

Gebruik DNA-technieken versterkt de biodiversiteit

Van oudsher zijn verschillen tussen rassen en soorten vastgelegd. Lange tijd is dat gebeurd door verschillen in voorkomen te beschrijven en productie-eigenschappen te meten. De beschreven verschillen vormen de fenotypische variatie. Sinds de jaren negentig wordt ook steeds meer getracht om verschillen tussen dieren op moleculair niveau te beschrijven. De wijze waarop deze moleculaire variatie een bijdrage kan leveren voor het verbeteren van de biodiversiteit, wordt in dit artikel voor de kippen beschreven.

Het is van groot belang om oud-Hollandse hoenderrassen te behouden. Ten eerste voor het behoud van (bio)diversiteit. Als er een bepaald ras dreigt te verdwijnen bestaat er een mogelijkheid dit ras weer terug te fokken. Er kunnen dan specifieke kruisingen in worden gezet met genetisch verwante dieren van andere rassen. Hiervoor moet zeer nauwkeurig bekend zijn welke

rassen genetisch dicht bij elkaar liggen. Ten tweede is het behoud van de hoenderrassen ook belangrijk bij het opsporen van genetische effecten. De oud-Hollandse hoenderrassen kunnen daar een rol in spelen omdat deze een andere selectiedruk hebben dan de commerciële rassen. Door verschillende rassen met elkaar te vergelijken is het mogelijk om specifieke mutaties

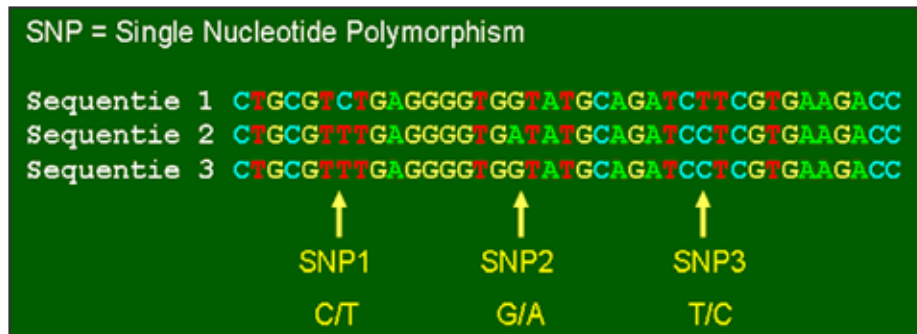
op te sporen die een genetisch effect verklaren. Hierbij wordt de fenotypische variatie (verschillende eigenschappen) vergeleken met de moleculair genetische variatie (verschillen in het DNA). Bij de fenotypische variatie bestudeert men wat ouders zichtbaar doorgeven aan hun nakomelingen. De moleculaire genetische variatie kan worden bestudeerd met DNA-technieken. Zo hebben we meer dan tien jaar geleden de moleculair genetische variatie bestudeerd bij de oud-Hollandse hoenderrassen door gebruik te maken van een aantal microsatellietmarkers. Een nadeel van deze markers is dat het gebruik ervan arbeidsintensief en hierdoor kostbaar is.

Bouwstenen DNA

In 2004 is het genoom van de kip in kaart gebracht (een internationale samenwerking waarvan het 'Animal Breeding and Genomics Centre' (ABGC) van de Wageningen Universiteit deel uitmaakte). Van bijna al de chromosomen van de kip is de structuur, de opbouw van de vier basen (bouwstenen) G, A, T en C, ontrafeld.

Met een ander internationaal consortium hebben we de moleculair genetische variatie in kaart gebracht door stukjes DNA van drie verschillende dieren met elkaar én met het dier waarvan het genoom helemaal in kaart is gebracht te vergelijken. Het bleek dat, evenals bij de mens, er bij de kip veelvuldig een ander type variatie voorkomt: de zogenoemde 'Single Nucleotide Polymorphism' (SNP). Dit is een variatie op één base. Zo zijn er voor de kip al meer dan 3,8 miljoen van deze SNP's gevonden. Bij elke SNP-merker komen er maximaal twee varianten (de zogenoemde allelen) voor. In figuur 1 zijn drie verschillende SNP's weer-

Figuur 1 – Variatie zichtbaar gemaakt door van een stukje DNA de basevolgorde te bepalen. In dit voorbeeld zijn drie sequenties weergegeven met daarbij op drie plaatsen gevonden variatie, aangegeven met SNP1 tot en met SNP3. Bij een homozygoot dier hebben beide ouders hetzelfde allel doorgegeven (dezelfde base). Bij een heterozygoot dier hebben beide ouders een ander allel doorgegeven. Bijvoorbeeld voor SNP1 op het ene chromosoom de base C en op het andere chromosoom de base T

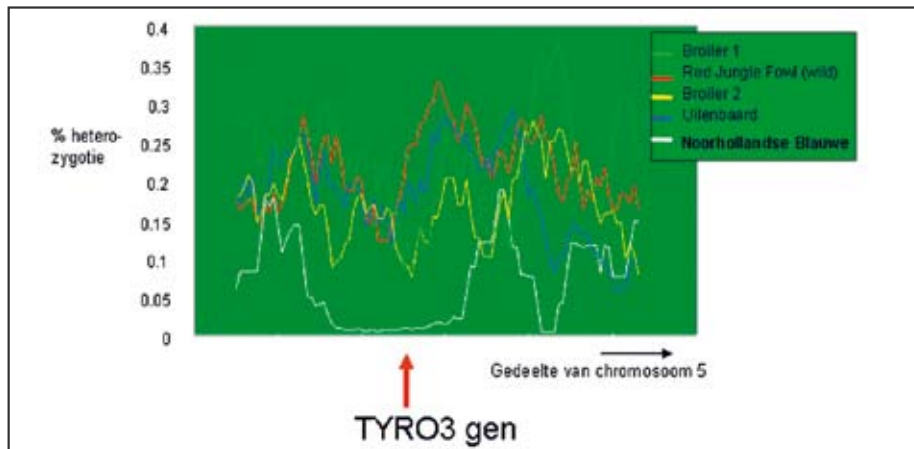


gegeven. De techniek om de SNP-variantie te bepalen heeft een geweldige ontwikkeling doorgemaakt. Het is momenteel al mogelijk om in één keer het genotype van 60.000 SNP's te bepalen.

Binnen ons Centre hebben we een merker met 20.000 SNP's voor de kip ontwikkeld. De SNP-merkers zijn evenredig over de chromosomen verdeeld. Het is daarom mogelijk om elk chromosoom in detail te volgen (stukje voor stukje). Deze SNP-merker hebben we onder andere gebruikt om wereldwijd diverse hoenderrassen te typeren, inclusief enkele oud-Hollandse hoenderrassen.

Genotyperingen

Met de genotyperingen van de SNP's kunnen we het genoom ook onderzoeken op de aanwezigheid van plaatsen waar zware selectie heeft plaatsgevonden. Door te selecteren op een bepaald kenmerk (een gen) wordt op DNA-niveau geselecteerd op één van de twee SNP-allelen. Hierdoor wordt een dergelijk dier homozygoot voor dit allel. Verder worden bij een sterke selectie op een bepaald kenmerk ook de flankerende SNP's betrokken zodat deze ook homozygoot worden. Dit kan betekenen dat door te selecteren op een bepaald kenmerk (gen) ongemerkt ook wordt geselecteerd op andere kenmerken, hetgeen zowel positief als negatief kan uitpakken. Selectie op een bepaald kenmerk wordt momenteel aangeduid met de term 'selective sweeps'. Een voorbeeld van een zodanige 'selective sweep' is te zien bij de Noord-Hollandse Blauwe waar selectie heeft plaatsgevonden op het TYRO3-gen (een van de genen verantwoordelijk voor kleur). In figuur 2 is te zien dat er erg geselecteerd is op een



Figuur 2 – Voorbeeld van een 'selective sweep' op chromosoom 5. Het percentage heterozygotie is uitgezet tegen de plaats van de SNP-merker op chromosoom 5.

De witte lijn geeft aan dat de Noord-Hollandse Blauwe voor een groot gebied homozygoot is geworden ten opzichte van andere rassen. In dit gebied ligt het TYRO3-gen dat een rol speelt bij kleur. In dit gebied liggen nog veel meer genen die meegeselecteerd zijn waarvan we niet weten welk effect die hebben

bepaald allel van dit gen. Dit heeft tot gevolg dat in het gebied op chromosoom 5, waar dit gen ligt, een serie SNP-merkers ook homozygoot is geworden. Of er een ander kenmerk in de buurt ligt dat hierdoor beïnvloed wordt, is (nog) niet bekend. Voor het onderzoeken van 'selective sweeps' is een hoge merkerdichtheid nodig. Om de gebieden waar zwaar op geselecteerd is in detail te bekijken bij de kip, zijn dan wel meer dan 500.000 SNP-merkers nodig.

Nieuw onderzoek

Het erfelijk materiaal dat tot nu toe voor het biodiversiteitonderzoek is gebruikt, was afkomstig uit bloed dat meer dan tien jaar geleden verzameld was. Momenteel zijn we bezig om nieuw erfelijk materiaal te verzamelen uit bevruchte eieren. Dit onderzoek moet een antwoord geven op de vraag of er goed gebruik is gemaakt van het genetisch potentieel binnen het ras en of er sprake is van verlies van heterozogotie op de allelen in de loop van de tijd.

Ook de Noord-Hollandse Blauwe kent homozygote kenmerken

