مراجعة الوحدة الثالثة التقنية الجينية بطريقة سؤال وجواب وفق منهج كامبريدج





تم تحميل هذا الملف من موقع المناهج العمانية

موقع فايلاتي ← المناهج العمانية ← الصف الثاني عشر ← أحياء ← الفصل الأول ← ملفات متنوعة ← الملف

تاريخ إضافة الملف على موقع المناهج: 11-25:25 2025-11-09

ملفات ا كتب للمعلم ا كتب للطالب ا اختبارات الكترونية ا اختبارات ا حلول ا عروض بوربوينت ا أوراق عمل منهج انجليزي ا ملخصات وتقارير ا مذكرات وبنوك ا الامتحان النهائي ا للمدرس

المزيد من مادة أحياء:

إعداد: منى الحوقاني ثريا الريامي

التواصل الاجتماعي بحسب الصف الثاني عشر









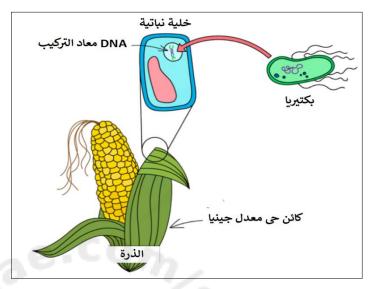


صفحة المناهج العمانية على فيسببوك

المزيد من الملفات بحسب الصف الثاني عشر والمادة أحياء في الفصل الأول	
مراجعة الوحدة الرابعة الاتزان الداخلي بطريقة سؤال وجواب من منهج كامبريدج	1
تجميع أسئلة اختبارات سابقة على الوحدة الأولى الأحماض النووية وتخليق البروتين مرفقة بنماذج الإجابة	2
تجميع أسئلة اختبارات سابقة على الوحدة الخامسة التحكم والتنسيق مرفقة بنماذج الإجابة	3
تجميع أسئلة اختبارات سابقة على الوحدة الثالثة التقنية الجينية مرفقة بنماذج الإجابة	4
تجميع أسئلة اختبارات سابقة على الوحدة الثانية الوراثة مرفقة بنماذج الإجابة	5

مراجعة الوحدة الثالثة للصف الثاني عشر لمادة الأحياء منهج كامبردج أ.منى الحوقاني / ثريا الريامي مدرسة الشيخة نضيرة الريامية (10-12)

1- يمثل الشكل أدناه نبات معدل جينيا بالهندسة الجينية.



الشكل (1-1)

أ-اشرح معنى المصطلح DNA معاد التركيب (rDNA)؟ DNA يتم تكوينه اصطناعيا بربط قطع من DNA من كائنين حيين من النوع نفسه أو نوعين مختلفين(يحتوي على نيوكليوتيدات من كائنين حيّين) أو أكثر.

ب- اشرح معنى الهندسة الجينية ؟

أي إجراء يتضمن تغيير المعلومات الجينية في كائن حي عن طريق إدخال جين من كائن حي آخر، يسمى هذا الكائن الحي كائنا حيًا معدًل جينيا.

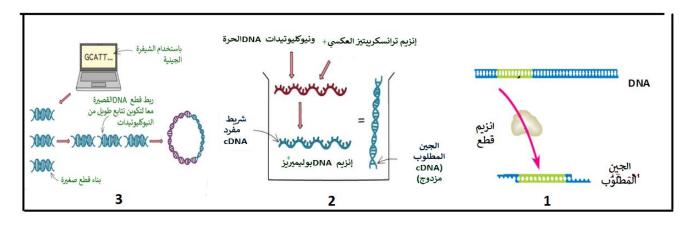
الهندسة الجينية هي المعالجة المقصودة للمادة الجينية لتعديل خصائص معينة في الكائن الحي، وقد يشمل ذلك نقل جين إلى الكائن الحي ليتم التعبير عنه.

ج-صف كيف تختلف الهندسة الجينية عن التكاثر الانتقائي؟

- لا يتضمن التكاثر الانتقائي إدخال جين معيّن مباشرة في DNAالكائن الحي لتكوين DNAمعاد التركيب.
- تتزاوج في التكاثر الانتقائي أصناف محددة من النباتات أو الحيوانات أو الكائنات الحية الدقيقة (على سبيل المثال الخمائر) لتحسين صفة معيّنة أو لإنتاج تركيب من الصفات مرغوب فيه. وهو ما يتحقق عن طريق جمع الجينات المرغوب فيها من الأبوَين في التكاثر الجنسي.
 - لا تتضمّن الهندسة الجينية أيّ تزاوج بين الأفراد.

2- يمكن استنساخ قطع DNA باستخدام (PCR) في المختبر أو استنساخه في كائن حي . الشكل الآتي يوضح مراحل استنساخ DNA في كائن حي. عزل DNA تصنيع DNA كيميائيا باستخدام 1 نيوكليوتيدات 2 ادخال الجين في بلازميد ناقل ادخال البلازميد في خلايا بكتيرية 3 السماح للبكتيريا بالتضاعف تحديد البكتيريا المعدلة جينيا تنمية الخلايا البكتيرية المعدلة جينيا ليتم استنساخ الجين المرحلة الأولى توضح احدى الطرق المستخدمة لتكوين قطع DNA. اذكر الطرق الأخرى للحصول على قطع DNA . -اقتطاع الجين من DNA كائن حى باستخدام انزيمات القطع اندونيوكليز. -تحويل mRNA الى cDNA باستخدام انزيم ترانسكريبتيز العكسى (النسخ العكسي). 3- جين الأنسولين يستخلص من خلية بشرية ويدخل في خلية بكتيرية ، تم تقوم البكتيريا بتصنيع الأنسولين ، ماذا تسمى هذه العملية : □ الإنتقاء الطبيعي □ الهندسة الجينية 🗖 الانتقاء الصناعي □ التربية الانتقائية

4.الشكل أدناه يوضح طرق تصنيع أواستخلاص الجين من كائن حي مانح لنقله إلى كائن حي متلق في الهندسة الجينية.



أ.عرف مصطلح الهندسة الجينية.

أي إجراء يتضمن تغيير المعلومات الجينية في كائن حي عن طريق إدخال جين من كائن حي آخر، يسمى هذا الكائن الحي كائنا حيًا معدًل جينيا.

ب.حدد الرقم الذي يشير إلى جينات:

- مصنعة من mRNA كائن حي مانح. (2)
- مستخلصة من DNA كائن حي مانح. (1)
 - مصنعة كيميائيا من نيوكليوتيدات. (3)

ج.صف كيف يمكن استخلاص جين من كروموسوم كائن حي مانح لنقله إلى كائن حي متلقّ ؟ يتم تحديد الجين المطلوب ويمكن اقتطاعه من الكروموسوم بانزيمات القطع (اندونيوكليز) والتى تقطع DNA في مواقع قطع محددة داخل جزيء DNA وليس في نهايته.

د.صف طريقتين مختلفتين يمكن من خلالهما تصنيع جينات لنقلها إلى كائن حي متلقِّ؟ 1-تكوينه من mRNA بالنسخ العكسي:

باستخدام إنزيم ترانسكريبتيز العكسي واضافة بادئة ونيوكليوتيدات DNA الحرة (DNTPs) لتكوين cDNA مفرد ،ثم يتم إزالة mRNA بهضمه انزيميا ، ثم يضاف DNA بوليميريز ونيوكليوتيدات DNA الحرة (DNTPs) ويُستخدم DNA بوليميريز لبناء عديد نيوكليوتيد مكمل لشريط DNA المفرد، مكوّنًا DNA مكمل مزدوج يطلق عليه cDNA والذي تضاف اليه نهايات لاصقة.

2-يتم بناؤه من النيوكليوتيدات: باستخدام الشيفرة الجينية ونيوكليوتيدات DNA

- تستطيع أجهزة بناء DNA تكوين أجزاء DNA قصيرة اعتمادا على ً تتابع النيوكليويتدات المحفوظة في الحاسوب، والذي يتم اختباره اعتمادا على تتابع الأحماض الأمينية التي تنتج منه.
 - يتم ربط قطع DNA القصيرة معا لتكوين تتابع طويل من النيوكليوتيدات
 - يتم إدخاله في البلازميدات ليستخدم في الهندسة الجينية.

5- لتحديد وظيفة الجين يمكن للعلماء إضافة نسخة من الجين في البلازميد لتكوين DNA معاد التركيب ثم يتم نقل البلازميد معاد التركيب الي خلية بكتيرية مضيفة ليتم التعبير عن الجين أ. عرف مصطلح DNA معاد التركيب؟

DNA يتم تكوينه اصطناعيا بربط قطع من DNA من كائنين حيين من النوع نفسه أو نوعين مختلفين(يحتوي على نيوكليوتيدات من كائنين حيَّين) أو أكثر.

pIRES2-EGFP هو أحد أنواع البلازميد المستخدمة لهذا الغرض. يظهر الشكل 5.1 مميزات pIRES2-EGFP.



الشكل 5.1

يحتوي البلازميد على الجين المشفر للبروتين المتوه<mark>ج الأ</mark>خضر GFP . ب.اشرح الغرض من تضمين جين البروتين المتوهج الأخضر في البلازميد

- علامة جينية
- التعرف على البكتيريا المعدلة جينيا التي امتصت البلازميد معاد التركيب.
- تتوهج البكتيريا المعدلة جينيا عند تعرضها للأشعة فوق البنفسجية باللون الأخضر.

جين غير معروف الوظيفة ادخل في موقع الاستنساخ المتعدد (MCS) في البلازميد -PIRES2 EGFP

MCS يحتوي على تتابع نيوكليوتيدات مستهدفة لعدد من انزيمات القطع اندونيوكلييز المختلفة. يظهر الشكل 5.2 تتابع نيوكليوتيدات MCS في البلازميد pIRES2-EGFP.

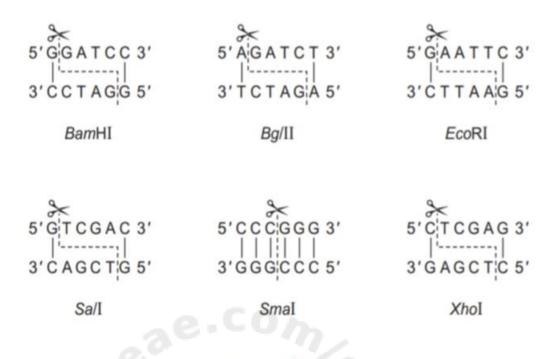
5'CTCAGATCTCGAGCTCAAGCTTCGAATTCTGCAGTCGACGGTACCGCGGGCCCGGGATCC 3'

3'GAGTCTAGAGCTCGAGTTCGAAGCTTAAGACGTCAGCTGCCATGGCGCCCCGGGCCCTAGG 5'

الشكل 5.2

تتابع النيوكليوتيدات مستهدفة ب 6 انزيمات من انزيمات القطع اندونيوكلييز المختلفة.

يظهر الشكل 5.3 طريقة قطع DNA لكل انزيم .

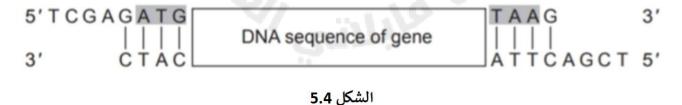


الشكل 5.3

أ.صف نوع النهايات الناتجة عندما يتم قطع DNA باستخدام انزيم Smal أ.صف نوع النهايات حادة / مستقيمة

استخدم العلماء اثنين من انزيمات القطع الموضحة في الشكل 5.3 لتحديد الجين غير معروف الوظيفة لادخاله في MCS البلازميد pIRES2-EGFP.

الشكل 5.4 يوضح الجين الذي تم الحصول عليه بع<mark>د الق</mark>طع بهذين الأنزيمين بالإضافة الى تتابع القواعد في النهايتين ،تم تظليل شيفرات البدء ATG وشيفرات الأيقاف TAA.



ب.سم الانزيمين المستخدمين لقطع MCS في البلازميد pIRES2-EGFP الذي يمكن إدخاله Sall ، Xhol

ج.ارسم في الشكل 5.2 حلقة حول مجموعة النيوكليوتيدات في MCS التي تمت ازالتها لادخال الجين الموضح في الشكل 5.4 .

5'CTCAGATCTCGAGCTCAAGCTTCGAATTCTGCAGTCGACGGTACCGCGGGCCCGGG	ATCC	3'
	IIII	-
3'GAGTCTAGAGCTCGAGTTCGAAGCTTAAGACGTCAGCTGCCATGGCGCCCGGGCCC	AGG	2

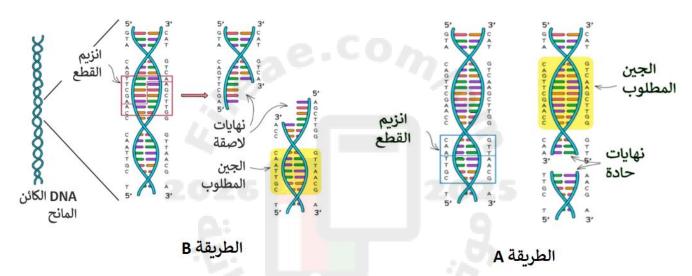
لتحديد وظيفة الجين من المهم أن يتم ادخال الجين بسهولة في البلازميد وبمجرد إدخاله يتم التعبير عنه.

د.اقترح سببا لاستخدام العلماء انزيمات قطع مختلفة عند الطرف 5 والطرف 3 من الجين لادخال الجين في البلازميد.

لمنع إعادة ارتباط البلازميد (على شكل حلقي) قبل ادخال الجين. لمنع نهايتي الجين من الارتباط وتشكيل حلقة.

ه.قم بتسمية الانزيم المستخدم لربط الأطراف المقطوعة للجين بالأطراف المقطوعة للبلازميد. DNA لايجيز

6-الشكل يوضح طرق قطع DNA بانزيمات القطع اندونيوكلييز.



أ.عرف المصطلح إنزيم القطع إندونيوكلييز.

إنزيمات مشتقة أصلًا من البكتيريا، تقطع في أماكن محددة داخل جزيء DNA وليس في نهايته.

ب.حدد طريقة القطع:

A: القطع بطريقة مستقيمة

B : القطع بطريقة متعرجة

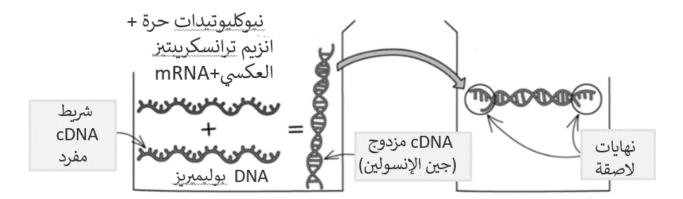
ج.صف عمل إنزيمات القطع إندونيوكلييز.

-يستهدف كل إنزيم موقع قطع، وهو تتابع محدّد من أربع إلى ست قواعد ، للعديد من مواقع القطع تتابعات متناظرة (يكون التتابع نفسه عندما يقرأ من كلا الاتجاهين).

- يمكن أن يقطع إنزيم القطع بطريقة مستقيمة عبر العمود الفقري سكر- فوسفات لتكوين نهايات مستقيمة.
- ويمكن بطريقة متعرّجة لتكوين «نهايات لاصقة »، تاركًا أجزاء قصيرة من قواعد غير مزدوجة عند هذه النهايات اللاصقة لتكوين روابط هيدروجينية مع تتابع القواعد المكملة على أجزاء أخرى من DNA المقطوع.

7. أي العبارات التالية تصف الهندسة الجينية بشكل صحيح؟
🗖 التكاثر فقط من نباتات المحاصيل المقاومة للآفات.
☐ تعديل DNA نباتات المحاصيل بحيث تصبح مقاومة لمبيدات الأعشاب.
🗖 استخدام الخميرة لانتاج الإيثانول .
ــــــــــــــــــــــــــــــــــــ
8-تم قطع أربعة أجزاء مختلفة الطول من D ,C ,B , A :DNA ، بإنزيم القطع EcoRl . عدد مواقع
القطع لهذا الإنزيم في الأجزاء المختلفة:
· A - 5, B - 7, C - 0, D - 3
حدد عدد القطع التي ستتكوّن من كل جزء من DNA بعد حضانته مع EcoRI
A 6
B 8
C 1
D4
 عدد القطع الناتجة = عدد مواقع القطع +1
عند قطع البلازميد الحلقي بواسطة انزيم القطع في موقع قطع واحد تنتج قطعة واحدة فقط
مفتوحة
9- تحمي البكتيريا نفسها من الفيروسات عن طريق تق <mark>طيع ال</mark> حمض النووي الفيروسي باستخدام:
□ اندونيوكلييز
□ لايجيز
يبيو □ البوليميريز
— .و يـ يـوي □ اكسونيوكليز
10-يتم تعديل البكتيريا جينيا لتصنيع بروتينات بشرية.
أي جزء من البكتيريا يستخدم في التعديل الجيني؟
البلازميد
🗖 النيوكليوتيد
RNA 🗖
🗖 الرايبوسومات
3 3
11-ما هي مجموعة المصطلحات التي توضح بشكل صحيح الإجراء الموضح في الشكل أدناه والمادة
التي ينتجها هذا الإجراء؟
🗖 التكاثر الإنتقائي – هرمون النمو
□ الاستنساخ- الأحسام المضادة
🗖 الهندسة الجينية – الإنسولين 💆 🗢 🍑 خلية بشرية
Plasmid
خلية بكتيرية

12-الشكل يوضح طريقة الحصول على جين الإنسولين باستخدام mRNAكائن حي مانح.



اشرح دور كل من إنزيمات ترانسكريبتيز العكسي و DNA بوليميريز، في تصنيع الجين في الهندسة الجينية ليتم نقل الجين إلى كائن حي .

- إنزيم ترانسكريبتيز العكسي:

يستخدم شريط mRNA المفرد ونيوكليوتيدات DNA الحرة (DNTPs) لتكوين شريط مفرد (cDNA).

- DNA بوليميريز:

يُستخدم لبناء عديد نيوكليوتيد مكمل لشريط DNA المفرد بإضافة نيوكليوتيدات DNA الحرة (DNA) ، مكوّنًا DNA مكمل مزدوج يطلق عليه CDNA.

13-اشرح دور إنزيم ترانسكريبتيز العكسي و DNA بوليميريز في الهندسة الجينية. يستخدم إنزيم ترانسكريبتيز العكسي شريط mRNA المفرد ونيوكليوتيدات DNA الحرة (DNTPs) لتكوين شريط DNA مفرد يُستخدم إنه يم DNA يوليمريز لبناء عديد نيوكليوتيد مكمل لشريط DNA ، مكوّنًا DNA مكو

يُستخدم إنزيم DNA بوليميريز لبناء عديد نيوكليوتيد مكمل لشريط DNA ، مكوّنًا DNA مكمل مزدوج الشريط ويعبر عنه cDNA

14- تتضمن تقنية الهندسة الجينية استخدام الناقل.

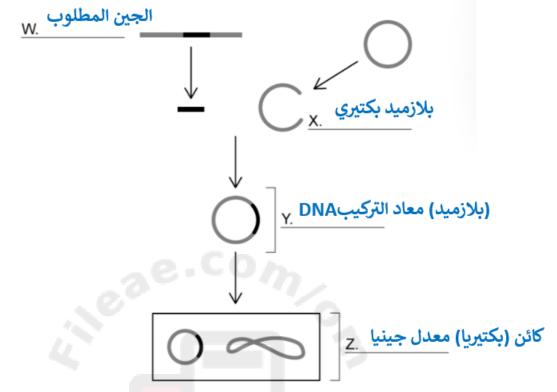
أ.عرف مصطلح الناقل .

وسيلة لإيصال الجينات (قطعة من DNA) إلى الخلية المستخدمة في التقنية الجينية؛ على سبيل المثال، البلازميدات والفيروسات

ب. اذكر مثالا واحدا للناقل المستخدم في الهندسة الجينية البلازميد /الفيروسات /الليبوسومات

15-يمكن استخدام البلازميدات لنقل DNA معاد التركيب الى خلايا الكائنات الحية. ما هو المصطلح البيولوجي المستخدم لوصف المكونات التي تنقل DNA الى خلايا الكائنات الحية ؟ الناقل 16-يوضح الشكل عملية التعديل الجيني المستخدمة لإنتاج عدة نسخ من البروتين من الجين المطلوب.

أ.حدد التراكيب في الشكل.



ب.عرف المصطلح بلازميد.

هي قطع حلقية صغيرة من أشرطة DNA مزدوجة ، توجد البلازميدات طبيعيًا في البكتيريا وغالبًا تحتوي على جينات مقاومة للمضادات الحيوية ، ويمكن تبادلها بين البكتيريا من النوع نفسه، وحتى بين البكتيريا من أنواع مختلفة.

ج.اشرح أدوار إنزيمات القطع اندونيوكليز وDNA لايجيز في إنتاج البلازميد معاد التركيب. إنزيمات القطع اندونيوكليز لفتح DNA البلازميد الحلقي ويُستخدم الإنزيم نفسه في قطع الجين المطلوب لتصبح النهايات اللاصقة لكل من الجين وDNA البلازميد مكملة لبعضها.

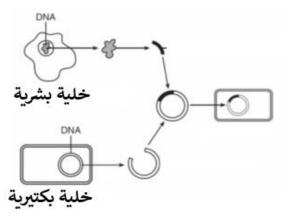
DNA لايجيز: تحفيز تكوين روابط فوسفات ثنائية الإستر لتربط معا العمود الفقري سكر- فوسفات في DNA الجين المطلوب و DNA البلازميد لتكوين حلقة مغلقة من أشرطة DNA المزدوجة المحتوية على الجين الجديد (بلازميد معاد التركيب rDNA).

د.اشرح دور البلازميدات في الهندسة الجينية.

وسيلة لايصال الجينات الى الخلية المستخدمة في التقنية الجينية (يتم وضع الجزء المرغوب فيه من DNA الذي يحتوي على جين واحد أو أكثر داخل خلية مضيفة)

ويستخدم البلازميد معاد التركيب لنقل DNA الجين المرغوب الى خلية البكتيريا ، ينسخ DNA بوليميريز في البكتيريا البلازميدات، ثم تنقسم البكتيريا بالانشطار الثنائي، بحيث تحتوي كل خلية ناتجة على عدة نسخ من البلازميد. يعرف إنتاج عدة نسخ من البلازميد معاد التركيب باسم الاستنساخ الجيني وهذه إحدى الطرائق لإنتاج عدة نسخ من الجين للاستخدام في الهندسة الجينية أو الأبحاث. تنسخ البكتيريا الجين الجديد إلى mRNA لتستخدمه في الترجمة لتكوين بروتين يسمى البروتين معاد التركيب.

17-الشكل أدناه يوضح احدى التقنيات الجينية.



أ.ما نوع المركب العضوي المستخدم لقطع الحمض النووي البكتيري وادخال الحمض النووي البشري فيه؟

- 🗖 انزیمات
- 🗖 كربوهيدرات
 - 🗖 هرمونات
 - 🗖 دھون

ب.اشرح دور كل من إنزيمات القطع إندونيوكلييز وDNA لايجيز والبلازميدات في نقل الجين إلى الكائن الحي.

إنزيمات القطع إندونيوكلييز:قطع DNA في مواقع قطع محددة داخل جزيء DNA وليس في نهايته.

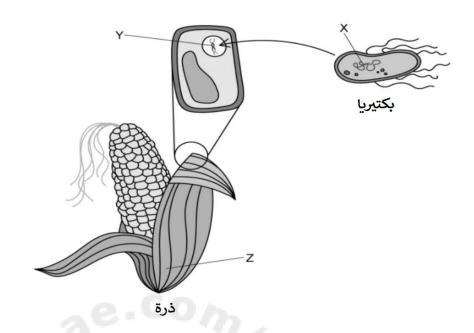
DNA لايجيز: تحفيز تكوين روابط فوسفات ثنائية الإستر لتربط معا العمود الفقري سكر- فوسفات في DNA والبلازميد لتكوين حلقة مغلقة من أشرطة DNA المزدوجة المحتوية على الجين الجديد (بلازميد معاد التركيب rDNA).

البلازميدات: وسيلة لايصال الجينات الى الخلية المستخدمة في التقنية الجينية (يتم وضع الجزء المرغوب فيه من DNA الذي يحتوي على جين واحد أو أكثر داخل خلية مضيفة) ويستخدم البلازميد لنقل DNA الجين المرغوب الى خلية البكتيريا.

18-ما هو دور انزيمات اللايجيز في الهندسة الجينية:

- □ ادخال البلازميدات في البكتيريا.
- □ ربط DNA البشري مع DNA البلازميد.
 - □ عزل الجينات البشرية.
 - ☐ قطع DNA البلازميد المفتوح

19-أي صف يسمي الرموز z ، y ، x بشكل صحيح في مخطط التعديل الجيني الموضح:



х	х	У	Z
K 🗖	كائن معدل جينيا	الناقل	DNA معاد التركيب
A 🗆	DNA معاد التركيب	كائن معد <mark>ل جينيا</mark>	الناقل
A 🔲	DNA معاد التركيب	الناقل	كائن معدل جينيا
ت ت	تسلسل الجين المطلوب	DNA معا <mark>د ا</mark> لتركيب	كائن معدل جينيا

20 - يتم إنتاج DNA معاد التركيب أثناء عملية الهندسة الجينية حيث تتضمن إستخدام مجموعة من الانزيمات .

أ.أذكر مجموعة الانزيمات المستخدمة في التقنيات الآتية خلال الهندسة الجينية"

- قطع الحمض النووي في تسلسل محدد من القواعد.

إنزيم القطع إندونيوكلييز

- تكوين شريط DNA مفرد من قطعة من mRNA.

إنزيم ترانسكريبتيز العكسي

-تكوين شريط مكمل لشريط DNA يطلق عليه cDNA.

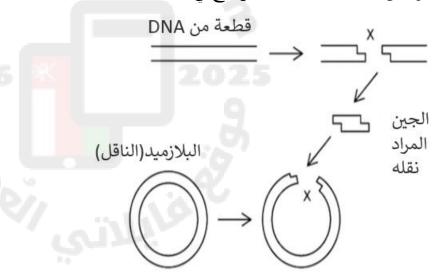
DNAبوليميريز

-ربط أجزاء من الحمض النووي DNA معا ، على سبيل المثال : الجين المطلوب والبلازميد. DNA لايجيز

21-يبيِّن الجدول إنزيمات تستخدم في التقنية الجينية. انقل الجدول وأكمله لتبيّن دور كل إنزيم؟

الإنزيم	الدور
DNAلايجيز	تحفيز تكوين روابط فوسفات ثنائية لإستر لتربط معا العمود
J	الفقري سكّر- فوسفات
DNAبوليميريز	بناء عديد نيوكليوتيد/ شرائط DNA في التضاعف (شبه
	المحافظ)، من نيوكليوتيدات حرة dNTPs)/نيوكليوتيدات
	DNA نشطة
إنزيم القطع إندونيوكلييز	قطع DNA في مواقع قطع محددة داخل جزيء DNA وليس
	فی نهایته
إنزيم ترانسكريبتيز العكسى	بناء cDNA من نيوكليوتيدات حرة / dNTPs نيوكليوتيدات
العكسي	نشطة على طول قالبmRNA

22-الشيفرة الجينية العالمية تلعب دورا مهما في تقنية DNA معاد التركيب (الهندسة الجينية). جزء من الهندسة الجينية موضح في الشكل.



الأنزيم المستخدم في الخطوة x يمثل انزيم القطع (اندونيوكليز).

أ.فسر لماذا يعتبر هذا الإنزيم مهما في الهندسة الجينية؟

يستهدف الإنزيم موقع قطع محدد (بيقطع DNA في نفس المكان (موقع القطع)، وهو تتابع نيوكليوتيدي محدّد من أربع إلى ست قواعد.

تتكون نهايات لاصقة عند القطع بشكل متعرج ويستخدم نفس انزيم القطع في كلا المرحلتين X لتصبح النهايات اللاصقة لكل من الجين المراد نقله و DNA البلازميد مكملة لبعضها.

ب.اذكر انزيم آخر يستخدم لإنهاء عملية ربط الجين المراد نقله بالبلازميد. DNA لايجيز

23- تعد انزيمات القطع (اندونيوكليز) أحدى الطرق المستخدمة للحصول على قطعة DNA المراد نقله ، هناك طريقة أخرى تتمثل في استخدام انزيم النسخ العكسي والذي ينتج جزء من DNA والمعروف باسم CDNA

أ.صف كيف يمكن استخدام انزيم ترانسكريبتيز العكسى لأنتاج cDNA ؟

إضافة النيوكليوتيدات الحرة (dNTPs ديوكسي نيوكليوتيد ثلاثية الفوسفات) وتُحتضن جميعها مع إنزيم ترانسكريبتيز العكسي لتكوين شريط مع إنزيم ترانسكريبتيز العكسي لتكوين شريط DNA مفرد (يتم بناء شريط DNA مفرد بواسطة إنزيم ترانسكريبتيز العكسي).

ب- ما هو الإنزيم الذي يحتاجه تقني الجينات لإنتاج أجزاء من DNA باستخدام الحمض النووي mRNA المفرد للكائنات المعدلة جينيا؟

لابجيز	DNA 🖵	
J •		

🗖 اندونيوكلييز

🗖 Taq بوليميريز

🗖 ترانسكريبتيز العكسي

ج. ميّز بين rDNA وcDNA

cDNA هو DNA مكمل يتم نسخه من شريط mRNA كقالب للنسخ بواسطة إنزيم ترانسكريبتيز العكسي

rDNA هو DNA معاد التركيب مكوّن من امتدادات/أجزاء من DNA من مصادر مختلفة؛ على سبيل المثال،من نوعَين مختلفَين أو من كائنَين حيَّين مختلفَين من النوع نفسه. أحد أشكال DNA معاد التركيب هو البلازميد الذي يحتوي على الجين المطلوب

24- الجدول أدناه يوضح خطوات انتاج الأنسولين البشري في عملية تتضمن بكتيريا معدلة جينيا العبارات مرتبة بشكل خاطيء

رمز الخطوة من الجدول	
А	1
D	2
Е	3
С	4
В	5

يتم قطع البلازميد باستخدام انزيمات القطع	Α
تنمو الخلايا البكتيرية المعدلة جينيا في جهاز التخمير	В
تمتص الخلية البكتيرية البلازميد معاد التركيب	С
يتم خلط البلاز ميدات المقطوعة مع نسخ من جين الأنسولين البشري	D
يتم ربط البلازميد وجين الأنسولين البشري بواسطة انزيم DNA لايجيز	Е

أ.أكمل الجدول الفارغ أدناه بكتابة خطوات انتاج الأنسولين البشري بالترتيب الصح

25-أعد ترتيب العبارات أدناه لتكوين مخطط انسيابي يبيّن الخطوات المتبعة في تكوين البكتيريا القادرة على صنع بروتين إنسان معاد التركيب مثل الإنسولين أو العامل الثامن

- أ. إدخال بلازميد في بكتيربوم مضيفة.
 - ب. عزل mRNA الجين المطلوب.
- ج. استخدام إنزيم DNA لايجيز لغلق العمود الفقري سكر- فوسفات للبلازميد معاد التركيب.
 - د. استخدام DNA بوليميريز لتكوين cDNA مزدوج.
 - ه. استنساخ البكتيريا المعدلة وحصاد البروتين معاد التركيب.
 - و. تكوين cDNA مفرد باستخدام إنزيم ترانسكريبتيز العكسى.
 - ز. قطع البلازميدات باستخدام إنزيم القطع.
 - ح. إضافة جزء قصير من DNA مفرد لتكوين نهايات لاصقة باستخدام إنزيم.
 - ط. تكوين بلازميدات معادة التركيب بازدواج القواعد المكملة.
 - ي. خلط DNA مزدوج مع البلازميدات

استنساخ البكتيريا

معاد التركيب.

المعدلة وحصاد البروتين



26- المخطط أدناه يظهر مراحل الهندسة الجينية.

المرحلة 2: تستخدم انزيمات القطع لقطع البلازميد

المرحلة 3: ادخال الجين

البشري في البلازميد البكتيري

المرحلة 1 : يتم عزل الجين البشري باستخدام انزيمات القطع

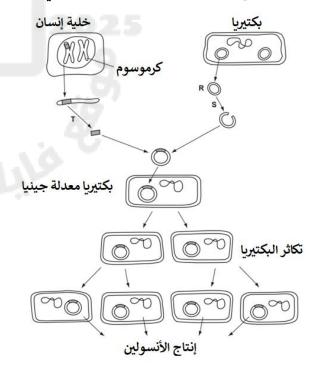
المرحلة 5: تنمو البكتيريا وتصنع البروتين البشري

المرحلة 4: يتم ادخال البلازميد في البكتيريا

أي المراحل تتطلب انتاج نهايات لاصقة؟

- 3,2,1
- □ 1 ، 2 فقط
- □ 1 ، 3 فقط
- 🗖 2 ، 3 فقط

27-يوضح الشكل بعض الخطوات التي تدخل في الهندسة الوراثية للبكتيريا

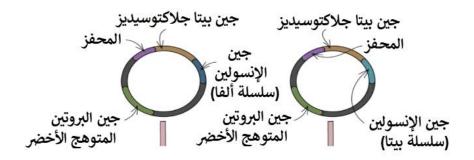


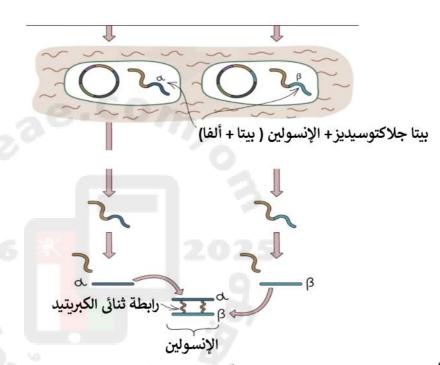
أ.قم بتسمية التركيب R واذكر المادة التي صنعت منها. بلازميد (DNA مزدوج الحلقة)

ب.اذكر ما تمت إضافته في المرحلة s.

المرحلة S :إنزيم القطع

28-الشكل يوضح خطوات انتاج الأنسولين باستخدام الهندسة الجينية.





أ.اشرح سبب نقل المحفز إلى الكائن الحي بالإضافة إلى الجين المطلوب.

- -يسمح المحفز لإنزيم RNA بوليميريز بالارتباط مع DNA.
- التأكد أيضا من أنه مّيز أيا من شريطي DNA هو الشريط القالب.
- وفي التتابع النيوكلوتيدي لمنطقة المحفز، توجد نقطة بدء النسخ، وهي أول نيوكليوتيد من الجين يتم نسخه
 - تحتوي المحفزات أيضًا في حقيقية النواة على مواقع لارتباط عوامل النسخ.

ب.اشرح كيف يمكن تأكيد التعبير الجيني باستخدام العلامات الجينية التي تشفر للمنتجات المتوهجة؟

يُدخَل جينات تشفر للإنزيمات المنتجة للمواد المتوهجة التي تم الحصول عليها من قنديل البحر في البلازميدات والتي تصنع بروتينًا يسمّى GFP البروتين المتوهج الأخضر، والذي يتوهج باللون الأخضر في الضوء فوق البنفسجي

يمكن تأكيد التعبير الجيني وتحديد البكتيريا التي امتصت البلازميد معاد التركيب ، من خلال تسليط الضوء فوق البنفسجي عليها، فتلك التي تتوهج باللون الأخضر هي البكتيريا المعدلة جينيًا

29-يتضمّن البناء الجيني Gene construct إدخال جين واحد أو أكثر مع تتابعات قاعدية منظمة معًا في ناقل لتكوين DNAمعاد التركيب، وغالبًا ما يشمل البناء الجيني على علامات جينية مثل البروتين المتوهج الأخضر المحسن (Enhanced EGFP)

أ. اشرح سبب استخدام العلامات الجينية مثل البروتين المتوهج الأخضر المحسن EGFPفي البناء الجيني.

تنسخ العلامة الجينية مع الجين (الجينات) التركيبية وينتج البروتين المتوهج الأخضر بالإضافة إلى البروتين المطلوب ،فيتوهج البروتين الأخضر ، تشير الخلايا المتوهجة أو الكائنات الحية إلى أنها قد عدلت أو تلقت الجين المطلوب الغريب.

ب. اشرح ميزة استخدام الإنزيم كعلامة جينية عوضًا عن البروتين.

يمكن أن ينتج الإنزيم في حال توفير المادة المتفاعلة كمية أكبر من المادة المتوهجة مقارنة بنسخ وترجمة جين البروتين المتوهج الأخضر، تكون شدة اللون أقل اعتمادا على مستوى تعبير العلامة الحينية.

30. صف دور المحفزات في الهندسة الجينية؟

يسمح المحفز لإنزيم RNA بوليميريز بالارتباط مع DNA

والتأكد أيضا من أنه مّيز أيا من شريطي DNA هو الشريط القالب

وفي التتابع النيوكلوتيدي لمنطقة المحفز، توجد نقطة بدء النسخ، وهي أول نيوكليوتيد من الجين يتم نسخه

تحتوي المحفزات أيضًا في حقيقية النواة على مواقع لارتباط عوامل النسخ.

31-يحمل دم الإنسان العديد من البروتينات اللازمة لتخثر الدم ، أحد هذه البروتينات وهو عامل التخثر الثامن VIII غير موجود لدى الأشخاص المصابين بالهيموفيليا .

قام فريق من العلماء بهندسة الماعز وراثيا عن طريق ادخال جين يسمح لها بإنتاج VIII عامل التخثر الثامن في حليبها ، يمكن بعد ذلك تنقية هذا الحليب واستخدام البروتينات لعلاج مرض الهيموفيليا.

أ.صف طريقتين تمكن العلماء من خلالهما من الحصول على جين بشري يشفر لبروتين عامل التخثر الثامنVIII .

- يتم تحديد الجين F8المشفر لبروتين عامل التخثر الثامن VIII ويمكن اقتطاعه من الكروموسوم بانزيمات القطع (اندونيوكليز) والتي تقطع DNA في مواقع قطع محددة داخل جزيء DNA وليس في نهايته.
- -يتم عزل mRNA لبروتين عامل التخثر الثامن VIII/استخدام إنزيم ترانسكريبتيز العكسي لتكوين cDNA مفرد، ثم يضاف DNA بوليميريز ويُستخدم DNA بوليميريز لبناء عديد نيوكليوتيد مكمل لشريط DNA المفرد، مكوّنًا DNA مكمل مزدوج يطلق عليه CDNA والذي تضاف اليه نهايات لاصقة.

قبل اجراء تفاعل البوليميريز المتسلسل على تسلسل الجين المعزول قام العلماء بتعديل الجين بطريقتين:

- 1- ادخال جين قنديل البحر الذي يشفر لبروتين الأخضر المتوهج إلى بداية تسلسل الجين.
 - 2- إضافة المحفز امام جين قنديل البحر.

وبعد هذه التعديلات يتم ادخال الحمض النووي DNA في نواة بعض خلايا جسم الماعز.

ب-اقترح الهدف من اضافة جين قنديل البحر.

يعمل كعلامة جينية ،للسماح بتحديد الخلايا التي تحتوي على DNA معاد التركيب / الخلايا المعدلة جينيا / الخلايا التي امتصت DNA معاد التركيب بنجاح، الخلايا التي تحتوي على جين البروتين الأخضر المتوهج سوف تتوهج باللون الأخضر تحت الأشعة فوق البنفسجية.

ج-توفر منطقة المحفز تسلسلا للقواعد المتوافقة مع الموقع النشط لانزيم RNA بوليميريز. وضح سبب ضرورة إضافة منطقة المحفز عند انتاج العامل الثامن.

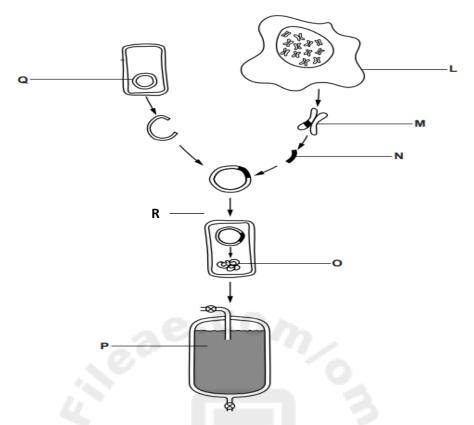
السماح للإنزيم RNA بوليميريز للإرتباط بالحمض النووي RNA .

السماح بنسخ الجين لانتاج mRNA ثم ترجمة mRNA لتكوين بروتين العامل الثامن

د.ما المقصود بالمحفز.

جزء من DNA يتضمن موقع ارتباط لإنزيم RNA بوليميريز حيث يبدأ نسخ الجين أو الجينات. تحتوي المحفزات أيضًا في حقيقية النواة على مواقع لارتباط عوامل النسخ.

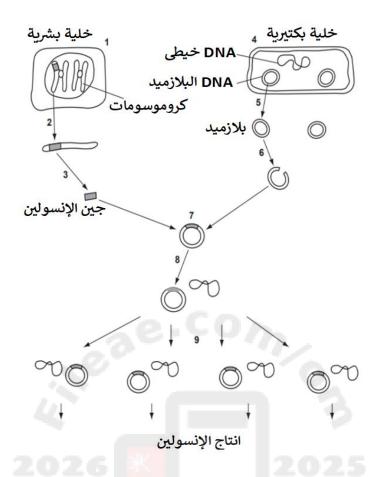
32-الشكل عبارة عن مخطط انسيابي يوضح كيفية إنتاج الأنسولين باستخدام الهندسة الوراثية



أكمل الجدول الاتي الذي يوضح مراحل إنتاج الأنسولين عن طريق الهندسة الوراثية

الرمز من الشكل	الاسم	الوصف
M	الكروموسومات	خيوط من ال توجد في النواة DNA
Q	البلازميد	قطع حلقية صغيرة من أشرطة DNA مزدوج توجد في البكتيريا تستخدم كناقل للجين المرغوب استنساخه
R	البكتيريا	خلية معدلة وراثيا
N	الجين	إزالة جزء من الحمض النووي من الخلية البشرية
Р	تخمير	جهاز تنمى فيه البكتيريا المعدلة جينيا
0	بروتين / إنسولين	سلسلة من الاحماض الأمينية مشفرة بواسطة جزء من الحمض النووي

33-تستخدم البكتيريا أيضًا في الهندسة الوراثية



أكمل الجدول الاتي بكتابة رمز المرحلة:

الرمز	وصف المرحلة
5	فصل البلازميد من الخلية البكتيرية
2	فصل الكرموسوم من خلية إنسان
8	إعادة البلازميد إلى الخلية البكتيرية
6 و3	استخدام إنزيم القطع
9	يُسمح لخلايا البكتيريا بالتكاثر في جهاز
	التخمير

32-أي من ما يلي يستخدم كناقل في الهندسة الجينية؟
--

1-البلازميد

2- الفيروس

3-البلازموديوم

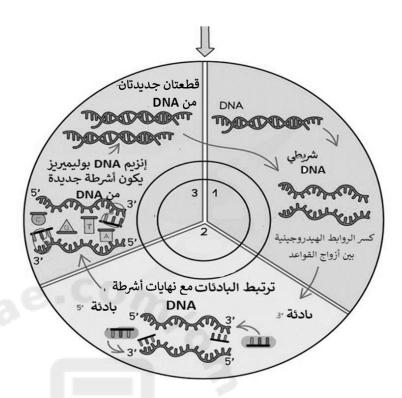
🗖 1 فقط

🗖 2 فقط

2 . 1 🗖

⊒ 1، 3

35-الشكل الاتي يوضح خطوات تفاعل البوليميريز المتسلسلPCR أ.ما الترتيب الصحيح لأحداث مراحل تفاعل البوليميريز المتسلسل (PCR) الموضحة في الشكل؟



3	2	0.75 1	
التمسخ	الإطالة	الألتصاق	
الإطالة	الإلتصاق	التمسخ	
الإلتصاق	الإطالة	التمسخ	
التمسخ	الإلتصاق	الإطالة	

ب-صف واشرح المراحل المتضمنة في تفاعل البوليميريز المتسلسل PCR لاستنساخ وتضخيم DNA بما في ذلك دور Taqبوليميريز.

المرحلة الأولى (التمسخ):

يتم تمسيخ DNA بتسخينه إلى 95°C تقريبًا، الأمر الذي يكسر الروابط الهيدروجينية بين أزواج القواعد، ويفصل شريطي DNA أحدهما عن الآخر، لتبقى القواعد مكشوفة (غير مزدوجة). المرحلة الثانية (الالتصاق):

ترتبط البادئات مع تتابع القواعد على كلا جانبي DNA الجاري تضخيمه عن طريق تكوين روابط هيدروجينية يتطلب الارتباط بالبادئات درجة حرارة 60°C تقريبًا

لا يمكن أن يبدأ إنزيم DNAبوليميريز بتكوين DNA بدون وجود شريط يمكن البناء عليه تتكوّن البادئات غالبًا من20 زوجًا من القواعد تقريبًا، ذات تتابع مكمل

لتتابع القواعد على كلا جانبى جزء DNA

الجاري نسخه. تحتوي البادئات على تتابع قواعد مختلف، حيث ترتبط إحداهما بالشريط «صعودًا » وترتبط الأخرى بالشريط نزولا

المرحلة الثالثة (الاطالة):

يستخدم إنزيم DNA بوليميريز بعد ذلك dNTPs لتكوين أشرطة جديدة من DNA مقابل تلك المكشوفة. وبتطلب ذلك درجة حرارة °72 تقرببًا.

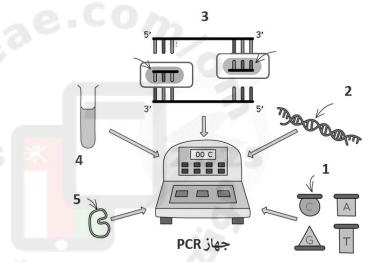
إنزيم Taq بوليميريز مناسب لتفاعل PCR لأنه مستقر حراريا:

- لأنه لا يتحطم في مرحلة التمسخ، لذا يجب ألّا نستبدله أثناء كل دورة (التفاعل اسرع)
- له درجة حرارة مثلى عالية، الأمر الذي يعني أن درجة الحرارة لمرحلة الإطالة يجب ألا تنخفض إلى أقل من تلك في عملية الالتصاق، ما يزيد من الكفاءة إلى أقصى حد

ج-عرف المصطلح تفاعل البوليميريز المتسلسلPCR

عملية يتم فيها تضخيم أجزاء معيّنة من DNA آليًا باستخدام مراحل متناوبة من فصل عديد النيوكليوتيد (تمسخ DNA (وبناء DNA الذي يحفزه إنزيم DNA بوليميريز

د.اكتب قائمة واشرح المكونات اللازمة لبدءPCR



يضاف ما يأتي إلى كل أنبوبة في جهاز PCR / المدور الحراري

(الأنابيب صغيرة جدًا تستوعب 0.05 mL تقريبًا)، وجدرانها رقيقة جدًا، لذا تتغير درجة الحرارة في الجهاز) فيها بسرعة عندما تتغير درجة الحرارة في الجهاز)

1-جزيئات حرة من ديوكسي نيوكليوتيد ثلاثي الفوسفات(dNTPs) والتي تعمل كوحدات أساسية لبناء أشرطة جديدة من DNA

2- عيّنة من DNA المراد تضخيمه

3- بادئات(جزآن قصيران مختلفان من شريط DNA مفرد يعملان كبادئات لإنزيم DNA بوليميريز.)

4- محلول منظم يحافظ على ثبات pH بين 7 إلى 8 . و هو الرقم الهيدروجيني الأمثل لـ DNA بوليميريز

DNA-5 بوليميريز مستقر حراريًا (Taq بوليميريز).

36-صف المرحلة الأولى من PCR المرحلة الأولى التمسخ:

يتم تمسيخ DNA بتسخينه إلى 95°C تقريبًا، الأمر الذي يكسر الروابط الهيدروجينية بين أزواج القواعد، ويفصل شريطي DNA أحدهما عن الآخر، لتبقى القواعد مكشوفة (غير مزدوجة).

37-اذكر واشرح تأثير درجة الحرارة المستخدمة في المرحلة الأولى من PCR

يكسر الروابط الهيدروجينية بين أزواج القواعد، ويفصل شريطي DNA أحدهما عن الآخر، لتبقى القواعد مكشوفة (غير مزدوجة).

38-صف المرحلة الثانية من PCR

المرحلة الثانية (الالتصاق):ترتبط البادئات مع تتابع القواعد على كلا جانبَي DNA الجاري تضخيمه عن طريق تكوين روابط هيدروجينية يتطلب الارتباط بالبادئات درجة حرارة 60°C تقريبًا

39-اشرح دور البادئات في PCR

لا يمكن أن يبدأ إنزيم DNAبوليميريز بتكوين DNA بدون وجود شريط يمكن البناء عليه تتكوّن البادئات غالبًا من20 زوجًا من القواعد تقريبًا، ذات تتابع مكمل

لتتابع القواعد على كلا جانبى جزء DNA

الجاري نسخه. تحتوي البادّنات على تتابع قواعد مختلف، حيث ترتبط إحداهما بالشريط «صعودًا » وترتبط الأخرى بالشريط نزولا

40-اذكر واشرح تأثير درجة الحرارة المستخدمة في المرحلة الثانية من PCR ترتبط البادئات مع تتابع القواعد على كلا جانبي DNA الجاري تضخيمه عن طريق تكوين روابط هيدروجينية يتطلب الارتباط بالبادئات درجة حرارة 60°C تقريبًا

41-صف المرحلة الثالثة من PCR

المرحلة الثالثة (الاطالة): يستخدم إنزيم DNA بوليميريز بعد ذلك dNTPs لتكوين أشرطة جديدة من DNA مقابل تلك المكشوفة. ويتطلب ذلك درجة حرارة 72°C تقريبًا

42-اذكر واشرح تأثير درجة الحرارة المستخدمة في المرحلة الثالثة من PCR

المرحلة الثالثة (الاطالة): يستخدم إنزيم DNA بوليميريز بعد ذلك dNTPs لتكوين أشرطة جديدة من DNA مقابل تلك المكشوفة. ويتطلب ذلك درجة حرارة 72°C تقريبًا

43-اذكر ما يجب أن يحدث في نهاية المرحلة الثالثة لتضخيم بشكل أكبر. في نهاية الدورة الأولى يتكون DNA بعد نسخه ثم يسخن المزيج مرة أخرى للبدء بالدورة الثانية،

في نهايه الدورة الأولى يتكون DNA بعد نسخه تم يسخن المزيج مرة اخرى للبدء بالدورة الثانية: والتي ينتج منها أربعة جزيئات من DNA مزدوج.

من الناحية النظرية قد يستمر تكرار التفاعل للأبد لذلك يمكن تكوين نسخًا أكثر وأكثر، من عدد ضئيل من جزيئات DNA الأصلية. يمكن استخدام جزيء DNA واحد لإنتاج مليارات النسخ المماثلة في غضون ساعات قليلة

44-اشرح سبب اعتبار إنزيم Taq مناسب لتفاعل PCR

لأنه لا يتحطم في مرحلة التمسخ، لذا يجب ألَّا نستبدله أثناء كل دورة

له درجة حرارة مثلى عالية، الأمر الذي يعني أن درجة الحرارة لمرحلة الإطالة يجب ألا تنخفض إلى أقل من تلك في عملية الالتصاق، ما يزيد من الكفاءة إلى أقصى حد

45-كم عدد جزيئات اللولب المزدوج DNA التي يتم الحصول عليها من جزيء DNA المزدوج بعد 4 دورات من تفاعل البوليمريز المتسلسل؟ \Box

8 🗖

16 🖵

64 🔲

46-أي العمليات التالية تحدث في جهاز التدوير الحراري ؟

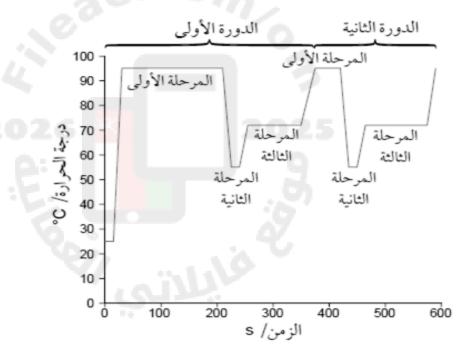
🗖 التعديل الجيني

تفاعل البوليميريز المتسلسل

□ الفصل الكهربائي الهلامي

□ البصمات الوراثية

47-يبيّن التمثيل البياني التغيرات في درجة الحرارة في جهاز PCR أثناء دورتَين.



أ.سمّ الإنزيم الذي يقوم ببناء DNA أثناء PCR.

DNA بوليميريز أو Taq (المستقر حراريا)

ب. اشرح الأسباب الآتية:

1. ضرورة أن تكون درجة الحرارة مرتفعة للمرحلة الأولى.

يتمسخ (يتفكك DNA)المزدوج عند درجات الحرارة المرتفعة. تنكسر الروابط الهيدروجينية لذا ينفصل شريطا DNA لتنكشف القواعد.

٢. لا حاجة إلى إضافة إنزيمات إلى كل دورة.
٢ap البوليميريز (مستقر حراريا) يتفكك عند درجة الحرارة المرتفعة.
الإشارة إلى الرابطة التى تحافظ على التركيب الثالثى

٣. يُستخدم المحلول المنظم في PCR

يحافظ المحلول المنظم على ثبات pH بين 7 إلى 8 . هذا هو الرقم الهيدروجيني الأمثل لـ DNA بوليميريز

ج. 1. صف ما يحدث في المرحلتين الثانية والثالثة.

المرحلة الثانية هي مرحلة الالتصاق: ترتبط البادئات بالتتابع القاعدي المستهدف على DNA حيث يوجد تتابع قاعدي مكمل لها.

المرحلة الثالثة مرحلة الإطالة أو التمديد :يضيف DNA بوليميريز نيوكليوتيدات إلى البادئة لتكوين DNA مزدوج باستخدام الشريط الأصلى كقالب.

 ٢. اقترح السبب الذي يجعل المرحلة الأولى من الدورة الأولى أطول من المرحلة الأولى من الدورة الثانية وجميع الدورات اللاحقة.

DNAالذي يتم انفصال شريطيه في الدورة الأولى هو DNA العينة بأكملها. وهو أطول بكثير من الشرائط التي تنفصل خلال الدورات اللاحقة.

يوجد المزيد من الروابط الهيدروجينية التي يجب أن تنكسر أثناء الدورة الأولى

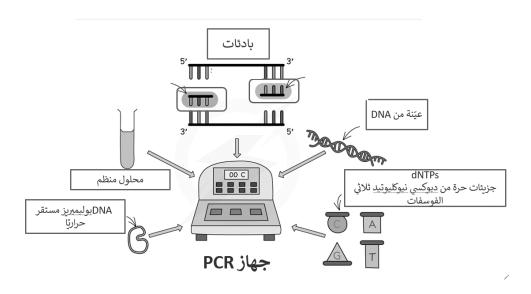
د. اشرح سبب عدم ملاءمة زوج واحد من البادئات لتضخيم جميع عيّنات DNA عند استخدام PCR لكل DNA مستهدف مختلف له تتابع قاعدي مختلف، لذا لا يكون زوج البادئات مثل ذلك الذي تم استخدامه سابقا مناسبا

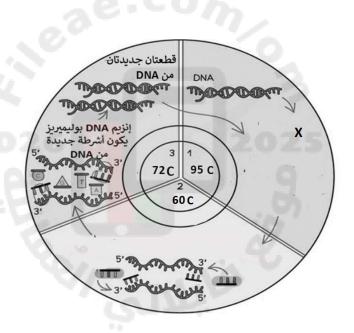
ه. اشرح سبب عدم إعادة تركيب DNA أحادي الشريط الذي يتكوّن بعد المرحلة الأولى من PCR لتكوين DNA المزدوج.

بسبب تركيز البادئات المرتفع جدا وتركيز DNA مفرد/أحادي الشريط منخفض جدا. احتمال إعادة تكوين DNA مفرد/أحادي الشريط لتكوين DNA مزدوج/ثنائي الشريط منخفض جدا

- و. اشرح كيف يختلف PCR عن تضاعف DNA أثناء دورة الخلية.
- . 40 C على درجات حرارة بين 50°C و $^{\circ}$ 95، C وليس على درجات حرارة أقل من $^{\circ}$ 40 C على درجات حرارة أقل من
 - يتم إضافة بادئة DNA
- ينسخ DNA في الخلية بأكمله. في حين ينسخ في PCRأجزاء/أطوال صغيرة فقط من .DNA الكائنات الحية / في الكائنات DNA بوليميريز في PCR مستقر حراري وهو ليس كذلك في معظم الكائنات الحية / في الكائنات الحية المحبة للحرارة فقط .
 - -موقع PCR خارج الخلية في بيئة إصطناعية

48-الشكل الاتي يوضح خطوات تفاعل البوليميريز المتسلسلPCR.





أ.ما الغرض من تقنية تفاعل البوليميريز المتسلسلPCR؟

لتضخيم جزء معيّن من DNA ويمكن إنتاج كميّات غير محدودة من جزء DNA من كميّة صغيرة من DNA وإن كان جزيئًا واحدًا وبطريقة سهلة وسريعة

ب.كيف تتم هذه التقنية ؟

آليًا باستخدام مراحل متناوبة من فصل عديد النيوكليوتيد (تمسخ DNA) وبناء DNA الذي يحفزه إنزيم DNA بوليميريز

ج. اُذكر واشرح الغرض من إضافة الجزيئات أو المواد الآتية في جهاز التدوير الحراري (PCR) أ.البادئات

جزآن قصيران مختلفان من شريط DNA مفرد يعملان كبادئات لإنزيم DNA بوليميريز، ذات تتابع مكمل لتتابع القواعد على كلا جانيَ جزء DNA / الارتباط ببداية الجين المطلوب ، انتاج جزء مزدوج من DNA يمكن DNA بوليميريز من الارتباط به وبدأ النسخ (التضاعف)

ب.المحلول المنظم

-يحافظ المحلول المنظم على ثبات pH بين 7 إلى 8 ،هذا هو الرقم الهيدروجيني الأمثل لـ DNA بوليميريز

-التحكم في PH حتى لا يتلف الحمض النووي والانزيمات.

ج. جزيئات ال DNA الحرة

تعمل كوحدات أساسية لبناء أشرطة جديدة من .DNA

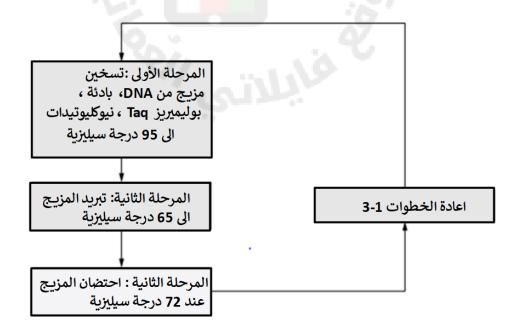
د. صف واشرح ما يحدث في المرحلة المشار إليها بالرمز X ؟ يتم تمسيخ DNA بتسخينه إلى 95 ° C تقريبًا، الأمر الذي يكسر الروابط الهيدروجينية بين أزواج القواعد، ويفصل شريطي DNA أحدهما عن الآخر، لتبقى القواعد مكشوفة (غير مزدوجة).

49-الجزيئات المذكورة أدناه كلها مطلوبة أثناء تفاعل PCR .

يحدد بداية التسلسل المراد نسخه	ننيوكليوتيدات حرة
الإنزيم اللازم لبناء قطع DNA جديدة	بادئات
الوحدات البنائية اللازمة لبناء قطع DNA جديدة	Taq بوليميريز

ارسم خطا بين الجزيئات لتوضيح وظيفة كل جزيء من الجزيئات المذكورة.

50-يتم استخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) لإنتاج كميات كبيرة من الحمض النووي من مجموعة كبيرة جدًا عينة أصلية صغيرة. تظهر الخطوات الرئيسية لطريقة PCR في الشكل أدناه.



أ.اشرح لماذا من الضروري تسخين الخليط إلى 95 درجة مئوية (الخطوة 1). يتمسخ (يتفكك DNA)المزدوج عند درجات الحرارة المرتفعة. تنكسر الروابط الهيدروجينية لذا ينفصل شريطا DNA لتنكشف القواعد.

ب.اشرح سبب إضافة البادئات إلى الخليط

لا يمكن أن يبدأ إنزيم DNAبوليميريز بتكوين DNA بدون وجود شريط يمكن البناء عليه تتكوّن البادئات غالبًا من20 زوجًا من القواعد تقريبًا، ذات تتابع مكمل لتتابع القواعد على كلا جانبي جزء DNA الجاري نسخه. تحتوي البادئات على تتابع قواعد مختلف، حيث ترتبط إحداهما بالشريط «صعودًا» وترتبط الأخرى بالشريط نزولا

ج. اشرح سبب اعتبار إنزيم Taq مناسب لتفاعل PCR ،

- لأنه لا يتحطم في مرحلة التمسخ، لذا يجب ألَّا نستبدله أثناء كل دورة.
- له درجة حرارة مثلى عالية (72)، الأمر الذي يعني أن درجة الحرارة لمرحلة الإطالة يجب ألا تنخفض إلى أقل من تلك في عملية الالتصاق، ما يزيد من الكفاءة إلى أقصى حد
 - التفاعل اكثر كفاءة وأسرع

51-صف واشرح كيفية استخدام الفصل الكهربائي الهلامي لفصل قطع DNA مختلفة الطول تتضمن هذه التقنية وضع خليط من الجزيئات في آبار تحفر في هلام وتعرض لمجال كهربائي وتعتمد حركة الجزيئات المشحونة داخل الهلام استجابة للمجال الكهربائي على عدد من العوامل، وأكثرها أهمية ما يأتي:

- الشحنة إن مجموعة الفوسفات في DNAذات شحنة سالبة، لذا ستتحرك قطع DNAباتجاه القطب الموجب.
 - الحجم تتحرك الجزيئات الأصغر أو الأقصر عبر الهلام بشكل أسرع من الجزيئات الأكبر أو الأطول، وتتناسب
 - . المسافة التي تقطعها قطعة عDNAعكسيا مع طولها، فكلما كانت أقصر تقطع مسافة أطول عبر الهلام
 - ويتضمن الفصل الكهربائي الهلامي الخطوات الآتية:
 - .1بعد تحضير الهلام (من أجاروس مثلال) يصب محلول منظم في الخزان بحيث يغطي الهلام، ليوفر pH ثابت.
- 2. تستخدم ماصة دقيقة لنقل عينات DNA إلى جميع الآبار تحتوي عينات DNAعلى صبغة تَتَبع. 3. غالبا ما توضع عينة مرجعية بأطوال معروفة من قطع DNA في بئر على أحد جانبي الهلام أو كلا الجانبين،
 - ويستخدم بمثابة «سلّم» DNA لتحديد أطوال قطع DNA في العينات الأخرى.
 - 4.توصل حزمة بطاريات بأقطاب كهربائية. يكون القطب السالب في الطرف نفسه للآبار المحملة ب DNA
 - 5. تُظهر صبغة التَتَبع المسافة التي تحركتها المادة في العينات عبر الهلام.
- 6. يسكب المحلول المنظم خارجاً، وتضاف صبغة مناسبة إلى الهلام. تشطف الصبغة لتكشف عن قطع عبر الهلام التي تمثل مواقع قطع DNA يمكن تحديد أطوال قطع DNA بمقارنتها مع «سلّم» DNA على جانب الهلام

52-لخص كيف يتسبب الفصل الكهربائي في تحرك DNA عبر الهلام، وسبب ظهور الأشرطة يحتوي خزان الفصل الكهربائي الهلامي على قطب كهربائي سالب متصل بطرف الآبار، وقطب موجب متصل بالطرف الآخر. وتنجذب العينات الموضوعة في الآبار إلى القطب الموجب نظرا إلى احتواء DNA على مجموعات فوسفات سالبة الشحنة في العمود الفقري للسكر. ستتحرك قطع DNA الأصغر (ذات العدد الأقل من أزواج القواعد) عبر الأجاروس بسرعة أكبر، وبالتالي مسافة أبعد عبر الهلام مقارنة بالقطع الأكبر ذات أزواج القواعد الأكثر، وسيؤدي ذلك إلى فصل قطع DNA إلى أشرطة ترى في مخطط الفصل الكهربائي الهلامي.

53-عرف المصطلح الفصل الكهربائي الهلامي.

فصل الجزيئات المشحونة مثلًا DNA بالحركة المتفاوتة عبر هلام في

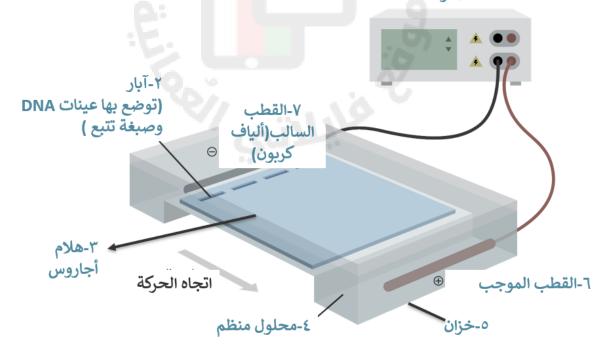
مجال كهربائي. تعتمد درجة الحركة على كتلة أجزاء DNA

54 -صف العوامل التي تؤثر في حركة قطع أثناء الفصل الكهربائي الهلامي.

الشُحنة : إن مجموعة الفوسفات في DNA ذات شحنة سالبة، لذا ستتحرك قطع DNA باتجاه القطب الموجب+

الحجم: تتحرك الجزيئات الأصغر أو الأقصر عبر الهلام بشكل أسرع من الجزيئات الأكبر أو الأطول، وتتناسب المسافة التي تقطعها قطعة DNA عكسيًا مع طولها، فكلما كانت أقصر تقطع مسافة أطول عبر الهلام.

55-اكتب على الشكل مواد وأدوات البدء اللازمة لفصل قطع بالفصل الكهربائي الهلامي. المصدر طاقة



56-اشرح سبب استخدام عينة مرجعية إلى جانب عينة المجهولة في الفصل الكهربائي الهلامي. ويستخدم بمثابة «سلّم DNA » لتحديد أطوال قطع DNA في العيّنات الأخرى

7-اشرح سبب إضافة الصبغة غالبا إلى عينات المستخدمة في الفصل الكهربائي الهلامي. تُظهر صبغة التَتَبُّع المسافة التي تحركتها المادة في العيّنات عبر الهلام 58-صف ما قد يمكن رؤيته في الهلام في نهاية الفصل الكهربائي الهلامي. مخطط الفصل الكهربائي الهلامي (يظهر على شكل اشرطة مختلفة في عدد أزواج القواعد النيتروجينية) في مواقع مختلفة في الهلام.

59- اشرح كيف يمكن التعرف على DNA المجهول باستخدام عملية الفصل الكهربائي الهلامي.

في حالات تحليل DNA في تحقيقات الطب الشرعي:

يتم تحليل DNA لتحديد المشتبه بهم بارتكاب جرائم معينة:

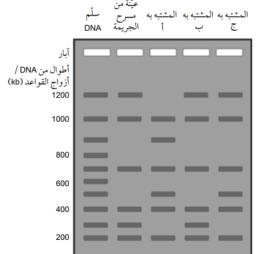
- يتم أخذ عينات من خلايا الجسم أو سوائله (الدم ، اللعاب ، الشعر ، السائل المنوي) من مسرح الجريمة أو جسد الضحية في حالات الإغتصاب على سبيل المثال.
 - عينات من المشتبه بهم
 - يتم تضخيم عينات DNA التي تم الحصول عليها ثم يتم الفصل الكهربائي الهلامي
 - يتم الحصول على ملفات تعريف الحمض النووي (مخطط الفصل الكهربائي الهلامي
 - يتم مقارنة أشرطة /قطع DNA لعينات المشتبه بهم مع أشرطة /قطع DNA عينة مسرح الجريمة وتحديد اطوال القطع مقارنة بسلم DNA
 - تحديد المجرم (المشتبه به الذي تتطابق أشرطة /قطع DNA له مع أشرطة /قطع DNA عينة مسرح الجريمة (أو تتطابق معظم القطع)

مثال 1: جمعت عينة DNA من مسرح جريمة وأرسلت للتحليل (تضخيم بتفاعل PCR ثم الفصل الكهربائي الهلامي) كما جمعت عينات من ثلاثة أشخاص

مشتبه بهم للمقارنة.

يظهر مخطط الفصل الكهربائي الآتي نتائج العينات. أي مشتبه به من المرجح أن يكون قد ارتكب الجريمة؟ اشرح إجابتك

يطابق المشتبه به (ب) مع عينة مسرح الجريمة لجميع القطع/الأشرطة الستة، وبالتالي من المرجح جدا أن يكون الشخص (ب) هو مصدر عينة مسرح الجريمة -يتم تحديد أطول القطع والاشرطة للمشتبه بهم وعينة مسرح الجريمة بالمقارنة مع سلم DNA (العينة المرجعية



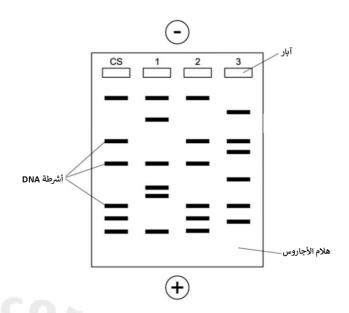
في حالات اثبات الأبوة: التعرف على الأب المجهول:

- يتم أخذ عينة DNA من الطفل
 - يتم أخذ عينة DNA من الأم
- يتم أخذ عينات من الذكور المحتمل أن يكونوا أب الطفل
- يتم تضخيم عينات DNA التي تم الحصول عليها ثم يتم الفصل الكهربائي الهلامي
- يتم الحصول على ملفات تعريف الحمض النووي (مخطط الفصل الكهربائي الهلامي
- يتم مقارنة أشرطة /قطع DNA لعينات المشتبه بهم الذكور المحتمل أن يكونوا أب الطفل مع أشرطة /قطع DNA عينة الطفل وتحديد اطوال القطع مقارنة بسلم DNA
- يتشارك الطفل بعضا من مجموعات DNA مع كلا من الأبوين (يجب أن تتطابق %50من اشرطة الطفل مع الأب) الطفل مع الأب)
- يتم تحديد الأب(المشتبه به الذي تتطابق أشرطة /قطع DNA له مع 50% من أشرطة /قطع DNA)

مثال 2 : بالرجوع الى ملف تعريف الحمض النووي الموضح ، أ<mark>ي شخ</mark>صين هما والدي الطفل (x) ؟

Child X	Individual Individual	Indivi <mark>dual</mark> 3		
				🗖 1 و 3
		·-		🗖 1 و 2
	_ ~	//		🗖 2 و 3
		Ŧ.	أحد الوالدين فقط)	_
		_		Je-2 / 1 - 55-5 · —
=	_	_	ع من والديه)	إيرث الطفل القط
	_ =			
_		_		

60 -يوضح الشكل أدناه نتيجة اختبار البصمة الوراثية باستخدام الفصل الكهربائي الهلامي.



كانت أقصر تقطع مسافة أطول عبر الهلام.

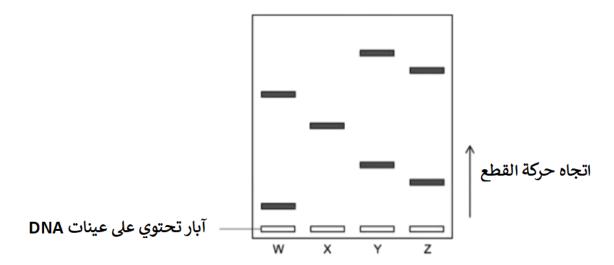
الجريمة.

بعد تقطيع DNA تم وضعه في الأبار الموجودة أعلى الهلام قبل تشغيل الأقطاب تظهر نطاقات DNA الموضع النهائي لقطع DNA بعد مرور فترة زمنية محددة. أ.اشرح سبب انتقال قطع DNA وسبب ظهورها على شكل أشرطة في مواضع مختلفة؟ إن مجموعة الفوسفات في DNA ذات شحنة سالبة، لذا ستتحرك قطع DNA باتجاه القطب الموجب+ تتحرك الجزيئات الأصغر أو الأقصر أو الأخف عبر الهلام بشكل أسرع من الجزيئات الأكبر أو الأطول أو الأثقل (تتحرك ببطء) وتتناسب المسافة التي تقطعها قطعة DNA عكسيًا مع طولها، فكلما

تم تسمية الآبار في الشكل مسرح الجريمة CS ، 1 ، CS ثلاثة افراد مشتبه بهم مختلفين . ب.حدد أيا من المشتبه بهم يحتمل أن يكون حاضرا في مسرح الجريمة؟ اشرح اجابتك؟ المشتبه به الثاني موجودة في نفس مواضع اشرطة DNA عينة مسرح الجريمة واشرطة DNA المشتبه به الثاني (VNTRs) أطوالها مطابقة لأشرطة DNA عينة مسرح

ج. بخلاف التحقيقات في مسرح الجريمة ، اقترح تطبيقان آخران للتقنيات الجينية؟ تشخيص الأمراض الوراثية / تحديد الأفراد المعرضين لخطر الإصابة لمرض وراثي. تحديد العلاقات الأسرية / اختبار الأبوة / اختبار النسب

61-في مخطط الفصل الكهربائي الهلامي انتقل DNA من القطب السالب (الكاثود) إلى القطب الموجب (الآنود)



أ.اذكر خاصية DNA التي أدت إلى الحركة من القطب السالب(الكاثود) إلى القطب الموجب (الآنود)؟

يحمل DNA شحنة سالبة

ب.اذكر استخدامين للفصل الكهربائي الهلامي؟

-اختبار الأبوة

-التحقيق في موقع الجريمة

-تشخيص الأمراض الوراثية [

-تحديد هوية الجثث المجهولة

ج. في بعض الحالات لايمكن تجميع عينات الفحص بكمية كبيرة كافية لتنفيذ الفصل الكهربائي الهلامي .

حدد العملية المستخدمة لتضخيم الحمض النووي من اجل توفير ما يكفي من DNA اللازم لنجاح عملية الترحيل الكهربائي.

تفاعل البوليميريز المتسلسل PCR

62-أي خيار يكمل الجملة أدناه بشكل صحيح؟

في الفصل الكهربائي الهلامي يتحرك الحمض النووي نحو:

🗖 الكاثود

🗖 قطب كهربائي سالب الشحنة

🗖 الآنود

□ المسامات الصغيرة في الهلام

63-مراحل الفصل الكهربائي الهلامي موضحة في الجدول أدناه:

أكمل الجدول أدناه بإضافة أرقام الى العمود لاظهار التسلسل الصحيح لهذه المراحل.

1	جمع عينة DNA من الفرد
3	تحميل عينات من جزيء DNA في آبار هلام
	الأجاروس باستخدام ماصة دقيقة
2	يستخدم انزيم لتكوين قطع من DNA العينة
4	يتم تطبيق تيار كهربائي على الخزان

64- اذكر خاصيتين تسمحان بفصل الأحماض النووية عن طريق الفصل الكهربائي الهلامي - الشُحنة : إن مجموعة الفوسفات في DNA ذات شحنة سالبة، لذا ستتحرك قطع DNA باتجاه القطب الموجب+

-الحجم / الطول /الكتلة: تتحرك الجزيئات الأصغر أو الأقصر عبر الهلام بشكل أسرع من الجزيئات الأكبر أو الأطول، وتتناسب المسافة التي تقطعها قطعة DNA عكسيًا مع طولها، فكلما كانت أقصر تقطع مسافة أطول عبر الهلام.

65-اثناء الفصل الكهربائي الهلامي لعينة من أجزاء الحمض النووي DNA .

أ.حدد القطب الذي يتحرك نحوه DNA . وفسر اجابتك؟ ستتحرك قطع DNA باتجاه القطب الموجب+

DNA ذات شحنة سالبة

ب.حدد أي مكون من مكونات الحمض يعطيه شحنته مجموعة الفوسفات

ج.اذكر نوع الإنزيمات التي يمكن استخدامها لتقطيع الحمض النووي DNA إلى أجزاء قبل الفصل الكهربائي الهلامي؟

اندونيوكلييز

66-.تستغرق دورة واحدة من PCR حوالي 75 ثانية .

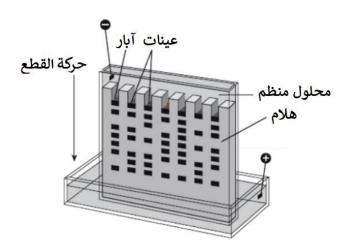
احسب عدد نسخ الحمض النووي DNA التي سيتم انتاجها بعد وجود جزيء واحد من DNA في جهاز المدور الحراري لمدة 1.5 ساعة.

1.5 hours ×3600=5400 s

72دورة =75÷5400

 $2^{72} = 4.72 \times 10^{21}$

67 -أجرى طالب تجربة الفصل الكهربائي الهلامي ، النتائج موضحة في الشكل أدناه.



مقارنة بالقطع أعلى الهلام ، القطع في الجزء الأسفل تكون:

- ☐ أكبر وتتحرك أسرع ☐ أصغر وتتحرك أبطأ
- 🗖 أصغر وتتحرك أسرع
 - 🗖 أكبر وتتحرك أبطأ