

תכנית: 829-0083-03

מחקר מס' 039.7310.

נושא המחקר: שימוש במידע על התפלגות אללים אימהיים של סמן במתווה בנות, למיפוי את'cis לתוכנות ייצור חלב בבר ישראל-הולשטיין.

דוח שנתי 2005

מבוא

שיטת הטיפוח הקיימות ע"י מבחני צאצאים יקרות ואיטיות יחסית. הגישה הconomית מتبוססת על מיפוי אתרים המשפיעים על תוכנות כמותיות (את'cis, QTL), מיפוי הגנים הcompanions (QTG) או גנים ושימוש בתוצאות המיפוי לשלקציה על בסיס הסטטיס (MAS) (Marker Assisted Selection, GAS). קשור כזה מוגדר כתאחזיה לא שוונונית (תל"ש; LD). תל"ש יכולה להתקיים במשפחה או האוכלוסייה.

מאז 1996 מתנהל במעבדתנו מחקר רחב היקף של מיפוי את'cis המשפיעים על תוכנות ייצור חלב בעדר הישראלי במתווה תערובות הקצה (Lipkin et al., 1998; Mosig et al., 2001). במתווה בנות התבוסס בתחילת המידע על תאחזיה בין סמן לאת'cis אך ורק על התפלגות האללים של האב (להלן, "אללים אבהיים") בקרב הצאצאים. לא נעשה שימוש במידע הנמצא באלהים שירשו בנות הפר מאמהותיהם. ההנחה הייתה שאימהות אלה הן מדגם אקרי מהאוכלוסייה ומתקיים בהן במצב של תאחזיה שוונונית (תל"ש) בין הסמן לגן. אעפ"כ, בחינה מדוקדקת של אבות וסבי האמהות בכל בית אב, מראה כי יתכן וזה אינו המצב. ככל שנה מסpter קטן יותר יש פרים פעיל בהיקף רחוב, ופרים אלה הם המקור לחלק הארי של האמהות. העובדה שהאמהות נבחרות כך שקייבתן לפר המזריע היא פחותה מסב משותף, מצמצמת עוד יותר את האפשרויות בבחירה אב האם (המיוחד בעדר קטן כמו העדר הישראלי), וכتوزאה מכך, אלל באמהות נתרם ע"י מספר מצומצם של פרים מדורות קודמים. כך, יש סבירות רבה לתל"ש בכромוסומים של האימהות.

יש שלוש סיבות חשובות לכלול את האללים האימהיים במיפוי את'cis:

1. בהתבסס על האלים האבהיים בלבד אפשר לזהות תאחזיה בין סמן לאת'cis רק אם האב הטרויזיגוט גם בסמן וגם באט'cis. בתוצאה מכך, כשני שליש מהפרים אינם אינפורטטיביים בהיותם homozigotim באט'cis ו/או בסמן. לעומת זאת, אללים אימהיים יכולים להיות אינפורטטיביים בכל משפחות הפרים ובכל הסטטים. דבר זה יגביר במידה ניכרת את המובהקות של המבחנים.

2. בדרך כלל או סב האם לנכדה, יהיו 2-3 דורות של רקובינציה (ר"ק) בין הסמן לאת'cis, לעומת זאת ייחיד בכромוסומים של האבות. הר"ק הנוספות ינפחו את המפה gentitic ויאפשר קביעה מדוקדקת יותר של מקום האט'cis (האט'cis יתגלה רק בעוזת סטטים קרובים יותר לאת'cis, יחסית לגילוי את'cis

עם אללים אבاهיים).

3. היוות ופרים נושאים כרומוזום X יחיד, עד כה לא היה ניתן למפות את'יכ על כרומוזום זה במתווה בנות או נבדות. מיפויו בעזרת האללים האימהיים ניתן לישום גם בכרומוזום ה-X.

מטרת המחקר

המטרה הכלכלית של המחקר היא לבצע סריקת גנים בעדר החלב הישראלי בשיטת תערובות קצה, כולל כרומוזום X, בחיפוש אחר תאחיזה בין אללים אימהיים בסמנים לאט'יכים המשפיעים על תוכנות בעלות חשיבות כלכללית.

המטרות בשנת 2005 היו סריקת גנים למיפויו את'יכים המשפיעים על פוריות נקבית וספרת תאים סומטיים בחלב בשיטת אללים אימהיים, בוחינת מצב התליש ברמת אוכלוסייה לאללים האבהיים או האימהיים, והוספת סמנים לאזוריים הנוטניים מובהקות גבואה בצירוף אללים אבהיים ואימהיים, כדי לבחון את היכולת של צירוף שני מקורות המידע לספק מיפוי עדין של את'יכים.

תוצאות

סריקת גנים. נערך מבחן מובהקות להבדלי שכיחות בין תערובות של בנות פרים גבוחות ונמוכות. נכללו כל האללים שאינם אללים אבהיים ושהמוצע על פני כל התערובות (גבוחות ונמוכות) היה 5% לכל הפחות. המבחן היה במתכונת של מבחן האללים האבהיים (Lipkin et al., 1998), עם התאמות נחוצות. בכל סמן נערך מבחן מובהקות בשתי רמות: (1) סמן - פר (בית אב) – תוכנה – אלל; (2) סמן – תוכנה.

שגיאה סטנדרטית ($SE(D)$; *Standard Error of D*) (Lipkin et al., 1998). עד כה חישבנו את השגיאה הסטנדרטית המשמשת ב מבחני המובהקות על בסיס אפרורי, בהנחה שהיא קבועה ע"י דגימה בינומית של אללים מהאב והאםהות, השגיאה הטכנית של אומדן שכיחות האללים (לפי השוואה בין שני העתקים של אותה תערובת), מספר התערובות, והשונות המשותפת (covariance) של שני האללים של האב תחת הנחת האפס. התוצאה הייתה חישוב מורכב למדי, שעדין לא הביא בחשבון מקורות שגיאה טכניים שלא ימצאו בעזרת העתקי תערובות (כמו שגיאות בספרית התאים בחלב). במהלך 2005 השתמשנו בתת-תערובות מסוימות קצה לאומדן השגיאה הטכנית.

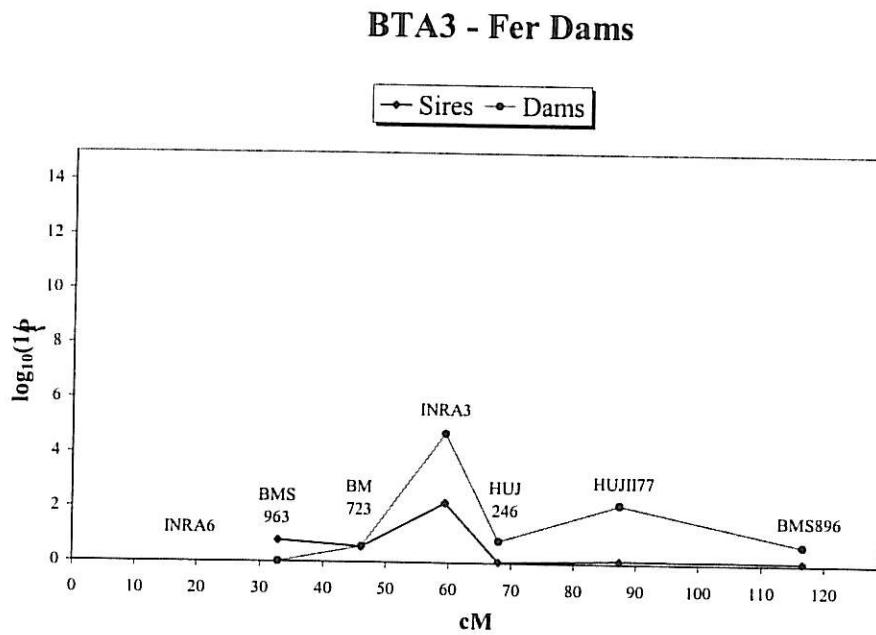
נמצאו ערכים שונים למדגמי החלב השונים: 0.045 ל-1996 (אחוז חלבון בחלב (PP), 0.057 ל-2002 (כnil), 0.044 ל-2003 (פוריות נקבית (FF) וסת"ס). אנחנו עדין לומדים את מקור ההבדלים האלה. ביום אנו מחשבים מחדש את מבחני המובהקות לפי ערכים אלה.

לפוריות נקבית נבדקו עד כה עם אללים אימהיים 45 סמנים הפוזרים על פני 15 אוטוזומים, וסמן אחד הנמצא על כרומוזום X. לסת"ס נבדקו 51 סמנים הפוזרים על פני 19 אוטוזומים, ושני סמנים על כרומוזום X. 16 ו-21 סמנים הראו אפקטים מובהקים ($P < 0.01$) על פוריות וסת"ס, בהתאם. סמנים אלה מפוזרים על 10 (פוריות) ו-12 (סת"ס) אוטוזומים, ועל כרומוזום X (שתי התכונות). כמו בעבר,

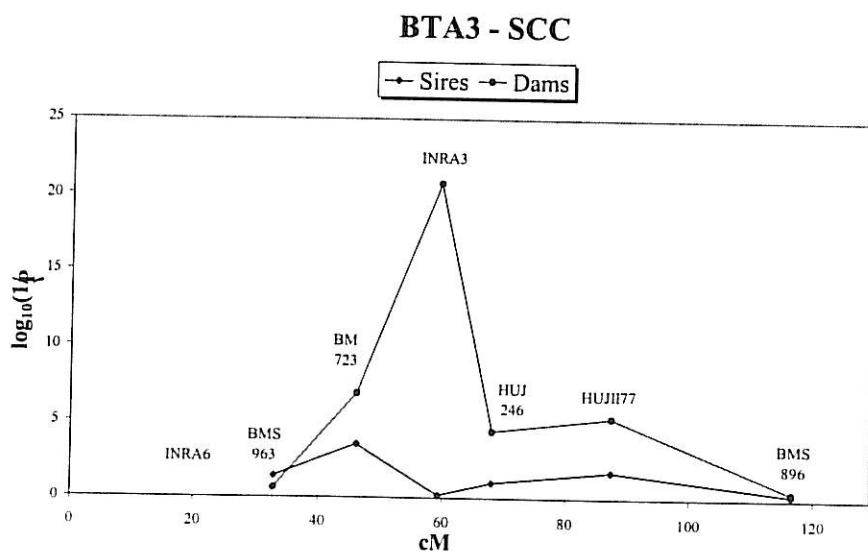
נמצאה התאמה מסויימת לתוכאות מבחני האללים האימהיים. דוגמא לתוכאות מבחני האללים האימהיים לזיהוי האת"cis המשפיעים על פוריות נקבית וסת"ס מוצגת באIOR 1.

איור 1. מבחני מובاهקות באילים אימהיים ברמת סמן-תכוונה להבדלים בין תערובות בנות פרים גבניות ונמכות. כרומוזום 3.

א. פוריות נקבית.



ב. סות"ס.



מדגם החלב של 2003 - בו נאספו הדוגמאות ששמשו לשלב הנוכחי - היה שונה מהדגמים הקודמים בכך שלראשונה תוקן ערך הפרה לחצי מערך האם. תיקון זה אמור להפחית את השפעת האמהות ודריכן את השפעת אבותיהן וסביהם. למרות התיקון נמצאו אפקטים מובהקים המוכיחים את הרהנה שacky מדבר בתל"ש בין אטי"cis לסמנים.

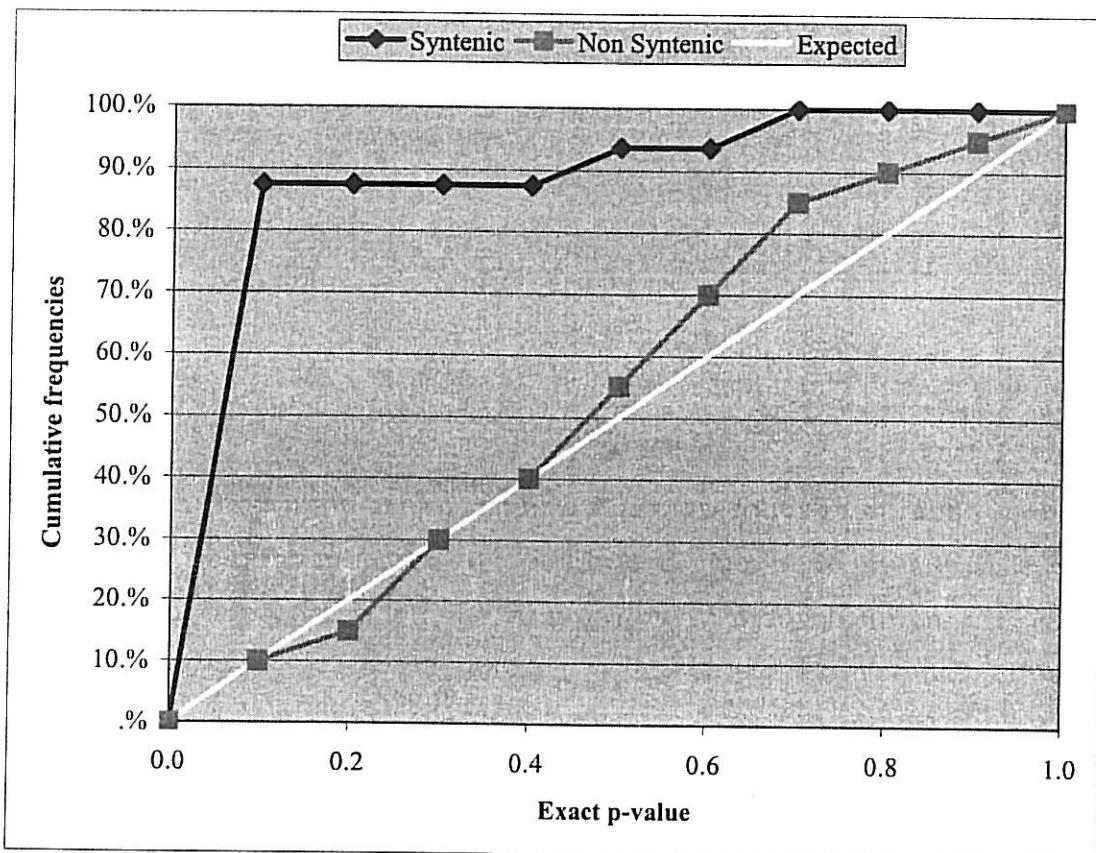
רמת התלשי"א. על מנת להפחית את ההסתברות לרkombinציה, בחרנו שני אזורים כרומוסומיים קטנים, שבהם סמנים גנטיים קרובים זה לזה, במרקם של 1-2 סנטימורגן. אזור אחד בכרום 6 המכיל 5 סמנים ואזור שני בכרום 11 המכיל 4 סמנים. אוכלוסיות המחקר היותה מורכבת מבנות של משפחות שונות פרים. כדי לאמוד את מצב התלשי"א לטוח זמן ארוך באוכלוסייה (להבדיל מהתלשי"א מקרים המעודד הנובעת מהמבנה המשפחתי), נבחרו 200 בנות, כל אחת בת לשולת אימהית אחת ויחידה, נכדה יחידה לסב מצד האם (כלומר, היו 200 פרים עם נכדה אחת ויחידה באוכלוסיות המדגם). נקבעו גנטיפים בתשעת הסטטים לכל 200 הבנות הנבחרות, לשמונה אבותיהם, לשבעה סבים מצד האב, ולפרים אחרים קרוב משפחה. 29 מהפרות הושמדו בגל טעות בזיהוי ההורם (לבת אין אל אבה), שתי פרות הושמדו לאחר שנמצאה רkombinציה כפולה על אותו כרום (בגל הטוחחים הקיצרים רkombinציה כפולה חשודה כמקרה של טעות הורם), ו-11 פרות הושמדו בשל ערבות דוגמאות הדנ"א (נמצאו יותר משלביים). הפלוטיפים זוהו לפי הגנטיפים של כל זוג אב-צאצא; נקבעו לא אינפורטטיביות (בחון לא ניתן היה לזיהות אם עבר בין השניהם), הושלמו בעזרה קרובי משפחה ובעזרת התכנה PowerMarker (K. Liu and S.V. Muse, 2005).

הפלוטיפים אימהיים זוהו ע"י הफחת הפלוטיפ האב מגנטיפ הצאצא. לאחר השמתת הפרות והשלמת הפלוטיפים זוהו בסה"כ 153 הפלוטיפים אימהיים על כרומים 6 ו-17 הפלוטיפים על כרום 11.

רמת התלשי"א נבדקה לפי מספר הפלוטיפים האימהיים השונים זה מזה, ובמדי התל"ש המקבילים 'D' ו-'A'; מובהקות התלשי"א נבחנה בעזרת קירוב מונטה קרלו של המבחן המדוייק של פישר. בכל מדד ומבחן נבדק הבדל בין שני הכרומוזומים במבחן χ^2 , וכן גם בין זוגות סטטים סינטנסיים (על אותו כרום) לבין זוגות סטטים לא סינטנסיים (על הכרומוזומים שונים). חשוב המתאים בין המדד והמרקם הגנטי בין הסטטים, והتوزיאות הושוו לuebas קודמות.

מתוך סה"כ 153 הפלוטיפים האימהיים שנקבעו בכרום 6, נמצאו 122 הפלוטיפים שונים. מתוך 147 הפלוטיפים האימהיים שזוהו בכרום 11, נמצאו 64 הפלוטיפים שונים. שפע הפלוטיפים שנמצאו מצבע על אי הימצאות תל"ש'א בטוחים ובאזורים שנבדקו. בשני מדדי התלשי"א 'D' ו-'A', ובמבחן המובהקות (קירוב מונטה קרלו לפישר), לא היה הבדל מובהק בין שני הכרומוזומים, ולעומת זאת היה הבדל מובהק מאד בין זוגות סטטים סינטנסיים לזוגות לא סינטנסיים (איור 2). תוצאות אלה מעידות על תל"ש'א כל שהיא בתחום הכרומוזומים, ועל העדרה בין הכרומוזומים.

איור 2. ההתפלגות המצטברת של ערכי P שהתקבלו מקרוב מונטה קרלו לבחן המדיק של פישר. זוגות סמנטים מאותו כרומוזום; Non syntenic, זוגות סמנטים מכרומוזומים שונים; Expected, ההתפלגות המצטברת הצפואה בהנחה של קשר אקראי בין הסמנטים (מצב של תחיזה שווינונית).



מידת התליש"א שנמצאה קטנה מדווחים קודמים התייחסו לכמות הփוטיפים הגדולה שהתקבלה. בנגד בולט לדיווחים הקודמים, לא נמצאה כל תליש' בין סמנטים מכרומוזומים שונים. מתוך התוצאות אלו מסיקים כי הבחירה הספציפית של אוכלוסיות המדגם במחקר הנוכחי השיגה את המטרה וכן נבדקה התליש' האוכלוסייתית ולא התליש' המשפחתי.

מידת התליש' כפי שנמדדה בבחן χ^2 קטנה, ולא תוכל לשמש עזר בסלקציה.

כיום אלו מנתחים את התוצאות של האללים האימתיים לאור תוצאות התליש'א.

אפרות

Lipkin, E., M. O. Mosig, A. Darvasi, E. Ezra, A. Shalom, A. Friedmann, and M. Soller, 1998. Quantitative trait locus mapping in dairy cattle by means of selective DNA pooling using milk samples and dinucleotide microsatellite markers: analysis of milk

protein percentage. *Genetics* 149: 1557-1567.

K. Liu and S.V. Muse. 2005. PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics* 21(9): 2128-2129.

Mathias O. Mosig, Ehud Lipkin, Galina Khutoreskaya, Elena Tchourzyna, Morris Soller and Adam Friedmann. 2001. A Whole genome scan for QTL affecting milk protein percent in Israeli-Holstein cattle, by means of selective milk DNA pooling in a daughter design, using a modified false discovery rate criterion. *Genetics* 157: 1683-1698.