

## מיפוי גן לבקע טבורי בבקר

מ. רוך, א. תגר, א. פלדמסר, א. סרוסי, א. עזרא, ד. קלי וי. ולד

### תקציר

פרות עתודות בישראל, שהוזרעו על ידי זרמת הפר הקנדי אנהנסר, המליטו 12 עגלים. שישה מהם נולדו עם בקע טבורי. 10 עגלים, מהם ארבעה עם בקע, נבחרו למבחן צאצאים. שכיחות בקע בצאצאים של הבנים נעה מ-1% עד 21% והיתה גבוהה מ-10% לארבעה בנים. תוצאות אלה היו בהתאמה להשערה שאנהנסר הוא הטרוזיגוט לגן עיקרי עם חודרנות חלקית לבקע טבורי. 112 נכדים ונכדות של הפר אנהנסר, כולם צאצאים של פר יחיד, אלויס, נבדקו ל-59 סמנים גנטיים המייצגים את רב גנום הבקר. מבין הצאצאים ל-39 היה בקע טבורי. הבדלים מובהקים בשכיחות האלל האבהי נמצאו לסמן BMS1591 הנמצא על כרומוסום 8. אלויס קיבל את האלל של הסמן הגנטי הקשור לבקע מאביו אנהנסר. ארבעה סמנים גנטיים נוספים האחוזים ל-BMS1591 מיפו את הגן לבקע במרחק שלוש יחידות מפה מהצנטרומר של כרומוסום 8, ברווח אמינות של 10 יחידות. אנליזה של שבעה בנים נוספים של הפר אנהנסר לסמנים אלה הראתה התפצלות מובהקת בהפלוטיפ האבהי יחסית להורשת הבקע. הגנים המקבילים באדם לקצה הצנטרומרי של כרומוסום 8 בבקר, נבדקו יחסית לגן Cathepsin B אשר מהווה גשר בין מפה גנטית של אדם ובקר באזור הגן לבקע. נמצאו 15 גנים באזור המכיל את הגן לבקע. אחד מגנים אלה, Gata4, הקשור למסלול בקרת שיעתוק בזמן ההתפתחות. בניסויים בעכברים הודגם כי פגיעה במסלול שיעתוק מסוים זה מובילה לבקע טבורי מולד בעכברים. אנחנו מבצעים אנליזה גנטית לגן Gata4, על מנת לבדוק את האפשרות שהגן אכן אחראי לבקע טבורי בבקר.

המחקר הוצג בכנס למדעי בקר לחלב ה-13 בפברואר השנה בזכרון יעקב.

### מבוא

בקע טבורי הינו פגם אשר מתבטא בפתח טבורי אשר אינו נסגר כראוי במהלך השלב העוברי. בקע טבורי מופיע במספר גזעים של בקר, כולל גזע הולשטיין, אך אינו מופיע בגזעים אנגוס והרפורד. פגם זה מאובחן בין היום השמיני ליום העשרים לאחר לידת העגל, והוא כולל מספר דרגות של חומרה. גודל הבקע נע בין בקע קטן מאד, 1.5 ס"מ, ועד לפתח גדול של 8-10 ס"מ, ונהוג לאפיין אותו במספר אצבעות. ניתן לחוש בבקע הטבורי באמצעות מישוש של נפיחות תת-עורית בולטת באזור הטבור. בקע טבורי נראה בבקר בתדירות גבוהה יותר בנקבות מאשר בזכרים. במחקר שנעשה על 2045 עגלים ועגלות מגזע הולשטיין – 1% מהעגלות ו-0.5% מהזכרים הראו בקע טבורי. ההפסד הכלכלי מוערך במאות דולרים עבור ניתוח כירורגי. מאנליזה של נתוני בריאות מספר-העדר בישראל נמצא, ששכיחות של עצירת שיליה בפרות מתחלובה ראשונה גדל מ-7% ללא בקע טבורי ל-18% עם בקע ( $p < .001$ ). בנוסף לכך, שכיחות הקוד הרפואי "בעיות המלטה אחרות" היתה גבוהה פי ששה בקבוצת הפרות עם בקע בהשוואה לפרות ללא בקע ( $p < .001$ ). מספר הצעות הועלו לגבי הסיבות לבקע טבורי, ביניהן: בעיות במערכת העיכול, לחץ, חולשת שרירים ותורשה. בקע טבורי נחשד כתורשתי במספר מינים. למשל בכלבים, בגזע הקוקר ספנייל נמצאה תדירות בקע טבורי של 12%. בחזירים, לאחר שלושה דורות של סלקציה, העלו את תדירות הבקע הטבורי מ-7.5% ל-43%.

פרות עתודות בישראל הוזרעו בזרמת הפר הקנדי אנהנסר ליצירת 12 עגלים, שישה מהם נולדו עם בקע טבורי. 10 עגלים, מהם ארבעה עם בקע, הוזרעו פרות ישראליות וחושב להם מבחן צאצאים. שכיחות בקע בצאצאים של כל

בן נעה מ־1% עד 21% והיתה גבוהה מ־10% ל־ ארבעה בנים, כאשר ממוצע בקע טבורי באוכלוסיה הוא 1% (טבלה 1). אלויס, בן אנהנסר, חזר לשימוש בהזרעה לאחר מבחן צאצאים. היו לו 432 פרות בביקורת חלב מהן 11.3% נולדו עם

### שיטות וחומרים

נאספו דם ושיער של 42 צאצאים של הפר אלויס עם בקע טבורי ו־77 פרות ללא בקע. כמו כן, הופק דנ"א מזרמה של שבעה בנים נוספים של הפר אנהנסר. סמנים גנטיים נבחרו על פי מידת

### טבלה 1. התפלגות בקע טבורי בצאצאים של הפר אנהנסר.

נשאי־בקע	שיעור בקע בצאצאים	מספר צאצאים		בני אנהנסר	
		בבקע	סה"כ	פנוטיפ*	שם
+	9.7	3	31	—	Agur
+	21.0	17	81	—	Aguran
—	2.0	1	50	+++	Arni
+	16.7	16	96	+	Toren
+	18.5	20	108	++	Sivan
—	1.4	1	70	—	Analogi
?	8.0	4	50	—	Anemi
?	6.0	4	67	—	Appollo
+	11.3	49	432	-/+	Elvis
—	2.6	2	77	—	Infi
	9.7	11.7	106.2		ממוצע

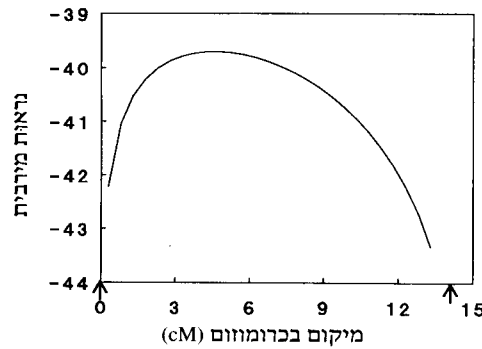
\* בקע פתוח בדרגות גודל: +, ++, +++; בקע סגור: -/+; אין בקע, —

הפיזור במפה של בקר. אנליזה של סמנים גנטיים בוצעה על דצף דנ"א אוטומטי. אנליזה סטטיסטית השוותה בין שכיחות אלל אבהי בקבוצת הבקע לעומת קבוצת הפרות ללא בקע. אנליזה ביואינפורמטית התבססה על רצפים מפרויקט גנום האדם הציבורי ושל חברת סלרה, לקביעת רשימה של גנים מועמדים באזור הגן לבקע בבקר.

### תוצאות

הושוו שכיחויות של האללים האבהיים בשתי קבוצות של צאצאי אלויס, קבוצת בעלי בקע וקבוצת בקורת של חסרי בקע. התקבלו תוצאות מובהקות ל־שלושה סמנים גנטיים. אך רק אלל יחיד הקשור לבקע והשייך לסמן מכרומוסום 8, הועבר בתורשה מאנהנסר. בשני המקרים האחרים אלויס קיבל את האלל הקשור לכאורה לתדירות גבוהה של בקע מאמו. לכן, בשני הסמנים האלה התוצאה בצאצאי הפר אלויס התקבלה במקרה, והיא צפויה עקב המספר הרב (59) של השוואות סטטיסטיות. ארבעה סמנים גנטיים נוספים

בקע. תוצאות אלה היו בהתאמה להשערה שאנהנסר הוא הטרוזיגוט לגן עיקרי עם חודרנות חלקית לבקע טבורי, ואנהנסר העביר את הגן לאלויס. אם כן, 50% מצאצאי אלויס קיבלו את האלל הגורם לבקע, אך הגן התבטא רק בחלק מהם. רב הגנים למחלות אותרו באדם על ידי אנליזה של זוגות אחים חולים. כיון שמשפחות אדם הן קטנות, זה נדיר למצוא יותר משניים עד שלושה פרטים חולים בתוך מבנה משפחתי. לכן, יש לבצע אנליזה של מספר רב של משפחות כדי להשיג עוצמה סטטיסטית לאיתור גן למחלה. באדם ידוע על 1172 מוטציות בגנים הגורמות לפגמים גנטיים, כ־15 גנים למחלות מופו בבקר, אך רובם היו גנים רצסיביים עם חודרנות כמעט מלאה. אנחנו לא מודעים לדוגמאות של מיפוי גנים דומיננטיים עם חודרנות חלקית בבעלי־חיים. בבקר קיימות משפחות חצאיי־אחים גדולות המאפשרות ניתוח גנטי בעוצמה סטטיסטית גבוהה. מטרת המחקר הנוכחי היתה למפות את הגן לבקע טבורי בבקר, ולאתר גנים מועמדים באזור המטרה באמצעות מיפוי השוואתי לגנים מקבילים באדם.



איור 1. עקומת צפיפות של נראות מירבית למיקום הגן.

שיתוק (knockout) אחד הגנים המעורבים, הובילה לבקע טבורי מולד בעכברים. לפי כך, גן זה הוא מועמד עיקרי לגן הבקע.

**דיון**

בישראל כ-10 פרים מזריעים את מירב האוכלוסיה בכל שנה. לכן, לפר מצטיין הנושא גן לבקע טבורי עלולה להיות השפעה שלילית על תעשיית הבקר לחלב בישראל. יותר מכך, לפר אנהנסר אלפי בנות בקודה, ארה"ב וארצות אחרות. אם יאותר הגן לבקע טבורי, ניתן יהיה להשתמש בנשאי הגן בתנאי שרק צאצאים שלא קיבלו את הגן למחלה ימשיכו בטיפוח. באדם קיים בקע דיאפרגמטי, מפשעתי וטבורי. קבוצת בקע זאת קשורה לחולשה ברקמות חיבור הנובעת מפגיעה בגנים הקשורים לחלבונים חוץ-תאיים כמו קולאגן, פיברונקטין, אלסטין ועוד. בקר הוא מודל מצוין לאנליזה גנטית של בקע באדם בגלל קיום משפחות חצאי-אחים גדולות. איתור בקע עוברי בבקר יגביר את ההבנה של בקע מסוגיו השונים באדם. אנחנו מבצעים איפיון מלא של הגן Gata4 בבקר כדי לבחון האם פגיעה בגן אכן גורמת להופעת בקע טבורי. למיפוי הגן לבקע באדם אנחנו משתפים פעולה עם בתי-חולים הדסה ושערי-צדק בירושלים לאיסוף מבנים משפחתיים של דוגמאות דנ"א של אנשים חולים ובריאים לבקע.



טבלה 2. התפלגות הפלוטיפים בצאצאי הפר אלויס לחמישה סמנים גנטיים באזור הצנטרומרי של כרומוסום 8.

הפלוטיפ אבהי*	פנוטיפ	
	בקע	ביקורת
H+	19	17
H-	0	7

\* הפלוטיפ H+ קשור להופעת בקע.

טבלה 3. התפלגות הפלוטיפים בבנים של הפר אנהנסר לארבעה סמנים גנטיים באזור הצנטרומרי של כרומוסום 8.

הפלוטיפ אבהי*	נשאי גן לבקע		נשאי גן תקין
	H+	H-	
H+	4	0	0
H-	1	3	3

\* הפלוטיפ H+ קשור להופעת בקע

נבדקו באזור הצנטרומרי של כרומוסום 8 בבקר. נמצא קשר מובהק בין בקע טבורי ואלל אבהי לכל אחד מהסמנים במובהקות של 0.001. בטבלה 2 מוצג הפלוטיפ (קבוצת סמנים בתאחיזה) בצאצאים של הפר אלויס. לפר אלויס שני הפלוטיפים המשקפים את אזור הגן בשני הכרומוסומים שלו. בקבוצת הבקע נמצא רק הפלוטיפ מסוג אחד H+ בעוד שבקבוצת הביקורת נמצאו שני סוגי הפלוטיפים H+ ו-H-. בטבלה 3 מוצג הפלוטיפ בבנים של הפר אנהנסר ביחס למידע הגנטי על נשיאת הגן לבקע על ידי כל פר. רק פר יחיד, נשא לגן של הבקע, הכיל הפלוטיפ האופייני לנשאי גן תקין. ניתן להסביר זאת ברקומבינציה בין הסמנים לגן.

עקומת "הנראות המירבית" של מיקום הגן מוצגת באיור 1. בציר האנכי עוצמת המובהקות של המבחן הסטטיסטי. המיקום החזוי של הגן הוא בשיא העקומה, שלוש יחידות מפה מהצנטרומר של כרומוסום 8 בבקר, בתוך רווח אמינות של 10 יחידות מפה. בוצע מיפוי גנטי השוואתי בין האזור הצנטרומרי של כרומוסום 8 בבקר והאזור המקביל לו באדם. הורכבה מפה של 15 גנים באדם בתוך מרווח המטרה של 10 יחידות מיפוי בבקר. אחד מגנים אלה, Gata4, הוא חלק ממסלול שיעתוק שפגיעה בו, על ידי