



WAGENINGENUR
For quality of life

KENNIS-ONLINE

JAARGANG 10 - MEI 2013

Wageningen UR-onderzoek voor EZ

www.wageningenUR.nl/kennisonline

Sequencing

De tomatenkaart is klaar, wat nu?

Genomics in de fokkerij: in tien jaar
van topwetenschap naar big business

Bedrijven kunnen veel, maar niet alles

Steeds meer sequenties bekend



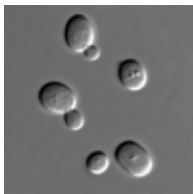
1976 Bacteriofaag MS2

Het virus dat de bacterie *E. coli* belaagt, was het eerste organisme waarvan de volledige DNA-volgorde werd bepaald. Dankzij ouderwets handwerk in het laboratorium.



2003 Mens

Het *Human Genome Project* publiceert een sequentie van het menselijk genoom die voor 99 procent correct zou zijn. Een conceptversie werd al in 2000 gepresenteerd door president Bill Clinton.



1996 Bakkersgist

Het eerste organisme met een celkern waarvan de volledige sequentie werd gepubliceerd.



2004 Kip

De eerste vogel. De Wageningse hoogleraar Martien Groenen was één van de auteurs van de *Nature*-publicatie.



2000 Zandraket (*Arabidopsis thaliana*)

De favoriete modelplant voor plantenbiologen. Wordt nog steeds uitgebreid bestudeerd om de functie van genen in planten te achterhalen.



2012 Varken

Het enige genoom dat werd gepubliceerd met een Wageningse onderzoeker als eerste auteur, wederom Martien Groenen.



2002 Rijst

Het eerste voedselgewas. Werd snel gesequencet omdat het een groot voedselgewas is met een relatief eenvoudig genoom.



2012 Tomaat

Het belangrijkste gewas voor de Nederlandse veredelingsbedrijven. Het Nederlandse deel van het onderzoek is grotendeels verricht onder de vlag van het CBSG (Centre for BioSystems Genomics).

Nieuwe technieken zorgen ervoor dat DNA-sequenties steeds sneller opgehelderd worden. Waren het tien jaar geleden nog vooral modelorganismen waar het genoom van werd beschreven, de laatste jaren zijn de erfelijke gegevens van steeds meer gewassen en productiedieren gepubliceerd.

COLOFON

KennisOnline is een uitgave van Wageningen UR. De nieuwsbrief is voor EZ-medewerkers en anderen die belangstelling hebben voor het beleidsrelevante onderzoek van Wageningen UR. Naast het maandelijkse magazine verschijnt er iedere twee weken een elektronische nieuwsbrief.

Uitgever

Wageningen UR, Postbus 9101, 6700 HB Wageningen

Tekst en realisatie

Bureau Bint, Wageningen. www.bureaubint.nl

Fotografie

Theo Tangelder, Bart de Gouw en Wageningen UR

Vormgeving

Wageningen UR, Communication Services

Redactiecommissie

Jelle Maas en Olga Scholten

Redactieadres

Wageningen UR, Communication Services
T.a.v. KennisOnline, Postbus 409, 6700 AK Wageningen
www.wageningenUR.nl/kennisonline
E-mail: kennisonline@wur.nl
Telefoon: 0317 - 48 54 74

KIES VOOR KENNIS-ONLINE

Voor alle informatie over onderzoek van Wageningen UR voor het ministerie van EZ

Internet

- Nieuws & agenda
- Projectinformatie
- Onderzoeksresultaten
- Archief
- Helpdesk EZ- kennisvragen

Magazine

Maandelijkse uitgave met achtergronden over de thema's:

- Landelijk gebied en natuur
- Duurzame productie
- Ketens, voedsel & diergezondheid

E-news

Iedere twee weken het actuele nieuws in uw mailbox.

Abonneren op het magazine en e-news is kosteloos! Kijk op www.wageningenUR.nl/kennisonline

De tomatenkaart is klaar, wat nu?

Vorig jaar publiceerde *Nature* de genomische sequentie van de tomaat. Maar daarmee is het werk niet af, zegt Richard Finkers. Hij bepaalde de basenvolgorde van nog eens 150 verwanten van de modeltomaat, om plantenveredelaars in staat te stellen op zoek te gaan naar nieuwe genen in oude rassen.

Heinz 1706 is geen bijzondere tomaat. De vruchten zijn niet groot, niet klein, een beetje eivormig; weinig opmerkelijk eigenlijk. Het tomatenras werd door de naamgevende ketchupfabrikant ontwikkeld in de jaren zestig. Telers gebruiken het ras nauwelijks meer. Toch zijn er miljoenen geïnvesteerd in onderzoek naar het genoom van Heinz 1706. Het ras is nu dé modeltomaat voor genetici. Heinz 1706 was toevallig voorhanden in het lab van de Amerikaanse genetici die de eerste hand legden aan het onderzoek om het erfelijk materiaal van de tomaat in kaart te brengen. Dat onderzoek groeide uit tot een wereldwijde samenwerking waarin Wageningen UR een van de grotere onderzoeksinstellingen was. Op 31 mei 2012 was dat onderzoek klaar. *Nature* publiceerde toen de volledige volgorde van het DNA van Heinz 1706. Met de publicatie van het genoom, droogde in Nederland de subsidiestroom voor genetisch plantenonderzoek grotendeels op. Acht jaar

lang stak de Nederlandse overheid veel geld in onderzoek naar met name tomaat, koolsoorten en aardappel. Maar nu het FES-project het Centre for BioSystems Genomics (CBSG) wordt afgerond, zal de komende jaren duidelijk minder budget beschikbaar zijn voor onderzoek naar plantengenen.

'Ik begrijp dat wel', zegt hoogleraar Richard Visser, hoofd van Wageningen UR Plant Breeding. 'Als onderzoeker ben je natuurlijk nooit klaar, maar financiers hebben een andere logica. Die hebben doelstellingen die in vier jaar gehaald moeten worden. Als je geluk hebt krijg je nog een keer verlening, maar dan houdt het wel op.'

Nu grotendeels met publiek geld de genen van de tomaat in kaart zijn gebracht, mogen veredelingsbedrijven investeren om die kennis om te zetten in nieuwe rassen. Door de toegenomen kennis van het DNA van verschillende gewassen wordt dat volgens Visser steeds meer een kwestie van gestuurd ontwerpen van

rassen, en steeds minder van groene vingers. 'Plantenveredeling was een mengeling van kunst en wetenschap. Kunst, omdat veel werk op gevoel ging. De veredelaar kruiste verschillende rassen, en selecteerde uit duizenden zaailingen de geschikte exemplaren om mee verder te kweken. Nu we steeds meer weten van het genoom, wordt het veel makkelijker om te sturen. We kunnen steeds beter vooraf voorspellen welk kruisingsschema de beste resultaten oplevert, en welke genen je moet hebben in je uiteindelijke selectie om je doel te bereiken. Dat zorgt voor kleinere proeven en sneller resultaat.'

Voorwaarde daarbij is wel dat niet alleen de genetische gegevens beschikbaar zijn, maar ook de gegevens over de fenotypen; de kenmerken van de plant, het aantal tomaten aan een tros, de vorm van de vruchten en hun smaak. Om die gegevens bij elkaar te krijgen, hebben vijf Nederlandse veredelingsbedrijven de krachten gebundeld met Naturalis en de universiteiten van Amsterdam en Wageningen in het Virtual Laboratory for Plant Breeding. Visser: 'Het is ondoenlijk om in je eentje de gegevens van al die rassen van verschillende gewassen bij elkaar te brengen. Het gaat heel



Onderzoekers bepaalden de DNA-volgorde van 150 tomatenrassen.



*'Het fundamentele
veredelingsonderzoek
dreigt in het nauw te
komen'*

goed met de Nederlandse veredelingsbedrijven. Als we die positie willen behouden, moeten we samen, liefst ook met de overheid, investeren in dit soort databanken.'

Nu van verschillende gewassen DNA-sequenties van hun modelplanten zijn gepubliceerd, richten veel onderzoekers zich op de genetische diversiteit binnen gewassen. Zo is er een project om 150 tarwerassen te sequencen, het 450 komkommers-project en een programma om de DNA-volgorde te bepalen van 100 koolsoorten. In Wageningen was Richard Finkers verantwoordelijk voor het programma dat 150 DNA-volgordes opleverde van tomaten en verwanten. Dat het de allerbeste universiteiten samen tien jaar kostte om het eerste genoom van tomaat te publiceren, en Finkers met een groep collega's na anderhalf jaar onderzoek zo'n 150 genomen afleverde, heeft te maken met de manier waarop tegenwoordig DNA-volgordes bepaald worden.

Stukjes

Het sterke punt van moderne sequencing-apparaten is hun enorme snelheid. Ze kunnen in hoog tempo de volgorde bepalen van grote hoeveelheden DNA. Het zwakke punt is dat ze dat doen door het DNA eerst in miljoenen stukjes te knippen. Van die korte stukjes bepalen ze de DNA-volgorde. Voor onderzoekers is het vervolgens de kunst om de stukken weer op volgorde te leggen. Die laatste stap kost verreweg de meeste tijd, en is veel makkelijker geworden nu de sequentie van modeltomaat Heinz 1706 beschikbaar is. De stukken van verwante rassen zijn snel op volgorde te leggen door voor elk stukje te zoeken naar vergelijkbare stukken op het modelgenoom. Een paar maanden werk levert al een heel aardige sequentie op. Resequencen heet het maken van een kaart van een ras waarvoor al een sequentie van een nauw verwant ras bestaat.

Finkers van Wageningen UR Plant Breeding resequencete met collega's 150 planten uit een genenbank, waaronder tomaten van 50 rassen en 34 exemplaren van 11 verwante soorten – planten die soms nauwelijks op een tomaat lijken, maar waarvan veredelaars wel weten dat ze met de tomaat kruisen. Genen uit die planten kunnen daarom zonder genetische manipulatie in een tomaat worden gebracht. Dit jaar leverde Finkers de DNA-data van de 150 planten aan de plantenveredelingsbedrijven die het onderzoek mede financierden. 'Het zijn kale gegevens, zonder veel kennis over de

verbanden tussen de rassen. Nu hebben bedrijven een infrastructuur in handen waar ze meer verder kunnen.'

Finkers vond in zijn 150 sequenties een voorbeeld dat laat zien waarom betere kennis van de genen in de toekomst ook betere tomatenrassen oplevert. In de jaren vijftig ontwikkelde de Nederlandse veredelaar De Ruiter een tomatenras dat resistent was tegen het tabaksmozaïekvirus, een ziekte die ook tomaten aantast. Uit zijn analyses blijkt dat veel moderne rassen nog steeds een groot stuk DNA meedragen waarop het gen ligt dat de tomaat weerbaar maakt tegen het virus. Maar dat stuk is veel groter dan nodig. Het bevat waarschijnlijk veel meer genen. 'Dat wil je eigenlijk niet. Je neemt nu genen mee die je niet nodig hebt, en die mogelijk schadelijk zijn. Nu we meer weten kunnen we een gerichte strategie toepassen om ervoor te zorgen dat je in korte tijd zo weinig mogelijk DNA inkruist.'

Dat is mooi, maar het liefst zou Finkers de infrastructuur voor de verdelers nog verder verbeteren, want er zitten her en der nog gaten in de snelweg. De genenpakketten van de tomatenrassen zijn wel onderzocht, maar helemaal klaar zijn de sequenties nog niet. Zeker met de verwante soorten kunnen de verschillen met het genoom van Heinz 1706 vrij groot zijn. Sommige stukken van het genoom zitten op een heel andere plek. En, belangrijker nog, veel soorten hebben extra DNA; sommige soorten hebben dertig procent meer DNA dan de modeltomaat. Die extra stukken erfelijk materiaal zijn wel gesequencet, maar de deelnemende bedrijven hebben ze in een soort vuilniszak meegekregen. Het zijn de stukken DNA die niet thuis te brengen zijn met behulp van de bestaande standaard DNA-volgorde. Onderzoek naar de witte vlekken die zo achterblijven op de genetische kaarten vergt te veel tijd en geld.

Finkers: 'Volgens mij zou het goed zijn om juist daar extra in te investeren. Juist in die verwante soorten zitten de genen die we kunnen gebruiken tegen plantenziektes, of wanneer je zoekt naar rassen die beter bestand zijn tegen droogte of andere vormen van stress. Eigenlijk gooi je nu het goud, de genen die een grote sprong mogelijk maken, bij de rommel die je niet thuis kunt brengen.'

Het liefst zou Finkers een kaart maken van het pangenoom van de tomaat. Voor maïs wordt gewerkt aan zo'n pangenoom. Een kaart van een groot aantal gecultiveerde en wilde maïs-

rassen samen met andere plantensoorten die met maïs kunnen kruisen. 'Als je zoiets voor de tomaat zou hebben, kun je bijvoorbeeld zoeken naar genen die zorgen dat verwante soorten goed bestand zijn tegen droogte, of hitte. Nu liggen juist de genen die die soorten niet gemeen hebben met de tomaat in de vuilniszak.'

In het nauw

Hoogleraar Richard Visser weet niet of hij zijn geld in onderzoek naar een pangenoom zou stoppen: 'Ik moet nog zien of dat net zo goed mogelijk is als bij maïs.' Hij is wel bezorgd over de mogelijkheden om fundamenteel veredelingsonderzoek te doen. Er zijn volgens hem haast geen onderzoeksprojecten meer waarbij de deelname van een bedrijf niet is vereist. Bedrijven die zelf een flink deel van het onderzoek willen betalen, willen ook op korte termijn resultaten. 'Ze zullen niet snel investeren in riskant onderzoek dat pas over een jaar of tien misschien wat oplevert. Ik ben helemaal niet tegen samenwerken met bedrijven, integendeel, juist daarom ben ik naar Wageningen gekomen. Maar nu je zelfs bij projecten die gefinancierd worden door NWO bedrijven betrokken moeten worden, dreigt het fundamenteel onderzoek in het nauw te komen.'

De grote rol van bedrijven bij onderzoeksfinanciering zorgt er volgens Visser ook voor dat mensen op R&D-afdelingen van veredelingsbedrijven worden overspoeld met verzoeken om samen met onderzoeksinstellingen projecten in te dienen bij financiers. 'Vroeger was het zo dat een bedrijf best een rol aan de zijlijn wilde vervullen door bijvoorbeeld in een begeleidingscommissie van fundamenteel onderzoek te gaan zitten, maar daar hebben ze nu geen tijd meer voor. Bedrijven zijn nu veel kritischer over waar ze aan meedoen.'

Dat klinkt mooi, bedrijven die kritisch meekijken waar publiek geld wel of niet aan besteed wordt, maar volgens Visser is het geen zegen. 'Het versterkt het effect dat er weinig geld is voor onderzoek voor de lange termijn. En als we over tien, twintig jaar nog steeds mee willen doen in de wereld, moet je het fundamentele onderzoek niet laten opdrogen.'

Contact: richard.visser@wur.nl
0317 - 48 28 57
richard.finkers@wur.nl
0317 - 48 41 65

Paddenstoelen voor de biobased economy

De champignonveredeling staat in Nederland nog in de kinderschoenen. Als de overheid bijdraagt aan het sequencen van meer schimmels, schept dat internationale kansen voor Nederlandse paddenstoelentelers en voor toepassing van deze schimmels in biomassa.

Je zou het niet een, twee, drie verwachten, maar het genoom van champignon, dat in oktober 2012 werd gepubliceerd in *PNAS*, is er gekomen door investeringen van het Amerikaanse ministerie van energie. 'Het ministerie zag daar een strategisch belang in', vertelt Anton Sonnenberg. Champignon en andere paddenstoelvormende schimmels zijn namelijk een mooi modelorganisme voor de koolstofcyclus, en daarmee van belang voor het tegengaan van klimaatverandering en voor de overgang naar een biobased economie. Sonnenberg was vanuit Wageningen betrokken bij het genoomproject, en is champignon-expert bij Plant Research International (PRI), onderdeel van Wageningen UR. De champignon die werd gesequencet (*Agaricus bisporus*) ligt in iedere winkel, en is in de jaren zeventig door een voorganger van PRI ontwikkeld. Het bekend worden van het genoom van paddenstoelen, biedt volgens Sonnenberg veel perspectieven: voor efficiënter gebruik van substraat, voor gebruik van de lignine-afbrekende eigenschappen in biobased toepassingen, en voor de ontwikkeling van nieuwe rassen. Maar dan moet de overheid wel mee-investeren. 'In Nederland, en ook in de rest van Europa, bestaat nog nauwelijks een veredelingsindustrie voor champignon. Als de overheid helpt het fundament te leggen, met kennis en rasbescherming, dan kan Nederland ook op champignongebied een verdelingsstak opbouwen, net zoals op plantgebied is gebeurd. En daar kunnen ook de fijnchemie-, energie- en diervoedersector weer van profiteren.'

De schimmel is namelijk een kei in het afbreken van lignine, de houtstof in celwanden van planten en bomen, omdat hij snel toegang wil hebben tot cellulose. 'Op dat moment schieten ook de paddenstoelen uit de grond.' Diezelfde lignine kan echter een obstakel vormen voor het gebruik van bepaalde vormen van biomassa. Zet je nou shiitakes op organische reststromen die koeien normaal slecht kunnen verteren, dan kan door hun arbeid een nieuwe grondstofbron voor veevoer ontstaan, schetst Sonnenberg. Omgekeerd zouden schimmels ook de chemische extractie van lignine kunnen helpen verbeteren. Als de complexe chemische structuur van de houtstof beter afbreekbaar wordt, kan dat bijvoorbeeld de productie van bio-ethanol fors goedkoper maken en een biomassa aantrekkelijker maken voor tal van toepassingen. Met nieuwe rassen zouden onder meer de opbrengst, houdbaarheid, ziekteresistentie of smaak verbeterd kunnen worden, of hun kwaliteit uit blik. Wat betreft substraat gaat het om efficiënter gebruik. 'Substraat is nu goed voor veertig procent van de productiekosten van een teler en wordt alleen maar duurder. Weet je beter hoe de champignon het substraat gebruikt, dan kun je manieren zoeken om de schimmel beter te eten te geven. Dat kan via aanpassingen aan het substraat en via veredeling.'

Het sequencen van veel meer schimmels zou de hiervoor benodigde kennis over de gereedschapskist van paddenstoelsoorten opleveren, en veredelaars op weg helpen. Sonnenberg: 'Zijn al die sequenties bekend, dan kun je naar kleine verschillen tussen rassen gaan zoeken, en kijken hoe stukken genetisch materiaal overerven. Daar ligt een goudmijn te wachten.' Zo ziet de paddenstoelenexpert mogelijkheden voor de ontwikkeling van een sporeloze shiitake en portobello. Veel mensen zijn of worden allergisch voor de sporen die in de lucht zweven, ze verstoppen luchttoevoeren en brengen virussen over. 'De populaire sporeloze oesterzwam is een mutant, die via klassieke veredeling en met overheidsgeld is ontwikkeld. Dankzij het genoom weten we nu welk gen dat foutje heeft veroorzaakt en zijn veel sneller nieuwe oesterzwammen met die eigenschap te ontwikkelen. Dat gen zit ook in andere paddenstoelen; dan zijn er dus meer soorten sporeloos te maken. Een bedrijf dat een sporeloze shiitake ontwikkelt, is gegarandeerd van afzet wereldwijd. Maar dan moet wel eerst ook het shiitakegenoom bekend worden.'

Contact: anton.sonnenberg@wur.nl
0317 - 48 13 36



Het Amerikaanse ministerie van energie investeerde in het champignongenoom.

Genomics in de fokkerij: in tien jaar van topwetenschap naar big business



De fokwaarde van een stier is met DNA-technologie al op vroege leeftijd vast te stellen.

Genomics was tien jaar geleden topwetenschap die alleen bedreven werd in dure laboratoria van universiteiten en onderzoeksinstituten. Nu gebruiken fokbedrijven DNA-chips om al op jonge leeftijd te kunnen voorspellen welke stier het beste sperma levert, en om te zien of berengeur bij varkens door een slim fokprogramma kan worden voorkomen.

Het belangrijkste hulpmiddel voor fokkers van koeien is al heel lang de fokwaarde van een stier. Een tabel met daarin de prestaties van zijn dochters levert uiteindelijk een getal op, dat samenvat hoe goed de genetische kwaliteit van de stier is. Probleem was altijd wel dat het lang duurde voordat je die waarde betrouwbaar kon schatten. 'Melkproductie kun je moeilijk meten bij stieren', zegt hoogleraar Fokkerij en genetica Johan van Arendonk. Er zat dus weinig anders op dan te wachten tot de dochters van de stier oud genoeg waren om te zien hoeveel melk ze gaven en van welke kwaliteit. De fokwaarde van de stier was daarom pas zo rond zijn zesde verjaardag goed te schatten. Van Arendonk: 'We zijn nu met genomics zo ver dat we al meteen na de

geboorte een betrouwbare schatting kunnen geven van zijn fokwaarde met behulp van DNA-analyse.'

Van Arendonk was leider van het onderzoeksprogramma Milk genomics, dat in 2004 van start ging. Bij de start verkocht Van Arendonk zijn idee door te voorspellen dat Nederlandse koeien specialisten zouden worden. Boterkoeien zouden melk leveren met een ideale vetsamenstelling, kaaskoeien zouden optimale melk leveren voor Goudse kaas, en wie weet kwamen er koeien die ingrediënten zouden kunnen leveren aan de farmaceutische industrie.

Met die voorspelling zat hij er goed naast, erkent de hoogleraar. Het onderzoek heeft laten zien dat er mogelijkheden tot specialisatie zijn, maar ook dat de economische voordelen van specialisatie niet opwegen tegen de kosten.

Bij CRV, de Nederlands-Vlaamse organisatie voor rundveeverbetering en de grootste leverancier van stiersperma in Nederland, is er daarom geen vraag naar kaaskoeien of boterkoeien. 'Het is heel anders gegaan dan ik toen dacht.' FrieslandCampina betaalt de boeren sinds kort juist extra voor het lactosegehalte van de melk. Lactose, of melksuiker, was vroeger een afvalproduct. 'Ik kom zelf van een boerenbedrijf, wij kregen de wei altijd in de melkbussen terug van de fabriek.' Dat is nu heel anders. FrieslandCampina haalt de melk helemaal uit elkaar in componenten die ze gebruiken in hun eigen producten en verkopen aan andere voedingsbedrijven. 'Zo worden alle componenten en dus ook lactose geld waard.' Voor de toepasbaarheid van de genetische kennis voor fokprogramma's maakt die omslag overigens niet veel uit. Met een bestaande DNA-chip is het lactosegehalte van de melk net zo makkelijk te voorspellen als het vet-

gehalte. Van Arendonk: 'Het fokbeleid dient in te spelen op de melkprijs die veehouders naar verwachting in de toekomst ontvangen.'

Bouwstenen

DNA bestaat uit heel lange ketens van vier verschillende bouwstenen die worden aangegeven met de letters A, C, T en G. De volgorde van die bouwstenen is bij elke koe voor meer dan 99,9 procent gelijk, maar er zijn kleine verschillen. Er zijn plaatsen waar de ene koe bouwsteen A heeft, en een andere bijvoorbeeld G. Genetici noemen zo'n verschil een SNP (spreek uit: snip), een *single nucleotide polymorphism*. Een DNA-chip meet welke varianten van de SNP een koe of stier heeft.

Dat zegt meestal niets over de gevolgen van het kleine verschil. Die worden pas zichtbaar in een grote database, waarin de DNA-gegevens worden gecombineerd met gegevens over de eigenschappen van de dieren. Statistiek legt daarna een verband tussen de verschillen in DNA en de prestaties van het dier, zonder dat je iets hoeft te begrijpen van genen of de biologie van de koe. Dit proces wordt aangeduid als genomische selectie. Van Arendonk: 'Het is al lang mogelijk om goed te fokken op eigenschappen die op grote schaal gemeten worden.' Bijvoorbeeld op de hoeveelheid en samenstelling van melk, want die worden al decennia gemeten aan het merendeel van de melkkoeien in Nederland. Door toepassing van *genomic selection* kan dit verder worden versneld. Minder makkelijk is het om koeien te fokken die minder methaan uitstoten of efficiënt met hun voer omgaan. 'Daar is nog heel weinig over bekend, omdat deze kenmerken niet op grote schaal gemeten worden.' Door toepassing van DNA-chips kan de schaarse informatie over deze lastig te meten kenmerken wel veel effectiever worden benut.

Breed4food

De Wageningse hoogleraren Martien Groenen en Johan van Arendonk werken samen met de vier grote fokkerijbedrijven Hendrix Genetics, Cobb, Topigs en CRV in het programma Breed4food. De samenwerking is onderdeel van de topsector Agrofood en krijgt in 2013 ruim een miljoen euro subsidie van de Nederlandse overheid. Het grootste deel van het onderzoek wordt betaald door de deelnemende bedrijven. Toch is de overheidsbijdrage van belang, zegt Van Arendonk: 'De bedrijven zijn wereldspelers die kunnen kiezen waar ze hun R&D laten doen. Dat hoeft niet hier, CRV werkt voor moleculaire genetica bijvoorbeeld samen met onze collega's van de universiteit van Luik. Maar het is wel belangrijk dat we ook aan Nederlandse universiteiten mee blijven doen met de wereldtop. Anders raakt Nederland op langere termijn de bijzonder sterke positie die we nu hebben, misschien toch kwijt.'



Door meetgegevens aan de slachtlijn te combineren met DNA-gegevens is berengeur in de toekomst wellicht te voorkomen.

Waarde

De economische waarde van de sleutels die de genetische informatie omzetten in productiegegevens is groot. Nederland is een van de grootste exporteurs van dierlijk genetisch uitgangsmateriaal. Rundveeorganisatie CRV zette vorig jaar 170 miljoen euro om in 40 landen. Hendrix Genetics heeft ongeveer de helft van de wereldmarkt voor leghennen en kalkoenen in handen, en is samen met Topigs een belangrijke internationale speler op het gebied van varkensfokkerij.

Martien Groenen, collega-hoogleraar van Van Arendonk, houdt zich vooral met varkens en pluimvee bezig. Hij ontwikkelde een DNA-chip met 60 duizend SNP's voor varkens, en werkt nu in opdracht van de Amerikaanse overheid aan een chip voor kalkoenen met 600 duizend SNP's. De varkenschip kan misschien helpen een einde te maken aan de castratie van beer-

tjes, mannelijke biggen. Het vlees van beren is magerder dan dat van zeugen, maar heeft een groot nadeel: berengeur. Die geur komt pas vrij als het vlees verhit wordt. In de stal is niet te zien welk varken wel en welke geen berengeur zal afgeven in de keuken, en daarom worden bijna alle beertjes nu gecastreerd. Door ongecastreerde beren aan de slachtlijn te analyseren, kan daar misschien een einde aan komen. Heel makkelijk gaat dat niet, want de berengeur wordt door meerdere genen veroorzaakt. Maar door met een soldeerbout kort tegen een varkenskarkas te drukken, is wel snel vast te stellen welk beren geur afscheiden, en zo kan toch de genetica van de berengeur worden vastgesteld. Groenen: 'We hebben nu een gebied in het genoom van het varken in beeld waarmee we het ontstaan van berengeur bij een deel van de dieren kunnen verklaren.' De vertaling van fundamentele wetenschap naar praktische toepassingen is volgens Van Arendonk 'razendsnel' gegaan: 'Het idee voor genomische selectie is voor het eerst gepubliceerd in 2001. Toen leek dat nog science fiction. In 2009 werd het volledige genoom van de koe gepubliceerd, en vorig jaar van het varken. En nu zien we al de eerste toepassingen.'

Contact: johan.vanarendonk@wur.nl
0317 - 48 33 78
martien.groenen@wur.nl
0317 - 48 37 47

De genenkaart is geen tomtom

Martien Groenen was vorig jaar de eerste auteur van een bijna eindeloze rij A's, C's T's en G's: het genoom van het varken. Maar zelfs als je de volgorde precies kent, weet je nog niet hoe de genen werken. Drie processen die je moet begrijpen om de genenkaart te kunnen lezen.

Expressie

De eerste stap bij het begrijpen van de rij letters die samen het genoom van een dier of plant vormen is het vinden van de genen in de letterbrij. Het grootste deel van het DNA heeft geen duidelijke functie. Een klein deel wel. Dat wordt vertaald in eiwitten die allerlei processen regelen; van het verbranden van suikers tot het maken van pigmenten in het oog die licht registreren. De natuur maakt het makkelijk om die genen te vinden doordat elk gen vooraf gegaan wordt door een startcode, vaste patronen in de letters die aangeven waar een gen begint.

De genen zijn ook op te sporen door boodschapper-RNA te analyseren. Die boodschappermoleculen zijn werkkopieën van het DNA. Met het werkkopie in handen is snel het bijbehorende gen te vinden op de genenkaart. Het aantal werkkopieën is bovendien een maat voor de activiteit van genen. Sommige genen worden veel vaker gekopieerd dan andere.

Samen vormen de boodschappermoleculen het transcriptoom.

Hoogleraar Fokkerij en genetica Martien Groenen analyseert het transcriptoom van het varken om te zien in welke weefsels welke genen tot expressie komen, en welke niet. 'Je wilt weten welke genen waar en wanneer tot expressie komen, en hoe actief een gen is. Vaak gaat het er niet alleen om of een dier over een gen beschikt, maar vooral hoe actief dat is. Je wilt ook kwantitatief kunnen meten.'

Splicing

Cellen gaan niet allemaal op dezelfde manier om met het RNA, de werkkopieën van de genen. De meeste kopieën ondergaan nog een behandeling waarbij delen van het molecuul worden weggeknipt. In verschillende cellen kunnen de moleculen verschillende knipbeurten krijgen, waardoor een gen uiteindelijk verschillende boodschappen kan afgeven. Zelfs als je de volgorde van de letters van een gen

precies kent, weet je nog niet hoe cellen met die boodschap omgaan. Het is heel goed mogelijk dat hetzelfde gen in een spiercel een andere functie heeft dan in de lever. Om te zien hoe de boodschap wordt behandeld, moet je weten welke boodschappen er na de knipbeurt in verschillende weefsels worden overgebracht.

Methylering

Voor de fijnproevers blijft dan nog methylering over. Ook als je weet hoe een gen eruit ziet, en hoe de boodschappermoleculen worden bijgeknipt, kun je nog voor verrassingen komen te staan. Het ene dier kan met precies dezelfde genen iets anders doen dan het andere omdat het leven van voorouders subtiele sporen nalaat in het DNA. Die sporen zie je niet aan de DNA-code, maar worden doorgegeven met moleculaire vlaggetjes aan de DNA-streng. Zij kunnen ervoor zorgen dat een gen vaker of minder vaak wordt afgelezen. Bij mensen zijn de gevolgen van die vlaggetjes bijvoorbeeld gezien bij kinderen die geboren waren vlak na de Hongerwinter. Zij hadden twee keer vaker hart- en vaatziekten en diabetes dan hun broers en zussen. De vlaggetjes zijn zelfs terug te vinden bij kleinkinderen. Het leven van opa's en oma's kan zo invloed hebben op de genen van hun kleinkinderen.



'Je wilt ook meten hoe actief een gen is.'

Bedrijven kunnen veel, maar

Nu de genomen van veel gewassen in kaart zijn gebracht, is het werken met de sequenties voor veredelingsbedrijven dagelijkse kost geworden. Overheden steken minder geld in het onderzoek, en hopen dat bedrijven het stokje overnemen. Dat willen ze graag, zegt Henk Huits van Bejo Zaden, maar 'het is een kwestie van keuzes maken'. Zo investeert Bejo Zaden wel in het wortelgenoom, maar niet in sequencing van meloenen.

Sander Peters, senior onderzoeker bio-science bij Plant Research International, onderdeel van Wageningen UR:

'We hebben nu een aantal projecten lopen waarbij we gebruik maken van de DNA-sequentie van tomaat. Twee ervan hebben betrekking op de meiose, de celdeling die planten gebruiken om stuifmeel en eicellen maken. Dat proces speelt een cruciale rol in veredeling. Tijdens de meiose wisselen chromosomen DNA uit. Die uitwisseling heb je bijvoorbeeld nodig om genen die wilde verwanten resistent maken tegen ziektes, in te kruisen in een commercieel tomatenras.

'Nieuwe analyses dankzij DNA-sequentie'

Uiteindelijk wil je binnen een aantal kruisingen zoveel mogelijk DNA van je originele tomatenras overhouden, en naast het gen dat je zoekt, zo weinig mogelijk van de wilde soort. Wij werken nu aan een project dat mede wordt gefinancierd door Rijk Zwaan, waarin we op zoek gaan naar de genen die de recombinatie tijdens een meiose sturen. Planten hebben bijvoorbeeld een ingebouwde beperking die ervoor zorgt dat het DNA op bepaalde plekken bijna niet uitgewisseld wordt. Als we een manier vinden om dat controlemechanisme uit te schakelen, kunnen veredelaars wellicht snellere kruisingsschema's opstellen, waarbij minder ongewenst DNA achterblijft. Als we meer weten van die genen, hopen we de frequentie waarmee delen van het DNA uitgewisseld worden en de plaats waar dat gebeurt, te kunnen sturen.

In een ander project, COMREC, kijken we naar de structuur van het genoom, om te voorspellen welke wilde verwanten van de tomaat bronnen kunnen zijn voor nieuwe genen. Als je tomaten met een verwante wilde soort kruist, zullen alleen die delen van het genoom uitwisselen die een vergelijkbare sequentie hebben.

Die delen van het DNA liggen tijdens de celdeling bij elkaar en kunnen dan uitwisselen. We zijn nu op zoek naar goede manieren om snel te kunnen analyseren welke kruisingen succes kunnen opleveren en welke niet. Op basis van sequentie-analyse willen we kunnen gaan voorspellen welke combinaties van ouders werken, en tijdrovende of kansloze combinaties op voorhand kunnen uitsluiten. Zulke analyses hadden we niet kunnen doen zonder de DNA-sequentie van tomaat te kennen.

Nu grote projecten als het Centrum voor BioSystems Genomics (CBSG) en het technologisch topinstituut Groene Genetica aflopen, zal er de komende jaren minder geld beschikbaar komen vanuit de overheid voor sequencing. De competitie tussen onderzoeksinstituten zal daardoor groeien. We zullen daarom bij onze acquisitie nog duidelijker moeten maken wat de mogelijke toepassingen van kennis is. Bedrijven droegen aan projecten van het topinstituut Groene genetica vijftig procent van de kosten bij, bij de topsector Tuinbouw en Uitgangsmaterialen betalen ze voor toepassingsgerichte projecten waarschijnlijk 75 procent. Voor zo'n bijdrage wil je natuurlijk wel boter bij de vis.'

Maikel Aveskamp, hoofd champignon-onderzoek bij Limgroup in Horst:

'Qua productie is Nederland op champignongebied groot in de wereld, maar niet voor uitgangsmateriaal. In Nederland zijn wij sinds 2009 de enige die aan nieuwe rassen werken, al zijn we nog niet zo ver dat ze de commerciële fase in kunnen.

Omdat vorig jaar het champignongenoom is gepubliceerd, hebben we al wel stammen uit onze collectie volledig kunnen sequencen. De DNA-volgorde bepalen is veel makkelijker als er al een mal bestaat, een de-novo sequence als voorbeeld om de losse stukjes DNA goed achter elkaar te kunnen zetten. De volgende stap, de koppeling van genen

niet alles

aan eigenschappen en ontdekken hoe genen met elkaar interacteren, is lastiger. Dat vraagt nieuwe kennis op het gebied van bioinformatica en celbiologie. Die fundamentele kennis is voor champignon helaas nog niet publiek beschikbaar.

‘Genen koppelen aan eigenschappen is nog lastig’

Om gericht te kunnen gaan sturen op de overerving van eigenschappen, willen we ook de meiose nog onder controle krijgen. Doordat een DNA-streng wordt gevouwen, kunnen er stukjes DNA vaker of minder vaak worden afgelezen, wat kleine verschillen in uiterlijk of groei kan veroorzaken. Daar hebben we nu met Wageningen een project op lopen. We werken daarnaast samen aan een definitie van een champignonras, op basis van genomesequentie, om zo te komen tot betere Europese rasbescherming.

Wil je in Nederland een champignonsector van belang houden, dan moet Nederland zich gaan onderscheiden op kwaliteit of technische vernieuwing; van gerobotiseerd plukken tot nieuwe substraten. Ook is er wereldwijd vraag naar nieuwe rassen. Daarom het is wel jammer dat er nauwelijks Nederlandse onderzoekers en studenten gespecialiseerd zijn in champignons.’

Henk Huits, teamleider merkertehnologie en genomics bij Bejo Zaden in Warmenhuizen, veredelingsbedrijf voor groentezaden:

‘Als ik heel eerlijk ben, zou ik voor al onze gewassen de genomesequentie willen hebben. Het is een basistool aan het worden dat de veredeling ondersteunt. Veredelen met behulp van een genomesequentie is efficiënter en sneller dan traditioneel kruisen. Je kunt van tevoren in het lab testen of een eigenschap aanwezig is, en hoeft dus niet te wachten op veldproeven en toetsen voor je het opnieuw kunt proberen. Verder draagt een genomesequentie bij aan vernieuwing. Het maakt het makkelijker om bij een wilde variant op zoek te gaan naar een resistentie of andere interessante eigenschap en die

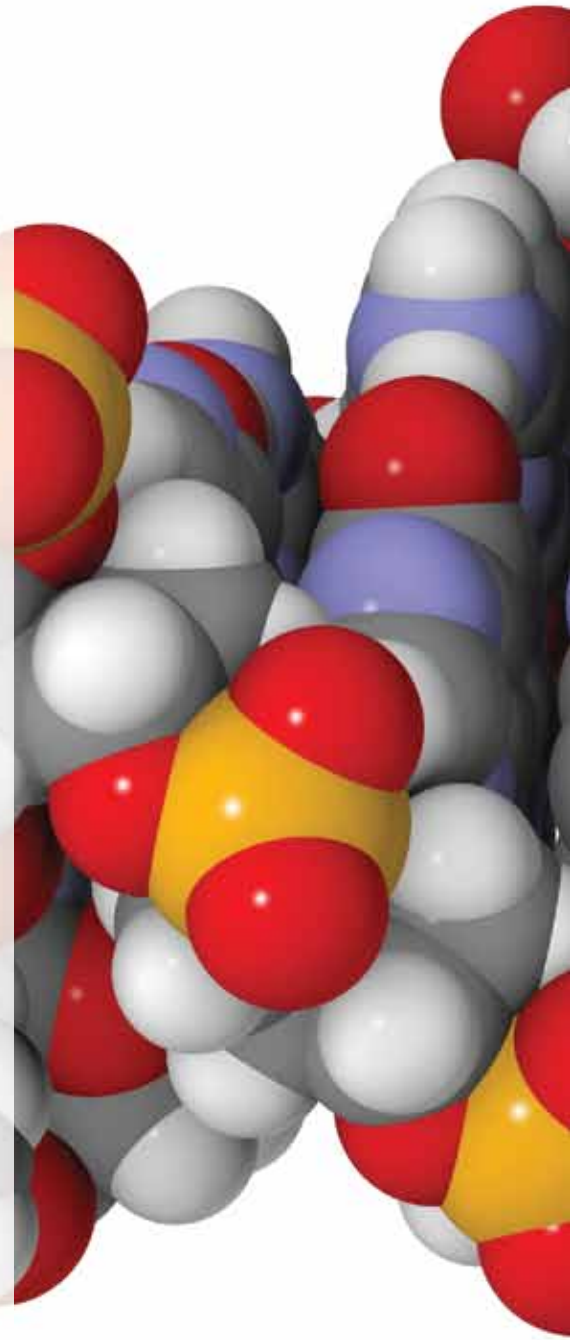
snel in veredelingsmateriaal in te brengen.’
‘Dat nog niet van alle gewassen het genoom bekend is, is een kwestie van geld en keuzes moeten maken. Zo hebben wij ons niet aangesloten bij een initiatief rond meloen, maar wel bij een consortium van enkele bedrijven voor het sequencen van het wortelgenoom. Initiatiefnemer daarvan was een Amerikaanse onderzoeker, die al heel lang aan wortel werkt.

Ui is een ander verhaal. Daar zit je op de rand van wat technisch mogelijk is, zowel soft- als hardwarematig, omdat ui een enorm groot genoom heeft: 16 miljard baseparen, ruim vijf keer meer dan de mens. Daarbij bevat het ook nog heel veel repetitieve sequenties – meer dan 95 procent bestaat uit stukken die zich herhalen. Toch willen we erin investeren; ui is een van onze drie hoofdgewassen naast kool en wortel.

‘We zijn afhankelijk van methodiekontwikkeling’

We hebben ook al stappen gezet in samenwerking met Wageningen UR en een technologisch bedrijf. Maar we zijn wel afhankelijk van methodiekontwikkeling.’

‘Om de noodzakelijke vernieuwing van gewassen in gang te houden, zou de overheid de drempel naar genomesequencing kunnen helpen verlagen. Genoeg en goede voeding voor de toekomst is tenslotte ook een maatschappelijk belang. Ui is na tomaat het tweede gewas wereldwijd, en overal een basis-ingrediënt; in India hebben hoge uienprijzen al tot onrust en politieke problemen geleid. Omdat er steeds minder gewasbeschermingsmiddelen zijn toegestaan, willen wij in ui graag nieuwe resistentiegenen inkruisen. Ook willen we inspelen op nieuwe groeiomstandigheden door klimaatverandering, voor meer oogstzekerheid overal ter wereld. Maar dan moeten we wel goed gebruik kunnen maken van wild en verwant materiaal. Daarvoor zijn een genomesequentie en grote aantallen merkers een voorwaarde.’



‘Ui is een puzzel met 150 duizend stukjes’

Reflectie



‘Zonder overheidsbijdrage zie ik het genoom van ui en lelie er niet komen.’

Om zeer grote genomen in kaart te kunnen brengen, moeten eerst fundamentele vragen worden opgelost. Zonder hulp van de overheid komen die antwoord er niet, zegt René Smulders. Terwijl grondige sequencing veredeling aantoonbaar versnelt.

René Smulders, business unit manager
Wageningen UR Plant Breeding:

‘Een goede beschrijving van het genoom leidt aantoonbaar tot vervolresultaten. Het fundamentele onderzoek heeft een boost gekregen van het bekend worden van de DNA-volgorde van de zandraket in 2000. En nadat het rijstgenoom beschreven was, volgden de ontdekkingen van welke genen verantwoordelijk zijn voor eigenschappen op bepaalde plekken op de genetische kaart, elkaar in een steeds hoger tempo op.

Zodra een gen gevonden is, kun je ook gaan zoeken naar alle varianten, en dat versnelt de veredeling. Veel gewassen hebben namelijk meer dan twee sets chromosomen, en veel

allelen zijn eenlingen, waardoor je vaak hun effect niet ziet. Met name in zulke gewassen is een goed genoom daarom van groot belang. Het is al veel goedkoper geworden om vooral korte stukjes van 100 tot 200 baseparen te sequencen en zo de ruwe DNA-volgorde te genereren. Maar hoe groter het genoom dat je in stukjes moet knippen, hoe lastiger het wordt dat weer in elkaar te puzzelen. Neem nou een legpuzzel van 150 stukjes. Als je met de hoekstukjes en rand begint, krijg je die vrij eenvoudig in elkaar. Dat kunnen we nu bij virussen, bacteriën en schimmels. Voor het opbouwen van het genoom van tomaat en aardappel, vergelijkbaar met een puzzel van zo'n 15 duizend stukjes, hebben we inmiddels ook een strategie ontwikkeld. Maar veel ge-

wassen zijn nog veel groter, waaronder tarwe, zoete aardappel, ui, prei, sla, tulp en lelie. Dan kun je na sequencing met een bak met 150 duizend puzzelstukjes komen te zitten, waaruit je bij wijze van spreken de Nachtwacht moet reconstrueren.

Voor zulke grote genomen hebben we een nieuwe, fundamenteel andere aanpak nodig om de puzzel in elkaar te krijgen. Het bedrijfsleven wil daar zeker investeren; bij ui laten ze dat bijvoorbeeld al zien. Maar bedrijven kunnen het niet alleen, net als in het verleden bij de zandraket, tomaat en aardappel. Daarnaast leert de praktijk dat consortia van bedrijven de neiging hebben een genoom minder grondig in kaart te brengen, zoals we bijvoorbeeld bij maïs hebben gezien. Verder maken bedrijven die zelf het onderzoek betalen, resultaten niet publiek. Dan wordt het wiel echter meerdere keren uitgevonden. Zo is oliepalm is inmiddels door drie partijen gesequencet, maar geen van de drie is publiek beschikbaar en waarschijnlijk zijn ze geen van drieën af. De versnelling van het onderzoek lijkt hierdoor zeer beperkt, en het is zonde van de tijd en de middelen.

Hebben we wel een aanpak voor de puzzels van grote genomen, dan kunnen we ook bij gewassen die een factor honderd groter zijn dan rijst eindelijk op zoek naar waar bepaalde eigenschappen liggen en naar interessante verschillen tussen rassen, om zo rassen te verbeteren. Alleen door de hele puzzel te leggen, kun je ook zien wat een ui een ui maakt. Veel genen zullen bekend zijn, omdat die in alle planten zitten, zoals die voor fotosynthese of bladaanleg. Maar juist de resterende stukjes zijn interessant voor veredelaars, en die zijn het moeilijkst te plaatsen. Denk aan de smaak van ui en aan hoe een ui is aangepast aan zijn omgeving, dat is vaak door een bijzonder setje genen.

We hebben wel ideeën over hoe ook die grote, ingewikkelde puzzels op te lossen. Dat is echter risicodragend onderzoek; het kan mislukken. Zonder overheidsinvesteringen zie ik het genoom van bijvoorbeeld ui of lelie er daarom niet komen. Bovendien, als je in een publiek-private samenwerking antwoorden vindt op de fundamentele vragen die er nog liggen, dan kunnen daar uiteindelijk veel meer bedrijven van profiteren. Wat voor ui wordt ontwikkeld kan ook de veredeling van prei of van andere bolgewassen als tulp en lelie vooruit helpen. Dat zou de goede Nederlandse positie op de markt voor uitgangsmateriaal verder verstevigen.’