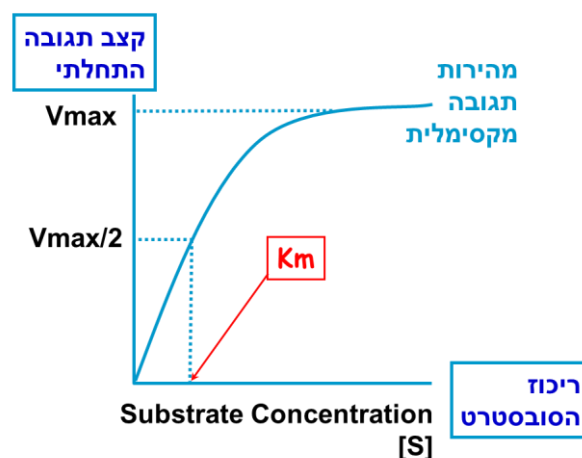


פתרון מוצע לבחינת מה"ט – ביוכימיה (92412)
מועד: קיץ תשע"ח, שהתקיימה בתאריך: 23/7/18 בעריכת: ד"ר נעמה הראל
- המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

חלק א: חלבונים, אנזימים וחילוף חומרים

שאלה 1 (אנזימים):

א. ערך K_m של אנזים הוא מדד לזיקה בין האנזים לסובסטרט. הערך מחושב כיחס בין קבועי המהירות של פירוק תצמיד האנזים-סובסטרט ליצירה שלו $K_2+K_3/K_1=K_m$. מכאן שכלל שה K_m קטן יותר הזיקה גבוהה יותר. דרך אחרת לחישוב היא ריכוז הסובסטרט עבורו מתקבלת מחצית מהמהירות המקסימלית של התגובה (ראו באיור המצורף). כל החישובים מתבססים על כך שנמדדת מהירות התחלתית ולכן התגובה היא לכוון התוצרים.



ב. טמפרטורה אופטימלית של אנזים היא הטמפרטורה בה התגובה האנזימטית מגיעה למהירות מיטבית. בתנאים אלו תנועת המולקולות מאפשרת צימוד יעיל בין האנזים לסובסטרט ופעילות קטליטית יעילה. כאשר מעלים את הטמפרטורה מעל לטמפרטורה האופטימלית האנזים שהוא חלבון ולכן רגיש לטמפרטורה מתחיל לשנות את מבנהו המרחבי (עובר דנטורציה) ומאבד את פעילותו.

ג. הסתכלות בטבלה המתארת ערך K_m של איזואנזימים מ3 חיידקים שחיים בטמפרטורות שונות:

1. החיידק התרמופילי הוא B כי ערך k_m שלו הכי נמוך ב45 מעלות

2. החיידק המזופילי הוא C כי ערך k_m שלו הכי נמוך ב28 מעלות

3. החיידק הפסיכופילי הוא C כי ערך k_m שלו הכי נמוך ב10 מעלות

ד. שני גורמים נוספים שמשפיעים על ערך K_m של אנזים:

pH- שינויים משפיעים על המטען של שיירי חומצות האמינו באתר הפעיל של האנזים וכן על שיירים בחלבון שחשובים לקביעת המבנה המרחבי שלו. מכאן ששינויים pH יכולים לפגוע באינטרקציות בין האנזים והסובסטרט ובכך לשנות את K_m

מוטציות נקודתיות- עלולות לפגוע בקישור הסובסטרט לאתר הפעיל, שמורכב בדרך כלל ממספר קטן של חומצות אמינו (לרוב בעלות יכולת ליצור קשרי מימן או קשרים יונים עם הסובסטרט) מעכב תחרותי- חומר שמתחרה עם הסובסטרט על קישור לאתר הפעיל המוסף לתמיסת האנזים- סובסטרט יגרום לעליה ב K_m .

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – ביוכימיה (92412)
מועד: קיץ תשע"ח, שהתקיימה בתאריך: 23/7/18 בעריכת: ד"ר נעמה הראל
- המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

שאלה 2 (מבנה חלבונים)

נתון פפטיד המורכב מ: (בקצה) 15 Asp, 12 Glu, 25 Tyr, 20 Gly, 4 Cys, 2 Lys.
א. לפפטיד 3 קבוצות אמיניות חופשיות (בקצה האמיני, 21 בשיירי הליזין) ו-28 קבוצות קרבוקסיליות חופשיות (בקצה הקרבוקסילי והשיירים של חומצה גלוטמית וחומצה אספרטית). יש 38 קבוצות CO ו-38 קבוצות NH בקשרים הפפטידים.
ב. הפפטיד ינדוד ב pH 6 אל האלקטרודה החיובית כי בתנאים אלו הגלוטמט והאספרטט מסרו את הפרוטון שעל השייר ולכן מטען הפפטיד יהיה שלילי $(-28) + 3 = -25$ הוא מטען הפפטיד נטו ב pH זה).
ג. הפפטיד הוא הידרופילי. השיירים של חומצה אספרטית, חומצה גלוטמית, וליזין מכילים שייר טעון. לטירוזין OH מחובר לטבעת וגליצין גם הוא מוגדר כהידרופילי על פי טבלת ההידרופתיות (ערך של -0.4). רק ציסטאין מוגדר כהידרופובי (בעל SH בשייר). מכאן יש בפפטיד 74 שיירים הידרופילים ורק 4 שיירים הידרופוביים.
ד. קשה לקבוע האם הפפטיד יצור מבנה סליל אלפא, כי הוא מכיל 20 שיירי גליצין, שהם קטנים וגמישים ולכן לא מייצבים סליל אלפא ונמצאים במבנה זה בשכיחות נמוכה. אין נתונים לגבי פיזור הגליצין בפפטיד ולכן אין לדעת אם יוכל מבנה זה להוצר או לא. מעבר לכך, סליל אלפא יוכל להוצר רק ב pH נמוך (מתחת ל pKa של חומצה אספרטית) כי הדחיה בין המטענים השלילים של האספרטט ובעקבותיה גם הגלוטמט) לא תאפשר את המשיכה בין החמצן מקבוצות אמיניות (NH) והמימן בקבוצות הקרבוקסיליות (CO) החיונית ליצירת קשרי המימן המייצבים מבנה זה. כיון שהליזינים ממוקמים בקצה, קשה לשער שתהיה תרומה משמעותית למשיכה בין מטענים מנוגדים של הליזין וחומצות האמינו החומציות לייצוב הסליל.
ה. הקשרים שייצבו את מבנה הפפטיד במרחב הם קשרים דיסולפידים. כיון שיש 4 ציסטאונים יכולים להוצר שני קשרים כאלו בפפטיד. מדובר בקשרים קוולנטים ולכן הם ישפיעו באופן מכריע על המבנה של החלבון. קשרים נוספים שחשובים למבנה הם קשרים יוניים בין מטענים מנוגדים וקשרי מימן. בקשרים אלו יוכלו להשתתף אספרטט, גלוטמט, טירוזין וליזין.
ו. ההיסטונים העשירים בליזין נקשרים לקבוצות הזרחה בחומצות הגרעין, הטעונות שלילית, בקשרים יוניים וכך יכולים לעטוף את ה DNA וליצור את מבנה הנוקלאוזום, המהווה בסיס לאריזת הכרומטין.

שאלה 3 (מעגל קרבס):

א. קבוצת האצטיל של מולקולת אצטיל קו A משתלבת בתהליכי מעגל קרבס. התוצר המתקבל במעגל זה מאטומי הפחמן של מולקולת האצטיל הוא פחמן דו חמצני. פחמן דו חמצני משתחרר בשלב 3 ו-4 של המעגל. פחמנים שנכנסו עם קבוצת האצטיל למעגל ישתחררו כ CO₂ רק בסיבוב השני או השלישי של מעגל קרבס. אטומי המימן של קבוצת האצטיל משמשים לחזור נשאי אלקטרונים, NAD⁺ ו FADH₁ ליצירת NADH ו FADH₂, אשר ימסרו אותם בהמשך לשרשרת הנשימה.
ב. חמצן הוא מקבל האלקטרונים האחרון בשרשרת מעבר האלקטרונים הממוקמת על הממברנה של המיטוכונדריה. בהעדר חמצן מצטברים נשאים האלקטרונים שלא יכולים למסור את המימנים לשרשרת. נשאים אלו מעכבים את

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – ביוכימיה (92412)

מועד: קיץ תשע"ח, שהתקיימה בתאריך: 23/7/18 בעריכת: ד"ר נעמה הראל

המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

האנזימים המזרזים את השלבים הבלתי הפיכים במעגל קרבס. באופן ספציפי מעוכבים האנזימים ציטראט סינתאז ואלפא קטוגלוטראט דהידרוגנאז על ידי NADH וכן האנזים פירובט דהידרוגנאז המזרז את שלב הפיכת פירובט לאצטיל קו A.

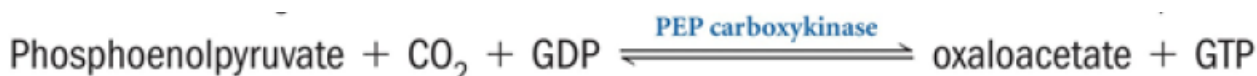
ג. מעגל קרבס הוא חלק אינטגרלי (בלתי נפרד) מתהליכי הפקת האנרגיה של גלוקוז בתא החי כי התוצרים הסופיים של חמצון הגלוקוז מתקבלים במעגל קרבס ובשלב יצירת אצטיל קו A מפירובט. התהליך כרוך בסיבוב מעגל קרבס פעמים- עבור כל פירובט שנוצר מפירוק הגלוקוז. 6 פחמן דו חמצני משתחררים בשלב יצירת אצטיל קו A 2) מולקולות) ובשלב 3 ו-4 במעגל קרבס (4 מולקולות בשני מעגלים). 10 NADH נוצרים בשלב יצירת אצטיל קו A (2 ל2 פירובט) ובשלב 3, 4 ו-8 במעגל (6 בשני מעגלי קרבס) וכן נוצרים 2 NADH בתהליך הגליקוליזה. גם שתי מולקולות ה FADH2 וה GTP נוצרות במעגל קרבס.

ד. 1. בתהליכים אנבוליים יש בניה של מולקולות מורכבות ממולקולות קטנות כגון מים, קבוצות אמיניות וכו. תהליכים אלו דורשים אנרגיה המסופקת על ידי תהליכים קטבוליים (תהליכי פירוק). תהליך אנבולי המנצל מולקולות של מעגל קרבס ליצירת חומרים אחרים הוא למשל סינתזה של חומצות שומן המתבססת על אצטיל קו A וציטראט, תוצר השלב הראשון של מעגל קרבס, היוצא מהמיטוכונדריה לצורך סינתזה של חומצות שומן בציטופלסמה בתאי כבד. סינתזה של חומצות אמינו ותגובות טרנסאמינציה משתמשות באלפא קטו גלוטרט שהוא תוצר שלב 3 במעגל.

2. תהליכים אנפלוטטיים המונעים דלדול של מטבוליטים במעגל קרבס: השלבים מגבילי המהירות של מעגל קרבס הם יצירת אצטיל קו A (התלויה בפרוק מקרומולקולות) ויצירת אוקסלואצטט ממלאט (תהליך שאינו מועדף אנרגטית בגלל שהדלתא G הוא 29 קילוג'אול למול). התגובות האנפלוטטיות נועדו אם כן, לספק אוקסלואצטט ולבקר את רמתו. דוגמאות: I יצירת אוקסלואצטט מפירובט בעזרת האנזים פירובט קרבוקסילאז. תגובה זו מזרזת כאשר יש עודף של אצטיל



II יצירת אוקסלואצטט מפוספואנול פירובט. תגובה שהיא הפיכה לשלב במעקף הראשון של הגלוקונאוגנזה



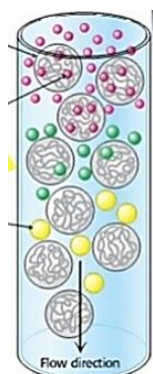
שאלה 4 (ניקוי חלבון):

א. שיטות הפרדה:

מסננת מולקולרית:

עקרון ההפרדה: בשיטה זו מופרדים חומרים לפי גודל. הפאזה הנייחת מורכבת מגרגרים בעלי חריצים.

רק מולקולות קטנות יוכלו לעבור דרך החריצים ולכן הן ישתחו זמן ממושך יותר בקולונה ויצאו אחרונות. מולקולות גדולות, שאינן נתקעות במחילות, יצאו ראשונות. מכאן שסינון מולקולרי הפוך מסינון רגיל, בו החלקיקים הגדולים נתקעים והקטנים יוצאים.

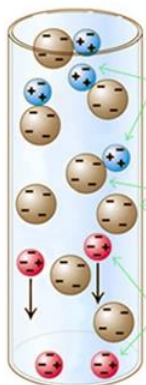


פתרון מוצע לבחינת מה"ט – ביוכימיה (92412)

מועד: קיץ תשע"ח, שהתקיימה בתאריך: 23/7/18 בעריכת: ד"ר נעמה הראל

- המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

כרומטוגרפיה במחליפי יונים:



עקרון ההפרדה: בשיטה זו ניתן להפריד בין חומרים הנקשרים לפאזה נייחת בעלת מטען נגדי. הפזה הנייחת מורכבת מפולימרים בעלי משקל מולקולרי גבוה המכילים מספר רב של קבוצות פונקציונליות טעונות חיובית או שלילית. החלבונים יקשרו על פי מטענם בpH מוגדר. על מנת להוציא את החלבונים שנקשרו למחליף יש לשנות את pH או להעלות את ריכוז המלח, שיתחרה עם החלבון על הקישור לגרגרים.

מחליף אניונים – הפאזה נייחת טעונה חיובית וקושרת מולקולות טעונות שלילית.

מחליף קטיונים – הפאזה הנייחת טעונה בקבוצות שליליות וקושרת מולקולות טעונות חיובית.

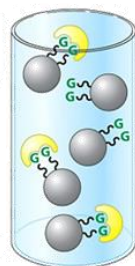
כרומטוגרפית זיקה:

עקרון ההפרדה: כרומטוגרפית זיקה היא שיטה להפרדת ולניקוי חומרים מתערובת המתבססת על אינטרקציה ספציפית בין מולקולה ביולוגית אחת לאחרת כגון: נוגדן ואנטיגן, אנזים וסובסטרט או רצפטור וליגנד.

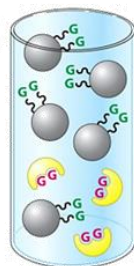
שיטה זו הומצאה לפני 30 שנה וחוללה מהפכה בביולוגיה

המודרנית. זוהי השיטה הטובה ביותר לניקוי מולקולות ביולוגיות.

**קישור
למולקולה
ספציפית
הצמודה
לגרגרים**



**הוספת
המולקולה
הספציפית
כמתחרה
לצורך
האילוצה**



- ב. על פי התוצאות החוקרים הצליחו לנקות את האנזים מתערובת החלבונים שכן הפעילות הספציפית במיצוי הגולמי היתה נמוכה (1.7 למ"ג חלבון) בעוד שבמבחנות האילוצה הפעילות הספציפית היתה גבוהה (7.3 למ"ג חלבון).
- ג. ההעשרה שהתקבלה בשיטת המסננת המולקולרית בהשוואה למילוי הגולמי מחושבת על פי היחס של הפעילות הספציפית באילוצה ביחס לפעילות הספציפית במיצוי הגולמי ועומדת על $4.29 = 7.3 / 1.7$.
- ד. עמודת מחליפי יונים טעונה שלילית קושרת מולקולות טעונות חיובית (מחליפת קטיונים). אם מרבית הפעילות האנזימטית התקבלה במבחנות השטיפה סימן שב $pH=6$ האנזים היה טעון ביותר מטענים שליליים מאשר חיוביים, כי יצא מהקולונה. מכאן שהנקודה האיזואלקטרית שלו (בה יש שוויון בין מספר המטענים השליליים והחיוביים) קטנה מ-6.

ה. הפעילות הספציפית בכל אחד מן המקטעים שנבדקו לאחר ניקוי האנזים בכרומטוגרפית זיקה:

$$\text{מיצוי גולמי} - 1.5 = 18/12$$

$$\text{מבחנות השטיפה} - 0.03 = 0.2/6$$

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – ביוכימיה, מועד: קיץ תשע"ח, שהתקיימה תאריך: 23/7/18

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – ביוכימיה (92412)

מועד: קיץ תשע"ח, שהתקיימה בתאריך: 23/7/18 בעריכת: ד"ר נעמה הראל

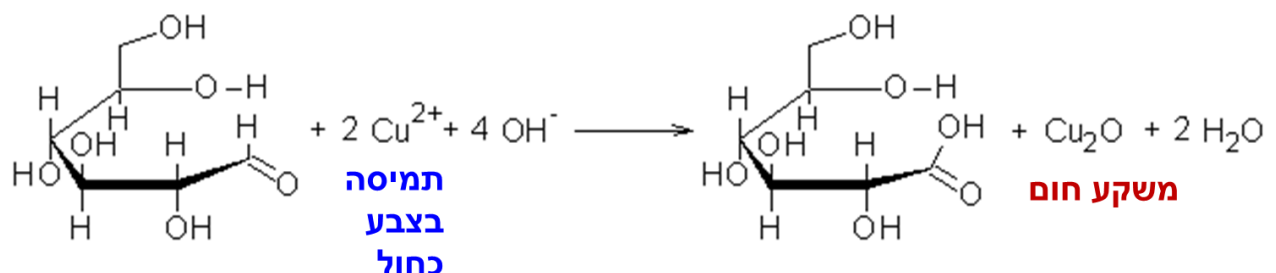
- המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

מבחנות האילוציה- 10/0.2=50

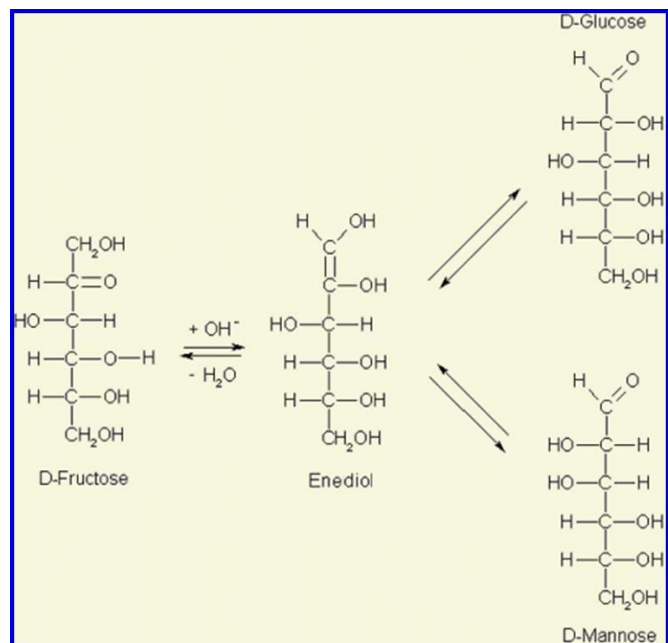
חלק ב: סוכרים וליפידים

שאלה 5 (סוכרים)

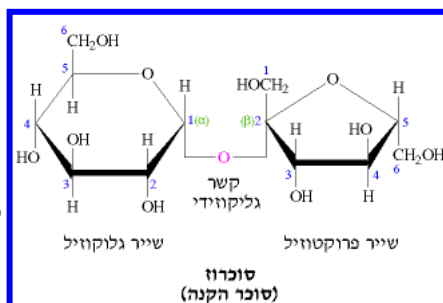
א. זיהוי סוכרים מחזרים מתבצע בסביבה בסיסית באמצעות ריאגנט בנדיקט או פהלינג. ריאגנטים אלה הם אינדיקטורים המכילים יוני נחושת Cu^{2+} . כאשר יוני הנחושת Cu^{2+} מתחזרים ליוני Cu^+ הם הופכים את צבע התמיסה מכחול לאדום ותחמוצת הנחושת החומה הנוצרת שוקעת בתמיסה, כרשום בתגובה הבאה:



בסביבה בסיסית הקטוזות, כמו פרוקטוז, עוברות טאוטמריה קטוז-אלדוז דרך מצב ביניים אנדול, וכתוצאה מכך הופך אחוז קטן מהן לאלדוזות, ולהיפך. כך שמתפתח שיווי משקל בין שני האיזומרים. כמות קטנה זו של האלדוז מגיבה עם הריאגנטים המחמצנים. התגובה מתוארת באיור הבא:



ב. סוכרוז אינו נותן תגובה חיובית בבדיקת פהלינג. הפחמן האנומרי של הפרוקטוז במולקולת הסוכרוז מחובר בקשר קבוצת הקטו לא יכולה לעבור טאוטמריה לתגובת חמצון חיזור. מבנה הסוכרוז:



, שהתקיימה תאריך: 23/7/18

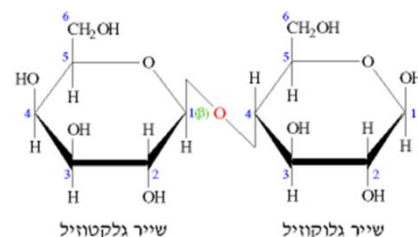
פתרון מוצע לבח

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – ביוכימיה (92412)

מועד: קיץ תשע"ח, שהתקיימה בתאריך: 23/7/18 בעריכת: ד"ר נעמה הראל

- המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

ג. דוגמה נוספת לדו סוכר המגיב בתגובת פהלינג: לקטוז. דו סוכר זה מורכב מגלקטוז המחובר בקשר 1-4 למולקולת גלוקוז. הפחמן האנומרי על מולקולת הגלוקוז חופשי להשתתף בתגובת חמצון חיזור. מבנה הלקטוז:



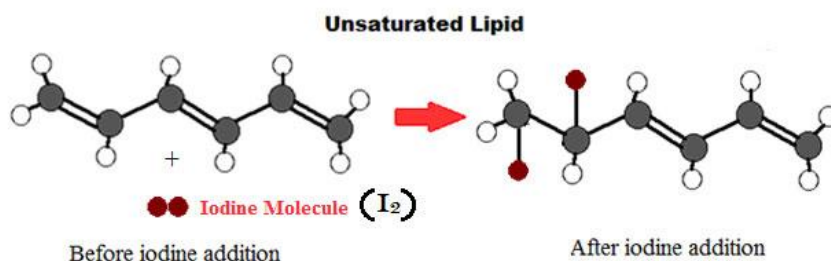
ד. דוגמה נוספת לקבוצת סוכרים שאינה מגיבה בתגובת פהלינג: רב סוכרים כמו עמילן וגליקוגן לא מגיבים כיון שהם ארוזים בצורת גרגרים צפופים והקצוות המחזרים שלהם לא זמינים לתגובה עם יוני הנחושת. בעקבות פירוק חלקי הם יוכלו להגיב.

שאלה 6 (שומנים)

א. ניתן לקבוע את מספר הפחמנים בחומצה השומנית בעזרת תגובת סיבון. בתגובה זו מרתיחים שמן המומס באתנול בנוכחות בסיס חזק כמו NaOH או KOH. לאחר התגובה מודדים את כמות הבסיס שנותר על ידי טיטרציה עם חומצה חזקה ומחשבים את מספר הסיבון. ממספר הסיבון ניתן להגיע למשקל המולקולרי של חומצת השומן ולהשתמש בו על מנת לקבוע את מספר הפחמנים במולקולה. מספר סיבון של חומצת שומן מחושב לפי הנוסחה הבאה:

$$\text{מספר סיבון} = \frac{1000 \times \text{מספר מול אשלגן הידרוקסידי למול שומן} \times M(KOH)}{M_w(\text{lipid})}$$

ב. ניתן לקבוע את מספר הקשרים הכפולים בחומצה השומנית על פי תגובת סיפוח יוד. היוד נקשר לקשרים הכפולים



בחומצת השומן כמודגם להלן:

מספר היוד מחושב על פי הנוסחה הבאה:

$$\text{מספר יוד} = \frac{100 \times \text{מספר הקשרים הכפולים בטריגליצריד} \times M(I_2)}{M_w(\text{lipid})}$$

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – ביוכימיה, מועד: קיץ תשע"ח, שהתקיימה תאריך: 23/7/18

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – ביוכימיה (92412)

מועד: קיץ תשע"ח, שהתקיימה בתאריך: 23/7/18 בעריכת: ד"ר נעמה הראל

המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

אם ידוע המשקל המולקולרי של חומצת השומן ניתן לחשב כמה קשרים כפולים היא מכילה.

ג. נקודות ההיתוך של חומצות השומן בטבלה 4 :

חומצה סטארית- 69 מעלות צלזיוס.

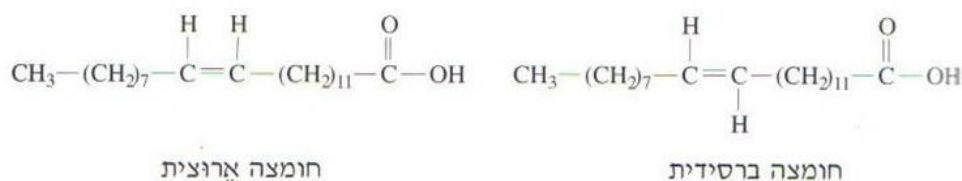
חומצה אולאית- 16 מעלות צלזיוס

חומצה לינולאית- 13 מעלות צלזיוס.

שלושת החומצות הן באותו אורך אך נבדלות במספר הקשרים הכפולים. חומצה סטארית היא רוויה ולכן הקשרים הבין מולקולרים בחומצה זו החזקים ביותר מבין 3 נקודות ההתכה שלה הגבוהה ביותר. חומצה אולאית היא בעלת קשר כפול אחד ואילו לחומצה לינולאית שני קשרים כפולים, מכאן שלחומצה לינולאית נקודת התכה נמוכה יותר מאולאית, כי נוכחות קשר כפול נוסף מחלישה יותר את הקשרים הבין מולקולרים ולכן המעבר ממוצק לנוזל מתבצע בטמפרטורה נמוכה יותר.

ד. כן, יתכן שלשתי חומצות שומניות עם אותו מספר של פחמנים ומימנים תהיינה נקודות היתוך שונות אם חומצה אחת היא בסידור ציס מסביב לקשר הכפול והשניה היא בסידור טרנס. סידור טרנס הוא יציב יותר ולכן נקודת ההתכה של חומצת שומן טרנס גבוהה יותר. לדוגמה :

נקודות ההיתוך של חומצה בריסידית ושל חומצה אַרוצית הן 62°C ו- 34°C , בהתאמה:



שאלה 7 (רב סוכרים):

א. גליקוגן ועמילן מתאימים לשמש כמאגר פחמימות בתאים יותר מאשר מולקולת גלוקוז מהסיבות הבאות :

(1) מולקולות גלוקוז בודדות היו ממלאות את כל הציטופלסמה ואילו העמילן והגליקוגן מכילים המון

מולקולות גלוקוז (עד מליון בעמילופקטין וכ-50,000 בגליקוגן) שארוזות בצורה צפופה, במבנה של גרגרים מפותלים התופסים מקום "קטן ככל האפשר".

(2) מאגר של מולקולות גלוקוז בציטופלסמה היה משפיע על האוסמולריות בתא אבל גרגרי העמילן והגליקוגן הם בלתי מסיסים. יש לציין שגרגרי עמילן ארוזים בתאי צמחים באברונים מיוחדים-

עמילופלסטים, בעוד שגרגרי הגליקוגן נמצאים בציטופלסמה של תאי כבד ושריר.

(3) מולקולות גליקוגן ועמילן לא יכולות לצאת מהתא בגלל גודלן בעוד שמולקולות גלוקוז יכולות לצאת

דרך טרנספורטרים ממשפחת GLUT כן שבשביל לאגור אותן בתא יש לעשות להן מודיפקציה שתמנע את בריחתן מהתא.

ב. תכונה משותפת למבנה של עמילן וגליקוגן : שניהם מתבססים על קשרי אלפא 1-4 ו-1-6 בין מולקולות הגלוקוז.

ג. מבנה העמילן הוא פחות מסועף ממבנה הגליקוגן. בעמילופקטין יש סיעוף 1-6 על כל 24-30 קשרים 1-4. בגליקוגן

יש סיעופים 1-6 כל 8-12 שיירי גלוקוזיל הקשורים בקשר 1-4. בנוסף, עמילן מכיל אלפא עמילוז היוצר מבנה של

סליל אלפא בקצוות הגרגרים.

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – ביוכימיה (92412)

מועד: קיץ תשע"ח, שהתקיימה בתאריך: 23/7/18 בעריכת: ד"ר נעמה הראל

- המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

ד. הגליקוגן בנוי בצורת גרגרים נקבוביים שמאפשר גישה לאנזימים המפרקים סוכרים. למרות שאין לגליקוגן הרבה קצוות מחזרים חופשיים, האנזים העיקרי שפעיל בפירוק גליקוגן, גליקוגן פוספורילאז, פועל על הקצוות הבלתי מחזר, אנזים נוסף פועל להתרת הסיעופים ויצירת סובסטרטים מתאימים לפעילות הגליקוגן פוספורילאז. אנזים זה קושר קבוצות זרחה ומזרחן כל מולקולת גלוקוז בעת פרוקה מהגליקוגן, וכך מולקולות הגלוקוז יכולות להמשיך מידית לתהליך הגליקוליזה, או לחלופין, לתהליך הגלוקונאוגנזה, התלוי בכניסה של הגלוקוז 1 פוספט לרטיקולום האנדופלסמטי.

ה. מבנה העמילן דומה למבנה הגליקוגן, כך שמבחינה זו הוא מתאים לפרוק יעיל. פירוק העמילן בצמח לא נלמד במסגרת הקורס. פירוק עמילן שמגיע מהמזון לגוף בעל חיים מתחיל בדרך כלל מהפה, בלוטות הרוק מכילות עמילאזות אשר מפרקות את העמילן לאוליגוסוכרים ולדו סוכרים. תהליך הפירוק ממשיך בגבול הנברשת של תאי האפיתל במעי שם מצויים אנזימים המפרקים דו סוכרים לחד סוכרים כגון מלטאז.

ו. ניתן לעקוב אחר הפירוק הפוספורוליטי של גליקוגן בעזרת מגיב סמנר שכן גליקוגן אינו מחזר אך גלוקוז, תוצר הפירוק שלו, הוא סוכר מחזר אשר יגרום ליצירת צבע כתום-חום בנוכחות ריאגנט סמנר. את תוצרי התגובה ניתן יהיה למדוד בספקטרופוטומטר.

חלק ג: חומצות גרעין

שאלה 8 (מוטציות ב-DNA):

השפעת מוטציות נקודתיות על האנזים X

א. מוטציה נקודתית היא שינוי של בסיס אחד ברצף DNA. המוטציה עלולה לגרום במצב החמור ביותר לשינוי בחומצה אמינית בודדת או לשינוי גדול ברצף המקודד לחלבון וליצירת חלבון לא פעיל. דבר זה עלול לפגום בתפקוד התא וכן בתפקוד האורגניזם כולו אם המוטציה מתרחשת בתאי המין. מוטציה נקודתית קורית לרוב כתוצאה מטעויות ספונטניות בשלב הכפלת DNA או כתוצאה מחשיפה לגורמים מוטגנים כגון קרינה מיננת וחומרים כימיים שמשפיעים על DNA.

ב. אם מהחלפת G ל C התקבל אנזים במשקל מולקולרי זהה אך חסר פעילות סביר להניח שמדובר במוטציה החלפה של חומצה אמינית אחת באחרת. אם ההחלפה פגעה למשל בחומצה אמינית החשובה לקישור הסובסטרט באתר הפעיל של האנזים, יתכן שהאנזים לא יוכל כעת לבצע את פעילותו כי לא יוכל לקשור את הסובסטרט. לדוגמה: אם באתר הפעיל של אנזים נמצאת החומצה האמינית ליזין הקושרת את הסובסטרט בקשר יוני החלפה של הקודון לארגינין AGG לקודון ACG יוביל לקבלת תריאונין שאינה יכולה ליצור קשר יוני.

ג. אם מהחלפת G ל C התקבל אנזים במשקל מולקולרי זהה ובעל פעילות תקינה סביר להניח שמדובר במוטציה nonsense בה השינוי בנוקלאוטיד לא גרם לשינוי בחומצה אמינית. לדוגמה: שני הקודונים CGG ו CGC מקודדים לחומצה האמינית ארגינין.

ד. החלפת נוקלאוטיד G בנוקלאוטיד אחר יכולה לגרום לכך שלא ייוצר חלבון כלל אם המוטציה פגעה באתר הקישור של הריבוסום לדוגמה ומנעה תחילת תרגום. רצף הקונצנזוס קוואק למשל נחוץ לתחילת תרגום

באוקריוטים ומכיל שיירי G : AUGGccRcc (gcc)

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – ביוכימיה (92412)

מועד: קיץ תשע"ח, שהתקיימה בתאריך: 23/7/18 בעריכת: ד"ר נעמה הראל

- המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

ה. החלפת נוקלאוטיד אחד בנוקלאוטיד אחר יכולה לגרום ליצירת אנזים קצר יותר. למשל, כאשר מוחלף קודון לחומצה אמינית שנמצאת באמצע רצף החלבון בקודון פסק. לדוגמה: החלפה נקודתית של G בקודון לטרפטופן UGG אל תיצור את קודון הפסק UGA ותסמן לעצירת התרגום.

ו. מוטצית חסר היא מוטציה הגורמת להחסרה של מספר בסיסים או של קטע DNA. מוטציה זו עלולה לשבש יותר את מבנה האנזים מאשר מוטציה נקודתית כי יתכן שיחסר קטע גדול הנחוץ לתפקוד האנזים. בנוסף, החסר לא ישמור בהכרח על מסגרת הקריאה והסטה של מסגרת הקריאה עלולה לגרום לקבלת חלבון שונה לחלוטין לאחר האזור החסר. דוגמה למוטצית חסר ששומרת על מסגרת הקריאה: חסר של החומצה האמינית פנילאלנין 508 בגן CFTR שהוא גורם שכיח למחלת הציסטיק פיברוזיס.

ז. אקסונים הם אזורים המקודדים לחלבון ונכללים ב-mRNA שיוצא מהגרעין לציטופלסמה ומתורגם לחלבון. אינטרונים הם קטעים של נכללים ב-RNA הבשל ומסולקים במהלך העיבוד של RNA בגרעין בתהליך הקרוי שחבור (splicing). אזורים אלה משמשים לעיתים לבקרה על תהליך השחבור.

ח. מוטציות באזור האקסונים יכולות להתבטא ברמת החלבון התורגם, בעוד מוטציות באזור האינטרונים לא ישפיעו במקרים רבים על החלבון שנוצר. כאמור, לעיתים מוטציות באינטרונים משפיעות על עיבוד RNA וגורמות לשחבור חלופי שבא לידי ביטוי גם ברמת החלבון.

שאלה 9 (מבנה DNA ו-RNA)

- א. במקטע א- 30% G, 30% C, 20% A, 20% T
 - ב. במקטע ב- 20% G, 20% C, 30% A, 30% T
 - ג. במקטע ג- 15% G, 15% C, 35% A, 35% T
- החישוב מתבסס על כך שה-DNA הוא דו גדילי ובו G מזווג תמיד עם C ו-A מזווג תמיד עם T.
- ב. לא ניתן לחשב את תכולת הנוקלאוטידים במולקולת RNA על פי הידע על תכולת אחד מסוגי הנוקלאוטידים כי RNA הוא חד גדילי.
- ג. למקטע א יש את נקודת ההיתוך הגבוהה ביותר ולמקטע ג יש את נקודת ההתכה הנמוכה ביותר, כי הנוקלאוטידים G ו-C מחוברים זה לזה ב3 קשרי מימן בעוד הנוקלאוטידים A ו-T מחוברים זה לזה בשני קשרי מימן. משום כך יש לחמם קטע עשיר ב-C-G לטמפרטורה גבוהה יותר על מנת לפרק את קשרי המימן.
- ד. הקשרים המייצבים מבנה דו גדילי של DNA הם קשרי מימן בין הבסיסים וקשרים קוולנטים בין השלד החיצוני של הסוכר והזרחה.
- ה. הכפלת ה-DNA:

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – ביוכימיה (92412)

מועד: קיץ תשע"ח, שהתקיימה בתאריך: 23/7/18 בעריכת: ד"ר נעמה הראל

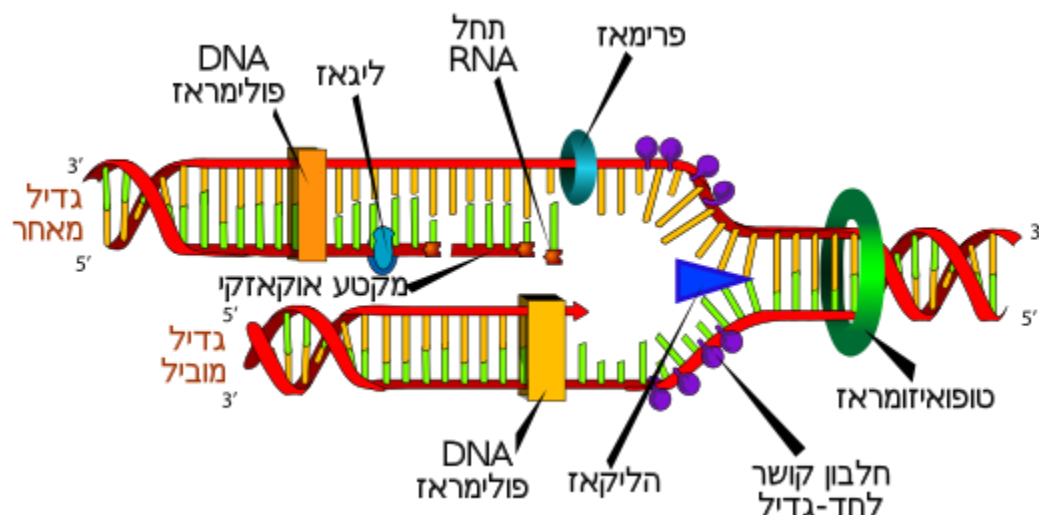
המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

שכפול הדנ"א צריך להתבצע בדיוק רב. מעורבים בו אנזימים רבים, שפותחים את הדנ"א, מסנתזים את הגדילים המשלימים לרצפים הקיימים וכמובן עושים בקרת איכות כדי למנוע שגיאות. התהליך מורכב משני חלקים עיקריים: פתיחת הדנ"א וסינתזה שלו. בשלב הראשון האנזים הליקאז פותח אזורים בדנ"א ליצירת מזלג ההכפלה בו מצבצעת הכפלה מקבילה של שני הגדילים, שכל אחד מהם משוכפל בנפרד.

גדיל הדנ"א המוביל הוא הגדיל שהדנ"א מסונתז עליו מקצה 5 לקצה 3 (בהתא למבנה מולקולת ה-DNA) על ידי האנזים דנ"א פולימראז. הכפלת הגדיל השנייה בעיתית: הדנ"א פולימראז איננו יכול לייצר DNA מכוון 3 ל 5, כך שהוא לא יכול לסנתז ברצף את הגדיל המשלים ולכן גדיל זה חייב מסונתז בקטעים קטנים שנקראים מקטעי אוקוזקי.

אחת המגבלות של הדנ"א פולימראז היא שהוא זקוק לפרימר על מנת להתחיל. לשם כך קיים האנזים RNA פרימאז, שיוצר קטעים משלימים קטנים של RNA על הגדיל המשלים (פריימרים), והדנ"א פולימראז "מתיישב" עליהם ומסנתז את הדנ"א. אנזים נוסף מחליף את מקטע ה-RNA בדנ"א, ולבסוף האנזים ליגאז מחבר את הקטעים השונים וסוגר את הדנ"א החדש: כל מולקולת DNA חדשה מורכבת מגדיל אחד ישן וגדיל אחד חדש.

ניתן לבצע את תהליך השכפול במבחנה בשיטת ה-PCR. בשיטה זו משתמשים באנזים Taq polymerase שהופק במקור מחיידק תרמופילי ולכן יכול לשרוד את הטמפרטורה הגבוהה הנדרשת להפרדה בין הגדילים. בהמשך משתמשים בפרימרים משני צידי הקטע שרוצים להגביר ועושים סינתזה בעזרת האנזים. מחזורים עוקבים של דנטורציה, צימוד הפרימרים והסינתזה מאפשרים הכפלה יעילה במבחנה של מקטע DNA ספציפי. שיטה זו שימושית מאוד במחקר ובתעשייה הביוטכנולוגית.



פתרון מוצע לבחינת מה"ט – ביוכימיה, מועד: קיץ תשע"ח, שהתקיימה תאריך: 23/7/18

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – ביוכימיה (92412)

מועד: קיץ תשע"ח, שהתקיימה בתאריך: 23/7/18 בעריכת: ד"ר נעמה הראל

- המכללה הטכנולוגית להנדסאים אודו בראודה

שאלה 10 :

10.1

א. הסבר : במחליף יונים גרגרי הקולונה טעונים במטען + או - וקושרים חומר הטעון במטען מנוגד. חומצות אמינו הנבדלות זו מזו בנקודה האיזואלקטרית יקשרו במידה שונה לגרגרים, שתשתנה עם שינוי pH או בריכוז המלח.

10.2

ב. הסבר : רק בתנאים אלו השייר של חומצה גלוטמית טעון שלילית ואילו השייר של ליזין טעון חיובית

10.3

ב. הסבר : המהירות המקסימלית תלויה ישירות בריכוז האנזים במערכת ומחושבת על פי הנוסחה : $V_{max} = E_t \times K_{cat}$ (ריכוז האנזים הכולל כפול מספר המחזור). לעומת זאת K_m הוא מדד לזיקה בין האנזים לסובסטרט שאינה תלויה בריכוז האנזים.

10.4

ב. הסבר : pH האיזואלקטרי של חלבון המטען נטו על פני החלבון הוא אפס, מכאן שמספר המטענים השליליים שווה למספר המטענים החיוביים על פני החלבון. בתנאים אלו נוצרים קשרים בין מולקולות החלבון והוא שוקע בתמיסה.

10.5

א. הסבר : בחמצון בטא של חומצות שומן כל שני פחמנים בחומצת השומן הופכים לאצטיל קו A שנכנס למעגל קרבס. ככל שמספר הפחמנים בחומצה קטן יותר יוצרו פחות מולקולות של אצטיל קו A.

10.6

ב. הסבר : במעגל האוריאה האמוניה הרעילה לגוף הופכת לאוריאה המופרשת בשתן

10.7

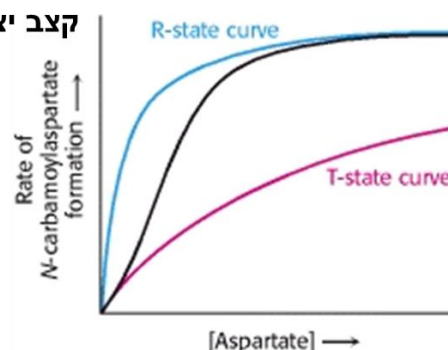
א. במולקולת דנא דו גדילית יש זוג בסיסים A מזווג עם T ו-G עם C. לכן מספר האדנין במולקולה שווה למספר התימין. כלל זה לא חל על מולקולת דנא חד גדילית או על מולקולת רנא.

10.8

ג. בגרף של פעילות ביחס לריכוז המצע יזוהה אנזים אלוסטרי על פי העקומה הסיגמואידית שמראה עליית הזיקה של האנזים למצע בעקבות קישור המצע גורם למעבר של האנזים ממצב T למצב R.

קצב יצירת התוצר

V



(סובסטרט (אספרטט)

10.9

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – ביוכימיה (92412)

מועד: קיץ תשע"ח, שהתקיימה בתאריך: 23/7/18 בעריכת: ד"ר נעמה הראל

- המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

ג. המוגלובין בעל P50 נמוך הוא בעל זיקה חזקה יותר לחמצן. לכן יקשור חמצן טוב יותר בריאות וישחרר אותו טוב פחות לרקמות. בשלב המסירה לרקמה הזיקה של ההמוגלובין לחמצן יורדת בשלב לחץ החמצן הנמוך והפעילות של הרקמה.

10.10

ב. הפלסמיד הוא מולקולה מעגלית קטנה שמצויה בחיידקים. מולקולה זו יכולה להכנס בטרנספורמציה לחיידק ולהשמר בחיידק אם היא מקנה לו תכונה רצויה כגון עמידות לסלקציה על ידי אנטיביוטיקה. הפלסמיד מכיל מוצא הכפלה המאפשר לו להתרבות בתוך החיידק.