

CRISPR-mediert knockout av immungen i atlantisk laks

Genmodifiserte dyremodellar med spesifikke gen-knockouts (KO) er nyttige for å kunne forstå genfunksjon eller sjukdomsmekanismer. CRISPR er ein presis og effektiv genredigeringsteknologi som mogleggjer utvikling av slike KO-modellar.

I denne studien har vi brukt CRISPR til å slå ut immunoglobulin M (IgM) i atlantisk laks. IgM er eit antistoff produsert av B celler (desse cellene har i tillegg B celle reseptorar beståande av IgM på celleoverflata), og er ein essensiell komponent i både det medfødte og erverva immunsystemet. Vi designa guide-RNA (gRNA) for dei to kopiane av IgM i laks. DNA-sekvensering viste gjennomsnittleg 95% mutasjonsfrekvens for begge IgM gena i KO-fisk.

For å undersøke effekten av KO på proteinnivå vart leukocyttar isolert frå blodprøvar (tatt av ~500 g fisk) og analysert med flow cytometry. Her brukte vi IgM-spesifikke antistoff for å detektere antallet IgM positive (+) B celler i ikkje-redigert kontrollfisk versus IgM KO-fisk. Vi fann stor skilnad mellom gruppene: kontrollfisken hadde gjennomsnittleg 27% IgM+ B celler, medan IgM KO-fisken hadde kun 3% IgM+ B celler, noko som representerer ein reduksjon på heile 91%.

Utvikling av ein slik KO-modell kan bli eit verdifullt verktøy for å studere rolla til B cellene, og deira interaksjon med diverse patogen. B celler og antistoff er også særleg assosiert med immunologisk minne, og denne KO-modellen kan difor ha potensiale for å bidra til utvikling av meir effektive vaksinar.

Vi har òg generert ein interferon gamma (IFN γ)-KO modell. IFN γ er eit cytokin som er sentralt ved virusinfeksjon. Denne modellen kan difor bli nyttig for framtidige studiar av virussjukdommar i laks.

Resultata våre viser at CRISPR er ein effektiv teknologi for utvikling av genredigerte dyremodellar som kan bidra til å auke kunnskapen om immunsystemet hos viktige akvakulturartar som laks.