

אפיון מולקולארי של זני נגיף הלוקמיה בבקר בישראל ושל המרקרים הביולוגיים הייחודיים למחלה בבקר לצורך פיתוח שיטות אבחון וטיפול כנגד זנים המקושרים לרמות חומרה שונות של המחלה.

תקציר

נגיף לוקמיה בבקר הינו נגיף דלתא-רטרווירוס הגורם למחלת הלאוקוזיס בבקר. לרוב, הבקר הנגוע יהיה נשא של הנגיף ללא סימנים קליניים. אך, בכ-30% מבעלי החיים הנגועים המחלה עלולה להחמיר למחלה בעלת מופע של לאוקוציטוזיס כרוני ובכ-5% ללימפומה ממארת ולמוות. בעקבות תופעות אלו נזק כלכלי כבד יכול להיגרם לרפתן ולבוקר ולכן יש חשיבות לפיתוח שיטות להערכה מוקדמת של הסבירות להחמרה במחלה, גם בהיעדר סימנים קליניים מוקדמים. זיהוי זני הנגיף (גנוטיפ) מתבצע לרוב על פי מקטע בגן לחלבון המעטפת (env). בנוסף, ניתן לבצע זיהוי של הזן על פי הגן pX המקודד לחלבון קובע האלימות Tax. שינויים ספציפיים בחלבון ה-Tax נמצאו באסוציאציה לאלימות הנגיף, לעומס הפרווירוס ולהחמרה במחלה. הערכה בישראל על סמך סקר קודם, היא שהנגיף נמצא בכ-40-50% מהמשקים ובממוצע כ-5% מהפרות שנבדקו היו נשאיות של הנגיף. כיום, עיקר האבחון הנעשה בישראל הוא בשיטות סרולוגיות ומולקולאריות שאינן מבחינות בין זנים ותתי-זנים של הנגיף ובעומס הפרווירוס בבעל החיים הנגוע. כתוצאה מכך, עד כה לא קיים מידע על אילו זנים קיימים בישראל, מהם תתי-הזנים הקשורים לעלייה בתדירות התחלואה במשקים נגועים ובדיקות של רקמות תלויות באבחון מולקולארי נפרד. בנוסף, אין מידע על התפלגות הפולימורפיזם הגנטי של חלבון קובע האלימות TAX בישראל. כמו-כן, העומס הנגיפי של הפרווירוס בפרות המודבקות או השינויים במרקרים של מערכת החיסון לא נבדקים ולא מתבצעות כיום הערכות על מצב הפרות המודבקות או על הסבירות להתפרצות של תחלואה של לאוקוציטוזיס או של לימפומה במשקים הנגועים.

בעבודה זו נעשתה בדיקה מפורטת של ריצוף המקטע לגן לחלבון המעטפת ולגן לחלבון Tax מכ-169 דוגמאות שנאספו בשנים 2015-2024. בדגש על איסוף מסודר של הדוגמאות בשנים 2023-2024. תוצאות האבחון הראו שעל פי רצפי env הגנוטיפ הדומיננטי הינו גנוטיפ 4 עם קרבה פילוגנטית לבידודים מרוסיה ומפולין, כאשר כ-13% מרצפי ה-env נמצאו קרובים לגנוטיפ 6 שמקורו מהמזרח הרחוק. באופן מסקרן, רצפי הגן ל-Tax מהדוגמאות שנבדקו נמצאו כולם בקרבה לגנוטיפ 4 בלבד, גם בדוגמאות בהם רצפי ה-env נמצאו בקרבה לגנוטיפ 6, ממצא שיכול להעיד על אפשרות לאירוע רקומבינציה בין הזנים ליצירת תת זן מקומי. בנוסף, זוהו ארבעה וריאנטים

עיקריים של החלבון TAX, כאשר מוטציה ספציפית, Y257C, נמצאה באסוציאציה לדוגמאות מפרות שהראו סימנים קליניים והחמרה במחלה. ארבעת וריאנטים אלו שובטו לפלסמידי ביטוי תחת פרומוטור כללי לביטוי בתאי יונקים, וביטוי שלהם עם תג 6xHis-tag, זוהה בתאי בקר מסוג MDBK. לאור מידע מדעי המראה קשר בין מוטציה Y257C לעומס הפרווירוס ועלייה בסבירות להחמרה במחלה, נבחר המקטע הכולל את הקודון לחומצה האמינו בעמדה זו לפיתוח שיטת אבחון מבוססת real-time PCR לזיהוי פולימורפיזם (SNP) המקושר לוריאנטים בעלי אלימות שונה של Tax. תוצאות עבודה זו מניחות את היסודות למחקרי המשך לאפיון האינטראקציות של חלבון Tax לחלבוני המאכסן בזמן הדבקה, ופיתוח שיטות לא פולשניות לזיהוי וריאנטים המקושרים להבדלי אלימות של הנגיף בזמן הדבקה וכן למרקרים של המאכסן שרמתם משתנה בעקבות הדבקה בזנים השונים. פיתוח שיטות אלו וסטנדריזציה של בדיקות אלו בהתאמה לוריאנטים השונים שזוהו, יכולים לשמש ככלי חשוב של הוטרינר והמגדל להערכת הסבירות להחמרה במחלה בבעל החיים הנגוע ולהיערכות מתאימה על פי הערכה זו.