

סילבוס:

בקורס מתקיימות 6 מעבדות באורך 6 שעות ועוד שיש מפגשים של שעה כל אחת.

מעבדה 1: קינטיקה אנזימטית

- שימוש באנזים Butyryl choline esterase כמודל, ללימוד קינטיקה אנזימטית:
- 1) מדידת קצב הראקציה בריכוזים שונים של סובסטרט והערכת מאפיינים קינטיים מעקומת [S] כנגד [V].
 - 2) קביעת קבועים קינטיים על ידי שימוש בעקומה רציפרוקאלית Lineweaver Burke.
 - 3) שימוש בתרופות לאלצהיימר כמודל לעיכוב פעילות אנזימטית וקביעת קבוע העיכוב K_i .

מעבדה 2+ מעבדה 3: הפרדה ואפיון חלבונים

- 1) הפרדת חלבונים מתערובת ע"י כרומטוגרפיה של שיחלוף יונים.
- 2) לימוד שיטות שונות לכימות חלבונים ושימוש בשיטת ברדפורד.
- 3) אפיון חלבונים על ידי פעילות אנזימטית.
- 4) קביעת המסה המולקולרית של חלבונים על ידי אלקטרופורזה בג'ל פוליאקרילאמיד דנטורטיבי.
- 5) הקניית המושגים יחידת פעילות אנזימטית, פעילות ספציפית, דרגת נקיון, ניצולת.

מעבדה 4: אינדוקציה של γ -glutamyl transpeptidase (GGT) מאדם בתאי עכבר

- 1) שימוש ביוני אבץ כמשרן לביטוי הגן.
- 2) קביעת הפעילות הספציפית של האנזים כפונקציה של ריכוז המשרן.
- 3) קביעת המיקום התוך תאי של האנזים.

מעבדה 5: שעתוק

- יצירת RNA על תבנית של DNA ואפיון תוצרי השעתוק.
- 1) שעתוק של שני רצפי DNA על גבי אותה תבנית, הנשלטים כל אחד על ידי פרומטר ייחודי.
 - 2) הפרדת תוצרי השעתוק ע"י אלקטרופורזה בג'ל אגארוז.
 - 3) זיהוי ואפיון של ה-DNA ותוצרי השעתוק שלו בג'ל על ידי שימוש בגלאים.

מעבדה 6: ביוסינתזה של שומנים

- שימוש בחומר רדיואקטיבי [חומצת חומץ המסומנת ב- ^{14}C] לצורך מעקב אחר מסלול ביוסינתטי.
- 1) יצירה של חומצות שומן ע"י אנזימים מסיסים מכבד חולדה.
 - 2) אינקורפורציה של חומצות שומן לגליצרידים ופוספוליפידים ע"י אנזימים ממברנאליים מכבד חולדה.
 - 3) הפרדה של תוצרי המסלול הביוסינתטי ע"י כרומטוגרפיה ברבדים דקים-(Thin Layer Chromatography).
 - 4) שימוש במונה קרינת beta ובפוספואימאג'ר (phosphorimager) לזיהוי וכימות התוצרים המסומנים.
 - 5) הקניית כללי בטיחות והרגלי עבודה בשימוש בחומר רדיואקטיבי.

הקורס יתקיים במחצית השנייה של הסמסטר.

בתחילת כל שבוע יתקיים מפגש פרונטאלי של הרצאה קצרה ו"שאלות ותשובות" כהקדמה למעבדה של אותו שבוע. הנוכחות חובה.

בקורס שש פגישות בלבד. הכנת המעבדות מורכבת ויקרה. לפיכך, הכלל של עזיבת הקורס בשבועיים הראשונים של הסמסטר אינו חל על הקורס הזה. חיסורים, למעט אלה הנובעים ממחלה או מילואים, יפגעו בציון הסופי. התאריכים בהם תתקיים המעבדה לביוכימיה יפורסמו בתחילת השנה:

****הערה:** תוכן הקורס ניתן לשינוי. במידה ויחולו שינויים, הם יפורסמו באתר הקורס הכי מאוחר שבוע לפני תחילת הקורס.

מטרות המעבדה:

הקניית מושגי יסוד, ידע ומיומנות בעבודה כמותית במעבדה ביולוגית.
דרישות קדם: ביוכימיה- אנזימולוגיה ומטבוליזם, או קורס מקביל לו.

נוכחות חובה (בהרצאה ובמעבדה)

הרכב ציון:

| | | |
|-----|---|-------------|
| 50% | (במעבדה האחרונה הדן"ח יוחלף בבוחן מסכם) | דוחות מעבדה |
| 30% | | הערכת מדריך |
| 20% | (יתקיימו 6 בחנים קצרים בתחילת כל מעבדה) | בחנים |

Syllabus:

The course consists of six, 6-hour laboratories, plus six, hour long meetings.

Laboratory 1: Enzyme Kinetics

Butyryl cholinesterase is used as a model to learn about basic enzyme kinetics.

- 1) Measurement of the reaction rate at different substrate concentrations and estimation of kinetic parameters from a graph of $[V]$ vs. $[S]$.
- 2) Extrapolation of kinetic parameters from the reciprocal Lineweaver Burke plot.
- 3) Study of enzyme inhibition using the leading Alzheimer's medications and measurement of the inhibition coefficient K_i .

Laboratories 2 and 3: Separation and characterization of proteins

- 1) Separation of proteins in a mixture using anion exchange chromatography.
- 2) Learning different methods for protein determination; use of Bradford to determine protein concentration.
- 3) Characterization of proteins by their enzymatic activity.
- 4) Molecular mass determination using denaturing polyacrylamide gel electrophoresis.
- 5) Learning the concepts of enzyme units, specific activity, level of purification and yield.

Laboratory 4: Induction of human γ -glutamyl transpeptidase in mouse cells

- 1) Use of Zinc as an inducer of gene expression.
- 2) Determination of the enzyme specific activity as a function of inducer concentration.
- 3) Localization of the enzyme within the cellular fractions.

Laboratory 5: Transcription

RNA synthesis from a DNA template and characterization of the transcription products.

- 1) In vitro transcription of two DNA sequences from the same template, each controlled by a unique promoter.
- 2) Separation of transcription products using agarose-gel electrophoresis.
- 3) Identification and characterization of the DNA template and its RNA transcription products in the gel using infra-red probes.

Laboratory 6: Biosynthesis of Lipids

Use of radioactive ^{14}C as a tracer for following the metabolic pathway of lipid biosynthesis.

- 1) Creation of fatty acids by soluble enzymes in rat/chick liver.
 - 2) Incorporation of fatty acids into glycerides and phospholipids by membrane-bound enzymes from rat liver.
 - 3) Separation of lipid biosynthesis pathway products by Thin Layer Chromatography.
 - 4) Use of a beta-radiation scintillation counter and phosphorimager to identify and quantify the labelled products.
 - 5) Radiation safety guidelines.
-

The course takes place during the second half of the second semester.

At the beginning of each week, a short lecture/question and answer session will be given as an introduction to that week's laboratory. Attendance is mandatory.

The course consists of only six laboratories. Preparation for the laboratories is complicated and expensive. Therefore, the two-week "drop out" rule does not apply for this course. Absence, except for illness or reserve duty, will be factored into the final grade. The actual dates of the laboratories will be announced at the beginning of the year.

****Note:** The course content is liable to change. Changes, if they occur, will be announced on the course site at the latest a week before the beginning of the course.

Goal of the course:

Learning the basic concepts, methods and quantitative techniques used in biology laboratories.

Prerequisites: The course "Biochemistry-enzymology and metabolism" or an equivalent course.

Attendance: required, for both the lecture and the lab.

Grading:

Lab reports: 50% (For the last laboratory, there will be a summarizing quiz instead of a lab report).

Teacher evaluation: 30%

Weekly quizzes: 20% (Six short quizzes, one at the beginning of each lab session).