Genetics & molecular biology

◉ Sheet ○ Slide

Number: 11

Done by: - Marah khader

Corrected by: -Saja jarar -Sara Nadeem

Doctor: - Emad matouq

Polymerase chain reaction (PCR):

-DNA replication in test tube (in-vitro خارج جسم الانسان خارج اي حياة).

خلال ساعتين بقدر اعمل مليارات النسخ من اي مقطعDNA

- DNA replication to replace the best players and abandon them for practical applications within the laboratory

1- heat instead of helicase: helicase حيث انه نتيجة الحرارة المرتفعة رح تنفك strandدون الحاجة الى انزيم

2- heat instead of Topoisomarize: ايضا بسبب الحرارة لن يوجد تعقيدات نتيجة الفك

نتيجة لفك strandمرة واحدة وليس بالتدريج فلن ينتج lagging strand لا يوجد داعي لهذه
3-heat instead of الانزيمات

4-heat instead of single stranding DNA

5- SSB protein: ما رح نحتاجهم لانو الحرارة بتمنعهم يرجعو يرتبطوا

-we need now these steps for success (PCR):

1- DNA of any organism to be replicated (plant, bacteria, human,…)

2-DNA polymerase 3

3-DNTPs: nucletides, could be bought

4- 2 primer one in the start of the gene and the other in the end through gen bank

5-buffer :DNA polymerase نحتاج الى MgClمن اجل

2+3+4+5 we can bought it

Human DNA polymerase will clot if heated at 94 for 5 minutes!!

الحل: تم اكتشاف نوع من انواع البكتيريا اسمها thermo aquaticus (Taq DNA polymerase) تعيش في درجات الحرارة العالية جدا(الينابيع الساخنة) والبكتيريا تحتوي على DNA polymerase لا يتخثر على درجات الحرارة المرتفعة

The process:

-**First step (denaturation)**: at 94c for 5

In this step the double helix strands open as a result of heating at 94 for 5 m

-**Second step (Annealing):** to help the primers connect the strands we need to decrease the heat in calculation and this depends on the sequence of DNA: annealing usually occur at 60c (melting temperature) for 30s/ tm is in general (50-65c)

-Third step (elongation): takes 30 seconds and sometime 1 m according to DNA length

DNA polymerase works best at 72c

Steps (1+2+3) => one cycle

نستطيع ان نكرر هذه الدورة على عدد المرات التي نحتاجها لكن فترة الخطوة الاولى تكون اقل ما منسخنها لمدة 5 دقائق يكفي 30 ثانية

وعندما نحسب عدد النسخات الناتجة من عدد معين من الدورات الناتج، علاقته اسيه مع عدد الدورات يعني مثلا لما اعمل 30 دورة عدد النسخ بكون 2 قوة 30

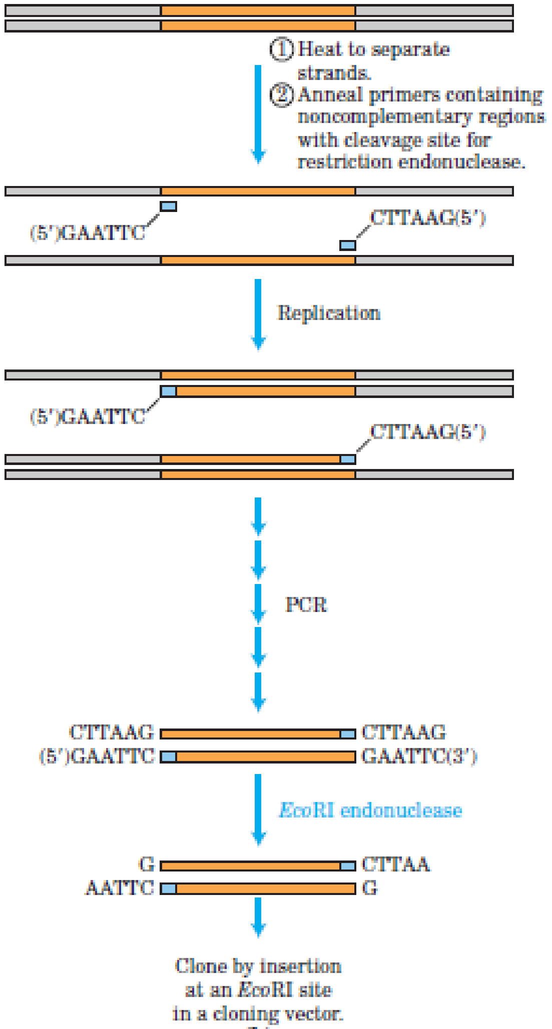
(PCR): تطبيقات ال

-prenatal diagnoses (genetic disease): اثناء تطور الجنين في المراحل الاولى من عمره يمكن معرفة اذا الجنين مصاب بامراض وراثية حسب تاريخ العيلة هاد بكون عن طريق اول اشي من خلال معرفة تاريخ العيلة بحدد المنطقة الي انا شاكك انو حيصير فيها مرض بروح باخد مقطع من خلالها من هناك وبعمل المليين من النسخ عن طريق هذه التقنية وبعدين ببعتها عاشي اسمه sequencing بعرف ومن خلاله بحدد اذا في امراض او لا

-DNA fingerprinting

-genetic engineering

- Forensic medicine



(b)

-Restriction enzymes: هذه تقنية اخرى

هذه الانزيمات ايضا من اعظم الاكتشافات وهي حجر الاساس نستخدمه في الهندسة الجينية والهندسة الجينية كلها قص وربط مقاطع بشكل مختص جدا من المادة الوراثية فبتنشئ مقااطع جديدة مش موجودة اصلا. ومن خلالها بصنعو ادوية للسرطان ايضا

-The tools that we use لعملية القص اسمهاrestriction enzyme هذه الانزيمات بتقص المقاطع بطريقة مختصة جدا

وهذه الانزيمات اصلها من البكتيريا تستخدمها البكتيريا للدفاع عن نفسها من الفيروسات حيث انه عند دخول الفيروس جوا البكتيريا هذه الانزيمات بتتعرف علي DNA وبتقصه

طرق القص : -

1- Blunt end digestion: قص بشكل

متماثل

-

-2 Sticky end قص بشكل غير متماثل وهدول للهندسة الجينية