

## איתור גנים של בקר ושילובם באומדני הורשה של פרטים

מ. רון, א. פלדמסר, א. תגר, ד. קליגר, מ. גוליק, א. עזראי וי. ולר  
המחלקה לגנטיקה כמותית ומולקולרית, מינהל המחקר החקלאי  
1 התאחדות מגדלי בקר

### סיכום

הטיפול היו שונים עד 0.2 סטיית תקן פנוטיפית, השקולה ל-300 ק"ג חלב. יישום מידע של סמנים בתכנית הטיפול מתחיל בשנת 2000 והוא צפוי להגדיל את ההתקדמות הגנטית על ידי סלקציה יעילה יותר של פרים צעירים המיועדים לטיפול.

### רקע

מאז ביות בעלי-חיים חקלאיים הטיפול התבסס על בחירת פרים מצטיינים כהורים לדורות הבאים. בבקר לחלב, מערך הטיפול הוא מורכב במיוחד מפני שהתכונות הכלכליות מתבטאות רק בנקבות שמספר צאצאיהן קטן, בעוד שאורך הדור הוא גדול. תכנית הטיפול הנוכחית מעלה את הרמה הגנטית של העדר ב-1% לשנה. בעשור האחרון הוקמה מפה גנטית צפופה של סמנים גנטיים בבקר המהווה תשתית לחיפוש גנים.

במספר מדינות כמו הולנד, צרפת, גרמניה, ארה"ב וישראל מתקיים מחקר אינטנסיבי לחיפוש שיטתי של גנים לתכונות כלכליות בבקר לחלב. איתור הגנים יאפשר לדעת את הערך הגנטי של פר בגיל צעיר ואפילו בשלב עוברי. מידע זה יקצר את אורך הדור ובכך יאיץ את ההתקדמות הגנטית, מטרת המחקר הנוכחי הם: 1. איתור גנים המשפיעים על תכונות כלכליות בבקר הישראלי; ו-2. פיתוח יישום אינדקס טיפוח משולב בסמנים.

### שיטות וחומרים

#### מבנה הניסוי לאיתור גנים

פרות נבדקו לסמנים גנטיים בהם אביהם היה הטרוזיגוט, כלומר בשני הכרומוסומים ההומולוגיים באב אותרו גרסאות שונות (אללים) של הסמן הגנטי. לכל סמן בנפרד, חולקו הפרות לשתי קבוצות על פי האלל שקיבלו מהאב. הבדל סטטיסטי מובהק בין

בעשור האחרון הוקמה מפה גנטית צפופה של סמנים גנטיים בבקר המהווה תשתית לחיפוש גנים. עבור אוכלוסיית הבקר הישראלי מבנה ניסוי של בתי-אב הוא אופטימלי. כאשר האב הטרוזיגוט לסמן הגנטי, כל מחצית מהבנות יקבלו אלל אבהי אחר. הבדל מובהק בין ממוצע אומדני ההורשה (א"ה) של שתי קבוצות הבנות לתכונה כלכלית מעיד על תאחיזה גנטית בין הסמן וגן המשפיע על התכונה. לסריקה מלאה של הגנום דרושים כ-80 סמנים גנטיים.

עד כה נבדקו 4072 פרות בישראל, בנות 9 פרים, ל-36 סמנים גנטיים. 411 פרות (10%) נמצאו שאינן בנות לפרים על פי הרישום בספר העדר. נבדקו השפעות הגנים ל-9 תכונות: חלב, שומן, חלבון, ריכוז שומן וחלבון, ריכוז תאים סומטיים, פוריות נקבית, הישרדות בעדר ואינדקס הטיפול הנוכחי, PD96.

השפעות מובהקות על אינדקס הטיפול נמצאו בכרומוסומים 6, 7 ו-27. ההשפעות החזקות ביותר נמצאו בכרומוסום 6, בבנות הפרים גולית ומפי, בשיעור 100-160 ק"ג אינדקס טיפוח.

פותרה שיטה לאומדן בלתי-מוטה של השפעות גנים, במבנה של בתי-אב, באמצעות מודל פרט מורחב המשתמש במידע כמותי (נתוני ייצור) ובדיד (גנים) ברזומנית. המודל החדש יושם על כל הפרות באוכלוסייה, כולל 2875 פרות עם מידע על אחד או יותר משלושה גנים הנמצאים על כרומוסום 6, 7 ו-14 ומשפיעים על תכונות הייצור. השפעות הגנים על פי מודל פרט מורחב היו גבוהות פי 2-4 מאלה המחושבות לא"ה על פי מודל הפרט. המתאמים של א"ה המחושבים על ידי מודל הפרט הרגיל והמורחב היו מעל 0.95 לכל התכונות, אך א"ה של פרים צעירים לאינדקס

לתכונות המרכיבות אותן כמו חלב, שומן, חלבון ותאים סומטיים. לאחר מכן, המשתנים חושבו על פי היחס בין א"ה של התכונות המתאימות. קיום גן מתפצל האחוז לסמן הגנטי, המתפצל בבנות, נבדק על פי המודל הלינארי הבא:

$$(2) \text{א"ה של הפרט} = \text{השפעת הפרט} + \text{השפעת האלל של הסמן בתוך פרט} + \text{שגיאה}$$

השפעת הגן חושבה כהפרש בין א"ה של שתי קבוצות הפרות הנושאות אללים שונים, לסמן הגנטי, שמקורם באב. כאשר הגן אחוז ליותר מסמן גנטי יחיד מבוצע מיפוי למקטעים (Interval Mapping) לקביעת סדר הסמנים והגן הכמותי.

פיתחנו את מודל הפרט לחישוב א"ה והוספנו משוואה לכל אפקט מובהק של גן האחוז לסמן גנטי במשפחה מסוימת. במשוואה זאת כל פרט הנושא את האלל המעלה יקבל ערך 1, וכל פרט הנושא את האלל המוריד יקבל ערך 1- . צאצאי הפרט שסומן 1 יקבלו ערך השווה להסתברות לקבל, בהתפלגות מנדלית, את האלל המתאים: בנות יקבלו ערך 0.5 ונכדות יקבלו ערך 0.25, בסימן חיובי או שלילי על פי סוג האלל המעלה או המוריד. כל שאר הפרטים כולל האב ההטריוגנטי יקבלו את הערך 0. א"ה יהיה סכום ההשפעות הפוליגניות והגניות לכל פרט. כל הפרות עם נתוני ייצור וההורים מדורות קודמים כלולים באנליזה, למרות שרק חלק מהאוכלוסיה נבדק על ידי סמנים גנטיים. לכך יש חשיבות כדי לקבל אומדנים מהימנים להשפעות הסביבתיות כמו עדר ומספר תחלובה. למרבית הפרטים, המקדמים לסמנים הגנטיים יהיו אפס ולכן א"ה יהיה דומה להשפעה הפוליגנית. מודל הפרט המורחב המשתמש במידע כמותי (נתוני ייצור) ובדיד (גנים) ברזומנית יושם על כל הפרות באוכלוסיה כולל 2875 פרות עם מידע על אחד או יותר משלושה גנים הנמצאים על כרומוסום 6, 7 ו-14.

### תוצאות

השפעות מובהקות ( $p < 0.0001$ ) התקבלו עם 5 סמנים גנטיים הנמצאים על 3 כרומוסומים:

אומדני הורשה (א"ה) לתכונה, בין שתי קבוצות הבנות, מהווה ראיה לקיום גן מתפצל האחוז לסמן הגנטי.

דוגמאות דם נאספו מ-4072 פרות הולשטיין, בנות 9 אבות, מ-77 משקים קיבוציים. 2-3 מיליליטר דם נלקחו ממוריד הזנב של פרות הקשורות באבוס. לא נלקח דם מפרות הרשומות כתאומות בספר-העדר בגלל עירבוב כדוריות הדם הלבנות של שתי הפרות התאומות. DNA (דנא) הופק מדם הפרות ומזרמת הפרים. דנא חולק לצלחות המכילות 96 מקומות, יובש ונשמר בטמפרטורת חדר. הדוגמאות שימשו לראקציה אנזימתית מסוג PCR שבה מבצעים העשרה של מקטע דנא ספציפי התחום בין רצפי דנא ייחודיים. המקטע מכיל רצף חוזר של זוג נוקלאוטידים מסוג TG אשר יש לו מספר רב של גירסאות הבאות לידי ביטוי בכרומוסומים של הפרט הבודד ובין פרטים. מקטע זה מהווה סמן גנטי פולימורפי וגודלו ניתן לקביעה על ידי הרצה בגל אקרילאמיד של רצף אוטומטי מסוג DNA Sequencer (Applied Biosystems). ניתן להריץ מספר רב של סמנים בערוץ יחיד על גבי הרצף האוטומטי, ובלבד שהם ניתנים להבחנה על בסיס גודל או צבע פלואורסנטי. לכל סמן טווח גודל שבו יופיעו המקטעים שלו בגרסאות השונות. כמו כן, קיימים שלושה צבעים שונים בהם ניתן להשתמש לצביעת המקטע. להגברת יעילות הסריקה אנו משתמשים במערכות של 10-15 סמנים לפרט המורצים יחד על נתיב בודד של הגל, מתוך 48 נתיבים בגל.

### ניתוח סטטיסטי

נבדקו השפעות הגנים ל-9 תכונות: חלב, שומן, חלבון, ריכוז שומן וחלבון, ריכוז תאים סומטיים (SCC), פוריות נקבית, הישרדות בעדר ואינדקס הטיפוח הנוכחי, PD96. נוסחת האינדקס מוצגת להלן:

$$\text{PD96} = -0.274 \times \text{Kg Milk} + 6.41 \times \text{Kg Fat} + 34.85 \times \text{Kg protein} - 300 \times \text{SCC} (1)$$

א"ה נקבעו על פי מודל הפרט הרגיל לכל תכונה בנפרד, פרט לריכוז שומן וחלבון ואינדקס הטיפוח. למשתנים אלה חושבו א"ה

## דיון

שבע עד תשע משפחות נבדקו לכל אחד מ-3 הגנים, אך רק 2 עד 3 משפחות הציגו הבדל מובהק בין א"ה של קבוצות הבנות המהווה ראיה לגן מתפצל. תוצאות אלה הן בהתאמה למחקרים קודמים, בארץ ובעולם, בהם רב המשפחות לא הראו קיום גן מתפצל. מכאן שמספר האללים של הגן באוכלוסייה הוא נמוך ומתאים למודל של שני אללים לגן.

השפעות הגנים על פי מודל פרט מורחב היו גבוהות פי 2–4 מאלה המחושבות לא"ה על פי מודל הפרט. ניתן להסביר זאת בכך שמודל הפרט הוא שמרני המצמצם את ההשפעה הגנטית כפונקציה של חוסר הוודאות הגנטית ומספר התצפיות. ההשפעה של הגן היא בבחינת אפקט קבוע, המחושב ברזומנית להשפעות הכמותיות. השונות הנזקפת לגנים הבדידים מופחתת מהשונות הגנטית הכמותית ולכן השפעות הגנים מדוייקות יותר בהשוואה לקירוב שמתקבל מא"ה של מודל הפרט.

ההפרשים בין א"ה של פרות בודדות בין מודל פרט ומודל מורחב היו נמוכים מ-100 ק"ג, השקולים ל-0.1 סטיית תקן פנוטיפית לאינדקס הטיפוח. כפי שהוצע על ידי מספר מחקרים, היתרון העיקרי של מידע על גנים הוא בבחירת עגלים לטיפוח. לדוגמה, נייח שפרה מספר 5 בטבלה 4 מוזרעת על ידי הפר גופי שלו א"ה הגבוה ביותר לאינדקס הטיפוח – 796 ק"ג. בהיעדר מידע על גנים, א"ה של הצאצא הוא ממוצא א"ה של הוריו – 576 ק"ג. עם המידע על גנים, א"ה של הצאצאים הוא 599. אם הצאצא נבדק לגן על כרומוסום 6 ונמצא שהוא אכן ירש אותו מאמו, יש לחשב את א"ה שלו כממוצע ההשפעות הגנטיות הכמותיות של הוריו ומחצית השפעת הגן.

ההערכה הגנטית הכמותית של האם ללא הגן על כרומוסום 6 היא  $403 - 545/4 = 266.75$ . א"ה של הצאצא יהיה

$266.75 + 796 + 545/2 = 667.6$ . לפי כך, הערך הגנטי גדל ב-92 ק"ג השקולים ל-0.09 סטיית תקן של אומדני הורשה, בהשוואה

6, 7 ו-14. תוצאות כל אחד מהגנים, לפי סמן הקרוב אליו ביותר, מוצגים בטבלה 1. רמת המובהקות של השפעת הגן תלויה בגודל ההשפעה ומספר הפרות שנבדקו לסמן הגנטי. הגנים על כרומוסום 6 ו-7 היו עם השפעה מובהקת לתכונות ייצור חלב ואינדקס הטיפוח. לגן על כרומוסום 6 שתי משפחות הראו דגם השפעות דומה על מספר תכונות ייצור. לגן על כרומוסום 14 נמצאה מובהקות ל-4 משפחות. לגן על כרומוסום 7 שתי משפחות אחרות הראו דגם אחיד של השפעות. לפי כך, ניתן להניח שאותם שני אללים מתפצלים לגן על גבי כרומוסום. על כרומוסום 6 נמצאו השפעות לכל תכונות הייצור, אך השפעה על אחוז חלבון היתה מאד מובהקת ( $10^{14}$ ). ההשפעות החזקות ביותר נמצאו בבנות הפרים גולית ומפי בשיעור של 100–160 ק"ג אינדקס טיפוח.

בטבלה 2 ניתן לראות את אומדני השפעות הגנים על פי שתי השיטות של מודל פרט ומודל מורחב. השפעות הגנים על פי מודל פרט מורחב היו גבוהות פי 2–4 מאלה המחושבות על פי מודל הפרט. בטבלה 3 מוצגים המתאמים של א"ה המחושבים על ידי מודל הפרט הרגיל והמורחב. המתאמים היו מעל 0.95 לכל התכונות. המתאמים היו גבוהים לייצור חלב ונמוכים לאינדקס טיפוח וריכוז חלבון ושומן, אך א"ה של פרים צעירים לאינדקס הטיפוח היו שונים עד 0.2 סטיית תקן פנוטיפית, השקולה ל-300 ק"ג חלב. בטבלה 4 מוצגים א"ה לאינדקס טיפוח של עשר הפרות הגבוהות ביותר עם מקדמי הסתברות, שאינם אפס, לאחד או יותר מהגנים הבדידים. פרה 3 עולה ב-46 ק"ג אינדקס טיפוח במודל המורחב הודות לכך שהיא נושאת את האלל המעלה של הגן על כרומוסום 7 (מקדם 1), והיא בת לפרה הנושאת את האלל המעלה לגן על כרומוסום 6 (מקדם 0.5). לעומת זאת, הירידה בא"ה של פרה 8 ב-20 ק"ג אינדקס טיפוח נובעת מכך שאמה נושאת את האלל המוריד של הגן בכרומוסום 6.

האלל ממנה, יגדיל את ערכו הגנטי על פי הדוגמה לעיל ב-92 ק"ג באינדקס הטיפוח לעומת המצב הקיים.

### מסקנות

מודל הפרט המורחב משלב מידע על גנים בודדים עם מידע כמותי על הייצור, לאומדן בלתי-מוטה של א"ה של פרטים. יישום מידע על סמנים בתבנית הטיפוח מתחיל בשנת 2000 והוא צפוי להגדיל את ההתקדמות הגנטית על ידי סלקציה יעילה יותר של פרים צעירים המיועדים לטיפוח.

למצב ללא מידע גני. הבדל זה הוא משמעותי לסלקציה של עגלים צעירים בטיפוח.

לאחרונה הוחלט על איסוף דם של כ-300 עתודות ו-50 עגלים בשנה על ידי האגודות להזרעה והעברתן אלינו למעבדה. ניתן לבדוק דנא של עתודות לגנים המשפיעים על אינדקס הטיפוח. בחירת הגנים לאנליזה תעשה לפי מידע הקיים על גנים מתפצלים אצל הפרים, אבות העתודות. לדוגמה, הגן על כרומוסום 6 ייבדק רק בעתודות בנות מפי וגולית, והגן על כרומוסום 7 ייבדק בעתודות בנות פלור ובוטח. המידע שעתודה בת גולית קיבלה את האלל המעלה לגן בכרומוסום 6, והעגל אכן קיבל את

טבלה 1. השפעות מובהקות של סמנים גנטיים על תכונות כלכליות.

מובהקות	השפעה <sup>1</sup>	בנות, מס'	שם הפר	תכונה	סמן	כרומוסום
10 <sup>-5</sup>	161	372	מפי	חלב	BMI43	6
.016	163	118	גולית			
.004	3.6	372	מפי	שומן		
.006	6.4	118	גולית			
.001	2.9	372	מפי	חלבון		
10 <sup>-10</sup>	.08	372	מפי	שומן, %		
10 <sup>-6</sup>	.1	118	גולית			
10 <sup>-14</sup>	.07	372	מפי	חלבון, %		
10 <sup>-5</sup>	.06	118	גולית			
10 <sup>-7</sup>	162	371	מפי	אינדקס		
.03	98	169	גולית			
.02	100	322	בוטח	חלב	UWCA20	7
.03	109	208	פצפון			
.05	103	195	סינבד			
.007	3.2	421	פלור	שומן		
.001	4.6	322	בוטח			
.02	2	421	פלור	חלבון		
.007	97	322	בוטח			
.007	78	421	פלור	אינדקס		
.005	97	322	בוטח			
.008	20.5	421	פלור	הישרדות		
.002	28	322	בוטח			
.0003	184	195	גנדי	חלב	ILSTS039	14
.005	4.8	195	גנדי	שומן		
.004	3.8	319	סינבד			
.002	4.8	250	טבע			
10 <sup>-9</sup>	.1	195	גנדי	שומן, %		
.04	.05	111	גולית			
10 <sup>-6</sup>	.08	250	טבע			
10 <sup>-6</sup>	.05	195	גנדי	חלבון, %		
.04	.03	111	גולית			

<sup>1</sup> הפרש אומדן ההורשה לתכונה, לפי מודל הפרט, בין שתי קבוצות הבנות השונות באלל אבהי לסמן הגנטי.

טבלה 2. אומדן השפעת הגן על ידי מודל פרט ומודל פרט מורחב.

כרומוסום	תכונה	מודל פרט 1		מודל פרט מורחב 2	
		פר 1	פר 2	r=0	r=R/2
6	חלב	-161	-163	-344	-425
	שומן	3.6	6.4	14.1	13.6
	חלבון	2.9	1.1	10.3	10.6
	שומן, %	.08	.11	.24	.26
	חלבון, %	.07	.06	.2	.23
	אינדקס	162	137	545	574
7	חלב	61	100	277	
	שומן	3.2	4.6	10.9	
	חלבון	2.0	2.9	8.8	
	שומן, %	.01	.01	.02	
	חלבון, %	.001	-.002	.005	
	אינדקס	78	97	301	
14	חלב	-184		-510	-498
	שומן	4.8		18.6	17.7
	חלבון	-8		-4.8	-5.0
	שומן, %	.11		.33	.32
	חלבון, %	-.05		.1	.1
	אינדקס	63		93	77

<sup>1</sup> הפרש אומדן ההורשה לתכונה לפי מודל הפרט, בין שתי קבוצות הבנות השונות באלל אבהי לסמן הגנטי (מטבלה 1).

<sup>2</sup> מודל פרט מורחב המחשב בריזומנית השפעות כמותיות והשפעות גנים בדידים. החישוב מבוסס על הנחה של היעדר שיחלוף בין הגן והסמן ( $r=0$ ), או מחצית שיעור הרקומבינציה בין שני סמנים סמוכים ( $2/r=R$ ).

טבלה 3. מתאמים בין אומדני הורשה של פרות לפי מודל פרט ומודל פרט מורחב<sup>1</sup>

תכונה	מתאם
חלב	.98
שומן	.96
חלבון	.97
שומן, %	.95
חלבון, %	.95
אינדקס	.95

<sup>1</sup> 2875 פרות עם מקדמים לא אפס לפחות לאחד מ-3 הגנים.

טבלה 4. אומדני הורשה של 10 הפרות הטובות ביותר לפי מודל פרט מורחב.<sup>1</sup>

פרה	אומדני הורשה		מקדמים לגנים על כרומוסום		
	מודל פרט מורחב	מודל פרט	6	7	14
1	467	457	0	0.5	0
2	439	437	0	0	0.5
3	410	364	0.5	1	0
4	404	378	0	1	0
5	403	356	1	0	0
6	382	334	1	0	0
7	376	349	0	1	0
8	370	390	-0.5	0	0
9	369	358	0	0.5	0
10	363	343	0.5	0	0

<sup>1</sup> מתוך 2875 פרות עם מקדמים לא אפס לפחות לאחד מ-3 הגנים.