

קורס חומצות גרעין, תשע"ד

דר' שירלי דאובה

מיפוי תכנים של הרצאה 5

המיפוי נעשה על ידי מירב דינור בהנחיית פרופ' רון בלונדר

תוכן	זמן
דנ"א סינטטי, דנ"א שמיוצר במבחנה.	1:51-2:15
היכולת לסנתז ולרצף דנ"א הביאו לקפיצה גדולה ביכולת ההבנה של חומצות הגרעין.	3:25-3:40
בשנות ה-2000 כשריצפו את כל הגנום הגיעו להבנה איך תהליכים קורים בתוך התא. עדיין יש חוסר הבנה גדול, כי הרצף לא מספיק.	3:51-4:15
בשביל לרצף היה צורך להבין את הסינתזה של הדנ"א בתוך התא. סגור השתמש בידע כיצד דנ"א פולימראז מסנתז דנ"א בתא, ומה המגבלות שלו, בשביל לקבוע רצף.	4:25-4:50
מה עוצר סינתזה של דנ"א?	4:58-5:00
צריך שבאבני הבניין הנוקליאוטידים תהיה קבוצת OH ב' 3 כדי שהשרשרת תמשיך. סגור הבין שאם ב' 3 לא תהיה קב' OH די דאוקסי- אין קב' OH לא ב' 2 ולא ב' 3, השרשרת תיעצר	5:10-5:44
מה עוד צריך בשביל לסנתז דנ"א? פריימר, ודנ"א פולימראז. הפריימר גם חיוני לשיכפול וגם מגדיר את נקודת ההתחלה. יהיה צורך לבדוק את אורך הקטע שהשתכפל. אם במבחנה ישימו נוקליאוטידים כך ש תמיד בנוקליאוטיד T אין OH אז הוא יגרום לסיום השיכפול. בנוסף צריך את התבנית שעל פיה נקבע הרצף.	6:06-7:26
הסבר + ציור על הלוח- הפריימר מתחיל, והנוקליאוטידים מתווספים ב' T די דאוקסי השיכפול נעצר, ז"א שברצף בתבנית היה מולו A כיום ניתן להשתמש בסמנים פלורוסנטיים	7:26-8:32
אם מפרידים את התגובות השונות, שבכל מבחנה יהיה בסיס שהוא די דאוקסי אחר ניתן לעבוד ב' 4 מבחנות במקביל ואת התוצרים להפריד לפי גודל ולקבל מקטעים. כשמשתמשים בסמנים פלורוסנטיים ניתן לעבוד על הכל באותה המבחנה	8:53-9:40
דוגמא ברורה להפרדה + הסבר	9:50-10:36
באופן כללי קוראים רצף מהנמוכים לגבוהים. הנמוכים הם הקצרים יותר. כשמולקולות נעות בג'ל הן טעונות שלילית, ונעות לעבר האלקטרודה החיובית. המולקולות הקטנות נעות מהר יותר כיון שהן לא נתקלות במחסומים, בחורים של הג'ל.	10:39-11:24
הסבר לגבי תוצאות ההרצה של הג'ל	12:25-12:41
(הסבר על שאלה בתרגיל) הבעיה של שיכפול דנ"א בטבע היא שדנ"א פולימראז צריך פריימר. ולכן אם אנחנו נמצאים עם רצף של דנ"א שלא מוכר לנו, איך נדע מה צריך להיות הפריימר? החיסרון בשיטת סגור שאנחנו חייבים לדעת מקטע מהדנ"א באורך מסוים כדי לייצר פריימר.	13:21-14:21
שיטה שהקדימה את סגור.	14:38-14:44
איזו דרך דומה לשיטת סגור? אבל היא לא דורשת שום שיכפול ושום ידע על הרצף.	15:07-15:21

תוכן	זמן
אנחנו רוצים לדעת את הרצף של מקטע מסוים בלי לעשות שיכול.	15:30-15:48
אפשר לחתוך במקום מסויים ולדעת באיזה בסיס חותכים.	15:57-16:00
השיטה שקדמה לסנגר מקסם וגילברט, מבוססת על ריאגנט.	16:29-16:40
הם ראו שיש ריאגנטים כימיים (מולקולות קטנות) שמגיבות עם הדנ"א אבל בצורה ספציפית. יש ריאגנטים עבר כל בסיס. במבחנה ששמו ריאגנט שמגיב עם T התקבלו מקטעי דנ"א שמסתיימים ב T וכו'. בשיטה זו אין צורך בפריימר. כך התחיל להתקבל מידע על הרצף.	16:55-17:50
בשיטת מקסם וגילברט אין צורך בידע מוקדם. צריך לקחת מקטע עם קצה ולסמן את הקצה. סימנו אותו בצורה רדיואקטיבית ואז כל המקטעים מתחילים באותה הנקודה המסומנת.	17:59-18:39
בעיה- אם בשרשרת יש A פעמיים היא כל פעם תיקטע אחרי ה A הראשון ולעולם לא נצליח להגיע ל A הבא בתור. הבעיה משותפת לכל השיטות.	19:05-20:00
תמיד צריכים להיות במצב שהריאגנט נמצא בחוסר. ז"א הרבה דנ"א ומעט ריאגנט. ואז מבחינה הסתברותית כל מולקולה נפגשת עם הריאגנט פעם אחת. יש הרבה מאוד מולקולות ולכן מולקולה אחת תיחתך ב A הראשון והשניה ב A השני.	20:06-21:01
בשיטת סנגר משתמשים באותו פיתרון לבעיה.	21:09-21:40
קיבעת רצפים במעבדה- לפעמים באנליזה לא יודעים אם ברצף היה A או C כי משופ מה הרצף נעצר למרות שאין שם C. יש השפעה של הרצף על התגובות, אבל זה לא מאוד משמעותי. איך ניתן לדעת האם הרצף הוא זה שמשפיע או שיש בעיה אחרת יותר משמעותית? איך ניתן לאשרר את הרצף שקיבלנו?	24:14-25:40
ניתן לעשות ריצוף של הגדיל המשלים, אנחנו אמורים לקבל את אותה האינפורמציה אבל הפוך.	25:47-26:14
פרויקט הגנום- לקח 10 שנים. היום עם השיטות המתקדמות אפשר לעשות בחודש, את כל הגנום האנושי. השיטה של סנגר טובה למיפוי מקטעים קטנים. כאשר רוצים למפות מיליארדי בסיסים צריך לחלק למקטעים קטנים, ולקבוע את הרצף של כל מקטע, ולעשות הצלבה של המידע ע"י מקטעים שחופפים בכמה בסיסים.	27:09-27:55
ביואינפורמטיקה- המחשב מוצא את החפיפות בין המקטעים שקבענו את הרצף שלהם.	27:55-28:21
ברב המקרים הרצף נקבע בשיטת סנגר.	28:38-29:18
אנחנו מכניסים למבחנה דנ"א דו גדילי, אבל הגדילים חייבים להיפרד.	29:39-29:48
בשיטת סנגר, דנ"א פולימראז מתחבר לפריימר במקום הגדיל המשלים שהיה שם.	29:54-30:02
סנגר לקח את העקרונות של תיפקוד דנ"א בתא והשליך אותם על דנ"א סינטטי. אנחנו מסנתזים בעזרת אינזימים שקיימים בתא. אנחנו מכתיבים לאנזימים מה לעשות.	31:16-31:51
הנדסה גנטית וביוולוגיה מולקולארית מתבססים על העובדה שקודם לומדים כיצד זה מתרחש בתא. כמו שבנאים משתמשים בפטיש ובלוקים, כך ביולוגים משתמשים באנזימים ובונים מדנ"א כל מיני דברים.	32:09-32:54
בשביל סינתזה של דנ"א, דנ"א פולימראז צריך תבנית, הוא לא ודע	33:35-34:41

תוכן	זמן
ליצור מאפס. הוא חייב שתהיה לו חתיכת פריימר, אליה הוא מוסיף את הנוקליאוטידים. פריימר- מקטע דנ"א קטן, חד גדילי. בזמן השיכום הפריימר הוא רנ"א וזה אח"כ מוחלף בדנ"א. היום אנחנו רוצים להיות מסוגלים לקבוע רצף לכל גן, היינו רוצים להיות מסוגלים לעשות רצפים חד גדיליים לכל רצף.	
הדבר ששינה את כל מדע הביולוגיה והרפואה – החוקר מוליס- הוא פיתח את שיטת PCR והיום עושים הכל בשיטה הזאת. מוליס הבין שאם במבחנה ניתן לסנתז דנ"א ע"י פריימר טמפלט ונוקאוטידים, למה לא לעשות את זה לשני הכיוונים ולייצר דנ"א דו גדילי? על אותו מקטע דנ"א אפשר לעשות סינתזה מספר פעמים, בכל פעם על אותו פריימר יקשר אינזים ויארך את השרשרת.	36:05-37:35
חזרה מפורטת- זו שיטה שמשתמשים בה כשרוצים לסנתז מקטע דנ"א בהרבה עותקים. לוקחים חיידק, שוברים את מעטפת החיידק, הדנ"א יוצא החוצה. וכעת רוצים להגביר, לעשות סינתזה סמפר פעמים של איזור מסויים בלבד. נבחר 2 פריימרים שתוחמים את האיזור. פריימר אחד יהיה 5 ל 3 על גגדיל שהוא 3 ל 5 ופריימר שני על הגדיל השני וגם הוא יהיה 5 ל 3 על גגדיל שהוא 3 ל 5 בכיוון השני (גדיל משלים) זה מחקה את התהליך שקורה בזמן השיכפול בכרומוזום.	37:38-38:52
החיסרון הוא שחייבים ידע על הרצף, ברגע שיודעים רצף מסויים ניתן "ללכת על הכרומוזום" להמשיך את המקטע הידוע, וכך הלאה. כל פריימר נקשר לגדיל אחר וזה מה שמגדיר את המקטע.. אנחנו עושים את התהליך בסיבובים. קודם כל צריך להפריד את הגדילים.	38:58-40:19
מוליס הבין שאפשר להפריד את הגדילים בחום. הוא חימם פרימרים והפריימרים התארכו ע"י האנזימים. קבלו מקטע דו גדילי כשגדיל אחד הוא מקורי והשני חדש.	40:44-41:14
ממולקולה אחץ קבלנו שתיים שכל אחת מורכבת מגדיל מקורי וגדיל חדש.	41:14-41:26
המטרה של מוליס היתה להגביר- ז"א לייצר עוד מולקולות בהתחלה מוליס חימם והוסיף אינזים פריימר ונוקליאוטידים. בשלב השני הוא חימם כדי לפתוח את הגדילים ואז היה צריך להוסיף עוד אינזים (החום הורס את האינזים)	41:35-41:52
דנ"א מפרידים בטמפ' של 60 , אין אינזימים שעמידים בטמפ' הזו.	:01-42:2442
מוליס כל הזמן הוסיף אינזים, הגדיל החדש הפך לחד גדיל ואליו נקשר הפריימר. כיון שהגדיל החדש הוא בעל אותו הרצף של הגדיל המקורי המשלים	42:28-42:36
בסיבוב השלישי מתקבלים מקטעים שתחומים בשני הפריימרים. מהסיבוב השלישי והלאה בד"כ 20/30 סיבובים מתקבלים מקטעים מוגדרים על פי קביעה מראש. והמולקולות מ 2 הסיבובים הראשונים נמהלות ולא משפיעות הפריימרים נבחרו על פי ההחלטה מהו הרצף הרצוי.	42:43-43:07
מה צריך לעשות כדי שהפריימרים יתחברו? אנחנו נמצאים בזוית של 90°	43:25-44:04
צריך להוריד את הטמפ'	44:21-44:29
	44:31-44:32

תוכן	זמן
הדבר היחיד שאנחנו מוסיפים הוא דנ"א פולימראז, שזהו האינזים שמסנתז דנ"א.	44:53-45:00
בסיבובים הראשון והשני מתקבלים עודפים. מקבלים את כל הרצף שהדנ"א פולימראז מסה=נתז עד שהוא נופל, תלוי בפרוססיביות שלו.	45:27-45:36
ככל שהדנ"א פולימראז יהיה פרוססיבי יותר ניתן יהיה לסנתז מקטעים ארוכים יותר.	45:54-46:19
בשיטת סגור מנסים למצוא דנ"א פולימראז יותר פרוס סיביים או שעוזרים להם להגדיל את הפרוססיביות שלהם.	47:26-48:32
המעגל האינזימטי- נקשר סובסטרט יוצא תוצר. הפרוס סיביות מתייחסת לאורך הוצר לתגובה אחת, מה יהיה האורך לפני שהאינזים נפל. האינזים יכול לחזור ולהקשר, ולסנתז עוד פעם. בהגדרה אינזים יכול לעשות יותר ממעגל קטליטי אחד. פרוס סיביות אופיינית לתגובת פילמור. לרוב האנזימים הגדרת הפרוס סיביות אינה משמעותית כי הם מקטלזים יצירה של קשר אחד.	48:50-49:21
הרבה פעמים משתמשים בדנ"א פולימראז שעבר "טיפול" להיות יעיל יותר.	50:07-50:50
השאלה היא מה רוצים, איזה דרישות נוספות נדרשות מהדנ"א פולימראז.	50:07-50:50
הסבר נוסף על התהליך- כתשובה על השאלה כיצד המקטע תחום מהסיבוב השלישי?	51:01-51:05
לא חייבים להתחיל מהקצה של הכרומוזום. הפריימרים יוצרים קצוות.	51:38-51:55
הפריימר בהגדרה, הוא רצף שמשלים לרצף שאותו רוצים לקבוע. הוא יהיה אנטי פראללי, הפוך בכיוון 5 ל 3 כשהכיוון הוא 3 ל 5.	52:13-53:06
פרמטרים שחשובים שיהיו- ריכוז הפריימרים יקבע עד כמה התהליך יהיה יעיל. ככל שריכוז הפריימרים גבוה יותר גדלה ההסתברות שדוקא הפריימרים הם אלו שיתחברו גדילים בקירור. הריכוז שלהם צריך להיות בערך מיקרומולר. בעוד שריכוז הדנ"א הוא בננומולר.	53:10-53:13
אף פעם לא מנצלים את כל הפריימרים.	53:23-53:29
אם כל הפריימרים יתארכו נקבל מיקרו מולר של דנ"א. מכל 2 פריימרים מתקבלת מולקולת דנ"א דו גדילית חדשה.	53:37-54:14
הקצב של הדנ"א פולימראזות – מאוד נוקליאוטידים בשניה. הסיבוב הראשון כולל חימום, קירור וסינתזה, ושוב אותו דבר. (ניתן לראות על הלוח מה קורה בכל סיבוב)	54:56-55:19
היום יודעים לעשות החלפות של מקטעים הגנום. צריך לדאוג שלא יהיו טעויות, שהדנ"א יכנס רק לתאים הרצויים. וכשהדנ"א נכנס שלא יעשה בעיות במקומות אחרים.	55:27-55:54
הבעיה של מוליס היתה שכל פעם היה צריך להוסיף אינזים חדש. הקפיצה בטכנולוגיה היתה כשגילו שיש דנ"א פולימראזות שעמידות לחום.	55:58-57:10
ניתן לחפש אינזימים כאלו במעיינות חמים, גייזרים. חיידקים יש בכל מקום. יש חיידקים שעמידים לכל דבר גם לחום, והחלבונים שלהם לא עוברים דנטורציה בחום.	
לדנ"א פולימראזות הראשונים מסוג זה קראו טק הפיקו את ה"טק" ממעיינות חמים.	

תוכן	זמן
היום זו תעשייה שלמה של דנ"א פולימראזות שעמידים לחום ויש להם פרוסטיביות גבוהה.	
אם הדנ"א הוא כדי להכין חלבון, חייבים לדאוג שלא יהיו טעויות. ברוב המקרים יש לפולימראזות האלו אקסונוקלאז, כדי שיוכל לתקן טעויות אם יקרו. כיון שאנחנו משכפלים הרבה עותקים, ללא מנגנון תיקון עלולות להיות הרבה טעויות	57:12-58:07
אבולוציה מואצת- משתמשים בשיטה זו כאשר מאפשרים לטעויות אקראיות להתרחש, כדי לחקור אבולוציה. במקרה זה הכל קורה באופן מואץ	58:12-58:46
פקטור נוסף שמשפיע אם רוצים דנ"א מדויק- הדנ"א פולימראז צריך אקסונוקלאז. אם רוצים להשרות מוטציות לא נוסף אותו.	58:56-59:13
בכל סיבוב מחממים לדנטורציה, ואז מקררים כדי ששני גדילים מקבילים יתחברו. ואח"כ מחממים ל 70° שזו הטמפ' האופיינית לפולימראזות מסוג "טק".	59:21-1:00:16
90° 50° 70° בכל סיבוב. ניתן לשחק עם טמפ' של 50°	1:00:33-1:00:40
הפריימר מגדיר את הטמפ' הנמוכה, פריימרים שונים דורשים טמפ' שונות. אנחנו רוצים שבנק' זו הגדילים יתחברו. מה מגדיר Tm ?	1:00:45-1:01:11
הטמפ' שבה 50% מהמולקולות דו גדיליות ו 50% פתוחות. כדי לקבל לפחות 50% מחוברות נהיה באיזור של הטמפ' הזו.	1:01:16-1:01:34
נק' נוספת כיצד לבחור פריימר- הפריימר נבחר על מנת להיקשר במקום ספציפי אחד. אנחנו לא רוצים פריימר שיכול להיקשר בכמה מקומות כי אז נקבל מקטעים הטרוגנים. אנחנו צריכים פריימר מספיק ארוך כדי שההסתברות שהוא יתחבר למקומות אחרים תהיה נמוכה.	1:01:50-1:02:25
פעם רצו לקחת גנים מכל מיני כרומוזומים ולהפיק מהם את האנזימים. היום עם PCR ניתן להגביר הרבה מקטעים בו זמנית כך שאחד משמש כפריימר לשני. לוקחים הרבה מקטעים שקצת חופפים.	1:02:33-1:03:13
הרעיון הוא שכל מקטע דנ"א שיש לו קצה 3' יכול להיות פריימר. אין משהו מיוחד בפריימר. דנ"א פולימראז יודע למצוא קצה 3' שמתאים לתבנית. ניתן בצורה כזאת לסנתז גנים מאוד גדולים אפילו כרומוזומים – PCR מוגבל לכמה אלפי בסיסים	1:03:19-1:04:15
קריג וונטר- ריצף את הגנום באופן פרטי והוא המשיך וייצר כרומוזום שכולו סינטטי. הוא השתמש בתא שמרים, הוציא לו את הכרומוזום והכניס לתוכו כרומוזום סינטטי לחלוטין, בשיטה של מקטעים חופפים שהתחברו.	1:04:15-1:05:29
דבר ראשון- הוא הראה מה הגנום המינימלי שצריך כדי שתא יתקיים. איזה מינימום צריך כדי שתא מתקיים- כ 130 בסיסים.	1:06:56-1:07:16
PCR במדע הפורנזי- ע"י פריימרים ניתן להפיק דנ"א מאנשים שונים. רצפים שקצת שונים מאדם לאדם. ואז ניתן לשייך רקמה מסוימת לאדם מסוים.	1:07:26-1:07:56
הרצף שלנו דומה, אבל השינויים הקטנים מספיקים. הפריימרים יכוונו דווקא לשם. לפעמים פריימר יכול להתחבר חלקית רק לחלק מהרצף.	1:08:00-1:08:43

תוכן	זמן
העלאת הטמפ' תגרום להתחברות רק כאשר זה מושלם. כיון שה Tm להתחברות לא מלאה הוא נמוך יותר. לכן עובדים ב Tm גבוהים יחסית	1:08:45-1:09:07
שימוש בפולימר אז בעל אקסו, יאפשר תיקונים ואז השיכפול יהיה נטול טעויות.	1:09:26-1:09:45
הרצף קובע את טמפ' ה Tm	1:10:25-1:10:35
אם הקצה 3' לא מתחבר אז גם אם כל הפריימר יתחבר וטמפ' ההתכה מתאימה. אין חיבור בקצה והתהליך לא יתרחש.	1:10:48-1:11:13
אם אין לו דרך לתקן את הטעות אז התהליך לא יתרחש.	1:11:30-1:11:38
היום בדיקות גנטיות תפקידם לגלות מוטציות נקודתיות. מתכנים פריימר שהנוקליאוטיד האחרון הוא במקום שידועים ששם יש מוטציה. אם אין תוצר PCR כי בדיוק בנק' 3' הפריימר לא מתאים לתבנית, לא נקבל מקטע.	1:11:38-1:12:37
היום משתמשים ב PCR לכמת את הרנ"א. ניתן תוך כדי PCR לקשור למולקולות דו גדיליות מולקולות פלורוסנטיות. בכל סיבוב נוצרים עוד מקטעים דו גדיליים והפלורסנציה עולה. ניתן מתוך זה לדעת כמה טמפלט היה. זו שיטה לזהות גם כמויות קטנות של דנ"א ורנ"א	1:12:42-1:14:09
אנחנו יודעים לחשב בכמות מסויימת של סיבובים כמה דנ"א אמור להתקבל, מכמה טמפלט.	1:14:12-1:14:24
הבעיה של PCR היא הצורך בפריימרים. מאיפה מגיעים הפריימרים? מסנתזים אותם כימית.	1:14:49-1:15:05
המון נוקליאוטידים הם אבני בניין שמכילות המון קבוצות פונקציונליות. הסוד לסינתזה הכימית של הדנ"א הן קבוצות ההגנה. מתחילים עם קבוצת הגנה על 5' DMT	1:15:20-1:15:51
מסנתזים דנ"א ע"י סינתזה כימית, ע"י סיבובים, כל פעם מוסיפים עוד אבן בניין והשרשרת מתארכת. באותה הצורה שהאינזים עושה את זה. הבדלים בין סינתזה אינזימטית לכימית: 1. כיוון הסינתזה- דנ"א פולימראז מאריך את הפריימר מ 5 ל 3. סינתזה כימית מתרחשת בכיוון ההפוך. 2. האינזים הוא ספציפי. הוא מזהה 3' ויודע בדיוק לאן צריך להיקשר. בריאקציה כימית אין ספציפיות. יש קבוצות נוספות שעלולות להגיב, וצריך לדאוג לכך שזה לא יקרה. מתחילים עם מולקולות שמכילות קבוצות הגנה, ואח"כ יש תהליך של חימצון, תגובה עם אמוניה. השלבים גורמים לכך שהשרשרת תתארך כל פעם בנוקליאוטיד אחד. בגלל כל השלבים הכימיים, לפעמים הדברים לא מתפקדים ביעילות המירבית..	1:16:03-1:18:08
ככל שהפריימר שמסונתז ארוך יותר, הניצול תקטן. ונוצרים גם פריימרים קצרים בבסיס 1 2 3. ההסתברות לכך הולכת ועולה ככל שהפריימר יותר ארוך.	1:18:13-1:18:32
היעילות שווה ליעילות בהארכת בסיס אחד כפול מספר הבסיסים שצריך להאריך כך שסה"כ היעילות יורדת	1:18:47-1:19:34
ע"פ דרישה של הביולוגיה והטכנולוגיה, היום הסינתזה הכימית עובדת ביעילות של 99% ניתן להזמין ע"פ רצף בלבד עד 150 נוקלאוטידים.	1:20:10-1:20:54

תוכן	זמן
ככל שהפריימר ארוך יותר, גדלים הסיכויים לקבל מולקולות קצרות יותר. לא בכל סיבוב כל המולקולות התארכו ב 1.	1:20:54-1:21:08
סיבות נוספות לצורך בדנ"א סינטטי- הפריימרים משמשים להתחלת סינתזת הדנ"א אבל זה לא חייב לשמש לזה בלבד, ניתן להסתכל על זה כדנ"א חד גדילי.	1:21:21-1:21:57
שימוש נרחב- השתקה של גנים- גן מסוים יצא משליטה, הוא מתבטא יותר מדי ויוצר בעיה. ניתן להשתיק אותו ע"י הכנסת גדיל דנ"א שמשלים לגדיל רנ"א. דבר זה יכול לעכב ריבוזומים ויכול לגרום לחיתוך של הרנ"א. יש היום הרבה מנגנונים בתא שיודעים להשמיד רנ"א שנמצא בצורה של דו גדיל.	1:21:57-1:23:52
תאים חיים בד"כ חותכים דנ"א כשהוא חד גדיל (כי בד"כ הוא שייך לחיידקים) התפתחה תעשייה של דנ"א שיכול להיקשר לרנ"א אבל הוא לא לגמרי נראה כמו דנ"א ולכן מצליח להתחמק מנוקלאזות ולא להיחתך.	1:24:00-1:24:56
חלק מהשימושים- להעלות את היציבות של דנ"א-רנ"א LNA- דנ"א שבו O על ה 2' מחובר ל 4', טבעת הריבז לא יכולה להשתנות והדו גדיל שנוצר יותר יציב.	1:25:04-1:25:40
דנ"א – חומצת גרעין, השלד שלה כמו חלבון, מחוברים אליה בסיסים. השרשרת לא טעונה, וזה מעלה את יציבות הדופלקס, ומוריד את המסיסות. מורפולינו- קבוצת אמין על הפוספט, זה מאוד יציב. נוקלאזות לא מזהות את המבנה, ועדיין זה יכול ליצור דו גדיל.	1:25:54-1:27:06
מולקולות שהם אוליגונוקלאוטידים. הם אמורים להיכנס לתא, להיקשר לרנ"א, ליצור גדיל. המודיפיקציות הכימיות משמשות כדי להגדיל את היציבות	1:27:15-1:27:38
בחברות שמסנתזות דנ"א ניתן לבחור את הרצף וגם את השלד הרצוי.	1:27:51-1:27:57
היום משתמשים בתעשייה כדי ללמוד על כל מיני דברים. יש ציפים ששמים עליהם דנ"א למשל לזיהוי רצפים.. יוצרים מערך שבכל מקום יש פריימר עם רצף מסוים, עליו שמים דנ"א עם רצף לא ידוע.	1:30:08-1:30:43
למקום שאליו הוא יתחבר בו נדע שיש התאמה ברצף. איך מחברים את הפריימר למשטח? דרך הקצה, כדי שהפריימר יגיב עם הדנ"א שמשלים. התפתחה תעשייה של מודיפיקציות כימיות בקצוות הדנ"א.	1:30:45-1:31:35
קבוצות תיול SH יש להם קשר מאוד חזק לאטומי זהב. כיום צריך להגדיר את הרצף, את השלד, ואיזה קב' יהיו ב 5' או ב 3'	1:31:42-1:32:06
יש כל מיני קבוצות שיכולות להתחבר בקצוות, לכל אחת שימוש אחר.	1:32:42-1:32:57
היום ניתן להזמין דנ"א סינטטי שמתאים בדיוק לאפליקציה הדרושה (כמו חליפה אצל החייט)	1:33:28-1:33:42