

ויהי אור – הצצה נדירה אל חיי חיידקי המעי שלנו

Anna Golberg, Naama Geva-Zatorsky*

הפקולטה לרפואה ע"ש רפפורט, הטכניון

סוקרים צעירים

8TH GRADE,
WIZO
NAHALAL
SCHOOL
גיל: 13-14



במערכת העיכול שלנו חיים בשלום כ-1.5 ק"ג חיידקים, שקוראים להם "חיידקי המיקרוביוטה". רוב חיידקי המיקרוביוטה לא עושים שום נזק, ואפילו עוזרים לנו להתמודד עם וירוסים שמנסים לתקוף את גופנו ויכולים לגרום מחלות. במהלך האבולוציה החיידקים פיתחו מערכת יחסים הדדית עם מערכת החיסון שלנו, ויש להם השפעה רבה על התפתחותה ועל תפקודה. אולם כאשר היחסים הללו בין חיידקי המיקרוביוטה והגוף שלנו יוצאים מאיזון, עשויות להתפתח מחלות רבות. מסיבה זו, יש חשיבות רבה לחקור את הרכב חיידקי המיקרוביוטה, ואת יחסי הגומלין בינם לבין תאי גופנו. במחקר זה, פיתחנו שיטה לסמן את חיידקי המיקרוביוטה עם סמן פלורוסנטי. זהו סמן שמחזיר אור אם מאירים עליו, בדיוק כמו מחזירי האור על האופניים שלנו. סמן זה ניתן לזיהוי על ידי מיקרוסקופ מיוחד. בעזרת סימון זה אנו יכולים לשמש כבלשים, ולעקוב אחר הפעילות של חיידקי המעי שלנו בסביבתם הטבעית.

חיידקי המעיים שלנו

במערכת העיכול שלנו חיים בשלום כ-1.5 ק"ג חיידקים, שקוראים להם "מיקרוביוטה". רוב חיידקי המיקרוביוטה לא עושים שום נזק, ואפילו עוזרים לנו להתמודד עם וירוסים שמנסים לתקוף את גופנו ויכולים לגרום מחלות. במהלך האבולוציה החיידקים פיתחו מערכת יחסים

מיקרוביוטה (Microbiota)

שם כולל לסך החיידקים
המתגוררים בגופנו.

הדדית עם מערכת החיסון שלנו, ויש להם השפעה רבה על התפתחותה ועל תפקודה. אולם כאשר היחסים הללו בין חיידקי המיקרוביוטה והגוף שלנו יוצאים מאיזון, עשויות להתפתח מחלות רבות. מסיבה זו, יש חשיבות רבה לחקור את הרכב חיידקי המיקרוביוטה, ואת יחסי הגומלין בינם לבין תאי גופנו.

חיידקים הם יצורים חד-תאיים. התא שלהם מוקף בדופן קשיחה שמגינה עליהם ונחוצה להישרדותם. מעטפת זו בנויה משכבות של פפטידוגליקנים (מולקולות גדולות המורכבות מסוכרים וחלבונים). ניתן לחלק את החיידקים לשתי קבוצות עיקריות הנבדלות בהרכב של המעטפת החיצונית שלהם. קבוצה אחת נקראת "חיידקים גראם חיוביים" וקבוצה שנייה נקראת "חיידקים גראם שליליים". את השם "גראם" קיבלו על שם הרופא הדני הנס כריסטיאן גראם, אשר פיתח צביעת יוד מיוחדת המאפשרת להבדיל בין שתי הקבוצות. מעטפת החיידקים הגראם חיוביים היא עבה מאוד ובנויה משכבות רבות של **פפטידוגליקנים**. לעומת זאת, מעטפת החיידקים הגראם שליליים דקה יותר, היא בנויה משכבות בודדות של פפטידוגליקנים, אך היא מכילה בנוסף שכבה מיוחדת שמורכבת מסוכרים, חלבונים ושומנים. המולקולות הגדולות הללו שבונות את דופן החיידקים ויושבות בצד החיצוני של החיידק, משמשות ככלי התקשורת של החיידק עם הסביבה. תאי מערכת החיסון שלנו יודעים לזהות את אותן מולקולות ספציפיות בדופן, וכך חלק מהחיידקים יכולים לתקשר ולהפעיל את התגובה החיסונית של הגוף.

זן אחד של חיידקי גראם שליליים, בשם *Bacteroides fragilis*, שייך למשפחה הכי נפוצה במעי של רוב האנשים. הוא מכסה את עצמו בשכבת סוכרים ייחודיים לו. סוכרים אלו יכולים "לדבר" עם מערכת החיסון ולהוריד את הפעילות שלה, ובכך להגן עלינו ממחלות זלקתיות שונות (מחלות זלקתיות הן מחלות אשר נגרמות עקב פעילות מוגברת של מערכת החיסון בגוף). בשל השכיחות של חיידק ה-*Bacteroides fragilis* וחשיבותו למצב מאוזן של המיקרוביוטה במעי, החלטנו להתמקד בו במחקר שלנו.

לעקוב אחר חיידקים בעזרת חלבון פלורוסנטי

כיום, השיטה הנפוצה ביותר לעקוב אחר תהליכים ביולוגיים, היא שימוש בחלבון שנקרא GFP (Green Fluorescent Protein). זהו חלבון **פלורוסנטי**, אשר הופק לראשונה ממדוזות שזוהרות במעמקי הים, ומאז משמש חוקרים ברחבי העולם. בעזרת שיטות ביולוגיות מתקדמות אפשר להכניס את החלבון הזה לחיידקים ובכך להפוך אותם לזוהרים, מה שמאפשר לנו לראות אותם ולעקוב אחריהם (איור 1).

חלבון ה-GFP עוזר מאוד למחקרים רבים ומגוונים בביולוגיה, אך ישנה מגבלה אחת – הוא זקוק לחמצן כדי לזהור, ובנכחי המעי שלנו, איפה שהרבה חיידקים יושבים, ישנם אזורים רבים נטולי חמצן כמעט לחלוטין. אלה נקראים אזורים **אנאירוביים** – אזורים ללא חמצן בכלל. לפיכך, רוב החיידקים המתגוררים במעי הם חיידקים אנאירוביים. חיידקים אלו דורשים סביבה נטולת חמצן כדי להתקיים. חלקם אפילו יכולים למות אם הם נחשפים לחמצן.

לכן חיפשנו שיטה אחרת שבה נוכל להוסיף סמן פלורוסנטי לחיידקים אנאירוביים, כמו *B. fragilis* ואחרים, אשר יכול לזהור גם בהיעדר חמצן.

פפטידוגליקנים (Peptidoglycans)

מולקולות גדולות המורכבות מסוכרים וחלבונים הנותנים חוזק מבני לדופן התא של החיידקים.

פלורוסנטי (Fluorescent)

חומר המחזיר אור אם מאירים עליו.

אנאירובי (Anaerobic)

נטול חמצן. חיידקים אנאירוביים דורשים סביבה נטולת חמצן כדי להתקיים.

איור 1

במעיים שלנו ישנן משפחות שונות של חיידקים, החיים שם בשגרה ומכונים מיקרוביוטה. על ידי סימון החיידקים בצבעים פלורוסנטיים שונים והסתכלות תחת מיקרוסקופ, יכולנו להציץ פנימה ולקבל מושג על חייהם. היכן הם מעדיפים להשתקע לאורך מערכת העיכול, ואיך מתבצעת התקשורת בינם לבין תאי הגוף שלנו.



איור 1

כאשר מדברים על התא החיידקי, ניתן לדמיין אותו כמפעל כימי ענק. בו בזמן מתרחשים בו הרבה תהליכים שונים, המון תגובות כימיות, חומרים מועברים ממקום למקום, תוך בקרה הדוקה מאוד וסדר מופתי. כאשר אנו רוצים להתערב במתרחש ולהוסיף דבר חיצוני, חשוב שלא נפגע בתהליכים הטבעיים. לשם כך, במחקר זה סימנו את החיידקים בעזרת מולקולות פלואורסצנטיות חיצוניות שלרוב אינן קיימות באופן טבעי בתא ולכן אינן מפריעות לתהליכים הטבעיים בתוך החיידקים.

שיטה חדשה ליצירת חיידקים פלורוסנטיים

נעת נפרט קצת יותר לגבי התהליך בו הפכנו חיידקים לפלורוסנטיים בסביבה נטולת חמצן. (איור 2) [1].

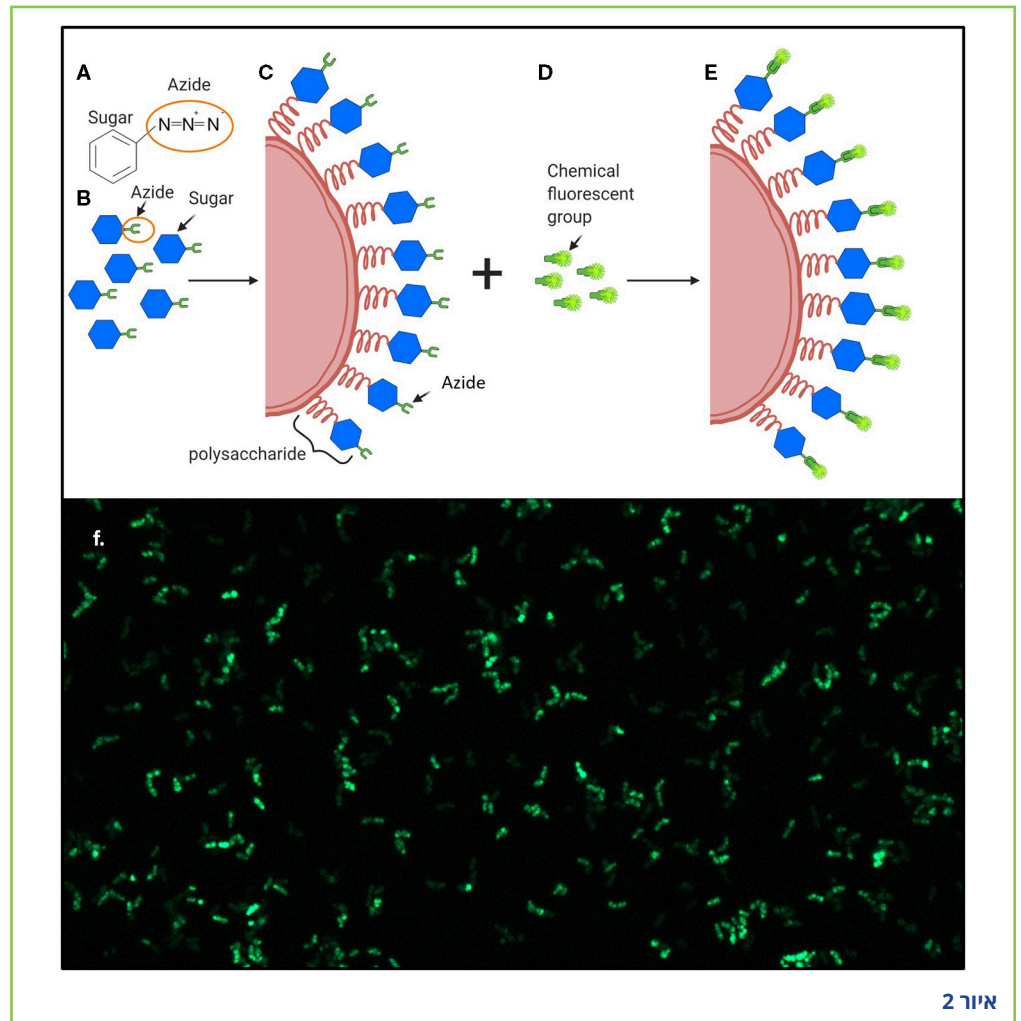
בשלב ראשון מייצרים מולקולות סוכר מחוברת לקבוצה **אזידית** [2]. קבוצה זו פעילה מאוד כימית (כלומר היא מגיבה במהירות עם תרכובות כימיות אחרות). בשלב השני מגדלים את החיידקים במצע המכיל את מולקולות הסוכר הללו. החיידקים צורכים את הסוכר כדי להשתמש בו לבניית המעטפת שלהם. באופן הזה, מולקולות הסוכר המכילות את הקבוצה האזידית, מוכנסות כאבן בניין לתוך מולקולות הסוכרים הענקיות, ומוצגות על ידי החיידק על גבי המעטפת החיצונית שלו. בשלב השלישי מוסיפים לחיידקים חומר פלורוסנטי מיוחד (שלא דורש חמצן כדי לזהור) אשר יודע להגיב בצורה יעילה ומדויקת מאוד עם הקבוצה האזידית, ממש כמו מפתח ומנעול שמתאימים אחד לשני. כך יצרנו חיידקים שעל המעטפת

קבוצה אזידית (Azide group)

קבוצה כימית הבנויה משלושה אטומי חנקן (N). קבוצה זו פעילה מאוד כימית, כלומר מגיבה במהירות וביעילות עם הפרטנר המתאים.

איור 2

שלבי יצירה של חיידקים פלורוסנטיים. (A) קבוצה אזידית המורכבת משלושה אטומי חנקן המחוברים ביניהם יוצרת מבנה כימי פעיל מאוד, הנוטה להגיב במהירות וביעילות עם הקבוצה הכימית המתאימה מחוברת לסמן פלורוסנטי זוהר. (B) מייצרים סוכר שאזיד מחוברת לקבוצה אזידית. (C) חיידקים צורכים את הסוכר ומשתמשים בו לבניית המעטפת החיצונית שלהם. הסוכר האזיד מתחבר לרב-סוכרים במעטפת החיידק. (D) מוסיפים למצע גידול חיידקים מולקולות כימיות אשר מחוברות לקבוצה פלורוסנטית ומתאימות באופן מדויק לקבוצה האזידית. (E) המולקולה הפלורוסנטית מתחברת לקבוצה אזידית על גבי המעטפת החיצונית של החיידקים והופכת אותם לפלורוסנטיים. (F) צילום של חיידקי *B. fragilis* אמיתיים מסומנים פלורוסנטית תחת מיקרוסקופ. *חלקים A-E של האיור נוצרו בתוכנת BioRender.com.



איור 2

החיצונית שלהם קשור חומר פלורוסנטי, ולכן כאשר נאיר אותם באור מסוים נוכל לראותם תחת מיקרוסקופ ולעקוב אחר הפעילות שלהם.

האינטראקציות בין חיידקים ובין תאי מערכת החיסון

הדבר הראשון שרצינו לצפות בו היה אינטראקציה של חיידקים עם תאים שונים של מערכת החיסון במבחנה. לקחנו תאים מסוג **מקרופאגים** (איור 3A,B) – אלו תאים שאפשר לדמין אותם כחיילים של משמר הגבול. הם מסיירים בגופנו ומחפשים גורמים זרים ועוינים לגוף. ברגע שגורם כזה מתגלה, תאי המקרופאגים יודעים לבלוע ולפרק את הגורם הזר, בתהליך אשר נקרא **פאגוציטוזה**. אנחנו הוספנו לתאים אלו חיידקי *B. fragilis* מסומנים פלורוסנטית, והצלחנו לראות במיקרוסקופ את תהליך הבליעה של החיידקים על ידי המקרופאגים.

בדקנו סוג נוסף של תאים חיסוניים – **תאים דנדריטיים** (איור 3C,D). תאים אלה, בדומה למקרופאגים, יכולים לבלוע את הגורם הזר שבו נתקלו, אך נוסף על כך, לאחר שפירקו את הפולש, הם מציגים חלקים ממנו על גבי המעטפת שלהם, כדגל אדום המאותת למרכיבים אחרים במערכת החיסון על קיום סכנה. אנו הוספנו לתאים אלו את חיידקי ה-*B. fragilis*

מקרופאג (Macrophage)

תא של מערכת החיסון המסוגל לזהות גורמים זרים לגוף כגון חיידקים זרים, לבלעם ולסלקם. תאים מסוג זה גם מסוגלים לרפא פצעים בגוף.

פאגוציטוזה (Phagocytosis)

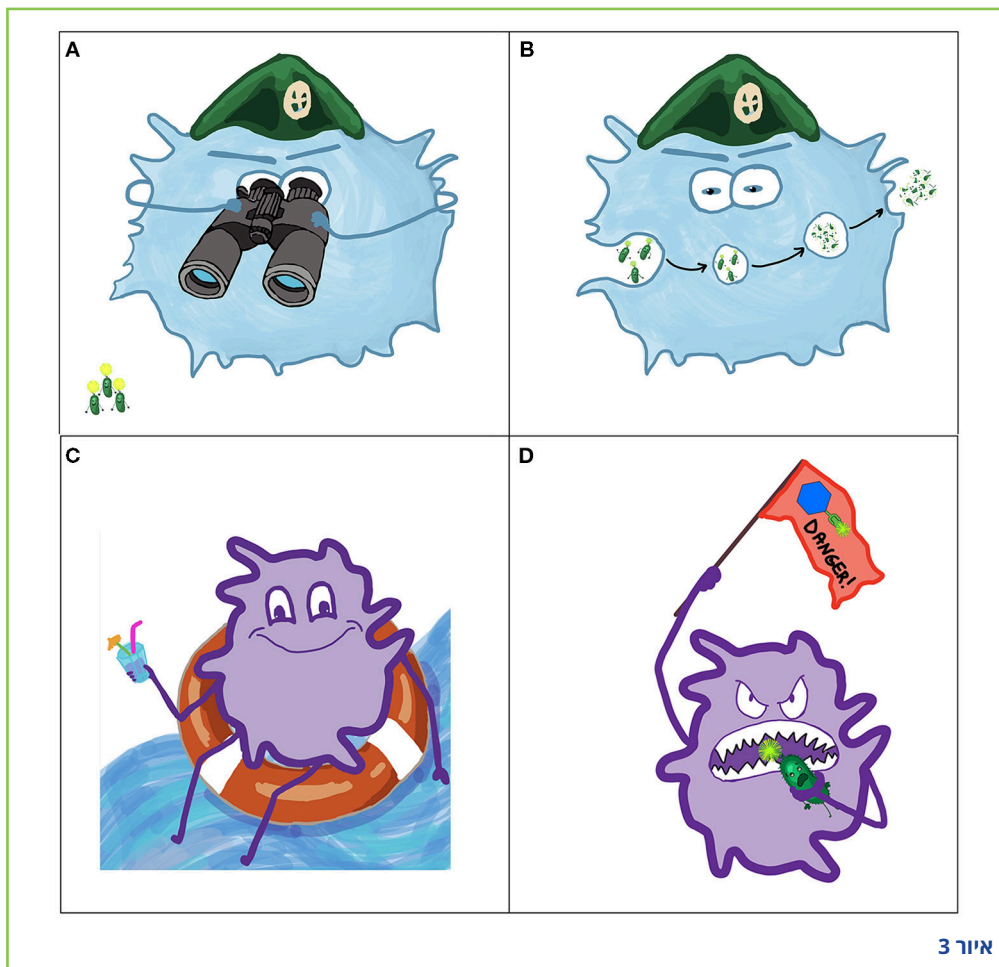
מיוונית, פאגוס = אוכל, ציטוס = תא. תהליך בו תאים יכולים "לבלוע" חלקיקים גדולים כמו חיידקים ולפרק אותם לחתיכות קטנות.

תאים דנדריטיים (Dendritic cells)

תאים של מערכת החיסון אשר יכולים לבלוע פולשים זרים לגוף (לדוגמה חיידקים זרים), ולהציגם לשאר התאים במערכת החיסון כך שמערכת החיסון תוכל להיערך לתקיפה נגדם.

איור 3

חיידקים מתקשרים עם תאים של מערכת החיסון. באמצעות סמנים פלורוסנטיים נוכל לזהות אילו תאים חיסוניים "דיברו" עם החיידק המסומן. (A) תא מקרופאגי "מסייר", מחפש ומוצא פולשים זרים. (B) כאשר הם נתקלים בפורצים, מקרופאגיים בולעים אותם על ידי פאגוציטוזה ומשמידים אותם. (C) תאים דנדריטים מסתובבים גם בגוף, ערניים לפולשים. (D) כאשר תא דנדריטי בולע פולש, הוא מציג את החלקים הזרים על חלקו החיצוני. כך התא הדנדריטי מאותת לתאים אחרים בסביבתו על קיום סכנה.



איור 3

עם הסוכר המסומן פלורוסנטית. ראינו במיקרוסקופ שהתאים הדנדריטיים מציגים את הסוכר הפלורוסנטי כמו דגל אזהרה. בצורה הזו אותו התא מאותת לגוף על המפגש עם החיידק.

נוסף על כך רצינו להסתכל איך מתבצעת התקשורת בין החיידקים לבין מערכת החיסון בגוף השלם. הצלחנו לראות במיקרוסקופ איך חיידקים שיצרו דלקת בחלל הבטן מתקדמים דרך רקמות הגוף השונות בתוך כמה שעות. בכל נקודה בדרך, מצאנו אותם קשורים לתאים אחרים של מערכת החיסון.

לכל חיידק נישה משלו

עוד נושא שעניין אותנו, היה היכן החיידקים השונים בוחרים להשתקע במערכת העיכול. הידעתם שהמעיים שלנו הם באורך של כ-7.5 מטר? הם נראים כמו צינור המקופל מספר רב של פעמים בתוך חלל הבטן שלנו, ומחולקים לשלושה קטעים עיקריים: המעי הדק, המעי הגס ובסוף הרקטום (החלק הסופי של המעי הגס). החיידקים השונים של המיקרוביוטה קיימים בתוך המעיים מאז שנולדנו (קיבלנו אותם מאימהותינו), או מגיעים לשם עם האוכל שאנו אוכלים. המסע של כל חיידק מתחיל בקיבה, ומשם הוא עובר דרך צינור המעיים עד שהוא מוצא את הסביבה המתאימה ביותר שבה יוכל להישאר ולהקים מושבה.

את חיידקי ה-*B. fragilis* הפלורוסנטים הכנסנו לעכבר מעבדה דרך הפה, והסתכלנו עליו במכשיר שיכול לקלוט את האור הפלורוסנטי של החיידק לאורך זמן. ראינו שלאחר כשעתיים רוב החיידקים עברו מהקיבה אל המעי הדק, ולאחר 12 שעות רוב החיידקים היו כבר במעי הגס. אך במערכת העיכול של העכבר יש מגוון גדול של חיידקים, והם נמצאים בתחרות אחד עם השני על המקומות השונים להקים בהם מושבה. לכן, הסתכלנו גם על עכברים מסוג GF - germ free. אלו הם עכברים שאין בגופם אף לא חיידק אחד. כדי ללמוד על התמקמות החיידקים בעכבר, הוספנו את חיידקי ה-*B. fragilis* המסומנים פלורוסנטית, ועקבנו אחריהם במשך כמה ימים. בניסוי זה ראינו שלמרות שאין בעכבר עוד חיידקים, ה-*B. fragilis* בכל זאת בחרו להתמקם במעי הגס. מהניסוי נוכל להסיק כי ככל הנראה במעי הגס נמצאים התנאים האופטימליים לגידול ומחיה של *B. fragilis*.

בחלק האחרון של הניסוי, סימנו חיידקים שונים בצבעים שונים. עשינו זאת באותה שיטה שתיארנו בהתחלה, רק שהחומר הפלורוסנטי שסימנו בו כל חיידק היה מסוג אחר, ולכן זהו באור בצבע אחר. כך הצלחנו לסמן שלושה חיידקים שונים השייכים למיקרוביוטה של המעיים בבת אחת, ולהבדיל ביניהם. חיידק *B. fragilis* שסימנו בצבע כתום, *B. vulgatus* שסימנו בצבע ירוק, ו-*B. ovatus* שסימנו בצבע ורוד. הכנסנו את שלושתם יחד לעכברים, ולאחר זמן מה בדקנו איפה כל סוג בחר להשתקע. הודות לצבעים השונים שבהם סימנו את החיידקים יכולנו ממש להבחין בין החיידקים השונים במיקומים השונים, וללמוד על החיידקים בסביבתם הטבעית. ראינו כי כל חיידק התמקם באופן ייחודי לו. במעי יש מאות, אם לא אלפי חיידקים שונים. העבודה שלנו ועבודות של אחרים מראות כי סוגים שונים של חיידקים מתמקמים באזורים שונים, וזו אחת הדרכים שלהם להסתדר יחד.

סיכום

לסיכום, במחקר שלנו, פיתחנו שיטה לסימון חיידקים אנאירוביים בסמנים פלורוסנטיים בצבעים שונים, ללא נוכחות חמצן. בשיטה זו הצלחנו לראות איך החיידקים מתקשרים עם תאים חיסוניים מסוימים בתנאי מעבדה כמו גם בגוף השלם של עכברים. ראינו איך חיידקים שונים בוחרים סביבה להשתקע בה במעיים בתנאים של תחרות ובתנאים של חוסר תחרות. עבודה זו חשובה מכיוון שחיידקים אנאירוביים מהווים את הרוב המוחלט של המיקרוביוטה במעי שלנו. סימון שלהם ומעקב אחריהם יעזרו לנו להבין את תפקידם בתפקוד הגוף שלנו.

תודות

אנו רוצות להודות להייתם חג'ו על העזרה בכתיבה ובהגהה.

מאמר המקור

Geva-Zatorsky, N., Alvarez, D., Hudak, J., Reading, N. C., Erturk-Hasdemir, D., Dasgupta, S., et al. 2015. *In vivo* imaging and tracking of host-microbiota interactions via metabolic labeling of gut anaerobic bacteria. *Nat. Med.* 21:1091-100. doi: 10.1038/nm.3929

מקורות

1. Geva-Zatorsky, N., Alvarez, D., Hudak, J., Reading, N. C., Erturk-Hasdemir, D., Dasgupta, S., et al. 2015. *In vivo* imaging and tracking of host-microbiota interactions via metabolic labeling of gut anaerobic bacteria. *Nat. Med.* 21:1091–100. doi: 10.1038/nm.3929
2. Laughlin ST, Bertozzi CR. Metabolic labeling of glycans with azido sugars and subsequent glycan-profiling and visualization via Staudinger ligation. *Nat Protoc.* 2007;2(11):2930-44.

פורסם אונליין: 09 בנובמבר 2021

נערך על ידי: Idan Segev, Hebrew University of Jerusalem, Israel

ציטוט: Golberg A and Geva-Zatorsky N (2021) ויהי אור – הצצה נדירה אל חיי חיידקי המעי שלנו. *Front. Young Minds.* doi: 10.3389/frym.2021.654760-he

תורגם והותאם: Golberg A and Geva-Zatorsky N (2021) Let There be Light—A Rare Glimpse Into the Lives of Our gut Bacteria. *Front. Young Minds* 9:654760. doi: 10.3389/frym.2021.654760

הצהרת ניגוד אינטרסים: המחברים מצהירים כי המחקר נערך בהעדר כל קשר מסחרי או פיננסי שיכול להתפרש כניגוד אינטרסים פוטנציאלי.

COPYRIGHT © 2021 © Golberg and Geva-Zatorsky 2021. זהו מאמר בגישה פתוחה שמופץ תחת תנאי רישיון Creative Commons Attribution License (CC BY). השימוש, ההפצה או ההעתקה מותרים לשימוש בפורומים אחרים ובלבד שיינתן קרדיט למחברים (ים) המקוריים ולבעל זכויות היוצרים, ושהפרסום המקורי בעיתון זה מצוטט בהתאם למקובל באקדמיה. השימוש, ההפצה או ההעתקה אינם מותרים אם הם אינם עומדים בתנאים אלה.

סוקרים צעירים

14-13, 8TH GRADE, WIZO NAHALAL SCHOOL

אנו מודים לנועה מנדלבאום שהנחתה אותנו בסקירת המאמר. אנו קבוצת ילדים מבית ספר ויצ"ר בנהלל: לירי, גרה באלוני אבא ואוהבת לשחק כדורסל; פלג, גר בגבעת אלה ואוהב לשחק במשחקי מחשב ולערך סרטונים; נטע, גרה בעדי ואוהבת לרקוד; אייל, גר בגבעת אלה ואוהב לצייר ולפגוש אנשים חדשים; ליה, גרה בעדי ואוהבת לבשל ולאפות; שירה, גרה בבית שערים ואוהבת לעשות ספורט, לבשל ולאפות.

הכותבים

ANNA GOLBERG

סטודנטית לדוקטורט במדעי הרפואה, בפקולטה לרפואה בטכניון. בשנת 2017 סיימה בהצטיינות תואר בהנדסה ביוכימית בטכניון. לאחר מכן עבדה בתעשיית חומרים מרוכבים במחלקת פיתוח. לאחר כשנה וחצי בתעשייה, נזכרה בחלום ילדות שלה לְשַׁבֵּט כבשה צבעונית, והחליטה לחזור ללימודים מתקדמים בטכניון כדי



להפוך לחוקרת בתחום הביולוגיה. היום, במסגרת התואר המתקדם, היא חוקרת את המבנה התלת-ממדי של הגנום במעבדתו של פרופסור נועם קפלן.



NAAMA GEVA-ZATORSKY

פרופסור נעמה גבע-זטורסקי היא חוקרת בטכניון, בפקולטה לרפואה ע"ש רפפורט. היא עמיתת חורב ואלון, וכן עמיתת WISTEM2D של ג'ונסון אנד ג'ונסון, וחוקרת של CIFAR-Azrieli Global Scholar בתוכנית Humans & Microbiome. היא למדה את התואר הראשון הכפול שלה, בכימיה וביולוגיה, באוניברסיטת תל-אביב. היא השלימה בהצטיינות תואר שני ודוקטורט במכון ויצמן, בביולוגיה מערכתית עם פרופ' אורי אלון. נעמה סיימה את לימודיה בהצטיינות וקיבלה את פרסי JFK, טבע וברנהולץ על הדוקטורט שלה. היא המשיכה ללימודי פוסט-דוקטורט בבית הספר לרפואה בהרווארד כעמיתת EMBO, Fulbright, Human Frontiers ו-UNESCO-L'Oreal, בהנחייתו של פרופ' דניס קספר. במעבדה שלה, בטכניון, עם צוות של 8-10 סטודנטים, פוסט-דוקטורנטים ועמיתי מחקר, היא מיישמת אסטרטגיות חשיבה של ביולוגיה מערכתית עם מיקרוביולוגיה, אימונולוגיה וביולוגיה של בקטריופאגים, כדי לחקור את האינטראקציות המכניסטיות של מעיים יכולים להשלים את הפיזיולוגיה האנושית ולקדם את הבריאות. *naama_gz@technion.ac.il

Hebrew version
provided by

מזיאון המדע ע"ש בלומפילד ירושלים (ער.)
متحف العلوم على اسم بلومفيلد القدس
Bloomfield Science Museum Jerusalem

