



TIL: ANIMALIA V/ FAGDIREKTØR FJØRFE KRISTIAN HOEL
FRA: ØIVIND ØINES, VETERINÆRINSTITUTTET

Deres ref.:

HØMIVAKK-PROSJEKT

Vår ref.:

Dato:

20.01.2009

FREMDRIFTS-RAPPORT PÅ PROSJEKT HØMIVAK -JANUAR 2009

Novel approach to identify vaccine candidates in the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) and molecular investigations of mite from Norwegian layer farm

Norsk tittel: En ny tilnærming for identifikasjon av vaksinekandidater hos rød hønsemidd *Dermanyssus gallinae* og molekylære undersøkelser av midd fra norske verpehønebesetninger.

Kort navn: HØMIVAK

Bakgrunn:

I juni 2008 gikk Animalia v/ Fagdirektør Kristian Hoel inn i en avtale med NVI v/undertegnede om å stå for det industrielle bidraget ved et eventuelt innvilget KMB-forskerprosjekt. I desember 2008 fikk Veterinærinstituttet beskjed at NFR hadde innvilget søknaden under FFL/JA (Forskningsavgift på landbruksprodukter Forskningsmidler over jordbruksavtalen). Prosjektet ble finansiert i henhold til finansieringsplanen som ble sendt inn sammen med søknaden.

Etter avtale mellom Animalia og Veterinærinstituttet, ble 217 000 utbetalt i desember 2008 som et forskudd på Animalia's bidrag for 2009. De gjenstående beløpene som Animalia forplikter seg til å bidra med, fordeler seg slikt: 2010: 353 000 nok og 2011: 346 000 nok.

Da det ble kjent at søknaden hadde blitt innvilget, begynte koordineringen av prosjekt. Selv om seksjonsleder Tor Atle Mo er den offisielle prosjektleder, har Øivind Øines stått for den praktiske koordineringen så langt. I slutten av 2008 begynte planleggingen av avtalene som skal på plass tidlig 2009. Dette prosjektet er delvis overlappende med et avsluttet internt prosjekt på Veterinærinstituttet som undertegnede har vært ansatt på i en begrenset periode. Noe av arbeidene i 2008 kan derfor tilskrives enten det interne prosjektet eller dette prosjektet (Hømvak).

Aktivitet i 2008: Litteratursøk har blitt gjennomført i ulike databaser og tidsskrifter. Relevante artikler til prosjektet har også blitt samlet. Noe planleggingstid ble brukt i forkant og under søknadsprosessen bl.a deltok undertegnede på et parasitt/hønemidd møte i Newcastle, der de fleste av partnerne møttes og diskuterte muligheten for en søknad. Undertegnede laget søknaden og sendte denne inn til NFR i juni. I laboratoriet har vi startet med DNA-ekstraksjon av prøver fra prøveinnsamlingen som Veterinærinstituttet har gjennomført med hjelp ifra Animalia. Vi har blitt prøvet ut ulike måter å ekstrahere ut DNA fra parasittene og vi har etablert en metode som gjør at dette kan gjøres på mange individer relativt raskt. Vi har forsøkt med metoder beskrevet i artikler, og vi har prøvet ut nye prosedyrer



utviklet i våre laboratorier i tillegg til å bruke kommersielle metoder. De metodene som har gitt best DNA utbytte fra flest enkeltindivider har blitt valgt for videre arbeid med DNA. På laboratoriet har noe av tiden blitt brukt på å få PCR metoder til å fungere. Etter at finansieringen var på plass, deltok også undertegnede på et DNA-vaksine møte; *DNA Vaccines 2008, "Advances in the Technology from the Bench to Animal Health to Clinical Application"* for å få etablert kontakt med relevante aktører innen DNA-vaksine feltet så tidlig som mulig, et viktig ledd for å få cDELI-eksperimentene til å bli mest mulig vellykkede.

Prosjektsammendrag HØMIVAK:

Dette prosjektet er skrevet som et utvidet post-doc prosjekt, og har som mål å undersøke genetiske signaturer på rød hønsemidd fra et utvalg av norske verpehønebesetninger. I tillegg til norske midd vil man inkludere prøver fra andre nordiske og europeiske land i analysene. Ved å analysere nye tilgjengelige genetiske markører, for eksempel sekvenser ifra Cytokrom oksidase 1 (CO1), håper vi å få informasjon om spredningen til rød hønsemidd i mellom gårder, men også om spredning innenfor gårdene.

I tillegg til dette vil man i prosjektet benytte seg av en nyutviklet metode for å finne vaksinemål mot denne parasitten. Nylig har en teknikk som kalles Expression Library Immunization (ELI) blitt brukt som et seleksjons verktøy for å identifisere vaksinemål for ulike infeksjonsykdommer som finnes i mus, gris, laks og andre organismer. Vi vil forsøke oss med denne tilnærmingen på rød hønsemidd som infiserer høner. En slik ELI-metodikk muliggjør undersøkning av alle proteiner som er tilstede i et "hel-genom" cDNA bibliotek. Denne teknikken vil benytte seg av inflammatorisk respons til plasmider som man har laget i cDNA biblioteket, hvor disse cDNA sekvensene har blitt koblet til en eukaryotisk promotor (for eksempel en CMV-promotor). Plasmidene vil deretter bli renset ut og injisert inn i en vert, hvor en inflammatorisk respons mot de uttrykte middproteinene kan initieres. Ved å isolere antistoffer (IgY) i eggeplommen ifra egg som disse inokulerte hønene har lagt, kan man gjennomføre in-vitro eksperimenter hvor midd vil bli foret med høneblod tilsatt disse antistoffene. Etter to uker vil man kunne se om det har blitt noen veksthemmende forandringer hos disse middene. Denne hemmende effekten på midd i forsøkene kan da skyldes tilstedeværelse av effektive antigener i den originale plasmidløsningen som man brukte for å lage antistoffene. Ved å stadig dele denne samlingen av plasmider videre inn i undersamlinger, kan man gjøre forsøk med et stadig mindre antall antigenkonstrukter, som muliggjør at man kan til slutt kan identifisere disse antigene. I dette prosjektet vil man forsøke å gjennomføre minimum fire nivåer av disse eksperimentene. Om tiden strekker til vil man kunne gjøre enda flere eksperimenter som vil muliggjøre uttesting av enda flere nivåer. Disse forsøkene vil gjøre det mulig å dokumentere om det finnes antigener fra disse middene som kan brukes for videre vaksineutvikling.

KMB-prosjektet gjennomføres ved Veterinærinstituttet og med utvidet samarbeid til forskermiljøer i Sverige og Skottland.

Med vennlig hilsen

Øivind Øines