

חלבון מפיץ-אור מסייע למדענים להדמות פעילות של תאי מוח

Sophie Bouccara *, Ofer Yizhar

המחלקה למדעי המוח, מכון ויצמן למדע, רחובות, ישראל

סוקרים צעירים

GILI

גיל: 14



RIDDHISH

גיל: 13

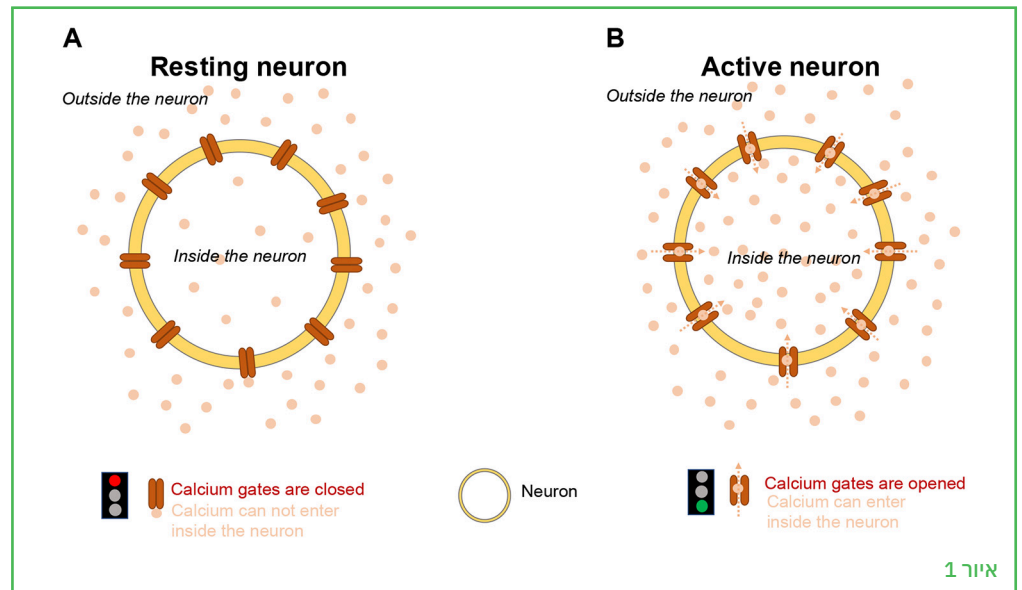


תאי עָצֵב (נוֹיְרוֹנִים), הם תאי מוח שיכולים לייצג מידע ולאחסן אותו. הם גם מסייעים לגוף להגיב לאירועים שקורים סביבנו. כיצד תאי העצב מייצגים את המידע הזה, מעבדים אותו ומאחסנים אותו? אֵילוֹ תאי עצב פעילים כשאנו מתנהגים בצורה מסוימת? אלה הן שאלות מדעיות בסיסיות. גישה ניסויית חשובה שמטרתה לענות על השאלות הללו, מבוססת על תיעוד פעילות תאי העצב בתוך המוח. בשנת 2001, מדענים פיתחו גישה שעושה שימוש באור, ובחלבון מרתק שמפיץ אור פְּלוּאוֹרֶסְצֵנְטִי בוהק כאשר תאי העצב פעילים. החלבון המהונדס הזה, שנקרא GCaMP מגיב לכמויות הסידן שנמצאות בתוך תאי העצב, בהתבסס על כך שכאשר תא עצב נכנס לפעולה, כמויות הסידן שבו עולות. כיום, מעבדות רבות ברחבי העולם עושות שימוש בחלבון GCaMP במטרה לחקור את פעילות תאי העצב. במאמר זה נסביר כיצד הכלי הזה פועל, ומה הופך אותו שימושי כל כך בחקר המוח.

סידן זורם לתאי עצב כאשר הם נכנסים לפעולה

תאי עצב (ניורונים), הם תאי מוח שיכולים לאחסן מידע ולשדר אותו, באמצעות אותות חשמליים וכימיים. תאי העצב 'מְדַבְּרִים' זה עם זה בעזרת כימיקלים המכונים **מוליכים עצביים**. כאשר תא עצב מופעל חשמלית, הוא יכול לשחרר מוליכים עצביים אשר נעים אל תאי העצב השכנים, ומשפיעים על פעילותם. האות החשמלי שְׁמָאֲתָחַל את התקשורת הזו נקרא **דחף עצבי**, והוא מקרה פרטי של תופעה פיזיולוגית המכונה 'פוטנציאל פעולה' (Action Potential), המתרחשת גם בסוגי תאים נוספים בצמחים ובבעלי חיים. הדחף העצבי הוא מרכיב חיוני בתקשורת בין תאי העצב. כאשר הוא נכנס לפעולה, הדחף העצבי נע לאורך תא העצב, וגורם לשחרור מוליכים עצביים לכיוון תא העצב השָׁכֵן [1].

כמו כל תא אחר בגוף, תאי העצב מוקפים בשכבה המכונה 'קרום התא' (מְמֶבְרָנָה), אשר מפרידה בין פְּנִים התא לבין מה שנמצא מחוץ לתא. שתי הסביבות – בתוך התא ומחוץ לו, נבדלות בהרכביהן הכימיים. ההבדל בין מספר המטענים החשמליים בפנים התא לעומת מספר המטענים החשמליים בסביבתו החיצונית, נקרא **מתח קרום התא**. כאשר תא עצב נמצא במצב מנוחה (כלומר, אינו פעיל), הוא מכיל מעט מאוד סידן, ומתח קרום התא שלו קבוע (**איור 1A**). כאשר מתרחש דחף עצבי בתא עצב, מתח קרום התא עולה, ומאפשר לכמות עצומה של סידן לזרום אל תוך תא העצב. כאשר הסידן נכנס, הוא גורם לשחרור המוליכים העצביים, וכך מתאפשרת תקשורת בין תאי העצב.



מה יכול לאפשר את זרימת הסידן הפתאומית אל תוך תא העצב? התשובה לכך היא שעל פני קרום התא מפוזרים 'שערי סידן', שנפתחים ונסגרים כתלות במתח קרום התא. כך פועל התהליך: כאשר תא עצב נמצא במצב מנוחה, שערי הסידן סגורים, ויש מעט מאוד סידן בתוך התא (**איור 1A**). כאשר תא העצב נכנס לפעולה, מתח קרום התא שלו עולה, שערי הסידן נפתחים וסידן מציף את התא (**איור 1B**). ניתן להשתמש בעלייה המהירה הזו בכמות הסידן בתוך התא, כאות המוּרָה לנו אם תא העצב פעיל, או אם הוא אינו פעיל.

תאי עצב (Neurons)

תאי מוח המְתַקְשְׂרִים זה עם זה באמצעות אותות חשמליים, ויכולים לשדר מידע.

מוליכים עצביים (Neurotransmitters)

מולקולות כימיות המאפשרות לתאי עצב לשדר מידע לתאי עצב שכנים.

דחף עצבי (Action Potential)

אות חשמלי המתרחש בתא עצב פעיל.

מתח קרום התא (Membrane Potential)

ההבדל במספר המטענים החשמליים הקיימים בסביבתו הפנימית של התא לעומת סביבתו החיצונית.

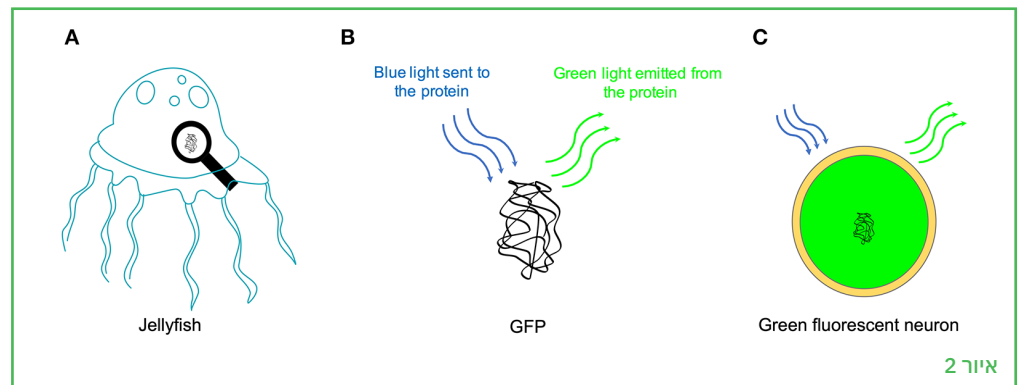
איור 1

כאשר תא העצב נכנס לפעולה, כמות הסידן שבו עולה. (A) כשתא העצב במצב מנוחה (Resting neuron), שערי הסידן סגורים (Calcium gates are closed), סידן אינו יכול להיכנס לתוך תא העצב (Calcium can not enter inside the neuron), וכמות הסידן בתא נמוכה מאוד. (B) כאשר תא העצב נכנס לפעולה (Active neuron), שערי הסידן נפתחים (Calcium gates are opened), סידן יכול להיכנס לתוך תא העצב (Calcium can enter inside the neuron), וכמות הסידן בתא עולה בחדות. מקרא:
– Outside the neuron מחוץ לתא העצב
– Inside the neuron תא העצב

מהו חלבון פלואורסצנטי ירוק?

האם ניתן למדוד את ריכוז הסיידן בתוך תא העצב במטרה לעקוב אחר פעילותו? כדי להבין כיצד ביכולתנו להדמות את פעילות תאי העצב, עלינו להציג מושג חשוב: **פלואורסצנטיית**. כמו כן אנו צריכים ללמוד על אודות חלבון פלואורסצנטי מיוחד מאוד. פלואורסצנטיית [2] היא תופעה פיזיקלית המתרחשת כאשר מולקולה סופגת אור בצבע מסוים, וכמעט מייד פולטת אור בצבע אחר. מולקולות פלואורסצנטיית סופגות ופולטות אור במגוון צבעים, כתלות בהרכבן ובמבנה שלהן. צורתיהן של המולקולות הפלואורסצנטיית מכריעות, משום שהן מאפשרות את ספיגת האור ופליטתו.

עולם הטבע מלא בחלבונים. חלבונים הם מולקולות גדולות המיוצרות על ידי תאי הגוף במטרה לבצע תפקודים ייעודיים. תאים משתמשים בחלבונים כדי לכווץ שרירים, להגן עלינו מפני זיהומים, ולשנע חומרים בתוך התא ואל מחוץ לקרום התא. לדוגמה, גם שערי הסיידן הם חלבונים, שתפקידם להיפתח ולהיסגר, כתלות במתח קרום התא. ישנם חלבונים שתפקודם הוא פלואורסצנטיית. אחד החלבונים הפלואורסצנטיים המפורסמים ביותר הוא **חלבון הפלואורסצנטי הירוק (GFP)**. חלבון ה-GFP התגלה לראשונה בתוך מדוזות (איור 2A). מדענים גילו אותו כאשר חקרו את מקור האור הירוק שהמדוזה מפיצה [3–5]. חלבון סופג אור כחול או סגול, ופולט אור ירוק (איור 2B). בעקבות גילוי ה-GFP, מדענים רבים שיתפו פעולה במטרה להבין את המבנה הכימי של חלבון זה, כמו גם את הקוד הגנטי המאפשר למדוזה לייצר אותו.



הקוד הגנטי של חלבון מסוים הוא ה'מתכון' המשמש את התאים לייצור אותו חלבון. כאשר המדענים גילו את המבנה של חלבון ה-GFP ואת הקוד הגנטי שלו, הם שינו את הקוד, כך שתאים של אורגניזמים אחרים יוכלו אף הם לייצר את החלבון. זאת במטרה לסייע לחוקרים להבין תהליכים שונים המתרחשים בתוך התא, ולראות תהליכים אלו. כאשר תא מייצר GFP הוא הופך פלואורסצנטי, כלומר, כאשר מאירים אותו באור כחול, הוא פולט אור ירוק, וכך ניתן לזהות אותו באמצעות מיקרוסקופ פלואורסצנטי. תגלית חלבון ה-GFP הובילה למהפכה גדולה בתחום הביולוגיה, ושלושה מדענים שהיו מעורבים בתגלית זכו על כך בפרס נובל לכימיה לשנת 2008.¹ כיום, מדענים יכולים להשתמש בחלבון ה-GFP כדי להפוך תאי עצב לפלואורסצנטיים, וכך לראות אותם בבירור באמצעות מיקרוסקופ (איור 2C). אולם כיצד אנו יכולים להשתמש בחלבון ה-GFP וברמות הסיידן ככלים לקריאת פעילותם של תאי העצב?

פלואורסצנטיית (Fluorescence)

תופעה המתרחשת כאשר מולקולה סופגת אור בצבע מסוים ופולטת אור בצבע אחר.

חלבון הפלואורסצנטי הירוק Green Fluorescent Protein, (GFP)

חלבון המיוצר בטבע על ידי מדוזות, אשר סופג אור כחול ופולט אור ירוק.

איור 2

חלבון הפלואורסצנטי הירוק (GFP). (A) חלבון ה-GFP התגלה לראשונה במדוזות (Jellyfish). (B) כאשר חלבון ה-GFP מקבל וסופג אור כחול, הוא פולט אור ירוק. (C) כאשר מכניסים לתא עצב את הקוד הגנטי של חלבון ה-GFP, תא העצב מייצר את החלבון הזה, וכתוצאה מכך מפיץ אור פלואורסצנטי. מקרא: Blue light sent to the protein = אור כחול הנשלח לחלבון Green light emitted from the protein = אור ירוק הנפלט מהחלבון Green fluorescent neuron = תא עצב המייצר חלבון פלואורסצנטי ירוק

¹<https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2008/illustrated-information/>

כיצד מדענים משתמשים בפלואורסצנטיות להבנת פעילות תאי העצב?

עד כה למדתם שכאשר תא עצב נכנס לפעולה, רמת הסיידן בתוכו עולה. גיליתם גם כי יש חלבונים, כמו חלבון ה-GFP, שיכולים להיות מיוצרים בתוך תאי עצב, ולהופכם פלואורסצנטיים. כעת, נחקור כיצד חלבון מהונדס בשם **GCaMP** עושה שימוש בסיידן ובפלואורסצנטיות כדי להדמות פעילות של תאי עצב.

כאשר יצרו את חלבון ה-GCaMP, המטרה הייתה ליצור חלבון ש'יידלק' כאשר רמות הסיידן בתא העצב עולות. כך, תכונת הפלואורסצנטיות 'תִּדְלַק' כשאתא העצב פעיל, ו'תִּכְבֵּה' כשהוא במצב מנוחה. כדי לעשות זאת, נדרשו שלושה רכיבים: רכיב אחד שיכול לחוש את כמות הסיידן בתא העצב, רכיב שני המייצר אור, ורכיב שלישי שמדליק את המערכת ומכבה אותה, כתלות בכמות הסיידן. בעזרת שלושת הרכיבים הללו, המדענים יצרו מולקולה שהופכת פלואורסצנטית רק כאשר נקשר אליה סיידן.

במטרה לבצע זאת, המדענים פיתחו סוג חדש של חלבון GFP שיכול לשנות את צורתו, שנקרא cp-GFP. האותיות 'cp' הן ראשי התיבות באנגלית של המילים **תְּמֻרָה מעגלית** (circular permutation). תהליך התמורה המעגלית גורם לחלבון לשנות את צורתו תחת תנאים מסוימים, במקרה זה, בתגובה לסיידן. שינוי הצורה בחלבון ה-cp-GFP מתרחש הודות לשני חלקים אחרים, המחברים ל-cp-GFP במיקומים מדויקים מאוד: יחידה 1 ויחידה 2. מכלול החלבון הזה נקרא **GCaMP (איור 3A)**. כאשר אין נוכחות של סיידן, יחידה 1 ויחידה 2 רחוקות זו מזו. המרחק בין שתי היחידות מונע מחלבוני ה-cp-GFP להיות פלואורסצנטיים. עם זה כאשר הסיידן נקשר אל יחידה 2, יחידה 1 מתקרבת אליה לפתע ומשנה מעט את צורת החלבון, כך שהוא הופך פלואורסצנטי [6] (**איור 3B**). אפשר לתכנן תאי עצב של עכברים כך שייצרו חלבון **GCaMP (איור 3C)**, מה שמאפשר למדענים להדמות את פעילות תאי המוח של העכברים (**איור 3D** ו **סרטון 1**).

GCaMP

חלבון המבוסס על חלבון ה-GFP, שהונדס לפלוט אור ירוק רק כאשר הוא נקשר לסיידן.

תְּמֻרָה מעגלית

(Circular Permutation)

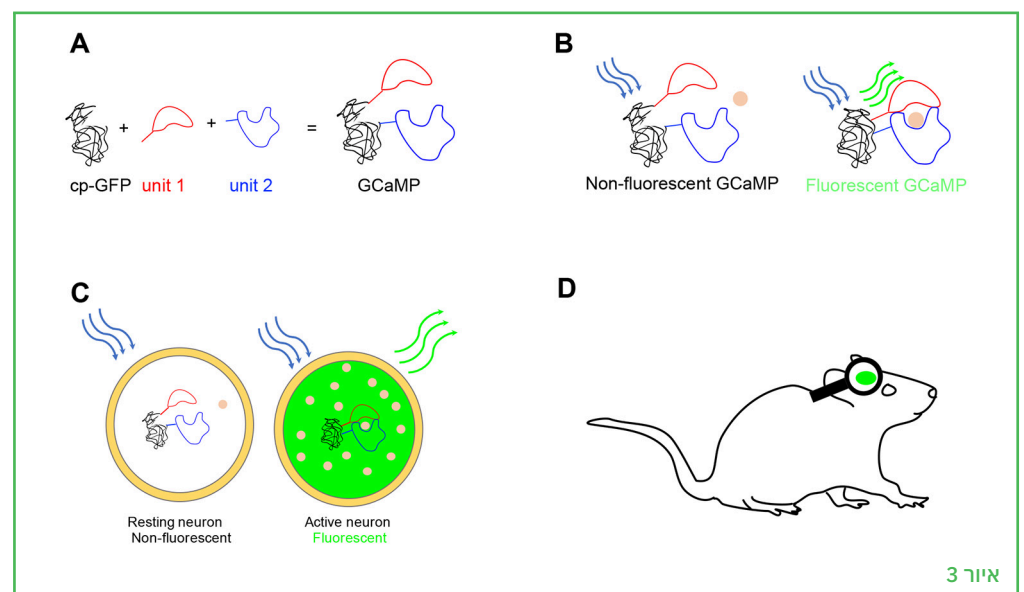
שינוי צורתה של מולקולה תחת תנאים מסוימים.

איור 3

חלבון **GCaMP (A)**. הוא חלבון שנוצר מחיבור של cp-GFP עם שני חלקים נוספים, הנקראים יחידה 1 (unit 1) ויחידה 2 (unit 2). חלבון ה-GCaMP אינו פלואורסצנטי (Non-fluorescent), אך כאשר הסיידן נקשר ליחידה 2, יחידה 1 מתקרבת ליחידה 2 וגורמת לשינוי קל בצורת ה-cp-GFP. שינוי זה הופך את חלבון ה-cp-GFP לפלואורסצנטי (Fluorescent GCaMP). **(C, D)** GCaMP יכול להיות מיוצר בתאי עצב של בעלי חיים, וכך לגרום לתאים להפיץ אור כאשר התאים פעילים (**סרטון 1**). מדענים יכולים להתבונן בתאים הפלואורסצנטיים באמצעות מיקרוסקופ מיוחד, במטרה לענות על שאלות הנוגעות לתפקודו של המוח. Resting neuron Non-fluorescent – תא עצב במצב מנוחה, לא פלואורסצנטי
Active neuron Fluorescent – תא עצב במצב פעולה, פלואורסצנטי

סרטון 1

נירון המבטא GcaMP נעשה בהיר יותר ככל שקצב פעילותו גובר.



איור 3

מדוע הכלי הזה חשוב?

זיכרון הוא תהליך מרתק. מאמצים רבים הושקעו במטרה להבין כיצד המוח מייצג מידע, מעבד אותו ומאחסן אותו. צפייה בפעילות של קבוצת תאי עצב לאורך זמן יכולה לסייע מאוד להבין כיצד פעילותם משתנה במסגרת תהליך הלמידה, או מְהֵם הַכְשָׁלִים בתפקודם של תאי עצב במחלות הקשורות למוח. לדוגמה, באחד המחקרים שלנו, בדקנו כיצד אוכלוסיות שונות של תאי עצב הגיבו בזמן שעכבר למד לבצע משימה מסוימת. זיהינו דפוסי פעילות מסוימים בתאי עצב הממוקמים באזור המוח שנקרא 'קליפת המוח הקדם-מצחית'. מידע זה סייע לנו להבין טוב יותר את תפקידיה של קליפת המוח הקדם-מצחית בתהליך הלמידה.

מאז תחילת השימוש בחלבון ה-GCaMP בשנת 2001, מדענים עמלו במטרה לשפר את חלבון חיישן-הסידן הזה, לגרום לו להפיץ יותר אור, וכן להגביר את רגישותו ואת עוצמתו. יצירת חלבון ה-GCaMP תרמה גם לפיתוח מיקרוסקופים פלואורסצנטיים משופרים, שיכולים להדמות ביעילות תאי עצב המייצרים חלבון זה. לסיכום, חלבון ה-GCaMP הוא כלי עוצמתי המשמש מעבדות רבות ברחבי העולם. פיתוחו הוביל למהפכה ביכולתם של מדענים 'לרַגֵּל' אֶחָר הפעילויות המתרחשות במוח.

מימון

עבודה זו זכתה למימון מטעם המועצה האירופית למחקר (CoG 819496, PrefrontalMap).

מקורות

1. Sivadas, A., Broadie, K. 2020. How does my brain communicate with my body? *Front. Young Minds* 8:540970. doi: 10.3389/frym.2020.540970
2. Lakowicz, J. R. 2006. *Principles of Fluorescence Spectroscopy, 3rd Edn*. Berlin: Springer.
3. Heim, R., Cubitt, A. B, Tsien, R. Y. 1995. Improved green fluorescence. *Nature*. 373:663–4.
4. Chalfie, M., Tu, Y., Euskirchen, G., Ward, W. W., and Prasher, D. C. 2007. Green fluorescent protein as a marker gene expression. *Tanpakushitsu Kakusan Koso Protein, Nucleic Acid, Enzyme*. 52:1766–7. doi: 10.1126/science.8303295
5. Shimomura, O., Johnson, F. H., and Saiga, Y. 1962. Extraction, purification and properties of aequorin, a bioluminescent. *J. Cell. Comparat. Physiol.* 59:223–39. doi: 10.1002/jcp.1030590302
6. Nakai, J., Ohkura, M., and Imoto, K. 2001. A high signal-to-noise ca^{2+} probe composed of a single green fluorescent protein. *Nat. Biotechnol.* 19:137–41. doi: 10.1038/84397

פורסם אונליין: 28 באפריל 2023

עורך: Jay Hegd 

מנחים מדעיים: Avihay Dorfman and Mukesh Gautam

ציטוט: Bouccara S and Yizhar O (2023) חלבון מפיץ-אור מסייע למדענים להדמות פעילות של תאי מוח Front. Young Minds. doi: 10.3389/frym.2022.620308-he

תורגם והותאם מ: Bouccara S and Yizhar O (2022) A Glowing Protein Helps Scientists Visualize Brain Cell Activity. Front. Young Minds 10:620308. doi: 10.3389/frym.2022.620308

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

COPYRIGHT © 2022 © 2023 Bouccara and Yizhar. זהו מאמר בגישה פתוחה שמופץ תחת תנאי רישיון [Creative Commons Attribution License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). השימוש, ההפצה או ההעתקה מותרים לשימוש בפורומים אחרים ובלבד שיינתן קרדיט למחבר(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

GILI, גיל: 14

היי, אני גילי, תלמידת כיתה ט. אני מתעניינת מאוד במדע ובמתמטיקה. אוהבת לקרוא, לנגן בכינור ובפסנתר ולטייל עם משפחתי. כמו כן אני נהנית לעסוק בספורט, כמו משחקי כדור וריצה.



RIDDHISH, גיל: 13

אני תלמיד כיתה ח. נהנה לקרוא על אודות מדע, גיאוגרפיה, היסטוריה ומדעי המדינה. ברצוני למצוא פתרונות לבעיות הקשורות לבריאות האדם.



הכותבים

SOPHIE BOUCCARA

Sophie Bouccara היא פוסט-דוקטורנטית במכון ויצמן למדע בישראל, בקבוצתו של פרופסור Ofer Yizhar. היא קיבלה את הדוקטורט שלה בפיזיקה עבור פיתוח מערכת דמות צמודת-גלאים ביולוגיים, המאפשרת לעקוב אחר תאים בודדים במחזור הדם של עכברים, ולהדמות את אותם תאים. במסגרת לימודי הפוסט-דוקטורט, שינתה את תחום המחקר שלה למדעי המוח. Sophie מעוניינת להבין מְהֵן ההשלכות של בידוד חברתי ברמה הפיזיולוגית וברמה ההתנהגותית, על עכברים ממין זכר וממין נקבה. *sophie.bouccara@gmail.com



OFER YIZHAR

Ofer Yizhar הוא פרופסור לנוירוביולוגיה במכון ויצמן למדע בישראל. קיבל את הדוקטורט שלו מאוניברסיטת תל אביב, והמשיך לפוסט-דוקטורט בביו-הנדסה באוניברסיטת סטנפורד בארה"ב. לאחר מכן, הקים קבוצת מחקר משלו במכון ויצמן, בשנת 2011. מעבדתו של יזהר מפתחת שיטות חדשות לחקר



המוח, ועושה בהן שימוש במטרה להבין את מעגלי המוח המעורבים בזיכרון, בקבלת החלטות ובהתנהגות חברתית.

מוזיאון המדע ע"ש בלומפילד ירושלים
متحف العلوم على اسم بلومفيلد القدس
Bloomfield Science Museum Jerusalem



הוצאת פרונטירז מדע לצעירים ישראל
Hebrew version provided by



THE SAGOL NETWORK