

Genomikai eszközökkel támogatott szelekció: Mit tanulhat a harcsa program a tengeri sügértől?

Orbán László

Reproductive Genomics Group,
Temasek Life Sciences Laboratory,
Singapore

Több ember, kevesebb hal

A Föld lakossága: >7 milliárd

Kiürülő óceánok



Source: National Geographic
endoftheline.com

Reproductive Genomics Group, TLL

Cél: A haltenyésztés fejlesztése a genomika eszközeinek felhasználásával



Projektek:

- Elit tenyészvonalak kifejlesztése genomikai szelekcióval;
- Az ivar és ivarváltás genetikai szabályozása a zebradánió modell segítségével;
- A sárkányhal szaporodásbiológiája;
- Pontyfélék pikkelymintázatát befolyásoló genetikai faktorok.

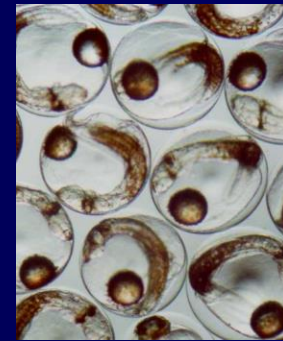


A hal genomika kihívásai

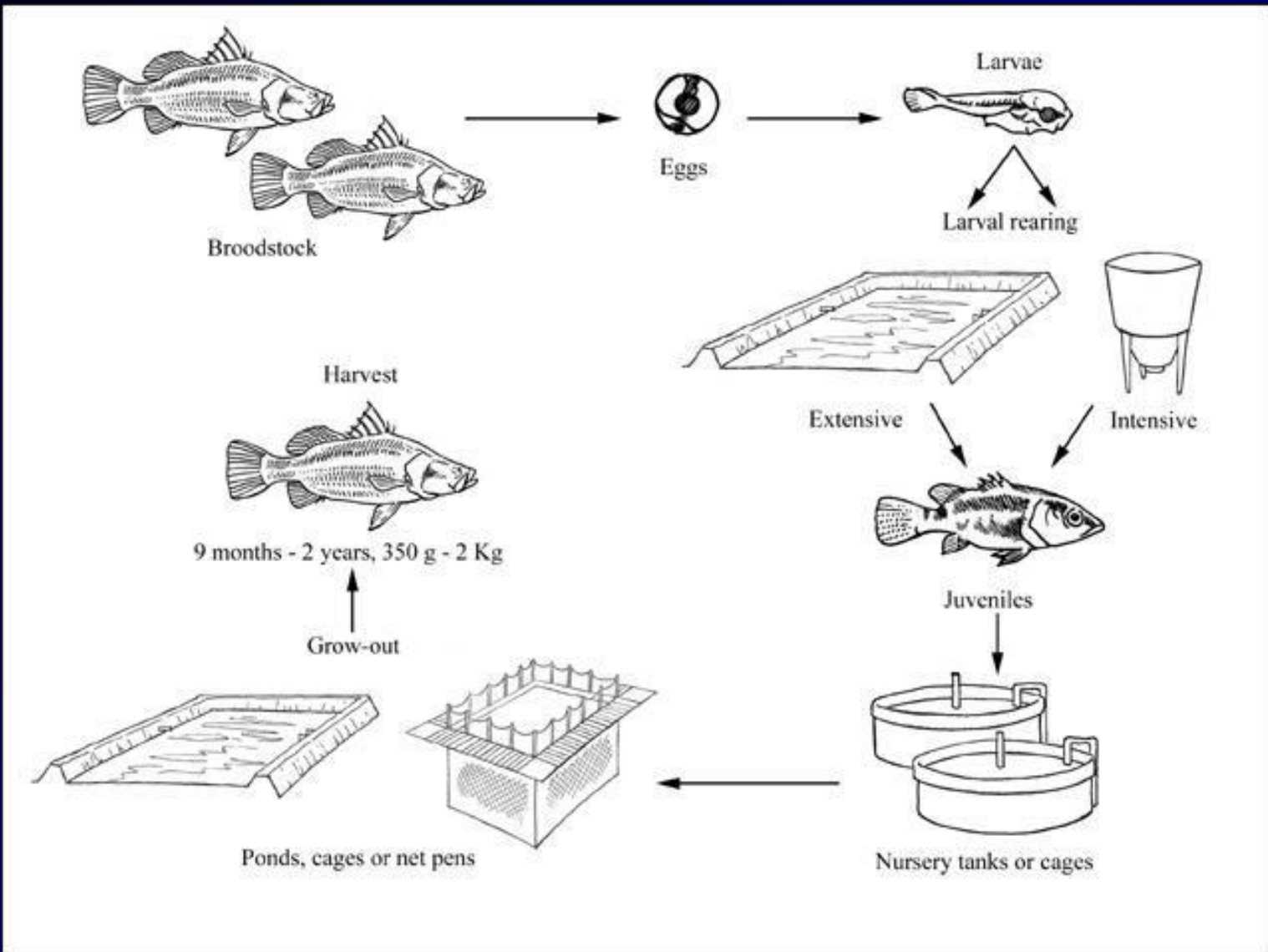
	Emlősök	Halak
Közös ős:	100 m. éves	240 m. éves
Fajok száma:	<6 ezer	>34 ezer
Tenyésztett fajok:	Tucatnyi	~100
Technológia transzfer:	Könnyebb	Nagyon nehéz
Genomok hasonlósága:	Nagy	Alacsonyabb
Genomok komplexitása:	Magas	Magasabb
K+F:	Előrehaladott	Indulóban (kivéve lazac)

Ázsiai tengeri sügér (*Lates calcarifer*)

- Barramundi (AUS);
- Katadróm ragadozó;
- Protandriás hermafrodita;
- Nagy területet foglal el;
- Többnyire kisebb farmokon tenyésztik;

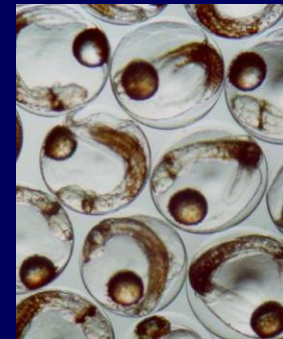


Így tenyésztik a tengeri sügeret



Ázsiai tengeri sügér (*Lates calcarifer*)

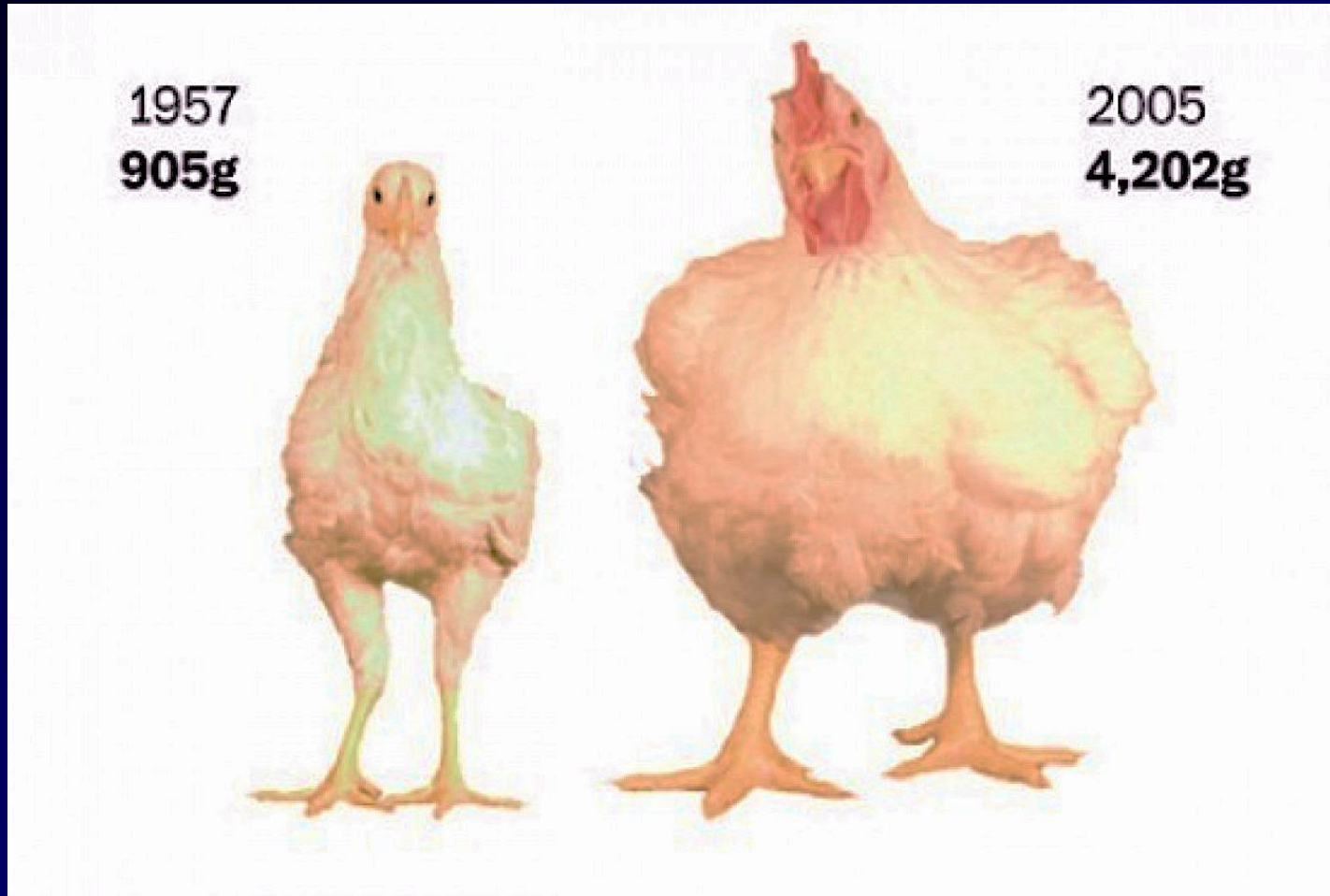
- Barramundi (AUS);
- Katadróm ragadozó;
- Protandriás hermafrodita;
- Nagy területet foglal el;
- Többnyire kisebb farmokon tenyésztik;
- TLL-AVA együttműködés: Szelekcós program - F3 generáció;
- Növekedési erély.



A legfontosabb kérdések

- Miért van szükség markerekkel támogatott szelekcióra?
- Minek ehhez a genom?
- Miért fontos a megfelelő kiindulási állomány?
- Hogyan lehet sok családot tesztelni egyszerre?
- Milyen eredményeket remélhetünk?

A baromfi utat mutat



Havenstein et al., Poultry Science 82: 1500-15098 (2003);
Zuidhoff et al., Poultry Science 93: 1-93 (2014)

A legfontosabb kérdések

- Miért van szükség markerekkel támogatott szelekcióra?
- Minek ehhez a genom?

Mi a genom?

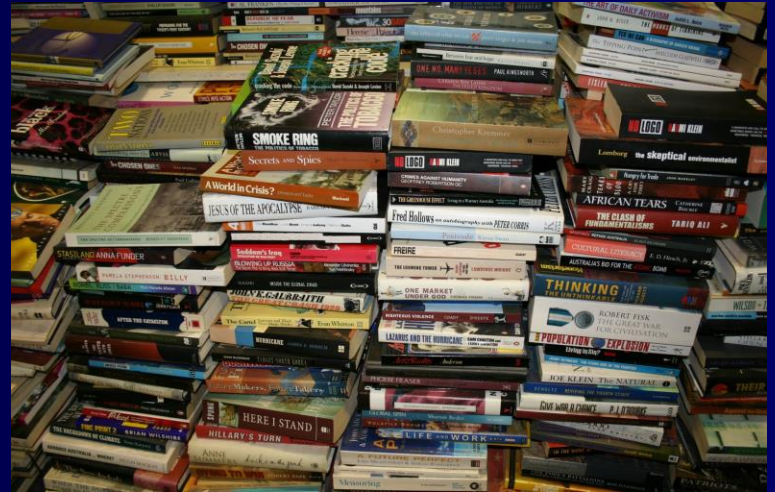
Egy faj teljes genetikai információja.

Miért kell megszekvenálni?

EI kell olvasnunk a szöveget, hogy megértsük a történetet. Családi könyvtár...

Hogyan?

Kifejezéseket, mondatokat, esetleg rövidebb bekezdéseket olvasunk el és megpróbáljuk 'összeragasztani' őket.



Poligénes öröklődés

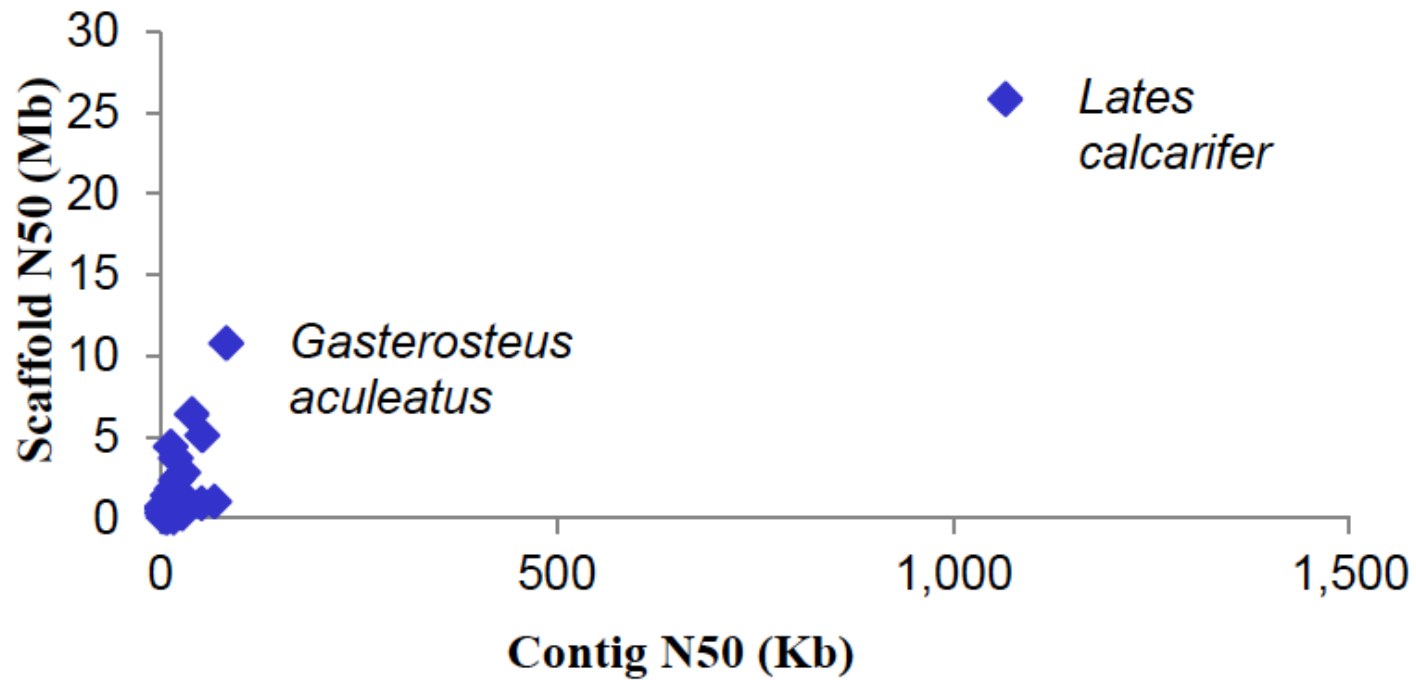
- A növekedés és a betegségek elleni rezisztencia - poligénes (multifaktoros) öröklődés;
- Emberi magasság >100 lókuszt (gén);
- Mint sok-sok villanykapcsoló...
- Alzheimer, skizofrénia - hagyományos eszközökkel nehéz...



A szelekciós eljárások evolúciója

- 1) **Hagyományos:** lassú és munkaigényes; általában családokon alapul;
- 2) **Markerekkel támogatott:** gyorsabb, nagyobb felbontású és hatékonyabb;
- 3) **Genomikai:** gyors és igen magas felbontású; halakon most kezdik alkalmazni.

Az eddigi legjobban összerakott hal genom...



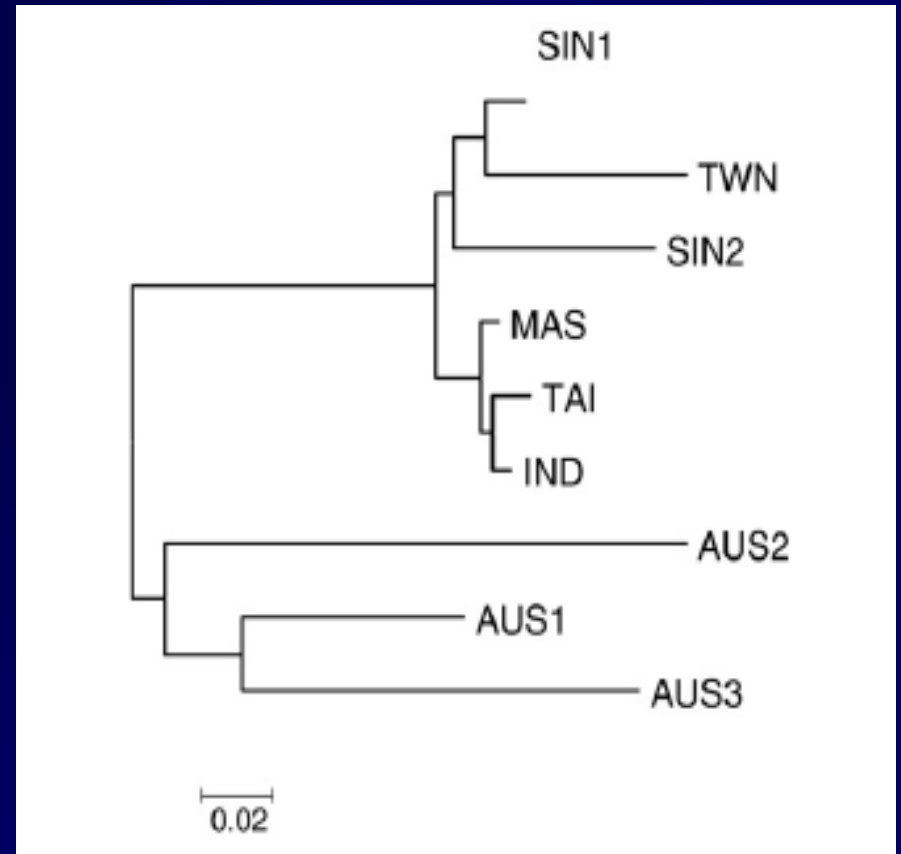
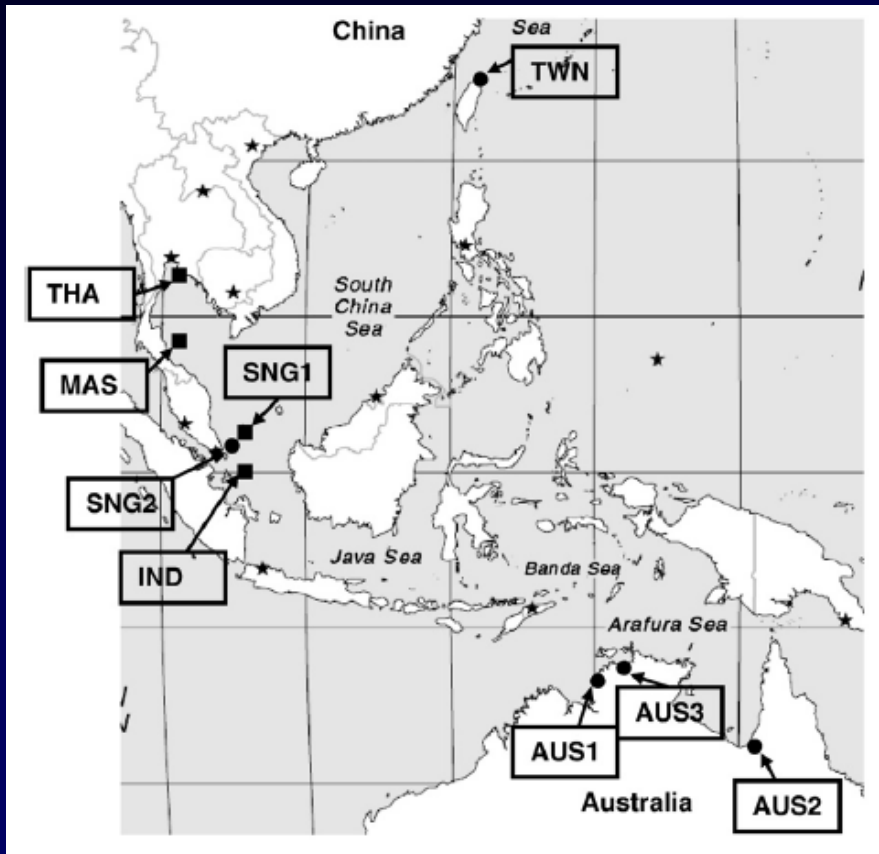
A genomszekvenciák lehetséges előnyei

- Fehérjéket kódoló régiók;
- Ismétlődések;
- Szabályozó régiók, kaszkádok;
- Összehasonlító-evolúciós genomika;
- Új eljárások...

A legfontosabb kérdések

- Miért van szükség markerekkel támogatott szelekcióra?
- Minek ehhez a genom?
- Miért fontos a megfelelő kiindulási állomány?

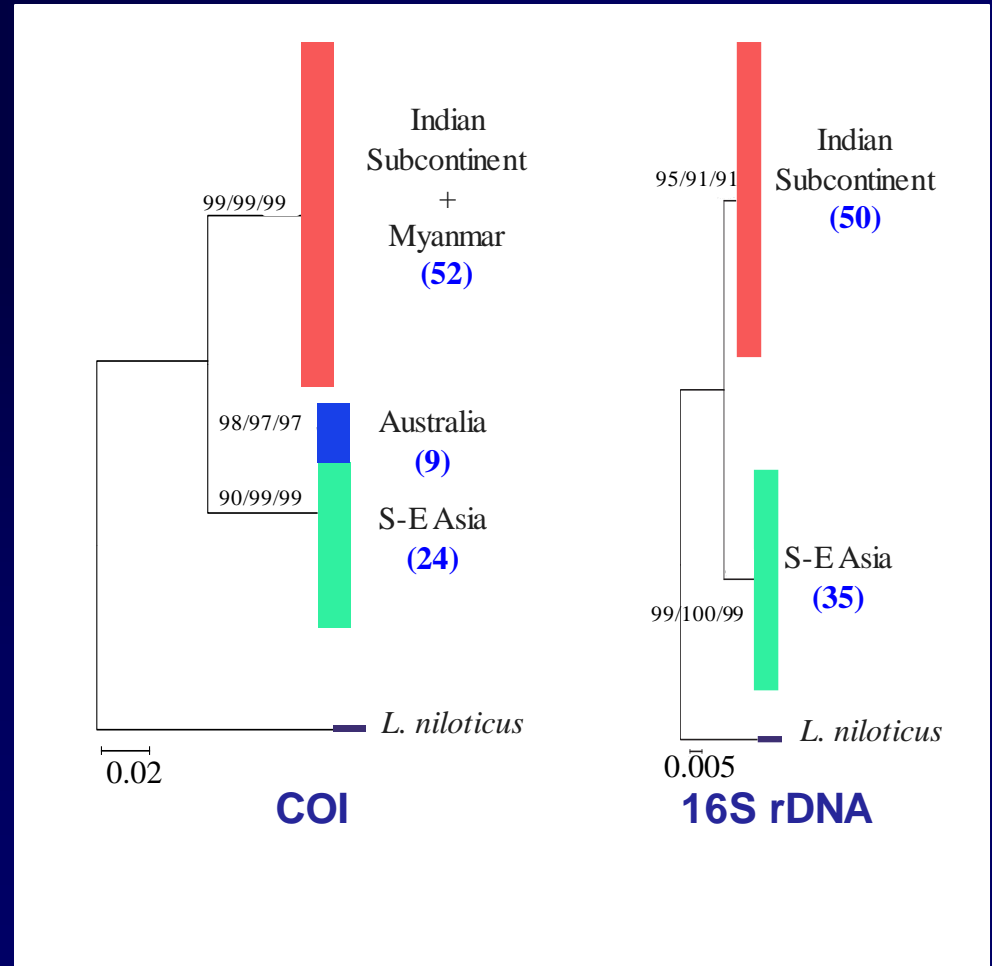
Tengeri sügér populációk genetikai rokonsága



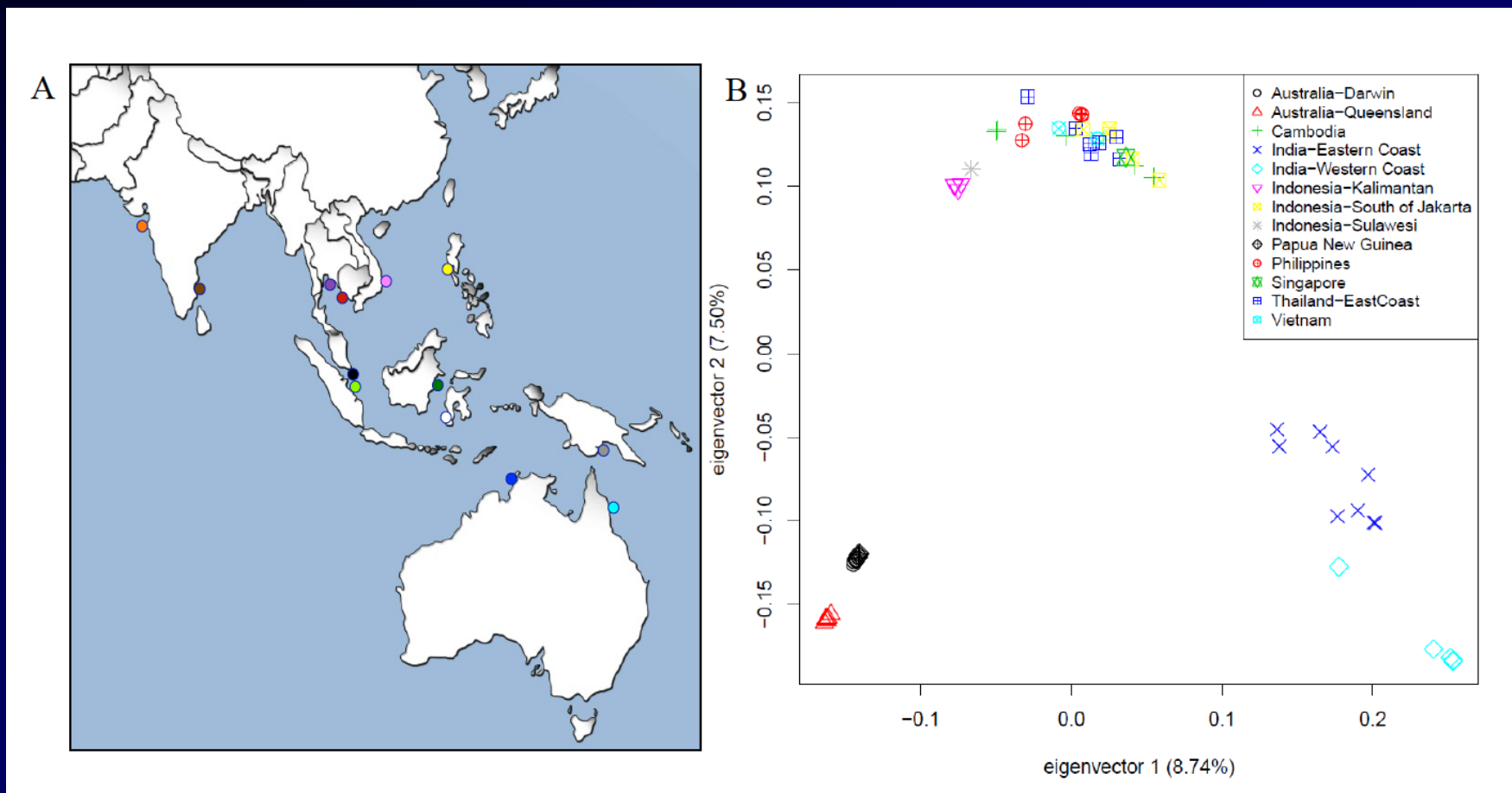
Molekuláris jelzések -> az Ázsiai tengeri sügér több fajból állhat



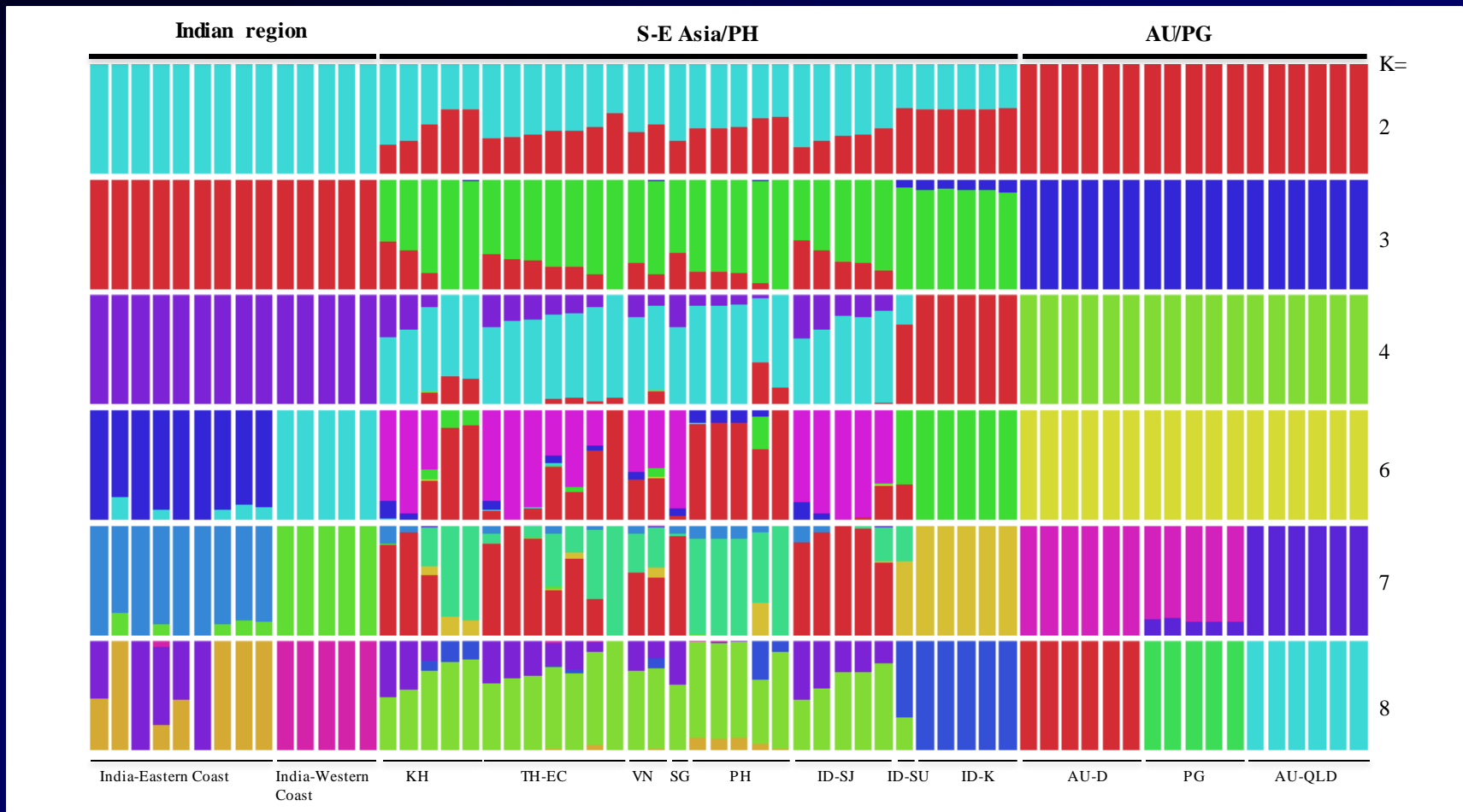
Ward et al., J. Fish Biol. (2008);
Pethiyagoda & Gill, Zootaxa (2012)
Vij et al., Frontiers Marine Science (2014)



Genomok újraszekvenálása bizonyítja a több faj meglétét...



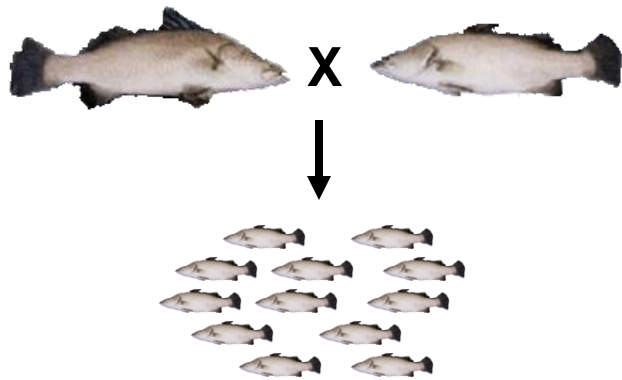
... és láthatóvá teszi az introgressziót



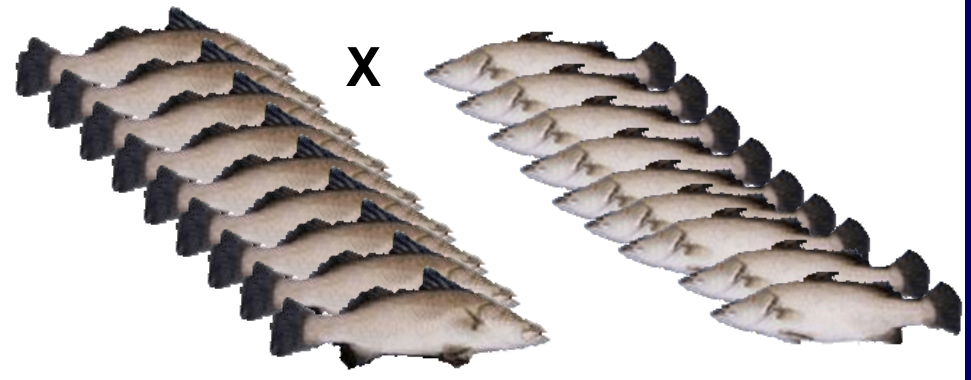
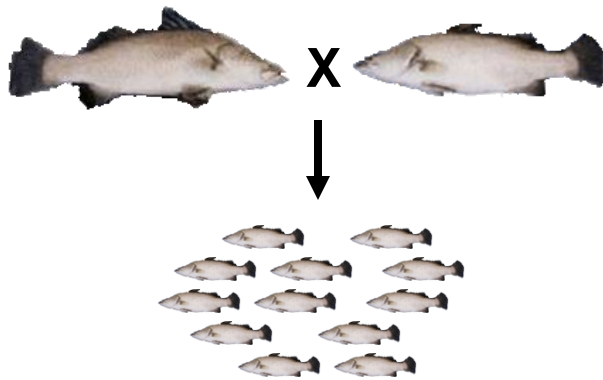
A legfontosabb kérdések

- Miért van szükség markerekkel támogatott szelekcióra?
- Minek ehhez a genom?
- Miért fontos a megfelelő kiindulási állomány?
- Hogyan lehet sok családot tesztelni egyszerre?

Hagyományos és modern szelekció



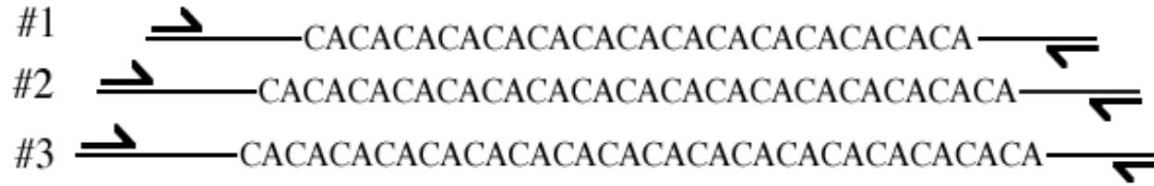
Szülőpárok;
Családok analízise



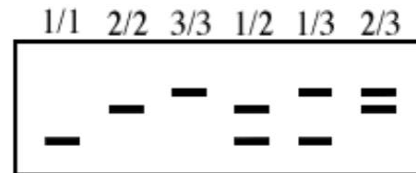
Csoportos keresztezések (25 X 25);
Top 1-5% kiválasztása;
A szülők azonosítása genotipizálással.

Mikroszatellitek: amikor a genom ‘csuklik’

ALLELES



GENOTYPES



Szülő-utód kapcsolatok azonosítása, kriminológia, stb.

Különböző allélfrekvenciák a populációkban.

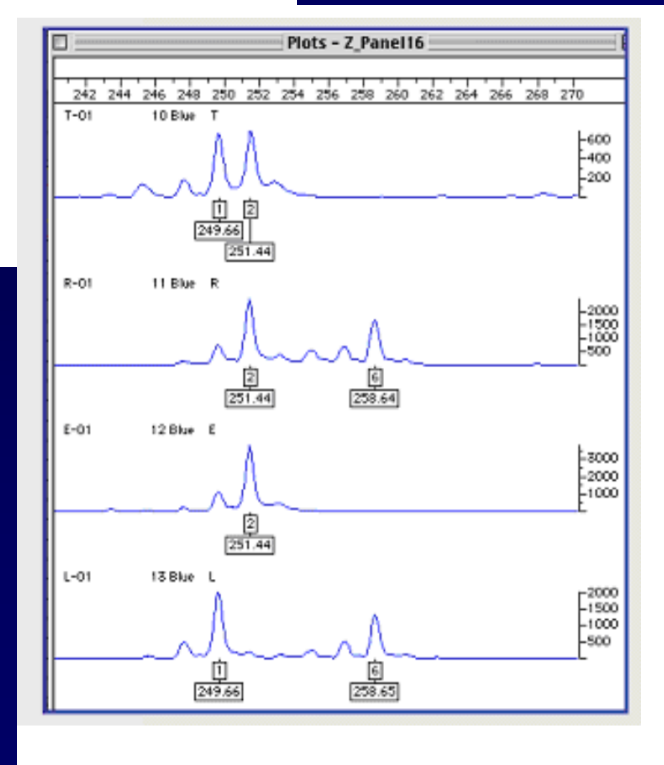


Image: <http://www.informatics.jax.org/silver/figures/figure8-10.shtml>

Image: <http://www.lifesciences.sourcebioscience.com/genomic-services/faq/microsatellite-genotyping/>

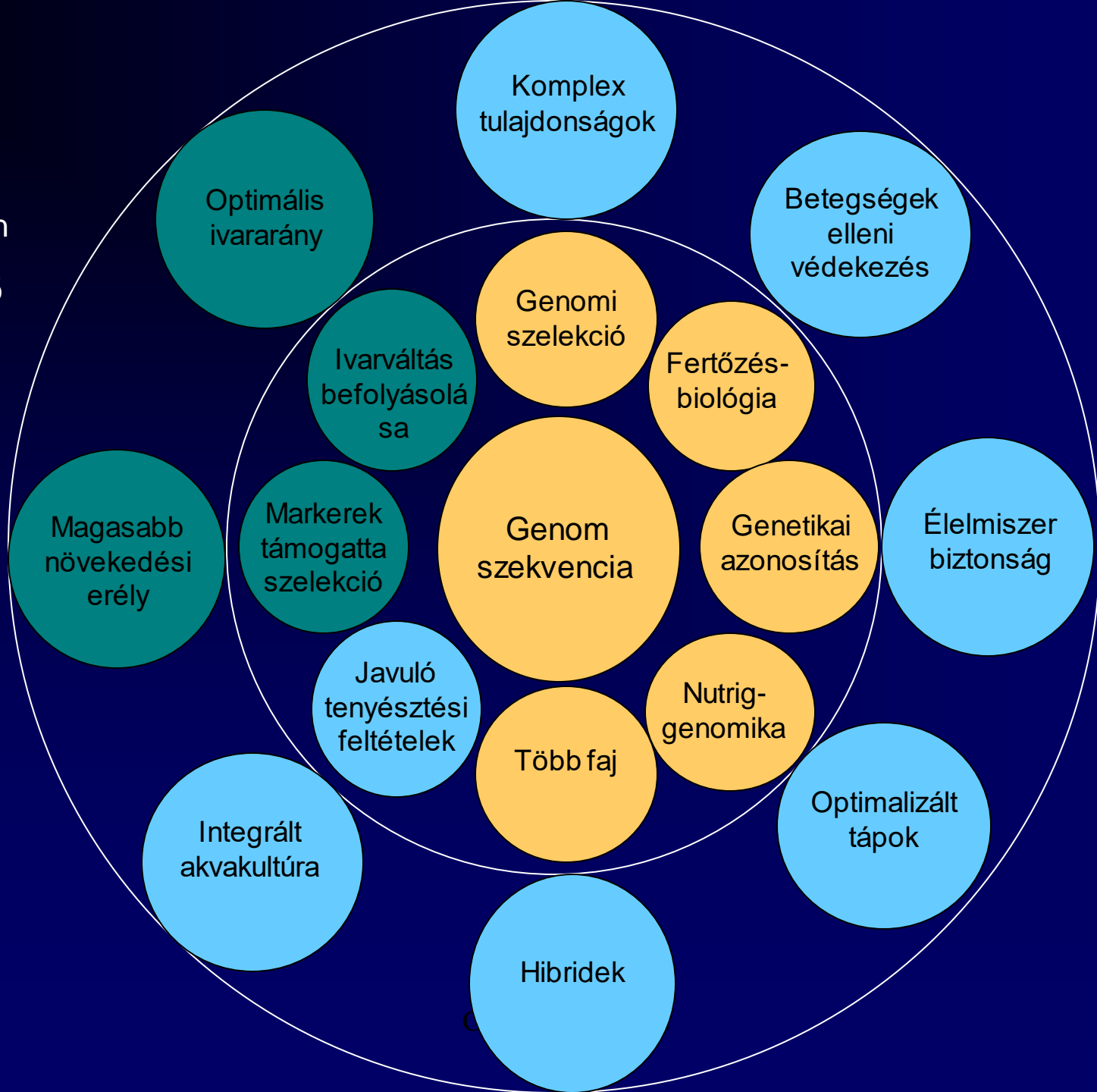
A legfontosabb kérdések

- Miért van szükség markerekkel támogatott szelekcióra?
- Minek ehhez a genom?
- Miért fontos a megfelelő kiindulási állomány?
- Hogyan lehet sok családot tesztelni egyszerre?
- Milyen eredményeket remélhetünk?

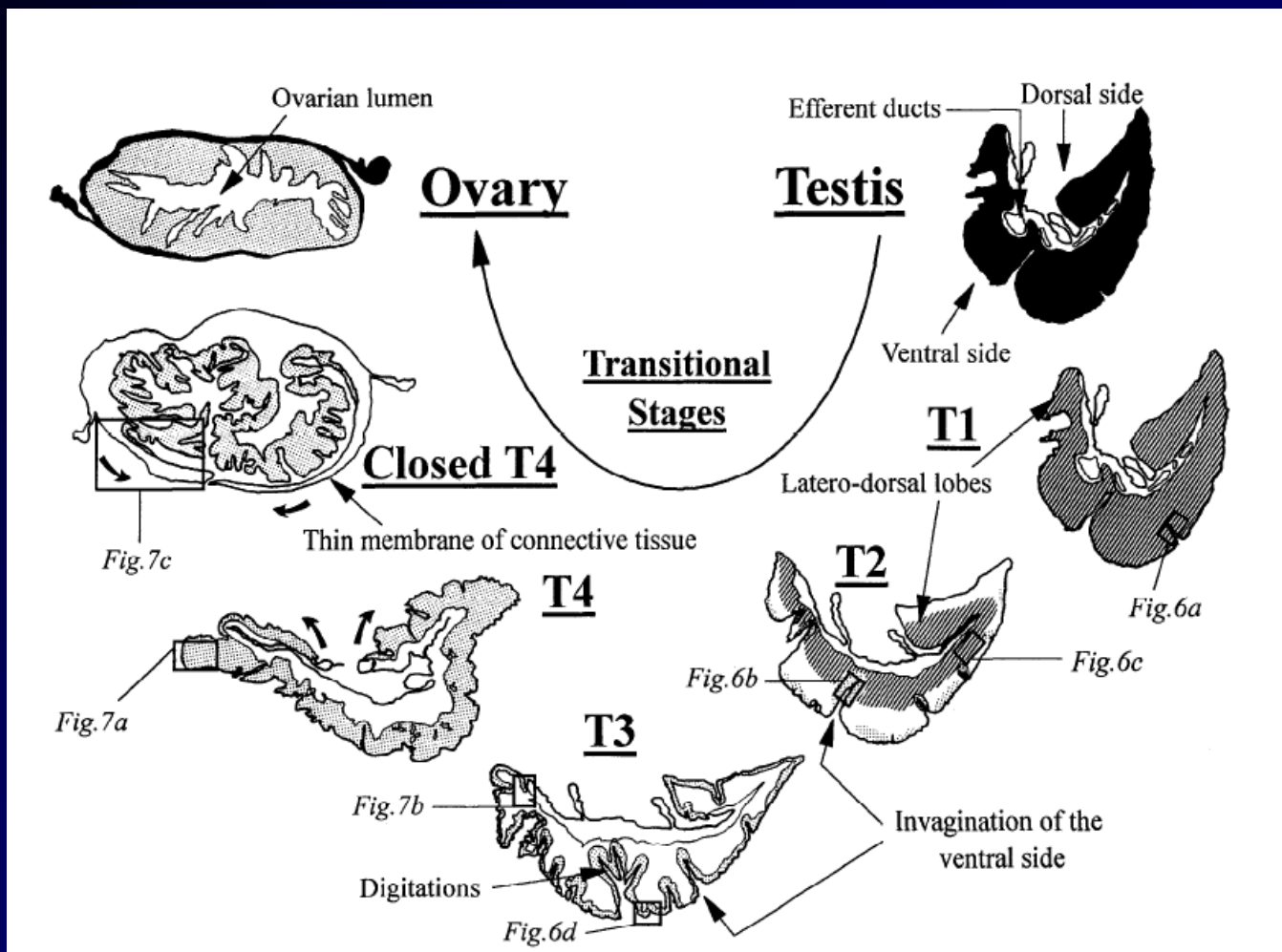
Genomikai platformok

- Polimorf DNS markerek;
- SNP chipek;
- RNAseq;
- Genotipizálás szekvenálással (GBS);
- Újraszekvenált genomok;
- stb.

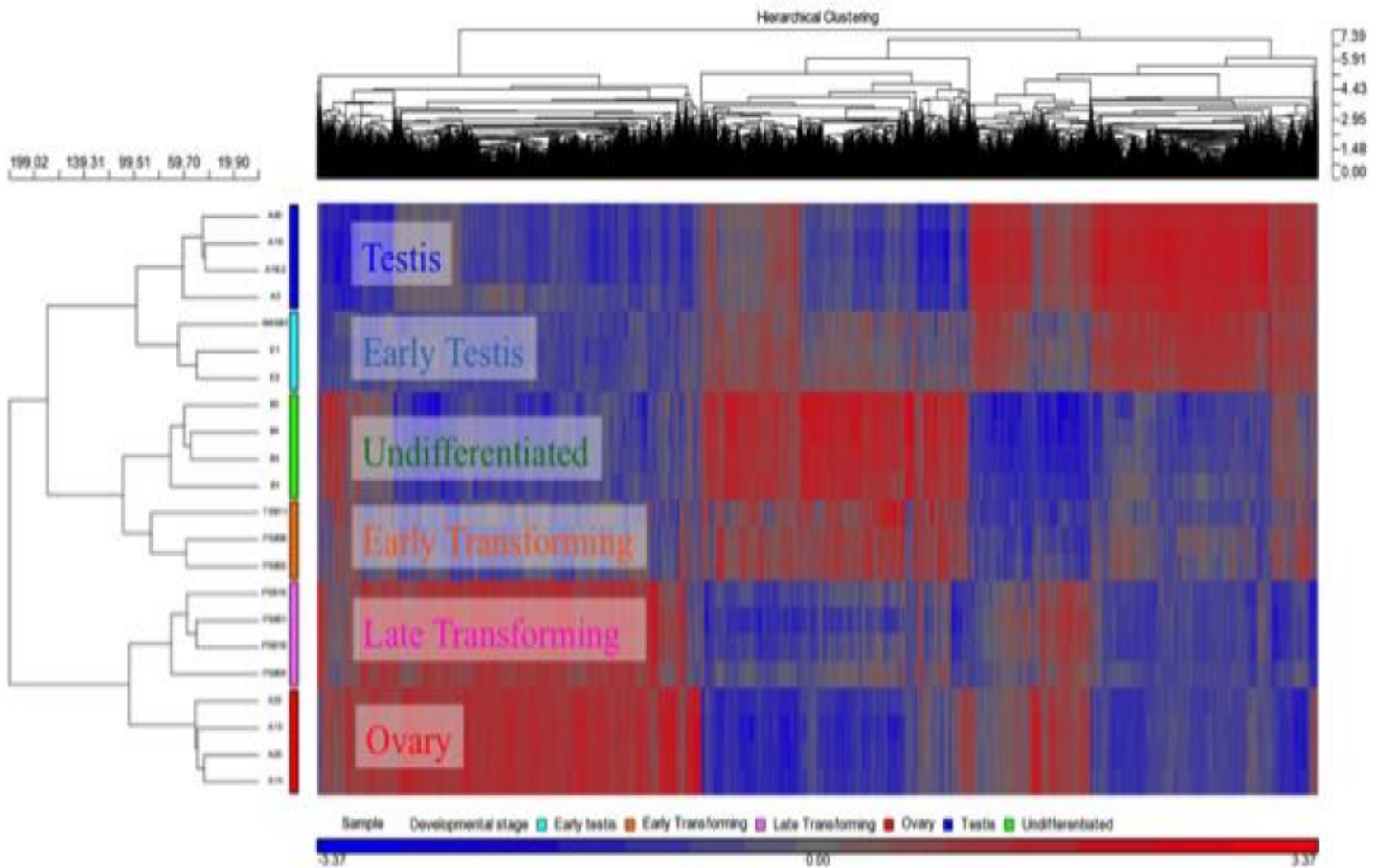
- Múlt
- Jelen
- Jövő



Ivarváltás Ázsiai tengeri sügérben

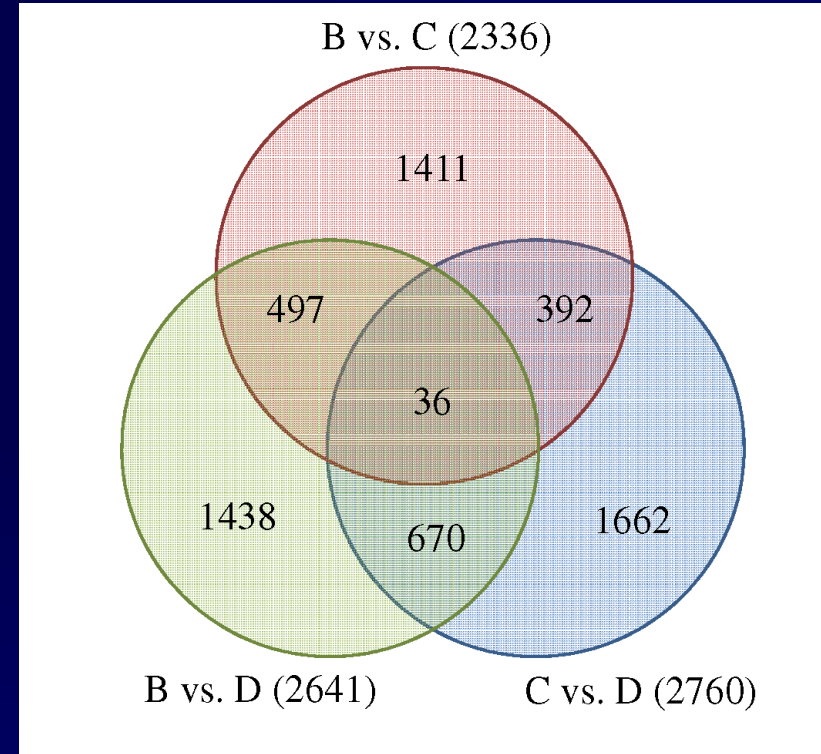
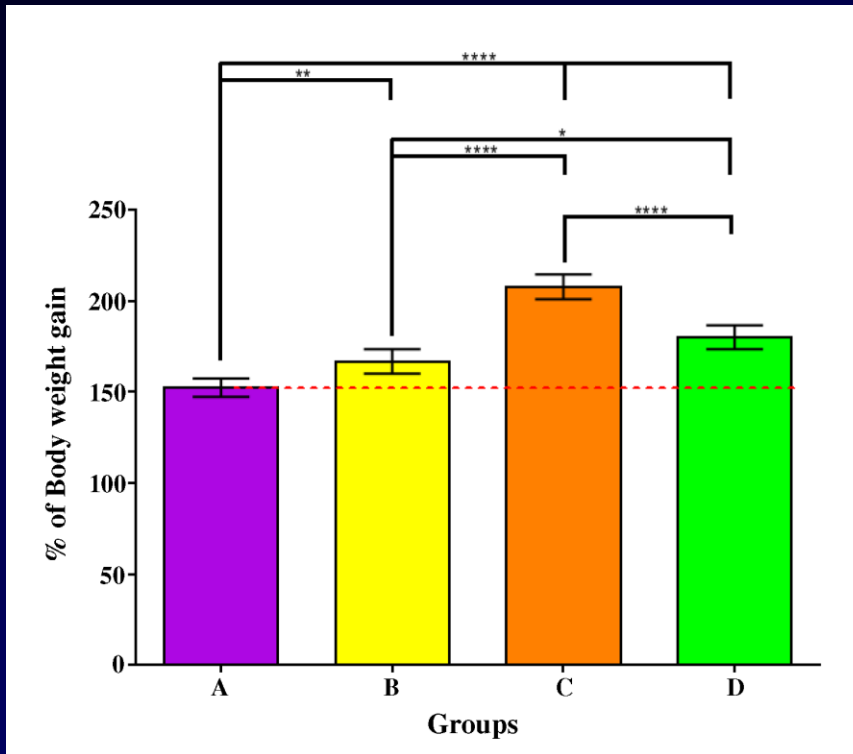


Furcsa kivételek: 'dacos' tejések és 'rohanó' ikrások



Expressziós csip: Az átalakuló here 'visszatér a gyökerekhez'...

Nutrigenomika: a hal és táplálék viszonyának jobb megértése



A mesterséges tápokkal etetett hal jobban nő, de húsának tápértéke csökken - a genomika itt is segíthet...

Mi kell a harcsa szelekciós programhoz?

- Összefogás;
- Alapos tervezés;
- A klasszikus és molekuláris megközelítés harmóniája;
- Elkötelezett kutatók és lelkes diákok;
- Változatos, 'vad' genetikai állomány;
- Genomikai eszközök;
- Megfelelő támogatás.

Mi a várható haszon?

- A hazai állomány genetikai felmérése (és az egész régióé);
- A technológia fejlesztése és egységesítése;
- Gyorsabban növekvő vonalak;
- Rezisztens vonalak;
- Robosztusabb harcsaállomány;
- Más fajokra is alkalmazható program.

Hasonló jókat mindenkinek...



In collaboration with local and international teams

Singapore:

Orban lab (TLL)

You lab (TLL)

TLL seabass team (@MAC)

TLL tilapia team (@SRS)

MAC (AVA)

Temasek Polytechnic

Five fish farms

International (11 countries):

1. SANBI (South Africa)

2. Dobzhansky Ctr (Russia)

3. CSH Lab (USA)

4. Max Planck Inst. (Germany)

5. Saint Petersburgs SU (Russia)

6. PacBio (USA)

7. IMCB – RAS (Russia)

8. U. East Anglia (UK)

9. TGAC (UK)

10. CIBA (India)

11. JCU (Australia)

13. SANBI (South Africa)

14. CSIR-IGIB (India)

15. Nova SE Univ. (USA)

16. U. Toronto (Canada)

17. Hosp Sick Kids (Canada)

18. U. Pannonia (Hungary)

19. Murdoch Univ. (Australia)

Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*)

- A close relative of Nile tilapia;
- Viable, fertile hybrids;
- Short generation time:
5-6 months (seabass: 4
years);
- Higher salt tolerance...
- however, much slower growth,
than Nile tilapia.



Outline

- Introducing the two fish species and the selection programs;
- **Genome projects;**

Asian seabass genome – what was known

Genome size: 700 Mb (ca. 400 books)

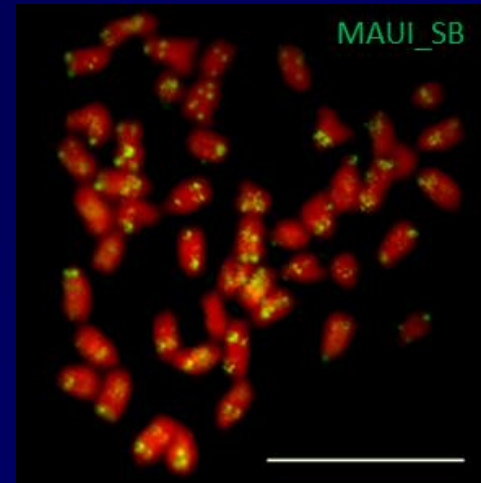
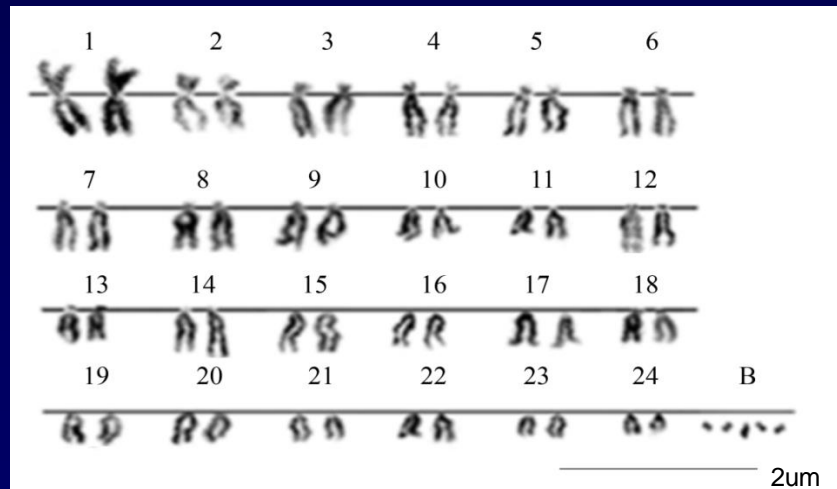
$2n = 48$

Genetic linkage map (high density)

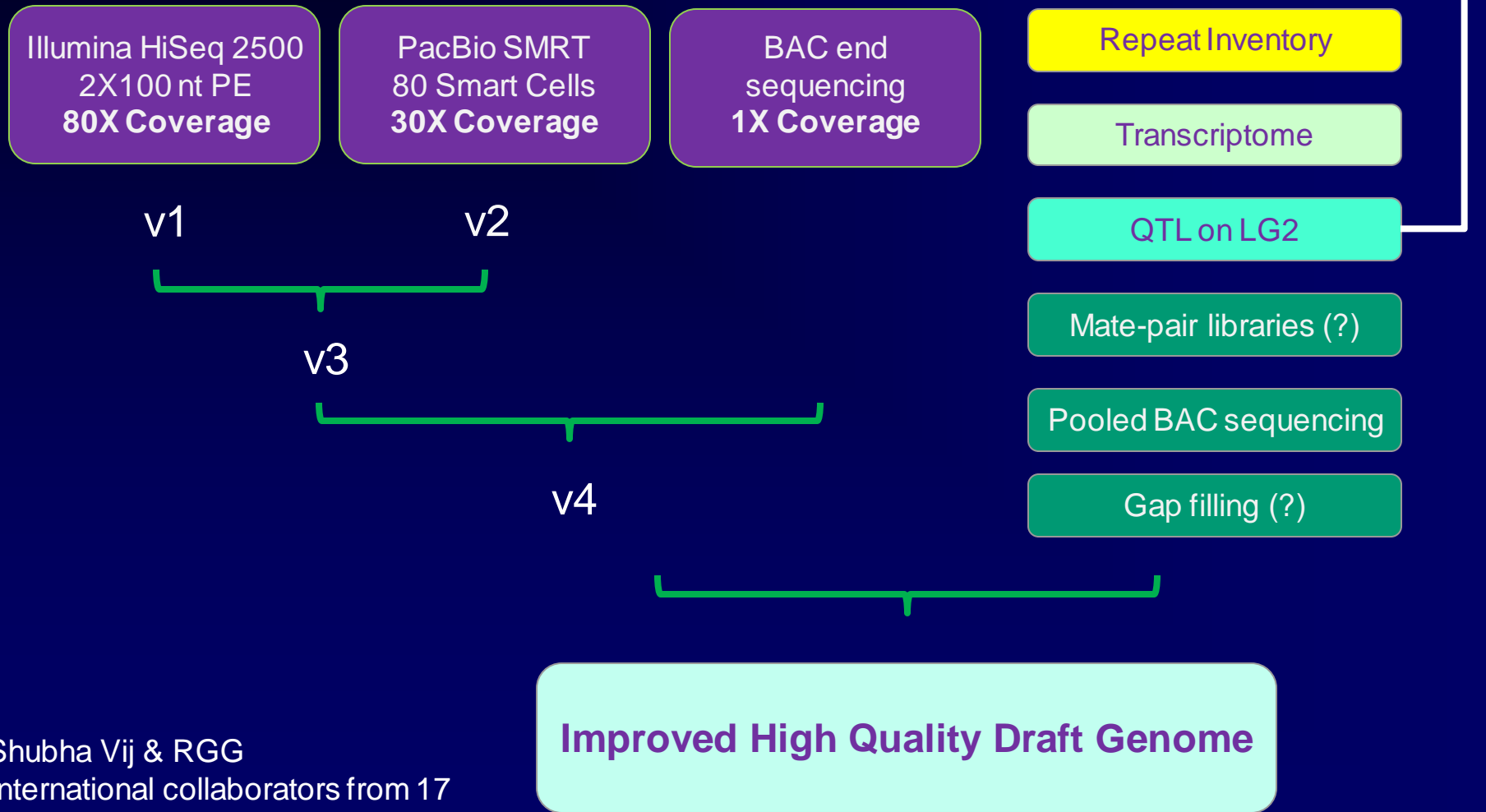
Physical map

Expected gene count: 26,000-27,000

Repeat inventory



Asian seabass Genome Assembly Plan



Shubha Vij & RGG
International collaborators from 17
organizations and 11 countries

Asian seabass - Genome Sequence Datasets

Illumina

HiSeq

2X100 nt PE

500&750 bp

80X

coverage

PacBio

SMRT

~4 kb avg read
length

~10 Kb library

30X

coverage

PacBio

SMRT

~8 kb avg read
length

~20 Kb library

60X

coverage

Sanger

seq

Two BAC
libraries-

~120 kb insert

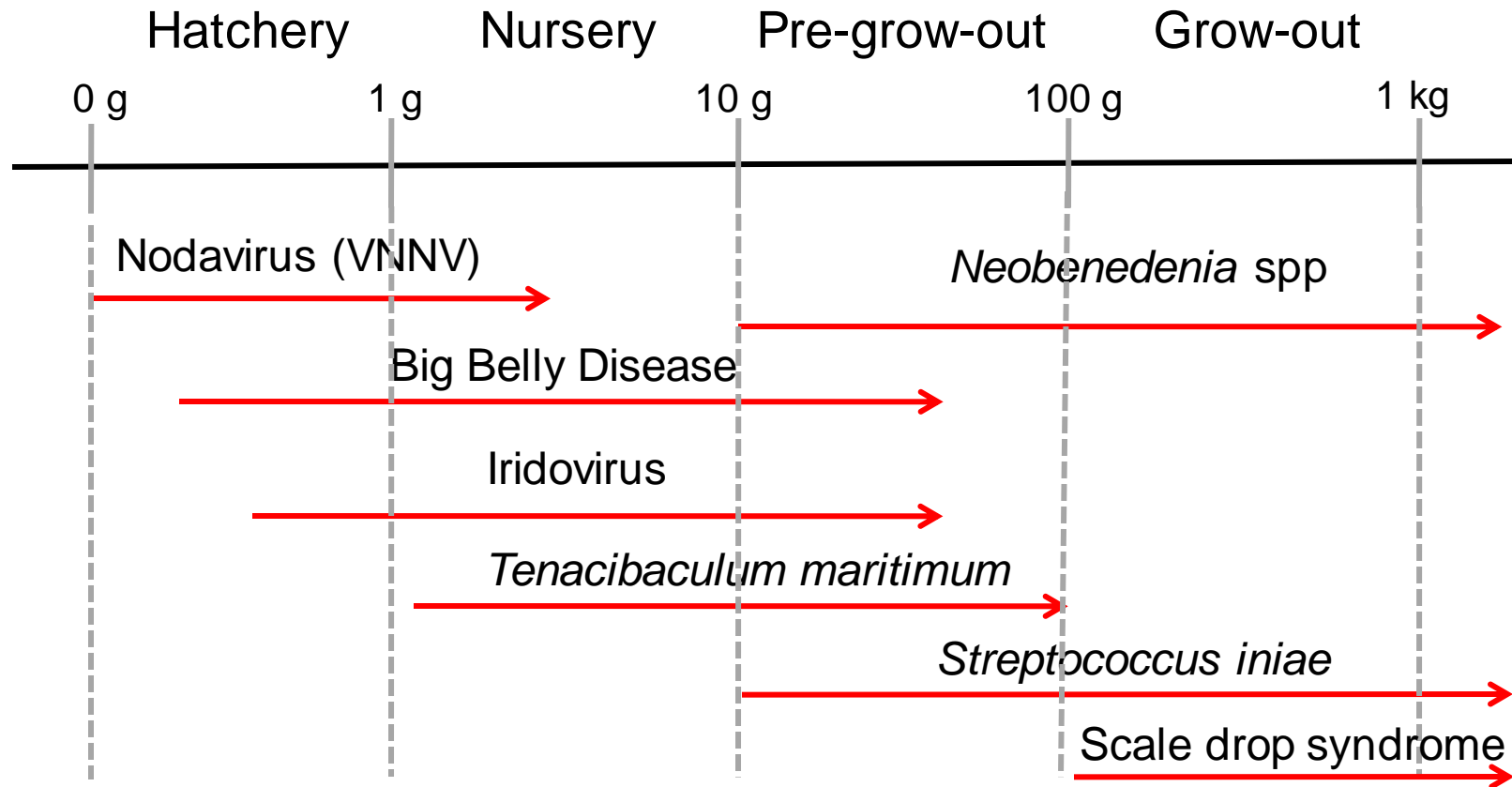
11.5K seq

1X coverage



A partially inbred Asian seabass
individual

Diseases of the Asian seabass



Adapted from:

- 'Diseases and vaccination strategies in Asian sea bass' by C. Komar*, Z. Tan L. Grisez L. Labrie, E. Ho (Intervet Norbio Singapore) & B. Wahjudi*, A. Michel (PT Fega Marikultura)
- 'Disease of *Lates calcarifer*' Susan G. Kueh

Developing disease-resistant seabass lines

Goal: identify offspring individuals from mass crosses with higher level of tolerance against pathogens

Tools: advanced genomic platforms based on sequenced genome

Main approaches:

A) Lab-based trials: small scale, well-controlled, single pathogen, disease development

A) Farm-based trials: larger scale, multiple pathogens, 'morphing' from one disease to another

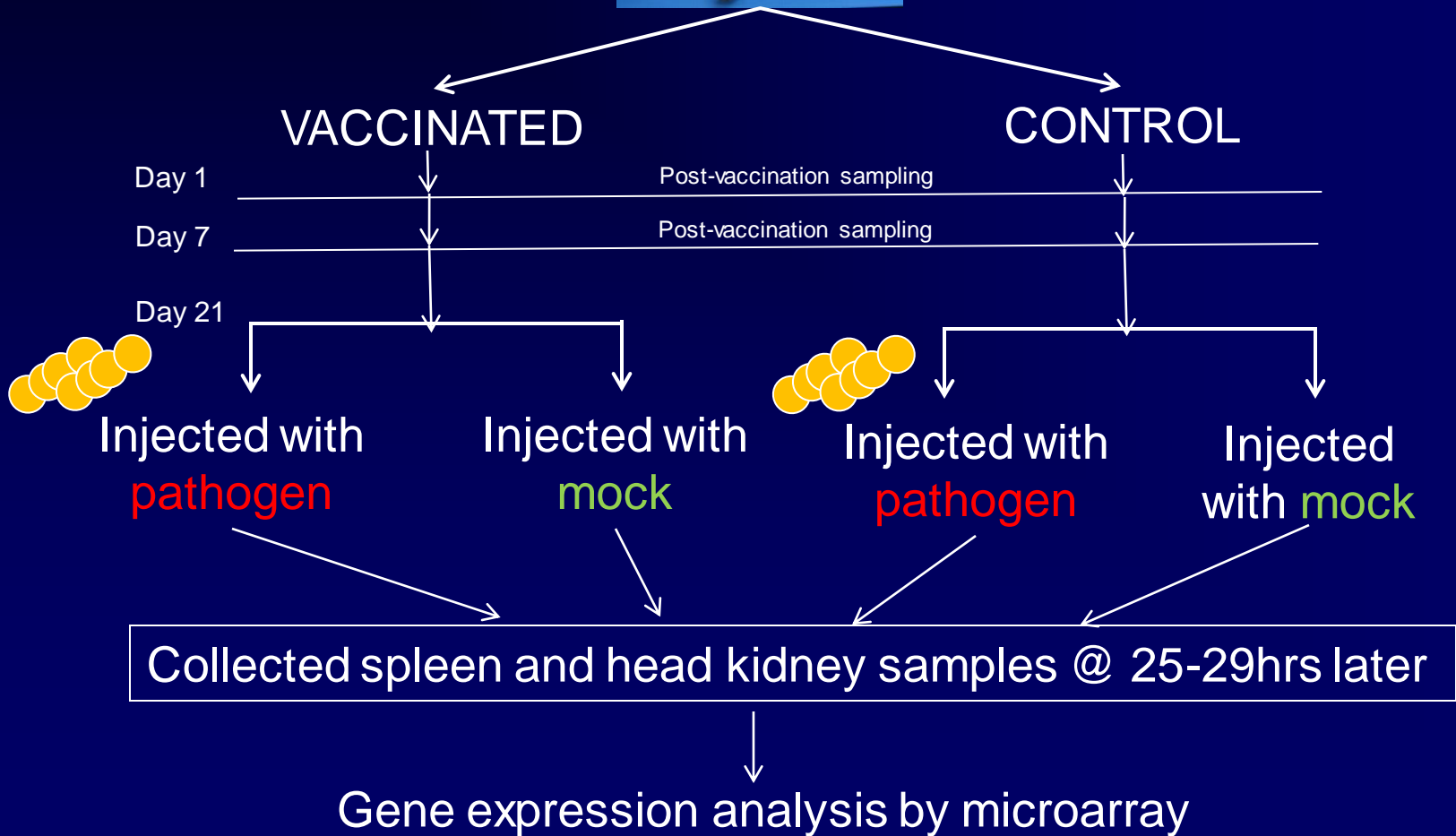
Complimentary strategies for disease studies

	Lab-based	Farm-based
Control:	high	low
Pathogen:	single	multiple
Number of fish:	few hundred	20K
Infection timing:	known	estimated
Following progress:	manageable	difficult
Resistant line:	difficult	easier (?)

Experimental Setup



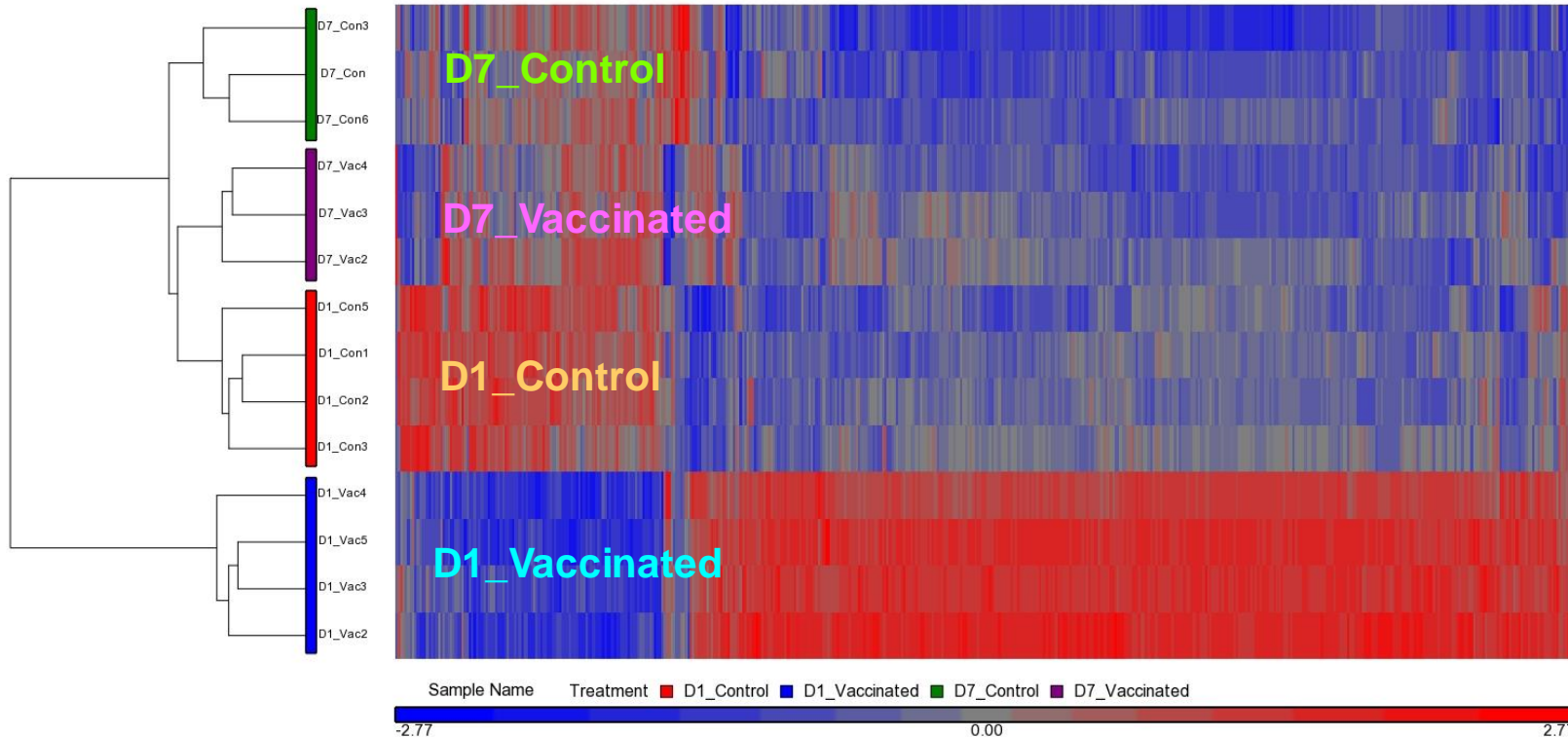
A. seabass juveniles
3 months old (~20g)



Transient change in spleen transcriptome after vaccination

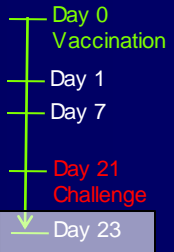
Based on 498 genes, p-value (Treatment) with FDR <0.05

43.10 30.17 21.55 12.93 4.31



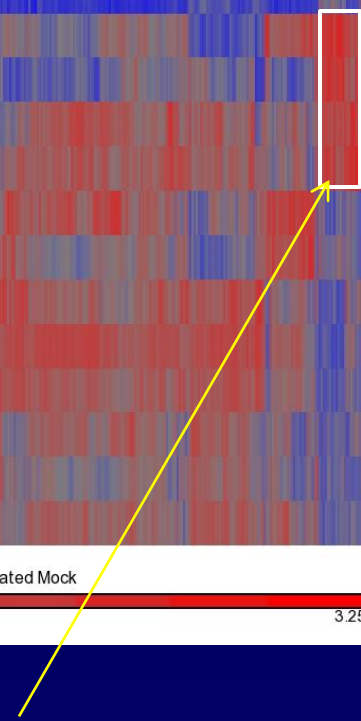
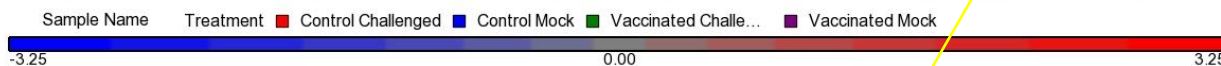
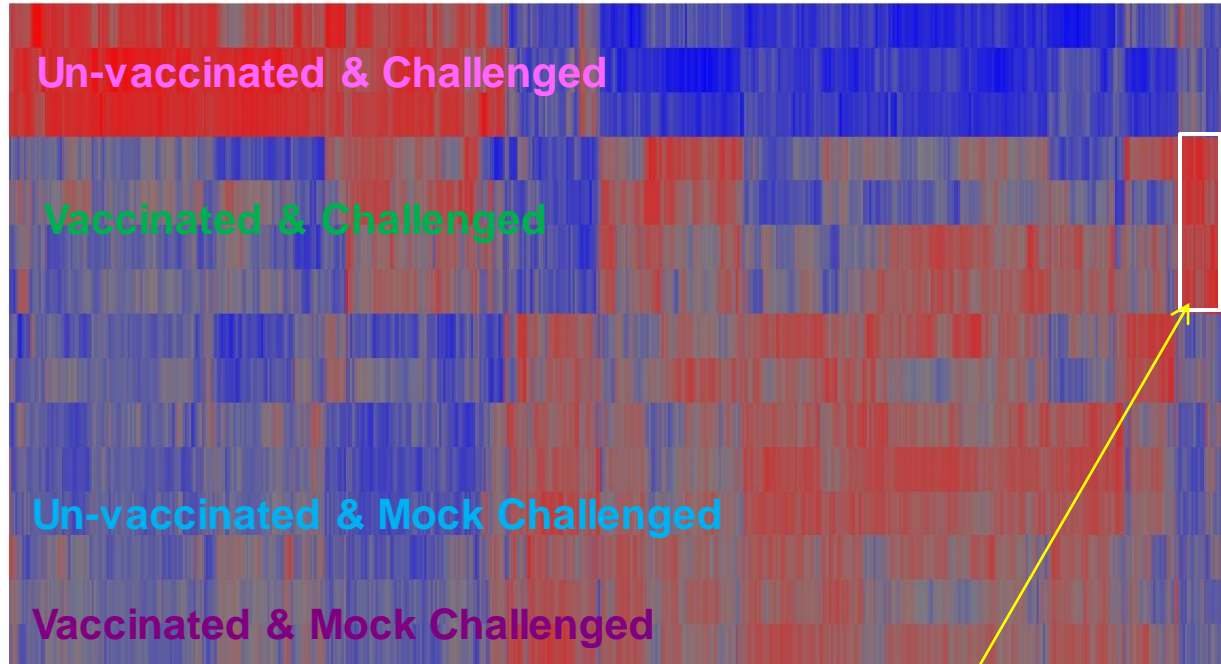
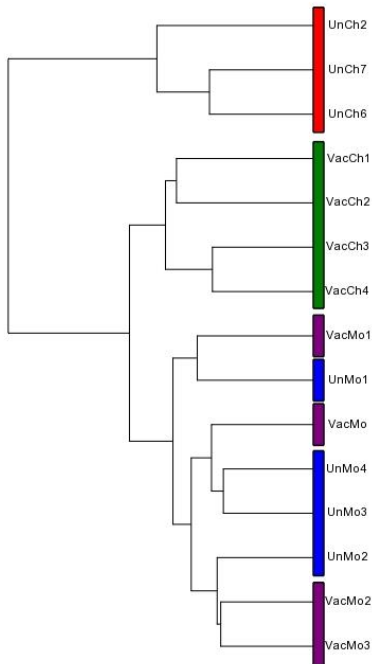
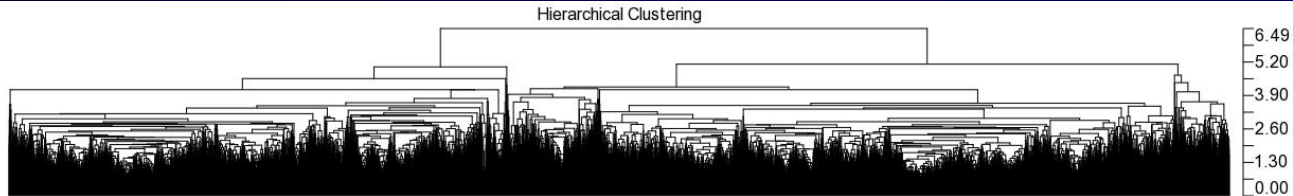
- Vaccination elicited a major change in the transcriptomic profile after 1 day
- Transient change

A unique group of genes up-regulated in vaccinated-challenged spleen



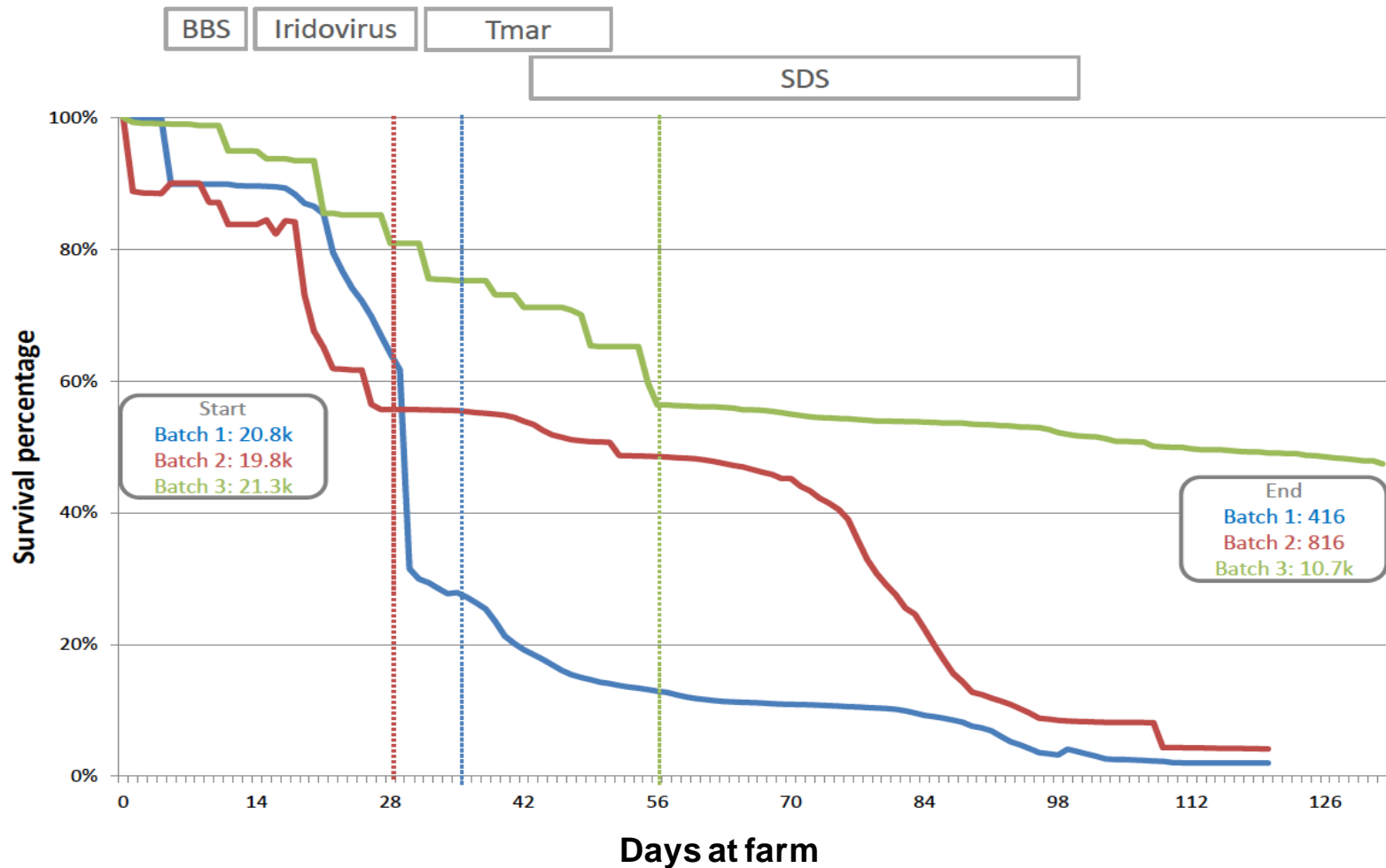
Based on 10,331 genes, p-value (treatment) with FDR<0.05

199,18 139,43 99,59 59,76 19,92



vaccine-induced response

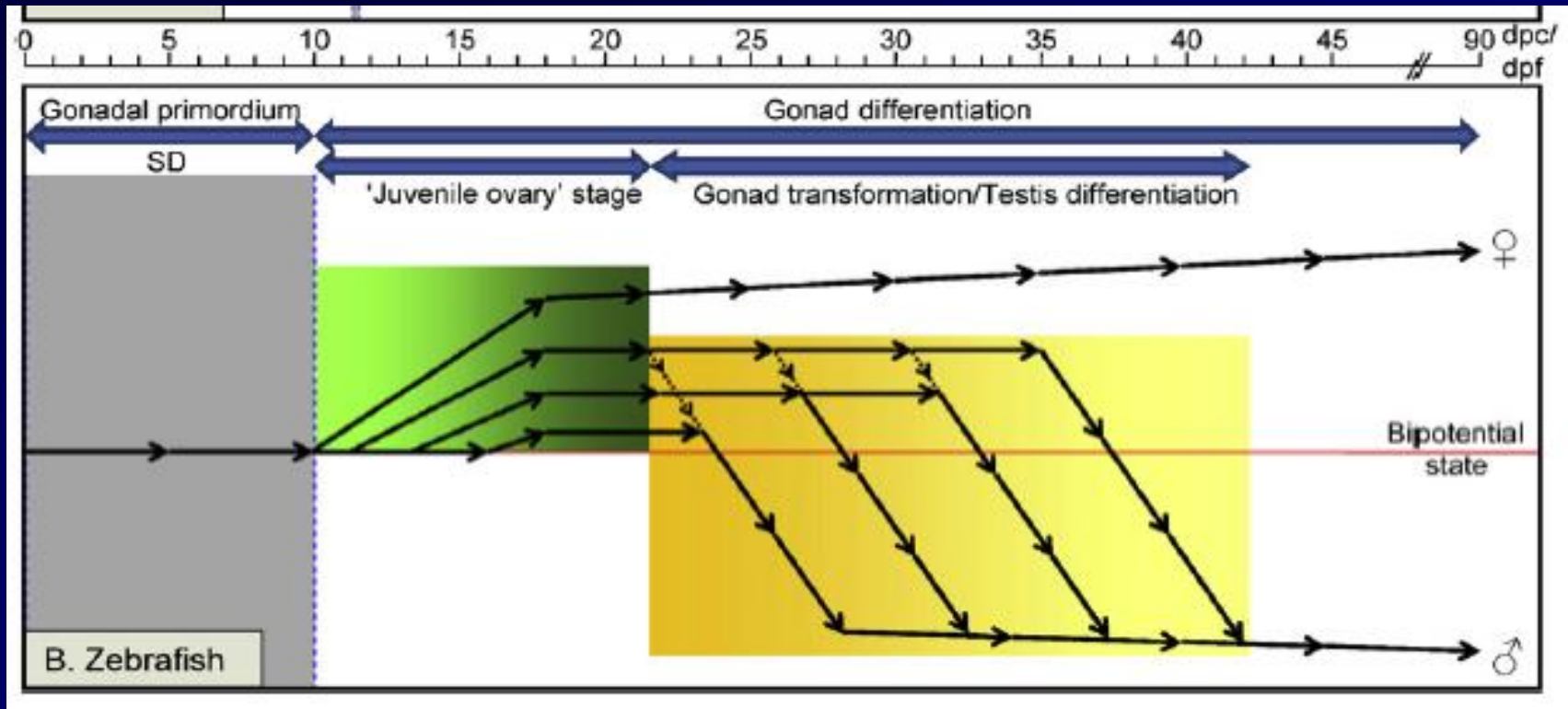
Survival rate of seabass fingerlings in sea cages



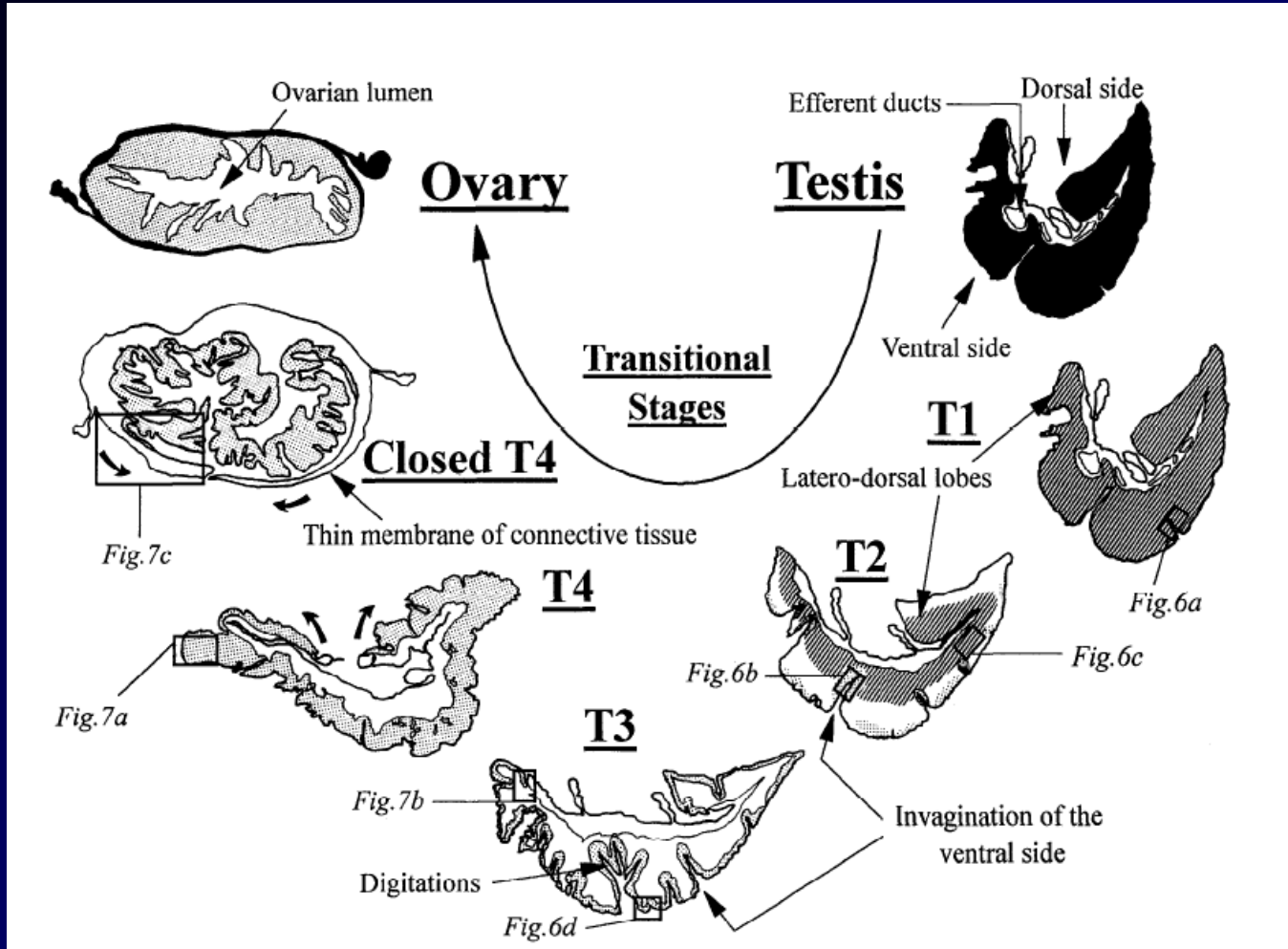
Case #3: Understanding sex change

Asian seabass (*Lates calcarifer*)

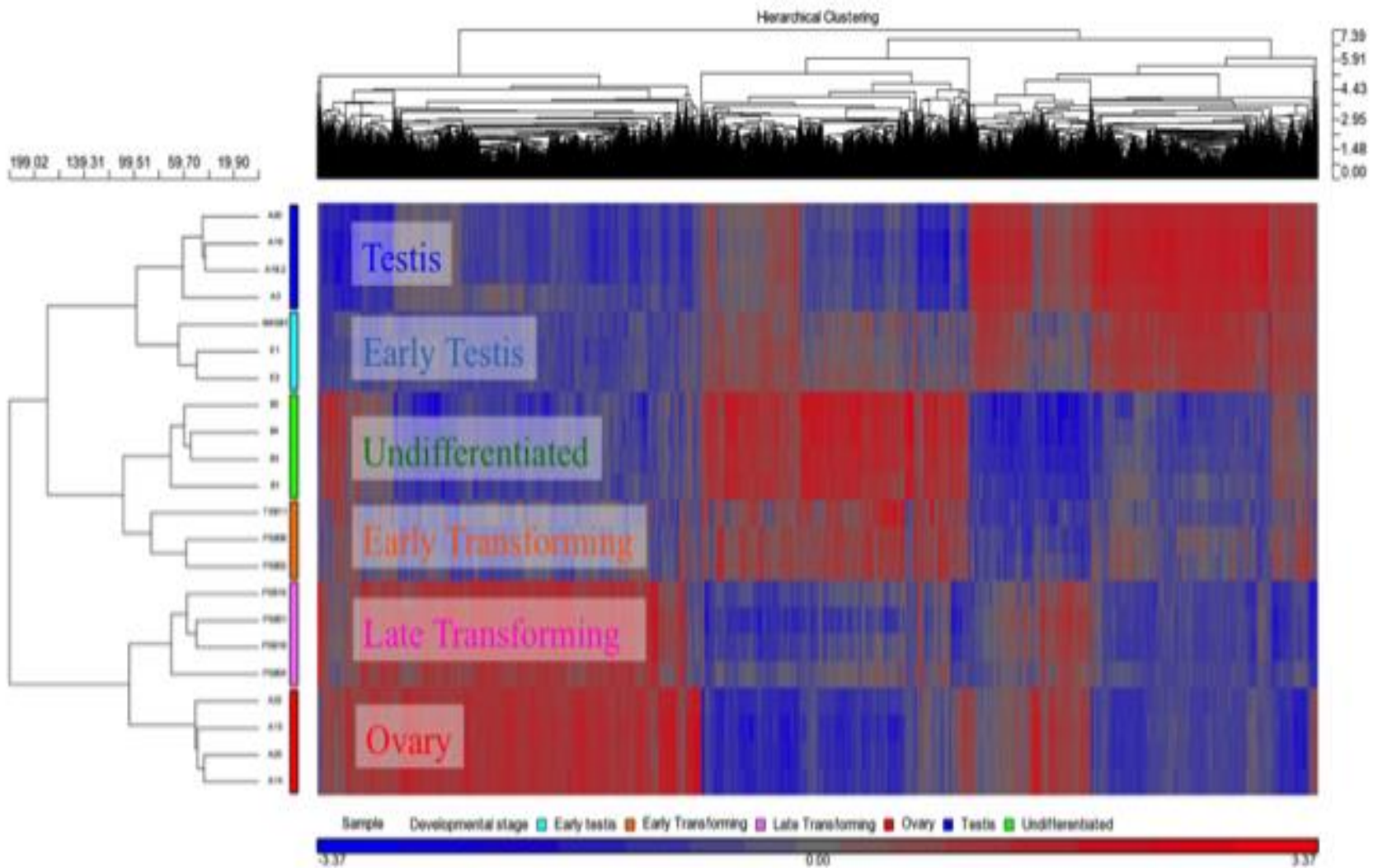
- Problem: Protandrous (male-first) hermaphrodite;
- Zebrafish can be used as a model to understand sex change.



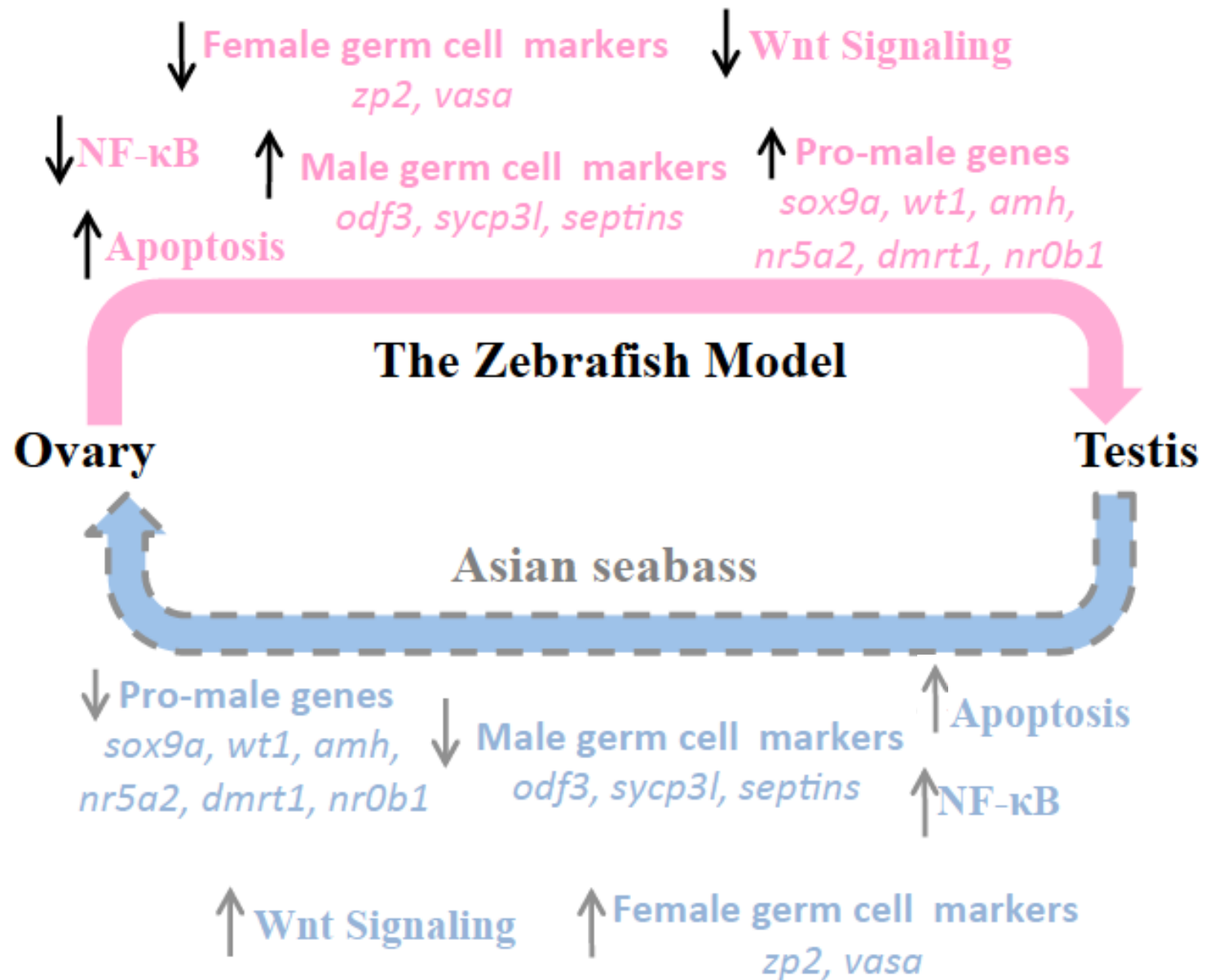
Natural sex reversal in Asian seabass



Unusual individuals: 'reluctant' males and primary females

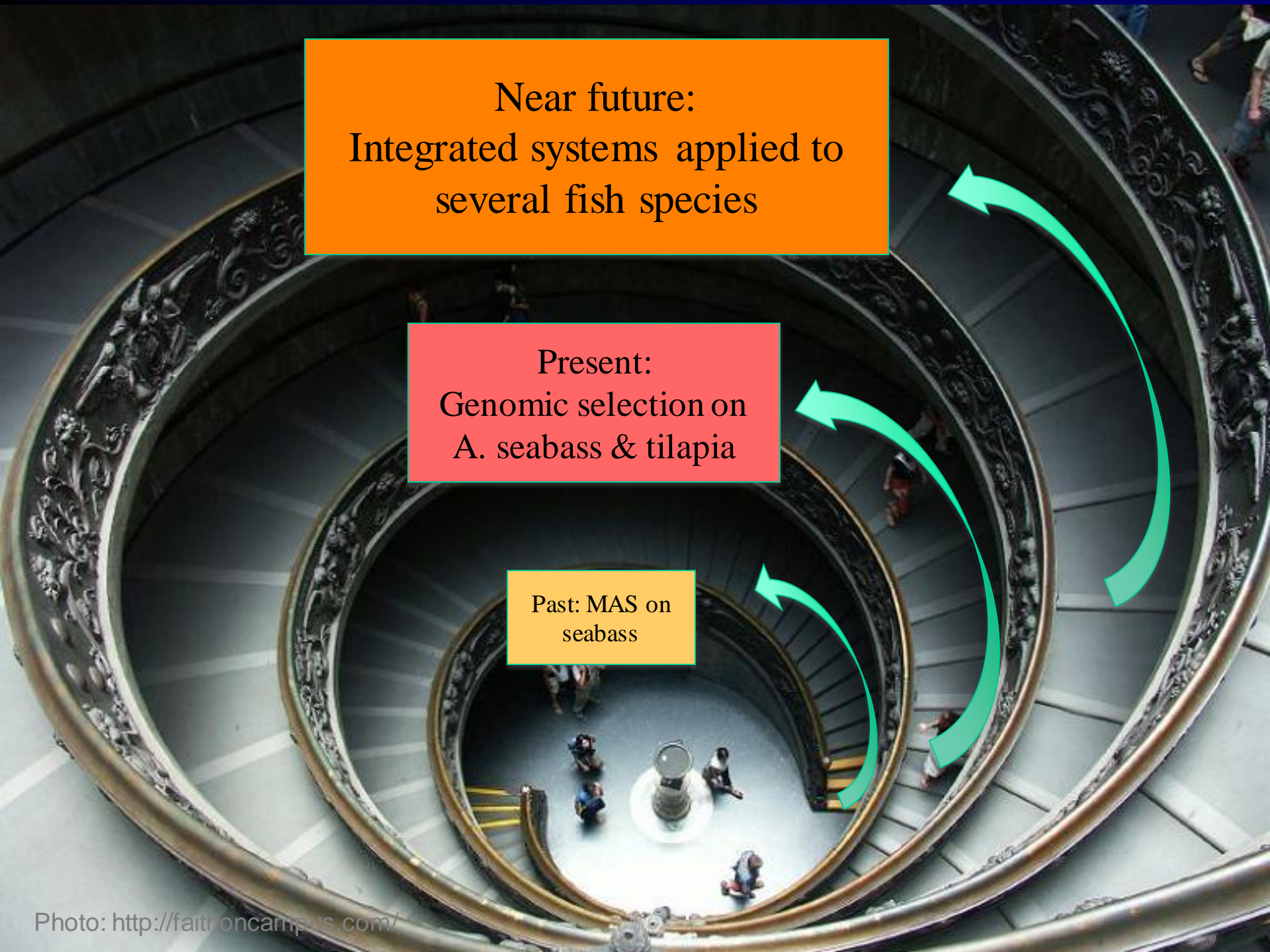


Array-based transcriptomics: The transforming gonad returns to a near-undifferentiated stage before initiating feminization



Conclusions

- Genomics can help to improve aquaculture production;
- Selection for complex traits requires more time (and money);
- We need the genome to do genomic selection;
- Assembling sequenced genomes is a game of huge jigsaw puzzles;
- Models help studies on large-bodied food fishes.



Near future:
Integrated systems applied to
several fish species

Present:
Genomic selection on
A. seabass & tilapia

Past: MAS on
seabass

RGG:

Shubha Vij
Inna Kuznetcova
Woei Chang Liew
Xueyan Shen
Natascha May
Prakki Sri Datta
Jolly M. Saju
Purushothaman K.
Shawn Ngoh
Pranjali Bhandare

Farm teams

Genhua Yue & team

Huan Sein Lim &
team

TLL Facilities

RGG Alumni:

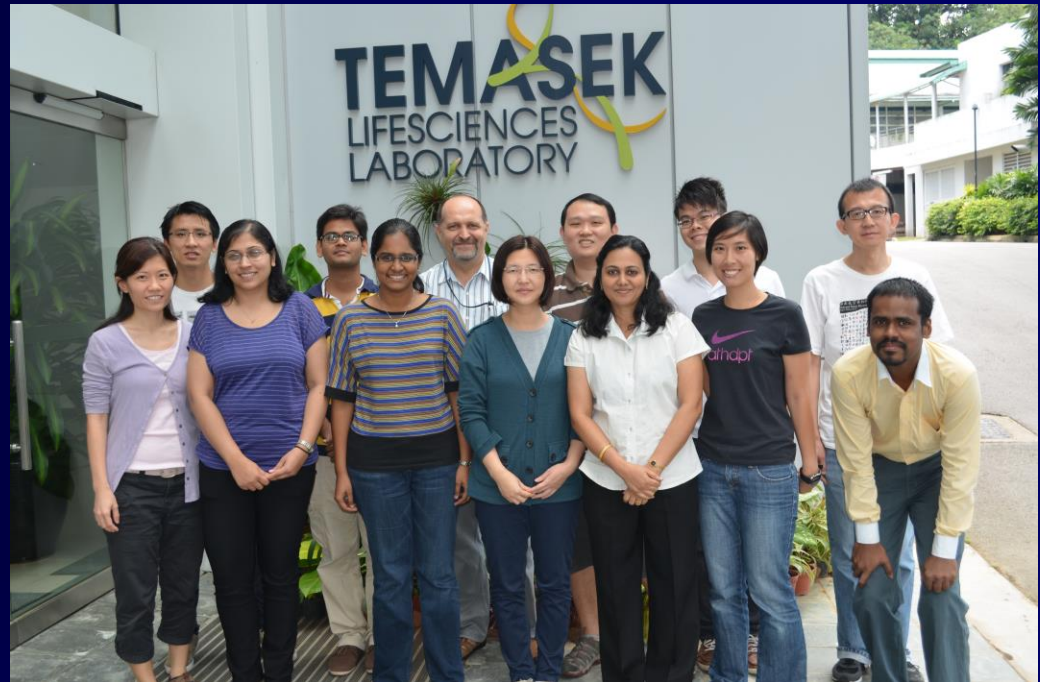
Preethi Ravi
Rajini Sreenivasan
Laura Casas
Alex Chang
Mohd. Sorowar
Hossain
Xingang Wang
Richard Bartfai
Keh-Weei Tzung
Hsiao Yuen Kwan
Doreen Lau
Junhui Jiang

The Asian Seabass Genome Consortium:

Alan Christoffels (Capetown)
Si Lok (HK)
Matt Bellgard (Murdoch)
Mike Shatz (CSH)
PacBio

Aleks Komissarov & Andrey Yurchenko
(St. Petersburg)
Heiner Kuhl (Berlin)
Dean Jerry (Queensland)

...



Funding:

