



מיכה רון, יהודה ולר, אנדרי שירק - המחלקה לבקר וגנטיקה, מנהל המחקר  
גיורא גליק - הפקולטה לחקלאות  
אפרים עזרא - התאחדות מגדלי בקר  
יואל זרון - שיאון

# אנליזה גנטית של פרים באמצעות שבבי דנ"א לניהול וטיפוח

במקביל למגמה של סלקציה גנומית באמצעות שבבי דנ"א בבקר לחלב בעולם מסתמנים תוצרי לוואי לאנליזה גנטית של פרות חלב ובשר, על ידי הטמעת היישומים של בדיקת אבהות, איתור אבהות, ונעקבות במחיר של בדיקת אבהות.

אלל A לצאצא. לעומת זאת, כאשר גנוטיפ הפר AA ושל האב המשוער GG מתקבלת אי-התאמה בהורשה של כרומוזום אבהי לצאצא שמקורה בטעות בקביעת הגנוטיפ של אחד מהם או זהות שגויה של האב. שיעור גבוה של אי-התאמה בסמנים השונים יצביע על זהות שגויה של האב המשוער. לפיכך, קבענו שמעל 2% אי-התאמה מכלל סמני ה-SNP תידחה האבהות. ע"י השוואה של הגנוטיפים בין כל הצמידים האפשריים של הפרים ניתן לזהות אבות ולהשוות אותם לאלו המדווחים בספר-העדר.

## בקרת איכות

נפסלו סמנים עם שיעור האלל הנדיר הנמוך מ-0.05, וסמנים בלי גנוטיפ תקין בלפחות 50% מהפרים. בנוסף, בעבור אימות אבהות נפסלו סמנים הנמצאים על כרומוזום המין, וסמנים שלא מופו על הכרומוזום. נותרו 37,444 סמנים תקינים (69%). עבור 33 פרים שיעור הגנוטיפים התקינים היה נמוך מ-75%, דבר המעיד על איכות ירודה של דגימת ה-דנא. פרים אלו הוצאו מהבדיקה. בעבור 1,184 הפרים הנותרים נערכה השוואה בין כל הצמידים האפשריים של פרים לבדיקת אי-התאמה בגנוטיפ של סמנים (699,744 השוואות). בעבור שלושה זוגות פרטים נמצאה התאמה כמעט מלאה בגנוטיפ של כל הסמנים (<99%) דבר המצביע על הימצאות של דוגמה כפולה או קשר של תאומים זהים. 6 פרטים אלו נגרעו מהמשך האנליזה.

## אימות ואיתור אבהות

מתוך 1,184 הפרים עם גנוטיפים תקינים שנבדקו על ידי מערך הסמנים מסוג SNP היו 709 שבהם נבדק האב על פי הרישום בספר-העדר. בעבור 681 זוגות נמצאה התאמה בין האב המדווח לבין האב המזוהה ע"י התאמה בסמנים (96% מהאבות המדווחים). לא נמצא "אב חליפי" לאף אחד מהפרים. עבור 22 מתוך 28 פרים שהראו חוסר התאמה לאב המדווח נמצאו פרים, המתאימים להם כאבות, על פי התאמה בסמנים ובשנת הלידה. זהות האבות של פרים אלו תוקנה בספר העדר. עבור 6 הפרים הנותרים לא נמצא פר אחר המתאים להם כאב מתוך סט הפרים עם גנוטיפים. סיכום חלקי של איתור האבהות מוצג בטבלה מספר 1. מס. הסמנים עם אי-התאמה בגנוטיפ בין הפר ובנו נע בין 0 ל-6 בשמונת הפרים המוצגים בטבלה. כיוון

## כללי

באוכלוסיות בקר מובילות בארה"ב ובהולנד נקבעים אומדני הורשה גנומיים לפרים ומתבצעת סלקציה על פי אומדנים אלו. מבחני הפרים הרשמיים של האגודות להזרעה מפורסמים עם אומדנים גנומיים לסחר בין-לאומי בזרמה (<http://aipl.arsusda.gov/eval.htm>).

במקביל למגמה של סלקציה גנומית באוכלוסיות בקר מובילות בעולם הוחלט בוועדת ספר העדר והטיפוח בישראל, בשנת 2008, לבסס את בחירת הפרים הצעירים על סלקציה גנומית במקום מבחן צאצאים. לצורך חיזוי אומדני הורשה באמצעות סמנים גנטיים נקבעו גנוטיפים בעבור 912 פרים באמצעות שבב של חברת "Illumina", הנושא 54,001 סמנים גנטיים המפורזים על פני כל שלושים הכרומוזומים של הבקר. ב-2010 נקבעו

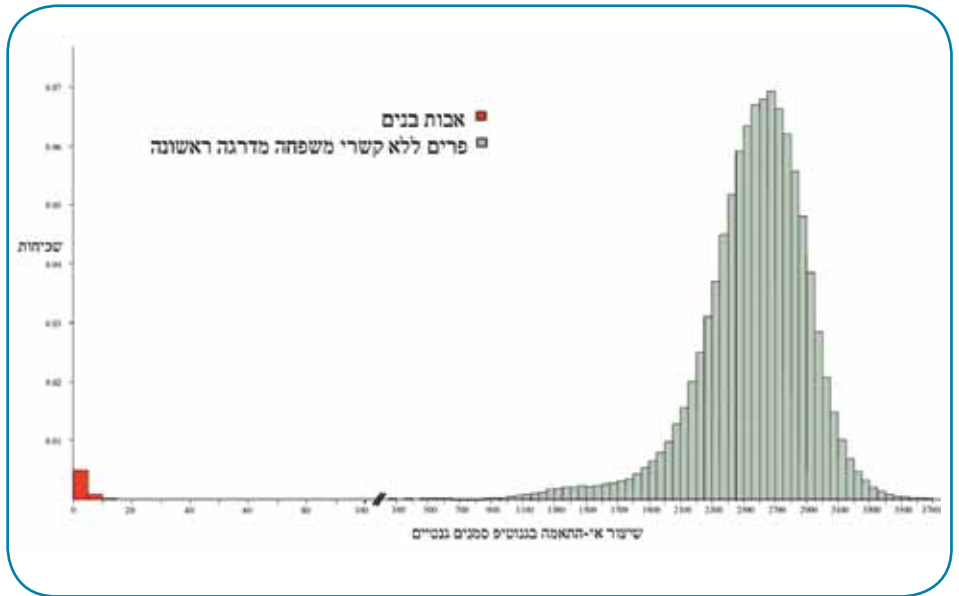
## ניתן לאמת אבהות על פי רישומי ספר-העדר בעזרת מערך 54 אלף הסמנים (ולר וחוב', שגוי או חסר בפעולת מחשב בלבד וללא עלות נוספת

גנוטיפים בעבור 305 פרים באמצעות שבב משופר שבו הוחלפו 1,661 סמנים גנטיים לא תקינים. בסה"כ נקבעו גנוטיפים בעבור 1,217 פרים. הפרים נולדו בין השנים 1975 ו-2010. ל-25 פרים נקבעו גנוטיפים לסמנים הגנטיים לפי שני השבבים.

לטעויות בזיהוי אבהות של פרים המשמשים להזרעה יש השפעה שלילית רבה על ההתקדמות הגנטית (ישראל וולר, 2000). לכן, לזיהוי ותיוקן טעויות אלו יש ערך רב.

המידע הגנוטיפי המפורט ממערך הסמנים מסוג SNP שבשבב מאפשר אישור או דחייה ודאית של אבהות; לסמן גנטי מסוג פולימורפיזם בנוקלאוטיד יחיד - SNP, שני אללים בלבד. לדוגמה, כאשר גנוטיפ הפר AA ושל האב המשוער AG מתקבלת התאמה בהורשה של כרומוזום אבהי נושא

איור 1. התפלגות שיעור אי-התאמה בגנוטיפ של סמנים בין צמדי אבות ובנים (באדום) וצמדי פרים אקראיים ללא קשרי משפחה מדרגה ראשונה (בירוק)



הסמנים (ולר וחוב, 2010) ולאחר אבות של פרים עם זיהוי אב שגוי או חסר בפעולת מחשב בלבד וללא עלות נוספת. שיעור הדיוק הגבוה של קביעת גנוטיפ לסמנים גנטיים מצביע על תשתית אמينة לסלקציה גנומית. בנוסף, בעידן של סלקציה גנומית קיימות אפשרויות חדשות לאיתור גנים כמותיים באוכלוסייה ולהכללתם בסלקציה (רון וולר, 2007; ולר ורון, 2011). סלקציה ישירה לגנים בעלי ערך כמותי לאינדקס הסלקציה ולא באמצעות סמנים מגדילה את יעילות הסלקציה.

### השלכות של התפתחויות גנומיות וכלכליות

בינתיים פותחו על ידי חברת אילומינה, ארה"ב שני שבבים נוספים המכילים 6,000-178,000 סמנים. עקב כך מחיר השבב הקיים של 54,000

סמנים צנח פי 4 לרמה של כמאה דולר ליחידה ומחיר השבב של 6,000 סמנים ל-40 דולר היחידה. איסוף הדוגמאות לאנליזה של דנא מתבצע באמצעות שערות ומשלוח בדואר למעבדה בארה"ב. המגמה היא של ירידה בעלות קביעת גנוטיפ וכתוצאה, הרחבת השימוש בטכנולוגיה בבקר לחלב ובשר (רון וחוב, 2011).

המשמעות של ההוזלה בעלות השבב היא אפשרות בדיקה של פרות בנוסף לפרים. כאשר בדיקת אבהות עולה כ-40 דולר ובדיקת נעקבות לזיהוי גנטי של החיה למניעת גנבות עולה כ-110 דולר, ניתן להעריך שאנליזת השבבים של 6,000 או 54,000 סמנים תורחב בעתיד לפרות ותיתן מענה משולב לבדיקת אבהות, איתור אבהות, נעקבות וחישוב אומדני הורשה גנטיים לסלקציה גנומית. בבקר לבשר זיהוי גנטי של החיה (נעקבות) ואיתור אבהות מהווים כלים חשובים ועד עתה לא זמינים לניהול ולטיפול. איתור אבות הפרות יאפשר לראשונה סלקציה של פרים ברמת המשק. באוכלוסיית הבקר לחלב הישראלית נמצא שיעור של כ-11% טעות ברישום אבהות של פרות לפני עשור (ולר וחוב, 2004) וניתן להעריך שכיום זה נע בין 5% ל-10%. באמצעות אנליזה של סמנים גנטיים ניתן לאמת אבהות ולאחר אבות במקרה של רישום שגוי או חסר של אבהות ולחשב אומדני הורשה גנומיים לפרות ופרים לביצוע סלקציה גנומית (על כך ברשימה נפרדת בחוברת זו).

### סיכום

במקביל למגמה של סלקציה גנומית באמצעות שבבי דנ"א בבקר לחלב בעולם מסתמנים תוצרי לוואי לאנליזה גנטית של פרות חלב ובשר על ידי הטמעת היישומים של בדיקת אבהות, איתור אבהות, ונעקבות במחיר של בדיקת אבהות. העוצמה הסטטיסטית של הבדיקה הגנטית המבוססת על שבבים גבוהה בסדרי גודל לעומת בדיקת האבהות הקודמת המבוססת על 11 סמנים מיקרוסטטליטים ובמחיר דומה. פענוח המידע דורש מערך מחשב ויכולת חישובית המצויים ביחידה לגנטיקה של בע"ח במנהל המחקר החקלאי ובמערך ספר-העדר. ■

רשימת פרסומים ניתן לקבל אצל המחברים

שנבדקו עשרות אלפי סמנים ניתן ליחס את המקרים הבודדים של אי-התאמה לטעויות בקביעת גנוטיפ של האב או בנו. לעומת זאת, כאשר אלפי סמנים מציגים אי-התאמה בגנוטיפ בין צמד פרים נשלל קשר גנטי אפשרי של הורה וצאצא.

בכל המקרים שהאב המדווח אומת ע"י בדיקת הסמנים, מספר המקרים של אי-התאמה בגנוטיפ בין אב לבנו נע בין 0 ל-14 (0.006%). באיור 1 ניתן לראות בצבע אדום את מספר המקרים של אי-התאמה בין זוגות אבות ובנים. לעומת זאת, מספר המקרים של אי-התאמה בגנוטיפ שנמצא בין פרטים אקראיים, אשר אינם הורה וצאצא, נע בין 187 (0.88%) ועד לאלפים (מופיע בירוק באיור 1). ההפרש הניכר בשיעור האי-התאמה בגנוטיפ בין הורה לצאצא (באדום) מחד, לבין פרטים אקראיים ללא קרבת משפחה מדרגה ראשונה (בירוק) מאידך, מאפשר אימות ואיתור אבהות בעוצמה סטטיסטית מרבית.

לפיכך, ניתן לאמת אבהות על פי רישומי ספר-העדר בעזרת מערך של 54 אלף

טבלה 1. תוצאות איתור אבהות לפרים עם אבהות שגויה.

האב המזוהה		האב המדווח		הפר		
אי-התאמה <sup>1</sup>	שנת לידה	מספר	אי-התאמה <sup>1</sup>	מספר	שנת לידה	מספר
0	1976	787	2573	783	1984	2240
2	1982	2167	2430	787	1984	2260
5	1991	3315	2650	2278	1993	3474
0	1986	2317	2291	3053	1988	3216
3	1988	3176	1926	3053	1991	3295
6	1981	2141	2318	3070	1991	3342
0	1982	3059	2491	3148	1994	3535
1	1994	3582	2706	3274	1996	3722

אי-התאמה בגנוטיפ בין הפר לאב המדווח והמזוהה.