

GENEN IN BEDRIJF

door prof. dr. Mari A. Smits



WAGENINGEN UNIVERSITEIT

WAGENINGEN **UR**

Inaugurele rede uitgesproken op 14 februari 2008 in de
Aula van Wageningen Universiteit.

Genen in bedrijf

Mijnheer de Rector Magnificus, waarde collega's, beste familieleden, vrienden en kennissen, geachte aanwezigen.

In de komende drie kwartier wil ik u een beeld schetsen van de wetenschappelijke ontwikkelingen op het gebied van de Functionele Genomica bij dieren en de perspectieven die dat biedt voor toekomstige innovaties in de veehouderij. Minister Verburg stelde in haar "Toekomstvisie voor de veehouderij" van 16 januari 2008 dat de veehouderij zich binnen 15 jaar zal moeten ontwikkelen tot een in alle opzichten duurzame veehouderij, met een breed draagvlak in de samenleving. Ik wil u laten zien hoe, mijns inziens, functionele genomica daaraan een bijdrage kan leveren.

Inleiding

Zoals u allen wellicht weet is een gen de drager van een erfelijke eigenschap waarvan de code is vastgelegd in DNA. De "genen" in de titel van mijn rede is een verwijzing naar de genen die aanwezig zijn in het erfelijk materiaal van onze belangrijkste landbouwhuisdieren, n.l. kippen, varkens en runderen. Die genen dragen erfelijke informatie voor allerlei kenmerken, inclusief de kenmerken die wij voor deze dieren zo belangrijk vinden. Dat zijn bijvoorbeeld kenmerken die iets te maken hebben met de gezondheid en het welzijn van deze dieren, met een efficiënte en duurzame productie of met de kwaliteit en veiligheid van dierlijke producten. U zult zich afvragen, kennen we al die genen dan en hoeveel zijn het er dan wel? Ik kom daar later op terug maar het korte antwoord hierop is: ja die kennen we praktisch allemaal en het zijn er ongeveer 22.000 voor runderen en varkens en zo'n 18.000 voor de kip.

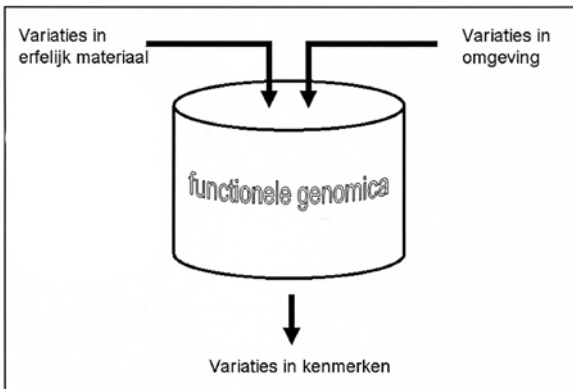
Met de term “in bedrijf” in de titel van mijn rede verwijs ik enerzijds naar het “in werking zijn” van genen, anderzijds naar een inrichting waar dieren worden gehouden, het veehouderijbedrijf. Ik hoop u in dit verhaal duidelijk te maken dat de veehouder grote invloed uitoefent op de werking van de genen van de dieren op zijn bedrijf. Met de gekozen bedrijfsvoering is hij of zij in staat de werking van die genen te sturen en te beheersen. Met andere woorden, de veehouder bepaalt hoe de genen van zijn dieren “in bedrijf” zijn. In mijn onderzoek probeer ik juist uit te zoeken hoe die sturing en beheersing plaatsvindt.

Functionele genomica

Het vakgebied van de functionele genomica heeft als doel het in kaart brengen van de processen die zich in cellen, weefsels en organen van dieren afspelen en die uiteindelijk leiden tot het ontstaan van kenmerken (Figuur 1). Het verloop van die processen is afhankelijk van de aanwezige infrastructuur, in dit geval de genen van het dier. Dit verloop wordt sterk beïnvloed door allerlei invloeden vanuit de omgeving van het dier, denk aan het voer dat de dieren krijgen of aan de aanwezigheid van ziektekiemen. Er zijn dus twee belangrijke voorwaarden voor het uitvoeren van functioneel genomica-onderzoek: 1) het kennen van alle genen en 2) het kennen en herkennen van relevante omgevingsfactoren.

In het functioneel genomica-onderzoek kijken we vooral naar het gebruik en de functies van genen. U moet zich hierbij realiseren dat lang niet alle genen van een dier in een bepaalde cel en op een bepaald moment actief zijn. Met functionele genomica kunnen we meten welke genen actief zijn en welke inactief, of ze een beetje actief zijn of juist heel actief. We onderzoeken welke genen samenwerken en welke genen een functionele eenheid vormen. We onderzoeken hoe en waar-

mee de activiteit van genen wordt aangestuurd. Vervolgens kijken we naar de genproducten, hoe die veranderen in de tijd. Bovendien onderzoeken we welke omgevingsfactoren invloed hebben op de activiteit van genen en hoe dat gebeurt. Hierdoor krijgen we meer inzicht in de biologische processen die zich in cellen, weefsels en organen van dieren afspelen. Met dit onderzoek proberen we relaties te vinden tussen de activiteit van genen en de functionaliteit van cellen, weefsels of organen. De uitdaging is om dit op dierniveau te vertalen in kwalitatieve en kwantitatieve aspecten van kenmerken. Functioneel genomicaonderzoek stelt ons in staat om te bepalen welke genen, wanneer “in bedrijf” zijn. Het is een manier van onderzoek waarmee we kunnen ontdekken hoe besturing- en beheersingsystemen van genen werken en hoe ze leiden tot het ontstaan van gewenste of ongewenste kenmerken. Het uiteindelijke doel is om inzicht te krijgen in de manier waarop variaties in het erfelijk materiaal en variaties in de omgeving bijdragen aan de variatie in kenmerken (Figuur 1).

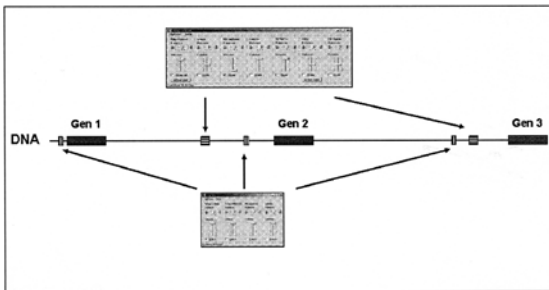


Figuur 1: Functionele genomica

De structuur van erfelijk materiaal

Chromosomen in de kern van een cel zijn opgebouwd uit eiwitten en DNA. Het DNA bestaat uit twee strengen die als een wenteltrap om elkaar heen gedraaid zijn. DNA is opgebouwd uit vier verschillende bouwstenen die we aanduiden met de letters A, G, C en T. Tegenover een A in de ene streng staat altijd een T in de andere streng en tegenover een G staat altijd een C. Deze opbouw is van belang omdat hierdoor DNA gekopieerd kan worden.

De volgorde van de vier bouwstenen is de code waarmee erfelijke informatie is vastgelegd. Nu is het niet zo dat het hele DNA-molecuul van begin tot eind wordt gebruikt voor het coderen van erfelijke informatie. Integendeel, die codes liggen verspreid in kleine pakketjes op het DNA, de genen. Tussen de genen liggen andere stukjes DNA die als schuifregelaars fungeren waarmee de werking van genen of groepen genen geregeld wordt (Figuur 2). Daarnaast liggen er tussen de genen nog grote stukken DNA die geen functie hebben of waarvan we de functie nog niet kennen.

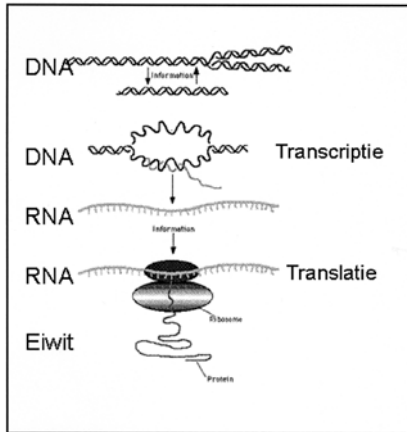


Figuur 2: Genen en schuifregelaars

De verzamelnaam voor al het DNA in een celkern is “genoom”. Onderzoek aan “genomen” wordt met de Engelse term “genomics” aangeduid en met “genomica” in het Nederlands. Het genoom van de mens, het varken en het rund bestaat uit zo’n 3 miljard bouwstenen per DNA-streng. Het genoom van de kip heeft er iets meer dan 1 miljard. In 2001 is men erin geslaagd om de volgorde van de bouwstenen in het genoom van de mens volledig op te helderen, “volledig te sequensen” in het genomics jargon (1). Sinds 2005 kennen we ook, mede dankzij onderzoek aan deze universiteit, de volledige DNA volgorde van het kippengenoom en ook die van het rundergenoom (2, 3). Die van het varken zal begin 2009 bekend zijn. De resultaten van dit genoomonderzoek zijn van groot belang voor het functionele genomicaonderzoek omdat we hiermee weten hoeveel genen de verschillende diersoorten hebben, waar al die genen liggen, hoe die genen eruit zien en wat hun mogelijke functies zijn. Al die informatie is voor iedereen toegankelijk in publieke databestanden (4).

Expressie van genen

In de kern van een cel worden genen van het DNA afgelezen waarbij de code van het DNA wordt gekopieerd in een zogenaamd boodschapper-RNA of mRNA. Dit proces heet transcriptie. Met behulp van de schuifregelaars tussen de genen wordt beslist wanneer welk mRNA aangemaakt wordt. Het mRNA wordt vervolgens in het cytoplasma van de cel afgelezen door ribosomen en omgezet in eiwit. De code in het mRNA wordt gebruikt om de aminozuurbouwstenen van het eiwit in de juiste volgorde te plaatsen. Dit proces heet translatie (Figuur 3).



Figuur 2: Genexpressie

Als eiwitketens compleet zijn, dan kunnen ze nog aangepast worden door er bijvoorbeeld suikermoleculen aan te zetten of door er stukjes af te knippen. Uiteindelijk wordt het eiwitmolecuul gevouwen tot een actieve vorm en kan het zijn functie uitvoeren. Dit kunnen zeer uiteenlopende functies zijn. Er zijn eiwitten die bijdragen aan de structuur van cellen, er zijn eiwitten (enzymen) die allerlei metabolieten omzetten in het lichaam, er zijn eiwitten die zorgen voor de communicatie in het lichaam, er zijn transport eiwitten, er zijn eiwitten die lichaamsvreemde structuren of ziekteverwekkers herkennen en afbreken, er zijn eiwitten die de schuifregelaars voor genexpressie bedienen, enzovoort.

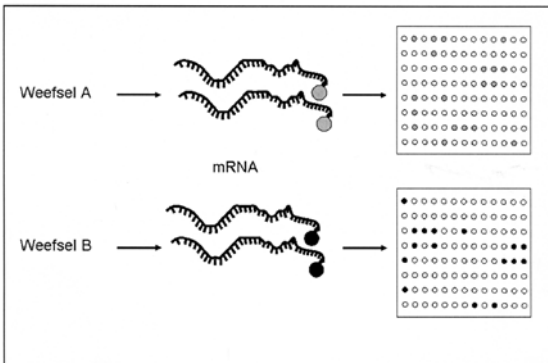
DNA-microarrays

Hoe meten we nu welke genen “in bedrijf” zijn? Voor metingen op mRNA-niveau gebruiken we zogenaamde DNA-microarray. Dit zijn kleine plaatjes van ongeveer 3 bij 2 cm.

Hierop zijn tienduizenden spotjes met enkelstrengs DNA geplakt. Elk spotje heeft een DNA-volgorde die overeenkomt met de DNA-volgorde van een gen. Alle spotjes samen representeren alle genen van het desbetreffende genoom.

Als je mRNA uit een cel of weefsel haalt en dit over een microarray haalt, dan zullen die mRNA's vastrijten aan het DNA-spotje met de complementaire DNA-volgorde. Als je dit doet met mRNA waaraan een rode kleur is gekoppeld, dan ontstaat er een patroon van rode spots. Hieraan kun je zien welke genen "aan" en welke genen "uit" staan. Er ontstaat een patroon van actieve genen (Figuur 3).

Doe je nu hetzelfde met het mRNA uit andere cellen of ander weefsel en geef je dat mRNA een ander kleurtje, dan vind je een ander patroon van actieve genen. Deze patronen hangen samen met de functie van de gebruikte cellen en zeggen iets over de fysiologische status van die cellen. Met andere woorden, het laat zien welke taken cellen uitvoeren en hoe goed of hoe slecht ze daar mee bezig zijn (Figuur 3).



Figuur 3: Microarrays

In ons onderzoek gebruiken wij zulke microarrays met zeer grote regelmaat. Ze stellen ons in staat om naar de expressie van duizenden genen tegelijk te kijken. Maar er zijn al nieuwe en verbeterde microarrays in aantocht. Met deze nieuwe generatie microarrays kunnen we veel beter naar de mechanismen van genregulatie kijken. Bijvoorbeeld naar de binding van de eiwitten die de schuifregelaars voor genexpressie bedienen. Ook kunnen we met de nieuwe generatie microarrays beter kijken naar een nog niet zolang geleden ontdekte klasse van kleine RNA-moleculen, de zogenaamde micro-RNA's (5). Naast de schuifregelaars vormen deze micro-RNA's een nieuwe managementlaag in de aansturing van genen (Figuur 2). We weten nog niet precies hoe dat allemaal werkt. Wel is duidelijk dat micro-RNA's de activiteit van groepen genen kunnen beïnvloeden. Bij landbouwhuisdieren zijn al kenmerken en genen gevonden die door micro-RNA's worden aangestuurd. Dat betreft o.a. genen die betrokken zijn bij de hoeveelheid spiermassa die wordt aangezet (6).

Ik ben ervan overtuigd dat het gebruik van deze nieuwe generatie microarrays onze inzichten in de werking en de regulatie van genen sterk zal doen toenemen. Hierdoor zal het aantal "targets" voor potentiële innovaties in de veehouderij, hetzij via fokkerij, hetzij via management-maatregelen, alleen maar toenemen. Ik beschouw het als één van mijn taken om voortdurend de meest up-to-date gereedschappen voor dit onderzoek beschikbaar te hebben. Dit vraagt echter om grote investeringen die het budget van een gemiddelde leerstoelgroep vaak ver te boven gaat. Samenwerken is dan één van de manieren om dit probleem te omzeilen. Dat is dan ook één van de redenen waarom ik zoveel belang hecht aan onze deelname in Europese onderzoeksnetwerken

waar diergenomica een centrale plaats inneemt. Ik noem hierbij het “European Animal Disease Genomics Network of Excellence (EADGENE)” en het EU project ”SABRE – Cutting Edge Genomics for Sustainable Animal Breeding” waarin wij sterk vertegenwoordigd zijn. Deelname in deze netwerken is een garantie voor toegang tot de meest up-to-date onderzoekstools en analysemethoden.

Proteomics

Net zoals de mRNA-samenstelling, is ook de eiwitsamenstelling van een cel aan veranderingen onderhevig. Natuurlijk is er een bepaald verband tussen die twee. Gebleken is echter dat je veel beter de eiwitsamenstelling rechtstreeks kunt meten dan deze af te leiden uit de mRNA-samenstelling. Het in kaart brengen van de veranderingen in eiwitsamenstelling gebeurt met behulp van verschillende technieken. Tweedimensionale gel-elektroforese, vloeistofchromatografie en massaspectrometrie worden hierbij vaak toegepast. Proteomics-onderzoek is technisch ingewikkeld en de beschikbare technieken zijn nog niet helemaal volwassen. Het is bijvoorbeeld nog niet goed mogelijk om in één keer alle eiwitten van een cel in kaart te brengen. Wel zijn proteomicstechnieken uitermate geschikt voor de analyse van de samenstelling van biologische samples met een lage eiwitcomplexiteit. Daarom passen wij proteomicstechnieken op dit moment vooral toe op lichaamsvloeistoffen zoals melk en serum.

Variatie in erfelijk materiaal

De genetische verschillen tussen dieren van dezelfde soort zorgen ervoor dat ieder individu van die soort unieke kenmerken heeft. Voor het functioneel genomicaonderzoek is het daarom van groot belang dat we een goed beeld heb-

ben van de genetische verschillen die er tussen dieren van dezelfde soort zijn. Het onderzoek naar deze structurele variaties is een specialistisch onderzoeksveld. Ik prijs me dan ook gelukkig dat binnen de Wageningse onderzoeksgroep waar ik mijn “pied à terre” heb gevonden, collega Martien Groenen op dit terrein zeer actief is. Op mondiaal niveau neemt hij op dit gebied een vooraanstaande positie in.

In het algemeen hebben dieren van dezelfde soort een zelfde set genen. Echter binnen en buiten die genen zijn er verschillen in de DNA-volgorde. Soms is de variatie maar één bouwsteen lang. Deze variatie noemen we “Single Nucleotide Polymorphism (SNP)”. Bij kippen vind je bijvoorbeeld één zo’n SNP per 300 bouwstenen. In totaal zijn er dat zo’n 6 miljoen in het hele genoom.

Naast de SNP’s zijn het vorig jaar nog meer verschillen tussen genomen gevonden (7). Hierbij gaat het om brokstukken DNA die in lengte kunnen variëren van honderd tot wel een miljoen bouwstenen. Zulke brokstukken ontbreken soms maar kunnen ook meerdere keren voorkomen. Dit betekent dat er in een genoom soms genen en schuifregelaars kunnen ontbreken of dat er extra kopieën van aanwezig zijn. Dit was een hele verassing voor de genomonderzoekers omdat normaal gesproken er altijd twee kopieën aanwezig zijn, één afkomstig van de vader, het ander van de moeder. Ik verwacht dat deze fragmentvariatie veel effect heeft op de activiteit en de regulatie van genen, veel meer dan op de functionaliteit van genen. Als dit inderdaad zo is dan heeft DNA-fragmentvariatie meer effect op de kwantitatieve aspecten van kenmerken dan op de kwalitatieve aspecten. De redactie van het wetenschappelijk tijdschrift Science vond de ontdekking van DNA-fragmentvariatie zo belangrijk dat ze de ontdekking gekozen heeft als de belangrijkste wetenschappelijke doorbraak van 2007.

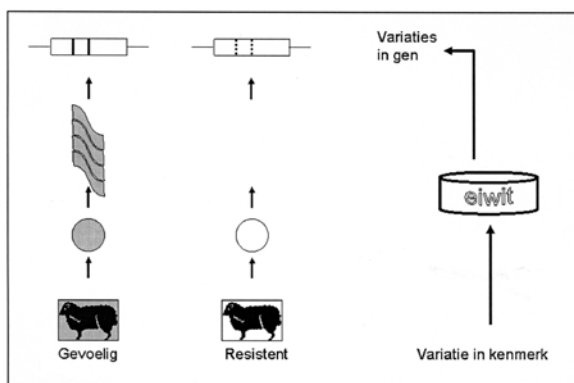
De snelheid waarmee genetische verschillen tussen dieren in kaart gebracht worden zal de komende periode flink toenemen. Dit komt omdat er enorme progressie wordt geboekt in de snelheid en de efficiëntie waarmee DNA-sequenties geanalyseerd worden. Vorig jaar werden bijvoorbeeld de genomen van twee vooraanstaande wetenschappers volledig in kaart gebracht binnen een tijdsbestek van 2 maanden en voor minder dan een miljoen dollar per genoom (8). Dat was 70 maal sneller en wel 1000 maal goedkoper dan de eerste genoomsequentie van de mens. Dat we het einde van die ontwikkelingen nog lang niet bereikt hebben blijkt uit de wedstrijd die in de VS uitgeschreven is, waarbij een prijs van 10 miljoen dollar is uitgelooft aan de instelling die er als eerste in slaagt om de volledige genoomsequentie van 100 mensen te bepalen binnen een tijdsbestek van tien dagen (9). Daar zijn nu zo'n 40 bedrijven voor in de race.

We moeten er rekening mee houden dat er binnen drie tot acht jaar apparatuur op de markt zal zijn waarmee binnen enkele uren de volledige genoomsequentie van een dier in kaart gebracht kan worden. Voor de veehouderij zal dit grote gevolgen hebben, met name voor de fokkerij. Maar het schept het ook andere mogelijkheden, bijvoorbeeld voor het ontwikkelen van precisiesystemen waarbij dieren gesorteerd worden die genetisch gezien optimaal uitgerust zijn voor een bepaalde veehouderijomgeving.

Prioneiwit en scrapieresistentie

Een van de eerste voorbeelden waarbij genetische informatie is gebruikt voor de verbetering van een diergezondheidskenmerk, is het scrapiebestrijdingsprogramma. Dit programma is al weer zo'n 10 jaar geleden in Nederland van start gegaan en heeft in veel Europese landen navolging gekregen. Het

bestrijdingsprogramma is gebaseerd op het selecteren van fokdieren met een erfelijke ongevoeligheid voor scrapie. Scrapie is een dodelijke hersenziekte bij schapen die veroorzaakt wordt door prionen, vergelijkbaar met BSE bij koeien en de ziekte van Creutzfeldt-Jacob bij mensen. Hierbij wordt in de hersenen van gevoelige dieren het lichaamseigen PrP-eiwit omgezet in een onoplosbare vorm waardoor het neerslaat (Figuur 4). Een onderzoeksteam van de Animal Sciences Group waarvan ik zelf geruime tijd deel uitmaakte, liet op verschillende manieren zien dat het PrP-eiwit van resistente schapen niet kon worden omgezet in een onoplosbare vorm (10). Hieruit concludeerden wij dat het PrP-gen wel eens de verantwoordelijke genetische factor zou kunnen zijn voor scrapie gevoeligheid. Daarom werd onderzocht of er DNA-verschillen waren tussen de PrP-genen van gevoelige en ongevoelige schapen (11). Dat bleek inderdaad het geval te zijn. Deze kennis is vervolgens gebruikt bij het opzetten van een genetische test voor de selectie van fokdieren met een erfelijke ongevoeligheid voor scrapie. Dit was een belangrijk hulpmiddel bij de uitvoering van het scrapiebestrijdingsprogramma.



Figuur 4: Scrapie

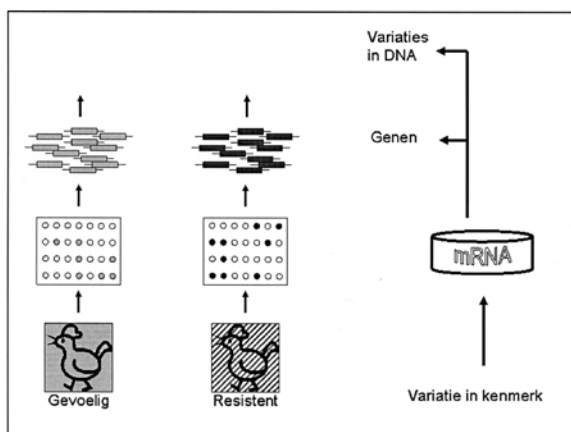
Ik noem dit voorbeeld omdat het zo mooi laat zien dat je met functioneel onderzoek aan dieren die variëren in een bepaald kenmerk, eiwitten en genen kunt identificeren die een rol spelen bij dat kenmerk. Dit voorbeeld laat ook zien dat vooral de combinatie van functioneel onderzoek met genetisch onderzoek kan leiden tot innovaties met impact. De ervaring die ik bij dit scrapieonderzoek heb opgedaan, hebben mij gesterkt in mijn keuze om vooral de functionele aspecten van kenmerken centraal te stellen in mijn onderzoek. Tegelijkertijd heb ik mij gerealiseerd dat een integratie met het vakgebied van de structurele genomica daarbij enorm belangrijk is.

Functionele genomica en diergezondheid

De aanpak van het huidige functionele genomicaonderzoek is in wezen niet anders dan het geschetste functioneel onderzoek bij scrapie. Met dien verstande dat het scrapieonderzoek zich concentreerde op slechte één gen en één eiwit en dat het huidige functionele onderzoek zich richt op meerdere genen en meerdere eiwitten tegelijk. Dat is maar goed ook want het komt helaas maar zelden voor dat maar één enkel gen helemaal verantwoordelijk is voor een bepaald kenmerk. Integendeel, bijna altijd worden kenmerken bepaald door een ingewikkeld samenspel van tientallen genen en genproducten die elk op hun eigen wijze bijdragen aan de totstandkoming van een kenmerk. Dit geldt zeker voor de complexe kenmerken die van strategisch belang zijn voor de toekomst van de veehouderij zoals diergezondheid en dierenwelzijn.

Diergezondheid staat centraal in onze onderzoeksprojecten. Om een beter beeld te geven hoe wij in dit kader functioneel genomicaonderzoek uitvoeren, wil ik een aantal grote lijnen schetsen van lopend en toekomstig onderzoek.

Zo heeft Saskia van Hemert met behulp van DNA-microarrays gekeken naar de activiteit van genen in de dunne darm van twee kippenlijnen. De ene kippenlijn was gevoeliger voor darminfecties met salmonella dan de andere kippenlijn. Zij heeft laten zien dat er genen zijn die in de ene kippenlijn anders “in bedrijf” zijn dan in de andere lijn (Figuur 5). Een aantal genen die verschillend tot expressie kwamen, bleken een rol te spelen bij de inductie van ontsteking- en immuunprocessen (12). Dit suggereerde dat er tussen de twee kippenlijnen een verschil is in afweermechanismen. We konden dit bevestigen door aan te tonen dat er in de ene kippenlijn andere typen immuuncellen gemobiliseerd worden na een infectie met salmonella in vergelijking met de andere lijn. Deze resultaten lieten zien dat kippenlijnen met een verschillende genetische achtergrond op verschillende manieren reageren op een infectie. Dit onderzoek leverde niet alleen meer inzicht op in de biologie van een ziektegevoeligheidskenmerk, maar het helpt ons ook bij de zoektocht naar genen die betrokken zijn bij een verhoogde ziekteresistentie.



Figuur 5: Gevoeligheid voor salmonella

Bioinformatica

Dit relatief eenvoudige experiment leverde niet minder dan 131.092 datapunten op. Toch heeft de AIO maar een fractie van die data kunnen gebruiken. Bij de analyse werd geconcentreerd op de genen met de meest uitgesproken expressieverschillen en op de genen met bekende functies. Bovendien had de AIO vanuit haar immunologische achtergrond misschien wel meer belangstelling voor immuun-gerelateerde genen dan voor andere genen.

Deze constatering raakt het hart van een van de grootste bottlenecks van het genomicsonderzoek. De vraag is altijd: hoe kunnen we de grote hoeveelheid data op een efficiënte manier verwerken, analyseren en interpreteren? De bioinformatica reikt ons hierbij de helpende hand. Bioinformatica is de wetenschap die de nieuwste inzichten uit de informatica, wiskunde en ICT toepast op de meetgegevens van het genomicsonderzoek en deze probeert te vertalen in biologische kennis.

Gezien onze onderzoeksrichting willen we de komende jaren dan ook een bijdrage leveren aan de ontwikkeling van nieuwe bioinformatica software waarmee we beter in staat zijn om het patroon van de activiteit van genen te koppelen aan cellulaire functies. We hebben de eerste stap in die richting al gezet door de reeds genoemde genexpressiedata te integreren met informatie die aanwezig is in publieke databestanden waarin informatie is bijeengebracht over zogenaamde biochemische “pathways” en signaleringspathways. Binnen zulke pathways zijn groepen genen actief en betrokken bij eenzelfde cellulaire functie.

Door die integratie konden we netwerken van pathways identificeren die harder gingen werken in de gevoelige kippenlijn ná een infectie met salmonella. Keken we onder nor-

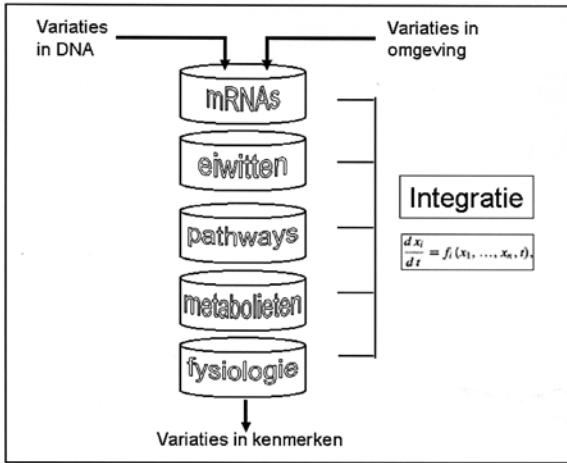
male omstandigheden dan zagen we tot onze verrassing dat deze netwerken in de resistente dieren al actiever waren dan in de gevoelige dieren. Zulke integratiemethoden stellen ons in staat om microarraydata te analyseren en te interpreteren op het niveau van functionele pathways in plaats van het individuele genniveau. Het geeft een vollediger beeld van de biologische processen die ten grondslag liggen aan de gevoeligheid van kippen voor salmonella. De methode die we ontwikkeld hebben is echter nog verre van ideaal. Daarom is Arun Kommadath zojuist in onze groep begonnen om bij deze analyses niet alleen de kwalitatieve aspecten van genexpressie te betrekken, maar ook om de kwantitatieve aspecten mee te nemen.

Systeembiologie

Nog een stap verder gaan we in de projecten die we aan het opstarten zijn in het kader van het IP/OP van Wageningen UR op het gebied van de systeembio

logie. In deze projecten gaat het niet om functies van genen, eiwitten of pathways, maar om de dynamische interacties tussen alle componenten in een biologisch systeem. Het is een vakgebied waarin biologie, wiskunde en informatica bij elkaar komen en dat modellen opstelt die moleculaire interacties beschrijven. Het uiteindelijke doel is om wiskundige vergelijkingen op te stellen die voorspellen hoe de reactie van een biologisch systeem zal zijn op veranderingen in de omgeving. Denk hierbij bijvoorbeeld aan verandering in de samenstelling van voer. In de komende periode zullen we systeembio

logische benaderingen gaan ontwikkelen voor een tweetal thema's: diergezondheid en productkwaliteit. De komende vier jaar zullen Dirkjan Schokker en Marieke Boer zich hierop gaan concentreren.



Figuur 6: *Systeembioologie*

Genomic selection

De variatie in het genoom van dieren hangt samen met de variatie in kenmerken. Een van de grote uitdaging voor de moderne genetica is het beantwoorden van de vraag: welke genetische variatie is betrokken bij, of is geassocieerd met de totstandkoming van een bepaald kenmerk? Het onderzoek van veel van mijn collega's van het "Animal Breeding and Genomics Centre" in Wageningen en Lelystad is gericht op het beantwoorden van die vraag. Dat is een lastig karwei als u zich bedenkt dat er miljoenen genetische verschillen zijn tussen twee willekeurige dieren van dezelfde soort. De groep tackelt dit probleem door o.a. gebruik te maken van "genomic selection". Genomic selection is een benadering waarbij tienduizenden SNP's tegelijk gebruikt worden voor de selectie van dieren met gewenste kenmerken (13). Het feit dat een aantal fokkerijorganisaties "genomic selection" al

aan het inbouwen zijn in hun fokprogramma's, bewijst dat men veel van deze benadering verwacht.

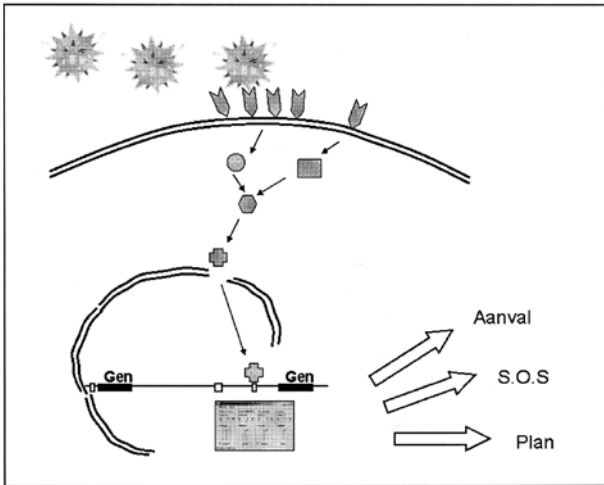
Ook bij genomic selection kan, net zoals ik in het scrapie-voorbeeld, de integratie van functionele en structurele data een flinke meerwaarde geven. Ik zal dat uitleggen aan de hand van het onderzoek dat Vasiliki Xiarchou als AIO binnen onze groep gaat uitvoeren. Het uitgangspunt hierbij is een mRNA genexpressiepatroon dat geassocieerd is met een bepaald kenmerk bij koeien. Hierdoor kennen we een set van genen die op de één of andere manier functioneel betrokken is bij de totstandkoming van het desbetreffende kenmerk. Deze kennis combineren we met de kennis over de structurele variatie in het koeiengenoom. Het voordeel is dat we bij onze zoektocht naar de verantwoordelijke genen nu niet meer naar alle DNA variatie in het genoom hoeven te kijken maar naar een deel daarvan. We verwachten dan ook dat een dergelijke aanpak die zoektocht zal vergemakkelijken.

Interactie met ziektekiemen

Tot nu toe heb ik onderzoek geschetst waarbij dieren met een verschillend kenmerk met elkaar vergeleken werden. Een andere manier waarop microarrays ingezet worden voor het diergezondheidsonderzoek, is het in kaart brengen van de veranderingen in genexpressie ten gevolge van veranderingen in de omgeving (Figuur 1). Dit geeft inzicht in de manier waarop een dier de moleculaire bedrijfsvoering bijstuurt om te kunnen reageren op prikkels van buitenaf.

Een van de heftigste prikkels uit de omgeving is een infectie met ziekmakende micro-organismen. Zo'n infectie kan bij het ene dier tot een ernstige ziekte leiden en bij het andere tot een milde. Dit komt door de wisselwerking of interactie tussen gastheer en ziekteverwekker. Zulke interacties zor-

gen ervoor dat een gastheer op een bepaalde manier op de ziekteverwekker reageert. Die reactie is afhankelijk van de erfelijke eigenschappen van het dier, maar ook van andere omgevingsfactoren zoals stress en voeding. De aard van de reactie van de gastheer bepaalt of de infectie tot ziekte leidt en de ernst ervan.



Figuur 7: Interactie met ziektekiemen

Ziektekiemen worden eerst herkend door sensoren op de buitenkant van cellen (Figuur 7). Vervolgens wordt er een signaal doorgegeven naar de celkern. In de kern worden eiwitten geactiveerd die de schuifregelaars op het DNA bedienen. Hierdoor worden genen geactiveerd die er voor zorgen dat 1) de indringer wordt aangevallen, 2) dat er S.O.S. signalen worden uitgezonden voor het mobiliseren van speciale afweertroepen en 3) dat er een betere verdedigingslinie wordt opgezet voor een eventuele tweede aanvalsgolf. In

wezen bestaat de reactie van de gastheer uit niet meer en niet minder dan het in bedrijf stellen van specifieke genen. Omdat je met microarrays de veranderingen in genactiviteit zo goed kunt volgen, is het fantastisch gereedschap om de interacties tussen dier en ziekteverwekker te bestuderen.

Dit onderzoek kan op verschillende manieren bijdragen aan het verbeteren van diergezondheid. Door betere inzichten in de interactie tussen gastheer en ziektekiem is het bijvoorbeeld mogelijk om een nieuwe generatie vaccins te ontwikkelen. Traditionele vaccins zijn bijna allemaal gebaseerd op de kennis die beschikbaar was over de ziekteverwekker. Nieuwe generatie vaccins zullen veel meer rekening houden met wat we weten over de interactie tussen gastheer en ziekteverwekker. Die kennis kan namelijk gebruikt worden om vaccins te ontwikkelen die de immuunreactie in een gewenste richting sturen waardoor een beschermende immuniteit ontstaat.

Het zal duidelijk zijn dat er voor het onderzoek naar de interacties tussen gastheer en ziekteverwekker zeer verschillende expertises nodig zijn. Ik ben dan ook heel blij met de vruchtbare samenwerking die we al geruime tijd op dit terrein hebben met onderzoekers van het Centraal Veterinair Instituut in Lelystad, met name Annemarie Rebel en Hilde Smith wil ik hierbij expliciet noemen. In dit kader zie ik eveneens mogelijkheden voor een samenwerking met collega Jerry Wells van de nieuwe leerstoelgroep “Host-Microbe-Interactomics”.

Nutrigenomics

Een andere prikkel uit de omgeving die invloed uitoefent op de bedrijvigheid van genen zijn nutriënten en andere bestanddelen in voeding. Dit besef is pas de laatste jaren

ontstaan vanuit het “humane nutrigenomics” onderzoeksveld. Door meer basiskennis te genereren over hoe dieren met voercomponenten omgaan en hoe die componenten de expressie van genen beïnvloeden, zal het mogelijk worden om voedingsgerelateerde kenmerken zoals groei, reproductie en gezondheid via de diervoeding te moduleren. Met behulp van investeringsmiddelen van met ministerie van LNV hebben wij de eerste voorzichtige stapjes op weg naar nutrigenomicsonderzoek bij dieren gezet. Hierbij richten we ons vooral op de gezondheid van de darm. Zo heeft Gabriele Gross, die op dit moment haar proefschrift aan het afronden is, met microarrays aangetoond dat bepaalde melkzuurbacteriën in staat zijn om de expressie van genen in een varkensdarm te beïnvloeden. We weten nog niet precies wat dit betekent voor de gezondheid van de darm, maar het geeft wel aan dat we met bestanddelen in diervoeding de functionaliteit van darmcellen kunnen beïnvloeden.

Willen we de potenties van het nutrigenomicsonderzoek bij dieren volledig benutten, dan zullen we, in nauw contact met het humane nutrigenomics veld, diergenomicaexpertise moeten koppelen aan de diervoedingexpertise die aanwezig is bij de groep van collega Wouter Hendriks in Wageningen en bij het cluster Diervoeding in Lelystad. In dit kader is het zeer bemoedigend dat onze gezamenlijke deskstudie “Relevance of nutrigenomics for animal nutrition in the Netherlands” zo goed ontvangen is door belangrijke stakeholders in de diervoedersector. Dit biedt perspectieven voor het gezamenlijk opzetten van fundamenteel en toepassingsgericht nutrigenomicsonderzoek.

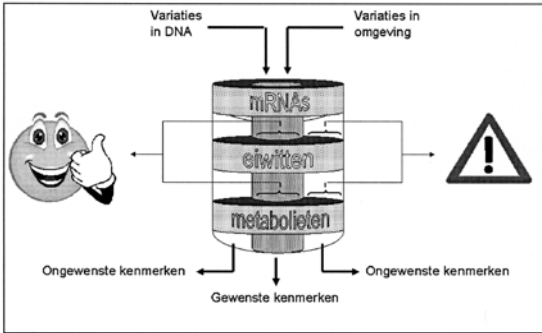
Genetisch gezien lijken varkens veel op mensen. Ook zijn er veel morfologische en fysiologische overeenkomsten tussen deze twee. Dit geldt zeker voor hun spijsverteringskanaal. Je

zou kunnen zeggen dat in dit opzicht varkens net mensen zijn of mensen net varkens, zo u wilt. Nutrigenomicsonderzoek bij varkens hoeft dus niet alleen gericht te zijn op toepassingen in de veehouderij, maar het biedt ook interessante mogelijkheden voor samenwerking met collega Müller van de afdeling Humane Voeding en Epidemiologie en het ASG-cluster Biomedische Modellen.

Benutten van kennis

Wat levert het functioneel genomicaonderzoek nu op wordt mij vaak gevraagd. Vanuit mijn academische setting antwoord ik dan dat de resultaten van het functioneel genomicaonderzoek ons op de eerste plaats meer inzicht verschaft in de biologische processen die ten grondslag liggen aan de kenmerken van dieren. Vanuit mijn toepassingsgerichte setting antwoord ik dan dat het basiskennis aanlevert voor tal van potentiële innovaties in de veehouderij. In het voorgaande heb ik al een aantal voorbeelden van mogelijke toepassingen aangegeven zoals het identificeren van nieuwe targets voor de fokkerij, het ontwikkelen van nieuwe vaccins en het sturen van diergezondheid via diervoeding.

Een andere toepassing is het beschikbaar komen van potentiële nieuwe meet- en monitoringsystemen. Hierbij kunnen de patronen van genactiviteit als biomarker ingezet worden waarmee we heel nauwkeurig en vroegtijdig kunnen meten wat er in een biologisch systeem aan de hand is en of het systeem wel goed op koers is voor het bereiken van het gewenste eindresultaat (Figuur 8). Dreigt het systeem in de gevarenszone te belanden dan kun je dat meten aan de hand van een verschuiving in het genexpressiepatroon. Mogelijk is er dan nog voldoende tijd om het systeem in de juiste richting bij te sturen.



Figuur 8: Meten en monitoren

Het verder onderbouwen en uitwerken van deze ideeën en het gebruiksklaar maken voor de praktijk, zal een belangrijk onderzoeksthema zijn voor de komende jaren. Dit kunnen we niet zonder daarbij de sector te betrekken. De tijd is daarom aangebroken dat de veehouderij actief gaat nadenken over de toekomstbeelden van de veehouderij waarbij rekening wordt gehouden met de mogelijkheden van het genomicsonderzoek. De fokkerij is daar het verst mee. Met stakeholders uit de diervoeding en de zuivelsector zijn we daarmee net begonnen. Bovendien kan de aangekondigde samenwerking tussen de Gezondheidsdienst voor Dieren en de Animal Sciences Group ervoor zorgen dat er kortere lijnen ontstaan tussen onderzoek en praktijk. De toekomst zal leren in welke mate functionele genomics heeft bijgedragen aan de ontwikkeling van een in alle opzichten duurzame veehouderij met een breed draagvlak in de samenleving.

Afsluiting

Mijnheer de Rector Magnificus, dames en heren, ik hoop dat ik u met het voorgaande heb laten zien dat functionele

genomica, hoe complex ook, interessante mogelijkheden biedt voor de zo noodzakelijke innovaties in de veehouderij. Ik wil afsluiten met een welgemeend woord van dank.

Allereerst dank u mijnheer de Rector Magnificus en de leden van de Raad van Bestuur van Wageningen UR voor het in mij gestelde vertrouwen.

Ook dank ik de opeenvolgende directies van de Animal Sciences Group voor hun betrokkenheid bij mijn benoeming en de ruimte die ze mij bieden om hier invulling aan te geven.

Ik dank ook alle leidinggevendenden onder wiens inspirerend leiderschap ik mij gedurende de afgelopen jaren in deze richting heb kunnen ontwikkelen. Het zijn er te veel om op te noemen, maar ik wil een uitzondering maken voor Dr. Gielkens. Beste Arno, je bent mijn steun en toeverlaat geweest tijdens mijn eerste jaren in Lelystad, ik heb veel van je geleerd.

Graag bedank ik ook Johan van Arendonk en Roel Veerkamp die een vruchtbare samenwerking hebben opgezet tussen de leerstoelgroep “Fokkerij en Genetica” in Wageningen en het cluster “Genetica en Biodiversiteit” in Lelystad. Jullie initiatief tot de oprichting van het “Animal Breeding and Genomics Centre” toont aan dat samenwerking tussen Universiteit en CRO tot meerwaarde leidt. De medewerkers van dit Centre bedank ik voor de prettige wijze van samenwerken.

Vele collega's binnen WUR, zowel in Wageningen als Lelystad, bedank ik voor de samenwerking in de afgelopen

periode. Functioneel genomicaonderzoek is niet weggelegd voor solisten. Het is een tak van sport waarbij het succes afhangt van de manier waarop en de mate waarin verschillende expertises bereid zijn met elkaar samen te werken. Ook voor de toekomst is integratief onderzoek essentieel. Ik kijk dan ook met belangstelling uit naar het verder uitbouwen en opzetten van vruchtbare samenwerkingsverbanden.

De hooggeleerden Schoenmakers, Konings en Meuwissen wil ik postuum bedanken. Zij hebben aan de wieg gestaan van mijn wetenschappelijke carrière en het is jammer dat ze er vandaag niet bij zijn.

Ik dank ook het thuisfront. Ruben, Martina en Jodine, jullie zorgen voor de broodnodige afleiding en dynamiek in mijn leven. Functionele genomica is bijna net zo boeiend en net zo complex als de levensfasen waarin jullie nu verkeren. Ik ben blij dat ik die van dichtbij mag meemaken.

Tenslotte Thilly, jou dank ik het allermeest. Niet alleen voor je onvoorwaardelijke steun maar gewoon, het is tenslotte Valentijn vandaag, omdat ik van je hou.

Geachte aanwezigen, ik dank u allen voor uw aandacht.

Ik heb gezegd.

Referenties

- 1a Lander ES *et al.* (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409:860-921.
- 1b Venter JC *et al.* (2001). The sequence of the human genome. *Science* 29:1304-1349.
- 2 International Chicken Genome Sequencing Consortium (2004). Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature* 432:695-716.
- 3 Snelling WM *et al.* (2007). A physical map of the bovine genome. *Genome Biol.* 8(8):R165
- 4 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genomes/> en <http://www.ensembl.org/index.html>
- 5 Liu X *et al.* (2008). MicroRNAs: Biogenesis and molecular functions. *Brain Pathol.* 18:113-21.
- 6 Clop A *et al.* (2006). A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. *Nature Genetics* 38, 813 – 818.
- 7a Redon R *et al.* (2006). Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 444:444-454
- 7b Korbel JO *et al.* (2007). Paired-end mapping reveals extensive structural variation in the human genome. *Science* 318:420-426.
- 8 Levy S *et al.* (2007) The diploid genome sequence of an individual human. *PLoS Biol*, 5(10):e254.
- 9 <http://genomics.xprize.org/>
- 10 Bossers A *et al.* (1997). Scrapie susceptibility-linked polymorphisms modulate the *in vitro* conversion of sheep prion protein to protease-resistant forms. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94(10):4931-4936.

- 11 Smits MA *et al.* (1997). Prion protein and scrapie susceptibility. *Vet Q.* 19(3):101-105.
- 12 van Hemert S *et al.* (2007). Immunological and gene expression responses to a Salmonella infection in the chicken intestine. *Vet Res.* 38(1):51-63.
- 13 Meuwissen THE *et al.* (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157:1819-1829

