

كلية الصيدلة
Faculty of Pharmacy

السنة الثالثة

مقرر الهندسة الوراثية (الجينية)

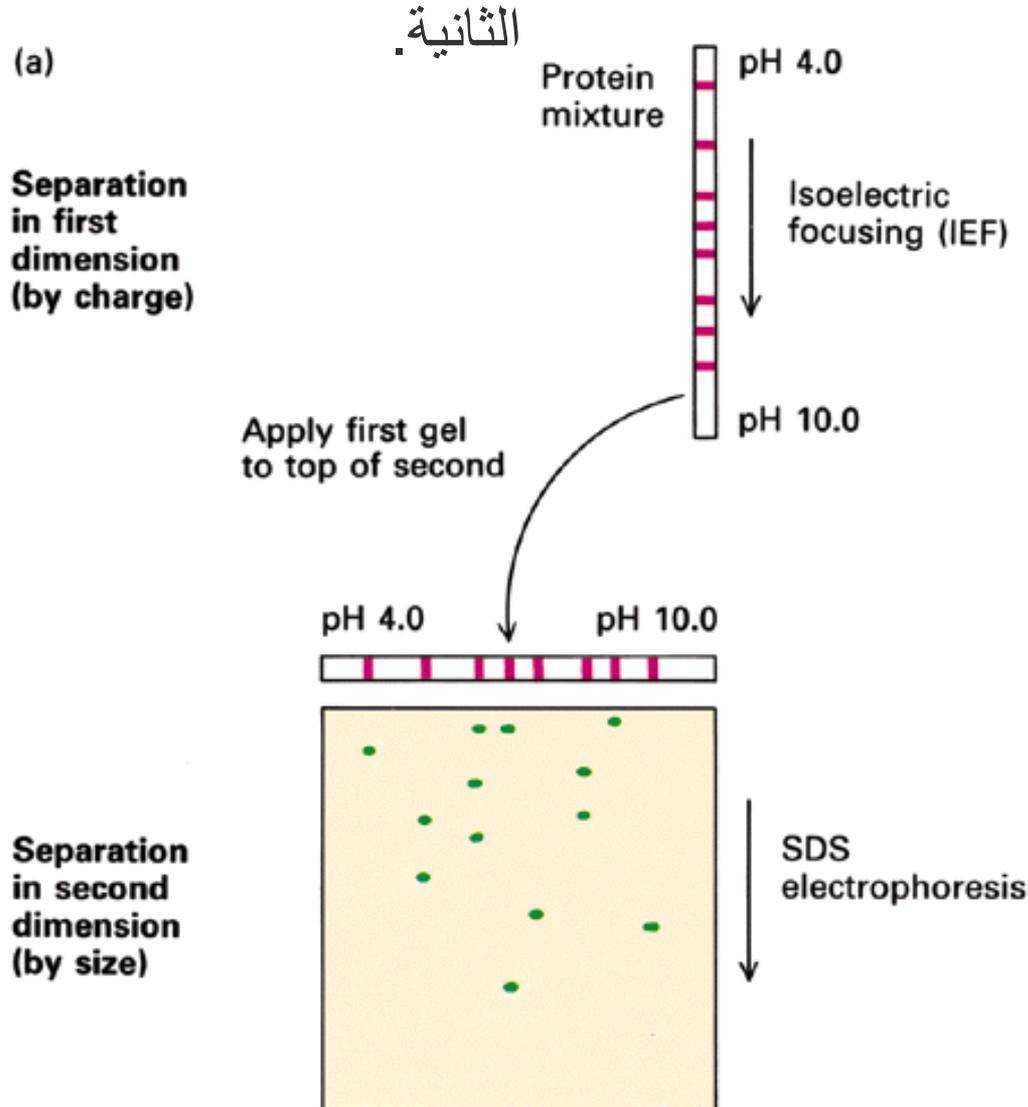
المحاضرة الخامسة

2019-2020

د. شادي سكرية

الرحلان الكهربائي ثنائي البعد Two-dimensional -Gel Electrophoresis

يعتمد على فصل البروتينات حسب شحنتها في المرحلة الأولى ثم حسب كتلتها في المرحلة الثانية.



الرحلان الكهربائي ثنائي البعد Two-dimensional -Gel Electrophoresis



الخريطة البروتينية ثنائية البعد two-
dimensional protein map لأحد أنماط
الجراثيم

الرحلان الكهربائي ثنائي البعد Two-dimensional -Gel Electrophoresis

يعتمد على فصل البروتينات حسب شحنتها في المرحلة الأولى ثم حسب كتلتها في المرحلة الثانية.

The technique has such great resolving power that it can distinguish between two proteins that differ in only a single charged amino acid.

تتمتع هذه الطريقة بدقة فصل عالية حيث يمكن بواسطتها الفصل بين بروتينين يختلفان عن بعضهما بحمض أميني واحد مشحون.

Immuno-blotting, Western blotting

التبصيم المناعي

تقانة تكشف بروتين معين بعد أن يتم تجزئة

fractionation خلاصة بروتينية بالرحلان أحادي أو

ثنائي البعد

بالاعتماد على مبدأ تأثير ضد-مستضد.

Immuno-blotting, Western blotting

التبصيم المناعي

مراحل العمل:

- فصل بروتينات مزيج ما (خلاصة خلوية) باستخدام الرحلان الكهربائي.
- صنع بصمة للهلامية بنقل البروتينات منها إلى حامل يمكن معالجته بالضد النوعي الكاشف (لاستحالة معالجة الهلامية).
- الكشف عن البروتين المدروس على الحامل باستخدام أضداد موسومة نوعية تجاه هذا البروتين.

النقل أو Blotting Transfer:

حتى نستطيع الكشف عن البروتينات الهدف باستخدام

الأضداد النوعية فإنه لابد من نقلها بعد عملية الرحلان من

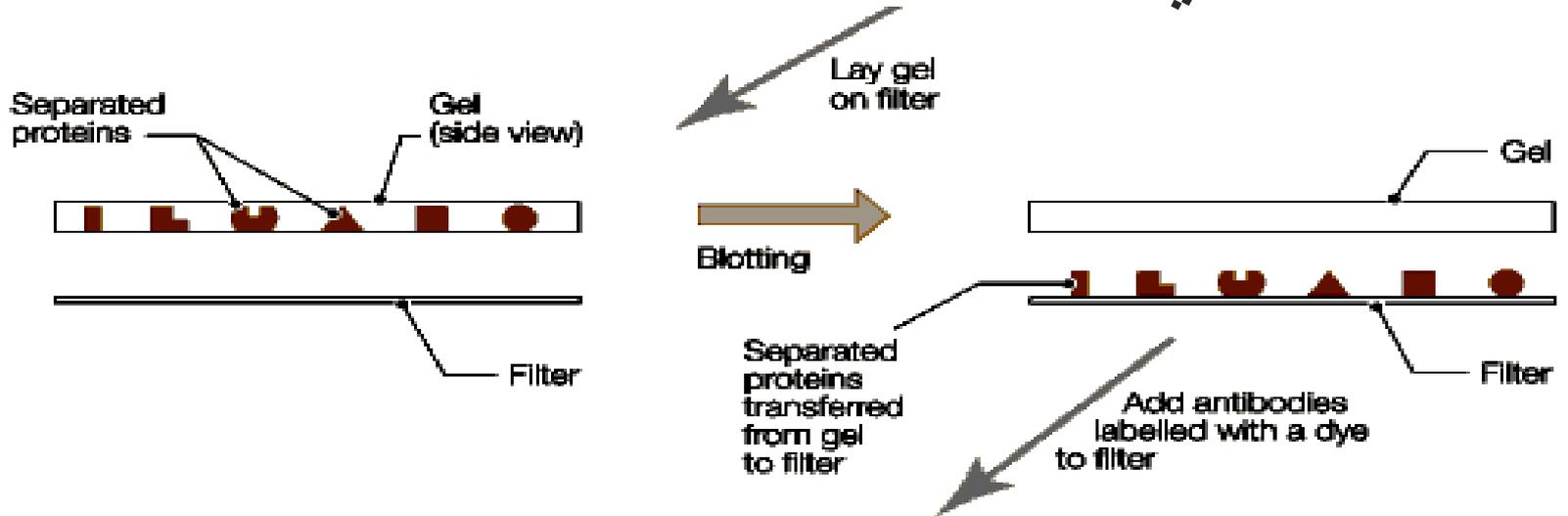
الهلام إلى حامل قابل للمعالجة وهو غالباً غشاء من **مادة**

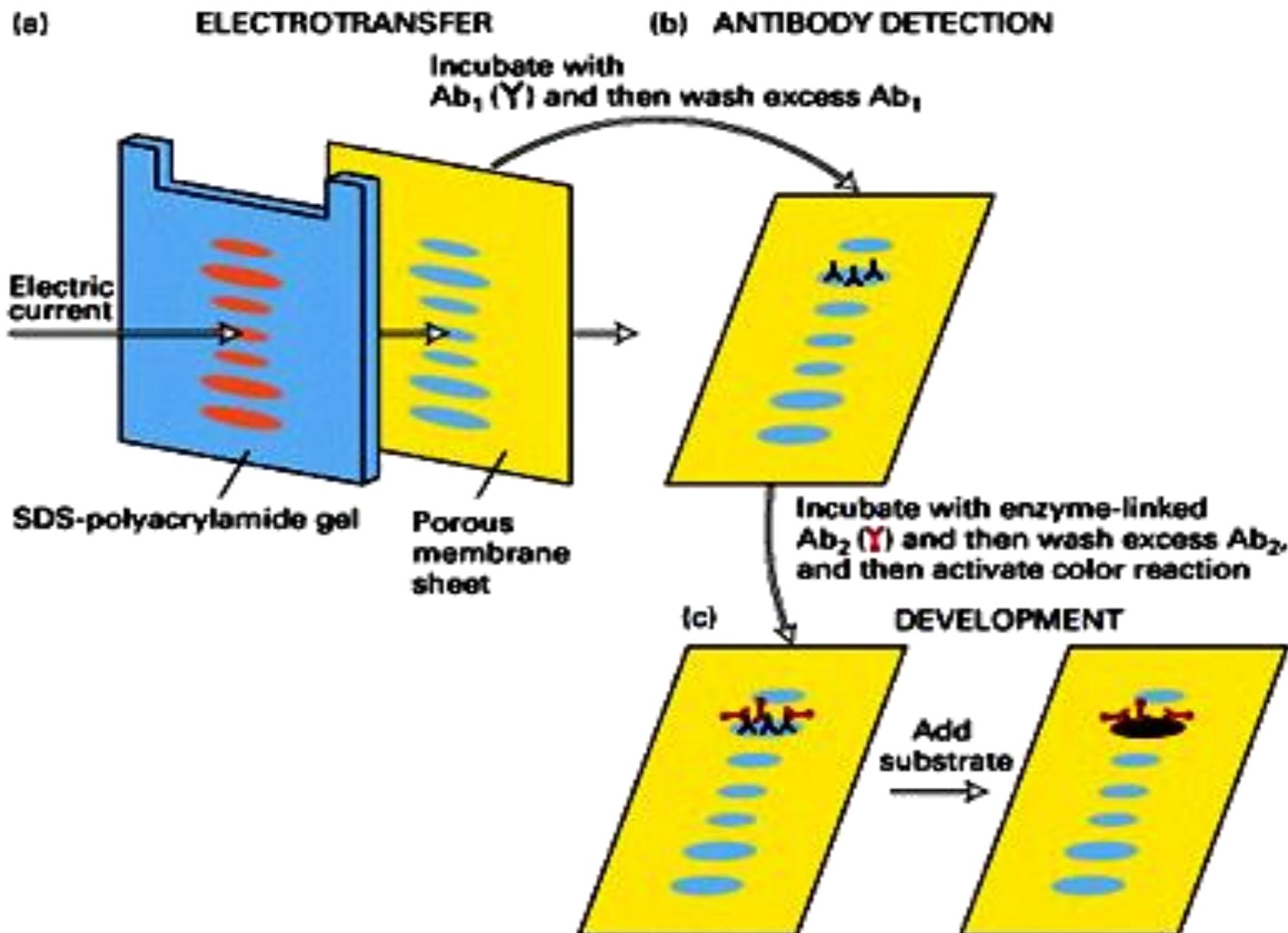
النتروسيللوز.

النقل أو Blotting Transfer

تتم عملية النقل باستخدام التيار كهربائي حيث تهاجر البروتينات المشحونة سلباً ضمن حقل كهربائي من الهلام عند القطب السالب إلى الغشاء المقابل للقطب الموجب متخذةً نفس وضعها في الهلام، لذلك يعتبر الغشاء بصمة لهلامه الرحلان.

– يمكن التأكد من جودة النقل بتلوين الهلامه بأزرق الكومازي.



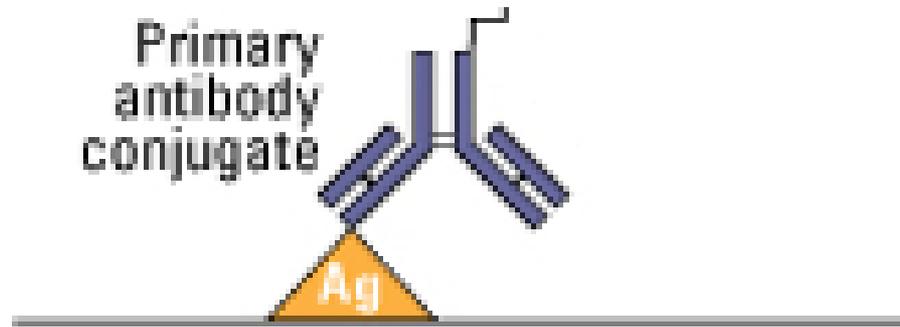


الكشف :Detecting

يتم الكشف على مرحلتين:

- يتم في المرحلة الأولى إضافة **الضد الأولي** (نوعي تجاه البروتين الهدف المطلوب الكشف عنه) إلى الغشاء حيث سيرتبط بالبروتينات الهدف.

تتم في المرحلة الثانية إضافة **الأضداد الثانوية** للغشاء وهي أضداد نوعية موجهة ضد الأضداد الأولية.



الكشف :Detecting

تكون الأضداد الثانوية موسومة بمادة تسمح بالكشف عنها:
مادة مشعة أو مفلورة أو أنزيم.

- إذا كان الضد الثانوي موسوم بأنزيم يتم إضافة الركيزة
المولدة للون التي تعطي رسابة ملونة.

