

M U N I
S C I

Rybí laboratorní modely ve vědě

Nikodém Zezula

Rybí modelové organismy



Rok vydání sestaveného
genomu

Rybí modelové organismy



Rybí modelové organismy ve vývojové biologii



Danio
pruhované



Medaka
japonská

Medaka japonská

- 1-3 cm
- Žije v rýžovištích, mělkých rybnících, pomalých a stojatých vodách
- Původně z ostrovů Honšu, Kjušu a Šikoku. Dnes rozšířena i v jihovýchodní Číně a Koreji
- Velký teplotní rozsah (6-40°C)
- Poloviční genom oproti Daniu
- Geneticky určené pohlaví



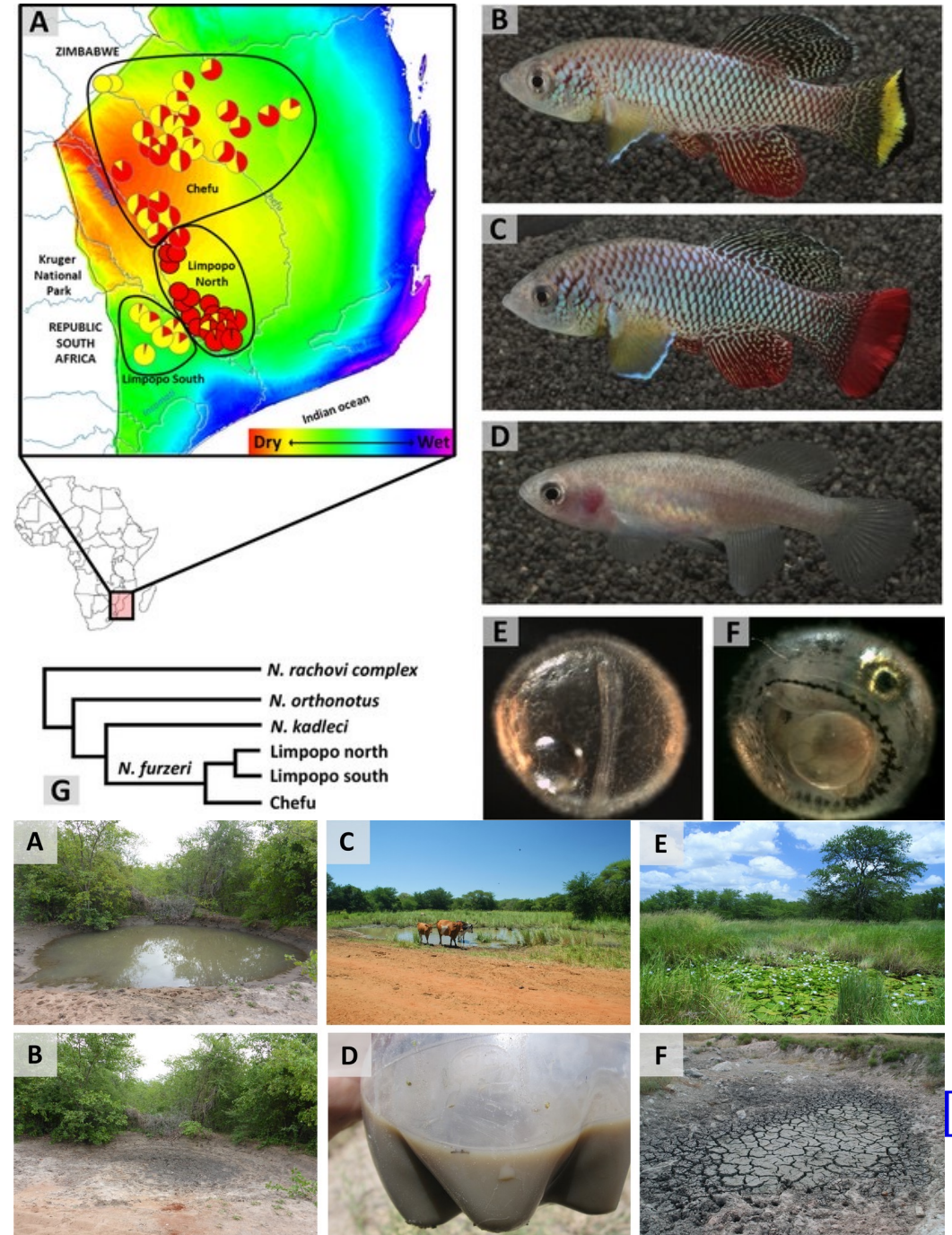
Medaka japonská



Říše	Animalia (živočichové)
Kmen	Chordata (strunatci)
Podkmen	Vertebrata (obratlovci)
Nadtřída	Osteichthyes (ryby)
Třída	Actinopterygii (paprsokoploutví)
Nadřád	Teleostei (kostnaté ryby)
Řád	Beloniformes (jehlotvární)
Čeď	Adrianichthyidae (medakovití)
Rod	medaka

Halančik tyrkysový

- *Nothobranchius furzeri*
- Extrémně krátký životní cyklus
- Pohlavní dospělost ve 2 týdnech
- Umírá cca ve 3-4 měsících
- Jikry prochází dlouhým dormantním obdobím při vyschnutí
- Ideální pro studium stárnutí
- Využití i na xenografty (žive ve 37°C)



Halančík tyrkysový

Říše	Animalia (živočichové)
Kmen	Chordata (strunatci)
Podkmen	Vertebrata (obratlovci)
Nadtřída	Osteichthyes (ryby)
Třída	Actinopterygii (paprskoploutví)
Nadřád	Teleostei (kostnaté ryby)
Řád	Cyprinodontiformes (halančíkovci)
Čeleď	Nothobranchiidae (halančíkovití)
Rod	Nothobranchius



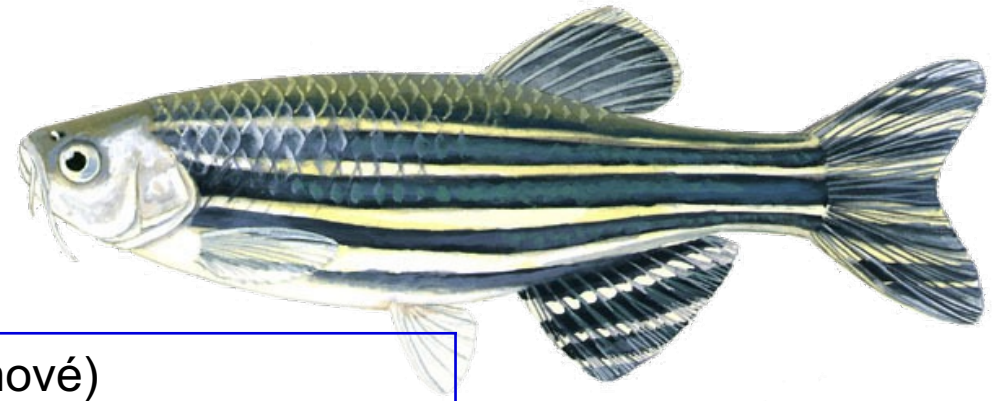
Danio pruhované



- Danio rerio (lidově zebříčka) je sladkovodní tropická ryba
- Nejpoužívanější laboratorní ryba v biologii
- Pochází z jihovýchodní Asie (od úpatí Himaláje přes Indii, Pakistan, Bhutan, Bangladéš a Nepál)
- Přebývá zejména v pomalu tekoucích a stojatých vodách.
- Invazivně se šíří v Kolumbii a na jihu USA
- Všežravec, živící se převážně zooplanktonem



Danio pruhované

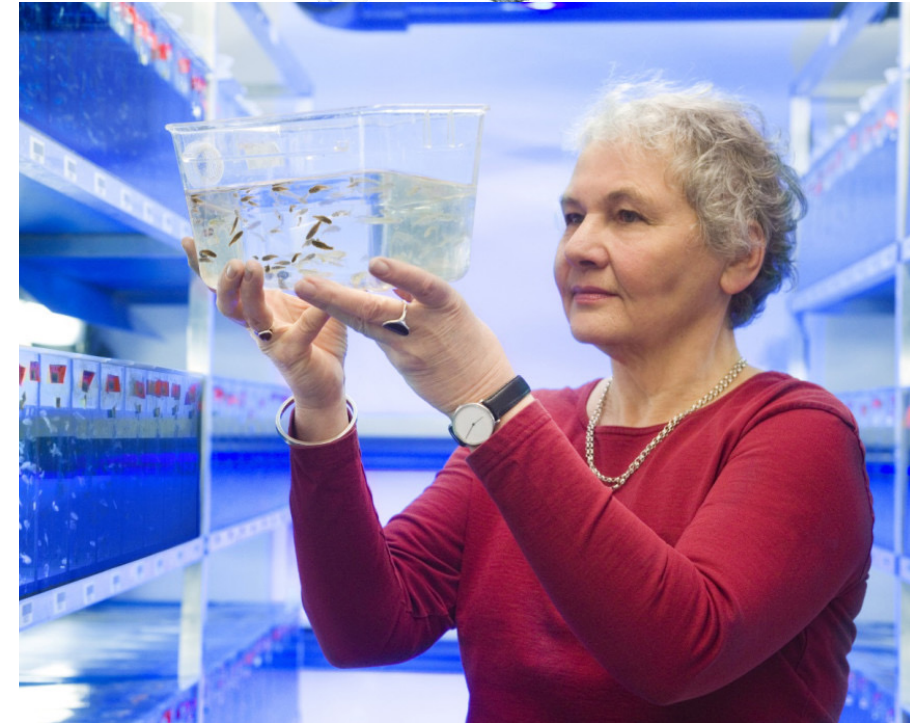


Říše	Animalia (živočichové)
Kmen	Chordata (strunatci)
Podkmen	Vertebrata (obratlovci)
Nadtřída	Osteichthyes (ryby)
Třída	Actinopterygii (paprskoploutví)
Nadřád	Teleostei (kostnaté ryby)
Řád	Cypriniformes (maloostní)
Čeleď	Cypriniformes (kaprovití)
Rod	Danio

Danio pruhované



- Ve vědě se začalo používat 70. letech
- S využitím začal prof. George Streisinger na univerzitě Oregonu
- Masivní rozšíření v 90. letech po té co nobelistka Christiane Nusslein Volhard použila danio pro studium HOX genů
- V roce 1976 byli dania na palubě Salyutu 5 (orbitální stanice SSSR)

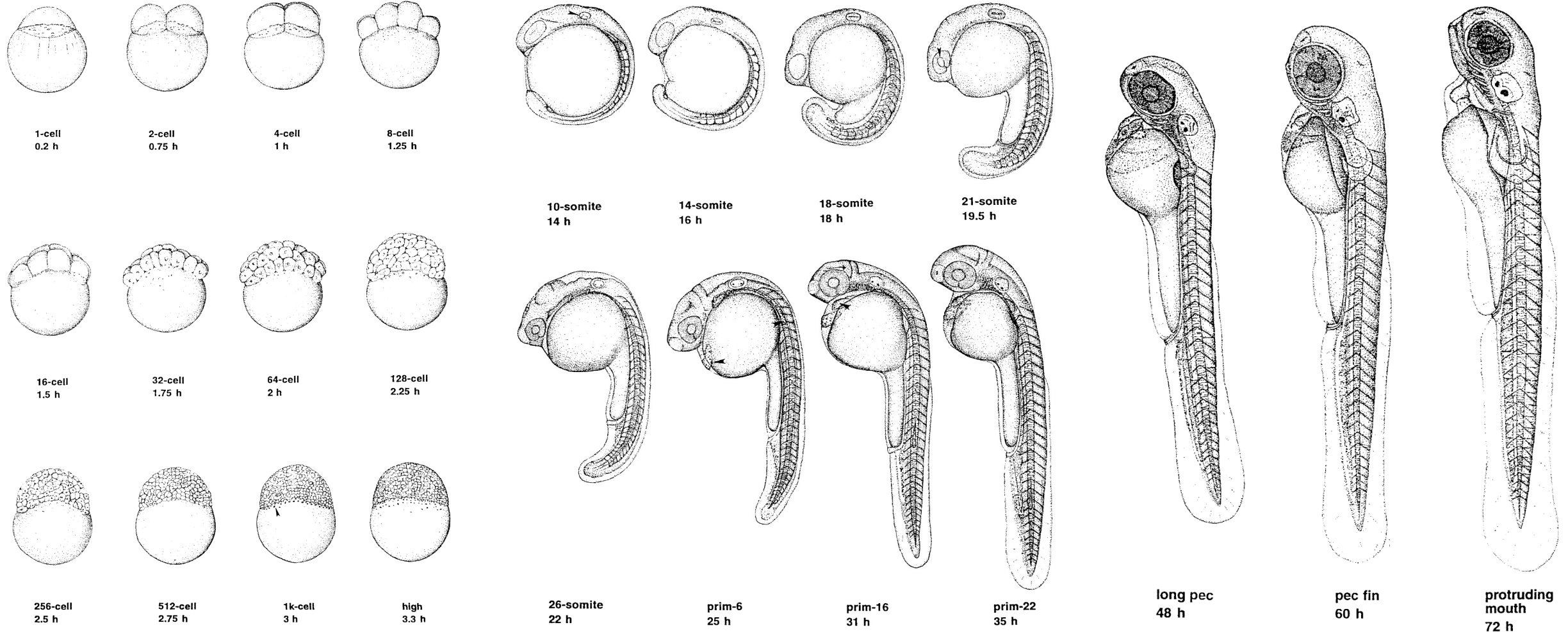


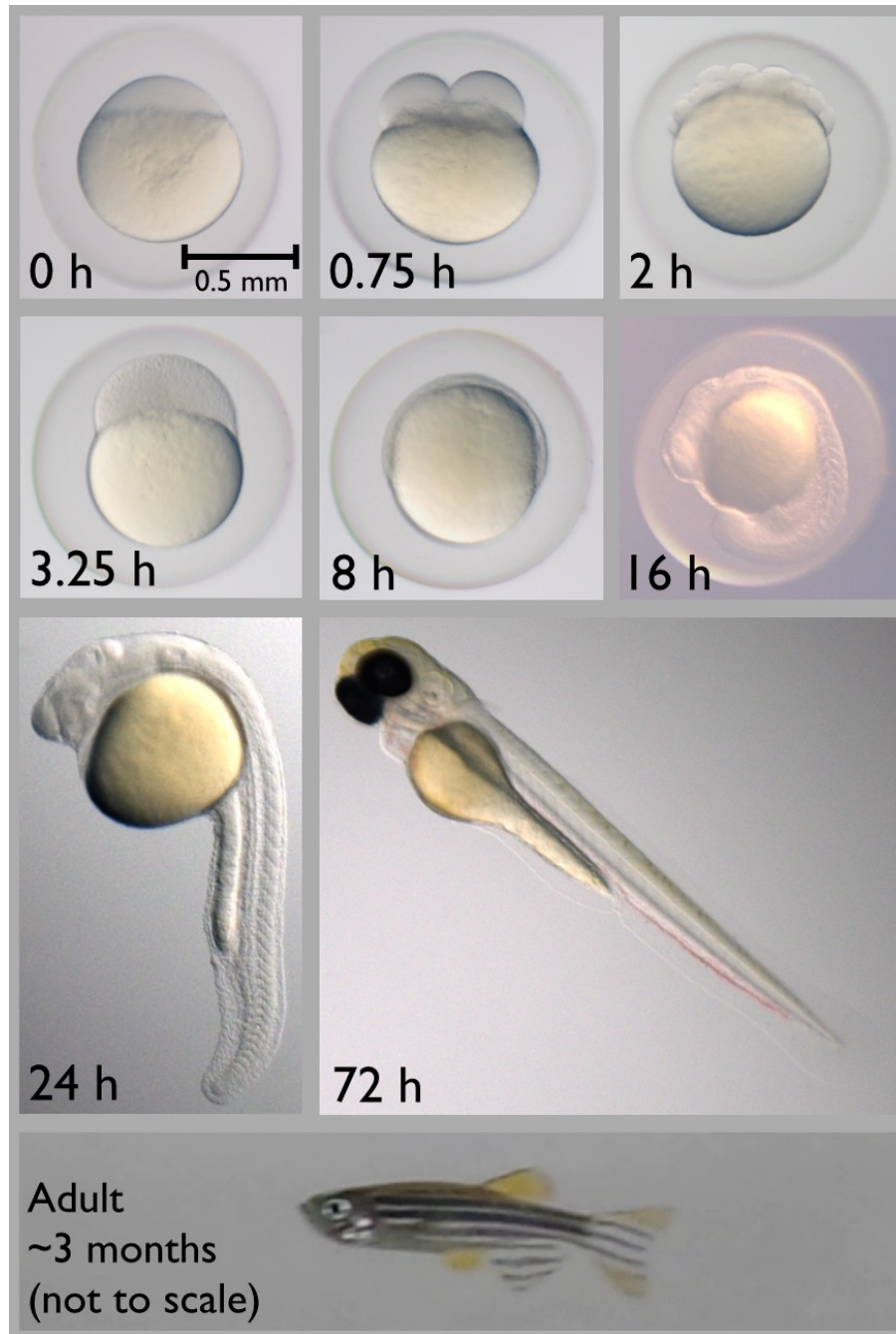
Danio pruhované



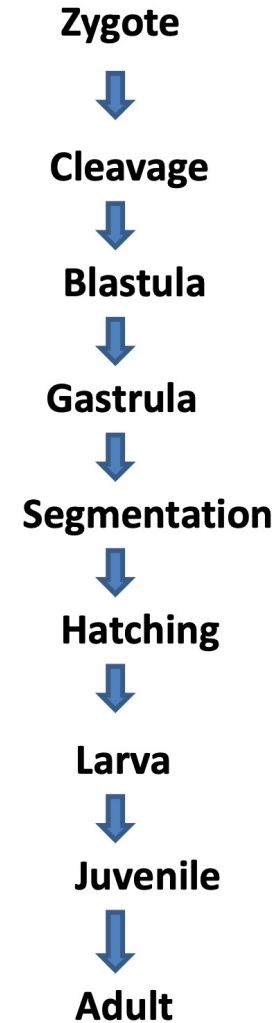
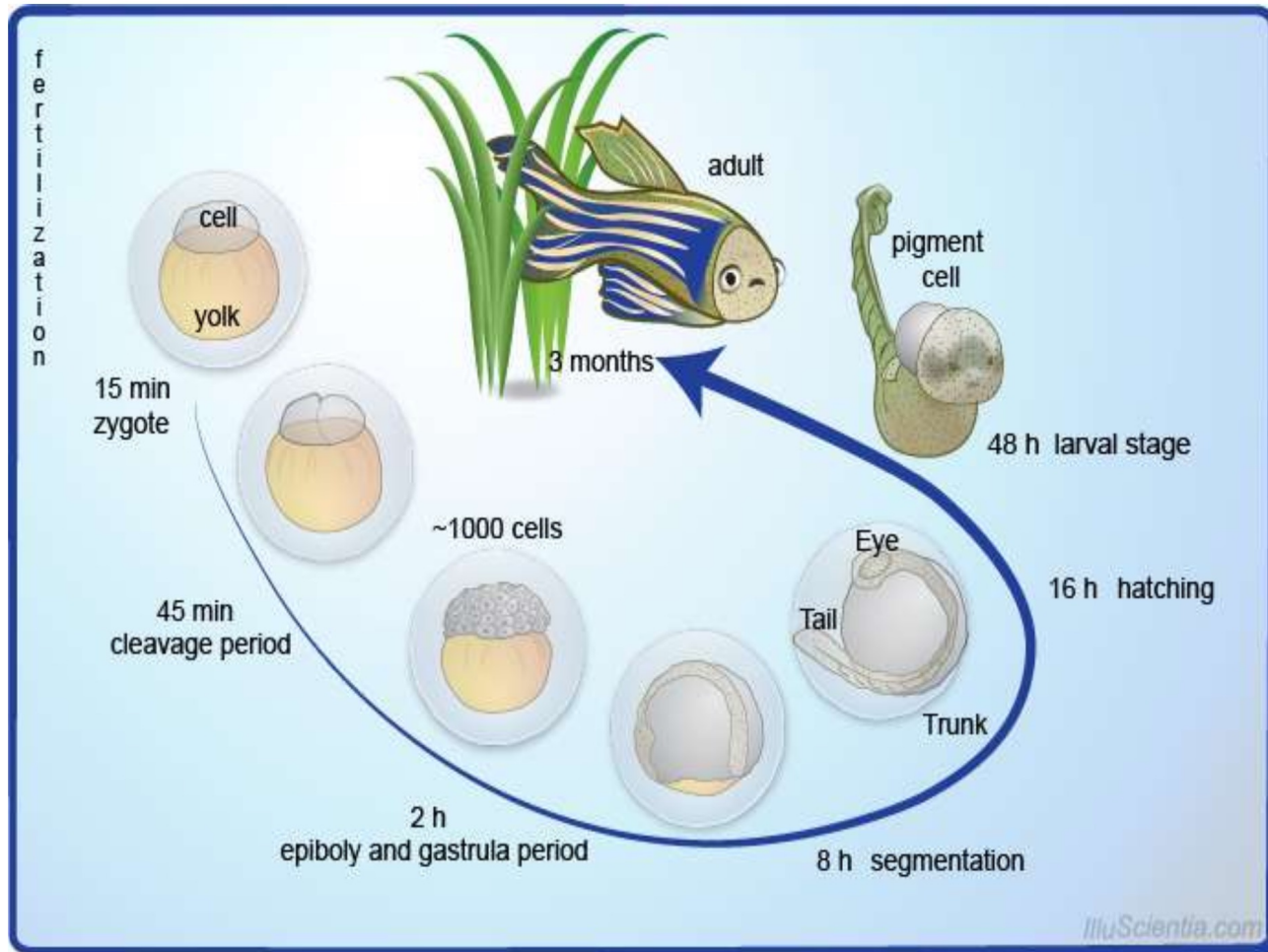
- Jednoduchý chov a manipulace
- Až 300 jiker na rybu
- Relativně velké jikry
- Jednoduchá genová manipulace
- Ve 3 měsících pohlavní dospělost
- 3 dny do vylíhnutí
- Průhledné tělo
- Až 10 jedinců na litr
- Neznámá determinace pohlaví

Danio pruhované - vývoj

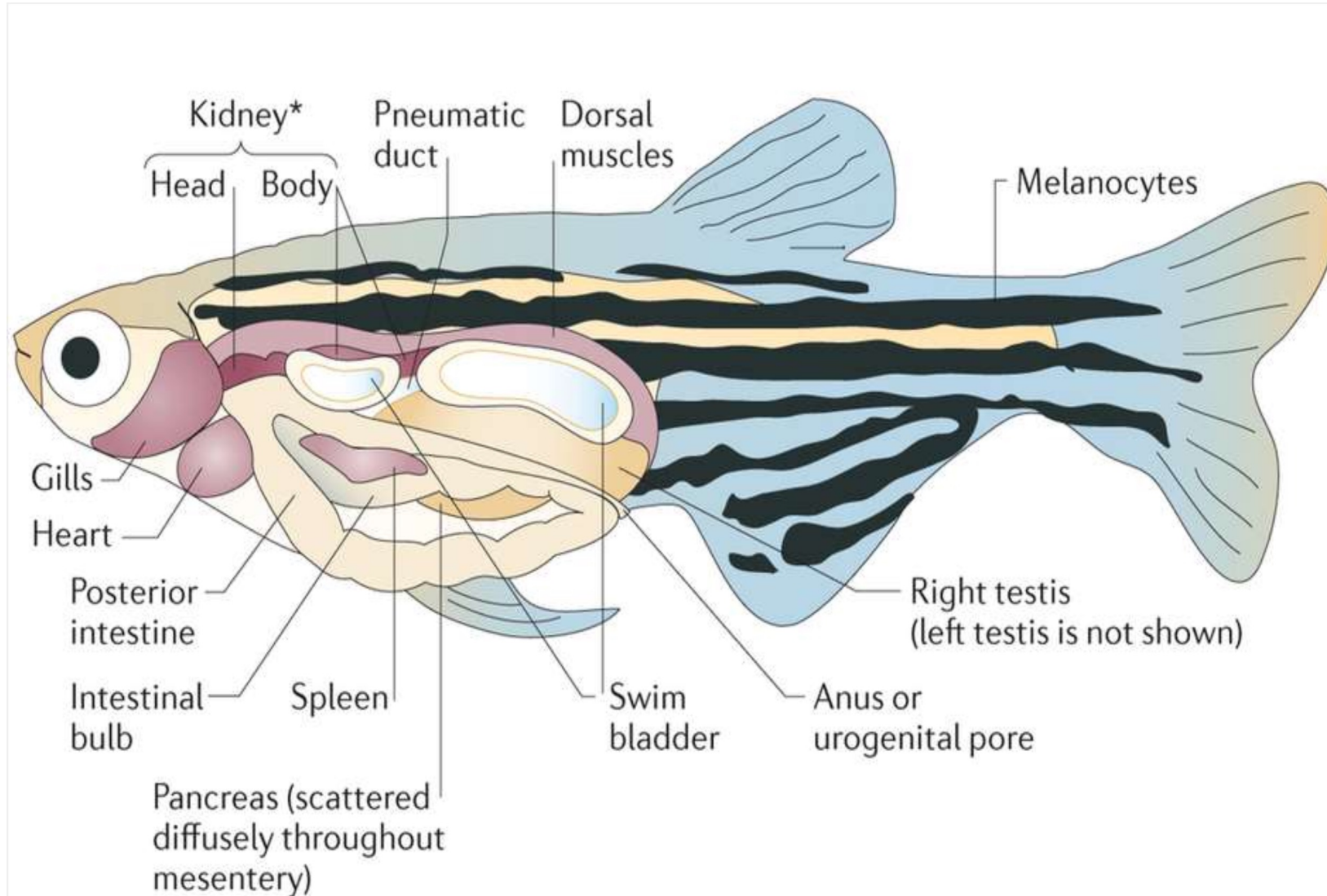




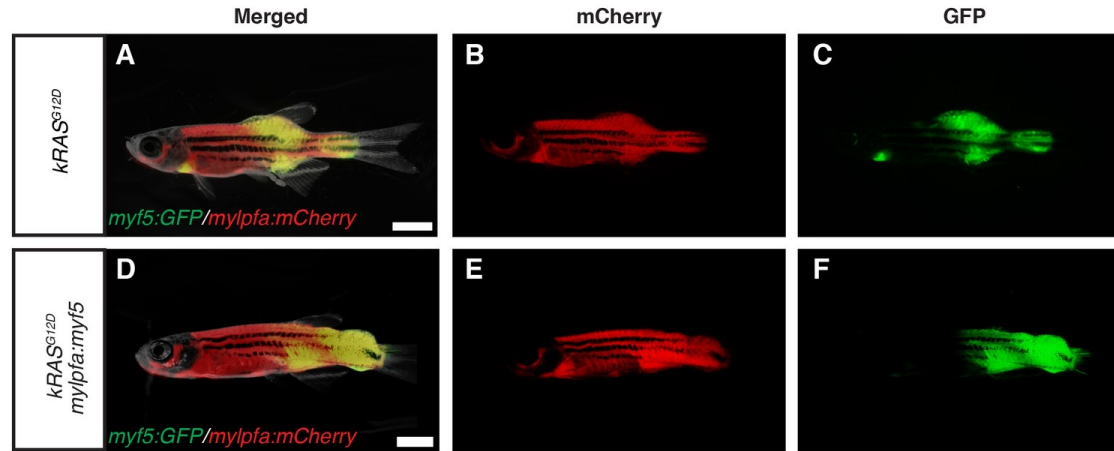
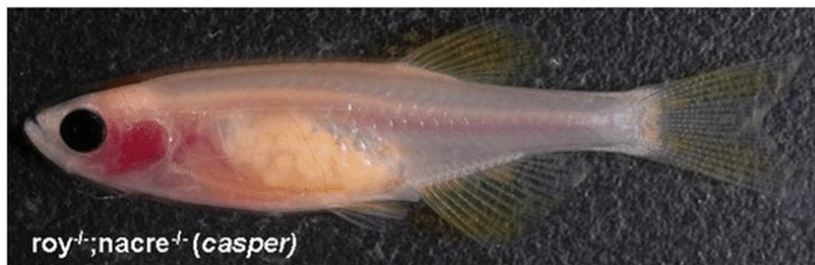
Danio pruhované - vývoj



Anatomie



Danio pruhované - GMO



Danio pruhované

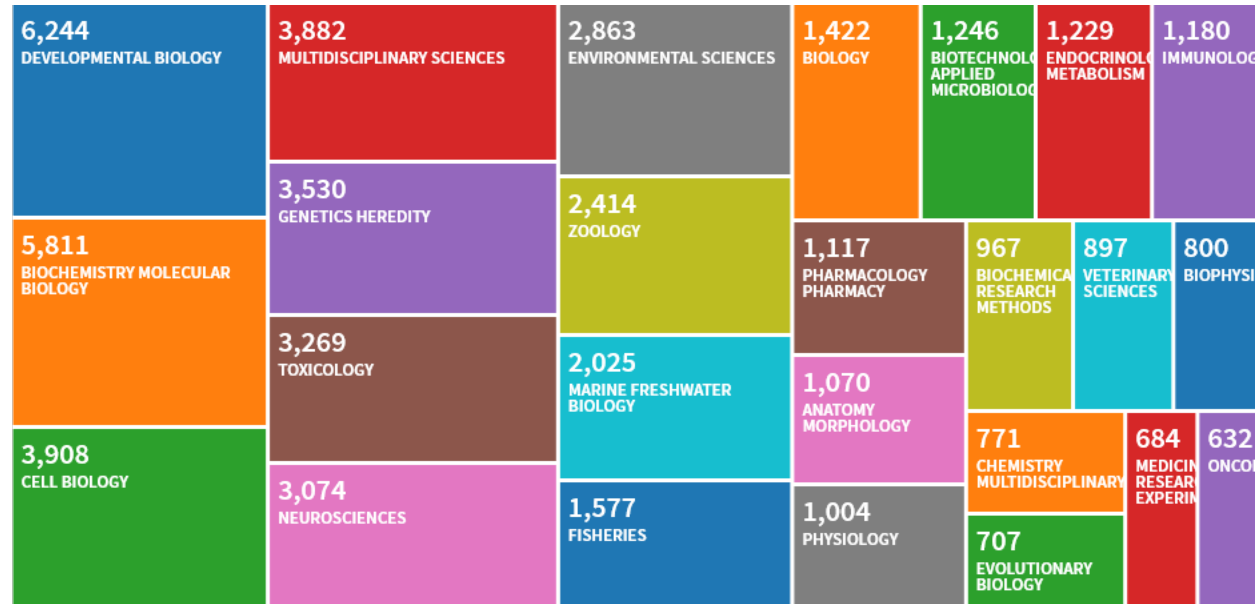


- 70% lidských genů má homolog v daniu
 - 84% genů asociovaných s lidskými onemocněními přítomny v genomu dania
- 70 597 článků na Web of Science
- 43 370 dostupných linií v bance ZIRC
- 771 protilátek na stránkách ThermoFischer
- ZebraFish book - online databáze protokolů



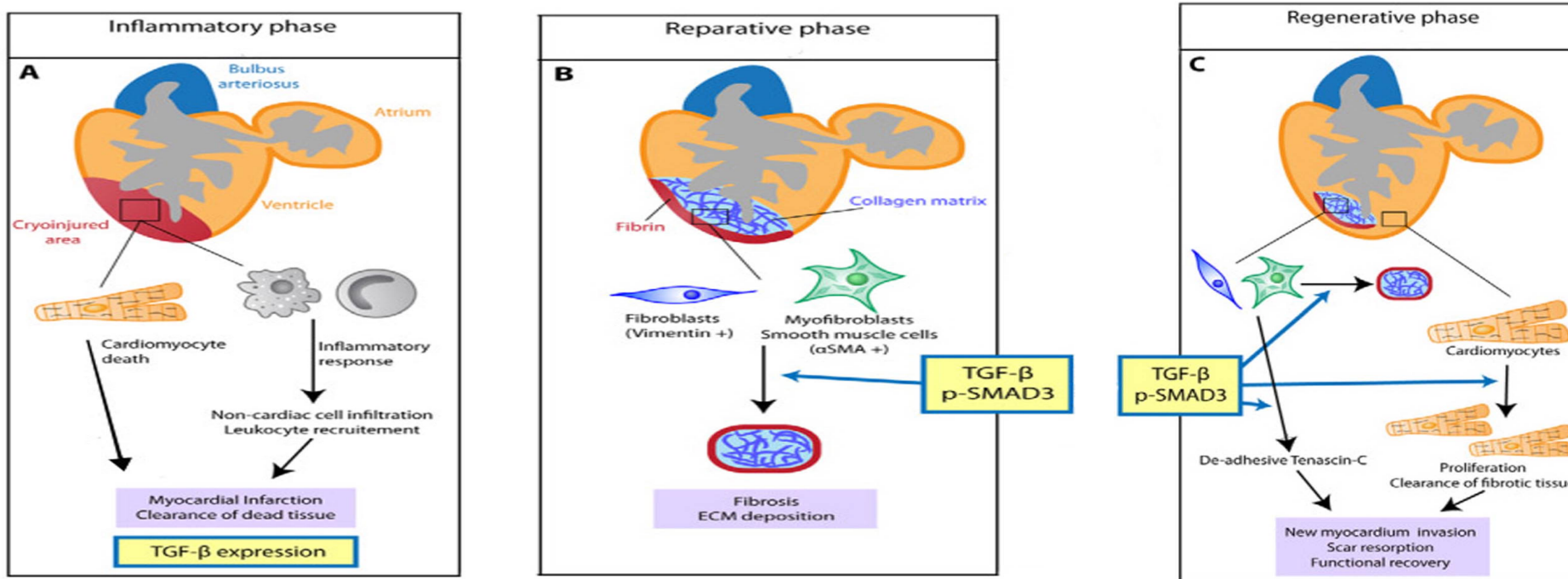
MUNI
SCI

Danio pruhované – obory studia

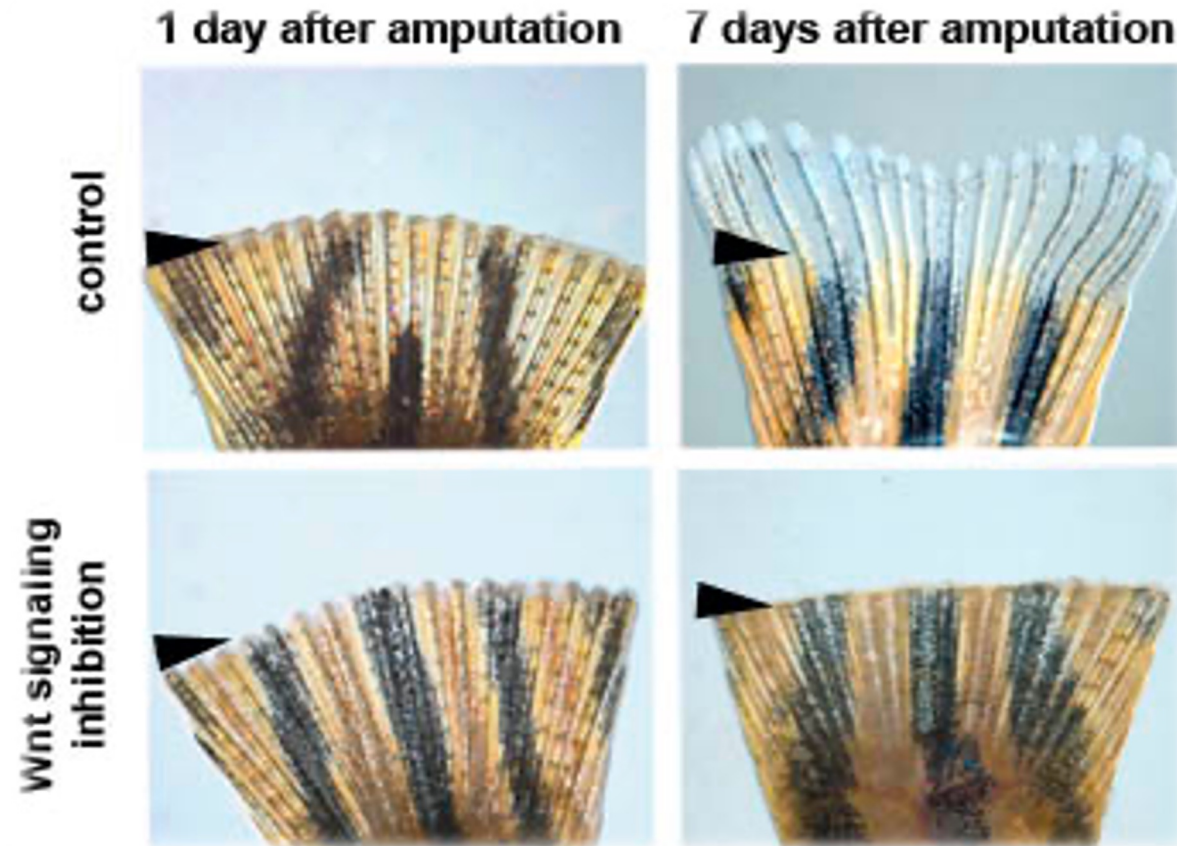


Danio pruhované – příklady využití

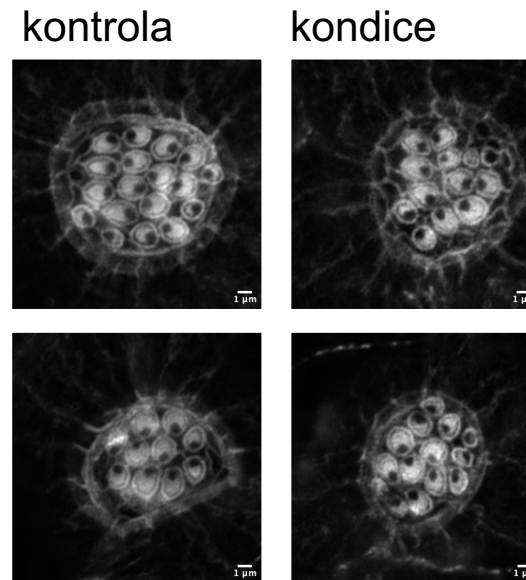
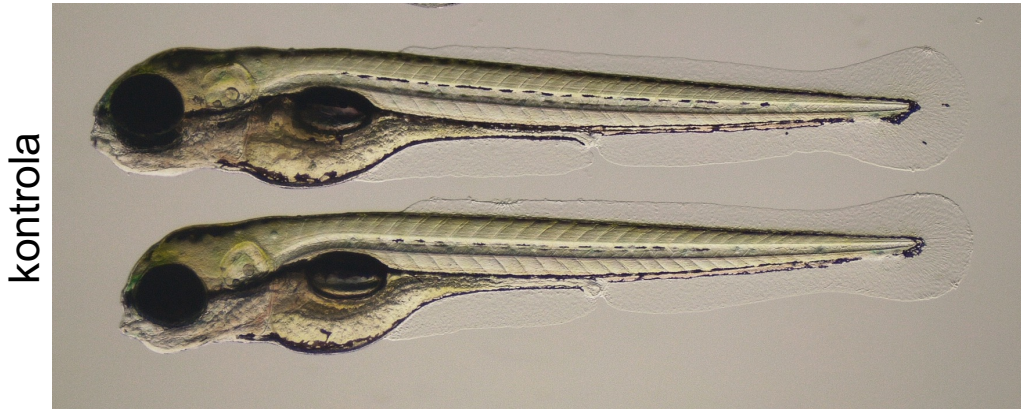
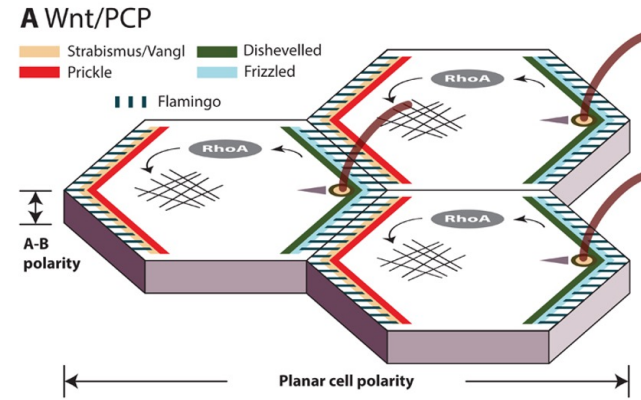
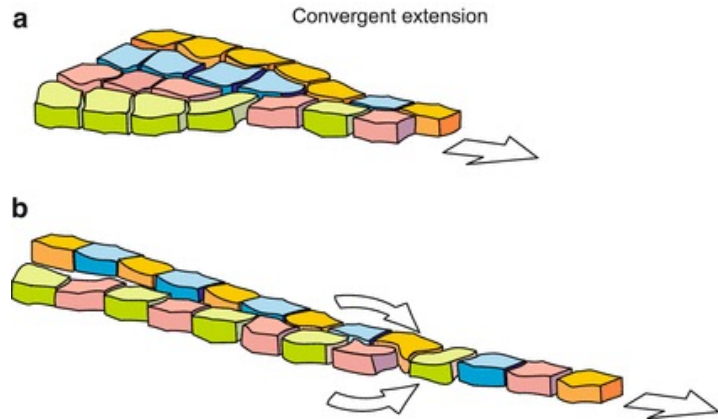
- Studium hojení srdeční svaloviny po infarktu
 - Dania jsou na rozdíl od savců schopny spustit obnovu srdeční tkáně po infarktu
 - Rozsáhlá oblast studia – snaha zmapovat které dráhy jsou aktivní při hojení a jestli stejný proces není možné spustit u člověka



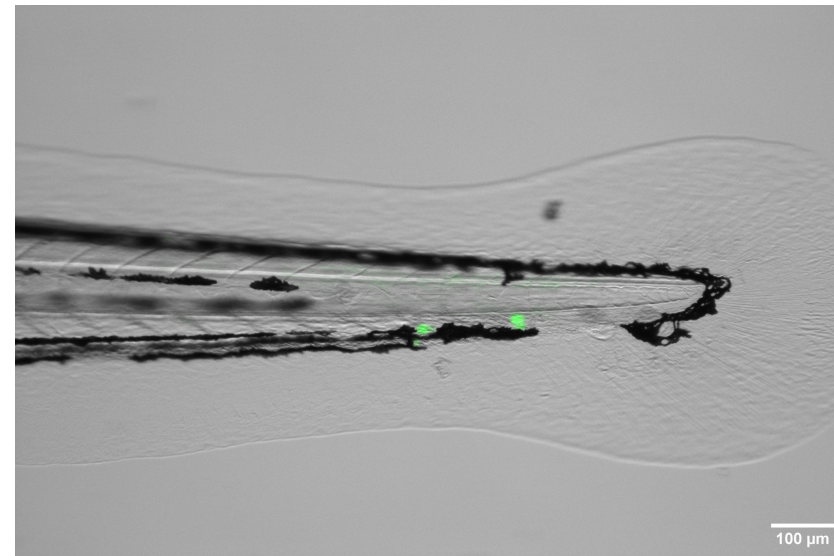
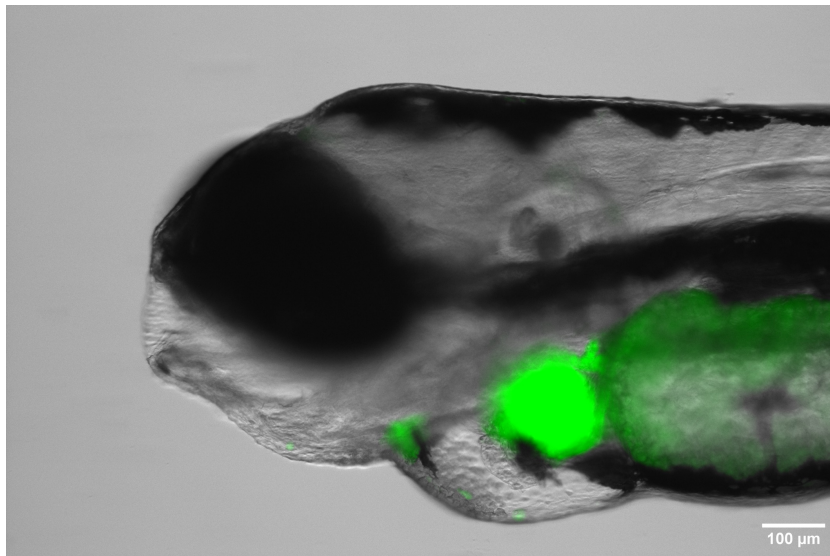
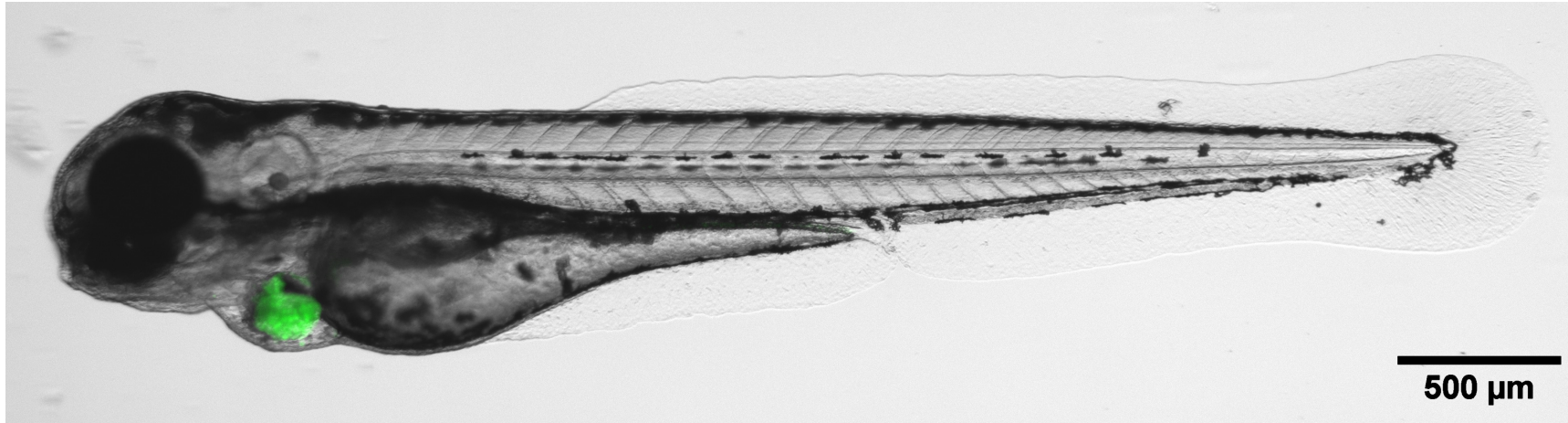
Danio pruhované – příklady využití

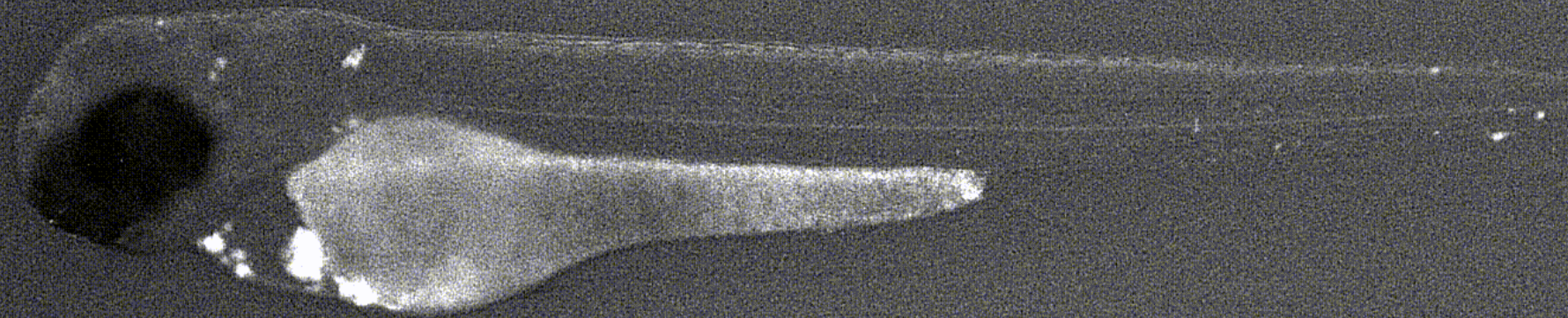


Danio pruhované – příklady využití

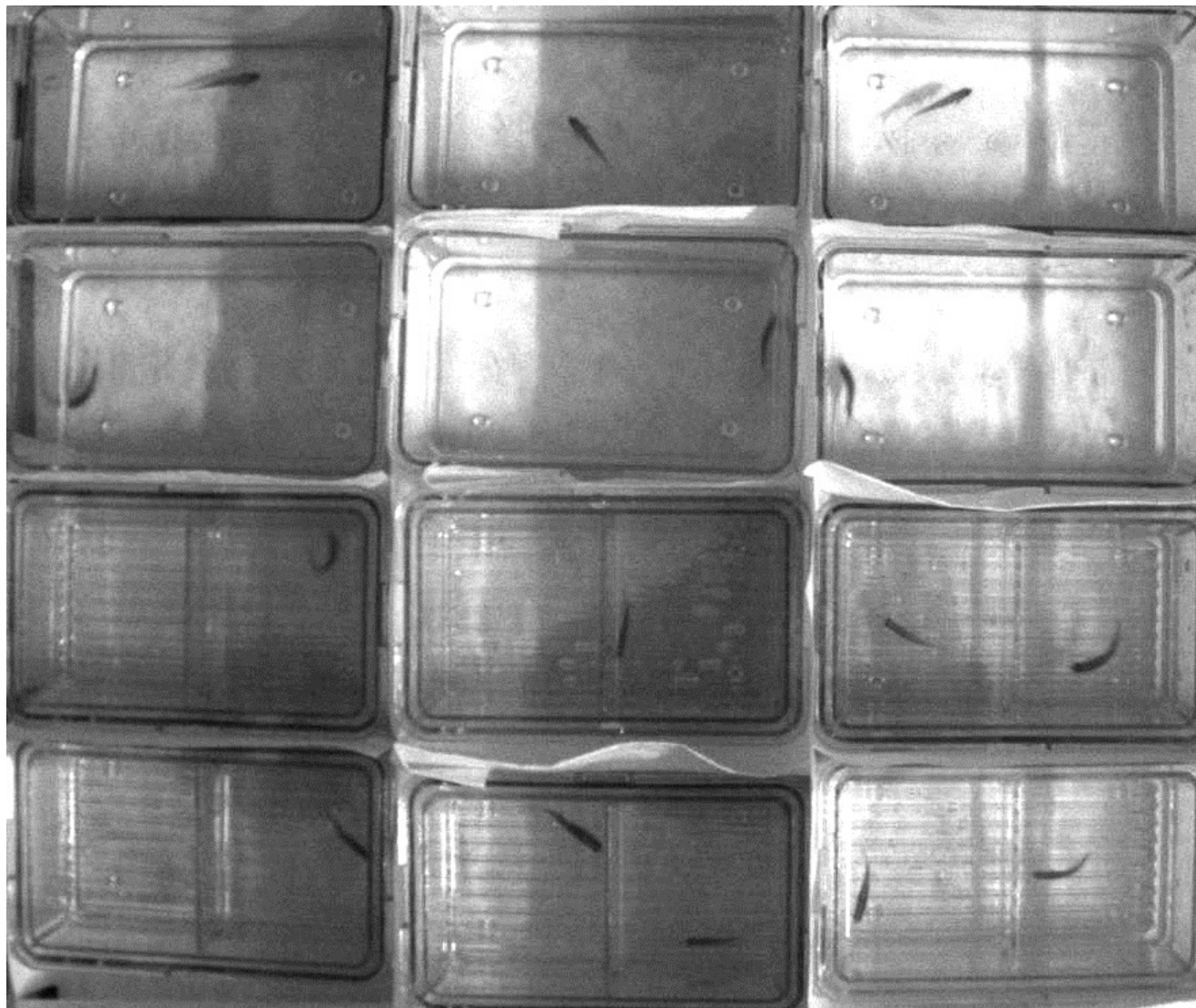


Danio pruhované – příklady využití





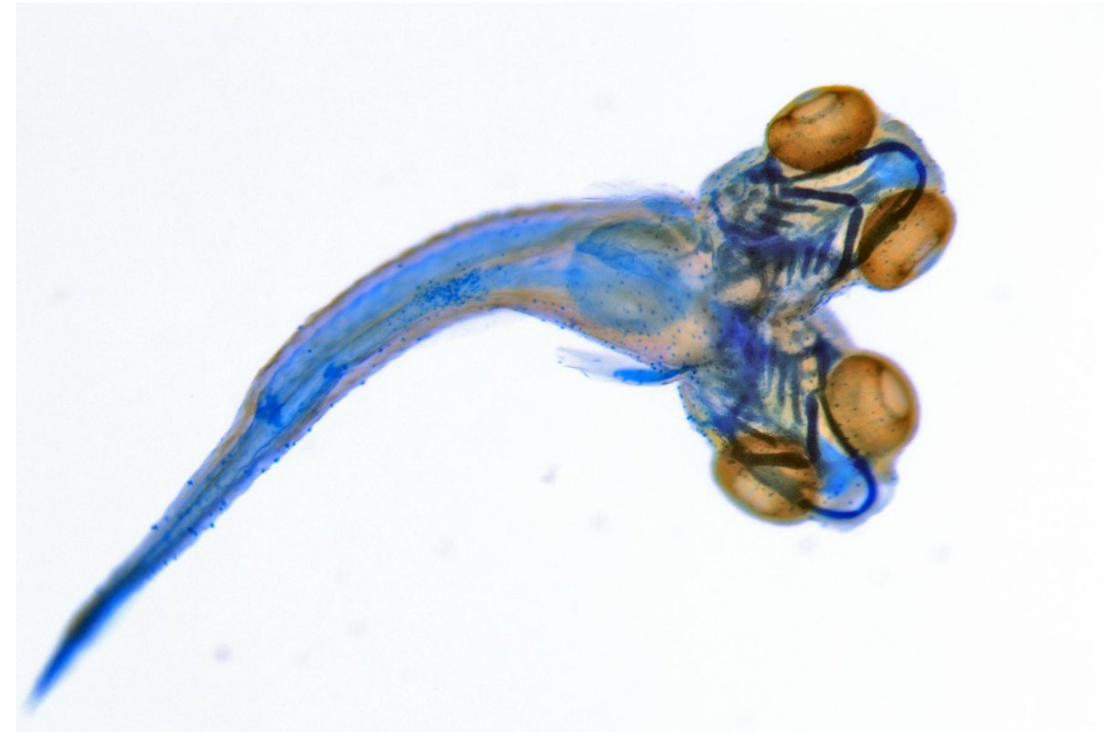
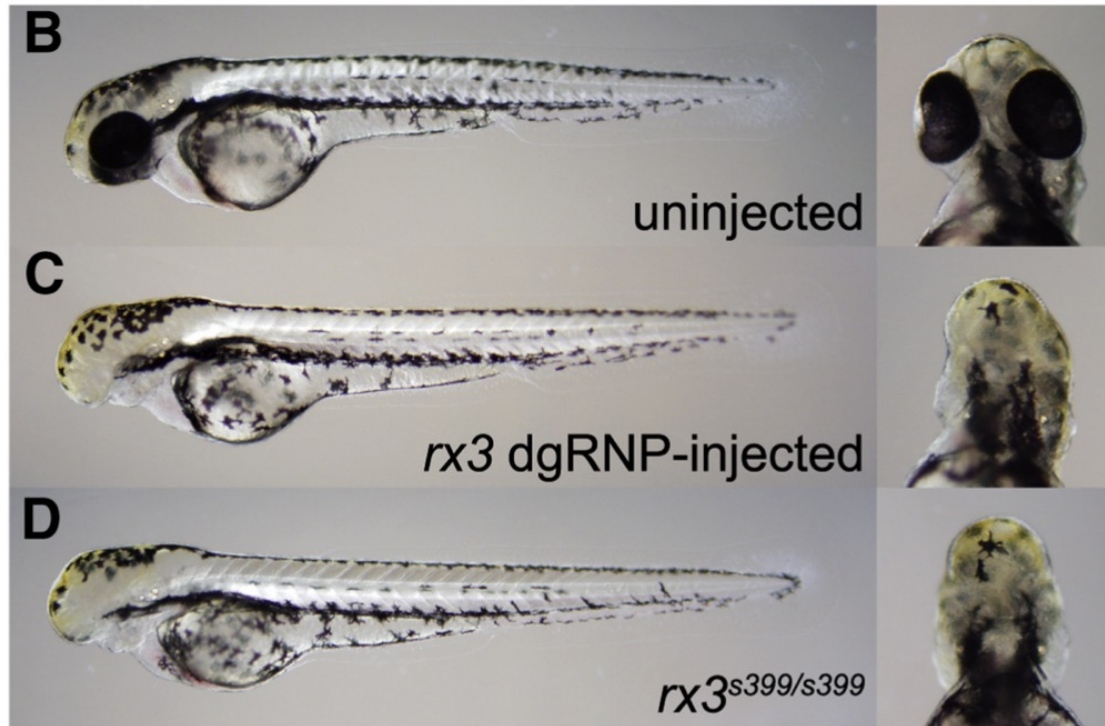
Danio pruhované – příklady využití



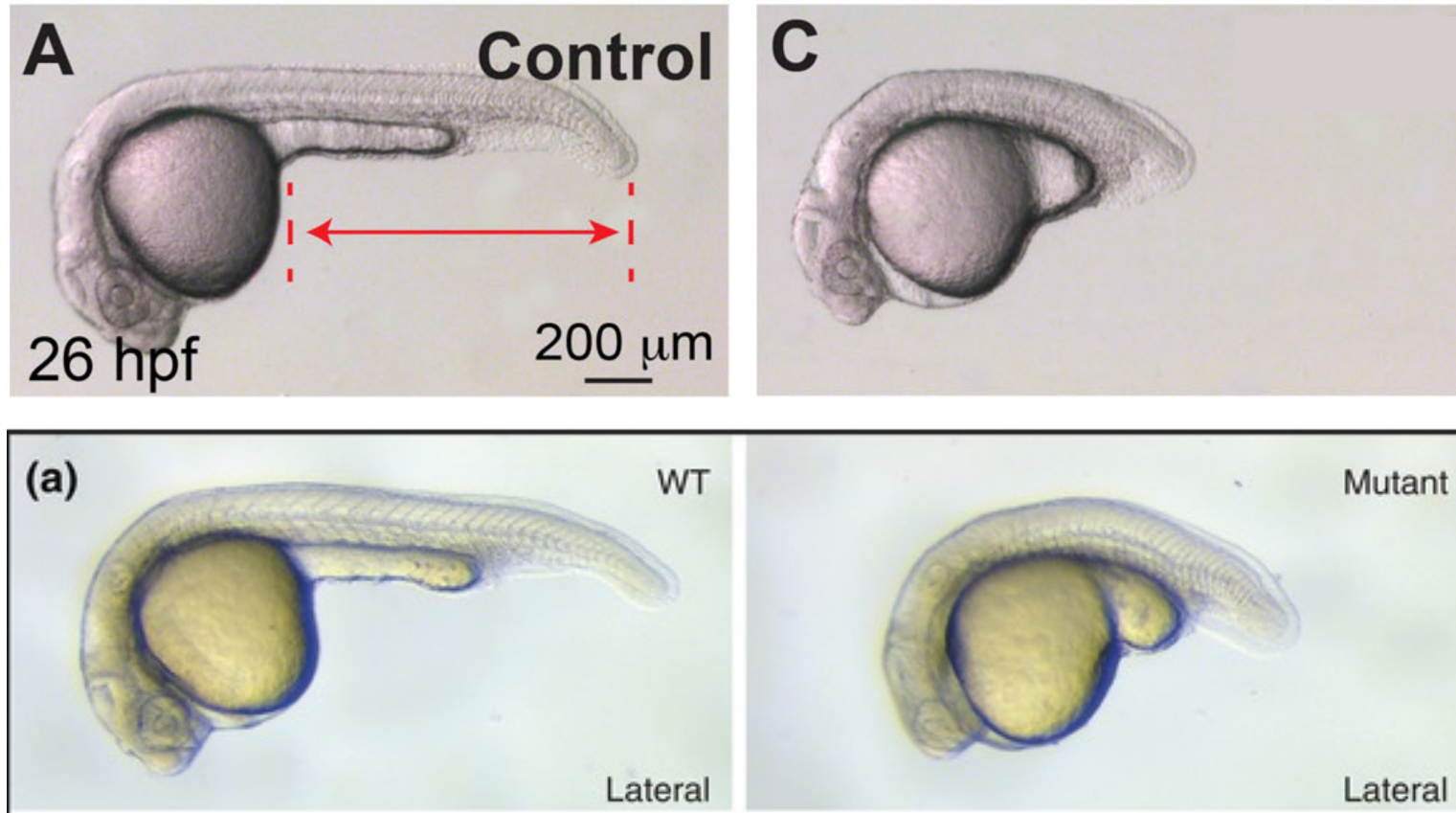
M U N I
S C I

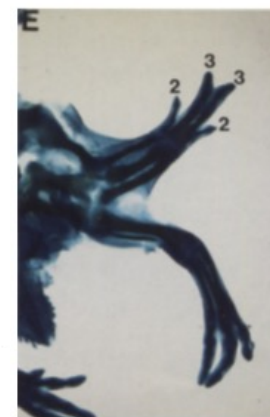
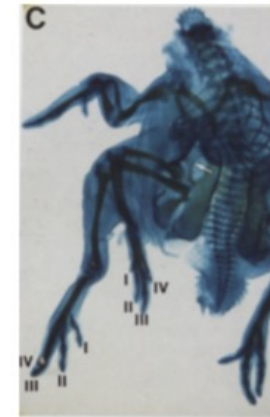
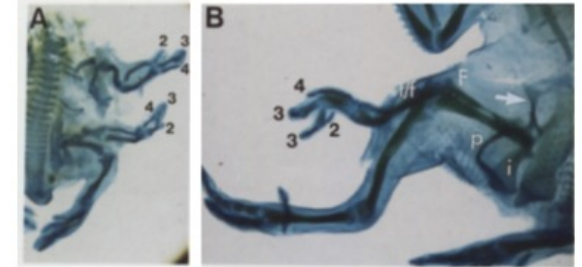
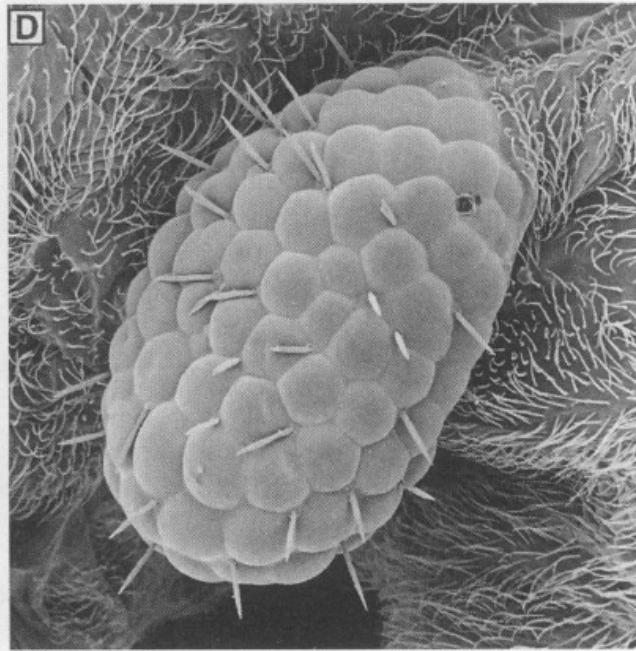
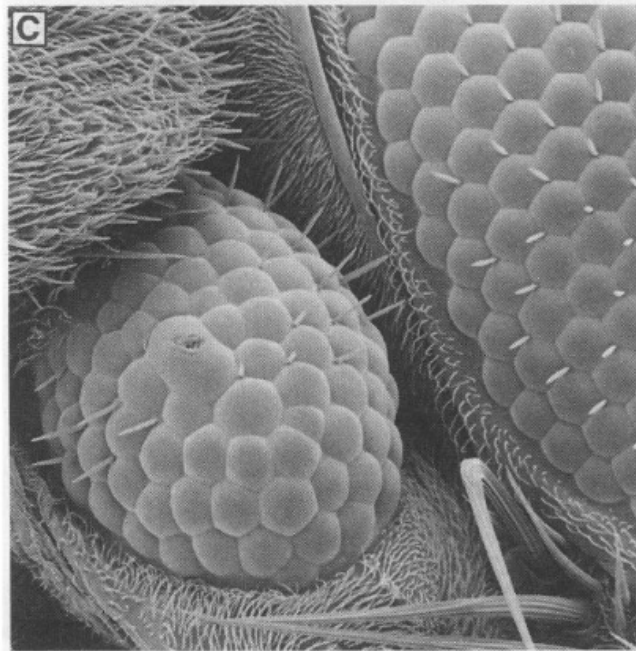
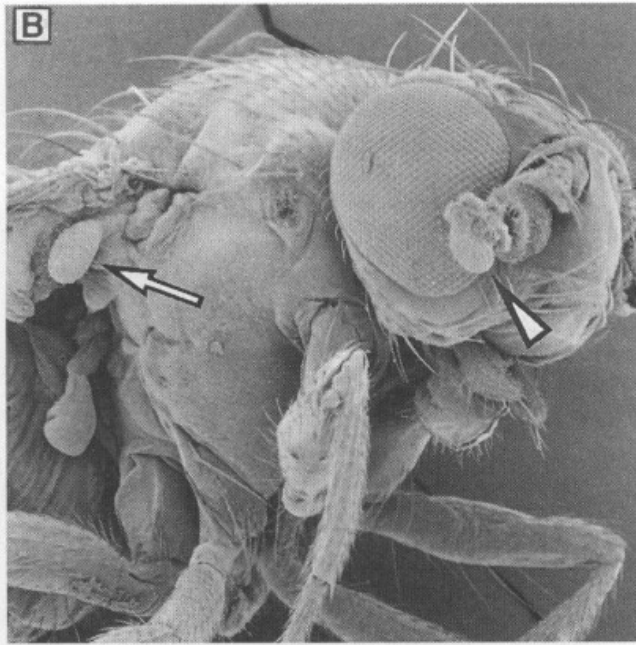
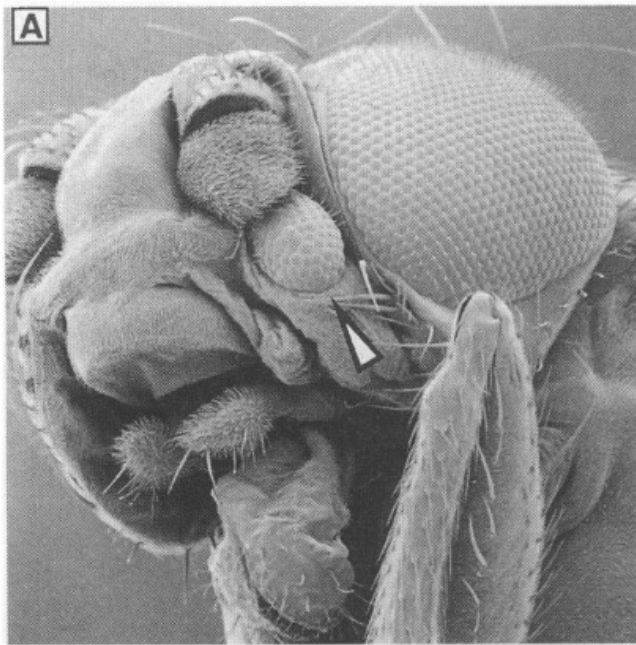
Studium funkce genů

Jak studovat funkci genů?



Různé přístupy ke „ztrátě funkce“





STUDIUM ÚLOHY GENŮ - „LOSS-OF-FUNCTION“ PŘÍSTUPY

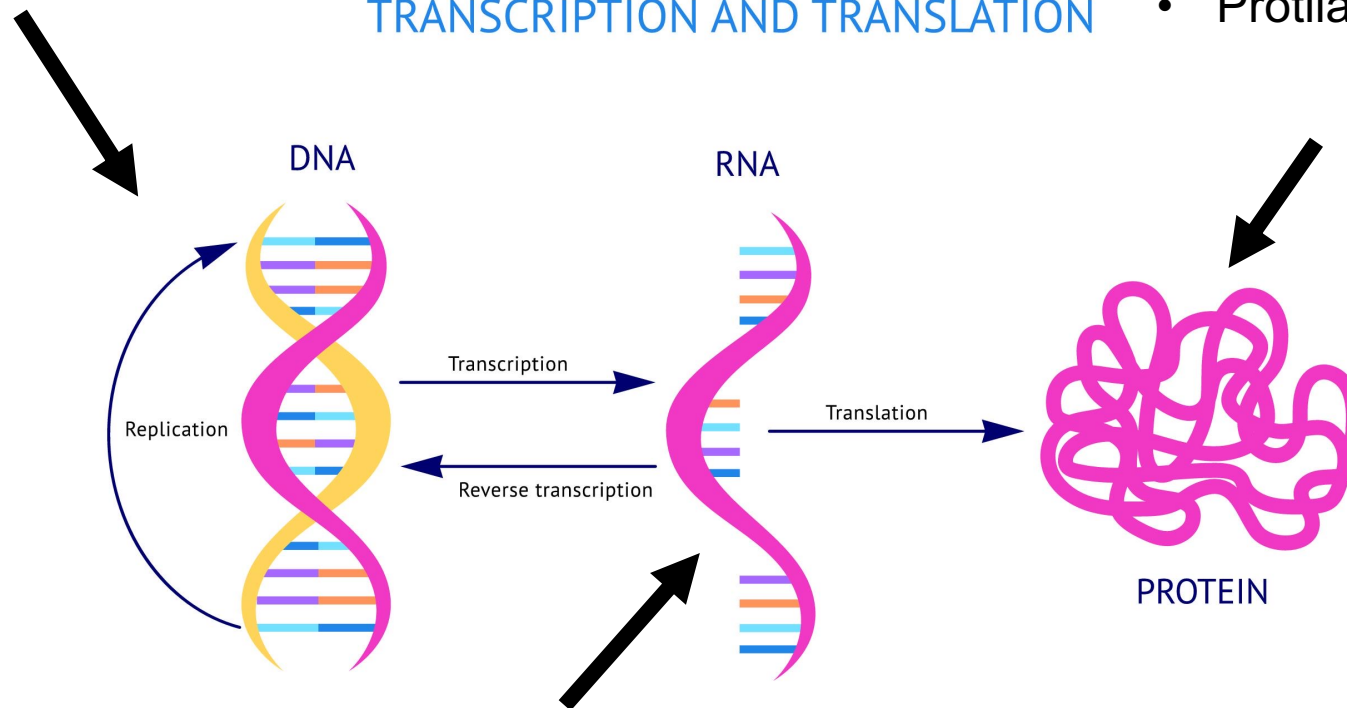
- CRISPR-Cas9
- siRNA, sgRNA,
- Morpholino, dCAS9
- farmakologická inhibice,
- blokační protilátky

Různé přístupy ke „ztrátě funkce“

- „Knockout“ (KO)
- CRISPR/Cas9

- Inhibice/cílená degradace
- Farmakologická
 - Protilátkami

TRANSCRIPTION AND TRANSLATION



- „Knockdown“ (KD)
- RNA interference
 - siRNA, sgRNA, Morpholino
 - CAS9 interference

Studium funkce genů ve vývoji: Loss of function přístupy

- Morpholino (Knock down) – založeno na interferenci s mRNA – zablokování translace
- CrisprCas9 – využití „imunitního systému“ bakterií pro vnášení dvouřetězcových zlomů do konkrétního místa v genomu → časté chyby při opravách způsobují změnu čtecího rámce a tím „vypnutí“ daného genu (Knock out)
- Farmakologická inhibice – využití malých molekul k inhibici konkrétních proteinů a zastavení jejich funkce

STUDIUM ÚLOHY GENŮ - „GAIN-OF-FUNCTION“ PŘÍSTUPY

- Rekombinantní proteiny, kondiciované média
- implantace kuliček
- mRNA injection
- Transfekce, elektroporace, Transdukce
- CRISPR-Cas9 knock in
- Tol2 Transgeneze
- Rescue experimenty

