**תיאור כללי של הפעילות**

* **שם הפעילות:** ה- DNA כחומר ביד היוצר - גנים מלאכותיים, המהפכה בתחום ייצור חומרים ביולוגיים
* **פיתוח:** ד"ר עומר חורש, במסגרת הקורס דרכי הוראה המקדמות חשיבה, חקר ומצוינות: כימטק – כימיה בעולם ההייטק
* **עריכה:** דר' מלכה יאיון, דר' שלי ליבנה**.**
* **קשור לנושא הוראה:** המאמר מתאים כמטלת סיכום לנושא ההרחבה "ביוכימיה של חלבונים וחומצות גרעין"
* **מהות הקשר לתעשיית ההייטק:** שימוש בהנדסה גנטית לייצור חומרים משופרים
* **ערך מוסף של שימוש בפעילות:** גישור בין הנלמד בכיתה למחקרים עכשוויים.
* **קישור למאמר:**

Choresh Omer, Bayarmagnai B., Lewis R.V., (2009). Spider web glue: two proteins expressed from opposite strands of the same DNA sequence. Biomacromolecules, 10: 2852-2856.

* **סוג הפעילות:** משימת אוריינות
* **אופן ביצוע הפעילות**: זוגות
* **מיקום ביצוע הפעילות**: בכיתה
* **זמן משוער:** שיעור כפול. שעה להתמודדות התלמידים עם המשימה ושעה נוספת לסיכום ודיון משותף בכיתה.

**פעילות לתלמיד**

**ה- DNA כחומר ביד היוצר - גנים מלאכותיים, המהפכה בתחום ייצור חומרים ביולוגיים**

מי מאתנו לא נרתע פעם למראה עכביש גדול ושעיר מזדחל לעברו, מחכך את טפריו תוך השמעת רחש מצמרר, ובורח לפתע במנוסה אל מתחת לספה בסלון? טוב, אולי לא כולנו, אך למרבית האנשים עכביש הוא רמש דוחה ומפחיד שיש לגרשו מן הבית או להשמידו באמצעות קבקב, מטאטא או תרסיס הדברה. אולם, עכבישים הם בעלי חיים מופלאים המייצרים את אחד החומרים המיוחדים ביותר בטבע, מבחינת תכונותיו הפיזיקליות והכימיות, ובונים מבנים הנדסיים מופלאים - רשתות הציד שלהם.

קורי עכביש מורכבים ממספר סוגים של חלבונים ומחומרים נוספים, ומתאפיינים בעיקר בחוזקם הרב, בגמישותם, ומכאן ביכולתם לעמוד בפני כוח רב המופעל עליהם. מדענים פענחו את מבנה החלבונים המרכיבים את קורי העכביש, וכך למדו גם על ההבדל בין סוגי הקורים. בהמשך למדו החוקרים כיצד לנצל קורי עכביש לצרכי האדם. למשל, ניתן לייצר סיבי בד עשויים מקורי עכביש, סיבים אלו הם כה חזקים כך שמדים לחיילים העשויים מסיבים אלו, משמשים כמגן בפני פגיעות של כדורי רובה ורסיסים.

לצד חיפוש אחר דרכים לניצול קורי העכביש לשימוש האדם, שאפו המדענים ללכת רחוק יותר, והעלו את השאלה: האם ניתן להתבסס על התכונות הכימיות של קורי העכביש על מנת ליצור חומרים דומים להם, אך בעלי תכונות משופרות, כגון חומרים חזקים יותר או גמישים יותר? לשם כך החלו לשתף פעולה כימאים, ביולוגים וביופיזיקאים, וגייסו למען מטרה זו את ההנדסה הגנטית.

הנדסה גנטית היא שיטה בה מוציאים חומר תורשתי (DNA) מיצור אחד ומחדירים אותו אל יצור אחר, משפרים תכונות של גנים, את הביטוי שלהם, ואף יוצרים גנים שאינם קיימים באופן טבעי באורגניזמים. בשיטות של קביעת רצף הנוקלאוטידים ב-DNA, חיתוך מקטעי DNA ואיחוי שלהם, ניתן כיום ליצור רצפי DNA מלאכותיים או, כפי שהם מכונים בפי המדענים "גנים מלאכותיים" - גנים בעלי תכונות רצויות לאדם, משופרות, שלא נמצאות בחומר שמיוצר באופן טבעי. למשל, ניתן לזהות מרכיבים בחלבון המקנים חוזק לקורי עכביש, ומרכיבים אחרים המקנים גמישות לקורים. לאחר מכן ניתן לזהות את רצפי הנוקלאוטידים ב-DNA המקודדים למרכיבים חלבוניים אלה וליצור במעבדה חומר שהוא חזק יותר או גמיש יותר מקורי העכביש הטבעיים. כיצד? מבודדים את הגן המקודד לחלבון המרכיב את קורי העכביש, שרצף הנוקלאוטידים שלו ידוע. בוחנים את רצף הנוקלאוטידים בגן, ומזהים את האזורים בגן המקודדים לרצפי החלבון, המקנים חוזק. לאחר מכן חותכים באמצעות אנזימים את חלקי ה-DNA הרצויים, מאחים אותם זה לזה באמצעות אנזימים אחרים וכך נוצר רצף חדש שכולו מקודד לחלבון, המורכב מרצפים המקנים חוזק.

בשיטות של הנדסה גנטית מחדירים את הגן המלאכותי שיצרו, לתוך יצור אחר, דוגמת חיידק, אשר ניתן לגדלו בקלות, והוא מייצר כמויות גדולות של החלבון המשופר שהוא תוצר של הגן המלאכותי. לאחר מכן, ניתן בשיטות כימיות, לייצר סיב חדש, חזק יותר מקור העכביש הטבעי, לשימושים שונים של האדם. בשיטות דומות ניתן להחדיר גן מהונדס לתוך צמחים, דוגמת תירס. כך ניתן לגדל שדה תירס המייצר עבורנו כמויות גדולות של תוצר הגן.

באותה שיטה ניתן להחדיר גנים מלאכותיים, המבוססים על מבנה של קורי עכביש, לעטינים של עיזים, אותן חולבים ומפיקים, בשיטות כימיות, את החלבון המשופר מהחלב. לגן המלאכותי הצמידו מקטעDNA ייחודי המאפשר לתעתק אותו אך ורק בעטיני העז. בנוסף הוצמד מקטע DNA נוסף, הגורם לביטוי ביתר של הגן המלאכותי. עז אחת מניבה בממוצע כ- 30 ליטר של חלב ביום, אשר עתיר בתוצר הגן המשופר. בשיטות כימיות ניתן להכין מהחלבון המשופר סיבים חזקים או גמישים יותר, הכול כפרי הדמיון של המדען ולפי דרישות השוק למוצרים. חשבו על החיסכון בגידול עדר עיזים לעומת מיליארדי עכבישים לקבלת אותה כמות של תוצר?

מהחלבונים המשופרים שמבוססים על קורי עכביש מנסים כיום ליצור מדים לחיילים, דקים גמישים וחזקים, אשר יהוו מגן הרמטי מפני כדורי רובה ורסיסים. חישבו איך יראה שדה הקרב בעקבות טכנולוגיה זו? עוד משמשים חלבונים משופרים אלה בתעשיית הננוטכנולוגיה, להרכבת מכונות בגודל של מולקולות, אשר ימשו בעתיד בתחום הרפואה והנדסת האלקטרוניקה.

באותה שיטה שהוסברה לעיל, ניתן לייצר כמויות גדולות של חומרים לשימוש רפואי, כגון דבק ביולוגי המצופה קורי עכביש, ועשוי לשמש לאיחוי רקמות בניתוחים (במקום תפירה) או לריפוי פצעים פנימיים בגוף. כמו כן, הורמונים (אינסולין לחולי סכרת), תרכיבים חיסוניים, חלבוני מבנה המשמשים ליצירת עור מלאכותי, עצמות וגידים להשתלה, וכן חומרים ביולוגיים לשימוש בתעשיית הננוטכנולוגיה ועוד, ככל העולה על דמיון החוקרים ועל הצרכים האנושיים.

ולסיכום, נוהגים לומר, גם בהקשר של מדע בכלל ושל הנדסה גנטית בפרט, כי "השמיים הם הגבול", אך האם לאור מה שקראתם, השמיים הם באמת הגבול? אולי באמצעות הנדסה גנטית נוכל לכבוש עולמות נוספים? בגלקסיות אחרות? לבנות תחנות לייצור מזון על הירח? מכאן עולה השאלה... האם הגבול עובר בשמיים או שהוא אינסופי? ומצד שני... אולי אנו צריכים להתוות גבול עוד הרבה לפני קצה השמים?

**פתרון השאלות**

1. בהסתמך על קטע הקריאה, תארו במילים שלכם וב-4 או 5 משפטים את השלבים להפקת סיבים מהונדסים מעכבישים.

מבודדים את הגן האחראי לייצור קורי העכביש, מחברים אותו ל-DNA של חיידק או אפילו צמח (כמו טבק) ויוצרים גן מלאכותי. נותנים לחיידק (או לצמח) תנאי גדילה טובים שבהם הוא מתרבה ומייצר מייצר כמויות גדולות של קורי העכביש שהם תוצר של הגן המלאכותי. לאחר מכן, מפיקים את הסיבים מהחיידקים לשימושים שונים.

1. הסבירו, על פי קטע הקריאה, מהו היתרון בתכנון וייצור של גנים מלאכותיים?

שיפור תכונות של חומרים טבעיים לתועלת האדם, ברפואה, בננוטכנולוגיה, במחקר ועוד.

1. לפניכם תרשים זרימה של תהליכים המתקיימים בתאים של בלוטות המייצרות חלבונים של קורי עכביש:

**תעתוק**

**תרגום**

 גן מקודד mRNA חלבון

 לפניכם שלושה מרכיבים חסרים בתהליך: חלבון קורי עכביש, גן המקודד לחלבון קורי עכביש, mRNA.

1. השלימו את המרכיבים החסרים בסדר הנכון בתרשים.
2. איזה מבין שלושת המרכיבים מוחדר ליצור חי אחר, בשיטות של הנדסה גנטית? הסבירו.

מוחדר הגן. המטרה היא לגרום ליצור לייצר את החלבון בכמות גדולה. ניתן לעשות זאת על ידי החדרת הגן ליצור, שממנו יתועתקו עותקי mRNA וייוצר חלבון. mRNA או חלבון אינם יכולים לשכפל את עצמם וליצור עותקים נוספים לייצור החלבון.

1. ציינו על סמך לימודיכם בביוכימיה אילו מרכיבים נוספים נחוצים לתהליך התעתוק ולתהליך התרגום.

תעתוק: נוקלאוטידים מסוג A,U,G,C המכילים ריבוז ואנזים מתעתק (RNA פולימראז).

תרגום: ריבוזום, tRNA, חומצות אמיניות.

כשבוחנים את המבנה הכימי של אחד החלבונים העיקריים בקורי עכביש מגלים שהוא בנוי מקטעים של משטחי β וביניהם שרשרות חלבון במבנה אמורפי המכיל גם סלילי α, כמתואר באיור הבא:



**סליל α**

**סיב חלבוני בקור עכביש**

**משטחי β**

**סליל α בתוך אזור אמורפי**

**משטחי β**

1. האם משטחי β וסלילי α הם מבנה ראשוני, שניוני או שלישוני של חלבון?

שניוני.

1. ציינו מהם הקשרים העיקריים הגורמים לייצוב המבנה של משטחי בתא ושל סלילי אלפא.

קשרי מימן בין קבוצות N-H וקבוצות C=O בקשרים פפטידיים.

ביוכימאים מצאו כי משטחי β הם המקנים את החוזק לסיב החלבון בעוד שסלילי α הם בעלי יכולת הימתחות, ומקנים לחלבון את גמישותו הרבה. כשחרק פוגע בקור – נמתחים האזורים המכילים סלילי α (בדומה לקפיצים) ואילו משטחי β נשארים יציבים ומקנים חוזק, כך שהקור יכול להימתח מעוצמת הפגיעה מבלי להיקרע.

1. אזורים המקנים גמישות לחלבון מכילים בעיקר סלילי α. אזורים המקנים קשיחות מכילים בעיקר משטחי β. הסבירו ממצאים אלה, והסבירו לאור התרשים כיצד חלבון של קורי עכביש הוא גמיש מאד ויחד עם זאת חזק מאד.

סלילי α יכולים להימתח, תוך ניתוק קשרי המימן המייצבים את המבנה. כתוצאה מכך נפרסת שרשרת החלבון ונמתחת, כלומר מקנה גמישות. משטחי β הם קפלי שרשרות הארוזים באריזה צפופה המחוזקת על ידי הרבה קשרי מימן, כך שנוצר מבנה קשיח. המבנה השלישוני של קורי העכביש מכיל סלילי α רבים היכולים להימתח, בין אזורים המכילים משטחי β המקנים קשיחות.

במטרה ליצור חלבון מלאכותי חזק יותר מהחלבון הטבעי, בחנו החוקרים אילו רצפים של חומצות אמיניות מרכיבים את משטחי β בקורי עכביש. במהלך המחקר אופיינו שני רצפים של חומצות אמיניות. לפניכם קטעים משני הרצפים:

I Gly-Gly-Ser-Ala-Gly-Ala

II Lys-Phe-Lys-Ala-Phe-Ala

1. קבעו איזה משני הרצפים, I או II, נמצא במשטחי β. נמקו קביעתכם והסבירו מדוע פסלתם את הרצף האחר.

רצף I נמצא במשטחי β. ברצף זה חומצות אמיניות בעלות קבוצות צד לא נפחיות, המאפשרות אריזה צפופה של משטחי β. ברצף II יש חומצות אמיניות עם קבוצות צד נפחיות, כגון ליזין ופניל אלנין, המקשות על היארזות המשטחים באריזה צפופה.

1. האם רצף I יכול להיות חלק מסליל אלפא? נמקו .

כן, משום שאין בו פרולין, המכופפת את מבנה הסליל ולא מאפשרת חיזוקו על ידי יצירת קשרי מימן או חומצות אמיניות סמוכות עם קבוצות צד בעלות מטען זהה- היוצרות דחיה חשמלית ששוברת את מבנה הסליל.

1. מרקאפטואתאנול הוא חומר מחזר המפרק קשרים דיסולפידיים (דו-גפרית) בחלבונים, וגורם לדנטורציה (שינוי במבנה החלבון). האם שימוש במרקפטואתאנול עלול לפרק משטחי בטא המורכבים מרצפים חוזרים של הרצף שבחרתם בשאלה 5? נמקו קביעתכם.

לא. קשרי דו גפרית נוצרים רק בין שתי קבוצות צד של החומצה האמינית ציסטאין. רצף I אינו מכיל ציסטאין, לכן לא יכול להשתתף ביצירת קשרי דו גפרית.

1. לקורי העכביש מבנה רבעוני, כלומר הם מורכבים מכמה חלבונים שלכל אחד מהם מבנה שלישוני. כשרוצים לעשות אנליזה של רצף החלבון בקורי העכביש, יש לגרום לדנטורציה שלו. לשם כך משתמשים בתמיסה המכילה ריכוז גבוה של אוריאה והיא בעלת pH מאד חומצי.
מה ניתן ללמוד מכך על הכוחות העיקריים המייצבים את המבנה השלישוני של חלבונים בקור?

ניתן ללמוד מכך שהכוחות העיקריים המייצבים מבנה זה הם קשרי מימן – משום שאוריאה יוצרת קשרי מימן עם קבוצות צד של חומצות אמיניות בחלבון וגורמת לניתוק קשרי המימן הקיימים בין קבוצות אלה. כמו כן הוא מיוצב על ידי אינטראקציות יוניות. pH חומצי משפיע על מטעני קבוצות הצד של חומצות אמיניות טעונות, משנה אותם וגורם לניתוק אינטרקציות יוניות בין קבוצות צד אלה.

לפניכם טבלה המציגה חלק מהקודונים לחומצות האמיניות ברצפים הנ"ל:

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| חומצה אמינית | Gly | Ala | Ser | Lys | Phe |
| קודון | GGU | GCC | UCG | AAG | UUC |

1. א. האם הקודונים המוצגים בטבלה נמצאים ב- DNA, ב- RNA שליח (mRNA) או ב- RNA מעביר (tRNA)? נמקו קביעתכם.
קודוני RNA משום שמכילים את הנוקלאוטיד U.

ב. רשמו את רצף הנוקלאוטידים ב- mRNA שממנו נוצר קטע החלבון שבחרת בשאלה 5 (התבססו על הנתונים בטבלה ועל טבלת הקודונים). ציינו את קצה 3' ואת קצה 5'.

5' GGU GGU UGC GCC GGU GCC 3'

* + - רשמו את רצף הנוקלאוטידים בגדיל ה- DNA, שממנו נוצר רצף ה- mRNA שרשמתם בסעיף 6ב. הוסיפו גם את רצף הנוקלאוטידים בגדיל ה- DNA המשלים. ציינו את קצה 3' ואת קצה 5' בכל אחד משני הגדילים.

3' CCA CCA AGC CGG CCA CGG 5'

5' GGT GGT TGC GCC GGT GCC 3'

הגדיל העליון שימש כתבנית לתעתוק.

קיימות שתי שיטות עיקריות לאיחוי של מקטעי DNA (בשלב היצירה של גן מלאכותי):

בשיטה אחת עושים שימוש באנזים על מנת לחבר שני מקטעי DNA. האנזים מחבר בין שני נוקלאוטידים הנמצאים בקצוות של מקטעי ה- DNA.
לפניכם שני מקטעי DNA חד גדיליים:

מקטע 15' AATGCGG 3'

 מקטע 25' AATGCGG 3'

האנזים ליגאז מחבר בין קצה 3' של מקטע 1 לקצה 5' של מקטע 2.

1. א. ציינו בין אילו נוקלאוטידים מחבר ליגאז ואת שם הקשר הנוצר בין שני הנוקלאוטידים.
ליגאז מחבר בין G ל- A. נוצר קשר פוספואסטרי.

ב. רשמו נוסחת מבנה לזוג הנוקלאוטידים המחוברים ביניהם.

יש לצייר כשקצה 5' של G פנוי וקצה 3' של A פנוי.

 

בשיטה השנייה מסנתזים מקטעי DNA עם קצוות "דביקים" שהם מקטעים חד גדיליים משלימים בקצוות מקטעי ה- DNA אשר אותם רוצים לחבר.

לפניכם שלושה מקטעי DNA עם קצוות דביקים a, b, c:

a

TACGCGAAATAACCGGGATC

GCGTAATGCGCTTTATTGGC

b

GCGTAATGCGCTTTATTGGC

TACGCGAAATAACCGCGCAT

CCTAGATGCGCTTTATTGGC

TACGCGAAATAACCGCCCTC

c

רשמו, משמאל לימין, את רצף האותיות (a,b,c) לפי הסדר שבו ניתן לחבר את מקטעי ה- DNA. הסבירו כיצד קבעת את הסדר.

b-a-c

1. בסוף המאמר נטען כי "השמיים הם הגבול" ומאידך אולי צריכים להתוות את הגבול הרבה לפני קצה השמיים. הכוונה היא לשימושים האפשריים בהנדסה גנטית, ובפרט בחומרים ביולוגיים הנוצרים באופן מלאכותי. חוו דעתכם על קביעה זו.

התייחסו ליתרונות ולחסרונות בשימוש בהנדסה גנטית לייצור חומרי טבע משופרים.

ניתן להתייחס לחסרונות וליתרונות של הרעיונות הבאים: ניתן לייצר חומרים המבוססים על חומרי טבע מוצלחים ועוד לשפר אותם. אפשר ליצור חלקי חילוף לאברי אדם, אפשר ל"שבט בני אדם", ניתן לייצר תרופות המכילות חומרים שחסרים בגוף חולה.

**הנחיות למורה**

* 1. המאמר מתאים כמטלת סיכום לנושא ההרחבה "ביוכימיה של חלבונים וחומצות גרעין", אחד מהנושאי ההרחבה בתכנית הלימודים לחמש יחידות כימיה. מתאים לתת את המאמר כסיכום לנושא, שכן הוא משלב היבטים שונים ממגוון תתי הנושאים שבנושא המרכזי.
	2. מתאים להוראה בכיתה יב'.
	3. היקף מומלץ – שיעור כפול. שעה להתמודדות התלמידים עם המשימה ושעה נוספת לסיכום ודיון משותף בכיתה.
	4. מומלץ לתת לתלמידים להתמודד באופן אישי עם המאמר. לאחר מכן לעשות סיכום כיתתי בו יוצגו התשובות על ידי התלמידים, יאותרו בעיות משותפות. המורה ישים דגש על כתיבת ניסוחים מדויקים ועל מיומנויות הנדרשות מהתלמיד.

**ביבליוגרפיה**

המאמר מבוסס על המחקרים הבאים:

##### Choresh Omer, Bayarmagnai B., Lewis R.V., (2009). [Spider web glue: two proteins expressed from opposite strands of the same DNA sequence.](http://www.researchgate.net/publication/26791043_Spider_web_glue_two_proteins_expressed_from_opposite_strands_of_the_same_DNA_sequence) Biomacromolecules, 10: 2852-2856.

## Florence Teulé, CooperA.R., Furin W.A., Bittencourt D., Rech E.L., Amanda Brooks A., Lewis R.V., (2009). A protocol for the production of recombinant spider silk-like proteins for artificial fiber spinning. Nature Protocols, 4: 341-355.