

המחלקה להנדסת ביוטכנולוגיה

ע"ש פרופ' אפרים קציר

מתכבדת להזמין אתכם

## **כנס סיום התמחות - אביב תשפ"ב**

ביום שלישי – כג' בתשרי תשפ"ג - 18 באוקטובר 2022

09:00-09:15	התכנסות
09:15-09:30	ברכות ודברי פתיחה
09:30-10:00	הרצאת אורח: המיטוכונדריה ככלי איבחוני וטיפולי <b>ד"ר טינה נאפסו</b> <b>מינוביה תרפיוטיקס</b>
10:10-10:50	מושב ראשון (הרצאות קצרות)
10:50-11:15	מושב פוסטרים
11:15-11:50	מושב שני (הרצאות קצרות)
11:50-12:15	מושב פוסטרים
12:15-12:45	שיחת סיכום עם הסטודנטים המציגים

יום ההתמחות יתקיים באודיטוריום 112M

הזמנה זו מהווה אישור כניסה למכללה

**נשמח לראותכם**

התכנסות	
9:15-9:30	דברי פתיחה - ראש המחלקה להנדסת ביוטכנולוגיה, המכללה האקדמית להנדסה אורט בראודה <b>ד"ר דפנה כנעני</b>
9:30-10:00	המיטוכונדריה ככלי איבחוני וטיפולי <b>ד"ר טינה נאפסו</b> מינוביה תרפיוטיקס, טירת הכרמל

10:00-10:10	הפסקה
10:10-10:50	<b>מושב ראשון</b> יו"ר - ד"ר לילך יסעור קרוח

### מזון

חקר ואופטימיזציה של שלב ההשהיה של מוצרי פסטרמה הודו בין הוספת תמלחת עד לבישול המוצר  
**ירדן אלון**

פיתוח שיטות אנליטיות לקביעת מרכיב מתילקובלמין בתוסף תזונה ויטמין B12  
**אייה מחמוד**

פיתוח תהליך אנזימטי לייצור תרכיז אומגה-3 בקולונה ארוזה רציפה  
**אמאני מחמוד חוסיין**

הגדלת ניצולת תהליך הפקת חלבון ביו-פונקציונלי באמצעות סינון ממברנלי  
**רעות אוטמזגין**

פיתוח ואופטימיזציה תהליך הפרמנטציה של שמר המבטא רמות גבוהות של חלבון, לקראת מעבר מתהליך פרמנטציה מעבדתי לתהליך פרמנטציה מסחרי  
**סיואר מנאסרה**

### רפואה

השפעת רמות מיטוכונדריה על תגובת תאי אנדותל הקרנית לנזק  
**מיכל דורמן**

אפיון הגידול ויעילות התהליך של החלפת המין בזני שמר הנצה מהונדסים גנטית  
**דריה פנצ'נקו**

אינקובציה כפולה בבדיקת עומס מיקרוביאלי עבור דוגמאות IPC של taliglucerase alfa  
**לינה אברהים**

ההשפעה של קשיחות הידרוג'ל מסוג אלג'ינט על פרופיל האקטיבציה והריבוי של תאי T  
**סומיה כיואל**

בדיקת ההשפעה של מרכיב חיוני בגידול תרביות תאים צמחיים על ביטוי החלבון TGA כתרופה למחלת הגושה  
**מוחמד זידאן**

בדיקה השוואתית של רמות הביטוי והאגרציה של PKA במודל עכבר חולה אלצהיימר  
**מאיר סולומון**

10:50-11:15 מושב פוסטרים I + הפסקה

11:15-11:50 מושב שני  
יו"ר- ד"ר לילך יסעור קרוח

### סביבה

פיתוח תהליך רציף בשימוש בקולונה ארוזה להורדת רמת חומצות השומן החופשיות מביודיזל גולמי  
נור חיגאזי

הטמעת ריצוף DNA בטכנולוגיית Nanopore כמערכת סריקה לזיהוי חיידקים במים מסוגים שונים  
נלי אלטשול

אפיון מקורות הזיהום הבקטריאלי בנחלי אגן ההיקוות בשיטת Microbial Source Tracking  
אליאור הרוש

השפעת דשן חנקני על זיהום סביבתי  
יוגב לשם

בהינתן עמידות קשיון רולפסי בזני גזר תרבותי וזני בר, ואיתור חומרים שמקורם בתגובת האשרוש למחלה  
רינן בשארה

זיהוי וניקוי וירוסים בבטטות  
ניקול בס רטנר

פיתוח שיטה להמרת אמוניה הנפלטת מבתי גידול של בעלי חיים לדשן מרוכז  
אסיל דעאיפה

### מחקר ביוטכנולוגיה תאית

שימוש במערכת הקריספר/קאס לצורך ייצור נוגדנים נחוצים בתאי CHO  
הילה סער

אפיון של תאים מזנכמאליים לאחר עריכה גנטית בעזרת CRISPR Cas9 לאורך תהליך פרוליפרציה  
בן גלס

יצור ואפיון מיקרו-הידרוג'לים מבוססי חלבון  
גנוה סמארה

11:50-12:15 מושב פוסטרים II

12:15-12:45 שיחת סיכום של ראשת המחלקה וחברי הסגל עם המציגים

## **The Mitochondria as a diagnostic and therapeutic tool**

**Tina Napso**

**Minovia Therapeutics**

Mitochondria play key role in cellular respiration by being the main source of energy in cells. The amount of mitochondria differs between cell types, relating to their energy demand and physiological function. Apart from cellular energy, mitochondria have several other functions including calcium level buffering, regulating various metabolic pathways, affecting innate immune signaling and cellular apoptosis. Importantly, mitochondria expand their effect to the organism's physiology by regulating interactions between cells and tissues. Humans typically known to be homoplasmic, meaning harbor one mtDNA genotype (from maternal source). In a subset of mitochondrial disease patients that have mutations or deletions in the mtDNA, there is co-existence of both wild type and mutant mtDNA genomes within the same cell, a situation known as heteroplasmy. The extent of heteroplasmy is known to differ between tissues within the same individual and may vary over time. The level of heteroplasmy, as well as total mtDNA copy number per cell, contributes to mitochondrial disease severity. Moreover, further human diseases such as cancer and Parkinson, show heteroplasmy-shifting phenomenon as a potential shaper of disease progression and treatment response. Natural aging also reported to have heteroplasmy shift in specific tissues and cells.

Current treatment for mitochondrial diseases remains largely symptomatic and does not significantly alter the course of the disease. Therapeutic strategies for mitochondrial disease include the use of agents to enhance mitochondrial function or restore nitric oxide production or enhance mitochondrial biogenesis and even include a few gene therapy strategies. At Minovia, we developed novel approach of mitochondrial augmentation technology (MAT) in which we use ex-vivo method that enables to enrich patient cells with healthy exogenous mitochondria from human placenta. By using MAT, we hope to address the unmet need of these serious and complex mitochondrial diseases.

# תקצירי הפרויקטים

\*רשימת פרויקטים סודיים מופיעה בסוף החוברת

## פיתוח שיטות אנליטיות לקביעת מרכיב מתילקובלמין בתוסף תזונה ויטמין B12

אייה מחמוד

מנחה: רשיד סרחאן - סגן מנהל מעבדה בחברת בן שמעון פלוריש  
מלווה: ד"ר רבקה וייזר ביטון, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

תוסף תזונה ויטמין B12 קיים במספר צורות, Hcbl, MeCbl, Cbl-, וכולן מכילות קובלט ונקראות "קובלמינים", אבל הן נבדלות במולקולה הנקשרת לאטום הקובלט, ולכן הן גם נבדלות ביציבות שלהם. במחקר זה השתמשנו ב-HPLC לחקור ולקבוע את היציבות של כל מרכיב על ידי תמיסות סטנדרטיות שלמוצר סופי ויטמין B12 וחומר גלם מתילקובלמין. בשלב הראשון, התבצע ניתוח הכרומטוגרפי בוצע ב-266 ננומטר עבור תמיסות סטנדרטיות שנבדקו מייד וגם אחרי שבועיים, בנוסף התבצע ניתוח כרומטוגרפי לתערובות של מרכיבי ויטמין B12. נמצא כי המרכיב MeCbl הוא פחות יציב ועבר פירוק לעומת Hcbl ו-Cbl-, לכן, בשלב השני חקרנו את הגורמים לפירוק MeCbl ואת תוצרי הפירוק שלו. חקרנו גם את השפעת האור והטמפרטורה על פירוק החומר MeCbl בכרומטוגרפיה נוזלית בתנאים של חשיפה לאור ובמצב חשוך וגם תנאי טמפרטורה שונה, נמצא כי החומר MeCbl רגיש מאוד לאור מאשר לטמפרטורה. כמו כן ל-MeCbl הייתה רגישות בולטת להידרוליזה בתנאים חומציים, לכן הפוטוליזה של MeCbl בתמיסה מימית בתנאים חומציים ובסיסיים נחקרה באמצעות שיטת UV באורך גל 350 nm כי ידוע ששיטת HPLC רגישה מאוד, בשלב זה התבצע חקירת השפעת ה-pH בטווח 2-9 על קצב הפירוק של MeCbl, בנוסף התבצע מעקב לחומר Hcbl ונמצא כי הוא תוצר הפירוק של MeCbl עקב חמצון תוצר הביניים של MeCbl אחרי הפירוק. פרופיל קצב הפירוק עבור MeCbl מייצג עקומה בצורת פעמון עם הקצב הכי קטן עם היציבות הגבוהה ביותר ב-pH 5 ולפחות יציבות ב-pH 2. לעומת זאת, MeCbl מראה יציבות גבוהה יותר ב-pH חומצי מאשר לסביבה בסיסית ביחס ל-pH 5.0.

מילות מפתח: מתילקובלמין – MeCbl, הדרוקסיקובלמין –Hcbl, ציאניקובלמין – Cbl, HPLC

## פיתוח תהליך אנזימטי לייצור תרכיז אומגה-3 בקולונה ארוזה רציפה

אמאני חוסין

מנחה: ד"ר סובחי בשיר והמהנדס ראמז מסרי, חברת אנזימוכור, שפרעם  
מלווה: ד"ר רבקה וייזר ביטון, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

שמן דגים נחשב כמקור עיקרי לחומצות שומן אומגה 3 ובמיוחד חומצה איקוסאפנטאנואית (EPA) וחומצה דוקוסהקסאנואית (DHA), שהן חומצות שומן רב בלתי רוויות, בעלות חשיבות בריאותית לגוף האדם, המייצר אותן ברמה לא מספיקה, ולכן מומלץ לקבלתן ממקור חיצוני במזון או כתוספי תזונה. המטרה העיקרית של עבודת פרויקט זה הינה לפתח תהליך רציף להעשרת שמן דגים בחומצות שומן אומגה 3 בעיקר EPA ו-DHA ע"י ביצוע תגובת טרנסאסטרופיקציה של שמן דגים עם אתנול. התגובה מתבצעת ע"י אנזים ליפאז המקובע על חומר פולימרי ארוז בתוך קולונה בתהליך רציף. תוצרי התגובה מכילים אתיל אסטרים של חומצות שומן בריכוז נמוך של חומצות אומגה 3, וגליצרידים עשירים בחומצות אומגה 3. סילוק האתיל אסטרים של חומצות שומן מתערובת הריאקציה מתבצע ע"י זיקוק המביא לקבלת שמן עשיר באומגה 3. במסגרת עבודה זו, בוצעו סדרה של ניסויים לבדיקת השפעת פרמטרים שונים על תגובת האתנוליזה (טרנסאסטרופיקציה) של שמן דגים בתהליך מנתי ורציף.

מהניסויים בתהליך מנתי, נמצא כי האנזים המקובע הציג פעילות אנזימטית גבוהה ויציבה עם סלקטיביות נמוכה של חומצות שומן אומגה 3. ונמצא כי ככל שריכוז האנזים גבוה יותר, הפעילות הקטליטית שלו גבוהה ויציבה יותר. לעומת זאת, ככל שריכוז האתנול גבוה יותר, האנזים מאבד מהפעילות הקטליטית שלו ומיציבתו באופן מהר יותר. מהניסויים בתהליך רציף, נמצא כי הוספת אתנול בריכוז גבוה יחסית לתגובת האתנוליזה בתהליך דו שלבי, מתקבל פרופיל התקדמות ריאקציה יציב עם FAE % הרצוי שנע בין 60% ל-70%.

מילות מפתח: שמן דגים, אומגה-3, ליפאז מקובע, תגובת טרנסאסטרופיקציה

## אפיון הגידול ויעילות התהליך של החלפת המין בזני שמר הנצה מהונדסים גנטית

דריה פנצ'נקו

מנחה: יעל שלו עזרא, המעבדה לננו-ביו אופטיקה של פרופ' יואב שכטמן, הפקולטה להנדסה ביו-רפואית,

קריית הטכניון, חיפה

מלווה: ד"ר ערן בוסיס, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

תאים אאוקריוטים מרכזים את מירב המידע הגנטי בגרעין התא בסידור מרחבי ספציפי שהכרחי לתפקוד התקין של התא. אחד התפקידים המשמעותיים הוא תיקון נזקי דנ"א והעיקרי שבהם הוא תיקון שבר דו-גדילי המתרחש בכל תא בתדירות גבוהה (בין 10-50 פעמים ביממה בממוצע). שברים דו-גדיליים שלא יתוקנו עלולים לפגוע ביציבות הגנומית ואף להפוך את התאים לסרטניים. אחד מהמנגנונים העיקריים לתיקון שבר דו-גדילי הינו רקומבינציה הומולוגית במסגרתה הדנ"א מתוקן בשלמותו בעזרת תבנית דנ"א. שמר הנצה (*Saccharomyces cerevisiae*) מהווה מערכת מודל לחקר תהליכים ביולוגיים המתרחשים בתאים אאוקריוטים. אחד מתהליכי המודל העיקריים הינו Mating type switching, בו הדנ"א עובר שבר דו-גדילי יזום המתוקן בעזרת החלפת גנים (מקרה פרטי של רקומבינציה הומולוגית) ומאפשר לו בסוף התהליך להחליף את מינו. החזייה בזמן אמת אחר תהליך ה-Mating type switching תאפשר לעקוב, להבחין בדינמיקה ולהבין את סקאלות הזמן של תיקון שבר דו-גדילי בדנ"א בתאים חיים וברמת התא הבודד. מעקב זה דורש מספר עריכות גנטיות בגנום השמרים שעלולים לגרום לשינוי בקצב גדילתם. מטרות עבודה זו כוללות אפיון קצב הגידול של מספר זני שמרים מהונדסים גנטית הרלוונטיים לתהליך ה-Mating type switching, ואפיון יעילות התהליך בעזרת ראקציות qPCR. התוצאות מראות כי בזנים המהונדסים התקבלו קצבי גידול סטנדרטיים, תואמים לזני המקור ולכן מתאימים להמשך חקר התהליך. בנוסף, התקבל כי תהליך ה-Mating type switching אכן מתרחש בתאים המהונדסים אך ביעילות נמוכה מאוד אשר ככל הנראה נובעת מעריכות גנטיות המקשות על תהליך התיקון של השבר הדו-גדילי וכתוצאה מכך גורמים לתמותה באוכלוסייה. להמשך חקר התהליך יש צורך בשיפור יעילותו על מנת לאפשר מעקב אופטימלי אחר התהליך בזמן אמת.

מילות מפתח: Mating type switching, qPCR, *Saccharomyces cerevisiae*, שבר דו-גדילי

## The effect of stiffness of alginate-based hydrogels on T-cell activation and proliferation

Sumaya Kaiyal

Mentor: Prof. Joshua M. Grolman, Bio-Mechanical Materials lab, Faculty of Material Science, Technion, Haifa

College Supervisor: Prof. Sarit Sivan, Braude College, Karmiel

Adoptive T cell therapy (ACT) utilizes ex-vivo expansion of autologous tumor-infiltrating lymphocytes and reintroduction into the body as highly effective cancer therapy. ACT has shown great efficacy in the treatment of blood cancers, but low efficiency in solid tumors, such as multiple myeloma and myeloid malignancies. T-cell expansion is usually performed on a synthetic system using the presentation of CD3 and CD28 to mimic antigen presenting cells (APCs) to induce T-cell activation and proliferation signalling. A present challenge in ACT is developing a reliable and expandable production of T-cells. An approach for expansion is changing the mechanical properties of the substrate as T-cells can sense mechanical changes in tissue and respond accordingly.

In this project, we study the effect of stiffness on cell proliferation and migration using 3D culturing in soft alginate hydrogels. This project also aims to understand cell mechano-memory; this means if cells exhibit preference to the substrate they were first encapsulated in and whether it affects their proliferation and migration when exposed to substrates of different stiffnesses. Preliminary results show that cell exhibit mechano-memory by showing a preference to the substrate they were first encapsulated in; this was most prevalent in 3kPa gels as compared to 6kPa gels, while the highest proliferation rate was found in seeding into 6kPa gels on 6kPa gels. These initial results show that it is preferable to proliferate cells in stiffer substrates to program the invasion to stiffer substrates similar to cancer.

**Key words:** Adoptive T cell therapy, Young's Modulus, Rheology, Mechanical memory

## חקירת ביטוי ואגרזיה של PKA בעכברים בריאים וחולים באלצהיימר

מאיר סולומון

מנחה: ד"ר רונית אילוז, הפקולטה לרפואה, אוני' בר-אילן, צפת

מלווה: ד"ר ערן בוסיס, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

פרוטאין קינאז A (PKA) הינו קינאז שנמצא בכל סוגי התאים ופעילותו מבוקרת מאד בתאים בריאים. הקינאז הינו טרמר: 2 תת יחידות קטליטיות ו 2 תת יחידות רגולטוריות. היחידות הרגולטוריות יוצרות דימר ובאמצעות אינטראקציה זו נוצר אתר קישור לחלבוני עגינה שתפקידם לעגן את הקומפלקס באיזורים שונים בתא. נמצא שבמחלות נוירולוגיות פעילות ה PKA עולה. ההנחה היא שיש בעיה בבקרה של הקינאז.

המטרה בפרויקט היא לבחון את רמות הביטוי והאגרזיה של תת היחידות הרגולטוריות והקטליטיות של PKA בהיפוקמפוס, בו ידוע שהקינאז נמצא בפעילות מוגברת, במוחות של עכברים - חולי אלצהיימר ובריאים, במטרה לענות על השאלות הבאות:

האם כמות הביטוי של תת היחידות הרגולטוריות משתנה באלצהיימר.

האם במודלים שונים של מחלת אלצהיימר יש ביטוי שונה של תת היחידות.

האם נוצרים אגרזטים של תת היחידות הרגולטוריות והקטליטיות.

איך משפיע גיל העכבר על התוצאות הנ"ל.

שיטות: שני מודלים שונים של עכברי אלצהיימר ידועים נבדקו. חתכים של המוחות נצבעו עם נוגדנים שמזהים את היחידה הרגולטורית והקטליטית ברמת ספציפיות גבוהה. החתכים הצבועים עברו Imaging במיקרוסקופ קונפוקלי והתמונות עובדו באמצעות תוכנה יעודית – ImageJ.

עיבוד התמונות סיפק מידע השוואתי לגבי רמות הביטוי והאגרזיה של היחידות השונות בספציפיות גדולה לגבי אזורים בהיפוקמפוס. ניתוח התוצאות אישש את ההשערה שיש בעיה בבקרת הקינאז באלצהיימר אם כי הסיבה לבעיה בבקרה לא ברורה.

מילות מפתח: פרוטאין קינאז A, מודל אלצהיימר בעכבר, Image J, Immunohistochemistry

## פיתוח תהליך רציף להורדת רמת חומצות השומן החופשיות בביודיזל גולמי תוך שימוש בקולונה

ארוזה

נור חיג'אזי

מנחה: ד"ר סובחי בשיר, מהנדס ראמז מסרי, אנזימוכור בע"מ, שפרעם

מלווה: ד"ר דפנה כנעני, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

ביודיזל הינו דלק המיוצר משמנים ממקורות מתחדשים (שמנים צמחיים, שמנים מעובדים ושומנים מן החי) כתחליף לדזל מינרלי ומציע אלטרנטיבה לדלקים ממקורות מתכלים כגון נפט, פחם או גז טבעי. ביודיזל מורכב מאסטרים מונו-אלקיליים של חומצות שומן (FAME) הנוצרים בתגובה של טריגליצרידים עם כהלים קצרי שרשרת.

קיימות שתי תגובות עיקריות לייצור ביודיזל: הראשונה היא טרנסאסטרופיקציה של טריגליצרידים והשניה היא אסטרופיקציה של חומצות שומן חופשיות (FFAs) עם כוהל כגון מתנול. שתי התגובות מזורזות על ידי זרז חומצי הטרוגני, בדרך כלל חומצה חזקה או בסיס חזק, או בקטליזה אנזימטית. ביודיזל המכיל אחוז גבוה של חומצות שומן חופשיות ולא עומד בתקן האירופי לביודיזל לתחבורה ולכן יש להוריד את האחוז שלהן (פחות מ 2%). בפרויקט זה בוצע תהליך אסטרופיקציה מזורז ע"י חומצה חזקה להפחתת רמות ה FFAs. טריגליצרידים מהשלב הראשון של ייצור ביודיזל עברו אסטרופיקציה עם מתנול באמצעות שרף קטיוני חומצי לייצור מתיל אסטרים וגליצרול.

בפרויקט נבדקה ההשפעה של פרמטרים הקשורים לתהליך (של ייצור ביודיזל בתהליך קטליטי חומצי), יחס מתנול לשמן, ריכוז זרז, טמפרטורת תגובה, מהירות המערבל וזמן התגובה. התוצאות מראות כי באמצעות שרף חומצי ניתן לייצר ביודיזל עם תכולה נמוכה של חומצות שומן חופשיות. בנוסף, במחקר נמצא שרף החומצה המחליף הקטיוני הטוב ביותר להורדת רמות חומצות שומן חופשיות.

מילות מפתח: ביודיזל, חומצות שומן חופשיות, שרף קטיוני, FAME

## הטמעת ריצוף DNA בטכנולוגיית Nanopore כמערכת סריקה לזיהוי חיידקים במים מסוגים שונים נלי אלטשול

מנחה: ד"ר עודד סוואד, חברת "מקורות", אתר אשכול  
מלווה: ד"ר לילך יסעור קרוח, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

חברת מקורות מנטרת באופן שוטף את האיכות המיקרוביאלית של מים מסוגים שונים בהתאם לתקנות משרד הבריאות ובשיטות מיקרוביולוגיות קלאסיות, המבוססות על גידול וכימות של חיידקים אינדיקטוריים לזיהום כדוגמת *E. coli*. מדובר בשיטות שדורשות הדגרה למשך יממה ויותר עד לקבלת תוצאות. התפתחותן של שיטות ריצוף מתקדמות המאפשרות זיהוי ישיר של פתוגנים בפרק זמן קצר יחסית מהווה כלי נוח לחקירת אירועי מים דחופים הדורשים מענה תפעולי מהיר. מטרת המחקר הינה הטמעת ריצוף DNA בטכנולוגיית Nanopore על ידי כיול מכשיר ה-MinION של חברת Oxford Nanopore Technologies לזיהוי מיידי של אירועי זיהום מים. במסגרת המחקר בוצע אפיון מיקרוביאלי של דגימות מי תהום בשלבי טיפול שונים על ידי ריצוף גן 16S rRNA בשתי שיטות שונות: ריצוף אזורים היפר-ווריאביליים V3-V4 בגן בשיטת Illumina (שיטת "הגולדן-סטנדרט") מול ריצוף של כל הגן (~1,500bp) בשיטת Nanopore. בעקבות קבלת קריאות בודדות בריצוף Nanopore בדגימות עם מספר חיידקים נמוך, ואי התאמות בין השיטות בזיהוי הרכב אוכלוסיות החיידקים, נבדקו סף הרגישות ומידת הדיוק של ריצוף Nanopore על ידי כיול מכשיר ה-MinION. הכיול התבצע באמצעות ריצוף דוגמאות מים עם חיידקים ידועים בכמויות ידועות. נמצא כי מכשיר ה-MinION מבצע זיהויים שגויים ורזולוציית הסיווג ברמת המין ואף ברמת הסוג לא מדוייקת. עבור *E. coli*, ברמת הסוג והמין התקבלו קריאות אחדות ולעיתים לא התקבלו קריאות כלל. בנוסף, נמצא כי דרושים לפחות מאות אלפי חיידקים על מנת לקבל מספר קריאות שיאפשר ביצוע אנליזה מייצגת להרכב האוכלוסיות בדגימה. לכן, נכון להיום סף רגישות נמוך ואי דיוק בזיהוי הסיסטמטי של ריצוף Nanopore לא מאפשרים שימוש בטכנולוגיה כמערכת סריקה לזיהוי של חיידקים במים.

**מילות מפתח:** ריצוף Nanopore, MinION, 16S rRNA, איכות מים

## אפיון מקורות הזיהום הבקטריאלי בנחלי אגן ההיקוות בשיטת Microbial Source Tracking אליאור הרוש

מנחה: ד"ר דלית וייזל-אוחיון ואחיה לחמני, חברת "מקורות", אתר אשכול  
מלווה: ד"ר נגה קויט-רז, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

נחלי אגן ההיקוות של הכנרת הם אוסף של נחלים שמנתקזים לכנרת. המים הזורמים בנחלים אלה יכולים לשמש כמי שתייה ורחצה. לכן יש חשיבות רבה ליכולת לזהות אירוע זיהום בקטריאלי חריג, ויש יתרון משמעותי ליכולת זיהוי המקור של הזיהום, שיאפשר להגיב נקודתית על מנת למגר את האירוע הסביבתי. מטרת המחקר הנוכחי הן הרחבה של מאגר הנתונים המייצג רקע בקטריאלי של נחלי אגן ההיקוות בשיטת Microbial Source Tracking (MST), בניית עקום כיול שיקל על התקשורת בין הגופים המבצעים MST ובחינת שיטת של שיטת Most Probable Number (MST) ושיטת MST לאיתור ומציאת מקור זיהום. שיטת MPN היא שיטה סטטיסטית מבוססת מיהולים הבודקת כמות משוערת של קוליפורמים צואתיים בדגימה, ושיטת MST היא שיטה מולקולרית שמאפשרת זיהוי של מקור הזיהום הבקטריאלי. בשיטת MST נעשה שימוש בחיידקי *Bacteriodes* אשר מכילים רצפים גנטיים יחודיים למאחסן שלהם. על מנת לאתר את נוכחותם הופק DNA מדגימות מים והדגימות הורצו ב-qPCR ביחד עם כמויות שונות של עותקי DNA ששימשו לבניית עקומת כיול מצטברת. מתוצאות ההגברה, תוך שימוש בעקום הכיול המצטבר ניתן היה לכמת את מספר העותקים של ה-DNA בדגימה. במהלך המחקר מאגר המידע הורחב ולא נמצאה התאמה בין שיטת MPN ל-MST כך ששימוש בשתי השיטות הללו לא מגביר את יכולת הזיהוי של זיהומים במים. להמשך, יש להרחיב את מאגר המידע ולהוסיף ערכים נוספים לעקומות הכיול.

**מילות מפתח:** qPCR, *Bacteriodes*, MST, MPN



## השפעת דשן חנקני על זיהום סביבתי

יוגב לשם

מנחה: גדי שיפטן, קבוצת חיפה

מלווה: ד"ר קלס סיון, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

התנהלות נכונה ביישום דשן אמורה להגדיל תנובה בו בעת שהיא מפחיתה תהליכים בעלי השפעות סביבתיות שליליות, השפעות כגון: חלחול תרכובות חנקן העשויות לגרום לזיהום מקורות מים והפיכתם ללא ראויים לשתייה או פליטות גזי חממה דרך התנדפות אמוניה שמוציאים את ש.מ האטמוספרי מאיזון ועלולים להשפיע על שינויי האקלים.

במהלך הניסוי נבדקה השפעה סביבתית של שני סוגי דשן מבוססי חנקן, טיפול בדשן על בסיס אוראה: "חקלאי" ודשן בשחרור מבוקר (CRF) של קבוצת חיפה בשני ריכוזי חנקן שונים, ריכוז שווה לטיפול ה"חקלאי" וטיפול מופחת ב-30% בריכוז הדשן.

הדשן עורבב בשכבת החריש של מצע המדיום ונבדק על צמח הבזיליקום.

בניסוי נמדדו איבוד תרכובות החנקן לסביבה, מדידת התנדפות אמוניה ( $\text{NH}_3$ ) באמצעות עוצמת בליעה, חלחול ניטרט ( $\text{NO}_3^-$ ) ואמון ( $\text{NH}_4^+$ ) בעזרת מכשירים ניידים אשר מיועדים לתרכובות החנקן הספציפיות.

נמצא שדשן בשחרור מבוקר הניב עליה של 49% ויותר בניצול החנקן לעומת דשן "חקלאי".

דשן על בסיס אוראה הביא לאיבוד של 13.5% מהחנקן דרך התנדפות אמוניה, כאשר בטיפול עם דשן CRF כמעט ולא נמדדה התנדפות כזו.

בחלחול, התקבלה הפחתה של 92% איבוד חנקן דרך חלחול כאמון בדשן CRF.

ביישום CRF בריכוז שווה לדשן ה"חקלאי", ממוצע תנובת היבול גדלה ב-41.5%.

שורשי הבזיליקום מסועפים יותר והתפשטות לשטח גדול יותר בעציץ עם דשן מסוג CRF, התקבלה עליה של 114% במשקל שורשי הגידול בשימוש עם דשן CRF בהשוואה לדשן על בסיס אוראה.

דשן בשחרור מבוקר הציג קליטה רחבה יותר של הנוטריינטים ע"י שורשי הצמח, הניב צמחים בריאים וחזקים יותר תוך כדי הפחתת איבוד ובזבוז חנקן מיושם לסביבה, בעל פוטנציאל במזעור הסיכון בנוק הסביבתי העלול להיווצר עקב איבוד כזה.

מילות מפתח: דשן בשחרור מבוקר, תרכובות חנקן, הפסדי חנקן, השפעה סביבתית

## בחינת עמידות של זני גזר תרבותי זני בר לפטרייה קשיון רולפסי (*Sclerotium rolfsii*) ואיתור

### חומרים שמקורם בתגובת האשרוש למחלה

רנין בשארה

מנחים: ד"ר מוופק אבדאח, מרכז מחקר צפון - נווה יער, רמת ישי

ד"ר מרי דפני ילון, מו"פ צפון, מיגל - מכון למחקר מדעי בגליל, קריית שמונה

מלווה: ד"ר ערן בוסיס, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

באביב, כאשר הקרקע מתחממת מעט, פטריית הקרקע קשיון רולפסי (*Sclerotium rolfsii*) תוקפת את אשרושי הגזר וגורמת לריקבון ולנבילה של נוף הצמח. על מנת לקבל יבול ראוי, יש לרסס את שדות הגזר במספר חומרים פעילים בתדירות גבוהה של אחת לשבועיים. שימוש בזנים עמידים כנגד מחלות ומזיקים הינו אחד הפתרונות המאפשר חיסכון ביישום תכשירי הדברה בחקלאות אינטנסיבית. לחיסכון זה ערך סביבתי וכלכלי רב בהפחתת השימוש בתכשירים מזיקים לסביבה, והן בהפחתת עבודה של כלים חקלאים ושימוש בדלק. הפטרייה קשיון רולפסי נפוצה בקרקעות בצפון הארץ, בעיקר בעמק החולה, וגורמת לנזקים רבים לגידול הגזר ולגידולים נוספים כגון אגוזי אדמה ועגבניות בעונות האביב והקיץ. בעולם נפוצה הפטרייה באזורים חמים רבים ביניהם בדרום ארצות הברית מה שהקנה למחלה את השם ריקבון דרומי (Southern blight). הגזר רגיש במיוחד לפטרייה, כאשר נזקה יכולים לגרום לאובדן מלא של הייבול בקרקע נגועה. לא ידוע על עבודות קודמות שבחנו עמידות של זני גזר תרבות או בר למחלה. מטרת המחקר הכללית הייתה בחינה של עמידות של זני גזר תרבותי זני גזר מן הבר לפטריית הקרקע קשיון רולפסי, ואיתור חומרים שמקורם בתגובת האשרוש למחלה כמקור לפיתוח תכשיר חדשני להתמודדות עמה. אפיון הפרופיל מטבולי עבור זני גזר בר ותרבותי בשיטת SPME-GC-MS הראה כי הרמה של ארבעה חומרים ממשפחת הפנילפרופנואידים עלתה בגזרים מודבקים בפטרייה. בנוסף, 4 חומרים אלו הראו פוטנציאל לעיכוב התפתחות הפטרייה בריכוז הגבוהה במערכת *in-vitro*. בהמשך תיבחן יכולתם של חומרים נוספים אשר רמתם עולה בגזרים העמידים בעקבות הדבקה בפטרייה לעכב את גדילת תפטיר הפטרייה *in vitro*, בעציצים ובשטח חקלאי.

מילות מפתח: גזר, קשיון רולפסי, *Sclerotium rolfsii*, חומרים נדיפים, SPME-GC-MS

## זיהוי וניקוי צמחי בטטה מוורוסים

ניקול בס רטנר

מנחה: ד"ר אושרי מרקוביץ', תרבות רה"ן, ראש הנקרה

מלווה: ד"ר אילנה קפטן, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

בטטה היא בין עשרת גידולי המזון החשובים ביותר. הבעיה העיקרית בגידול בטטה היא הדבקתו על ידי כנימות עש בוורוסים. כנימות אלו מאוד נפוצות ואין דרך להימנע מהם ולכן כל שנה יש צורך לייצר צמחי בטטה נקיים מוורוסים. הפרויקט התמקד בזיהוי וניקוי וירוסים בצמחי בטטה חדשים. לשם כך נבדקו 2 זני בטטה חדשים A- ו-B, לוורוסים העיקריים אשר גורמים להפחתה בייבול: SPLCV, SPFMV, SPVG, SPVC, SPCSV. וירוסים אלו נעים לרוב בתוך צינורות ההובלה הקיימים בצמח. לזיהוי הוורוסים נעשה שימוש בריקציות PCR ספציפיות. התוצאות הראו שהזנים החדשים נגועים ב-2 וירוסים: SPLCV ו-SPCSV. לשם ניקוי הוורוסים יישמנו שיטת גידול הצמחים בחושך (אטיולציה) והרחקת מריסטמת הצמיחה מצינורות העצה. ניתוח זהיר של הפרדת המריסטמה הקודקודית ומציאת תנאי גידול מיטביים הביא לשתילה מוצלחת של המריסטמות בתוך קרקע מזון נקייה ואפשר מעקב אחרי הרגנרציה לצמח חדש. הצמחים החדשים נבדקו לנוכחות הוורוסים שזוהו בצמח האם. לסיכומו של דבר התקבלו 68.4% צמחים נקיים מתוך מצמחים שעברו רגנרציה, אותם ניתן היה לרבות בצורה וגטטיבית ללקוח. **מילות מפתח:** מריסטמה, רגנרציה, וגטיבי, וירוסים

## פיתוח שיטה להמרת אמוניה הנפלטת מבתי גידול של בעלי חיים לדשן מרוכז

אסיל דעאיפה

מנחה ומלווה: ד"ר סיון קלס, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

הגידול המתמיד באוכלוסייה מגביר את צריכת מוצרי העופות, לכן יידרשו יותר בתי גידול של בעלי חיים כדי לענות על הביקוש המוגבר של מוצרי עופות ובעלי חיים, מה שגורם לפליטת יותר מזהמים גזיים לאטמוספירה כמו אמוניה, מימן גופרתי ותרכובות גופרית נדיפות אחרים.

פליטת אמוניה גזית היא אחד המזהמים המדאיגים ביותר המהווה איום על בריאות האדם, בעלי החיים ונזקים סביבתיים כמו יצירת אירוסילים בעיתיים, שינויי אקלים והגברת אפקט החממה באטמוספירה. מבין המגוון הרחב של מקורות פליטת האמוניה כמו מתקנים תעשייתיים וחקלאיים, מפעלי קומפוסטציה ותעשיות מזון, בתי גידול של בעלי חיים נחשב כאחד המקורות העיקריים התורם לפליטת אמוניה לאטמוספירה.

מטרת המחקר היא לפתח שיטה יעילה וחסכונית להמרת האמוניה הנפלטת מבתי גידול של בעלי חיים לדשן מרוכז, וקביעת התנאים הקינטיים האופטימליים לתהליך. בדיקות מנתיות בוצעו על מנת לחקור את הקינטיקה של התגובה בתנאים שונים של ריכוז אמוניה ואמוניום (TAN) ו-PH בזרם חשמלי של 0.3AMP. בדיקות מנתיות נוספות בוצעו על מנת לדמות מצב אמיתי שבהן היה אמוניה וניטרט בריכוז שווה במערכת. קצב התגובה והמרת האמוניה לדשן מרוכז היה עולה עם העלייה ב-PH ו-TAN כך ששיעור הפיכת האמוניה לדשן מרוכז הגבוה ביותר היה בריכוז TAN של 140 מג"ל-כחנקן ב-PH=8.6 ו-1400 מג"ל-כחנקן גם ב-PH=8.6, והקצב האיטי ביותר היה ב-14 מג"ל-כחנקן ב-PH=4.6. נוצר עודף ניטרט כתוצאה מיצירת חומצה חנקתית באוזונוטור ונראה כי הזרם החשמלי משפיע על כמות החומצה החנקתית שנוצרת. נבקה השפעת הזרם הכימי CuO על קצב המרת האמוניה לדשן חנקתי מרוכז ונראה כי הזהר כמעט לא זרז את התגובה.

**מילות מפתח:** אמוניה, דשן

## ייצור מיקרו-הידרוג'לים מבוססי חלבון

גנוה סמארה

מנחה: ד"ר לואי חורי – הפקולטה למדע והנדסה של חומרים, טכניון.

מלווה: פרופ"ח סמאר מרעי - המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

מיקרו-חלקיקים הידרוג'לים מוגדרים כמטריצה של מולקולות מצולבת, הידועים בנפחם הקטן, יכולתם הגבוהה לספיחת מים. ההידרוג'לים מהווים חומר פוטנציאלי במספר יישומים למשל, סובסטרטים לכל רקמות התאים, תבניות להנדסת רקמות, ונשאי תרופות וחלבונים בגוף.

החלבונים יכולים לשמש כתחליף מוצלח לפולימרים סינתטיים הנפוצים בייצור מיקרו-חלקיקים בגלל המאפיינים הייחודיים שלהם כמו למשל, הייחודיות של המבנה, ההתאמה הביולוגית ויכולתם לפריסה וקיפול.

בפרויקט הנוכחי נעשה שימוש במערכת מיקופלואידית ליצירת מיקרו-חלקיקים מבוססי חלבון ע"י שימוש בחלבון מסוג אלבומין כחלבון מטרה כאשר המערכת מעניקה שליטה בגודל החלקיקים הרצוי. פלמור החלקיקים התבצע ע"י ריאקציה פוטו-אקטיבציה חדשנית באמצעות אור UV ושימוש ב Lithium phenyl-2,4,6-trimethyl-benzoyl phosphinate (LAP) כפוטואיניטור ליצירת רדיקלים חופשיים.

החלקיקים אופיינו בעזרת מגוון שיטות כולל: מיקרוסקופ פלורוסנטי (בעזרת חומר פלורסנטי 8-Anilino-1-naphthalene-sulfonic acid (ANS) הנקשר לחלבון מקופל) ו מיקרוסקופ אלקטרוני סורק, על מנת לאפיין גודל והרכב החלקיקים ולבחון מבנה החלבון בתוך החלקיקים.

בנוסף, גם נבחנה השפעת דרגת ה-pH על המבנה של מיקרו-חלקיקים ועל השינוי בנפחם. בפרויקט הנוכחי התקבלו חלקיקים בארבעה גדלים שונים עם סטיה יחסית קטנה מהגודל הרצוי, בצורה כדורית הומוגנית עם שטח פנים פורוסיבי. בנוסף, נמצא שהחלקיקים יציבים בדרגות pH שונות ושומרים על הצורה הכדורית שלהם. pH-קיצוניים גרמו לעליה בקוטר החלקיק כתוצאה מדנטורציה של האלבומין בחלקיקים.

לבסוף, ניתן להסיק שהריאקציה מאקטבת באמצעות UV מאפשרת פלמור של מיקרו-חלקיקים מבוססי חלבון ויצור קשרי צלוב. יתר על כן, שינוי דרגות ה-pH לא משפיע על יציבות המיקרו-חלקיקים אבל כן משפיע על מבנה החלבון.

**מילות מפתח:** מיקרו-חלקיקים הידרוג'לים, מיקרו-חלקיקים מבוססי חלבון, פוטופולימריזציה, מערכת מיקרופלואידית.

## פרויקטים סודיים

**חקר ואופטימיזציה של שלב ההשהיה של מוצרי פסטרמה הודו בין הוספת תמלחת עד לבישול המוצר ירדן אלון**

מנחה: גב' מאיה אברמוב, מפעל המזון "זוגלובק"

מלווה: ד"ר אמאל רוחאנא-טובי, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

**הגדלת ניצולת תהליך הפקת חלבון ביו-פונקציונלי באמצעות סינון ממברנלי רעות אוטמזגין**

מנחה: גב' יובל אפלבוים, MAOLAC

מלווה: ד"ר גלעד אלפסי, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

**פיתוח ואופטימיזציה תהליך הפרמנטציה של שמר המבטא רמות גבוהות של חלבון, לקראת מעבר מתהליך פרמנטציה מעבדתי לתהליך פרמנטציה מסחרי**

**סיואר מנאסרה**

מנחה: ד"ר יניב הררי, Nextferm Technologies Ltd

מלווה: ד"ר איריס בונשטיין, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

**השפעת רמות מיטוכונדריה על תגובת תאי אנדותל הקרנית לנזק מיכל דורמן**

מנחה: ד"ר זיו רוטפוגל וד"ר אביטל אייזנברג-לרנר, מעבדת מחקר לרפואת עיניים, המרכז הרפואי קפלן  
מלווה: ד"ר לילך יסעור קרוח, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

**אינקובציה כפולה בבדיקת עומס מיקרוביאלי עבור דוגמאות IPC של taliglucerase alfa  
לינה אברהים**

מנחה: ד"ר אורלי נידרמן מאיר, פרוטליקס בע"מ  
מלווה: ד"ר נגה קוויט רז, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

**בדיקת ההשפעה של מרכיב חיוני בגידול תרביות תאים צמחיים על ביטוי החלבון TGA כתרופה למחלת הגושה  
מוחמד זידאן**

מנחה: ד"ר משה שליט, פרוטליקס בע"מ  
מלווה: ד"ר אילנה קפטן, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל

**שימוש במערכת הקריספר/קאס לצורך ייצור נוגדנים נחוצים בתאי CHO  
הילה סער**

מנחה: Dr. Bracha Shraibman, LONZA  
מלווה: Dr. Michal Amit, Braude College of Engineering

**אפיון של תאים מזנכמאליים לאחר עריכה גנטית בעזרת CRISPR Cas9 לאורך תהליך פרוליפרציה  
בן גלס**

מנחה: גברת דורנינה רוברמן, פלורי ביוטק, חיפה  
מלווה: פרופ' סמאר מרעי, המכללה האקדמית להנדסה בראודה, כרמיאל