

## שימוש בסמנים גנטיים בניהול וטיפוח בקר

מ. רוך, מ. בנד, ע. ינאי, י. בלנק, נ. ברלין, ד. הוכמן, א. עזרא וי. ולד  
היחידה לגנטיקה והשבחה, מינהל המחקר החקלאי

### סמנים גנטיים

זה עשרות שנים מחפשים הגנטיקאים גנים אשר יעברו בתורשה מנדלית פשוטה ונוחה למעקב מהורים לצאצאים, ולהם מספר רב של אללים (צורות אלטרנטיביות) הניתנים לזיהוי בקלות. גנים אלה יכולים לשמש כסמנים בחיפוש אחר גנים אחרים המשפיעים על תכונות כלכליות. דוגמה טובה לסמנים הם סוגי הדם; קיימים מספר גנים שלכל אחד מהם מספר רב של אללים הניתנים לזיהוי באמצעות חלבוני הדם. בכל פרט שני אללים לגן בלבד, אחד מהאב ואחד מהאם; אך באוכלוסיה קיימים הרבה אללים, כאמור אלל לכל חלבון.

עם התפתחות הביולוגיה המולקולרית והרחבת המידע על רצף הבסיסים של הדנא נמצא בשנים האחרונות, שכחמישה אחוז מהדנא בבעלי-חיים וצמחים מכיל קטעי דנא הבנויים מרצף קצר, ארבעה נוקלאוטידים או פחות, החוזר על עצמו מספר רב של פעמים. הרצף הקצר השכיח ביותר הוא זוג נוקלאוטידים (תימין וגואנין) המופיע 50-6 פעמים ברצף בקטעי דנא הנמצאים בכרומוסומים שונים. קטעי הדנא האלה קיבלו את השם מיקרוסקטליטים והם מראים שוני רב במספר העותקים של הרצף החוזר. ניתן להבחין בשוני באללים של כל מיקרוסקטליט בין הכרומוסומים ההומולוגיים של פרט וגם בין פרטים שונים. לדוגמה, בפרט מסויים יימצא מיקרוסקטליט מסויים הנושא 20 עותקים של הרצף החוזר באחד מזוג הכרומוסומים מספר שבע ו-22 עותקים בכרומוסום השני בזוג מספר שבע, ההומולוגי. בפרט אחר, אותו המיקרוסקטליט ישא 25 עותקים של הרצף החוזר בשני הכרומוסומים מזוג מספר שבע ההומולוגיים. לקביעת מספר העותקים של הרצף החוזר יש לבצע תחילה הכפלה ספציפית של קטע הדנא המכיל את המיקרוסקטליט ואחר כך לקבוע את גודל המקטע על ידי הרצתו בג'ל אקרילאמיד

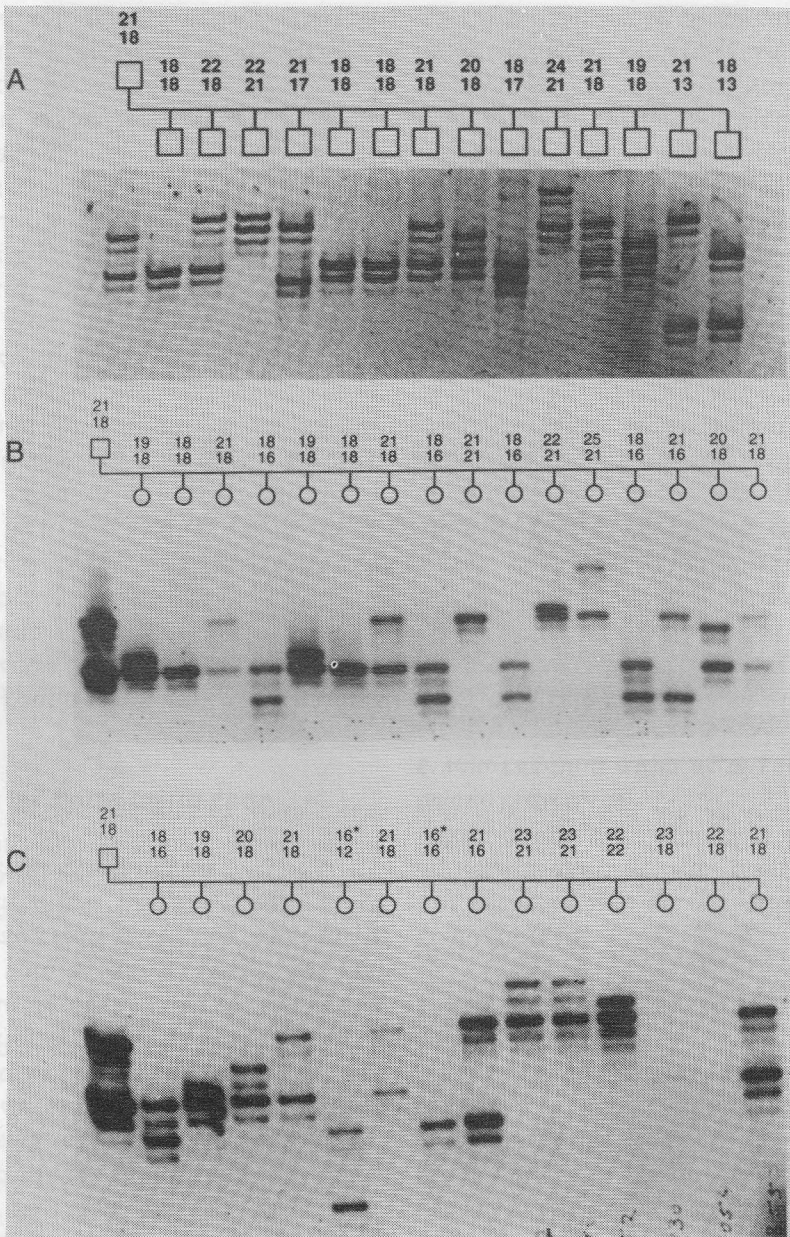
בשדה חשמלי. על ידי ביקורות מתאימות ניתן לקבוע את מספר העותקים של הרצף החוזר לפי גודל המקטע.

קבוצת הסמנים הזו מאופיינת בשכיחות רבה, פיזור נרחב ב־דנא ורב־גוניות לכל מיקרוסקטליט במספר החזרות של הרצף (אללים). בנוסף, ניתן לבצע בדיקה על כל רקמה מהחי אפילו בשלב העוברי. תכונות אלה מקנות למיקרוסקטליטים עדיפות על כל סמן גנטי ידוע אחר ביישומים גנטיים שונים.

במעבדתנו אותרו סמנים גנטיים מסוג מיקרוסקטליטים וממשיכים לפתח יישומים בעלי חשיבות כלכלית בבקר. בתמונה 1 מוצג הגנוטיפ (מספר העותקים של הרצף החוזר בשני האללים לפרט) של סמן גנטי מסויים לקבוצות בנים ובנות של הפר פרחח על פי מקורות שונים של דנא: A. דנא שהופק מתאי זרע, B. דגימת דם ו־C. שערות. ניתן לראות בבירור את הגנוטיפ לסמן בשלושת הסוגים של הבדיקות. כל פס המופיע בג'ל המורץ בשדה חשמלי מציין אלל. כאמור, בפרט בודד נמצאים רק שני אללים לכל סמן. פרט עם שני אללים זהים נקרא "הומוזיגוט", ו"הטרוזיגוט" אם האללים שונים. לפרט הומוזיגוטי יופיעו שני האללים כפס מודגש אחד כתוצאה של נדידה זהה של שני האללים בג'ל המורץ בשדה חשמלי. לפרט הטרוזיגוטי יופיע זוג פסים השונים במקום היחסי שלהם בג'ל. לפרטים שונים עם אותו האלל יופיעו בג'ל פסים באותו גודל. לכל פרט אלל אחד שקיבל מאביו, הפר פרחח.

### מפה גנטית של הבקר

בדרך כלל, גנים הממוקמים על אותו הכרומוסום עוברים יחד בתורשה. בחלק מהמקרים קיימת החלפת קטעים בין זוג כרומוסומים הומוולוגיים (שיחלוף). ככל ששני גנים רחוקים יותר, עולה הסיכוי לשיחלוף ביניהם. לכן, על ידי בדיקת הגנים של הצאצאים



תמונה 1: גנוטיפ (מספר העותקים של הרצף החוזר בשני האללים לפרט) של סמן גנטי מסויים לקבוצות בנים ובנות של הפר פרחח על פי מקורות שונים של דנא: A. דנא שהופק מתאי זרע, B. דגימת דם ו-C. שערות.

שואפים, זיהוי הורות יבוצע לעגלים הצעירים המועמדים לרכישה לאגודות להורעה. איזיהוי האב או האם ימנע את רכישתו לאגודה ולביצוע מבחן צאצאים. במקביל, אנו בודקים סמנים גנטיים ברמת העובר על ידי הפרדת תאים בודדים ממנו והפעלת בדיקות על אותם תאים. גישה זו מאפשרת זיהוי הורות לעובר ויחד עם קביעת מין העובר מעלה את ערכו הכלכלי.

## 2. זיהוי אבהות בבקר לבשר

זיהוי אבהות בעדרי בקר לבשר יאפשר טיפוח על ידי סלקציה של הפרים. כמו כן, ניתן יהיה לאתר הורשה של אללים מזיקים. לדוגמה, במספר משקים המגדלים בקר לבשר דווח על המלטות קשות של פרות ותמותה של האמהות והוולדות. בעדרים אלה פועלים מספר פרים בהרבעה טבעית. באמצעות סמנים גנטיים ניתן לקבוע את הזהות של פרים הגורמים לתופעה הנ"ל ולסלקם מהעדר. לשם כך צריך לדגום דם או שער מהעגלים שנולדו בהמלטה קשה ומהפרים העובדים בעדר.

## 3. זיהוי בעלי-חיים שנגנבו על פי דמיון לקרובי משפחה ברמת הדנא

במקרים מסויימים, שבהם קיים מידע גנטי על הפרטים עצמם או קרובי משפחה שלהם, ניתן לקבוע את זהות הפרטים שנגנבו, על ידי בדיקות סמני דנא.

## 4. זיהוי תאומים זהים להגדלת יעילות המחקר בבקר

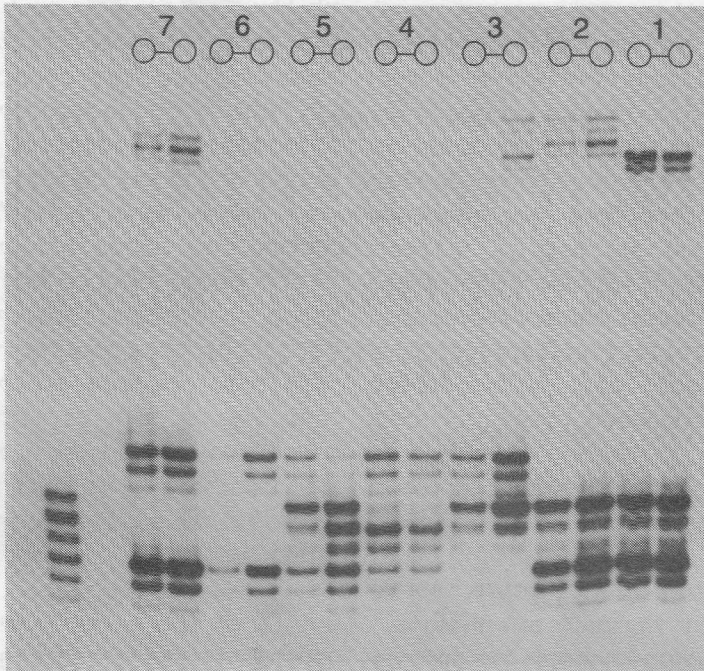
על ידי שימוש בעגלים או עגלות שהם תאומים זהים לביצוע ניסויים ניתן להשיג עוצמה סטטיסטית גבוהה עם מספר קטן של פרטים. זה נובע מהקטנה של השונות הפנוטיפית לתכונות הנמדדות בהיעדר שונות גנטית בין התאומים החד-ביצתיים. הנקוק (1954) כותב בספרו על "מחקרים בתאומי בקר חד-ביצתיים", שכל זוג תאומים יכול להחליף שתי קבוצות ניסוי בנות 20 פרות כל אחת להשוואת תכונות ייצור חלב. עד עתה מקובל היה לפסוק, שתאומים הם זהים לפי מבנה הגוף

של הכלאה ניתן לקבוע את "מרחק התאחיזה" בין הגנים. כדי לבנות "מפה גנטית" כללית של בקר בוצעו הכלאות בין קווי בקר רחוקים ובאמצעות השתלות עוברים נוסדו משפחות גדולות של אחים מלאים. מפרטים אלה הופק דנא, הופץ במעבדות בעולם העוסקות בחקר המפה הגנטית של הבקר, ונבדק מרחק התאחיזה בין סמנים גנטיים. לאחרונה גובשה מפה גנטית ראשונית של הבקר בשיתוף 10 מעבדות גנטיות בעולם ובהן המעבדות של פרופ' סולר, מהמחלקה לגנטיקה באוניברסיטה העברית, והמעבדה שלנו. המפה תפורסם בקרוב בספרות המדעית. מפה גנטית זו היא הראשונה בחיות בית והיא השלישית בגודלה לאחר האדם והעכבר. המפה כוללת 181 סמנים גנטיים, מתוכם 113 הם סמנים גנטיים מסוג מיקרוסטלטיים. כמחצית האתרים אותרו על 30 הכרומוסומים בבקר. בשנה הקרובה צפויה הרווית הגנום בסמנים גנטיים נוספים. לפי כך, מתחייב לבחון מבחינה כלכלית את אפשרויות השימוש בסמנים גנטיים למטרות טיפוח וניהול בבקר.

## יישומים של סמנים גנטיים בבקר

### 1. זיהוי הורות לעגלים ועוברים

ברשימה קודמת (רון וחובי, 1992) נסקרה השיטה של בדיקת חלבוני הדם לזיהוי הורות. שימוש בסמנים גנטיים מעלה את רמת המהימנות של קביעת הורות עד 99%, בתנאי שנבדקים מספר מספיק של סמנים (רון וחובי, 1992). בממוצע מושגת רמת מהימנות של 95% בבדיקה של 3 סמנים. בבדיקה של 10 סמנים גנטיים (99% מהימנות) ל-101 בנים ל-7 אבות ישראליים נמצא, שזהות האב אינה ידועה בשלושה פרים ואלה הם: בטש, שלפר וחבר. בתמונה 1-C מוצגת קבוצת בנות של הפר פרחח. על פי התוצאות המוצגות, שתי הפרות המסומנות בכוכב אינן בנות לפר פרחח. במבחן הפרים האחרון נמצא, שהפר סיר נמצא במקום השישי לחמ"מ טיפוח, אך אין לו זיהוי אבהות. במערך העתידי, שאליו אנחנו



תמונה 2: גנוטיפ של שבעה זוגות תאומות לשני סמנים גנטיים ברזומנית. הבדיקה נערכה על דגימת דם של הפרות. בחלק העליון של הג'ל מופיע הגנוטיפ לסמן אחד ובחלק התחתון לסמן השני.

ברחם. כאשר מבצעים את הבדיקה על שער מצאנו, שמופיעים רק זוג האללים "המקוריים" של כל פרט בזוג מספר 5. בבדיקה ראשונית של שישה סמנים גנטיים על שער של שבעה זוגות תאומות בבקר מצאנו זוג אחד של תאומות זהות בקיבוץ זיקים.

#### 5. חיפוש גנים המשפיעים על תכונות כלכליות

רוב התכונות בעלות ערך כלכלי בבקר הן תכונות כמותיות הנקבעות על ידי ההשפעה המשותפת של הרבה גנים וגורמי סביבה. הטיפול הקלאסי המבוסס על ערכים פנוטיפיים מתעלם מקיום גנים בודדים. בעזרת סמנים גנטיים ניתן לאמוד השפעות של גנים בודדים המשפיעים על תכונות כמותיות. כאמור, גנים היושבים קרובים על אותו כרומוסום עוברים בדרך כלל יחד בתורשה. לכן, אם ההורה הטרוזיגוט גם לסמן גנטי וגם לגן כמותי היושבים על אותו הכרומוסום, צאצאים שקיבלו

ופיזור כתמים על עור הגוף. בדיקה זו אינה מהימנה. על ידי בדיקה של דנא ניתן להגיע לודאות כמעט מוחלטת בקביעה של תאומים חד או דו-ביצתיים.

בתמונה 2 מוצג הגנוטיפ של שבעה זוגות תאומות לשני סמנים גנטיים ברזומנית. הבדיקה נערכה על דגימת דם של הפרות. בחלק העליון של הג'ל מופיע הגנוטיפ לסמן אחד ובחלק התחתון לסמן שני. מספר בדיקות לסמן הגנטי העליון נראות בקושי בתמונה. הגנוטיפ של כל זוג תאומות על פי שני הסמנים נראה זהה. אך, גם בין פרות שאין ביניהן קרבה גנטית ייתכן ויופיע גנוטיפ זהה באקראי. כאשר הפרות הן אחיות מלאות הסיכוי לכך גדל. לפיכך, כדי לקבוע זהות גנטית וחוצות בדיקות של כשישה סמנים גנטיים. בדיקה מעמיקה של זוג התאומות מספר 5 בסמן התחתון מראה הופעת שלושה אללים במקום שניים בכל אחד מהפרטים. זה נובע מהחלפת דם בין התאומות

להקטין את מספר הבדיקות (ראה תמונה 2). שילוב של אוטומציה ומיחשוב לבדיקת גודל האלל על פי קשירה של חומר פלואורסצנטי עשוי לתת פתרון ללוגיסטיקה של בדיקות רבות של סמנים גנטיים ולהוזלת הבדיקה. קיימים מכשירים כאלה לקביעה אוטומטית של מספר החזרות של הרצף. מחירו של מכשיר כזה הוא כ־\$ 150,000. להערכתנו, הפניית משאבים לרכישת מכשיר אוטומטי תאפשר את מימוש הפוטנציאל של שימוש בסמנים גנטיים בבקר ביישומים השונים. בנוסף, אנו מבצעים בדיקות גוטיפי לחלבוני חלב מסוג קפא־קזאין וביתא־לקטוגלובולין, למחלות גנטיות דוגמת בלאד ואחרות, קביעת מין של עוברים ופיתוחים נוספים.

### מבט על מקומם של סמנים גנטיים בעתיד

בחמש השנים האחרונות הוקמה מערכת המיחשוב של התאחדות מגדלי בקר והביאה לפריצת דרך בקידום ניהול וטיפול עדר הבקר בארץ. לאחרונה, תשתית מיחשוב זו איפשרה את הפעלת מודל הפרט לחישוב הערכות גנטיות לפרים ופרות. בהקבלה, אנו צופים לפריצת דרך טיפוחית וניהולית באמצעות סמנים גנטיים בשנים הקרובות. תהיה סטנדרטיזציה בעולם לקביעת הורות באמצעות סמנים ויימצאו גנים המשפיעים על תכונות כלכליות. לאחרונה נמצא הגן להופעת קרניים בפרות על ידי שני סמנים גנטיים קרובים.

מציאת סמנים בשכנות לגנים חשובים כלכלית תביא לסלקציה ראשונית של פרים המבוססת על סמנים גנטיים. לבקר הישראלי נכס חשוב בדמות מסד הנתונים של ספר העדר המהווה תשתית לחיפוש גנים כמותיים. יש לעודד את המעבדות בישראל העוסקות בציד גנים כמותיים באמצעות סמנים גנטיים ונתוני ספר העדר. מציאת גנים כמותיים באמצעות סמנים גנטיים באוכלוסית הבקר בישראל תהווה תשתית ביו־טכנולוגית חדשה אשר תגביר את ערך חומר הרבייה שלנו לייצוא.

אלל מסוים לסמן יקבלו גם את האלל לגן הכמותי שיושב על אותו הכרומוסום. ניתן לחלק את הצאצאים לשתי קבוצות לפי האלל לסמן הגנטי שהתקבל מההורה המשותף. חוץ מאותו קטע כרומוסומלי הנמצא בתאחיזה לסמן, שתי הקבוצות האלה הן מדגמים אקראיים של צאצאי ההורה המשותף. לכן, הפרש מובהק בין ממוצעי שתי קבוצות הצאצאים לתכונה הכמותית מאשר קיום גן כמותי מתפצל. היות וההשפעה של כל גן בודד היא קטנה, דרושות משפחות גדולות כדי לקבל הפרש מובהק בין הקבוצות. בעדד הבקר הישראלי ניתן לנצל לשם כך את מאות הצאצאים של הפרים הנבחנים. ביצועי פרות אלה נרשמים באופן שוטף בספר העדר. לכן דרוש רק לקבוע את הגנוטיפים של הפרות לסמנים הגנטיים כדי לאתר את הגנים הכמותיים.

בניסוי ראשוני מצאנו שהפר פרחח הינו הטרוזיגוט לגן המשפיע על תנובת חלב וחלבון. נבדקו שלושים בניי 151 בנות ל־10 סמנים גנטיים (מיקרוסטליטים) שונים. בסמן גנטי מסויים התקבל הפרש מובהק בין אומדני התורשה של שתי קבוצות הבניים, הנבדלות באלל של האב, בשיעור 283 ק"ג חלב ו־5.7 ק"ג חלבון. לאותו סמן התקבל הפרש מובהק בין שתי קבוצות הבנות השונות גם הן באלל של האב, בשיעור 117 ק"ג חלב ו־3 ק"ג חלבון. שני המדגמים של הבניים והבנות היו בלתי תלויים והתוצאות מאשרות קיום גן מתפצל לייצור חלב וחלבון, הנמצא בתאחיזה לסמן הגנטי במשפחת הפר פרחח.

### הקמה של מעבדה לסמנים גנטיים

התאחדות מגדלי בקר החליטה על הקמת מעבדת שירות באחריותנו בצמוד למעבדת המחקר שלנו. היישומים שפורטו לעיל יהיו באחריותנו. העלות של הבדיקה היא גבוהה יחסית והצורך במספר רב של בדיקות דורש כח אדם רב ומסרבב את המערכת. ביצוע בדיקה בריזומנית לשניים או שלושה סמנים מאפשר