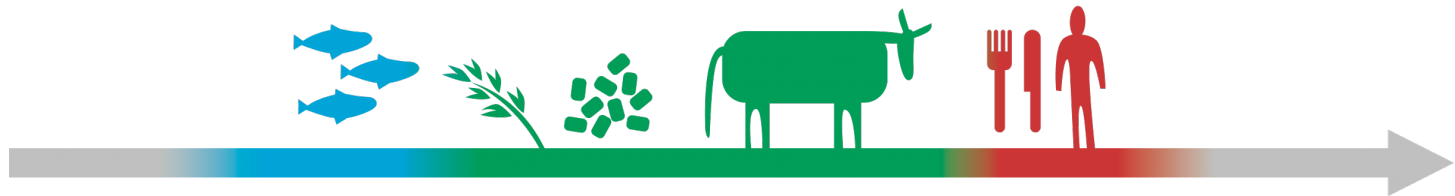




Veterinærinstituttet
Norwegian Veterinary Institute

SEQ-TECH: Implementering av dypsekvensering og infrastruktur

Camilla Sekse, seniorforsker, forskingsgruppe Mattrygghet og Dyrehelse



DNA sekvensering



Sanger DNA sekvensering: sekvensere ett enkelt DNA fragment om gangen

Dypsekvensering: sekvensere millioner av fragmenter parallelt → «høykapasitetssekvensering (high throughput sequencing)»

Illumina sequencing

- Korte fragmenter (max 300 bp)
- God kvalitet

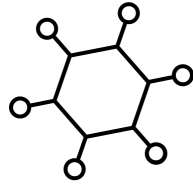
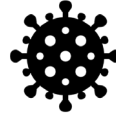
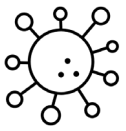
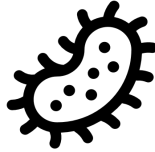
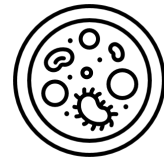


Oxford Nanopore Technology

- Lange fragmenter (8-15 kb)
- Litt dårligere kvalitet



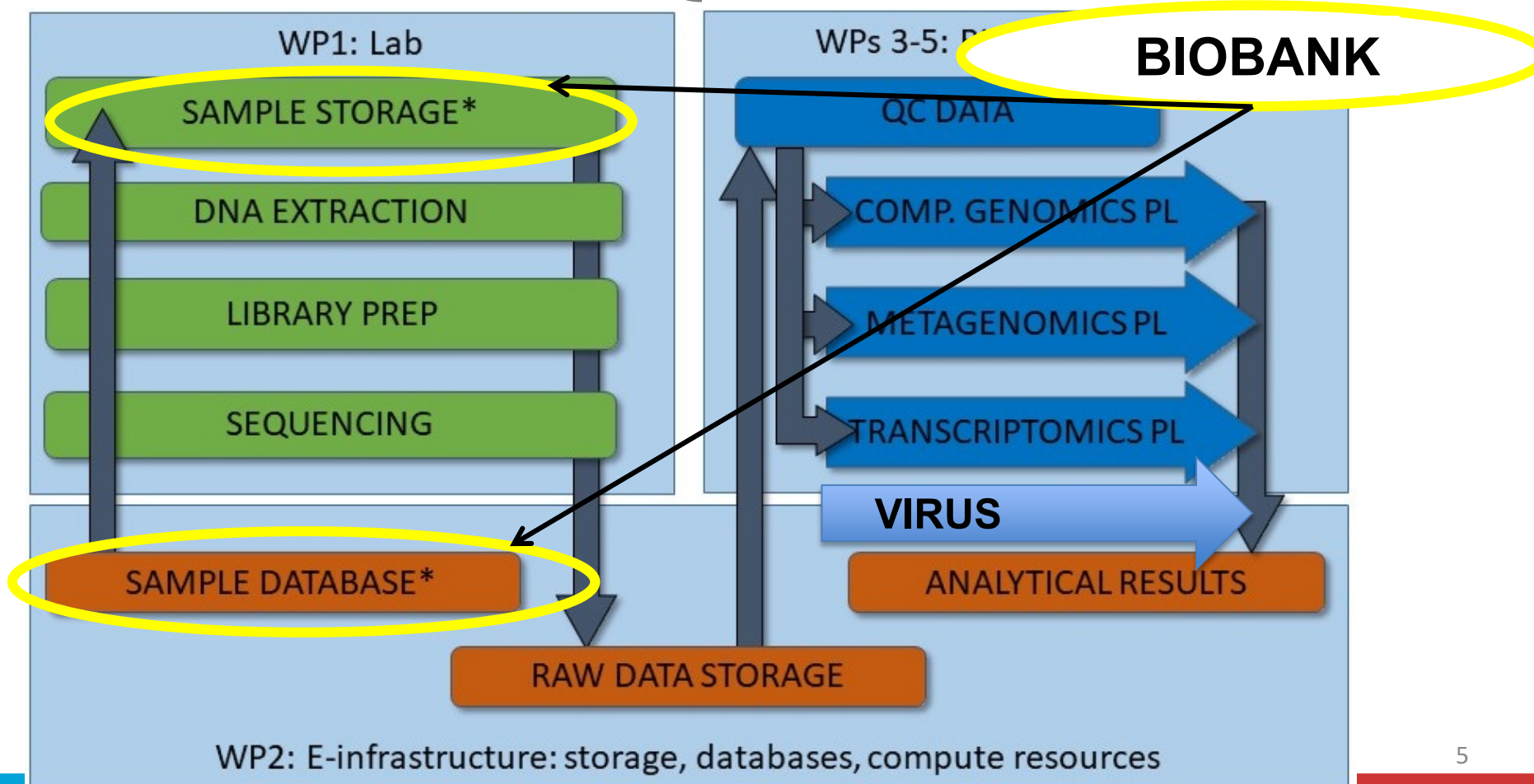
Fordeler - dypsekvensering



Fordeler sammenlignet med tradisjonell diagnostikk:

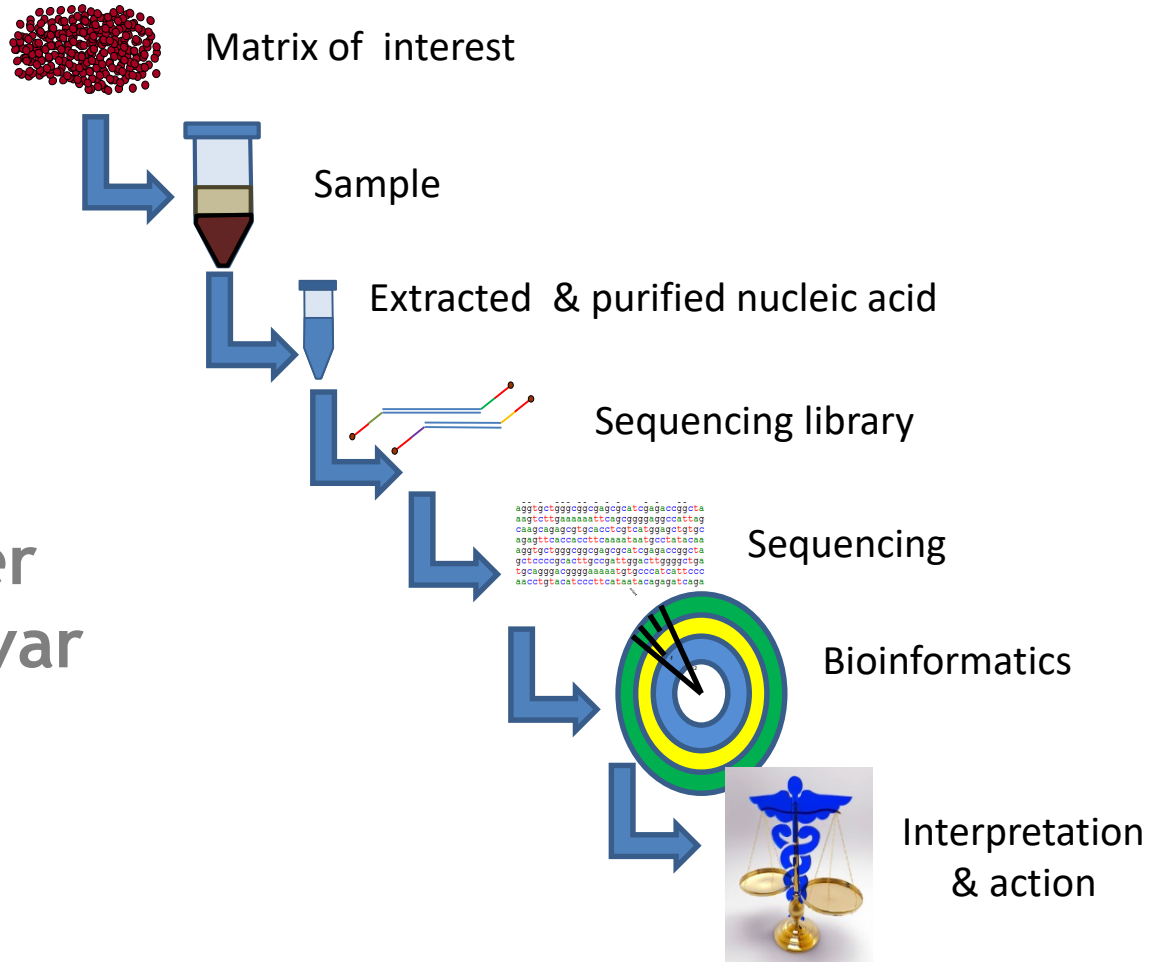
- Rask, kraftig og mer økonomisk (gitt analyser/pipeline er på plass)
- Detektere infeksjoner med flere agens
- Detektere nye patogener direkte fra kliniske prøver
- Påvise det genetiske slektsskapet mellom "nye"stammer og kjente stammer
- Mer informasjon fra én undersøkelse
 - Eks; virulens - og resistensgener

SEQ-TECH

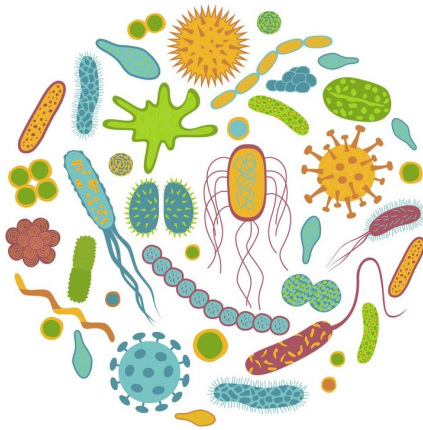


SEQ-TECH

- Kompetansebygging
- fra komplekse prøver til tolkning og prøvesvar



Helgenomsekvensering



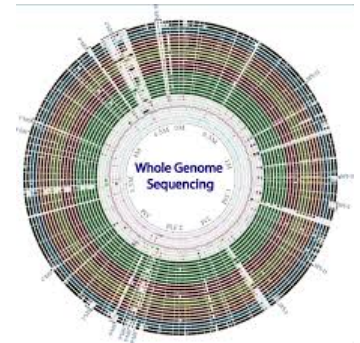
Mikrobiota/
kompleks prøve



Seleksjon
av isolat

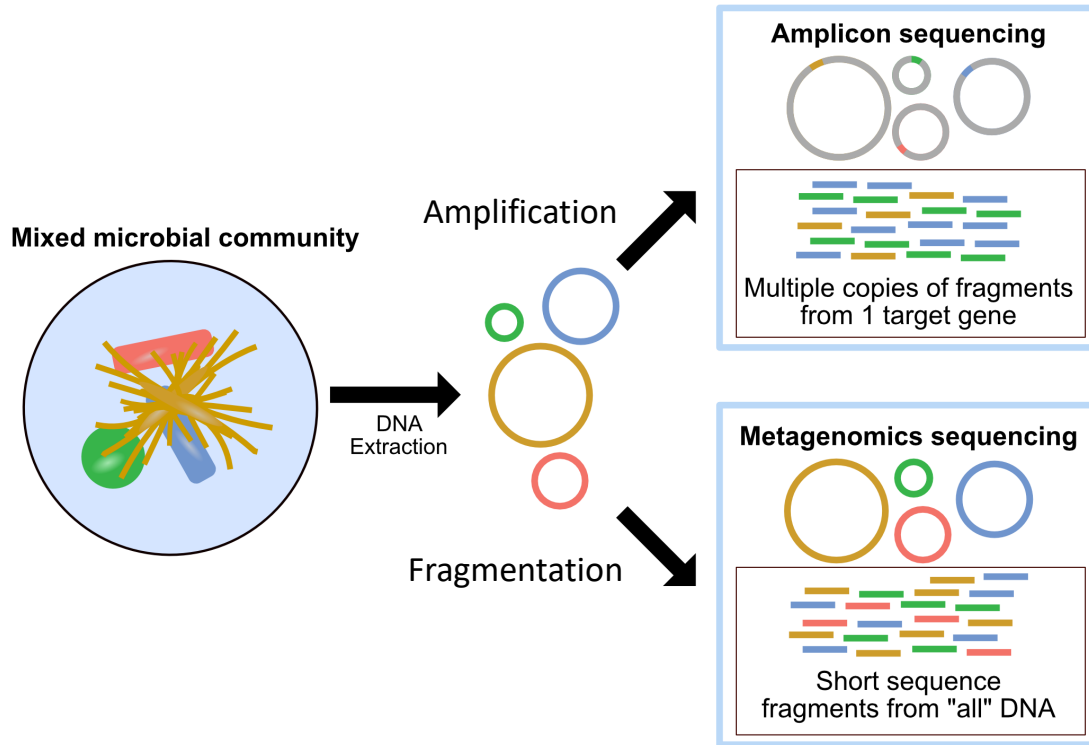


Helgenom-
sekvensering



Bioinformatikk

Metagenomik



PCR amplification of conserved marker genes (e.g 16s rRNA, rpoB, COI, ...)

→ Taxonomy

Genome fragments

→ Taxonomy

→ Functional potential

Eksempler fiskebakteriologi

Pasteurella

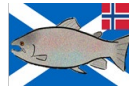
Pasteurella atlantica
genomovar *salmonicida*



Pasteurella atlantica
genomovar *cyclopteri*



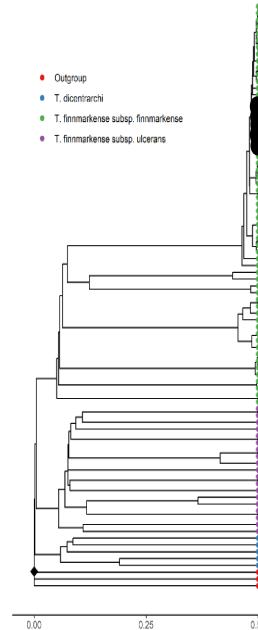
Pasteurella skyensis



Tenacibaculum

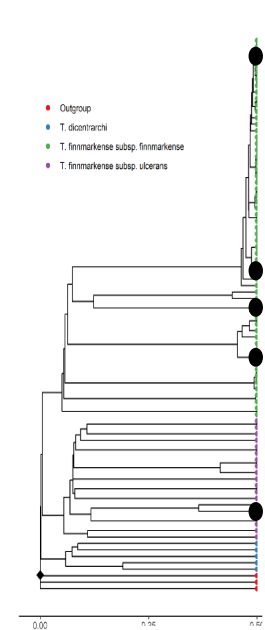
Utbrudd 1

- Outgroup
- *T. diostrarchi*
- *T. finmarkense* subsp. *finmarkense*
- *T. finmarkense* subsp. *ulcerans*

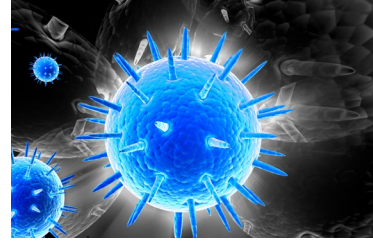


Utbrudd 2

- Outgroup
- *T. diostrarchi*
- *T. finmarkense* subsp. *finmarkense*
- *T. finmarkense* subsp. *ulcerans*



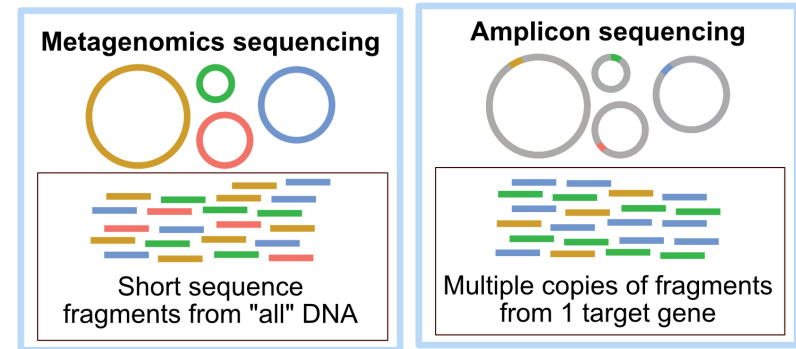
Virus-sekvensering



Spesielle hensyn:

- Agens/virusspesifikk protokoll vs generell virusprotokoll
- RNA/DNA, fragmentert vs ikke-fragmentert
- Diagnostikk vs forskning
 - Raske svar
 - Nøyaktige/detaljerte svar

- Virus-sekvensering direkte fra vev
 - Helgenom
 - Amplikonsekvensering



Eksempel: Syk laks påvist i Sandvikselva (2019)



Standard undersøkelser: Negative



Oppformert virus



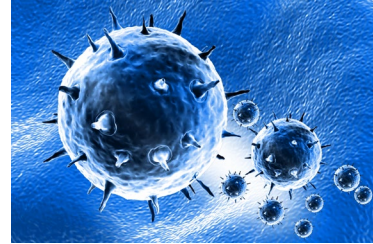
Dypsekvensering: Shotgun



DNA virus?



RNA virus?



Oppsummering



- Helgenomsekvensering
 - Mer inngående/detaljert kunnskap om agens
 - Identifisere mulige vaksine-isolater
 - Mer effektiv karakterisering
 - Høyere oppløselighet for sammenlikning av isolater
 - Smittesporing
 - Overvåke/monitorere trender over tid
- Spesifikke vs generelle protokoller for virus-sekvensering
- Mulighet for å lete etter ukjente agens
- Kartlegge en miljøprøve

Interessert i å vite mer om sekvenseringsteknologi og hva det kan brukes til?



Webinar i januar, som ligger i opptak på nettsiden vår;

<https://www.vetinst.no/arrangementer/webinar-om-sekvenseringsteknologi-og-hva-dette-kan-brukes-til>