



Kura (*Gallus gallus*) – najnowsze osiągnięcia z zakresu genomiki

Anna Sławińska, Maria Siwek

Katedra Biotechnologii Zwierząt, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Bydgoszcz

Chicken (*Gallus gallus*) – the recent achievements in animal genomics

Summary

Chicken (*Gallus gallus*) is one of the most important animal species worldwide. As a significant contributor to food industry, it provides eggs and meat, which are important sources of animal protein in human diet. Moreover, chicken has a unique genomic architecture, which has been investigated for many years. This paper summarizes the most recent achievements in the field of chicken genomics. Among domestic animals chicken was the first to be selected for genome sequencing. Nowadays extensive chicken genetic and genomic resources such as genetic maps (STR, SNP), RH panel, EST, nucleotide sequence, QTLs and genes are known and publicly available. Finally, high-throughput microarrays (60K SNP array and 44K gene expression array) have been designed for the chicken genome as a modern tool applied in genome-wide association studies and functional genomics.

Key words:

chicken, genome, genetic map, QTL, microarray.

Adres do korespondencji

Anna Sławińska,
Katedra Biotechnologii
Zwierząt,
Uniwersytet
Technologiczno-Przyrodniczy,
ul. Mazowiecka 28,
85-084 Bydgoszcz.

biotechnologia

3 (90) 36–46 2010

1. Wprowadzenie

Kura (*Gallus gallus*) jest przedstawicielem 9600 istniejących na świecie gatunków ptaków. Jest też łącznikiem ewolucyjnym między ssakami a mniej rozwiniętymi kręgowcami. Na podstawie analizy sekwencji DNA kury i człowieka wiadomo, że oba gatunki rozdzieliły się w procesie ewolucji ~310 milionów lat temu. Znana dzisiaj kura domowa (*Gallus gallus domesticus*) została udomowiona w Azji około 8000 lat p.n.e., a zgodnie z sugestią

Darwina, potwierdzoną w badaniach mitochondrialnego DNA, jej bezpośrednim przodkiem był czerwony kur dżungli (ang. *Red Jungle Fowl*) (1). Kura jako źródło wysokobiałkowych produktów pochodzenia zwierzęcego: jaj i mięsa jest jednym z najważniejszych gospodarczo gatunków zwierząt użytkowych. Białe mięso drobiowe znajduje uznanie przez konsumentów, i jest akceptowane przez wyznawców wszystkich religii (2). W przeciągu ostatnich trzydziestu lat produkcja mięsa drobiowego na świecie potroiła się i wciąż wzrasta. W roku 2007 wyniosła 89 milionów ton, co stanowi ~30% światowej produkcji mięsa (3). Ten wzrastający trend utrzymuje się, mimo nawracających pandemii ptasiej grypy w Azji i jest spowodowany stosunkowo niską ceną mięsa drobiowego na światowych rynkach, w porównaniu do wieprzowiny i wołowiny. Światowa produkcja jaj w roku 2004 wyniosła 58,3 miliona ton, a w roku 2007 wzrosła do 62,6 miliona ton (4).

2. Genom kury

Genom kury składa się z 38 chromosomów autosomalnych oraz 2 chromosomów płci. Chromosomy płci ptaków, określane są dla odróżnienia od chromosomów ssaków literami W i Z, przy czym płć żeńska jest heterogametyczna (ZW), a płć męska homogametyczna (ZZ). W sumie, na genom kury składa się ~1,05 miliarda nukleotydów (1), o masie molekularnej haploidalnego zestawu chromosomów (ang. *C-value*) na poziomie 1,25 pg (5). Ogólna liczba genów szacowana jest na 20 000-23 000.

Chromosomy ptaków charakteryzuje znaczne zróżnicowanie wielkości, dlatego morfologicznie większe chromosomy określane są mianem makrochromosomów (MACs, ang. *macrochromosomes*), a mniejsze – mikrochromosomów (ang. MICs – *microchromosomes*). Dużym problemem dla prawidłowego określenia kariotypu ptaków jest fakt, że najmniejsze mikrochromosomy nie są rozróżniane za pomocą konwencjonalnych metod mapowania cytogenetycznego, takich jak prążkowanie G. Ponadto, w literaturze spotyka się kilka systemów klasyfikacji kariotypu kury. Zgodnie z obowiązującym, międzynarodowym systemem standaryzacji kariotypu u ptaków (ISSAK, ang. *International System for Standardized Avian Karyotypes*), makrochromosomy obejmują osiem największych chromosomów autosomalnych (GGA1-8) oraz chromosomy płci (GGAZ, GGAW) (6), natomiast pozostałe chromosomy (GGA9-38) zaliczane są do mikrochromosomów. Makrochromosomy osiągają długość 3-6 μm , a mikrochromosomy – 0,5-2,5 μm (7).

Warto wspomnieć o alternatywnych metodach klasyfikacji kariotypu kury. Z jednej strony, ze względu na zjawisko stopniowego zmniejszania się wielkości chromosomów w kariogramie, wyróżniono pięć par makrochromosomów (GGA1-5), pięć par chromosomów pośrednich (GGA6-10) oraz 28 par mikrochromosomów (GGA11-38) (8). Z drugiej strony, w ostatnich latach opracowano metodę umożliwiającą rozróżnienie wszystkich mikrochromosomów kury (9). Jej autorzy wykorzystali sortowanie fluorescencyjne mikrochromosomów, ich mikrodysekcję, a następnie detekcję za

pomocą metody DOP-PCR (ang. *Degenerate Oligonucleotide – Primed Polymerase Chain Reaction*) oraz FISH (ang. *Fluorescent in situ Hybridization*). W efekcie, zaproponowany został niezależny sposób klasyfikacji chromosomów, obejmujący cztery grupy. W grupie A (GGA1-10) zawarte są największe, cytogenetycznie rozróżniane makrochromosomy; grupa B (GGA11-GGA16) obejmuje największe mikrochromosomy wraz z chromosomem NOR (GGA16); grupa C (GGA17-32) zawiera niewielkie mikrochromosomy, związane z grupami sprzężeniowymi markerów mikrosatelitarnych, natomiast grupa D (GGA33-38) – najmniejsze mikrochromosomy, nie są związane ze znanymi do tej pory grupami sprzężeniowymi.

3. Mapy genetyczne

Sprzężeniowa mapa genetyczna genomu kury, została skonstruowana na podstawie częstości zdarzeń rekombinacji między markerami mikrosatelitarnymi, z wykorzystaniem trzech dostępnych populacji referencyjnych (East Lansing, Compton i Wageningen) (10). Składają się na nią 1889 *loci*, z czego 480 tworzy podstawę mapy (ang. *framework map*), zgrupowaną w 50 grupach sprzężeniowych, a kolejne 1409 *loci* zostało zlokalizowanych względem *loci* ramowych. Wielkość konsensusowej mapy genetycznej oszacowano na ~3800 cM. Wraz z rozwojem technik molekularnych, rozdzielczość mapy genetycznej została drastycznie zwiększona o 12 945 markerów SNP zgenotypowanych w 34. grupach sprzężeniowych na 29. chromosomach autosomalnych (11). Uzyskana w ten sposób nowa mapa konsensusowa jest znacznie mniejsza od mapy poprzedniej generacji i posiada wielkość 3228 cM. Dopiero na jej podstawie określono, że poziom rekombinacji różni się między populacjami, natomiast jest niezależny od płci.

4. Mapy fizyczne

Jedną z pierwszych metod fizycznego mapowania genomu było mapowanie cytogenetyczne. Opiera się ono na klasycznych technikach prążkowania lub cytogenetyce molekularnej. W przypadku genomu kury, liczącego 38 chromosomów (*n*), z czego większość stanowią mikrochromosomy, trudności przysparzała prawidłowa identyfikacja tych ostatnich. Obecnie, mapowanie cytogenetyczne opiera się na specyficznych dla chromosomu sondach i technologii FISH, obejmujących zarówno sondy malujące cały chromosom, jak i specyficzne dla danego *locus* (9).

Większą rozdzielczością od mapy cytogenetycznej charakteryzuje się panel RH (RH panel, ang. *Radiation Hybrid panel*). Składa się na niego zestaw hybryd komórkowych, powstałych przez fuzję kurzych zarodkowych fibroblastów, napromieniowanych dawką 6000 radów, z komórkami chemicznie Wg3hCl₂ pozbawionymi aktywności HPRT (fosforybozylotransferazy hipoksantynowo-guaninowej). W obrębie DNA

pozyskanego z 452 klonów hybryd komórkowych przeprowadzono analizę panelu markerów mikrosatelitarnych. Na jej podstawie dokonano rekonstrukcji mapy radiacyjnej, opierającej się na zjawisku występowania pęknięć chromosomów w obrębie napromieniowanych komórek kury, doprowadzającego do rozdzielenia markerów na poszczególne hybrydy. Dzięki temu wyznaczana jest odległość między markerami na mapie radiacyjnej (12). Obecnie, na stronie <http://chickrh.toulouse.inra.fr> dostępna jest szósta wersja mapy radiacyjnej, nazywana *ChickRH6* (13). Mapa ta zawiera 2531 markerów, które umożliwiły stworzenie mapy referencyjnej dla 20 chromosomów oraz czterech innych grup sprzężeniowych. Dalsze prace nad poprawą rozdzielczości panelu RH trwają, a ich głównym celem jest mapowanie mikrochromosomów, które wciąż zawierają regiony o niskim nasyceniu markerami na mapie radiacyjnej.

Mapą fizyczną o największej rozdzielczości jest sekwencja nukleotydowa. Pierwszym krokiem do uzyskania sekwencji genomu kury było masowe sekwencjonowanie odcinków DNA ulegających ekspresji (EST, ang. *Expressed Sequence Tags*), zdeponowanych w bibliotekach cDNA, przeprowadzone w kilku międzynarodowych projektach (14-16). Uzyskano w ten sposób prawie 600 000 EST zdeponowanych w różnych bazach danych (np. <http://bioinfo.hku.hk/chicken/>, <http://www.chick.manchester.ac.uk/>, <http://www.chickest.udel.edu/>). Dzięki poznaniu pełnej sekwencji prawie 20 000 cDNA (17), możliwe było określenie w genomie kury elementów funkcjonalnych. Dane te posłużyły w następnych latach do konstrukcji mikromacierzy ekspresyjnych, służących do analizy funkcjonalności genów.

5. Sekwencjonowanie genomu kury

Kolejnym krokiem milowym w genomice kury było sekwencjonowanie całego genomu kury. Zastosowana strategia objęła sekwencjonowanie i składanie materiału genetycznego kury sklonowanych w obrębie sztucznych chromosomów bakteryjnych (BAC, ang. *Bacterial Artificial Chromosomes*), fosmidów i plazmidów (1). Za sprawą relatywnie niewielkiego rozmiaru genomu kury oraz niskiego nasycenia elementami powtarzalnymi, uzyskano wysokiej jakości sekwencję, w której każdy nukleotyd występował średnio 6,6 raza (ang. *6.6 coverage*) i sumarycznej wielkości 907 Mbp. Aktualnie, w publicznych bazach danych *Ensembl* (<http://www.ensembl.org/>) oraz *NCBI* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) opublikowana jest druga wersja sekwencji (ang. *Genome Build 2.1*), obejmująca chromosomy autosomalne 1-28 oraz 32, chromosomy płci Z i W, DNA mitochondrialne (MT), a także dwie dodatkowe grupy sprzężeniowe.

Na podstawie sekwencji nukleotydowej dokonano charakterystyki genomu kury. Przede wszystkim zidentyfikowano 2,8 milionów polimorfizmów punktowych (SNP, ang. *Single Nucleotide Polymorphism*), poprzez porównanie sekwencji genomu czerwonego kura dzungli (łac. *Gallus gallus*, ang. *Red Jungle Fowl*) z fragmentami sekwen-

cji różnych ras kur nieśnych, mięsnych i ozdobnych (18). Ponadto, określono przyczynę znanego zjawiska znacznie zredukowanej wielkości genomu ptaka ($\sim 1,05\text{Gpz}$) w porównaniu do genomu ssaka (np. genom człowieka $\sim 2,8\text{Gpz}$). Nastąpiło ono w wyniku obniżenia ilości elementów powtarzalnych, pseudogenów, duplikacji genów oraz duplikacji segmentowych w genomie kury, w ramach ewolucyjnego przystosowania ptaków do latania. Zmniejszenie wielkości komórki, a tym samym powiększenie powierzchni wymiany gazowej wpłynęło na zintensyfikowanie metabolizmu tlenowego. W konsekwencji jednak obniżona została masa jądra komórkowego, a zatem również masa genomowego DNA, ściśle skorelowana z masą komórki (7). W kontekście genomiki kury, zmniejszenie rozmiaru większości chromosomów pociągnęło za sobą konsekwencje w postaci negatywnej korelacji wielkości chromosomu ze współczynnikiem rekombinacji, zawartością zasad G + C oraz wysp CpG i – przede wszystkim – z zawartością genów. Dlatego mikrochromosomy GGA11-38, stanowiące jedynie 18% genomu samicy, niosą ze sobą aż $\sim 31\%$ genów, przez co są one określane jako regiony bogate w geny (1).

6. *Loci* cech ilościowych (*QTL*)

Potencjał, jaki niesie rozwój wiedzy na temat sekwencji nukleotydowej genomu kury oraz nowych polimorfizmów SNP stanowi podstawowe narzędzie identyfikacji genetycznego podłoża ważnych pod względem produkcyjnym cech. Cechy ilościowe (ang. *quantitative traits*), tradycyjnie definiowane jako cechy z rozkładem ciągłym, w odróżnieniu od cech jakościowych, o rozkładzie nieciągłym, obejmują większość cech produkcyjnych i odpowiedzi immunologicznej. Genetyczne uwarunkowania, jakim podlegają, opierają się na poligenicznym kodowaniu danej cechy przez wiele genów o niskim efekcie. Geny te są zlokalizowane w obrębie regionów chromosomalnych określanymi jako *loci* cech ilościowych (*QTL*, ang. *Quantitative Trait Loci*). Pierwszym krokiem do identyfikacji podłoża genetycznego danej cechy ilościowej jest zlokalizowanie związanego z nią *QTL*.

Detekcja *QTL*, zwana również mapowaniem *QTL* (ang. *QTL mapping*) opiera się na wykorzystaniu map genetycznych, a następnie identyfikacji powiązań między poziomem analizowanej cechy fenotypowej a dziedziczeniem polimorficznych markerów DNA. Istotnie statystycznie relacje między częścią genotypową a fenotypową mogą stanowić dowód na istnienie *locus* cechy ilościowej w pobliżu markera genetycznego (lub markerów genetycznych w przypadku analizy przedziałowej), z którym wystąpiło sprzężenie. Końcowym efektem badań nad mapowaniem *QTL* jest identyfikacja markerów genetycznych zlokalizowanych w pobliżu *QTL*, dzięki czemu dany marker i dany *QTL* dziedziczą się razem. Zjawisko to nazywane jest nierównowagą sprzężeniową (LD, ang. *Linkage Disequilibrium*). Takie markery mogą być wykorzystywane w programach hodowlanych (19). W niektórych przypadkach mapowanie *QTL* prowadzi do identyfikacji genu (lub genów) determinujących daną cechę. Jednak cel

ten jest trudny do osiągnięcia ze względu na poligeniczne dziedziczenie, epistazę, zróżnicowaną ekspresję genów, a także plejotropię. W związku z tym, każda analiza *QTL* wymaga potwierdzenia w niezależnej populacji (ang. *QTL validation*) oraz zawężenia regionu *QTL*, zwanego też mapowaniem precyzyjnym (ang. *fine-mapping*) w celu dokładniejszego określenia jego lokalizacji (20).

Informacje literaturowe dotyczące *loci* cech ilościowych najważniejszych gatunków zwierząt gospodarskich, w tym kury, zdeponowano w publicznie dostępnej bazie danych *animalQTLdb* (21). Część bazy danych, zawierająca informacje o *QTL* kury, nosi nazwę *chickenQTLdb* i jest dostępna w zasobach internetowych pod adresem: <http://www.animalgenome.org/QTLdb/chicken.html>. Obecnie, w tej bazie danych znajdują się dane literaturowe o 791 regionach *QTL* kury, sklasyfikowanych ze względu na chromosom zawierający *loci* określonej cechy ilościowej, czy też typ cechy fenotypowej, z którą dany *QTL* jest związany. W odniesieniu do typu cechy użytkowej, największa liczba prac eksperymentalnych, których celem była identyfikacja *QTL* odpowiada cechom wzrostu (368 *QTL*), odporności na choroby (177 *QTL*) oraz jakości jaja (113 *QTL*). Mniejszą liczbę *QTL* zidentyfikowano dla cech behawioralnych (48 *QTL*), zaburzeń metabolicznych (31 *QTL*), produkcji jaj (28 *QTL*), jakości mięsa (11 *QTL*), czy żywienia (9 *QTL*). Kompleksowa analiza piśmiennictwa dotyczącego regionów *QTL* kury została zaprezentowana w innych pracach przeglądowych (22,23).

7. Analiza genów kandydujących

Podstawowym celem badań nad związkiem procesów biologicznych z ich genetycznymi podstawami jest określenie genów bezpośrednio determinujących zmiany fenotypowe. Poza znaczeniem poznawczym, identyfikacja genów wpływających na cechy produkcyjne i odpornościowe u zwierząt gospodarskich ma też wymiar praktyczny, w dużym stopniu przyczyniając się do wykorzystania wyników eksperymentu w praktyce hodowlanej. Do realizacji tego celu wykorzystywana jest analiza genów kandydujących, opierająca się na wytypowaniu pozycyjnych i funkcjonalnych genów, a następnie określeniu ich związku z poziomem cechy fenotypowej. Do pozycyjnych i funkcjonalnych genów kandydujących należą *loci* potencjalnie związane z analizowaną cechą. Interakcję między genem a fenotypem określa funkcja produktu białkowego danego genu w metabolizmie oraz/lub pozycja genu w obrębie regionów *QTL*. Ostatnio, metodyka analizy genów kandydujących została wzbogacona o metodę *in silico* (DigiCGA, ang. *Digital Candidate Gene Approach*), polegającą na wyszukiwaniu genów na bazie narzędzi bioinformatycznych, takich jak baza danych *Gene Ontology*, skupiająca dane dotyczące genów i ich funkcji biologicznych w danym organizmie (24). Po wytypowaniu genu, następuje poszukiwanie jego polimorfizmu w danej populacji referencyjnej (np. poprzez sekwencjonowanie lub genotypowanie markerów SNP), a następnie – analiza statystyczna asocjacji polimorfizmu genetycznego z poziomem analizowanej cechy ilościowej. W przypadku uzyskania

dowodu statystycznego na powiązanie danej mutacji funkcjonalnej lub polimorfizmu markera z cechą użytkową, może być ona wykorzystywana do hodowli wspomaganej genami (GAS, ang. *Gene Assisted Selection*) (25).

8. Mikromacierze DNA

Do analizy polimorfizmu genów kandydujących i detekcji mutacji funkcjonalnych wykorzystywane jest genotypowanie polimorfizmów punktowych SNP (SNP, ang. *Single Nucleotide Polymorphism*). Najnowsze metody analityczne opierają się na technologii *chip* DNA, w której znakowane fluorescencyjnie genomowe DNA hybryduje jednocześnie do wielu specyficznych oligonukleotydów przytwierdzonych na stałym podłożu (nylon lub szkło). W przypadku genomu kury, firma Illumina Inc. (San Diego, CA, USA) opracowała 3K SNP *chip* (chip obejmujący 3000 SNP), który został przetestowany na 2500 osobnikach należących do komercyjnych ras oraz tych, które posłużyły do sekwencjonowania genomu kury i detekcji SNP, m.in. czerwony kur dżungli, biały leghorn, chińska rasa silkie oraz komercyjny brojler. Wyniki posłużyły nie tylko do walidacji mikromacierzy, ale również do oceny bioróżnorodności komercyjnego pogłowia drobiu na świecie (26).

W oparciu na dalszej współpracy środowiska akademickiego z firmą Illumina Inc., obecnie trwa przygotowanie mikromacierzy *iSelect™ BeadChip* o pojemności 60 000 markerów SNP (60K) obejmujących wszystkie chromosomy kury. Wyniki genotypowania SNP z jej udziałem zostaną wykorzystane do zwiększenia rozdzielczości mapy genetycznej kury. Jednocześnie, szybkie i wydajne oznaczanie wariantów wielu markerów genetycznych jednocześnie (ang. *High-Throughput Genotyping*), może być docelowo wykorzystane w genomowej selekcji wspomaganej markerami (GMAS, ang. *Genome-Wide Marker Assisted Selection*). Wstępnie szacuje się, że mikromacierz 60K jest optymalna w przypadku kur nieśnych, natomiast w selekcji brojlerów musi być rozszerzona do 300K (27).

9. Resekwencjonowanie

W najbliższej przyszłości przewiduje się jednak odejście od technologii genotypowania markerów molekularnych na rzecz technologii resekwencjonowania całych genomów lub ich ściśle określonych części. Dzięki temu możliwe będzie wykorzystanie w analizach wszystkich możliwych polimorfizmów znajdujących się w genomie, zidentyfikowanych na podstawie indywidualnych sekwencji nukleotydowych. Jest to możliwe dzięki konstrukcji sekwenatorów trzeciej generacji, takich jak Genetic Analyzer Illumina™/Solexa™ (Illumina Inc., San Diego, CA, USA), SOLiD™ (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), czy 454 GS FLX™ (Roche Diagnostic®, Basel, Switzerland), umożliwiających sekwencjonowanie w krótkim czasie odcinków DNA

o łącznej długości kilku miliardów par zasad (Gbp, ang. *Giga Base Pairs*). W praktyce oznacza to możliwość resekwencjonowania całych genomów. W przypadku wielu gatunków problemem wciąż pozostaje brak odpowiedniej jakości referencyjnej sekwencji DNA, jak również trudności techniczne z analizą komputerową i przechowywaniem tak ogromnych zbiorów danych.

W przypadku genomu kury, jak do tej pory, resekwencjonowaniem objęto wybrane fragmenty chromosomów. Przykładem może być chromosom W, w którym poszukiwano charakterystycznej dla genomu kury wysokiej zmienności genetycznej. Resekwencjonowanie 7643 pz u 47 osobników ujawniło natomiast niespodziewanie niską zmienność w porównaniu do innych fragmentów genomu kury. Przyczyn tego zjawiska autorzy dopatrują się w braku pozytywnej selekcji na ubogi w geny chromosom W (28). Z kolei, w badaniach dotyczących wpływu presji selekcyjnej na zmienność genów istotnych dla odpowiedzi immunologicznej, resekwencjonowany fragment DNA objął łańcuch α genu IL-4R (receptor α interleukiny 4), a analizę przeprowadzono na 90. osobnikach należących do różnych afrykańskich i azjatyckich przedstawicieli rodzaju *Gallus*, blisko spokrewnionych z kurą domową. W badaniach ujawniono bardzo wysoką zmienność (wyrażoną liczbą haplotypów) analizowanego genu, co zostało wytłumaczone jako efekt z jednej strony – wielokrotnych zjawisk udomowienia kury, a z drugiej – jako wynik naturalnej selekcji na te warianty genu IL-4R α , które w większym stopniu przystosowywały zwierzę do nowych zagrożeń chorobotwórczych (29).

10. Mikromacierze ekspresyjne

Osiągnięcia na polu genomiki kury (poznanie sekwencji genomowej oraz sekwencji EST), umożliwiły gwałtowny rozwój genomiki funkcjonalnej kury, gdzie celem jest analiza ekspresji genów. Podobnie, jak w przypadku oznaczania mutacji punktowych w genomowym DNA (mikromacierze DNA), analiza ekspresji genów oparta jest głównie na technologiach mikromacierzy, zwanych mikromacierzami ekspresyjnymi (ang. *Expression Microarrays*). W tym przypadku, pojedynczy slajd mikromacierzy zawiera zestaw immobilizowanych, oligonukleotydowych sond, komplementarnych do sekwencji cDNA analizowanych genów. Główną zaletą tej technologii jest całościowa analiza ekspresji wielu genów równocześnie, co umożliwia identyfikację funkcjonalności genów zawartych w całych szlakach metabolicznych. Ponadto, analiza ekspresji danego zestawu genów w różnych gatunkach i/lub w różnych tkankach danego gatunku prowadzi do identyfikacji ontologii genów (GO, ang. *Gene Ontology*), opierającej się na opisywaniu funkcji genów poprzez definiowanie ich podstawowych charakterystyk, jak molekularna funkcja produktów genów, ich rola w procesach biologicznych oraz ewentualny udział w budowaniu struktur komórkowych (30).

Mikromacierze ekspresyjne, powstające na przełomie ostatnich lat różniły się pod względem ilości analizowanych transkryptów; od 3K-5K (31-34) poprzez 13-20K

(35,36) do 33K i więcej (37,38). W chwili pisania tego artykułu najnowszą mikromacierz ekspresyjną – 44K *Chicken Gene Expression Microarray* (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) – zaprojektowano w oparciu na 44 000 oligonukleotydach hybrydujących do cDNA wybranych genów i mikro RNA kury oraz genów wirusa Mareka i ptasiej grypy (39) i – jak do tej pory – wykorzystano w kilku eksperymentach z zakresu genomiki funkcjonalnej kury (40-42).

Warto podkreślić, że zestawy sond dla mikromacierzy ekspresyjnych są projektowane specyficznie dla danego typu tkanek i / lub analizowanych szlaków metabolicznych, a uzyskane do tej pory wyniki obejmują tak szerokie spektrum zagadnień dotyczących fizjologii, metabolizmu i zdrowotności kury, jak występowanie osteoporozy w tkance kostnej u kur (36), dojrzewanie oocytu i wczesny rozwój zarodka (38), kształtowanie się odporności na zakażenia bakteriami *Salmonella enterica* (40) i *Clostridium perfringens* (41), powstawanie nowotworów (31), akumulację tłuszczu w organizmie (43) oraz rozwój i funkcjonowanie układu pokarmowego (32,42) i immunologicznego (33,34).

11. Kierunek dalszych badań

Ostatnie lata przyniosły przełom w gromadzeniu danych z zakresu genetyki czego owocem jest cała seria nowych nauk, znanych pod wspólną nazwą *omics* i powstałych na podstawie genomiki. Należą do nich transkryptomika (ang. *transcriptomics*), proteomika (ang. *proteomics*) oraz metabolomika (ang. *metabolomics*). Warto podkreślić, że kura była pierwszym zwierzęciem gospodarskim o całkowicie zsekwencjonowanym genomie. W chwili obecnej największym wyzwaniem nauki jest kompleksowe określenie nie tylko struktury, ale i funkcji poszczególnych genów. Wyzwanie, jakie zostało postawione przed światem nauki w epoce postgenomowej, zostało określone jako problem stosunku genotypu do fenotypu (ang. *genotype-to-phenotype problem*), gdyż obecnie priorytetem jest przypisanie efektu fenotypowego do danego genu. Jednak, aby skutecznie identyfikować funkcjonalne powiązania między wpływem genów na fenotyp, konieczne jest uzupełnienie informacji o poziom cech trudno mierzalnych, takich jak odporność na choroby. Okazuje się, że obecnie największa różnica zaistniała między nieograniczonym dostępem do danych genomowych, a stosunkowo skromnymi zbiorami danych fenotypowych. Dysproporcja ta, określana jako luka fenomiczna (ang. *phenomic gap*), musi zostać uzupełniona o kompletne dane pochodzące z dużych populacji.

Praca wykonana w ramach projektów: 2 P06D 012 30 i częściowo z N N311 623938 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Literatura

1. ICGSC, (2004), *Nature*, 432, 695-716.
2. Tinch A. E., (2001), *The poultry industry*, Eds.: Jordan F., Pattison M., Alexander D., Faragher T., 3-12, W.B. Saunders, London.
3. FAO, (2008), *Food Outlook. Global information and early warning system on food and agriculture*, 9.
4. FAOSTAT, <http://faostat.fao.org/>.
5. Gregory T.R., (2008), Animal Genome Size Database, <http://www.genomesize.com>.
6. Ladjali-Mohammed K., Bitgood J. J., Tixier-Boichard M., Ponce de Leon F. A., (1999), *Cytogenet. Cell Genet.*, 86, 271-276.
7. Hughes A. L., Piontkivska H., (2005), *BMC Evol. Biol.*, 5, 12.
8. Bloom S. E., (1981), *Poult. Sci.* 60, 1355-1361.
9. Masabanda J. S., Burt D. W., O'Brien P. C. M., Vignal A., Fillon V., Walsh P. S., Cox H., Tempest H. G., Smith J., Habermann F., Schmid M., Matsuda Y., Ferguson-Smith M. A., Crooijmans R. P. M. A., Groenen M. A. M., Griffin D. K., (2004), *Genetics*, 166, 1367-1373.
10. Groenen M. A. M., Cheng H. H., Bumstead N., Benkel B. F., Briles W. E., Burke T., Burt D. W., Crittenden L. B., Dodgson J., Hillel J., Lamont S., de Leon A. P., Soller M., Takahashi H., Vignal A., (2000), *Genome Res.*, 10, 137-147.
11. Groenen M. A., Wahlberg P., Foglio M., Cheng H. H., Megens H. J., Crooijmans R. P., Besnier F., Lathrop M., Muir W. M., Wong G. K., Gut I., Andersson L., (2009), *Genome Res.*, 19, 510-519.
12. Morisson M., Lemiere A., Bosc S., Galan M., Plisson-Petit F., Pinton P., Delcros C., Feve K., Pitel F., Fillon V., Yerle M., Vignal A., (2002), *Genet. Sel. Evol.*, 34, 521-533.
13. Morisson M., Denis M., Milan D., Klopp C., Leroux S., Bardes S., Pitel F., Vignoles F., Gêrus M., Fillon V., Douaud M., Vignal A., (2007), *Cytogenet. Genome Res.*, 117, 14-21.
14. Abdrakhmanov I., Lodygin D., Geroth P., Arakawa H., Law A., Plachy J., Korn B., Buerstedde J. M., (2000), *Genome Res.*, 10, 2061-2069.
15. Cogburn L. A., Wang X., Carre W., Rejto L., Porter T. E., Aggrey S. E., Simon J., (2003), *Poult. Sci.*, 82, 939-951.
16. Carré W., Wang X., Porter T. E., Nys Y., Tang J., Bernberg E., Morgan R., Burnside J., Aggrey S. E., Simon J., Cogburn L. A., (2006), *Physiol. Genomics*, 25, 514-524.
17. Hubbard S. J., Grafham D. V., Beattie K. J., Overton I. M., McLaren S. R., Croning M. D., Boardman P. E., Bonfield J. K., Burnside J., Davies R. M., Farrell E. R., Francis M. D., Griffiths-Jones S., Humphray S. J., Hyland C., Scott C. E., Tang H., Taylor R. G., Tickle C., Brown W. R., Birney E., Rogers J., Wilson S. A., (2005), *Genome Res.*, 15, 174-183.
18. ICPMC, (2004), *Nature*, 432, 717-722.
19. Dekkers J. C., (2004), *J. Anim. Sci.*, 82, 313-328.
20. Spelman R. J., Bovenhuis H., (1998), *Anim. Genet.*, 29, 77-84.
21. Hu Z. L., Fritz E. R., Reecy J. M., (2007), *Nucleic Acids Res.*, 35, 604-609.
22. Hocking P. M., (2005), *World Poult. Sci. J.*, 61, 215-226.
23. Abasht B., Dekkers J. C. M., Lamont S. J., (2006), *Poult. Sci.*, 85, 2079-2096.
24. Zhu M., Zhao S., (2007), *Int. J. Biol. Sci.*, 3, 420-427.
25. Kwon J. M., Goate A. M., (2000), *Alcohol Res. Health*, 24, 164-168.
26. Muir W. M., Wong G. K., Zhang Y., Wang J., Groenen M. A., Crooijmans R. P., Megens H. J., Zhang H., Okimoto R., Vereijken A., Jungerius A., Albers G. A., Lawley C. T., Delany M. E., McEachern S., Cheng H. H., (2008), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 105, 17312-17317.
27. US Poultry Genome Project, 2008 – [http://poultry.mph.msu.edu/](http://poultry.mph.msu.edu)
28. Berlin S., Ellegren H., (2004), *PNAS*, 101, 15967-15969.
29. Downing T., Lynn D. J., Connell S., Lloyd A. T., Bhuiyan A. K., Silva P., Naqvi A. N., Sanfo R., Sow R.-S., Podisi B., Hanotte O., O'Farrelly C., Bradley D. G., (2009), *BCM Evol. Biol.*, 9, 136.
30. The Gene Ontology Consortium, (2000), *Nat. Genet.*, 25, 25-29.
31. Neiman P. E., Ruddell A., Jasoni C., Loring G., Thomas S. J., Brandvold K. A., Lee R., Burnside J., Delrow J., (2001), *PNAS*, 98, 6378-6383.

32. van Hemert S., Ebbelaar B. H., Smits M. A., Rebel J. M., (2003), *Anim. Biotechnol.*, 14, 133-143.
33. Bliss T. W., Dohms J. E., Emará M. G., Keeler C. L., (2005), *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 105, 289-299.
34. Smith J., Speed D., Hocking P., Talbot R., Degen W., Schijns V., Glass E., Burt D., (2006), *BCM Genomics*, 7, 49.
35. Burnside J., Neiman P., Tang J., Basom R., Talbot R., Aronszajn M., Burt D., Delrow J., (2005), *BMC Genomics*, 6, 13.
36. Rubin C.-J., Lindberg J., Fitzsimmons C., Savolainen P., Jensen P., Lundeberg J., Andersson L., Kindmark A., (2007), *BCM Genomics*, 8, 208.
37. Ellegren H., Hultin-Rosenberg L., Brunström B., Dencker L., Kultima K., Scholz B., (2007), *BCM Biology*, 5, 40.
38. Elis S., Batellier F., Couty I., Balzergue S., Martin-Magniette M.-L., Monget P., Blesbois E., Govoroun M. S., (2008), *BCM Genomics*, 9, 110.
39. Li X., Chiang H., Zhu J., Dowd S. E., Zhou H., (2008), *BCM Genomics*, 9, 60.
40. Chiang H.-I., Swaggerty C. L., Kogut M. H., Dowd S. E., Li X., Pevzner I. Y., Zhou H., (2008), *BCM Genomics*, 9, 526.
41. Sarson A. J., Wang Y., Kang Z., Dowd S. E., Lu Y., Yu H., Han Y., Zhou H., Gong J., (2009), *BCM Genomics*, 10, 260.
42. Schokker D., Hoekman A. J. W., Smits M. A., Rebel J. M. J., (2009), *Dev. Comp. Immunol.*, 33, 1156-1164.
43. Wang H.-B., Li H., Wang Q.-G., Zhang X.-Y., Wang S.-Z., Wang Y.-X., Wang X.-P., (2007), *BMC Genomics*, 8, 193.