriction enzymes are derived from the first letter of the genus + the first two letters of the species of organism from which they were isolated.

EcoRI: (GAATTC) from *Escherichia coli*

BamHI: from *Bacillus amyloliquefaciens*

HindIII: from *Haemophilus influenzae*

* Trois premiers lettres; 1 nom du genre et les 2 autres sont le nom d'espece, no. 4 la souche , chiffre romain l'ordre de caraterisation dans la souche.

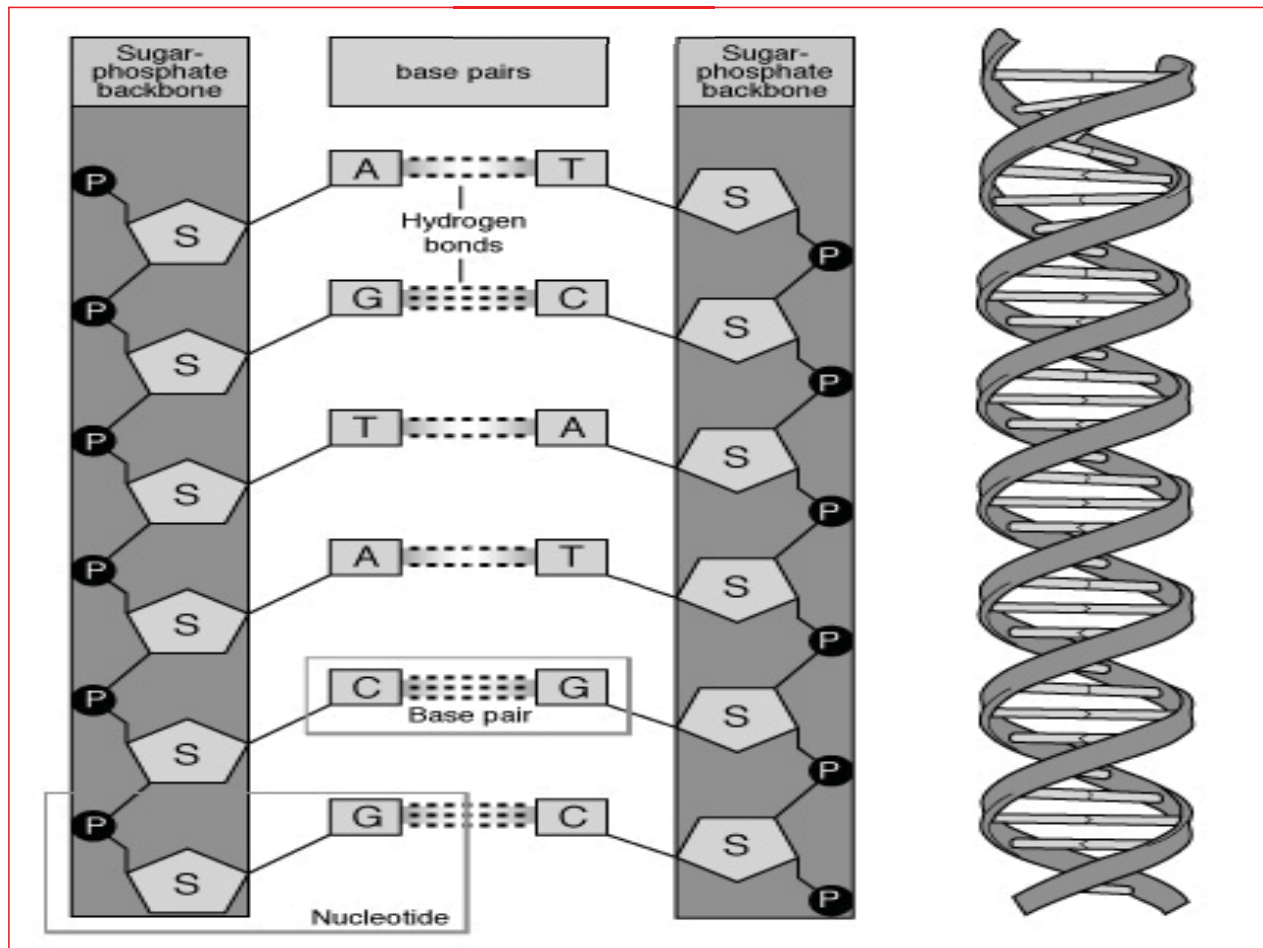
Restriction enzymes recognize a specific
Short nucleotide sequence



موقع التحديد: هو المكان الذي يتم فيه التعرف على الـ DNA وقطع الجزيئة عنده.

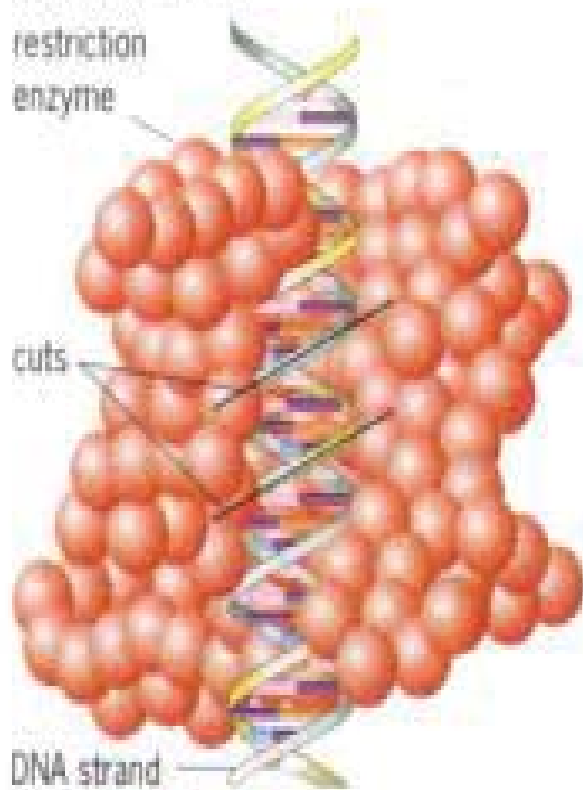
This is known as a Restriction Site

DNA

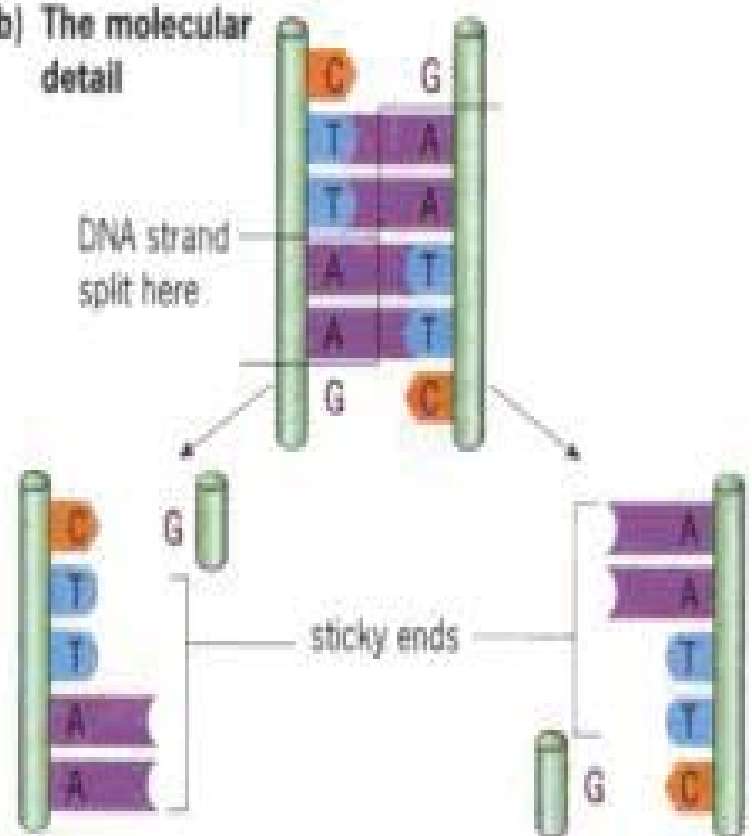


Action of restriction endonuclease:

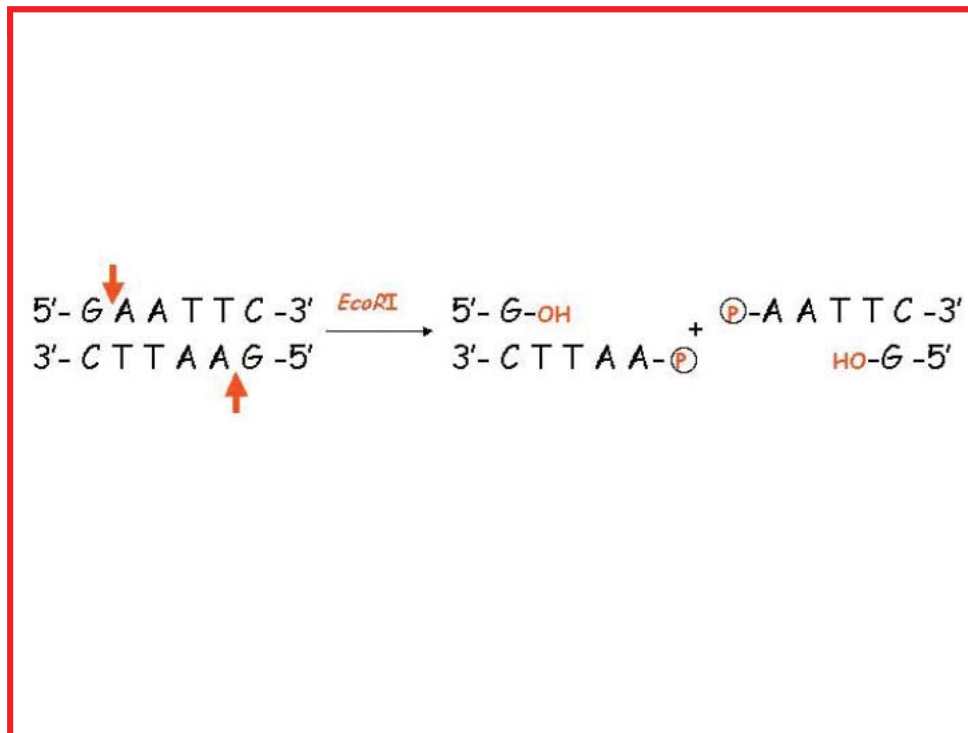
(a) An overview



(b) The molecular detail



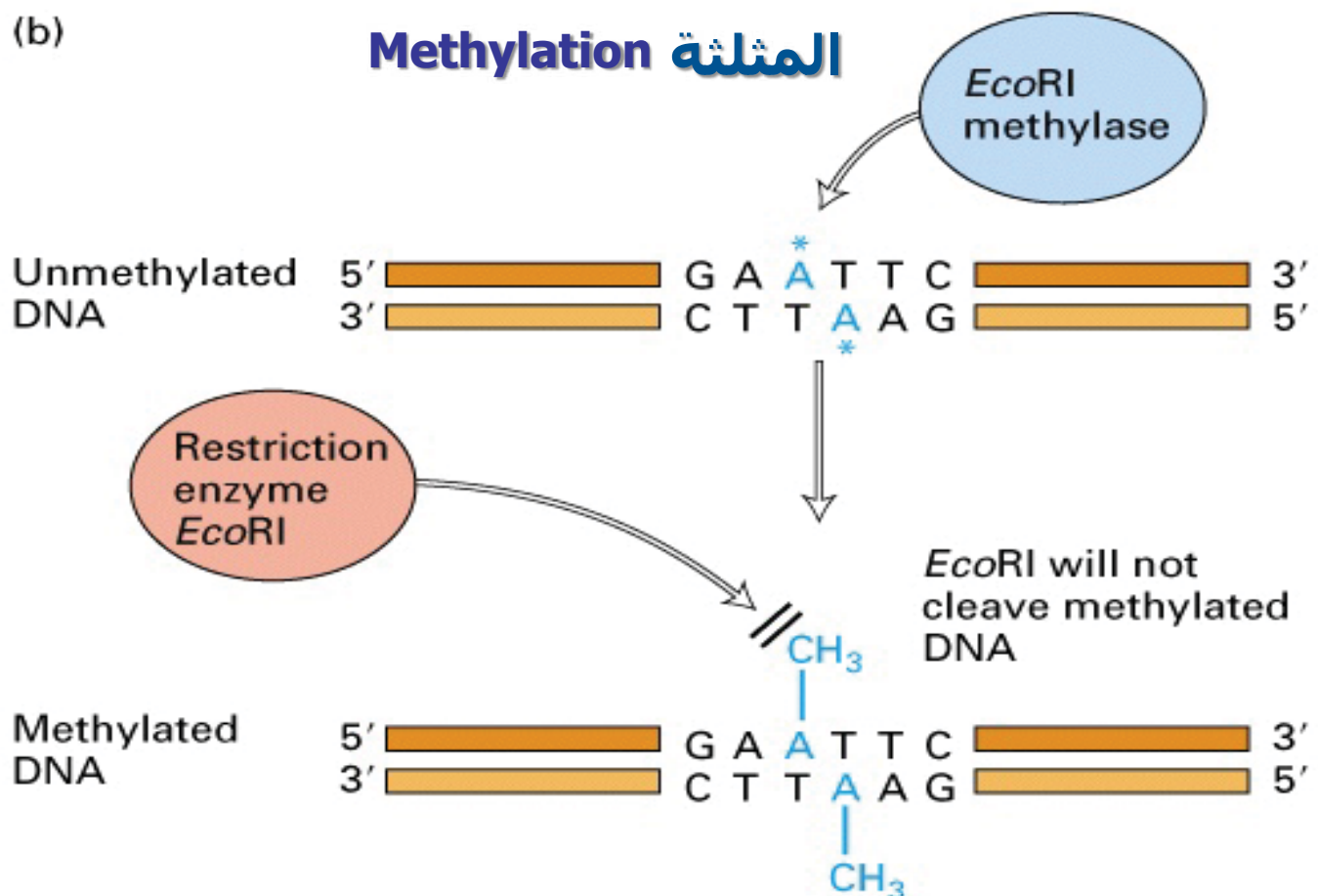
The phosphodiester bond is cleaved between specific bases, one on each DNA strand



The product of each reaction is two double stranded DNA fragments

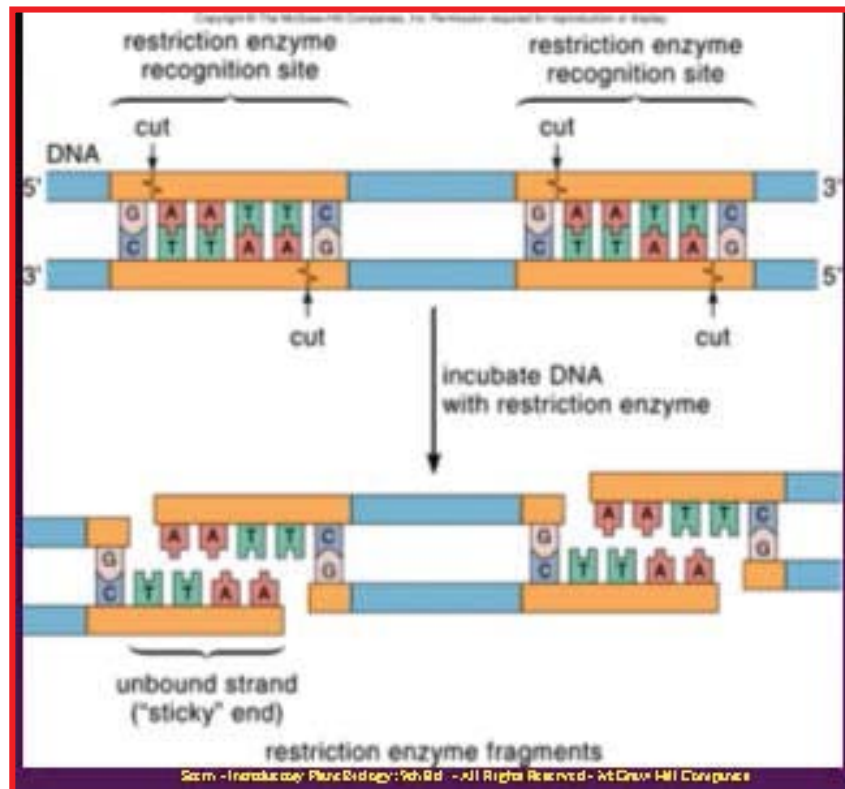
(b)

Methylation المثلة

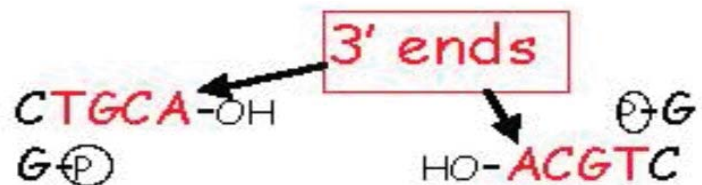


إضافة جذر الميثيل لنوكليوتيد واحد أو اثنين من نوكليوتيدات مقاطع التنسيل، فلا تعد تعرف عليها انزيمات التحديد.

Different enzymes cut at different positions
and can create single stranded ends
(**'sticky ends'**) نهايات قابلة للتلاصق



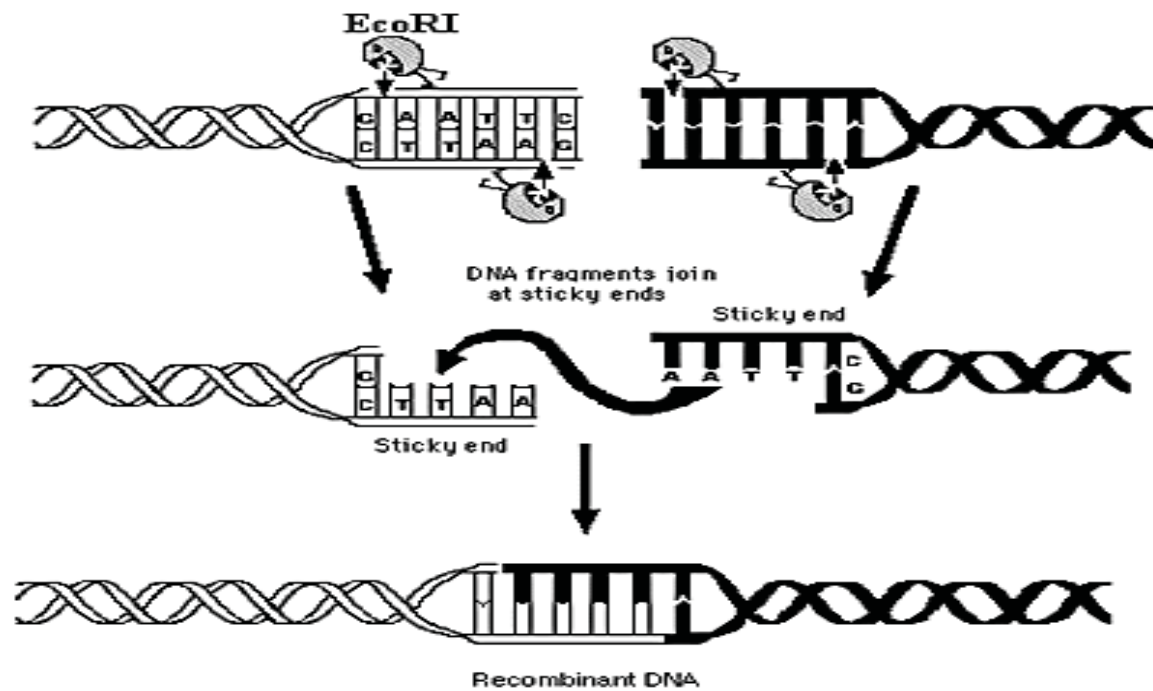
•Some generate
Sticky ends - eg: *Pst*I



•Some generate
blunt ends - eg: *Sma*I

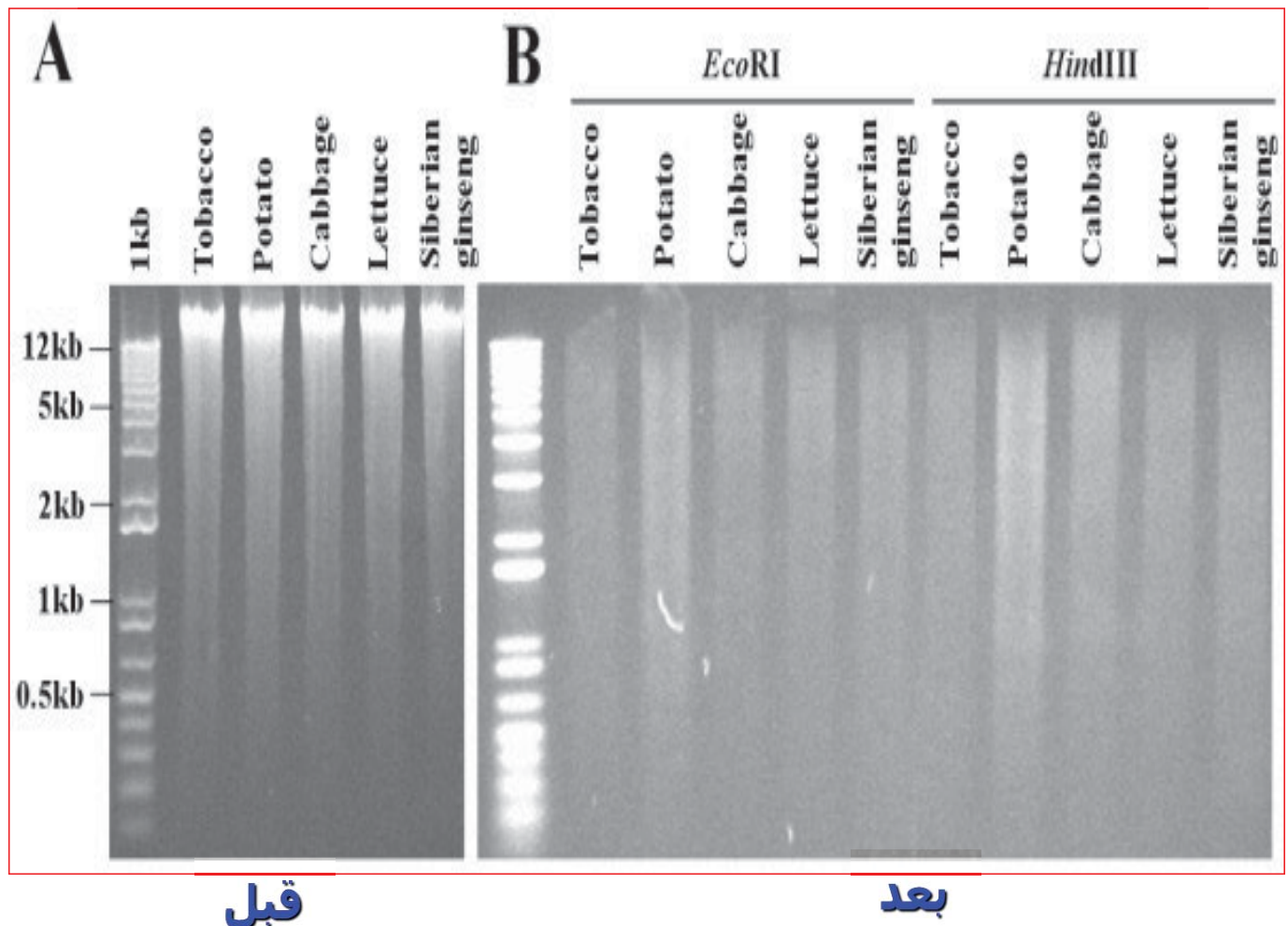


Digestion by Restriction Enzymes:



Restriction Enzyme Action of EcoRI

مقارنة بين الـ DNA قبل وبعد عملية الهضم الأنزيمي





مكتبة
A to Z