

מה מצוי במיצוי?

השתלמות - קיץ תשפ"א 2021

מבוסס על המאמר: מה מצוי במיצוי
המרכז לפיתוח ותמיכה במעבדות ביולוגיה בבתי הספר

מהו מיצוי ואיך מכינים אותו?

שלב ראשון: ריסוק מכני של הרקמה

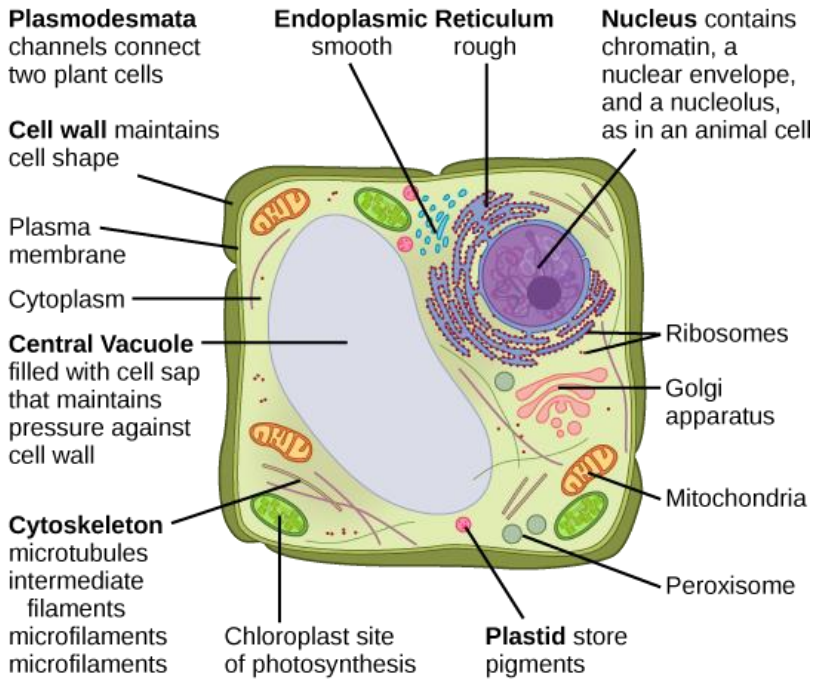
- ▶ בהוספת מים - המיצוי מכיל חומרים המסיסים במים כגון חלבונים, אנתוציאנינים ובטאלינים
- ▶ בהוספת ממס אורגני (כגון: אתנול) - המיצוי מכיל חומרים המסיסים בו כגון כלורופילים, קרוטנואידים, קסנטופילים

שלב שני: הפרדת הנוזל מחלקים מוצקים

- ▶ סינון באמצעות גזה או נייר סינון
- ▶ סרכוז בעזרת צנטריפוגה

המיצוי שמתקבל מכיל חלקי תאים, אברונים (שלמים ופגומים) וכן נוזלים שיצאו מתאים שנפגעו ובהם מגוון חומרים

אם מסננים באמצעות גזה - המיצוי מכיל גם תאים שלמים



https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Figure_04_03_01b.png

מבנה תא צמחי

- ▶ כל תא מוקף בקרום
- ▶ האברונים שבתא מוקפים בקרומים, כגון:
 - ▶ קרום הגרעין
 - ▶ קרום המיטוכונדריון
 - ▶ קרום הכלורופלסט
 - ▶ קרום החלולית (ווקואולה)
- ▶ הקרומים יוצרים בתא **מדורים** שבכל אחד מהם פעילות שונה

מהי משמעות הפגיעה במבנה התאי?

- ▶ פגיעה במידור התאי
- תהליכים מרובי שלבים שתלויים במידור בתא (כגון נשימה תאית)
לא מתקיימים במיצוי
- ▶ המיצוי מכיל תערובת של אנזימים שהיו במדורים שונים

איזו פעילות ביולוגית יכולה להתקיים במיצוי?

▶ חלק מהאנזימים יהיו פעילים במבחנה (in vitro) באופן דומה לפעילותם בתאים (in vivo)

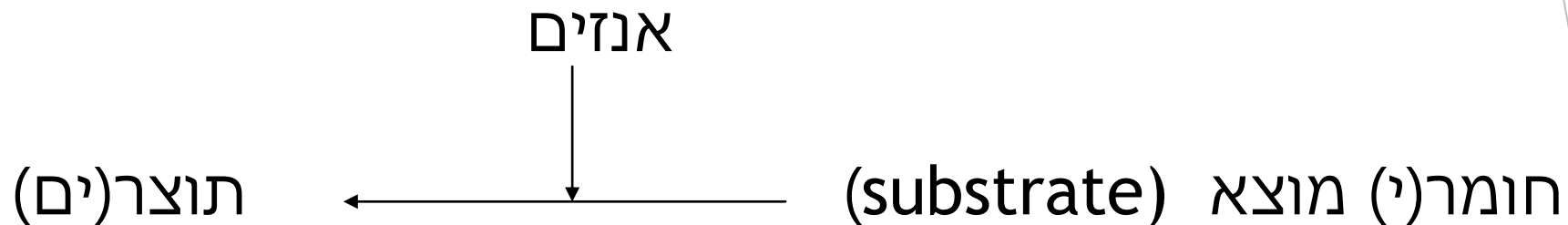
▶ תנאים לפעילות האנזימים במיצוי מימי

- בתהליך הכנת המיצוי לא הייתה פגיעה במולקולות האנזימים

- טמפרטורה מתאימה, pH אופטימלי, נוכחות יונים מסוימים

איך בודקים פעילות של אנזים מסוים IN VITRO? (1)

תהליך אנזימטי:



▶ אם במיצוי ריכוז התוצר גבוה - יש להפריד (ע"י סינון או סרכוז) את התוצר מהמיצוי

▶ לדוגמה:

כדי לבדוק יצירת עמילן על ידי אנזים שבמיצוי יש להפריד את העמילן הקיים במיצוי ולבדוק יצירת עמילן "חדש"

איך בודקים פעילות של אנזים מסוים IN VITRO? (2)

תהליך אנזימטי:

אנזים
↓
חומר (י) מוצא (substrate) ← תוצר(ים)

▶ אם במיצוי ריכוז הסובסטרט נמוך - בתחילת הניסוי יש להוסיף למיצוי כמות גדולה ומדודה של סובסטרט

▶ לדוגמה:

- כדי לבדוק בניית עמילן מוסיפים למיצוי את הסובסטרט גלוקוז 1 פוספט
- כדי לבדוק פעילות קטלאז מוסיפים למיצוי את הסובסטרט מי חמצן

פעילות אנזימים במיצוי

כיצד אפשר לבדוק במיצוי מסוים פעילות של **מספר** אנזימים?

► בכל טיפול מוסיפים למיצוי סובסטרט אחר, ובהתאם לכך פעיל האנזים הייחודי שמצוי במיצוי

► במיצוי תפו"א אפשר לבדוק פעילות של:

- אנזים מזרז סינתזת עמילן
- עמילאז - אנזים מזרז פירוק עמילן
- קטלאז - אנזים מזרז פירוק מי חמצן

מדוע בביוחקר חייבים להשתמש במיצוי ולא בתכשיר מנוקה של אנזים?

בביולוגיה אנו מעוניינים ללמוד ולחקור תהליכים המתרחשים
באורגניזמים חיים, ברקמות שלהם או במיצוי שהופק מהם.

▶ **הדגמה: פעילות אנזימטית במיצוי**

▶ **תהליכים אנזימטיים במיצוי מפקעת תפוח אדמה**
(קבצים ללבורנט, לתלמיד, למורה)

סיכום הניסויים

- ▶ במיצוי שהוכן מרקמות שבהם הייתה פעילות של אנזים, יהיו גם הסובסטרט וגם התוצר של אותו אנזים
- ▶ **הרחקנו** מהמיצוי את **התוצר** של התהליך, **הוספנו** למיצוי כמות גדולה של **סובסטרט** (גלוקוז 1 פוספט) ועקבנו אחר בניית התוצר
- ▶ **הוספנו** למיצוי כמות גדולה של **סובסטרט** (מי חמצן) ועקבנו אחר תהליך פירוקו
- ▶ בניסוי אחר בדקנו את תכונת הבופר במיצוי



מה מצוי במיצוי של העלים האלה?



כיצד נבדוק אילו פיגמנטים מצויים בעלים אלה?



פיגמנטים בצמחים

הפיגמנט	צבע	האיבר / הצמח	מיקום בתאים	מסיסות ב..
אנתוציאנינים	אדום, סגול	עלי כותרת (היבסקוס), עלי כרוב, עלי צעירים, בצל "סגול"	חלולית	מים
בטאלינים	סגול	שורש מעובה (סלק), בוגנוויליאה	חלולית	מים
כלורופיל	ירוק	חלקי צמח ירוקים בכל הצמחים הפוטוסינתטיים	כלורופלסטידות בציטופלסמה	ממס אורגני
B קרוטן	צהוב, כתום, אדום	שורש מעובה (גזר)	כרומופלסטידות / כלורפלסטידות בציטופלסמה	ממס אורגני
קסנטופיל	צהוב	עלים ירוקים, עלי כותרת של פרחים, צהובים,	כרומופלסטידות / כלורפלסטידות בציטופלסמה	ממס אורגני

מים וממסים אורגניים

- ▶ מַמָּס (Solvent) - הוא חומר שיש ביכולתו להמס חומר אחר (המומס)
- ▶ כלל המסיסות הכימי: "דומה נמס בדומה לו" - "Like dissolves like"
חומר ממס חומר הדומה לו דמיון כימי - דומה באופי הקשר בין המולקולות בחומר
- ▶ מים - במבנה המולקולות שלהם יש קוטב בעל מטען חשמלי חיובי וקוטב בעל מטען חשמלי שלילי
- ▶ המים ממסים חומרים יוניים (כגון מלחים) וגם חומרים אורגניים שיש בהם אזורים קוטביים (חלבונים, חד-סוכרים ודו-סוכרים)
- ▶ מַמָּס אורגני - מכיל פחמן במבנה המולקולה שלו, וממס תרכובות שאינן קוטביות
- ▶ יש מַמָּסים אורגניים שנמסים טוב גם במים (כגון אתנול)

כרומטוגרפיה של מיצוי מעלה צבעוני (אדום)



האם בעלים אדומים נמצא כלורופיל? ►

לצבענים (פיגמנטים) שונים המצויים בעלי צמחים יש מסיסות שונה
במים ובאתנול ►

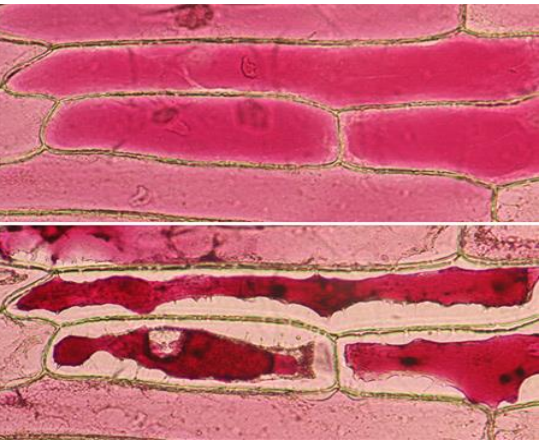
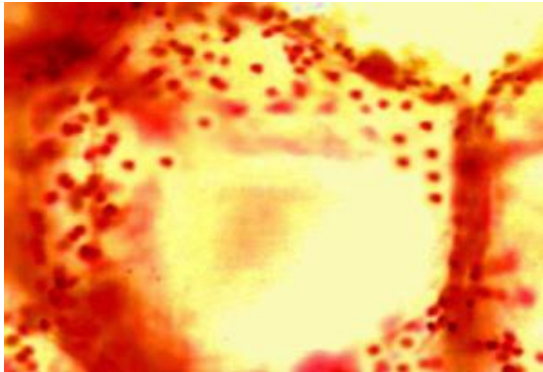
ניסוי: הכנת מיצוי מעלי יהודי נודד סגול וכרומטוגרפיה

ביצוע כרומטוגרפיה

- ▶ כתישת עלה יהודי נודד במים ובאתנול
- ▶ הכנת מיצוי (משפך, גזה, סינון וסחיטה)
- ▶ סימון קו על רצועת נייר, במרחק 1.5 ס"מ מקצה הנייר
- ▶ באמצעות פיפטת פסטר טפטוף טיפת מיצוי, המתנה לייבושה
- ▶ חזרו על הטפטוף והיבוש.... טיפה אחר טיפה באותו מקום
- ▶ הכנסת רצועת הנייר למבחנה עם אתנול... המתינו עד להופעת **יותר** מצבע אחד



סוגי צבענים בצמחים ותפקידם



← **כלורופיל** בולע אור כחול ואדום המשמשים מקור אנרגיה בפוטוסינתזה **מחזיר אורכי גל ירוקים**

← **קרטנואידים** בולעים את האור הירוק והכחול **ומחזירים אור בצבע צהוב-כתום** (קרוטן בגזר, ליקופן בעגבניה)

← **אנתוציאנינים** בולעים אור בצבעי כחול וירוק **ומחזירים אור אדום וסגול**, משמשים כמסנני קרינה בצמח (כרוב סגול)

← **בטנין מחזיר אורכי גל אדום וסגול** משמש כמסנן קרינה ומגן מפני נזקי חימצון (סלק, סברס)

← **הצבענים המסיסים במים נמצאים בחלולית ושאינם מסיסים במים נמצאים באברונים מיוחדים בציטופלסמה**