

## קורס חומצות גרעין, תשע"ד

דר' שירלי דאובה

### מיפוי תכנים של הרצאה 6

המיפוי נשעה על ידי מירב דינור בהנחיית פרופ' רון בלונדר

תוכן	זמן
חלבונים שנקשרים לדנ"א. הפרדה לפי פונקציונליות. יש חלבונים שנקשרים לדנ"א אבל לא עושים לו שינוי כימי-חלבונים שקשורים לביטוי- קוריאם דנ"א יש חלבונים שנקשרים לדנ"א ועושים שינוי כימי. לדוג' חיתוך, הוספת קבוצות כימיות ... חלבונים אלו הם אינזימים	1:15-2:08
חלבונים שמיועדים לאפשר ביטוי של גנים. מה זה אומר?	2:14-2:24
הגנום ברובו הוא לא גנים, יש הרבה איזורים בין הגנים. הגנים הם חלק מאוד קטן ממנו. ביטוי של הגנים ז"א איזור מסוים משועתק לרנ"א. לא כל הגנים משועתקים באותה המידה. כמות שיעתוק הגן פרופורציונית לכמות החלבון שנקבל ממנו.	2:38-3:32
ישנם גנים מושתקים, שלא באים בכלל לידי ביטוי. התופעה הזאת מאפשרת לתאים שונים בגף להיות בעלי פונקציונליות שונה. לדוג' תא נוירון ותא ליפוציט- נראים שונה מאוד זה מזה. אבל הדנ"א בתוכם זהה. פשוט הביטוי של הגנים שונה בין התאים.	3:32-4:59
אפקט אימה- חלבונים שקיימים בציטופלסמה, גנום מיטוכונדריאלי, ז"א הגנום הוא לא היחיד שמכתיב. בהפרייה, מהזרע מגיעים רק גנים, ומהביצית מגיעים גם חלבונים שהיו בציטופלסמה.	5:54-6:19
באנליזה ארכיאולוגית- כשמוצאים ממצא ניתן להגיד דברים רק אם זו אישה, כי זה נעשה לפי דנ"א מיטוכונדריאלי, יש דנ"א במיטוכונדריה. יש הרבה מחלות שהן בגלל מוטציות בדנ"א מיטוכונדריאלי. דנ"א מיטוכונדריאלי עובר רק מהנשים.	7:06-7:55
הוא לא עובר ריקומבינציה, כי הוא לא מתחבר עם גנום זיכרי, הוא יותר נשמר ולכן יכול לעבור מבחינה אבולוציונית	7:78-8:29
שיטות מודרניות- פעם בשביל לדעת איזה רנ"א יש בתאים השתמשו בשיטות מאוד טרחניות. להפיק מהתאים, להפריד בג'ל... היום עושים הכל עם צ'יפים- כשרוצים לסרוק הרבה תאים. הצ'יפ מכיל הרבה אוליגונוקלאוטידים	9:27-1:33
לכל אוליגו יש רצף. שמים ספוטים כשלכל אחד מהם יש רצף אחר. לוקחים את הדוגמא המופקת מהתא שמים עם הצ'יפ, ורואים איפה היתה היברידיזציה, לאן הרנ"א התחבר. כי רנ"א ודנ"א מתחברים.	10:38-11:06
צ'יפ אחד מכיל מערך של ספוטים	11:11-11:16
כל ספוט זה הרבה מולקולות של אותו הרצף	11:32-11:38
החוקר או החברה בונים את הספוט	11:42-11:46
זו שיטה מודרנית לרצף, אם יש המון אפשרויות. בשביל שתהיה היברידיזציה יציבה קישור יציב בין רנ"א לדנ"א צריך בסביבות 20 נוקלאוטידים ומעלה.	12:11-12:46
איפה שיש קישור נדלק אור ניתן לראות שבתאים שונים נדלקו מקומות שונים, כיון שהרנ"א לא זהה.	13:02-13:37

תוכן	זמן
כל עמודה זה תא. בתאים שעברו התמיינות לא כל הרנ"א יהיו זהים. לתאים אחרים ברמת הדנ"א יש זהות, וברמת הרנ"א שונות גדולה.	13:53-14:14
צריכה להיות בקרה ברמת השיעתוק, ברמה שבה נוצר רנ"א.. לגנים אין כיווניות יכולים להיות גנים על הגדיל העליון מ 5 ל 3 ובאותו מקטע בדיוק גם על הגדיל המשלים. הגדילים הפוכים זה מזה ב $180^\circ$ ולכן זה מסתדר. בחלבון שמשעתק צריכה להיות אסימטריה, כי בכ"ז יש כיווניות. כיווניות השיעתוק היא כמו של סינתזת דנ"א. היכווניות היא 5 ל 3 אבל שני הגדילים יכולים לשמש כתבנית, תלוי בחלבון.	14:20-16:35
זה לש שיש גדיל אחד שהוא תמיד התבנית, שני הגדילים יכולים להיות, תלוי בכיווניות	17:04-17:19
מה קובע את הכיווניות? איך החלבון שצריך להיקשר לדנ"א ידע איפה ההתחלה של הגן? הוא צריך להיות מסוגל לזהות רצף. הקוד הגנטי הוא כל שלשה של נוקליאוטידים לאיזו חומצה אמינית הוא מתאים, ובנוסף זה גם הוראות ההפעלה "שכתובות" בדנ"א עבור החלבונים.	17:34-17:52
מתוך הדנ"א 95% לא מקודד לחלבון אלא למשהו אחר. חלק מקודד למיקום איפה להיקשר לדנ"א	17:52-19:11
לאזור שמקודד להתחלה של הגן קוראים "פרומוטור"	19:11-19:25
האינזים שצריך לסנתז רנ"א, רנ"א פולימראז צריך לזהות רצפים מסויימים, שהם ההתחלה של הגן. צריכה להיות ספציפיות, הוא צריך לזהות רצף אליו הוא נקשר, ורצף אליו הוא לא נקשר.	20:23-21:03
ההקשרות משמעותה הוא התאמה כימית בין האינזים לדנ"א. נוצרת מעין מולקולה חדשה. אם המולקולה יציבה האינזים ישאר על הדנ"א.	21:03-21:35
הרצף שמזהים כפרומוטור לא זהה בכל הפרומוטורים.	21:35-21:48
יש שינויים קטנים בין הפרומוטורים ז"א שלאינזים שנקשר יש גמישות מסוימת מבחינת הקישוריות ויש לכך סיבה.	21:50-22:17
יש שני סממנים שמזהים פרומוטור- שני מקבצי רצפים 1. נמצא ב 10 - - 10 נוקלאוטידים לפני הנוקליאוטיד שממנו יתחיל הרנ"א. נק' ההתחלה נקראת +1 -10 הוא אמצע הרצף TATAAT	22:23-23:01
רצף נוסף 35- רצף שפחות ברור מהו. אין בו משהו מיוחד, אבל בשביל האינזים הוא מיוחד.	23:27-23:46
איך האינזים בפועל יזהה את הרצף? האם הוא חייב לפתוח את הגדילים בשביל לזהות?	23:50-24:03
הרצף משפיע על המבנה המרחבי של הדנ"א, גם כשהגדילים לא פתוחים. החלבון לכן יודע לזהות את הרצף גם בלי שהגדילים נפתחים. החלבון סורק את הדנ"א כאשר הגדילים מחוברים. מחקר- איך חלבון מוצא את הרצף בדנ"א? הוא צריך לסרוק. אבל יש המון רצפים לסרוק אז איך הוא מוצא בכ"ז בזמן סביר?	24:24-25:34
האינזים נקשר לקומבינציה הזאת, רצף ב 10- ורצף ב 35- ברגע שהוא נקשר, כבר לא משנה לו איזה רצף הוא משעתק.	26:12-26:46
לכל גן יש את הפרומוטור שלו, אבל יכול להיות אותו פרומוטור לכמה גנים. (בשקף) הגרף מראה מה ההסתברות לנוקליאוטיד מסוים בעמדה מסוימת.	27:31-28:15

תוכן	זמן
כדי להכיר גנים היה צורך בנק' התחלה. ואז הסתכלו אחורה בדנ"א והתחילו לראות דמיון. ומכאן זו עבודה של ביואינפורמטיקה, למצוא סממנים שחוזרים על עצמם.	28:55-29:22
יש הסתברות גבוהה שבעמדה 13- יהיה . לפעמים יהיה פרומוטור שבעמדה הזאת יש לו G . אם יש שינוי גדול בהרבה בסיסים אז הוא כבר לא יהיה פרומוטור.	29:27-29:52
זו צריכה להיות קומבינציה של הרבה נוקליאוטידים שבהסתברות גבוהה נמצאים בזמן הנכון במקום הנכון. אם יש אחד מהנוקליאוטידים ששונה, אפשר לספוג את זה, אבל יהיו לכך השלכות. הרצף הספציפי נועד לאפשר קישור חזק. אם יש שינוי ז"א שיהיה פרומוטור חלש יותר.. חוזק הקישור משמעותו כמה זמן ובאיזה תכיפות האינזים נקשר לדנ"א.	30:00-31:07
(הסבר על הגרף בשקף) יש מרווח שלך נוקליאוטידים הרצף לא משנה, המרווח צריך להיות קיים. אם יש מקטע דנ"א תוכנת מחשב יכולה לסרוק אותו ולבדוק אם יש משהו שדומה לפרומוטור.	31:53-32:27
לקחו רצפים שהם פרומוטור, וכך בנו את הגרף של "הסיכויים" איזה בסיס לראות באיזה מקום.	33:06-33:35
שאלה מהקהל- האם יכול להיות שהאינזים יטעה בזיהוי הפרומוטור וישעתק רצף שהוא לא גן?	34:10-34:21
תשובה- זה לא שורד את האבולוציה. יש עוד קידודים, יש חלבונים נוספים שיכולים להפריע / לעזור, והם נקשרים לרצפים ליד. הקוד הוא מורכב מאוד, הפרומוטור הוא נק' ההתחלה, מאיפה יתחיל השיעתוק.	34:21-34:59
בחיידק e-coli יש לו רנ"א פולימראז 1. אחד המונומרים שבונה אותו משתתף ומשמש כמו יחידה שעושה בקרה.	35:43-36:13
הרכב הרווח לא חשוב, נקבל 25% סיכוי לכולם +דוגמא.	36:21-36:52
דנ"א כמו צילינדר, החלבון לא נוגע בבסיסים באמצע רק בצידי הפרומוטור. הרווח חשוב כיון שחלבון יש גודל פיזי מסוים.	37:12-37:47
איך נעשה קישור עם הבסיסים אם הגדילים לא פתוחים?	37:53-38:00
זה מסוגל לקרוא בסיסים כיון שיש חומצות אמינו על החלבון שנכנסות לתוך הגרוב של הדנ"א	38:36-38:45
האינזים עושה מעגל של שיעתוק. החלבון מגיע ומחפש על הדנ"א עד שהוא מגיע לרצף שהוא מזהה, ונקשר אליו באפיניות גבוהה. עכשיו יש חשיבות לרצף TATA	38:55-39:46
יורת קל שם לפתוח את הגדילים כיון שיש שם רק 2 קשרי מימן במקום 3 ז"א שהאינזים צריך להשקיע פחות אנרגיה כדי לפרום את הדנ"א. בהתחלה הזיהוי הוא ללא צורך בפתיחת הדנ"א אבל אח"כ יש צורך לפתוח אותו.	39:50-40:22
שאלה מהקהל- איך האינזים מזהה את רצף ה TATA?	40:35-40:38
תשובה- כמו זיהוי של 2 מולקולות כימיות, אוסף של כל קשרי המימן ו.ו.ד.ו. אם הכל נמצא במרחב בזמן המתאים יהיה קישור. צריכה להיות ירידה באנרגיה החופשית כשנוצר קומפלקס, וזה לא קשרים קוולנטיים.	40:41-41:15
מתחילה פרימה, מחקר של עשרות שנים של המנגנון- כל צעד שהאינזים עושה חובה שיהיה קישור אבל לא קישור חזק מדי כדי	41:19-42:17

תוכן	זמן
שיאפשר התקדמות. מולקולה היא דינמית, היא כל הזמן רוצה להקשר ולהתקדם את הכיוונית נותנת היכולת להקשר גם אל הבסיס הבא בתור.	
ההידרוליזה של הנוקליאוטיד גורמת לכיוונית של התהליך. בביולוגיה כדי לשבור סימטריה חייבים להשקיע אנרגיה. ואכן כאן מושקעת אנרגיה והתהליך הוא כיווני. העת השיעתוק- פרימה של הגדילים במקום מסוים- הבועה מתקדמת ביחד עם האינזים ומתחיל סינתוז של רנ"א	42:36-43:36
מיוצר הגדיל מ 3 ל 5 יש שני גדילים הרצף של הרנ"א והמשלים שלו.	43:44-44:16
(ציור מדויק של התהליך על הלוח) לפי מוסכמה כותבים את הרצף של הגדיל העליון, אבל האינזים מזהה את שני הגדילים.	44:42-45:14
האינזים מתאים בגודלו למרווח $10 \times 3.4^A$	45:21-45:46
המחקר של המנגנון הספציפי הזה- מחקר של עשרות שנים ועשרות אלפי אנשים. יש המון אפשרויות של מחקר בנושא.	45:58-46:33
הרנ"א שנוצר זהה לרצף אחד ומשלים לרצף השני. הרנ"א נוצר ברצף של 5 ל 3. הרצף של רנ"א הוא זהה לרצף מהדנ"א שנקרא sence האינזים קורא את הגדיל התחתון ומתאים כמו בדנ"א. ההבדל היחיד הוא שברנ"א במקום T יש U	46:57-48:01
פירוט של אפשרויות ההתאמה בין הבסיסים.	48:01-48:10
החיבור של הבסיסים מתבצע בדיוק כמו בדנ"א כשיש OH בקצה ה'3 שתוקף את $P^a$ ה OH על ה'2 לא משתתף בתהליך הסינתזה	48:30-49:01
חשיבות המחקר- לדוג' היה חוסר הסכמה על אורך הבועה 8 / 12 בסיסים.. זה נראה מאוד שולי אבל כחלק מהפאזל של הבנת המנגנון והבנת ההתנהגות שלנו יש לזה חשיבות.	49:01-50:27
השאלה היא מה שומר את החלק בדנ"א פתוח? יש חלק באינזים שתפקידו לפרום מקדימה ולסגור מאחורה. הסגיר היא שאיפה טבעית של הדנ"א לחזור למצב הקודם. מאזן של קשרי מימן בין דנ"א לרנ"א	50:27-51:10
לדוג' יש אנטיביוטיקה רפאמצין, האנטיביוטיקה נקשרת לאינזים במקום שבו השרשרת צריכה להתחיל לגדול אליה. האנטיביוטיקה יושבת בתוך התעלה שבה אמור לגדול הרנ"א. לכן האנטיביוטיקה משתקת את רנ"א פולימראז של החיידק ואינה משתקת את רנ"א פולימראז של הגוף שלנו כיון שיש לה מבנה שונה. החיידק מת כי אין לו אפשרות לייצר חלבונים	51:28-52:58
השאלה היא כמה האנטיביוטיקה היא ספציפית? בפועל יש דמיון בין עולם הרנ"א פולימראזות של החיידקים לזה שלנו. כל אנטיביוטיקה צריך לדעת מה טווח הפעילות שלה. מנגנון השיעתוק מופסק ע"י רצף בקצה הגן.	53:00-54:03
יש רצף שגורם לרנ"א ליצור מבנה של "הרפינג" המבנה גורם לכך שיש פחות קשרי מימן עם הדנ"א ואז הבועה תיסגר. זהו סימן לאינזים שהוא הגיע לקצה והוא נופל מהדנ"א. הרנ"א משתחרר האינזים משתחרר.	54:31-55:10
הרצף בנוקליאוטידים בא לידי ביטוי בכך שהוא מאפשר ליצור את המבנה של הבועה הקטנה של הרנ"א, לכן זהו רצף שהוא קוד	55:23-33:52

תוכן	זמן
לסיום.	
חוקרים את האיזון בין האפיניות ליציבות קישור. זה בעצם מעגל וכשהרנ"א והאינזים נופלים אפשר להתחיל שוב מחדש. כי הדנ"א חזר לצורתו המקורית האינזים לא השתנה והרנ"א השתחרר לתמיסה.	56:09-56:42
הרצף על הדנ"א יש הרבה A מה שגורם לרנ"א להכיל הרבה U קשרי מימן מועטים יותר הקשר לאינזים נחלש והוא משתחרר.	56:47-57:16
האינזים של החיידקים מורכב מכמה תת יחידות. אינזים מאוד נפוץ של חיידקים הרנ"א פולימראז שלו הוא פשוט מורכב מפוליפפטיד אחד, משתמשים בו כבית חרושת לייצור רנ"א.	57:27-58:08
האינזים של ה e-coli הוא יותר מפותח, בעל כמה שרשרות של פוליפפטידים, אחת מהם מזהה את הרצף ה 35 – ואח"כ היא משתחררת.	58:08-58:26
סיכום- שלב זיהוי הפרומוטור נקרא inishiation ואח"כ שלב ארוך של הארכה. בסוף יש קוד סיום termination	58:43-59:05
איך נעשית הבקרה? הרי גנים שונים מתבטאים בכמויות שונות. אז איך זה בא לידי ביטוי בתהליך השיעתוק?	59:05-59:36
תשובה 1- לפרומוטורים שונים יהיה חוזק שונה, מבחינת כמה רנ"א פולימראז יקשר אליהם.	59:45-1:00:11
מה קורה אם גן מסוים לא צריך להתבטא בכלל? חלבוני בקרה, פקטור שיעתוק, הם לא האינזים עצמו, הם רק עושים את הבקרה אם יהיה הרבה או מעט שיעתוק. לשם כך נדרש קוד נוסף, אתר קישור שנקרא אופרטור.	1:00:11-1:02:10
האופרטור יכול להיות לפני או אחרי הפרומוטור, ז"א שהוא יכול להיות חלק צהגן. ברצף הזה יש קוד לקישור של חלבון נוסף. יש שני סוגים של פקטור שיעתוק: רפרסור ואקטיב טור	1:02:12-1:02:50
האקטיב טורים מפעילים והרפרסורים משתיקים. לא מספיק שרנ"א פולימראז יזהה את הפרומוטור ויקשר, זה תלוי מי עוד נקשר בסביבה. האם נקשר רפרסור או אקטיבטור.	1:03:10-1:03:38
אם רפרסור נקשר לרצף הדנ"א שהוא זיהה, הוא חוסם פיזית את ההתקדמות של רנ"א פולימראז. הרפרסור והאקטיבטור ממש גורמים לשיעתוק להתרחש / לא להתרחש	1:04:26-1:05:45
הרפרסור והאקטיבטור מתחרים על הקישור	1:05:56-1:05:57
שאלה מהקהל- מדוע צריך אקטיבטור?	1:05:58-1:06:01
הרצף של הפרומוטור הוא לא בהכרח הכי חזק, בכוונה כדי לקבל קישור ביניים. את החלשה או החיזוק עושים האקטיבטור והרפרסור, זה ממקסם את אפשרויות הבקרה.	1:06:03-1:06:30
שאלה מהקהל- למה מלכתחילה מופיע רצף שצריך להשתיק? תשובה- בתא אחר הרצף הזה צריך להתבטא.	1:06:30-1:06:41
הרצף הוא זהה, מה שלא יהיה בתא זה החלבון הרפרסור. החלבון יהיה רק בתאים שבהם רוצים להשתיק את הגן.	1:06:48-1:07:01
גם האריזה של הדנ"א משפיעה על השיעתוק. החלבונים רפרסור וקטיבטור משמשים יותר להשתקה / הגברה בטווח המיידני.	1:07:32-1:07:52
סוג זה של בקרה מתאים לתגובה מהירה לשינויים מהסביבה.	1:08:02-1:08:08
לדוג' היכולת לחוש אם יש סוכר מסוים או לא. רוב החומרים ששייכים לחומרים שהגוף צריך נמצאים באיזור שנקרא "אופרון"	1:08:08-1:09:18

תוכן	זמן
יש אופרטור מסוים ואחריו כמה גנים שנקראים ברצף, לכל הגנים יש פרומוטור אחראי. אם משתיקים את כל האנזימים, משתיקים את כל המערך.	
יש איזורים שנקשר אליהם חלבון שעושה השתקה, ויש איזורים שנקשר אליהם חלבון שעושה אקטיבציה	1:09:30-1:09:37
הדוגמא הראשונה לפיה התחילו לגלות את המנגנונים הקיימים בביולוגיה. אם יש לקטוז במדיום הגידול של החיידקים, הם לא צריכים לייצר את האנזימים לשימוש בגלוקוז ולהיפך. חיידק יכול לגדול או על גלוקוז או על לקטוז, אם יש אחד מהם אין צורך באנזימים שמטפלים בשני.	1:10:06-1:10:49
צריכה להיות דרך לתא, לזהות שיש במדיום הגידול לקטוז / גלוקוז. פקטור השיעתוק זה חלבון שמסוגל פיזית לקשור לקטוז. הקישור ללקטוז גורם לחלבון לשינוי קונפורמציה.	1:10:57-1:11:36
חלבונים משנים את המבנה בהתאם למה שנקשר אליהם כמו המוגלובין וחמצן.	1:11:43-1:11:54
כאשר החלבון בקונפורמציה שהלקטוז קשור אליו אז הוא מסוגל להיקשר לאופרטור. כשיש לקטוז יש השתקה של כל הגנים שקשורים לגלוקוז. וכשאינן לקטוז החלבון קיים אבל לא נקשר לדנ"א	1:11:57-1:12:22
יש חלבונים שנקשרים לדנ"א משתמשים בו כדי לייצר רנ"א אבל לא עושים בו שום שינוי. ויש חלבונים שמזהים רצפים נקשרים לדנ"א ומשנים אותו כימית.	1:14:52-1:15:13
חלבוני רסטריקציה חותכים את הדנ"א, בטבע הם התפתחו כמערכת חיסונית של חיידקים. היום השימוש בהם הוא כמו כלי עבודה של מהנדס גנטי.	1:16:01-1:16:21
הם מערכת החיסון של החיידקים. הם חותכים דנ"א כשהם מזהים רצף שונה.	1:16:27-1:16:44
אם נכנס דנ"א של חיידק Be-coli לתוך חיידק Ke-coli הדנ"א שלו מושמד.	1:16:49-1:17:20
דנ"א של וירוס שהדביק Be-coli אם הוירוס ידביק Ke-coli הוא לא יצליח להתפתח, משהו ישמיד אותו. אם בכל זאת מולקולת של הוירוס שרדה והיא מצליחה להתרבות, כאשר היא תדביק שוב את Be-coli הפעם היא לא תצליח לשרוד אותו. המערכת החיסונית מבוססת על כך שהדנ"א בכל חיידק עובר שינוי ע"י מתילציה. אינזים מתילאז ששמים מתיל על הדנ"א. לכל אינזים שיועד לחתוך את הדנ"א יש אינזים שיועד לשים מתילים.	1:17:50-1:18:48
אם יש לחיידק רצף שאינזימי הרסטריקציה יודע לחתוך, אם יש עליו מתילים האינזים לא מזהה אותו ולא יודע לחתוך אותו. המתיל הוא מערכת חיסונית, לכל חיידק יש מתילאז שמזהה רצף אחר, ואינזים רסטריקציה שמזהה רצף אחר. (חזרה על הסבר החיידקים השונים) המערכת החיסונית ספציפית לכל זן של חיידקים. החיידקים רוצים להשמיד את הדנ"א של הוירוס (ללא המתילים) ולהגן על הדנ"א	1:18:50-1:20:36

תוכן	זמן
שלהם.	
בזכות זה התפתחה הנדסה גנטית. לחיידקים שונים יש אינזימים שונים שמזהים רצפים שונים. חלקם מזהים 4/6/8 זוגות בסיסים. היום בחברות יש שימוש במאות אינזימים כאלו כדי לחתוך את הדנ"א ע"פ דרישה.	1:21:41-1:22:18
הנדסה גנטית משתמשת באינזים שעושים שינויים באמת בטבע.	1:22:40-1:22:46
בגדיל המאחר יש מקטעים והליגאז משלים את החתיכות. משתמשים בו ככלי הנדסי לקחת חתיכות של דנ"א ולחבר לפי הצורך. האינזים משחזר את הקשר הפוספואסטרי, בין 2 הקצוות. לפעמים אינזימי רסטריקציה חותכים בצורה אחידה ולפעמים בצורה לא סימטרית. ואז החיבור הוא שונה. וע"פזה ניתן לקבוע אילו 2 חתיכות יתחברו.	1:22:59-1:24:27
פעם השתמשו המון באנזימי רסטריקציה, והיום משתמשים בעיקר בשיטת pcr	1:24:45-1:25:09
כאשר רוצים לשבט גן במקטע מסוים ולהכניס אותו לתוך חיידק, כדי שהחיידק ייצר את החבון שאנחנו מעוניינים בו, משתמשים בפלסמיד. כך החיידקים מעבירים אינפורמציה מאחד לשני.	1:26:13-1:27:04
חותכים את הפלסמיד לאינזים רסטריקציה שמתאים בקצוות למקטע הדנ"א נוסף ליגאז והוא יסגור את המעגל. החיידקים באופן טבעי לוקחים את הפלסמיד. יש להם אינטרס לקחת דנ"א כדי לקבל שינויים גנטיים, ולעמוד בשינויים סביבתיים. אנחנו משתמשים בזה כדי שהם יבטאו בשבילנו חלבונים. התהליך קורה ביעילות נמוכה. במבחנה יש הרבה חיידקים ואנחנו מעוניינים רק באלו שהפלסמיד נכנס לתוכם. שיטה לסלקציה. בפלסמידים אלו יש גנים שמקודדים לעמידות לאנטיביוטיקה.	1:27:16-1:28:31
נגדל את החיידקים במדיום שמכיל אנטיביוטיקה, רק אלו שנכנס אליהם הפלסמיד יהיו עמידים בפני האנטיביוטיקה.	1:28:36-1:29:00
ניתן לראות צלחת גידול ומושבות שגדלו שהיו עמידות לאנטיביוטיקה. יש דרכים לעשות סלקציה. לפעמים יש פלסמידים שלא נחתכו או שנסגרו לפני שהחתיכה נכנסה. ואז צריך לזהות את זה במושבה עצמה. ניתן לגרום לצבע למשל. השיטות האלו היו טובות מאוד, אבל בגלל ההתפתחות הטכנולוגית כמעט ולא משתמשים בהם היום.	1:29:07-1:30:34