Havbruk

Norges forskningsråd
The Research Council of Norway

Tilgjengelighet og begrensninger mhp dagens forsøkslaks

© T. Poppe

U.Grimholt
Norwegian School of Veterinary Science, BASAM Genetics, Oslo, Norway

Introduksjon

Hos mus og rotte finnes det kataloger hvor en kan selektere blant tusenvis av forsøksdyr med veldefinerte genetiske sammensetninger, ofte fra innavlede linjer. For laks må en ta det som lokale oppdrettere eller avlsfirmaer har tilgjengelig og ingen molekylær-genetiske definerte linjer finnes idag. Dette har en negativ effekt på reproduserbarheten av forsøk med laks.

Et av hovedproblemene med å lage standardiserte forsøkslaks er en generasjonstid på fire år og mangel på frysing av egg og embryoer. Frysing av melke fungerer nå godt, mens lakseegg er for store og væskefylte til at frysing har vært mulig. Til tross for at en da kan ha kontinuerlig tilgang på genetisk karakteriserte fedre, må en altså ha tilgjengelige genotypede og kjønnsmodne mødre for å lage genetisk like forsøksdyr. Tatt i betraktning mødrenes kjønnsmodne vekt a ca. 20 kg, er dette praktisk vanskelig.

Hos fisk kan en lage innavlede dvs genetisk homogene dyr iløpet av en generasjon ved enten gynogenese eller androgenese. Ved en ny runde med androgenese eller gynogenese av egg evt melke når avkommet blir kjønnsmodne, får en genetisk homogene linjer av dyr. Slike genetisk homogene dyr er en forutsetning for evt. sekvensering av laksens genom og også nødvendig for studier av cellulær immunrespons hvor vevsforlikelige dyr er en forutsetning.

Hvordan genetiske faktorer påvirker forsøk på laksefisk:

Et forsiktig estimat vil være at fra 4 til 10 gener påvirker gitte egenskaper. Tabell 1 viser hvordan kombinasjoner av ulike polymorfe gener påvirker antall dyr med samme genotype i ett tilfeldig utvalg av 100 forsøksdyr. Dersom 3 høyt polymorfe gener påvirker egenskapen som skal studeres, vil det finnes 1,5 dyr per 100 tilfeldig utvalgte med samme allel-kombinasjoner for de tre genene. Tabell 2 viser konsekvensene i et smitteforsøk med ILA som inkluderte 1200 dyr, hvor vi så på de to immun-genene DAA og UBA (Grimholt). Mange dyr fra ulike familier kan inkluderes når materialet analyseres for tilstedeværelse av ett enkelt allel fra ett gen (mange grupper ikke vist i tabell). Når en så ser på kombinasjoner av dyr med bestemte DAA og UBA allel-kombinasjoner er det bare tre grupper igjen som er store nok (26 dyr eller mer) til å kunne inkluderes i statistisk analyse.

Selv nært beslektede fisk responderer vesensforskjellig i forsøk. Tabell 3 viser et smitteforsøk med 11 ulike isolater av ILA utført på to halv-søskengrupper med lik UBA og DAA med en kohabitant gruppe med ukjent MHC (Mjaaland). De to ulike halvsøskengruppene (TG-1 og TG-2) reagerer forskjellig på ulike isolater og det gjør også cohabitant-gruppen.

Tabell 1

# gener som påvirker egenskapen	# alleler normal (høypolymorft) scenario	# mulige genotyper	#fisk/ genotype/ 100 dyr (fullsøsken)
1	1♂x 1 ♀ (2x2)	1 (4)	100 (25)
2	2 ♂ x 2 ♀ (4x4)	4 (16)	25 (6)
3	3 ♂ x 3 ♀ (4x4x4)	18 (64)	6 (1,5)

Tabell 2

Class	Allele	Prevalence of death	Hazard ratio	No. of Fish	No. of Families
DAA	*DAA*0501*	**34.74 (29.95, 39.52)**	**0.814 (0.702, 0.926)**	380	14
UBA	*UBA*0801*	37.94 (32.99, 42.89)	0.889 (0.773, 1.005)	369	15
DAA- DAA	0201 - 0501	**31.82 (25.67, 37.98)**	**0.745 (0.601, 0.889)**	220	14
	0501 - 0501	**32.14 (22.27, 42.01)**	**0.753 (0.519, 0.987)**	84	4
	0201 -0201	**38.52 (32.15, 42.13)**	**0.903 (0.753, 0.987)**	244	14
UBA- UBA	0201 - 0301	**21.13 (11.63, 30.62)**	**0.495 (0.273, 0.718)**	71	4
	0701 - 0801	**28.23 (20.30, 36.15)**	**0.661 (0.476, 0.847)**	124	9
UBA-UBA and *DAA-DAA*	UBA*0801-0701 DAA*0201-0501	**18.92 (7.96, 35.16)**	**0.443 (0.148, 0.739)**	37	6
	UBA*0301-0201 DAA*0201-0301	**5.88 (0.72, 19.68)**	**0.138 (0, 0.323)**	34	2
	UBA*0801-0701 DAA*0201-0201	23.08 (8.97, 43.65)	0.541 (0.161, 0.920)	26	5

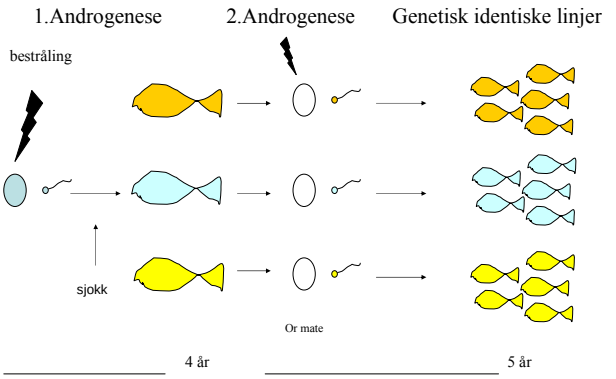
Tabell 3

ILA isolat	TG-1 (% of 40)	TG-2 (% of 40)	Injiserte Cohabitanter (% of 120)
ISAV 1	45	47.5	67.5
ISAV 2	30	27.5	75
ISAV 4 Glæsvær	10	25	67.5
ISAV 5	10	17.5	40
ISAV 6	7.5	15	21.7
ISAV 8	0	22.5	35
ISAV 11	5	2.5	20

"Instant" innavlede fisk

En mulig måte å lage standardiserte forsøkslaks er androgenese aller gynogenese. Androgenese vil si å ødelegge arvestoffet hos egg ved bestråling, eggene befruktes og gis et sjokk for å hindre første celledeling. Dette medfører en fordobling av hannens kromosomer og de resulterende hunner og hanner blir derved helt homogene på alle kromosomer. En ny runde med androgenese eller gynogenese gir opphav til ulike genetisk identiske linjer av forsøkslaks. Metoden er veletablert på regnbueørret hvor dyrene har åpnet for en rekke basalbiologiske studier (Anastasia; Lucas; Ristow) og under etablering på laks og torsk (NVH).

Linjene er tenkt knyttet opp til en nasjonal platform for forsøksdyr som er under etablering (A.Smith, pers.com).



Referanser

Anastasia M. Zimmerman, Jason P. Evenhuis, Gary H. Thorgaard, Sandra S. Ristow. A single major chromosomal region controls natural killer cell-like activity in rainbow trout. Immunogenetics 55:825–835, 2004
Grimholt U, Larsen S, Nordmo R, Midtlyng P, Kjoeglum S, Storset A, Saebø S, Stet RJM . MHC polymorphism and disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*); facing pathogens with single expressed major histocompatibility class I and class II loci. Immunogenetics 2003; 55, 210-219.
Lucas MD, Drew RE, Wheeler PA, Verrell PA, Thorgaard GH. Behavioral differences among rainbow trout clonal lines. Behav Genet. 2004 May;34(3):355-65.
Mjaaland,S., Markussen,T., Sindre, H., Kjøglum,S., Dannevig, BH., Larsen,S., Grimholt,U. "Susceptibility and immune responses following experimental infection of MHC compatible Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) with different infectious salmon anaemia virus (ISAV) isolates". Archives of virology 150; 2195-2216, 2005
Ristow SS, LaPatra SE, Dixon R, Pedrow CR, Shewmaker WD, Park JW, Thorgaard GH. Responses of cloned rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to an attenuated strain of infectious hematopoietic necrosis virus. Dis Aquat Organ. 2000 Sep 28;42(3):163-72