

ﺗﺼﻤﻴﻢ ﺍﻟﺒﺮﺍﻳﻤﺮ (ﺍﻟﺒﺎﺩﺀ)

Primer Design

ﺍﻟﺠﺰﺀ ﺍﻟﻌﻤﻠﻲ

ﺍﻟﻤﺤﺎﺿﺮﺓ ﺍﻟﺘﺎﻣﻨﺔ

ﺩ. ﺍﺳﺎﻣﺔ ﺍﻧﻮﺭ ﺳﻌﻴﺪ

ﻗﺴﻢ ﺍﻻﻧﺘﺎﺝ ﺍﻟﺤﻴﻮﺍﻧﻲ - ﺟﺎﻣﻌﺔ ﺍﻻﻧﺒﺎﺭ

- الهدف من المحاضرة
- في نهاية المحاضرة سوف يتعلم الطالب
- معرفة خطوات تصميم البادئ او البرايمر.
- كيفية اختيار وتسمية البرايمر.

(NCBI) National Center for Biotechnology Information

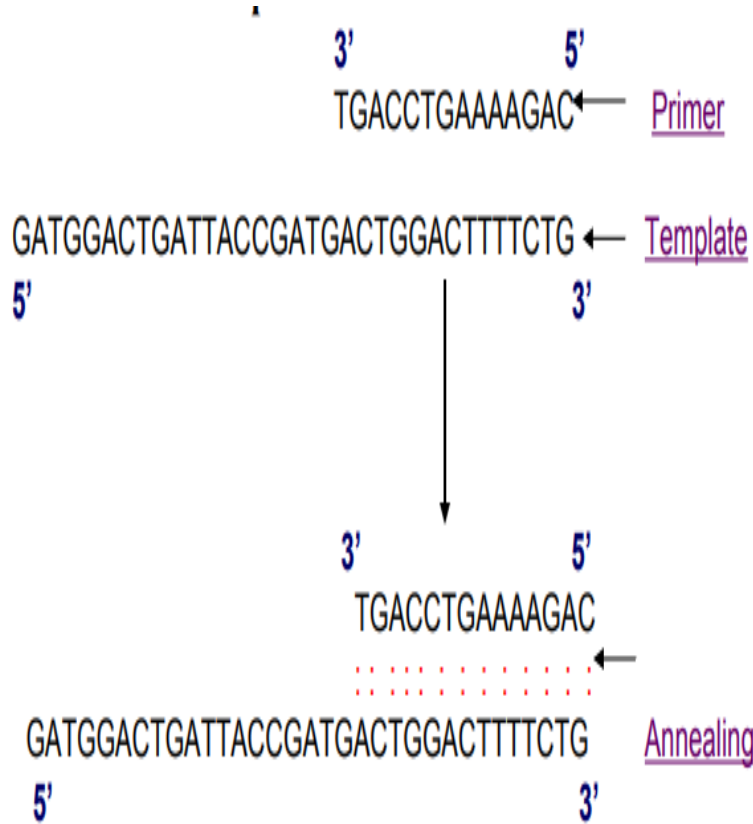
تطوير وصيانة قواعد البيانات الجزيئية كجزء من المكتبة الوطنية للطب (National Library of Medicine) في الولايات المتحدة.

تعتمد قاعدة البيانات NCBI على :

- ١ . البيانات المسلمة من قبل الباحثين.
- ٢ . تطوير برامج من اجل البحث وتحليل لتلك البيانات.
- ٣ . توفير نقطة وصول لهذه البيانات والبرامج.

[الموقع https://www.ncbi.nlm.nih.gov/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)

البادئ primers



هي تسلسلات قصيرة من النيوكليوتيدات (Nucleotides) صممت لتكون مكملة للمناطق المحيطة بمنطقة استنساخ ال DNA اثناء تفاعل ال PCR (بداية ونهاية المنطقة المراد استنساخها).

بعض الامور الواجب مراعاتها عند تصميم البادئ:

✓ الطول المثالي للبادئ هو 18 – 24 bp لكل التحليلات بشكل عام و 35 – 30 bp لتطبيقات PCR.

✓ درجة الانصهار Melting Temperature (Tm) تفضل بين 50 - 55 مئوية

✓ يجب ان تكون نسبة (G – C) حوالي 55 – 45%.

✓ من المفضل أن تكون القاعدة الأخيرة أو القاعدتين الأخيرتين GC أو CG أو C أو G.

✓ محتوى البادئ من GC تكون نهايته مقفلة ب "3".

كيفية تصميم البادئ وفق موقع NCBI

١. ندخل الموقع <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> ثم نختار Nucleotide بعدها اسم الجين ثم بحث.

NCBI Resources How To الواجهة الرئيسية للموقع Sign in to NCBI

NCBI National Center for Biotechnology Information All Databases اسم الجين Search نضغط على كلمة بحث

Nucleotide نختار

COVID-19 is an emerging, rapidly evolving situation.
Get the latest public health information from CDC: <https://www.coronavirus.gov>.
Get the latest research from NIH: <https://www.nih.gov/coronavirus>.

- NCBI Home
- Resource List (A-Z)
- All Resources
- Chemicals & Bioassays
- Data & Software
- DNA & RNA
- Domains & Structures
- Genes & Expression
- Genetics & Medicine
- Genomes & Maps
- Homology
- Literature
- Proteins
- Sequence Analysis
- Taxonomy
- Training & Tutorials

Welcome to NCBI

The National Center for Biotechnology Information advances science and health by providing access to biomedical and genomic information.

[About the NCBI](#) | [Mission](#) | [Organization](#) | [NCBI News & Blog](#)

Submit

Deposit data or manuscripts into NCBI databases



Download

Transfer NCBI data to your computer



Learn

Find help documents, attend a class or watch a tutorial



Develop

Use NCBI APIs and code libraries to build applications

Analyze

Identify an NCBI tool for your data analysis task

Research

Explore NCBI research and collaborative projects

Popular Resources

PubMed

Bookshelf

PubMed Central

BLAST

Nucleotide

Genome

SNP

Gene

Protein

PubChem

NCBI News & Blog

Changing of the Guard: A New Acting Director for NCBI

12 May 2020

We wanted to take a moment to

٢. بعدها تظهر هذه الشاشة نختار منها على الجهة اليسار نوع الكائن سواء انسان او حيوان او نبات او كائنات مجهرية ثم نختار بعدها mRNA.

NCBI Resources How To Sign in to NCBI

Nucleotide Nucleotide metallothionein Search

Create alert Advanced Help

COVID-19 is an emerging, rapidly evolving situation.
Get the latest public health information from CDC: <https://www.coronavirus.gov>
Get the latest research from NIH: <https://www.nih.gov/coronavirus>

Species
Animals (4,800)
Plants (6,624)
Fungi (1,057)
Protists (190)
Bacteria (15,360)
Archaea (6)
Viruses (5)
Customize ...

Molecule types
genomic DNA/RNA (19,214)
mRNA (8,905)
Customize ...

Source databases
INSDC (GenBank) (24,478)
RefSeq (3,898)
Customize ...

Sequence Type
Nucleotide (23,222)
EST (5,157)
GSS (9)

Summary 20 per page Sort by Default order Send to Filters: Manage Filters

Items: 1 to 20 of 28388

<< First < Prev Page 1 of 1420 Next > Last >>

[Zootoca vivipara mRNA for Metallothionein \(metallothionein gene\)](#)

1. 299 bp linear mRNA
Accession: AM087399.1 GI: 78057034
[Protein](#) [PubMed](#) [Taxonomy](#)
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)

[Pygomeles braconnieri mRNA for Metallothionein \(metallothionein gene\)](#)

2. 548 bp linear mRNA
Accession: AM087398.1 GI: 78057032
[Protein](#) [PubMed](#) [Taxonomy](#)
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)

[Phelsuma barbouri mRNA for Metallothionein \(metallothionein gene\)](#)

3. 324 bp linear mRNA
Accession: AM087397.1 GI: 78057030

Results by taxon

Top Organisms [Tree]

- Klebsiella pneumoniae (3028)
- Pseudomonas aeruginosa (2762)
- Mycobacterium tuberculosis (2744)
- Coffea arabica (1501)
- Shigella sonnei (1135)
- All other taxa (17218)

More...

Find related data

Database: Select

Find items

Search details

metallothionein[All Fields]

٣. نختار الان احدى نتائج البحث الظاهرة وذلك بالاعتماد على المعلومات الواردة مع كل نتيجة وحسب موضوع الدراسة (الكائن الحي المستخلص منه الجين وطول الجين وموقعة على الكروموسوم). ملاحظة / اسماء الكائنات يكتب في اللغة العلمية (اللاتينية)

NCBI Resources How To Sign in to NCBI

Nucleotide Nucleotide metallothionein Search

Create alert Advanced Help

COVID-19 is an emerging, rapidly evolving situation.
Get the latest public health information from CDC: <https://www.coronavirus.gov>.
Get the latest research from NIH: <https://www.nih.gov/coronavirus>.

Species clear Summary 20 per page Sort by Default order Send to: Filters: Manage Filters

Animals (3,241) Customize ...

Molecule types clear

genomic DNA/RNA (0)

mRNA (3,241) Customize ...

Source databases

INSDC (GenBank) (1,583)

RefSeq (1,658)

Customize ...

Sequence Type

Nucleotide (2,426)

EST (815)

Sequence length

Custom range...

Release date

Custom range...

Revision date

Items: 1 to 20 of 3241

<< First < Prev Page 1 of 163 Next > Last >>

Filters activated: Animals, mRNA. Clear all

[Zootoca vivipara mRNA for Metallothionein \(metallothionein gene\)](#)

1. 299 bp linear mRNA
Accession: AM087399.1 GI: 78057034
[Protein](#) [PubMed](#) [Taxonomy](#)
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)

[Pygomeles braconnieri mRNA for Metallothionein \(metallothionein gene\)](#)

2. 548 bp linear mRNA
Accession: AM087398.1 GI: 78057032
[Protein](#) [PubMed](#) [Taxonomy](#)
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)

[Phelsuma barbouri mRNA for Metallothionein \(metallothionein gene\)](#)

3. 324 bp linear mRNA

Results by taxon

Top Organisms [Tree]

Mus musculus (300)

Homo sapiens (269)

Danio rerio (42)

Drosophila melanogaster (39)

Macaca mulatta (38)

All other taxa (2553)

More...

Find related data

Database: Select

Find items

Search details

metallothionein[All Fields] AND

٥. يفضل حفظ التسلسل الجين بعد ظهور النتيجة.

COVID-19 is an emerging, rapidly evolving situation. Get the latest public health information from CDC: <https://www.cdc.gov/covid>. Get the latest research from NIH: <https://www.nih.gov/coronavirus>.

GenBank = Send to: Change region shown

Zootoca vivipara mRNA for Metallothionein (metalothionein gene)
GenBank: AM087399.1
[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

LOCUS AM087399 299 bp mRNA linear VRT 18-SEP-2008
DEFINITION Zootoca vivipara mRNA for Metallothionein (metalothionein gene).
ACCESSION AM087399
VERSION AM087399.1
KEYWORDS Metallothionein; metalothionein gene.
SOURCE Zootoca vivipara
ORGANISM Zootoca vivipara
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Lepidosauria; Squamata; Bifurcata; Unidentata; Episquamata; Laterata; Lacertibiaenia; Lacertidae; Zootoca.

REFERENCE 1
AUTHORS Trinchella,F., Riggio,M., Filosa,S., Parisi,E. and Scudiero,R.
TITLE Molecular cloning and sequencing of metallothionein in squamates: new insights into the evolution of the metallothionein genes in vertebrates
JOURNAL Gene 423 (1), 48-56 (2008)
PubMed 18675328

REFERENCE 2 (bases 1 to 299)
AUTHORS Trinchella,F.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (23-SEP-2005) Trinchella F., of Biological Sciences, University of Naples Federico II, via Mezzocanone 8, 80134 Napoli, ITALY

FEATURES
source Location/Qualifiers
1..299
/organism="Zootoca vivipara"
/mol_type="mRNA"
/db_xref="taxon:8524"
/tissue_type="liver"
/country="Italy"
..299
/gene="metalothionein"
CDS 1..192
/gene="metalothionein"
/function="metal-binding protein"
/codon_start=1
/product="Metallothionein"
/protein_id="CA132319.1"
/db_xref="GOA:Q3BK36"
/db_xref="InterPro:IPR000006"
/db_xref="InterPro:IPR003019"
/db_xref="InterPro:IPR017854"
/db_xref="InterPro:IPR018064"
/db_xref="UniProtKB/TrEMBL:Q3BK36"
/translation="MDPQDCACRTGGSCSCAGSCKKCKCTSKKSCSCCPAGCNK
CAKSKVCFEISLNVKCFCT"

ORIGIN
1 atggatctc aggaactgc ctgccgact ggtggctct gtctctgtc cgctctcgc
61 aaatgcaaaa attgcaaat cacttcatg aaaaaaagc gctgctctg ttgccagct
121 ggaatgcaaa aatgtgcaa gagttgtg tcgaagagc cactgctgga taatgcagc
181 tctgcacct aaaaatgca ttgaaaaa ggaagcaact ttctatttt gtaattgctc
241 ttctatacag ataaaaggaa gaaaatgtt ttcagaaaa taaaagtatt ttaaacttg
//

التسلسل الجين

You are here: NCBI > DNA & RNA > Nucleotide Database Support Center

AUTHORS Trinchella,F.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (23-SEP-2005) Trinchella F., of Biological Sciences, University of Naples Federico II, via Mezzocanone 8, 80134 Napoli, ITALY

FEATURES
Location/Qualifiers
source 1..299
/organism="Zootoca vivipara"
/mol_type="mRNA"
/db_xref="taxon:8524"
/tissue_type="liver"
/country="Italy"
..299
/gene="metalothionein"
CDS 1..192
/gene="metalothionein"
/function="metal-binding protein"
/codon_start=1
/product="Metallothionein"
/protein_id="CA132319.1"
/db_xref="GOA:Q3BK36"
/db_xref="InterPro:IPR000006"
/db_xref="InterPro:IPR003019"
/db_xref="InterPro:IPR017854"
/db_xref="InterPro:IPR018064"
/db_xref="UniProtKB/TrEMBL:Q3BK36"
/translation="MDPQDCACRTGGSCSCAGSCKKCKCTSKKSCSCCPAGCNK
CAKSKVCFEISLNVKCFCT"

Recent activity

Zootoca vivipara mRNA for Metallothionein (metalothionein gene) Nucleotide

metallothionein AND (animals[filter] AND biomol_mrna[PROP]) (3241) Nucleotide

metallothionein AND (animals[filter]) (4800) Nucleotide

metallothionein (28388) Nucleotide

Effect of Dietary Supplementation of Moringa Oleifera on the Production Performa...

See more...

ORIGIN
1 atggatctc aggaactgc ctgccgact ggtggctct gtctctgtc cgctctcgc
61 aaatgcaaaa attgcaaat cacttcatg aaaaaaagc gctgctctg ttgccagct
121 ggaatgcaaa aatgtgcaa gagttgtg tcgaagagc cactgctgga taatgcagc
181 tctgcacct aaaaatgca ttgaaaaa ggaagcaact ttctatttt gtaattgctc
241 ttctatacag ataaaaggaa gaaaatgtt ttcagaaaa taaaagtatt ttaaacttg
//

٦. بعدها وفي نفس الصفحة يوجد على الجهة اليمين خيارات لتحليل تسلسل Sequence نختار منه Pick Primers.

NCBI Resources How To Sign in to NCBI

Nucleotide Nucleotide Search Help

Advanced

COVID-19 is an emerging, rapidly evolving situation.
Get the latest public health information from CDC: <https://www.coronavirus.gov>.
Get the latest research from NIH: <https://www.nih.gov/coronavirus>.

GenBank Send to: Change region shown Customize view

Zootoca vivipara mRNA for Metallothionein (metalothionein gene)

GenBank: AM087399.1
[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

LOCUS	AM087399	299 bp	mRNA	linear	VRT 18-SEP-2008
DEFINITION	Zootoca vivipara mRNA for Metallothionein (metalothionein gene).				
ACCESSION	AM087399				
VERSION	AM087399.1				
KEYWORDS	Metallothionein; metallothionein gene.				
SOURCE	Zootoca vivipara (common lizard)				
ORGANISM	Zootoca vivipara Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Lepidosauria; Squamata; Bifurcata; Unidentata; Episquamata; Laterata; Lacertibaenia; Lacertidae; Zootoca.				
REFERENCE	1				
AUTHORS	Trinchella,F., Riggio,M., Filosa,S., Parisi,E. and Scudiero,R.				
TITLE	Molecular cloning and sequencing of metallothionein in squamates: new insights into the evolution of the metallothionein genes in vertebrates				

Analyze this sequence
Run BLAST
Pick Primers
Highlight Sequence Features
Find in this Sequence

Related information
Protein
PubMed
Taxonomy
Functional Class

٧. ندخل البيانات المطلوبة الخاصة بمدى البادئ الموجة او البادئ العكسي، حيث تحسب T_m حسب المعادلة التالية :

$$T_m = (A+T)*2 + (G+C)*4$$

(A+T) مجموع عدد قواعد الأدينين والثايمين.

(G+C) مجموع عدد قواعد الكوانين والسيستين

Finding primers specific to your PCR template (using Primer3 and BLAST).

[Reset page](#) [Save search parameters](#) [Retrieve recent results](#) [Publication](#) [Tips for finding specific primers](#)

PCR Template

Enter accession, gi, or FASTA sequence (A refseq record is preferred) [Clear](#)

AM087399.1

Or, upload FASTA file

No file chosen

Range

Forward primer From To [Clear](#)
Reverse primer

ندخل هنا المدى للبادئ
الموجه والبادئ العكسي
Forward primer
Reverse primer

Primer Parameters

Use my own forward primer (5'->3' on plus strand) [Clear](#)

Use my own reverse primer (5'->3' on minus strand) [Clear](#)

PCR product size

Min Max

حجم ناتج ال PCR

of primers to return

عدد البرايمرات (البادئ)

Primer melting temperatures (T_m)

Min Opt Max Max T_m difference

درجة حرارة الانصهار

Exon/intron selection

A refseq mRNA sequence as PCR template input is required for options in the section [?](#)

Exon junction span

Exon junction match

Min 5' match Min 3' match Max 3' match

Minimal and maximal number of bases that must anneal to exons at the 5' or 3' side of the junction [?](#)

Intron inclusion

Primer pair must be separated by at least one intron on the corresponding genomic DNA [?](#)

٨. نضغط على خيار Get Primers في اسفل الشاشة.

Note: Parameter values that differ from the default are highlighted in yellow

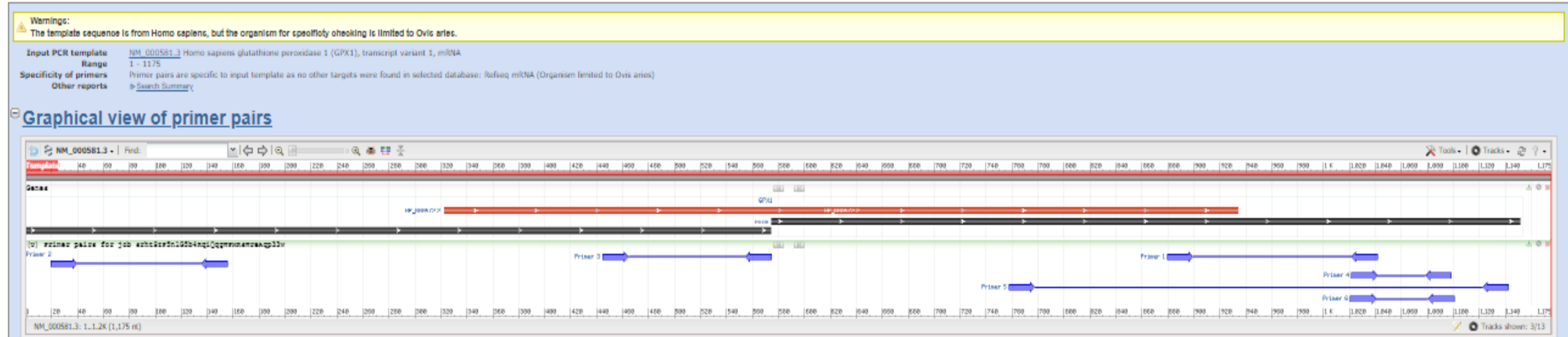
Primer Pair Specificity Checking Parameters

Specificity check	<input checked="" type="checkbox"/> Enable search for primer pairs specific to the intended PCR template
Search mode	Automatic
Database	Refseq mRNA
Exclusion	<input type="checkbox"/> Exclude predicted Refseq transcripts (accession with XM, XR prefix) <input type="checkbox"/> Exclude uncultured/environmental sample sequences
Organism	8524 Enter an organism name (or organism group name such as enterobacteriaceae, rodents), taxonomy id or select from the suggestion list as you type. Add more organisms
Entrez query (optional)	
Primer specificity stringency	Primer must have at least 2 total mismatches to unintended targets, including at least 2 mismatches within the last 5 bps at the 3' end. Ignore targets that have 6 or more mismatches to the primer.
Max target size	4000
Allow splice variants	<input type="checkbox"/> Allow primer to amplify mRNA splice variants (requires refseq mRNA sequence as PCR template input)

Get Primers Show results in a new window Use new graphic view

▶ [Advanced parameters](#) Note: Parameter values that differ from the default are highlighted in yellow

٩. بعدها تظهر النتائج التالية تحتوي على البادئ.



Detailed primer reports

Primer pair	Sequence (5'-3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Primer pair 1									
Forward primer	TGACATCGAGCCTGACATCG	Plus	20	880	899	59.90	55.00	4.00	3.00
Reverse primer	ATCAGGTGTTCCTCCCTCGT	Minus	20	1041	1022	60.25	55.00	3.00	0.00
Product length	162								
Primer pair 2									
Forward primer	CCCTTGGAGGGTAACCTGG	Plus	20	20	39	59.67	60.00	8.00	3.00
Reverse primer	CCCTCCTCAGCCAGGAAAAG	Minus	20	155	136	60.03	60.00	4.00	1.00
Product length	136								
Primer pair 3									
Forward primer	TATCGAGAATGTGGCGTCCC	Plus	20	445	464	59.61	55.00	4.00	2.00
Reverse primer	CTGATGCCAAACTGGTTGC	Minus	20	574	555	60.04	55.00	5.00	3.00
Product length	130								
Primer pair 4									
Forward primer	ACGAGGGAGGAACACTGAT	Plus	20	1022	1041	60.25	55.00	3.00	2.00
Reverse primer	GGCAGAGACTGGATCAACA	Minus	20	1098	1079	59.38	55.00	4.00	2.00
Product length	77								
Primer pair 5									
Forward primer	GACCCCAAGCTCATCACTTG	Plus	20	758	777	60.39	60.00	4.00	2.00
Reverse primer	GTTGACACCCGGCAGCTTTAT	Minus	20	1142	1123	60.68	55.00	4.00	2.00

• اشرح الخطوات اللازمة لتصميم البرايمر؟

المصادر

- Payne, D. A. (2016). Basics of Molecular Biology. In *Molecular Pathology in Clinical Practice* (pp. 1-17). Springer, Cham.
- قازانجي، محمد عمر؛ جبر، حميد عبود. (٢٠١٧). علم الحياة الجزيئي. الطبعة الاولى. جامعة بغداد، كلية الزراعة. الدار الجامعية للطباعة والنشر والترجمة.
- مصطفى، نشأت غالب. (٢٠١٨). البيولوجي الجزيئي. الطبعة الاولى. دار الكتاب الجامعي.
- <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

Thank You