

Gene Translation

**Prof. Dr. Abdul Hussein Moyet
AlFaisal**

**Ph.D. in Cancer Cellular &
Molecular Genetics**

Wales University- UK.

1. In vitro Translation

Cell Free Translation System

Rabbit reticulocytes Cells Extract:

Compositions

1. Ribosomes
2. tRNA
3. All amino acids needed in Translation

+ mRNA + All amino acids

+ S35 Methonin

Translation



Electrophoresis

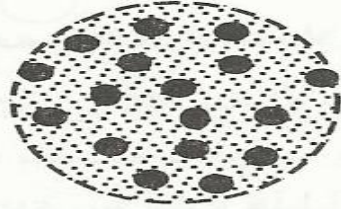


Northern Blot



X- Ray Film

Detection of Protein band.



خلاصة خلايا الدم الحمراء
المأخوذة من الأرانب .

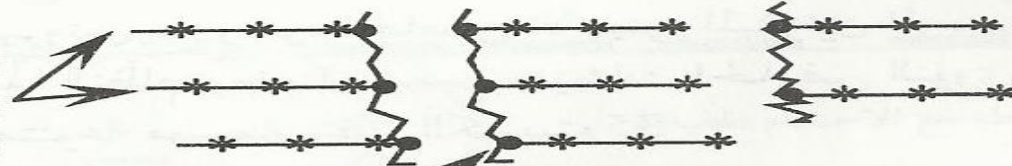
mRNA



جزيئات حامض نووي مرسالة
مختلفة مستخلصة من خلايا
معينه .

أضافة جميع الاحماض الامينية العشريون
مع وجود الميثونين موسم بنظير الكبريت
. 35

بروتينات موسمه
بنظير الكبريت
35

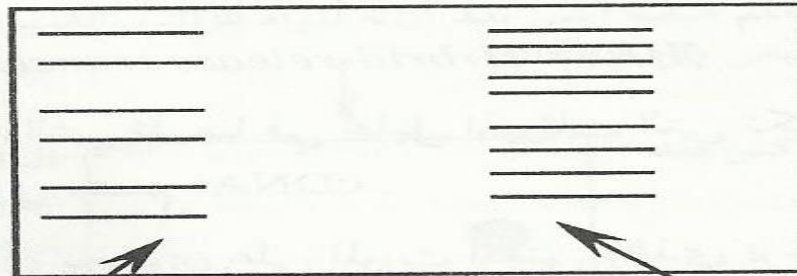


ريبوسوم

البروتينات الناتجة عن الترجمة

هجرة كهربائية ، نقل الحزم الى ورق ، تغطية
الورق بقلم اشعه اكس لفترة وتحميضة وقراءة
النتائج .

فلم أشعة اكسس بعد
التحميض



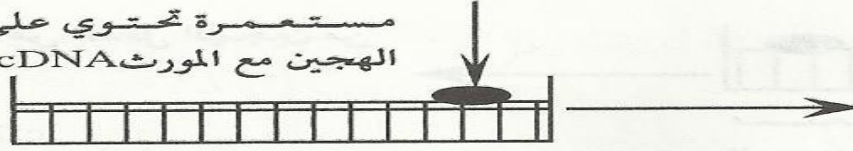
جزيئات بروتينات قياسيه
(Marker) .

البروتينات الموسمه اشعاعياً بنظير
الكبريت 35 .

2. Hybrid Release Translation –HRT

- 1. Isolation of positive hybrid clones**
- 2. Electrophoresis of clones**
- 3. Southern Blot**
- 4. Hybridization with mRNA**
- 5. Wash then mRNA elution with NaOH solution**
- 6. Translation with previous assays**

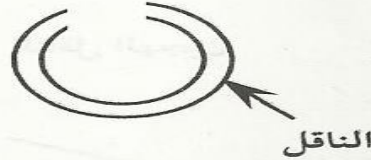
مستعمرة تحتوي على الناقل
الهجين مع المورث cDNA



أستخلاص الناقل الهجين من
المستعمرات .

فصل المورث من الناقل بأنزيم قاطع
معين وأستخلاصه .

قطعة cDNA تمثل المورث
المعزول



تثبيت قطع الحامض النووي المتمم على ورق نايتروسيليلوز بعد إجراء الهجره الكهربائيه لها وفصل
أشرطه الحامض النووي وتثبيتها .



جزيئات حامض نووي مرساله
مستخلصه من نفس الخلايا التي
أستخدمت في بناء مكتبه المورثات .

ورق نايتروسيليلوز
حضانة خليط جزيئات الاحماض
النويه المرساله مع ورق النيتروسيليلوز .

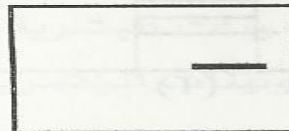
الارتباط المتخصص لبعض جزيئات
الحامض النووي المرسال مع اشرطه ال
cDNA .



غسل الورق لازالة الاحماض النووية المرساله غير المتأصرة ثم أستخلاص الجزيئات المتأصرة
لأستخدامها في الخطوة القادمه .

الترجمة خارج الخلايا للحامض النووي المرسال المستخلص لانتاج البروتين المشفر .

هجره كهربائيه للبروتين و ثم نقل الى ورق نايتروسيليلوز أو غيره وتغطيته بقلم أشعه اكسس لفترة
معينه ثم تبيض القلم وقراءة النتائج .



حزمة البروتين المشفر من المورث .

3. Hybrid arrest Translation HART

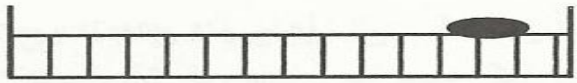
First Step

1. Collect total mRNA molecules – Use a part for cDNA library.
2. Translate the second part to produce **all proteins**.

Second Step

1. Isolate the positive clones.
2. Mix the total mRNA with the de-natured clones.
3. The specific mRNA will bind the DNA clones leaving other mRNA free.
4. Translate. The products will contain **all proteins except the clones protein?**

-- Electrophoresis protein sample of the 1st and 2nd steps to identify the clones protein.?

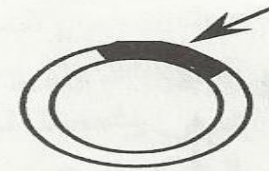


مستعمرة تحتوي على الناقل الهجين مع المورث (cDNA)

أستخلاص الناقل الهجين من المستعمرة .

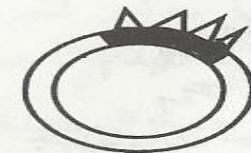
cDNA

الناقل الهجين



جزيئات حامض نووي مراسله مختلفة مستخلصه من نفس الخلايا التي أستخدمت في بناء مكتبة المورثات .

خلط الاحماض النوويه المرساله مع جزيئات الناقل الهجين



هجين cDNA- mRNA

جزيئات حامض نووي مراسله أخرى غير متأصرة مع الناقل



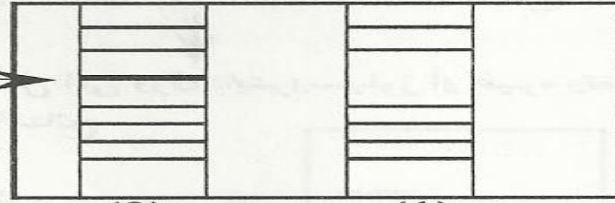
ترجمة خارج الخلايا حيث يتم تصنيع جميع البروتينات المشفره من الاحماض النوويه المرساله بأستثناء بروتين المورث لارتباط جزيئه حامض النووي المرسال معه . (نموذج 1)

جزيئات الاحماض النوويه المرساله المستخلصه من نفس الخلايا التي أستخدمت في بناء مكتبة المورثات .

ترجمة خارج الخلايا لتصنيع بروتيناتها . (نموذج 2)

هجره كهربائية لنموذجي البروتينات ، نقل الى ورق ، فلم أشعه اكس ، تحميض ، نتائج .

حزمة البروتين المشفر من المورث



فلم أشعه اكس بعد التحميض

(2)

(1)

Thank you

