

סילבוס:

בקורס מתקיימות 6 מעבדות, 6 שעות כל אחת. חומר הרקע והכנה למעבדה נלמד דרך לומדות אינטראקטיביות ובנוסף 6 מפגשים שבועיים (שעה כל מפגש) עם דיונים ושאלות בקשר ללומדות, הכנה למעבדה ודו"חות מעבדה.

מעבדה 1: קינטיקה אנזימתית - Butyryl choline esterase משמש כמודל ללימוד עקרונות קינטיקה אנזימתית

- 1) מדידת קצב ריאקציה בריכוזים שונים של סובסטרט והערכת קבועים קינטיים מעקומת [V] כנגד [S].
- 2) קביעת קבועים קינטיים דרך עקומה רציפרוקאלי מסוג Lineweaver Burke.
- 3) לימוד מנגנון עיכוב אנזימיים דרך שימוש בתרופות מובילות למחלת האלזהיימר.
- 4) רכישת נסיון בשימוש ב-microplate reader, ספקטרופוטומטר המאפשר מדידה בזמנית של עד 96 ריאקציות.

מעבדה 2+ מעבדה 3: הפרדה ואפיון חלבונים

- 1) הפרדת תערובת חלבונים בקולונה מסוג מחלף יונים.
- 2) לימוד שיטות לקביעת כמות חלבון והדגמת שיטת Bradford.
- 3) זיהוי ואפיון חלבונים על ידי פעילות אנזימתית או עיכוב פעילות אנזימתית.
- 4) קביעת המסה המולקולרית של חלבונים על ידי אלקטרופורזה בגל פוליאקרילאמיד בנוכחות דטרגנט בתנאים דנטורטיביים PAGE, Polyacrylamide gel electrophoresis.
- 5) הקניית המושגים יחידת פעילות אנזימתית, פעילות ספציפית, דרגת נקיון, ניצולת.

מעבדה 4: שיעתוק

- יצירת RNA על תבנית של DNA ואפיון תוצרי השיעתוק
- 1) שיעתוק סימולטני של שני רצפי DNA הנשלטים כל אחד על ידי פרומוטר ייחודי, על ידי T3 RNA polymerase T7 RNA polymerase-1
 - 2) בידוד תוצרי השיעתוק ואפיונם לפי אורכם ע"י אלקטרופורזה בגל אגארוז.
 - 3) גילוי, זיהוי ואפיון של DNA ותוצרי השיעתוק שלו בג'ל על ידי שימוש בגלאים פלורסצנטיים הבולעים אור אינפרא אדום IRdyes, Odyssey infrared imager

מעבדה 5: אינדוקציה של גן הומאני GGT בתאי עכבר

- ערור הביטוי של גן המקודד לאנזים gamma-glutamyl transpeptidase מאדם, הנמצא תחת בקרה של הפרומוטר ל-metallothioneine מכבש, שהוכנס לתאי עכבר.
- 1) אינדוקציה של הטראנסגן ע"י אבץ.
 - 2) קביעת הפעילות הספציפית של האנזים כפונקציה של ריכוז המשרן
 - 3) קביעת מיקום האנזים בממברנת התא.

מעבדה 6: ביוסינתזה של שומנים

- שימוש בחומר רדיואקטיבי [חומצת חומץ מסומנת ב- ^{14}C] במעקב אחרי מסלול מטבולי
- 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) זיהוי וקביעה כמותית של תוצרי המסלול הביוסינתטי ע"י כרומטוגרפיה ברבדים דקים- Thin Layer Chromatography.)
 - 4) שימוש במונה קרינת beta ובפוספוראימאג'ר ^{32}P -phosphorimager לזיהוי ולכמת תוצרים מסומנים.
 - 5) עיכוב ביוסינתזה של ליפידים ע"י HEA, הורמון מונע השמנה.
 - 6) הקניית כללי בטיחות והרגלי עבודה בשימוש בחומר רדיואקטיבי.

הקורס ייתקיים במחצית השניה של הסמסטר. תאריכים מדויקים יפורסמו במהלך סמסטר א.

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:

דרישות קדם: הקורס ביוכימיה אנזימולוגיה ומטבוליזם או קורס מקביל לו.

נוכחות חובה (בהרצאה ובמעבדה)

הרכב ציון:

דוחות מעבדה 50%

הערכת מדריך 30%

בחנים : 20% . יתקיימו 6 בחנים קצרים בתחילת כל מעבדה