

# 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?

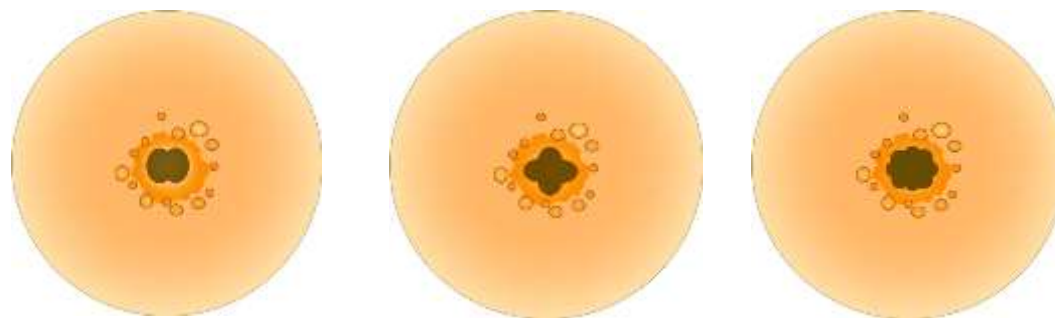
- Rømming
  - Steril laks kan ikke påvirke genetikken til villaksen
- Tidlig kjønnsmodning
  - Vs. redusert generasjonsintervall
  - Viktig ved evt landbasert produksjon av laks
- Beskyttelse av genetikken til avlsselskapene
  - Særlig viktig ved eksport til nye markeder







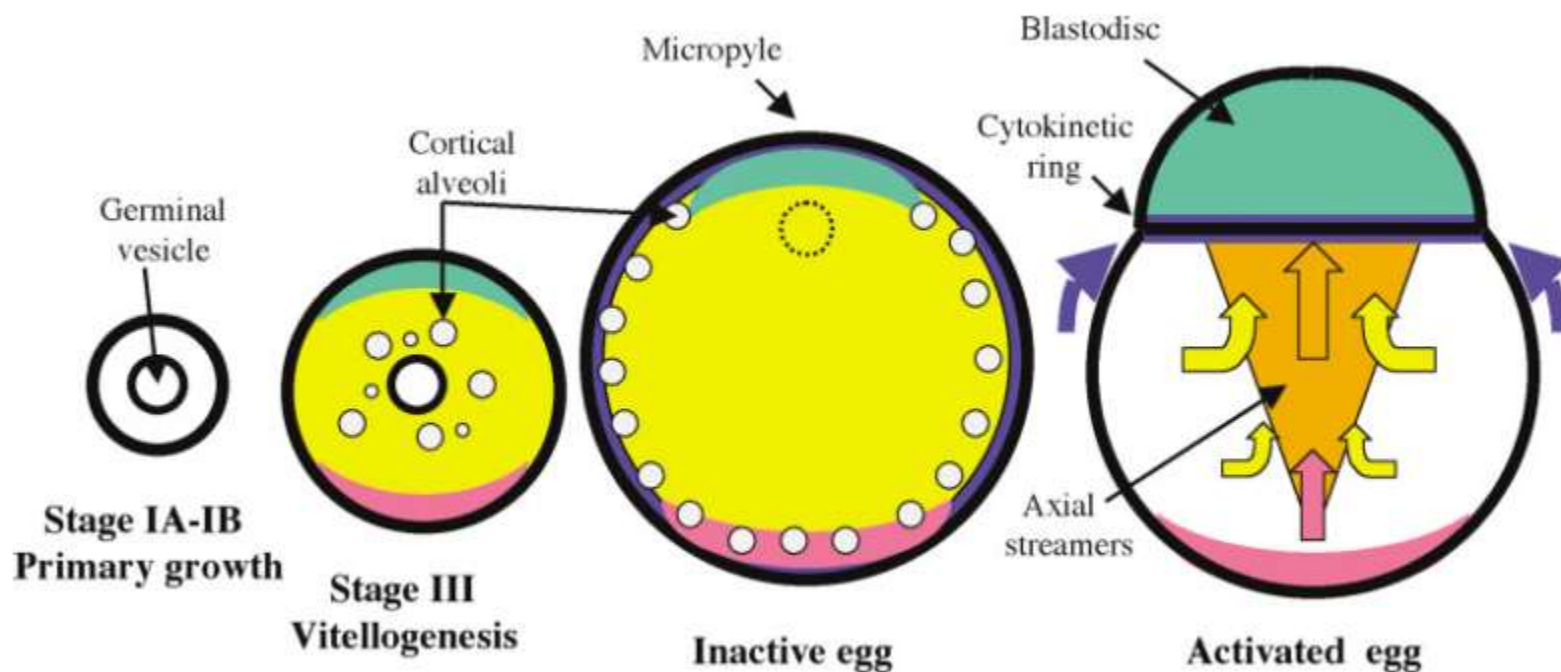
# Lakserogn, 24 timer etter befruktning



2-celle

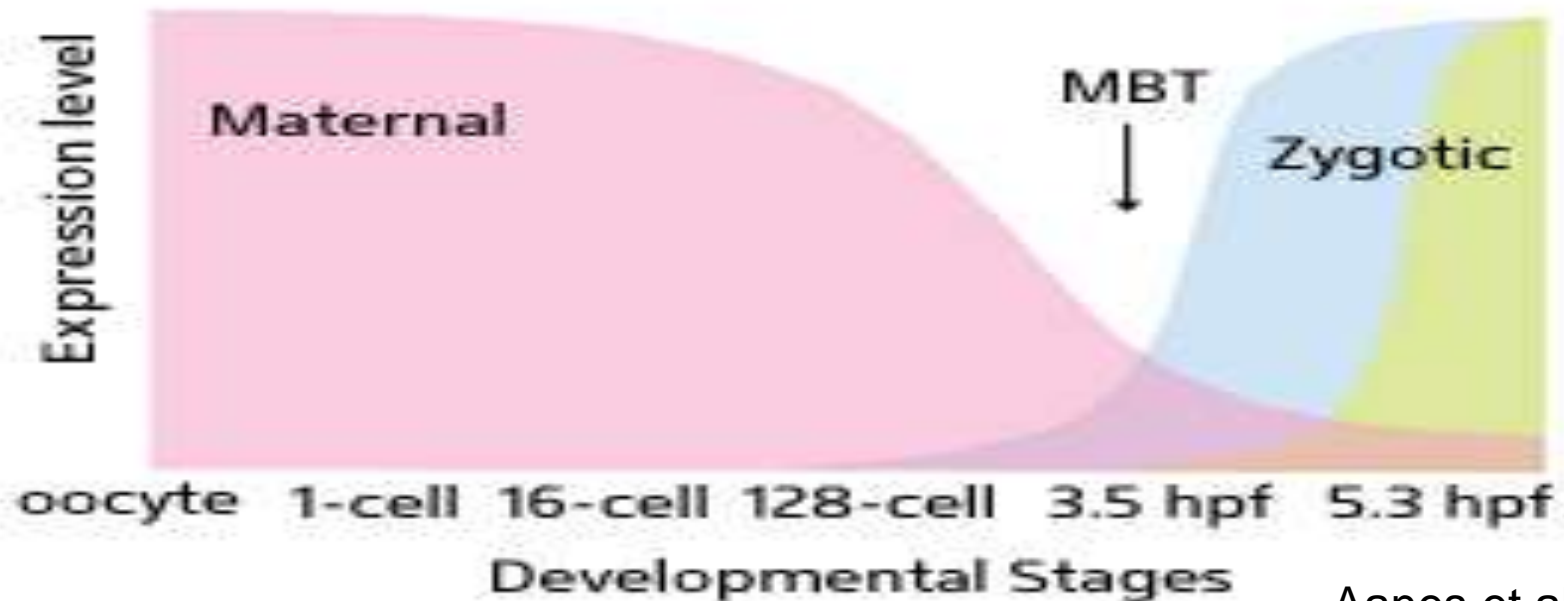
4-celle

8-celle



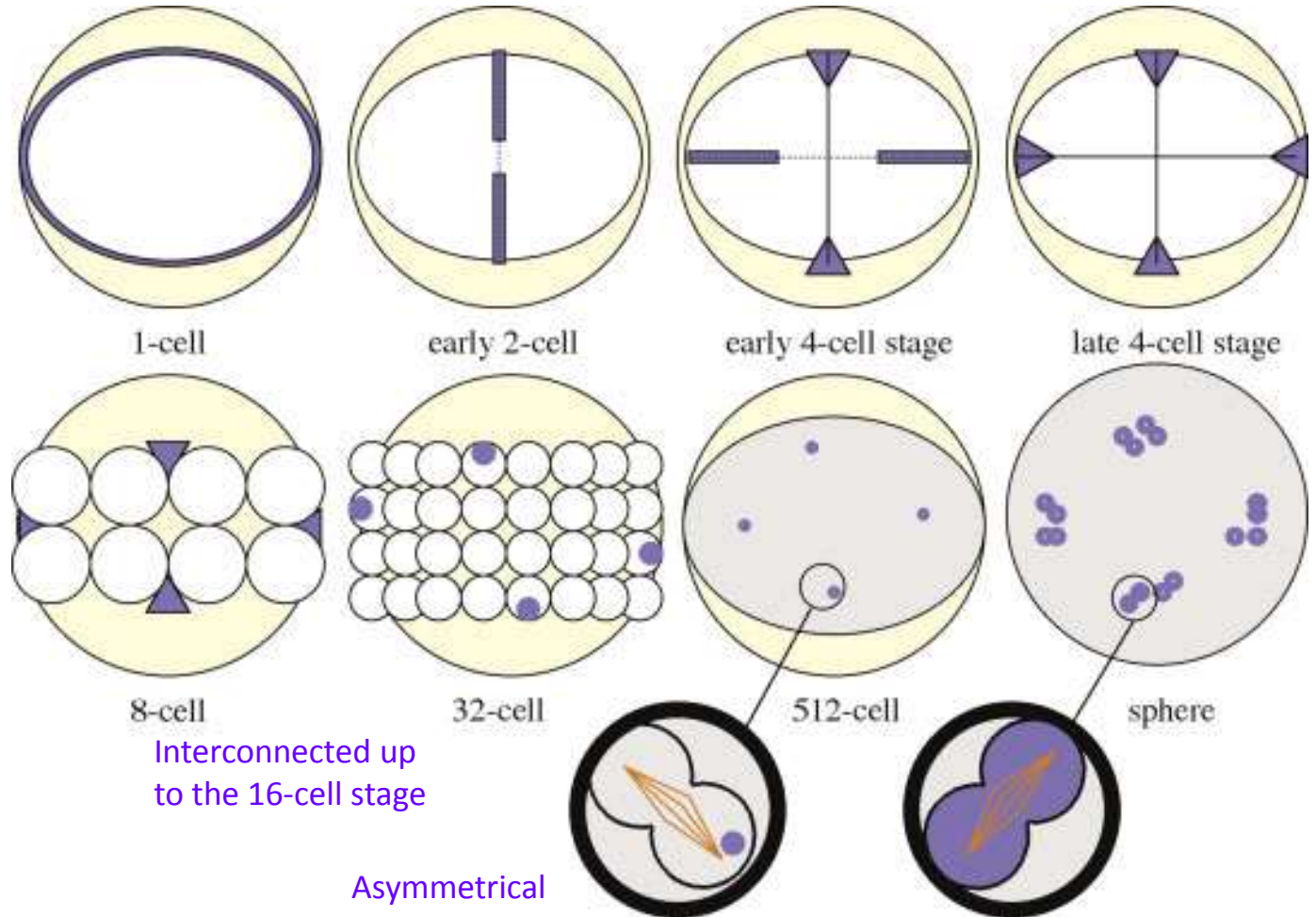
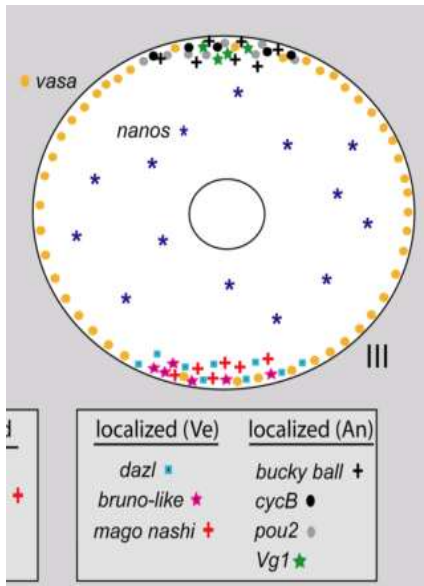
# Maternal-zygotic transition - zebrafish

Classical Expression pattern:  
Maternal & zygotic transcripts



# Faktorer fra mor styrer kjønnscelledifferensieringen

*Germ plasm localization/vasa expression during PGC specification in zebrafish*



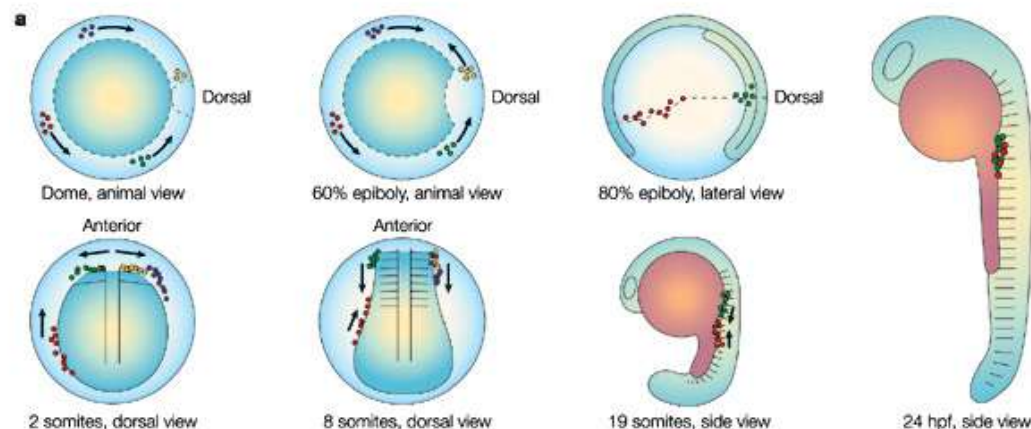
# Zebrafisk – akvatiske laboratoriemus

## Kan kunnskapen overføres til laks?

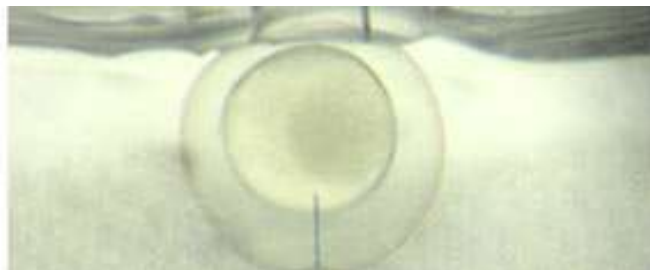
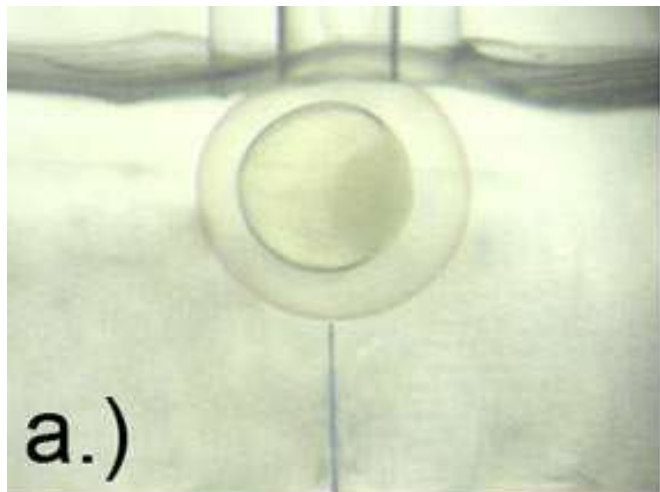
- På zebrafisk er det vist at kimcellene, som er til stede rett etter befruktning og som er grunnlaget for gonadene, kan påvirkes → steril fisk.
- Flere sentrale faktorer kartlagt: *dead end*, *vasa*, *nanos3*, *cxcr4b*, *ziwi*, *zili*
- Nofima: Pågående prosjekt på torsk
- Nofima/Aqua Gen/Vaxxinova: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



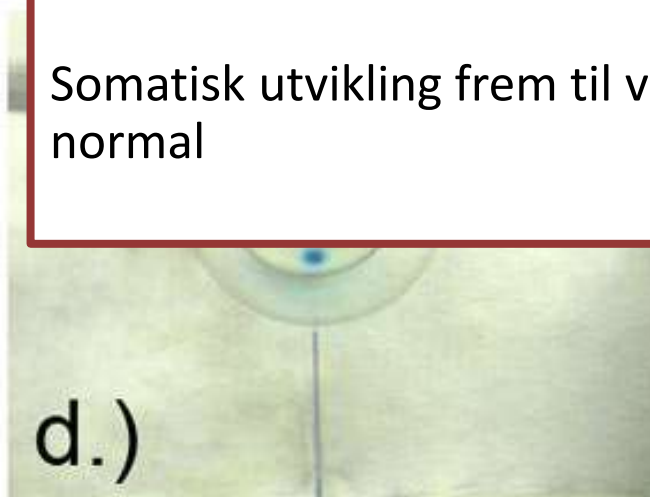
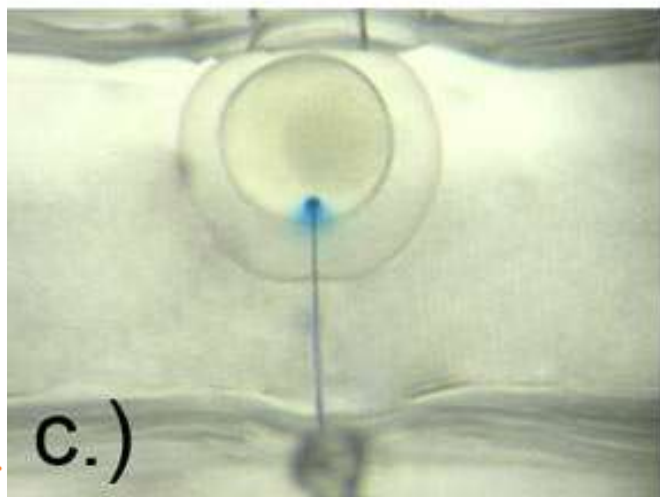
Raz 2003







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<sup>®</sup> 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, described as having an onion-like odor, perspiration, onions or fishy.

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. Higher levels of the taint compound are associated with higher levels of the taint compound.

## Description

### DEPLETION OF ENDOGENOUS PRIMORDIAL GERM CELLS IN AVIAN SPECIES

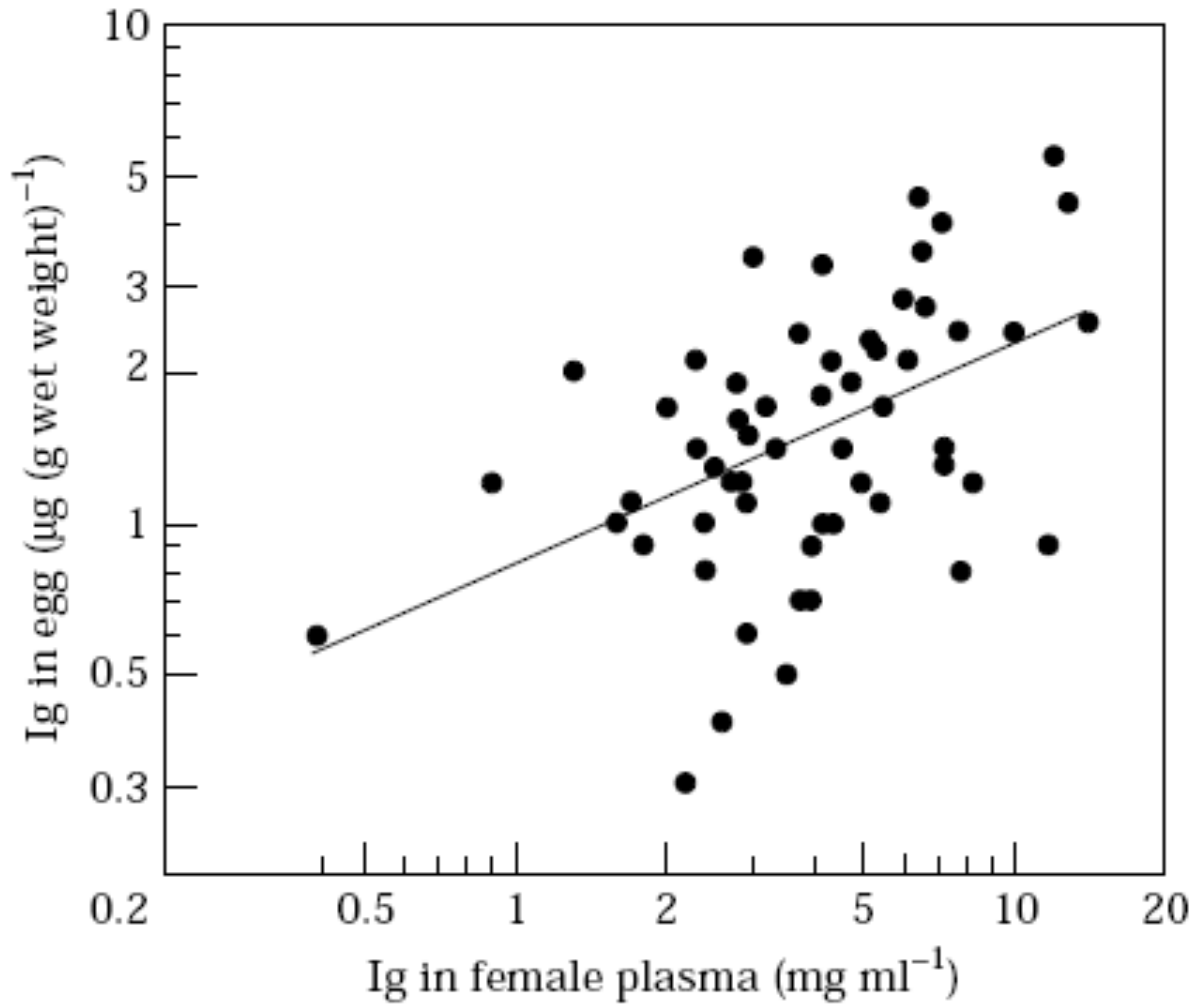
#### Cross Reference to Related Application

- 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

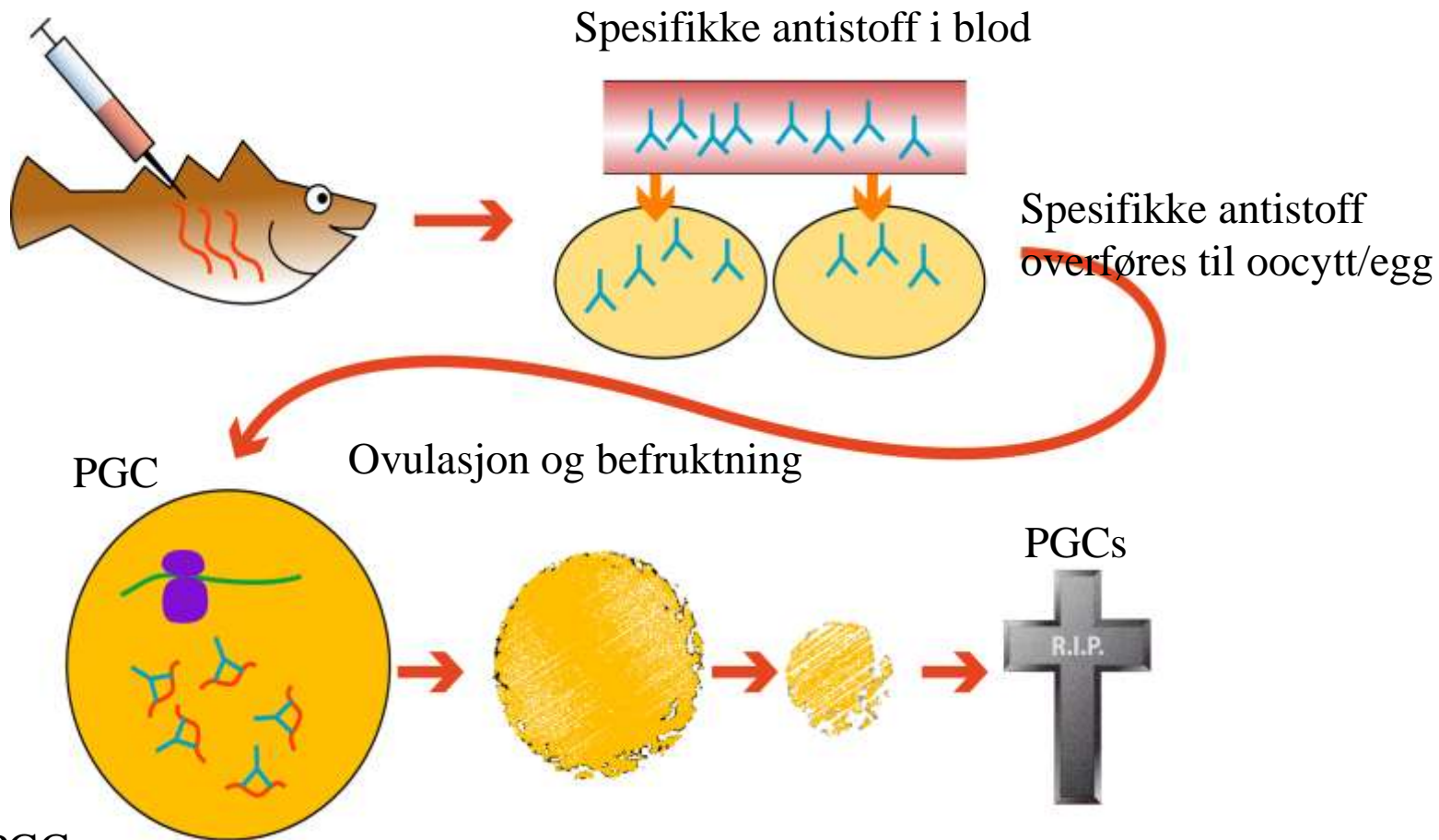


Sammenheng mellom Ig konsentrasjon i maternal plasma og egg hos Atlantisk laks

18.05.2012

From Olsen and Press, 1996

Immunisering mot ett eller flere  
PGC spesifikke protein



Antistoff i PGCs  
blokkerer protein  
funksjon

Hindrer PGC utvikling og/eller migrering



# 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

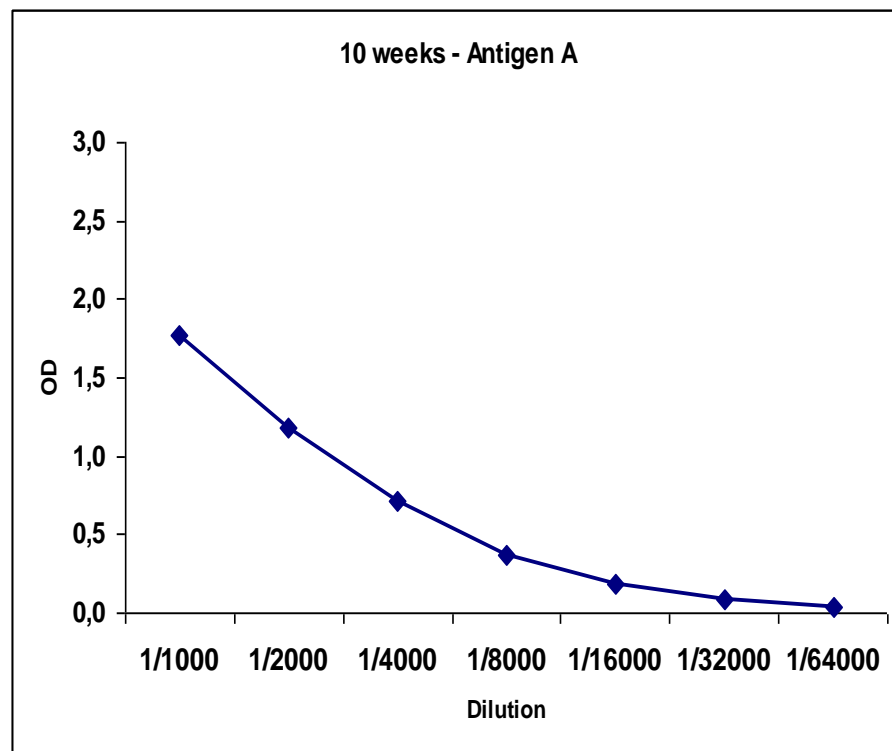
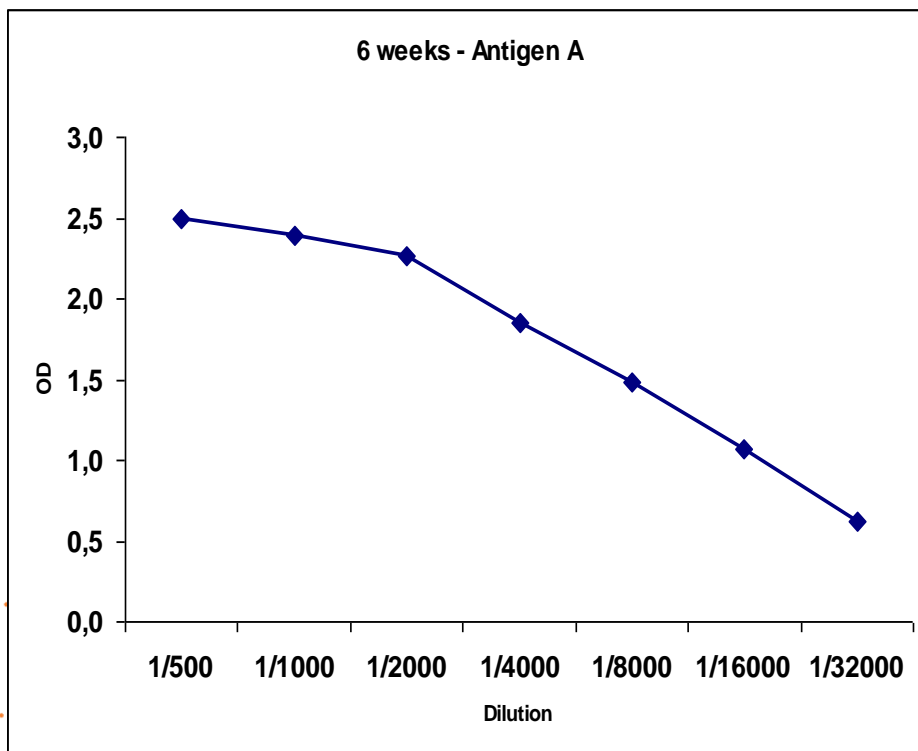


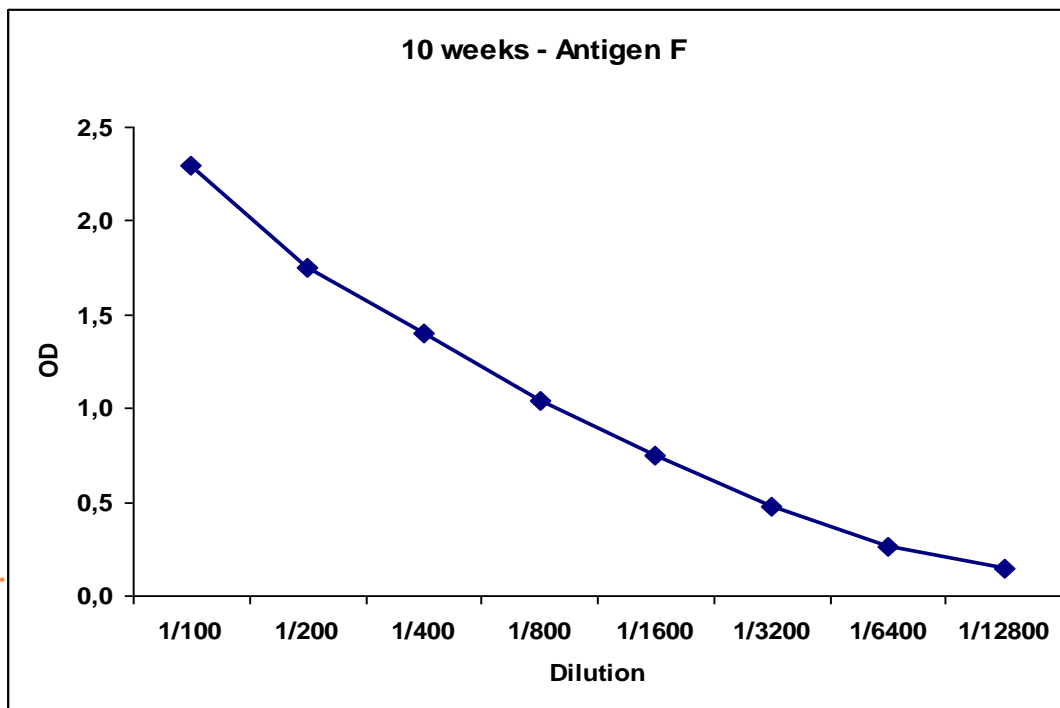
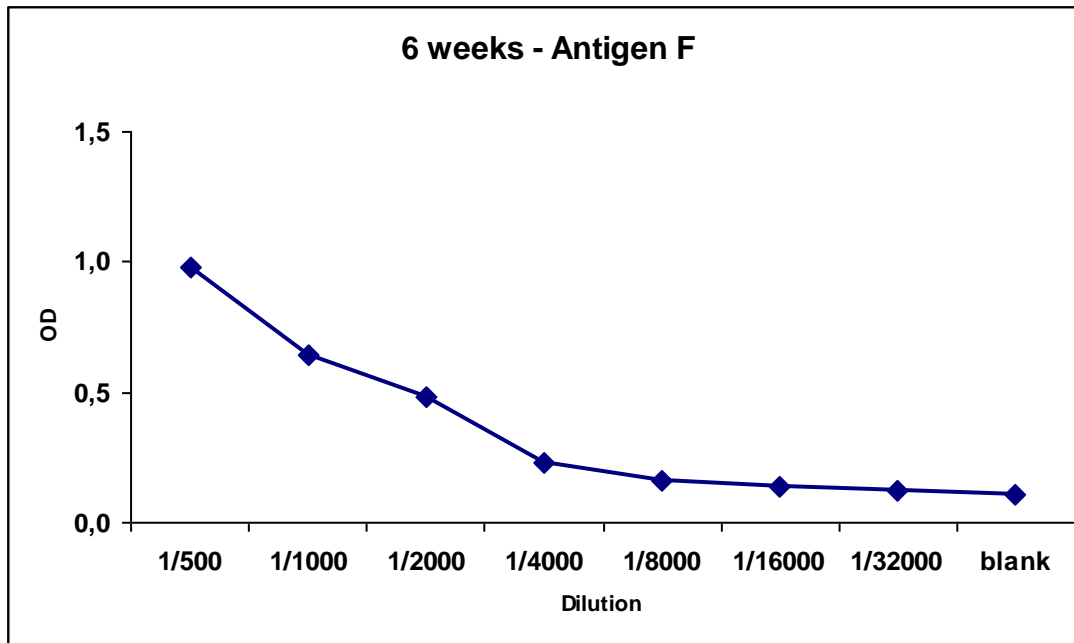
Foto: Helge Tveiten, Nofima



# Vaksinering av mindre fisk mot PGC spesifikke antigen

## Deteksjon av antistoffer i serum vha ELISA

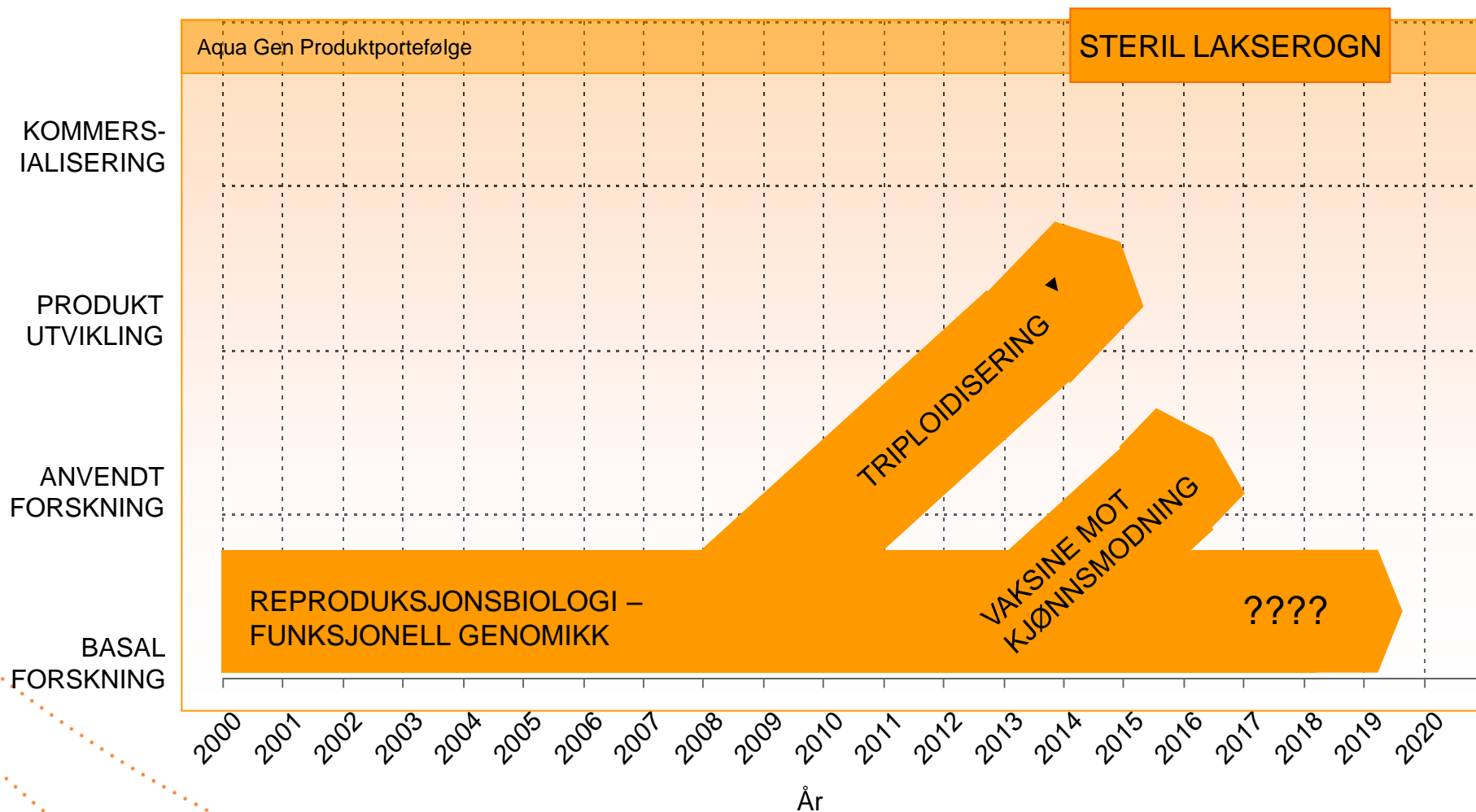




# Planer for 2012

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

# Steril Laks – Aqua Gens strategi



såkorn for livskraft og lønnsomhet



# 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 ---

