

## Sluttrapport prosjekt 172636

---

---

# Innholdsfortegnelse

<b>Prosjektnummer 172636. Prosjekttittel: Salmon louse vaccine - identification and evaluation of novel antigens</b> .....	<b>1</b>
Rapport .....	1
1. Resultatrapport .....	11
1. Publiseringsdata .....	15

## SLUTTRAPPORT

**Prosjektnummer:** 172636

**Prosjekttittel:** Salmon louse vaccine - identification and evaluation of novel antigens

**Prosjektleder:** Nilsen, Frank

**Aktivitet / Program:** HAVBRUKS

**Prosjektansvarlig:** Havforskningsinstituttet

1. **Framdriftsrapport:** Ajourfør framdriftsrapport fram til prosjektslutt. Utført
2. **Sluttregnskap:** Gi et sammendrag av økonomien i prosjektet. Utført
3. **Resultatrapport:** Legg ved resultatrapport Utført
4. **Andre resultater:** Gi opplysninger om andre resultater. Utført
5. **Særskilt rapportering:** Dersom det foreligger krav om særskilt rapportering, skal dette utføres. Ikke aktuelt

### Sluttregnskap

#### Faktiske utgifter (i NOK 1000)

Konto	2006	2007	2008	2009	Totalsum
6050	2731	2825	2756	2264	10576
6051		31			31
6052	136	59			195
6053	404	514	1353	1639	3910
Sum	3271	3429	4109	3903	14712

#### Kontobeskrivelser:

6050 = Personal- og indirekte kostnader

6051 = Innkjøp av FoU-tjenester

6052 = Utstyr

6053 = Andre driftskostnader

#### Faktisk kostnadssted (i NOK 1000)

Konto	2006	2007	2008	2009	Totalsum
6061					0
6062	3271	3429	4109	3903	14712
6063					0

6064					0
6065					0
Sum	3271	3429	4109	3903	14712

**Kontobeskrivelser:**

6061 = Næringsliv  
6062 = Instituttsektor  
6063 = UoH-sektor  
6064 = Andre sektorer  
6065 = Utlandet

**Faktisk finansiering (i NOK 1000)**

Konto	2006	2007	2008	2009	Totalsum
8911	1558	662	1398	1900	5518
8930	850	850	850		2550
8913			245		245
8914					0
NFR	2000	2200	1466	488	6154
Avvik	1137	283	-150	-1515	-245
Sum	3271	3429	4109	3903	14712

**Kontobeskrivelser:**

8911 = Egne midler  
8930 = Internasjonale midler  
8913 = Andre offentlige midler  
8914 = Andre private midler  
NFR = Norges forskningsråd

**Kommentar**

1. Gi et sammendrag av økonomien i prosjektet.

Utført

**Resultatrapport**

**Gi et populærvitenskapelig sammendrag av resultatene**

**Originalfil:** Sluttrap\_2010.pdf

**Filreferanse:** Resultat\_rapport109214.pdf

2. Legg ved resultatrapport

Utført

**Andre resultater**

**Gi opplysninger om andre resultater (Arrangement, Medieoppslag, Foretak).**

3. Gi opplysninger om andre resultater.

Utført

**Særskilt rapportering**

**Alternativ 1:**

**Alternativ 2:**

**Originalfil:**

**Filreferanse:**

4. Dersom det foreligger krav om særskilt rapportering, skal dette utføres.

Ikke  
aktuelt

## SLUTTRAPPORT

**Prosjektnummer:** 172636

**Prosjekttittel:** Salmon louse vaccine - identification and evaluation of novel antigens

**Prosjektleder:** Nilsen, Frank

**Aktivitet / Program:** HAVBRUKS

**Prosjektansvarlig:** Havforskningsinstituttet

**Rapporteringsperiode:** 20091001 - 20091231

1. **Mål:** Er det rapporteringspliktige avvik i de avtalte mål? Ja
2. **Framdrift:** Er det rapporteringspliktige avvik i faglig framdrift i forhold til avtalte milepæler, prosjektbeskrivelsen eller i forhold til stipendenes tilsetting/framdrift? Nei
3. **Økonomi:** Er det rapporteringspliktige avvik mellom budsjett og forbruk (jfr. kostnadsplanen)? Nei
4. **Økonomi:** Er det rapporteringspliktige avvik i finansieringsplanen? Nei
5. **Partnere:** Er det rapporteringspliktige avvik i den avtalte konsortiesammensetningen? Nei
6. **Andre avvik:** Er det andre vesentlige avvik i forhold til det som er avtalt i kontrakten (særlig art. 8)? Nei
7. **Stipend:** Opplysninger om alle stipend må være fullstendige og korrekte. Har du oppdatert månedsverk og andre opplysninger for hver stipendiat? Ja

- Resultat - Sammendrag:** Det skal gis et populærvitenskapelig
8. sammendrag av resultater som er framkommet i prosjektet i rapporteringsperioden. Er dette gjort? Ja
9. **Resultatindikatorer:** Alle resultatdata som er framkommet i prosjektet skal rapporteres. Er rapportering foretatt? Ja
10. **Publiseringsinformasjon:** Er opplysninger om publisering gitt? Ja
11. **Internasjonalt:** Omfanget av internasjonalt samarbeid skal angis. Har det vært slikt samarbeid i rapporteringsperioden? Nei
- Særskilt rapportering:** Dersom det foreligger krav om særskilt
12. rapportering i egen melding skal dette utføres. Er særskilt rapportering utført? Nei

## Mål

### Prosjektets hovedmål og delmål

Principal objective: Identification, characterisation and evaluation of novel vaccine antigens in *L. salmonis* Sub goals: 1. Full length cloning and characterisation of the Ecdysteroid reseptor(s) homologue in salmon louse. 2. Extend our current *L. salmonis* microarray by 5,000 new EST-based probes 3. Microarray analysis to identify genes that encode proteins involved in molting, and female maturation in salmon louse (EcR controlled processes). 4. Utilise RNAi in gene silencing as an initial screening of vaccine candidates. 5. Evaluation of promising vaccine candidates in the existing challenge model in Atlantic salmon (maximum two clinical experiments).

### Prosjektets hovedmål og delmål - Justert

Principal objective:

Identification, characterisation and evaluation of novel vaccine antigens in *L. salmonis*

Sub goals:

1. Full length cloning and characterisation of the Ecdysteroid reseptor(s) homologue in salmon louse.
2. Extend our current *L. salmonis* microarray by 5,000 new EST-based probes
3. Microarray analysis to identify genes that encode proteins involved in molting, and female maturation in salmon louse (EcR controlled processes).
4. Utilise RNAi in gene silencing as an initial screening of vaccine candidates.
5. Evaluation of promising vaccine candidates in the existing challenge model in Atlantic salmon (maximum two clinical experiments).

1. Er det rapporteringspliktige avvik i de avtalte mål? Ja

### Kommentar

We have not been able to achieve sub-goal 1 to clone the ecdysteroid receptor (EcR) in the salmon louse. Ecdysteroid signaling is typically mediated through a heterodimeric receptor consisting of EcR and an RXR nuclear receptor. We have cloned and characterised the RXR part of this duplex but many different cloning approaches for the EcR has so far not been successful. This has been reported earlier and we decided to use the RXR partner as starting point for the remaining experiments and our results points towards the involvement of the RXR receptor in a similar fashion as we would expect for EcR. The current genome sequencing of the salmon louse genome will reveal whether *L. salmonis* has a "standard" EcR or not.

### Framdrift

## Prosjektperiode

Fra dato (ååååmmdd): 20060101 Til dato (ååååmmdd): 20091231

## Hovedaktiviteter og milepæler i prosjektperioden (år og kvartal)

	Fra		Til	
Production of new cDNA libraries	2006	1	2006	4
Publications/reports	2006	1	2008	4
Clone picking and plasmid preps	2006	2	2006	4
Probepreparation new microarray	2006	3	2007	1
EST-sequencing	2006	3	2007	4
RNAi on candidate genes	2006	3	2008	3
Immunisation trial - EcR	2007	1	2007	4
Microarray tests/analysis	2007	1	2008	2
Immunisation trials - other candidate genes	2008	1	2008	4

2. Er det rapporteringspliktige avvik i faglig framdrift i forhold til avtalte milepæler, prosjektbeskrivelsen eller i forhold til stipendenes tilsetning/framdrift? Nei

## Kommentar

## Økonomi

### Finansieringsplan (i 1000 kr)

Konto	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	Totalsum
8911	1000	1000	1000						3000
8930									0
8913									0
8914									0
NFR	2000	2200	1466	733					6399
Sum	3000	3200	2466	733	0	0	0	0	9399

### Kontobeskrivelser:

6050 = Personal- og indirekte kostnader  
 6051 = Innkjøp av FoU-tjenester  
 6052 = Utstyr  
 6053 = Andre driftskostnader

8911 = Egne midler  
 8930 = Internasjonale midler  
 8913 = Andre offentlige midler  
 8914 = Andre private midler  
 NFR = Norges forskningsråd

3. Er det rapporteringspliktige avvik mellom budsjett og forbruk (jfr. kostnadsplanen) Nei  
 4. Er det rapporteringspliktige avvik i finansieringsplanen? Nei

## Kommentar

## Partnere

## Samarbeidspartnere på institusjons-/bedriftsnivå med konsortieavtale

### Andre samarbeidspartnere på institusjons-/bedriftsnivå

### Andre samarbeidspartnere på personnivå

5. Er det rapporteringspliktige avvik i den avtalte konsortiesammensetningen? Nei

#### Kommentar

### Andre avvik

6. Er det andre vesentlige avvik i forhold til det som er avtalt i kontrakten (særlig art. 8)? Nei

#### Kommentar

## Stipend

### Stipender finansiert av prosjektet

Stipendtype	Navn	Periode start - slutt	Status	Ak. grad	Kjønn
Postdoc	Christiane Moros	20060401 - 20080331	Uendret	Ph.D.	Kvinne

Fødselsnr	Gj.føringsland	Arbeidsland	2006	2007	2008
290867*****	Norge	Norge	9	12	3

Stipendtype	Navn	Periode start - slutt	Status	Ak. grad	Kjønn
Postdoc	Rasmus Skern	20060401 - 20080331	Uendret	Dr. scient.	Mann

Fødselsnr	Gj.føringsland	Arbeidsland	2006	2007	2008
310871*****	Norge	Norge	9	12	3

7. Opplysninger om alle stipend må være fullstendige og korrekte. Har du oppdatert månedsverk og andre opplysninger for hver stipendiat? Ja

### Resultat - sammendrag

8. Det skal gis et populærvitenskapelig sammendrag av resultater som er framkommet i prosjektet i rapporteringsperioden. Er dette gjort? Ja

### Populærvitenskapelig framstilling



I dette prosjektet er ein ny hormonreseptor (LsRXR1) identifisert i lakselus. Reseptoren syner likskap med reseptorar som er med på å meidiere signaler frå ecdysteroider i andre leddyr. For å studere funksjonen LsRXR1 har i lakselushoer nytta med RNAi til å skru av funksjonen i vaksne holus. RNAi forsøka synte av når ein slår ut LsRXR1 blir eggproduksjonen påverka og talet på egg og larver som vert produsert redusert med over 90 %, og larver som klekkar er ikkje levedyktige. Det er første gang dette er vist i copepodar. Hormonreseptorar som LsRXR1 er med på å styre genaktivitet ved at gen enten vert slått på eller av. For å sjå kva for effekt RNAi på LsRXR1 har nytta me ei nyutvikla lakselusmikromatrise med omlag 11000 ulike lakselusgener. Resultata frå mikromatrise forsøket synte at mange gene er styrt av LsRXR1 enten direkte eller indirekte. Hovudfunnet er at fleire sentrale gen knytt til eggproduksjon vert slått av medan gen som har med vekst å gjere vart aktivert. Det ser faktisk ut til at lakselushoene trur dei skal vekse meir og ikkje produsere komponentar som skal inngå i egg.

Den store utfordringa i å utvikle vaksiner mot ektoparasittar er å finne vaksinemål som effektivt stoppar livssyklusen til parasitten. Å gjere dette ved å gjere klinikse vaksineforsøk (forsøk der fisk vert vaksinert og smitta på normal måte) er særstidkrevjande. I dette prosjektet har me rafinert RNAi i lakselus. RNAi er ein metode der ein kan skru av/ned effekten til eit gen og effekten av dette vil gi ein peikepinne på om genproduktet er brukbart i ei vaksine. Dersom ein ikkje har effekt ved RNAi er det liten sjans for at ei vaksine retta mot same mål vil gi effekt. Omlag 10 vaksinemål er testa på denne måten i dette prosjektet. Saman med arbeid med forbetringar av smittemodell med lakselus vil det i framtida vera mulig å setje opp eit system der mange vaksinemål kan testast ved hjelp av RNAi. I tillegg vil smittemodellen gjere at langt fleire vaksinemål kan testast ut klinisk enn før.

## Resultatindikatorer

Resultater	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Akkumulert hittil
------------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	-------------------

### Vitenskapelige/faglige publikasjoner

Publiserte artikler i vitenskapelige tidskrift m/referee

		1		3							4
--	--	---	--	---	--	--	--	--	--	--	---

Publiserte foredrag fra internasjonale møter/konferanser

		3	2	4							9
--	--	---	---	---	--	--	--	--	--	--	---

Øvrige rapporter, foredrag og presentasjoner fra faglige møter

		2	2	4							8
--	--	---	---	---	--	--	--	--	--	--	---

### Resultatformidling

Formidlingstiltak rettet mot relevante målgrupper

			2	1							3
--	--	--	---	---	--	--	--	--	--	--	---

Allmennrettede formidlingstiltak (populærvitenskapelige artikler, høringer, utstillinger etc.)

			2	4							6
--	--	--	---	---	--	--	--	--	--	--	---

Oppslag i massemedia

			2	1							3
--	--	--	---	---	--	--	--	--	--	--	---

## FoU-resultater

Ferdigstilte nye/forbedrede metoder/modeller/prototyper

			1								1
--	--	--	---	--	--	--	--	--	--	--	---

## Kommersielle resultater med bidrag fra prosjektet

### Ny virksomhet

### Innføring av teknologi

### Doktorgrader

9. Alle resultatdata som er framkommet i prosjektet skal rapporteres. Er rapportering foretatt? Ja

## Publiseringsinformasjon

Gi opplysninger om vitenskapelige utgivelser, annen publisering og foredrag enten ved å velge "Type" eller ved å laste opp en liste under "Liste over publiseringsinformasjon".

Type		
Artikkel		
Forfatter(e)	Arbeidets tittel	Bok/ artikkelsamling /tidsskrift
Skern-Mauritzen, R. et al	Molecular characterization and classification of a clip domain containing peptidase from the	
Sidenr	Nr./Bind/År	ISSN/ISBN
289-298	146(2) 2007	

Type		
Foredrag		
Forfatter(e)	Arbeidets tittel	Bok/ artikkelsamling /tidsskrift
Skern, R et al.	Har lakselusen en akilleshæl? - På jakt etter skjulte antigener med mikromatrise og RNA interferens	
Sted		
Tromsø, Norway, January 23 ?January 25		

Type		
Foredrag		
Forfatter(e)	Arbeidets tittel	Bok/ artikkelsamling /tidsskrift
Skern, R. et al.	Searching for concealed salmon louse antigens using microarrays and RNAi.	
Sted		
Heidelberg, Germany, 23 February 23 ? February 25.		

Type		
Foredrag		
Forfatter(e)	Arbeidets tittel	Bok/ artikkelsamling /tidsskrift
Skern-Mauritzen et al	Development or digestion?	
Sted		
10 ICOC, Phuket Thailand		

Type		
Foredrag		
Forfatter(e)	Arbeidets tittel	Bok/ artikkelsamling /tidsskrift
Skern-Mauritzen et al	Interessante aspekter ved Lakselusens reproduktion	
Sted		
Havbrukskonferansen 2008, Tromsø		

Type		
Foredrag		
Forfatter(e)	Arbeidets tittel	Bok/ artikkelsamling /tidsskrift
Skern-Mauritzen,R. et al	A salmon louse protease with unusual characteristics	

Sted

Sorrento, Italy,  
October 28 -  
November 1

**Liste over publiseringsinformasjon**

**Originalfil:** Publikasjonar\_sluttrap.pdf

**Filreferanse:** PUBLISERINGER\_Framdriftsrapport109214.pdf

12. Er opplysninger om publisering gitt? Ja

**Internasjonalt samarbeid**

**Internasjonalt samarbeid finansiert av prosjektet (i NOK 1000)**

**Beløp i NOK 1000**

Land	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

10. Omfanget av internasjonalt samarbeid skal angis. Har det vært slikt samarbeid i rapporteringsperioden? Nei

**Særskilt rapportering**

**Alternativ 1:**

**Alternativ 2:**

**Originalfil:**

**Filreferanse:**

11. Dersom det foreligger krav om særskilt rapportering i egen melding skal dette utføres. Er særskilt rapportering utført? Ikke aktuelt

## **Final report:**

### **172636 - Salmon louse vaccine - identification and evaluation of novel antigens**

#### **Background**

The idea behind the present project was to study targets that are under ecdysteroid (E20) regulation in female salmon louse and see if any of these could be utilised as targets in an experimental salmon louse vaccine. In addition, knowledge about E20 function in the salmon louse would increase our understanding how egg production and other key biological processes might be regulated in the salmon louse and in copepods in general.

Ecdysteroid signalling is typically mediated through a heterodimeric nuclear receptor complex that acts through binding to the promoter of target genes which then is up or down regulated. To study this system we used functional genomic tools (microarray, RNAi) that we have established previously and further extend them in the present project by producing more ESTs from several new cDNA libraries.

Some of the results from the present project have been published (see enclosed list of publications) and at least two more articles will be published in the near future.

#### **Principal objective:**

Identification, characterisation and evaluation of novel vaccine antigens in *L. salmonis*

#### **Sub goals:**

1. Full length cloning and characterisation of the Ecdysteroid receptor(s) homologue in salmon louse.
2. Extend our current *L. salmonis* microarray by 5,000 new EST-based probes
3. Microarray analysis to identify genes that encode proteins involved in molting, and female maturation in salmon louse (EcR controlled processes).
4. Utilise RNAi in gene silencing as an initial screening of vaccine candidates.
5. Evaluation of promising vaccine candidates in the existing challenge model in Atlantic salmon (maximum two clinical experiments).

## **MAIN RESULTS**

### **1. Identification of the nuclear hormone receptor LsRXR1**

The project has been divided into several sub tasks and with the exception of sub goal 1 (see above) all have been successful. We have not been able to clone the EcR from *L. salmonis* or identified an EcR-like sequence in any of cDNA libraries prepared for EST-sequencing. However, a putative partner for the ecdysteroid signalling complex has been characterised,

the LsRXR1. The LsRXR1 is a nuclear receptor resembling ultraspiracle (USP) from insects. The insect USP is a partner together with EcR to mediate ecdysteroid signalling in a large number of arthropod species. The LsRXR1 exist as 5 different transcripts made by differential transcription start. LsRXR1 is transcribed in the ovary and transcripts are present in the ovary, developing oocytes in the oviduct and oocytes/ova in the genital segment. In order to study the function of LsRXR1 in adult female lice RNAi was performed. Silencing LsRXR1 had a large effect on development of salmon louse embryos and larvae (see Fig 1) clearly showing the crucial role this putative hormone receptor plays in the reproduction of female lice.

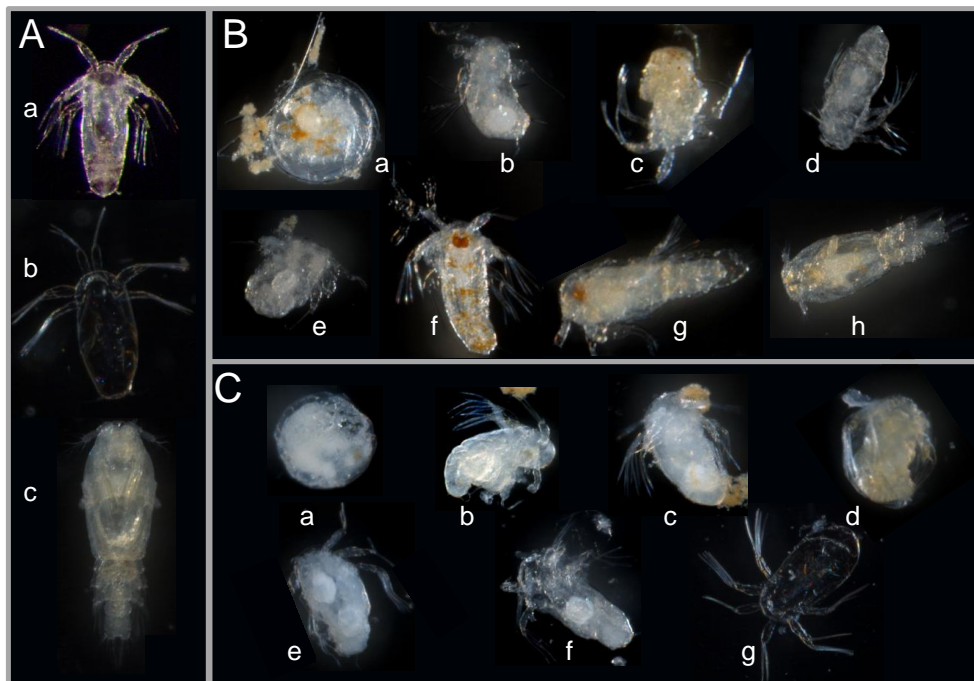


Figure 1. Phenotype of salmon lice offsprings as found in RNAi LsRXR1 experiment. In the control group (A) normal developed nauplia II (a) and copepodites (c) are found. At day 9 the exuviae from naupliaII (b) are found in large amounts. In the RNAi fragment 1 (B) and fragment 2 (C) groups development is disrupted. Either hatching is disturbed (B, C: a) or nauplia are deformed (B, C b-f). Also nauplia stuck in their development to copepodites (B: g) are found. In some cases normal looking copepodites (B: h) or exuvia (C: g) could be discovered.

## 2 EST-sequencing and the second generation salmon louse microarray

The goal was to extend our first generation *L. salmonis* microarray with 5000 new EST-based probes. A rapid development in technology made us to extend our goals and we generated about 29000 new salmon louse ESTs from a range of cDNA libraries (see Table 1). Analysis of the ESTs gave about 11000 different transcripts and at least 40% of these have no significant hit in sequence databases indicating the uniqueness of the salmon louse transcriptome. The salmon louse microarray was constructed by printing in average 4 short oligonucleotides from each of the 11000 different transcripts, 44000 altogether. This microarray was used compare adult female lice where the LsRXR1 was silenced through

RNAi to “normal” female lice (i.e. lice injected by double stranded for a cod gene). This comparison was done in order to investigate the significance the LsRXR1 has on transcription in adult female salmon louse. A large numbers of genes were differential regulated (up and down regulated) as a result of silencing the LsRXR1 pointing to the crucial role this gene plays in female reproduction. A global effect seems to be that lice where LsRXR1 is silenced “believes” that they should continue to grow and not reproduce. The down regulation of three key egg yolk proteins underlines this view.

Table 1. Summarize the EST-sequences from the salmon louse used to construct the 2<sup>nd</sup> generation lice microarray. Some of the sequences (\*) was generated in other project but the numbers are included here to show the diversity of library used for construction of the microarray.

<b>Library</b>	<b>Tissue/stages</b>	<b>N ESTs</b>
Female total (FN)	Adult female lice	4612*
Female intestine (FN)	Adult female intestine	938*
LF	Lice in filament	1844
LNO	Mixed stages normalized	18446
LIT	adult female T1	1549
LPA/LPU	pre adult I&II (male+female)	1536
NA_CC	naupli & copepodids	583*
NLG	embryo normalized	3500
PU	preadult female	779*
HA	adult male	784*
LNC	Copepodids normalized	3248
Male-female	subtracted female-male	161*
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>37980</b>

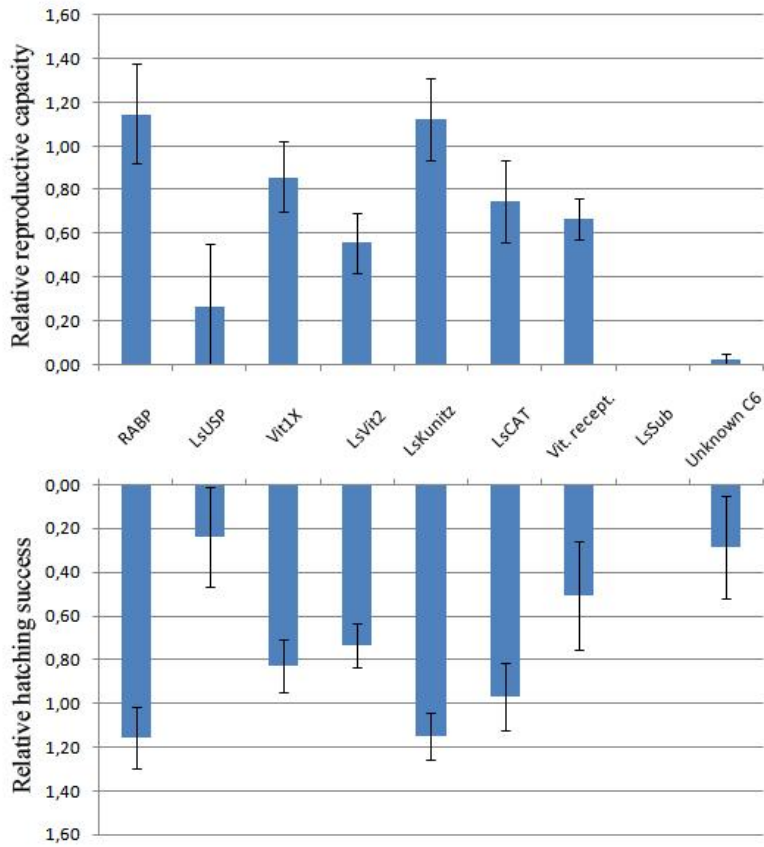
### 3 RNAi as a tool for evaluating vaccine targets

Systemic gene silencing can be achieved in the salmon louse by injecting double stranded RNA (dsRNA) into the lice. In this way it is possible to obtain phenotypes that can give information about the biological function to the gene in question. In addition, it is also possible to use RNAi to evaluate a gene product as vaccine target. If the silencing of a particular gene results in reduced fitness or reduced reproduction it may be a useful vaccine target. This approach has been used in the present study to evaluate several salmon louse genes as possible vaccine candidates. RNAi experiments have been conducted for 9 different *L. salmonis* genes (see Figure 2) and some of these shows phenotypes making them interesting as vaccine candidates. Together with new achievements in salmon louse experimental systems (see below) it is now possible to build a system that can be used to a large scale system for vaccine target evaluation.

### 4 Clinical experiments with trial vaccines

Previous vaccine experiments using proteins extracted directly from female salmon louse showed a 75% reduction of female lice (unpublished data). These experiments which proved the concept (previous Research Council project) were an important motivation for the present project to see if similar results could be obtained in experiments using recombinant antigens. We selected a vaccine candidate (*L. salmonis* yolk associated protein, LsYAP) showing strong phenotypes in RNAi which is one of the genes being strongly down regulated after LsRXR1 RNAi. Recombinant protein was made using an insect expression system and trial

vaccine were made and formulated in commercial adjuvant and as a control BSA was used in the same formulation. By using recombinant antigens it was also possible to increase the number of vaccine doses in order to run more parallels in the experiment. However, we did not get a consistent reduction of lice number on vaccinated fish although single tanks with vaccinated fish showed large lice reduction.



**Figure 2. Relative reproductive capacity and Relative hatching success for all genes surveyed from 2006 to 2009. Reproductive capacity (RC) is calculated as the number of copepodids produced by an adult female. Hatching success (HS) is calculated as the proportion of eggs (estimated from average egg width and the length of the eggstring) that develops into copepodids. The relative RC and HS is the RC and HS in the experimental group relative to that in the group injected with the cod trypsin dsRNA fragment. For RABP, LsUSP, Vit1X, LsVit2, LsKunitz and LsCat the values are the average from two groups injected with non overlapping dsRNA fragments (conclusions from both fragments were similar in all instances). Bars indicate CI.**

During these experiments it became clear that large tank variation between tanks of fish receiving the same treatment occurred. This is likely related to transfer of lice between fish (lice jumping) resulting in highly variable lice loss in tanks. Since the fish used are vaccinated prior to smoltification they are relatively small when they are infected with lice (less than 80-90 g) and small fish seems to be particularly prone to random lice loss in small tanks. The random lice issue needed to be solved to avoid that potential efficient vaccine targets are discharged due to inaccuracy in the test system. We solved the problem by developing a novel tank and test system. This system is based on small tanks with one fish/tank where the outlet water could be filtered. The experience with this system so far is that the majority (~80%) of lice falling off the fish will be collected in the filter and the status of the lice can be evaluated (dead/live etc). The variance in the system can be measured accurately and it is then possible to calculate the number of tanks needed to detect a give difference. This system will increase the accuracy in screening for vaccine targets and also enable a higher number of test vaccines to be tested in clinical trials.



## Publikasjonar Sluttrapport

### Artikkel

1. Skern-Mauritzen, R., Frost, P., Dalvin, D., Kvamme BO, Sommerset, I and Nilsen F (2009) A trypsin-like protease with apparent dual function in early *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer). BMC Molecular Biology 10: 44
2. Dalvin, S., Frost, P. Biering, E., Hamre, L., Eichner, C., Krossøy, B. and Nilsen, F. (2009) Functional characterisation of the maternal yolk-associated protein (LsYAP) utilising systemic RNA interference in the salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) (Crustacea: Copepoda). International Journal for Parasitology, 39: 1407-1413
3. Hamre, L., Glover, K. & Nilsen, F. (2009) Establishment and characterisation of salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) laboratory strains. Parasitology International doi:10.1016/j.parint.2009.08.009
4. Dalvin, S., Frost, P., Skern-Mauritzen, R., Rønnestad, I. & Nilsen, F. (in prep). Molecular characterization of two vitellogenins in the salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*): Functional and evolutionary analysis.
5. Eichner, C., Skern-Mauritzen, R., Dalvin, S. & Nilsen F (in prep). LsRXR1 – a novel nuclear hormone receptor from the salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) which regulates growth and reproduction.

### Bok/artikkel i bok/rapport

1. Nilsen, F. (2009). Vaksine mot lakselus – har me råd til å la være? Norsk Fiskoppdrett 6: 53-55
2. Nilsen, F. (2009). Lakselusvaksine – korleis finne gode antigen? Norsk Fiskoppdrett 6: 55-56
3. Nilsen, F. (2009). Parasitt til besvær for næring og nature. Naturen 133: 179-187.
4. Nilsen F (2010). Vaksine mot lakselus– kva vil det koste, og kor lang tid vil det ta? Norsk Sjømat 1-2010, s4-5.

### Foredrag

1. Eichner, C. (2009). The Norwegian salmon louse microarrays. Experience from cDNA and Oligo arrays. International summit on molecular studies of the salmon louse. Halifax, Canada, May 5th -6th.
2. Dalwin, S. (2009). Synchronicity is an illusion! Sampling salmon lice parallels. International summit on molecular studies of the salmon louse. Halifax, Canada, May 5th -6th.
3. Skern-Mauritzen R. (2008) Molecular approaches to identification - applications and considerations. Bilateral Workshop on Seafood Safety. Bergen, Norway, August 25-28.
4. Skern-Mauritzen R. (2009) Knock down analysis by RNAi. Uses and experiences. International summit on molecular studies of the salmon louse. Halifax, Canada, May 5th -6th.

5. Skern-Mauritzen R., Karin Boxaspen, Lars Asplin, Frode Oppedal, Janniche Vigen, Sussie Dalvin, Christiane Eichner, Lars A. Hamre, Frank Nilsen, Lina Ljungfeldt, Heidi Kongshaug, Per Gunnar Espedal (2009) Salmon lice - do the wild atlantic salmon need to be the victim? Aqanor. Trondheim, Norway, August 18th - 21st.
6. Rasmus Skern-Mauritzen, Frank Nilsen, Sussie Dalvin, Christiane Eichner, Lars Hamre, Petter Frost (2009). Lakselusvaccine - Status og vejen videre. Lofotenseminaret. Svolvær, Norway, June 17th and 18th.