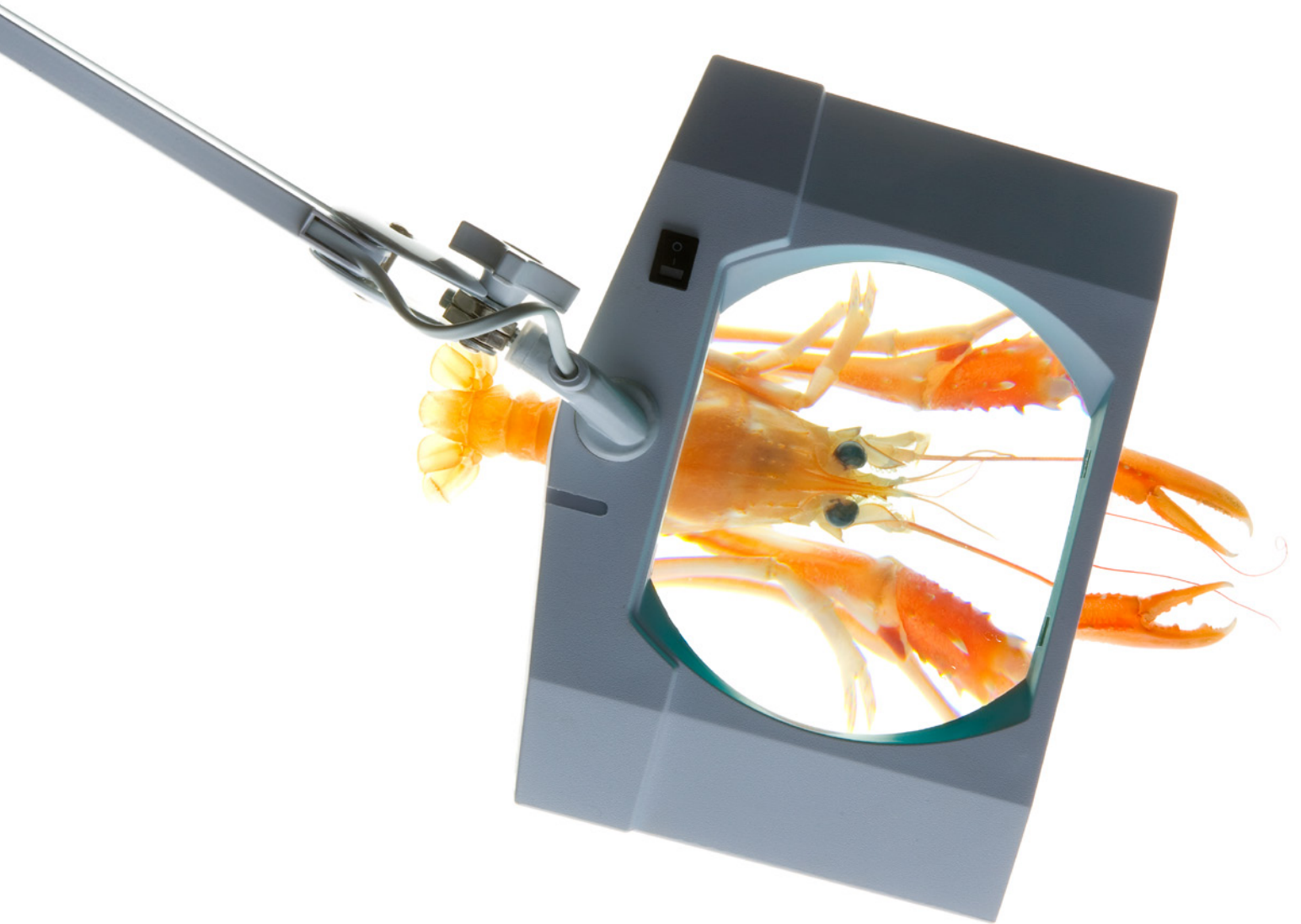


DNA rannsóknir á sjávardýrum



Útgefandi: Matís ohf., Vínlandsleið 12, 113 Reykjavík, Iceland
Umsjón með útgáfu: Sigríður Hjörleifsdóttir og Steinar B. Aðalbjörnsson
Ljósmyndarar: Bernhard K. Ingimundarson, Torfi Agnarsson o.fl.
Teikningar: Jón B. Hlíðberg, www.fauna.is
Hönnun og umbrot: Kráka hönnun ehf./Kristín Edda Gylfadóttir
Prentun: Pixel

© Matís 2011

Heimilt er að birta efni úr bæklingnum sé heimilda getið
Bæklinginn má nálgast á rafrænu formi á vef matís www.matis.is

Hvað eru DNA greiningar?

Allir einstaklingar manna og dýra hafa sitt eigið einstaka erfðamengi (DNA). Hægt er að finna mun á milli allra einstaklinga, þar sem erfðamengið er einskonar strikamerki viðkomandi einstaklings sem hægt er að nota til að greina hann frá öllum öðrum einstaklingum.

Þessi staðreynd er notuð í DNA greiningum. Vísindamenn hafa skilgreint svæði í erfðamengi mismunandi tegunda sem sýna breytileika og við erfðagreiningar eru þessi breytilegu svæði skoðuð. Öll dýr hafa tvö eintök af hverri DNA röð, aðra frá móður og hina frá föður. Þetta nýtist m.a. við rekjanleika á afkvæmum til foreldra.



DNA greiningarverkefni hjá Matís

Erfðagreiningar hafa verið stundaðar hjá Matís ohf. og forverum þess í meira en áratug. Þegar Matís varð til (2007) rann megin starfsemi líftæknifyrirtækisins Prokaria þar inn. Erfðagreiningar á dýrum hófust hjá Prokaria árið 2003 og hafa yfir 64.000 lagardýr nú verið greind auk mikils fjölda landdýra.

Hjá Matís hafa verið þróaðar yfir 30 aðferðir til erfðagreininga á dýrum. Mikil þróunarvinna liggur að baki hverri greiningaraðferð þar sem reynt er að koma saman eins mörgum erfðamörkum og hægt er í eitt hvarf (multiplex). Þetta sparar bæði tíma og kostnað þegar mörg sýni eru greind. Í sumum tilfellum eru ekki til erfðamörk fyrir tegundina. Í þeim tilfellum þarf að byrja á því að þróa ný erfðamörk. Hjá Matís hafa verið þróað ný erfðamörk fyrir margar tegundir sjávardýra (þorsk, síld, leturhumar, krækling og lax) og í öðrum tegundum hefur erfðamörkum sem þekkt eru verið breytt til að gera vinnuna hagkvæmari. Nokkrum þessara aðferða hefur verið lýst í ritrýndum vísindagreinum [1-6].

Undanfarin fjögur ár hefur verið unnið samkvæmt samstarfs-samningi við Hafrannsóknastofnunina með það að markmiði að nýta betur fjármuni, aðstöðu og þekkingu við erfðagreiningu á sjávarlífverum. Einnig hefur verið unnið að erfðagreiningar-

verkefnum í samvinnu við Veðiámalastofnun. Mörg rannsóknaverkefni eru í gangi um þessar mundir auk þjónustuverkefna.

Tafla. Erfðagreiningar lagardýra hjá Matís og Prokaria 2003-2010.

| Tegund | Fjöldi sýna | Fjöldi erfðamarka |
|------------|-------------|-------------------|
| Þorskur | 23.000 | 6-27 |
| Lax | 30.000 | 7-15 |
| Lúða | 500 | 8 |
| Karfi | 1.400 | 13 |
| Leturhumar | 600 | 12 |
| Sandhverfa | 600 | 13 |
| Síld | 300 | 15 |
| Bleikja | 240 | 17 |
| Urriði | 50 | 11 |
| Clown fish | 3.500 | 16 |
| Hrefna | 3.300 | 18 |
| Langreyður | 750 | 18 |
| Kræklingur | 1.000 | 1-30 |
| Samtals | 65.240 | |

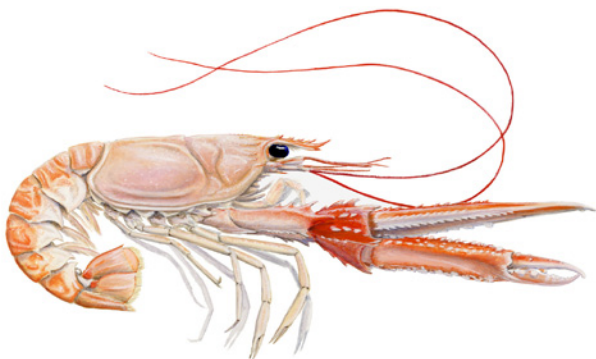


Erfðarannsóknastofa Matís er í fremstu röð

Þegar Prokaria varð hluti af Matís varð til öflug og vel tækjum búin rannsóknastofa í eigu ríkisins sem byggð hafði verið frá grunni á einum áratug. Á rannsóknastofunni starfar vel þjálfað og fært starfsfólk.

Rannsóknastofan er búin tveimur öflugum erfðagreiningavélum; ABI 3730 DNA Analyzer og FLX Genome Sequencer (Roche 454 Life Sciences). Á rannsóknastofunni eru róbótar til að flýta vinnunni (Beckman Biomek 2000 og Packard Multiprobe II HT-ex), auk

fjölmargra PCR tækja og RT-PCR tækja. Einnig er til staðar Flow Cytometer FACS ARIA II frumugreinir sem mun einnig nýtast við erfðarannsóknirnar. Eitt af lykilatriðum í velgengni rannsóknastofunnar á sviði erfðarannsókna er ótakmörkuð uppspretta af DNA pólýmerasa sem er lykilsím í allri erfðafræðivinnu. Þetta ensím er framleitt á rannsóknastofunni hjá Matís og er afrakstur margra ára þróunarvinnu hjá Prokaria á hveraörverum. Ensímið er úr íslenskir hverabakteríu og er notað í flestar erfðagreiningar Matís. Einnig er ensímið selt til annarra vísindamanna á Íslandi.



Leturhumar



Porskur



Síld



Atlantshafslax



Bleikja



Djúpkarfi



Hagnýt DNA greining á lagardýrum

Hvað segja DNA greiningar okkur og hvernig má hagnýta þær? Það má í raun svara mörgum spurningum með hjálp DNA greininga og má vel hugsa sér að í náinni framtíð verði hægt að svara sambærilegum spurningum fyrir lagardýr eins og hægt er í mannfóðrafræði í dag.

Hjá Íslenski erfðagreiningu er leitast við að svara spurningum sem tengjast sjúkdómum í mönnum. Með aukinni þekkingu á erfðafraði þorsks eða síldar mætti vel hugsa sér að hægt verði að spyrja sambærilegra spurninga eins og spurt er um manninn og sjúkdóma hans. Í raun gætu slíkar rannsóknir gengið mun hraðar þar sem hægt er að ala og æxla að vild t.d.þorsk eða bleikju sem ekki er hægt að gera í mannfóðarannsóknum. Í dag eru DNA greiningar á lagardýrum aðallega nýttar á þremur sviðum.

1. Foreldragreiningar

Í foreldragreiningum eru afkvæmi rakin til foreldra. Þetta nýttist í kynbótastarfi og getur auðveldað og hraðað kynbótum auk þess að gera þær ódýrari í framkvæmd en hefðbundnar aðferðir. Hægt er að hafa margar fjölskyldur saman í kerjum í stað þess að halda fjölskyldum aðskildum eins og gert er í hefðbundnu kynbótastarfi. Matis hefur einnig hannað tölvuforrit (MateMeRight™) sem getur hjálpað eldismönnum að halda sem mestum erfðabreytileika í kynbótastofni sínum en það er lyklatríði í eldi á dýrum að viðhalda erfðabreytileika í stofninum. Með hjálp forritsins má para saman bestu dýrin út frá erfðafraðilegum skyldleika ásamt öðrum eftirsóknarverðum eiginleikum s.s. vexti, næmni gegn sjúkdómum, kynprosa o.fl. sem menn nota í kynbótastuðul sinn.

2. Stofngreiningar

Í stofngreiningarannsóknum er skoðaður breytileiki í arfgerðum dýra frá mismunandi svæðum sbr. dæmið um þorskinn hér að framan. Alþjóðasamfélagið (t.d. Alþjóðahafrannsóknaráðið; ICES) kallar eftir upplýsingum um erfðabreytileika í stofnum. Þegar hafa verið teknar afdrifaríkar ákvarðanir byggðar á erfðafraðigögnum eins og dæmið hér á eftir um karfann sýnir (sjá kaflann Erfðafraðin sannar gildi sitt). Í fiskveiðistjórnun er afar mikilvægt að vita hvort um breytilega stofna eða stofneiningar af ákveðinni tegund er að ræða þegar verið er að úthluta veiðileyfum. Á þessu sviði getur erfðagreining verið lykiltæki. Það er Íslendingum mjög mikilvægt

að geta skilgreint þá stofna sem tilheyra Íslandi og má því flokka sem auðlind Íslendinga. Ef Ísland gengur í Evrópusambandið er þetta enn mikilvægara en nokkru sinni. Það ætti því að vera forgangsatriði í hafrannsóknnum Íslendinga að skilgreina þá erfðaaðlind sem tilheyrir landinu. Það er einnig í samræmi við alþjóðlegar samþykktir sem Ísland hefur skrifað undir að ábyrgjast varðveislu erfðaaðlinda sinna.

3. Rekjanleiki

Með rekjanleikarannsóknnum má m.a. segja til um hvort um rétta tegund sé að ræða á vöru sem komin er á markað eða í verslanir. Birtar hafa verið upplýsingar frá Kanada þar sem talið er að allt að 25% af fiski á mörkuðum sé ekki rétt tegund [7]. Í flestum tilfellum er verið að selja ódýrari tegund sem dýrari.

Einnig er hægt að segja til um úr hvaða stofni dýr er ef nægileg þekking er á stofnunum. Dæmi um þetta eru alþjóðlegar laxarannsóknir þar sem markmiðið er að geta rakið lax í sína upprunalegu á eða ársvæði. Matis er í samstarfi við Veiðimálastofnun í slíkum rannsóknum. Á Íslandi er búið að skilgreina laxastofna í 42 ám og kemur skýrt í ljós að hver á er með sinn erfðafræðilega aðskilda stofn. Þessar rannsóknir eru hugsaðar til að hjálpa til við rannsóknir á hegðun laxa og leita eftir svörum varðandi farleiðir og annað sem gæti hjálpað til við að skýra mikla fækkun á Atlandshafslaxi.

Í Noregi hefur verið rekið dómsmál sem byggt var á erfðafræðigögnum frá Matis þar sem lax slapp úr kvíum frá laxeldisbónda. Bóndinn var einn af mörgum laxeldisbændum í norskum firði en allir neituðu í fyrstu að þeirra lax hefði sloppið. Með erfðagreiningum var hægt að rekja fiskinn sem slapp til réttis bónda [8].



Erfðafræðin sannar gildi sitt

Karfi

Til þessa hefur stofnmat og stjórnun karfaveiða miðast við tvær einingar þ.e. veiðar í Grænlandshafi og nærliggjandi hafsvæðum og svo veiðar á í landgrunni Grænlands, Íslands og Færeyja. Alþjóðahafrannsóknaráðið (ICES) kynnti árið 2009 nýja ráðgjöf um stofngerð karfa þar sem viðurkenndir eru þrjár stofnar.

Djúpkarfi á landgrunni Grænlands, Íslands og Færeyja og úthafskarfi í Grænlandshafi og nærliggjandi hafsvæðum eru taldir til sömu tegundar (*Sebastes mentella*). Veiðar á djúpkarfa hafa verið stundaðar allt frá byrjun sjötta áratugar síðustu aldar en fjölþjóðlegar veiðar á úthafskarfa hófust árið 1982.

Ágreiningur hafði lengi staðið meðal vísindamanna um stofngerð karfa. Nú hafa umfangsmiklar fjölþjóðlegar rannsóknir leitt til þeirrar niðurstöðu að djúpkarfi við Ísland, Grænlandshaf og á nærliggjandi hafsvæðum séu þrjár líffræðilega aðgreindir stofnar:

1. Djúpkarfi í Grænlandshafi, á meira en 500 m dýpi
2. Úthafskarfi í Grænlandshafi, á minna en 500 m dýpi
3. Djúpkarfi á landgrunni Íslands.

Þar með fékkst endanleg viðurkenning á niðurstöðum rannsókna sem höfðu staðið lengi og byggðar voru á erfðafræðilegum aðferðum [9, 10].

Leturhumar

Í rannsókn sem Matís og Hafrannsóknastofnunin unnu að á árunum 2007-2010 var leitast við að svara spurningum varðandi hugsanlegan stofnamun á breytilegum veiðisvæðum leturhumars við Ísland. Þar sem ekki voru til nægilega mörg þekkt erfðamörk fyrir tegundina voru fyrstu skref rannsóknarinnar að finna ný nothæf erfðamörk [1]. Valin voru 12 erfðamörk til að nota í rannsóknina en niðurstöður bentu til að ekki væri um aðskildar stofneiningar að ræða þrátt fyrir landfræðilega einangrun fullorðinna dýra [11].



Pátttaka í EU verkefnum

Starfsmenn Matis hafa tekið þátt í ýmsum Evrópuverkefnum sem tengst hafa erfðarannsóknum á lagardýrum. Þar má nefna FP6 - FISH & CHIPS þar sem raðgreind voru þrjú svæði úr tegunda- greinandi genum á um 120 fisk tegundum. FP6 - Marine Genomics Europe sem var samstarf á mörgum sviðum hafrannsóknna, FP7- SALSEA-MERGE þar sem greindar voru arfgerðir um 4200 laxa úr 42 ám á Íslandi. METACOD þar sem unnið var að rannsóknum á stofneiningum þorsks og CODTRACE þar sem unnið var að rekjanleika á þorski.

DNA rannsóknir frændþjóða á lagardýrum

Mikil aukning er í notkun þeirrar tækni sem erfðagreining byggir á. Vísindamenn, stjórnendur fyrirtækja og stjórnáamenn hafa áttað sig á þeim möguleikum sem tæknin býður upp á við leit að svörum um lífveru lagardýra auk þess hve vel hún nýtist í rekjanleikarannsóknir af ýmsu tagi. Frændþjóðir okkar Norðmenn og Kanadamennt sem byggja mikið á nýtingu lagardýra veita því miklum fjármunum í verkefni af þessu tagi. Á síðustu tveimur árum hefur verið sett mikið fjármagn í heilraðgreiningar á þorski og laxi í þessum löndum sem nýtast við margskonar rannsóknir í framtíðinni.

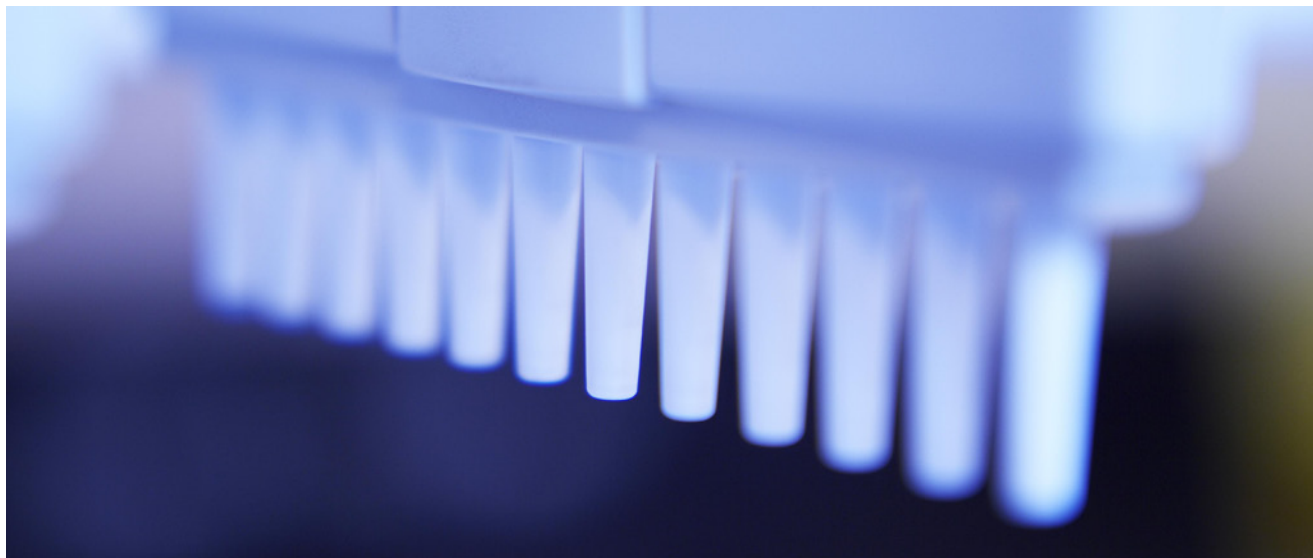


Framtíðarsýn Matís á notkun DNA greininga fyrir atvinnulífið

Í framtíðarsýn Matís sjáum við möguleika á því að stóraukin samvinna verði við Hafrannsóknastofnunina, Veiðimála-stofnun og háskólana með það að markmiði að nýta betur fjármuni, aðstöðu og þekkingu við erfðagreiningu á lagardýrum og hjálpa til við að svara spurningum um dýrastofna eða stofneiningar ásamt spurningum um rekjanleika. Erfðarannsóknur á eldisdýrum verður einnig haldið áfram til að geta veitt fyrirtækjum og einstaklingum betri þjónustu á því sviði.

Stefnt er að því að byggja upp þjónustu á næmni dýra gegn sjúkdómum sem eru til vandræða í eldi. Stöðugt bætist við þekkingu manna á erfðatengdum sjúkdómum og mun hún verða nýtt við uppbyggingu á rannsóknum og þjónustu fyrir fiskeldi. Einnig mun verða haldið áfram þróun á greiningum á sjúkdómsvaldandi bakteríum og veirum í dýrum með hraðvirkum aðferðum. Matís mun halda áfram að vinna í rannsóknarverkefnum sem tengjast lykilgenum (candidate genes) sem skipta máli í svipgerð og atferli dýra s.s. vexti og kynþroska. Haldið verður áfram með þróun greiningaraðferða fyrir fleiri tegundir bæði lagardýra og landdýra.





Heimildir

1. Skirnisdottir, S., et al., Isolation and characterization of eight new microsatellite loci 1 in the Norway lobster, 2 *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). *Molecular Ecology Resources*, 2010. 10: p. 751-754.
2. Jakobsdottir, K.B., et al., Nine new polymorphic microsatellite loci for the amplification of archived otolith DNA of Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Molecular Ecology Notes*, 2006. 6: p. 337-339.
3. Olafsson, K., et al., Novel set of multiplex assays (SalPrint15) for efficient analysis of 15 microsatellite loci of contemporary samples of the Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Molecular Ecology Resources*, 2009. 10: p. 533-537.
4. Skirnisdottir, S., et al., Characterization of 18 new microsatellite loci in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Molecular Ecology Resources*, 2008. 8: p. 1503-1505.
5. Kochzius, M., et al., DNA microarrays for identifying fishes. *Mar Biotechnol (NY)*, 2008. 10(2): p. 207-17.
6. Fridjonsson, O., et al., Detection and mapping of mtDNA SNPs in Atlantic salmon using high throughput DNA sequencing. Submitted, 2010.
7. Wong, E.H.-K. and H.R. Hanner, DNA barcoding detects market substitution in North American seafood. *Food Res Int*, 2008. 41: p. 828-837.
8. Glover, K.A., O.T. Skilbrei, and Ø. Skaala, Genetic assignment identifies farm of origin for Atlantic salmon *Salmo salar* escapees in a Norwegian fjord. *ICES Journal of Marine Science*, 2008. 65: p. 912-920.
9. Daníelsdóttir, A.K., et al., Population structure of deep-sea and oceanic *Sebastes mentella* in the Irminger Sea and the continental slope in Icelandic water: are they cryptic species? *Trans. Am. Fish. Soc*, 2008. 137: p. 1723-1740.
10. Stefansson, M.O., et al., Pleistocene genetic legacy suggests incipient species of *Sebastes mentella* in the Irminger Sea. *Heredity*, 2009. 102 p. 514-524.
11. Pampoulie, C., et al., A pilot genetic study revealed the absence of spatial genetic structure of the Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) at fishing grounds in Icelandic waters. *ICES Journal of Marine Science*, 2010; doi:10.1093/icesjms/fsq165.

