



הפקולטה לחקלאות
מזון וסביבה
ע"ש רוברט הסמית

האוניברסיטה העברית בירושלים
THE HEBREW UNIVERSITY OF JERUSALEM



השפעת הזויג על המורפוקינטיקה וההתפתחות של עוברי בקר

שיר מנוביץ^{1*}, דורית קלו¹, צבי רוט¹
¹המחלקה למדעי בע"ח, הפקולטה לחקלאות האוניברסיטה העברית, ירושלים



רקע כללי

מגזרי בעלי חיים שונים בתעשיות הבקר השונות נדרשים לייצור של בעלי

חיים מזוויג מסוים

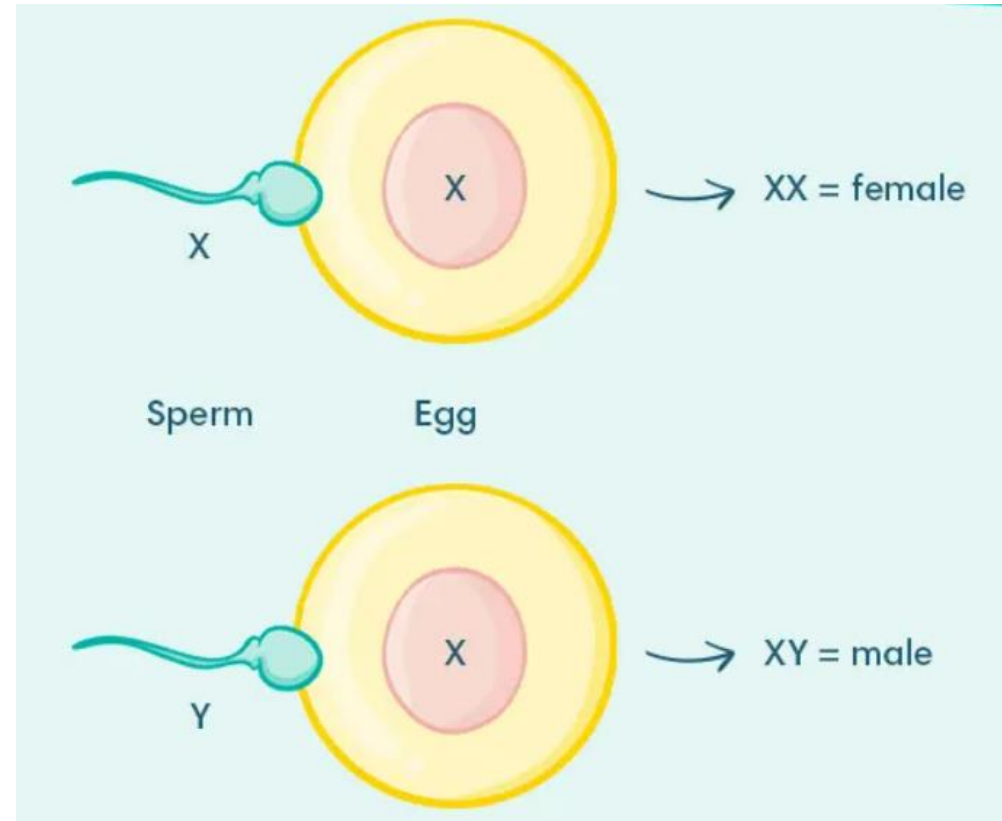
יתרונות

- הרחבת העדר בקצב מהיר יותר
- יתרום לרווחיות העדר
- ימזער את סיכוני הביטחון הביולוגי



קביעת זויג ביונקים

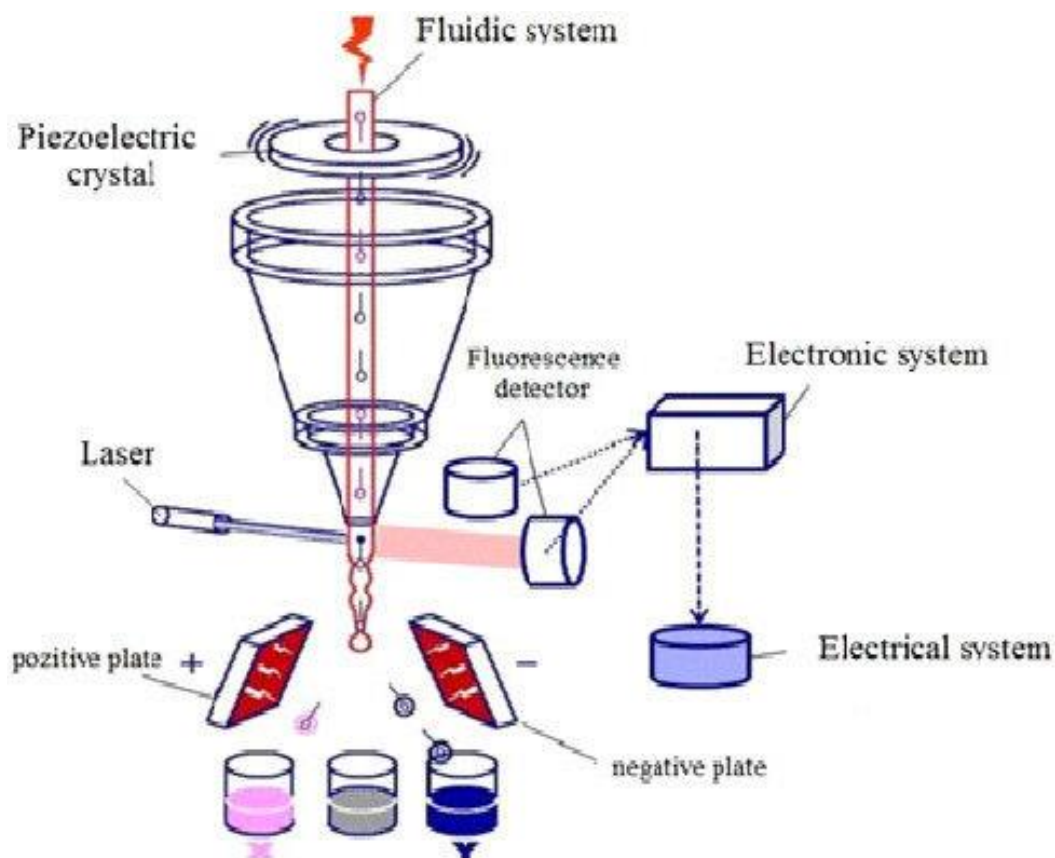
קביעת זויג העובר ביונקים, נקבע על בסיס כרומוזום המין אותו נושא תא הזרע



שיטות לקביעת זויג העובר בבקר

Fluorescence - השיטה המקובלת למיון -

activated cell sorting (FACS)



(1) הפרייה עם זרמה ממויינת

חסרונות השיטה:

- עלויות גבוהות
- ריכוז תאי זרע נמוך בקשית
- אחוזי ההתעברויות נמוכים

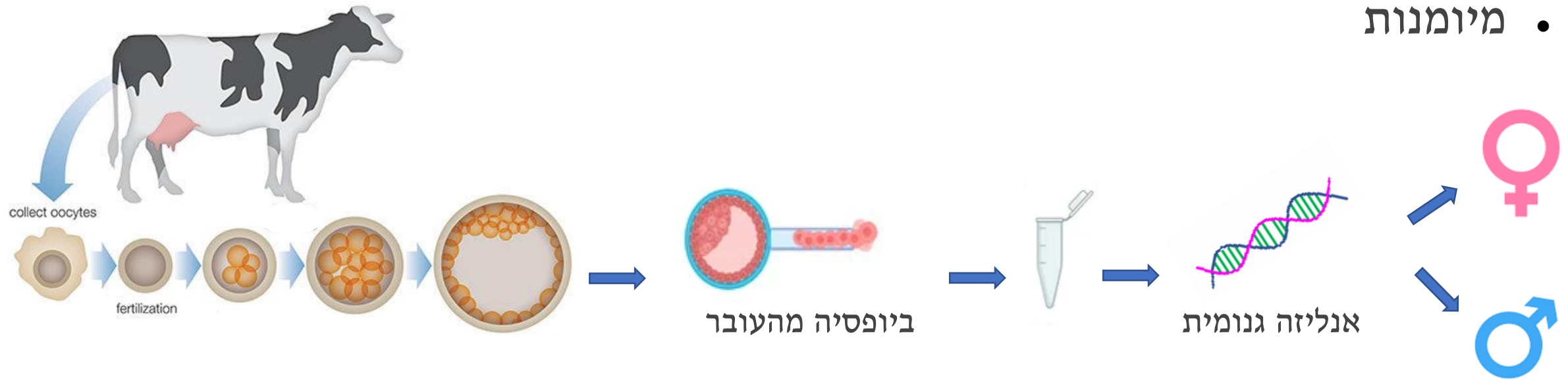
שיטות לקביעת זויג העובר בבקר

(2) השתלת עוברים מזויג ידוע; דגימה ובדיקה גנטית

חסרונות השיטה:

• עלויות גבוהות

• מיומנות



Howard, 2023

השערת המחקר

עוברי בקר מזוויג שונה (זכר ונקבה) מציגים התפתחות מורפוקינטית שונה

בשלבים של לפני השרשה

בהתאם לכך,

יהיה ניתן להבדיל בין עוברים ממין נקבה לעוברים ממין זכר באמצעות

מאפיינים מורפוקינטיים

מטרת המחקר

לבחון האם ניתן לחזות את מין העוברים באמצעות מדדים מורפוקינטיים

תוך שימוש:

1. במערכת In-vitro לייצור עוברים

2. אינקובטור המצויד במערכת צילום של Time-lapse (TL).



מהלך העבודה

איפיון מורפוקינטי של עוברים זכריים ונקביים בהתבסס על שני מודלים:

(1) הפריה עם זרמה לא ממוינת

(2) הפריה עם זרמה ממוינת ל-X או ל-Y

(3) הגדרת סמנים מורפוקינטיים לעוברים זכריים ונקביים

מורפוקינטיקה

מורפולוגיה

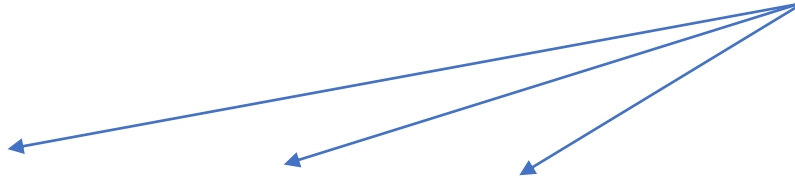
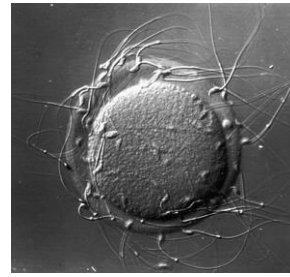
- גודל וצורה של תאי הבת
- רמת פרגמנטציה
- כמות ואקואולות

קינטיקה

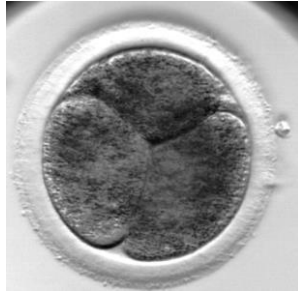
- הזמן מרגע ההפרייה בו התרחשה חלוקת תאי בת

קינטיקה התפתחותית

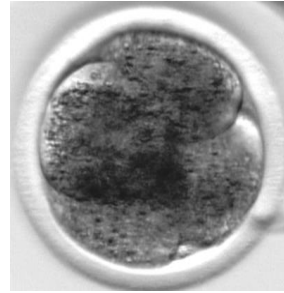
הוספת תאי
הזרע- זמן "0"



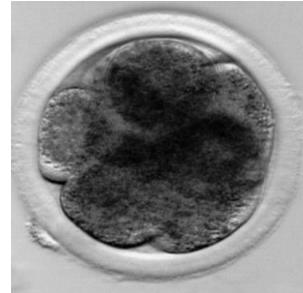
עובר בן 2
תאים



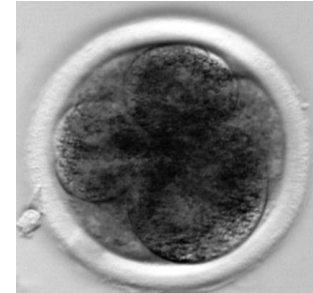
עובר בן 3
תאים



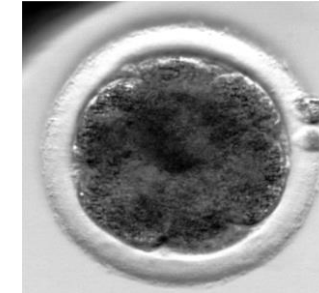
עובר בן 4
תאים



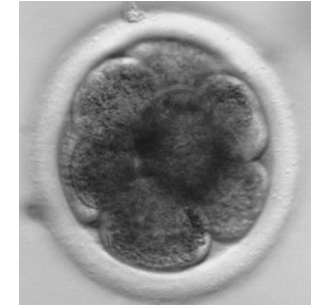
עובר בן 5
תאים



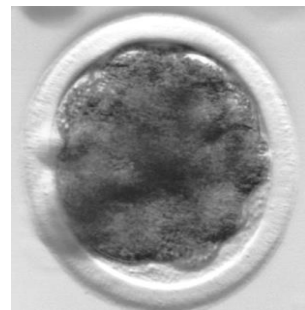
עובר בן 6
תאים



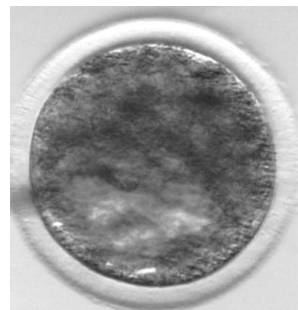
עובר בן 7
תאים



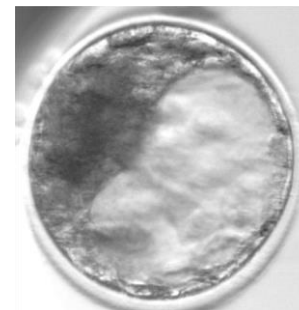
עובר בן 8
תאים



מורולה

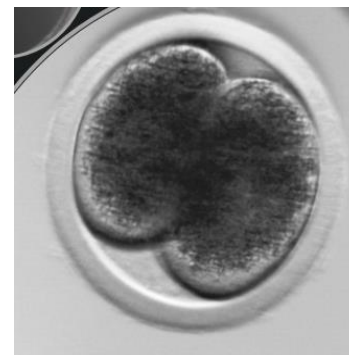


בלסטוציסט
ראשוני



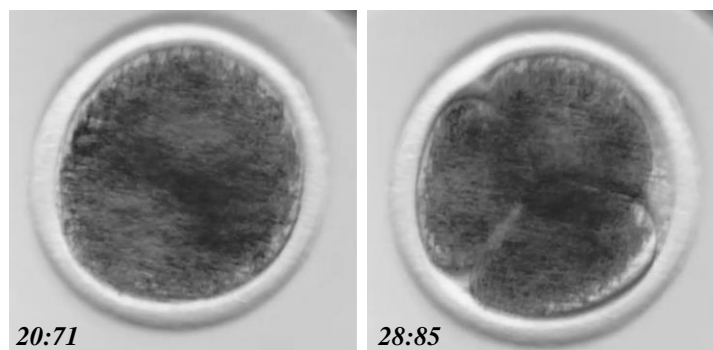
בלסטוציסט

מופע מורפוקינטי



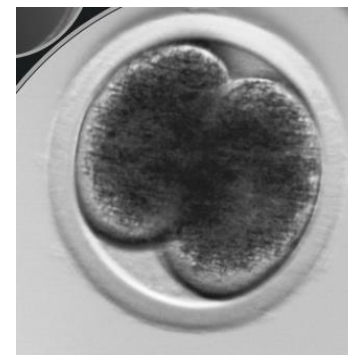
חלוקה נורמלית:

חלוקה אבנורמלית:



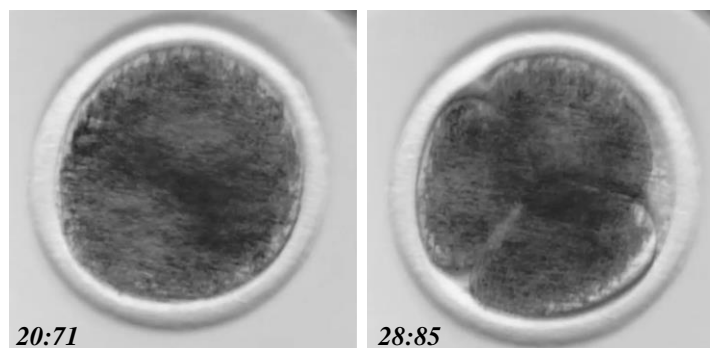
חלוקה ישירה

מופע מורפוקינטי

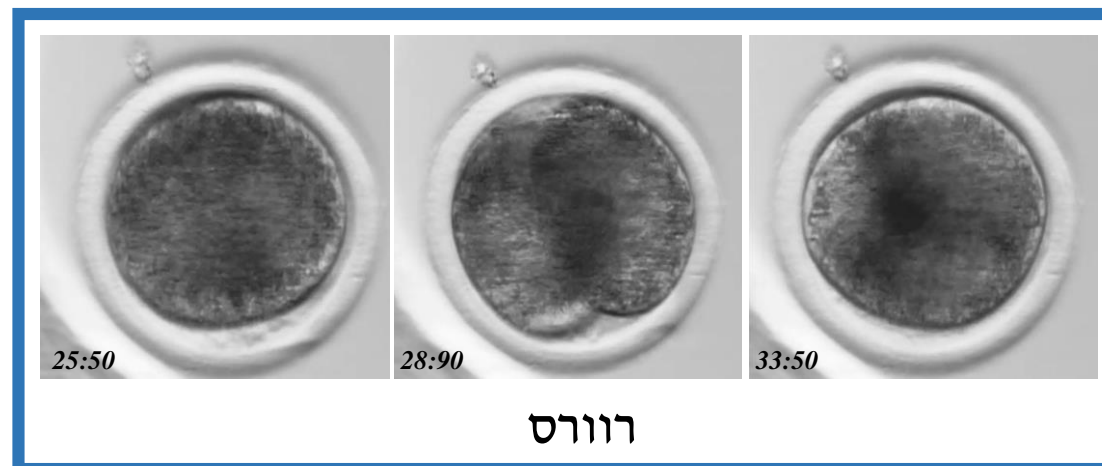


חלוקה נורמלית:

חלוקה אבנורמלית:

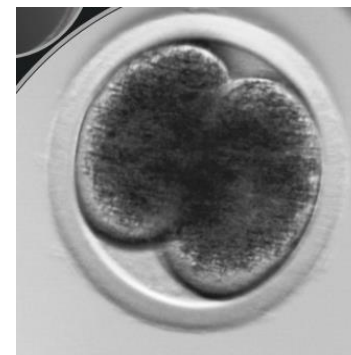


חלוקה ישירה

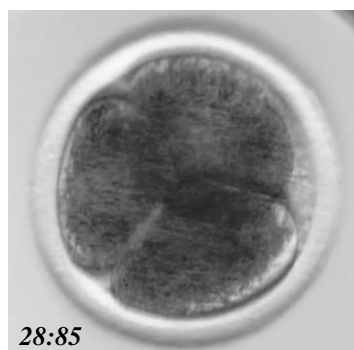
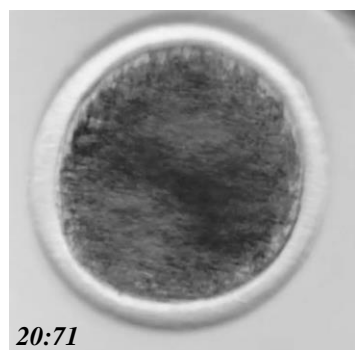


רוורס

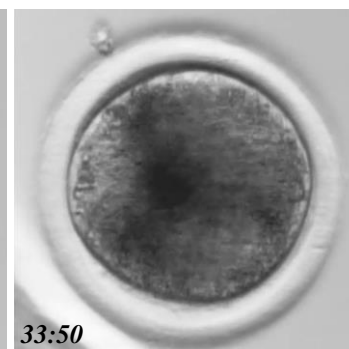
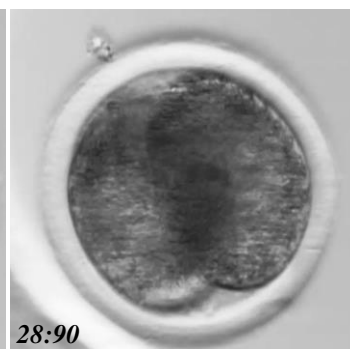
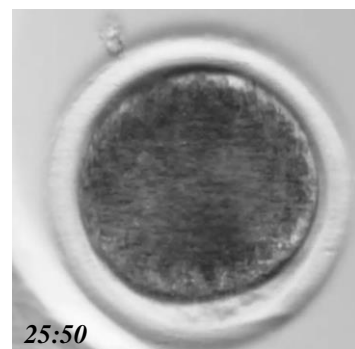
מופע מורפוקינטי



חלוקה נורמלית:



חלוקה ישירה



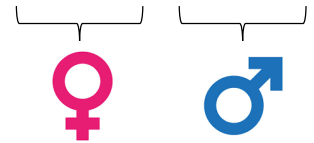
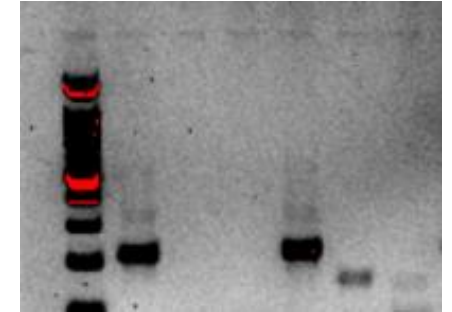
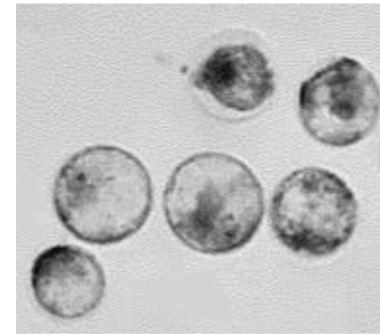
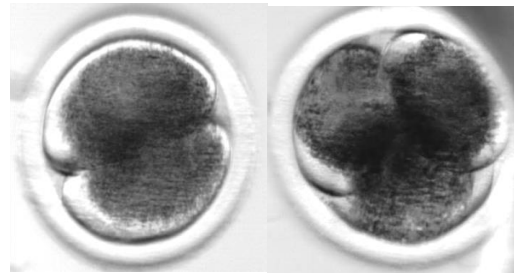
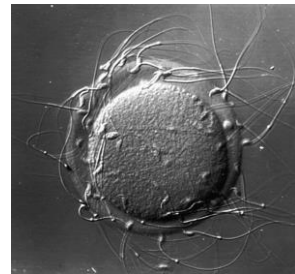
רוורס

חלוקה אבנורמלית:



לא שווה

מודל מחקרי 1: הפקת עוברים בתנאי מעבדה עם זרמה לא ממוינת



שאיבת ביציות והבגרתן

הפריה
18 שעות 38.5°C
5% CO₂

הדגרה ב-TLS למשך
190 שעות

הפקת DNA ו-PCR

1 זרמה לא ממוינת

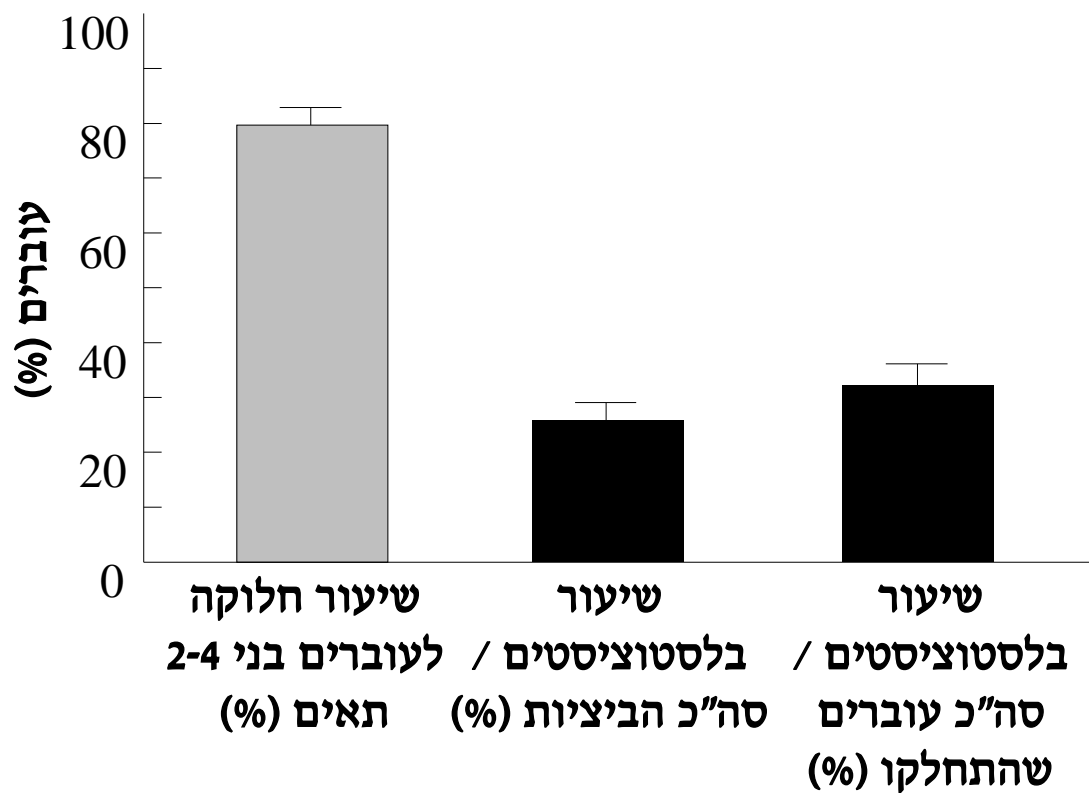
2 מעקב מורפוקינטי
והתפתחות עוברית

3 איסוף בלסטוציסטים

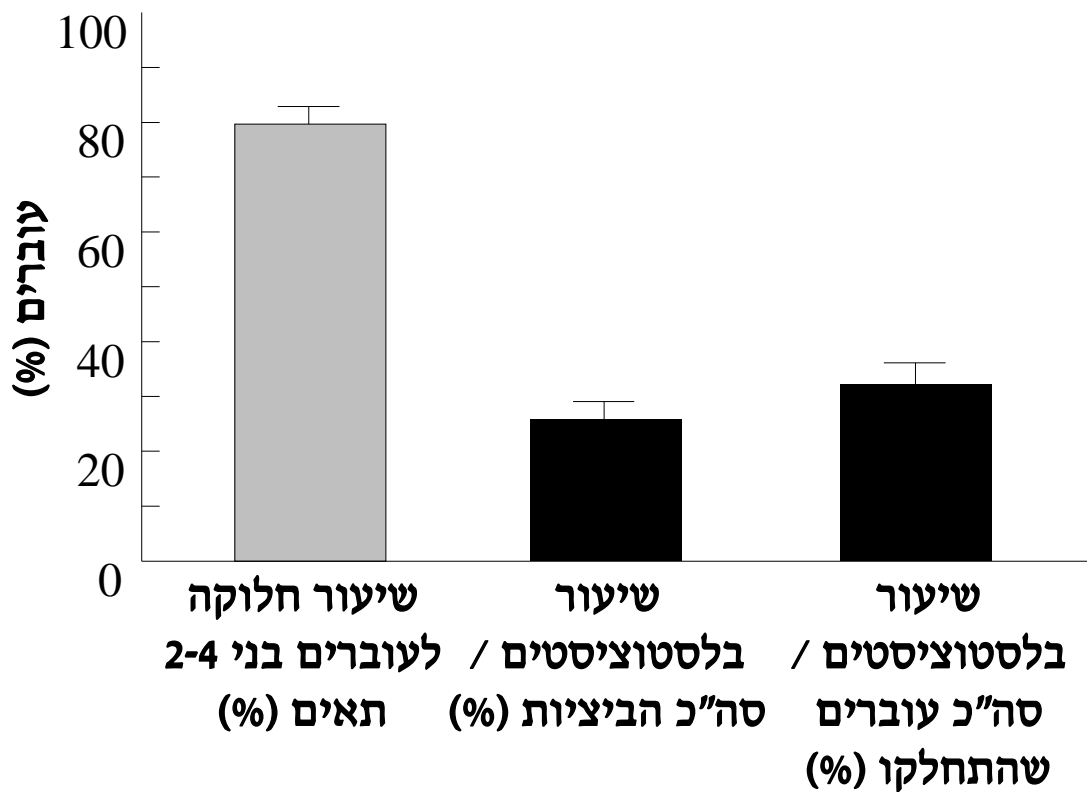
4 אפיון זוויג

5 קורלציה בין הזוויג והמורפוקינטיקה

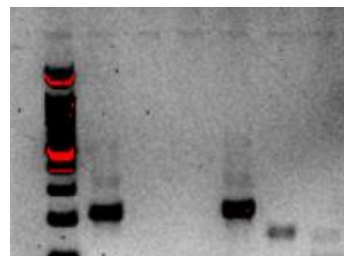
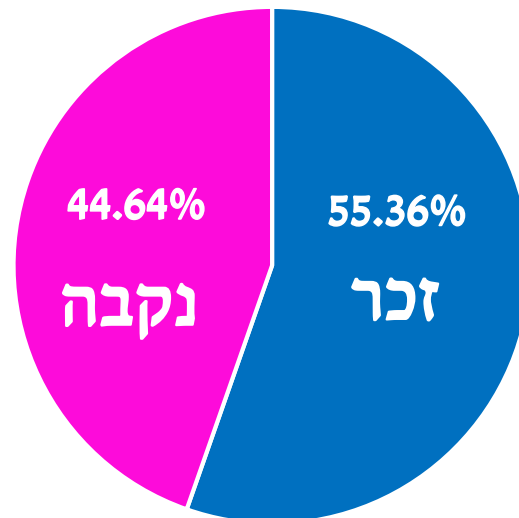
התפתחות עוברית



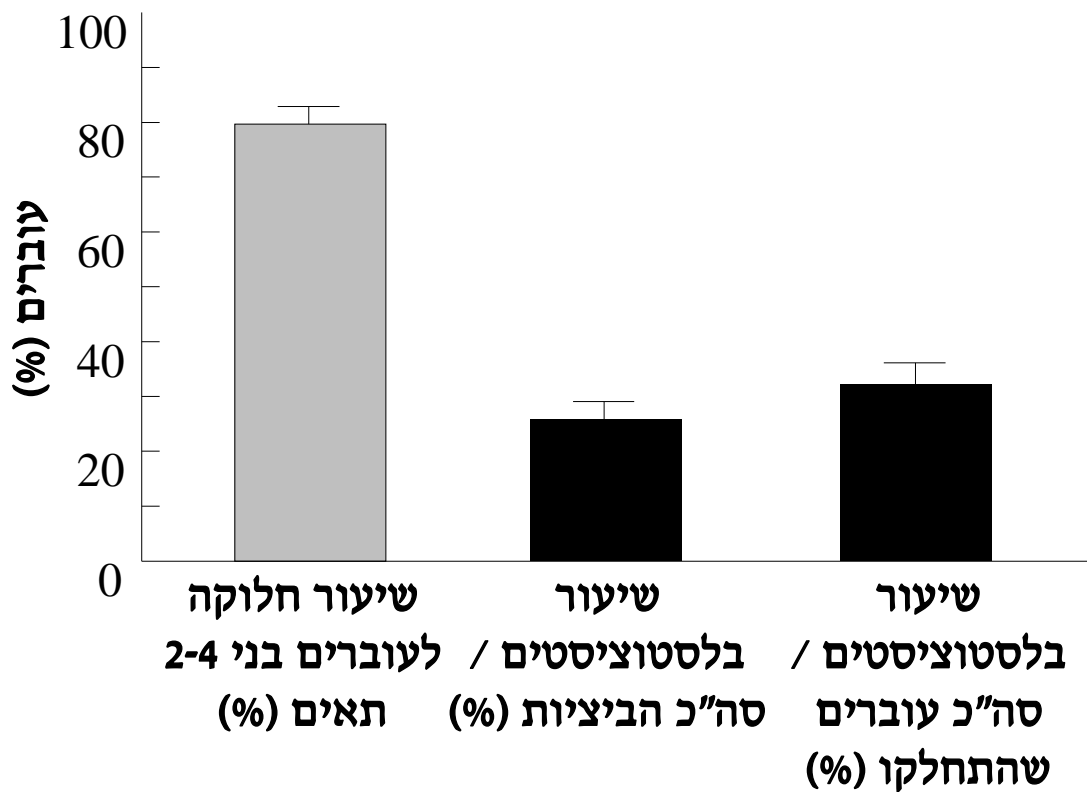
התפתחות עוברית



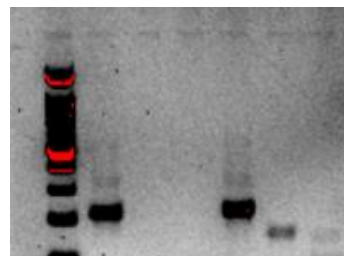
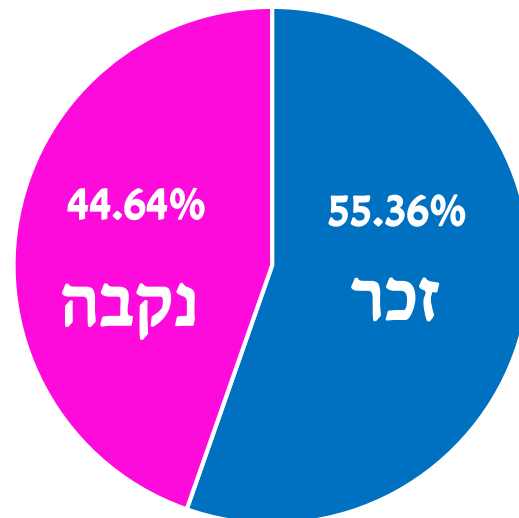
התפלגות הזויג בבלסטוציסטים



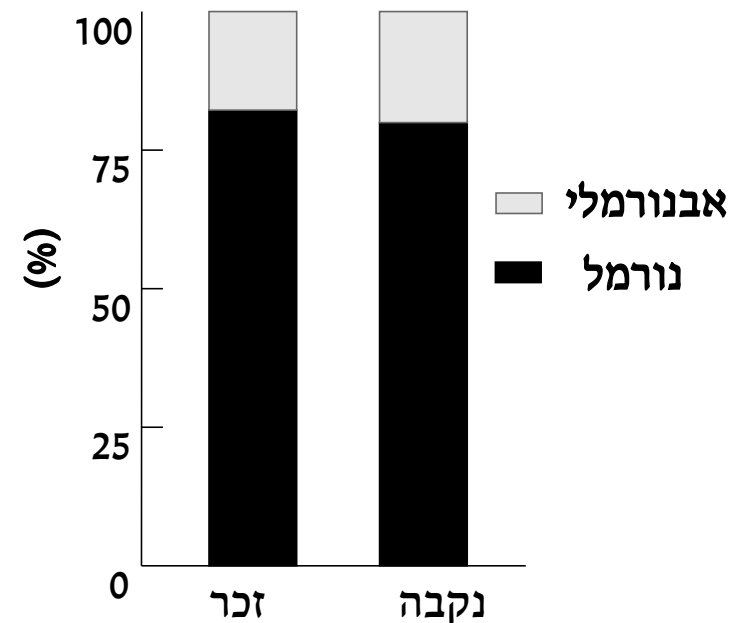
התפתחות עוברית

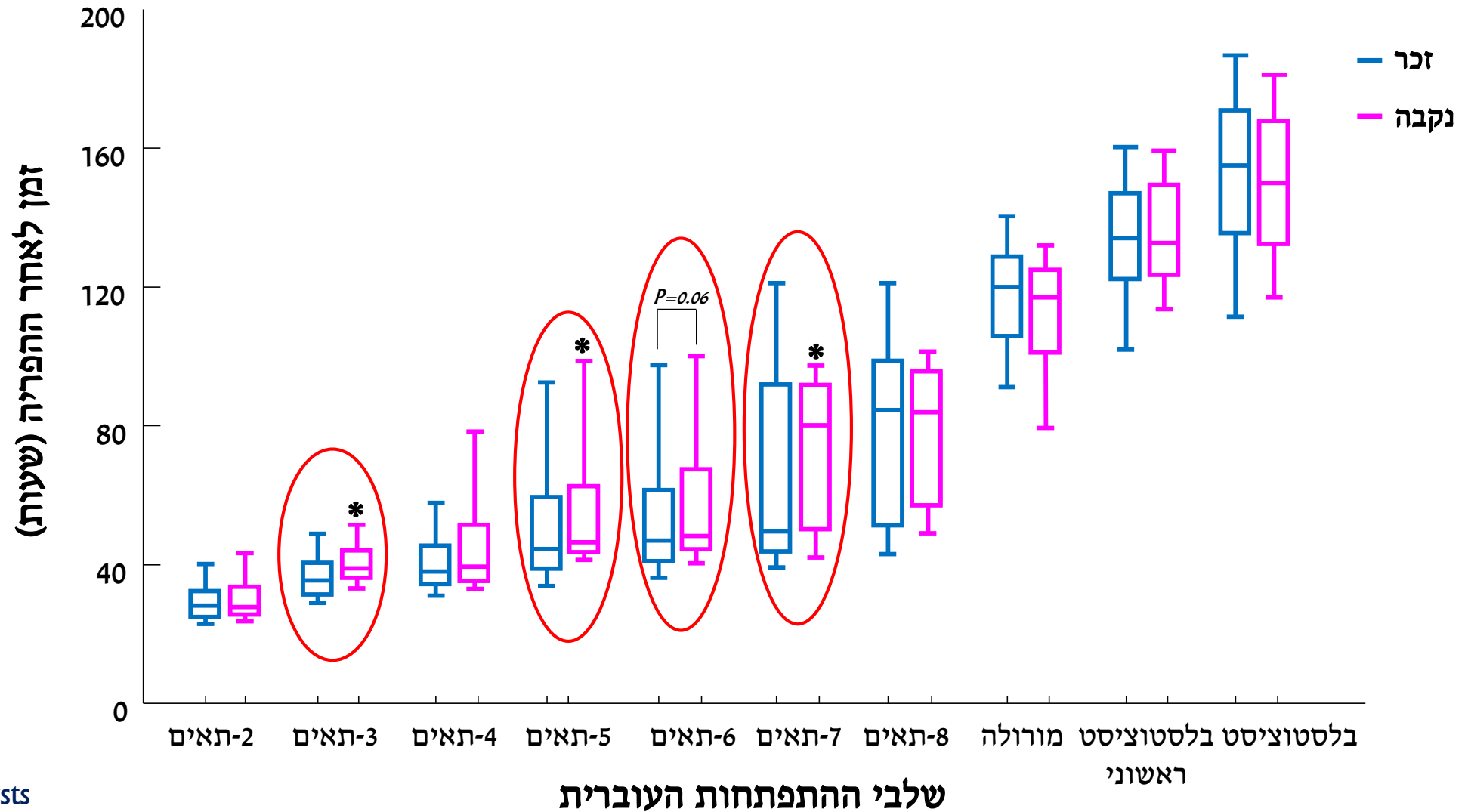


התפלגות הזויג בבלסטוציסטים



התפלגות עוברים לפי מופע מורפוקינטי





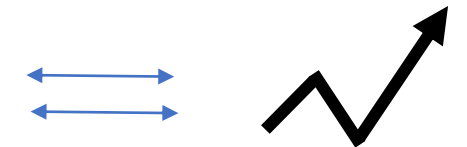
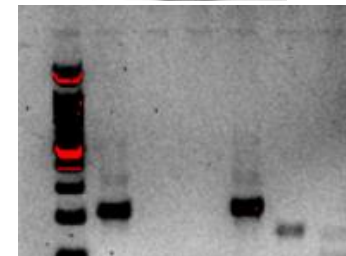
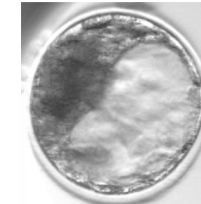
* $P < 0.05$; $n = 91$ blastocysts

Kruskal Wallis & Wilcoxon test

תוצאות

מבחן תאימות בין זוויג העובר לסמנים הקינטיים



Parameter evaluated	Embryonic stage	Male blastocysts		Female blastocysts		Total blastocysts	
		Correct prediction rate %	n/total male blastocysts	Correct prediction rate %	n/total female blastocysts	Gender correct prediction rate %	n/total blastocysts
Single kinetic parameter	3-cell	80.0	20/25	65.0	13/20	73.3	33/45
	5-cell	80.6	25/31	32.3	10/31	83.3	35/42
	6-cell	85.0	34/40	26.5	9/34	58.1	43/74
	7-cell	69.4	25/36	60.7	17/28	65.6	42/64
Two kinetic parameters	3- & 5-cell	76.5	13/17	66.7	12/18	71.4	25/35
	3- & 7-cell	91.7	11/12	90.9	10/11	91.3	21/23
	3- & 6-cell	84.2	16/19	72.2	13/18	78.4	29/37
	5- & 6-cell	69.2	18/26	42.9	12/28	55.6	30/54
	5- & 7-cell	56.5	13/23	52.4	11/21	54.5	24/44
	6- & 7-cell	69.0	20/29	60.9	14/23	65.4	34/52
Three kinetic parameters	3-, 5- & 6-cell	78.6	11/14	64.7	11/17	70.9	22/31
	3-, 5- & 7-cell	77.8	7/9	77.8	7/9	77.8	14/18
	3-, 6- & 7-cell	70.0	7/10	88.9	8/9	78.9	15/19
Four kinetic parameters	3-, 5-, 6- & 7-cell	87.5	7/8	87.5	7/8	87.5	14/16





קינטיקה

Multiple discriminant analysis

מבחן תאימות בין זויג העובר על סמך פרמטר יחיד

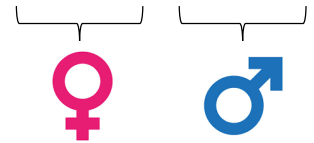
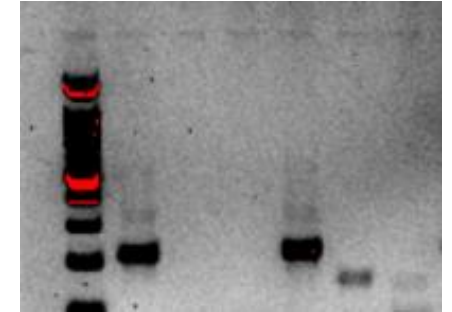
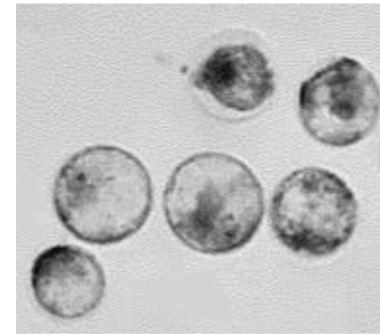
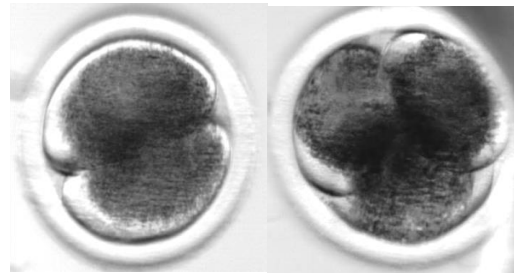
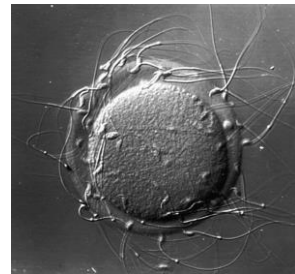
Parameter evaluated	Embryonic stage	Male blastocysts		Female blastocysts	
		Correct prediction rate %	 n/total male blastocysts	Correct prediction rate %	 n/total female blastocysts
Single kinetic parameter	3-cell	80.0	20/25	65.0	13/20
	5-cell	80.6	25/31	32.3	10/31
	6-cell	85.0	34/40	26.5	9/34
	7-cell	69.4	25/36	60.7	17/28

מבחן תאימות בין מין העובר על סמך שילוב כל הפרמטרים

Parameter evaluated	Embryonic stage	Male blastocysts		Female blastocysts	
		Correct prediction rate %	 n/total male blastocysts	Correct prediction rate %	 n/total female blastocysts
Four kinetic parameters	3-, 5-, 6- & 7-cell	87.5	7/8	87.5	7/8

השימוש במספר פרמטרים יהיה עדיף כסמן לזוויג העובר מאשר פרמטר יחיד

המודל המחקרי 2: הפקת עוברים בתנאי מעבדה עם זרמה ממוינת



שאיבת ביציות והבגרתן

הפריה
18 שעות 38.5°C
5% CO₂

הדגרה ב-TLS למשך
190 שעות

הפקת DNA ו-PCR

1 זרמה ממויינת ל-X
זרמה ממויינת ל-Y

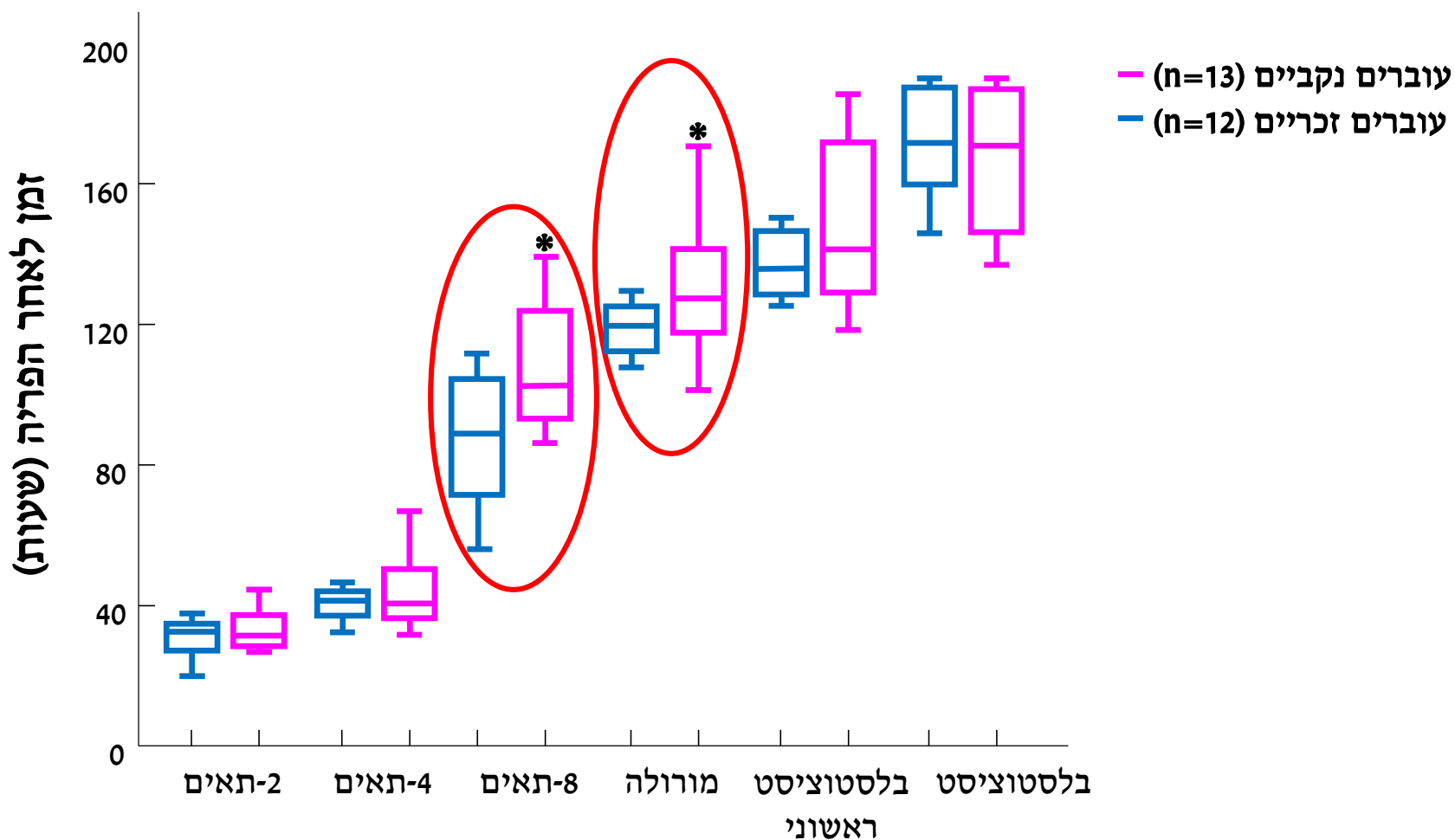
2 מעקב מורפוקינטי
והתפתחות עוברית

3 איסוף בלסטוציסטים

4 וולידציה של זוויג
העובר בהתאם לסוג
הזרמה

5 קורלציה בין הזוויג והמורפוקינטיקה

קינטיקה התפתחותית



* $P < 0.05$

Kruskal Wallis & Wilcoxon test pairwise comparisons

- עוברים מזוויג שונה הציגו מופע קינטי שונה.
- עוברים זכריים הפגינו קצב התפתחות מהיר ביחס לעוברים הנקביים.
- שילוב של מספר פרמטרים לחיזוי זוויג העובר הציג יתרון על פני פרמטר יחיד

תוצאות אלו יוכלו לשמש בהמשך להשתלת עוברים עם זוויג ידוע

תודות:

פרופ' צבי רוט

ד"ר דורית קלו

ד"ר מורן גרשוני

ד"ר אליסה קומסקי-אלבז

ד"ר שירה יעקובי-ארצי

טניה קוגן

אריאל מיכאלוב

ליאורה כץ

שיר מייזוס

חן שפירר

יעל קינגסוולד

שאלות?

