



משרד החינוך
המינהל הפדגוגי
האגף למחוננים ולמצטיינים

קוקטייל פאגיים כפתרון אפשרי לעמידות חיידקית לאנטיביוטיקה



מכון הנרייטה סאלד
המכון הארצי למחקר במדעי ההתנהגות

חניכה: לינוי רז, רעננה

מנחה-עמית: ד"ר רותם שורק, מכון ויצמן למדע, רחובות



(בקטריו) פאגיים

פאגיים הם וירוסים שמדביקים חיידקים. ככל הווירוסים, הם חייבים להכניס את המטען הגנטי שלהם לתא מאכסן כדי להתרבות. בהמשך הווירוס יבחר באחד משני מסלולים - הוא ישתלט על מנגנוני התא ויגרום לו לייצר וירוסים חדשים עד שיתפוצץ והם ידביקו תאים נוספים (המסלול הליטי), או שהוא יכניס את הדנ"א שלו לדנ"א החיידקי, וישאר "רדום" בזמן שהחיידק משתכפל (המסלול הליזוגני), עד שהתנאים יגרמו לו להפוך לליטי.

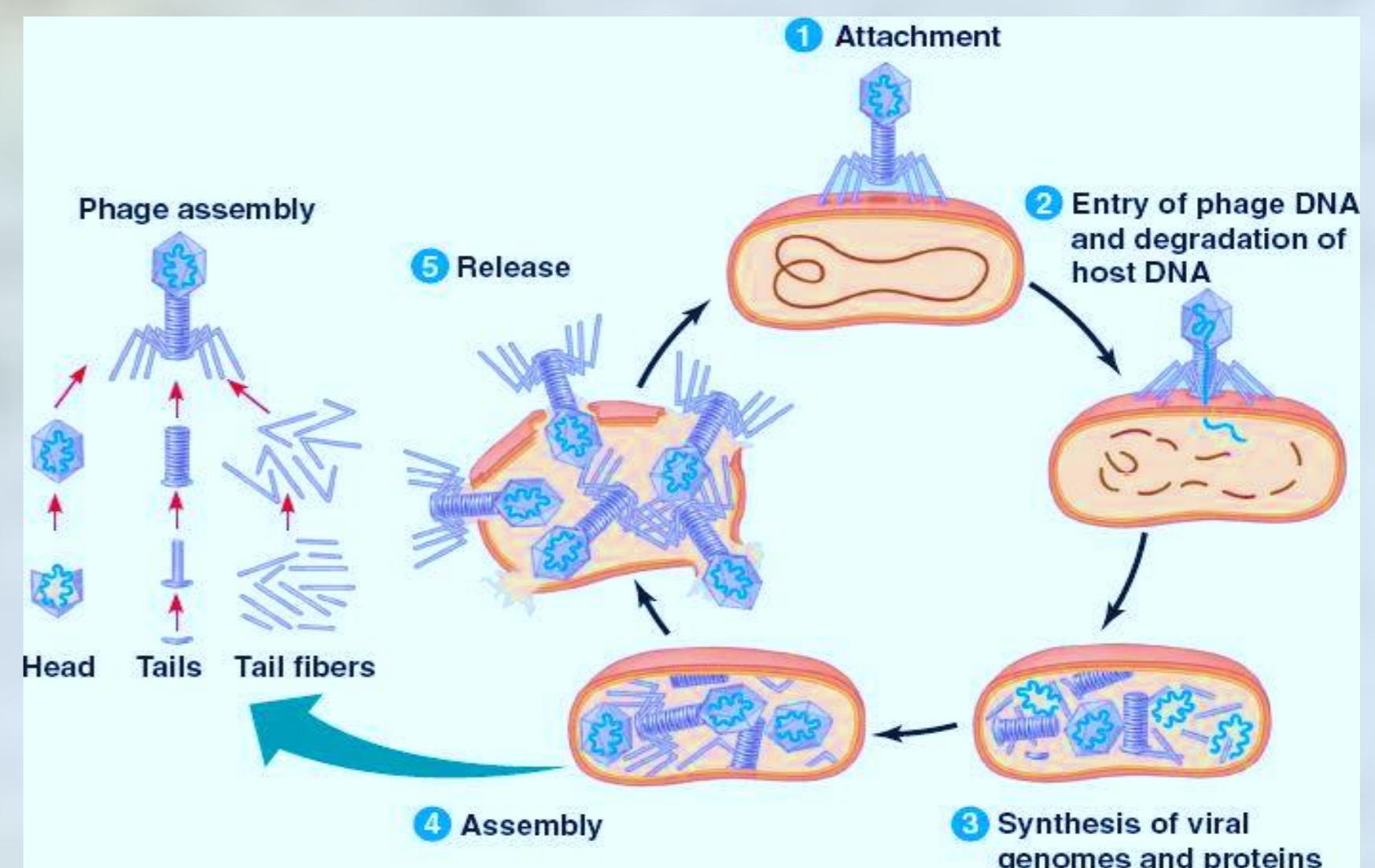
תרפיית פאגיים היא השימוש בפאגיים לתועלת רפואית. לדוגמה, הדבקה של חיידקים פתוגניים (שמדביקים אנשים) בפאגי שישימד את האוכלוסייה החיידקית ובכך ימנע מהחיידקים להזיק לבני האדם. עם זאת על פי מחקרים לשיטה יש חסרון- שהחיידקים לרוב מפתחים עמידות מהירה לפאגי.

היפותזה

שיעורנו שהסיבה לפיתוח העמידות המהירה בקרב חיידקים היא מוטציה ברצפטור דרכו מדביק הפאגי את החיידק. בזמן ההדבקה, הפאגי מכניס את הדנ"א שלו לחיידק דרך רצפטור ספציפי אותו הוא מזהה. אם ישנה מוטציה ברצפטור, הפאגי לא יזהה אותו והחיידק יפתח עמידות. לכן קוקטייל פאגיים יפתור את בעיית התפתחות העמידות החיידקית - הרבה פחות סביר שהחיידק יפתח מוטציה בכמה מהרצפטורים שלו בהשתכפלות בודדת.



בתמונה: פאגיים "תוקפים" תא חיידקי

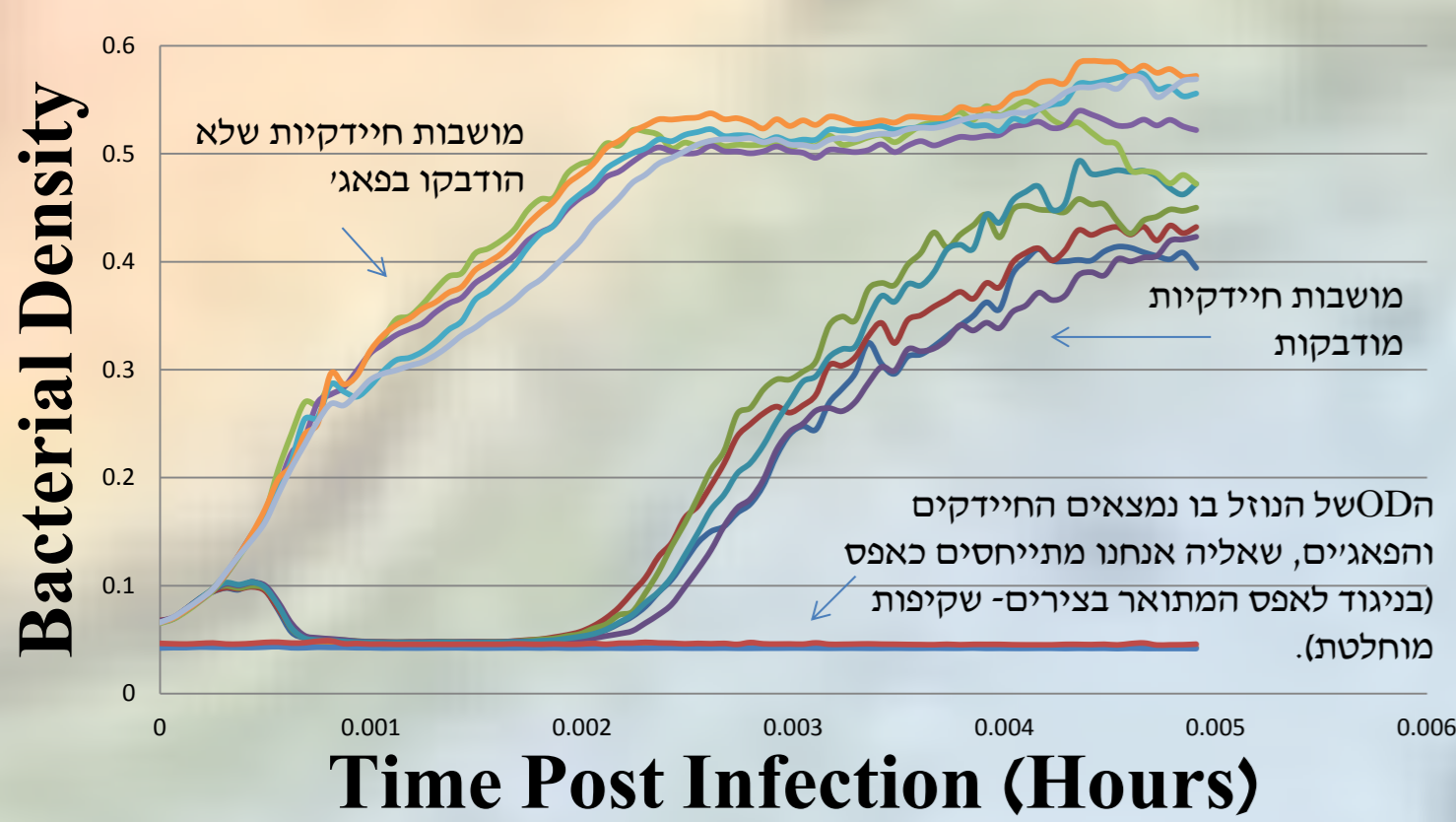


בתמונה: שלבי המסלול הליטי של פאגי

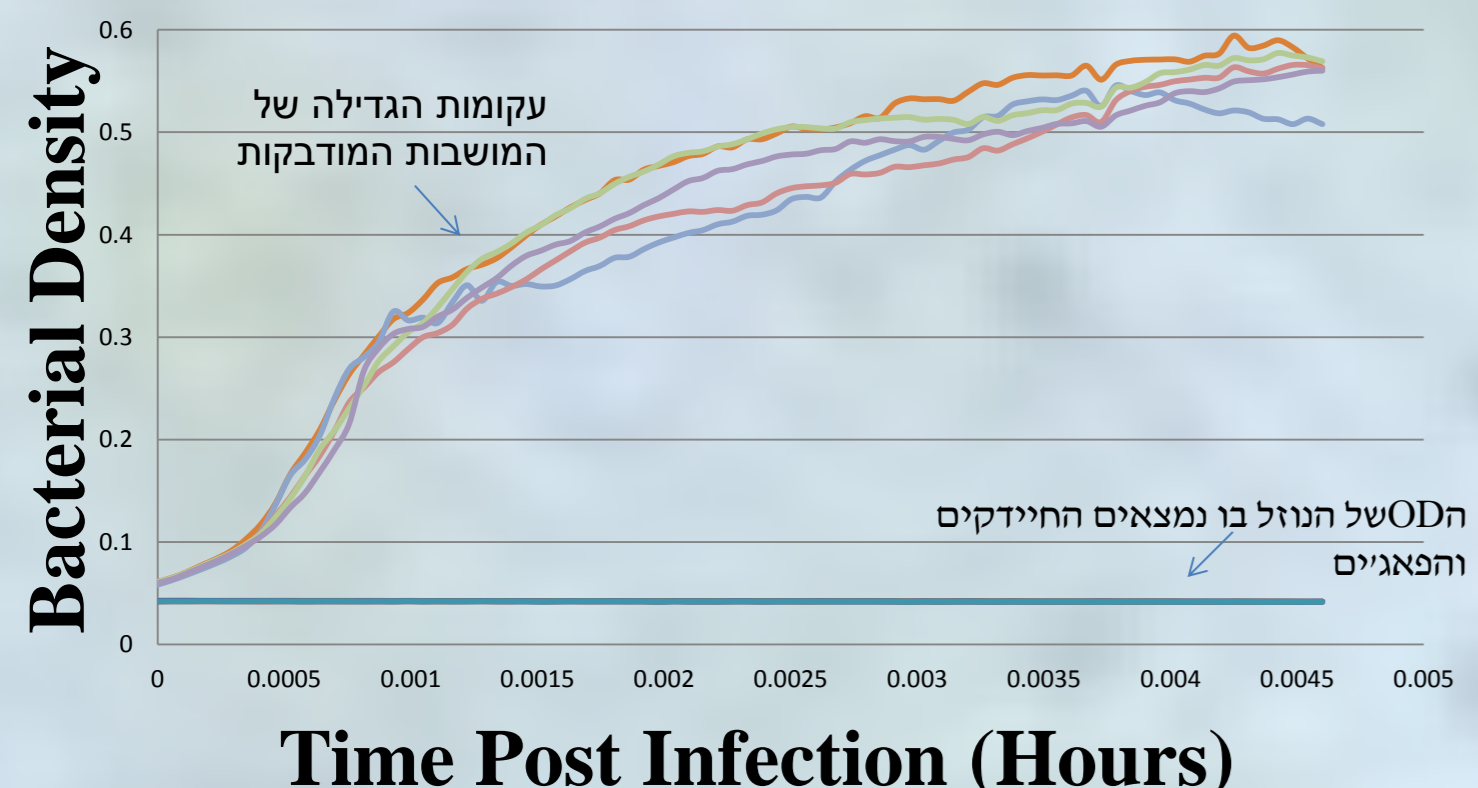
שיטות עבודה ותוצאות ניסויי מעבדה

הדבקנו את חיידק המודל Bacillus Subtilis ב-3 זני פאגיים - SPO1, SP82G, ו-9; בתחילה עם פאגי אחד בכל פעם, ואז עם קוקטיילים של 2 ו-3 פאגיים. עקבנו אחר הגדילה של החיידקים כ-20 שעות לאחר כל ניסוי, כשהעכירות האופטית (OD) משמשת מדד לכמות החיידקים. קיבלנו את התוצאות הבאות (כאשר עלייה בגרף משמעה גדילה של האוכלוסייה החיידקית, ירידה משמעה שהאוכלוסייה החיידקית קטנה - החיידקים מתים, וגדילה לאחר ירידה לאפס משמעה פיתוח עמידות על ידי החיידק):

BSU infected by SPO1



BSU mutant that grew after SPO1 infection infected by $\phi 29$ (cross infection)



החיידקים הראו עמידות הן לפאגיים הבודדים והן לקוקטיילים, בניגוד להשערותנו. לאחר בדיקה חוזרת של הנחות הבסיס שלנו, שיעורנו שישנה מפני שכל הפאגיים נכנסים דרך אותו רצפטור, וההשערה שלנו לגבי הקוקטיילים למעשה מעולם לא נבדקה. כדי לאשש זאת, גידלנו תרביות של החיידקים המוטנטים (העמידים) שצמחו אחרי ההדבקות עם הפאגיים הבודדים, והדבקנו אותם שוב בפאגיים, אחד בכל פעם. ראינו שחיידק מוטנט שעמיד לאחד הפאגיים עמיד לכל השלושה. כלומר, כל הפאגיים שעבדנו איתם הכניסו את המטען הגנטי שלהם דרך אותו רצפטור.

* כל ניסוי נעשה על חמש מושבות שונות, וכל עקומה מתארת התנהגות של מושבה.

דיון ומחשבות לעתיד

התפתחות העמידות אכן איששה את החישוב התיאורטי הראשוני שלנו, אך כדי לבדוק את ההיפותזה שלנו במלואה עלינו להשיג עוד פאגיים שנכנסים לחיידק דרך רצפטורים שונים. מחקר עתידי בתחום יעזור לנו להבין את המגבלות של תרפיית פאגיים, ויאפשר לנו להתגבר עליהן.

חישוב תיאורטי

ניסינו לחשב את ההסתברות למוטציה ברצפטור ספציפי בתא חיידקי. התבססנו על הפרמטרים הבאים:

* שיעור השגיאה בשכפול דנ"א הוא $1:10^8$ (בסיס בדנ"א) פר שכפול.
* אורך הגנום החיידקי הוא 4 מיליון (4×10^6) בסיסים.

החלק מכמות חיידקים שיישא מוטציה כזו או אחרת בגנום לאחר שכפול:
 $4 \times 10^6 / 10^8 = 0.04$

כלומר במושבה סטנדרטית (10^8 חיידקים) יהיו 400,000 חיידקים מוטנטים.
* הגודל הממוצע של גן חיידקי הוא 1000 בסיסים

החלק הרלוונטי מהגנום שאם תתרחש בו מוטציה יהיה שינוי ברצפטור הוא $1000 / (4 \times 10^6) = 0.025\%$

נובע שרק 1000 חיידקים יהיו מוטנטים ברצפטור שהפאגי נכנס דרכו. אם רק מחצית מהמוטציות ישנו את תפקוד הרצפטור, 500 חיידקים במושבה של 10^8 חיידקים יהיו מוטנטים, משמע הסיכוי למוטציה ברצפטור אחד הוא 1 ל-200,000.

הסיכוי למוטציה במספר גבוה יותר של רצפטורים עולה בחזקת איקס, כאשר איקס הוא מספר הפאגיים בקוקטייל (או לחילופין מספר הרצפטורים).

הסיכוי למוטציה בשני רצפטורים, לדוגמה, הוא:

$$(1/200,000)^2 = 1/(4 \times 10^{10})$$

כך שבממוצע, אחוז המושבות החיידקיות בהן יהיה חיידק כזה הוא פחות מ-1%.

החישובים התיאורטיים שלנו מראים שבמושבה סטנדרטית, כמעט תמיד יהיו חיידקים רבים מוטנטים ברצפטור אחד ולכן כמעט תמיד תתפתח עמידות מהירה לפאגי. עם זאת, הם גם מראים שככל שמספר הפאגיים בקוקטייל גבוה יותר (כלומר מספר הרצפטורים המותקפים גבוה יותר) מספר החיידקים פר מושבה שיתפתחו עם מספיק מוטציות שיעניקו להם עמידות לקוקטייל יורד.