



2002-2003

תקופת המחקר:

353-0178-03

קוד מחקר:

Subject: DEVELOPMENT OF TECHNOLOGIES FOR CYTOPLAST (OOCYTE) & KARYOPLAST (SOMATIC CELL) CRYOPRESERVATION FOR NUCLEAR TRANSFER & CLONING OF ADULT COWS

Principal investigator: ARAV AMIR

Cooperative investigator: , , YOEL ZARON, DEKEL ISAK

Institute: Agricultural Research Organization (A.R.O)

שם המחקר: פתוח טכנולוגיות להקמת בנק ביציות, תאים סומטיים ושכפול גנטי של בקר למטרות חקלאות ביוטכנולוגית.

חוקר ראשי: אמיר ערב

חוקרים שותפים: אמיר בור, חיים גסיטוע, יואל זרון, יצחק דקל

מוסד: מינהל המחקר החקלאי, ת.ד. 6 בית דגן 50250

תקציר

רקע ומטרות המחקר - בשיבוט יש צורך בתאים סומאטיים התורמים את המטען הגנטי וביצית נטולת גרעין המהווה את הסביבה האומנת לגרעין. מטרת המחקר היא להקים בנק גנטי פשוט וזול כאשר ניתן יהיה להשתמש בתאים המאוחסנים בו לצורכי מחקר, ובנק גנטי לבע"ח בסכנת הכחדה וכן לשיבוט למטרות טיפוח גנטי של חיות משק. בנק גנטי זה יהיה מורכב מתאי גזע של תאי דם מיובשים בהקפאה. בדם הקיפי ניתן למצוא תאי גזע המתמיינים לתאי דם (CD34) תאים אלו הם בעלי סיכוי טוב יותר לשיבוט ולכן החלטנו לערוך את הניסויים עם תאי אלו. מטרה נוספת של בנק זה היא שימור ביציות שישמשו כסביבה אומנת (ציטופלסטים) לגרעין אותו אנו מעבירים בטכניקת השיבוט.

מהלך העבודה והתוצאות - נעשה בשני חלקים עיקריים: ייבוש תאי גזע מהדם והקפאת ביציות. ייבוש תאי גזע - בדקנו את השפעת מקור איסוף הדם על חיוניות התאים לאחר ייבוש וכן שיטות שונות של הפרדת תאים והשפעתם על חיוניות התאים.

הקפאת ביציות - הניסוי התמקד במציאת קצב קירור אופטימלי מבין קצבי הקירור השונים: 0.5, 5 מעלות בדקה וויטרפיקציה בקצב של 16 אלף מעלות בדקה. מבדיקת שיטות ההפרדה נמצא כי לאחר ההפרדה ע"י תוספת מים מזוקקים קיבלנו הישרדות גבוהה יותר ביחס להפרדה בעזרת גרדיאנט סוכרי. לעומת זאת לאחר ייבוש לא מצאנו הבדל מובהק בהישרדותם של התאים לפי שיטות ההפרדה שלהם. תוצאות הניסוי השני מורות שאין הבדל מובהק במקור הדם העוברי בין אם הוא נלקח ישירות מחבל התבור או מווריד הצוואר של העגל. תוצאות הקפאת ביציות: בדיקת קצבי הקירור של הביציות הראו שקצב הקפאה של 5 מ"צ לדקה אפשר את ההישרדות הגבוהה ביותר של ביציות בקר בשלות.

מסקנות והמלצות: ניתן להסיק שבידנו שיטה טובה ויעילה להוצאת תאי דם מבע"ח והפרדה של תאי גזע לצורך ייבוש בהקפאה. שיטה זו תהיה יעילה ונוחה לשימור בע"ח בסכנת הכחדה וכן לבעלי חיים משובחים גנטית שאנו מעוניינים לשמור כגיבוי לתוכנית הטיפוח. תוצאות שימור הביציות הן תוצאות ראשוניות בלבד ויש צורך עדיין להוכיח שביציות מוקפאות יכולות להוות מקור לציטופלסטים ולהעברת גרעין של תאי גזע.