

איסוף תאי בקר לאנליזה גנטית של עתודות

מ. רוך¹, ר. דומוחובסקי¹, א. פלדמסר¹, א. עזרא², ח. שטורמן³ ור¹
¹המחלקה לגנטיקה, מכון וולקני; ²התאחדות מגדלי-בקר; ³אגודת שיאון

ובפרות עתודות. אנליזה גנטית הראתה ששיעור טעות זה מקטין את ההתקדמות הגנטית ב-5.8%. לאור המידע הגנטי הקיים יש חשיבות לאמת את הזיהוי הגנטי של עתודות ולקבוע את הגנים הכמותיים אותן הן נושאות. לצורך כך דרושה שיטה אמינה, נוחה וזולה לדגימה של פרות ספציפיות בכל רחבי הארץ. איסוף תאים נושאי גרעין מבקר מאפשר אנליזה של דנ"א. קיים מיגוון של מקורות תאים לאנליזה גנטית: זרע, דם, שיער, חלב, עצם, ביופסיה של תאים ועוד. המאפיינים של מקורות תאים לאנליזה גנטית מוצגים בטבלה 1.

נמצאו גנים המשפיעים על תכונות הייצור בכרומוסום 2, 6 (שלושה גנים), 7 ו-14. פותח מודל פרט מורחב המשלב מידע על גנים בודדים עם מידע כמותי על הייצור להערכות גנטיות של פרטים. גנים אלה ישולבו בטיפוח מלווה-בסמנים ויביאו לסלקציה יעילה יותר של פרים לטיפוח. על פי דיווחים בספרות, שילוב גנים כמותיים בטיפוח יכול להביא לתוספת של 10% בהתקדמות גנטית. כתוצר לוואי של פרויקט חיפוש הגנים נמצאו 646 פרות מתוך 5582 (11.6%) עם קביעת אב שגויה. שיעור זה נמצא אחיד בפרות אקראיות באוכלוסייה

טבלה 1. מאפיינים של מקורות תאים של פרות לאנליזה גנטית*.

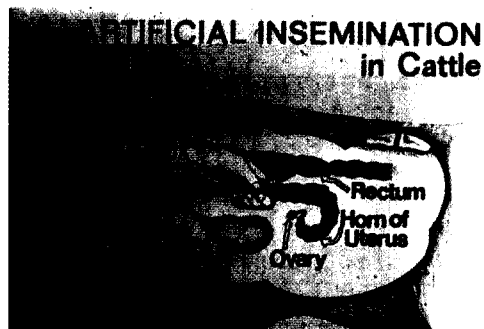
מקור תאי	תהליך הפקה	הצלחה *	הערות
דם	ארוך - דנ"א	+++	עקה לפרה, יקר לדגימה, מסורבל להפקה, מדויק באנליזה ונוח לאנליזות חוזרות לגנים שונים
שיער	פירוק-תאים	+++	קל לדגימה ולמשלוח בדואר, מסורבל בהכנה, סכנת עירבוב שערות
חלב	פירוק-תאים	+	קל להכנה, סכנת עירבוב בין חלב פרות עוקבות בחליבה, שיעור הצלחה נמוך

* על פי תוצאות המעבדה שלנו
 ++ (בסולם 1 עד 4) נמוך, בינוני, גבוה, מצוין.

שיטות וחומרים

התבצע איסוף תאי רירית בקר באמצעות מברשות מ-4 פרות מקיבוץ שריד, 2 פרות מיפעת, 5 מקבוצת כנרת ו-5 מקבוצת שילד מאחד או יותר מהמקורות הבאים: אף, פה, קדמת הנרתיק לכיוון הרחם ואחורי הנרתיק לכיוון הזנב. באיור 1 מוצג הנרתיק מקדמת הנרתיק ליד הרחם. איסוף דוגמאות מהרחם בוצע באמצעות ספקולום וחיבור המברשת לידית ארוכה. איסוף הדוגמאות בוצע על ידי דגמים שונים למעט איסוף מקדמת הנרתיק שבוצע על ידי וטרינר (ח. שטורמן) או מזריע. הדגימה של איסוף תאי נרתיק מפרה בקבוצת

דם מחייב הפקה וניקוי של דנ"א בעוד שהתאים האחרים ניתנים לפירוק ולאנליזה ישירה. דנ"א נקי נותן תוצאות טובות יותר מאשר תוצרי פירוק תאים, אך התהליך של הפקת דנ"א דורש כח אדם וזמן. בבקר משתמשים, בארץ ובעולם, בעיקר בדוגמאות שיער ודם הנשלחות בדואר. באדם מקובל לאסוף תאים מרירית הלחי באמצעות מברשת איסוף מסחרית חד-פעמית. על ידי ריסוק התאים משתחרר דנ"א הזמין לאנליזה גנטית. מטרת העבודה שלנו הייתה לבחון איסוף תאי בקר באמצעות מברשת חד-פעמית ולבחון את התוצאות של אנליזה גנטית.



אך היו דומות לתוצאות מתאי אדם. כיון שהדגימה מהחלק האחורי של הנרתיק לא מחייבת דוגם מקצועי (וטרינר, מזריע) ונוחה הרבה יותר לדוגם ולפרה לעומת דגימת החלק הקדמי של הנרתיק, ריכזנו את המאמץ בדגימת נרתיק אחרת. מצאנו שהכמות האופטימלית של תוצר פירוק הנלקח לאנליזה היא 5 מיקרוליטר מתוך 300, מכאן שניתן לערוך עד 60 אנליזות שונות. התאמנו את שיטת הפירוק לכמויות גדולות של מברשות; הן מוכנסות לצלחת עמוקה שבה 96 מקומות עם בופר פירוק. לאחר ניעור קצר המברשות מוצאות מהצלחת. יתר הטיפולים של חימום, קירור ומרכזו מופעלים על הצלחת הנושאת את כל הדוגמאות. בהמשך מופעל רובוט להוצאת התמיסה המכילה דנ"א מכל הדוגמאות. התהליך במעבדה הוא קצר והארגון בצלחת ושינוע דוגמאות על ידי רובוט מונע טעויות.

שילר מוצגת בתמונה שבהמשך. כמו כן, נאספו תאי רירית מלחי של 3 אנשים מהמעבדה. נבדקו שתי שיטות לריסוק תאים: עם בופר פירוק מסחרי, המוגן בפנטט, ובופר פירוק רגיל מהמעבדה. נבדקה הכמות האופטימלית של תוצר פירוק הנלקחת לאנליזה (5, 3, 2, 1 מיקרוליטר). אנליזה גנטית בוצעה ל-8 סמנים גנטיים של סט בדיקת אבהות, כל סמן בנפרד ובקבוצות של 2-3 סמנים גנטיים יחד. אנליזה גנטית של אדם בוצעה ל-3 סמנים גנטיים. התוצאות נבדקו על גבי רצף ה-DNA האוטומטי. האות הפלואורסנטי עובד במחשב ונבדק הגנוטיפ המתקבל לסמן הגנטי. בוצעה השוואה לעומת אנליזה של דנ"א נקי.

תוצאות

איסוף דוגמאות תאים מהפה והאף נתקל בהתנגדות מצד הפרות ולוהו בזבל ולכלוך. לעומת זאת, איסוף מהנרתיק התבצע ללא קושי כאשר כל הפרות רתומות בשורה בעול חזה, וכל פרה מוגבלת בתנועה בין שתי פרות. התבצעה סדרת ניסויים שתוצאותיה האיכותיות מוצגות בטבלה 2. התקבל שבופר הפירוק של המעבדה היה יעיל כמו הבופר המסחרי באנליזה של סמנים בודדים. יותר מכך, רק בופר המעבדה היה יעיל באנליזה של מספר סמנים ברזומנית. התוצאות הטובות ביותר היו מהחלק הקדמי והאחורי של הנרתיק ומהרחם והן נפלו רק במעט מהתוצאות של דנ"א נקי,

טבלה 2. השפעת בופר פירוק הסמנים על אנליזה גנטית.

בופר פירוק	סמנים גנטיים	מקור תאי	הצלחה* %
מסחרי/מעבדה	בודדים	אף, פה	+
		נרתיק, רחם	+++
		לחי באדם	+++
מסחרי	בקבוצות	אף, פה	-
		נרתיק, רחם	-
מעבדה	בקבוצות	אף, פה	+
		נרתיק, רחם	+++
		דנ"א נקי בקר	++++

* - אין גנוטיפ; + (בסולם 1 עד 4) נמוך, בינוני, גבוה, מצוין.





דיון

סטודנטים עסק בתיאום עם המשקים, איסוף הדם, ואנליזה במעבדה. בנוסף, המאמץ הארגוני והנפשי, אשר היה כרוך בפרויקט, התאים למבצע חד-פעמי ולא לשיטת עבודה מסודרת לטווח ארוך.

הטמעת תוצאות איתור הגנים בבקר בטיפוח הבקר הישראלי יתבססו על אנליזה של גנים בפרות נבחרות ועגלים מכל הארץ. לפי כך, איסוף תאים מהנרתיק באמצעות מברשת חד-פעמית נראה כשיטה בעלת פוטנציאל ליישום בפרות. בוועדת ספר העדר הקרובה תידון שיטת האיסוף באמצעות מברשות לאיסוף דוגמאות של עתודות. השיטה תיבחן בפועל על פי היענות הרפתנים לדגום את הפרות על פי ההנחיות (ראה נספח 1) ולמשלוח הדוגמאות בדואר. לאחרונה השוו Harty et al., (2000) תוצאות של דגימת תאי אפיתל מלחי של אדם בדגימה עצמית לעומת דוגם רשמי חיצוני. התוצאות של דוגם חיצוני היו רק במעט טובות יותר בגלל אחידות בין הדוגמאות, אך החסכון

בפרויקט איתור הגנים אספנו דם (3–4 מיליליטר מפרה) מיותר מ-15 אלף פרות מ-226 משקים קיבוציים. היו הבדלים ניכרים בין משקים "רגועים" שבהם הפרות לא טרחו להסתכל עלינו כשאספנו דם, ובין משקים "עצבניים" שבהם נאלצנו להשתמש בגזם לקשירת כל פרה לפני איסוף הדם וגם זה לא הלך בקלות. במשקים אלה היו פרות מסויימות שהשתוללו כל כך שויתרנו על איסוף הדם. יחד עם זאת, רב המשקים היה במרכז העקומה מבחינת התנהגות הפרות לאיסוף דם מהם. התצפית הזאת מבטאת השפעות ממשקיות ולא גנטיות על התנהגות הפרות בעת איסוף דם.

הפקת דנ"א מדם מאלפי דוגמאות בפרויקט סריקת הגנום בסמנים גנטיים ניתנת להצדקה עקב הצורך במספר רב של אנליזות גנטיות לכל דוגמה (מעל 100). עלויות איסוף הדם והפקתו נבעו בעיקר מכח-אדם ורכב. מספר רב של

הידיית. פתח את שפתי הבושת, והחדר את המברשת כך שלא תיגע בעור החיצוני. הכנס את המברשת לנרתיק עמוק ככל האפשר, ושפשף אותה מול דפנות הנרתיק החוצה ופנימה תוך כדי סיבוב כ-5 פעמים.

5. הוצא את המברשת ללא מגע בעור החיצוני והכניסה לעטיפה התואמת. ודא שעל העטיפה מופיע מספר הפרה.

6. לאחר איסוף כל המברשות, הכנס אותן למעטפה המצורפת ושלה בדואר אל:

דר' מיכה רון
מחלקה לגנטיקה
המכון לבע"ח
מינהל המחקר החקלאי
ת.ד. 6, בית-דגן 50250



בדגימה עצמית, פשטות הביצוע והתוצאות הצדיקו את השיטה. כבעבר, אנחנו מקווים לשיתוף פעולה עם הרפתנים לאנליזה של גנים כלכליים במערך הטיפוח הישראלי. ישראל חלוצה בתחום יישום הגנים במערך הטיפוח, בדומה להולנד.

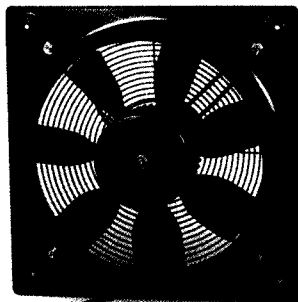
נספח 1: הנחיות לאיסוף תאים מנרתיק פרות

1. הכן נייר לניגוב בושת הפרה. החלף נייר בין פרה לפרה.
2. קשור את הפרה המופיעה ברשימה. ודא שהמספר שלה מופיע על עטיפת המברשת.
3. נקה היטב בנייר יבש את שפתי הבושת ומעט פנימה אל הנרתיק.
4. הוצא את המברשת מהעטיפה ואחוז בקצה

איוורור יעיל תורם לשיפור בתנובת החלב מבחר שואבי אוויר ומאווררים ציריים בספיקות אוויר גבוהות

מ 327 ק"ש

תוצרת S&P ספרד



מחירים
אטרקטיביים

מנועים סגורים, צלעות קירור
מוגני אבק ומים, IP-65, ISO 9001
כנפים יצוקות אלומיניום,
או כנפים יצוקות פלסטיק בהזרקה
ספיקות אוויר לפיזור מרבי
יעוד המאווררים חצרות המתנה, סככות,
מכוני חליבה ולולים.
לחברת S&P שאנו סוכניה בארץ ידע בתחום
החקלאי, התעשיתי, והביתי מזה 56 שנה

אחריות
ל-5 שנים

(מנהל אדמונד ארשטינג ביולוג גבול והספקה)

המרכז לאיוורור וחימום קורד בע"מ אבן גבירול 151 ת"א
טל. 03-6054351, 03-5445250, טלפקס. 03-5461759
www.ventilation.co.il E-mail: cordltd@zahav.net.il

