

תקציר הדו"ח:

1. הצגת הבעיה:

גפן היא גידול שמרבים אותו בצורה וגטיבית, ולכן מחלות וירוס מועברות מצמח לצמח. הדיאגנוסטיקה בגפן ארוכה ולא תמיד מהימנה דייה. לא נמצאו מקורות עמידות טבעיים שניתן להעבירן לזנים וכנות מסחריים בטיפוח קונבנציונלי. המחקר הציע, בשורה התחתונה, להעביר גנים ויראליים, הידועים כמקני עמידות בצמחים אחרים, לגפן, במטרה לנסות ולקבל גפנים עמידות לוירוס.

2. מהלך ושיטות העבודה ותוצאות עיקריות:

לצורך העניין בוצעו הדברים הבאים: א. נקבעו רצפים של הוירוס GVA וירוס זה נבחר משום שחלק מהרצפים כבר היה ידוע בתחילת העבודה, ומשום חשיבותו הכלכלית. ב. פותחו שיטות התמרה יעילות לגפן. ג. נבדק האם הרצפים שנבחרו (GVA coat protein) מקנים עמידות לצמח מודל (*Nicotiana benthamiana*). ד. רצפים אלה הועברו לגפן ונוצרו צמחים טרנסגניים.

התוכנית בוצעה בהצלחה על כל סעיפיה !! יש בידנו היום כ-80 צמחוני גפן טרנסגניים. מסקנות והמלצות:

3. מראש היה ידוע ומוצהר שלאחר שיתקבלו גפני טרנסגניות, תהליך ההוכחה כי הן עמידות לוירוס יתבצע במסגרת תכנית המשך. וזה מכיוון שדיאגנוסטיקה אמינה בגפן עדיין דורשת "אינדקסינג" שהוא תהליך של שנתיים לפחות ולא ניתן היה לכלול במסגרת הזמן של התכנית הקיימת, וגם תהליך ההדבקה המכוונת עשוי לארוך זמן. ההמלצות המתבקשות הן כי יש להקשיח את הצמחונים האלה ולערוך סידרת בדיקות שתברר האם יש ביניהם גפנים עמידות. באותה עת ניתן בטכנולוגיות שפיתחנו, ובידיעת הרצף שקבענו, להחדיר לגפנים גם גנים אחרים. ייתכן מאד כי נעשתה פריצת הדרך שתאפשר יצירת גפנים עמידות לסדרה של מחלות וירוס. לתוצאות מחקר זה סיכויים רבים להגיע למיסחור.

נסיונות להתמרה (transformation) של גפן בגנים ויראליים בנסיון לבדוק אפשרות הקניית עמידות למחלות וירוס

דו"ח מסכם לשנים 1995-1997, מוגש למדען הראשי של משרד החקלאות, ינואר 1998

ע"י

עדנה תנא, אביחי פרל ואילן סלע

הדו"ח מבוסס על דוחות השנים הקודמות בתוספת התוצאות של השנה השלישית (האחרונה), מסקנות והצעות.

המחקר התקיים במטרה לבחון את האפשרות ליצור גנים טרנסגניים ולהחדיר לתוכם גנים של וירוסים תוקפי גנים במטרה להשרות בגפן עמידות. מצב הידע והטכנולוגיה בנושא זה בשעת תחילת המחקר היה מועט ביותר. לכן עיקרי תכנית המחקר היו:

1. פיתוח הטכנולוגיה של התמרת גנים.
2. קביעת רצפים של גנים של GVA - הוירוס שנבחר למטרת ניסויים אלה.
3. החדרת הרצפים שנבחרו לצמחי *Nicotiana benthamiana* (צמח בוחן שניתן להדביקו ב - GVA), בדיקת ביטוי הגנים בצמחים הטרנסגניים העשבוניים ובדיקת עמידותם לוירוס.
4. החדרת הרצפים שנבחרו והוכחו כמשרי עמידות ב - *N. benthamiana* לגפן.
5. בדיקת עמידות בגנים הטרנסגניים.

פרוט הניסויים שבוצעו והתוצאות שהתקבלו

1. הושלם פיתוחה של שיטת טרנספורמציה ורגנרציה בגפן (Perl et al., 1996). צואר הבקבוק היתה בעית נקרוזה המתפתחת בתרביות גפן. ניתן היה להתגבר על הבעיה ע"י טיפול בחמרים אנטיאוקסידנטים. הפרוטוקול המדויק נמצא במאמר המצורף. התוצאה היתה קבלת גפן טרנסגנית עמידה ל - selectable marker (עמידות להיגרומיצין).
2. הרצף המלא של גנום ה - GVA נמצא בידיו, חלקו נקבע במעבדתנו, וחלקו במעבדות אחרות. טבלא 1 מראה את רצף ה - GVA כפי שנקבע במעבדתנו. הרצף של מעל 7000 בסיסים מתוך כ - 7500 הבסיסים הצפויים נקבע במעבדתנו, ומתברר כי מדובר בגזע אחר מזה שפורסם לאחרונה באיטליה.
3. הגן ל - coat protein, בחלקו ובשלימותו, וכן הגן ל - movement protein של הגזע המקומי של GVA שובטו לוקטורים בינאריים. לאחרונה החלפנו את ה - selectable marker

בהתמרות של *N. benthamiana* והננו משתמשים ב-kanamycine במקום ב-hygromycine (אתו אנו משתמשים בהתמרות בגפן).

4. הותמרו צמחי *N. benthamiana* בקונסטרוקטים המוזכרים מעלה. דור שני של צמחים טרנסגניים מוקשים נמצא בידנו. גם בדור R0 וגם בדור R1 נמצאו צמחים עמידים לוירוס. חלק מהצמחים הראו עמידות לכל אורך תקופת הניסוי, חלקם גרמו לתגובה מאוחרת להדבקה (delay), וחלקם התפתחה עמידות מאוחרת (recovery), כידוע בצמחים טרנסגניים עמידים אחרים. הדבר מצביע על מספר מנגנונים הגורמים לעמידות במקרה של צמח זה ו- GVA. כצפוי, צמחי R1 מתפצלים, ומציאת קוים עמידים בדור זה מצביעה על יציבות הטרנספורמציה ותופעת העמידות (ראה טבלאות 2 ו-3).
5. מתבצעת העברת דורות ע"י ריבוי מיני וסלקציה לדור R3 הומוזיגוטי. בשלב זה אפשר יהיה לבדוק לעמידות אוכלוסיות גדולות של צמחים טרנסגניים.
6. הקונסטרוקט ל- coat protein נמצא בעיצומה של ההחדרה לגפנים עצמן. ההתמרה נמצאת בשלב מתקדם. במקור נעשתה תרבית עוברים מקאלוס שהתקבל לאחר ההדבקה ב- *Agrobacterium* ולאחר תקופה ממושכת במצע נוזלי, ישנם כיום צמחוני גפן על מצע מוצק העומדים לפני הקשחה קרובה.

למעשה הושגו כל המטרות שהוצבו בתכנית המחקר לשלב זה. לאור התוצאות בצמח העשבוני, ולאחר הקשחת הגפנים הטרנסגניים, יהיה עלינו לגשת לבדיקת העמידות בגפנים עצמן - שזה תהליך מורכב מאד ומתמשך, ועבורו הוגשה תכנית המשך למדען הראשי.

שיטות:

1. הופק dsRNA מצמחים נגועים ב- GVA.
2. באמצעות reverse transcription התקבלו מקטעי DNA קצרים הנושאים רצפים באזור ה- 3' הויראלי ושובטו לפלסמידים (בדרך כלל BlueScript).
3. נקבע רצף הקטעים המשובטים.
4. נקבעה הרלוטיות של הקטעים המשובטים ע"י היברידיזציה דיפרנציאלית ל- RNA מצמחים נגועים ב- GVA.
5. סונתזו פריימרים נוספים לפי הרצפים הידועים. פריימרים אלו שימשו ל- PCR (הן PCR א-סימטרי, והן PCR הנעשה בין פריימרים ידועים ובין פריימרים רנדומליים).
6. תוצרי ה- PCR שובטו, ורצפם נקבע. התהליך התמשך לפי אותה מתכונת, ורצף של מרבית גנום הוירוס נקבע בצורה זו.
7. תוצרי ה- PCR שנבחרו להתמרה הוחדרו לפלסמיד PJD-430 בין ה- 35S promoter לבין ה- nos-terminator (ראה תמונה 2).

8. המקטע Bgl II/Hind III מתוך הפלסמיד המהונדס PJD-430 הועבר לוקטור הבינארי pGPTV-HPT-105. הקונסטרוקט החליף את רצפי ה-GUS בפלסמיד המקורי, והביא אתו promoter ו-terminator. התקבל הפלסמיד הבינארי 105-430-2 (ראה תמונה 3).
9. באותה דרך נבנה פלסמיד בינארי הנושא את הגן השלם ל-coat protein.
10. נסרקו מספר חיידקי אגרובקטריום המתאימים להדבקה של *N. benthamiana*. נבחרו החיידקים EHA-105 ו-LB-4404 שנמצאו גם כ-compatible לפלסמיד הבינארי (החדרת הפלסמיד נעשתה הן ע"י electroporation והן ע"י triparental mating).
11. החיידקים המהונדסים הודבקו לצמחי *N. benthamiana* והתקבלו צמחים טרנסגניים הנושאים את כל הקונסטרוקטים המצויינים לעיל.
12. הצמחים כוילו להדבקה מכנית ב-GVA, ומידת העמידות נבדקה הן ע"י הופעת סימפטומים והן בעזרת ELISA.
13. נעשו תרביות עוברים ממאבקים בלתי מפותחים של פרחי גפן (110 Richter). הקונסטרוקטים המתוארים בסעיפים 8, 9 הוחדרו ל-*Agrobacterium* LBA 4404. התאים המותמרים גודלו על מצע נוזלי תקופה ממושכת, ולאחר מכן הועברו למצע מוצק. כרגע ישנם 60-80 צמחוני גפן טרנסגנית שהותמרו בגן ל-coat protein של GVA במצע מוצק והעמידים להיגרומיציין.

מסקנות והשלכותיהן

הפרויקט בוצע בהצלחה ולפי לוח הזמנים שנקבע בהצעת המחקר המקורית: רצף הגנום של גזע מקומי של הוירוס GVA נקבע כמעט במלואו (נדרש ת השלמה קטנה ואימות של מספר איזורים) ובודדו מיבנים גנטיים של הוירוס GVA שהוחדרו לצמחי בוחן עשבוניים (*N. benthamiana*). קיימים לכן צמחי מודל טרנסגניים שעליהם נבדקה האפשרות של הקניית עמידות ע"י המיבנים הגנטיים שהוחדרו לגפן עצמה. כמו כן פותחה הטכנולוגיה של התמרת גנים. תהליך ההתמרה של הגפן בגנים הויראליים נמצא בעיצומו, ואנו מצפים לגפנים טרנסגניות הנושאות רצפי GVA כבר בחדשים הקרובים. בדיקת הקניית עמידות בגפן יתארכו לשנים אחדות, שכן שיטות האיבחון בגפן (מעבר ל-ELISA), הן איטיות, אך הכרחיות לגיבוש מסקנות סופיות. כפי שתוכנן מראש, בדיקות העמידות בגפן עצמה מהוות מטרה של פרויקט המשך. יש לציין כי לפחות במקרה של עמידות מוקנית ע"י גן ל-coat protein מושרית עמידות כמעט בכל צמח לגבי הוירוס שממנו הוצא הגן, ולכן הסיכוי לקבלת עמידות הוא גבוה, ולמרות מיגבלת הזמן שהביולוגיה מכתיבה בכל הקשור בגפן עצמה, יש טעם להקדיש מאמץ לבדוק זאת לאשורו.

טבלא 1: רצף ה - GVA כפי שנקבע בארץ והשוואתו לרצף שנקבע באיטליה.

היות וחסר קטע קטן באמצע הרצף הישראלי ובסופו המיספור של רצף זה אינו רציף, אלא מייצג את המספר הרץ של כל שבת שנקבע בו הרצף וחובר יחדיו.

GVA 1-7022

	10	20	30	40	50	60
Israel	GAATATTTAACTTGATTTC	CCATTGATTATAAGTGA	CATACGTTACCAGCACCC	ACGCT		
Italy	GAATATTTAACTTGA-TT	CCCATCGATTATAAGTGA	CAAAACGTTGCCAGCACCC	ACGCT		
	10	20	30	40	50	
	70	80	90	100	110	120
Israel	CTGCAAAGTACCTGTATTT	CACGCCATGTCAATATC	AGTATCCTCCCAACGTGT	AGCA		
Italy	CTGCAAAGCACCTGCTAAT	TCACTACCATGTCGATAT	CAGTATCCTCCCAACGTGT	CGCA		
	60	70	80	90	100	110
	130	140	150	160	170	180
Israel	GTTTCCAACCTCTACACTA	ACGGATCTGAAGAATCAG	TAAAGCCATAAAGGAGTT	AAAG		
Italy	GTCTCCAACCTGTACACGA	ATGGATCTGAGGAGTCAG	TAAAGCTATTAAGGAGTT	GAAA		
	120	130	140	150	160	170
	190	200	210	220	230	240
Israel	AGCAAACGGTTATTGGAA	ACCGAAACAGGTTAGAT	GGGCTTTTGTACTACAT	CCCA		
Italy	AGCAAACGGTTATTGGAA	ACCGAAACAGGCTAGAT	GGACTATTGTACTACAT	TCCA		
	180	190	200	210	220	230
	250	260	270	280	290	300
Israel	GACACCTTGAGAGAAAT	ACTCTCTGGTTATGGTAT	GGAGTTCTCAGTCCACT	CTTCCAG		
Italy	GATACCTTAAGAGAAAT	TCTTACAGGCTATGGTAT	GGAGTTCAGTGTCCACT	CTTCCAA		
	240	250	260	270	280	290
	310	320	330	340	350	360
Israel	GGGCACGCTCACCCCGT	AAGTAAATGATTGGAGA	ATCATATGCTGTATAGAG	TAGCGCC		
Italy	GGACATGCTCACCCCGT	AAGTAAATGATTGGAGA	ATCATATGCTGTATAGAG	TAGCACC		
	300	310	320	330	340	350
	370	380	390	400	410	420
Israel	GAATATTTTCTAACCAAT	ACCCTTGTAGTTAGCTGT	AAAGGAAAAATCAAGCG	CCCT		
Italy	AAATTACTTTTCTAGTAAT	ACATTGGTAGTTAGTTGT	AAAGAGAGCAAGATAAAG	CGCCT		
	360	370	380	390	400	410
	430	440	450	460	470	480
Israel	AAGATTAAAGAACGCAGG	TAAAGGAATTTGAACCT	CACACAATACAATAGATT	GGTACA		
Italy	ACGTCTGAAGAATGCAACA	ATAGGAATTTGAACCT	CACACAGTACAATAGATT	GGTGCA		
	420	430	440	450	460	470
	490	500	510	520	530	540
Israel	CGCCAAGGATCATCACAG	ATACGAGAATGCGTTCA	GAGAGCTAGACGTTGGG	CAATCTGA		
Italy	TGCAAACCATCACACAGAT	ACGAAAACGATTGAGAGA	ACTCGACGTTGGG-AAT	TTGA		
	480	490	500	510	520	530
	550	560	570	580	590	600
Israel	CAAAATCTCATAAACAAG	GGAATCCCAAAGCGAGT	GCATCTTCATTTCATGAC	GAAAGTTCAAT		
Italy	CAAAATCTCATAAACAAG	GGAATCAGAGTGAATGCAT	ATTCATACATGATGAGG	TTCAAT		
	540	550	560	570	580	590

	610	620	630	640	650	660
Israel	ATTGGAGCCTAGACGAAATGCAGAGATTCTTAGGTAGCTTGTCTAAGGTAGATAGAATAG					
Italy	ACTGGAGTCTAGACGAGATGCAAAGGTTCTTAGGTAGTCTCTCCAAAGTCGATAGAGTAG					
	600	610	620	630	640	650
	670	680	690	700	710	720
Israel	TGTACAGCATCATATACCCAGCGGAGGTAGAAGCGGGTATTACAGAGCCTGTTCCCCG					
Italy	TGTATAGTATCATATACCCATCAGAGGTCGAGGCTGGATATTACAAAGCCTATTTCCAG					
	660	670	680	690	700	710
	730	740	750	760	770	780
Israel	AGGCATATACTTTTGATTAAAGAGGGGAGGCTCATATGGTACCCTGATGGTAAGGCCG					
Italy	AGGCGTACACTTTTGACCTCAAAGACAGGAGATTAGTATGGTACCGGACGGGAAGGCTG					
	720	730	740	750	760	770
	790	800	810	820	830	840
Israel	AGGGCGCCTACACTCAGCCAATCAACCCTTGGCTATTAAGGTGCTCAAAAACCGAGGACT					
Italy	AAGGAGCCTATACGAGCCTGTGAACCCTTGGCTGCTCAGATGCTCAAAAACGGAGGATT					
	780	790	800	810	820	830
	850	860	870	880	890	900
Israel	CCAAAGGCAGGTCATGGACTATAACCAAATTGCAAACCTGTTGGGGCTCACCACCTCTTTA					
Italy	CGAAGGGGCGATCATGGACGATCACAAGCTCCAAACCATCGGAGCTCATCACCTCTTTA					
	840	850	860	870	880	890
	910	920	930	940	950	960
Israel	GTGCAATAAGGGGAAGTTATCTGACGGAGGAATCATACAAATATGATAACTTCACGATAA					
Italy	GTGCAATAAAGGGGAGCTACTTGACGGAGGAATCGTACAAGTACGATAACTTCACGATCA					
	900	910	920	930	940	950
	970	980	990	1000	1010	1020
Israel	TCAACCCCAATGATATCCTGAGAGGGAGGAGAGGGACCAACCCGCTATAACTTGAGAGCC					
Italy	TAAACCCTAACGATGTTCTGAAGGGAAAGAGAGGGCGGAAACCACTCTATC-TACGGGCC					
	960	970	980	990	1000	1010
	1030	1040	1050	1060	1070	1080
Israel	CGTATGATAAAGCCCAACACTGCTATATTTTCTGGCATTAAAGAAGAGTGACTCGAATT					
Italy	CGCATGATCAAG-CCAACACTTCTGTA-CCTCTGGCTCTGAAGAAAAGCGACTCCAAC					
	1020	1030	1040	1050	1060	1070
	1090	1100	1110	1120	1130	1140
Israel	CTGCGGTGGCCAAGCTGCGAATGCTGAGCAGCCGCGAAGAGAACATGGACGAGGCACTAT					
Italy	CCGCAGTCGCAAAGCTAAGGATGCTGAGCAGCCGGAGGAGAGAACATGGACGAGGCCCTAT					
	1080	1090	1100	1110	1120	1130
	1150	1160	1170	1180	1190	1200
Israel	TCGTGGCTCAACTGGCGAAGCAAATCAGGGACACAGCGCTCTATGACAAGATGGGCAATC					
Italy	TTGTGGCACAACCTCGCAAAGCAGATAAAGGACACGGCTCTGTATGACAAGATGGGGAACC					
	1140	1150	1160	1170	1180	1190
	1210	1220	1230	1240	1250	1260
Israel	CAAGTCTGCGGAGCATACTGTCCGAATCATTCTACGATGTGGCCGAAATCTGTTCACTA					
Italy	CTAACCTGAGGAGTATACTGTCTGAATCCTTCTATGATATCGCAGGAAGCCTCTTTACTC					
	1200	1210	1220	1230	1240	1250
	1270	1280	1290	1300	1310	1320
Israel	GATTGTTCAACAGGCCAGAATACGATGCCAGGTGCTTGGAGAAGTTCATCAGGGCCTGCG					
Italy	GCTTATTCAATCGCCCCGAGTATGATGCGAGGTGCTTGGAGAAATTCATAAGGAGCTGTG					
	1260	1270	1280	1290	1300	1310
	1330	1340	1350	1360	1370	1380
Israel	AAACCACAGAGATACACATCGGCAGAGGTTTCATGGAGGGGTGCTACGGGGCTCCAGTT					
Italy	AAACCACAGAGATACATGTGAACGGAGATACATGGAAGGCATAAGAAGAGGGGCCTCAT					
	1320	1330	1340	1350	1360	1370

	1390	1400	1410	1420	1430	1440
Israel	ATCAGGTTTCAGAAAGTAGTAGATTGGGTTT	GAGGACGAAGAGGCCAACGCGCTGAGTGAGG				
Italy	TCAAGGTTCAAAATGT	CATGGACTGGGTCGAGGACGACAGCGCCAACGCGCTCAGTGAGG				
	1380	1390	1400	1410	1420	1430
	1450	1460	1470	1480	1490	1499
Israel	TCAATCTTGTTGAACTCACGAGAAATGAAAGAGAGCCACAGCCATACGG	-ATCAGAGCAA				
Italy	TGAAGTTCTCGACATCAGCTGGAACGATAGAGTGT	CAGAGCCCTATGGCATCGAATGCA				
	1440	1450	1460	1470	1480	1490
	1500	1510	1520	1530	1540	1555
Israel	TTGCAAGGGTCAAGTGCTAGGGTGAGGTTCCCTTTGAGTCGGGCTAATGAGGGCGCACGAA					
Italy	TT-CACGGAGAGGGAGTAGGATAAGGGTCCCACCTATCCAGAATACTCAGGGCCCCACGAA					
	1500	1510	1520	1530	1540	1550
	1560	1570	1580	1590	1600	1610
Israel	ATGGTGCATGAGGCTCAGTTCGAGGT-CAACTTTAATCACATCAGAATAGTGTGCTCCTC					
Italy	TTGATTGCAGGGGTCCAAACAGATGTGGAAATCAACTTCCCGCGGTAT-GTGTGCTCCTC					
	1560	1570	1580	1590	1600	1610
	1620	1630	1640	1650	1660	1670
Israel	TAAAGCCCTGGTGCACCTTAAGGCAATACCTGATCAGACTGGGCAGGTTCAAGTTTCATGGA					
Italy	TAGAGCCCTCATACACTTCAGGCAGTACCTCATCAAGCTTGGGAGGTTTCAGTTTCATGGA					
	1620	1630	1640	1650	1660	1670
	1680	1690	1700	1710	1720	1730
Israel	AGGCAGAGCAATAGAGGACATACAAGACATTCAAGAGGGGCTTGAAGTGGGCCTGATCAC					
Italy	GAGCAGGGCCATCAAGGACATCGAAGACATACAAGCAGGACTCGAAGAGGGGTGATCAC					
	1680	1690	1700	1710	1720	1730
	1740	1750	1760	1770	1780	1790
Israel	AGAAGAAGAGGTTGAATCAGCGCTGTTA-CCACCGGACAAACATCGCAGCCAGCGGAAGAAG					
Italy	AGAGGAAGAAGCGGAACTGCGCTTATTACCCACC--ACAAGCGGAA--GATCACAGAAA					
	1740	1750	1760	1770	1780	1790
	1800	1810	1820	1830	1840	1850
Israel	CCCAAGAAGAGGTACAGCAAAGCGGTCCCATTGAAGAG-GTGA-GT-GAAAAGTTCATGG					
Italy	TCCACATGGATGATGACACGCCAGGAACCAAGTGGCGAGAGTGATGTGGAGAAGTTCAAAA					
	1790	1800	1810	1820	1830	1840
	1860	1870	1880	1890	1900	1910
Israel	GGGCACGCAAAATTGGTTAAGGAGAACATTTACTCTGAAAAACTGCACAACAGAGAGGTGG					
Italy	GTGTGAGGAGCCTGTGTCGTGAGGAAATCTACTCCGAGAAACTGAAAGGGCGCGAGGTGG					
	1850	1860	1870	1880	1890	1900
	1920	1930	1940	1950	1960	1970
Israel	CCTTTTACAGCCGGTACAGCAAGCAGTACAGTTACAAAGGGGGCTCACACCACTCACTCG					
Italy	CGTTCTATAGCAGGCACAGCAAGGAGTACAATAACAATGGGGGCTCCCATCGTTCCCTCG					
	1910	1920	1930	1940	1950	1960
	1980	1990	2000	2010	2020	2030
Israel	GATGGGATAAAGCTTTGGATGAGCTCATACAAGAGTTGGGCCTAGATGAGAGCTATGACC					
Italy	GTTGGGATGAGGCTCTAAATGAGCTCACACAGGAAGTGGGCCTAGATGATAGCTACGATC					
	1970	1980	1990	2000	2010	2020
	2040	2050	2060	2070	2080	2090
Israel	ACTGTCTCATTCAACGGTACTCTGAGGGTGGCAGTATCAATTTCCACGCCGATGATGAGC					
Italy	ATTGTCTGATCCAAAGATACACGGCAGGGGCGAGTATAGGATTCACGCAGATGATGAAC					
	2030	2040	2050	2060	2070	2080
	2100	2110	2120	2130	2140	2150
Israel	CCTGCTATCTACCAGGAGGAACCTGTGGTGACGGTGAATTTGAATGGGGAAGCAATCTTTG					
Italy	CATGCTACCTACCAGGGGGTCCGTCGTGACUGTCAATTTACACGGCGACGCTACTTTTG					
	2090	2100	2110	2120	2130	2140

	2160	2170	2180	2190	2200	2210
Israel	AGTTGAAGGAGAACACATCAGGCAAAACCGAGTCAAAAAGATTAAAGGATGGTGTATGTGT					
Italy	AGGTGAAAGAGAAATCAATCCGGGAAGATCGAGAAGAAGGAGCTACACGACGGGGATGTGT					
	2150	2160	2170	2180	2190	2200
	2220	2230	2240	2250	2260	2270
Israel	TCACAATGGGCGCAGGAATGCAGCAAACCCATAAACACAAGGTCACCTCACTCACTAACG					
Italy	ACGTGATGGGTCCAGGAATGCAACAAACTCACAAAGCACAGAGTTACCTCTCACACGGATG					
	2210	2220	2230	2240	2250	2260
	2280	2290	2300	2310	2320	2330
Israel	GGCGATGTAGTATCACTCTGAGGAACAAGACAGTGGACTACGAGGCAAGGACGGAGGCAA					
Italy	GCCGCTGCAGCATCACCTTCGGAACAAAACGGTAGATTATGAAGCCAGAAAGGGCGACG					
	2270	2280	2290	2300	2310	2320
	2340	2350	2360	2370	2380	2390
Israel	TCAATTCGATTACGAGGAGGATGTAGCAGCACTGGACGAGGGAATTGAGTACCTCCAAA					
Italy	AGGATTCTGAGTATGAGGAGGACAAAGCTGAAGTGGATGAAGGCATTGACTACCTACAGA					
	2330	2340	2350	2360	2370	2380
	2400	2410	2420	2430	2440	2450
Israel	AGAATCAAGGGAATATGTGCTCCCTGAAGGCTTTTGCTGAACACATGCAATTGAGCATAC					
Italy	AAAATCAAGGCAACATGTGCTCCCTCAAAGCTTTCGCTGACCACATGCAGTTGAGCACCC					
	2390	2400	2410	2420	2430	2440
	2460	2470	2480	2490	2500	2510
Israel	CAAGCGTGATCTCAATAGTAAATGGCGCATCGCCACAAACACTGAGAGAAATAGAAGGTG					
Italy	CAAGCGTCATAGCCATAGTCAACGGGGCATCGCCACAAACCTGAGGGAAATAGAGGATG					
	2450	2460	2470	2480	2490	2500
	2520	2530	2540	2550	2560	2570
Israel	GTGGGATCAGTGTGCGGACGCTTGTGAATCTCTCGAGGGCGCTGGACTTCCCGATCGCCA					
Italy	GCGGGTACAGTCTGGCTACACTAGTCAACCTCTCAAAGGCACTCGATTTTCCAATAGCTA					
	2510	2520	2530	2540	2550	2560
	2580	2590	2600	2610	2620	2630
Israel	TCCATGGAGAGAGAGGATATGCTGAAACGCCTGGAACATATAGAAGATTGCACCTCAAGA					
Italy	TACACGGCGAGAGGGGGTACGCTGAGACACCAGGGTCTTACAGGCGTCTGCACCTGAAGA					
	2570	2580	2590	2600	2610	2620
	2640	2650	2660	2670	2680	2690
Israel	TCACAACAGGGCACGTGGAACCATTCGATGGAGTCAACAAGTAAGGGCGGTCTTAAGGAGG					
Italy	TCACATCAGGGCACGTGGAGCCTTTCGAGGGCGTGACAAGCAAGGGGGCTTATGGGAGG					
	2630	2640	2650	2660	2670	2680
	2700	2710	2720	2730	2740	2750
Israel	CCCTGTGCTGAGCGATGGCGTTGGAATAGGTCTATTTAGAGTGGACAAAATAAGGCTG					
Italy	CCATGCTGCTTGGTGACGGCGTCGGAGTCGGGCATTTCAGGGTGGACAAAGCCAAGGCCG					
	2690	2700	2710	2720	2730	2740
	2760	2770	2780	2790	2800	2810
Israel	ACCGCCTTGCCCAAAGTTTCTACAACGGGAACACAGGGGTGCTTCTGGGAAAGTACAATA					
Italy	ACCGTCTGGCTCAAAGTTTCTACAATGGAACACGGGGGTCTGCTCGGCAAGTACAATA					
	2750	2760	2770	2780	2790	2800
	2820	2830	2840	2850	2860	2870
Israel	AAGGCAAGATGCACTCAGAGGGCATAGATGAACCAAGGAGGTGCTCACCCTTTCCGGAT					
Italy	AAGGCAAGATGCATACGGGCGAGATAGAGGAGCCAAAAGAGGTTCTAACGGCCTTTGGAT					
	2810	2820	2830	2840	2850	2860
	2880	2890	2900	2910	2920	2930
Israel	TTGCAGGTTTCAGGGAAGTCACTGGTGTCAAACCATACTTAAACACTGTTCCGTAGAGA					
Italy	TTGCAGGATCAGGGAAGTCACTGGTGCCAAACCATACTTAAACACTGTTCCGTGGAGA					
	2870	2880	2890	2900	2910	2920

	2940	2950	2960	2970	2980	2990
Israel	AAGCCCTCGTTATCAGCCACGGAAGGTACTCAAAGACGACTGGACCTCAAAGATCTCAA					
Italy	AAGTGCTTGTGATTAGCCCAAGGAAAGTGCTCAGAGATGATTGGGTAGCAAAATATCCA					
	2930	2940	2950	2960	2970	2980

	3000	3010	3020	3030	3040	3050
Israel	AGAGGCACAAAGTGGTGACATTGAGAGTGGCTTTTCATGGATGATTATGGCTGCAAGGATG					
Italy	AGAAGCATAGAGTGGTAACTTTTCGAGGTGGCATTTCATGGACGACTACGGCTGCAAGATA					
	2990	3000	3010	3020	3030	3040

	3060	3070	3080	3090	3100	3110
Israel	TGGTTATCGACGAGATCGGGTGTCTACCTCCTGGGTACATCGATTTAGTCATTGCTGTGC					
Italy	TCGTGATAGACGAGATCGGTCTTCTACCACCTGGGTACATAGACCTTGTGATAGCCGCAC					
	3050	3060	3070	3080	3090	3100

	3120	3130	3140	3150	3160	3170
Israel	ATAGACCACGTACACTGGTGCTCCTGGGGGATCCACTGCAAAGCACCTACCACAGCAAGC					
Italy	ATCAGCCACGCACCTGGTGCTCCTGGGAGATCCTCTTCAAAGCACCTACCACAGTAAAC					
	3110	3120	3130	3140	3150	3160

	3180	3190	3200	3210	3220	3230
Israel	GTGACAACGTAGTCTTGGAGGCCAGTCAAGAGGACATCTTTGCCAGGATCAAAGGGCAGC					
Italy	GTGACAATGTGGTCTGGAGGCTAGTCAAGAGGATGTCTTCAATCGGGTGAGAGGGAAAC					
	3170	3180	3190	3200	3210	3220

	3240	3250	3260	3270	3280	3290
Israel	TACCATACCTCTGCTACTCCACCGGCTCCCAAAGAATTGCAGATTATTCGAGCTAGAGT					
Italy	TACCATACTTATGCTACTCACATAGGTTAACCAGAACTGCAAGCTGTTGCAAAATAGAAT					
	3230	3240	3250	3260	3270	3280

	3300			10	20	30
Israel	GCATGGGAGC			CAAGGGCTAAGCTTCAAATCGTGTCTCATT		
Italy	GCATGGGGCCG			CAAGGTCTGAGCTTCAAATCATGSCCTCATT		
	3290			3420	3430	3440

	40	50	60	70	80	90
Israel	CACCTTGATGAGCATTGGGCGAAGAAAGAGGATGAGGATGTGATGGTGGCCCTGACAAGA					
Italy	TATCTGGACGAGCACTGGGCAAAGAAAGAGATGAGGACGTGATGGTGGCCTTAACCCGC					
	3450	3460	3470	3480	3490	3500

	100	110	120	130	140	150
Israel	TCAAGAGGGGAAATAGGCATAAACGTCAACCAATGCACTCAAGAAGACGTTGATCGCGAG					
Italy	TCCAGAGGCG-AAATCGGCATACATGTAACCCCTGCTCTGAAGAAGAACTGATCACCAA					
	3510	3520	3530	3540	3550	3560

	160	170	180	190	200	210
Israel	CGCAAAAAGTACGCTGCTCAGGAAAGGTACTCAAGGGGGAGACATATAGGCGTTCTGAAA					
Italy	TGCTAAAAGCACACTGCTGAAGAAA-GTACTCAAGGGCGAAACCTACAGAAGATCGGAGA					
	3570	3580	3590	3600	3610	3620

	220	230	240	250	260	270
Israel	TCGTGCGCATGGCCCGCAAGCATATACCAGAAGTCAACGTTCTCTTCGAGGAGAGTAGGC					
Italy	TAGTGGCAATGGTCCGAAAGCACATACCAGAGACCACAGTGTCTTTGAGGAAAGCAGAC					
	3630	3640	3650	3660	3670	3680

	280	290	300	310	320	-330
Israel	TAGCAGAAAATGTGGATTATGAAGCTAGGTTAGCTGGTGATCCATACTTGAAGTCACTGC					
Italy	TGGCCGAGACGGTGGACTACGAGGCTAGGCTGGCTGGCGACCCCTACCTTAAATCCCTTC					
	3690	3700	3710	3720	3730	3740

	340	350	360	370	380	390
Israel	TCTCGCTCTATGATGAGATTGAAATGGACGAGGTGGAAATTGAAGAACCAGGTGCTCTGG					
Italy	TGGCCCTGTACGACGAGATAGAGATGGAGGACATAGAGATAGAGGAGCCGGTGACACTCG					
	3750	3760	3770	3780	3790	3800

	400	410	420	430	440	450
Israel	AACCGGTTAAAAACCCATCTCGCATTGAGTGAGAAGATGAACGAAGTGGCCCCCTTTCGAAT					
Italy	AGCCACCAAGACCCATTTAGCCCTGAGCACAAAGATGAACGAGCTTGACCATTTGACC					
	3810	3820	3830	3840	3850	3860
	460	470	480	490	500	510
Israel	TGAAGGCCAAAGAGTACAGAGAGCAGTACACGGATGCTGGAAAGGACTGAGCAGATAGAC					
Italy	TCAAAGCAAAGAGCACCAGGAGCAACACACAGAGGCAGG-GCGGACCGAACAGATAGAC					
	3870	3880	3890	3900	3910	3920
	520	530	540	550	560	570
Israel	GAGGAGGGGTATAGCGGGNAAGAGGCCAATCCGATGACCCACAAGGCTTTGTACCTAAG					
Italy	GAGAATGGGTA-CCAGGGAGAAGTGGGTGACCCCATGACCCACAAGGCGTTGTACCTGAG					
	3930	3940	3950	3960	3970	3980
	580	590	600	610	620	630
Israel	ACACACCTCTGATGACACTGCCACGTTTATGATGTCTGTAAGGAAGCGATTGCGCTTCAG					
Italy	GCATACATCTGATGATACAGCTACCTTCATGATGTGCTGAGTCAAAAAGAGGTTGCGCTTCAG					
	3990	4000	4010	4020	4030	4040
	640	650	660	670	680	690
Israel	AAACTATGAGGCAAACAGAAAGGAGTACAAGGCATGTAATGGCATCGGAAAGCAGATGTT					
Italy	AAACTATGAAGCCAACAGAAAGGAGTACAAGACTTGCCACGGTATAGGGCACCAATGTT					
	4050	4060	4070	4080	4090	4100
	700	710	720	730	740	750
Israel	CTCGGTCTTCAAGGAGACATACCAGTTGAAGGAGATCGATTCCCTACCCGATCTGGAGAG					
Italy	CTCGGTGTTCAAGGACACATACCAGCTCAAAGAGATTGACTCACTGCCGAACTGGAAAG					
	4110	4120	4130	4140	4150	4160
	760	770	780	790	800	810
Israel	GTGCGAAATGGAATTCATGAAGAAACGCGTGGAGAAGAGCGCGGGTCTAATAGAGCAGCA					
Italy	GTGCGAAATGGAGTTTCATGAAGAAGAGGATAGAGAAGAGCACCAGGCTTATCGAAAAGCA					
	4170	4180	4190	4200	4210	4220
	820	830	840	850	860	870
Israel	TGCCGGGCGTAGTGACCCAGACTGGCCAAGCAACTACCTGAAAGATCTTTCTGAAAACAG					
Italy	TGCCGGAAGGAGTGACCCAGACTGGCCGAGCAATTACCTCAAA-ATATTCT- AAAGCAG					
	4230	4240	4250	4260	4270	4280
	880	890	900	910	920	930
Israel	CAGACCTGTACAAAAATGGTAGTAAACGCGCGNTGGACGCAAAGGCGGGTCAAACCAT					
Italy	CAGACCTG-CACAAAAATG---GAAAAGAGGGGGTGGATGCTAAGGCGGGACAAACCAT					
	4290	4300	4310	4320	4330	
	940	950	960	970	980	990
Israel	AGCCTGCTTCGCCCCTCCGTGCTTGTGGATTGCGCCCAATACTCAGACAGACAGAAAG					
Italy	CGCCTGTTTCGCTCATTGCGTGTGTAGATTGCGGCCCATTTCTGCGTCAAACCTGAGAA					
	4340	4350	4360	4370	4380	4390
	1000	1010	1020	1030	1040	1050
Israel	GGCACTCAGGGAAGTGTACCGGGAGAAATGTAATGATATACTCTCAGAAAGAACTACATG					
Italy	AGCGCTACGGGAGCTCCTGCC-CGAGAAGCTCATGATATACTCTCAGAAA-AAGTACATG					
	4400	4410	4420	4430	4440	4450
	1060	1070	10	20	30	
Israel	GACCTGGACAAATGGGCCAAGACCTGGGTGAGAGCATGATGGGACGGATTCC					
Italy	GACTTGGATAAATGGGCTAAGACGTGGGTAGAGAGCATGATGGGACGGACTCC					
	4460	4470	4480	4490	4500	
	40	50	60	70	80	90
Israel	GATTATGAGGCCTTCGATCGATCTCAAGATGAGAAAGTGCTAGATCTAGAGGTAGAAGTG					
Italy	GACTACGAGGCATTCGACAGATCACAAGACGAGAAAGTGCTGGACTTGGAGGTGGAGGTC					
	4510	4520	4530	4540	4550	4560

100 110 120 130 140 150
 Israel CTTCCGCTTCTTCTATGGCCGGAGGATTTAATCAGGGAGTACGAGGAGCTTAACTGATG
 Italy TTGCGCTTCTTCTATGGCCGAAGATTTAATCAGGGAGTACGAGGAGCTTAACTGATG
 4570 4580 4590 4600 4610 4620

160 170 180 190 200 210
 Israel ATGGGGTGCGCACTGGGTGATCTAGCCGTCATGCGGTTTTCGGGCGAGTTCGGGACATTG
 Italy ATGGGATGTGCATTAGGCGACCTGGCGGTGATGAGGTTCTCCGGGAATTTCGGCACCTTC
 4630 4640 4650 4660 4670 4680

220 230 240 250 260 270
 Israel TTCTTCAACACCGTATGCAACATGGTATTTAGCTGCATGCGCTATCATATGGATCGCAAC
 Italy TTCTTCAACACCGTGTGCAACATGGTATTTAGTTGTATGCGTTACCACATAGACAGGAAT
 4690 4700 4710 4720 4730 4740

280 290 300 310 320 330
 Israel ACCCCAATATGTTTCGCTGGGGATGACATGTATTCACCTGGGGATCCTGAGGACAAAGAA
 Italy ACCCGATGTGCTTTCGGGGGATGATATGTATTCGCC-AGGCATTCTGAGAGTGAAGAA
 4750 4760 4770 4780 4790 4800

340 350 360 370 380 390
 Israel TGATTATGAGGGGACTCTAGACCAACTGACTCTGAAAGCGAAAGTGCATATATCTGAAGA
 Italy GGATTACGAAGCCACTCTCGACCACTTAAAGCCAAAGTCCATATATCTGAGGA
 4810 4820 4830 4840 4850 4860

400 410 420 430 440 450
 Israel GCCATTGTTCTGTGGTGGAGGATGAGCCCTTCGGGATAGTGAAGGAGCCCAATCTAAT
 Italy ACCCTCTTCTGTGGTGGAGGATGAGCCCTTCGGAATAATCAAGGAGCCAAATCTCAT
 4870 4880 4890 4900 4910 4920

460 470 480 490 500 509
 Israel CCTGGATCGCTGGAAGATCGCG-AAAAGAAATGGAAATCTGTCACTCTGTCTCGTCAACTA
 Italy ACTCGACAGGTGGAAGATAGCGCTGAGGAGCGGGAATCTATCACTATGTTGGTGAACCTA
 4930 4940 4950 4960 4970 4980

510 520 530 540 550 560 569
 Israel CGCGATTGAGGCTAGTTTGGGTACAGGTTAAGCGAGTACCTGTATGATGTTAATATAGA
 Italy TGCGATCGAGGCAAGCTTGGGTACAGGTTAAGTGAACCTGTATGATGTGAATATTGA
 4990 5000 5010 5020 5030 5040

570 580 590 600 610 620
 Israel CGTCGATGCTCAGCAAGAACTGATAAGGGAGATTGTG-GAAAGTAACAC-TACTGCCGAA
 Italy TGTGATGCACAGCAAGAGCTCGTGAGGGAATAGTGATCAAAAAGCACTTGCTACCAA
 5050 5060 5070 5080 5090 5100

630 640 650 660 670 680
 Israel AAAGA-AGCATATCTTTTCACTGAGGACGAGTGCAGGCGCACAGCGATGGCGACGAGGA
 Italy GAAGATATCTGATCTTTTCAAGCAAGACGAGTGCAGGCGCACAGCGGAGGATGAAGA
 5110 5120 5130 5140 5150 5160

690 700 710 720 730 740
 Israel CTTTTGAGTAATGACATCGCAAAGTTGTACAGAGTTGGTTGAGTTCTTGAGTCAGGGTG
 Italy TTTCTTAAGCAATGACGTCGCGAGATTGTACAGGATTGAGTGAATTTCTAGGACATGGTA
 5170 5180 5190 5200 5210 5220

750 760 770 780 790 800
 Israel GTGATAGGTGCAGTTTAGATAGAAGTCACTTGAGTCTTGTCTATACACAGTGTCTGT
 Italy GTGATAGCTGTGATTAGGTAGTGGGTCTCTAGGCTTTGTCTATGTACAGTGTGTCA
 5230 5240 5250 5260 5270 5280

810 820 830 840 850 860
 Israel ACTTATTGTCTGATCTTAGAGACCTAGGATATCATAGTATAGATAGCATATTNCNTATAC
 Italy ATCTTTTGAAGTATCTAAAGAGTTAGGGTACCAGATATAGATAGCATATATATTT
 5290 5300 5310 5320 5330 5340

	870	880	890	900	910	920
Israel	TGGAGTGTANCGAGGCGGAACGTTTCGAAATCTTTCGAATCTTCCGGAGGCACGGAATCG					
Italy	TGGGTGGTGGCGAGGCGGAACGATTTCGAGATCTATCGAATCTTCCGGAGGCACGGAATCG					
	5350	5360	5370	5380	5390	5400

	930	940	950	960	970	980
Israel	GGATTGGAGAGGCTTTACAGCTANGCGTGANAAAAAGTTTGTGTTACAGTCCGAGAAGCA					
Italy	GGATCGGAGAGGCTTTACAGCTAGGCGTCAAAAAGAGTTTGTGCAACAGTCCAAGAAG-T					
	5410	5420	5430	5440	5450	5460

	990	1000	1010	1020	1030	1040
Israel	CCGCAGAGATAACTGGGACGACCTCCTGTCCAGGATAAGCAGGGGAGGTGCCTTCCTAC					
Italy	CTACTGGCAATACT-AGATGACTTGTGT-CTAGACTTGGGAGGAGGAGCGCTTTCTTC					
	5470	5480	5490	5500	5510	5520

	1050	1060	1070	1080	1090	1100
Israel	CAAGTGATCTGGGTGCAGTGAAGGAGAACTTCTGGTTACATTCCAACCGTCCAGATTAA					
Italy	CAAGTGATCTGGGGGAGTCAAAGGTGAGCTGGTAGCAACGTTCCACTCGTCCAGATTAA					
	5530	5540	5550	5560	5570	5580

	1110	1120	1130	1140	1150	1160
Israel	GTGTAGACCTCTACGCTAATAACAAGAAGGTGTGTACCAGGACGTGT-CAAGGCAGAGGC					
Italy	GTGTAGACCTTTACGTTAATAACAAGAAGGT-TGTACGCGATCAGTGCAAGCGGAAGGT					
	5590	5600	5610	5620	5630	5640

	1170	1180	1190	1200	1210	1220
Israel	GACGCAGGCTATGTGCGACGGAGATTCTCAGGCTACAAAGGGCTCGCCCTCAGATCCCAA					
Italy	GATTACAGCTATGTGCAAGAAGGTTCTCTGGGTACAAAGGCCTCATCCTTCGAGCCACA					
	5650	5660	5670	5680	5690	5700

	1230	1240	1250	1260	1270	1280
Israel	GGAAATTAAGATCTTCAATGTCAAGAGAAACACAAAGGATCTCGAGACACTGAACAAGAG					
Italy	AGATATTAAGGTCTTTACGTCAAAAGGAGCACCAGAGACCTCGAAACTCTCAACAAGAG					
	5710	5720	5730	5740	5750	5760

	1290	1300	1310	1320	1330	1340
Israel	CCTCCACAGGGGAGATGTGTACGACACGGAGCTAATAGAGCGTGTGTTTCCAAGACGCAC					
Italy	CCTGCATCGGGGTGACGTGTATAACACAGAGCTCATAGAGAAGGTTTTTCCAAGGAGAAC					
	5770	5780	5790	5800	5810	5820

	1350	1360	1370	1380	1390	1400
Israel	AAAGAAATGCGTCGTGCACAAGGAGCTAGTCGTTCAAGATGGCCGAGTGGATTGCGAGCT					
Italy	GAAGAAGTGCGTCATCCACAAGACGTCATCGTTAAGGACGGCCGCGTGGACTGCGATCT					
	5830	5840	5850	5860	5870	5880

	1410	1420	1430	1440	1450	1460
Israel	GGATCTGATGGACGGGGTTTGGATGATATAGATGAGACAGAATACCCGCTCTACCACGT					
Italy	GGACATCATGGATGAGGGCTAGACGACATAAATGAAGAGGAATCCCCTCTACCATGT					
	5890	5900	5910	5920	5930	5940

	1470	1480	1490	1500	1510	1520
Israel	GGGGTGTATCGTCGTCGCATTAATGCCACATGGTAAGAATCTCCAGGGCAAGGTGGTGT					
Italy	AGGGTGCATAGTGGTGGCGCTGATGCCACATGGTAAGAACCCTCAAGGCAAGGTGAGTGT					
	5950	5960	5970	5980	5990	6000

	1530	1540	1550	1560	1570	1580
Israel	CGAGGTGATAGATACCCGGCTCAAGGTTGGGTGAGGGCGGATCTCTAGGAGCGTGATGGA					
Italy	CGAAGTTTATAGACACGAGGTGGTAGACGGGCATCAAGGATATCTAGGACCCTCATGGA					
	6010	6020	6030	6040	6050	6060

	1590	1600	1610	1620	1630	1640
Israel	TATGTCGAAACCCTTAAGCGCATGTGCAGACTTTCCCGGGGTAACCTTCAATAGTACTTCC					
Italy	TATGTCAAAGCCATTGAGCGCCTGTGCTGAC-TTCCCGGGT-ACCTTCAATAGCACCAGT					
	6070	6080	6090	6100	6110	6120

	1650	1660	1670	1680	1690	1700
Israel	GATCTCCTGAACCCATTACACGTTGCACCTCTCCATAACCCAACTGATCTGCAGTTTGT					
Italy	GATCTGCTGAACGGA-TACACACTGCATCTCTCGATAACCCAACTGATCTGCAGTTTGT					
	6130	6140	6150	6160	6170	6180
	1710	1720	1730	1740	1750	1760
Israel	GGACGGCGTGCACCCATTTACGCGTACAACCTCATGAATATCGGGCGTCTCTGCGGGGATG					
Italy	GGACGGAGTACATCC-TTTCAGTGTTCAACTGATGAGCATAGGGCGATTCTGCGGTGAAG					
	6190	6200	6210	6220	6230	
	1770	1780	1790	1800	1810	1820
Israel	ACATGAAGACAAGGTATGCGGTAGGAGAGGCCCTNGAAGATCCTGCATCAGAACATCCTAA					
Italy	ACATGAAGACAAGGTACGCGATCACTGAGACCTCCAAATGCTGCACCAGAACATATTGA					
	6240	6250	6260	6270	6280	6290
	1830	1840	1850	1860	1870	1880
Israel	ACTCACAAGGCGATGGCGAGATGATACCGCGTGGTGTGCAAGTGCAAAAAGTACCAGATA					
Italy	ACACGGAAGGCGATGGCGAACTAATCCCAAGGGCGTGCAGTTTCAGAAAAGTACCGGATA					
	6300	6310	6320	6330	6340	6350
	1890	1900	1910	1920	1930	1940
Israel	CCCTAGTTATGCCAGAAGTTTATGAGACAATAAAGAGACTTGGTTTGAAGACATATGGCA					
Italy	CCCTAGTTATGCCAGAGGTGTTTGAAGACAATAAAGAAGTTTGGTTTGAAGACAATGGCA					
	6360	6370	6380	6390	6400	6410
	1950	1960	1970	1980	1990	2000
Israel	CACTACGCCAAGAGGGTGGAGATAAGGGCGATCATAGAGGAAGTGGTCTGGCGAAAGCC					
Italy	CACTACGCCAAGAGGGTAGAGATAAGGGCGATAATAGAAGAGTTGGTGTGGCGAAAGCC					
	6420	6430	6440	6450	6460	6470
	2010	2020	2030	2040	2050	2060
Israel	ACGCCAACTGAGGACGCGTCCGAAAGTGGCTACGACCGAAATATGTACCTGAATACTCTC					
Italy	CAACCAACTGACGACGCTTCTGAGAGCGGCTACGACCGAAATATGTACCTGAACACTCTC					
	6480	6490	6500	6510	6520	6530
	2070	2080	2090	2100	2110	2120
Israel	TTCGGATACATCGCCTTGGTTCGGGACAAGCAAGAAGCGGTTTATTATGGGGAGGTAGAT					
Italy	TTCGGGTATACATCGCCTTGGTTCGGGACAAGCAAAAAGCGGATTATTATGGGGAGGTAGAT					
	6540	6550	6560	6570	6580	6590
	2130	2140	2150	2160	2170	2180
Israel	ATAGTAGGACCTAAAGCTAGCAAGAAACGGGGATCGACCCCTCGCGGAAAGATGGTTGTA					
Italy	ATAGTAGGTCCTAAAGCTAGCAAGAAGACGGGGATCGACCCAGGGGAAAGATGGTGGTG					
	6600	6610	6620	6630	6640	6650
	2190	2200	2210	2220	2230	2240
Israel	TCGGAGCTGGTTCGGCAGAATGCGCACTCTGAGCGTGGCGGTTAGTGAGGGGCCTGTAAAA					
Italy	TCGGAGCTGGTTCGGCAGGATGCGCACGCTGAGTGTGGCAGTAAGCGAGGGACCCGTC AAG					
	6660	6670	6680	6690	6700	6710
	2250	2260	2270	2280	2290	2300
Israel	GGTGCAACCTTGAGGCAGATGTGTGAGCCTTTCGCACAGAACGCCTATGACTTCCTCGTG					
Italy	GGCGCAACTCTGAGGCAGATGTGCGAGCCATTTCGCACAGAACGCCTACGATTTCTCGTA					
	6720	6730	6740	6750	6760	6770
	2310	2320	2330	2340	2350	2360
Israel	CTTATGGCGGAGATGGGCACCTATTACAGCTAGCCACAAAGATGACGAGGTGAGGCTTT					
Italy	GTGATGGCTGAAATGGGCACATACTCACAGTTAGCCACCAAGATGACTAGGTGAGGCTTT					
	6780	6790	6800	6810	6820	6830
	2370	2380	2390	2400	2410	2420
Israel	AAGGAACCACAGGTTATGTTTCGACTTTCGCTCGGGCTTAGATCTGAAAGCACTGACCCGTG					
Italy	AAAGGCCACAGGTTATGTTTCGACTTCGCTCGGGCTTAGATCTGAAAGCACTGACACTA					
	6840	6850	6860	6870	6880	6890

2430 2440 2450 2460 2470 2480
 Israel CAAGAAGCCACTGTGATACAGGCTATGCACTCACGTCTCTTTCGGACAGAAGGTGCAAAG
 |||||
 Italy CAAGAAGCTACTGTGATACAGGCTATGCACTCTCGCCTCTTTCGTACGGAAGGCGCGAAG
 6900 6910 6920 6930 6940 6950
 2490 2500 2510 2520 2530 2540
 Israel GGGGTATTCAACGCTCAACCATCTGTGCGGTGAGCAGGCTGTTGAGATATAGATGGATCCCCCA
 |||||
 Italy GGAGTATTCAACGCTCAGTCATCAATCGGCGAGCAGGCTGTTGAGATATAGATGGATGACCCA
 6960 6970 6980 6990 7000 7010 7020

טבלה 2: קריאות ELISA של GVA במספר צמחי *N. benthamiana* טרנסגניים מדור R0.

Weeks after inoculation	Non transgenic	line 1	line 2	line 3	line 4	line 5	line 6	line 7
4	0.283	0.131	0.162	0.169	0.094	0.076	0.050	0.160
6	0.160	0.153	0.201	---	0.077	0.184	0.092	0.153
8	0.220	0.143	0.270	0.345	---	0.271	0.098	0.105
10	0.215	0.686	0.091	0.174	0.097	0.114	0.097	0.073

* Average blank value from non-infected CP-transgenic plant = 0.057

טבלה 3: קריאות ELISA של GVA במספר צמחי *N. benthamiana* טרנסגניים מדור R1.

Days post inoculation	line 6-1	line 6-2	line 6-4	line 8-3	line R-27-2	line R-27-3	line R-27-5	line 25-2	Non transgenic
5	0.600	0.200	0.700	0.800	0.300	0.100	0.300	0.400	1.270
14	0.600	0.100	0.700	1.300	0.300	0.700	0.400	0.400	1.160
20	0.900	0.600	1.500	1.100	0.200	0.500	0.400	0.500	0.960
35	---	1.400	---	1.600	---	---	1.000	0.600	1.300

3. סיכום חדש לדו"חות מחקר 1997

נא לענות על כל השאלות, בסצרה ולעניין, ב- 3 עד 4 שורות מבסימום לכל שאלה (לא תובא בחשבון חריגה מגבולות חמסגרת המודפסת).

שיתוף הפעולה שלך יסייע לתהליך החערכה של תוצאות המחקר. תודה.
 הערה: נא לציין הפניה לדו"ח אם נכללו בו נקודות נוספות לאלה שבסיכום.

1. מטרת המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה
המטרות כפי שהוצגו בתכנית חושגו במלואן. נותר לבדוק את הגפנים חטרנסגניות לעמידותן, ודבר זה נכלל בתכנית המשך כבר בהצעה המקורית של המחקר שהסתיים. בדיקות אלה דורשות זמן של כמה שנים.
2. עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופת אליה מתייחס הדו"ח
עיקרי חממצאים והתוצאות הם: פיתוח ושכלול של שיטת טרנספורמציה בגפן, זיחוי רצפי GVA, שיבוט רצפים נבחרים לצמח עשבוני ובדיקת הקניית עמידות, שיבוט רצפים חמקנים עמידות לגפן עצמה.
3. המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו
פותחה שיטת חמאפשרת רגנרציה וטרנספורמציה בגפן. נקבע רצף GVA. נמצא כי רצפי GVA מסויימים (CP) מקנים עמידות לצמח עשבוני. רצפים אלה נמצאים היום בתוך צמחוני גפן טרנסגניים, עדיין בשלב של תרבית רקמה.
4. הבעיות שנתרו לפתרון ואו השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן
יש לחקשית את צמחוני הגפן חטרנסגניים ולבדוק למי מחם חוקנתה עמידות לוויורס. תהליך הבדיקה הוא ארוך מטבעו, ומדרשות לכך 2-3 שנים.
5. האם הוחל כבר בחפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח - יש לפרט: פרסומים - כמקובל בבילוגרפיה, פטנטים - יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום ותאריך
ישנם שני פרסומים חקשורים בטרנספורמציה של גפן. מאמרים אחרים (רצף חווירוס, עמידות בצמח עשבוני) יכתבו בקרוב. אין פטנט.