

تطوير ناقل جيني معبر متعدد الجينات بمشغلات منفصلة

Development Multi-Genic Expression Vector with Dissociation Promoters

أ.د. علي حمود السعدي

جامعة بابل كلية العلوم

profali_alsaadi@yahoo.com

077025262723

م.د. منى نجاح الطريحي

جامعة الكوفة كلية العلوم

Monanajah1981@gmail.com

07811311282

أ.د. حيدر كامل زيدان

جامعة بابل كلية العلوم

Hiader_kamil@yahoo.com

07809181697

أ.د. عباس نور الشريفي

جامعة بابل كلية العلوم

Mona_diabetis@yahoo.com

07810326049

الموجز

تعد التقنيات المستخدمة في نقل الجينات من التقنيات المهمة في حقل التقنيات الحيوية. يتم نقل الجينات باستخدام تقنيات مختلفة شملت نواقل فيروسية وغير فيروسية وتسلسلات متخصصة من الحمض النووي منقوص الأوكسجين (DNA) وبطرائق مختلفة ، هدفت الدراسة الحالية الى انشاء ناقل جيني متعدد الجينات معبر بمشغلات فيروسية منفصلة باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل المتبقي nested-PCR واستخدام الجينات المشفرة للبروتين المتفلور الاخضر والاحمر ومشغلات فيروس مضخم الخلايا كموديل للتصميم . انجز هذا التصميم باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل المتبقي بخطوتين متسلسلتين لإضافة رابط الانزيم القاطع *AflIII* ، تضمنت الاولى اضافة تسلسلات التقييد للأنزيم والثانية اضافة التسلسلات الساندة باستخدام ناتج الخطوة الاولى . بينت النتائج ان حجم الناقل الجديد المسمى (MA) كان 6179 زوج قاعدي و كانت القطع الناتجة من التضخيم بالبلمرة المتسلسلة في الخطوة الاولى 1473 زوج قاعدي و1785 زوج قاعدي بعد اضافة التسلسلات الساندة في الخطوة الثانية ، ثم قطعت القطع الناتجة بأنزيم *AflIII* لينتج قطعة بحجم 1463 زوج قاعدي ثم تم لصق هذه القطعة في ناقل الجين الاخضر المتفلور بين التسلسلات غير المشفرة ، اثبتت الاختبارات التأكيدي ان قطع الناقل الجديدة الانزيم القاطع *AflIII* قد اعطى قطعتين وان نواتج التضخيم البلمرة المتسلسلة كانت 3077 زوج قاعدي للناقل الجديد MA بينما كانت 1657 زوج قاعدي في ناقل جين البروتين الاخضر. يمكن ان يستخدم هذا التصميم الجديد الفعال في نقل جينات مهمة لخلايا اللبائن وذلك بهدف هندستها وراثيا او علاج الامراض .

Summary

Gene transfer technologies have been the most important techniques in biotechnology field. Gene can be transferred using different methods viral, non-viral and specific DNA sequence by different methods. The present study aims to construct Multigenic expression vector has dissociation promoter using nested PCR, green fluorescence protein gene and red fluorescence protein gene used to construct vector with cytomegalovirus promoter, it performed using nested PCR to add linker of *AflIII* restriction site in two steps, the first was added restriction site; the second was added supported sequence, the result of the first PCR round was 1473 and 1785 in the second round, then it digested by *AflIII* to result 1463 bp to insert in n- GFP vector, the confirmatory test showed that cutting MA vector using *AflIII* was indicated two bands, also amplification target segment give 3077 bp while in GFP was 1653. This a new active design can be used in transfer important genes to mammalian cells for its genetic engineering.