# חלופה טקסטואלית לאנימציה "יצירת פלסמיד רקומביננטי"

האנימציה ממחישה כיצד ניתן לבודד מקטע DNA רצוי ולהרבות אותו בתהליך הנקרא שיבוט. בהמחשה זו לוקחים שני פלסמידים שונים ויוצרים מהם פלסמיד חדש שאינו קיים בטבע. הפלסמיד משתכפל בחיידקים ונוצר שבט של חיידקים זהים גנטית שבכולם כמות ניכרת של מקטע ה-DNA המבוקש.

הפלסמיד בנוי כמולקולת DNA דו גדילית מעגלית, ומכיל אזור שאחראי על השכפול. בנוסף מכיל הפלסמיד אתרי חיתוך לאנזים ההגבלה EcoRI, גן המקנה עמידות לאנטיביוטיקה אמפיצילין (Amp) ומחדר. מהו המחדר וכיצד הוא התקבל, את זה נגלה בקרוב...

כיצד הגיע המחדר לפלסמיד?

הניסוי מתחיל בהפקת שני סוגי פלסמידים מחיידקים. בסופו של דבר נמצאים בכל מבחנה פלסמידים מסוג שונה. שני הפלסמידים מכילים אזור שכפול ואתרי חיתוך לאנזים ההגבלה EcoRI, אולם הפלסמידים במבחנה א' מכילים גן המקנה עמידות לאנטיביוטיקה טטרציקלין (Tet), והפלסמידים במבחנה ב' מכילים גן המקנה עמידות לאנטיביוטיקה אמפיצילין (Amp).

על מנת ליצור בהמשך פלסמיד רקומביננטי משני הפלסמידים, מוסיפים לכל אחת מהמבחנות תמיסה ובה אנזימי הגבלה מסוג EcoRI. שני סוגי הפלסמידים נחתכים ונוצרים קצוות דביקים. בהמשך חשוב לחמם את המבחנות על מנת שאנזימי ההגבלה לא ימשיכו לחתוך את הפלסמידים שנוצרים מחיבור הקצוות הדביקים.

ועכשיו תורכם – משימה

מקטעי הפלסמידים משתי המבחנות, תוצרי החיתוך של שני הפלסמידים עם אנזים ההגבלה EcoRI, מועברים למבחנה שלישית. מקטעי הפלסמידים הינם בעלי קצוות דביקים ולכן יכולים כל שני מקטעים להתחבר וליצור פלסמיד. במשימה הבאה נבחן צירופים אפשריים ונגלה איזה פלסמיד מתקבל מכל צירוף.

מה מהצרופים הבאים מייצג פלסמיד רקומביננטי?

* פלסמיד בעל עמידות לאנטיביוטיקה Amp.
* פלסמיד בעל עמידות לאנטיביוטיקה Tet.
* פלסמיד בעל עמידות לאנטיביוטיקותAmp ו-Tet.
* פלסמיד ללא עמידות לאנטיביוטיקה.

מקטעי הפלסמידים שהתקבלו נקשרו וקיבלנו פלסמידים רקומביננטים שונים, כפי שראיתם במשימה. על מנת לאפשר קשירה קוולנטית בין הקצוות הדביקים מוסיפים את האנזים DNA ליגאז.

על מנת לבודד את החיידקים המכילים את הפלסמיד הרקומביננטי עם המחדר הרצוי מגדלים את החיידקים במצע גידול סלקטיבי המכיל את האנטיביוטיקות טטרציקלין (Tet) ואמפיצילין (Amp). רק חיידק עם הפלסמיד הרקומביננטי המקנה עמידות לשני סוגי האנטיביוטיקות ישרוד.