

Laboratoř neuroetologie a smyslové fyziologie

Martin Vácha



Volba laboratoře souvisí se
specializací.

Imunologie

Fyziologie živočichů

Vývojová biologie

Jaké předměty?

Imunologie

Fyziologie živočichů

Vývojová biologie

[Schéma předmětů vyučovaných na OFIŽ](#)

Behaviorální vědy

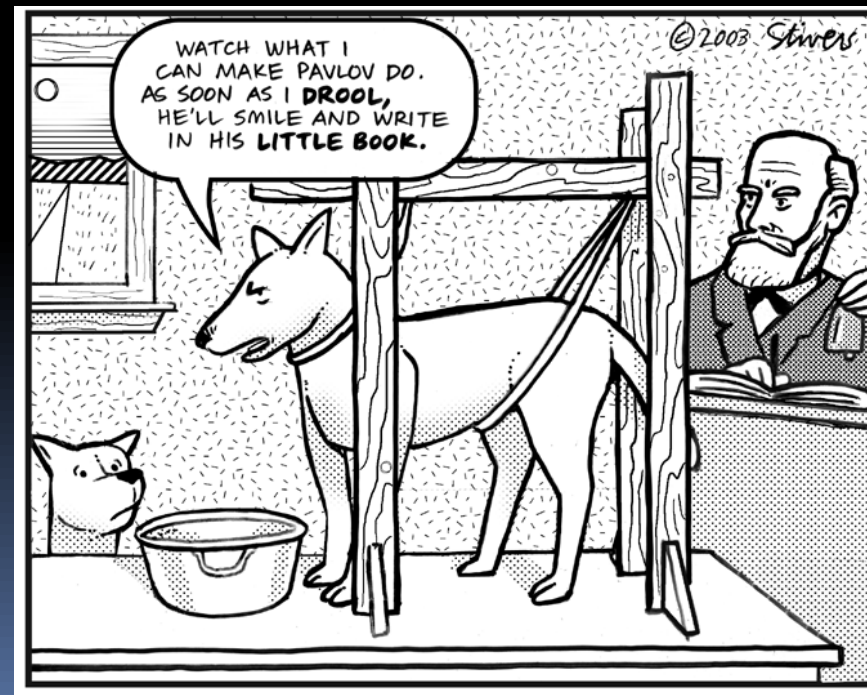
Chování zvířat je důležitý fenotyp.

O chování živočichů se zajímá řada biologických disciplín.

O chování lidí lékařské a humanitní obory.

Etologie - chování zvířat a populací s ohledem na jejich prostředí, sociální vztahy a zkušenost, evoluce chování – přirozené chování je cílem výzkumu

Fyziologický přístup redukuje prvky chování, používá laboratorní podmínky, sledování chování je nástrojem pochopení dějů na nižších úrovních.



Behaviorální metody ve fyziologii

Pestrá skupina laboratorních oborů - společný zájem o funkce související s nervovým a svalovým systémem, protože ty jsou za chování primárně odpovědné. Chování je vždy spojeno s pohybem zvířete, ať už jde např. o používání nástrojů, hledání cesty a orientaci, počtu určitých pohybů nebo denních rytmů aktivity... Dokonce i dočasné strnutí (freezing), tedy nedostatek pohybu, je projevem chování.

Studium chování bývá součástí spektra metod u komplexních a kvalitních článků nejrůznějšího výzkumného zaměření.

Biochemie, toxikologie, neurofyziologie, smyslová fyziologie, zoopsychologie nebo aplikované vědy jako je farmakologie, zootecnika, ochrana před škůdci nebo parazity a další specializace, které z popisu prvků chování získávají odpovědi pro své dílčí otázky.

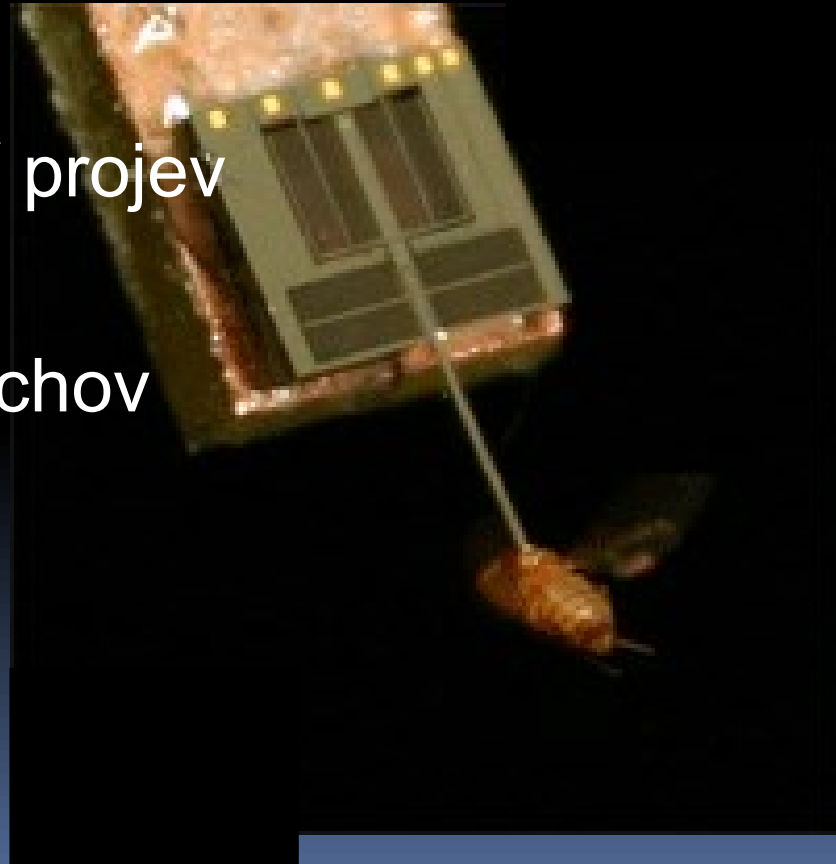
Neuroetologie (behaviorální neurobiologie):

- Syntéza etologie a neurobiologie (60.I)
- Neurální podstata chování
- Nástroj řešení otázek neurofyzologie



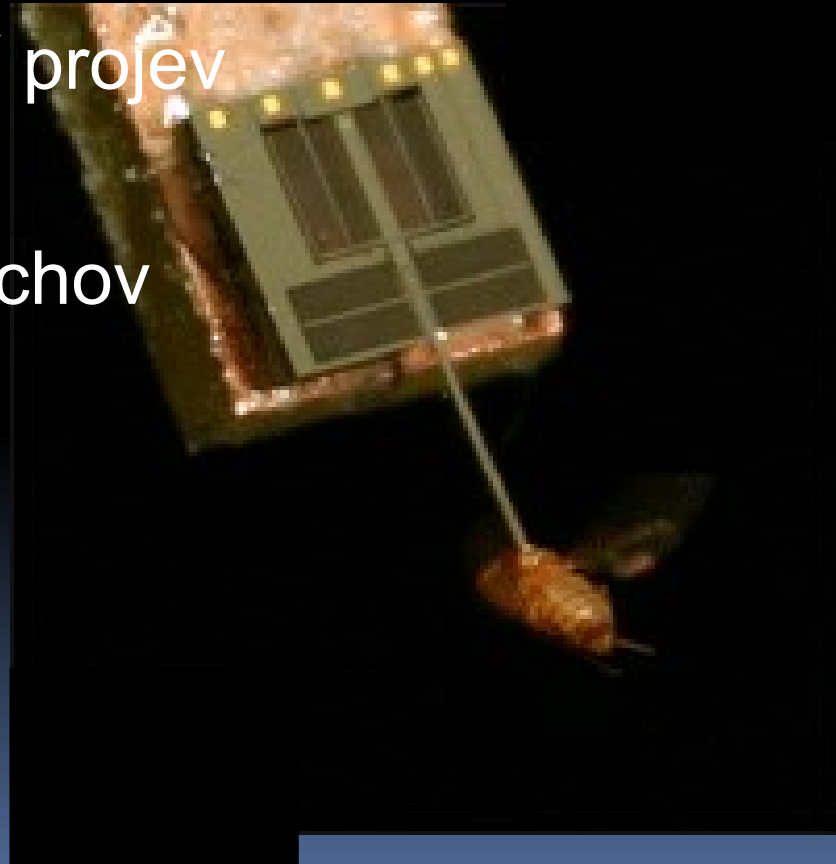
A) Bezobratlí v neuroetologii:

- Jednoduchý, snadno přístupný nervový systém
 - Larva 10 tis neuronů
- „Robustní“ behaviorální projev
- Laboratorní podmínky
- Snadný, levný a rychlý chov
- Mutantní linie



Bezobratlí v neuroetologii:

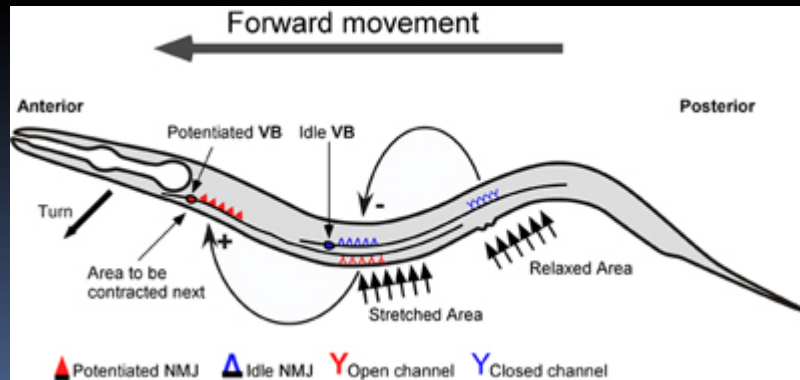
- Jednoduchý, snadno přístupný nervový systém
 - „Robustní“ behaviorální projev
 - Laboratorní podmínky
 - Snadný, levný a rychlý chov
 - Mutantní linie
- =
- Mimořádný význam



Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy

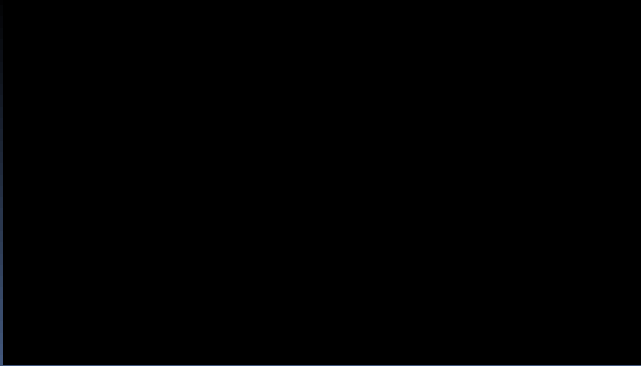
Caenorhabditis elegans (hádčátko)



Bezobratlí v neuroetologii:

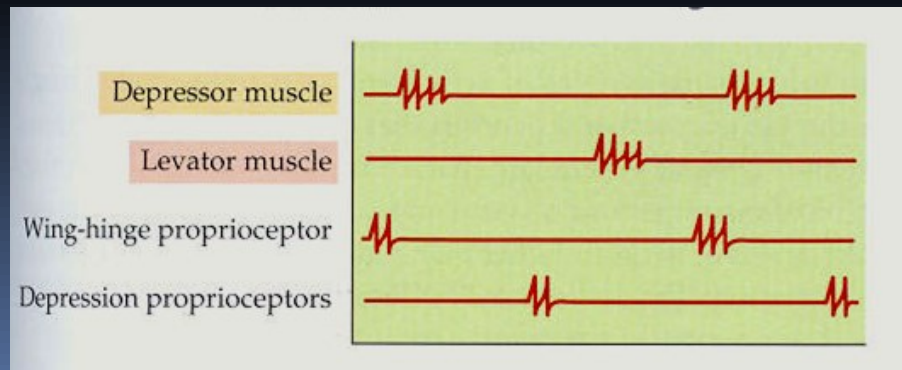
- Sensomotorické reflexy

Caenorhabditis elegans (hádátka)



Bezobratlí v neuroetologii:

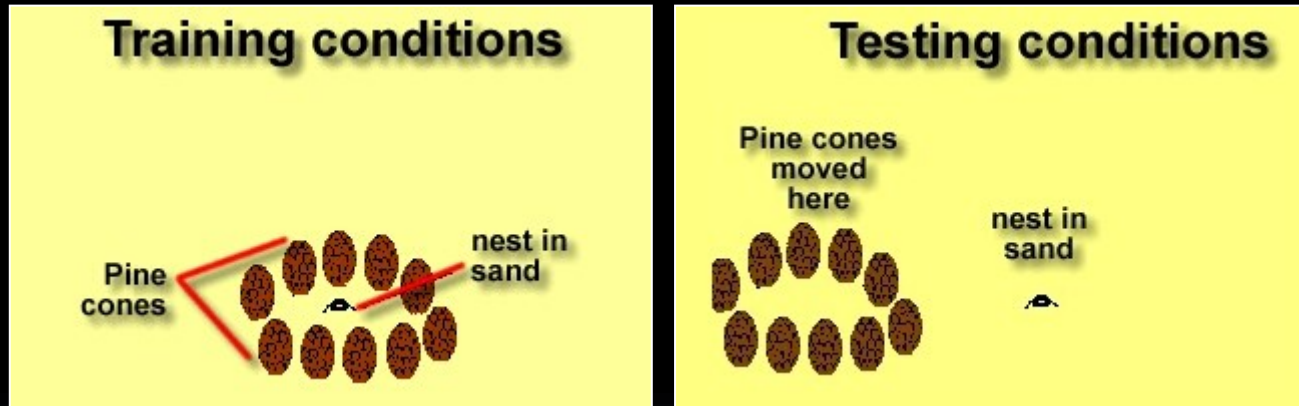
- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence



Clione limacina (valovka plžovitá)
„Sea angel“

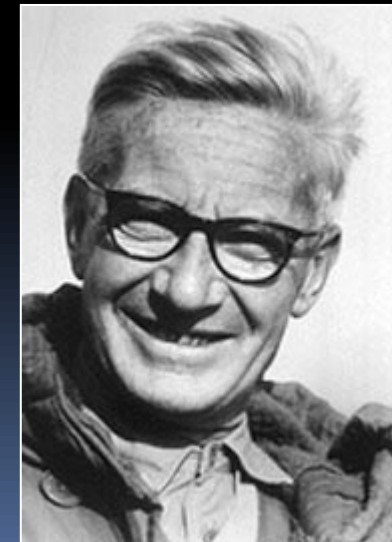
Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace



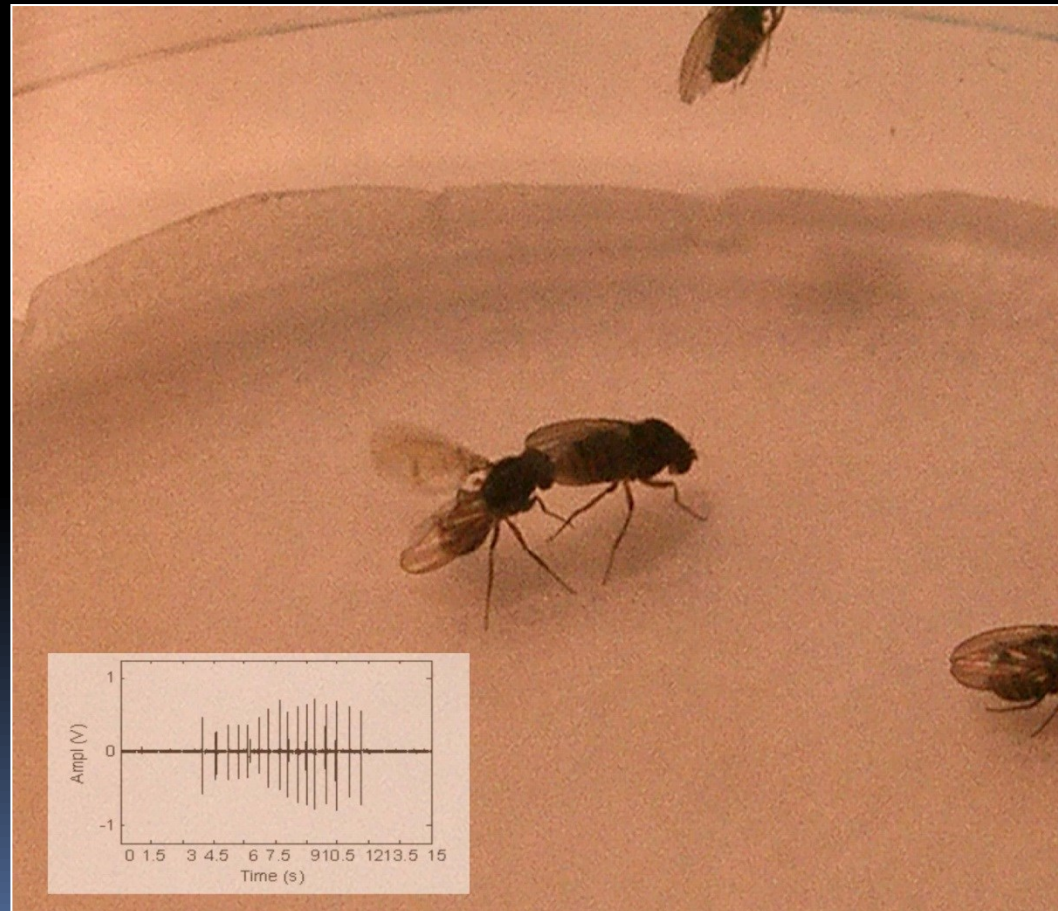
Philanthus triangulum

N. Tinbergen
Nobelova cena 1973



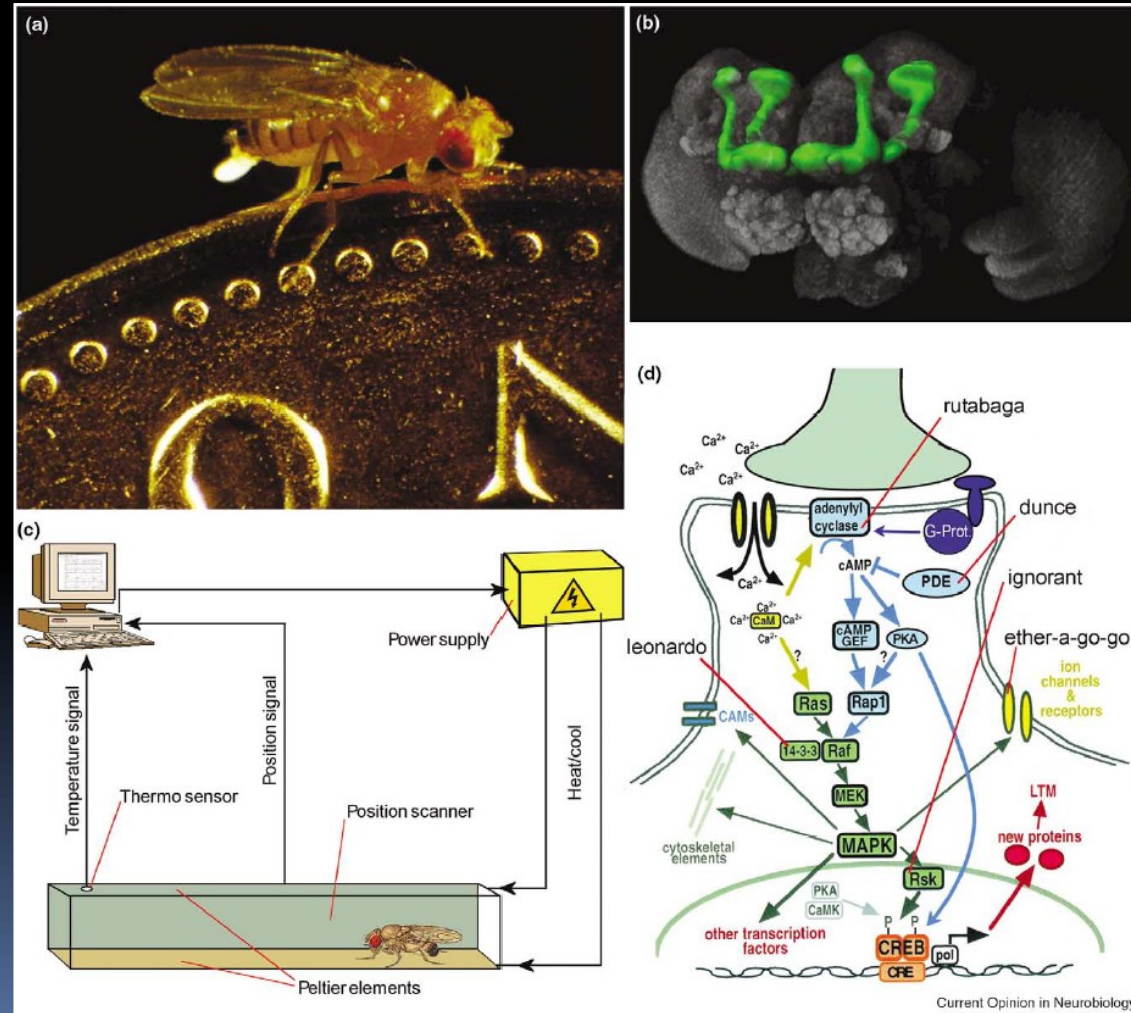
Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace



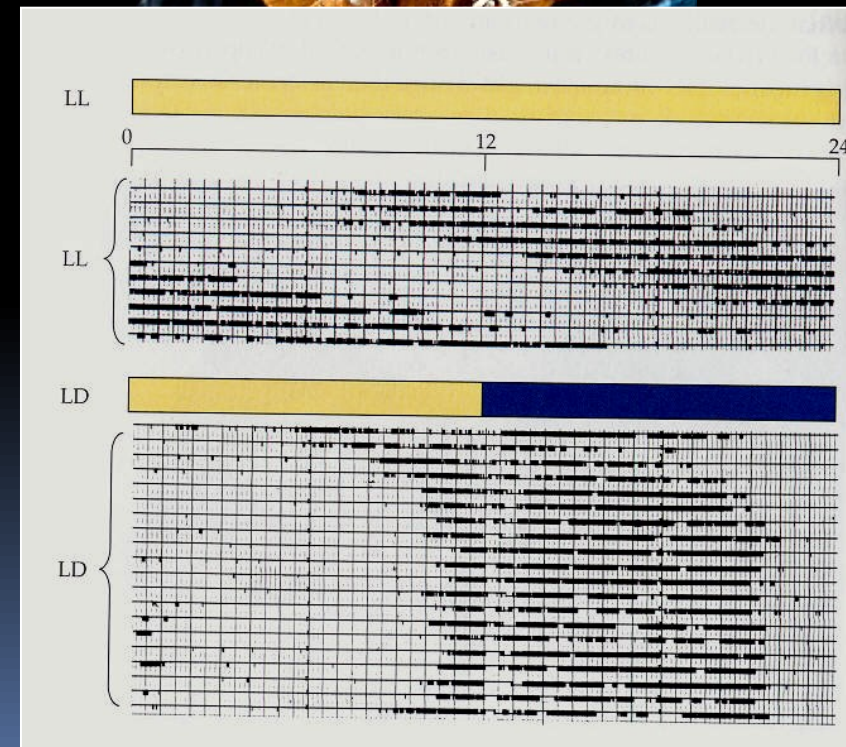
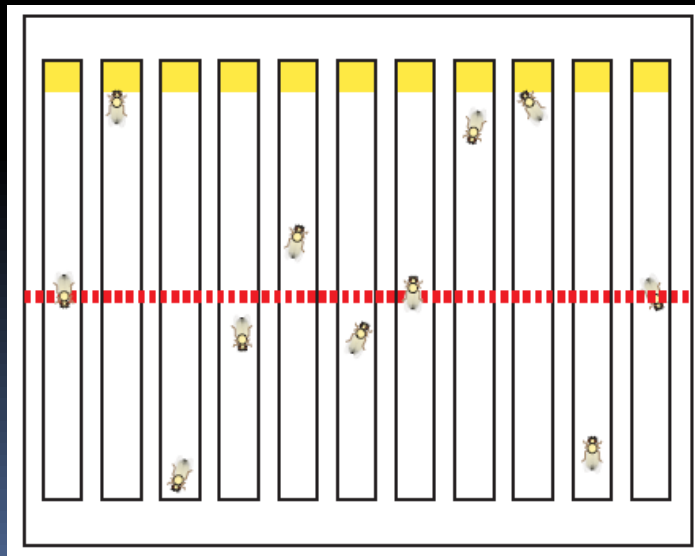
Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť



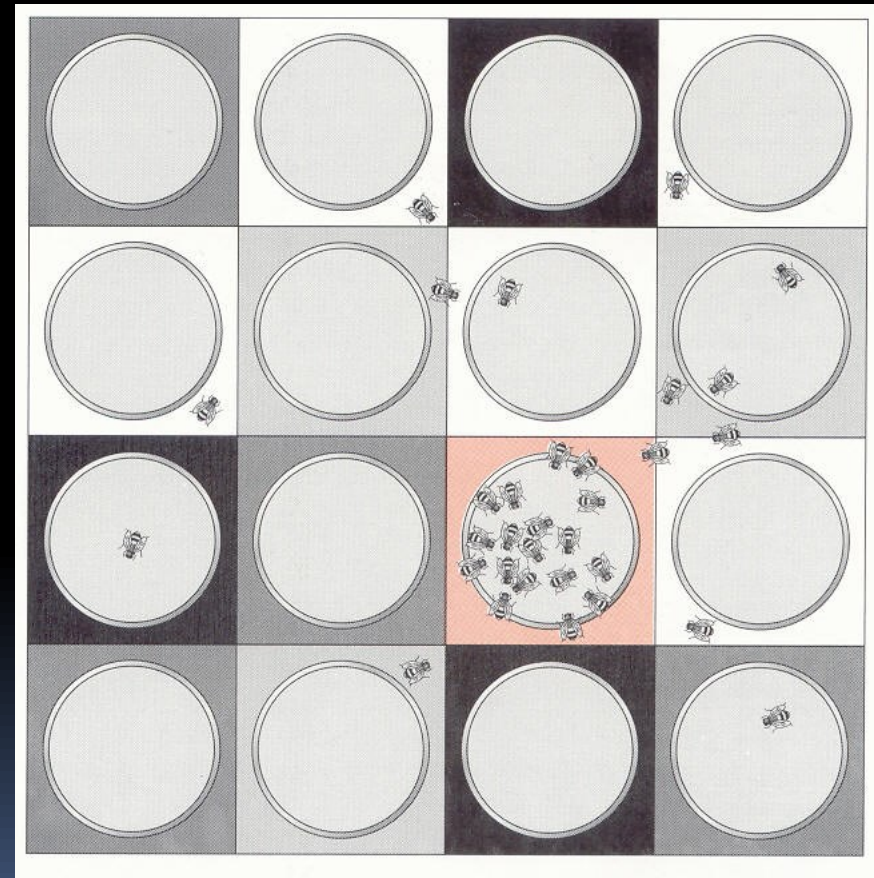
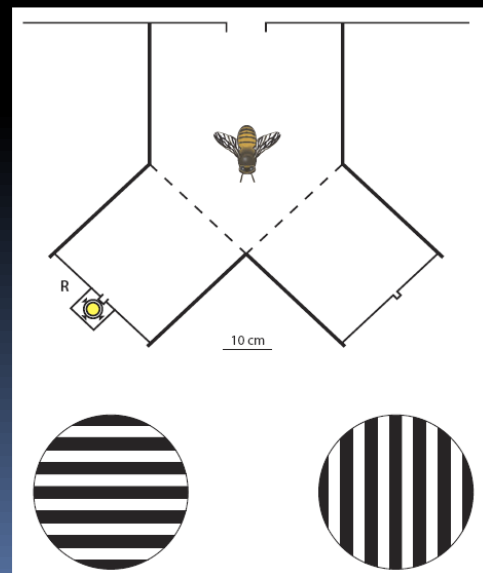
Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiální rytmy



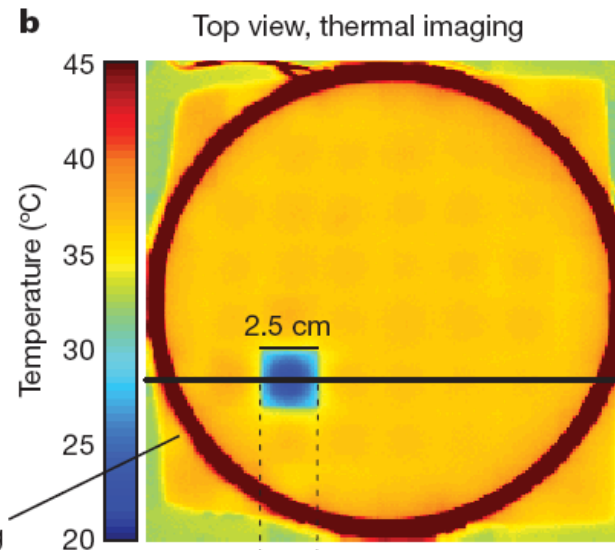
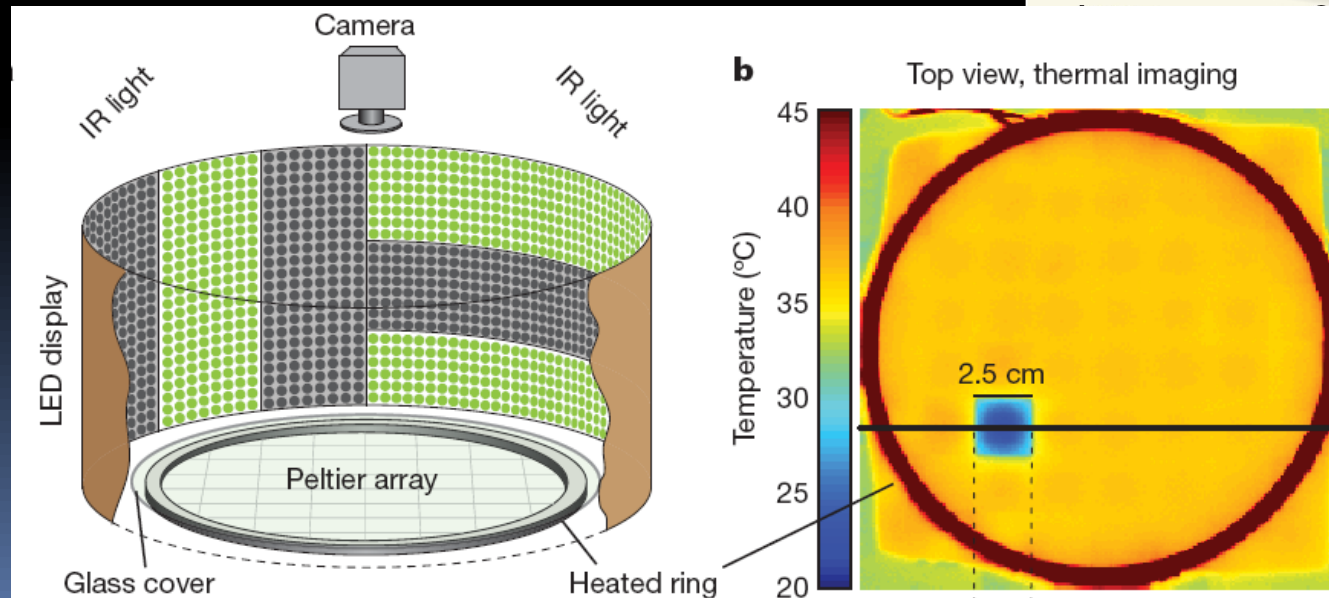
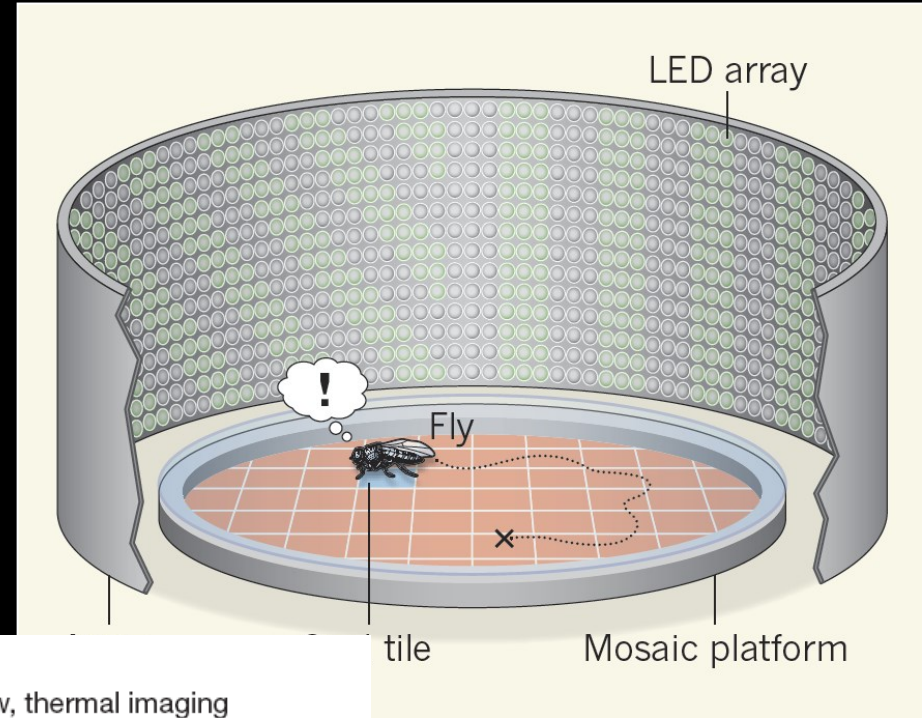
Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiánní rytmy
- Smyslové schopnosti



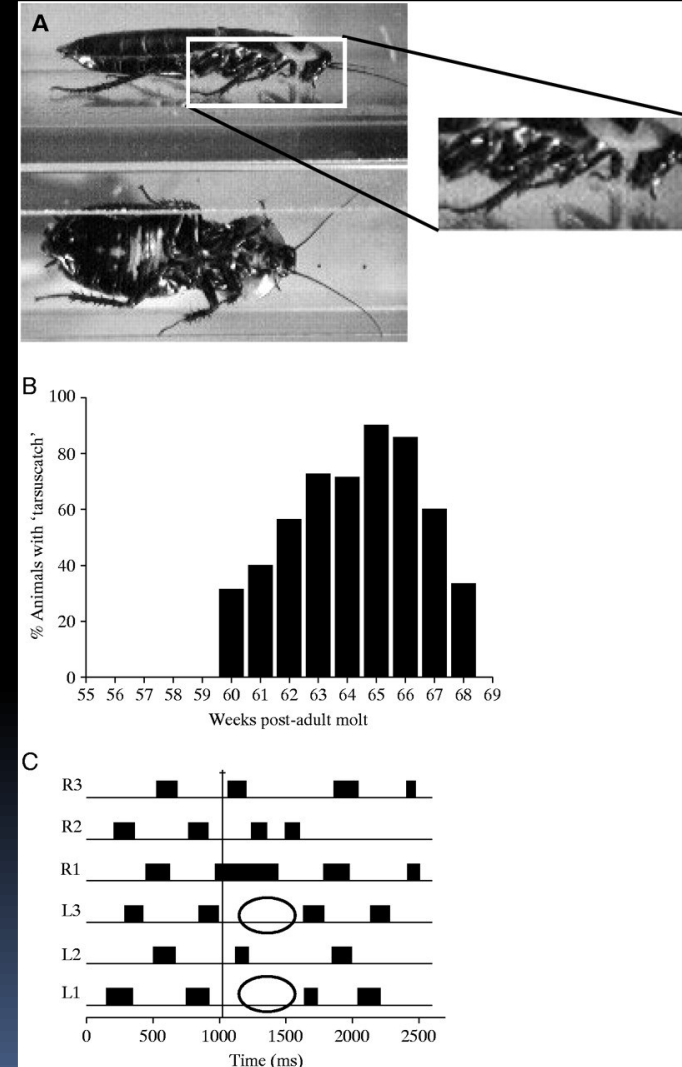
Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiánní rytmy
- Smyslové schopnosti



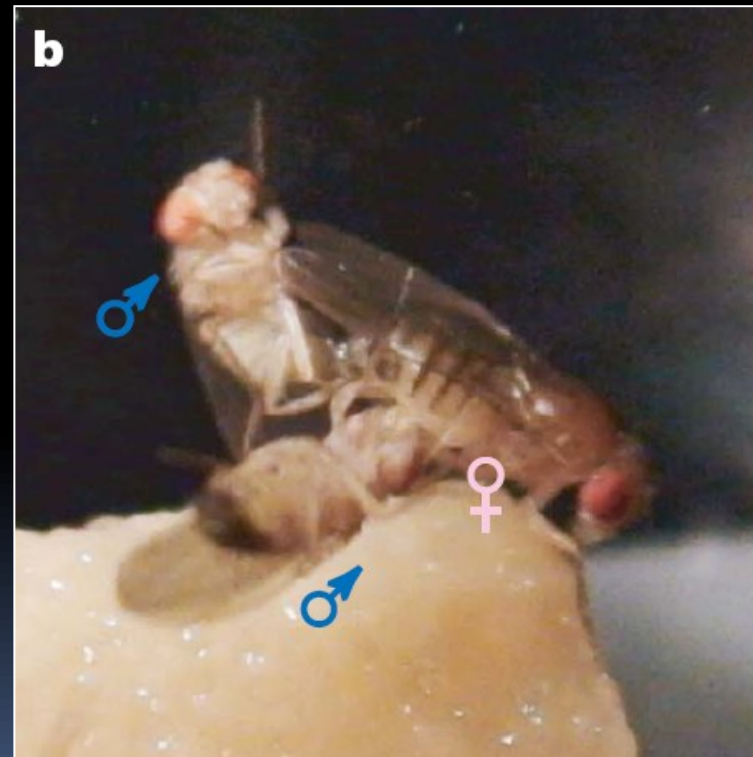
Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiální rytmy
- Smyslové schopnosti a dráhy
- Stárnutí



Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiánní rytmy
- Smyslové schopnosti
- Stárnutí
- Sexuální orientace



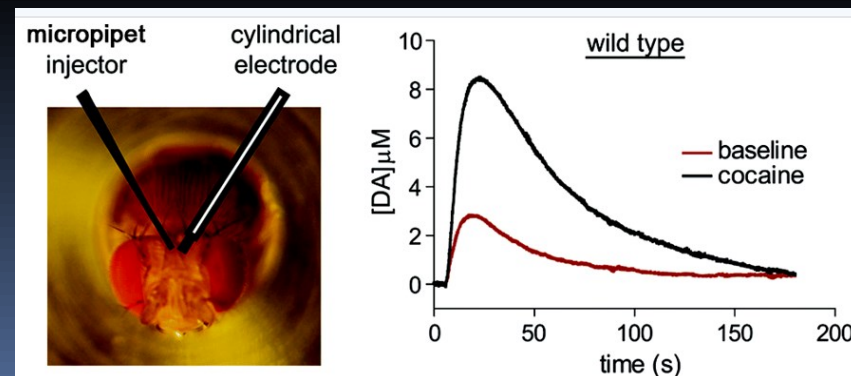
Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiánní rytmy
- Smyslové schopnosti
- Stárnutí
- Sexuální orientace
- Agresivita



Bezobratlí v neuroetologii:

- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiánní rytmy
- Smyslové schopnosti a dráhy
- Stárnutí
- Sexuální orientace
- Agresivita
- Působení drog a farmak



Bezobratlí v neuroetologii:

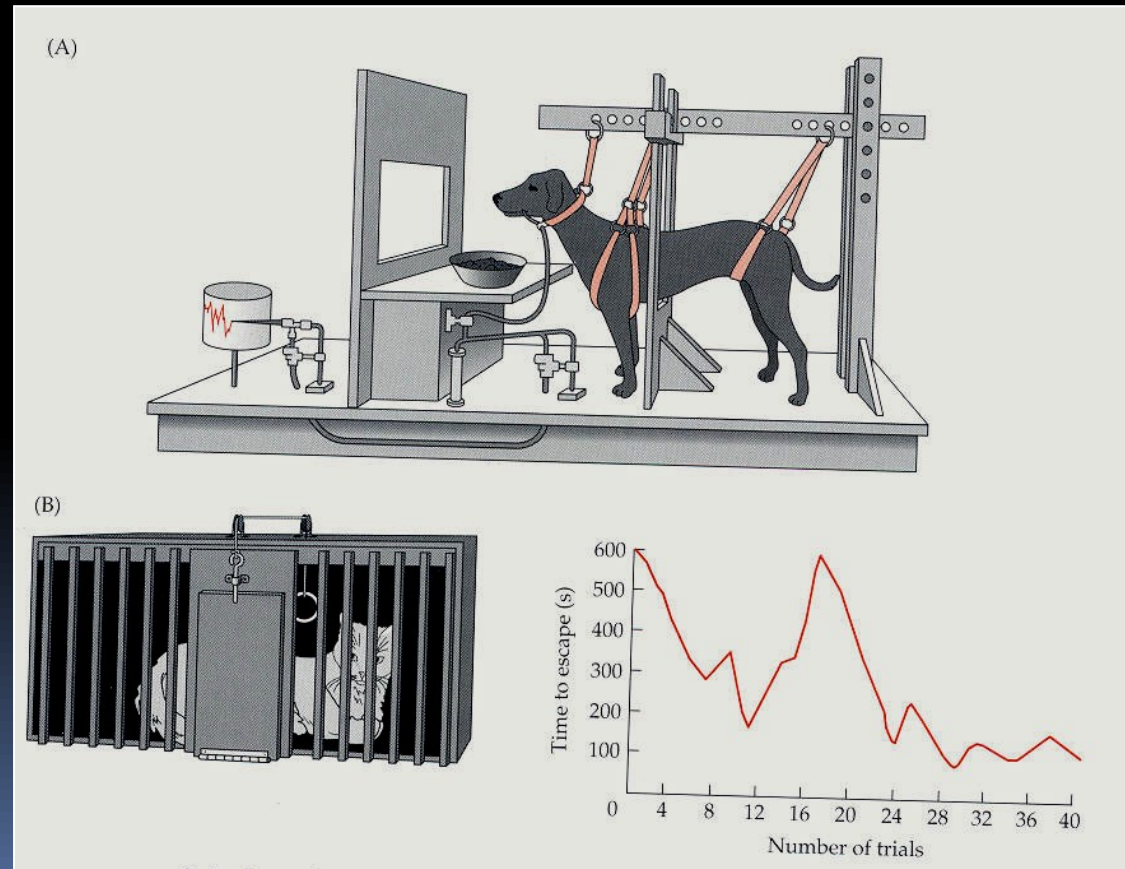
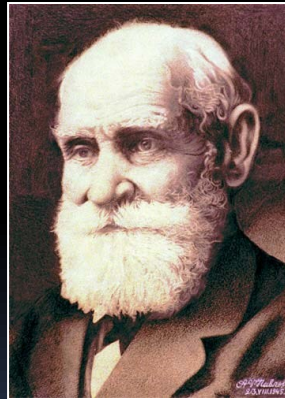
- Sensomotorické reflexy
- Motorické sekvence
- Orientace
- Komunikace
- Učení a paměť
- Circadiální rytmy
- Smyslové schopnosti
- Stárnutí
- Sexuální orientace
- Agresivita
- Působení drog a farmak
- Ochota riskovat, emoce atd...



B) Podmiňování jako klíč k funkci NS a smyslů

Vytvoření podmíněného spojení je důkazem plasticity NS a základem paměti a učení.

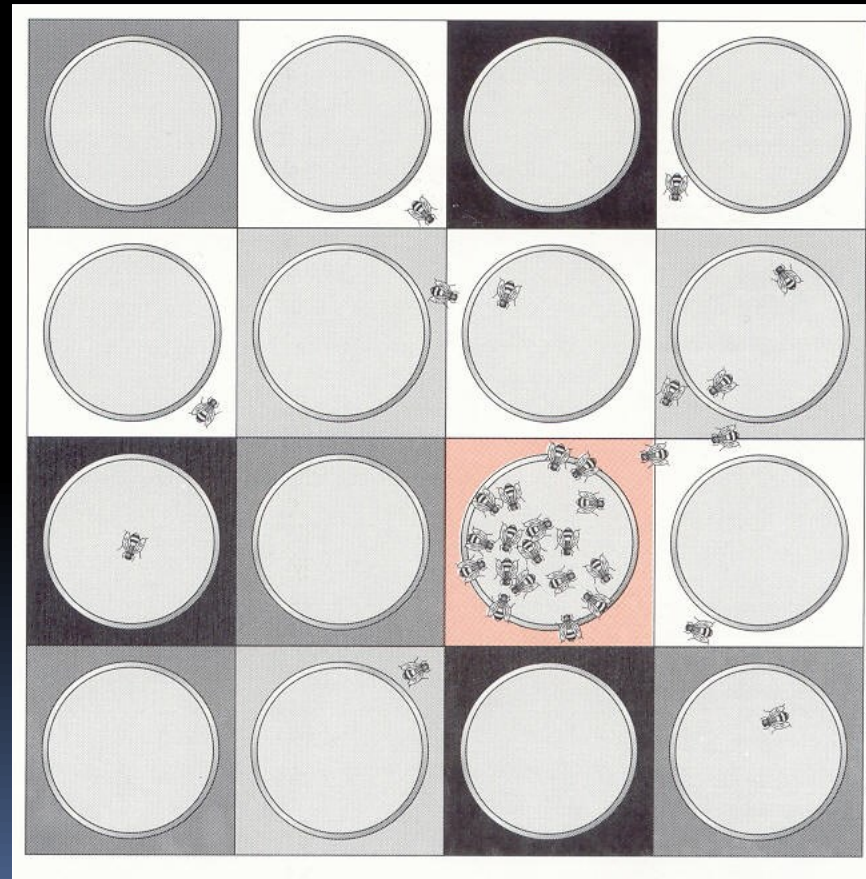
Pavlov



Podmiňování jako klíč k funkci NS a smyslů

Vytvoření podmíněného spojení je důkazem plasticity NS a základem paměti a učení.

von Frish



Vytvoření podmíněného spojení může být: cílem výzkumu paměti a učení



Aplysia – zej
„mořský zajíc“

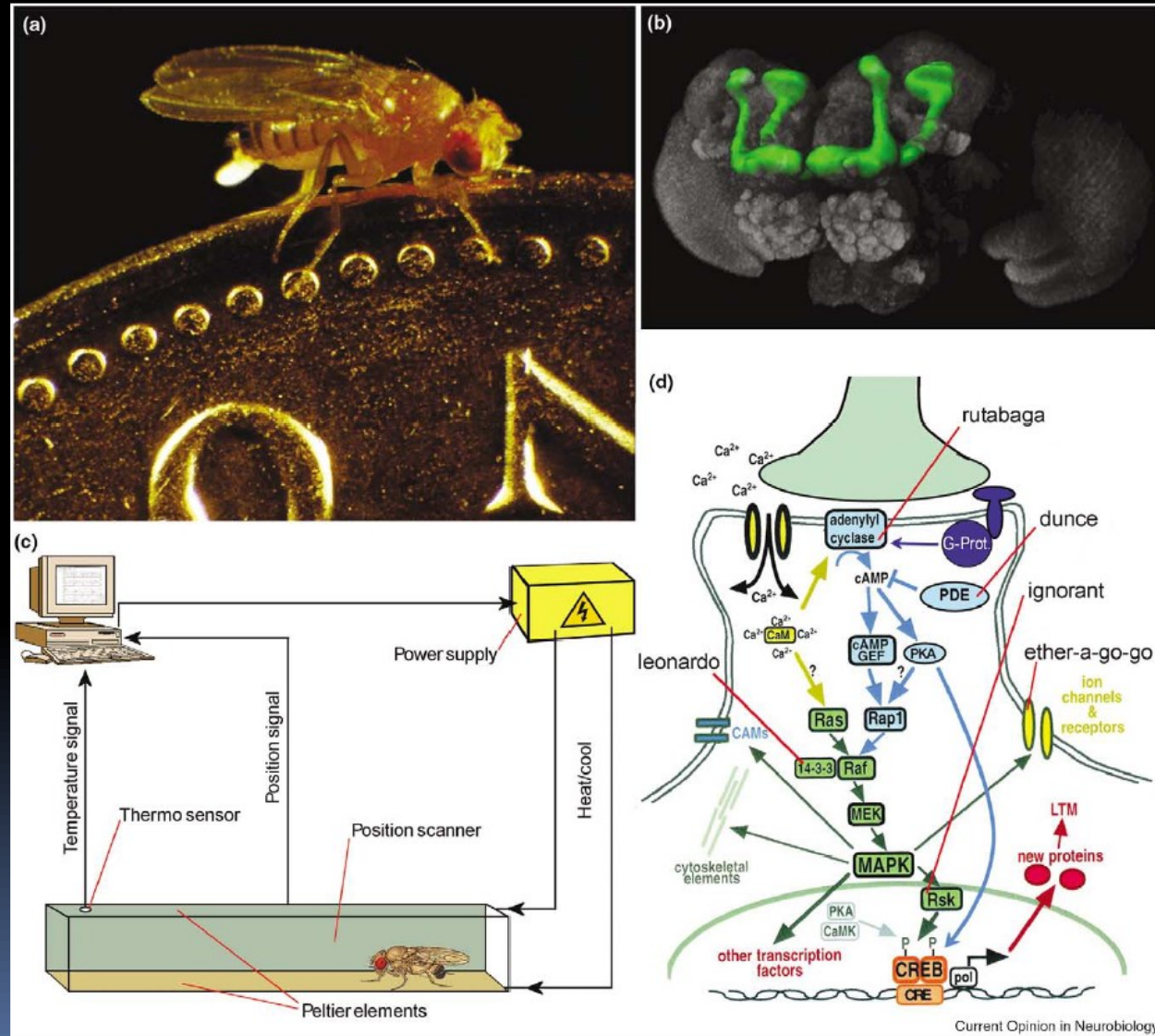
Aplysia

Eric Kandel
Nobelova cena 2000



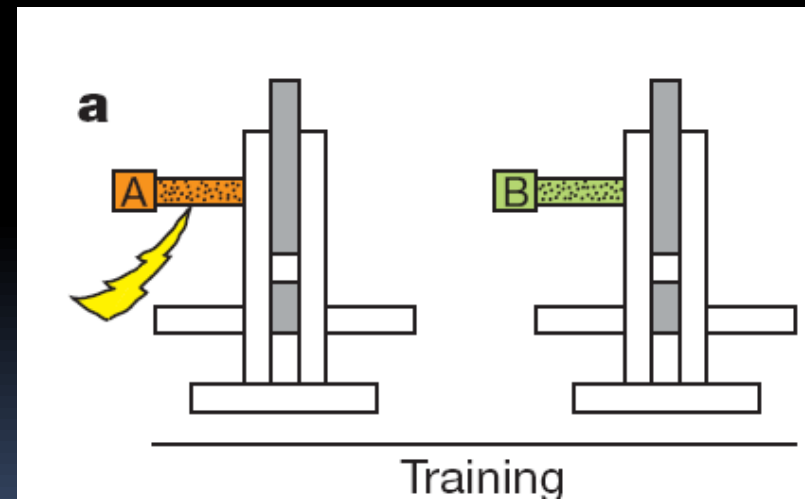
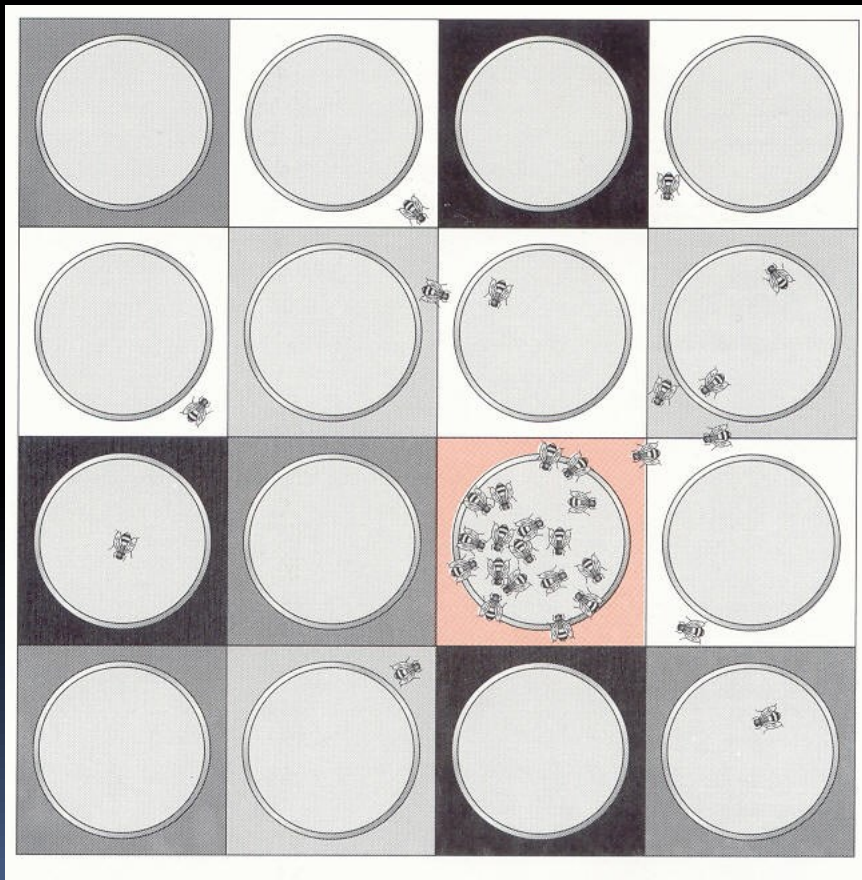
Vytvoření podmíněného spojení může být: cílem výzkumu paměti a učení

Trénink a test



Vytvoření podmíněného spojení může být:
nástrojem výzkumu smyslových schopností

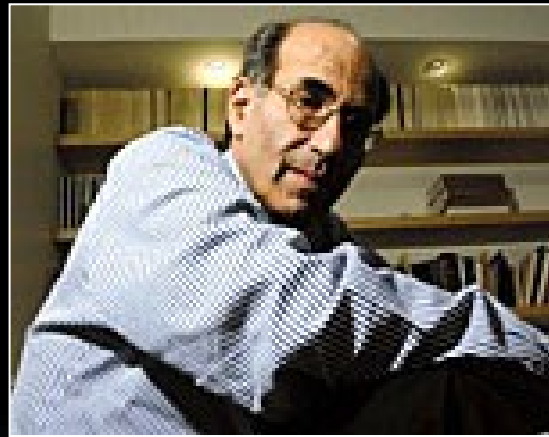
Odměna nebo trest při tréninku



Vytvoření podmíněného spojení může být: nástrojem výzkumu smyslových schopností

Richard Axel

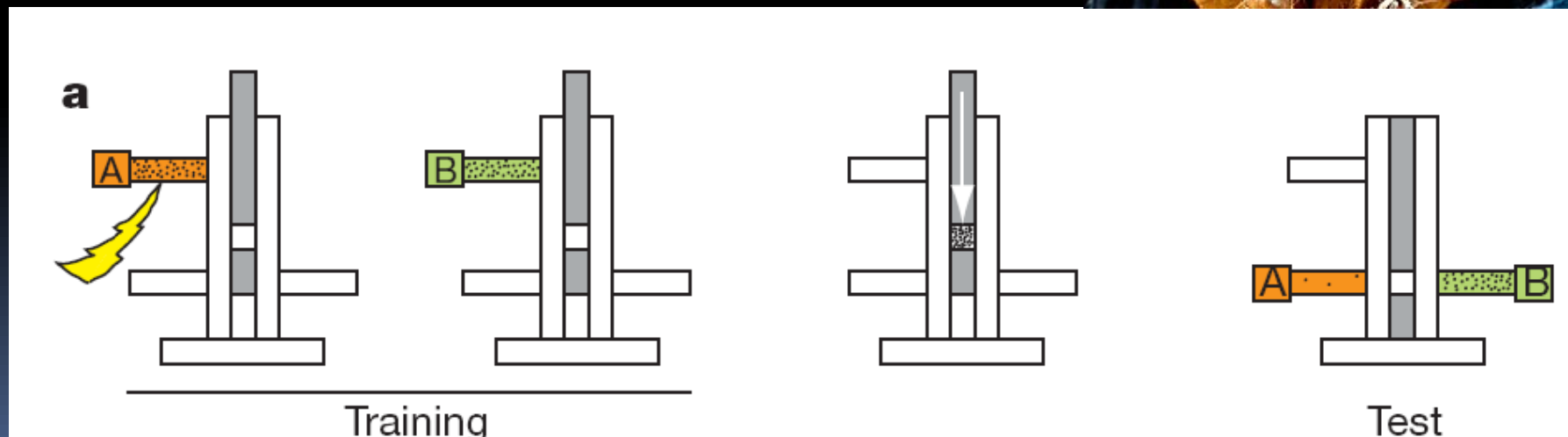
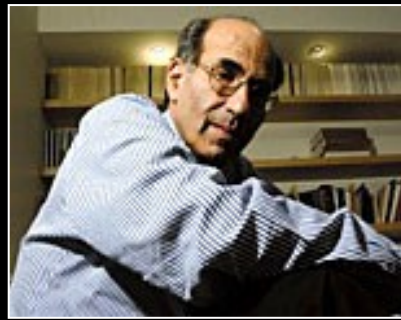
Nobelova cena 2004 za objevy podstaty čichu



Vytvoření podmíněného spojení může být: nástrojem výzkumu smyslových schopností

Richard Axel

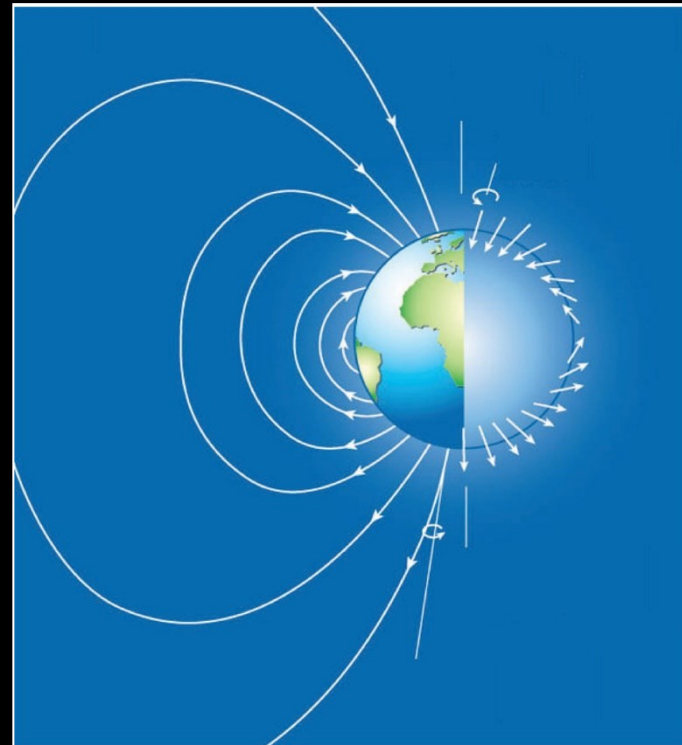
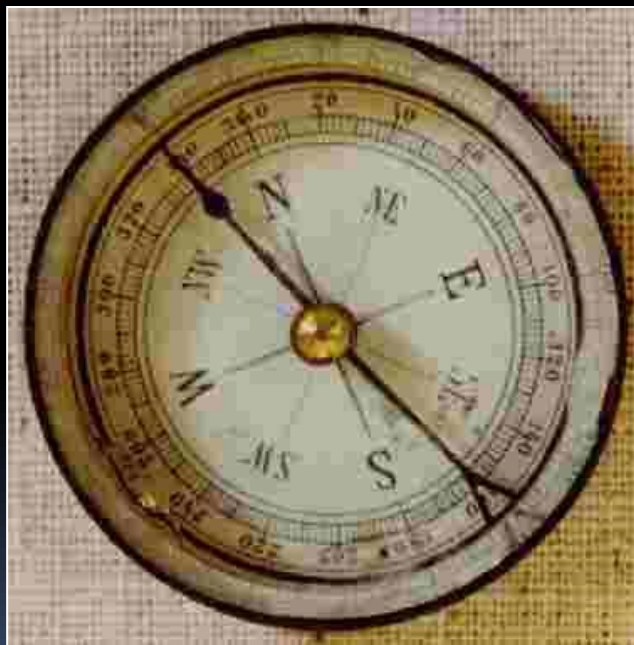
Nobelova cena 2004 za objevy podstaty čichu



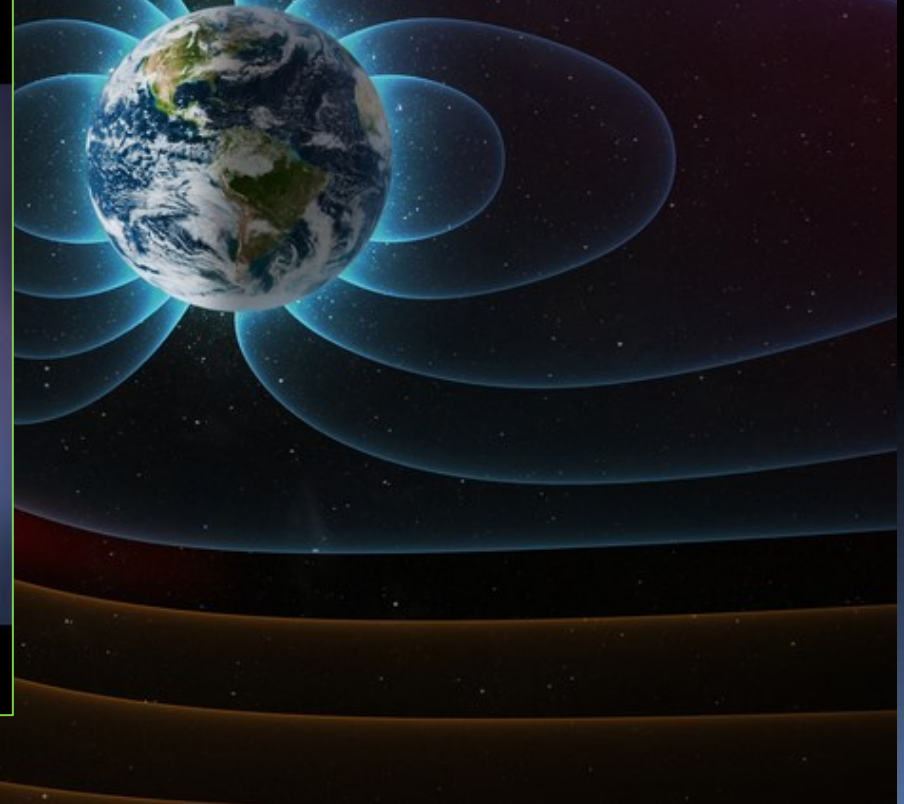
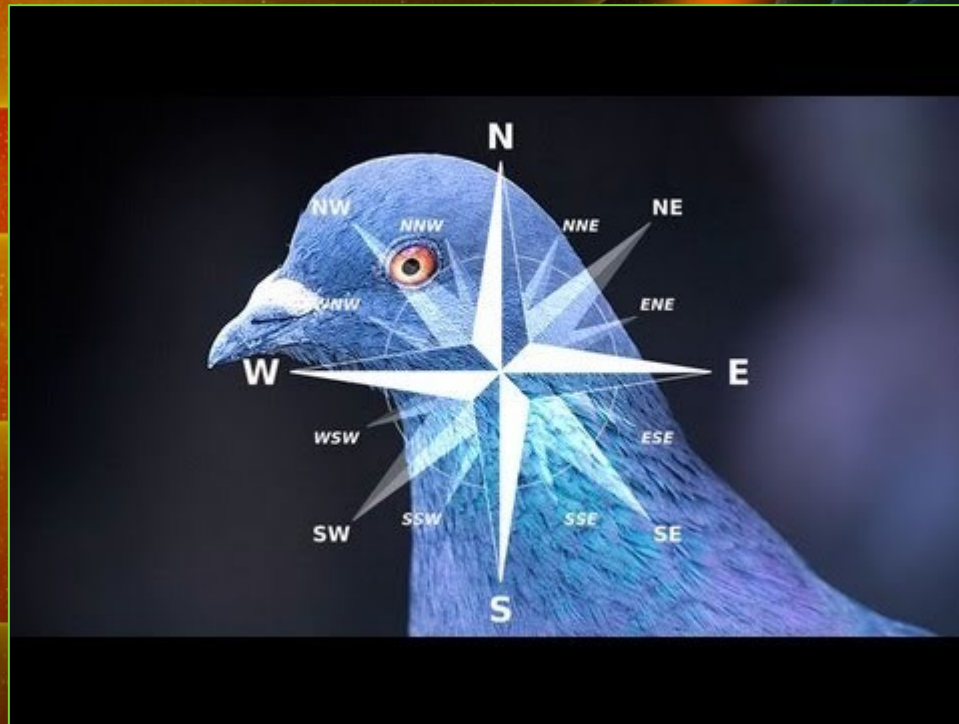
C) Magnetorecepce – výzva smyslové fyziologii



Kompas:
Všudypřítomné
vodítko



Geomagnetické pole doprovází život od jeho počátku



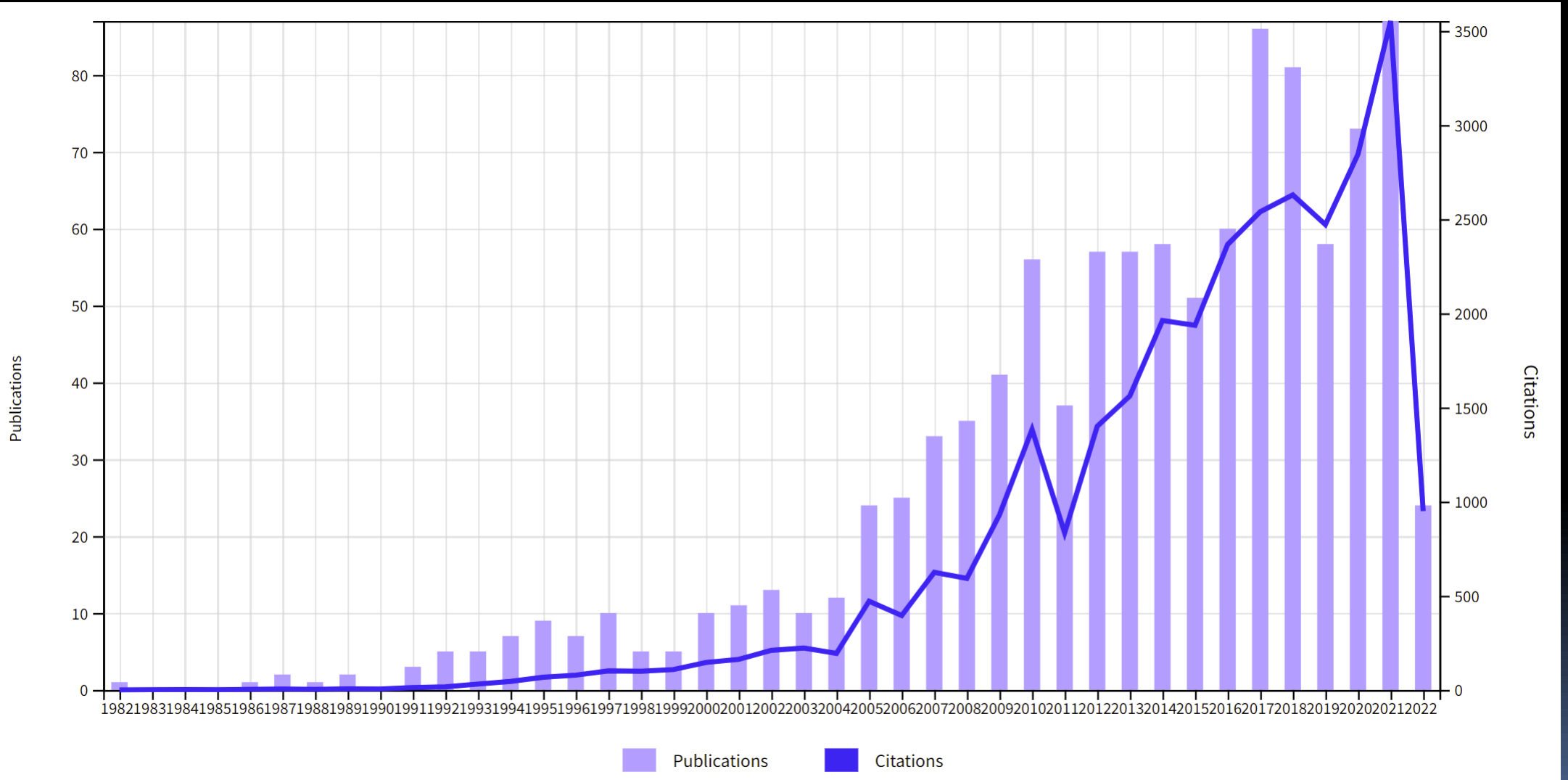
Schopnost je vnímat je dnes již dobře doložený fenomén.



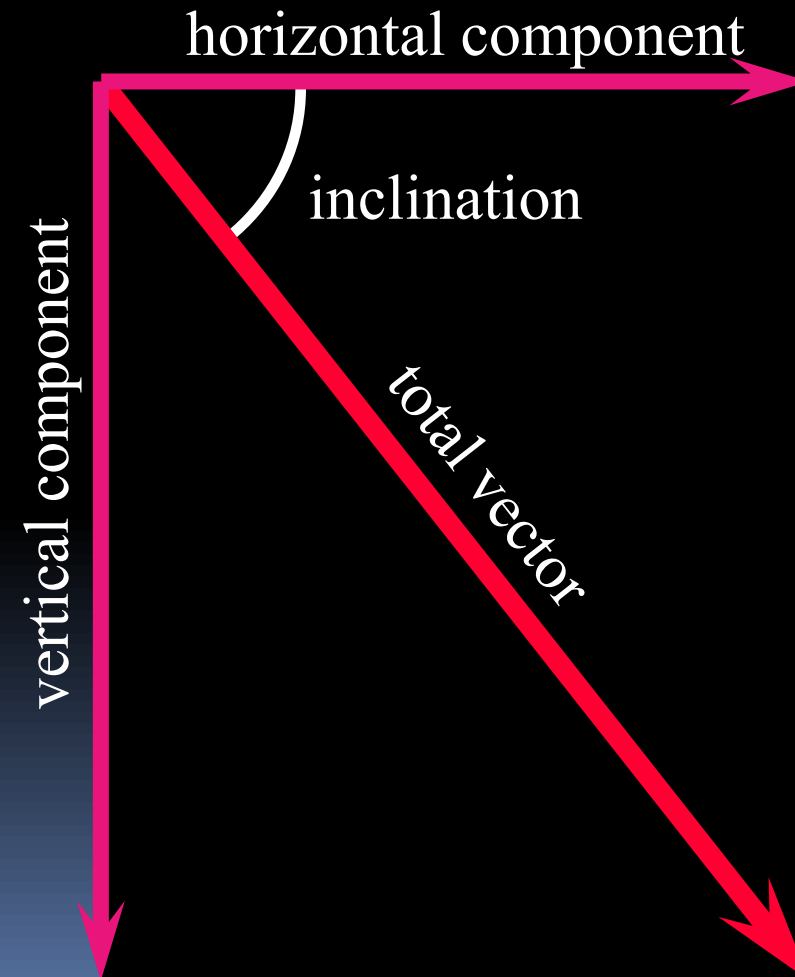
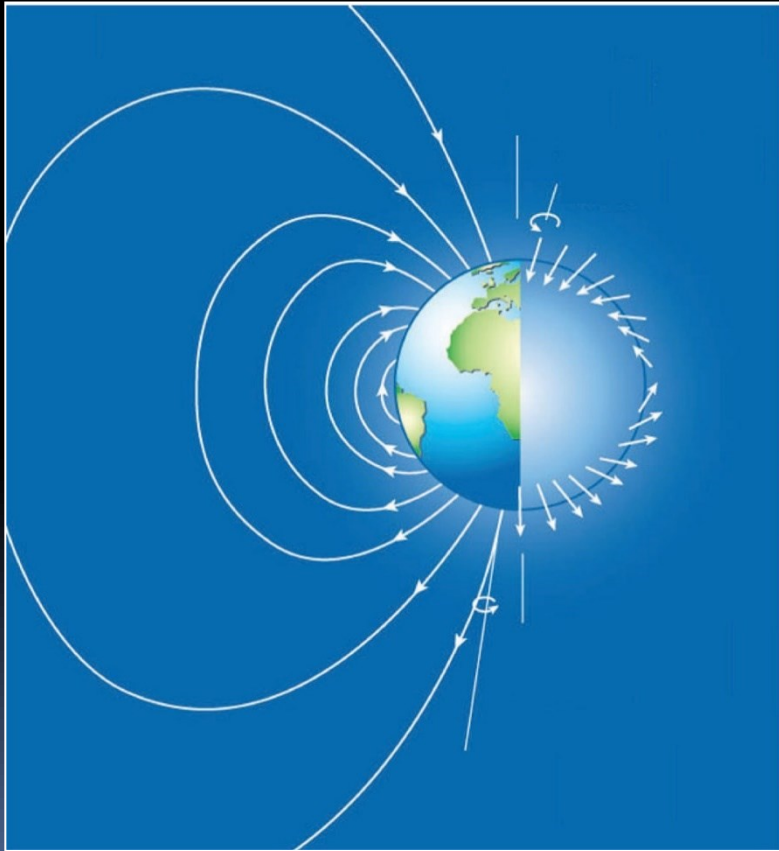
Od 60' do dneška:



Zájem badatelů neklesá. Heslo „magnetoreception“

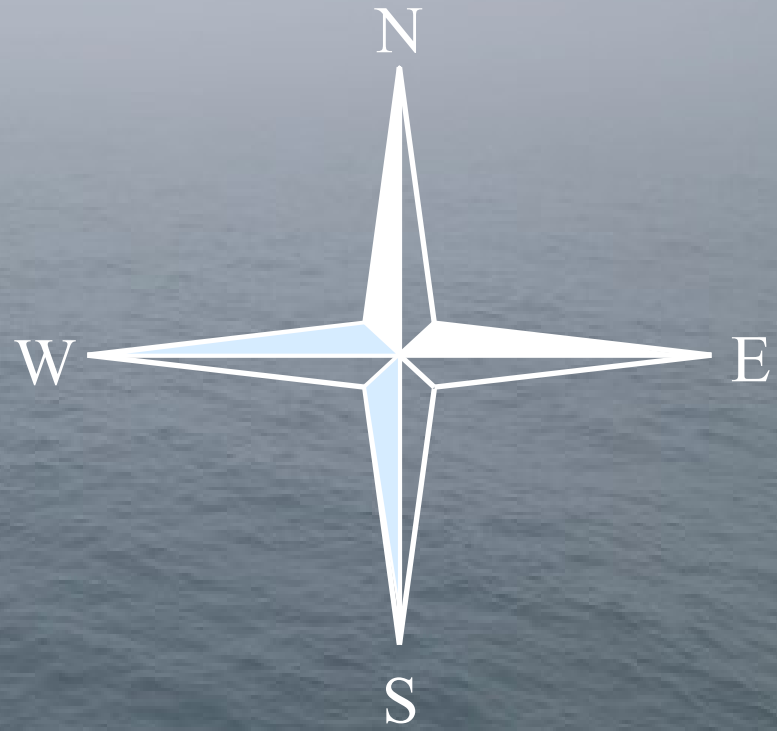
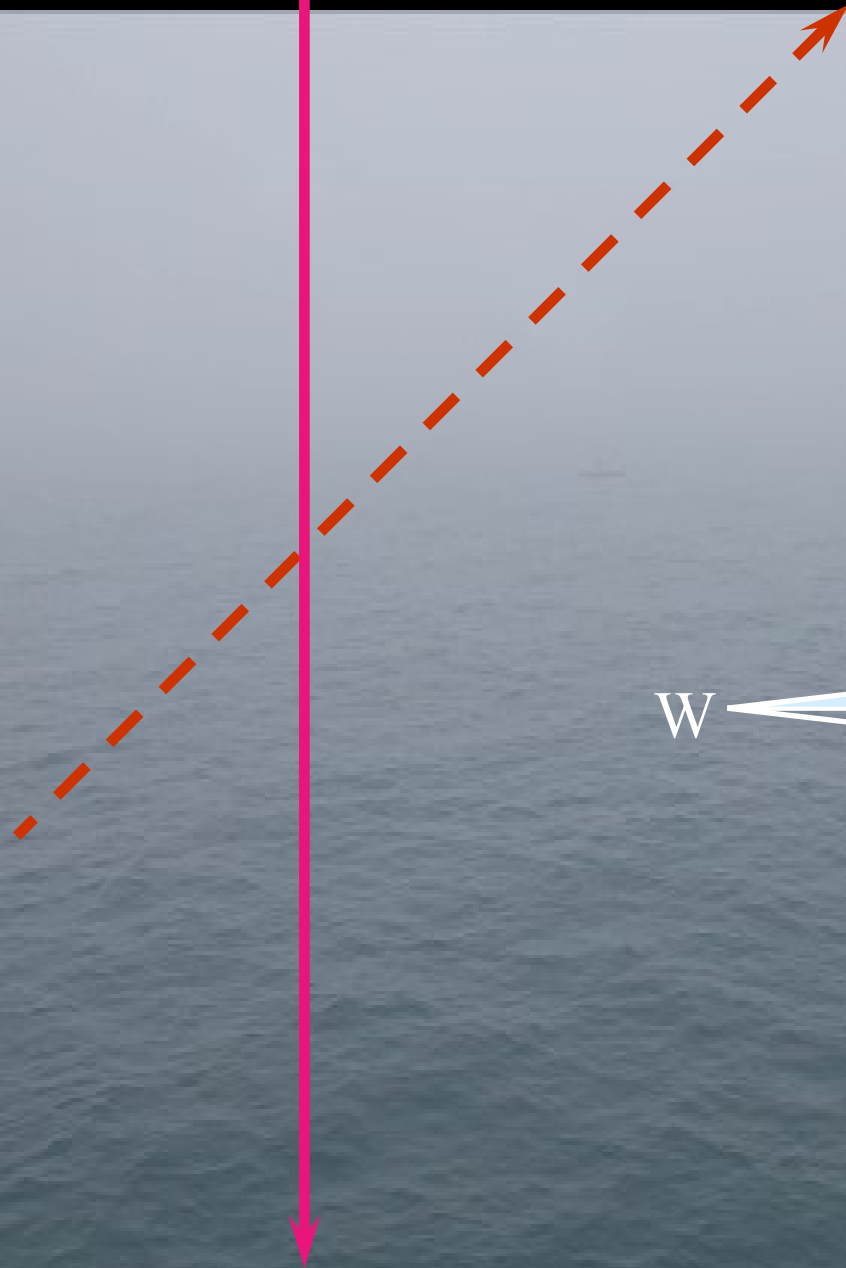


K čemu dobrá recepce? Užitečné orientační vodítko.



K čemu dobrá?

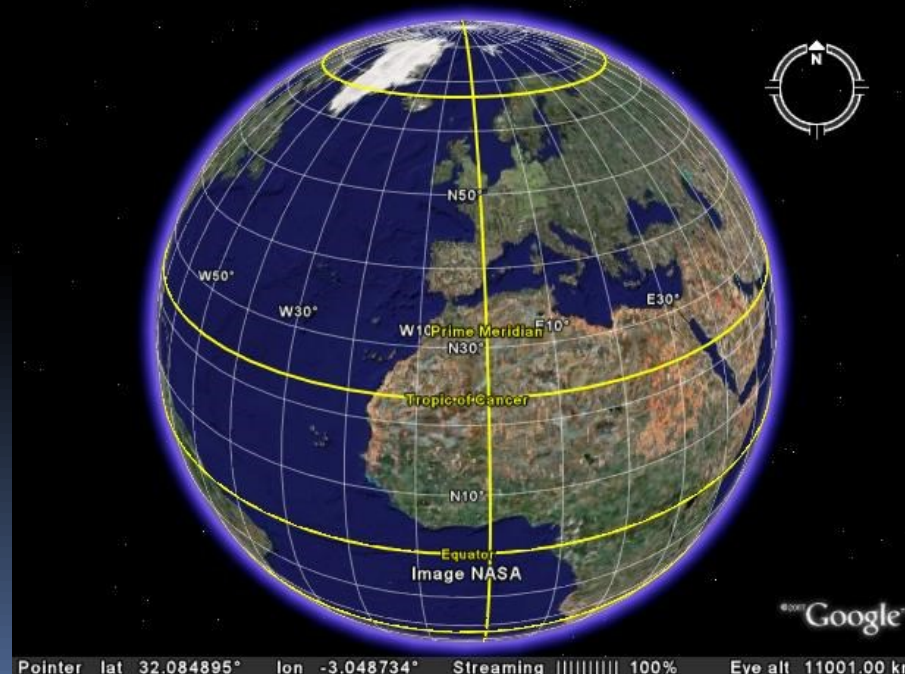
N



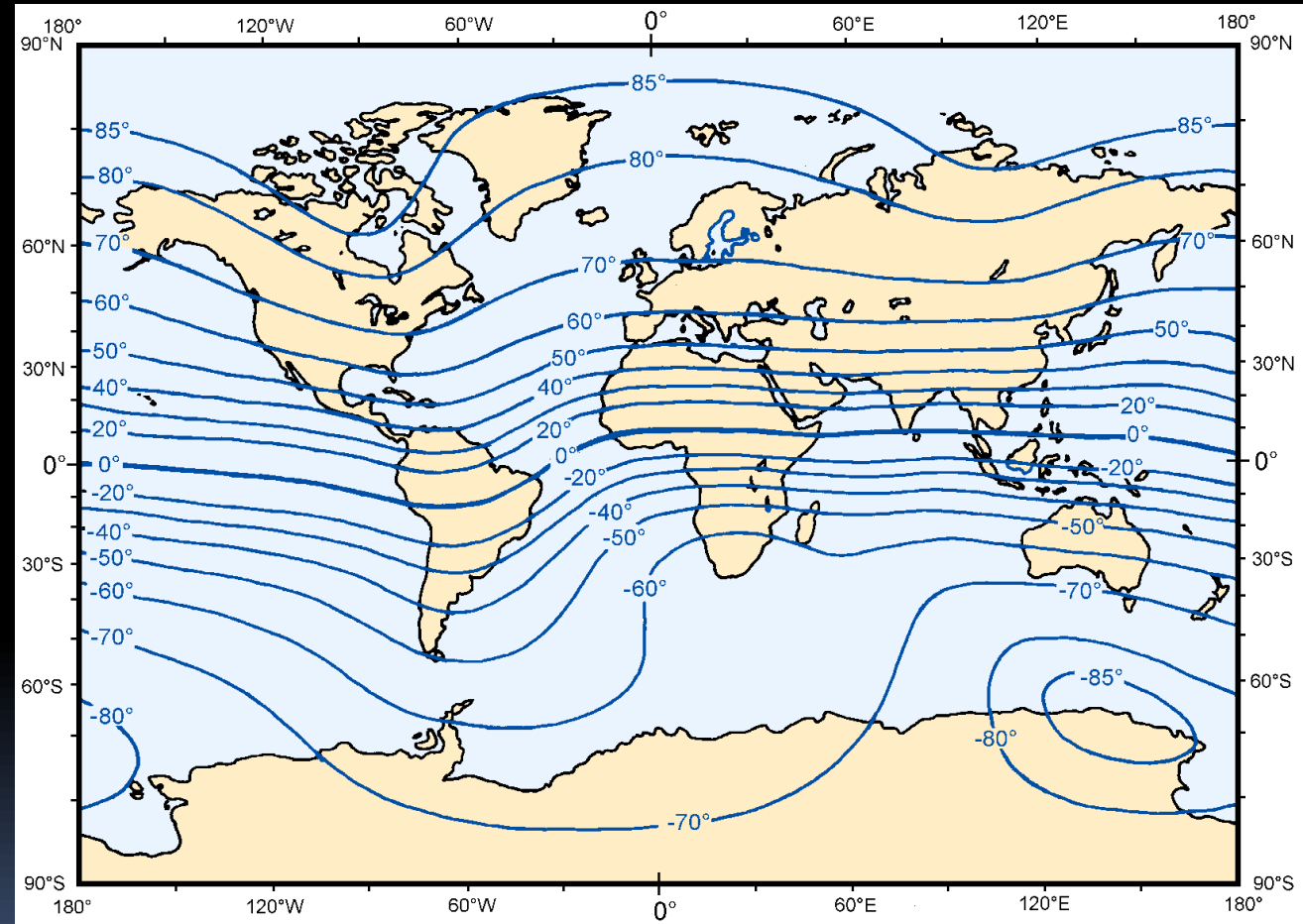
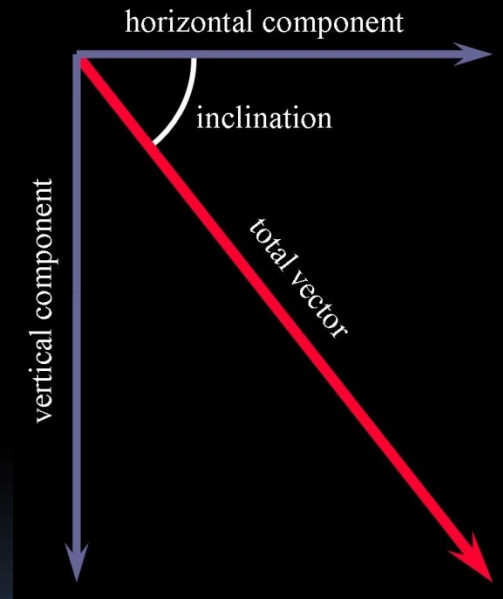
K čemu dobrá?

2. Lokalizovat pozici - **Mapový smysl -
navigace**

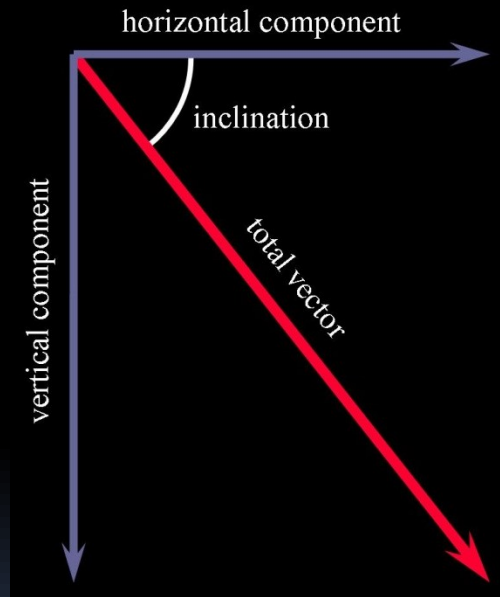
“GPS systém“ zvířat – závisí na souřadné síti
dvou gradientů



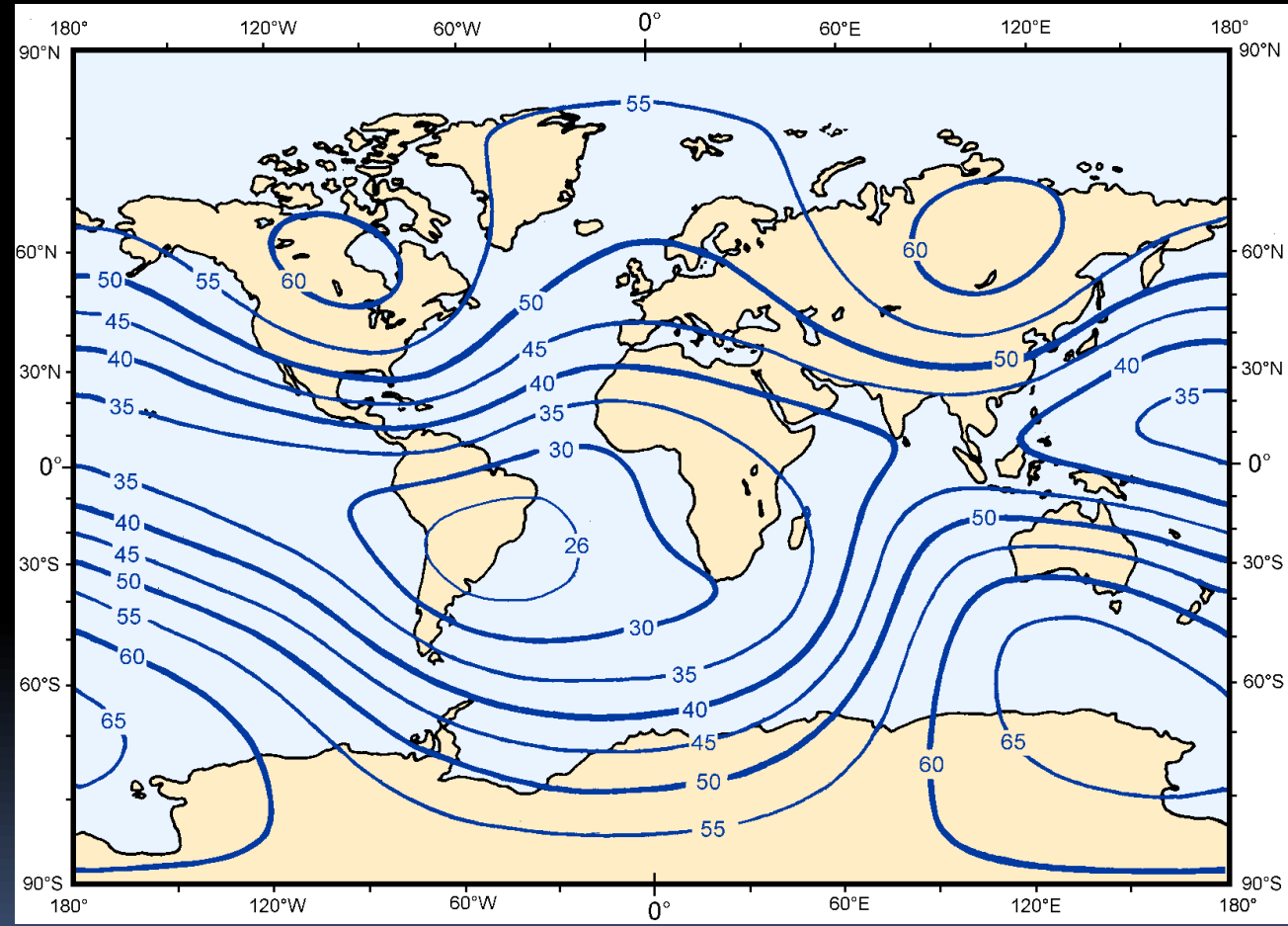
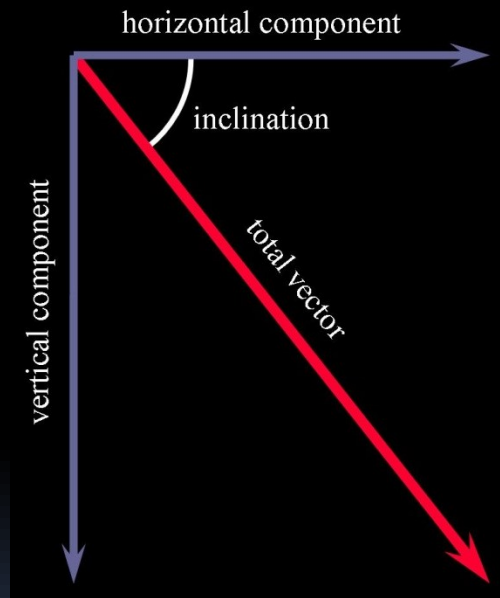
Z inklinace se dá zjistit geografická šířka...



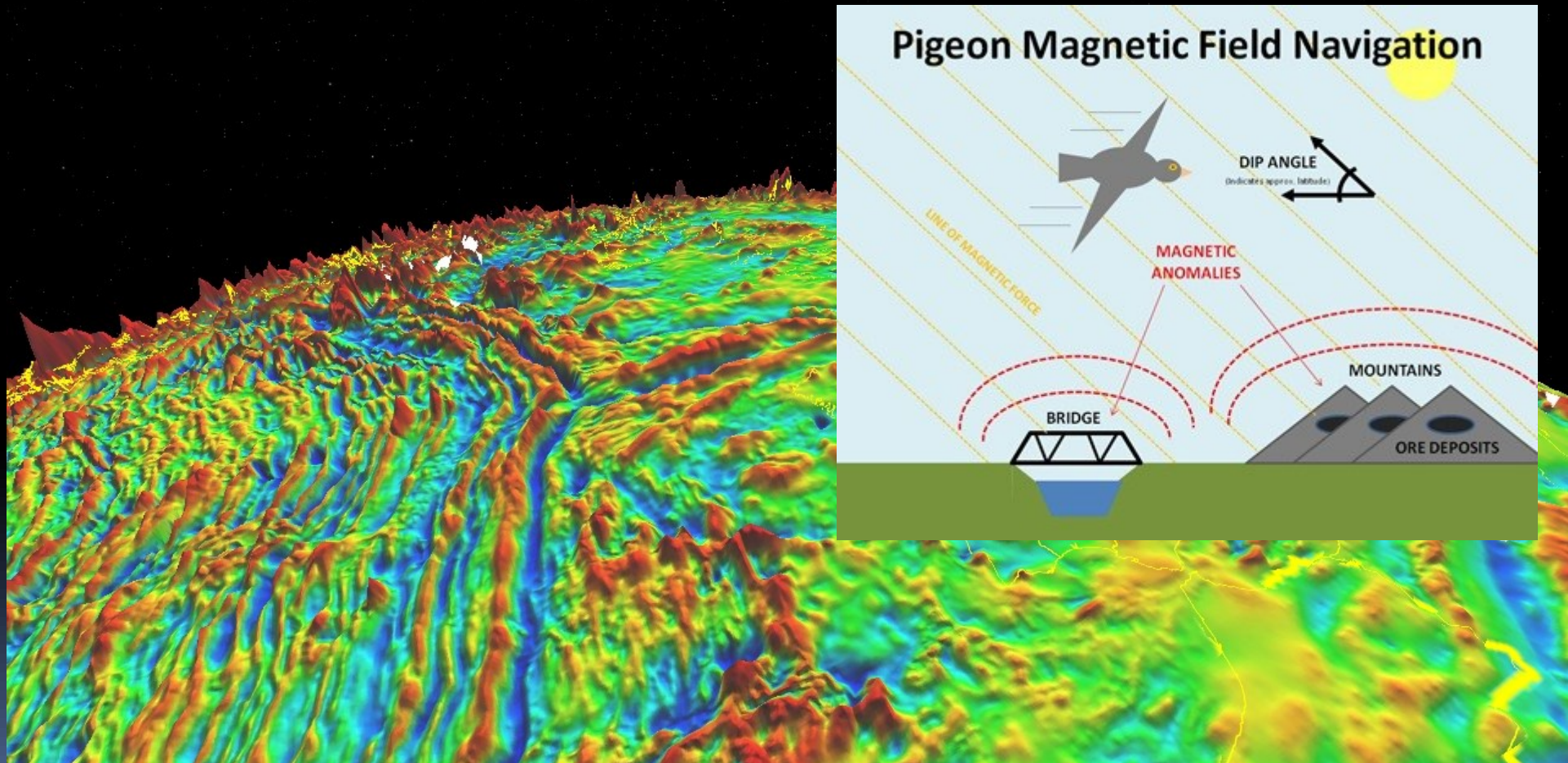
...a lokalizovat severo-jížní pozici.
Potřebujete ale speciální kompas.



Z intenzity se dá zjistit geografická délka



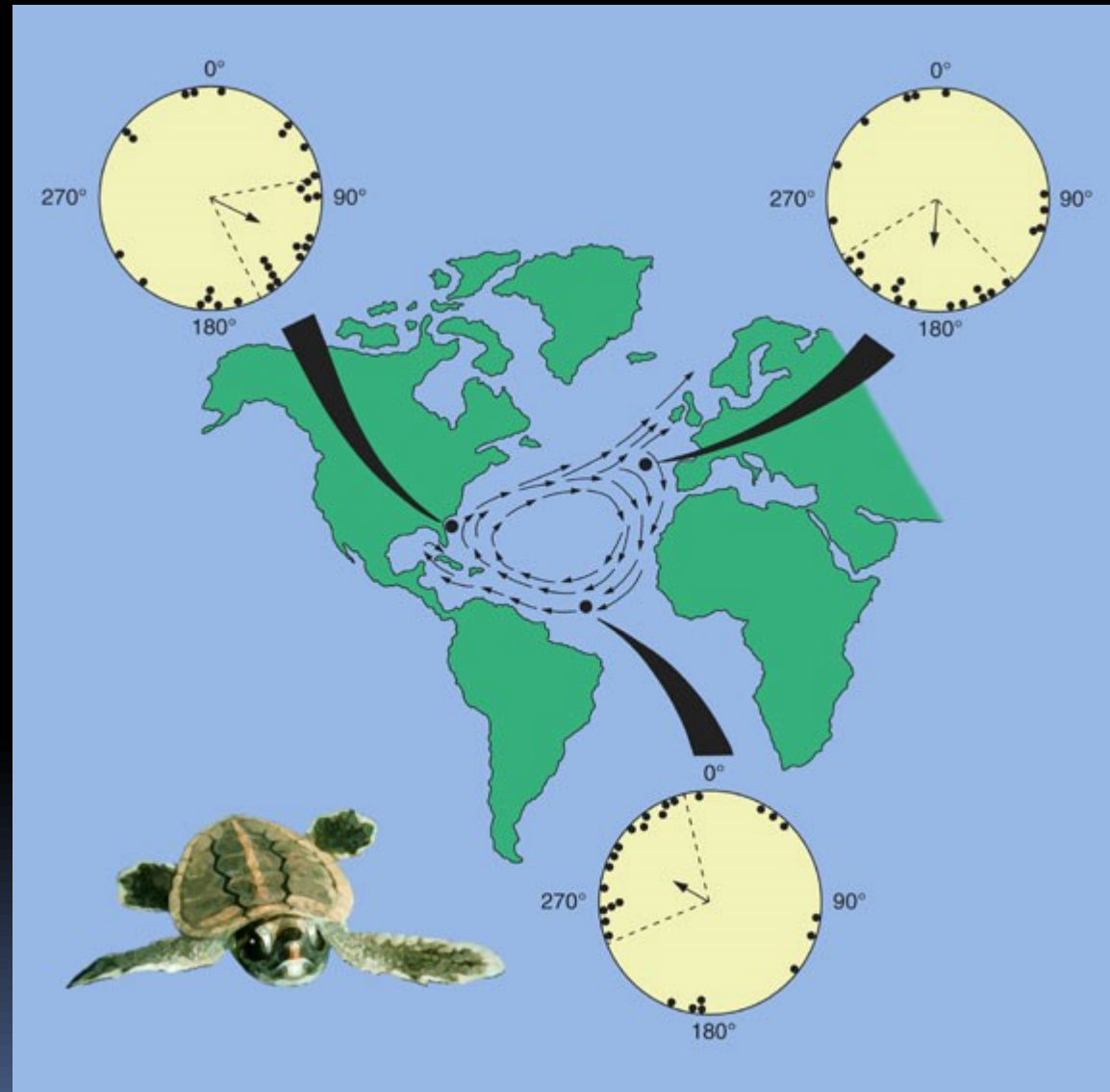
3. Lokální anomálie mohou sloužit jako místní vodítka.



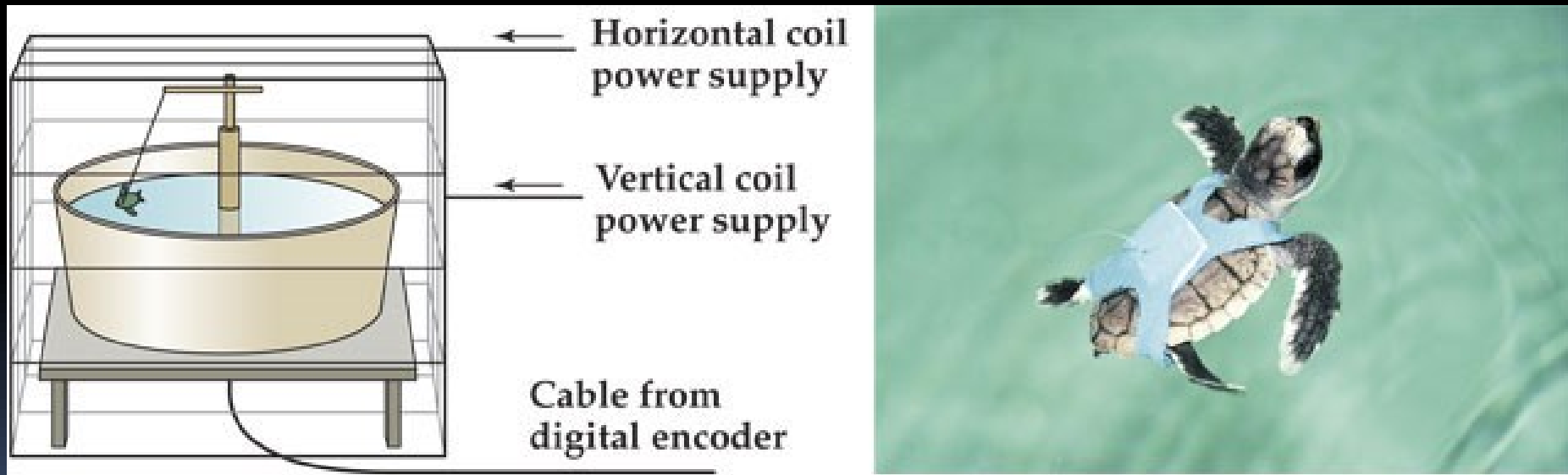
Kompas nebo mapa?

Karety mají
mapu

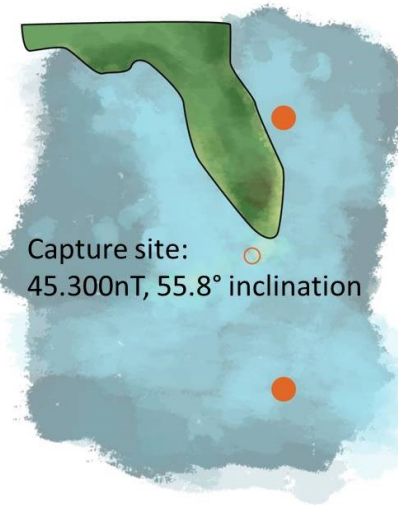
Používají
magnetické
parametry jako
majáky k
orientaci.



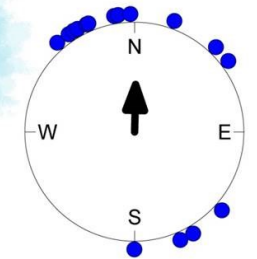
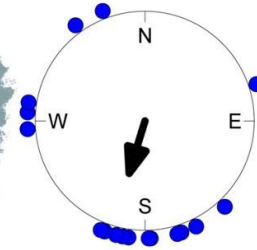
Mladé karety v systému cívek simulujícím lokální pole.



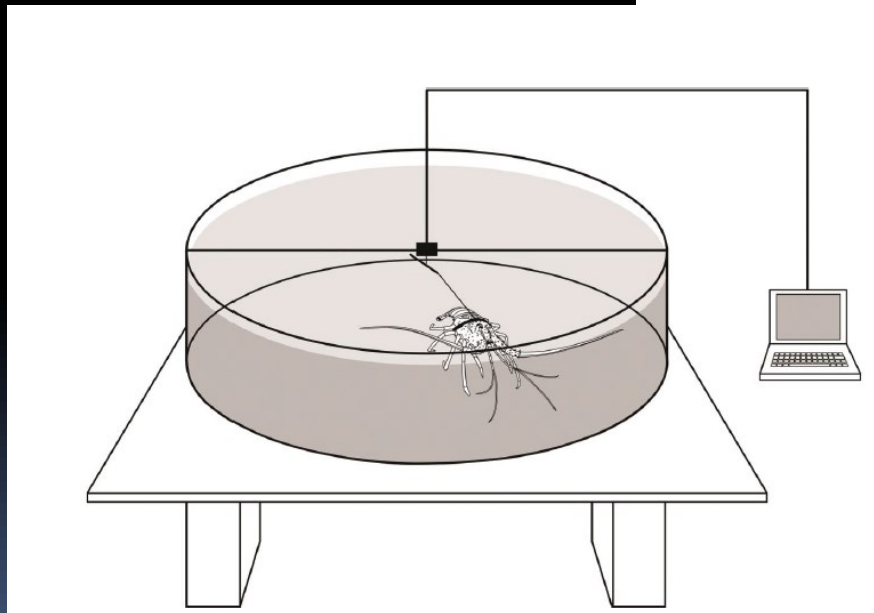
Langusta karibská mapu používá také



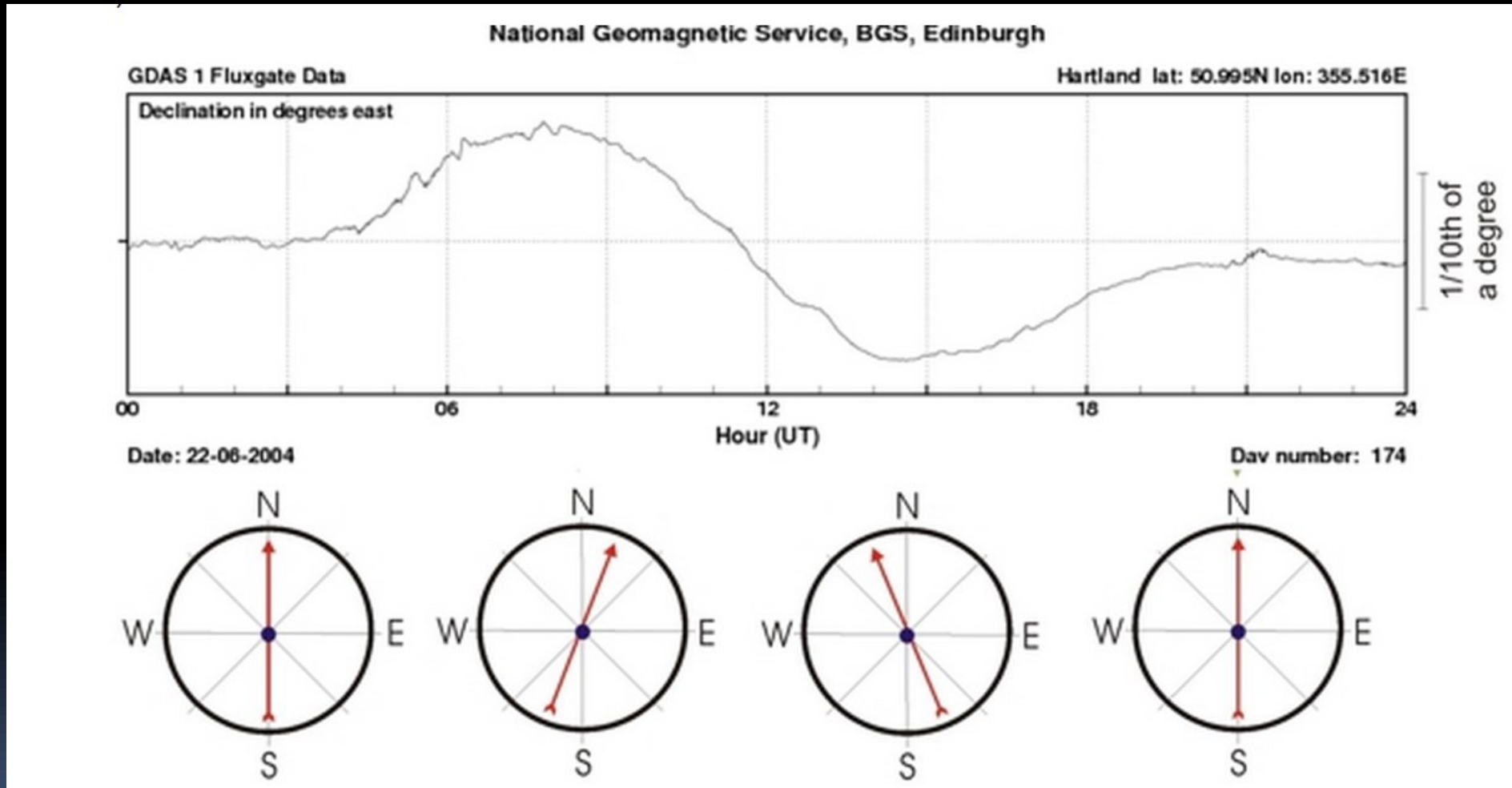
Simulated northern location:
47.900nT, 59.3° inclination



Simulated southern location:
42.800nT, 51.4° inclination

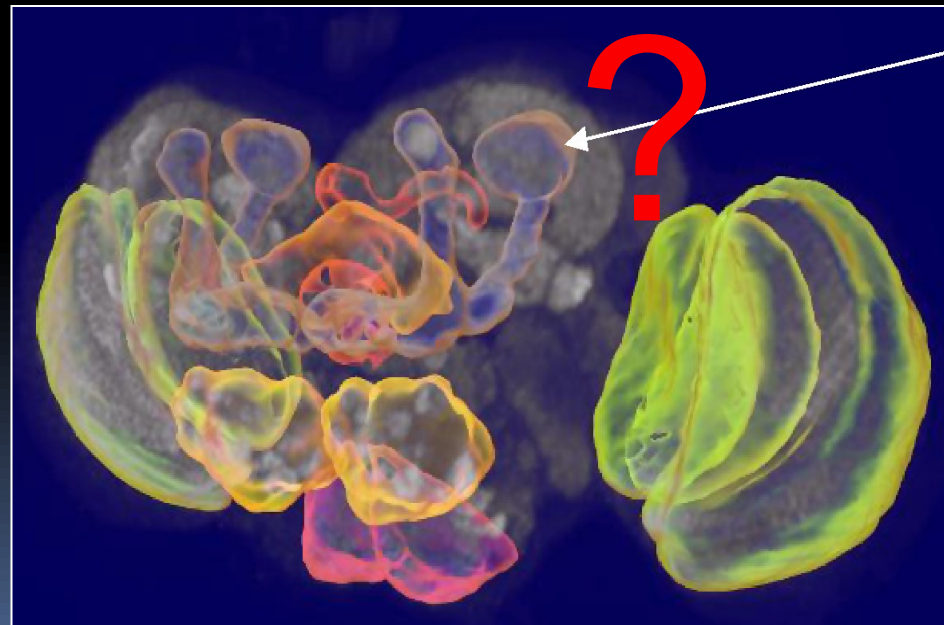


4. Z denních variací je možné zjistit čas

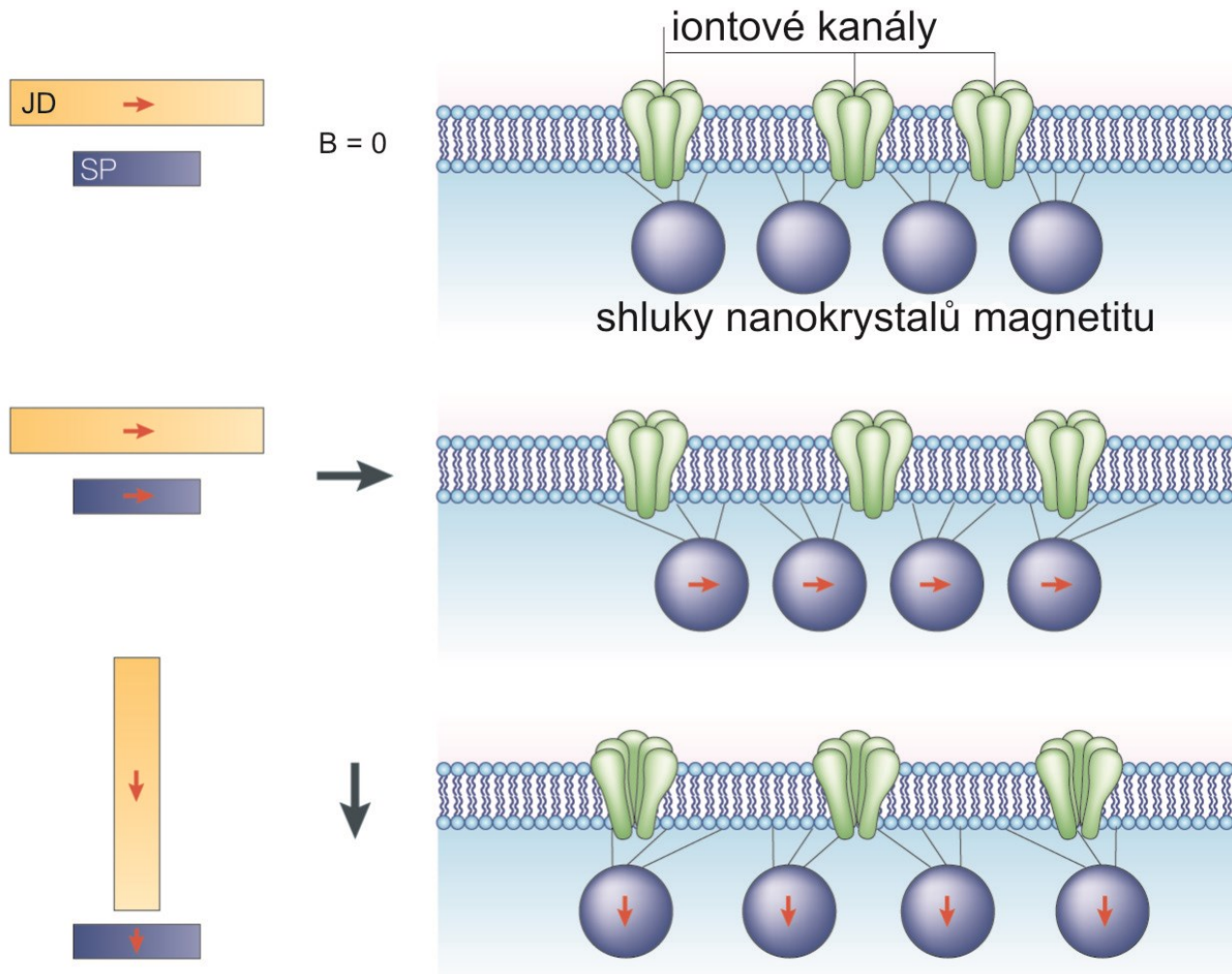


Neznáme :

- Mechanismus recepce
- Lokalizaci receptoru
- Adaptivní význam



Magnetit?



Důkazy pro magnetitový kompas :

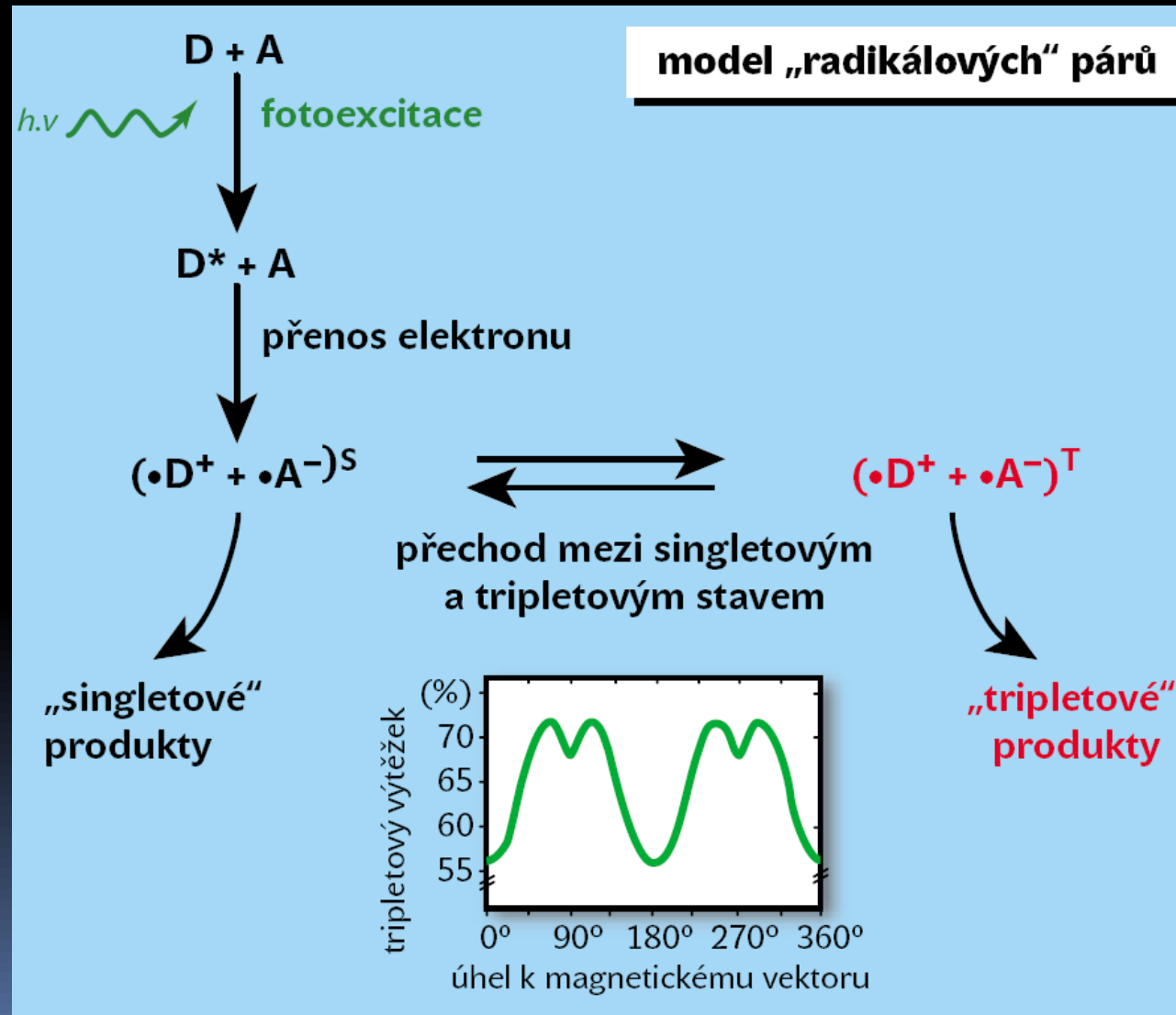
Nezávislý na světle

Rozeznává polaritu pole (S od J)

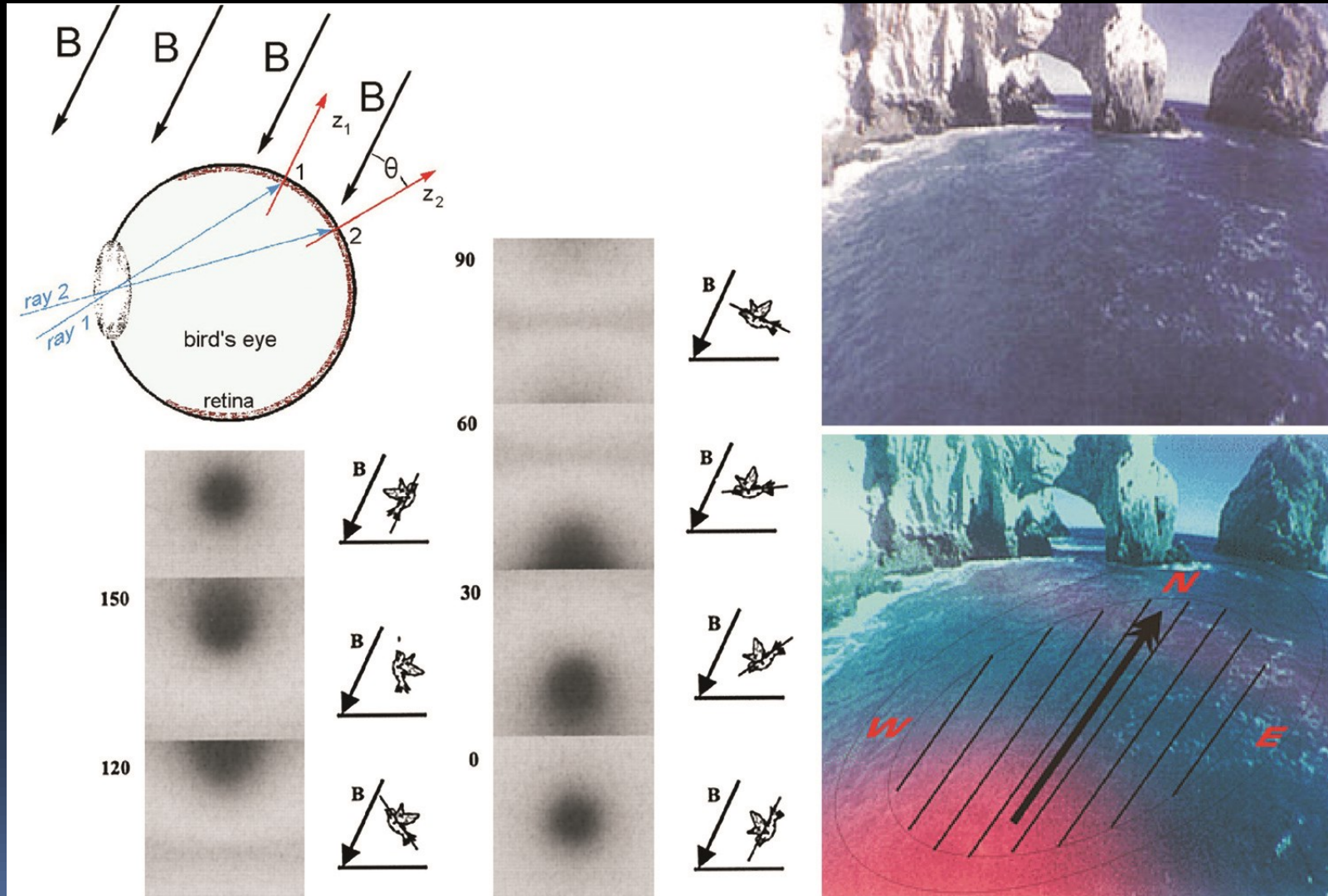
Citlivý na silný magnetický pulz

Necitlivý na slabé RF oscilace

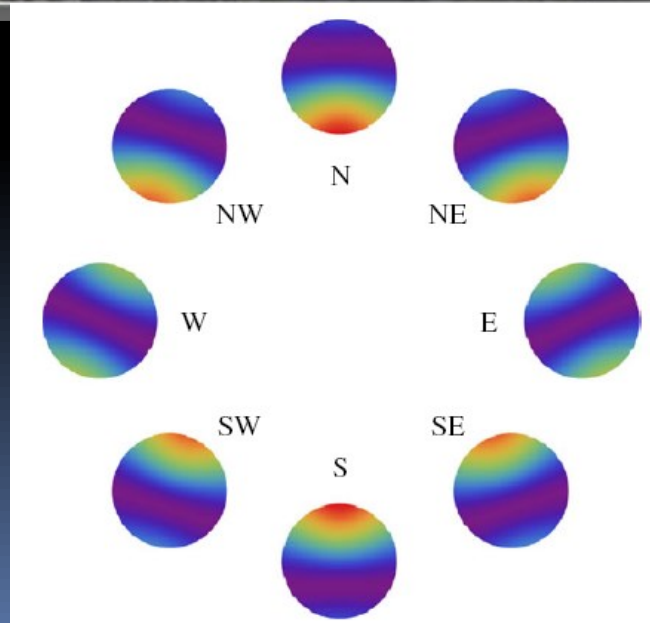
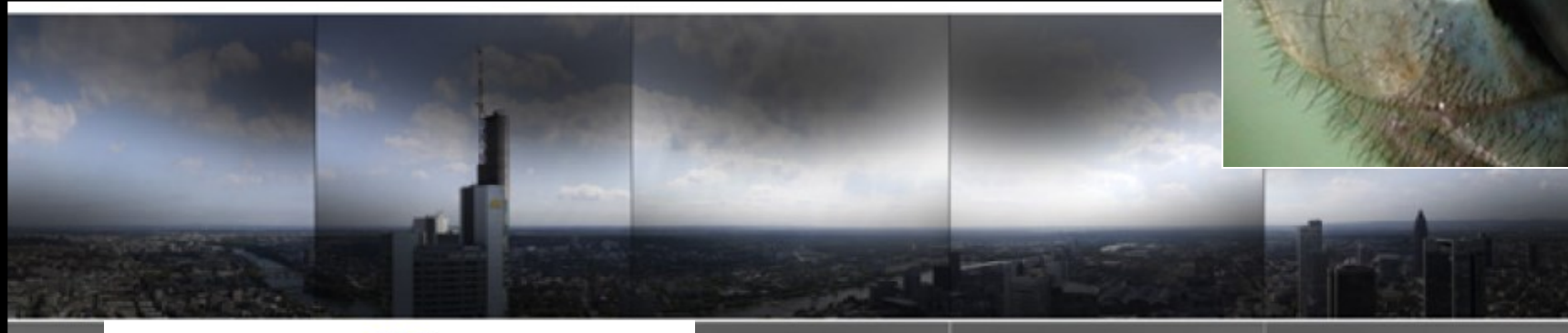
Fotochemická reakce?



GMF vektor může modulovat procesy transdukce světla...



... a tvořit viditelné obrazce (?)



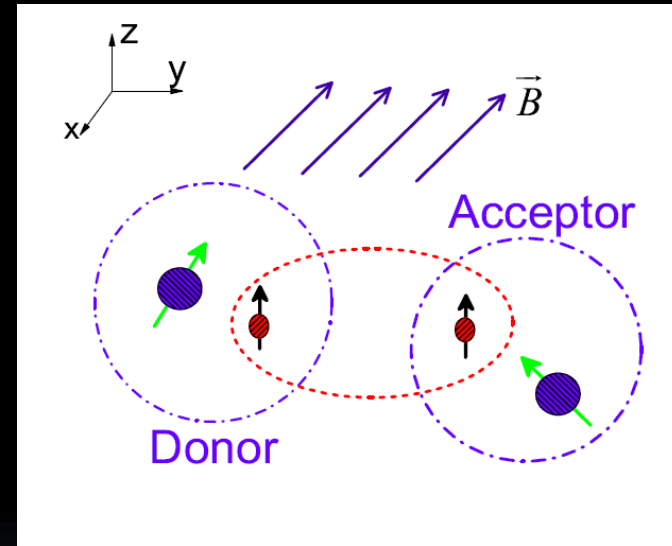
Solov'yov, I. A., H. Mouritsen, and K. Schulten. 2010. Acuity of a cryptochrome and vision-based magnetoreception system in birds. *Biophysical Journal* 99: 40-49.

Fotochemický model:

Základní teze: Biochemická reakce může být ovlivněna GMF.

Nepárové elektrony mají svůj magnetický moment, který interaguje s okolním polem

Nepárové elektrony najdeme v radikálových párech. Ty vznikají např. po dopadu fotonu (chlorofyl, fotolyázy)



Fotochemický model:

Fotosensitivní molekulou s takovými vlastnostmi je nejspíše Kryptochrom

Nalezené v rostlinách

Příbuzné fotolyázám

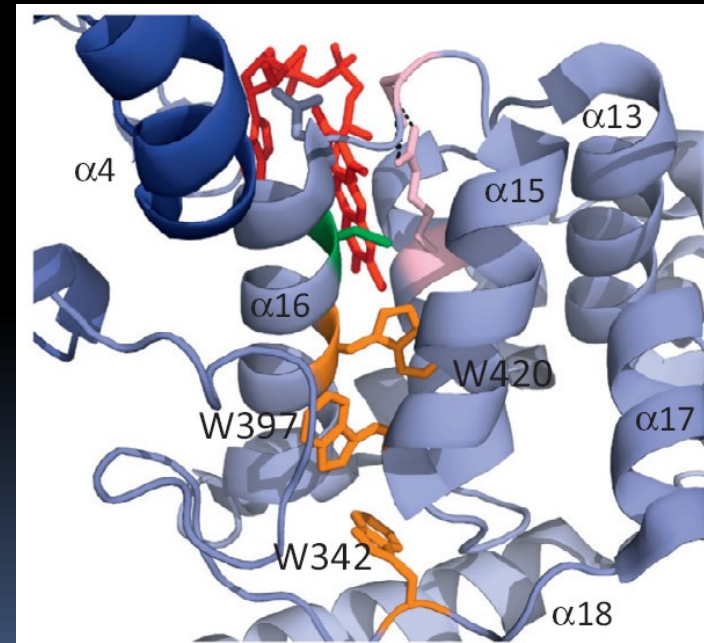
Řídící vnitřní hodiny

Tvořící radikálové páry

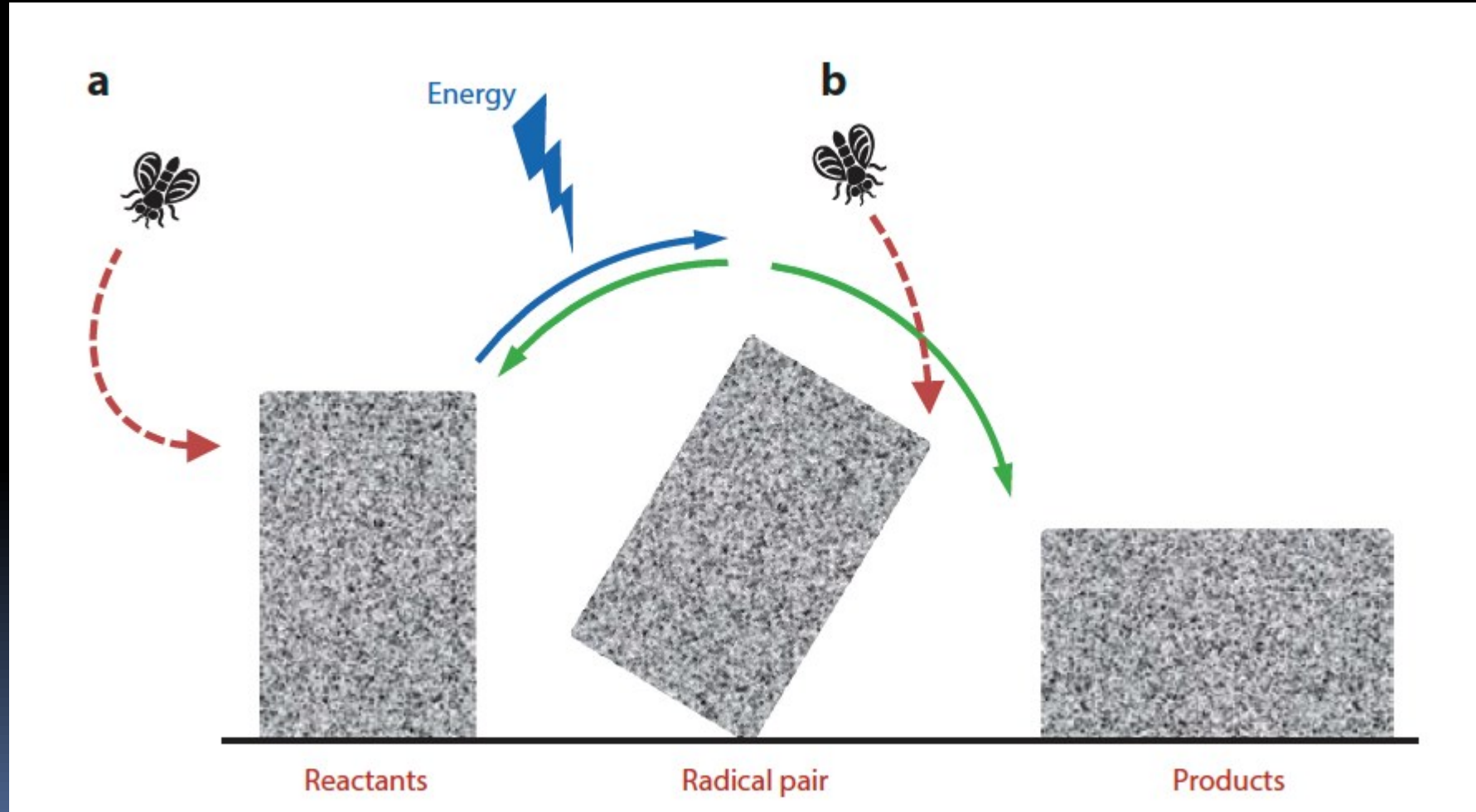


Fotochemický model:

Citlivost Cry k GMP leží ve „hře“ s elektrony mezi proteinem a kofaktorem FAD.



Mechanická analogie. I nepatrná energie magnetického pole může ovlivnit to, kterým směrem se systém mimo rovnováhu překlopí.



Metody výzkumu



Blacksburg VA, Oldenburg DK



Kývalka u Brna CZ



Pláž na Lachmanově mysu



S

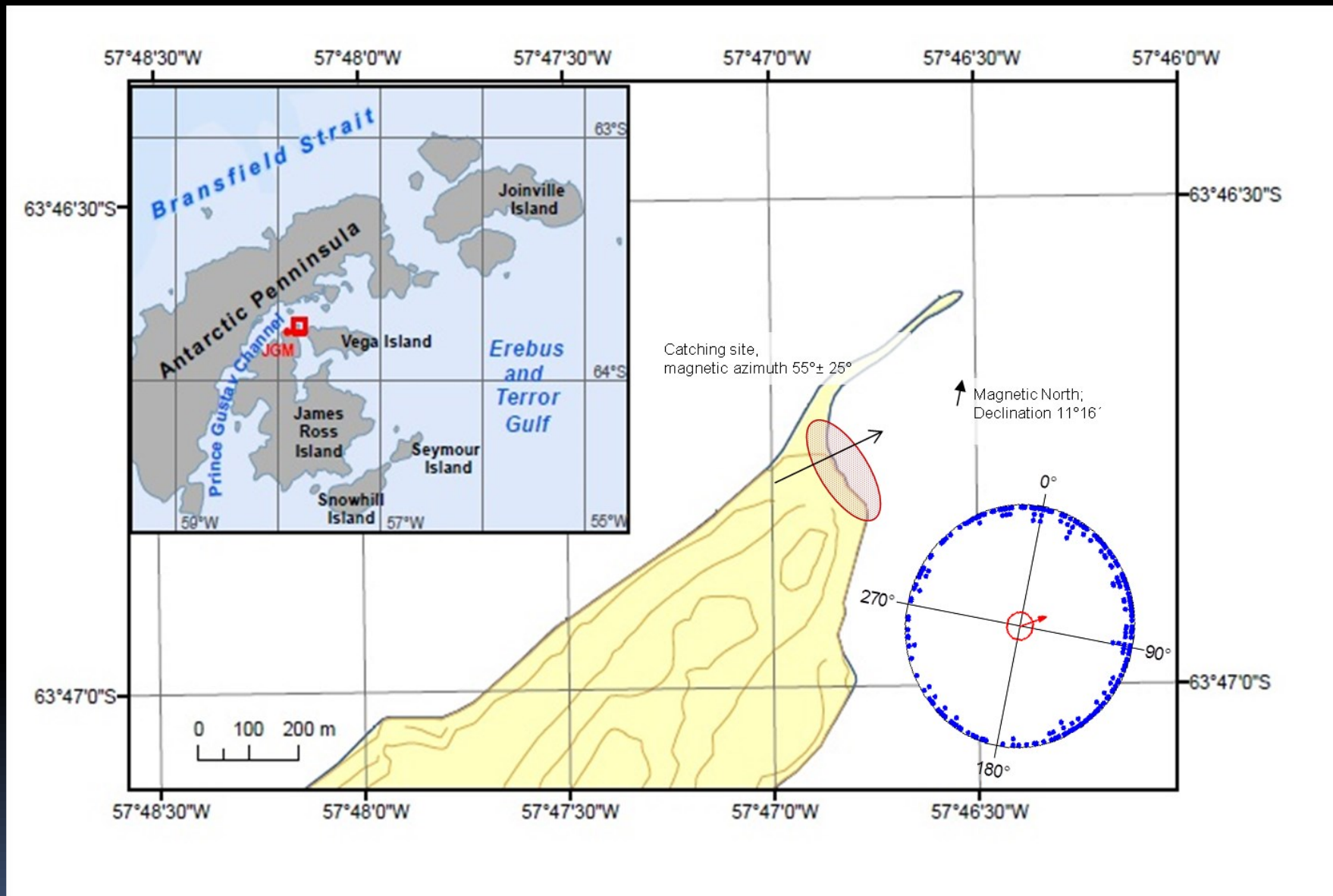
Y-osa azimut 50-90°

Vrtulovna



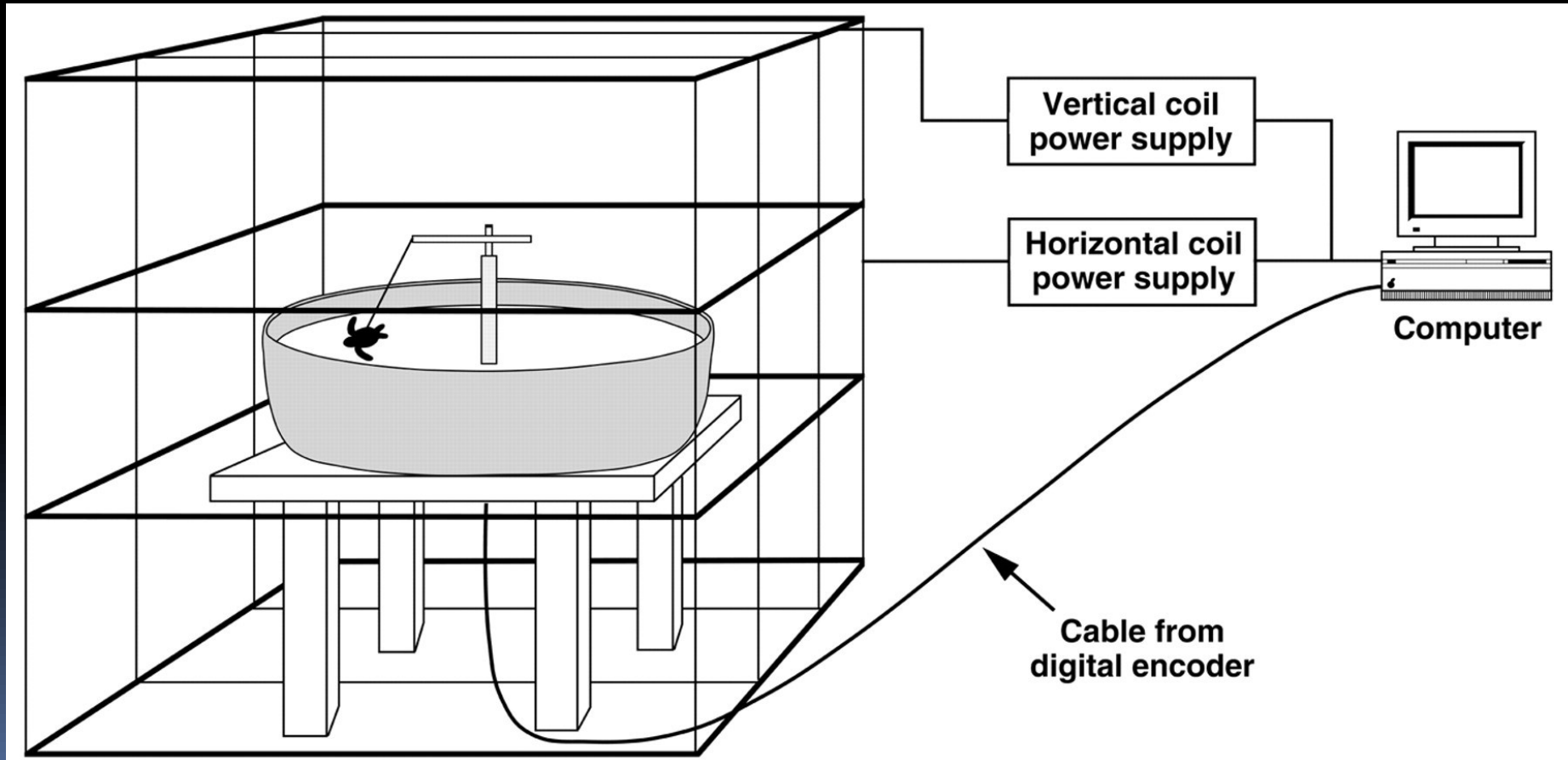
Vrtulovna



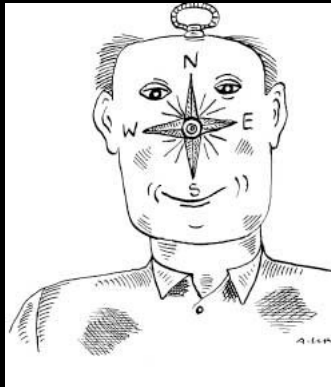


Tomanová K, Vácha M. 2016. Magnetic orientation of Antarctic amphipod *Gondogeneia antarctica* is cancelled by very weak radiofrequency fields. *J Exp Biol*.

Laboratorní experiment zůstává nejjistějším standardem.



Člověk?

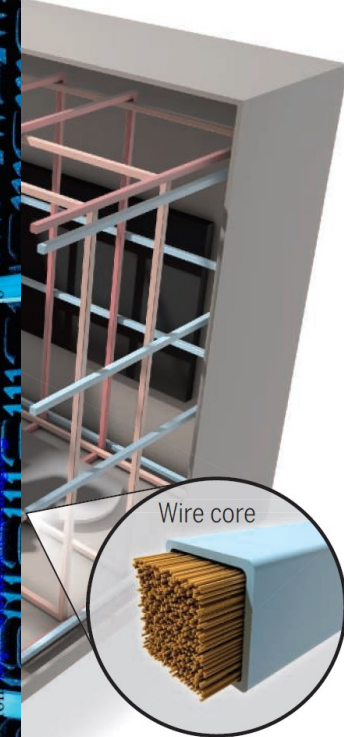


FEATURES

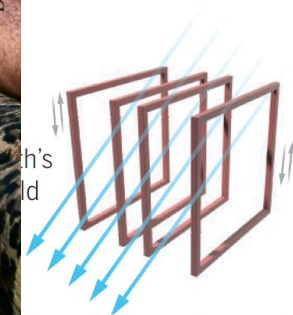


Joe Kirschvink, sporting an EEG sensor cap, was the first subject in his magnetic-sensing tests.

us magnetic sense



Active sham



Alternating currents cancel out applied field, leaving only Earth's.

Metody práce naší laboratoře:

Sledujeme pohybovou aktivitu zvířat. Laboratoř je vybavena videosystémy pro záznam a vyhodnocování pohybů.



Mus musculus

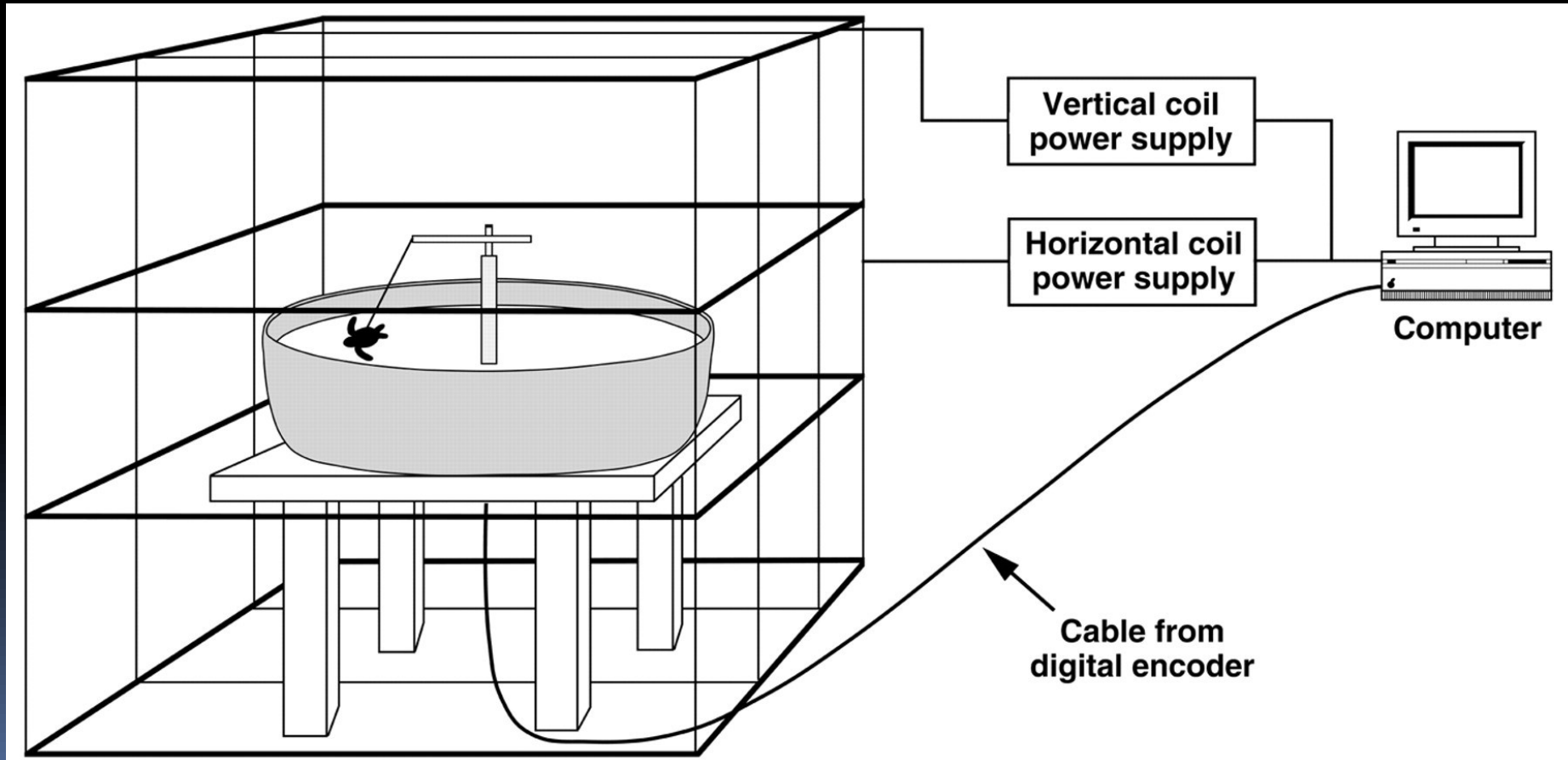


Blatella germanica



Pyrrhocoris apterus

Metody práce v magnetobiologické laboratoři: Velké cívky umožňují nastavit libovolné GMP.



Velké cívky ve stíněných komorách v suterénu D36.



Neuroetologické metody smyslové fyziologie

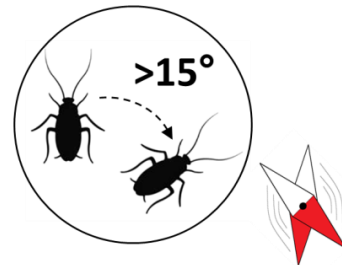
Spontánní a podmíněné reakce



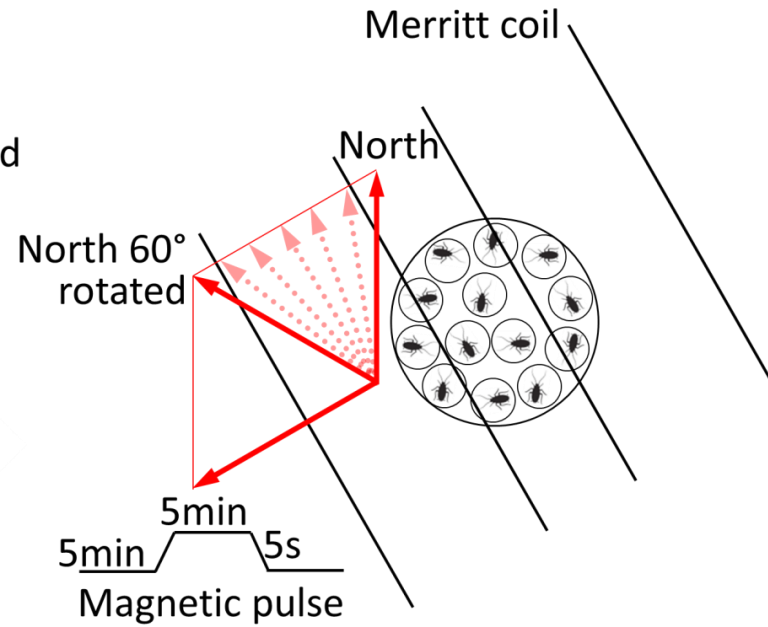
Magnetically induced restlessness (MIR)

Methods:

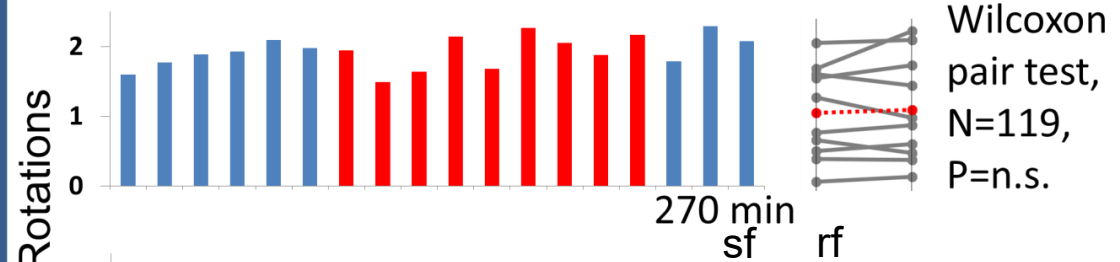
Magnetically Induced Restlessness (MIR)



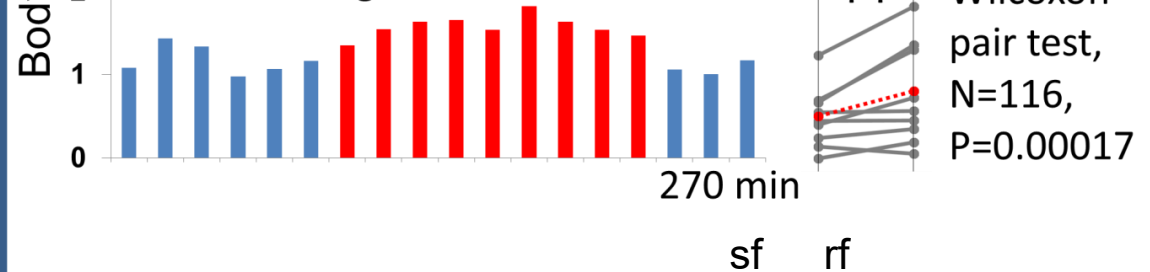
60° oscillations
Period 5 min



Control – no MGF rotation – no MIR reaction



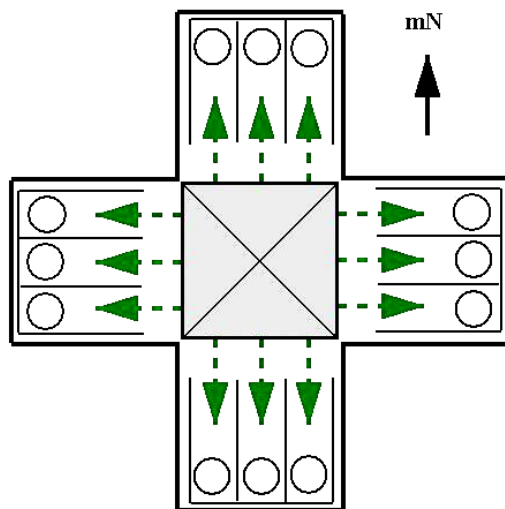
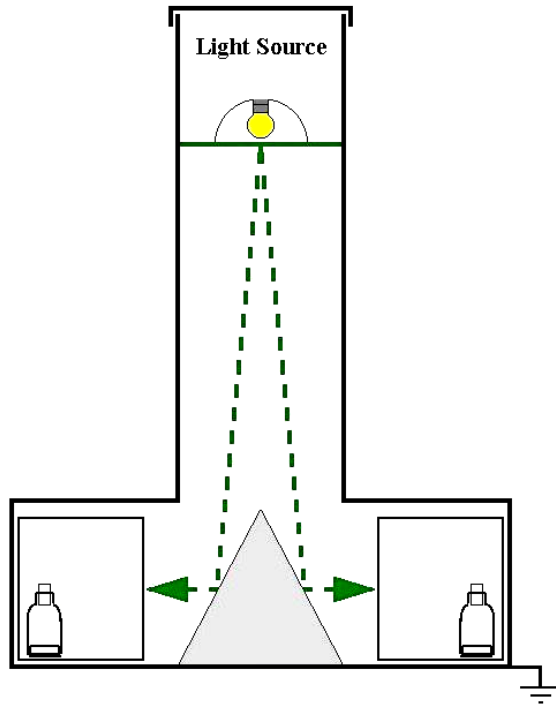
Test – rotating MGF – MIR reaction



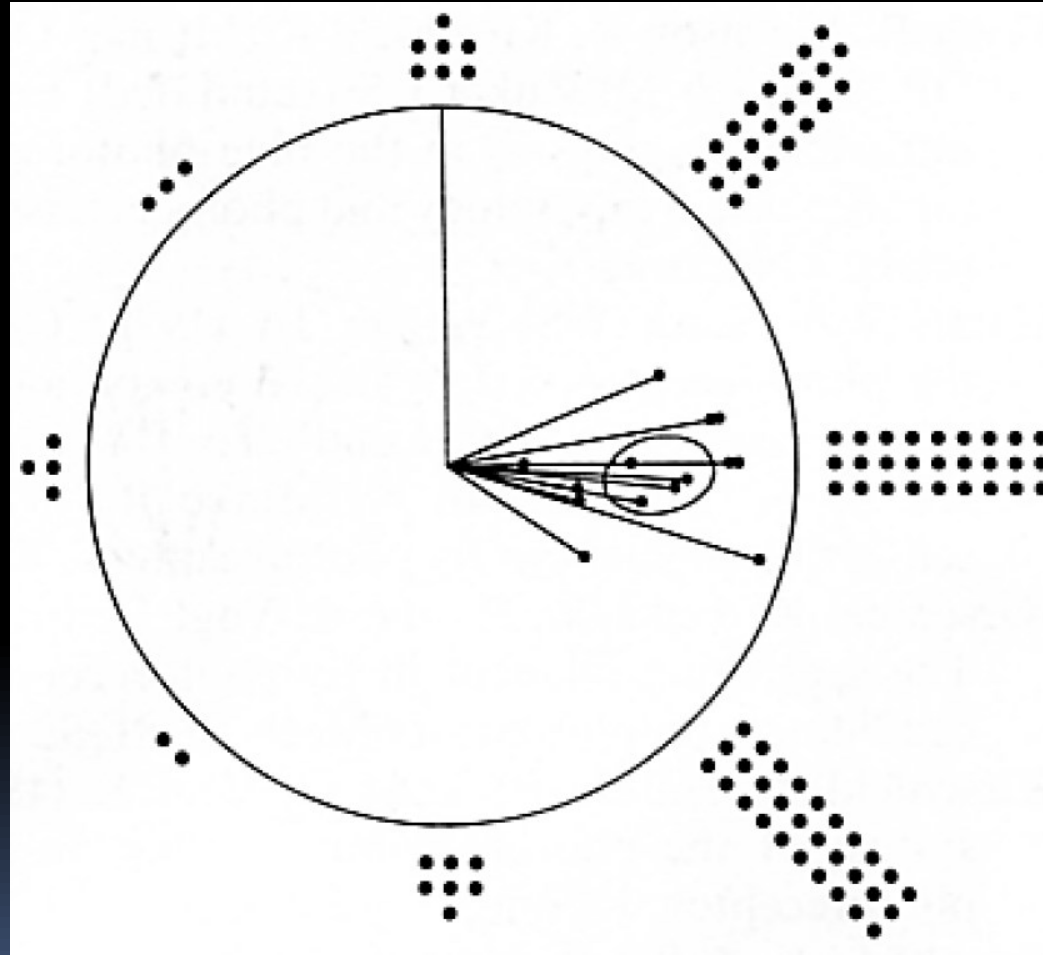
Neuroetologické metody smyslové fyziologie

Podmiňování: Trénink a test

Trénink Drosophila Světlo jako atraktivní stimul

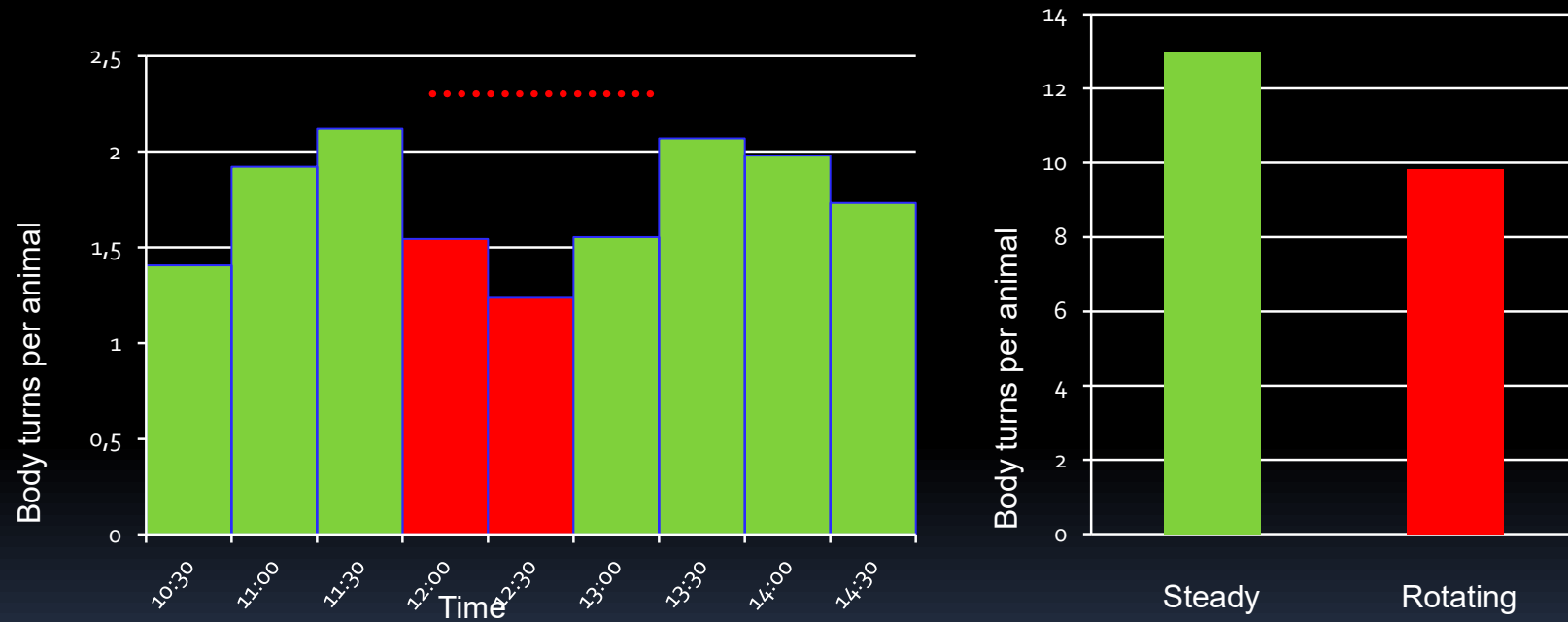


Cirkulární diagramy orientace



Magnetically induced freezing (MIF)

Aversively conditioned temporary immobility.



Stíněné komory v kampusu

Umožňující odfiltrovat co nechceme a nastavit GMP, jaké chceme.



Stíněné komory v kampusu

Umožňující odfiltrovat co nechceme a nastavit GMP, jaké chceme.



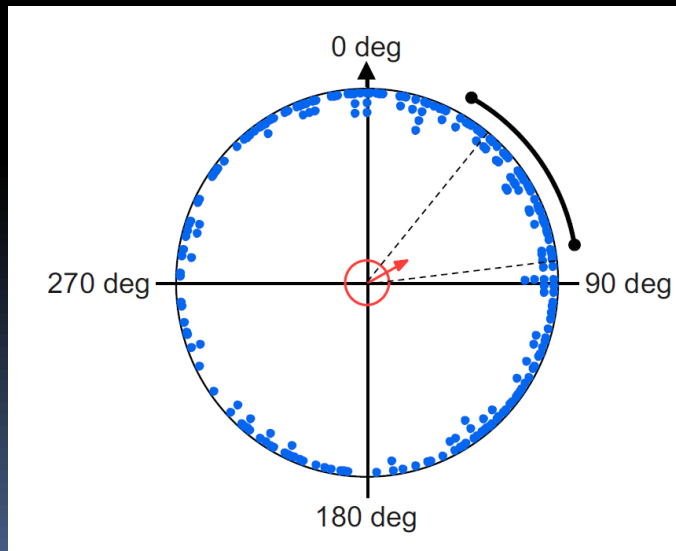
Máme k dispozici laboratorní testy magnetorecepčního chování u hmyzu.

Díky tomu aplikujeme:

- Metody funkční genetiky (knockoutování jedinci, vypnutí určitých vytypovaných genů, RNAi, crispr)
- Fyzikální faktory (parametry světla a magnetického pole)



SW analyzující obraz



Vybrané fotky

1. 14-11-01 10-00-12
2. 14-11-01 10-01-12
3. 14-11-01 10-02-12
4. 14-11-01 10-03-12
5. 14-11-01 10-04-12
6. 14-11-01 10-05-12
7. 14-11-01 10-06-12
8. 14-11-01 10-07-12
9. 14-11-01 10-08-12
10. 14-11-01 10-09-12
11. 14-11-01 10-10-12
12. 14-11-01 10-11-12
13. 14-11-01 10-12-12
14. 14-11-01 10-13-12
15. 14-11-01 10-14-12
16. 14-11-01 10-15-12
17. 14-11-01 10-16-12
18. 14-11-01 10-17-12
19. 14-11-01 10-18-12
20. 14-11-01 10-19-12
21. 14-11-01 10-20-12
22. 14-11-01 10-21-12
23. 14-11-01 10-22-12
24. 14-11-01 10-23-12
25. 14-11-01 10-24-12
26. 14-11-01 10-25-12
27. 14-11-01 10-26-12

Zobrazit celou cestu k souborům

Rozsah snímků

Od: 1 Do: 48

Nalezení švábů

Metoda 1

Metoda 2

Velikost osekání: 2

Spustit měření

Zastavit měření

Zahodit naměřené hodnoty

Obrázek

7 / 48

Okno s výstupy

```
[10:19:52] Spuštěno měření obrázků ...
[10:19:52] Měření obrázků: 1 / 48
[10:19:53] Měření obrázků: 2 / 48
[10:19:55] Měření obrázků: 3 / 48
[10:19:56] Měření obrázků: 4 / 48
[10:19:57] Měření obrázků: 5 / 48
[10:19:58] Měření obrázků: 6 / 48
[10:20:00] Měření obrázků: 7 / 48
[10:20:01] Měření bylo ukončeno
[10:20:01] Hotovo. Celkový čas operace: 9.4444 s
```

Zpět

Počet skupin: 18

Měření úhlu

Počet intervalů: 24

Nulový úhel: 0

Zobrazit: 0 Uložit

Orientace dat

Na výšku

Na šířku

Uložit

Misky

Aktivní: 1-13

Vyřazené: (empty)

Export do Excelu

Název listu: (empty)

Člověka buňka: A1

Otevřít soubor po uložení

Měření pohybů

Považováno za pohyb

Rozdíl úhlu: (empty)

Rozdíl nozic: 15

6

Tloušťka okraje: (empty)

Čílost dotyků: (empty)

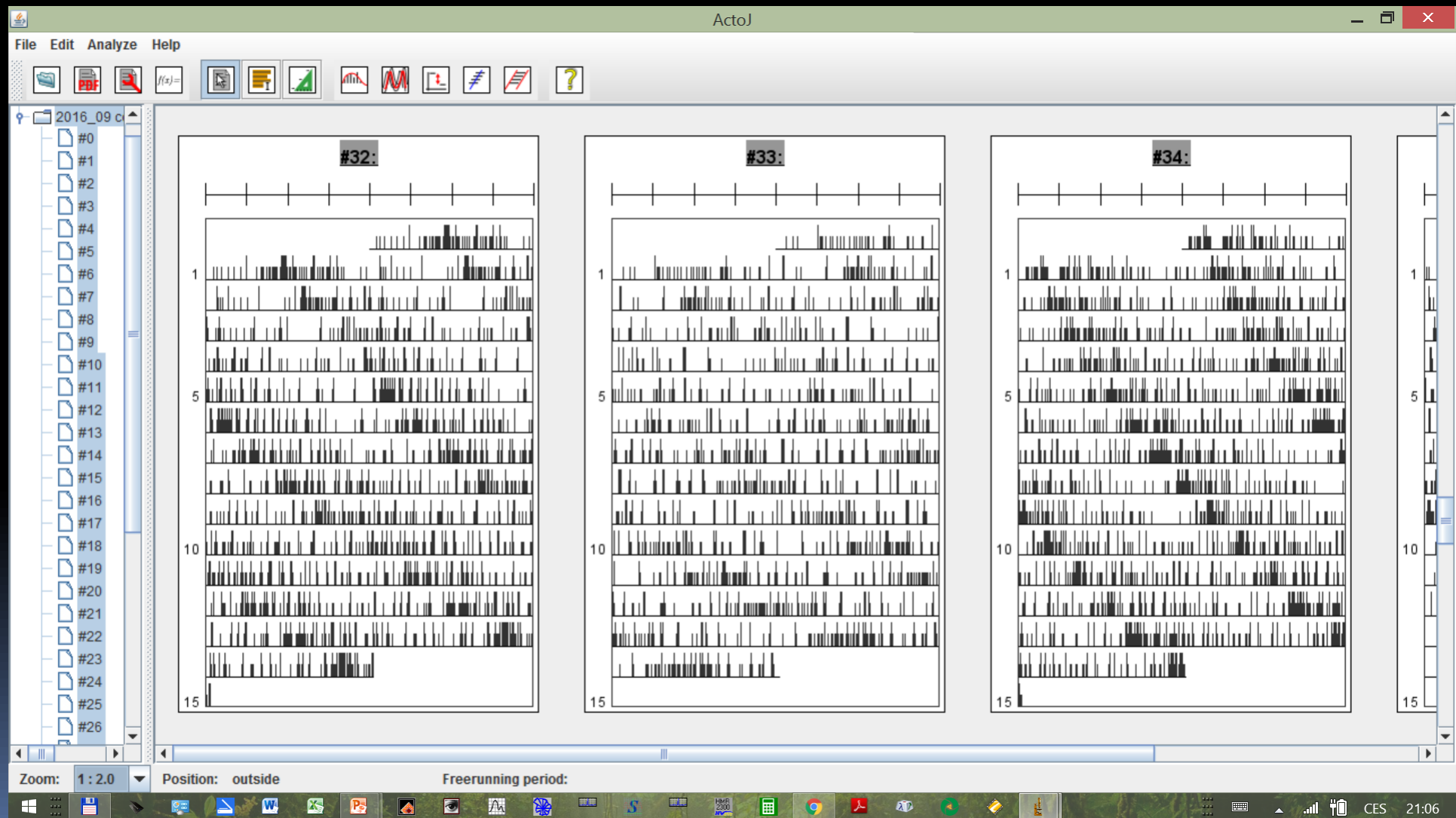
Nezapočítat 1 / ky

2

Zobrazit Uložit

Pro připojení ke...
Chcete-li zadat další...

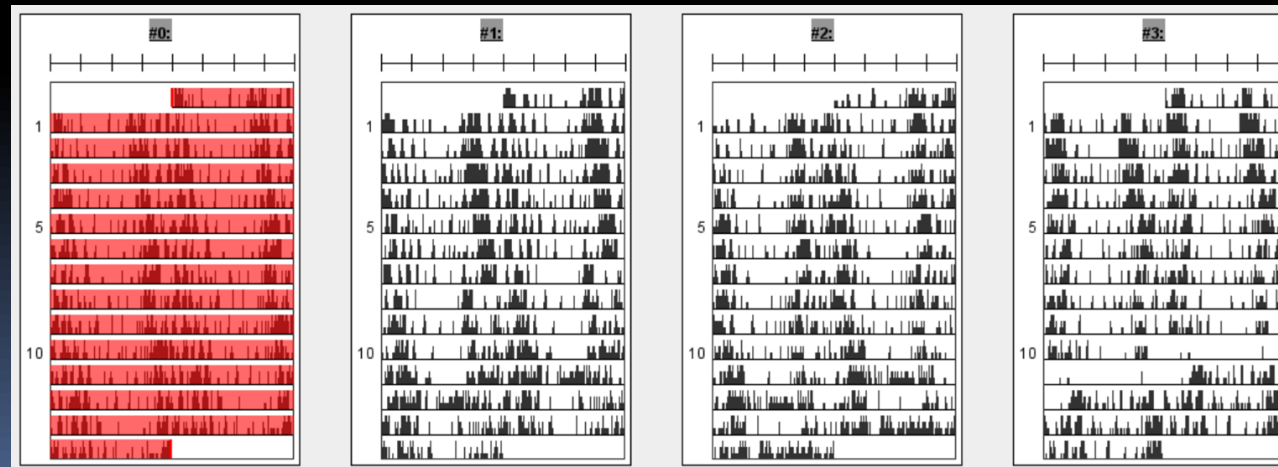
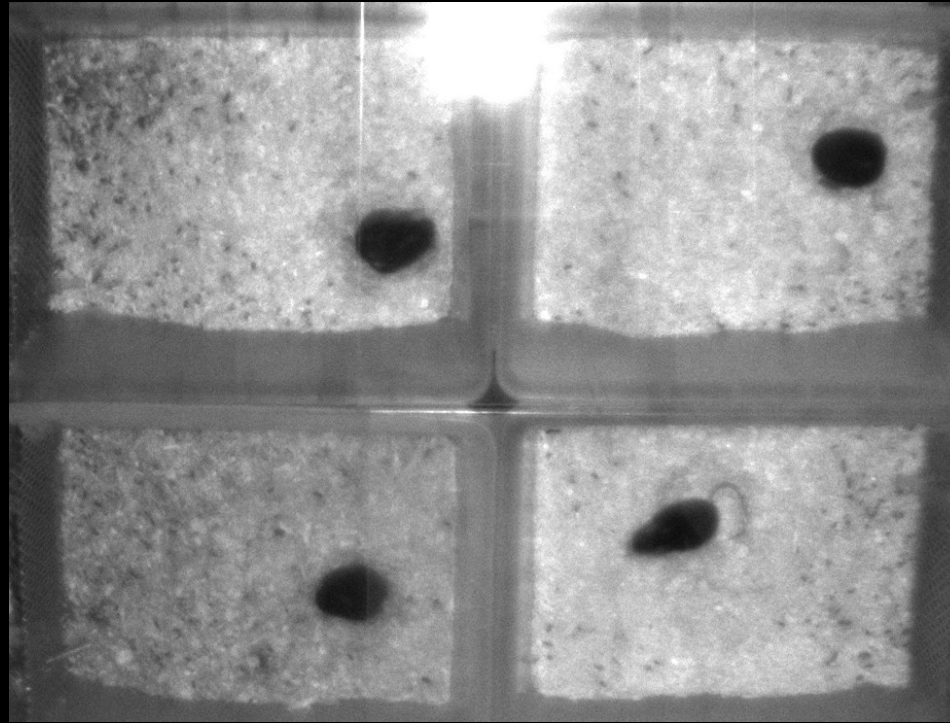
... a periodicitu chování



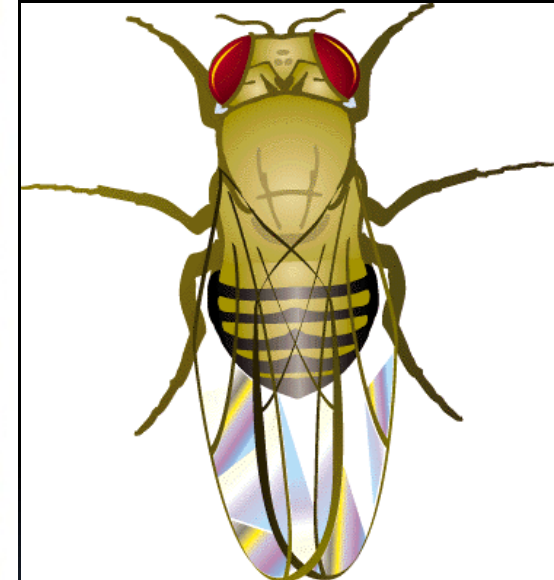
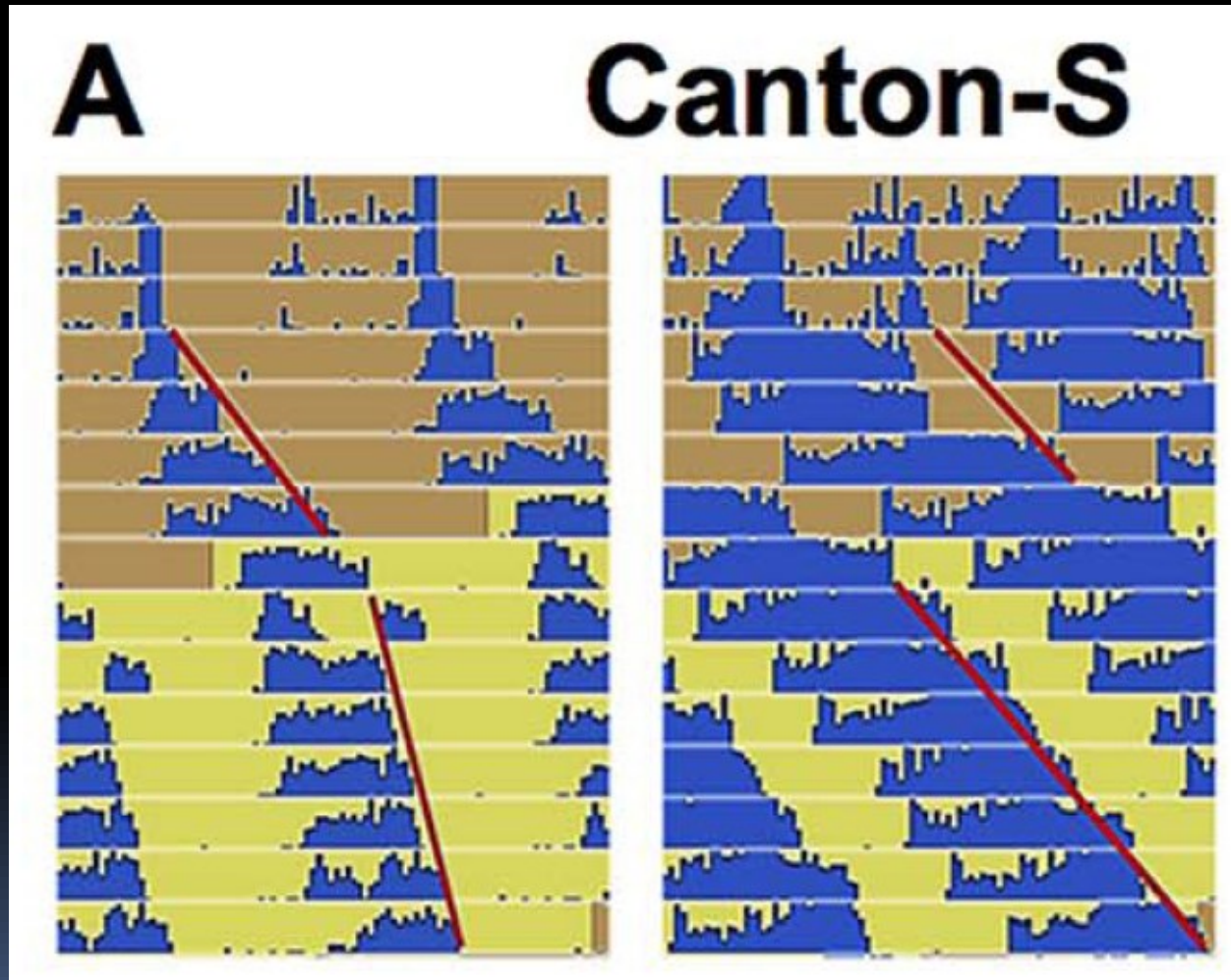
...ale i myši

Pohybová aktivita myší –
pozice těla, počet pohybů

Cirkadiální rytmy



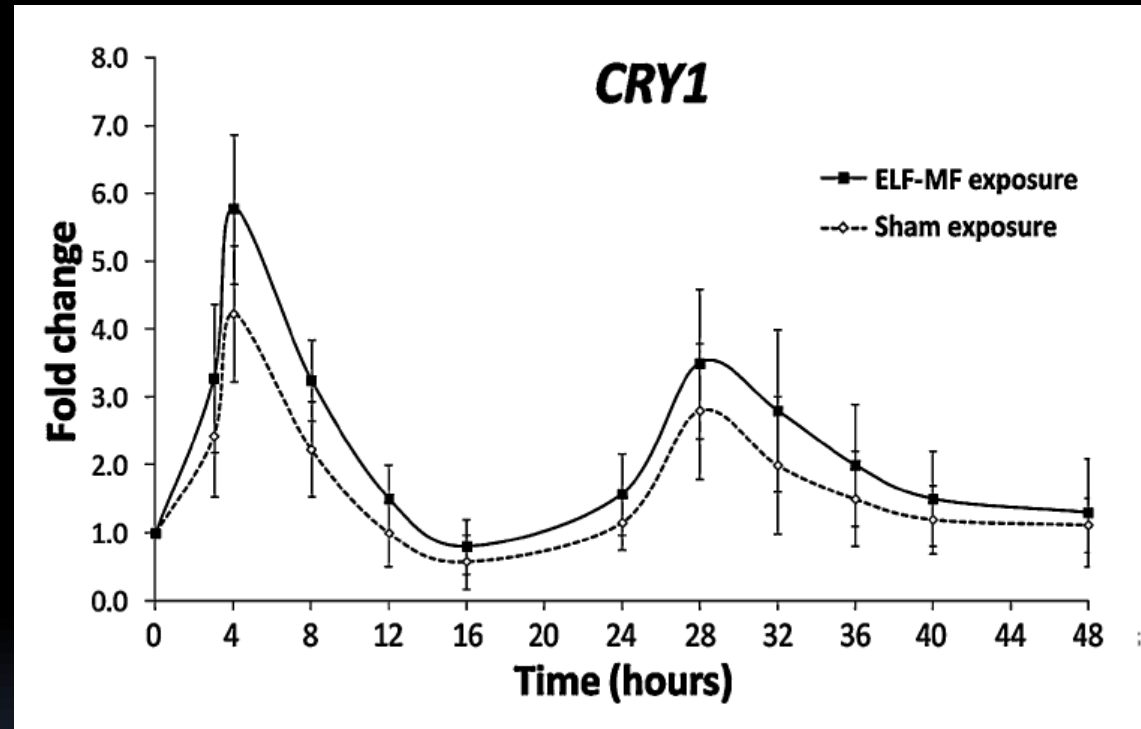
Nejen orientace a směr. Magnetické pole ovlivňuje prostřednictvím Cry cirkadiální rytmy



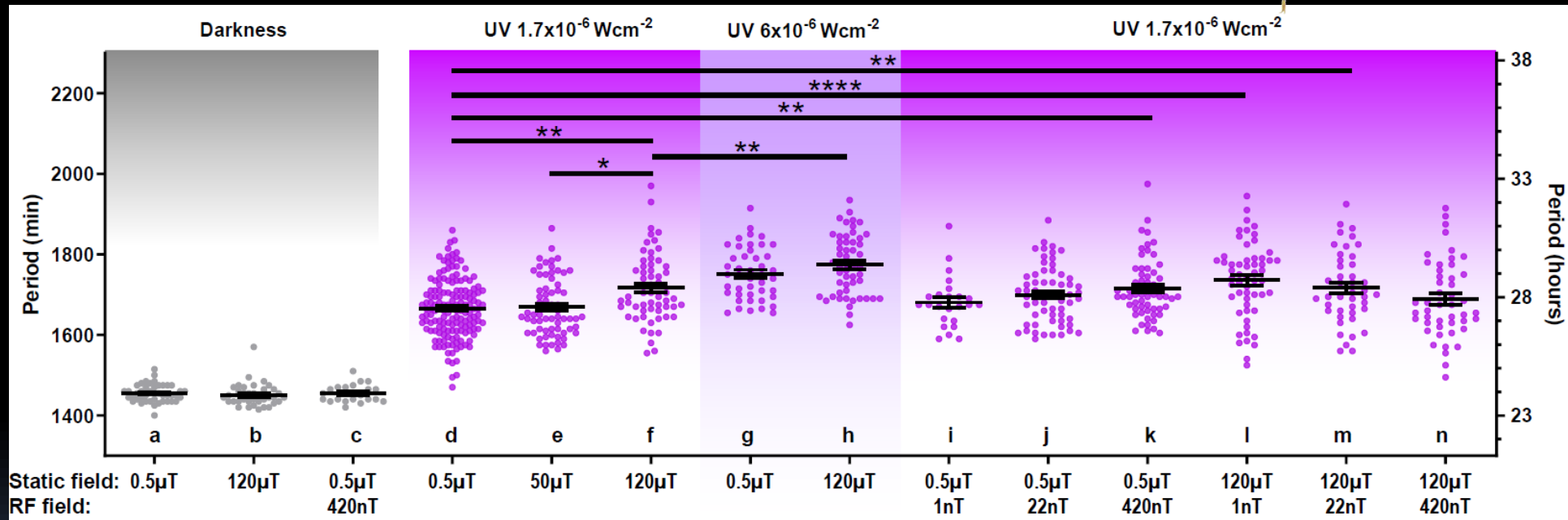
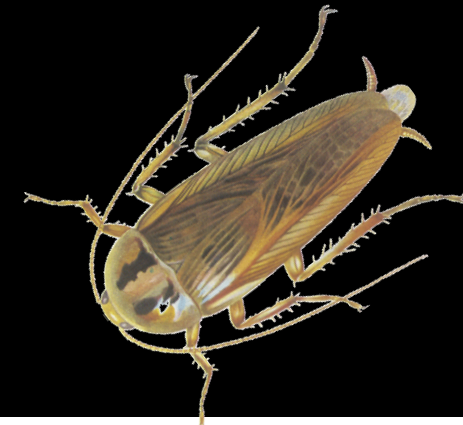
Fedele, G., Edwards, M. D., Bhutani, S., Hares, J. M., Murbach, M., Green1, E. W., et al. (2014). Genetic Analysis of Circadian Responses to Low frequency Electromagnetic Fields in *Drosophila melanogaster*. *PLOS Genetics*, 10(12), e1004804.

Fedele, G., Green, E. W., Rosato, E., & Kyriacou, C. P. (2014). An electromagnetic field disrupts negative geotaxis in *Drosophila* via a CRY-dependent pathway. *Nature Communication*, DOI: 10.1038/ncomms5391.

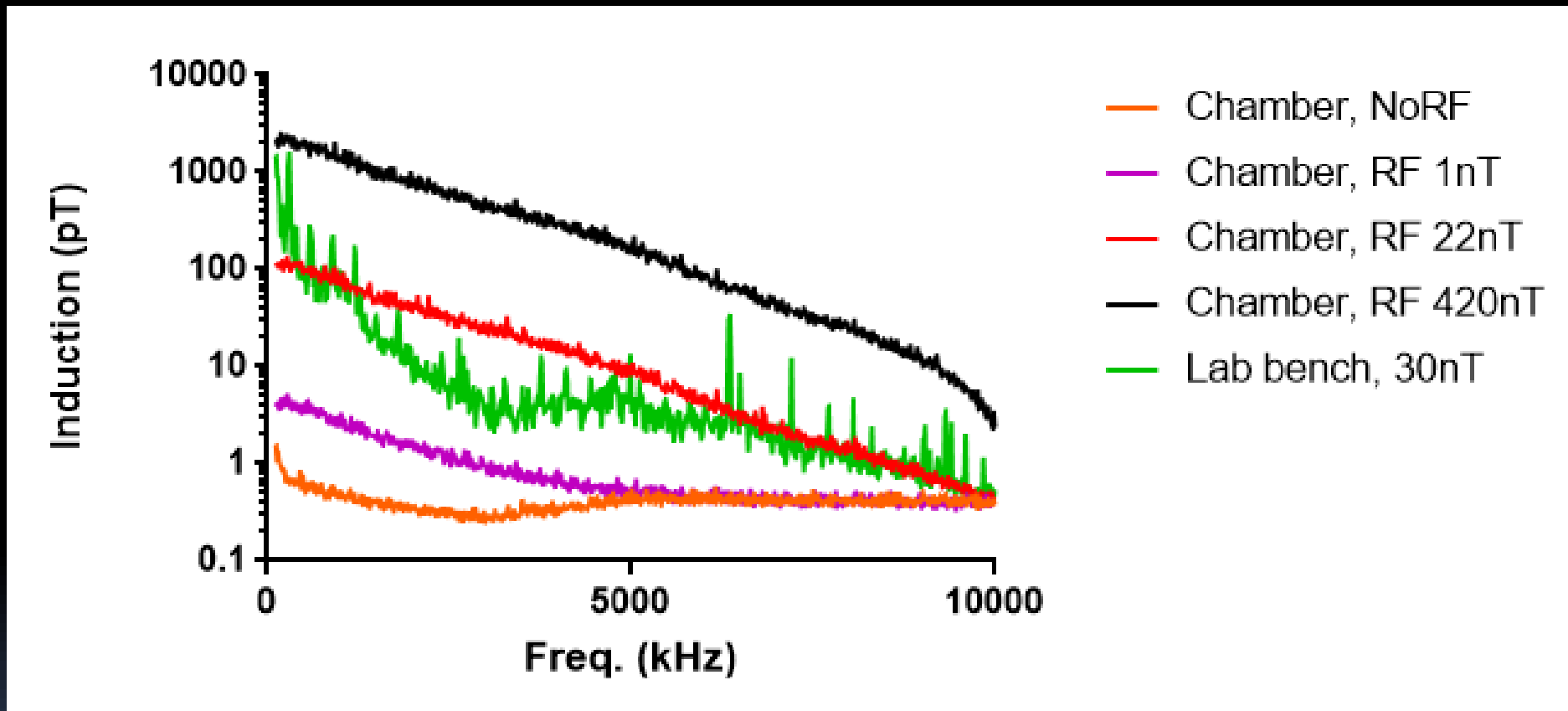
Dokonce i buňky v tkáňové kultuře ví,
kolik je hodin



Naše výsledky:



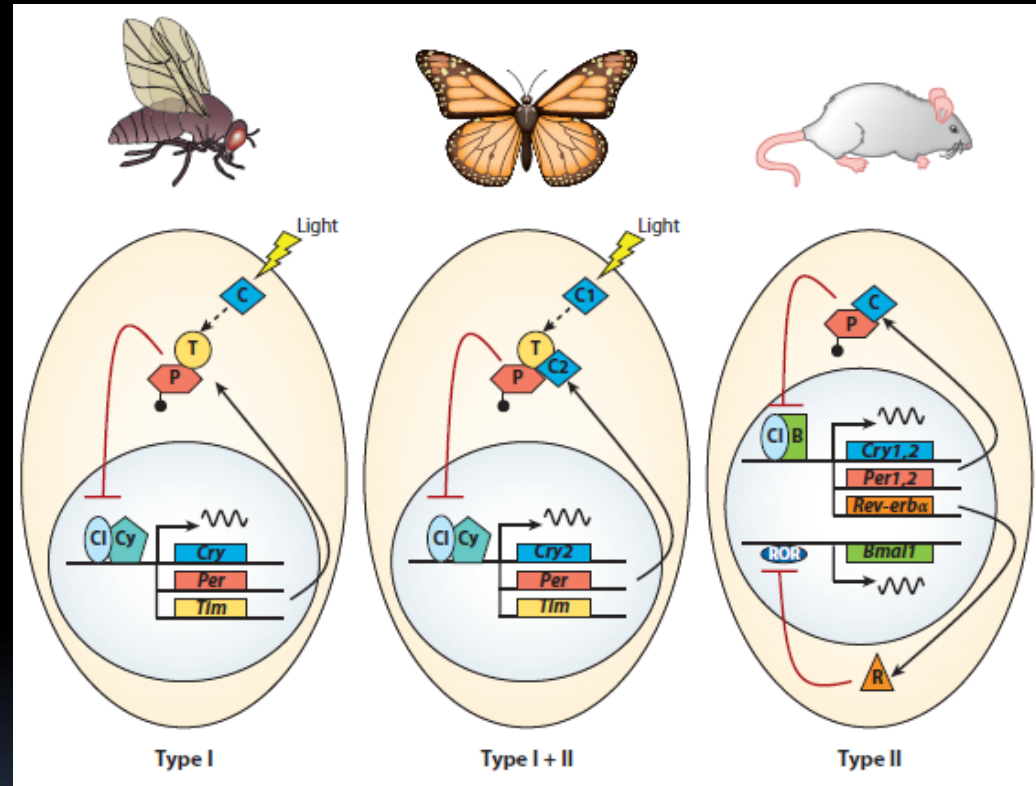
Dokonce i slabé RF zpomaluje rytmus – ale takto slabá pole jsou docela běžná!



Dokonce i slabé RF zpomaluje rytmus – ale takto slabá pole jsou docela běžná!

Resume a výhledy do budoucna Cryptochromy a jejich úlohy.

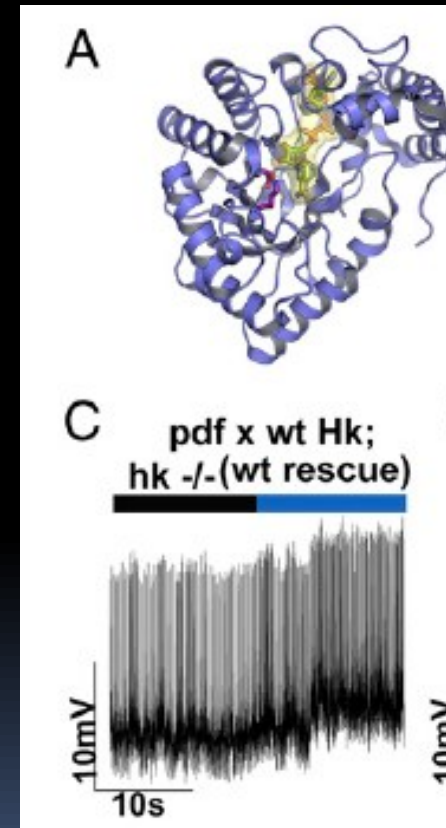
- Hodiny



Chaves I, Pokorny R, Byrdin M, Hoang N, Ritz T, Brettel K, Essen L-O, Horst GTJvd, Batschauer A, Ahmad M. 2011. The Cryptochromes: Blue Light Photoreceptors in Plants and Animals. *Annu Rev Plant Biol* 62:335–364.

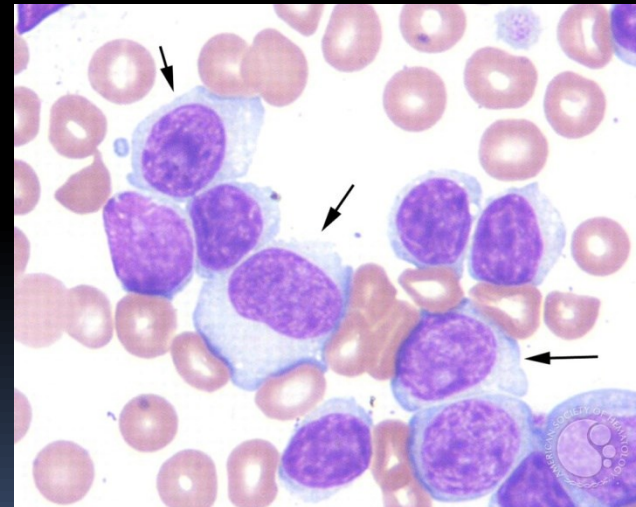
Resume a výhledy do budoucna Cryptochromy a jejich úlohy.

- Hodiny
- Změna membránového potenciálu

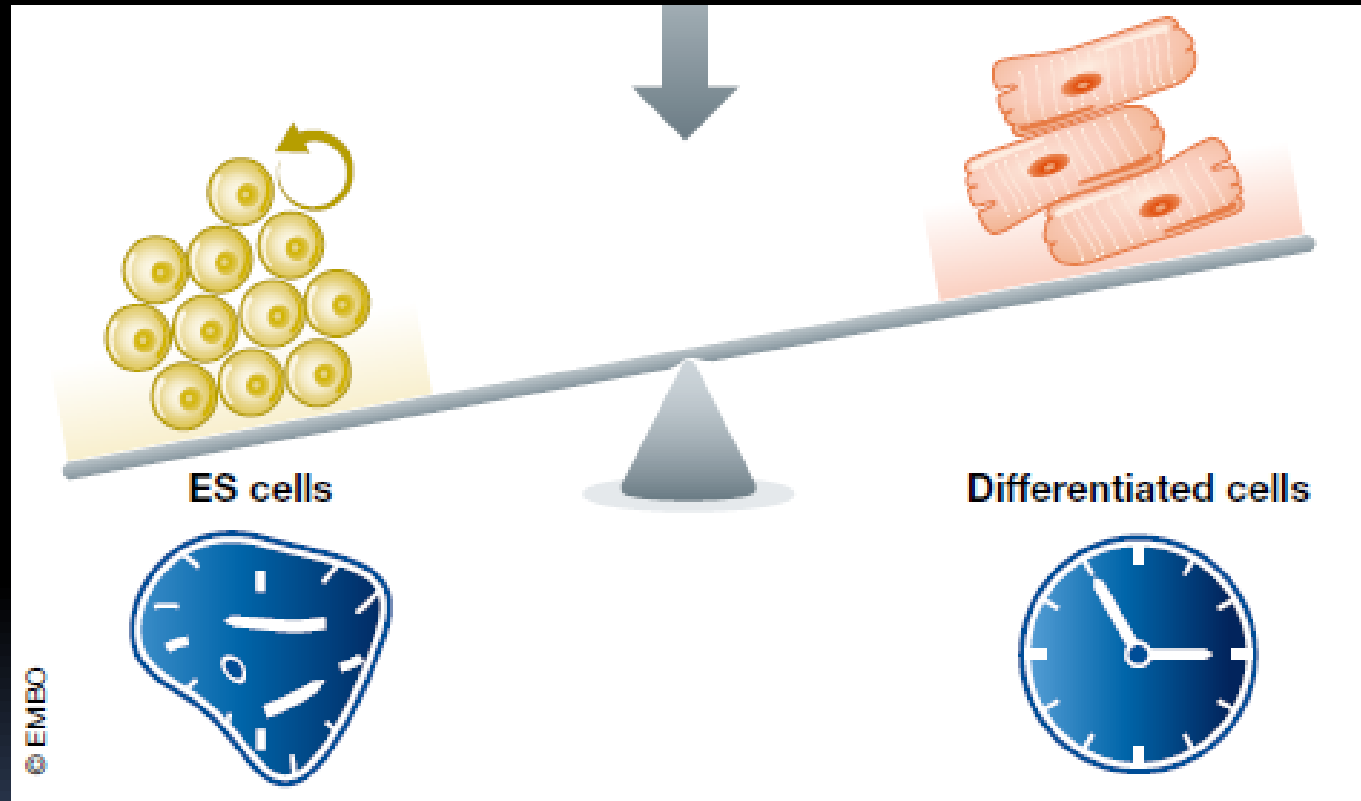


Resume a výhledy do budoucna Cryptochromy a jejich úlohy.

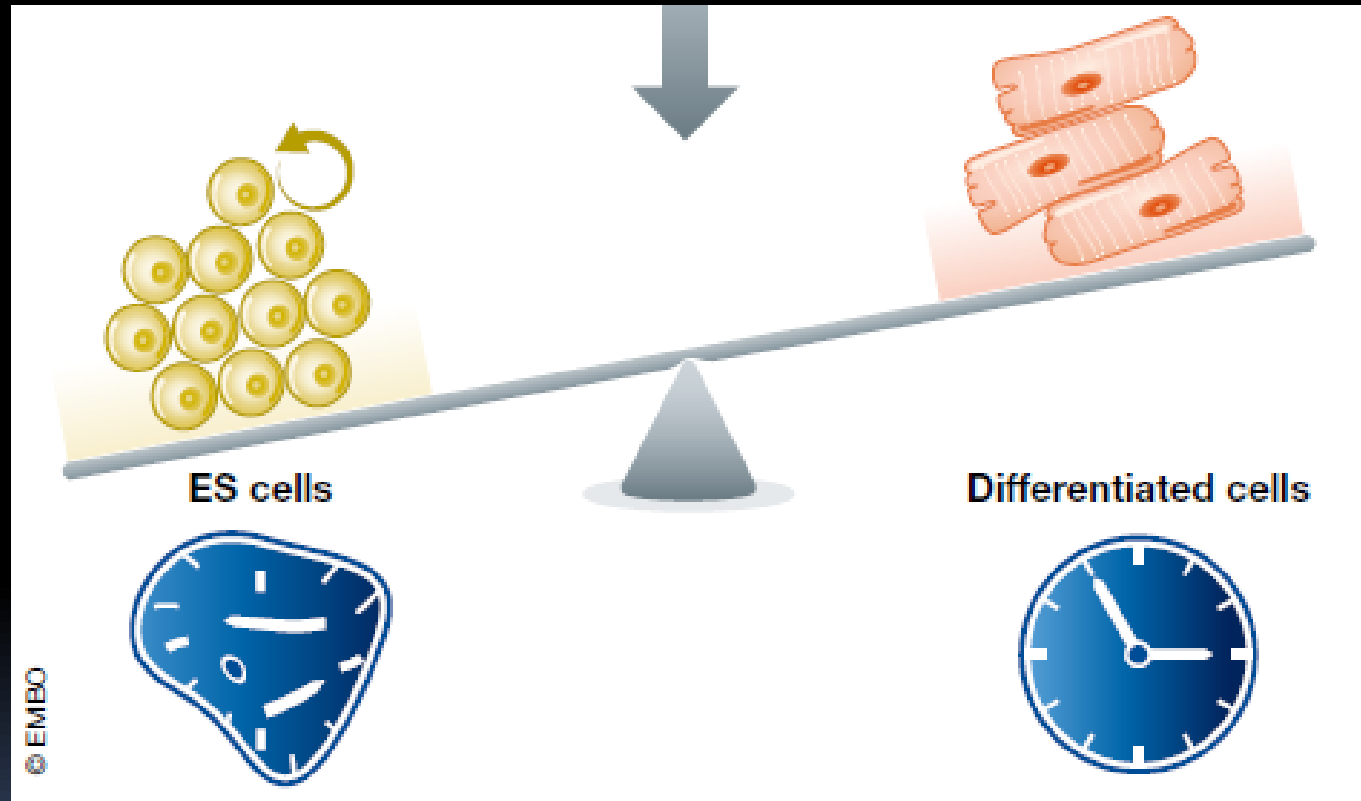
- Hodiny
- Změna membránového potenciálu
- Kontrola buněčného cyklu



Narušení hodin mění úlohu hodinových genů v řízení proliferace

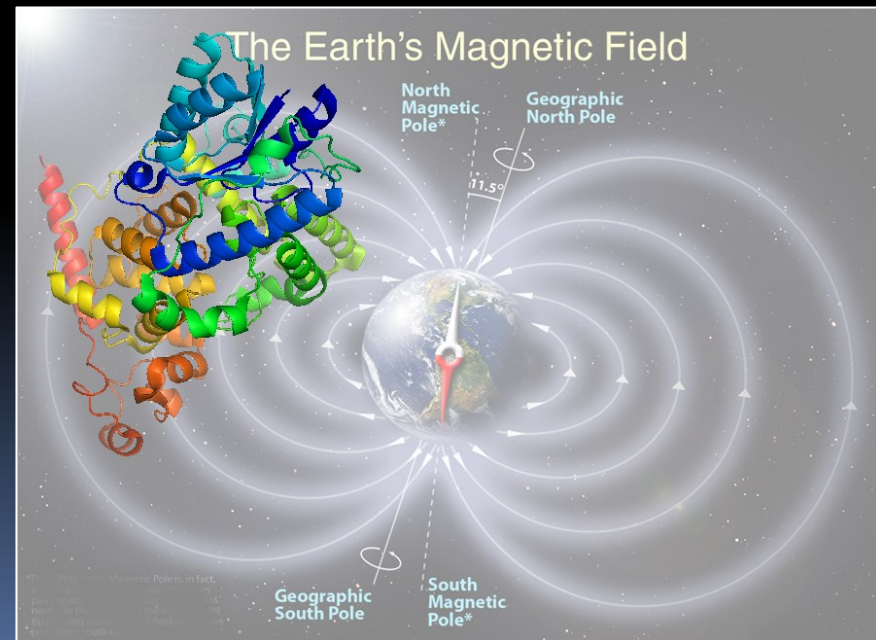


Expresse Cry je markrem chronické lymfocytární leukémie.



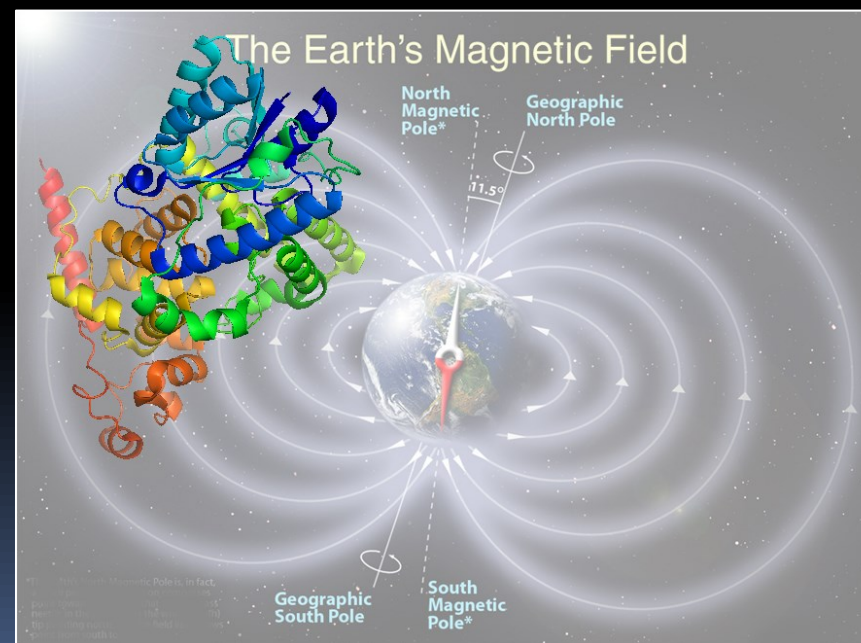
Resume a výhledy do budoucna Cryptochromy a jejich úlohy.

- Hodiny
- Změna membránového potenciálu
- Kontrola buněčného cyklu
- Magnetorecepce



Resume a výhledy do budoucna Cryptochromy a jejich úlohy.

- Možná všechny dráhy, kde je přítomen Cry, jsou citlivé na světlo a magnetická pole !



K čemu je takový výzkum dobrý?

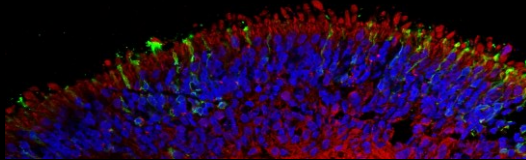
- Základní výzkum – nikdy nevíte...
- Nejslabší známá interakce mezi biologií a mag. polem.
- Výzkum posouvá hranice mezi biologií, „kvantovou biologií“ a fotochemií.
- Praktické aplikace v oblasti ochrany zdraví, kvality spánku, interakcí s technickými zařízeními atd.

Rozbíhající se projekty (ne všechny behaviorální) :

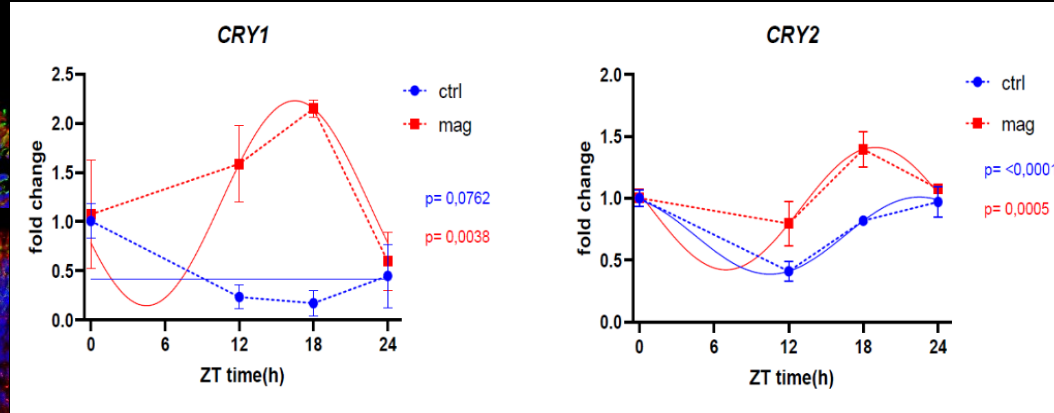
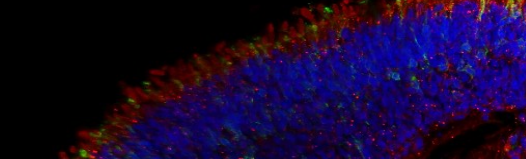
- Buňky, organoidy, světlo a magnetické pole
- Cirkadiánní rytmus myši a magnetické pole.
- Včely a EMG pole

Rozbíhající se projekty :

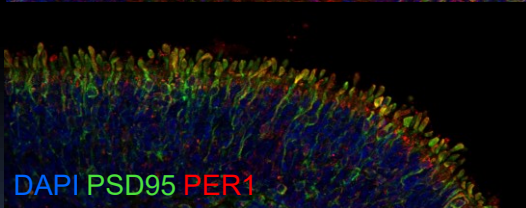
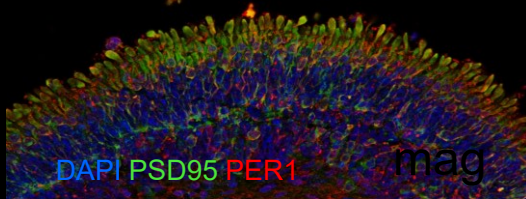
A DAPI Rhodopsin CRY2



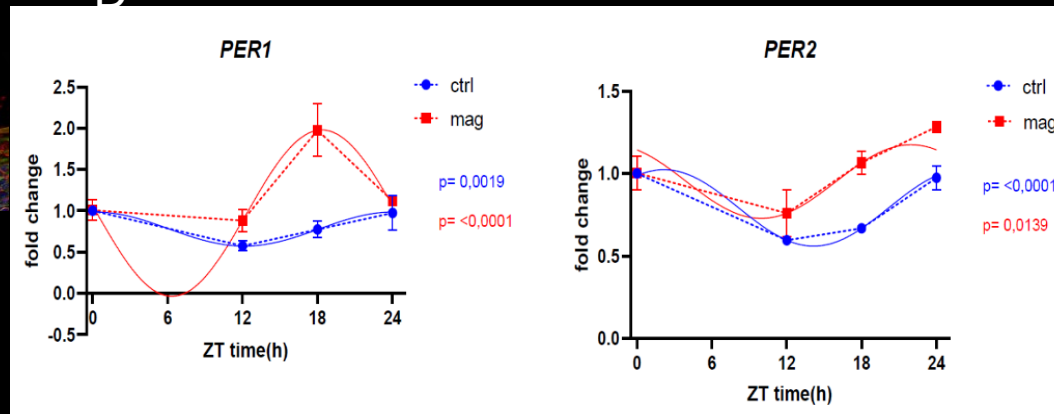
DAPI Rhodopsin CRY2



C



D



Tomáš Bárta

- Cirkadiánní rytmy na modelu organoidů sítnice

Dosavadní granty:

- Ověření magnetorecepce potemníka moučného. GAČR 2001-2003
- Analýza magnetorecepčního chování laboratorních druhů hmyzu. GAČR 2005-2008
- Neurální podstata magnetorecepce hmyzu. GAČR 2007-2010
- Fyziologická a funkčně genetická analýza magnetorecepce na hmyzím modelu GAČR 2013-2015.
- GAMU 2019-2021
- Spolupráce s Molekulární chronobiologickou lab. ČB, Marburg, Oxford, Lund, Vídeň

<https://www.sci.muni.cz/ofiz/vacha/>

Témata Bc prací zde řešených:

<https://is.muni.cz/auth/rozpis/tema?fakulta=1431;obdobi=7584;balik=29838>

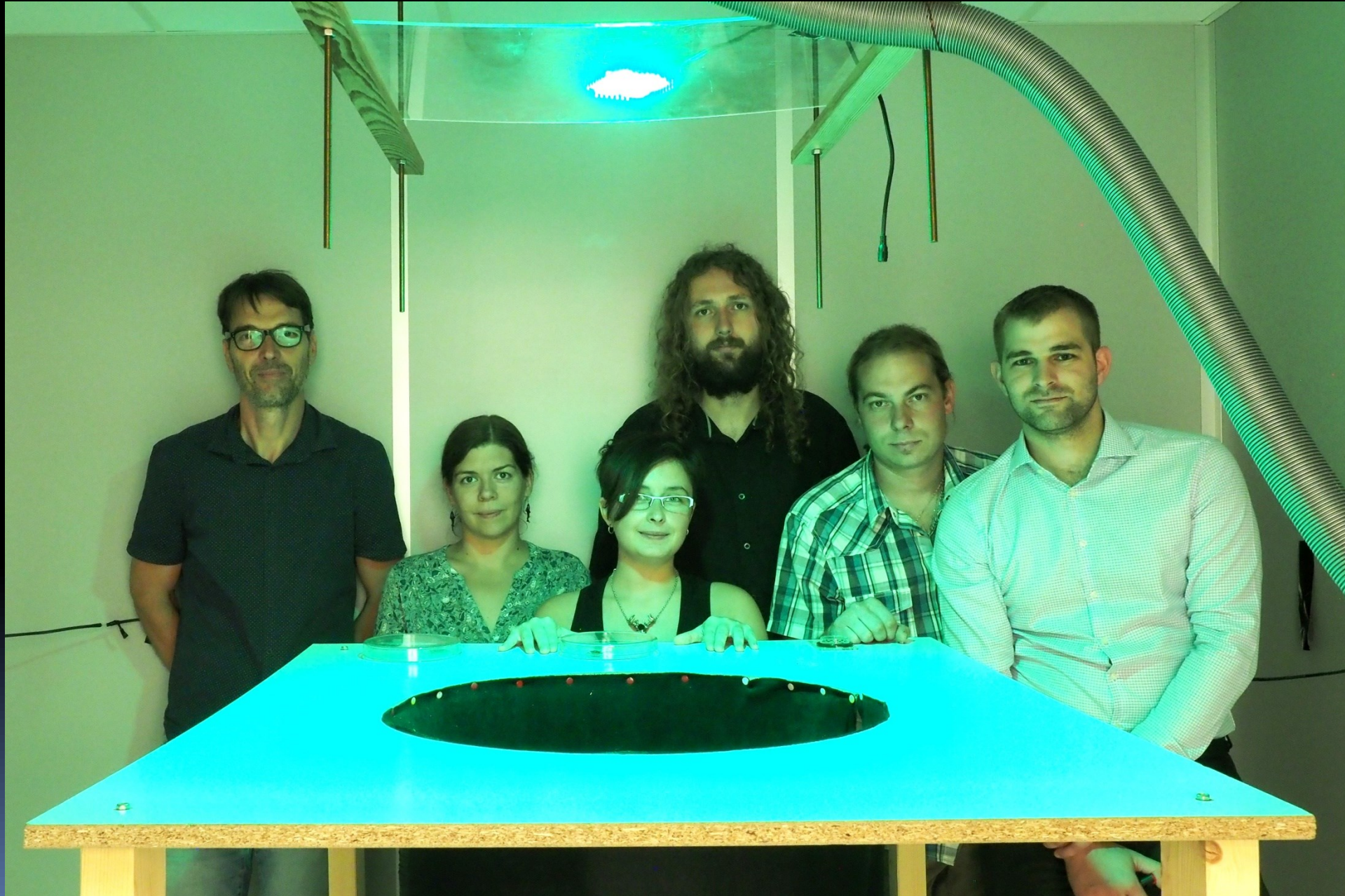
Web laboratoře a nová témata:

<https://www.sci.muni.cz/ofiz/vacha/>

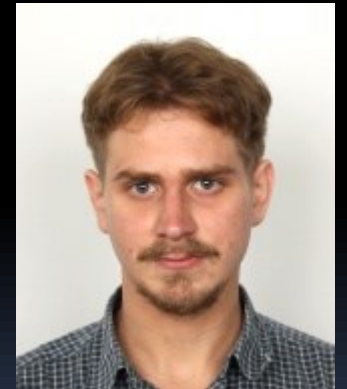
Naučíte se: Co to znamená analyzovat chování zvířat v laboratoři.
Ve spolupráci metody m.b.



Uplatnění?



Kristína Briediková



Juraj Markuš

Děkuji za pozornost!



vacha@sci.muni.cz