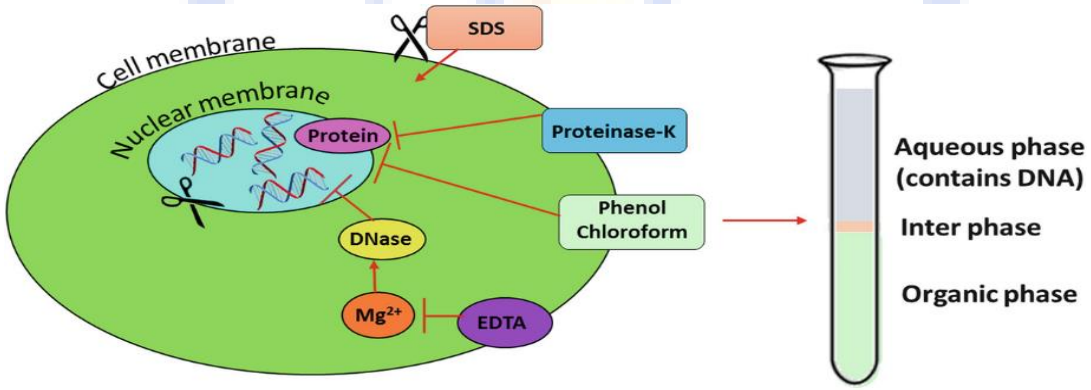
الكلية	التربية للعلوم الصرفة
القسم	علوم حياة
المادة باللغة الانجليزية	Practical Molecular Biology
المادة باللغة العربية	البايولوجي الجزيئي العملي
المرحلة الدراسية	الرابعة
اسم التدريسي	م.م. حسين رياض عبدالكريم
عنوان المحاضرة باللغة الانجليزية	Plasmids
عنوان المحاضرة باللغة العربية	البلازميدات
رقم المحاضرة	6
المصادر والمراجع	Watson, J.D.; Baker, T.A,; Bell, S.P.; Gann, A. (2004). Molecular .Biology of the Gene. 5th Ed. Pearson edution
	Clark, D. (2006). Molecular Biology Understanding the Genetic Revolution. Elsevier Inc.
	Santos, D.M. (2011). Genetic Engineering, Recent Developments in application. Apple Academic press.
	عماش، هدى صالح مهدي.(١٩٩٤). مبادئ علم الحياة الجزيئي. كلية العلوم . جامعة بغداد.
	البكري ، غالب حمزة.(١٩٩٠). مبادئ الهندسة الوراثية. جامعة البصرة.

محتوى المحاضرة

UNIVERSITY OF ANBAR

البايولوجي الجزيئي العملي

لطلاب كلية التربية للعلوم الصرفة \ قسم علوم الحياة \ المرحلة الرابعة



UNIVERSITY OF ANBAR

المختبر السادس : البلازميدات Plasmids

البلازميدات Plasmids :

عبارة عن جزيئات دائرية Circular DNA Molecules بشكل دنا لولبي مزدوج دائري مغلق عالي الالتفاف supercoiled circular closed DNA تتواجد خارج الدنا الكروموسومي الاصلي للخلية **البكتيرية** ولها القابلية على التكرار بشكل مستقل عن الكروموسوم . تتواجد البلازميدات في بدائية النواة وخصوصا البكتيريا ونادرا ما ت تواجد في حقيقية النواة الواطئة وتتميز بصغر حجومها الجزيئية مقارنة بالكروموسوم فهي تشكل 1% من الكروموسوم . ولا تتوقف حياة المضيف على وجود البلازميدات, الا انها تضفي على الضيف صفات اضافية تمكنه من العيش تحت ظروف استثنائية.

من اهم الصفات الوراثية التي تشفر لها البلازميدات مايلي:

1- المقاومة للمضادات الحيوية.
2- انتاج البكتريوسينات. Bacteriosens
3- انتاج الهيمولايسين. Heamolysine
4- تخمير السكريات
5- مقاومة المعادن الثقيلة
6- تحطيم الهيدروكاربونات.

من اهم استخدامات البلازميدات هو انها تستخدم في مجال الهندسة الوراثية كنواقل استنساخ Cloning vectors أي نواقل كلونة نتيجة امتلاكها للعديد من الصفات ومنها:

1- صغر حجومها الجزيئية.
2- قابليتها على التواجد بنسخ متعددة.

♦استخلاص البلازميدات

المحاليل المستخدمة:-

1-المحلول الدارئ رقم 1 :يتكون 50 mM Tris-Hcl و 10 mM EDTA ويكون الرقم الهيدروجيني للمحلول 8

2- المحلول الدارئ رقم 2 :يتكون من 0.2 NaoH و 1% SDS

3-المحلول الدارئ رقم 3 :يتكون من 3.2M Potassium acetate برقم هيدروجيني 5.5

4-Isopropanol

5- 70 % Ethanol

6-المحلول الدرائ TE

طريقة العمل

١- ننقل 1.5 مل من مزرعة بكتيرية إلى انبوبة ابندروف نظيفة وتطرد الانابيب مركزيا بسرعة 7000 دورة \دقيقة لمدة ٥ دقائق . يتم بعدها التخلص من الرائق تماما والاحتفاظ براسب الخلايا pellet في قعر الانبوبة

٢- يضاف 100 مايكرولتر من المحلول الدارئ رقم 1 ويتم اعادة تعليق الراسب باستخدام المازج Vortex لحين اختفاء الراسب بصورة تامة

٣- يضاف 100مايكرولتر من المحلول الدارئ رقم 2 ويتم خلط محتويات الانبوبة بالتقليب لمدة 2 – 3 دقائق .

٤- يضاف 100 مايكرولتر من المحلول الدارئ رقم 3 وتغلق الانبوبة ويتم خلط المحتويات سريعا وفورا يتم طرد الانابيب مركزيا بسرعة 12000 دورة \ دقيقة ولمدة 25 دقيقة .

٥- يتم نقل الرائق إلى انبوبة ابندروف جديدة ويضاف اليه 180 مايكرولتر من الايزوبروبانول وتمزج المحتويات بالتقليب.

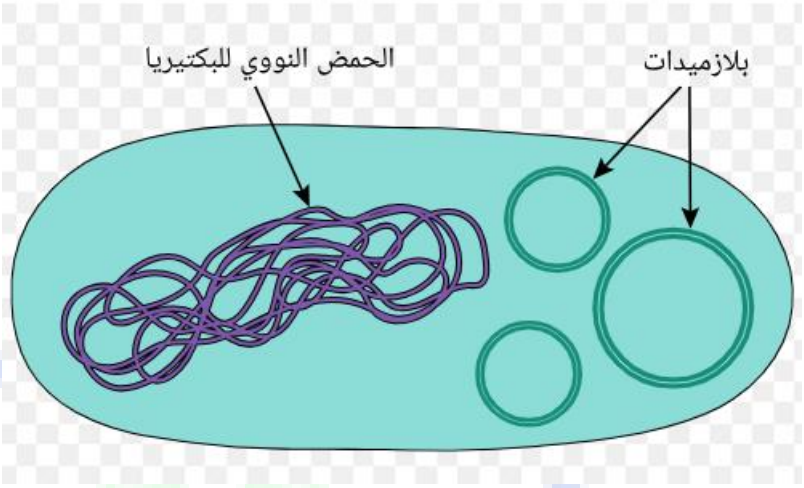
٦- تطرد الانابيب مركزيا بسرعة 12000 دورة \ دقيقة لمدة 25 دقيقة

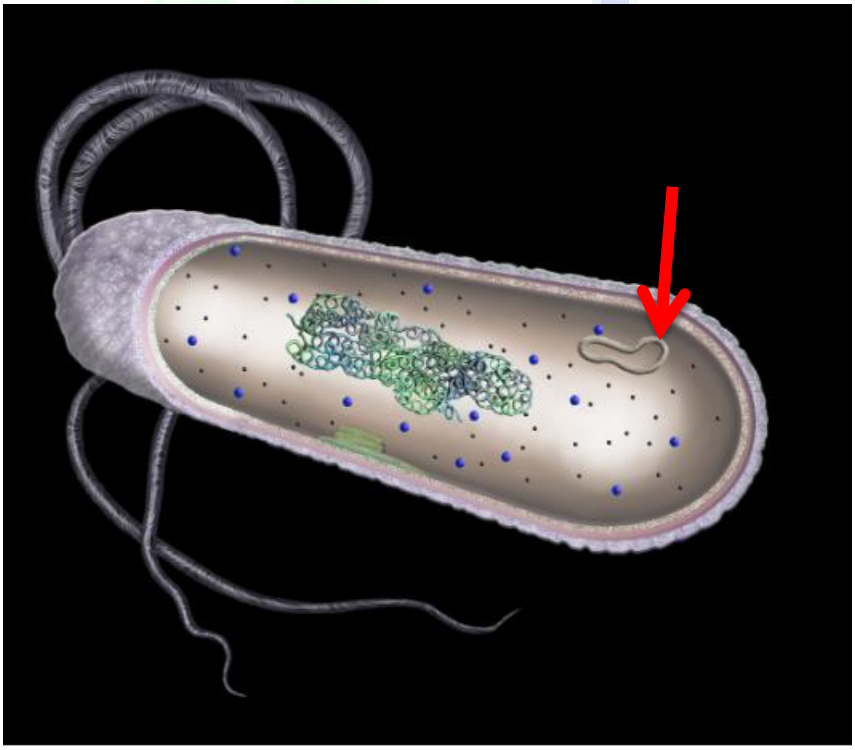
٧- يتم التخلص من الرائق ويضاف 200 مايكرولتر من 70% ايثانول ويعاد الطرد المركزي بسرعة 12000 دورة\ دقيقة لمدة 20 دقيقة .

٨- يتم التخلص من الرائق وتجفف الانابيب بدرجة حرارة الغرفة لحين زوال رائحة الايثانول من الانابيب.

٩- يتم اذابة الدنا البلازميدي باضافة 50 مايكرولتر من محلول TE .

١٠- تحفظ العينات في -4 مئوية .





UNIVERSITY OF ANBAR

UNIVERSITY OF ANBAR

1987 1408
UNIVERSITY OF ANBAR