

تفاعل البلمرة المتسلسل تقنية PCR Polymerase Chain Reaction

تحفظ المعلومات الوراثية و انتاج المواد لصنع الخلايا و الحفاظ عليها في داخل الحمض النووي . (DNA) و تقوم الخلية بمضاعفة كمية الحمض النووي وقت انقسام الخلية بشكل تلقائي و بشكل سريع مع وجود نظام تصحيح للأخطاء خلال النسخ . و تبلغ سرعة النسخ و المضاعفة إلى 1000 قاعدة نيتروجينية بالثانية (داخل النظام الحيوي) و هي كما ذكرنا تحدث في الخلية في وقت التكاثر والانقسام فقط.

ومع التطور في مجال التكنولوجيا الحيوية والذي يقوم على التعامل مع الحمض النووي (DNA) (بشكل أساسي ، استدعى ذلك العلماء على أن يبحثوا عن طريقة أو تقنية تقوم على مضاعفة كمية الحمض النووي (DNA) بشكل كبير ، فكان هناك عدة محاولات لتنشيط الخلية على الانقسام المستمر بإضافة عوامل النمو growth factors ، ولكن هذه الطريقة لم تكن ذات جدوى لدى العلماء لأسباب كثيرة. إلى أن توصل العالم د. كري مولس Dr. Kerry Mullis في عام 1985 الى اختراعه لتقنية البي سي ار PCR فكانت هذه التقنية بوابة لكثير من التطورات المتسارعة في مجال التكنولوجيا الحيوية ، من أهم الأسباب التي ساعدت هذه التقنية على الانتشار عدم اعتمادها على النظام الحيوي(أي الخلية) و التحكم بكمية الحمض النووي (DNA) (و وسرعة في الإنتاج ولكن كان من عيوب هذه التقنية عدم وجود نظام إصلاح أخطاء الارتباط الخاطيء. miss match

ما هو : PCR

هو تقنية مختبريه تم اكتشافها عام 1983م تقريباً تقوم على إكثار نسخ الحمض النووي (DNA) (خارج النظام الحيوي . أي أنها طريقة لنسخ الحمض النووي في المختبر . و لذلك فهي تقنية حيوية لاستنتاج قطعة محددة من الحمض النووي و مضاعفة إنتاجها لكي يتسنى عمل اختبارات و فحوصات إضافية.

ما هي متطلبات: PCR

لتقوم بإنتاج الحمض النووي (DNA) بواسطة PCR يتطلب عليك توفير:

1. جهاز للتحكم بدرجات حرارة التفاعل بشكل دقيق و متتالي (الدورة الحرارية

: Thermocycle) ويقوم هذا الجهاز بتغيير درجة الحرارة بشكل سريع ، لأن تغيير درجة

الحرارة هو الأساس الذي تقوم عليه فكرة هذه التقنية.

2. البوليميريز : وهو الإنزيم الذي يقوم ببناء وترتيب القواعد النيتروجينية (وحدات الحمض

النووي (DNA) ، ويجب أن يكون هذا الإنزيم مقاوم للحرارة العالية ليتمكن من العمل . و قد اكتشف انزيم مقاوم للحرارة اسمه تاج Tag

3. مجموعة متفرقة من القواعد النيتروجينية (A T C G) :ليتمكن الإنزيم من ترتيبها في

مواقعها أثناء عملية نسخ الحمض النووي. (DNA)

4. برايمر : وهو قطعة صغيرة من الحمض النووي (DNA) ليتمكن الإنزيم من بدء البناء و النسخ عليها

5. والشيء الأهم هو وجود نسخة من الحمض النووي (DNA) المراد نسخه.

6. بالإضافة إلى محلول أو وسط ليم به التفاعل : وهذا المحلول يختلف بين تفاعل و آخر. عملية النسخ:

بعد وضع الحمض النووي المراد نسخة مع البرايمر و و إنزيم البوليميريز و مجموعة مع الأحماض النووية في أنبوب داخل جهاز التحكم الحراري فان هناك 3 مراحل منفصلة تمر بها عملية النسخ:

1. مرحلة التفكيك : Denature رفع الحرارة إلى 94 م وذلك لفك الحمض النووي (DNA) الأصلي.

2. مرحلة الالتصاق : anneal إنزال الحرارة إلى ما بين 55-60 م ليقوم البرايمر بالالتصاق فيزيائياً بواسطة الروابط الهيدروجينية مع الحمض النووي (DNA) الأصلي.

3. مرحلة الامتداد : extend ثم يقوم برفع درجة الحرارة إلى 75 م ليقوم البوليميريز بعمله في بناء الحمض النووي (DNA) الجديد.

وهذه المراحل الثلاث تعتبر دورة كاملة وفيها يصبح الحمض النووي (DNA) الأصلي قد تضاعف ، وتعتمد كمية ناتج الحمض النووي (DNA) على عدد الدورات (والصورة التالية توضح العملية.)

تطبيقات: PCR

لتقنية PCR تطبيقات كثيرة في مجال أبحاث الحمض النووي (DNA) و الوراثة ومنها:

1. الكشف عن الطفرات الوراثية : وذلك عن طريق وضع بريمر خاص للطفرة لتكثير الجين الخاص بها . ومنه نقوم بمعرفة المرض إذا كان على زوجين الكروموسومات أو على احدهما (allele) .

2. تعين البصمة الوراثية.

3. الكشف عن الفيروسات : وهذه الطريق هي الأدق في تحديد نوع وجنس الفيروس وكميته.

4. هو العنصر الأهم في عملية التجميع الجيني (Recombinant DNA) (الحمض النووي (DNA)) : (حيث نقوم بتكثير الجين المراد إدخاله على البلازمد أو الحمض النووي (DNA) المضيف).
5. استخدامه في تغير نهايات الجين لتصبح متوافقة مع إنزيمات القطع (Restriction enzyme) .
6. هو العملية الأساس في تحديد تتابع القواعد النيروجينية في الحمض النووي (DNA) (الحمض النووي. (DNA) Sequencer)
7. معرفة طول الحمض النووي
8. في مجال الطب الشرعي (اختبار الأمومة ، حالات الاغتصاب ، تحديد الهوية ... الخ.) وغيرها من التطبيقات المخبرية والبحثية.
9. تشخيص الكائنات في بيئات مختلفة .
10. دراسة تأثير التلوث على التنوع الحيوي .



