MIRACLE
Academy

قال تعالى (يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ)

تفريغ البيوتكنو
زميلتكم نهى حسن

لجان الدُّفعات

Created with Notewise

DNA SEQUENCING

CHEMICAL METHOD AND ENZYMATIC METHOD

معناه باختصار determine the order nucleotide in the DNA

في عنا DNA bases على bup med وهاد لو دخلت اي sequence لجين معين رح يطلع النا كل المتشابهات بينه وبين الجينات الأخرى! مثلا هاد الجين فيه تشابه بين الإنسان والmice بنسبه 80٪ مع بكتيريا مثلا 90٪. وهكذا.....

لنفرض عندي هاد الي sequence AGGCATAA! طيب شو رح يعرفني اذا تسلسله صح او لا وحتى لشو اصلا🤔
ف بال2005كنا قادرين نعمل sequence لكل human genome يعني لكل 46 كروموسوم وعارفين كل جين وين موجود وحتى صار في عنا خريطة للجينات

Created with Notewise

DNA SEQUENCING

ما هو الجينوم؟
* الجينوم (Genome) هو كامل المادة الوراثية لأي كائن حي، سواء كان إنسانًا، حيوانًا، نباتًا، أو حتى فيروسًا.
* يتم ترتيبه في 23 زوجًا من الكروموسومات (بإجمالي 46 كروموسومًا) داخل نواة كل خلية جسدية. نسخة واحدة من كل زوج تأتي من الأب والأخرى من الأم.

- The process of determining the order of bases adenine (A), thymine (T), cytosine (C), and guanine (G) along a DNA strand.
- All the information required for the growth and development of an organism is encoded in the DNA of its genome.

جينات مشفره

- So, DNA sequencing is fundamental to genome analysis and understanding the biological processes in general.

Created with Notewise

TECHNICAL BREAKTHROUGH FOR DNA SEQUENCING

مشكلتها تستخدم radio active substances

- In 1977, two separate methods for the large-scale sequencing of DNA were Included:

1. Chemical cleavage method by Maxam and Gilbert
2. Enzymatic chain termination method by Sanger

هدول كلهم عرفت تبعهم sequence

- Of these two methods, Sanger method is more popular. Without changing the underlying concept of both methods, some improvements have been done over the years by applying different strategies, by developing various modifications and by automation.
- As a result, a very large scale sequencing has become feasible, e.g. *E. coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, Human Genome Project etc.

Created with Notewise

1. CHEMICAL CLEAVAGE METHOD

- This method uses double-stranded DNA samples.
- Involves modification of the bases in DNA followed by chemical base-specific cleavage.
- Sequences DNA fragments containing up to ~500 nucleotides in length.

بدي double strand DNA وبعمله modification وبضيف عليه radio active phosphate على prime 5 وبعدها بقصقصه عن طريق chemical cleavage وشرط يكون DNA بكميات معينه. يساوي 500Nu حتى يقص مره وحده مش أكثر من مره

بببساطة: الفوسفات المشع يعمل كـ "منارة" تسمح للباحث برؤية وتحديد الأجزاء المتسلسلة على الهلام بعد أن يتم فصلها حسب الحجم، ويضمن أن الأجزاء التي يتم رصدها هي تلك التي تبدأ من الطرف الـ 5' الأصلي.

Created with Notewise

STAGES:

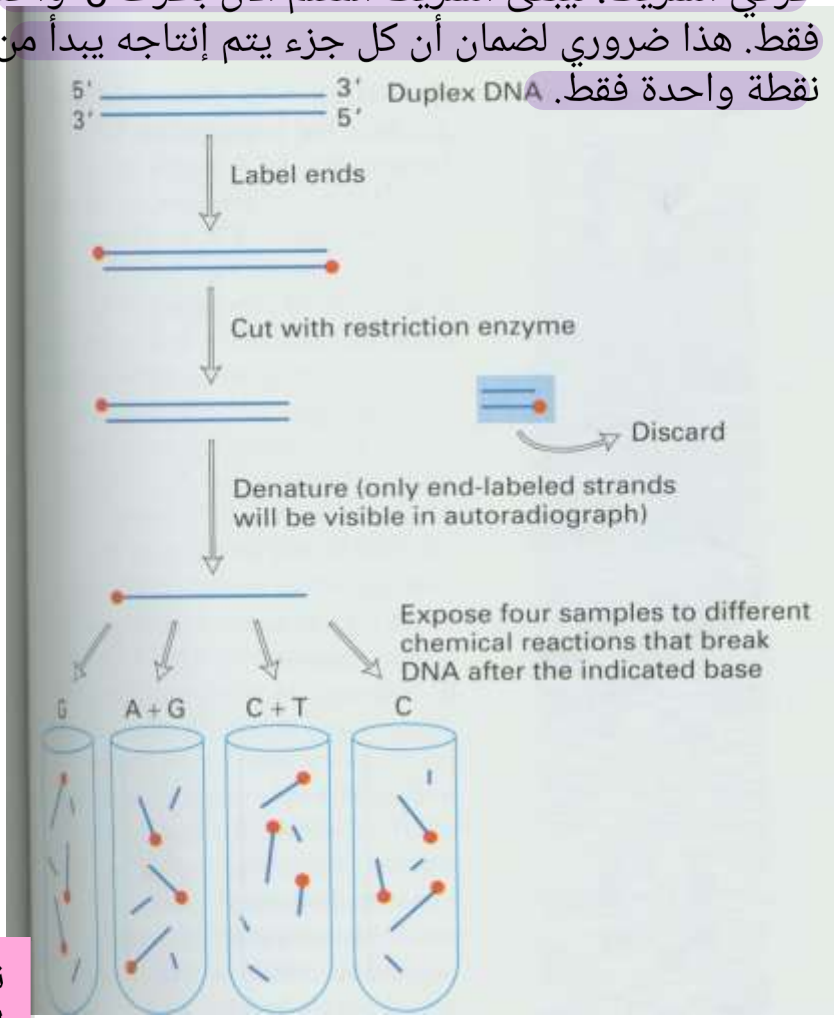
1. The double-stranded fragment to be sequenced is isolated and radioactively labeled at the 5'-ends with ^{32}P.
2. The fragment is then cut with restriction enzyme and thus the label is removed from one end.
3. The fragment of DNA with one end labeled is denatured.
4. Four identical samples of these end-labeled DNA restriction fragments are subjected to chemical

cleavage at different chemical nucleotides.

5. There are four specific sets of chemical reactions that selectively cut the DNA backbone at G, A+G, C+T, or C residues.
   - G only: Dimethyl sulphate(DMS) and piperidine
   - A+G : DMS,and formamide piperidine
   - C+T : Hydrazine, piperidine
   - C only : Hydrazine, alkali or NaCl piperidine

ننزل لتحت لاشرحهم

القطع الإنزيمي (Cut with restriction enzyme): يتم قطع الشريط المُعلَّم باستخدام إنزيم تقييد (Restriction Enzyme). هذا القطع يزيل العلامة المشعة من أحد طرفي الشريط، ليبقى الشريط المُعلَّم الآن بطرف 5' واحد فقط. هذا ضروري لضمان أن كل جزء يتم إنتاجه يبدأ من نقطة واحدة فقط.



Created with Notewise

	الكاشف الكيميائي الأساسي	المادة المضافة للتمييز	الوظيفة
G	DMS (Dimethyl Sulfate)	لا شيء (فقط Piperidine للتكسير)	تكسير انتقائي للـ G
G+A	DMS (Dimethyl Sulfate)	Formamide	تكسير الـ A والـ G معاً
T+C	Hydrazine	لا شيء (فقط Piperidine للتكسير)	تكسير انتقائي للـ C والـ T معاً
C	Hydrazine	Alkali (مثل NaCl)	تكسير انتقائي للـ C فقط (عن طريق تثبيط التفاعل مع T)

ملاحظه عشان نحفظ انه piperidine معهم كلهم

الكاشف الأساسي	القواعد	المجموعة
DMS	A & G	البيورينات
Hydrazine	C & T	البيريميدينات

عندي بكل تيوب DNA مع phosphateas radio active وبعدها
بالتوب الأول بحط Dimethyl sulphate(DMS)
and piperidine

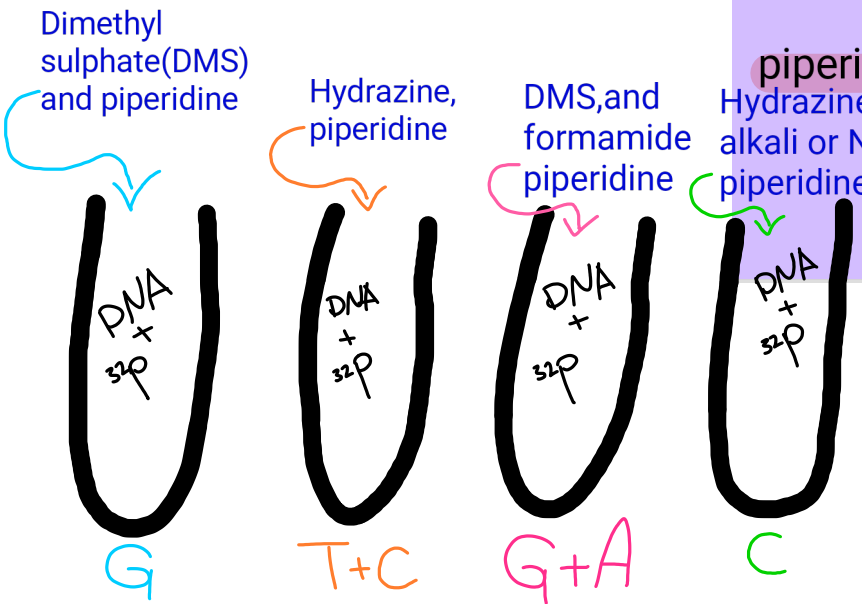
والثاني Hydrazine, piperidine
والثالث DMS,and formamide

piperidine

والرابع Hydrazine, alkali or NaCl

piperidine

وبعدها بحطهم على الجل وبشوفلهم X-ray
وأصغر اشي رح تكون لتحت لذلك القراءه من تحت لفوق

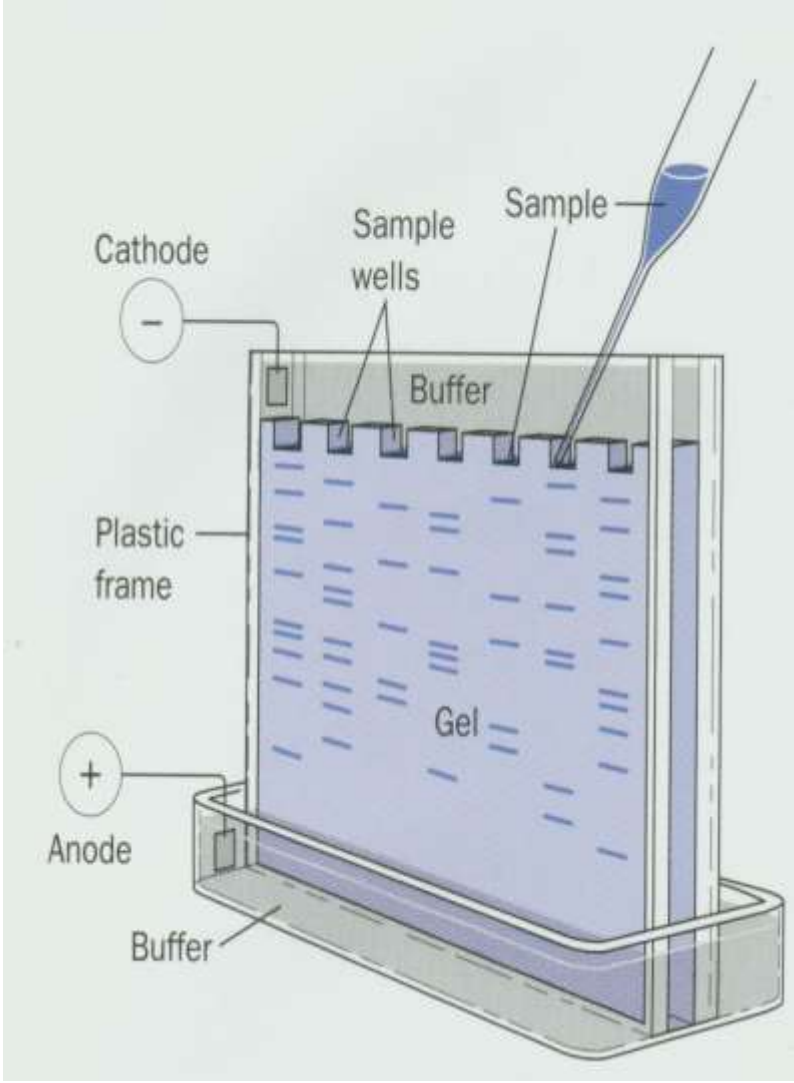


Created with Notewise

6. For each labeled chain to be broken only once, the reactions are controlled.

7. The labeled subfragments created by the four reactions have
   - the ^{32}P label at one end and
   - the chemical cleavage point at the other end.

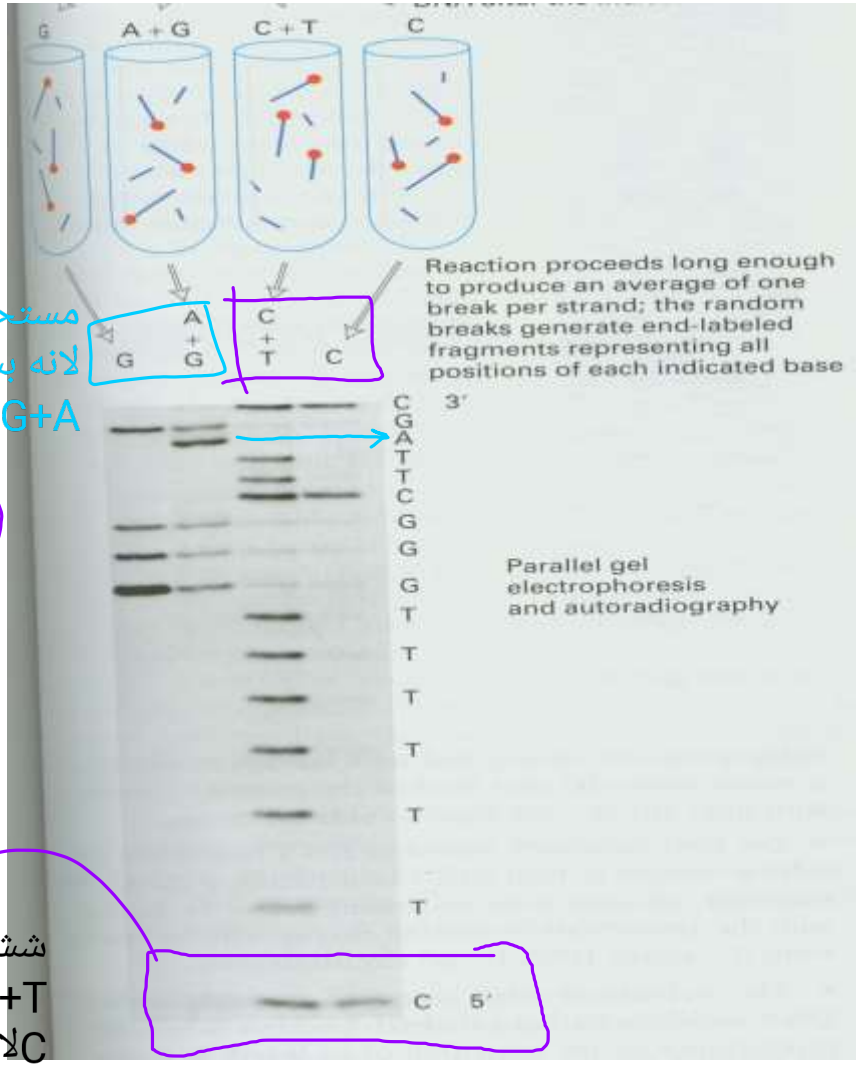
8. The reaction products are separated by polyacrylamide gel electrophoresis which is based on size. Smallest fragment goes fastest.



Created with Notewise

9. The labeled fragments in the gel are visualized by autoradiography (x-ray).

10. The sequence is read from bottom to top of the gel.



مستحيل تكون G لانه بس قاطع عند G بس بدون G+A

ششوفو هون في Band عن C+T وعند C لحالها يعني شو C لانو مستحيل يكون T وقاطع عند الاثنين

Created with Notewise

EXAMPLE OF DNA SEQUENCING BY CHEMICAL METHOD

CHEMICAL CLEAVAGE OF A DNA SAMPLE AT C BASES

End-labelled DNA sample

^{32}P-A-p-T-p-T-p-G-p-C-p-G-p-C-p-T-p-G-p-C-p-A-p-C-p-G-p-C-p-T

^{32}P _____

^{32}P _____

^{32}P _____

^{32}P _____

^{32}P _____

End-labelled DNA fragments

AUTORADIOGRAM OF SAMPLE
MAXAM-GILBERT SEQUENCING GEL

G	A+G	C+T	C	SEQUENCE (END)
		—	—	C (3')
—	—			G
	—			A
		—		T
		—		T
		—		T
		—	—	C
—	—			G
—	—			G
	—			A
		—		T
		—	—	C
	—			A
	—			A (5')

Created with Notewise

ADVANTAGES AND DISADVANTAGES

- No premature termination due to DNA sequencing. So, no problem with polymerase to synthesize DNA.
- Stretches of DNA can be sequenced which can not be done with enzymatic method.

- Not widely used.
- Use of radioactivity and toxic chemicals.

Created with Notewise

ملخص مبسط
للحكي الي تحت

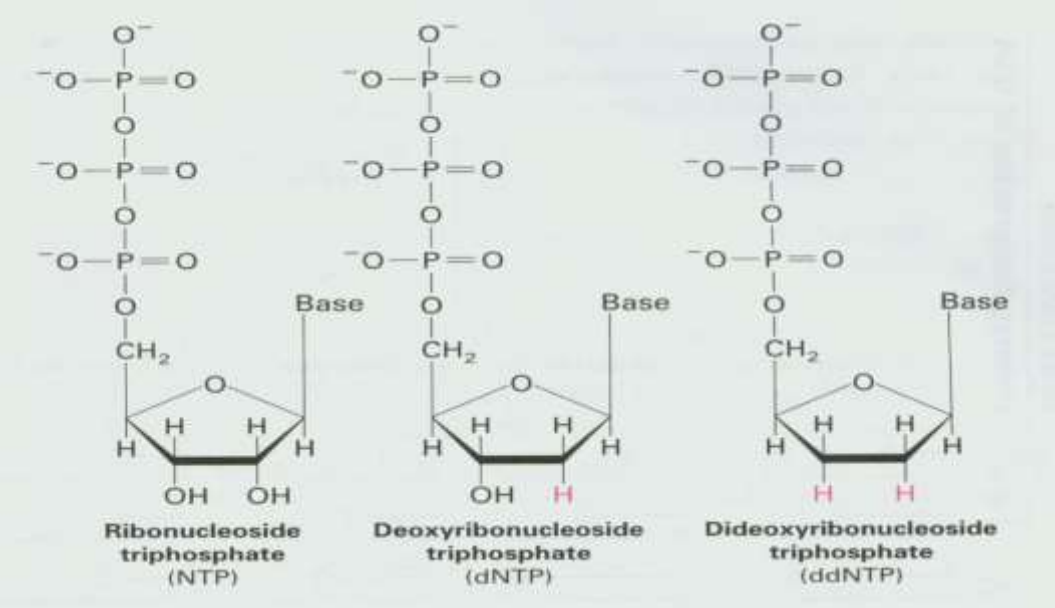
كل القصه عندي ب deoxy nucleotide (dNTP) بالوضع العادي عندي ribose suger triphosphate يحتوي على OH-'3 (هيدروكسيل) الضرورية لإضافة النيوكليوتيد التالي واستمرار نمو السلسلة وهاد يكون بكميات كبيره.
وفي عندي كمان نيوكليوتيد الإنهاء (ddNTP): يفتقر إلى مجموعة OH-'3. عند دمج هذا النيوكليوتيد في شريط DNA النامي، فإنه يوقف (Terminates) استطالة السلسلة بشكل فوري، لأنه لا يوجد شيء للنيوكليوتيد القادم ليرتبط به. وهاد يكون بكميه جدا قليله

مكونات التفاعل: يتم تجهيز أربعة خلطات تفاعل منفصلة:
إنزيم DNA Polymerase: لبدء عملية بناء الشريط الجديد.
النيوكليوتيدات العادية (dNTPs): النيوكليوتيدات الأربعة (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) بتركيز عالٍ.
نيوكليوتيدات الإنهاء (ddNTPs): يتم إضافة نوع واحد فقط من ddNTP (مثل ddATP أو ddGTP) لكل أنبوب، ويكون بتركيز منخفض.

Created with Notewise

CHAIN TERMINATION METHOD

- This method uses single-stranded DNA.
- Also known as **dideoxy sequencing** method because it involves the use of analogue of normal nucleotide 2',3'-dideoxynucleoside triphosphates (ddNTPs). These are chain terminating nucleotides lacking 3'-OH ends.
- This method is based upon the incorporation of ddNTPs into a growing DNA strand to stop chain elongation.

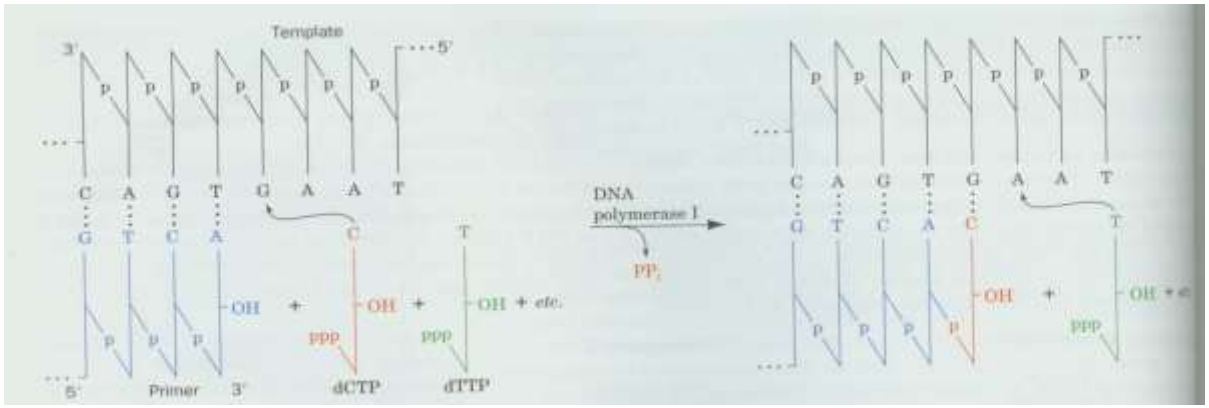


Structure of NTP, dNTP, and ddNTP

Created with Notewise

STAGES:

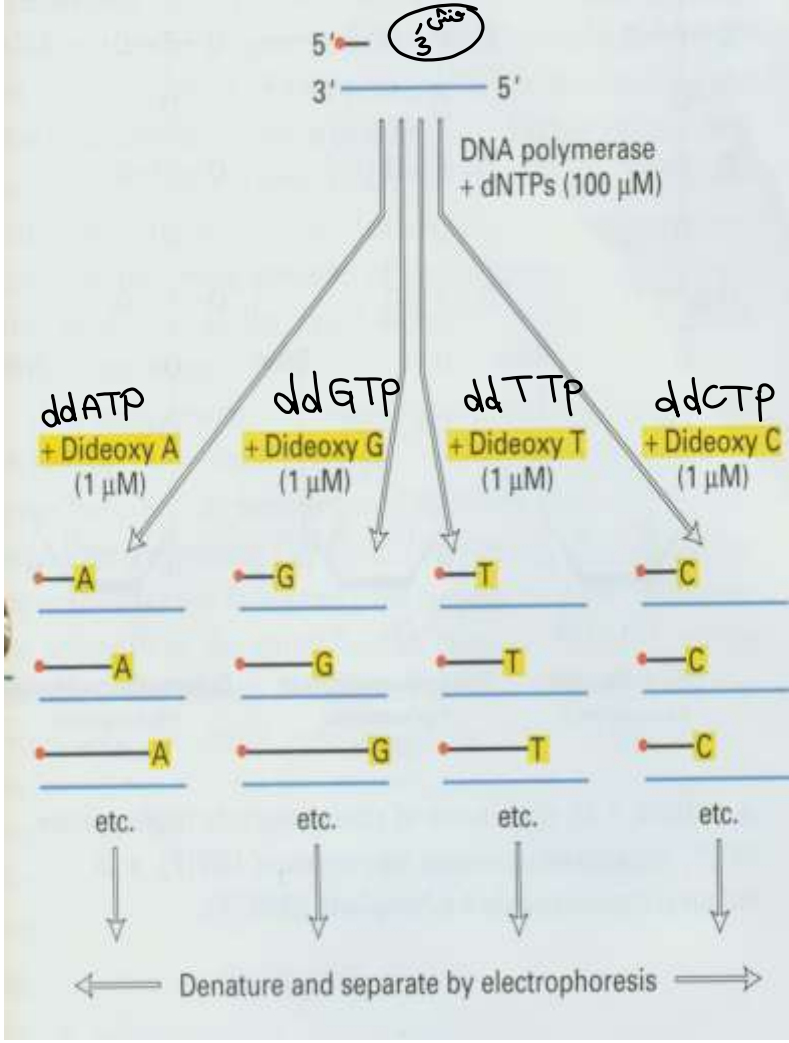
1. The DNA to be sequenced is extracted from phage or E. coli for sequencing purpose.
2. A synthetic 5'-end-labeled oligodeoxynucleotide is used as the primer.
3. The template DNA is hybridized to the primer.
4. The primer elongation is performed in four separate polymerization reaction mixtures. Each mixture contains
   - 4 normal deoxynucleotides (dNTPs) in higher concentration and
   - a low concentration of the each of the 4 ddNTPs.
5. There is initiation of DNA synthesis by adding enzyme DNA polymerase since the enzyme cannot distinguish between the normal nucleotides and their analogues.



Action of DNA polymerase I

Created with Notewise

6. The strand synthesis continues until a ddNTP is added. The chain elongation ceases on the incorporation of a ddNTP because it lacks a 3'-OH group which prevents addition of the next nucleotide.
7. There is a result of mixture of terminated fragments, all of different lengths.
8. Denature DNA fragments.
9. Each of the four mixtures are run together on a polyacrylamide gel for electrophoresis.

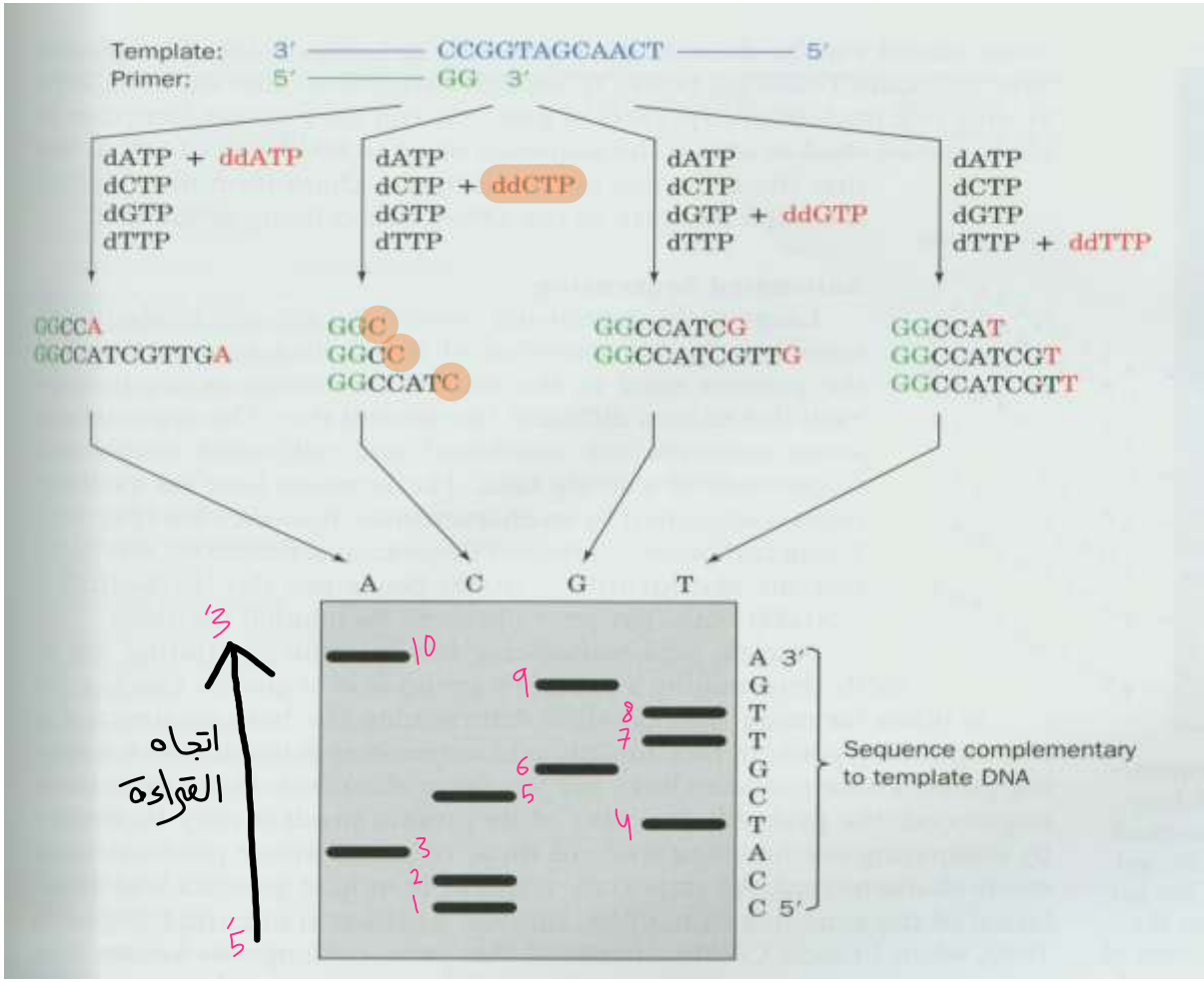


Sanger method

Created with Notewise

10. The separated fragments are then visualized by autography.

11. From the position of the bands of the resulting autoradiogram, the sequence of the original DNA template strand can be read directly.



Chain termination method

Created with Notewise

ADVANTAGES AND DISADVANTAGES

- Most popular method.
- Simpler and quicker allowing large output. Within an hour the primer-annealing and sequencing reactions can be completed.

- Yielding of poor results owing to secondary structure in the DNA as sometimes DNA polymerases terminate chain elongation prematurely.
- The sequence is obtained not from the original DNA molecule but from an enzymatic copy. So, there is a chance of incorporation of wrong bases.

ميزات وعيوب طريقة إنهاء السلسلة الإنزيمية (Sanger).

العيوب (Disadvantages)	المزايا (Advantages)
قد تعطي نتائج ضعيفة بسبب التركيب الثانوي في DNA.	الطريقة الأكثر شيوعًا.
قد ينهي إنزيمات DNA Polymerase استطالة السلسلة قبل الأوان.	أبسط وأسرع.
يتم الحصول على التسلسل من نسخة إنزيمية، وليس من جزيء DNA الأصلي.	تسمح بإنتاج كبير.
هناك فرصة لدمج قواعد خاطئة (wrong bases) في النسخة الإنزيمية.	يمكن إكمال تفاعلات تثبيت البادئ والتسلسل في غضون ساعة.

Created with Notewise

1. الطرق الأساسية لتسلسل الحمض النووي

الميزة	طريقة التكسير الكيميائي (Chemical Cleavage Method)	طريقة إنهاء السلسلة الإنزيمية (Enzymatic Chain Termination Method)
الاسم الآخر	طريقة ماكسام وجيلبرت (Maxam and Gilbert)	طريقة سانغر (Sanger) / طريقة تسلسل الديديوكسي (Dideoxy Sequencing)
عام الاكتشاف	1977	1977
شعبية الاستخدام	غير مستخدمة على نطاق واسع	الأكثر شيوعًا
نوع العينة	عينة DNA مزدوجة الشريط	عينة DNA أحادية الشريط
المبدأ الأساسي	تعديل القواعد في DNA متبوعًا بتكسير كيميائي خاص بكل قاعدة	إيقاف استطالة السلسلة عن طريق دمج نيوكليوتيدات إنهاء السلسلة (ddNTPs)
أدوات الإنهاء	مواد كيميائية تتسبب في تكسير عمود DNA الفقري عند قواعد محددة (مثل G, A+G, C+T, C)	نظائر النيوكليوتيدات العادية (ddNTPs) التي تفتقر إلى مجموعة 3'-OH
طول التسلسل	حتى حوالي 500 نيوكليوتيدة	غير محدد
المخاطر	استخدام النشاط الإشعاعي والمواد الكيميائية السامة	قد تعطي نتائج ضعيفة بسبب الإنهاء المبكر للسلسلة بواسطة DNA Polymerase
الخطوة الحاسمة	الفصل بالرحلان الكهربائي على هلام بولي أكريلاميد ثم التصوير الإشعاعي الذاتي (autoradiography)	الفصل بالرحلان الكهربائي على هلام بولي أكريلاميد ثم التصوير الإشعاعي الذاتي (autography)
قراءة التسلسل	تُقرأ من أسفل إلى أعلى الهلام	تُقرأ مباشرة من مواقع الأشرطة في التصوير الإشعاعي الذاتي

Created with Notewise

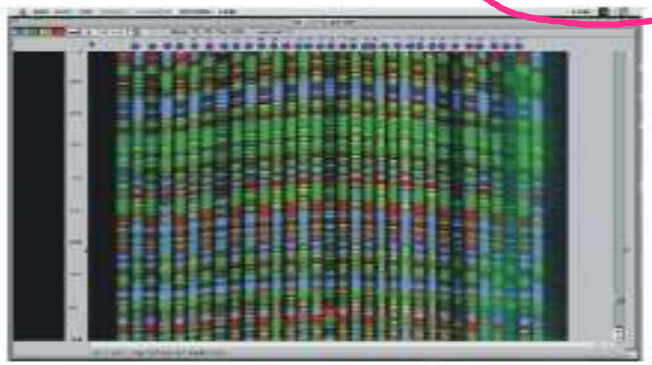
IMPROVED APPROACHES AND AUTOMATED DNA SEQUENCING

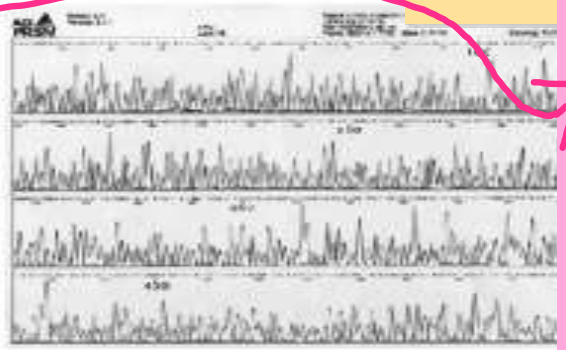
- Updated version of Sanger method
- Fluorescence detection with lasers
- Cycle sequencing
- Shotgun sequencing

التسلسل الآلي هو نسخة مُحدثة من طريقة سانغر، استبدلت فيها الأدوات اليدوية (مثل فصل النواتج على هلام طويل) بالتقنيات الحديثة، خاصة في خطوتي الفصل والكشف.

النيوكليوتيدات بحط معهم fluorescence detect : بدلاً من وضع علامة مشعة على primer، يتم تعليم كل نوع من نيوكليوتيدات الإنهاء (ddNTPs) بصبغة فلورية مختلفة.
واحد احمر وواحد أخضر وواحد ازرق واخيرا واحد اصفر

Automated procedure for DN sequencing





هاد يحدد sequence كامل واذا شفت غلط فيه او اشي مش واضح برجع للجل وبشوفه على الجهاز نفسه

A computer read-out of the gel generates a "false color" image where each color corresponds to a base. Then the intensities are translated into peaks that represent the sequence.

Created with Notewise

CYCLE SEQUENCING

- There are two basic differences between cycle sequencing and PCR amplification:
  - The presence of only one primer in the cycle-sequencing reaction used to prime synthesis of one strand of the DNA
  - The presence of dideoxynucleotide (ddNTP) triphosphates in the sequencing reactions that create the base-specific terminations required.
- The result of the temperature cycling is linear amplification of the sequencing product leading to an increase in the signal generated during the sequencing reaction when compared with standard sequencing protocols.

Created with Notewise

CYCLE SEQUENCING

- Cycling the sequencing reactions results in several advantages

(1) The amount of template necessary for the sequencing reaction is greatly reduced

(2) because smaller amounts of template are added, fewer impurities are introduced, meaning less template preparation is required; and

(3) The high temperature at which the sequencing reactions are run and the multiple heat-denaturation steps allow double- stranded templates such as plasmids, cosmids, X DNA, and PCR products to be sequenced reliably without a separate denaturation step

Created with Notewise

تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR)	تسلسل الدورة (Cycle Sequencing)
يحتوي على زوج من البادئات (عادةً اثنين).	يحتوي على بادئ واحد فقط.
لا يحتوي على ddNTPs (يستخدم dNTPs فقط لإنشاء نسخ كاملة).	يحتوي على نيوكليوتيدات ديديوكسي ثلاثية الفوسفات (ddNTPs) لإنشاء إنهاءات خاصة بالقاعدة.

الشرح	الميزة
يتم تقليل كمية القالب (Template) اللازمة للتفاعل بشكل كبير.	① تقليل القالب
بما أن كميات أقل من القالب تُضاف، يتم إدخال عدد أقل من الشوائب، مما يعني أن تحضير القالب المطلوب أقل.	② تنقية أقل
درجة الحرارة العالية التي تُجرى عندها التفاعلات وخطوات الدنترة المتعددة تسمح بتسلسل القوالب مزدوجة الشريط (مثل البلازميدات، الكوزميدات، ومنتجات PCR) بشكل موثوق دون الحاجة لخطوة دنترة منفصلة قبل التفاعل.	③ تسلسل القوالب المزدوجة

Created with Notewise

SHOTGUN SEQUENCING

- is a method used for sequencing long DNA strands
- DNA is broken up randomly into numerous small segments, which are sequenced using the chain termination method to obtain *reads*.
- Multiple overlapping reads for the target DNA are obtained by performing several rounds of this fragmentation and sequencing.
- Computer programs then use the overlapping ends of different reads to assemble them into a continuous sequence

Created with Notewise

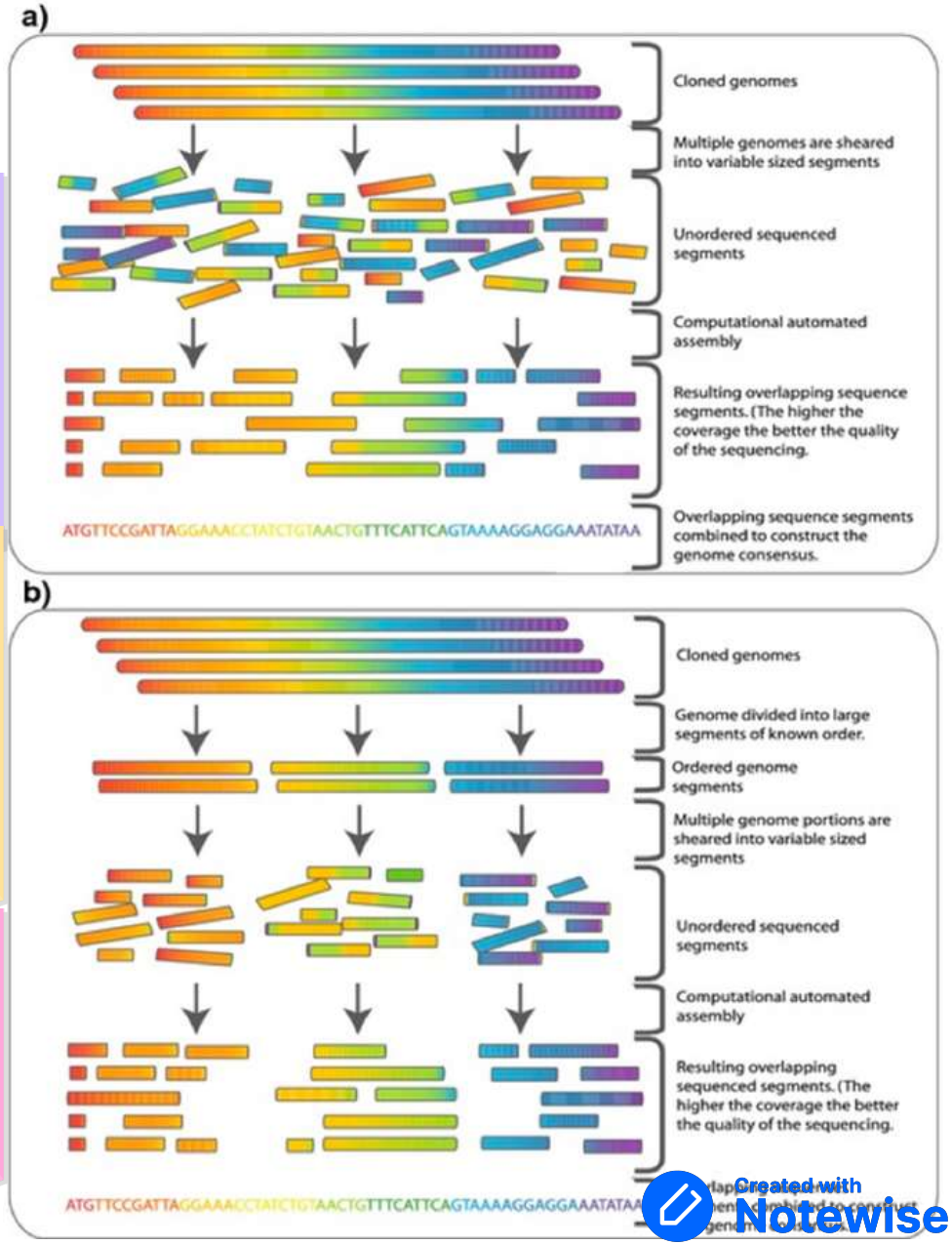
SHOTGUN SEQUENCING

اللي فيها تكون: قطعة DNA طويلة (التي نريد تسلسلها).
الإجراء: يتم تكسير (Shear) هذا الشريط الطويل عشوائيًا إلى عدد هائل من الأجزاء الصغيرة. تُسمى هذه العملية "شوتغَن" لأنها تقطع الهدف بعشوائية.
النتيجة: نحصل على آلاف القطع الصغيرة ذات الأطوال المختلفة.

التسلسل: تُستخدم طريقة إنهاء السلسلة (Sanger Method) لتسلسل كل جزء صغير للحصول على قراءة (Read)

التداخل (Overlap): تُكرر عملية التكسير والتسلسل عدة مرات (عدة جولات) للحصول على قراءات متعددة ومتداخلة. هذا التداخل ضروري للمرحلة التالية

تستخدم البرامج الحاسوبية الأطراف المتداخلة (Overlapping ends) للأجزاء القصيرة التي تم تسلسلها لتجميعها في تسلسل جينومي كامل ومستمر.



Created with Notewise

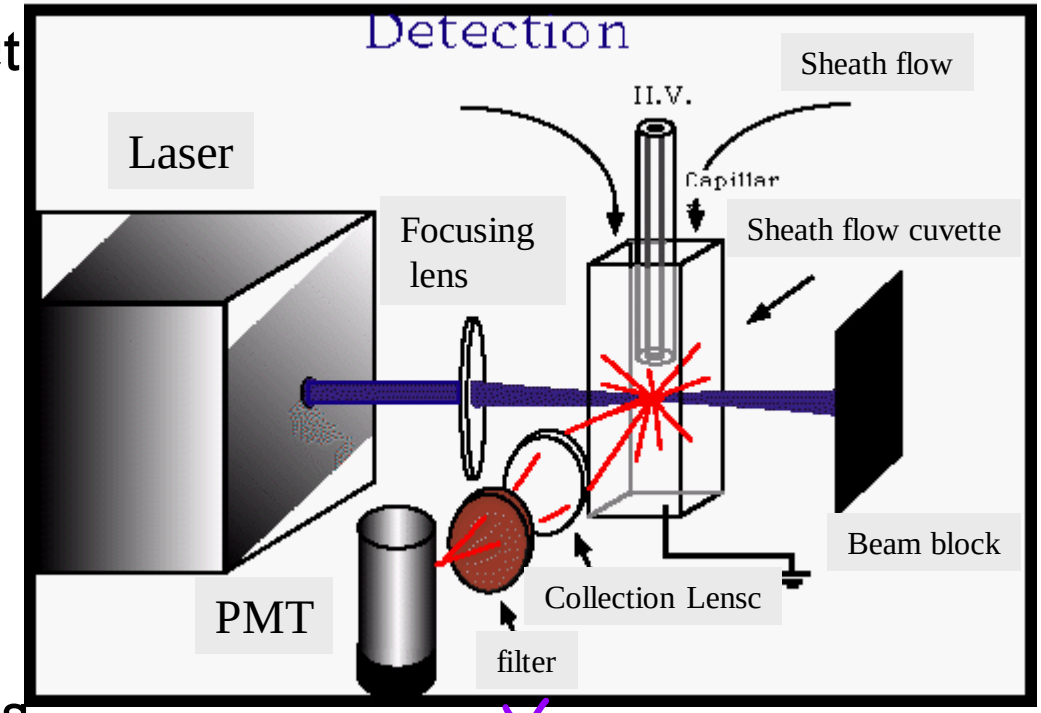
الميزة	التفاصيل
الهدف الأساسي	تسلسل أشرطة DNA الطويلة أو الجينومات الكاملة.
المبدأ	تكسير DNA عشوائياً إلى أجزاء صغيرة متعددة، ثم تجميعها حاسوبياً.
طريقة التسلسل المستخدمة	تُستخدم طريقة إنهاء السلسلة (Chain Termination) (Method/Sanger) لتسلسل الأجزاء الصغيرة.
الخطوة 1: التجزئة (Fragmentation)	يتم تكسير DNA عشوائياً إلى أجزاء صغيرة عديدة.
الخطوة 2: الحصول على القراءات (Reads)	يتم إجراء عدة جولات من التكسير والتسلسل للحصول على قراءات متعددة ومتداخلة (Multiple overlapping reads) لـ DNA المستهدف.
الخطوة 3: التجميع (Assembly)	تستخدم برامج الحاسوب الأطراف المتداخلة للقراءات المختلفة لتجميعها في تسلسل مستمر (Continuous sequence).
مقياس الجودة	التغطية (Coverage): كلما كانت التغطية أعلى، كانت جودة التسلسل أفضل.
النتيجة النهائية	أجزاء التسلسل المتداخلة تُدمج لبناء التوافق الجينومي (Genome Consensus).

Created with Notewise

High-throughput sequ
Capillary electropho

الميزة	الرحلان الكهربائي الشعري (CE)	الهلام المسطح التقليدي (Slab Gel)
السرعة	أسرع	أبطأ
دقة الفصل (Resolution)	قادر على إنتاج دقة أكبر	دقة أقل
الإنتاجية (Throughput)	يمكن استخدام عشرات وحتى مئات من	إنتاجية أقل بكثير (مسارات محدودة).

The human genome project has spurred an effort to develop faster, higher throughput, and less expensive technologies for DNA sequencing. Capillary electrophoresis (CE) separation has many advantages over slab gel separations. CE separations are faster and are capable of producing greater resolution. CE instruments can use tens and even hundreds of capillaries simultaneously. The figure show a simple CE setup where the fluorescently-labeled DNA is detected as it exits the capillary.



Created with Notewise

Sieving matrix for CE

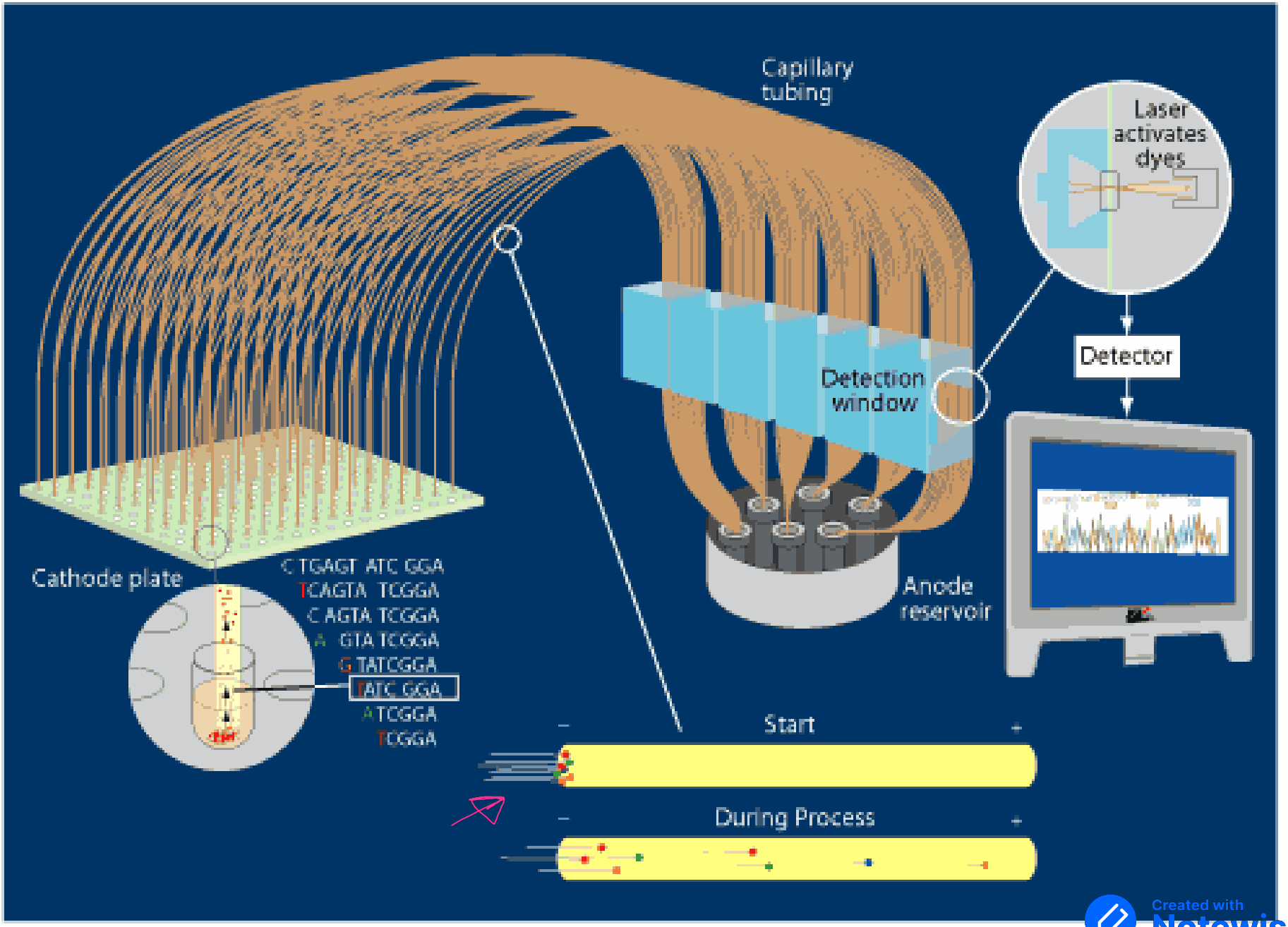
- To separate DNA fragments of different sizes the capillary needs to be filled with sieving matrix, such as **linear polyacrylamide** (acrylamide polymerized without bis-acrylamide).

- This material is not rigid like a cross-linked gel but looks much like glycerol. With a little bit of effort it can be pumped in and out of the capillaries.

- To simulate the separation characteristics of an agarose gel one can use **hydroxyethylcellulose**. It is not much more viscous than water and can easily be pumped into the capillaries.

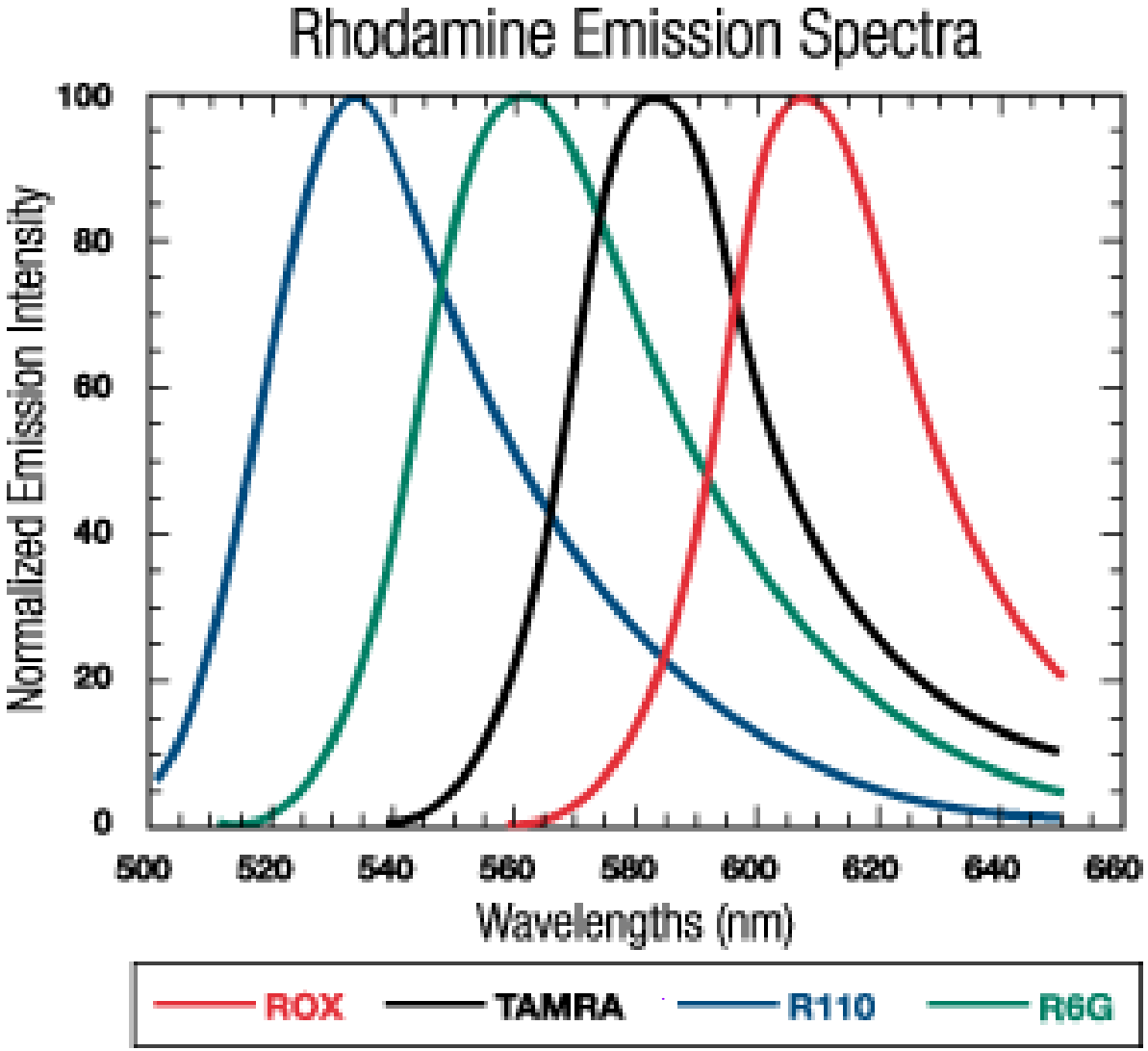
البولي أكريلاميد الخطي: هو الخيار القياسي لغربلة وفصل أجزاء DNA حسب الحجم.
الهيدروكسي إيثيل سليلوز: هو الخيار إذا كان الهدف هو الحصول على نمط فصل يشبه فصل هلام الأغاروز

Created with Notewise



Created with Notewise

Fluorescent end labeling of DNA



Created with Notewise

جدول مُبسّط: الرحلان الكهربائي الشعري (Capillary Electrophoresis)

الأهمية في تسلسل DNA	الشرح المبسّط
يسمح بتشغيل آلاف العينات بسرعة فائقة (High-throughput).	استبدال لوح الهلام المسطح (Slab Gel) بأنبوب زجاجي دقيق جدًا (Capillary).
يفصل الأجزاء بدقة عالية حسب الحجم؛ الأقصر يتحرك أسرع.	تُدفع أجزاء DNA المعلّمة بالألوان الفلورية خلال الأنبوب بواسطة مجال كهربائي قوي.
الليزر يُثير الصبغة الفلورية الموجودة في نهاية كل جزء، والكاشف يسجل لون الضوء (الذي يمثل القاعدة: A، T، C، أو G).	يتم وضع ليزر وكاشف ضوئي عند نهاية الأنبوب.
يُنشئ الحاسوب منحنيات قمم (Peaks) تحدد التسلسل (A, T, C, G) مباشرة دون تدخل يدوي.	يتم إرسال بيانات الألوان في الوقت الحقيقي إلى الحاسوب.
جعل طريقة سانغر سريعة وفعالة ومؤتمتة، وهي الأساس لجميع أجهزة التسلسل الآلي الحالية.	أتمتة كاملة لخطوتي الفصل والكشف في طريقة سانغر.

Automated

الوظيفة	المكون CE
أنابيب زجاجية دقيقة تُستخدم لمرور عينات DNA.	① الأنابيب الشعرية (Capillaries)
مادة لملء الأنبوب الشعري لفصل أجزاء DNA حسب الحجم.	② مصفوفة الغربلة (Sieving Matrix)
تُعلّم نيوكليوتيدات الإنهاء (ddNTPs) بصبغات فلورية مختلفة (مثل ROX, TAMRA, R110, R6G).	③ الكواشف الفلورية (Fluorescent Labels)
الليزر يُفعّل الصبغات (Laser activates dyes)، والكاشف يرصد لون الضوء المنبعث.	④ الليزر والكاشف (Laser & Detector)

Created with Notewise

What is the function of the sequenced gene?

اذا كان sequence مش معلوم برجع لل data base المدخل

Classical methods:

①- mutate gene, characterize phenotype for clues to function (genetics)

②- purify protein product, characterize *in vitro* (biochemistry)

Comparison to previously characterized genes:

- genes sequences that have high sequence similarity usually have similar functions

- if your gene has been previously characterized (using classical methods) by someone else, you want to know right away! (avoid duplication of labor)

Created with Notewise

NCBI

NCBI home page -Go to www.ncbi.nlm.nih.gov for the following pages

Pubmed: search tool for literature--search by author, subject, title words, etc.

All databases: "a retrieval system for searching several linked databases"

BLAST: Basic Local Alignment Sequence Tool

هي أداة حاسوبية أساسية ومهمة للمقارنة،

OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man

Books: many online textbooks available

Tax Browser: A taxonomic organization of organisms and their genomes

Structure: Clearinghouse for solved molecular structures

Created with Notewise

What does BLAS

الشرح	وظيفة أداة BLAST
تبحث في قاعدة بيانات مختارة من التسلسلات وتحدد التسلسلات التي تتشابه مع تسلسلك التجريبي (Test sequence).	البحث في قواعد البيانات
ترتب التسلسلات المتشابهة حسب درجة التجانس (Homology) باستخدام قيمة E value.	ترتيب التسلسلات
توضح المحاذاة (Alignment) بين التسلسل التجريبي والتسلسلات المتشابهة التي تم العثور عليها.	توضيح المحاذاة

1) Searches chosen sequence database and identifies sequences with similarity to test sequence

2) Ranks similar sequences by degree of homology (E value)

3) Illustrates alignment between test sequence and similar sequences

تتخليني اعرف نسبه التشابه بين الجينات

Created with Notewise

Alignment of sequences:

نقدر ندخل sequence يحكيلي شو نسبة التشابه مثلا يحكيلي 90٪ مع البروتين الفلاني او ممكن العكس انا بدخل الجين تبع الأنسولين وهو يحكيلي شو ال sequence تبعه

The principle: two homologous sequences derived from the same ancestral sequence will have at least some identical (similar) amino acid residues

Fraction of identical amino acids is called "percent identity"

Similar amino acids: some amino acids have similar physical/chemical properties, and more likely to substitute for each other-these give specific similarity scores in alignments

Gaps in similar/homologous sequences are rare, and are given penalty scores

Created with Notewise

ليش مش دايما متطابق لانه ممكن يصير mutation
عند الشخص بس ما بكون مبين وبسميه هاد silent
Gen يكون نفس a. a ولكن كشغل لا

Homology of proteins

Homology: similarity of biological structure, physiology, and development based on genetic inheritance

Homologous proteins: statistically similar sequence, therefore similar functions (often, but not always)

انتبهو هاي مهمة

```
PhoTFB1      1 -----------------MTKQKVCPVCGST--EFIYDPERGEIVCARCGY
PabTFB       1 -----------------MTKQRVCPVCGST--EFIYDPERGEIVCARCGY
PfuTFB1      1 -----------------MNKQKVCPACESA--ELIYDPERGEIVCAKCGY
TkoTFB1      1 -----------------MSGKRVCPVCGST--EFIYDPSRGEIVCKVCGY
TkoTFB2      1 ------------MRG--ISPKRVCPICGST--EFIYDPRRGEIVCAKCGY
PfuTFB2      1 -------MSSTEPGGGWLIYPVKCPYCKSR--DLVYDRQHGEVFCKKCGS
PhoTFB2_de   1 ------------YGG----SKIRCPVCGSS--KIIYDPEHGEYYCAECGH
SsoTFB1      1 ------------MLYLSEENKSVSTPCPPD--KIIFDAERGEYICSETGE
SsoTFB2      1 ---------------------MKCPYCKTDN-AITYDVEKGMYVCTNCAS
SceTFIIB     1 MMTRESIDKRAGRRGPNLNIVLTCPECKVYPPKIVERFSEGDVVCALCGL
consensus    1                  m    kvcpvCgst  eliydperGeivCarcgy
```

Alignment of TFB and TFIIB sequences
TFB stands for archaeal transcription factor

Created with Notewise

Translating the DNA sequence

The order of amino acids in any protein is specified by the order of nucleotide bases in the DNA.

Each amino acid is coded by the particular sequence of three bases.

code → GAT → ٣ قواعد نيتروجينية

To convert a DNA sequence

First, find the starting codon. The starting codon is alwa

the codon for the amino acid methionine. This codon is AUG in the RNA (or ATG in the DNA):

في RNA يكون بدل T ***U

GCGCGGGUCCGGGCAUGAAGCUGGGCCGGGCCGUGC....

Met

In this particular example the next codon is AAG. The first base (5'end) is A, so that selects the 3rd major row of the table. The second base (middle base) is A, so that selects the 3rd column of the table. The last base of the codon is G, selecting the last line in the block of four.

Created with Notewise

The codon table

لو بدي اعرف شو اسم TAA تبعو على الاسهم

هاد العامود الاول | هاد العامود الثاني | وهاد الثالث

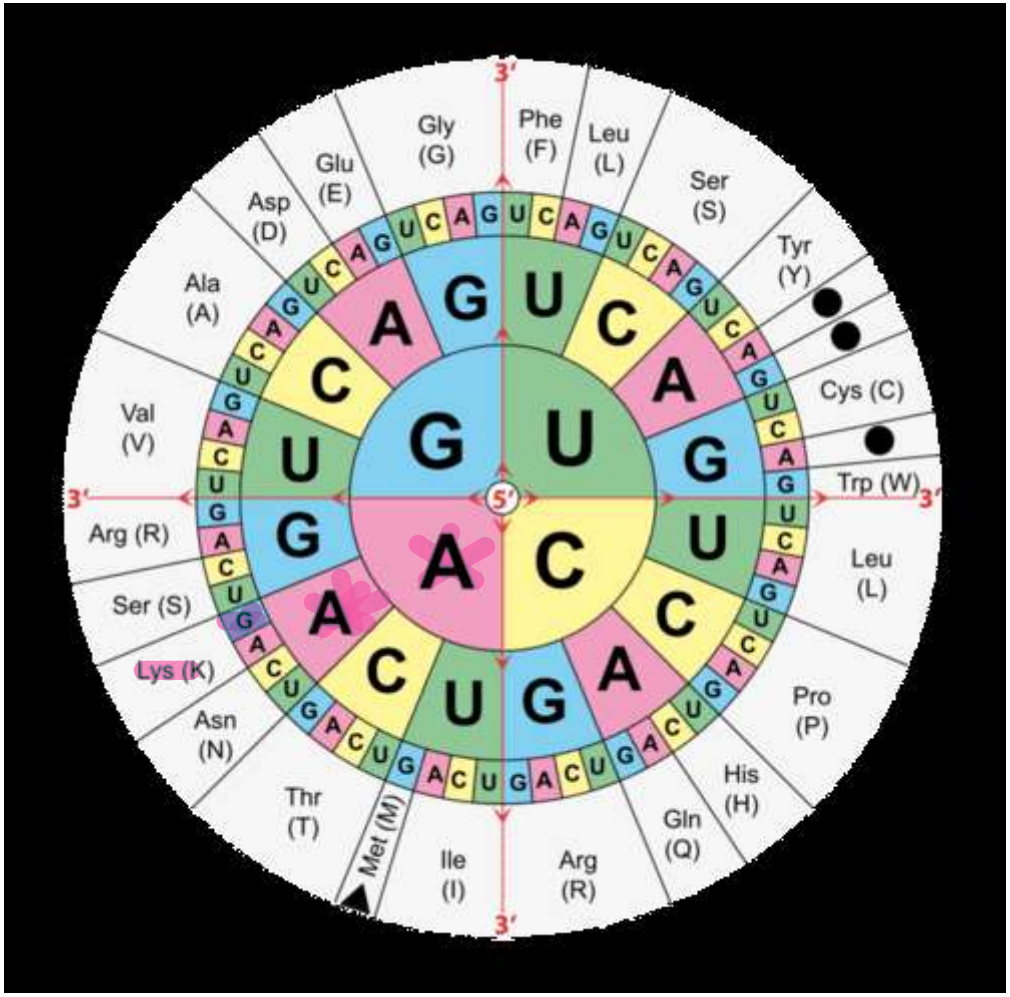
5'-Base	Middle Base			3'-Base
	U(=T)	C	A ②	G	
U(=T) ①	Phe	Ser	Tyr	Cys	U(=T)
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Term	Term ③	A
	Leu	Ser	Term	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U(=T)
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U(=T)
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U(=T)
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

اول شغله نعملها لاحل TAA أمد خط من T الموجوده في 5 prime بعدها اروح انزل خط من A الموجوده ب middle واخر اشي اروح اقاطعها مع A الموجوده في 3 prime وهيك يطلع معي الجواب

ججربو على CCA هل يطلع معكم ولا لا

Created with Notewise

The codon table



Created with Notewise

Translating the DNA sequence

This entry AAG in the table is Lysine (Lys).
Therefore the second amino acid is Lysine.

The first few residues, and their DNA sequence, are as follows (color coded to indicate the correct location in the codon table):

Met Lys Leu Gly Arg ... ...
AUG AAG CUG GGC CGG GCC GUG C..

This procedure is exactly what cells do when they synthesize proteins based on the mRNA sequence. The process of translation in cells occurs in a large complex called the ribosome.

Created with Notewise

لنفترض أن تسلسل DNA يبدأ بعد كودون البدء بكودون **AAG**.

الحمض الأميني	الموقع في جدول الشفرات	الموقع في الكودون	القاعدة
	تختار الصف الرئيسي الثالث في الجدول.	القاعدة الأولى (end-'5)	A
	تختار العمود الثالث.	القاعدة الثانية (Middle base)	A
لايسين (Lysine)	تختار السطر الأخير في المجموعة المكونة من أربعة.	القاعدة الثالثة (Base-'3)	G

Created with Notewise

HUMAN GENOME PROJECT (HGP)

HGP is a national effort to sequence and analyze the human genome which is a very complex system consisting of 50,000 to 100,000 genes. These genes are located on 23 base pairs of chromosome. The complete sequence was complete in 2005.

Some reasons for studying Human genome:

- Better medical practice
- High-quality diagnosis of diseases
- Understanding of evolution fully
- Improvement in biological research and forensic science
- Improvement in agriculture etc.

The latest research on HGP are

- Pulsed electrophoresis
- Fluorescence microscopy
- 2D gel electrophoresis
- gtc double-stranded subclone inserts

Created with Notewise