

## Perspektywy zastosowania badań genomicznych w hodowli zwierząt

### Wprowadzenie

Wobec stałego wzrostu zaludnienia, rolnictwo odgrywa kluczową rolę w globalnym rozwoju gospodarki. Według szacunków Organizacji do spraw Wyżywienia i Rolnictwa (FAO), produkcja żywności będzie musiała podwoić się już przed rokiem 2050. Osiągnięcie tego celu jest szczególnie wielkim wyzwaniem w dziedzinie produkcji zwierzęcej, gdyż jego realizacja będzie musiała przebiegać przy zachowaniu obecnej bioróżnorodności, produkcji bezpiecznej żywności i globalnym stosowaniu takich technologii, które nie wpływają negatywnie na środowisko. Istotne jest także, aby podejmowane cele hodowlane zintegrować z nowymi potrzebami i warunkami gospodarczymi oraz techniczno-produkcyjnymi oraz aby w selekcji hodowlanej wybierać zwierzęta zdolne do osiągania maksymalnej wydajności. Stopień trudności dodatkowo wzrasta wobec potrzeby zmniejszenia zużycia zasobów naturalnych, a także wymiernego ograniczenia obciążeń dla ekosystemów środowiska. W tych trudnych okolicznościach wielkie nadzieje wzbudza postępujący rozwój biotechnologicznej analityki DNA. Stąd, niezmiernie wysokie są oczekiwania w odniesieniu do genomiki, zarówno wśród naukowców, jak i hodowców oraz konsumentów.

#### 1. Genomika: wysokie oczekiwania

Z perspektywy oczekiwań nauki genomika powinna przyczynić się do pełniejszego poznania struktury i lepszego zrozumienia funkcji genomu. Powinna ona umożliwić wgląd w historię życia, charakteryzować mutacje przyczynowe stosunkowo prostych cech fenotypowych i schorzeń genetycznych, a także objaśniać genetyczną i epigenetyczną<sup>1</sup> kontrolę cech poligenicznych. *Podsumowując, genomika powinna*

*przyspieszać wykrywanie genów kandydujących<sup>2</sup> i zmierzać do zamknięcia luki między genotypem a fenotypem.*

**Hodowcy i organizacje hodowlane** oczekują zwiększenia zdolności produkcyjnych zwierząt; **konsumenci i sektor przetwórstwa** – podwyższonego bezpieczeństwa żywności i lepszej jakości produktów pochodzenia zwierzęcego. Są wreszcie oczekiwania naukowców, nastawione na odkrycie nowych aspektów wzrostu i rozwoju zwierząt, ich żywienia, zdrowotności i ochrony. Spodziewane jest także bardziej wnikliwie poznanie biologicznych podstaw funkcjonowania organizmów zwierząt gospodarskich. Zaktywizuje to większość organizacji hodowlanych do bardziej szczegółowego charakteryzowania molekularnej architektury cech użytkowych zwierząt. Jest to powiązane wprost z faktem, że nowa jakościowo informacja biologiczna jest elementem wspomagającym konkurencyjność produkcji. *Genomika stawia więc do dyspozycji narzędzia potrzebne do tego, aby szybciej osiągać cele hodowlane i lepiej je realizować.*

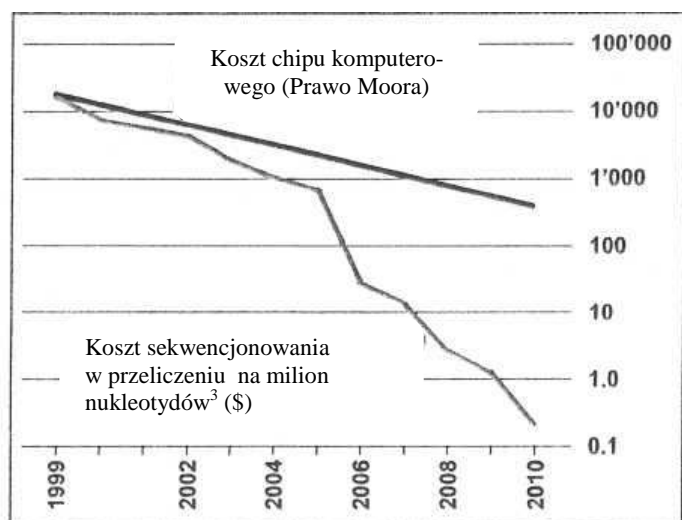
#### 2. Projekt sekwencjonowania genomu człowieka jako katalizator badań genomicznych

W latach 1990–2003 prowadzony był projekt sekwencjonowania genomu człowieka (Human Genome Project – HGP), który przyniósł wyraźne usprawnienie technologii i strategii sekwencjonowania. Pierwsze wyniki otrzymane w projekcie HGP spowodowały wzrost oczekiwań naukowców zajmujących się zagadnieniem zastosowania genomiki w hodowli zwierząt ([www.ornl.gov/sci/techresources/HumanGenome/home.shtml](http://www.ornl.gov/sci/techresources/HumanGenome/home.shtml)). Nawet jeszcze wówczas, kiedy koszty sekwencjonowania były kolosalnie wysokie (koszty HGP oszacowano na 3 miliardy dolarów), projekt ten dowiódł wy-

rażnie, że istnieją różne strategie sekwencjonowania genomów, pozwalające na znaczną redukcję poniesionych nakładów finansowych.

Dodatkowym impulsem do prowadzenia badań genomicznych była sukcesywna i nad-

zwyczaj duża redukcja kosztów sekwencjonowania (rys. 1). Pozwoliła ona na rozpoczęcie licznych projektów badawczych, dotyczących sekwencjonowania genomów różnych gatunków zwierząt gospodarskich (tab. 1).



Rys. 1. Redukcja kosztów sekwencjonowania (1999–2010)  
 Decrease of the cost of genome sequencing (1999–2010)  
 (The Economist Newspaper, 2010)

Tabela 1. Zestawienie sekwencjonowanych genomów ważniejszych gatunków zwierząt domowych  
 (zmodyfikowane przez Fana i in., 2010)

Summary of the sequenced whole genomes of important domestic animals

Gatunek <i>Species</i>	Wielkość genomu (GB) <i>Genome length (GB)</i>	Rok publikacji <i>Release year</i>
Kura ( <i>Gallus gallus</i> )	1,05	2004
Pies ( <i>Canis familiaris</i> )	2,4	2003
Bydło ( <i>Bos taurus</i> )	2,91	2009
Koń ( <i>Equus caballus</i> )	2,47	2009
Świnia ( <i>Sus scrofa</i> )	2,2	2009
Owca ( <i>Ovis arles</i> )	2,78	2008
Kot ( <i>Felis catus</i> )	1,64	2006
Królik ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> )	2,67	2009
Indyk ( <i>Meleagris gallopavo</i> )	1,08	2009

**a. Nowe perspektywy w dziedzinie wiedzy o zwierzętach**

Dzięki rozwiązaniom wypracowanym w trakcie realizacji projektu HGP możliwe stało się nie tylko ustalenie sekwencji referencyjnej<sup>4</sup> genomów ważniejszych gatunków zwierząt użytkowych, lecz także – poprzez sekwencjonowanie genomów kilku osobników różnych ras i porównaniu ich z sekwencją referencyjną – odkrycie niemal niewyczerpanego źródła polimorfizmu DNA w postaci SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms)<sup>5</sup> (Ramos i in., 2009). Dalsze postępy technologiczne w metodach genotypowania<sup>6</sup> przyczyniły się do tego, że obecnie badacze mają do dyspozycji narzędzia do analiz genomicznych w postaci mikromacierzy SNP typu BeadChip<sup>8</sup> (dla kilku gatunków zwierząt domowych), zawierających sondy dla dziesiątek lub setek tysięcy markerów SNP, równomiernie rozmieszczonych w całym genomie (tab. 2). W związku z tym jest dzisiaj możliwe genotypowanie dziesiątków tysięcy SNP jednocześnie i to za cenę analizy kilkuset markerów mikrosatelitarnych. Dzięki temu mogą być planowane badania, jakie z wykorzystaniem mikrosatelitów byłyby niemożliwe: na przykład bezpośrednie badanie nierównowagi sprzężeniowej<sup>7</sup> w wybranych populacjach w celu precyzyjnej lokalizacji *loci* cech ilościowych (QTL), nawet bez wyko-

rzystywania skomplikowanych badań obejmujących grupy rodzinowe lub łączenie analizy sprzężeń i analizy nierównowagi sprzężeniowej z uwzględnieniem zalet obydwu metod.

W ostatnich dwóch latach zostały opublikowane liczne wyniki badań, które jednoznacznie udowodniły skuteczność dostępnych na mikromacierzach BeadChip genomowych paneli SNP. Panele te zostały wykorzystane do:

- 1) precyzyjnego mapowania defektów genetycznych na podstawie badań typu case-control oraz identyfikacji genów przyczynowych (Backer i in., 2010; Brooks i in., 2010; Mayers i in., 2010);
- 2) charakterystyki *loci* cech ilościowych i identyfikacji części chromosomów odgrywających istotną rolę w determinowaniu złożonych fenotypów (Pryce i in., 2010; Fortes i in., 2009; Kijas i in., 2009);
- 3) analiz struktury genetycznej populacji i lepszego poznania historii ewolucyjnej ras zwierząt użytkowych (Gautier i in., 2010; Decker i in., 2009; Kijas i in., 2009).

Dzięki opracowanym panelom markerów SNP stworzono nowe narzędzie, pozwalające na poszukiwanie i odkrywanie mutacji przyczynowych odpowiedzialnych za zmienność cech fenotypowych.

Tabela 2. Mikromacierze SNP firmy Illumina, stworzone dla różnych gatunków zwierząt domowych (stan na wrzesień 2010)

*Illumina's BeadChips developed for important domestic animals (status: September 2010)*

Gatunek – <i>Species</i>	BeadChip	Liczba SNP <i>Number of SNPs</i>	Odstęp między SNP (kb) <i>Average intervall between SNPs</i>
Bydło	BovineSNP50	54 609	49,4
Bydło	BovineHD	777 962	3,43
Bydło	Bovine 3K	2900	–
Owca	OvineSNP50	54 241	50,86
Koń	EquineSNPSO	56 402	43,2
Świnia	PorcineSNP60	62 193	51,64
Pies	CanineSNP20	22 382	125
Pies	CanineHD	172 155	14,3
Kura	Ograniczona dostępność		

## **b. Zmiana paradygmatów dla hodowli zwierząt**

Hodowców zwierząt czekają dość radykalne zmiany w podejściu do hodowli, dotyczące stosowanych dotąd wzorców i modeli. Znajdowanie odpowiednich genów i odpowiednich genomów stanie się ważniejsze niż poszukiwanie odpowiedniego fenotypu. Narzędziem pozwalającym na wykorzystanie takiego podejścia są mikromacierze, które umożliwiają analizy SNP na skalę genomu (tab. 2).

Dysponując dostateczną liczbą markerów, hodowca będzie mógł badać w dalszych pokoleniach segregację całego genomu, a nie tylko pewnych specyficznych jego regionów. Rodzicielskie związki nie będą już konieczne, aby wytłumaczyć zbliżone wydajności u osobników potomnych (mogą one obecnie być wyjaśnione przez fakt, że zwierzęta posiadają identyczne fragmenty chromosomu).

Przy pomocy populacji referencyjnej<sup>9</sup> o znanym fenotypie i określonych genotypach będziemy mieli do dyspozycji kilka metod pozwalających na wyprowadzenie równań predykcji, które będą potem użyte do obliczania genomowej wartości hodowlanej osobników kandydujących, poddanych jedynie genotypowaniu z wykorzystaniem mikromacierzy SNP. Do oszacowania genomowej wartości hodowlanej, bez względu na płć, wykorzystywane jest jedynie DNA zwierzęcia.

Osobniki męskie i żeńskie mogą być selekcjonowane w bardzo młodym wieku i to z dużą dokładnością. Znane od dawien dawna marzenie hodowców, aby można było wprost określić genetyczną wartość zwierzęcia, staje się coraz bardziej rzeczywiste. U bydła bezpośrednio konsekwencją wprowadzenia selekcji w oparciu o mikromacierze SNP będzie – nieosiągalnie dziś jeszcze – przyspieszenie postępu hodowlanego, przy radykalnej redukcji kosztów testowania buhajów. Dokonujące się dziś przemiany są porównywalne z olbrzymim postępem, jakiego przysporzyło wprowadzone powszechnie w drugiej połowie XX wieku sztuczne unasienianie.

## **3. Perspektywy**

Revolucja genomiczna jest jeszcze dale-

ka od osiągnięcia końcowego celu, jednakże perspektywa systematycznego stosowania danych sekwencjonowania w praktyce hodowlanej rysuje się już całkiem realnie.

**Perspektywy naukowe.** Badanie funkcji genomu, transkryptomu<sup>10</sup> i epigenomu<sup>11</sup> przy pomocy metod sekwencjonowania otwiera nowy świat możliwości. Niektóre przykłady dzisiejszych zastosowań zawiera tabela 3. Odgrywa przy tym dużą rolę dalsza redukcja kosztów sekwencjonowania oraz podwyższenie zdolności przepustowej systemów sekwencjonowania (200 do 400 Gb w trakcie jednego eksperymentu). W niedalekiej przyszłości możliwe będzie dalsze zwiększanie przepustowości urządzeń, dzięki rozwojowi nowych przełomowych technologii, które dzisiaj określa się mianem „Third Generation Sequencing” (sekwencjonowania trzeciej generacji).

**Perspektywy hodowlane.** Integracja danych pochodzących z sekwencjonowania genomów zwierząt gospodarskich przyniesie dalsze ulepszenie metod selekcji genomowej, chociażby tylko na bazie danych symulacyjnych. Meuwissen i Goddard (2010) wykazali, że jest możliwe poprawienie dokładności szacowania wartości hodowlanej o 40% przez wykorzystanie danych pochodzących z sekwencjonowania, cechujących się wysoką dokładnością oszacowania wartości hodowlanej. Jest to możliwe nawet wtedy, gdy oceniana populacja jest oddalona od populacji referencyjnej o dziesięć pokoleń. Na podstawie tych wstępnych symulacji dowiedziano także, że można osiągnąć bardzo wysoką dokładność identyfikacji polimorfizmów funkcjonalnych przy połączeniu danych pochodzących od dostatecznie dużej populacji i wykorzystaniu optymalnych metod statystycznych.

Dzięki rewolucyjnym ulepszeniom technologii staje się pewne, że liczba znanych markerów i ograniczenia technologiczne przestały być już dzisiaj wąskim gardłem. Największe wyzwanie stanowi obecnie liczba, dokładność i trafność oznaczenia różnych fenotypów. Dane te są kluczem do jutrzejszych sukcesów. Jedynie ośrodki, które dysponują najlepszymi danymi biologicznymi, będą w stanie wiarygodnie identyfikować nie tylko mutacje przyczynowe lub geny główne, lecz także skutecznie stosować wyniki badań genetycznych, otrzymane w programach hodowlanych.

Tabela 3. Niektóre przykłady zastosowania metod sekwencjonowania następnej generacji  
*Some examples of applications using next generation sequencing*

Sekwencjonowanie następnej generacji (NGS) <i>Next generation sequencing</i>	
Sekwencjonowanie genomowe	Wykrywanie i analiza genomowych SNP
Warianty liczby kopii	Wykrywanie i analiza CNV <sup>12</sup>
Analiza wybranych fragmentów genomu	Celowane resekwencjonowanie
Regulacja ekspresji genów i analiza epigenetyczna	– metylacja genomowego DNA: wykrywanie i analiza – immuno-precypitacja chromatyny (Chip-Seq) – mikroRNA: wykrywanie i analiza
Ekspresja genów	Analiza transkryptomu: ilościowa i jakościowa
Cytogenetyka	Cyfrowe kariotypy

### Objaśnienia:

<sup>1</sup> Epigenetyka jest nauką zajmującą się badaniem mechanizmów związanych z rozwojem, polegających na powstaniu cech dziedziczonych przez komórki potomne, które nie są związane z mutacjami w genomowym DNA.

<sup>2</sup> Geny kandydujące – geny, których polimorfizm wykazuje związek asocjacyjny z badaną cechą fenotypową. Ich wpływ na daną cechę musi być potwierdzony badaniami funkcjonalnymi. W in-nym ujęciu – geny, których białkowy produkt może być potencjalnie powiązany z kształtowaniem danej cechy fenotypowej.

<sup>3</sup> Nukleotydy – monomery – związki chemiczne, których cząsteczki mogą ulegać polimeryzacji z innymi cząsteczkami, tworząc m.in. łańcuch DNA.

<sup>4</sup> Sekwencja referencyjna – znana sekwencja genu/genomu, stanowiąca matrycę do porównań. Jest ona najczęściej najlepszym znanym dopasowaniem sekwencji otrzymanych w trakcie sekwencjonowania.

<sup>5</sup> Single nucleotide polymorphism (polimorfizm pojedynczego nukleotydu – SNP) – zjawisko zmienności sekwencji DNA, która polega na zmianie pojedynczego nukleotydu (A, T, C lub G) pomiędzy osobnikami danego gatunku lub drugim, homologicznym chromosomem danego osobnika. Jest zjawiskiem naturalnie występującym w genomach ludzi i zwierząt i jednym

z głównych źródeł zmienności genetycznej.

<sup>6</sup> Genotypowanie – określanie za pomocą technik molekularnych sekwencji nukleotydowej określonych rejonów DNA (genów lub ich fragmentów) lub zmian w tych rejonach (mutacji, polimorfizmów). Służy określaniu występujących w genomie danego osobnika wariantów allelicznych DNA.

<sup>7</sup> Nierównowaga sprzężeniowa (linkage disequilibrium, LD) – nielosowa korelacja dwóch lub więcej markerów genetycznych występujących w niewielkiej odległości od siebie.

<sup>8</sup> Mikromacierz typu BeadChip – mikromacierz, w której sondy dla poszczególnych markerów SNP związane są ze specjalnymi krzemionkowymi koralikami (beads). Koraliki te są losowo umieszczane na powierzchni płytki mikromacieczy w odpowiednio przygotowanych dołkach. Weryfikacja położenia każdego koralika przeprowadzana jest w oparciu o złożony proces hybrydyzacji ze specyficznymi, fluorescencyjnie znakowanymi sondami.

<sup>9</sup> Populacja referencyjna – zbiór osobników o znanych wartościach hodowlanych i genotypach oznaczonych z wykorzystaniem mikromacieczy SNP. Jest to zbiór wyjściowy do oszacowania efektów poszczególnych markerów.

<sup>10</sup> Transkryptom – zbiór wszystkich cząstek mRNA w danej komórce, tkance czy narządzie. Powstaje w wyniku ekspresji genomu i procesu



transkrypcji. Jest tworem dynamicznym, podlegającym zmianom w zależności od stanu fizjologicznego organizmu lub obecności stresorów. Cząstki mRNA stanowią matryce dla syntezy wszystkich białek w organizmie.

<sup>11</sup> Epigenom – całość zmian na poziomie epigenetycznym zachodząca w genomie.

<sup>12</sup> CNV – copy number variation – zmienność liczby kopii długich sekwencji nukleotydowych. Polega na insercji, delecji lub duplikacji długich fragmentów DNA (powyżej 1000 pz). Jest naturalną submikroskopową wariacją strukturalną genomu. Może także powstawać w wyniku procesów patologicznych, jak nowotworzenie czy zaburzenia w trakcie replikacji DNA.

### Streszczenie

Rozwój wysoko wydajnych narzędzi do analiz genomicznych, który dokonał się na przestrzeni ostatnich lat oraz prace związane z sekwencjonowaniem genomów spowodowały dramatyczny wzrost ilości danych dotyczących genomów zwierząt gospodarskich. Dane te są użyteczne nie tylko przy identyfikacji i charakterystyce struktur oraz funkcji genomu, lecz także (wraz z wysokowydajnymi technikami analizy polimorfizmu DNA) pozwalają na lepsze i szybsze charakteryzowanie różnych wariantów genetycznych w populacjach zwierząt gospodarskich. Niesie to ze sobą rewolucyjne zmiany w naukach o zwierzętach hodowlanych, u których *loci* cech ilościowych mogą być teraz mapowane poprzez skanowanie genomów i wykorzystanie zjawiska nierównowagi sprzężeniowej (linkage disequilibrium – LD). W niedalekiej przyszłości decyzje selekcyjne będą podejmowane w oparciu o informację genomiczną, oferującą bardziej ekonomiczny schemat selekcyjny. Rozwój metod sekwencjonowania i znajomość struktury genomu wielu zwierząt niesie ze sobą takie nowe możliwości, jak lepsze zrozumienie funkcjonowania genomu i lepsze opisanie udziału mechanizmów epigenetycznych w kształtowaniu zmienności cech istotnych z ekonomicznego punktu widzenia.

Słowa kluczowe: genomika, hodowla zwierząt, SNP, sekwencjonowanie genomu, beadchip

Literatura jest dostępna w oryginale pracy.

---

Na podstawie:

**André Eggen (2011).** Gestaltung der Zukunft von Genomik in der Tierzucht. Züchtungskunde, 83 (1): 27–33; ISSN 0044-5401; © Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.

Adres do korespondencji:  
Illumina, Inc., San Diego, USA  
e-mail: aeggen@illumina.com

Tłumaczenie i opracowanie:  
**Kazimierz Żukowski**