اسم المحاضرة : كلونة الجين

رقم المحاضرة : الثامنة

المصادر :

1- **Watson, J.D.; Baker, T.A,; Bell, S.P.; Gann, A. (2004). Molecular Biology of the Gene. 5th Ed. Pearson edution.**

2- **Clark, D. (2006). Molecular Biology Understanding the Genetic Revolution. Elsevier Inc.**

3- **Santos, D.M. (2011). Genetic Engineering, Recent Developments in application. Apple Academic press.**

٤-عماش، هدى صالح مهدي.(١٩٩٤). مبادئ علم الحياة الجزيئي. كلية العلوم . جامعة بغداد.

٥-البكري ، غالب حمزة.(١٩٩٠). مبادئ الهندسة الوراثية. جامعة البصرة.

كلونة الجين Gene Cloning

هي عملية تكوين اتحادات وراثية جديدة عن طريق غرس جزيئات دنا غريبة او هجينة في ناقل كلونة مناسب Cloning Vector (بلازميد او فايروس) ليتسنى ادخالها الى كائن اخر لا يحتوي أصلا على مثل هذه الجزيئة بحيث يمكن لهذه الجزئية ان تتضاعف في المضيف الجديد وتنتقل الى الجيل التالي مع إمكانية إعطاء جزيئة الدنا الصفة التي تحملها عن طريق النجاح في التعبير الجيني في المضيف الجديد.

تعد كلونة الجين المحور الأساس في تقنية الهندسة الوراثية حيث تنقل خلال هذه العملية الجينات من كائن الى اخر ، والنجاح في اختراق حاجز النوع بحيث يمكن نقل جينات من كائن الى كائن اخر عائد الى نوع مختلف تماما والنجاح في إكثار جزئية الدنا الغريبة في المضيف الجديد الى ملايين النسخ

الخطوات الأساسية لكلونة الجين

لإكمال عملية كلونة الجين يجب توفر وسائل مختلفة يمكن من خلالها الوصول الى الهدف المنشود ، ومن اهم هذه الوسائل هي:-

١- عزل وتنقية جزيئات الدنا المرغوب كلونتها، ويطلق على هذه الدنا اسم الدنا الغريبة Foreign DNA او الدنا المسافرة Passenger DNA . وقد تم تطوير العديد من الطرق لعزل الدنا من الخلايا البكتيرية او الخلايا حقيقة النواة (النباتية او الحيوانية) وفصلها عن باقي المكونات الخلوية الاخرى بأتباع طرق مختلفة تضمن الحصول على جزيئات دنا نقية

٢- توفر ناقل كلونة مناسب والحصول عليه بصورة نقية ليتم ربط الدنا قطعة الغريبة بهذا الناقل . وهناك العديد من نواقل الكلونة حيث يمكن استخدام المناسب منها حسب نوع التجربة ومعظم هذه النواقل مشتقة من البلازميدات او الفايروسات.

٣-توفر وسيلة مناسبة لتقطيع جزيئة الدنا الغريبة للحصول على قطعة دنا قابلة للكلونة حاوية على الجين المرغوب وكذلك لقطع جزيئة ناقل الكلونة لجعله مناسبا لاستقبال جزيئة الدنا الغريبة، ويتم تقطيع جزيئات الدنا باستخدام إنزيمات التقييد **Restriction Enzyme** حيث تكون عملية التقطيع عملية مسيطر عليها بفضل إنزيمات التقييد اذ تتميز هذه الإنزيمات بقابليتها على التعرف على تتابعات معينة من النيوكليوتيدات في جزيئة الدنا ومن ثم تقطع الدنا بالقرب او داخل هذه التتابعات لإنتاج قطع دنا محددة الاطوال، مما يعني إمكانية التحكم في عملية تقطيع جزيئات الدنا من خلال اختيار الإنزيم المناسب.

٤- توفر وسيلة مناسبة لربط قطعة الدنا الغريبة مع ناقل الكلونة لتكوين جزيئة الدنا الهجينة Recombinant DNA. يستخدم إنزيم **DNA Ligase** في عملية بناء الآصرة الفوسفاتية ثنائية الايستر. مما يؤدي الى ربط الجزيئات مع بعضها البعض لتكوين جزيئات دنا هجينة.

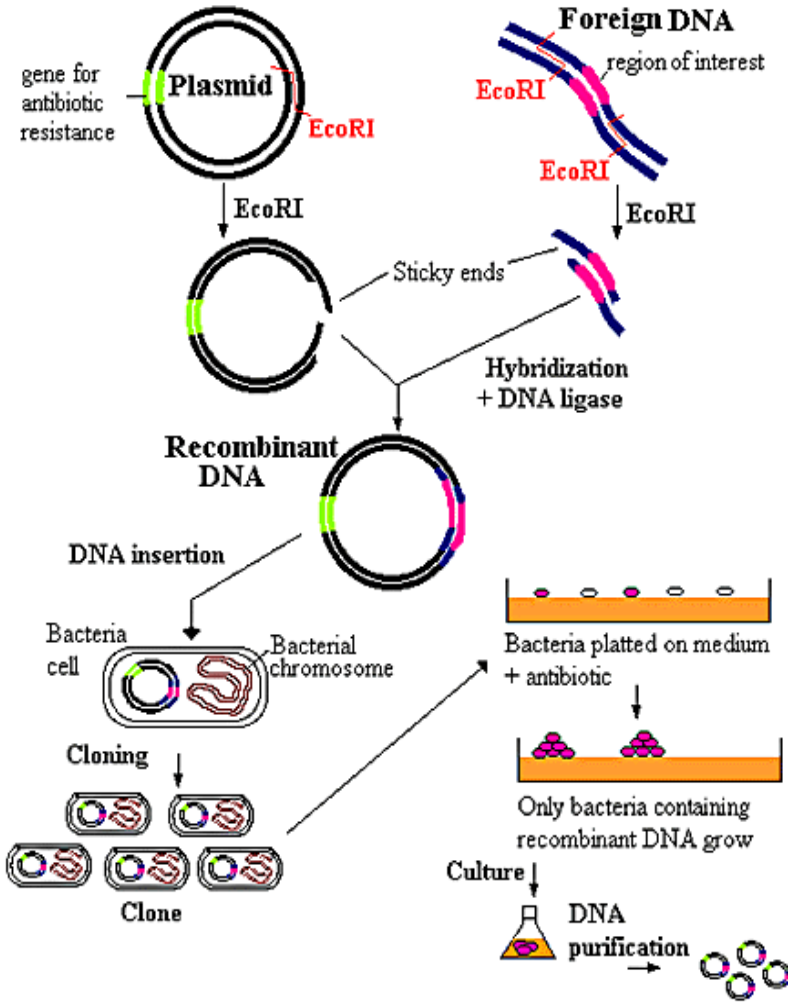
٥- توفر وسيلة مناسبة لمراقبة عمليات تقطيع وربط جزيئات الدنا وذلك لمعرفة فيما اذا كان إنزيم التقييد قادرا على تقطيع جزيئة الدنا ام لا قبل الاستمرار في تجربة الكلونة إضافة الى التأكد من ان عملية الربط قد تمت بين جزيئة الدنا وناقل الكلونة . وبما ان عملية القطع والربط تجري في انبوبة الاختبار ولا يمكن متابعتها بصريا لذا من الضروري وجود طرق اخرى لمتابعة سير التجربة، وتتم

مراقبة عملية التقطيع والربط باستخدام الترحيل الكهربائي Electrophoresis في هلام الاكاروز **Agarose gel** او البولي اكريلامايد **Polyacrylamid gel**، حيث تضاف جزيئات الدنا الى طبقة رقيقة من الهلام وبعد امرار التيار الكهربائي ستتحرك جزيئات الدنا المختلفة الى مسافات تتناسب مع أحجامها مكونة حزما منفصلة على الهلام يمكن تحديد أحجامها و أوزانها بسهولة .

٦- توفر وسيلة مناسبة يمكن من خلالها ادخال جزيئة الدنا الهجينة الى خلايا الكائن المضيف بحيث يمكن ان تديم الجزيئة الهجينة نفسها داخل الكائن المضيف وتتوارث بثبات في الأجيال المتعاقبة. من اكثر الطرق استخداما في ادخال جزيئات الدنا الهجينة الى المضيف هي طريقة التحول Transformation والتحول بالعاثي Transfection .

٧-بعد ادخال الجزيئة الهجينة الى خلايا المضيف يجب توفر طريقة مناسبة لانتقاء الخلايا المستقبلة للجزيئة الهجينة الحاملة للجين المرغوب وتمييزها عن الخلايا المستقبلة للجزيئات الهجينة الاخرى.

بعد الحصول على الخلايا الحاوية على جزيئات الدنا الهجينة او الجين المرغوب يمكن إنماء هذه الخلايا في أوساط مناسبة للحصول على أعداد هائلة منها وعندها سيكون من السهولة عزل الجين المطلوب من هذه الخلايا والحصول عليه بكميات كبيرة مناسبة لإجراء الدراسات اللازمة عليه.



Cloning into a plasmid