

# OVER VERSCHILLEN EN OVEREENKOMSTEN

door prof.dr. Martien A.M. Groenen



**WAGENINGEN UNIVERSITEIT**

Inaugurele rede uitgesproken op 24 februari 2005 aan de  
Wageningen Universiteit

## **Over verschillen en overeenkomsten**

Mijnheer de Rector Magnificus, dames en heren,

Over verschillen en overeenkomsten. Ik hoop u in de komende 45 minuten duidelijk te maken dat het in kaart brengen van overeenkomsten en verschillen en, nog veel belangrijker, het begrijpen van deze overeenkomsten en verschillen in relatie tot het functioneren van de dieren een centrale rol inneemt in het door ons uitgevoerde onderzoek.

De mens is zich al duizenden jaren bewust van de grote verscheidenheid van de natuur en de daarin voorkomende organismen. Dit is al terug te zien in de alleroudste door de mens gemaakte afbeeldingen zoals het hier getoonde voorbeeld van runderen op oude prehistorische rotstekeningen uit de grotten van Lascaux in Frankrijk en die van een wild zwijn uit de grotten van Altamira in Spanje. Voorzag de mens in eerste instantie nog door het jagen in zijn behoefte aan dierlijke producten, al snel maakte de mens een begin met het meer bewust benutten en aanpassen van de natuur aan zijn specifieke behoeften. De eerste aanwijzingen dat de mens bewust overging tot het houden van landbouwhuisdieren dateren van zo'n 9000 jaar geleden (Fokkinga, 1995).

In eerste instantie beperkte de mens zich slechts tot het houden van wilde dieren, maar het simpele feit van het houden van dieren in gevangenschap binnen een samenleving in nauw contact met de mens brengt al een selectie met zich mee. Kunnen we deze eerste vorm van domesticatie nog beschouwen als een natuurlijke selectie van het dier aan een veranderde omgeving, al snel realiseerde de mens zich dat er

variatie bestond en dat deze variatie gebruikt kon worden voor het selecteren van dieren. De uiterlijke kenmerken speelden een grote rol bij deze selectie, en dit resulteerde in een grote verscheidenheid aan rassen bij de belangrijkste landbouwhuisdieren zoals rund, varken en kip. Deze verscheidenheid treffen we ook heden ten dage nog aan.

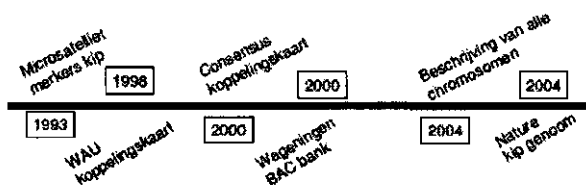
Zoals uit de hier getoonde voorbeelden duidelijk naar voren komt is deze selectie zeer effectief gebleken. Echter in de vorige eeuw kwam er een toenemende behoefte om deze selectie juist te richten op productie, gezondheids- en vruchtbaarheidskenmerken om zo te komen tot een veel effectievere dierlijke productie. Met name in de laatste 50 jaar heeft dit geresulteerd in een enorme toename in de efficiëntie van de productie. De daarbij gebruikte kwantitatieve genetica heeft ons een goed inzicht gegeven over de omvang van de genetische variatie binnen de landbouwhuisdieren. Het is belangrijk ons goed te realiseren dat daarbij de erfelijke informatie als een soort "zwarte doos" is gehanteerd zonder te weten welke genetische eigenschappen eraan ten grondslag liggen.

De toenemende kennis over het genoom, de erfelijke informatie van mens en dier stelt ons in toenemende mate in staat om in deze zwarte doos te kijken en die informatie gericht te gebruiken voor verdere verbetering van onze landbouwhuisdieren. Ik spreek nadrukkelijk van verbetering omdat we ons hierbij juist richten op kenmerken waarvoor het tot nu toe erg moeilijk is gebleken om verandering door fokkerij te realiseren. Voorbeelden hiervan zijn het verhogen van ziekteresistentie, het terugdringen van metabole afwijkingen en het terugdringen van ongewenst gedrag zoals verpenikken bij de kip. Deze moeilijkheid komt voort uit het ontbreken van goede waarnemingen aan de selectiekandida-

ten en dat maakt juist dat informatie over de moleculaire achtergrond van de kenmerken een duidelijke meerwaarde heeft. U moet hierbij overigens niet alleen denken aan het verhogen van ziekteresistentie en welzijn maar ook aan een verbetering van de kwaliteit van het product. Een mooi voorbeeld daarvan is het onlangs binnen onze leerstoelgroep gestarte "milk-genomics" project dat er juist op gericht is te komen tot een verbetering van de kwaliteit van de melk voor humane consumptie. Verder liggen hier voor de toekomst ook zeker mogelijkheden m.b.t. de vleeskwaliteit.

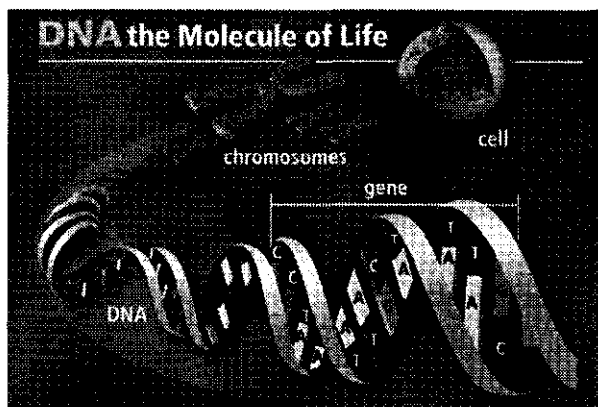
Het verwerven van kennis over de werking van het gehele genoom is hierbij cruciaal. Het is dan ook mijn vaste overtuiging dat fundamenteel nieuwsgierigheidgedreven onderzoek hierbij een centrale rol speelt. Fundamenteel onderzoek is een van de wezenlijkste peilers van de universiteit en de uitdaging ligt hem er in om deze kennis toe te passen<sup>1</sup> in de praktijk van de fokkerij.

Dat een dergelijke samenwerking tussen fundamenteel onderzoek en de toepassing daarvan zeer succesvol kan zijn blijkt wel uit onze, al gedurende meer dan 15 jaar, intensieve samenwerking met Nutreco. Begin 1990 realiseerden we ons al dat het voor de kenmerken waarin we binnen de fokkerij zijn geïnteresseerd, het noodzakelijk was om het gehele genoom in ogenschouw te nemen. Dat ons onderzoek er 15 jaar later mede toe zou leiden dat het gehele genoom van de kip al eind 2004 in kaart zou zijn gebracht hadden we destijds nog niet durven dromen.



Terug kijkend op de afgelopen 15 jaar zien we dat dit onderzoek en deze samenwerking er voor gezorgd hebben dat onze groep medeauteur is bij alle cruciale publicaties m.b.t. het in kaart brengen van het genoom van de kip (International Chicken Genome Sequencing Consortium, 2004). Ook op het gebied van het varken werken we intensief samen met het bedrijfsleven. Ook hier blijkt weer dat deze samenwerking met in dit geval IPG juist extra mogelijkheden schept om betrokken te zijn bij het in kaart brengen van het genoom van het varken.

Voor ik verder ga in mijn betoog is het hier nuttig om even wat verder in te gaan op de onderliggende aspecten van de genetica (de erfelijkheidsleer). Alle informatie over hoe een dier, plant of mens er uitziet en hoe deze functioneert is opgeslagen in het erfelijk materiaal. Zoals de meeste van u ongetwijfeld wel eens gehoord hebben bevindt zich deze informatie in de kern van elke cel in het lichaam. Laten we daarom eerst eens inzoomen op de kern van één zo'n cel ergens in het lichaam van een dier. Binnen deze kern vinden we de dragers van het erfelijke materiaal: de chromosomen. Elke diersoort heeft een heel specifiek aantal van deze chromosomen en in elke cel vinden we van elk chromosoom twee kopieën, een afkomstig van de vader en de ander van de moeder. Zo heeft de mens 23 paar chromosomen, het varken 19, het rund 30 en de kip heeft zelfs 39 paar chromosomen.



*U.S. Department of Energy Human Genome Program ([www.ornl.gov/hgmis](http://www.ornl.gov/hgmis))*

Nu is een zo'n chromosoom feitelijk een langgerekte keten (een chemische stof die we aanduiden met de afkorting DNA) van slechts vier verschillende bouwstenen, die wij aan duiden met de letter G, A, T en C. Eigenlijk moet ik hier iets preciezer zijn. Een chromosoom bestaat feitelijk uit twee DNA ketens die in tegengestelde richting in elkaar gedraaid zijn. Belangrijk daarbij is dat A altijd voorkomt tegenover T en G altijd tegenover C en dit is een zeer belangrijke eigenschap die het mogelijk maakt om bij elke celdeling alle chromosomen te kopiëren. Als een cel zich deelt, dus als er twee nieuwe cellen ontstaan moet wel elke cel alle erfelijke informatie meekrijgen. Deze structuur van het DNA maakt dit mogelijk. Als we bij het rund of het varken de DNA ketens van alle chromosomen achter elkaar zouden leggen dan resulteert dat in een draad met een lengte van wel 2 Meter bestaande uit 3 miljard van deze bouwstenen. Het erfelijk materiaal van de kip bestaat uit iets minder van deze bouwstenen, namelijk 1,2 miljard.

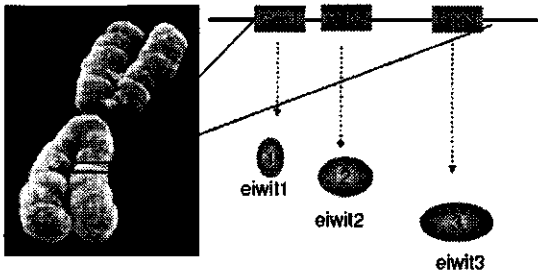
Al deze erfelijke informatie tezamen wordt ook wel aangeduid met de term "Het genoom" en het onderzoek hiernaar wordt aangeduid met de term "Genomics" of in het Nederlands ook wel met de term "Genomica".

De volgorde van die 4 bouwstenen is een code waarin de genetische informatie is opgeslagen. Dit kunnen we vergelijken met b.v. een computer waarbij ook alle informatie is opgeslagen met behulp van slechts twee elementen namelijk 0 of 1 of met een boek waarbij alle informatie achter elkaar regel voor regel is opgeslagen met, in dit geval, 26 verschillende tekens.

- 0100110101000110100001011010010101
- GTGTATAGATGCTCCTAGCTACGTTACTA
- Drie\_voorbeelden\_van\_een\_lineaire\_code

Net als bij een boek kunnen we binnen één chromosoom verschillende pakketjes aan informatie terugvinden. In een boek zijn dat de verschillende paragrafen, bij een chromosoom noemen we dat de genen. Momenteel weten we uit het genoom onderzoek van de laatste jaren dat de meeste dieren zoals kip, varken en rund evenals de mens ongeveer 25,000 tot 30,000 van dergelijke genen bevat, wat dus betekent dat er op een chromosoom tussen de 500 en 2000 genen liggen.

## 500-2000 genen per chromosoom



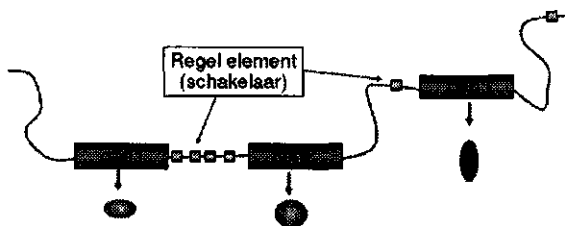
Deze individuele genen coderen elk voor een eiwit en het zijn juist deze eiwitten die elk een heel specifieke functie vervullen binnen het dier. Zo zijn er eiwitten die bijdragen aan de structuur van het organisme zoals b.v. haren, nagels en veren terwijl andere eiwitten, de enzymen, juist betrokken zijn bij een van de vele chemische reacties in het lichaam. Het zou hier te ver voeren om te beschrijven hoe genen en eiwitten er in detail uit zien of een gedetailleerde beschrijving te geven hoe ze precies werken. Om echter de richting van mijn toekomstige onderzoek duidelijk te maken is het nodig om globaal aan te geven hoe genen nu hun effect sorteren op het functioneren van een organisme. Hoe zorgen deze 25,000 genen er nu voor dat uit een bevruchte eicel een heel dier kan ontstaan en dat het kan functioneren. Zo moet elk dier in staat zijn signalen uit zijn omgeving waar te nemen, voedsel te herkennen, het op te nemen en vervolgens moet het lichaam er dan ook voor zorgen dat dit voedsel verwerkt wordt en alle bouwstoffen naar alle cellen in het hele lichaam getransporteerd worden.



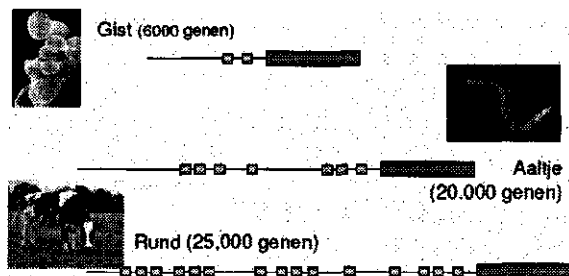
Laten we eens inzoomen ergens op een chromosoom waar in dit voorbeeld drie genen liggen. Nu is het niet zo dat alle genen met begin en eind direct tegen elkaar liggen. Vaak liggen ze ver uit elkaar en slechts een klein percentage van het genoom wordt ingenomen door genen. Er komen zelfs regio's voor op de chromosomen ter grootte van miljoenen basenparen waar vrijwel geen enkel gen ligt. Deze worden aangeduid als "gene-deserts, gen-woestijnen". Van het overgrote deel van dit DNA weten we vaak niet eens precies wat het doet. Voor een deel bestaat dit DNA uit niet-functioneel DNA (ook wel aangeduid met de enigszins misleidende term junk-DNA). Deze hoeveelheid junk-DNA kan enorm variëren waardoor de grootte van het genoom ook enorm varieert.

Het genoom van de fruitvlieg bijvoorbeeld is 180 miljoen basenparen, dat van de kogelvis 400 miljoen, kip, 1200 miljoen, varken 3 miljard. Maar dan verassend de ui 18 miljard, deze salamander 84 miljard en tenslotte het genoom van deze amoebe, een eencellige organisme is zelfs 670 miljard basenparen groot (Watson 2003).

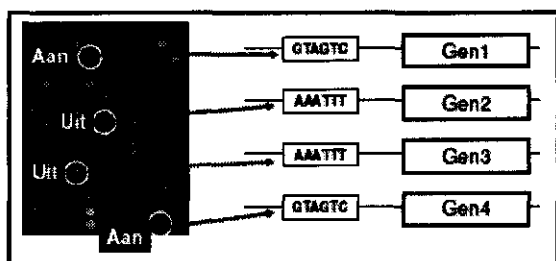
Verspreid tussen dit niet functionele DNA bevinden zich allerlei elementen, kleine stukjes DNA van tientallen tot honderden basenparen groot die fungeren als schakelaars die genen aan of uit kunnen zetten. Willen we nu begrijpen hoe een dier functioneert dan is het niet alleen van belang om de genen zelf te kennen en te weten wat ze doen, maar het is ook van belang om te weten hoe de schakelaars werken waarmee ze gereguleerd worden. Hoe wordt een gen aangeschakeld, wanneer, waar (b.v. in de hersenen, de lever, de spieren), staat het een beetje aan of juist voluit.



Deze schakelaars worden bediend door eiwitten, aangeduid met de term transcriptiefactoren, die gecodeerd worden door andere genen. Het is daarbij net als in de maatschappij er bestaat een duidelijke hiërarchie Sommige genen zijn de uitvoerders ze coderen voor eiwitten die een heel specifieke functie uitoefenen. Ze breken b.v. alcohol af als we dat gedronken hebben, (wat wel zo handig is na een avondje stappen of na de receptie na afloop van mijn rede) anderen zijn een soort managers die de zaak regelen en de besluiten nemen. Ik gaf al aan dat de complexiteit van een organisme geen al te duidelijke relatie vertoont met de grootte van het genoom. Een van de verrassende uitkomsten van het genoomonderzoek van de laatste jaren is dat bij een toenemende complexiteit van het organisme het aantal genen betrekkelijk weinig toeneemt.



Hoe valt te verklaren dat een eenvoudige worm ter grootte van slechts 1 mm die bestaat uit slechts 959 cellen 20,000 genen heeft (Sulston et al, 1983; Sulston 1988) terwijl gewervelde dieren als kip, rund, varken en mens er zo'n 25,000 hebben, slechts 20 % meer? Uit vergelijkend genoomonderzoek wordt in toenemende mate duidelijk dat de complexiteit van het organisme hand in hand gaat met een toename in de complexiteit van de regulatie van de genen. Dit kan ik het best duidelijk maken met het volgende voorbeeld. Hoewel het aantal genen van dieren als kip, varken en rund slechts 4 keer zo hoog is als dat van gist is het aantal transcriptiefactoren dus de "managers" met een factor 8 toegenomen en wat nog veel belangrijker is het aantal regel elementen per gen, de schakelaars, is enorm toegenomen. Het aantal mogelijke combinaties dus de complexiteit van de regulatie is hierdoor exponentieel toegenomen. De grote uitdaging in de komende jaren is dan ook het begrijpen van deze complexe regulatie in relatie tot het biologisch functioneren van het dier. Juist hierbij verwacht ik van de DNA microarray techniek een sterke bijdrage.



Deze techniek maakt het mogelijk om bij alle genen gelijktijdig te meten hoe sterk ze aangeschakeld zijn. Ik ben ove-

rigens wel van mening dat deze techniek momenteel nog te vaak toegepast wordt voor situaties waarvoor ze niet geschikt is. Dit geldt zeker voor veel van de kenmerken die centraal staan binnen de fokkerij.

### **Verschillen en overeenkomsten tussen soorten**

De bestaande verschillen en overeenkomsten tussen dieren zijn een belangrijke bron bij het begrijpen van de werking van het genoom van dieren. Wat we daarbij voortdurend onder ogen moeten zien is dat de evolutie werkt op het niveau van een populatie. Verschillen ontstaan door aanpassingen van het dier aan een veranderende omgeving of niche en dit vinden we terug in de variatie binnen het genoom die door deze selectie is ontstaan. Voor het begrijpen van de werking van het genoom van de verschillende dieren, is het van belang om ons te realiseren dat alle levende wezens op aarde uiteindelijk ontstaan zijn uit een en hetzelfde organisme. Dit is feitelijk het centrale thema dat door Darwin beschreven is in zijn in 1859 gepubliceerde "on the origin of species".

Nu we in toenemende mate de beschikking hebben over de informatie van complete genomen blijkt duidelijk dat zodra gedurende de evolutie er een bepaalde goed werkende oplossing gevonden is deze niet veel meer veranderd. Vandaar ook dat we zelfs nog overeenkomsten zien tussen genen van bacteriën, schimmels, insecten en gewervelde dieren. Deze centrale observatie, staat aan de basis van de vergelijkende genomica, waarvan het belang, gezien de toename in het aantal compleet in kaart gebrachte genomen de komende jaren alleen nog verder zal toenemen.

Er wordt wel beweerd dat we momenteel in het post-genomics tijdperk zijn aangeland. Ik deel die opvatting niet.

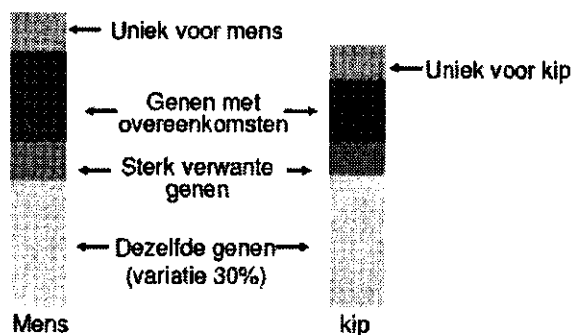
Feitelijk staan we nog maar aan het begin van het genomics tijdperk en ik ben er van overtuigd dat het aantal genomen waarvan de volledige sequentie zal worden opgehelderd voorlopig nog zal toenemen een ontwikkeling die grote overeenkomsten vertoont met de trend bij microprocessoren in de computer industrie<sup>2</sup>.

Er lijkt nog geen einde gekomen aan de toename in sequencing capaciteit terwijl de sequencing kosten nog gestaag dalen. In de tijd dat ik hier nu mijn rede houd is er wereldwijd al weer meer dan 10 miljoen basenparen aan ruwe genoom informatie bijgekomen. Verder zijn er technieken in ontwikkeling die het in de toekomst mogelijk maken om complete genomen te sequencen tegen een fractie van de huidige kosten.

Elke nieuwe soort waarvoor het genoom opgehelderd wordt vergroot ons inzicht in het functioneren van alle reeds bekende genomen. Juist de vergelijking van deze genomische informatie stelt ons in staat om de functionele gebieden beter in kaart te brengen. Het vergelijken van de genomische sequentie bij verschillende dieren stelt ons in staat om een onderscheid te maken tussen het functionele en niet functionele DNA. Het achterliggende principe is als volgt: gedurende de evolutie kunnen er kleine veranderingen optreden in de basenpaar volgorde, de volgorde van de 4 bouwstenen G, A, T en C. Dit gebeurt met een frequentie van een op de veertig miljoen nucleotiden per generatie. Dat lijkt niet zo veel maar dat betekent toch dat ieder van ons zo'n 80 mutaties doorgeeft aan elk van zijn kinderen (Nachman and Crowell, 2000). Als een bepaalde positie binnen het genoom geen cruciale functie vervult, dan zal dit geen effect hebben. Op die plaatsen waar dat wel het geval is zal er een sterke selectiedruk zijn en zal dit

meestal leiden tot de vroege dood van het embryo, m.a.w. die variatie wordt niet doorgegeven. Dit is feitelijk het principe van Darwins theorie van natuurlijke selectie, krachtig onder woorden gebracht door Herbert Spencer als "survival of the fittest" (Mayr, 2002). Over honderden miljoenen jaren heeft dit tot gevolg gehad dat alleen het functionele DNA tussen de verschillende diersoorten nog veel overeenkomsten vertoont terwijl het niet functionele DNA verschillend is geworden.

Als we de genen van verschillende dieren met elkaar vergelijken dan zien we dat er vaak grote overeenkomsten bestaan, zo zien we b.v. dat 60 % van de genen van de kip terug te vinden zijn bij de mens. Dat wil overigens niet zeggen dat die genen identiek zijn. Gemiddeld gezien zijn 30 % van de basenparen van hetzelfde gen tussen mens en kip veranderd gedurende de evolutie.



Vaak zijn mensen verrast als ze dat horen, echter de overeenkomsten in genen zijn niet zo verwonderlijk als we ons bedenken hoeveel overeenkomsten er zijn tussen dieren. Kip, varken, rund, mens allemaal hebben ze een hart, longen, twee ogen vier ledematen enzovoorts. De reeds be-

schikbare genoominformatie laat duidelijk zien dat de natuur telkens weer gebruik maakt van dezelfde principes. Zodra de natuur een oplossing gevonden heeft voor een bepaald probleem dan zal dat niet snel veranderen. Een mooi voorbeeld is het gen *eyeless* bij de fruitvlieg en de naam zegt het al, dat gen is betrokken bij de vorming van het oog van de vlieg. Het overeenkomstige gen bij zoogdieren, *PAX6* is ook bij deze dieren betrokken bij de vorming van het oog.

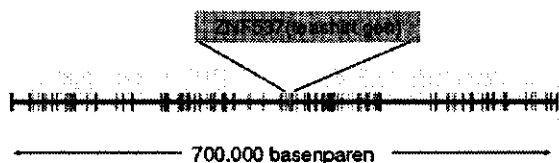
Dat dergelijke overeenkomsten toch subtiel kunnen verschillen blijkt wel uit een ander voorbeeld bij de fruitvlieg. Een gen dat een belangrijke functie heeft bij het bepalen welke cellen de rugzijde van het dier vormen is het gen "Decapentaplegic". Ook van dit gen is het overeenkomstige gen nog steeds aanwezig in alle nu bekende genomen van vertebraten. Echter dit gen *BMP4* bepaalt bij vertebraten welke cellen uiteindelijk de buikzijde vormen (Arendt and Nubler-Jung, 1994). Dat geleedpotigen en vertebraten t.o.v. elkaar ondersteboven liepen was trouwens al in 1822, onder grote hilariteit, opgemerkt door de Fransman Etienne Geoffroy St. Hilaire<sup>3</sup>.

Naast de vele overeenkomsten zijn er uiteraard ook echt verschillen. Een kip ziet er tenslotte heel anders uit dan een fruitvlieg, varken of een rund en deze verschillen zijn uiteraard ook terug te voeren op verschillen in het genoom. De genen die coderen voor de eiwitten in de melk zoals de caseïnes zul je niet tegenkomen in het genoom van de kip, wat ook niet zo verwonderlijk is aangezien de kip geen zoogdier is. Evenmin zul je bij de zoogdieren de genen aantreffen voor avidine en vitellogenine twee eiwitten die te vinden zijn in de eieren van vogels.

Het genoom onderzoek heeft zich zeer begrijpelijk in eerste instantie met name gericht op het in kaart brengen van de 25,000 genen. Voor welke eiwitten coderen deze genen m.a.w. wat is hun functie, welke genen komen overeen als ik verschillende soorten met elkaar vergelijk en hoe past dat in wat we weten over het functioneren van die verschillende soorten. Willen we nu het genoom van een dier begrijpen in relatie met het functioneren van het dier in alle denkbare aspecten, dan is het niet alleen noodzakelijk dat we alle genen kennen maar ook dat we alle regulerende elementen kennen die deze genen aansturen. We willen uiteindelijk niet alleen de verschillende onderdelen begrijpen maar ook hoe het gehele systeem samenwerkt.

Wat erg duidelijk naar voren is gekomen bij de vergelijking van de kip genoomsequentie met die van zoogdieren is dat het deel van het genoom dat betrokken is bij de regulatie, het aan en uit schakelen van de genen, veel groter is dan het deel dat rechtstreeks codeert voor de eiwitten. Uit deze vergelijking kunnen we afleiden dat de hoeveelheid regulerende sequenties in het genoom zeker 3 keer zo groot is als het deel dat codeert voor het eiwit, wat het belang van deze sequenties nog eens extra benadrukt. Bovendien, en dit was een van de vele intrigerende uitkomsten van de analyse van de kip genoomsequentie, vinden we deze niet coderende geconserveerde elementen juist op grote afstand van de genen. Een mooi voorbeeld daarvan komt uit onze samenwerking met de groep van Lisa Stubbs van het Lawrence Livermore National Laboratory in de VS.





Op een afstand van honderdduizenden basenparen rond het ZNF537 gen op chromosoom 11 van de kip, een gen dat lijkt op het teashirt gen bij de fruitvlieg, vinden we wel een honderdtal van deze elementen. Het ophelderen van de functie van deze elementen is een van de grote uitdagingen binnen ons onderzoek van de komende jaren.

Wat we bij al deze vergelijkingen overigens niet uit het oog moeten verliezen is hoe zeker we zijn dat de genen die we vergelijken, ook daadwerkelijk nog dezelfde identieke functie hebben binnen de verschillende soorten. Komen ze op dezelfde manier tot expressie in hetzelfde weefsel, in dezelfde cellen? Alleen als we ook de biologische en fenotypische overeenkomsten en verschillen in beeld hebben kunnen we conclusies trekken omtrent de verschillen en overeenkomsten die we aantreffen binnen het genoom. Dit is een van de aspecten van mijn onderzoek dat ik verder wil opvolgen in samenwerking met Jack Leunissen van de leerstoelgroep Bioinformatica aan deze Universiteit en hopelijk ook binnen een samenwerking met mijn broer Peter, werkzaam bij Organon.

Nu we weten dat de hoeveelheid regulerende sequenties in het genoom 3 keer zo groot is als het deel dat codeert voor het eiwit, is het ook niet zo verwonderlijk dat twee onlangs geïdentificeerde genen die betrokken zijn bij verschillen in de hoeveelheid spiermassa bij respectievelijk het varken en

het schaap juist verschillen vertonen in dit soort regulerende elementen.

Het eerste voorbeeld is een mutatie in een bindingsplaats van een negatieve regulator in het IGF2 gen bij het varken (Van Laere et al., 2003). Hier komen twee varianten voor in de natuur waarbij er een verschil is in de mate van binding van de regulator aan dat element. Door deze verschillen in de mate van binding is er ook een verschil in de mate van expressie van dat gen wat uiteindelijk resulteert in verschillen in de hoeveelheid spiermassa bij het varken. Het ander voorbeeld is het Callipyge gen bij het schaap (Georges et al., 2003) waar mogelijk verschillen in niet coderende regulerende microRNAs verantwoordelijk zijn voor de gevonden verschillen. Micro RNAs is overigens een andere belangrijke vorm van genregulatie, waarvoor in toenemende mate voorbeelden gevonden worden.

### **Landbouwhuisdieren als model voor fundamenteel onderzoek**

Onderzoek binnen de levenswetenschappen is sterk mens gericht en op zich is dat natuurlijk heel begrijpelijk. Echter ook hier kan onderzoek bij landbouwhuisdieren een sterke bijdrage leveren, een aspect dat helaas nog steeds onvolgende in beeld is binnen het humaan medisch onderzoek<sup>4</sup>.

Ik zal dit wat nader toelichten en beginnen met het varken. Het varken is met name een interessant onderzoeksmodel vanwege de grote fysiologische overeenkomsten tussen het varken en de mens. De organen van het varken vertonen veel overeenkomsten met die van de mens. Galanus de lijf-

arts van de Romeinse keizer Marcus Aurelius voerde om deze reden al experimenten uit met varkens en ook nu nog wordt het varken vaak gebruikt als modeldier in de chirurgie. Of de eerste vliegende big om dezelfde redenen in 1909 mee de lucht in ging durf ik echter te betwijfelen.

Tenslotte is het varken evenals de mens een alleseter en ook m.b.t. spijsvertering en dus m.b.t. nutrigenomics is het varken een zeer geschikt onderzoeksmodel. Hier liggen dus eveneens mogelijkheden voor een intensievere samenwerking met Michael Muller van de leerstoelgroep voeding, metabolisme en genomics.

De kip is om een heel andere reden een zeer geschikt onderzoeksmodel en zeker nu we de beschikking hebben over de complete genoom sequentie zal het belang van de kip voor fundamenteel wetenschappelijk onderzoek alleen nog maar toenemen. Het belang van de kip voor onderzoek aan de embryonale ontwikkeling werd al tweeduizend jaar geleden onderkent.

Al in het jaar 350 voor Christus beschreef Aristoteles in zijn *Historia Animalum* gedetailleerd het zich ontwikkelende kippenembryo. Het kippenembryo is sinds die tijd een favoriet modeldier gebleven voor onderzoek aan de vroege embryonale ontwikkeling, juist omdat deze ontwikkeling bij de verschillende vertebraten, inclusief de mens, zoveel overeenkomsten vertoont. De laatste 20 jaar is deze positie wat aangetast door dat van de muis, maar de goede toegankelijkheid van het kippenembryo, de beschikbaarheid van de genoomsequentie van de kip en in toenemende mate geavanceerde technieken zoals RNAi en morpholinos zouden voldoende argumenten moeten zijn om ook binnen Nederland te zorgen voor een renaissance in het onderzoek aan dit dier. In tegenstelling tot het embryo van de muis, is

dat van de kip eenvoudig toegankelijk en zoals dit filmpje laat zien kan het embryo zich zelfs verder blijven ontwikkelen zelfs als het ei geopend is.

Ik zie het als een uitdaging om juist dit aspect van het onderzoek aan de kip de komende jaren verder uit te dragen binnen Nederland en te benutten zowel in ons eigen onderzoek alsook binnen nieuwe samenwerkingsverbanden zoals de recente samenwerking met Michael Richardson van de Universiteit Leiden.

### **Variatie binnen een soort**

Tot nu toe ben ik vooral ingegaan op overeenkomsten en verschillen tussen de verschillende diersoorten en hoe die informatie gebruikt kan worden voor een beter begrip m.b.t. het functioneren van zowel het dier als de mens. Echter ook binnen één diersoort komen allerlei verschillen voor en juist deze verschillen zijn uiteraard van cruciaal belang voor de fokkerij. Hoewel binnen een soort alle dieren dezelfde ongeveer 25,000 genen hebben, komen ook hier verschillen voor die veroorzaakt worden door kleine verschillen in deze genen. Deze verschillende varianten van de genen worden aangeduid als de verschillende allelen. Deze verschillende allelen zijn verantwoordelijk voor de grote fenotypische variatie die we zien bij de verschillende individuele dieren en dat is maar goed ook anders zou er niet veel te selecteren zijn en zou er geen fokkerij bestaan. Bij fokkerij heeft de mens door selectie dieren gemaakt die een, voor de mens, zo gunstig mogelijke combinatie van deze allelen bevatten. Hoe extreem deze verschillen qua uiterlijk van het dier kunnen zijn heb ik al in het begin van mijn rede laten zien maar deze verschillen beperken zich niet tot uiterlijke kenmerken zoals verenkleur, maar ook in verschillen in

groei en fysiologie van het dier, zoals duidelijk te zien is tussen deze vergelijking van een 6 weken oud vleeskuiken en een legkip van dezelfde leeftijd.

Voor ik verder inga op hoe we moleculaire genetica in willen zetten om deze variatie gericht te kunnen benutten zal ik proberen u een indruk te geven van de enorme variatie die we nog binnen een soort aan treffen en dit in perspectief plaatsen t.o.v. de variatie die we zien als we verschillende soorten met elkaar vergelijken.

Vergelijken we kip met varken of met mens dan zien we dat we zo'n 7 % van de sequentie van het kippen genoom terug vinden bij de mens, wat niet zo verwonderlijk is gezien het feit dat de laatste gezamenlijk voorloper van mens en kip zo'n 310 miljoen jaar geleden op aarde rondliep. Tussen mens en varken onderling (met hun laatste gezamenlijk voorouder zo'n 75 miljoen jaar geleden is dat rond de 40% en tussen mens en chimpansee met een gezamenlijke voorouder tussen de 5 en 8 miljoen jaar geleden is dat zelfs 98,6 % (The International Chimpanzee Chromosome 22 Consortium, 2004). Deze grote overeenkomst tussen mens en chimpansee kan ik ook anders illustreren namelijk tussen een willekeurige chimpansee en een willekeurig gekozen mens zal gemiddeld 1,4 % van de basenparen verschillend zijn. In relatie tot dit laatste getal is het opmerkelijk te zien dat als we twee willekeurige kippen van verschillende lijnen vergelijken er gemiddeld 0.5 % van de basenparen verschillend zijn (International Chicken Polymorphism map Consortium, 2004). Met andere woorden van de 1,2 miljard basenparen zijn er dan 6 miljoen verschillend.


Ik heb in het voorgaande geprobeerd allereerst het kader te

schetsen voor de toepassing van ons onderzoek: Hoe kunnen we met de kennis van het genoom komen tot een gericht fokkerij juist op die eigenschappen waarop het in het verleden lastig was om te selecteren. In mijn optiek kan dat op twee verschillende manieren die in de praktijk echter hand in hand zullen gaan. Allereerst biedt het hebben van de complete genomische informatie en kennis over de variatie binnen dat genoom de mogelijkheid om deze variatie te benutten binnen de fokkerij m.b.v. genomewijde merker-ondersteunde selectie (Meuwissen et al., 2001). Bij de kip hebben we nu al bijna 3 miljoen variaties binnen het genoom in kaart gebracht, en binnen een tot twee jaar zal dat ook het geval zijn bij het rund en het varken. De voortdurende stijging in capaciteit om deze variatie tegen steeds lagere kosten in kaart te brengen, maakt het steeds beter mogelijk om deze informatie in lopende fokkerij programma's te implementeren. Technisch is het nu al mogelijk om duizenden variaties bij duizenden dieren te meten. Hoe we deze informatie zo efficiënt mogelijk kunnen koppelen aan biologische kenmerken en vervolgens benutten voor selectie zal een belangrijk aandachtspunt zijn voor ons onderzoek van de komende jaren en een belangrijk aandachtspunt zijn binnen de samenwerking met onze partners in het bedrijfsleven, Nutreco, IPG en CRV.

Uit het voorgaande zou men onterecht kunnen afleiden dat het voldoende zou zijn om de variatie te kunnen volgen zonder uiteindelijk te begrijpen welke van die variaties verantwoordelijk zijn voor de gevonden biologische verschillen. Het meten van het fenotype wordt in steeds toenemende mate de bottleneck en de kosten daarvan gaan in tegenstelling van die van de moleculaire technieken niet omlaag. De identificatie van de genen die verantwoordelijk

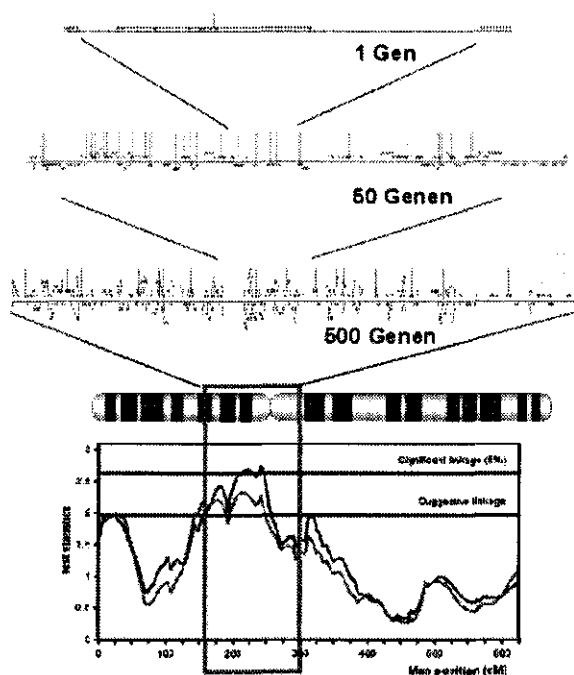
zijn voor de fenotypische verschillen maakt het niet alleen mogelijk om die informatie in verschillende populaties te gebruiken maar geeft ons ook steeds meer inzicht in de onderliggende fysiologie van het kenmerk. Alleen dan kunnen we blijven werken aan een verantwoorde selectie van de toekomstige populaties, zonder nadelige bijkomende effecten voor het dier.

Het is lastig om de ontwikkelingen van de komende 5 tot 10 jaar binnen de moleculaire genetica te voorspellen<sup>5</sup> maar terugkijkend naar de enorme ontwikkelingen van de afgelopen 10 jaar ben ik er van overtuigd dat we steeds verder toegaan naar een indexering van elk basenpaar in het genoom.



gtagtgcgtaatagcactagctagccactactatcgatcgatcagctagctacga  
0000994964990000000000007983560450002789000000

Evenals het feit dat het humane genoomproject gezorgd heeft voor een explosie aan genoominformatie bij andere dier en planten soorten zo zullen ook de humane Hapmap en Encode projecten zeker navolging krijgen binnen andere soorten en ik verwacht dat we uiteindelijk ook het merendeel van alle bestaande variaties bij onze landbouwhuisdieren in kaart zullen brengen. De echte uitdaging zal er uiteindelijk in liggen deze informatie te gebruiken bij in een beschrijving van het biologisch functioneren van het dier en de geobserveerde fenotypische verschillen, iets wat ook wel aangeduid wordt met "systeem biologie".



In de afgelopen 10 jaar hebben we binnen onze groep reeds de chromosomale locatie van een groot aantal genen die betrokken zijn bij een verscheidenheid aan kenmerken bij zowel kip als varken in kaart gebracht. Dat wil niet zeggen dat we weten welke genen dit zijn, laat staan dat we weten wat de precieze onderliggende verschillen zijn binnen deze genen. Kennis over de volledige genoomsequentie zal er zeker toe bijdragen dat we uiteindelijk deze genen zullen identificeren en ons in staat stellen beter te selecteren op de gunstige varianten, de allelen, juist ook voor die kenmerken



waarvoor het in het verleden nauwelijks mogelijk was om op te selecteren.

Een belangrijke rol zie ik daar ook voor de interactie tussen de twee disciplines die de basis vormen van de leerstoelgroep Fokkerij en Genetica namelijk de moleculaire genetica en de kwantitatieve genetica. Juist nu we met moleculaire technieken steeds beter in staat zijn grote aantallen bepalingen te doen aan steeds grotere aantallen dieren is het van essentieel belang om ook de analyse van deze data optimaal uit te voeren, iets waarvoor juist de kwantitatieve genetica al jaren ervaring heeft. Daarnaast is samenwerking ook essentieel voor het ontwikkelen van innovatieve toepassingen in fokprogramma's met ook aandacht voor behoud van genetische diversiteit.

### **Samenwerking**

Het overzicht dat ik u gegeven heb heeft u hopelijk duidelijk gemaakt dat er voor het in kaart brengen en gericht benutten van alle erfelijke informatie een groot scala aan technieken en disciplines noodzakelijk is. Succesvol onderzoek binnen dit vakgebied is alleen mogelijk door intensieve samenwerking, iets wat we al die jaren nadrukkelijk hebben nagestreefd.

In eerste instantie met het bedrijfsleven, maar later in toenemende mate met een groot aantal onderzoeksgroepen binnen en buiten Nederland. In de laatste vijf jaar bijvoorbeeld is zelfs bij meer dan 50% van onze publicaties sprake van een internationale samenwerking. Ook de komende jaren zullen we er voor zorgen om juist door intensieve samenwerking vooraan te blijven lopen in ons vakgebied. Het verder uitbreiden van deze samenwerking met onder-

zoeksgroepen binnen Nederland verdient hierbij de volle aandacht. Hierbij denk ik met name ook aan de verschillende onderzoeksgroepen binnen Wageningen Universiteit zoals met Celbiologie & Immunologie van Huub Savelkoul, Experimentele Diermorphologie van Johan van Leeuwen, Nutrigenomics van Michael Muller, Microbiologie van Willem de Vos, Bioinformatica van Jack Leunissen en de nieuwe hoogleraren bij Fysiologie Mens en Dier en bij Diervoeding. De afgelopen jaren hebben we vruchtbaar samengewerkt met groepen in Lelystad. Ik ben er van overtuigd dat er winst te behalen is voor alle partijen door intensievere samenwerking met het cluster Fokkerij en Genetica van Roel Veerkamp en het cluster Genomica van Mari Smits. Door het vormen van één "Centre of Integrated Genetics and Genomics" moeten we in staat zijn om onze vooraanstaande internationale positie te behouden of zelfs uit te breiden.

## Onderwijs

Wat voor onderzoek geldt, geldt zeker ook voor het onderwijs, juist voor onderwijs binnen een universitaire setting. Wageningen richt zich met name op de levenswetenschappen zowel bij micro-organismen, planten als dieren. Ik heb me in mijn betoog voornamelijk gericht op dier (en mens), maar een vergelijkbare rede had ik ook kunnen houden met betrekking tot planten of micro-organismen. Genomica speelt een even belangrijke rol bij elk van deze soorten. Ik ben dan ook blij dat het uiteindelijk gelukt is om een Genomica vak op te zetten voor studenten van alle relevante onderzoeksdisciplines. Juist tijdens hun studie is het voor studenten belangrijk om over de grenzen van hun discipline van voorkeur heen te kijken. Ook de samenwerking van

diverse leerstoelgroepen zoals Fytopathologie, Microbiologie en Fokkerij en Genetica vormen een essentieel onderdeel voor het succes van dit onderwijs<sup>6</sup>.

Het up-to-date houden van het genomics vak binnen dit zeer snel veranderende onderzoeksveld is een belangrijk aandachtspunt, evenals een verdere optimalisering van de afstemming van het vak met vakken als bioinformatietechnologie en nieuwe onderwijs elementen op het gebied van de bioinformatica. Om deze samenwerking nog nadrukkelijker gestalte te geven is het ook wenselijk om binnen de opleiding dierwetenschappen te komen tot een specialisatie "Animal Genomics", waartoe op dit moment dan ook initiatieven worden genomen.

### **Samenvatting**

Ik hoop u in de afgelopen 45 minuten duidelijk gemaakt te hebben dat we nog volop midden in het genomics tijdperk staan, en dat de vergelijkende genomics een grote bijdrage zal leveren aan het begrijpen van de werking van het genoom en de regulatie van de genen.

Niet alleen het in kaart brengen van de overeenkomsten én verschillen tussen en binnen soorten is daarbij van belang. Juist het begrijpen van deze verschillen en overeenkomsten zal ons in toenemende mate in staat stellen dit toe te passen binnen de fokkerij.

### **Dank<sup>7</sup>**

Mijnheer de Rector Magnificus, dames en heren, ik wil deze lezing graag afsluiten met een woord van dank. Het is uiteraard ondoenlijk om iedereen te noemen die op eniger

wijze bijgedragen heeft aan het feit dat ik hier nu sta, maar een aantal mensen wil ik toch expliciet bedanken.

Leden van de Raad van Bestuur van Wageningen Universiteit, leden van de Toetsingscommissie Persoonlijke Hoogleraren, Hooggeleerden van Arendonk en Brascamp, beste Johan en Pim, ik dank jullie voor het in mij gestelde vertrouwen. Johan, de voortreffelijke manier waarop jij de leerstoelgroep Fokkerij en Genetica leidt en onze samenwerking waardeert ik in hoge mate.

Mijn promotor Piet van de Putte en mijn kamergenoot Ronald Plasterk bij Moleculaire Genetica in Leiden. De talloze discussies over allerlei aspecten m.b.t. de bacteriopfaag Mu hebben mede de basis gelegd voor het feit dat ik hier vandaag sta. Piet, ik ben bijzonder verheugd dat jij hier vandaag aanwezig bent bij de rede van al weer je vierde promovendus die tot hoogleraar is benoemd.

Jan van der Poel, al die jaren zorgde je ervoor dat het lab goed georganiseerd was en ik met kon richten op het onderzoek. De basis van het succes van het moleculaire onderzoek binnen onze groep werd gelegd toen we samen met Rosilde en een aantal studenten dagelijks nog druk in de weer waren achter de labtafel. Rosilde, ik realiseer me dat er vaak veel te weinig tijd genomen wordt om ook over andere zaken dan onderzoek te praten. Tineke, Kaveh, Bert, Sandra, Stanley te vaak wordt vergeten dat veel van de data uiteindelijk door de analisten in het lab gegenereerd wordt. Jullie bijdrage wordt enorm gewaardeerd.

Richard Croijmans, met jouw aanstelling in 1990 is ons meest succesvolle onderzoek, het genoom onderzoek aan de

kip, van start gegaan. In toenemende mate ben ik gaan leunen op jouw expertise voor de leiding van de experimentele werkzaamheden op het lab. Meestal is een half woord voldoende en zonder jou zouden we niet die positie innemen met ons onderzoek zoals dat momenteel het geval is.

Gerard Albers, al 15 jaar ben jij de contactpersoon voor onze samenwerking met Nutreco. Je hebt altijd feilloos de belangen van zowel het bedrijf als de Universiteit in beeld. Ook jouw inbreng staat aan de basis van het succes van onze groep en ik ben er van overtuigd dat we nog vele mooie gezamenlijke resultaten zullen behalen in de toekomst.

Een van de sterke punten van de leerstoelgroep Fokkerij en Genetica is de intensieve samenwerking van de twee disciplines binnen onze groep; De moleculaire en de kwantitatieve genetica. Deze vruchtbare samenwerking is ook voor de toekomst essentieel. Ik kan hier niet iedereen bedanken omdat ik dan alle medewerkers van onze leerstoelgroep zou moeten noemen, maar ik wil in ieder geval Henk Bovenhuis noemen, die bij vrijwel alle moleculaire projecten betrokken is.

Aan de collega's van de andere leerstoelgroepen. Bedankt voor de samenwerking in de afgelopen periode en ik kijk met belangstelling uit naar het verder uitbouwen en opzetten van een vruchtbare samenwerking.

Tenslotte Jeanne, Nick, Inske en Minou. Als echtgenote en kinderen van een wetenschapper die regelmatig in het buitenland vertoeft en vaak 's avonds en in het weekend nog met zijn werk bezig is, hebben jullie het niet altijd even makkelijk. Jeanne, een ding weet ik zeker, zonder jouw

steun had ik hier vandaag niet gestaan.

Ik heb gezegd

## Referenties

Arendt, D. and Nubler-Jung, K. (1994) Inversion of the dorso-ventral axis? *Nature* 371: 26.

Nachman, M.W. and Crowell, S.L. (2000) Estimate of the mutation rate per nucleotide in humans. *Genetics* 156: 297-304

Fokkinga, A. (1995) Een land vol vee. Misset uitgeverij, Doetinchem

Georges M., Charlier C. and Cockett N. (2003) The callipyge locus: evidence for the trans interaction of reciprocally imprinted genes. *Trends in Genetics* 19:, 248-252

International Chicken Genome Sequencing Consortium (2004) Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature* 432: 695-716

International Chicken Polymorphism map Consortium (2004) A genetic variation map for chicken with 2.8 million single-nucleotide polymorphisms. *Nature* 432: 717-722

Mayr (2002) *What evolution is.* (London: Weidenfield & Nicolson)

Meuwissen TH, Hayes BJ, Goddard ME.(2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157:1819-1829

Sulston, J.E., Scherienberg, E., White, J.G. and Thompson, J.N. (1983) The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Developmental Biology* 100: 64-119

Sulston, J.E. (1988) Cell lineage. In *The Nematode Caenorhabditis elegans*. Edited by Wood, W.B.: Cold Spring Harbor Laboratory Press p. 123-156

The International Chimpanzee Chromosome 22 Consortium (2004) DNA sequence and comparative analysis of chimpanzee chromosome 22. *Nature* 429: 382-388

Van Laere A.S., Nguyen M., Braunschweig M., Nezer C., Collette C., Moreau L., Archibald A.L., Haley C.S., Buys N., Tally M., Andersson G., Georges M., Andersson L. (2003) A regulatory mutation in IGF2 causes a major QTL effect on muscle growth in the pig. *Nature* 425: 832-836

Watson, J. (2003) *DNA, the secret of life*. Publ. Random House Limited, London

Darwin (1859) *On the origin of species* (London: John Murray)

## **Gebruikte citaten**

1. Toegepaste wetenschap bestaat niet, alleen toepassingen van wetenschap bestaan. *Louis Pasteur*



2. Het aantal transistors dat op een chip geplaatst kan worden zal elke 18 maanden verdubbelen. *Gordon Moore (intel)*
3. De kreeft is eigenlijk slechts een gewerveld dier dat ondersteboven leeft. *Etienne Geoffroy St. Hilaire (1822)*
4. De waarde van de studie aan huisdieren wordt door de meeste natuuronderzoekers onderschat *Charles Darwin (1859)*
5. Voorspellen is erg moeilijk, vooral met betrekking tot de toekomst *Niels Bohr*
6. De beste manier om iets te leren is er les in te geven. *Seneca (Romeins filosoof 4 vC-65)*
7. De uitdaging is niet zozeer om te zien wat niemand eerder zag maar te bedenken wat nog niemand bedacht heeft over iets wat iedereen ziet. *Erwin Schrödinger*