

בטא-גלקטוזידאז

לפניך דף עבודה בנושא האנזים בטא-גלקטוזידאז, המתבסס על ערך [הפרוטאופדיה](#) של האנזים. חלק מן השאלות מתייחסות למבנה האנזים. כדי לענות עליהן, עליך לבחור בסצינה המתאימה (הסצינות השונות מופיעות בירוק), לעצור את תנועת ההדמייה (עיי לחיצה על spin) ולעמוד עם העכבר על האזור שאליו מתייחסת השאלה, בלי ללחוץ על העכבר. כאשר עומדים על התמונה, ניתן להקטין ולהגדיל אותה באמצעות גלגל העכבר.

מבוא

1. מהן שלוש הפעולות שמבצע האנזים בטא-גלקטוזידאז בחיידקי *E. coli*?
2. מה יכולה להיות הסיבה לאי סבילות ללקטוז באדם?

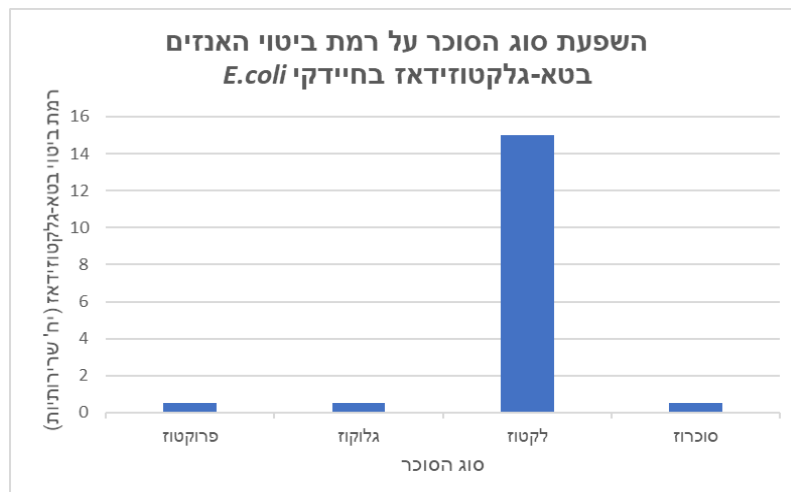
אופרון הלקטוז

3. באיור שלפניך, אופרון הלקטוז בכרומוזום של חיידק מתואר בדרך סכמתית. מהו התפקוד של כל אחד מארבעת המרכיבים האלה של אופרון הלקטוז?



- פרומוטור (האתר המקדם)
- *lacI* (הגן המווסת)
- אופרטור (האתר המפעיל)
- רפרסור (דכאן)

4. חוקרות רצו לבדוק את הביטוי של האנזים בטא-גלקטוזידאז מחיידקי *E. coli* בחשיפה למצעי מזון שונים. הן גידלו חיידקים על צלחות אגר מזין המועשרות בסוגים שונים של סוכר: פרוקטוז, גלוקוז, לקטוז וסוכרוז. תוצאות הניסוי מופיעות בגרף שלפניך:



א. תאר את התוצאות.

ב. הסבר את התוצאות.

מבנה האנזים

5. מהו טטרמר?

- א. המבנה הראשוני של החלבון
- ב. חלבון המורכב מ-4 חומצות אמיניות החוזרות על עצמן במבנה החלבון
- ג. מולקולה המורכבת מארבעה מונומרים
- ד. פולימר גדול במיוחד

6. היכנס לסצנה המציגה את החומצות האמיניות המרכיבות את החלבון בטא-גלקטוזידאז. החלבון מורכב ממספר גדול של חומצות אמיניות, כל חומצה אמינית מיוצגת בצבע אחר. מלא את הטבלה הבאה בעזרת הסצנה ובעזרת הטבלה המצורפת בתחתית הדף:

שם החומצה האמינית	צבע החומצה האמינית בסצנה
	ירוק
	צהוב
	אדום
	לבן
	וורוד
	תכלת

7. א. כמה אתרים פעילים יש באנזים בטא-גלקטוזידאז?

ב. כמה חומצות אמיניות מרכיבות כל אתר פעיל, מה שמות החומצות האמיניות ומה מיקומן בחלבון?

ג. הסבר כיצד ייתכן שחומצות אמיניות, הממוקמות רחוק זו מזו בשרשרת החומצות האמיניות המרכיבות את החלבון, יכולות להוות יחד אתר פעיל?

8. א. היכנס לסצנה המציגה את יוני הנתרן ויוני המגנזיום בחלבון. קבע איזה יון מייצג הצבע הסגול, ואיזה יון מייצג הצבע האדום.

ב. הסבר מה יכולה להיות ההשפעה של יוני מגנזיום על פעילות האנזים בטא-גלקטוזידאז?

ג. היכנס לסצנה המציגה את יון המגנזיום הקשור באתר הפעיל. איזו חומצה אמינית זו?

בטא-גלקטוזידאז בראי האבולוציה

9. מה המשמעות של עמדות שמורות באורגניזמים שונים?

10. לפניך תמונה המציגה תוצאות עימוד של חלבון הבטא-גלקטוזידאז של חיידק *E. coli*. לעומת חיידקים אחרים. כל שורה מציגה מקטע של החלבון בחיידק אחר.

sp P00722.2 BGAL_ECOLI	RMVQDRNHPSVIIWSLGNESGHGANHDALYRWIKSVDFSRPVQYEGGGA---DTTATDI	498
sp Q03WL0.1 BGAL_LEUMM	RMVQRDYNHPSIIWSLGNESGYGHNDAMYQWIKNTDPSRPIQYEGGGA---DTPATDI	493
sp Q8D4H3.2 BGAL_VIBVU	QMVLRDKNHPSIIWSLGNESGHGSNHNAMYAWSKNFDFSRPVQYEGGGS---NTTATDI	495
sp P81650.2 BGAL_PSEHA	QMVERDKNHASIIWSLGNESCGHGANHDAMYGWSKSFDFSRPVQYEGGGA---NTTATDI	497
sp A5F5U6.2 BGAL_VIBC3	GMVERDKNHPCVIIWSLGNESGIGTNHHAMYQWTKQRDFSRPVQYEGGGA---NTAATDI	495
sp B4S2K9.1 BGAL_ALTMD	QMVERDKNHPSIIWSLGNESCGHGPTHAMYGWAKSFDFSRPVQYEGGGA---DTTATDI	497
sp O52847.1 BGAL_BACMD	SMYERDKNHPSIIWSLGNESFGGENFOHMYTFFKEKDSTRLVHYEGIFHHRDYDA-SDI	520
sp Q9K9C6.1 BGAL_BACHD	SMFERDKNHPSILIWSCGNESYAGEVILNVSRYFKSVDFSRPLVHYEGVFHARAYDATSDM	500
sp P23989.1 BGAL_STRTR	NMFQRDKNHASVIIWSCGNESYAGKDIADMADYFRSVDNTRPVIHYEGVAVCREFDYITDI	498
	* ** * .::*** ** . * : : . * : * :*** :::	

שים לב: המספר המופיע בצד ימין של השורה מתייחס למיקום החומצה האמינית האחרונה ברצף

א. סמן את כל העמדות השמורות המופיעות במקטע (על פי ההסבר המופיע בערך הפרוטאופדיה של החלבון).

ב. אחת מהעמדות השמורות שסימנת היא אחת מהחומצות האמיניות המרכיבות את האתר הפעיל. הכנס לסצנה המציגה את האתר הפעיל, בחן אותה וסמן בצבע אחר על גבי העימוד את החומצה האמינית המתאימה לפי המיקום המצוין בסצנה ולפי מיקומה בעימוד.

ג. אם נוסיף לעימוד זה גם השוואה לרצף החלבון בטא-גלקטוזידאז באדם, האם תצפה שמספר העמדות השמורות יהיה גבוה/נמוך/זהה למספר העמדות השמורות בין חיידקים שונים? הסבר קביעתך.

שימוש בבטא-גלקטוזידאז במחקר ובהנדסה גנטית

11. מה לא נכון להגיד על החומר x-gal ?

- א. הוא אנלוג ללקטוז
- ב. הוא משנה את צבעו לכחול כאשר הוא מתפרק
- ג. כאשר הוא נמצא במצע גידול חיידקים, הוא יכול להעיד על פעילות האנזים בטא-גלקטוזידאז
- ד. זהו אזור המשלים את מבנה האנזים והופך אותו לפעיל

12. כדי להפוך את האנזים בטא-גלקטוזידאז לאנזים לא פעיל :

- א. מחברים את פפטיד אומגה לפפטיד אלפא כך שמתקבל המבנה השלם של האנזים
- ב. מנתקים את פפטיד אלפא מפפטיד אומגה כך שמבנה האנזים לא שלם
- ג. זורעים את החיידקים על מצע המכיל x-gal
- ד. צריכה להתקיים השלמת אלפא

13. במסגרת חיפוש פתרונות עבור חולי סוכרת, החליטה חוקרת לנסות לייצר אינסולין הומני בכמות גדולה ובקצב מהיר. לשם כך היא בחרה להשתמש בחיידקי *E. coli* מהונדסים חסרי הגן לפפטיד אלפא.

א. מהו סדר הפעולות שביצעה החוקרת בניסיון לייצר חיידקי *E. coli* מהונדסים? סדר את הפעולות לפי סדר התרחשותם :

- הכנת פלסמיד המכיל: גן לעמידות לאנטיביוטיקה, גן לפפטיד אלפא (אזור המשלים את האנזים והופך אותו לפעיל) והגן לאינסולין שאותו מעוניינים לשבט, הממוקם בתוך הגן לפפטיד אלפא.
- הכנת חיידקים רגישים לאנטיביוטיקה ומכילים גן מוטנטי לבטא-גלקטוזידאז, כך שהאנזים לא יהיה פעיל
- גידול חיידקים לנפח גבוה והפקת אינסולין
- זריעת החיידקים על מצע המכיל x-gal ואנטיביוטיקה
- החדרת הפלסמיד לחיידקים

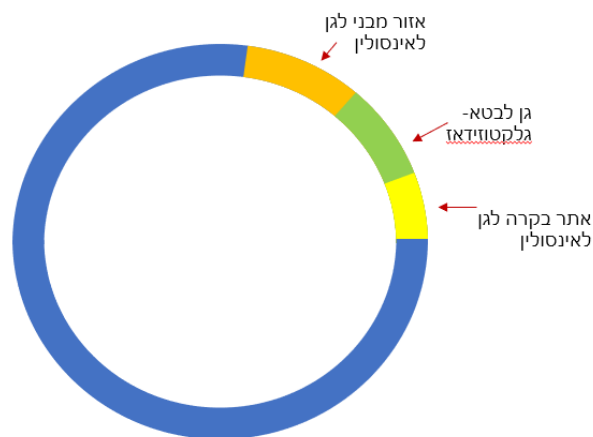
ב. היעזר בקישור המופיע בפרוטאופדיה והגדר מהו פלסמיד?

ג. כדי לבדוק האם החדרת הפלסמיד הצליחה, זורעת החוקרת את החיידקים על גבי מצע המכיל פניצילין. הסבר כיצד שלב זה מאפשר לחוקרת לדעת האם החדרת הפלסמיד הצליחה?

ד. בשלב השני רוצה החוקרת לדעת באילו מן החיידקים שהחדרת הפלסמיד אליהם הצליחה, שובט הגן לאינסולין. כיצד היא יכולה לבדוק זאת?

14. חוקרות ניסו לבדוק האם הבעיה אצל חולה סוכרת מסוים נובעת ממוטציה באזור המקודד לגן לאינסולין או באתר הבקרה על הגן. לצורך כך, הן השתמשו בבטא-גלקטוזידאז כגן מדווח: הן שיבטו פלסמיד כך שיכיל את הגן לאינסולין במלואו, כולל אזור הבקרה, מחולה סוכרת. בין אזור הבקרה לבין האזור המקודד, הן החדירו את הגן לבטא-גלקטוזידאז. את הפלסמיד הן החדירו לחיידקי *E. coli* וגידלו את החיידקים על מצע המכיל X-gal.

לפניך איור המתאר את הפלסמיד המשובט:



הסבר כיצד ניסוי זה יכול לעזור לחוקרות לקבוע היכן ממוקמת המוטציה בגן לאינסולין.

שמות החומצות האמיניות

אות אחת	3 אותיות	חומצת אמינו
A	Ala	אלאנין
R	Arg	ארגינין
N	Asn	אספרגין
D	Asp	חומצה אספרטית
C	Cys	ציסטאין
E	Glu	חומצה גלוטמית
Q	Gln	גלוטמין
G	Gly	גליצין
H	His	היסטידין
I	Ile	איזולאוצין
L	Leu	לאוצין
K	Lys	ליזין
M	Met	מתיונין
F	Phe	פנילאלנין
P	Pro	פרולין
S	Ser	סרין
T	Thr	תריאונין
W	Trp	טריפטופן
Y	Tyr	טירוזין
V	Val	ולין