

חיים על שבב

שירלי שולמן דאובה*

הקדמה

מודל פשוטה לתא חי מורכב. במערכת מודל ניתן לבצע שינוי בצורה מבוקרת ולהבין למה גרם שינוי זה, בעוד שבמקרים רבים במערכת מורכבת וגדולה כתא שלם לא ניתן להבחין בין סיבה למסובב.

ככל שמערכת המודל מצומצמת יותר, כך היא אמורה להיות פשוטה יותר להבנה. לכן חלק מהמאמץ המחקרי לבניית מערכת תאית מלאכותית מופנה להרכבת המערכת המינימלית שיכולה להיקרא 'חיים'. נושא זה הוא פילוסופי בחלקו שכן ההגדרה של חיים אינה חד-משמעית. האם עצם היכולת לשמר קיום ולאפשר חלוקה ו/או הכפלת היחידה המינימלית מספיקים כדי להגדיר חיים? האם יש צורך להכניס להגדרה זו גם את האפשרות לעבור אבולוציה, כלומר, להשתנות ולהתפתח? מערכת מודל תוכל לתת מענה לחלק משאלות אלו ולאפשר לחקור תהליכים מופשטים על ידי הגדרתם בחומרים מוכרים לנו⁴.

בשנים האחרונות נוסף היבט אפליקטיבי, ביוטכנולוגי, למירוץ אחר השגתה של מערכת תאית מלאכותית ומתפקדת. מערכת כזו תוכל לשמש כבית חרושת לחומרים ו/או לאנרגיה בצורה יעילה תוך כדי שימוש בעקרונות השאובים מעולם הביולוגיה, עולם המבוסס על בנייה עצמונית ועל רשתות גנטיות וביוכימיות המגיבות לשינויים פנימיים וסביבתיים ברמה המולקולורית. ניתן לחשוב גם על מערכת מלאכותית המתפקדת באינטראקציה עם גוף האדם ומשמשת לתיקון שינויים מחוללי מחלות בחומר הגנטי ובחלבונים הבונים את גופנו⁵.

תא חי הוא מערך מופלא של עשרות אלפי מולקולות שונות הפועלות ביחד כמכונה יעילה ומשומנת כדי לממש את מה שאנו מכנים חיים. כיצד עובדת מכונה מסובכת זו? האם נוכל לפרקה לגורמים כדי להבין טוב יותר כיצד היא מתפקדת? האם נוכל לבנות מערכת דומה לה שתייצר חומרים חדשים ושתתפקד בשליטתנו כדי לבצע משימה שעדיין אינה קיימת בטבע?

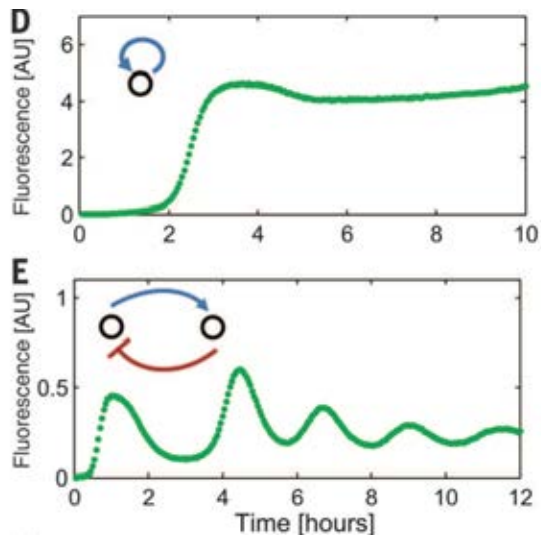
במעבדתו של פרופסור רועי בר-זיו במכון ויצמן מפתחים מערכות היברידיים המחברות בין מולקולות ביולוגיות, דנ"א וחלבונים, לבין משטחים אנאורגניים, כדוגמת סיליקון וזכוכית, בצורה המאפשרת פעילות של המולקולות הביולוגיות מחוץ לסביבתן הטבעית (איור 1)¹. זוהי גישה אחת מני רבות ליצירה של תאים סינתטיים מלאכותיים^{**}.

מדוע לייצור תאים מלאכותיים?

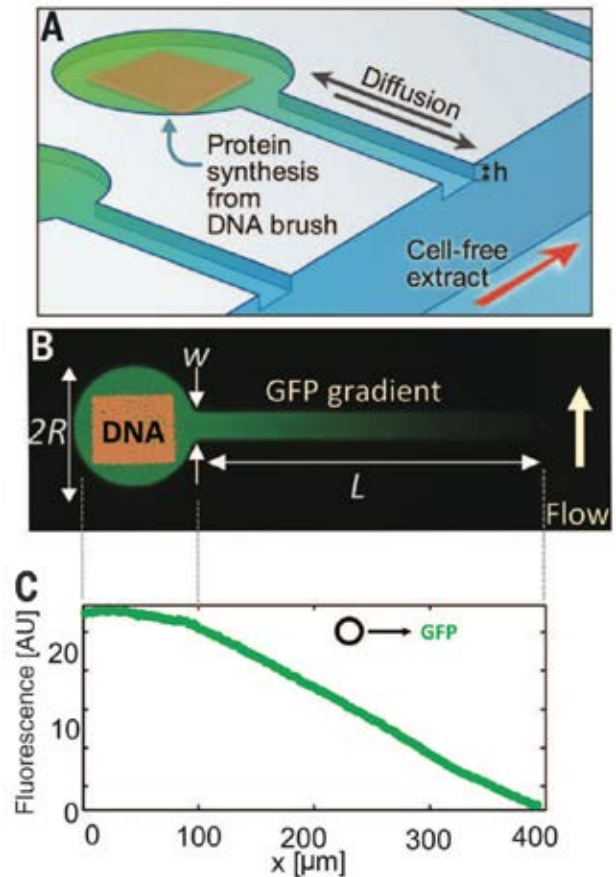
הרצון לייצר מערכות תאיות מלאכותיות, על צורתיהן השונות, כבר קיים בקהיליה המדעית שנים רבות^{2,3}. בהיבט המחקרי הטהור הרצון להבין כיצד הטבע בנוי ומתפקד, מוביל לגישה שלפיה היכולת לפרק מערכת כלשהי לגורמים ואחר כך להרכיבה מחדש, מעידה על הבנה מלאה של המערכת (רעיון השאול מדבריו של הפיזיקאי זוכה פרס נובל ריצ'רד פיינמן). מעשה ההרכבה עצמו גם הוא מוביל להבנה עמוקה יותר של התהליכים, ודרכו ניתן להבין כיצד חוסר של גורם מסוים משפיע על כלל המערכת, מהי הדרך הנכונה להוספתו וכו'. כלומר, תא מלאכותי יכול לשמש כמערכת

* ד"ר שירלי שולמן דאובה - עמיתת מחקר בקבוצתו של פרופ' רועי בר-זיו במחלקה לחומרים ופני שטח במכון ויצמן.

** המילים מלאכותי וסינתטי מרתיעות אנשים רבים. ההגדרה הפורמלית של המילה מלאכותי היא "נוצר בידי האדם", אך ברוב המקרים מתלווה גם הגדרה פרשנית אסוציאטיבית של "מזויף, מעובד, לא טבעי". את המילה "סינתטי" אין צורך להסביר לכימאים שהרי היא מהות הכימיה: יצירה של חומר שאינו קיים בטבע על ידי תגובות כימיות. מהצימוד בין שתי המילים משתמעת המשמעות של חומר מלאכותי בהקשרו כאן: חומר שכל פרט בו ידוע ומובן, שכן הוא תוכנן ועבר אנליזה בקפידה, והוא אינו מכיל חומרים נלווים שהשפעתם אינה ידועה, כמו שניתן למצוא לעתים בחומרים "טבעיים".

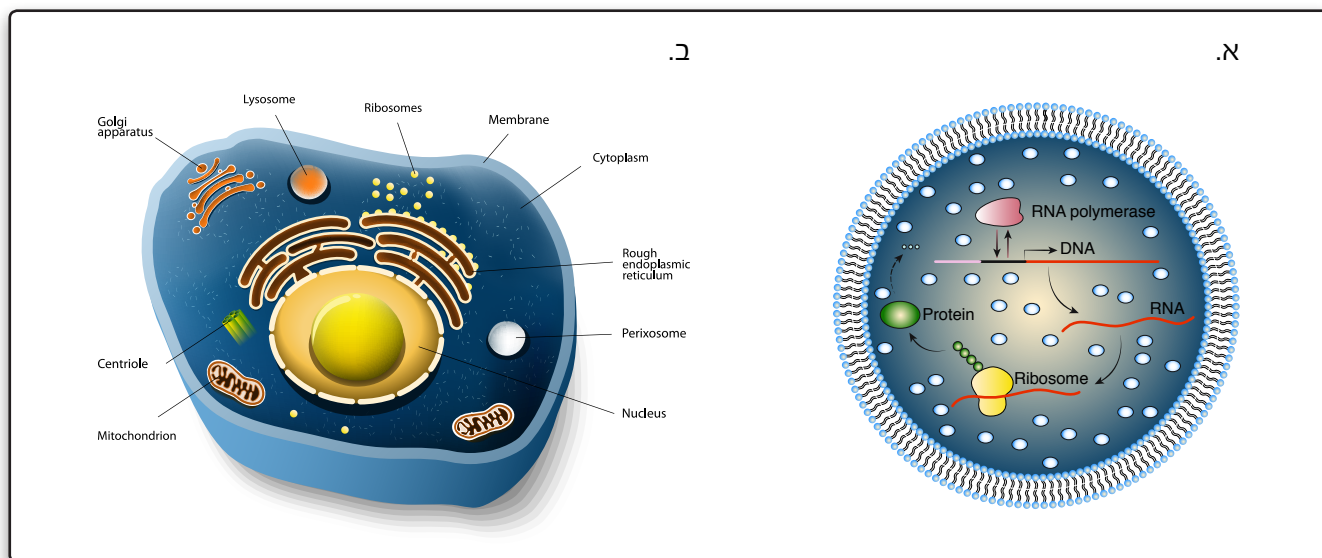


איור 1. גישה חדשה ליצירת מערכת מודל לתא מלאכותי. (A) תאים ותעלות חצובים בסיליקון מגדירים את המרחב של התא המלאכותי. מולקולות דנ"א מקובעות למשטח בתוך תא שעומקו 1-3 מיקרומטר וקוטרו 50 מיקרומטר, והוא מחובר לתעלה רחבה שדרכה מגיע מיצוי תאי המאפשר ביטוי של הגנים המקודדים בדנ"א. (B) תמונה שצולמה דרך מיקרוסקופ פלורסנטי של התא המלאכותי מראה את מיקומם של גנים שמקובעים למשטח (ריבוע חום) ומקודדים לחלבון GFP. מולקולות החלבון GFP (אזורים ירוקים) מסונזות בתוך התא העגול ויוצאות בדיפוזיה דרך התעלה הצרה. (C) פרופיל הגרדיאנט של החלבון GFP לאורך התעלה נקבע על ידי הגאומטריה של ההתקן. הדיפוזיה אל מחוץ לתא דרך התעלה הצרה מדמה פירוק חלבונים המצומד לסינתזה שלהם בתא חי. (D) רשת גנטית מממשת בתוך התא המלאכותי ייצור של החלבון GFP ב-Steady state. (E) רשת גנטית מממשת בתוך התא המלאכותי דינמיקה של ייצור GFP עם אוסילציות. לקוח בהסכמה מ-1.



הגישה הסינתטית שלפיה תא מלאכותי יהיה מורכב אך ורק מאבני בניין בסיסיות^{2,3}. במרכז גישה זו נמצאת מעטפת כלשהי שמגדירה את התא וגבולותיו (איור 2 א'). המעטפת - ליפידית בדרך כלל כמו בתאים אמיתיים - כולאת בתוכה פולימרים גדולים כדנ"א וחלבונים, אך צריכה להיות חדירה למולקולות קטנות כדי לתקשר עם הסביבה. אחת מאבני הדרך בגישה זו הושגה בשנת 2004 כאשר הצליחו חוקרים מאוניברסיטת רוקפלר לכלוא בתוך ליפוזומים סינתטיים מיצוי תאי המכיל אנזימים המאפשרים ביטוי גנים בתהליך שיוסבר בהמשך⁷. ליפוזומים הם מבניים כדוריים שנבנים על ידי התארגנות ספונטנית של מולקולות פוספוליפידיות בצורה קולקטיבית שמוכתבת על ידי המבנה של המולקולה

גישות שונות בייצור תאים מלאכותיים
 אחד ההישגים המדהימים בדרך ליצירה של תא מינימלי סינתטי הושג בשנת 2010 על ידי קרייג ונטר שבעזרת צוות גדול הצליח להחליף את הכרומוזום של תא חיידק בכרומוזום שכולו מורכב מדנ"א סינתטי⁶. בנוסף למאמציהם המצטברים של חברי צוות המחקר למפות את אוסף הגנים המינימלי ההכרחי לקיום תא חי, יהיה אפשר כנראה בעתיד הקרוב לייצר תא עם גנום סינתטי ומינימלי. ניתן לטעון שגישה זו אינה סינתטית לגמרי שכן היא מותנית בקיומו של תא חי שאליו מכניסים את הגנום הסינתטי, תא שאת אופן פעולתו אין אנחנו מבינים. כלומר, חזרנו לנקודת ההתחלה שבה חלק מהמידע שקיים בתא אינו מוגדר. מנגד קיימת



איור 2. תא מינימאלי מלאכותי. אחת הגישות ליצירה של תאים מלאכותיים מציעה שימוש בליפוזומים בעלי קרום דו-שכבתי של ליפידים (א) המדמים בצורה איכותית תא חי (ב). בתוך הליפוזום מצויות מולקולות דנ"א וחלבונים שונים היכולים לתפקד בתוכו אך לא לצאת ממנו. המולקולות בתוך הליפוזומים מפוזרות בצורה הומוגנית בשונה מתא חי שבו קיימת הטרוגניות (ב). תא חי מכיל אברונים ואזורים המגדירים פונקציות תאיות שונות, לעתים גם ללא קרום מפריד ומוגדר.

גנים ושל החלבונים וכדוגמת המיקום היחסי והמוגדר היטב של חלק מהמרכיבים בתא, אם לא של כולם (איור 2 ב'). ולבסוף, בכל השיטות שצוינו האינטראקציה עם המערכת המלאכותית מסתיימת עם סיום בנייתה. התכנות הראשוני קורה בעת בניית המערכת ובקידוד שבדנ"א, אך לחוקרים אין דרך ישירה להשפיע על פעילותם של הגנים אלא רק על ידי הוספה של מולקולות קטנות.

גישה חלופית לתא מלאכותי

המערכת שפותחה במעבדתו של פרופ' רועי בר-זיו במכון ויצמן מנסה לתת מענה לחלק מהחסרים שבגישות החלופיות^{10,9,8,1}. בשיטה זו המולקולות הביולוגיות אינן מוכנסות למבנה כדורי אלא מקובעות על משטח סיליקון דו-קמדי (איור 1). במשטח חצובים "תאים" בממדים הדומים לתא חי, בעומק של מיקרונים בודדים ובקוטר של כמה עשרות מיקרונים. תעלה צרה מאפשרת הגעה של מיצוי תאי שמזרם דרך תעלת הזנה רחבה. בתוך התא מקובע דנ"א בצורת ריבוע, כלומר, המולקולות אינן מפוזרות על המשטח בצורה אקראית אלא מקובעות למשטח במקומות

הבודדת. בנוסף למיצוי התאי הוכנס לליפוזומים גם גן המקדד לחלבון אלפא המוליזין. זהו חלבון ממברנלי שבונה באופן עצמוני תעלה בתוך הממברנה לכניסה וליציאה של חומרים מן התא. החוקרים הראו שהגן לחלבון הממברנלי בוטא - כלומר, סונתז - בתוך הליפוזומים ועבר אינטגרציה לקרום הליפיד. בכך בעצם הושלם תהליך של יצירת מערכת מינימלית שחלק משלביה מתרחשים בצורה עצמונית, כמו הבנייה של הליפוזומים עצמם וסינתזה של חלבונים וכניסתם לממברנה כך שתתאפשר תקשורת עם הסביבה. אך תא כזה אינו מסוגל עדיין להשתכפל ולהתחלק או להכיל בתוכו מספר גדול של גנים שיוכלו לקדד מגוון רחב של חלבונים.

המשותף לשתי הגישות הללו הוא היצמדות למודל התא הביולוגי כפי שהוא מוכר לנו היום: גוף בעל גאומטריה כדורית המופרד מהסביבה על ידי קרום או מעטפת כלשהי. לחוקר אין שליטה וידע על המיקום של המולקולות הביולוגיות שהוכנסו אליו. בנוסף חלק ממערכות המודל הללו אינן מצליחות לשחזר פרמטרים חשובים בתא חי כדוגמת הצפיפות הגבוהה של

המושגת על מולקולה אחת המשרתת שלוש מטרות (איור 3): קבוצת קצה המאפשרת קישור לזכוכית; גוף המולקולה המורכב מפולימר בעל 77 יחידות של אתילן גליקול. שרשרת פולימריות אלו יוצרות סביבה כימית המזכירה את תוך התא ומונעות ספיחה לא ספציפית של המולקולות הביולוגיות למשטח הזכוכית באופן שיאפשר את פעילותן; קבוצת הראש של הפולימר הנה קבוצת הגנה המחוברת לקבוצת אמין בקשר רגיש לאור אולטרא סגול. קשר זה נשבר כתוצאה מההארה, והאמין שמתגלה הוא פעיל כימית, וכך שניתן לחבר אליו קבוצות כימיות שונות⁹.

כאשר מאירים את המשטח דרך מסכה החוסמת חלק מהאור, נחשפים האמינים על פני השטח רק במקומות שבהם פגע האור (איור 4). וכך לאחר הוספה של מולקולות דנ"א או חלבונים, הם נקשרים למשטח ליצירת "תמונה" הדומה לזו שהייתה במסכה. תהליך זה דומה לפוטוליטוגרפיה כימית המשמשת ליצירת שבבים בחצאי מוליכים, אך כאן התהליך מותאם לעבודה עם מולקולות ביולוגיות.

ביטוי גנים על שבב

אחת הפונקציות החשובות והמשמעותיות בכל תא חי היא ביטוי גנים. גנים הם מקטעים בגנום שמקודדים את הרצף של החומצות האמיניות של כל חלבון וחלבון בתא. לכל חלבון יש אם כן גן המקדד את רצפו אך ישנם מקטעי דנ"א רבים שאינם מקודדים לחלבון כלשהו. ההחלטה איזה רצף בדנ"א יבוטא נעשית על ידי אוסף של אנזימים שמשוגלים "לקרוא" את רצף הדנ"א ולתרגם לחלבון רק את המקטעים המיועדים לכך. תהליך ביטוי הגנים הוא מבוקר ביותר ומערב שאלות כגון איזה גן יעבור ביטוי ומתי, איזה גן יהיה כבוי, מה הכמות היחסית שיש לתרגם מכל חלבון וחלבון בהתאם לצורכי התא.

כשלב ראשון בדרך ליצירת תא מלאכותי היה צורך ליצור תנאים המאפשרים ביטוי גנים על משטחי הזכוכית המצופים, ולשם כך קובעו מולקולות דנ"א ארוכות בתהליך שתואר לעיל. מולקולות הדנ"א הן פולימרים ארוכים, ולכן הן חוברות למשטח דרך אחד מקצות הפולימר ליצירת חד-שכבה דמוית מברשת (איור 5). ניתן לשלוט לא רק על המיקום של

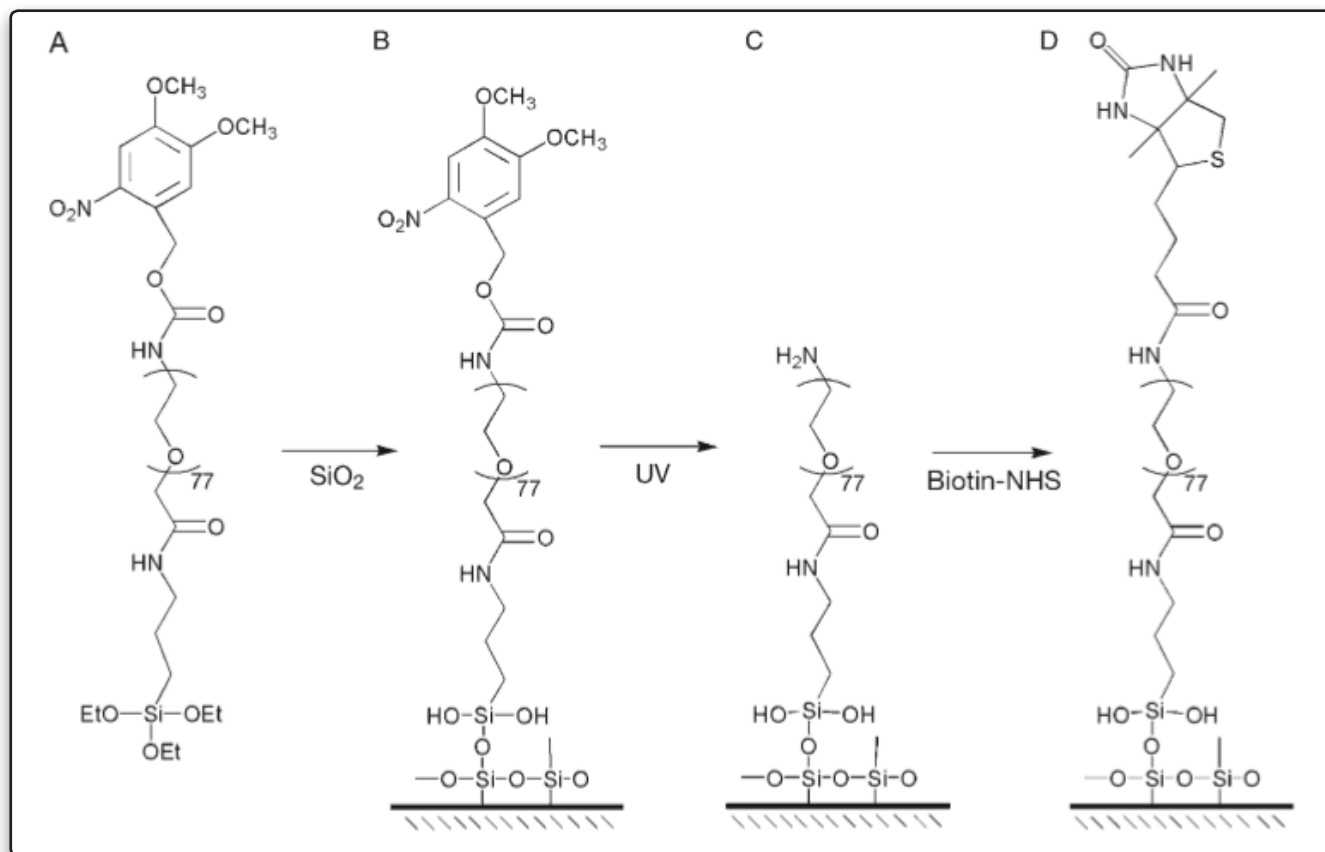
שהוגדרו מראש על ידי אקטיבציה של המשטח באור, כפי שיוסבר בהמשך. כשם שהמולקולות בתא מאורגנות במבנים ובתתי-מבנים (כפי שניתן לראות באיור 2 ב'), וכשם שלארגון זה יש השפעה מכרעת על תפקודן, כך גם מתארגנות המולקולות על שבב הסיליקון במקומות מוגדרים מראש. אך המיוחד במולקולות ביולוגיות הוא יכולת הבנייה העצמונית שלהן. כלומר, אקטיבציית המשטח באור היא השלב היחיד המוכתב על ידי הגורם החיצוני; יתרת הבנייה מוכתבת על ידי התכונות הכימיות והפיזיקליות של המולקולות.

הבדל נוסף בגישה זו של שבב היברידי דו-ממדי לעומת מבנה כדורי הבנוי מחומר רך, הוא היכולת להשפיע על תהליכים לאורך זמן כשהמערכת כבר פועלת, למשל, על ידי אותות חשמליים שיכולים לעבור דרך המשטח שאליו מחוברות המולקולות. השפעה כזו מדמה, למשל, את פעילותה של מערכת העצבים השולטת בתאים רבים באורגניזמים מפותחים.

לכסוף, במערכת זו ניתן מענה לבעיה משמעותית הקיימת בשחזור מערכות ביולוגיות: תא חי שומר על ריכוזים קבועים של חלבונים על ידי סינתזה ופירוק מבוקרים. הקצב היחסי בין הסינתזה לבין הפירוק של חלבון כלשהו יקבע את ריכוזו. תהליך זה מאפשר לקיים מגננונים המבוססים על משוב מולקולרי, ובהם המנגנון שעל פיו ריכוז של חלבון אחד קובע אם ייצור של חלבון אחר או שלו עצמו יהיה מושתק או מוגבר, הכול בהתאם לצורכי התא. ללא קיומו של תהליך פירוק יצטברו חלבונים בתוך התא, ולריכוזם הגבוה לא תהיה משמעות. שחזור מלאכותי של פירוק חלבונים על ידי תגובות ביוכימיות התגלה כמשימה קשה, והמערכת שפותחה על ידי קבוצתו של פרופ' בר זו נותנת לכך מענה פיזיקלי: במקום פירוק ביוכימי, החלבונים עוברים פינולי מתוך התא. כך הצליחה הקבוצה להדגים רשתות גנטיות שמתקיימות בתוך ההתקנים שלא ניתן היה לשחזרן לו הגיע ריכוז החלבון לרוויה בתוך התא המלאכותי (איור 1 D, E)¹.

הרכבת תא מלאכותי והכימיה של הכתיבה על המשטח

לאחר חציבת התאים והתעלות בתוך משטח הסיליקון בשיטות איכול כימיות יבשות, המשטח מצופה בציפוי מיוחד

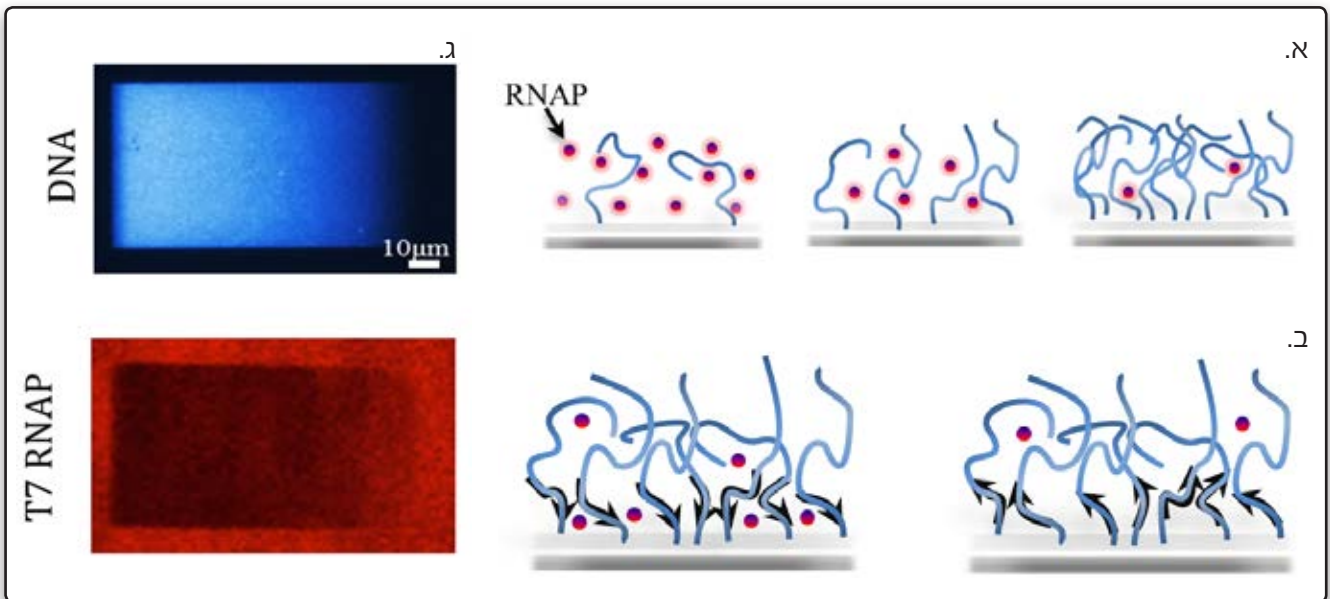
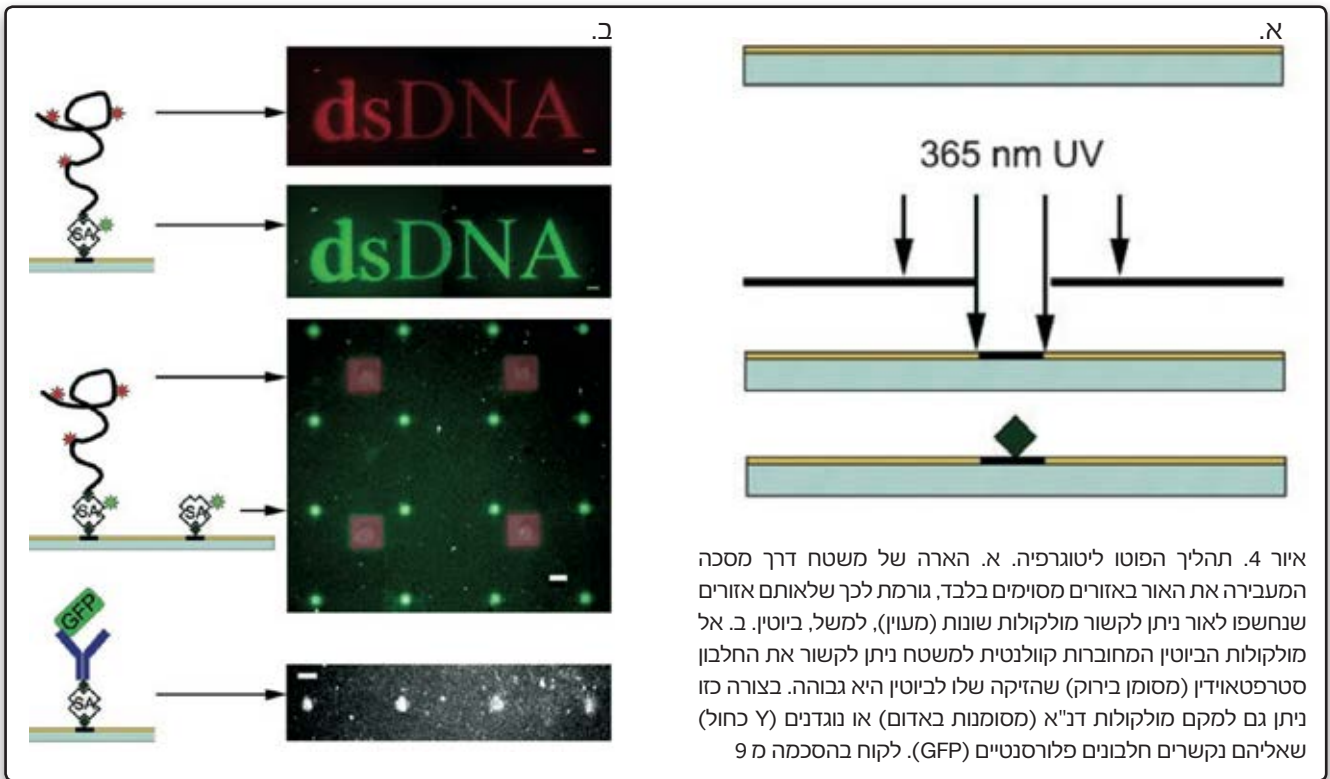


איור 3. תהליך הציפוי של משטחי זכוכית. מולקולת המוצא (איור בצד שמאל) Nw-Nvoc-amine-Na-[3-(triethoxysilyl)propyl]-carboxamide-PEG שלוש חלקים פונקציונליים: קבוצת סילאן הנקשרת למשטח זכוכית, קבוצת הגנה [Nvoc = 6-nitroveratrylmethyloxycarbonyl] המתשחררת לאחר הארה באור אולטרה סגול וגוף המולקולה, העשוי מפולימר של אצילן גליקול, שיוצר שכבת הגנה על משטח הזכוכית והופך אותו למתאים לעבודה עם מולקולות ביולוגיות. לאחר שחרור קבוצת ההגנה נחשף אמין ראשוני, ואילו ניתן לחבר בקשר קוולנטי מולקולות שונות, למשל ביוטין (איור בצד ימין). לקוח בהסכמה מ 9.

בעת בניית שכבת הדנ"א: בשכבות דנ"א צפופות הייתה כמות החלבון שסונתזה מכל גן נמוכה מהכמות שסונתזה ממולקולות דנ"א שצפיפותן נמוכה. בנוסף כאשר הגנים היו מכוונים אל המשטח, הייתה יעילות סינתזת החלבון גבוהה יותר מזו של הגנים שהיו מכוונים החוצה (איור 5 ב'). מחקר מעמיק מצא שהגורם המשפיע על רמת ביטוי הגנים משכבות הדנ"א הוא אחד האנזימים המשתתפים בתהליך (רנ"א פולימריז) שמסנתז גדיל רנ"א כשלב ראשון בביטוי הגנים. נמצא שחדירות האנזים לשכבת הדנ"א מושפעת מהצפיפות ומהכיוונית של הדנ"א (איור 5 ג'). תוצאה זו מדגימה את העובדה ששכבות הדנ"א יכולות לשמש כמערכת מודל לביטוי גנים בסביבה הדומה לזו שבתא שבה הדנ"א מאורגן ומסודר בצפיפות גבוהה. כאשר ניסויים

מברשות הדנ"א על המשטח אלא גם על צפיפות המולקולות ליחידת שטח (איור 5 א'). פרמטר נוסף שניתן לשלוט בו הוא הכיוונית של הפולימר ביחס למשטח: מכיוון שהדנ"א הוא סנתטי, ניתן לסנתזו עם קבוצת קישור למשטח בכל אחד מהקצוות בצורה סלקטיבית (איור 5 ב').

כדי לבדוק אם הגנים הסינתטיים הללו המחברים למשטח זכוכית בסביבה חוץ תאית יכולים להיות פעילים ולעבור ביטוי לחלבון, הונחה מעליהם טיפה של מיצוי תאי המכיל את כל האנזימים הדרושים לביטוי גנים. לאחר הדגרה עם המיצוי התאי נמדדה כמות החלבון שסונתזה מכל שכבת דנ"א, ונמצא שאכן סונתז חלבון. בנוסף נמצא שכמות החלבון המסונתזת הייתה תלויה בפרמטרים המרחביים שהוגדרו



5. קיבוע דנ"א למשטחי סיליקון לקבלת שכבות חד-מולקולריות עם גאומטריה נשלטת. (א) מולקולות דנ"א (גדילים כחולים) מקובעות למשטח דרך אחד מקצותיהן בשלוש צפיפויות שונות. מולקולות האנזים רנ"א פולימראז (עיגולים אדומים) מרוכזות בתוך שכבת הדנ"א ביחס הפוך לצפיפות הדנ"א. (ב) הכיוונית של מולקולות הדנ"א (חצים שחורים) המסמנים את כיוון הגנים) נקבעת לפי הקצה שאותו מקבעים למשטח. (ג) צילום במיקרוסקופ פלורסנטי של מולקולות דנ"א המקובעות למשטח בגרדיאנט צפיפויות רציף (מלבן עליון כחול). גרדיאנט הדנ"א מכתיב את צפיפות רנ"א פולימראז (מלבן תחתון אדום) על ידי הגבלת חדירות האנזים לאזורים בצפיפות גבוהה. לקוח בהסכמה מ 8.

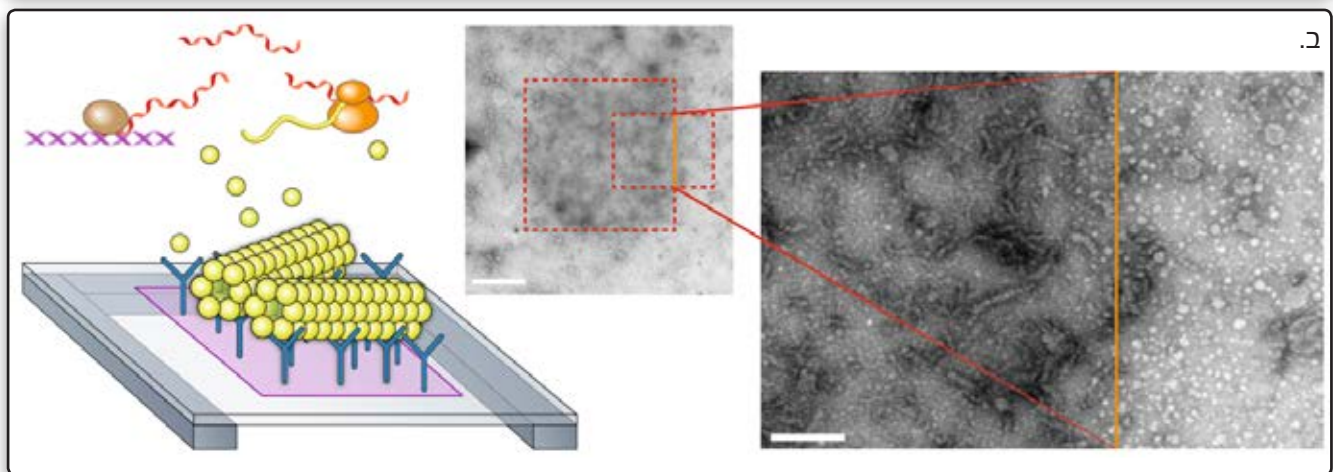
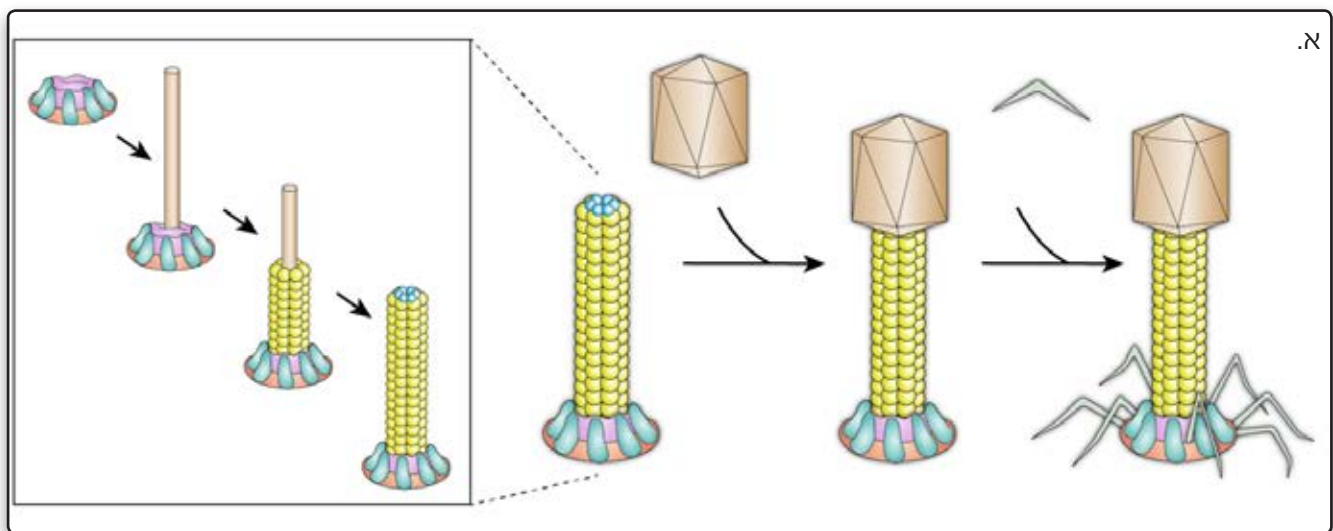


הדנ"א על השבב. המלכודות נבנו ממולקולות נוגדנים בעלי זיקה וספציפיות גבוהים לחלבון אחד מסוים. בניסוי אחד הוטבעו על השבב פסי דנ"א המקדד לחלבון GFP, חלבון הפולט אור ירוק, ולצד פסי הדנ"א הוטבעו פסי נוגדנים הספציפיים לחלבון זה. לאחר הדגרה עם מיצוי תאי התקבלו פסים זורחים בירוק במקום שבו הוטבעו הנוגדנים. ניסוי זה הראה שלא רק שחלבון ה-GFP סונתז על גבי השבב אלא שהוא גם התקפל למבנה המתאים שאפשר לו לבלוע ולפלוט

כאלה נעשים במבחנה, אין דרך לבדוק את השפעתם של פרמטרים מרחביים כפי שניתן על השבבים.

גנים ומלכודות לחלבונים

האם החלבונים המסונתזים על השבב הם במבנה ובפעילות הדומים לאלה שבתוך תא חי? כדי להיות מסוגלים לענות על שאלה זה הוכנו שבבים שעליהם קובעו לא רק מולקולות הדנ"א אלא גם מלכודות לחלבונים המסונתזים משכבות



איור 6. ביטוי חלבוני מבנה על שבב מאפשר את קיפולם הטבעי והתארגנותם העצמונית לקבלת מערכים מבניים.

(א) סכמה של הבקטריופאג' T4, וירוס המדביק תאים חיידקיים, בעל מבנה הנדסי שמתקבל מבנייה עצמונית ממספר רב של חלבונים בתהליך בנייה מסודר ומאורגן בסדר קבוע מראש. זנב הווירוס מורכב בעיקר מחלבון (עיגולים צהובים) המתארגן בצורה של ננו-צינורות. (ב) ביטוי החלבון המרכיב את זנב הווירוס על גבי השבב מאפשר את הרכבתם של ננו-צינורות ותפיסתם על ידי נוגדנים המקובעים למשטח. כפי שניתן לראות בתמונות שהתקבלו במקרוסקופ אלקטרוני, האזורים שהנוגדנים קובעו אליהם (ריבוע תחום בקו מקווקו אדום) מועשרים בנו-צינורות לעומת אזורים שבהם אין נוגדנים. לקוח בהסכמה מ-10

זו על הרכבה של מערכי חלבונים מורכבים יותר. כך למשל, אולי נוכל להרכיב את כל הווירוס ולשלוט בבנייתו ליצירה של מבנים חדשים שאינם קיימים בטבע אך יכולים לשרת מטרה רפואית כלשהי¹¹.

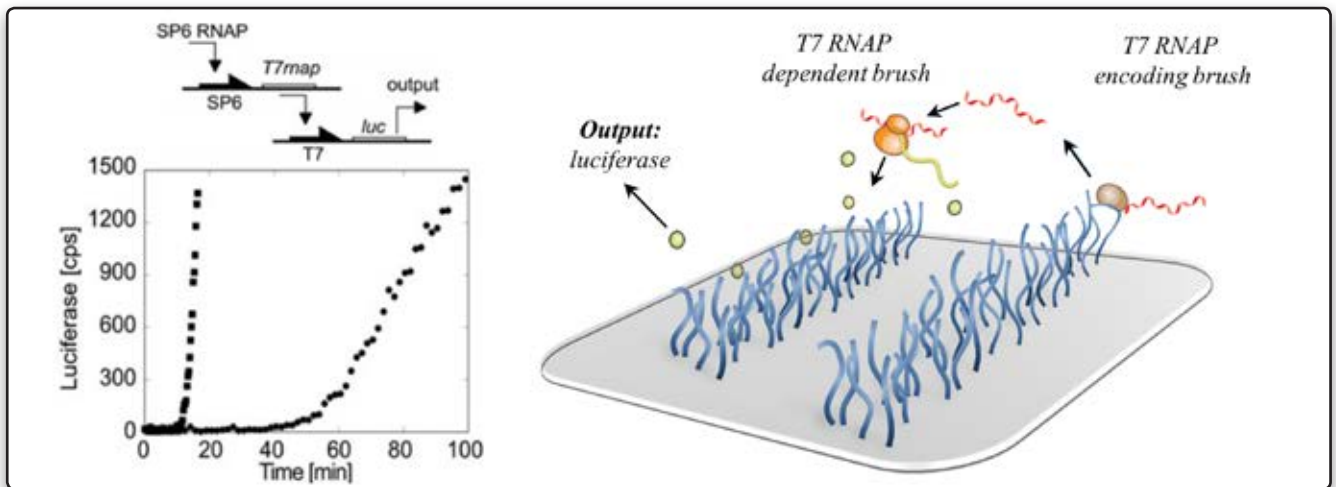
מימוש רשתות גנטיות על שבב

כל תא חי, אפילו תא קטן של חיידק, מכיל מאות ואלפי גנים המקודדים לאלפי חלבונים שונים. חלק מהחלבונים הנם מבניים, ולאחרים פעילויות אנזימטיות רבות ומגוונות שצריכות להיות מתואמות זו עם זו ליצירה של רשת ענפה של תגובות כימיות. כדי שהשבב יוכל בעתיד לשמש כמערכת מודל לתא, היה צורך להראות שאפשר לממש על גבי השבב רשתות כאלה.

כדי להדגים זאת הוטבעו על השבב שני פסי דנ"א: האחד קידד לחלבון לוסיפרז, אנזים המזרז תגובה כימית שבמהלכה נפלט אור. בפס האחר קודד האנזים רנ"א פולימזר שבלעדיו לא יתרחש הביטוי של הגן ללוסיפרז (איור 7). לאחר הוספה של מיצוי תאי לשבב נמדדה פליטת אור שהראתה שאכן סונתז לוסיפרז פעיל. כלומר, מפס דנ"א אחד בוטא האנזים רנ"א פולימזר שעבר בדיפוזיה ונקשר לדנ"א בפס האחר ואפשר את ביטוי של לוסיפרז⁹. ניתן היה לממש רשתות מורכבות יותר בעלות דינמיקה מורכבת יותר של ביטוי

אור באורכי הגל המתאימים ולהיות מזוהה על ידי הנוגדנים¹⁰.

חלבונים תאיים מצויים ברוב המקרים כחלק ממערך חלבוני גדול שמתפקד כמכונה המיועדת לבצע פעולה מסוימת. לקומפלקסים כאלה יכולה להיות פעילות אנזימטית, למשל, הריבוזום הוא קומפלקס גדול המורכב מהרבה חלבונים וממולקולות רנ"א שמבצעים ביחד סינתזה של כל החלבונים בתא. ישנם קומפלקסים מבניים, וירוסים למשל (איור 6 א'), הבנויים מהרבה מולקולות חלבון המתלכדות למבנה יציב שנראה כאילו תוכנן והורכב על ידי מהנדס¹¹. זוהי דוגמה להרכבה והתארגנות עצמונית שמאפיינת מולקולות ביולוגיות. כדי להדגים שהרכבה כזו אכן יכולה להתקיים על השבב כך שניתן לחקור אותה מצד אחד, אך גם להשתמש בה להרכבה של מבנים בסקלה ננומטרית מצד שני, היה צורך להתאים את השבב להדמיה במיקרוסקופ אלקטרוני. במקרה הזה הוטבעו על גבי השבב נוגדנים ספציפיים לאחד מחלבוני המבנה המרכיבים את זנב הווירוס. לאחר הוספה של מיצוי תאי, שטיפת השבב והדמייתו במיקרוסקופ האלקטרוני, נראו ננו-צינורות חלבוניים המאפיינים את הפלמור של חלבון זה. נראה שכמות הננו-צינורות הייתה גדולה בהרבה באזורים שבהם הוטבעו נוגדנים לעומת אזורים ללא נוגדנים (איור 6 ב')¹⁰. בעתיד ניתן יהיה ללמוד בשיטה



איור 7. רשת גנטית פשוטה על שבב. שני פסי דנ"א מוטבעים על שבב זה בצד זה. דנ"א אחד מקודד לאנזים לוסיפרז, אך הגן אינו יכול להיות מבוטא ללא חלבון המקודד בדנ"א האחר. רק לאחר ביטוי של גן זה נוצר החלבון שבדיפוזיה, עובר לפס השני ומביא לביטוי של לוסיפרז שאת פעילותו ניתן למדוד. פעילות הלוסיפרז נמדדת בתגובת השרשרת רק לאחר כ-50 דקות לעומת כ-10 דקות בתגובה הישירה. לקוח בהסכמה מ⁸.



4. Luisi, P.L., Ferri, F., Stanó, P. (2006) Approaches to semi-synthetic minimal cells: a review *Naturwissenschaften* (2006) 93: 1-13 DOI 10.1007/s00114-005-0056-z
5. Weber, W., Fussenegger, M. (2012) Emerging biomedical applications of synthetic biology. *Nature Reviews Genetics* 13, 21-35 doi:10.1038/nrg3094
6. Gibson, D. G., Glass, J. I., et al. (2010) Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome. *Science* 329, 52-6.
7. Noireaux V, Libchaber A (2004) A vesicle bioreactor as a step toward an artificial cell assembly. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:17669-17674.
8. Bracha, D., Karzbrun, E., Daube, S. S., Roy H. Bar-Ziv (2014) Emergent Properties of Dense DNA Phases toward Artificial Biosystems on a Surface. *Acc. Chem. Res.* 47, 1912-1921 DOI: 10.1021/ar5001428
9. Buxboim, A., Bar-Dagan, M., Frydman, V., Zbaida, D., Morpurgo, M., Bar-Ziv, R. H. (2007) A single-step photolithographic interface for cell-free gene expression and active biochips. *Small*, 3, 500-10.
10. Heyman, Y., Buxboim, A., Wolf, S. G., Daube, S. S., Bar-Ziv, R. H. (2012) Cell-free gene expression and protein assembly on a functional TEM biochip. *Nature Nanotechnology*, 7, 374 (2012)
11. Daube, S. S., Bar-Ziv R. H. (2013) Protein nanomachines assembly modes: cell-free expression and biochip perspectives. *WIREs Nanomed Nanobiotechnol* 5, 613-628. doi: 10.1002/wnan.1234

חלבונים בהתקנים החצובים בסיליקון (איור 1)¹. בהתקנים אלה החלבון אינו מצטבר אלא מפונה מתוך התא, בדומה לתהליך פירוק כימי, כפי שהוסבר לעיל.

סיכום

ניתן לממש ביטוי של גנים על שבבים בדרך המאפשרת סינתזה של חלבונים פעילים שמסוגלים ליצור מבנים מורכבים בסקלה ננומטרית, לשמר את פעילותם האנזימטית ולממש רשתות גנטיות. פעילויות אלה חיוניות בתפקודו של כל תא, אך הן מהוות רק חלק קטן ממכלול התגובות הביוכימיות המתרחשות בתא. מהן התגובות החסרות כדי ששבב כזה יהפוך לתא חי? האם תא כזה צריך להתחלק וליצור תא חדש נוסף? למה זה? למה לא? האם תא חי? האם נוכל ליצור שבב היודע לחוש את תנאי הסביבה ולהגיב בהתאם כדי לשמר את עצמו? רק מחקר ופיתוח נוספים יוכלו לענות על שאלות כאלה ואולי בכך יאפשרו יום אחד - רחוק ככל שיהיה - את המשך קיומם של חיים בתנאים שעלולים להיות בלתי אפשריים למין האנושי, כפי שאנו מכירים אותו כיום.

האדם, היצור המפותח בטבע, הוא היחיד שניתן ביכולתו ללמוד ולנסות להבין את עקרונות הכימיה, הביולוגיה והפיזיקה המנחים את עולמנו. מהלמידה הזו ומדרך הבנה זו האדם מסוגל כיום לבצע שינויים בקוד הגנטי עצמו, ובכך להביא ליצירה, לאינטגרציה ולסינתזה של חומרים חדשים. זוהי בעצם דרכה של האבולוציה לפתח את עולמנו לכיוונים חדשים.

מקורות

1. Karzbrun, E., Tayar, A., Noireaux, V., Bar-Ziv, R. H. (2014) Programmable on-chip DNA compartments as artificial cells. *Science* 345, 829-832.
2. Luisi, PL (2007) Chemical Aspects of Synthetic Biology. *Chemistry & Biodiversity* 4, 603-621.
3. Noireaux, V., Maeda, Y.T., Libchaber, A. (2011) Development of an artificial cell, from self-organization to computation and self-reproduction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 3473-3480