



אוריית על

אוריית טובין

גביע שמחה

## השפעת המבנים על מיצוי DNA

לצורך הניסוי של הערכת ההשפעה של המבנים, השתמשו בדגימות של חומצות פולויות וגלוקוז, שנשלחו למעבדתנו של טכנולוגיות גנומיות ממכון גולנדי לאדמה.

טכנולוגית מיצוי הדנ"א של מצעי חומצות פולויות וגלוקוז עד היום נשארה בעיה, פתירה בקושי רב. אף אחד מהמומחים מאירופה לא לקח על עצמו את האתגר. לאור העובדה, שמעבדתנו מאובזרת היטב, החלטנו לקחת סיכון. אבל במשך חודשיים נכשלנו המון פעמים. עד שבפברואר 2014 קיבלנו תוצאות חיוביות של הניסוי. הצלחה זו, כפי שהוצג על ידי מחקרים נוספים, ללא ספק הייתה בשל הפעולה של המבנים (יותר של אוריית על ואוריית טובין).

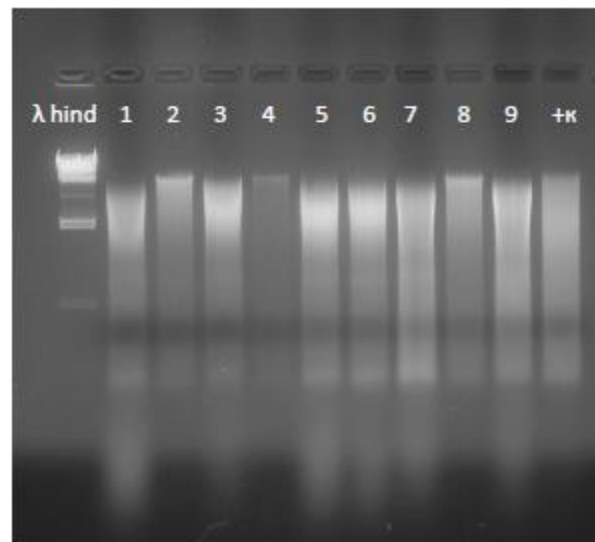
באיורים הבאים, מיוצגות התוצאות של מיצוי הדנ"א בלי המבנים ועם המבנים (איורים 1, 2, 3).



איור 1. אלקטרופורזה בג'ל של מיצוי גולמי של דנ"א בג'ל אגרז, בלי מבנים



איור 2. אלקטרופורזה בג'ל של מיצוי גולמי של דנ"א בג'ל אגרז, עם אוריית טובין

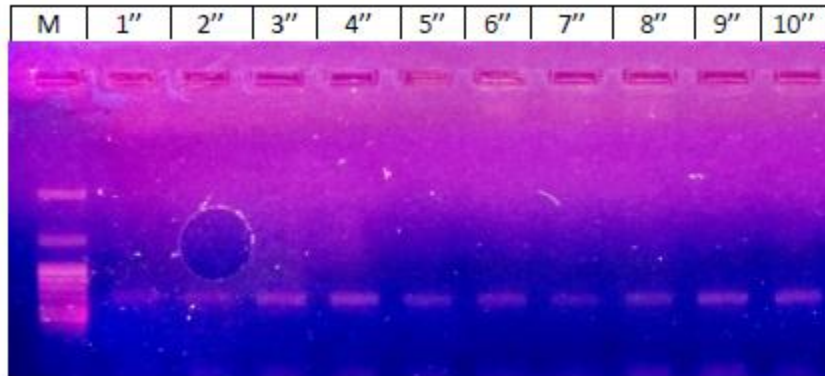


איור 3. אלקטרופורזה בג'ל של מיצוי גולמי של דנ"א בג'ל אגרז, עם אוריית על

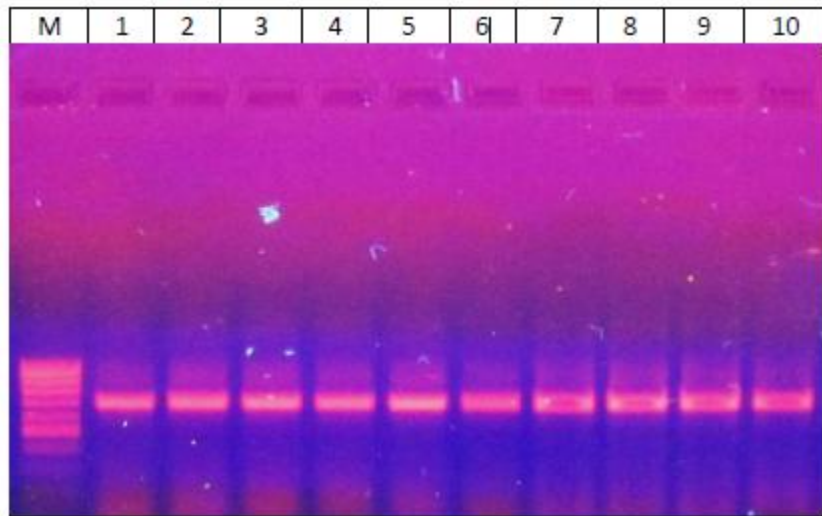
## השפעת המבנים על תגובת השרשרת של הפולימראז (PCR)

בנוסף, התגלתה השפעה משמעותית של המבנים על האמפליפיקציה בתהליך תגובת השרשרת של הפולימראז, על תשעה זוגות פריימרים אוניברסאליים לגן 16S rRNA.

ניתן לראות שאוריית על משפרת את תהליך תגובת השרשרת של הפולימראז, בהגדלת ריכוז התוצר הסופי של האמפליפיקציה (איורים 4, 5).



איור 4. Electropherogram PCR 16S rRNA של מערכת חיידקית מחומצת פולוויות וגלוקוז, בלי מבנים



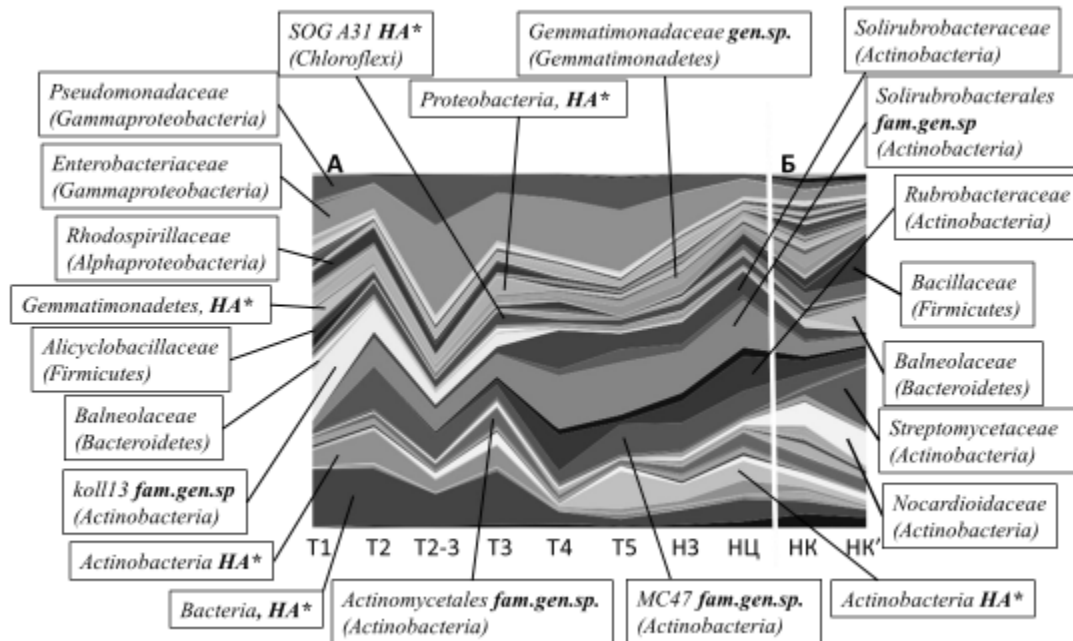
איור 5. Electropherogram PCR 16S rRNA של מערכת חיידקית מחומצת פולוויות וגלוקוז, אוריית על

## הערכת הרכב ודינמיקה של קהילות חיידקים בעזרת המבנים

לכל פריימר קיבלנו ספריית חלקי גן 16S rRNA. הריצוף בוצע באמצעות פריימרים Roche, ברצף אוטומטי, באמצעות ריאגנטים של חברת Roche, בהתאם לפרוטוקול היצרן. רצפי הנוקליאוטידים הופקדו בGenBank.

יישור הרצפים בוצע באמצעות ClustalX, הבנייה של מטריצות של מרחקים גנטיים ובניית עץ פילוגנטי בתוכנה Mega5, זיהוי טקסונומי על שרת RDPII.

באיור 6 ניתן לראות בברור את ההבדל בין המגוון הטקסונומי של הניסוי עם וללא השימוש במבנים. המבנים מגדילים את כמות נציגי חיידקים שניתן להבחין בהם ומאפשרים לראות הבדל ברור בין הדוגמיות. כאן, התוצאות הטובות ביותר התקבלו בזמן השימוש בכל שלושת המבנים בו זמנית.



איור 6. מגוון טקסונומי של קהילות חיידקים (ברמה של המשפחה) בתנאים עם המבנים: A (T1 – H4)

ובלי המבנים: B (HK – HK')

HA – HA - רצפים לא מיוחסים ברמת הסדר

כמו כן, ניסויים עם המבנים בוצעו גם על מגוון דוגמיות אחרות: קרקע, צמחים, עדשות, דם אדם, מיקוריזה, וכו' (בקזחסטן, אוקראינה, פינלנד, רוסיה). קיבלנו תוצאות נפלאות שמאשרות שוב את ההשפעה המשמעותית של המבנים על תוצאות הניסויים בכל השלבים. הנתונים האלה דורשים זמן לעיבוד והצגה בדו"ח.

כל הניסויים הקודמים בוצעו ברמה הגנטית-המולקולרית. בכל שלבי הניסוי נעשה שימוש בציוד המתאים. בשלב זה ניתן לומר כי המבנים משפיעים באופן חיובי על עבודת הציוד. כדי להבין טוב יותר כיצד המבנים משפיעים ישירות על תאים ואורגניזמים חיים, תכננו וביצענו סדרה נוספת של ניסויים שתוכננו במיוחד כדי לבחון שאלה זו. כעת מתבצעים ניסויים בתרבויות תאים חיים, שתוצאותיהם יהיו זמינות בתחילת החודש הבא (2014 ביולי).

Kseniia Loshakova

Microbiology Engineer, Laboratory of Microbiological

Monitoring and Bioremediation of Soils,

Department of genomic technologies,

All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology,

Saint Petersburg, Russia