

## אנזים ליזוזים – דף עבודה לתלמיד

בפעילות זו תכירו את אנזים הליזוזים ותחקרו אותו.

### חלק א' – חקר מבנה הליזוזים

לצורך כך תוכלו להיעזר באתר פרוטאופדיה. [http://proteopedia.org/wiki/index.php/Main\\_Page](http://proteopedia.org/wiki/index.php/Main_Page). אתר זה מכיל מידע על חלבונים רבים. לכל חלבון קיים ערך הכולל מידע חשוב על מבנה החלבון ופעילותו. הערכים כוללים גם הדמיה של המבנה התלת ממדי של החלבון. תוכלו להיעזר בהדמיה על ידי סיבובה, הקטנתה והגדלתה על ידי העכבר. שימו לב! הטקסט, שמלווה את הערך מכיל **מילים כחולות** – לחיצה עליהן מאפשרת מידע נוסף ממקורות שונים על המושג **ומילים ירוקות** – לחיצה עליהן תפתח הדמיה שממחישה את הכתוב.

פיתחו את הערך: [Lysozyme\(Hebrew\)](#). קראו אותו וענו על השאלות.

1. עיינו ב"היכרות" עם האנזים וענו:

א. מה תפקידו של אנזים הליזוזים?

---

ב. היכן ניתן למצוא את הליזוזים?

---

2. עיינו ב"היסטוריה" – גילוי האנזים ליזוזים וענו:

א. מי גילה את הליזוזים?

---

ב. מה היה הגילוי המפורסם הנוסף שלו?

---

3. עיינו ב"פעילות הליזוזים על דופן החיידק" וענו:

א. הסבר מדוע פירוק השרשת הפוליסכרידית שבדופן החיידק פוגעת בחיידק?

---

ב. על פי הקטע, מדוע הפגיעה בחיידק על ידי הליזוזים תהייה יעילה פחות בסביבה איזוטונית?

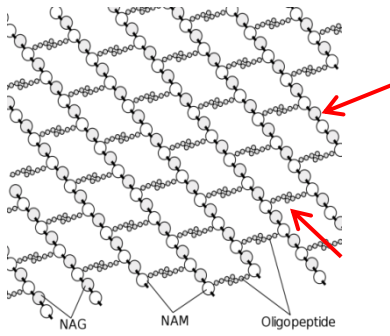
---

ג. מהו שם החומר שממנו מורכב דופן החיידק?

---

ד. מהי יחידת המונומר של החומר שבונה את הדופן?

---



ה. לפניכם איור של מבנה דופן החיידק ובו שני חיצים :  
 הקיפו את החץ שמראה את אזור שבו נעשה החיתוך על ידי  
 הליזוזים.

4. עיינו ב"מבנה הליזוזים ותפקודו" וענו :

א. מהו האורך של חלבון הליזוזים? (מספר חומצות אמינו) \_\_\_\_\_

ב. לחצו על הקישור **חומצות אמינו**. חפשו וזהו בהדמיה מהן החומצות האמיניות שמסומנות **בכתום**? (שימו לב, ניתן לעצור את סיבוב החלבון על ידי לחיצה על כפתור spin. כמו כן, תוכלו להגיע לכל חומצה אמינית רצויה על ידי הגדלה וסיבוב של החלבון. בנוסף עמידה עם הסמן על חומצה אמינית מסוימת תגלה את שמה המקוצר ומספרה בשרשרת) \_\_\_\_\_

ג. המבנה השניוני של הליזוזים מורכב מסלילי אלפא ו-מישורי בטא. זהו בהדמיית המבנה **השניוני** את המבנים שניוניים הללו ורשמו באיזה צבע מיוצג כל אחד מהם. \_\_\_\_\_

ד. התבוננו במבנה המרחבי של האנזים כולו (**סצנת C ו-N**). האם לליזוזים יש גם **מבנה רבעוני**? נמקו תשובתכם.

ה. התבוננו בהדמיה : **תצוגת הליזוזים הבאה** וזהו את האזורים ההידרופוביים וההידרופיליים. היכן ממוקמים כל אחד מאזורים אלו במולקולה? הסבירו מה היתרון בכך? \_\_\_\_\_

ו. איך, לדעתכם, היה נראה אנזים הפועל בסביבה שומנית? האם נצפה להבדל במיקום או בתכולה של השיירים ההידרופוביים וההידרופיליים? \_\_\_\_\_

ז. בחלבון הליזוזים קיימים קשרים פפטידים בין החומצות האמינו. אילו קשרים אחרים ניתן לזהות במולקולת האנזים? (התבוננו בהדמיה : **קשרים דיסולפידים וכן בסצנת הפתיחה**). \_\_\_\_\_

לפניך קטע מידע קצר: שמונת חומצות האמיניות ציסטאין שיוצרות 4 קשרים דיסולפידים (s-s) שמורות אבולוציונית, כלומר, מופיעות במבנה החלבון של אורגניזמים שונים מרוחקים פילוגנטית. להלן עימוד של רצפי חלבונים (העמדת רצפי החלבונים זה מעל זה) של אורגניזמים שונים (שמותיהם מופיעים משמאל). כל חומצה אמינית מיוצגת ע"י אות אחת. (הקווים מייצגים מרווחים שנוצרו לצורך העמדה עם חפיפה מקסימלית בין החלבונים) שנוצרו ב החומצה האמינית שמופיעה באות C היא ציסטאין. ניתן לראות שחומצת האמינו ציסטאין מופיעה באותה עמדה בכל אחד מהאורגניזמים שמוצגים, כלומר חומצה זו שמורה אבולוציונית וזאת למרות שינויים בחומצות אמינו אחרות.

|            |                             |                    |                             |
|------------|-----------------------------|--------------------|-----------------------------|
|            |                             | א                  | ב                           |
| תרנגול     | -MRSLLIILVL-CFLPLAALGKVFGR  | CE                 | LAAAMKRHGLDNYRGYSLGNWVCA    |
| יונת סלע   | -----                       | KDIPR              | CELVKILRRHGFEGFVGKTVANWVCL  |
| עכבר מצוי  | -MKS VGVFALIIISFSIVAESKIYTR | CKLAKI             | FAKAGLDNYGGFALGNWLCM        |
| עז הבית    | -----                       | KVFER              | CELARTLKEGLDGYKGVSLANWLC    |
| אייל נקוד  | -----                       | KVFER              | CELARTLKEGLDGYKGVSLANWLC    |
| דרוזופילה  | -MKA FIVL-VALALAAPALGRTMDR  | CSLAREMSNLGVP      | ---RDQLARWACI               |
| אדם        | -MKAAGILTLIGCLVTGAESKIYTR   | CKLAKI             | FSRAGLDNYWGFSLGNWICM        |
| טוואי המשי | -MQKLIIFAL-VVLCVGSEAKTFTR   | CGLVHEL            | RKHGFE---ENLMRNWVCL         |
| זבוב הבית  | -MKFFIVLVAALALAAPAMGKTFTR   | CSLAREMYALGVP      | ---KSELPQWTCI               |
| קרפדה      | SGKYISWEDS-C---             | SYLQLQKYER         | CELAKALKKGGGLADFKGYSLENWICT |
| דג         | -MRT---                     | LVV-LLLVAVANARVYER | CEWARLLRNQGM DGYRGISLANWVCL |
| קוף ירוק   | -MKAVIILGL-VLLSVTVQGKI      | FER                | CELARTLKRLGLDGYRGISLANWVCL  |
| צב ים      | -----                       | KTYER              | CELARAMKRLGLDGYWGYSLGHWVCA  |
| חסילון     | -MRVLPL-ALLVGLLAVSDAKVLGK   | CE                 | FARLLETR--YNLSRNDIKNWVCI    |

ח. מהי לדעתך חשיבות הקשרים הדיסולפידים בחלבון הליזוזים?

ט. בתרשים שלפניך סומנו שתי עמדות באותיות א ו-ב (מעל כל עמדה). התבונן בכל החומצות האמיניות שמופיעות בכל אחת מהעמדות. מה ההבדל בין שתי העמדות ומה ההבדלים אלו מעידים רמת השימור?

י. כיצד הרעיון הביולוגי "התאמה בין מבנה לתפקוד" בא לידי ביטוי בשימור אבולוציוני של קשרים אלו?

יא. במוטנט של חלבון הליזוזים הוחלפו חומצות האמיניות בעמדות 127 ו-115 לחומצה אמינית אלנין. היעזר בכתוב בערך ובסצנת חומצות האמינו וענה מה עשויה להיות ההשפעה של שינוי זה על חלבון הליזוזים?

יב. אילו חומצות אמינו מרכיבות את **האתר הפעיל**? והיכן הן ממוקמות?

יג. מה תפקידן שתי החומצות האמינו שמרכיבות את האתר הפעיל?

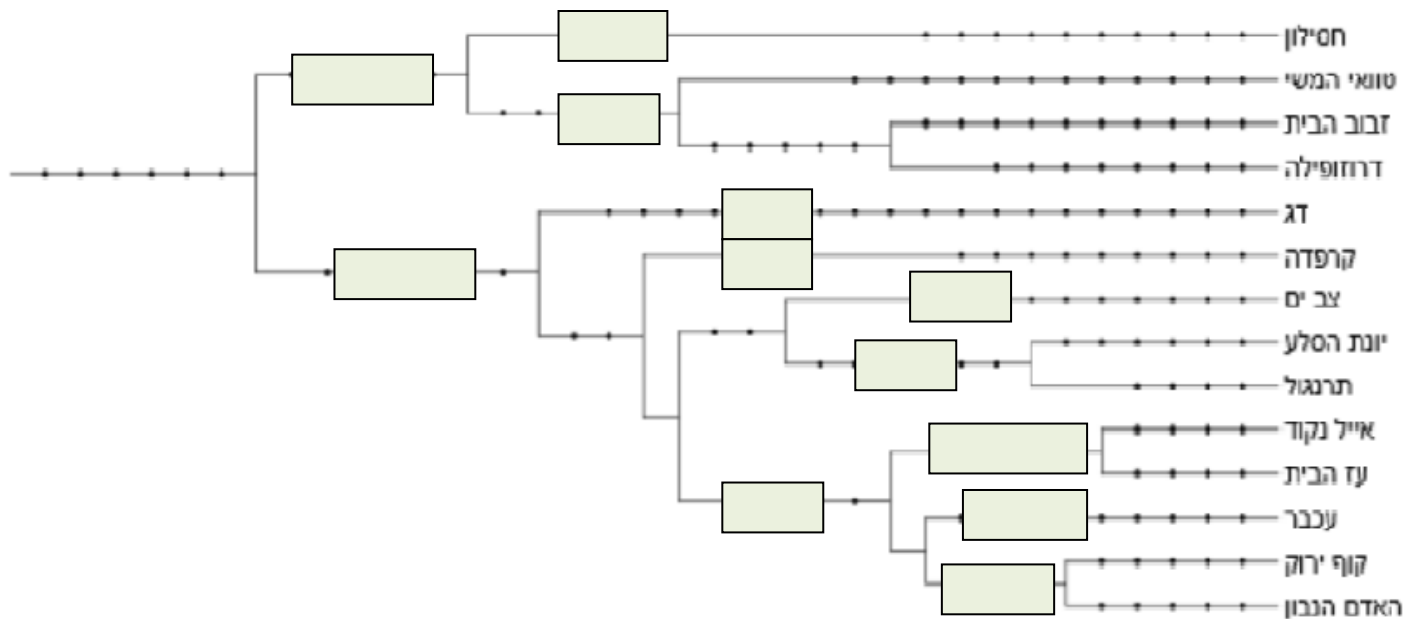
יד. עברו בין מודל הליזוזים עם הסובסטרט למודל הליזוזים עם המעכב. מדוע המעכב אינו עובר הידרוליזה על ידי הליזוזים?

טו. המעכב המוצג בערך הוא מעכב תחרותי. הסבר מדוע נקרא מעכב זה "מעכב תחרותי"?

5. עץ פילוגנטי או עץ אבולוציוני הוא גרף בצורת עץ המייצג את היחסים ההיסטוריים-אבולוציוניים המשוערים בין מינים ביולוגים שונים על סמך דמיון גנטי שקיים ברצפי DNA בין האורגניזמים השונים

לפניך עץ פילוגנטי שנבנה על פי רמת הדמיון של מולקולת הליזוזים בין אורגניזמים שונים. השלם את המחלקות והסדרות המתאימות על גבי העץ הפילוגנטי שלפניך. (במידת הצורך תוכל להיעזר במידע מהרשת).

\*העץ הפילוגנטי עובד בתוכנה ליצירת עצים פילוגנטיים על פי רצף חומצות האמינו של חלבון הליזוזים בכל אורגניזם.



### ארגז מושגים לתלמיד:

חסרי חוליות, בעלי חוליות, יונקים, עופות, דגים,  
זוחלים, דו חיים, סרטנים, חרקים,  
פרימטים, מכרסמים, מכפילי פרסה

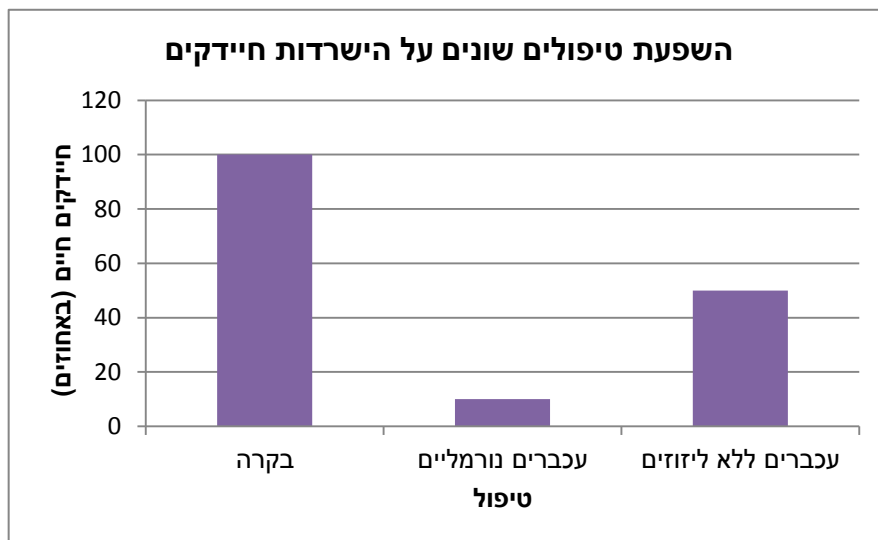
## חלק ב – חקר פעילות הליזוזים

1. לאחר שחקרתם את ערך הליזוזים, הסברו את הטענה הבאה: "לחלבון הביצה יש תפקיד בהגנה על העובר המתפתח בביצה".

---

---

2. מדענים חקרו את השפעת הליזוזים על חיידקים מסוג: *S. pneumoniae* חיידקים אלו עלולים לגרות לדלקת ריאות. החוקרים יצרו עכברים ללא הגן לאנזים הליזוזים (עכברי נוק אאוט). לאחר מכן הם אספו נוזלים מאזור האוזן התיכונה של עכברים נורמליים ומאזור האוזן התיכונה של עכברים ללא ליזוזים. את הנוזלים הם ערבבו עם תרחיף של חיידקי *pneumoniae* ובדקו את כמות החיידקים ששרדו לאחר הטיפול. כמו כן הועמד טיפול בקרה שהכיל רק את תרחיף החיידקים.  
\*השאלה מעובדת מתוך המאמר: [PMID]18842154



א. התבוננו בגרף ותארו את ההבדל בין הטיפול עם נוזלי גוף מחיידקים נורמליים לטיפול עם נוזלי גוף מחיידקים ללא ליזוזים.

---

---

ב. מהי מסקנתכם מתוצאות הניסוי?

---

---

ג. קבוצת ה**בקרה** כללה גידול של החיידקים בתרבית ללא הוספת כל נוזל. מה מטרתה של קבוצה זו. נמקו את תשובתכם.

---

---

3. יעל החליטה לבדוק את השפעת הליזוזים לעומת השפעת פניצילין על חיידקים מזן X. לצורך כך היא גידלה תרביות של החיידקים בתנאים זהים ואופטימליים. התרביות גודלו בתמיסה היפוטונית ולכל אחת מהן הוסף ליזוזים בשלבים המפורטים בטבלה הבאה:

| תרבית   | הוספה לתרבית | שלב הגידול | תוצאות                              |
|---------|--------------|------------|-------------------------------------|
| תרבית א | פניצילין     | לוגריתמי   | החיידקים מתו                        |
| תרבית ב | פניצילין     | עמידה      | לא היה שינוי משמעותי במספר החיידקים |
| תרבית ג | ליזוזים      | לוגריתמי   | החיידקים מתו                        |
| תרבית ד | ליזוזים      | עמידה      | החיידקים מתו                        |

א. מלימודכם הקודמים, תארו מהו קצב הגידול של חיידקים בשלב לוגריתמי לעומת שלב העמידה? (תוכל להיעזר במחברותיכם או במידע מהרשת)

---



---



---

ב. ממה נובעים ההבדלים בקצב הגידול בכל שאחד מהשלבים?

---



---



---

ג. נסו להסביר, על פי מנגנון הפעולה של **הליזוזים** לעומת **הפניצילין**, מדוע קיימים הבדלים בתוצאות בין תרבית ב' לתרבית ג'.

---



---



---



---

## מחקר על פעילות הליזוזים כאמצעי לאבחון מחלות

\* השאלה עובדה מתוך בחינת הברגות במעבדה בביולוגיה תשי"ע.

חוקרים בדקו את הקשר בין ריכוז הליזוזים בתרחיף ובין קצב פעילות הליזוזים. פעילות הליזוזים נבדקה בדרך זו: הכינו שש מבחנות ובהן אותו נפח של תרחיף חיידקי מיקרוקוקוס לוטאוס - *Micrococcus luteus*. (חיידקים אלו רגישים לפעולת הליזוזים) לכל המבחנות הוסיפו 1 מ"ל תמיסת אנוים ליזוזים, בריכוזים שונים, כמפורט בטבלה שלפניך.

2 דקות לאחר תחילת הניסוי מדדו את רמת העכירות היחסית של התרחיפים בכל אחת מן המבחנות. רמת העכירות נמדדה באמצעות מכשיר ספקטרופוטומטר המודד בליעת האור. בליעת אור גבוהה פירושה רמת עכירות גבוהה. תוצאות הניסוי מוצגות בטבלה הבאה:

טבלה: הקשר בין ריכוז האנוים ליזוזים ובין רמת העכירות של תרחיף החיידקים

| המבחנה | ריכוז הליזוזים (מ"ג/מ"ל) | רמת העכירות לאחר 2 דקות (יחידות יחסיות) |
|--------|--------------------------|---|
| 1      | 0.3                      | 1.4                                     |
| 2      | 0.5                      | 1.2                                     |
| 3      | 0.8                      | 0.8                                     |
| 4      | 1.0                      | 0.6                                     |
| 5      | 1.3                      | 0.3                                     |
| 6      | 1.7                      | 0.1                                     |

ענה על שאלות הבאות:

1. עליכם להציג בדרך גרפית את תוצאות הניסוי שערכו החוקרים.

א. מהו סוג ההצגה הגרפית המתאים ביותר לתיאור התוצאות – גרף רציף או דיאגרמת עמודות? נמק את תשובתך.

---

---

ב. הציגו את תוצאות הטבלה בגרף בעזרת תוכנת האקסל.

מחקרים הראו כי ריכוז הליזוזים בדם ובשתן של חולים במחלות כמו שחפת (מחלה זיהומית), גבוהה באופן ניכר לעומת ריכוזו אצל אנשים בריאים. ריכוז הליזוזים בשתן נבדק בשיטה המתוארת בפתיח והחוקרים קבעו כי טווח הריכוז התקין של ליזוזים בשתן של אדם בריא הוא 0.25-0.8 מ"ג/מ"ל.

2. בבדיקת שתן של אדם מסוים נמצא שלאחר 2 דקות רמת העכירות הייתה 1.15 יחידות יחסיות.

א. הוסיפו לגרף ששרטטתם בשאלה הקודמת קווי עזר, שבאמצעותם תקבע את ריכוז הליזוזים בשתן של הנבדק.

ב. האם הנבדק חולה או בריא? נמק את קביעתך.

---

---

3. האם נצפה לעלייה בריכוז הליזוזים גם המחלות וירליות (נגיפיות)? נמק תשובתך.

---

---