

تقانة المقاطع البسيطة المتكررة :-**Simple Sequence Repeats (SSR)**

وهي احدى مؤشرات الدنا الحديثة والمتمثلة بإمكانية الكشف عن التباينات لمناطق من الدنا لها تتابعات متكررة ترادفياً Simple Sequence Repeats يتراوح طولها من (1- 5) زوج قاعدي وتنتشر على معظم مناطق مجين الكائنات . إذ تعتمد هذه التقانة على بادئات متخصصة لذلك تعد في غاية الاهمية في رسم الخرائط الوراثية وغيرها العديد من الدراسات .

مميزات مؤشرات SSR :-

1. تتميز بوفرة وجودها وتوزعها الكبير على المجين .
2. تتميز بقدرتها على التمييز بين الانواع المختلفة اوبين الاصناف لنفس النوع وحتى بين سلالات الصنف الواحد .
3. تتميز بكونها مؤشرات مشتركة السيادة وبالتالي يمكنها التمييز بين النباتات النقية وراثياً والنباتات الهجينة او الخليطة وراثياً .
4. تتميز بقدرتها على كشف مستوى عالٍ من التباينات Polymorphism مقارنة بغيرها من التقانات .
5. تتميز بسهولة تطبيقها وتحليل نتائجها .
6. تتميز بإمكانية استخدامها في المجتمعات او العشائر ذات الاعداد الكبيرة .
7. في حالة استخدام بادئات موسومة (معلمة بمواد مشعة) يمكن تحميل اكثر من بادئة على نفس الهلامة كما يمكن تحليل النتائج الياً .

عيوب مؤشرات SSR :-

1. ان عملية تصميم البادئات تتطلب وقتاً وخبرة كبيرة و تكلفة عالية .
2. حصر استخدام البادئات ضمن النوع لكونها بادئات متخصصة بالنوع او الانواع القريبة جداً من بعضها وراثياً ولا يمكن تطبيقها او استخدامها على انواع اخرى .
3. ضرورة المعرفة المسبقة بالتتابعات النيوكليوتيدية المحيطة بمناطق SSR لتصميم البادئات .

متطلبات مؤشرات SSR :-

1. Buffer KCl (محلول منظم) .
2. Mg Cl₂ كلوريد المغنيسيوم
3. dNTPs نيوكليوسيدات منقوصة الاوكسجين
4. Primers بادئات
5. انزيم بلمرة الدنا DNA Polymerase .
6. بروتين بقري يعمل على تقليل تشويه الحزم ويحسن من تفاعل PCR وانزيم بلمرة الدنا

. Bovin Serum Albumin (BSA)**طريقة العمل :-**

يتم عمل مزيج Mix من المواد السابقة الذكر :-

Reagent	Samples / μ l
H ₂ O	7 μ l
Buffer KCl	1.5 μ l
Mg Cl ₂	2.5 μ l
dNTPs (Deoxynucleotide triphosphates)	1 μ l
F (Forward Primer)	1.2 μ l
R (Reverse Primer)	0.9 μ l
DNA Polymerase	0.2 μ l
BSA	0.2 μ l
DNA	1.8 μ l

يتم ضبط جهاز PCR وفق البرنامج الاتي :-

Steps	Temperature	Time	Goto	Loops
1	94:00	05:00	-	-
2	94:00	01:00	-	-
3	61:00	00:30	-	-
4	72:00	01:00	2	34
5	72:00	05:00	-	-
6	15:00	Pause	-	-

1. دورة واحدة لفصل سلسلتي الدنا لمدة (5 دقائق) بدرجة (94 م°) .
2. 34 دورة تتألف كل منها من :-
3. دقيقة واحدة لفصل سلسلتي الدنا بدرجة (94 م°) Denaturation .
4. 30 ثانية لارتباط البادئ Anneling بدرجة (61 م°) .
5. دقيقة واحدة لاستكمال السلسلة الجديدة Extension بدرجة (72 م°) .
6. دورة واحدة لمدة (5 دقائق) على درجة (72 م°) لاكمال باقي السلاسل .
7. يحفظ الناتج على درجة (4 م°) .

ثم تمرر نواتج التفاعل بهلامه من البولي اكرل امايد لمدة ساعتين بعد اضافة Loading Dye الى الدنا ثم يتم تصوير الهلامه بجهاز حاسوبي ، بعدها تحول نتائج الحزمة التي ظهرت في الهلامه الى جداول توصيف وذلك بوضع (1) عند وجود حزمة و (0) عند غيابها . ثم يتم ادخالها في برنامج حاسوبي مثل Pop Gene لايجاد الشجرة الوراثية .