

10. Nowoczesna biotechnologia stosowana w hodowli zwierząt, elementy inżynierii genetycznej i postęp w hodowli

Dzień dobry, nazywam się Katarzyna Andraszek; pracuję w Uniwersytecie Przyrodniczo-Humanistycznym w Siedlcach, na Wydziale Bioinżynierii i Nauk o Zwierzętach, w Instytucie Zootechniki i Rybactwa, temat mojego wystąpienia to: *Nowoczesna biotechnologia stosowana w hodowli zwierząt, elementy inżynierii genetycznej i postęp w hodowli*.

Współczesna biotechnologia optymalnie wykorzystuje techniki rekombinacji DNA i jest związana z rozwojem mikrobiologii, biochemii, biologii molekularnej i komórkowej, chemii, informatyki, fizyki. Badania biotechnologiczne, to badania interdyscyplinarne

Biotechnologiczne cele badawcze to:

- optymalizacja poziomu ekspresji genu,
- modyfikacje sekwencji nukleotydowych kodujących białko lub regulujących ekspresję genu,
- sekwencjonowanie genomu i genów wybranego organizmu, porównania sekwencji z wcześniej poznanymi,
- konstrukcja organizmów transgenicznych o nowych cechach,
- somatyczna i reprodukcyjna terapia genowa,
- diagnostyka genetyczna,
- klonowanie zwierząt.

Realizacja celów biotechnologicznych to nie tylko osiągnięcia, ale także obawy i zagrożenia:

- Prawidłowe diagnozy, ulepszone metody zapobiegania i leczenia chorób genetycznych i zakaźnych.
- Nowe korzystne odmiany roślin i zwierząt.
- Nowe szczepy mikroorganizmów o korzystnych cechach produkcyjnych.
- Nowe substancje uzyskane dzięki badaniom i wdrożeniom.
- Nowe metody ochrony środowiska
- Możliwe szkód wyrządzanych innym organizmom lub środowisku przez transgeniczne szczepy i odmiany.
- Zmniejszenie genetycznej różnorodności biologicznej
- Ingerencja w genotyp człowieka i zwierząt.
- Naruszenia granic informacji osobistych u ludzi
- Dalszego uprzywilejowania bogatych ludzi i krajów dzięki dostępności drogich i patentowanych technologii.

Od kilkunastu lat biotechnologię przyjęto dzielić na trzy główne pola:

- Biotechnologia czerwona, prowadząca do znajdowania nowych form zapobiegania, leczenia i wyleczenia, szczególnie chorób dotychczas nieuleczalnych z użyciem nowych metod diagnostyki i terapii.
- Biotechnologia zielona, czyli manipulacje genetyczne u roślin i zwierząt, prowadzące do ulepszania plonów i wytwarzania nowych produktów rolniczych oraz uzyskiwania nowych cech przez rośliny i zwierzęta.

- Biotechnologia biała, czyli działania na rzecz przemysłu.

Zielona biotechnologia - produkcja genetycznie modyfikowanych roślin i zwierząt. Działanie zielonej biotechnologii można obserwować w zakresach:

- produkcji *in vitro* roślinnego materiału wyjściowego dla upraw,
- wprowadzania genów warunkujących pożądane cechy roślin i zwierząt - transgeneza,
- hodowli z wykorzystaniem markerów genetycznych.

We współczesnej hodowli zwierząt, nastawionej na maksymalny postęp hodowlany, najistotniejszą rolę odgrywają markery genetyczne i ocena postępu hodowlanego oraz wartości hodowlanej zwierząt z ich wykorzystaniem. Czym jest zatem marker genetyczny?

Markerem genetycznym może być gen lub sekwencja DNA o znanej lokalizacji w genomie zwierzęcia, sprzężona z genem lub fragmentem chromosomu determinującym konkretną cechę (zazwyczaj cechę ilościową, mającą duże znaczenie w hodowli danego gatunku).

- Przydatność markera do zależy od tego, czy jest on polimorficzny, co zachodzi wówczas, gdy w populacji występują przynajmniej dwa allele w *locus* tego markera.
- Polimorfizm markerów bada się za pomocą metod analitycznych, wśród których kiedyś dominowały metody serologiczne — z wykorzystaniem surowic testowych, metod biochemicznych — technikami opartymi na elektroforezie białek oraz technikami wykorzystującymi analizy sekwencji DNA .

Wprowadzono podział markerów genetycznych na dwie klasy.

Klasa I obejmuje klasyczne markery, czyli geny. Polimorfizm tych markerów wykrywany był wcześniej poprzez analizę produktów genów (metody serologiczne i technika elektroforezy białek), ale może być również badany na drodze analizy sekwencji tych genów, metodami takimi jak sekwencjonowanie DNA, testy RFLP (restriction fragment length polymorphism - polimorfizmy długości fragmentów restrykcyjnych) lub SSCP (simple sequence length polymorphism - polimorfizmy długości prostych sekwencji).

Klasa II - polimorficzne sekwencje niekodujące, wśród których za najważniejsze uznawane są tandemowo powtarzające się sekwencje mikrosatelitarne, a w mniejszym stopniu sekwencje minisatelitarne. Polimorfizm tej klasy markerów analizowany jest wyłącznie z użyciem analiz sekwencji DNA.

Oprócz markerów DNA można wyróżnić jeszcze grupę markerów związanych z polimorfizmem chromosomowym, który jest wykrywany za pomocą technik prążkowego barwienia chromosomów. Polimorfizm chromosomowy dotyczy przede wszystkim wielkości bloków heterochromatyny konstytutywnej (barwienie techniką CBG) oraz obszarów jąderkotwórczych (technika Ag-NOR – Nucleolar Organiser Region).

Wpływ na postęp hodowlany zwierząt ma niewątpliwie odpowiednio prowadzona praca selekcyjna.

Przeprowadzanie selekcji zwierząt na podstawie ocen wartości hodowlanej oszacowanych z wykorzystaniem markerów genetycznych nosi nazwę selekcji wspomaganą markerami (MAS - Marker Assisted Selection). Przydatność markerów genetycznych w programach MAS zależy od tego, jaka część wariacji genetycznej ocenianej cechy może zostać wyjaśniona dzięki informacjom dostępnym z markerów genetycznych.

Wykorzystanie markerów genetycznych w programach hodowlanych zwiększa dokładność oceny wartości hodowlanej, a tym samym powiększa postęp hodowlany. Dodatkowa informacja o wartości hodowlanej zwierząt, dostarczana przez markery genetyczne, przydatna jest zwłaszcza w przypadku cech o niskiej odziedziczalności, cech, których pomiary dostępne są w późnym okresie życia zwierzęcia, lub dopiero po jego uboju, cech związanych z płcią. Kolejną korzyścią, jaka płynie z możliwości wykorzystania markerów genetycznych, jest skrócenie odstępu pokoleń. Szybkie pozyskanie informacji o ocenianym osobniku (takie możliwości dają markery genetyczne) może znacząco skrócić odstęp pokoleń i przyspieszyć postęp hodowlany.

Przydatność markerów genetycznych w ocenie wartości hodowlanej zwierząt zależy od tego, jak mocno są one sprzężone z *locus* cechy ilościowej (QTL - Quantitative Trait *Locus*). O sile sprzężenia markera z QTL informuje nierównowaga sprzężeń (LD - Linkage Disequilibrium), mówiąca o nielosowym sprzężeniu alleli z dwóch lub większej liczby *loci*. Jeżeli markery genetyczne sprzężone są z danym *locus* w sposób całkowicie losowy, to markery takie występują w równowadze sprzężeń (LE - Linkage Equilibrium). Biorąc pod uwagę siłę sprzężenia, markery genetyczne dzielimy na markery LD i markery LE. Najbardziej przydatnymi w hodowli zwierząt są markery będące w silnej nierównowadze sprzężeń z *loci* cech ilościowych, co oznacza, że sprzężenie markera z QTL jest rzadko rozrywane przez rekombinacje.

Wykorzystanie informacji dostarczanych przez markery genetyczne, w ocenie wartości hodowlanej metodą BLUP, polega na włączeniu do modelu mieszanego dodatkowego efektu losowego, jakim jest efekt QTL. Estymacja efektów QTL możliwa jest dzięki analizie sprzężeń markerów genetycznych z genami cech ilościowych. Na podstawie takiej analizy wybierane są regiony chromosomów, w których najprawdopodobniej znajdują się poszukiwany QTL. Istota MAS w przypadku oceny wartości hodowlanej na podstawie modelu z dodatkowym efektem losowym QTL, polega na połączeniu wykorzystania informacji fenotypowej (jak w klasycznych, bazujących na fenotypie, metodach oceny wartości hodowlanej) z dodatkową informacją dostarczaną przez markery genetyczne.

W ostatnich latach coraz popularniejsze stają się badania nad wykorzystaniem polimorfizmu pojedynczych nukleotydów (SNP - Single Nucleotide Polymorphism) jako źródła informacji o wartości hodowlanej zwierząt.

W przeciwieństwie do szacowania wartości hodowlanej z efektem QTL w modelu mieszanym, gdzie identyfikacja lokalizacji QTL wymaga przeprowadzenia testu istotności, MAS z wykorzystaniem SNP polega na jednoczesnej estymacji efektów wszystkich SNP (lub haplotypów SNP) bez konieczności testowania ich istotności. W badaniach tych zakłada się, że markery typu SNP będą jedynym źródłem informacji o wartości hodowlanej zwierząt (zbędne stanie się gromadzenie informacji fenotypowych), dzięki czemu możliwe będzie uzyskanie dokładnej oceny wartości hodowlanej dla bardzo młodych osobników (zaraz po ich urodzeniu). Pozwoli to na znaczne skrócenie odstępu pokoleń, przyspieszenie postępu hodowlanego i ograniczenie kosztów oceny wartości hodowlanej.

Dzięki możliwościom, jakie stwarza technologia mikromacierzy SNP (DNA microarray) możliwe jest szybkie genotypowanie setek tysięcy *loci* SNP. Z ogromnej liczby poznanych SNP wybierane są te najbardziej informatywne (*tag*SNP), następnie ustalone są najbardziej prawdopodobne

frekwencje haplotypów SNP, po czym poszukiwane są związki pomiędzy haplotypami SNP a cechami, których wartości hodowlane mają być szacowane.

Po oszacowaniu efektów haplotypów (zakłada się, że efekty haplotypów nie są osobniczo specyficzne, ale takie same dla całej populacji), wartość hodowlaną, zwaną genomową wartością hodowlaną (**GEBV** - Genome-wide Estimated Breeding Value) szacuje się jako sumę estymowanych efektów haplotypów SNP charakterystycznych dla danego genotypu (osobnika). Zakłada się, że efekty haplotypów SNP sumują się, a oddziaływania epistatyczne między *loci* SNP nie występują. Szacowanie GEBV można przeprowadzić metodą BLUP, wprowadzając do modelu liniowego jako losowy efekt haplotypów.

Polimorfizm markerów genetycznych jest wykorzystywany w badaniach nad odpornością/podatnością zwierząt na różne choroby i zaburzenia genetyczne, dzięki czemu nosiciele niekorzystnych alleli mogą być wykrywani, zanim wystąpią objawy chorobowe. Szczególne znaczenie mają badania związku między antygenami/genami głównego układu zgodności tkankowej (MHC - Major Histocompatibility Complex) a występowaniem chorób, zwłaszcza infekcyjnych.

Markery genetyczne są także niezwykle przydatne w szacowaniu stopnia zimbredowania (homozygotyczności) poszczególnych populacji (linii), w analizie podobieństw i różnic między populacjami i ustalaniu dystansu genetycznego między nimi. Szacowanie dystansu genetycznego i wybór ras, które cechuje duża zmienność genetyczna, służy zachowaniu biologicznej różnorodności zwierząt gospodarskich. Z kolei ocena zmienności genetycznej między populacjami (liniami) ułatwia wybór optymalnego wariantu krzyżowania, a w krzyżowaniu towarowym uzyskanie maksymalnego efektu heterozji, ujawniającego się głównie zwiększeniem wydajności cech użytkowych zwierząt. Charakterystyka wybranych markerów genetycznych pozwala śledzić wpływ pracy selekcyjnej na strukturę genetyczną danej populacji, jak określone geny ulegają eliminacji równoległe z eliminacją cech niekorzystnych z hodowlanego punktu widzenia.

Dziękuję za uwagę!