



### חקר האנזים ליזוזים:

א. בדיקה לפעילות האנזים ליזוזים ברוק- תצפית מכוונת:

1. נסח שאלת מחקר, וציין מהו המשתנה המשפיע ומהו המשתנה המושפע:

---

---

---

2. וודא עם המדריך שהספקטרופוטומטר מכוון לאורך גל של 450nm.

3. סמן שתי מבחנות זכוכית: אחת במספר 1 והשנייה במספר 2

מבחנה מספר 1:

4. הוסף למבחנה 5.5 מ"ל מים.

5. הכנס את המבחנה לספקטרופוטומטר ואפס את המכשיר ע"י לחיצה על הכפתור הכחול- כפתור ה"איפוס".

6. הוצא את המבחנה מהספקטרופוטומטר, והוסף למבחנה 0.5 מ"ל תרחיף דפנות חיידקים.

7. ערבב היטב בוורטקס.

8. הכנס את המבחנה מייד לספקטרופוטומטר. לחץ על הכפתור הירוק "קריאה" ורשום את קריאתך

9. מידי 15 שניות לחץ שוב על כפתור ה"קריאה" ע"מ לעקוב אחרי השינוי בעכירות. רשום את קריאותך, כל 15

שניות במשך דקה:

שינוי בעכירות דפנות חיידקים במים	
עכירות (OD)	זמן (שניות)
	0
	15
	30
	45
	60

האם היה שינוי בעכירות עם הזמן? מהי הסיבה לדעתך?

---

---



מבחנה מספר 2:

10. על שולחן תמצא כוס חד פעמית עם מים. שטוף (גרגר) היטב את פיך במים אלו במשך 30 שניות. השתדל להוסיף רוק למים.
11. בעזרת פיפטה של 10 מ"ל העבר 5.5 מ"ל תמיסת רוק למבחנת זכוכית.
12. הסתכל על תכולת המבחנה, ורשום האם היא שקופה? מעט עכורה? \_\_\_\_\_
13. הכנס את המבחנה לספקטרופוטומטר ואפס את המכשיר ע"י לחיצה על הכפתור הכחול- כפתור ה"איפוס".
14. הוסף למבחנה 0.5 מ"ל תרחיף דפנות חיידקים.
15. ערבב היטב בוורטקס.
16. הכנס מיד את המבחנה לספקטרופוטומטר. לחץ על הכפתור הירוק "קריאה" ורשום את קריאתך
17. מידי 15 שניות לחץ שוב על כפתור ה"קריאה" ע"מ לעקוב אחרי השינוי בעכירות. רשום את קריאותך בטבלה, כל 15 שניות במשך דקה:

שינוי בעכירות דפנות חיידקים ברוק	
זמן (שניות)	עכירות (OD)
0	
15	
30	
45	
60	

18. האם היה שינוי בעכירות עם הזמן? מהי הסיבה לדעתך?

---

---

---



סיכום התצפית המכוונת ושאלות המשך:

1. מדוע היה חשוב לאפס את הספקטרום של המבחנה מספר 1 במים, ובמבחנה מספר 2 ברוק?

---

---

2. שרטטו גרף המתאר את השינוי בעכירות תרחיף הדפנות במים לעומת תרחיף דפנות ברוק עם הזמן.

3. מהן מסקנותיכם מהניסוי?

---

---

4. מדוע לדעתך, חשוב היה לאסוף נתונים ממספר רב של תלמידים?

---

---

5. נסחו שאלת המשך, וציינו מהם המשתנים (משפיע ומושפע) בניסוי.

---

---

6. נסחו השערה לשאלתכם.

---

---



**אופציה ב': כל קבוצת תלמידים תבצע אחד מהניסויים שלהלן:**

**ניסוי מספר 1: בדיקת השפעת ריכוז האנזים ליזוזים על קצב הפעילות האנזימטית:**

**מהלך הניסוי:**

1. בעזרת עט סימון סמן 3 מבחנות במספרים 1,2,3.
  2. בעזרת פיפטה, העבר 3 מיליליטר בופר פוספט pH=6.3, לכל אחת מהמבחנות.
  3. כוון פיפטור של 1000 מיקרוליטר ל-500 מיקרוליטר והלבש טיפ כחול.
  4. הוסף למבחנה מספר 1 עוד 500 מיקרוליטר בופר פוספט.
  5. הוסף למבחנה מספר 2 500 מיקרוליטר ליזוזים (בריכוז 0.025 מ"ג למ"ל).
  6. הוסף למבחנה מספר 3 500 מיקרוליטר ליזוזים (בריכוז 0.05 מ"ג למ"ל).
- הערה למדריך:** אם יש על המגש תמיסת ליזוזים בריכוז הגבוה בלבד, **שנו את סעיף 5:** הוסיפו למבחנה 250 מיקרוליטר ליזוזים + 250 מיקרוליטר בופר פוספט.
7. הכנס את מבחנה מספר 1 לאמבט של 37 °C למשך 2-3 דקות.
  8. ערבב את תכולת המבחנות בוורטקס.
  9. כוון את הספקטרופוטומטר לאורך גל 450nm.
  10. אפס את הספקטרופוטומטר בעזרת מבחנה המכילה מים, הנמצאת במעמד המבחנות.
  11. כוון את שעון-העצר (סטופר) ל דקה. **אל תפעיל** עדיין את הסטופר!
- תחילת התגובה האנזימטית:** שימו לב: מרגע שתוסיפו את דפנות החיידקים, מתחילה התגובה האנזימטית. ולכן- עליכם לעבוד בזריזות רבה, ולבצע מדידות **כל דקה** בדיוק!
12. כוון פיפטור של 1000 מיקרוליטר ל-500 מיקרוליטר והלבש טיפ כחול.
  13. הוצא את מבחנה מספר 1 מהאמבט.
  14. הוסף למבחנה מס' 1 500 מיקרוליטר **דפנות** חיידקים.
  15. **ערבב** את תכולת המבחנה בוורטקס **ובמהירות** קרא את הבליעה במבחנת הניסוי. רשום את הקריאה בטבלה שלהלן.
  16. הפעל את שעון-העצר.
  17. **חזור** במהירות האפשרית את המבחנה **לאמבט** בטמפרטורה 37 °C.
  18. לאחר דקה הוצא את המבחנה מן האמבט.
  19. **ערבב** את תכולת המבחנה בוורטקס.
  20. **נגב** המבחנה היטב ממי האמבט **וקרא במהירות** את הבליעה. **רשום** את הקריאה.
  21. **חזור** את המבחנה **לאמבט** בטמפרטורה 37 °C.
  22. חזור על שלבים 11-22 עם מבחנה מס' 2.
  23. חזור על שלבים 11-22 עם מבחנה מס' 3.

חזור על שלבים  
18-21 כל דקה  
למשך 5 דקות.



עכירות [OD <sub>(450)</sub> ] תערובת הריאקציה			
0.05	0.025	0	ריכוז האנזים (מ"ג/מ"ל)
			זמן (דקות)
			0
			1
			2
			3
			4
			5

1. שרטט גרף של התוצאות (במחשב).
2. תאר את התוצאות באופן מילולי. בתיאור התייחס למגמות הנראות בגרף ובטבלה.
3. מהי הבקרה בניסוי?
4. ציין שני גורמים שנשמרו קבועים בניסוי (משתנים-קבועים).
5. הסבר מדוע חשוב לשמור אותם קבועים?
6. חשב את קצב פעילות האנזים בשניה (חישוב הקצב: ערך ירידה בעכירות ב 30 שניות/30) בכל אחד מהתנאים
7. שרטט גרף המתאר את התלות בין ריכוז האנזים לקצב פעילות האנזים/שניה.
8. מהן מסקנותיך מהניסוי?



**ניסוי מספר 2 : בדיקת השפעת הטמפרטורה על קצב הפעילות האנזימטית של האנזים ליזוזים:**

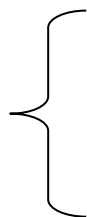
**מהלך הניסוי:**

1. בעזרת עט סימון סמן 3 מבחנות במספרים 1,2,3.
2. בעזרת פיפטה, העבר 3.5 מיליליטר בופר פוספט pH=6.3, לכל אחת מהמבחנות.
3. כוון פיפטור של 1000 מיקרוליטר ל-500 מיקרוליטר והלבש טיפ כחול.
4. הוסף למבחנה מספר 1 500 מיקרוליטר מהאנזים ליזוזים.
5. ערבב את תכולת המבחנות בוורטקס.
6. הוסף גם לכל אחת ממבחנות מספר 2 ו 3 500 מיקרוליטר מהאנזים ליזוזים.
7. כוון את הספקטרופוטומטר לאורך גל 450nm.
8. אפס את הספקטרופוטומטר בעזרת מבחנה המכילה מים, הנמצאת במעמד המבחנות.
9. כוון את שעון- העצר (סטופר) לדקה. **אל תפעיל** עדיין את הסטופר!

**תחילת התגובה האנזימטית:** שימו לב: מרגע שתוסיפו את דפנות החיידקים, מתחילה התגובה האנזימטית. ולכן- עליכם לעבוד בזריזות רבה, ולבצע מדידות **כל דקה** בדיוק!

10. הכנס את מבחנה מספר 1 לאמבט-קרח למשך 2-3 דקות.
11. לאחר 2 דקות, כוון פיפטור של 1000 מיקרוליטר ל-500 מיקרוליטר והלבש טיפ כחול.
12. הוסף למבחנה מס' 1 500 מיקרוליטר **דפנות** חיידקים.
13. **ערבב** את תכולת המבחנה בוורטקס **ובמהירות** קרא את הבליעה במבחנת הניסוי. רשום את הקריאה בטבלה שלהלן.
14. הפעל את שעון- העצר.
15. **החזר** את המבחנה **לאמבט** קרח
16. לאחר דקה הוצא את המבחנה מן האמבט
17. **ערבב** את תכולת המבחנה בוורטקס
18. **נגב** המבחנה היטב ממי האמבט **וקרא במהירות** את הבליעה. **רשום** את הקריאה.
19. **החזר** את המבחנה **לאמבט** קרח
20. לאחר שסיימת עם מבחנה מספר 1, חזור על שלבי **7-16** עם מבחנה מס' 2 באמבט של 25 מעלות.
21. לאחר שסיימת עם מבחנה מספר 2, חזור על שלבים **7-16** עם מבחנה מס' 3. באמבט של 37 מעלות

חזור על שלבים  
19-15 כל **דקה**  
למשך 5 דקות.





עכירות [OD <sub>(450)</sub> ] תערובת הריאקציה			
37	25	4	טמפרטורה
			זמן (דקות)
			0
			1
			2
			3
			4
			5

1. שרטט גרף של התוצאות (במחשב).
2. תאר את התוצאות באופן מילולי. בתיאור התייחס למגמות הנראות בגרף ובטבלה.
3. מהי הבקרה בניסוי?
4. ציין שני גורמים שנשמרו קבועים בניסוי (משתנים-קבועים).
5. הסבר מדוע חשוב לשמור אותם קבועים?
6. חשב את קצב פעילות האנזים בשניה (חישוב הקצב: ערך ירידה בעכירות ב 30 שניות/30) בכל אחד מהתנאים
7. שרטט גרף המתאר את התלות בין הטמפרטורה לקצב פעילות האנזים/שניה.
8. מהן מסקנותיך מהניסוי?