

Alternative metoder for produksjon av steril fisk

Nofima: Helge Tveiten, Jacob Torgersen, Hanne Johnsen, Adrijana Skugor, Krasimir Slanchev, Øivind Andersen

Aqua Gen: Nina Santi

Vaxxinoa: Bjørn Krossøy

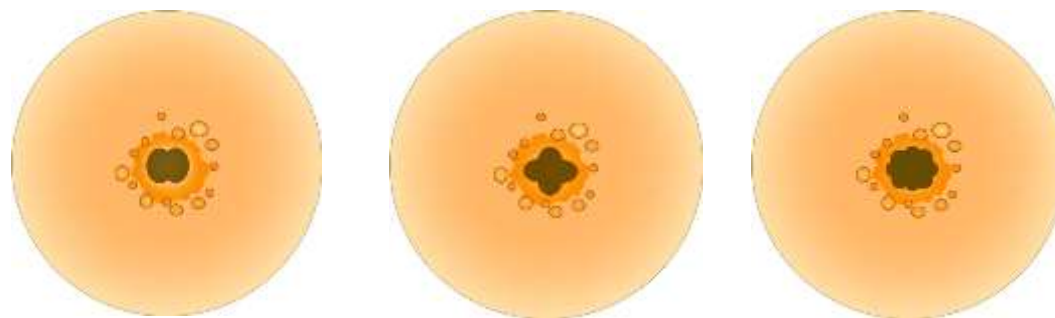
Hvorfor steril fisk?

- Rømming
 - Steril laks kan ikke påvirke genetikken til villaksen
- Tidlig kjønnsmodning
 - Vs. redusert generasjonsintervall
 - Viktig ved evt landbasert produksjon av laks
- Beskyttelse av genetikken til avlsselskapene
 - Særlig viktig ved eksport til nye markeder





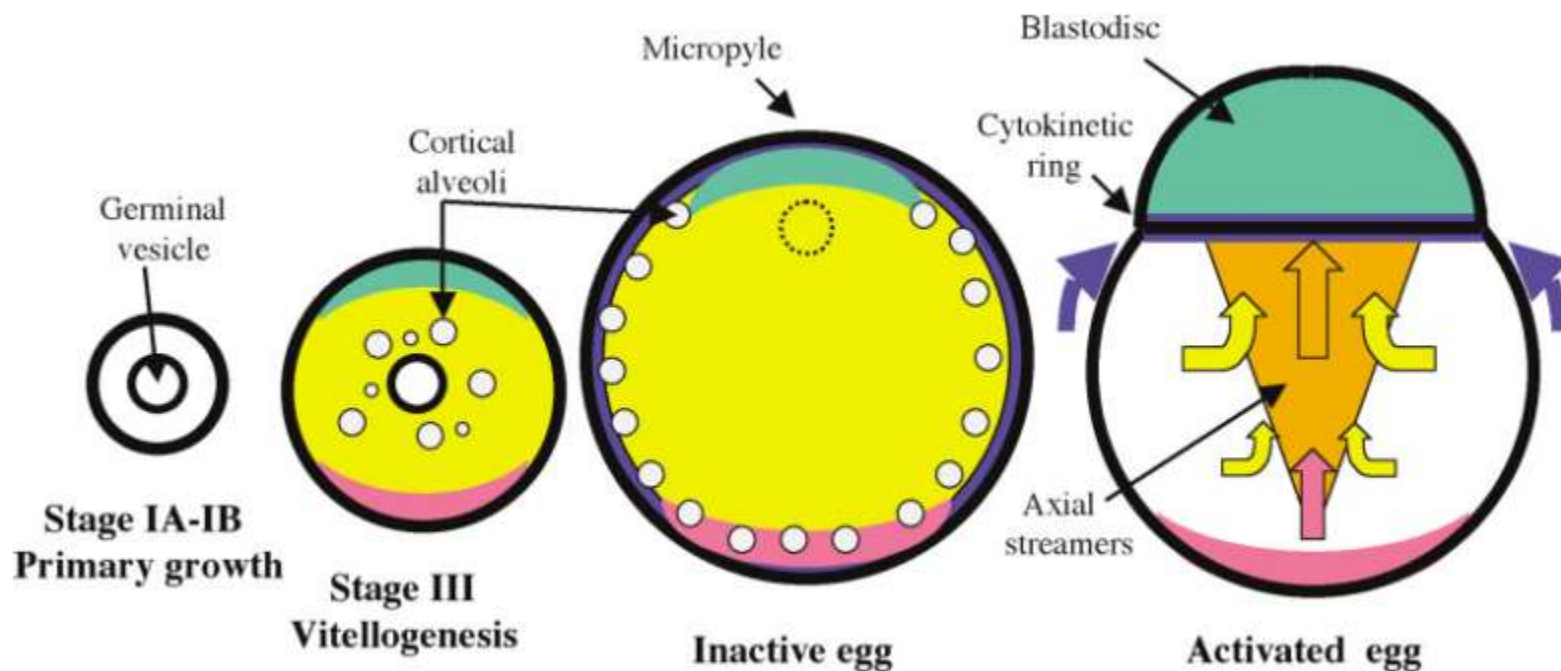
Lakserogn, 24 timer etter befruktning



2-celle

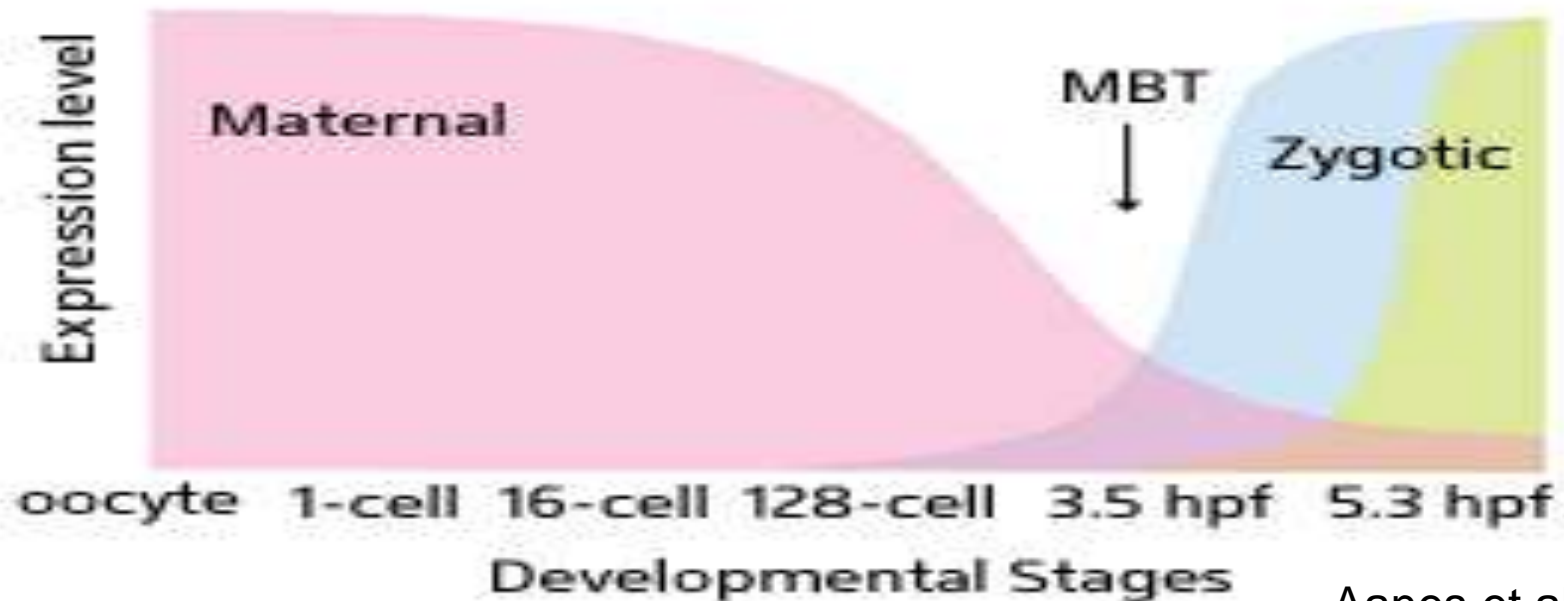
4-celle

8-celle



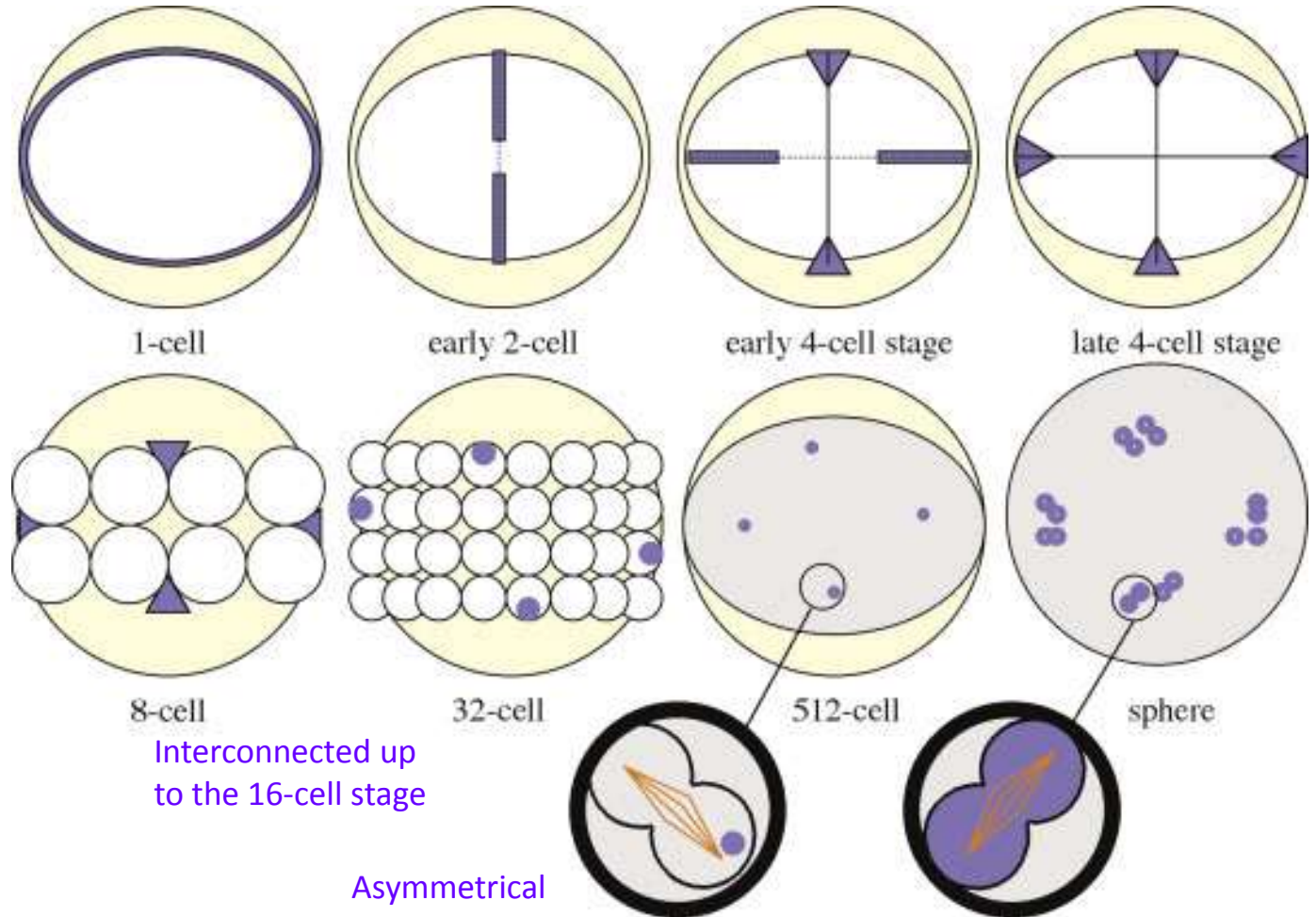
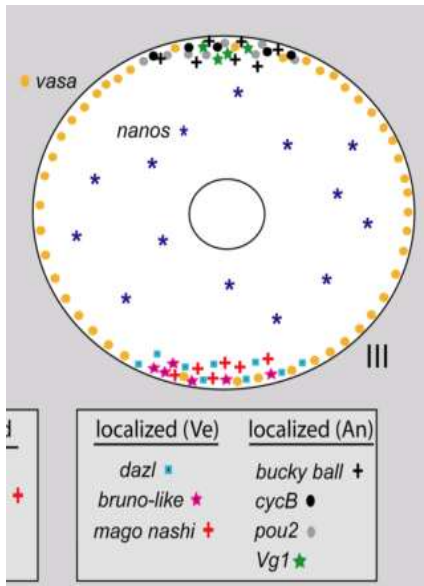
Maternal-zygotic transition - zebrafish

Classical Expression pattern:
Maternal & zygotic transcripts



Faktorer fra mor styrer kjønnscelledifferensieringen

Germ plasm localization/vasa expression during PGC specification in zebrafish



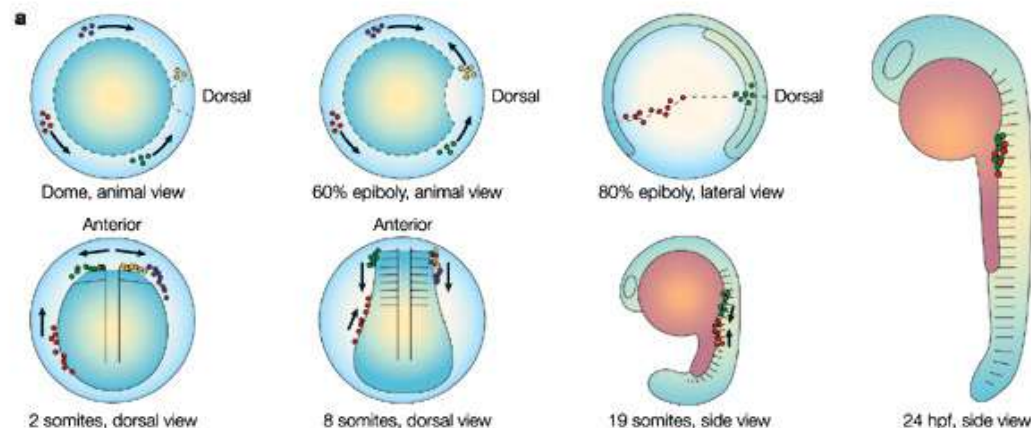
Zebrafisk – akvatiske laboratoriemus

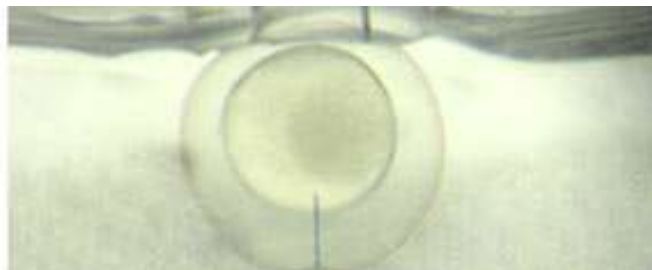
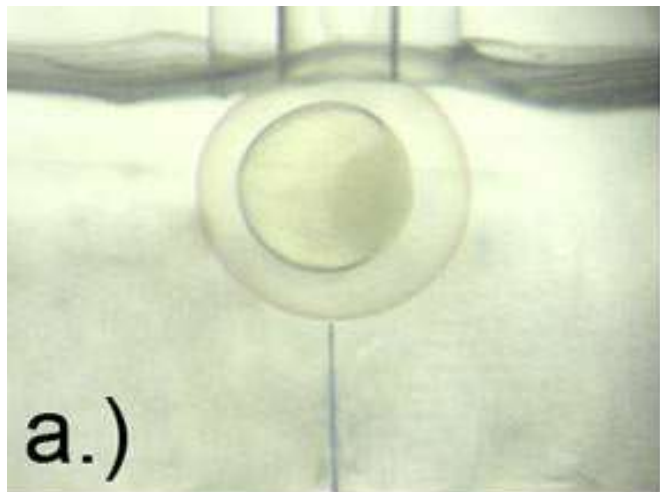
Kan kunnskapen overføres til laks?

- På zebrafisk er det vist at kimcellene, som er til stede rett etter befruktning og som er grunnlaget for gonadene, kan påvirkes → steril fisk.
- Flere sentrale faktorer kartlagt: *dead end*, *vasa*, *nanos3*, *cxcr4b*, *ziwi*, *zili*
- Nofima: Pågående prosjekt på torsk
- Nofima/Aqua Gen/Vaxxinova: prosjekt på laks.
 - Mål: utvikle en vaksine som brukes på stamfisk.

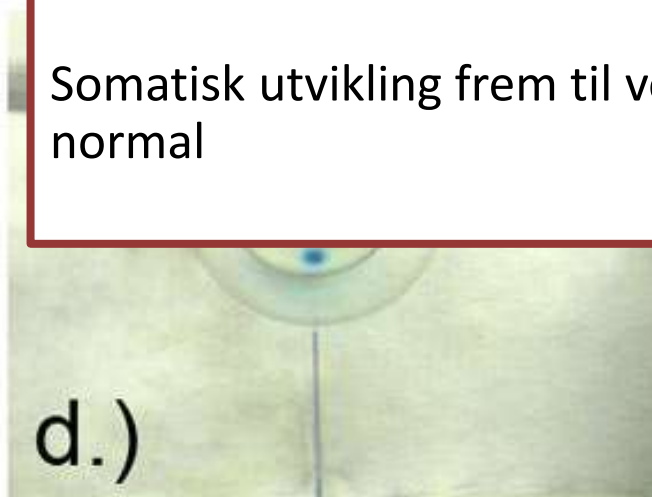
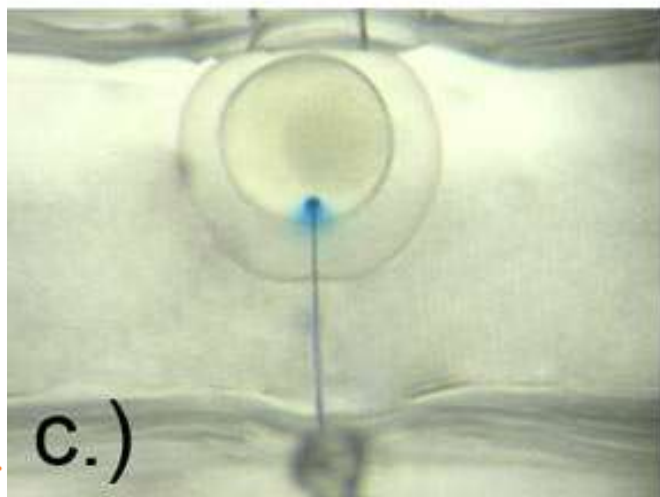


Raz 2003





Inhibert syntese (antisense MO) av **ett** protein involvert i PGC migrering hos zebrafisk resulterte i en **steril fisk**



Somatisk utvikling frem til voksen fisk var helt normal

<http://mech.mcmaster.ca/images/news/tech-zebrafish-injection.jpg>

Vaksinering mot kjønnsmodning?

- Immunoglobuliner overføres fra maternal sirkulasjon til oocyt/egg hos mange arter fisk, inkludert laks
- Mengden antistoff er høyest i perioden rundt befruktning (0-20 dager etter) – perioden for dannelse av gametenes forløpere (PGCs)

Metode

- Blokkere biologisk funksjon til proteiner nødvendige i dannelsen/migrering av PGCs ved å stimulere produksjon av spesifikke antistoff som overføres til egget

Resultat

- **Steril fisk**

Vaksinering mot kjønnsmodning?



Global Number of Pigs Vaccinated with IMPROVAC* 0 0 1 7 0 8 7 8 1 5

IMPROVAC[®] is a reliable and highly effective vaccine that uses the pig's own immune system against boar taint. It is safe for pigs and safe for pork consumers.



Why control boar taint? the pork industry. Although disliked by many consumers in the supply chain.

People vary in their sensitivity to taint, described as having an off-flavor reminiscent of perspiration, onions or fat.

Physical castration is the most common method to control taint: over 95% of male pigs are castrated.

Contrary to popular belief, physical castration is not 100% effective. Studies show that up to 3% of castrated pigs still show detectable taint levels at sensory evaluation. However, the levels of the taint compounds are significantly lower than in intact males.

Description

DEPLETION OF ENDOGENOUS PRIMORDIAL GERM CELLS IN AVIAN SPECIES

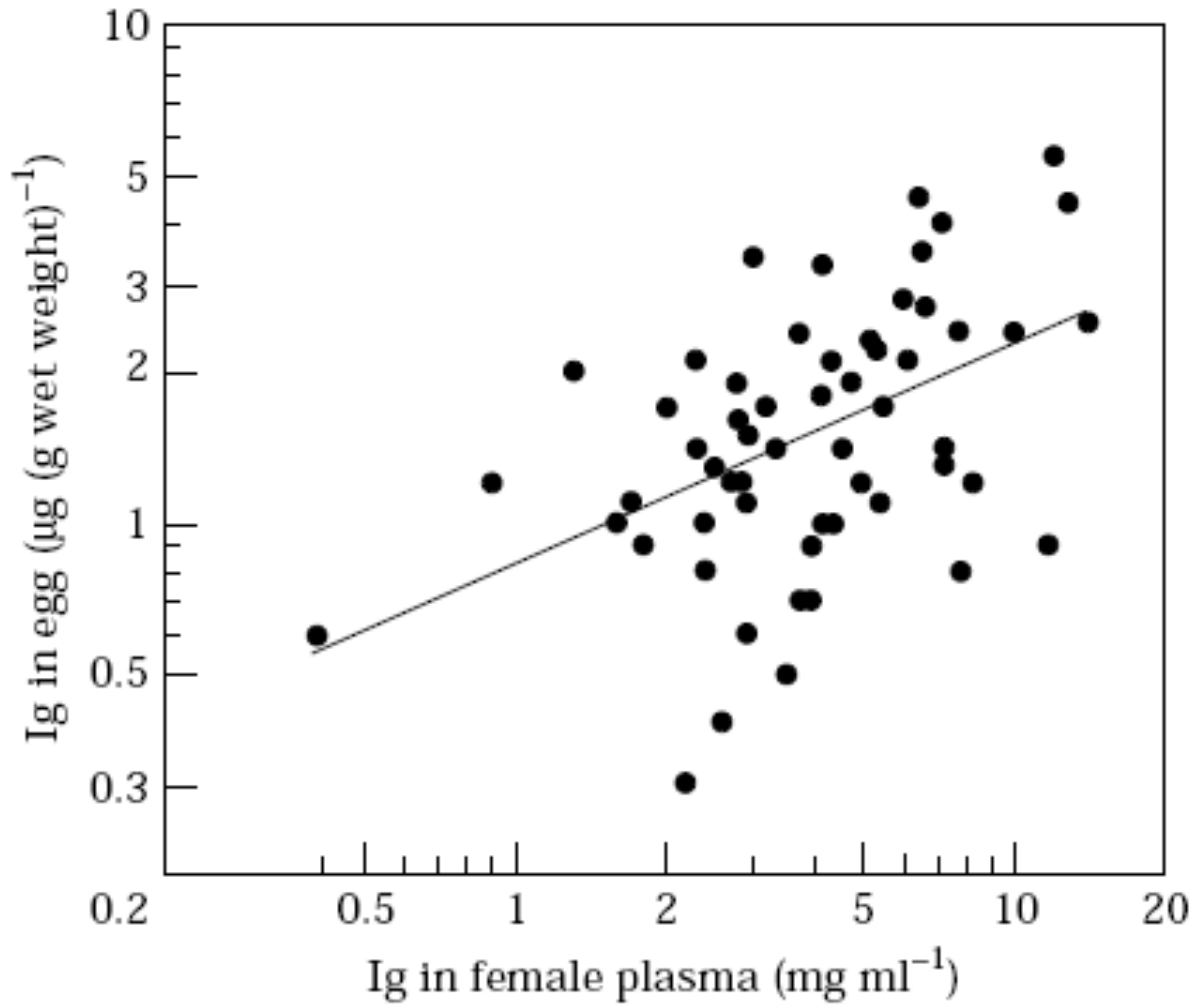
Cross Reference to Related Application

- 5 This application claims the benefit of U.S. Provisional Patent Application Serial No. 60/440,424, filed January 16, 2003, the disclosure of which is incorporated herein by reference in its entirety.

Technical Field

- 10 The presently disclosed subject matter relates to methods for modulating primordial germ cell numbers in an avian. More particularly, the presently disclosed subject matter relates to the use of antibodies that bind to antigens associated with primordial germ cells to modulate the development of primordial germ cells during embryogenesis in avians. Donor primordial germ cells can be administered to avian embryos present
- 15 within eggs produced by birds treated with the presently disclosed methods to create chimeric avians.

Immunoglobuliner i egg og plasma hos Atlantisk laks

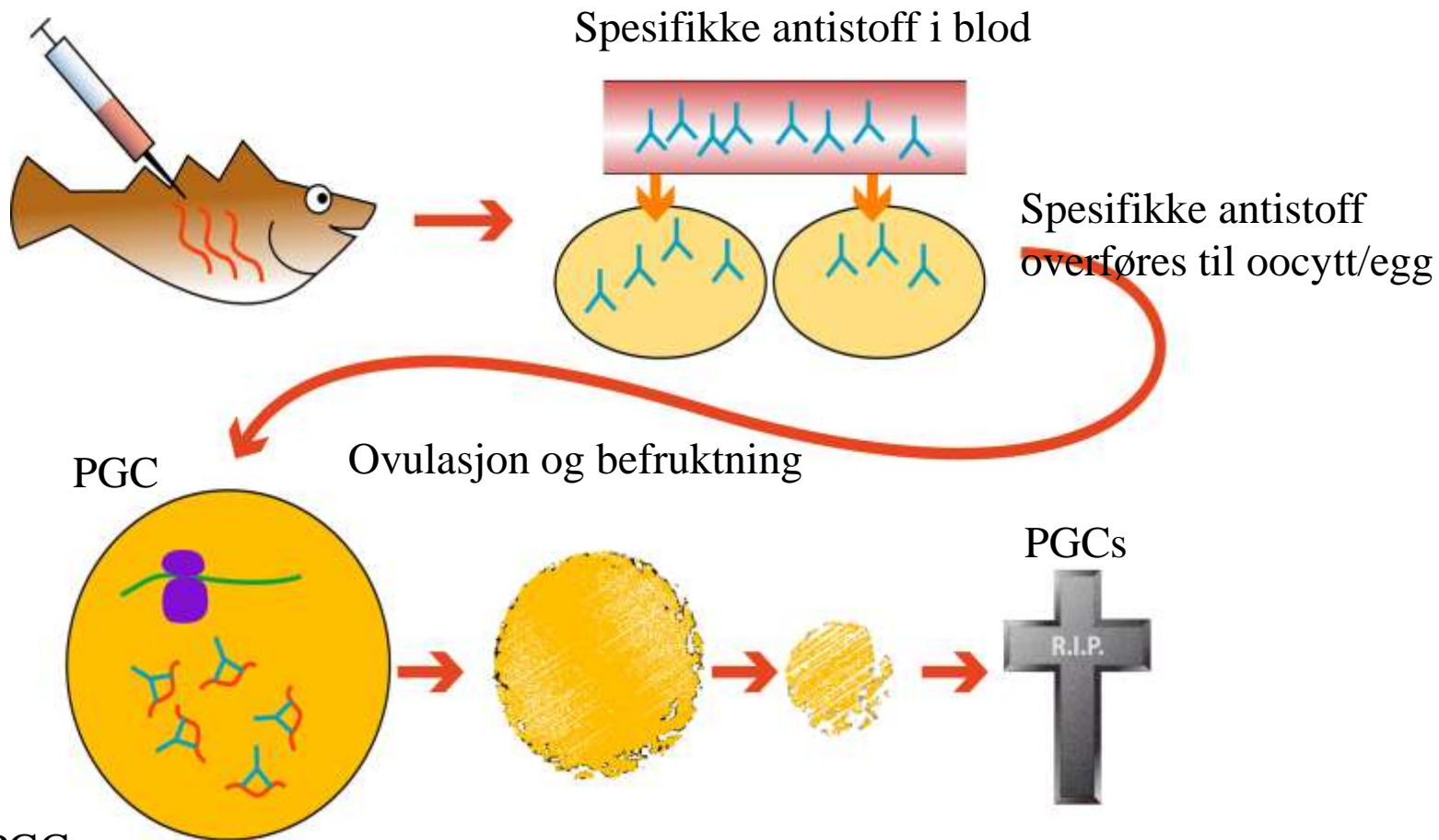


Sammenheng mellom Ig konsentrasjon i maternal plasma og egg hos Atlantisk laks

18.05.2012

From Olsen and Press, 1996

Immunisering mot ett eller flere
PGC spesifikke protein



Spesifikke antistoff
overføres til oocyt/egg

Ovulasjon og befruktning

Hindrer PGC utvikling og/eller migrering

Antistoff i PGCs
blokkerer protein
funksjon

Prosjektstatus

- Etablert metode for mikroinjeksjon av nybefruktede lakserogn
 - 80-100% overlevelse
- Etablert metodikk for GFP merking av PGC'er
 - Kan følge differensiering og migrering
- Har igangsatt morpholinostudier
 - Viktig for tidlig vurdering av fenotypisk effekt
- Vaksinerings av juvenil fisk gjennomført
 - Screening av aktuelle kandidater / epitoper

Ca 3 uker etter befruktning



Foto: Helge Tveiten, Nofima

Ca 5 uker etter befruktning



Foto: Helge Tveiten, Nofima

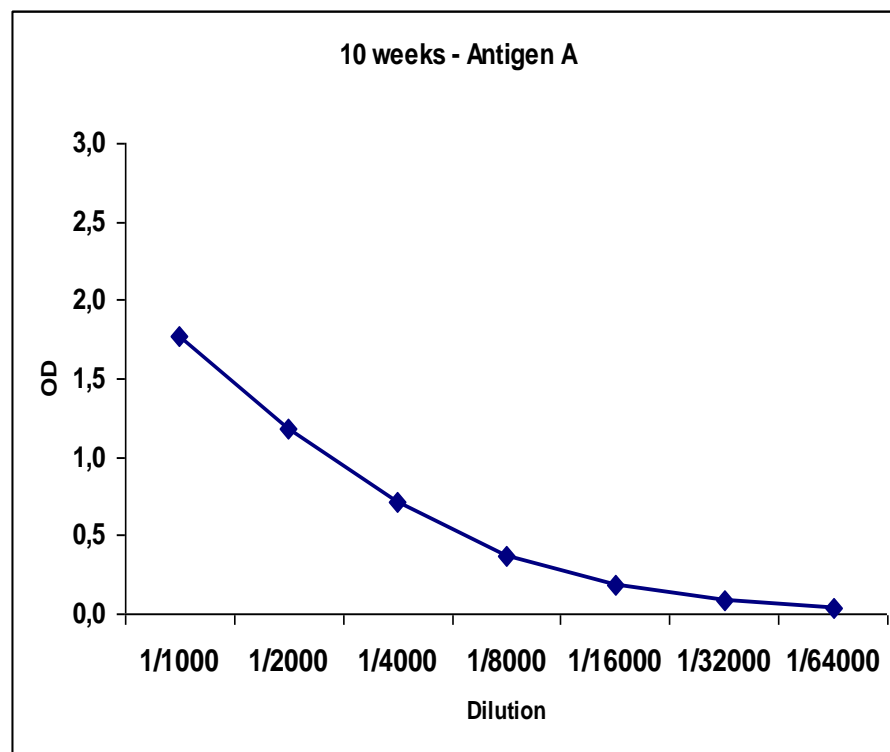
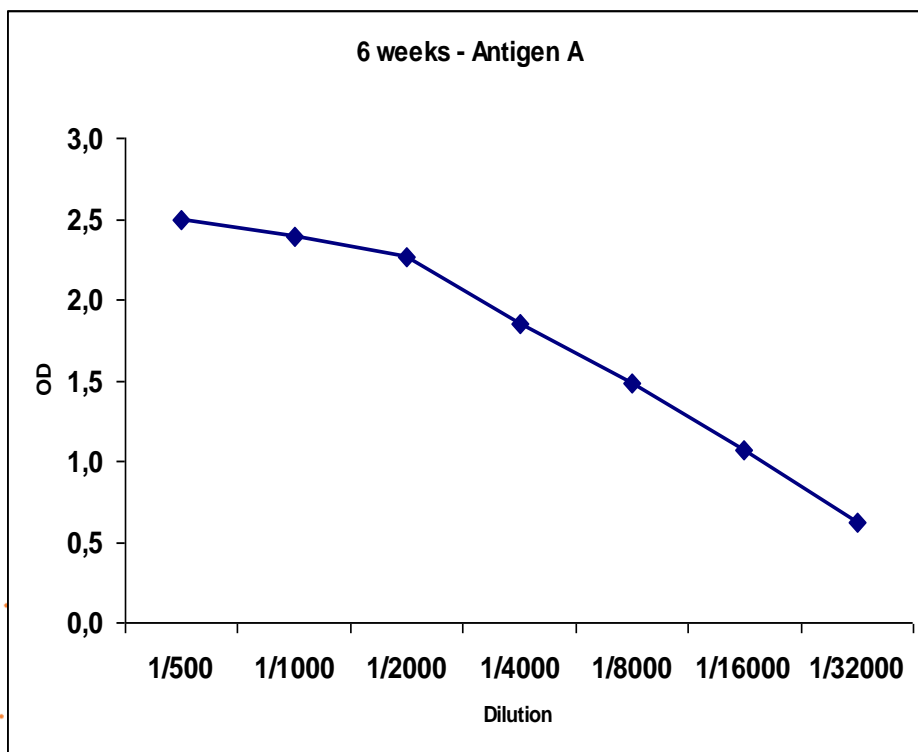
Ca 8 uker etter befruktning

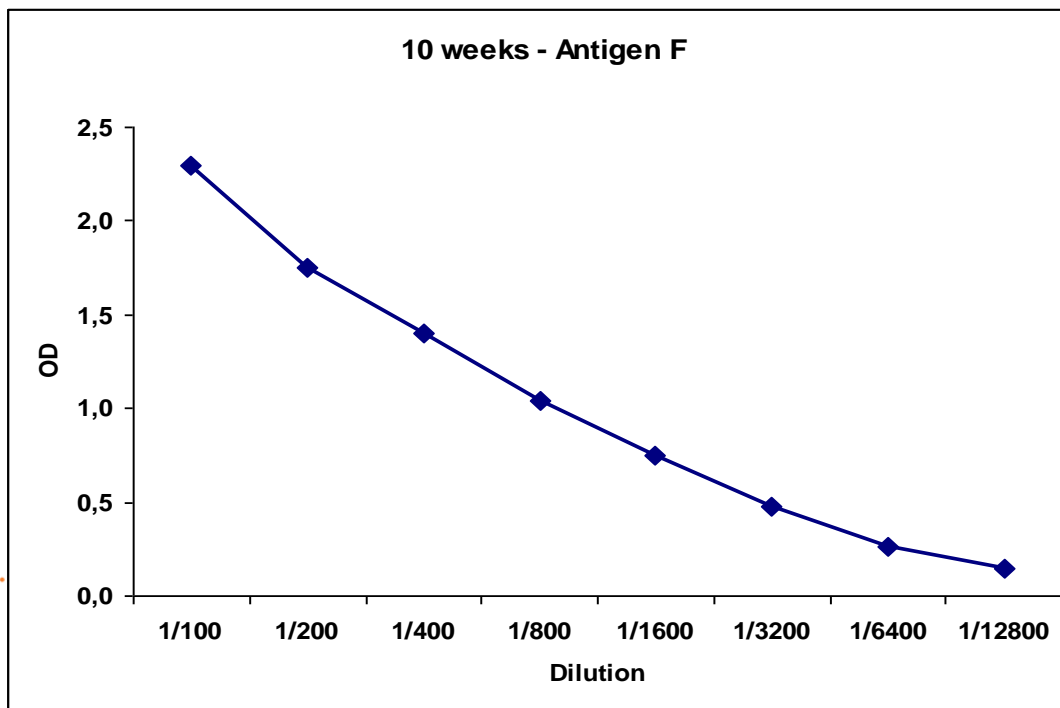
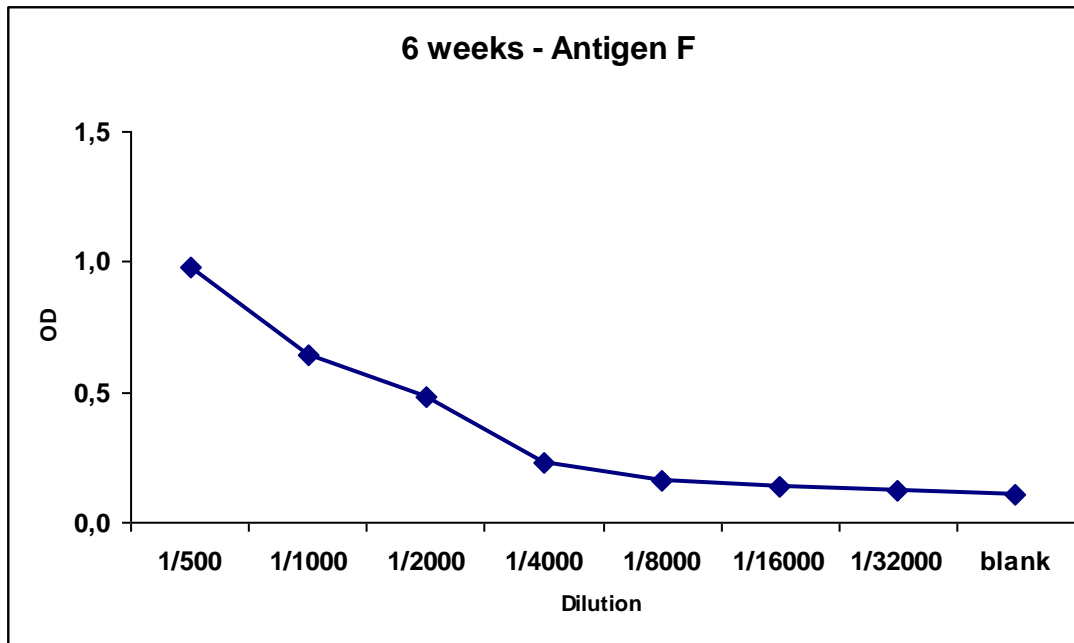


Foto: Helge Tveiten, Nofima

Vaksinering av mindre fisk mot PGC spesifikke antigen

Deteksjon av antistoffer i serum vha ELISA

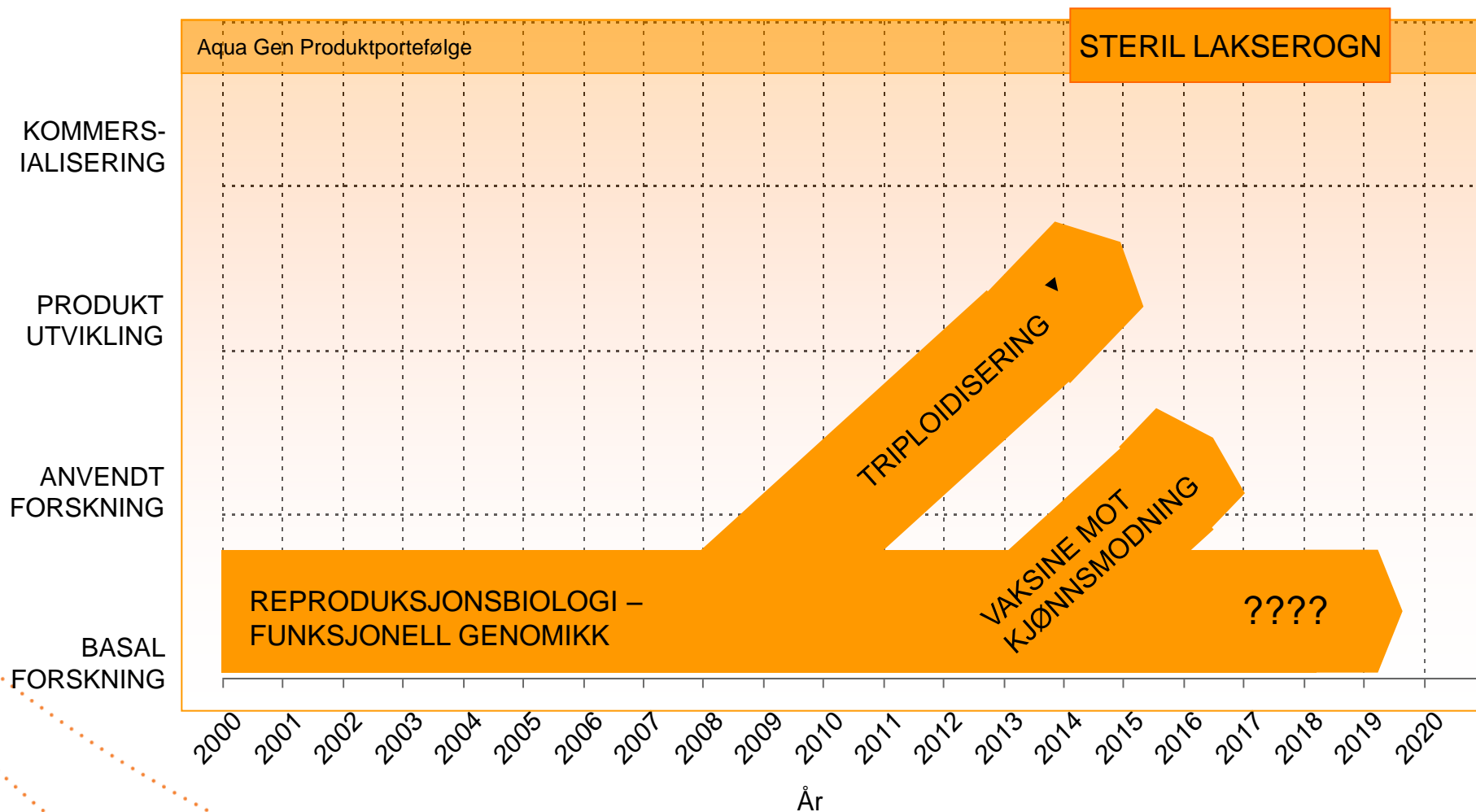




Planer for 2012

- Vaksinerings av stamfisk
 - Evaluering av effekt
- Utvidede morpholino eksperiment
- Lage nye vaksinekonstrukt
- Liposom-medierte overføring av nukleotider til rogn

Steril Laks – Aqua Gens strategi



Hva sier forbrukerne?

- Triploid – trolig greit
- Vaksinerings – kan få aksept
- Genteknologiske metoder – vanskeligere, men ikke umulig?
- Viktig at miljøvernorganisasjonene spiller på lag!

--- That's all ---

