

Gene cloning

محاضرة رقم (٣)

Wong, D., 2018. *The Abcs Of Gene Cloning*. Cham: Springer International Publishing.

Drlica, K., 2004. *Understanding DNA And Gene Cloning*. Hoboken, NJ: Wiley.

Gene cloning

Dr. ALI ABD SHARAD
& Msc. Almoghira K. Al-Qaysi



Gene cloning

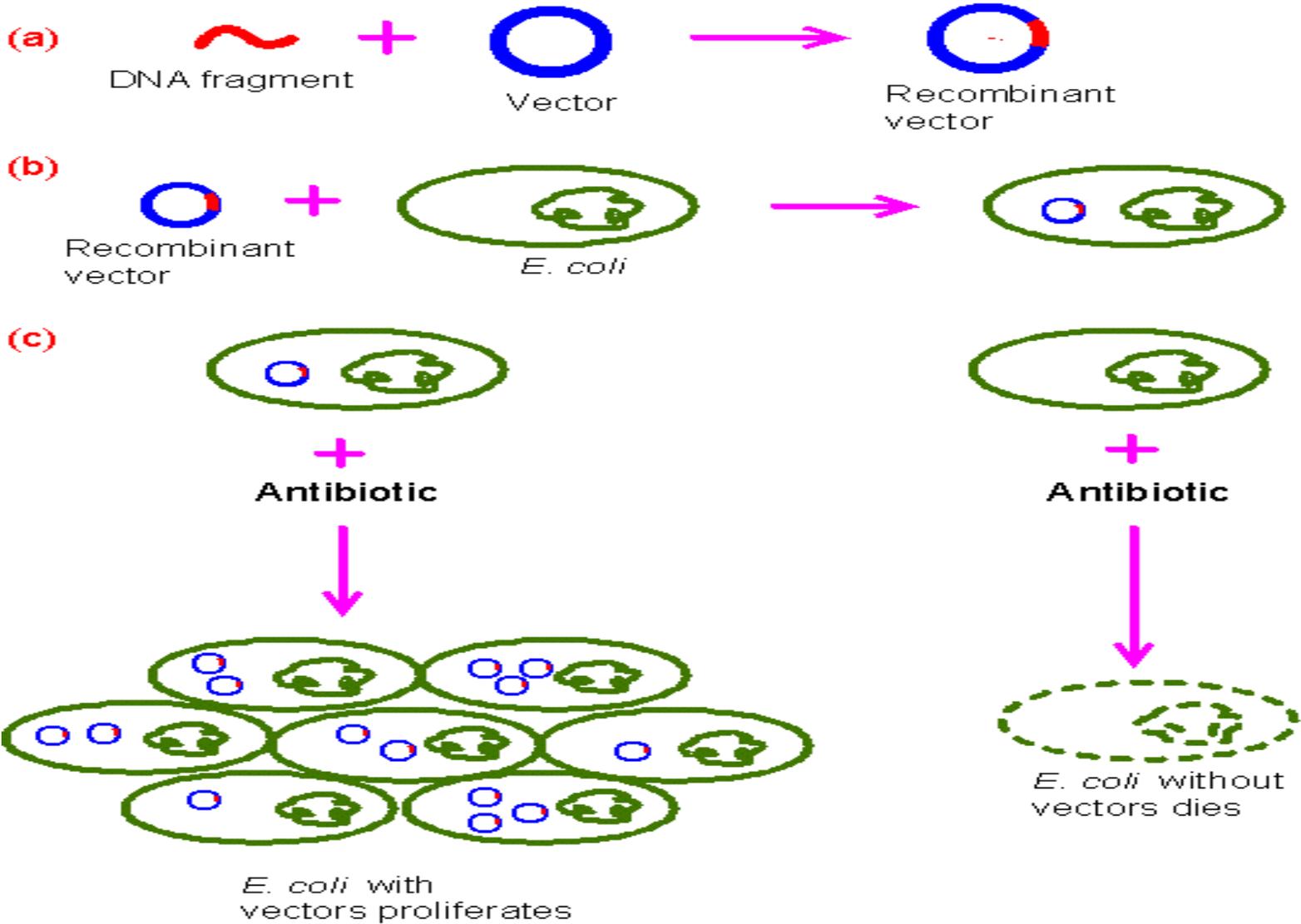
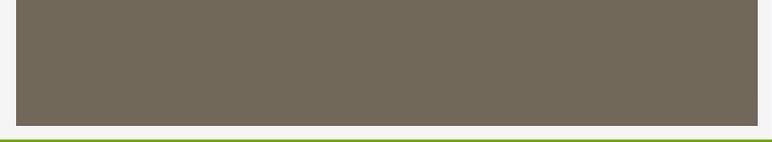
- وهي إحدى التقنيات التي تعود إلى Red biotechnology ويتم فيه استنساخ الحمض النووي. تقنية لإعادة إنتاج قطع DNA. ويمكن تحقيق ذلك من خلال طريقتين
 - (١) cell based approach
 - (٢) PCR



Cell based approach

- هي الطريقة التي تعتمد على الخلية، نحتاج victor لحمل جزء الحمض النووي ذات الأهمية إلى الخلية المضيفة. يوضح الشكل التالي الطريقة النموذجية باستخدام البلازميدات كناقل victor استنساخ.





(d) Isolation of recombinant DNA clones



The essential steps in DNA cloning using plasmids as vector

• ان الخطوات الرئيسية لاستخدام البلازميد
plasmids كناقل تتلخص كما ياتي:-

١- DNA recombination

يتم إدخال جزء الحمض النووي الذي سيتم استنساخه في Vector. يجب أن يحتوي Vector على جين مقاومة للمضادات الحيوية multidrug resistance gene.



٢- Transformation

يتم ادخال البلازميد الحاوي على الحمض النووي المراد استنساخه في الخلية المضيفة. يطلق عليه التحول Transformation " لأنه قد يتم تغيير وظيفة الخلية المضيفة.

E. Coli مثال على هذه التقنية. حيث يستخدم CaCl_2 لزيادة فرص دخول البلازميد المعالج الى داخل الخلية البكتيرية، ومع ذلك، فرصة ادخال البلازميد مع وجود هذا المحلول هي $1/10000$

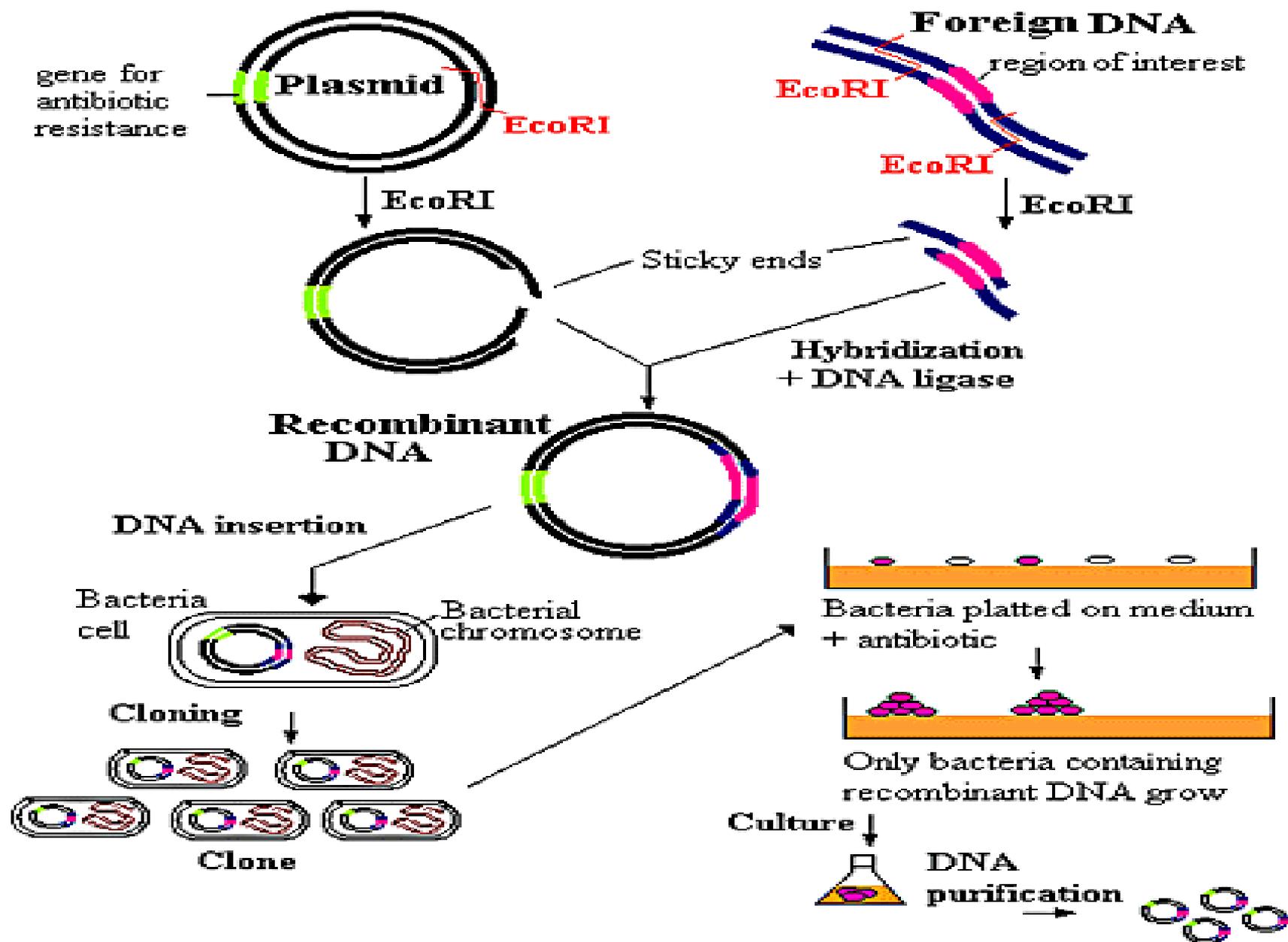


٣- Selective amplification

يتم إضافة مضاد حيوي محدد لقتل *E. coli* التي لا تمتلك جين مقاومة المضادات. اما الـ *E. coli* التي ادخل اليها البلازميد الحاوي على (DNA) المراد استنساخه، بالاضافة الى جين مقاومة المضادات (multidrug resistance gene) فان هذه البكتريا سوف تقاوم المضاد المضاف الى الوسط.

وبهذا نعزل البكتريا التي تحتوي على الجين المراد استنساخه وكما موضح في الصورة.





Cloning into a plasmid



- بعدها يتم استخلاص المادة النووية الهدف.
- تستخدم هذه التقنية في كثير من المجالات اهمها انتاج الانسولين بكميات كبيرة.

