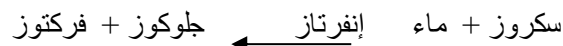


בדיקת פעילות אנזים אינברטאז מתאי שמרים

כתבת ואعدت التجربة الجافة- אסנת יוטקו צרפתי

وصف التجربة – فحص نشاط إنزيم إنفرتاز من خلايا خميرة

خميرة هي فطريات أحادية الخلية يمكن تنميتها في معْلَق يحتوي على خلايا خميرة مع ماء ومواد غذائية. إنفرتاز هو إنزيم يُسرّع تحليل سكر ثنائي (سكروز) إلى سكريات أحادي، جلوكوز وفرکتوز، حسب المعادلة:



الخميرة تفرز الانزيم إنفرتاز الى البيئة والانزيم يعمل في البيئة الخارجية للخلية. عن طريق ترشيح معْلَق خميرة يمكن أن نحصل على المواد التي أفرزتها خلايا الخميرة بالإضافة إلى المواد التي كانت في بيئة الخلايا.

طلاب نفذوا التجربة التالية: أخذوا معْلَق خميرة مُرَشَّح، قسم منه تركوه طري وقسم اخر غلوه لمدة ربع ساعة. حضروا 4 أنابيب مع راشح طري او مغلي وأضافوا لها سكروز حسب المعطيات في الجدول. وضعوا جميع الأنابيب في درجة حرارة 35°C لمدة 10 دقائق وفحصوا وجود جلوكوز في المحاليل. مجرى التجربة والنتائج معروضة في الجدول 1 التالي:

الجدول 1:

رقم الانبوب	محلول سكروز 2% (ملل)	مياه مقطرة (ملل)	مُعْلَق خميرة غير مغلي (ملل)	مُعْلَق خميرة مغلي (ملل)	وجود جلوكوز في الانبوب
1	2	-	1	-	يوجد
2	-	2	1	-	لا يوجد
3	2	1	-	-	لا يوجد
4	2	-	-	1	لا يوجد

1. أكتبوا عنوان للجدول

השפעת הרתחה על פעילות האנזים אינברטאז

2. **מהו המטגיר המתקשר?**

קצב פירוק הסוכרוז על ידי האנזים אינברטאז

3. **מהי שיטת מדידת המטגיר המתקשר? למה היא מתאימה למדידת המטגיר?**

בבדיקת נוכחות גלוקוז בכלי

השמרים מפרישים את האנזים אינברטאז לתמיסה חיצונית שבתרחיף, האנזים נשאר בתסנין גם בהעדר השמרים עצמם והוא מפרק את הסוכרוז לגלוקוז ופרוקטוז, כשמתפרק סוכרוז מתקבל גלוקוז כשהאנזים פועל יתקבל גלוקוז

4. **פירושו של הבדל בין תוצאות 4 ו-1.**

מבחנה 4 – השמרים הורתחו, האנזים עבר דנטורציה, המבנה המרחבי שלו נהרס והוא אינו יכול לפרק את הסוכרוז ולכן אין קבלת תוצר (גלוקוז), בשמרים הטריים שבמבחנה 1 יש אנזים תקין שפירק את הסוכרוז ולכן התקבל תוצר

5. **האנזים 2 ו-3 הם אנזימים זרים.**

פירושו מהי חשיבות כל אחד מהאנזימים הזרים?

מבחנה 2 – מוכיחה שללא סובסטרט אין קבלת גלוקוז, שאכן מקור הגלוקוז הוא בפירוק הסוכרוז ולא מופרש ספונטנית מתאי השמרים
מבחנה 3 מוכיחה שללא האנזים שמקורו בשמרים אין פירוק של הסוכרוז, כלומר – שהסוכרוז אכן מתפרק בגלל פעילות האנזים מהשמרים ולא באופן ספונטני

6. **א. הזכירו גורמים שממחישים את השמירה עליהם בתוצאות. מהו המטגיר?**

טמפרטורה/ ריכוז האנזים/ ריכוז הסובסטרט/ זמן

ב. באיזו יחידה מודדים את המטגיר? מהי חשיבות המדידה?

טמפרטורה – משפיעה על קצב תנועת המולקולות וככל שהיא גבוהה יותר גדל הסיכוי למפגשי אנזים – סובסטרט וגדל קצב הפירוק בטמפרטורה גבוהה מדי עובר האנזים דנטורציה ואינו יכול לפעול בגלל שינוי המבנה המרחבי והתאמתו לחיבור בין האנזים לסובסטרט
ריכוז אנזים/ סובסטרט – כלל שהריכוז גבוה יותר גדל הסיכוי למפגשי אנזים – סובסטרט ולכן קצב הפירוק עולה

זמן – כשמודדים קצב פעילות לזמן יש חשיבות כי ככל שיהיה יותר זמן יתבצע יורת פירוק , אם הזמן לא יהיה אחיד בכל המבחנות יתכן שמבחנה בה הפעילות אינה בקצב אופטימלי יתקבל יותר תוצר כי היא הושהתה זמן ארוך יותר

7. تحليل سكروز يحدث في بيئة خارج- خلوية، ونواتج التحليل تدخل إلى خلايا الخميرة.
א. أذكروا عملية واحدة تحدث في خلايا الخميرة، وفيه يتم إستغلال نواتج تحليل السكروز.

נשימה תאית

ב. فسّروا أهمية هذه العملية بالنسبة لخلايا الخميرة.

לצורך אספקת אנרגיה זמינה לתאים

8. في تجربة مشابهة، أضافوا لمعلق الخميرة بدل سكروز أضافوا سكر ثنائي لكتوز، ولم ينتج جلوكوز. إقترحوا تفسيراً لهذه النتيجة.

השמרים אינם מפרישים את האנזים המפרק לקטוז אלא את האנזים אינברטאז המפרק סוכרוז, לאנזימים שי ספציפיות למצע

القسم الثاني:

تأثير كبريتات النحاس (CuSO_4) في تراكيز مختلفة على وتيرة نشاط إنزيم إنفرتاز في معلق الخميرة.
كبريتيد النحاس يُستعمل في الأساس كمادة مُعقمة ضد الفطريات ومنذ 100 سنة يستعملون هذه المادة كمادة مُبيدة لقتل الفطريات في كروم العنب.

أراد باحثون فحص تأثير كبريتات النحاس على نشاط إنزيم إنفرتاز في الخميرة، ومن أجل ذلك حضّروا معلق خميرة.

وأضافوا معلق الخميرة إلى أنابيب إحتوت على محلول سكروز بتركيز 2% وتراكيز مختلفة من CuSO_4 .
10 دقائق بعد إضافة معلق الخميرة إلى الانابيب، فحصوا تركيز الجلوكوز في أنابيب التجربة.
النتائج معروضة في الجدول 2

تركيز CuSO_4 (mM)	تركيز الجلوكوز في المحلول (ميكروغرام/ملل)
0	73
0.2	39
0.4	18
0.6	14
0.8	7
1	7

أجب عن الأسئلة 9-11

9. أ. ما هو الرسم البياني الملائم لنتائج التجربة – رسم بياني أعمدة أو رسم بياني متصل ؟ علّلوا. (3 درجات)
 رציף, המשתנה הבלתי תלוי הוא ריכוז, זהו משתנה רציף ויש משמעות לערכי ביניים
 ב. حضروا الرسم البياني على ورق ملمتري. (7 درجات)

10. أ. صفوا نتائج التجربة. (6 درجات)

ככל שריכוז הנחושת הגופרתית גבוה יותר מ-0 ועד 0.4 mM יש ירידה תלולה בריכוז הגלוקוז מ-73 מיקרוגרם/מ"ל ועד 18 מיקרוגרם/מ"ל, בריכוזים גבוהים יותר של נחושת גפרתית עד 0.8 mM ריכוז הגלוקוז יורד במתינות ל-7 מיקרוגרם/מ"ל ואז גם כשעולה ריכוז הנחושת הגופרתית אין ירידה נוספת בריכוז הגלוקוז, הוא נשאר קבוע 7 מיקרוגרם/מ"ל

ב. في أي مجال من تراكيز كبريتات النحاس (CuSO_4) تكون إعاقة نشاط الانزيم الأكثر مرتفعة ؟
 فسّروا على ماذا تعتمد إجابتكم. (6 درجات)

מעל ריכוז של 0.8 mM שבו כמות הגלוקוז (התוצר של פעילות האינברטאז) מינימלית וקבועה 7 מיקרוגרם/מ"ל

11. المادّة كبريتات النحاس التي تعيق نشاط الإنزيم إنفرتاز، تسعمل كمادّة مُبيدة ضد الفطريات الضارّة بالكروم. تساعد في إجابتك عن سؤال 10 وفسّر كيف أن إستعمال كبريتات النحاس (CuSO_4) يمنع تطور الفطريات (5 درجات).

החומר מעכב את פעילות האנזים אינברטאז, הפטריות אינן יכולות לפרק דו סוכרים ולהפיק לעצמן גלוקוז שנחוץ להן לצורך נשימה תאית

نهاية التجربة