

רשימה ראשונה ואחרונה: אבני דרך ב-40 שנות מחקר גנטי בבעלי-חיים ותחזית לעתיד חלק ראשון – בקר

**פרופ' מיכה רון, מבכירי חוקרי
הגנטיקה בארץ, ממובילי המחקר
ויישום הסלקציה הגנומית, פורש
לגמלאות מהמחלקה לחקר בקר
וצאן שבמכון וולקני. במבט אישי
סוקר מיכה את אבני הדרך המדעיים
שהונחו במשמרת שלו ב-40 שנות
מחקר גנטי ומשמעותם לטיפול
בקר ובעלי חיים.
מאמר בשני חלקים מיוחד
למשק הבקר והחלב •**



פרופ' מיכה רון
מנהל המחקר החקלאי

ברשימות קודמות, בחוברות משק הבקר והחלב, סקרתי
יחד עם שותפי את ההתפתחויות בעידן הסלקציה הגנומית
בבקר: פיתוח סמנים גנטיים (גיליונות 359 ו-381), התקדמות
גנטית (גיליונות 383 ו-393), איתור גנים כמותיים (גיליון
385) ותחזית לעתיד (גיליון 389). ברשימה הנוכחית, בשני
חלקים, אסקור במבט אישי את אבני הדרך המדעיים שהונחו
במשמרת שלי ב-40 שנות מחקר גנטי ומשמעותם לטיפול
בקר ובעלי-חיים בכלל.
את המאמר המדעי הראשון כתבתי בשתי אצבעות, על מכונית
כתיבה רועשת לפני כ-40 שנה. הנושא היה השתנות ייצור
החלב, בתחלובות עוקבות, של בנות פרים שונים בעדר הבקר
הישראלי. מצאתי דגמי התבגרות שונים בין משפחות פרים,
כלומר חלק מהפרים מגיעים לייצור חלב מרבי של בנותיהם
בתחלובה שניה או שלישית, וחלק בתחלובות מאוחרות יותר.
לכך יכולה להיות השלכה על שיקולי הוצאה של פרות מהעדר.
את המאמרים המקצועיים הראשונים שכתבתי
ל"משק הבקר והחלב" בשנות ה-80 הייתי תוחב
לתיבת הדואר של העורך ברחובות כדי להקדים את הדואר.

פיתוח PCR

ב-1985 קיבל Kary Mullis פרס נובל על המצאת
Polymerase Chain Reaction ובקיצור PCR אשר מאפשר

סלקציה מדויקת מותנית
בידיעת הקשרים
הגנטיים באוכלוסייה.
אומדן הורשה של פרים
ופרות מתבסס על ידיעת
הקשרים המשפחתיים
לצורך חישוב מדויק של
הביצועים הגנטיים

רשימת הפרסומים ניתנת לצפייה באתר המחקר
<http://www.agri.gov.il/en/people/616.aspx>

(SNP). מהפכה מדעית זו לוותה בפיתוח טכנולוגי של ייצור שבבי דנ"א הנושאים אלפי סמני SNP ומאפשרים פיענוח מתועש של הסמנים עבור כל פרט. בשנות 2000 מצאנו כ-11% טעות בזיהוי אבהות של אלפי פרות. באנליזה חוזרת ב-2015 מצאנו כ-3% טעות בזיהוי הגנטי. את הירידה בשיעור הטעות ניתן לייחס להסברה בקרב מזריעים ורפתנים על חשיבות הדיוק בדיווח, שיפור המחשוב ובקרת הדיווח, ודיוק רב יותר באנליזה הגנטית באמצעות שבבי דנ"א. נראה שלא ניתן להפחית את שיעור הטעות בדיווח. יחד עם זאת, כפי שהראנו, ניתן להתריע על טעות בזיהוי האב, ולאתר את האב, באופן חישובי וללא עלות, על בסיס מידע של סמנים גנטיים הנבדק באמצעות שבבי דנ"א באופן שיגרותי על כלל הפרים.

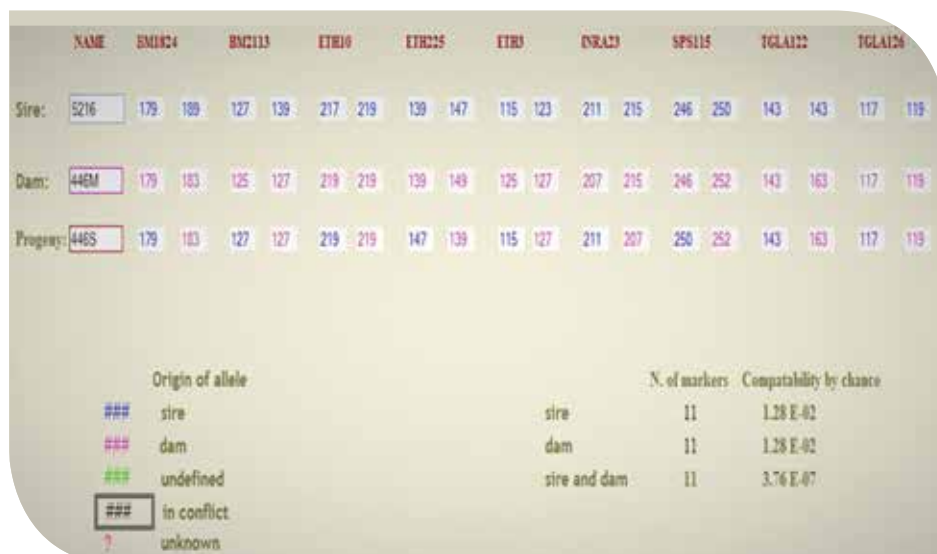
סמנים גנטיים מהווים את הכלי העיקרי לזיהוי קרבה גנטית, חיפוש גנים בעלי ערך כלכלי וסלקציה גנומית

ניתן לראות דוגמא בתמונה 1 את הפרופיל הגנטי של הורים מועמדים לצאצא ב-11 סמנים גנטיים. לכל פרט ניתן לראות בכל סמן שני אללים בעלי מספר בסיסים זהה (הומוזיגוט) או שונה (הטרוזיגוט). בצאצא ניתן להבחין בתרומה של אלל אחד מהאב (בכחול) ומהאם (בורד) לכל סמן בנפרד. ההסתברות לקבלת פרופיל גנטי כזה באקראי, המדמה העברה של אללים מהורים לצאצא ב-11 סמנים בלתי-תלויים, היא 3.76 ל-10 מיליון (Compatibility by chance). השבב הגנטי נושא כ-50 אלף סמנים ולכן עוצמתו הסטטיסטית לזיהוי הורות היא רבה לעין שיעור, וההסתברות לקבל פרופיל גנטי באקראי, במספר כזה של סמנים, שיתאימו למצג של

להתביות על מקטע מסוים בגנום על ידי שני רצפים תוחמים בני כ-20 בסיסים כל אחד (תחלים), והכפלת ה-דנ"א על ידי אנזים Taq polymerase באופן מחזורי פי מיליון ויותר. כל מחזור פעולה של האנזים, ויש כ-30 כאלו, כולל 3 שלבים בטמפרטורות שונות: 1. פתיחה של הגדילים של ה-דנ"א הגנומי בטמפרטורה של 90 מעלות, 2. הצמדות התחלים למקומם מול גדילי ה-דנ"א בטמפרטורה של כ-60 מעלות, ו-3. הכפלת ה-דנ"א בטמפרטורה של 72 מעלות. המכשירים הראשונים של PCR התבססו על אמבט הנושא מעמד מבחנות ובעל יכולת שינוי טמפרטורה מהירה. אני עוד הפעלתי מכשיר בעל 3 דוודים שכל אחד היה בעל טמפרטורה שונה, וזרוע שהעבירה את המבחנות בין הדוודים בפקודת מחשב. לאחר ההכפלה ניתן להריץ את מקטע ה-דנ"א על ג'ל הפרדה מאגרוז או מאקריל-אמיד ולצפות בו באמצעות חומר זוהר המשתלב ב-דנ"א. ההמצאה הזאת אפשרה אנליזה של דנ"א במגוון עצום של יישומים מריצוף מקטעי דנ"א (כולל דנ"א עתיק) ועד אבחון נוכחות של וירוס הקורונה. אנחנו השתמשנו בטכניקה הזאת לאיתור ואבחון מקטעים בגנום בעלי מספר מופעים חליפיים (אללים) באוכלוסיית הבקר, ושימוש בהם כסמנים לגנים, הנמצאים בשכנות, ומשפיעים על תכונות כמותיות. בעקבות זאת, פיתחנו יחד עם עמיתים בעולם מפה גנטית של פיזור סמנים הכוללת את 29 הכרומוזומים בבקר ואת כרומוזום המין. סמנים גנטיים היוו את הכלי העיקרי במחקר של קרבה גנטית וחיפוש גנים בעלי ערך כלכלי.

פיתוח סמנים ובקרה של קרבה גנטית

סלקציה מדויקת מותנית בידיעת הקשרים הגנטיים באוכלוסייה. אומדן הורשה של פרים ופרות מתבסס על ידיעת הקשרים המשפחתיים לצורך חישוב מדויק של הביצועים הגנטיים. טעויות בייחוס הגנטי ישפיעו על מהימנות האומדנים הגנטיים ועל ההתקדמות הגנטית. לפיכך, אנליזה של סמנים שימשה אותנו לבדיקת אבהות של פרות בעשרות משקים בעדר הבקר הישראלי. אבהות של פרה נרשמת בספר-העדר על פי דיווח המזריע. אם אין אלל משותף בין האב הרשום והפרה לפחות בשני סמנים גנטיים האבהות נדחית. ב-2000 פוענח גנום האדם ובעקבותיו גנום הבקר – וכך אותרו מאות אלפים סמנים של שינוי בנוקלאוטיד הבודד

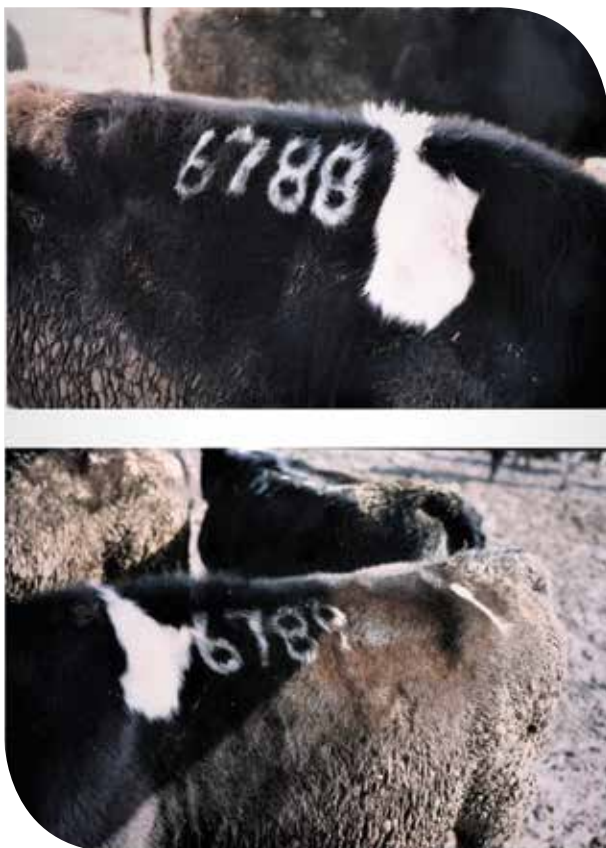


תמונה 1: תצוגה של גוטיפ סמנים גנטיים להורים מועמדים לצאצא. העברת אללים משוערת מאב ומאם לצאצא מסומנת בצבע כחול וורוד, בהתאמה. ההסתברויות להתאמה במקרה של גוטיפ הסמנים בין אב-צאצא, אם-צאצא והורים-צאצא רשומות מתחת לתצוגה מימין



תמונה 2: גנוטיפ סמן גנטי בהורים וברביעית התאומים שלהם. הסמן הגנטי הוא הטרוזיגוט באם והומוזיגוט באב, בעוד שכל ארבעת התאומים מציגים גנוטיפ זהה, בעל 3 אללים, תוצאה של החלפת כדוריות דם לבנות ביניהם בשלב העוברי

לפיכך, זאת שיטה יעילה לתמיכה בבטיחות התוצר על ידי זיהוי חיות ושיוך הבשר לחיה ממנה הופק בכל שלבי הייצור והשיווק. יתרונות השיטה הם: צמצום הפסדים ע"י זיהוי ובידוד מהירים של חיות נגועות במחלות, השגחה על הליכי ייצור ושיווק הבשר, הגנה על שווקי יצוא, הוכחת בעלות על בקר במקרה של גניבה, מניעת זיופים וערבוב בשר, וסיוע בניהול משק הבקר ואימות אבהות.



תמונה 3: זוג פרות תאומות זהות מקיבוץ זיקים. צידה הימני של פרה 6789 מוצג מעל צידה השמאלי של תאומתה 6788

הורים וצאצא שואף לאפס. במשק שניידר לבקר לבשר אירעו 6 המלטות קשות של זכרים מתוך 56 (11%), מתוך 3 הסתיימו במוות. קיבלנו דוגמאות דם מ-3 עגלים שנולדו בהמלטה קשה ומחמישה פרים שהרביעו בעדר. אנליזה של סמנים גנטיים הצביעה על פר אחד, האב של שלושת העגלים שנולדו בהמלטה קשה, האחראי להמלטות קשות בעדר. איתור הפר אפשר את הוצאתו מהעדר ומניעת המלטות קשות. יישומים דומים מבוססי סמנים גנטיים הופעלו לאיתור הורות לאחר ערבוב עגלים בהמלטה, לזיהוי גנבות, ולזיהוי עגלות אילוניות (כימריות) בהמלטות תאומים שוני-מין: תאומים ברפת דובדבני (היוגב), שלישיה ברפת קבוצת יבנה, ורביעייה ברפת הבונים. בתמונה 2 ניתן לראות את גנוטיפ סמן גנטי בהורים וברביעית התאומים שלהם ברפת הבונים. כל התאומים מראים על גנוטיפ סמנים משותף, הכולל 3 אללים בניגוד לצפי של שני אללים שונים בפרט בעל שתי מערכות כרומוזומים. תוצאה זו מצביעה על החלפת תאי דם לבנים בין הזכר ואחיותיו בשלב העובר והשתרשותם כתאי-אם המייצרים תאי דם במהלך כל החיים. בנקבות קיום תאים זכריים משבש את מערכת המין הנקבית וגורם לעקרות. עומק הנרתיק של כל חמשת העגלות החשודות, משלושת מקרי התאומים שנבדקו, נמצא קצר לפחות פי-2 לעומת עגלות נורמאליות בנות אותו גיל. היכולת לזהות אילוניות, ברמת ה-דנ"א, מבין פרות שנולדו כתאומות לזכרים מאפשרת הוצאה שלהן מהעדר בגיל צעיר. אנליזה של 10 סמנים גנטיים ב-17 זוגות פרות תאומות, שהנן בעלות מספרי פרה עוקבים לפי רישומי ספר-העדר, הראתה רק שתי פרות תאומות זהות בפרופיל הגנטי (כ-5%), ולכן הן נקבעות כתאומות זהות. באיור 3 מוצגות זוג הפרות התאומות זהות מקיבוץ זיקים. צידה הימני של פרה 6789 מוצג מעל צידה השמאלי של תאומתה 6788. זוגות פרות תאומות זהות יכולות לשמש להשוואת טיפולים סביבתיים כמו הזנה, צינון ועוד ביעילות סטטיסטית של פי 10 עד פי 50 לעומת פרות ללא קשר גנטי, בהתאם לסוג התכונה הנבדקת. פרופיל הסמנים הייחודי של כל פרה, המבוסס על עשרות אלפי סמנים הנישאים על שבב גנטי, מאפשר מעקב מהחיה ועד הנתח בצלחת (נעקבות, Traceability). מצאנו שניתן להבחין בין 10 מיליון פרות על בסיס שוני בפרופיל הגנטי.

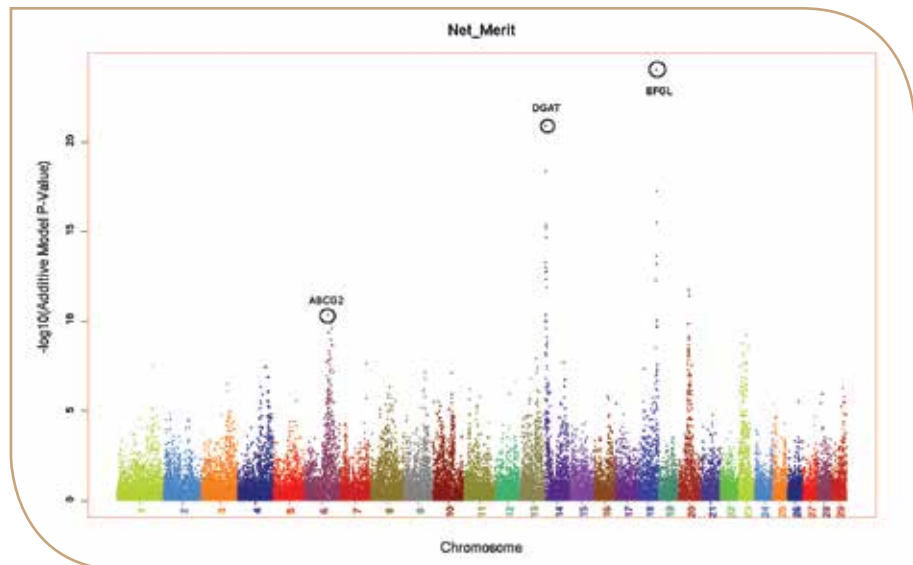


רוברט ברגר

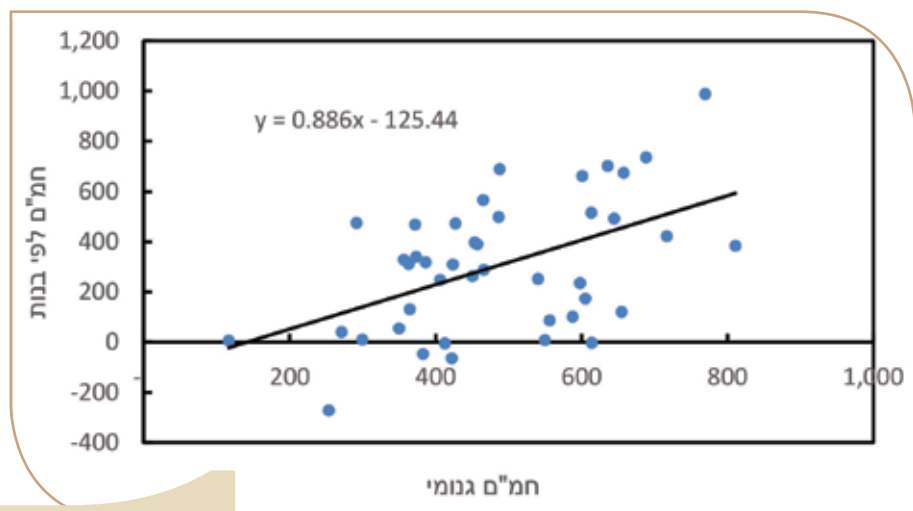
חירוא בטון

berger.robert.fan@gmail.com

רוברט: 052-3265113



תמונה 4: מובהקות מבחן אסוציאציה של סמני דנ"א ואתרים בגנום המשפיעים על אינדקס הייצור באוכלוסיית פרי הולשטיין בארה"ב. בציר ה-X סמני ה-דנ"א מוצגים בצבע שונה על פי כרומוזום. בציר ה-Y מוצגת המובהקות הסטטיסטית. סמנים בעלי השפעה מובהקת גבוהה מציגים השפעה של גן המופיע מעל עיגול



תמונה 5: אומדני תורשה של 42 פרים בישראל לחלב מושווה מחיר (חמ"ם), לפי בנות, כפונקציה של חמ"ם גנומי

הסלקציה לאורך זמן מביאה לקיבוע האלל החיובי בגנים בעלי ערך כלכלי

מ-0.88. המסקנה היא כי הסלקציה לאורך זמן בוררת את האללים החיוביים ומביאה את הגנים לקיבוע עם האלל החיובי. לפיכך, הגנים הם "מתכלים" ולא כדאי להשקיע מאמץ מדעי באיתורם (Forget about the damn genes) (Chris Van Tassel, 2014).

סלקציה גנומית

בשנת 2008 הושקה סלקציה גנומית בתכנית הטיפוח של בקר לחלב בישראל. הסלקציה מתבצעת עד גיל שנה על בסיס דיגמות שערות מעגלים, סריקה גנומית באמצעות שבב דנ"א

איתור גנים המשפיעים על תכונות כלכליות

באמצעות סמנים גנטיים ביצענו סריקה לאיתור אזורים בגנום הבקר המשפיעים על תכונות בעלות ערך כלכלי. מצאנו עדויות לשני אזורים בכרומוזום 6 ו-14 בעלי השפעה חזקה על ייצור חלב ורכיביו, בדומה לסריקה של האוכלוסייה בארה"ב (תמונה 4). בהמשך נמצאו הגנים המשפיעים, DGAT1 בכרומוזום 6 ו-ABCG2 בכרומוזום 14. שני הגנים מתוך כ-30 אלף, הצפויים להיות בגנום, הם בעלי ההשפעה החזקה ביותר ולכן ברי איתור. כל יתר מאות הגנים בעלי השפעה קטנה ומצטברת על תכונות הייצור הינם סמויים ולא ניתן לאתרם. בגן ABCG2 האלל החיובי מקטין את כמות החלב ומגדיל את תכולת המוצקים של חלבון ושומן. האלל החיובי לא נמצא בגזע הבקר Bos Indicus ולכן ניתן לשער שהמוטציה קרתה לאחר התפצלות הגזעים Bos Taurus מ-Bos Indicus לפני כ-200,000 שנה. ב-23 מתוך 32 קווי בקר מסוג Bos Taurus שכיחות האלל המעלה לגן ABCG2 הגיעה ל-1 (פיקסציה), ובאחרים הייתה גבוהה



מוזמנים ליצור קשר
 פנימי: 054-7848071, אילן: 054-7848072



**משאבה טבולה
 לשפכים- בור שיקוע**



משאבות חלב



ציוד לרפתות

מפוח ואקום/ לחץ



**משאבות
 להגברת לחץ**



מפרדה



**מכונות שטיפה
 בלחץ**



מערבלים





תמונה 6: הצגה סכמאטית של סלקציה גנומית המבוססת על סמנים גנטיים מסוג Single Nucleotide Polymorphism - SNP הנמצאים באסוציאציה לאתרים המשפיעים על תכונות כלכליות

הוא כנראה שילוב תכונות חדשות לאינדקס הטיפוח הכוללות בריאות, נצילות מזון, אוכלוסיות חיידקים מועילות בכרס ופליטת מתאן. סלקציה גנומית צפויה להשיא את ההתקדמות הגנטית בתכונות ייצור, בריאות ותכונות ידידותיות לסביבה (תמונה 6). לסלקציה גנומית קיים יתרון באוכלוסיות בקר גדולות כמו בארה"ב. לכן שימוש בזרמה של פרים צעירים בעלי הערכות גנומיות מארה"ב צפוי לגדול בסחר הבינלאומי ובישראל. המיזם של ריצוף כל היצורים האאוקריוטים (Earth BioGenome Project: Sequencing life) יאפשר לימוד והשוואה של הגנים שעברו שינוי בין מינים קרובים. לדוגמא, בהשוואה של הבקר ליאק מצאו הבדלים בגנים המבקרים את פעולת הריאות ונותנים יתרון ליאק באזורים גבוהים דלילים בחמצן. אם סלקציה גנומית נחשבה רק לפני עשור כמהפכה בטיפוח בקר האחראית להכפלת ההתקדמות הגנטית, הרי "עריכה גנומית", טכנולוגיה מולקולרית המאפשרת לבצע שינויים ספציפיים בחומר הגנטי, נחשבת למהפכה הנוכחית בגנטיקה. עריכה גנומית בבקר התמקדה עד כה בגנים להרכב חלב (בטא לקטוגלובולין), למחלות (דלקת ריאות) ולרווחה (קרניים). גנים נוספים בעלי ערך כלכלי או רפואי יהוו בנק מסורות לעריכה גנומית.

תודות

לחברי אפרה כהן, מקיבוץ מצובה, שאירח אותי מילדות בגידול בעלי-חיים במשק הילדים בקיבוץ, ואחר כך כבוקר המלווה את עדר הבקר לברר למרעה. לד"ר ראובן בר-ענן ז"ל שהקים את היחידה לגנטיקה במכון וולקני, והוביל את טיפוח בקר לחלב בארץ בשנות ה-80, לחברי דר' יהודה ולר ואפרים עזרא על עבודה משותפת ופורייה במשך עשרות שנים, ותרומה למחקר וטיפוח של בקר, לרפתנים, המ"ב ואגודת שיאון ששיתפו אתנו פעולה במגוון כיווני מחקר, לד"ר אייל סרוסי על תרומתו בכלים החישוביים, למנהל המעבדה דר' אנדרי שיראק על פועלו בחשיבה ובביצוע של מחקרים גנטיים ולצוות המחקר שכלל עשרות סטודנטים לתארים מוסמך, דוקטור ופוסט-דוקטורט (28, אבל מי סופר?). ▲

אם סלקציה גנומית נחשבה רק לפני עשור כמהפכה בטיפוח בקר האחראית להכפלת ההתקדמות הגנטית, הרי "עריכה גנומית", טכנולוגיה מולקולרית המאפשרת לבצע שינויים ספציפיים בחומר הגנטי, נחשבת למהפכה הנוכחית בגנטיקה

ואנליזה של השפעות הסמנים לחיזוי הערך הגנטי המשוקלל עם ממוצע אומדן הורשה מההורים. בארץ נבחנו כ-200 עד 300 עגלים בכל שנה ומתוכם נבחרים כ-40. האוכלוסייה הישראלית בת כ-120,000 פרות נחותה בגודל בהשוואה למעצמות טיפוח כמו ארה"ב ותאגידים באירופה. יחד עם זאת, תוצאות ראשונות הראו התאמה גבוהה (מקדם גרסיה 0.9) בין הערכות גנומיות לעומת מבחני צאצאים בפועל של 42 פרים ישראלים (תמונה 5). לפיכך, המתווה של סלקציה גנומית הינו עדיף על פני תכנית ההמתנה של פרים, המבוססת על מבחני צאצאים, ומשיא את ההתקדמות הגנטית על ידי קיצור אורך הדור והגדלת עוצמת הסלקציה.

תחזית גנטית לעתיד בבקר

השונות הגנטית לתכונות כלכליות נשמרת על ידי הגדלת השכיחות של אללים נדירים, מוטציות חדשות, שינויים במטרות הטיפוח והוספת תכונות חדשות לאינדקס. לפיכך, אופק הסלקציה צפוי להישמר בעתיד. האתגר החשוב ביותר