

prof. RNDr. Renata Veselská, Ph.D., M.Sc.
Ústav experimentální biologie PŘF MU

GENETIKA CHOVÁNÍ 1.

Metody studia Výzkum na zvířatech

Bi6170 Genetika II
17.9.2014



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

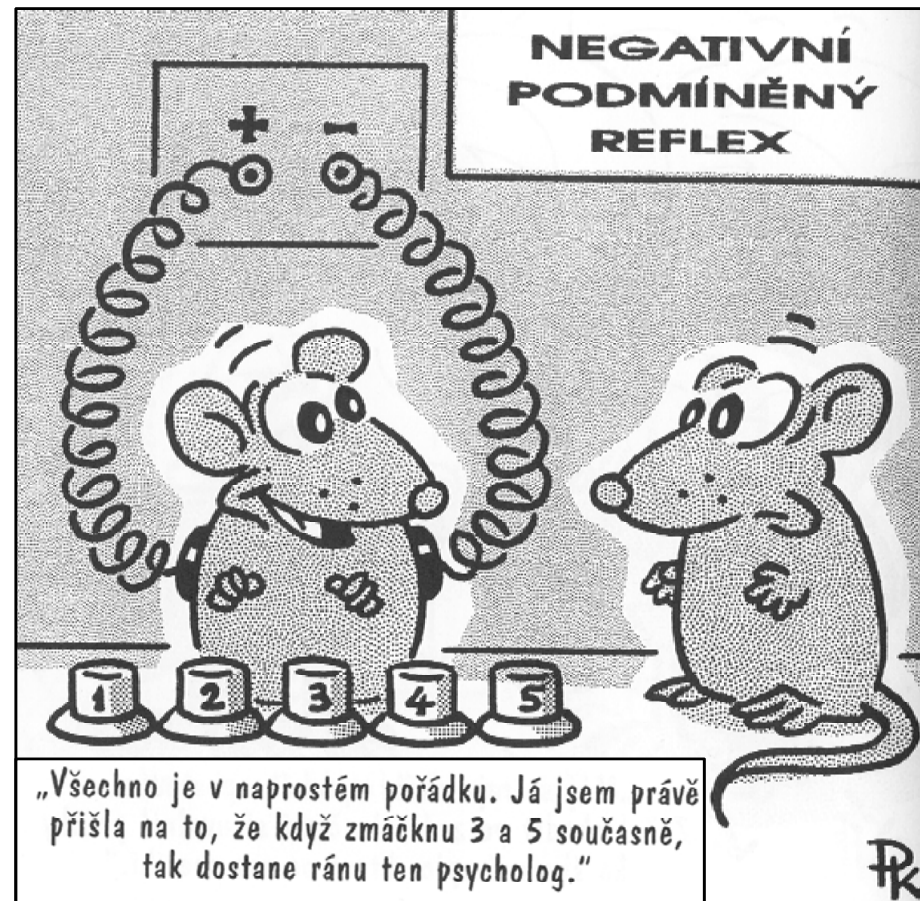
Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

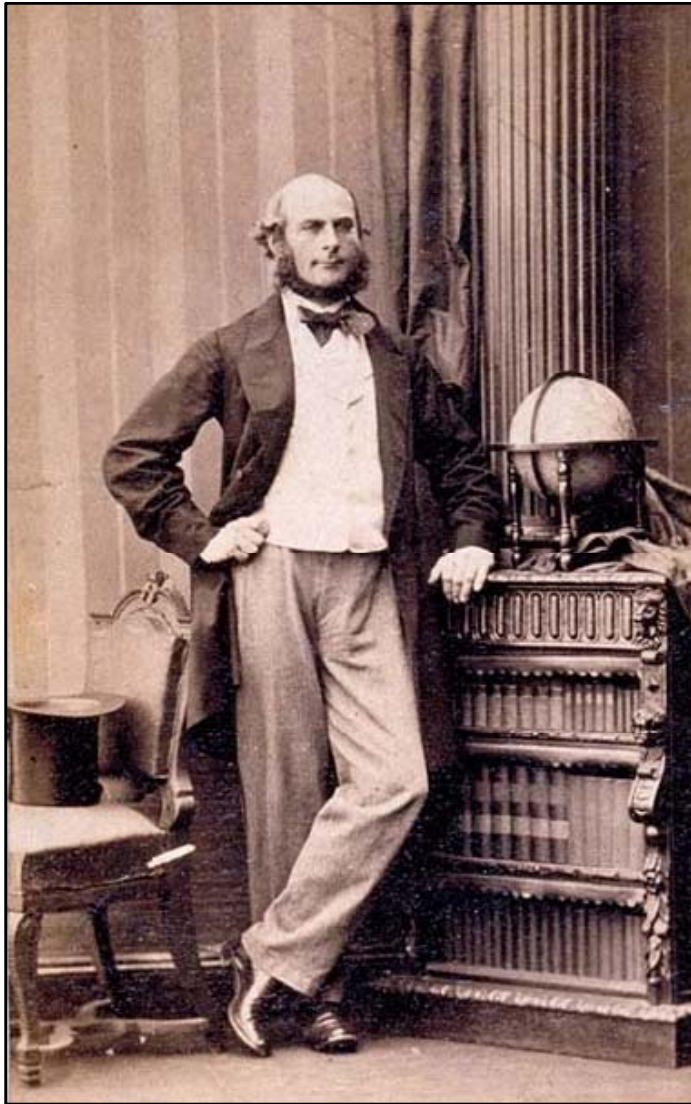


Obsah přednášky

- **Metodické přístupy ke studiu chování**
- **Drozofila** - geotaxe
- **Včela** - hygienické chování
- **Myš** - konzumace alkoholu, péče o mláďata
- **Krysa** - učenlivost
- **Pes** - reakce na výcvik

METODICKÉ PŘÍSTUPY KE STUDIU CHOVÁNÍ





Francis Galton (1869):

■ Hereditary Genius:

An Inquiry into Its Law and Consequences

Biologická determinace chování?

dědičnost vs. prostředí

NATURE



NURTURE

determinismus

behaviorismus



Metodologie studia genetiky chování (živočišné modely)

- studium vyselektovaných nebo inbredních kmenů
- úspěšnost selekce v populaci
- studium jednotlivých genů (mutace, "knock-out")
- molekulárně-genetické přístupy



Biologické modely pro studium genetiky chování

- **bezobratlí:**

hmyz – drozofila, včela, mravenec

- **obratlovci:**

hlodavci – myš, krysa, potkan, morče
pes

primáti – pavián, šimpanz, gorila



Metodologie studia genetiky lidského chování

- Analýza mutací u jedinců s neobvyklým chováním
- Studium dvojčat
- Familiární výskyt určitého typu chování
- Asociační studie (molekulární markery)

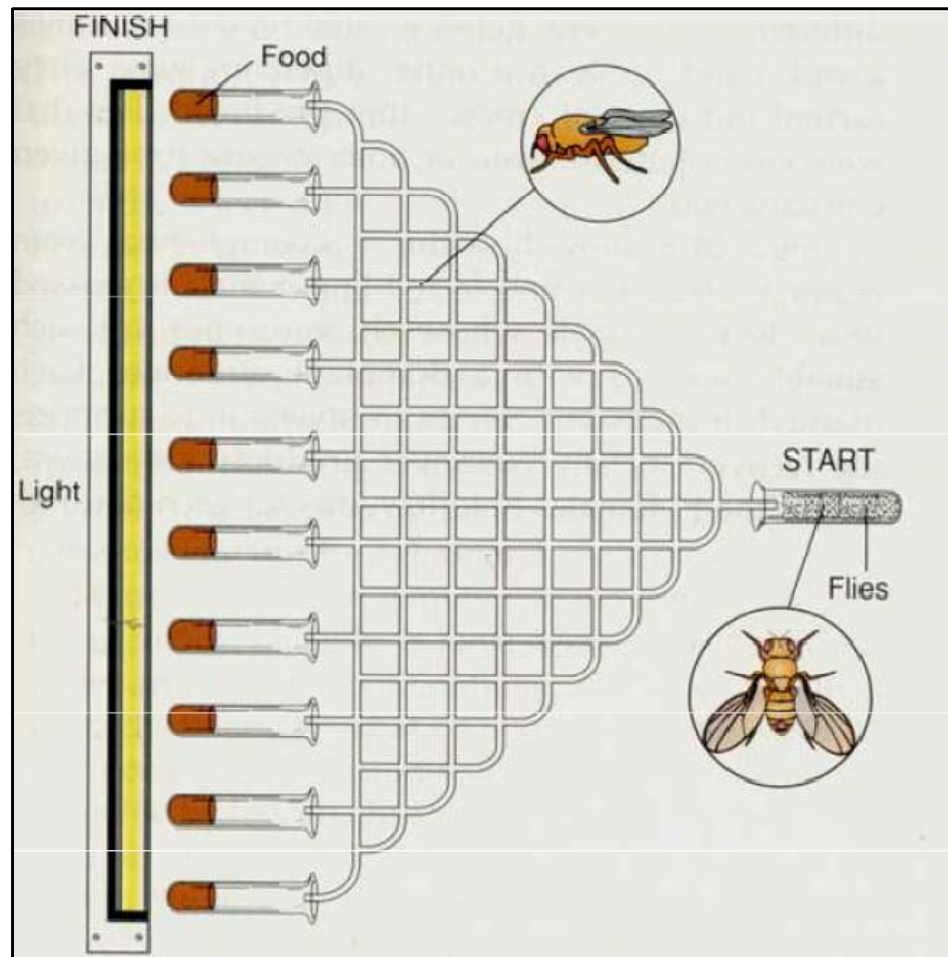


DROZOFILA

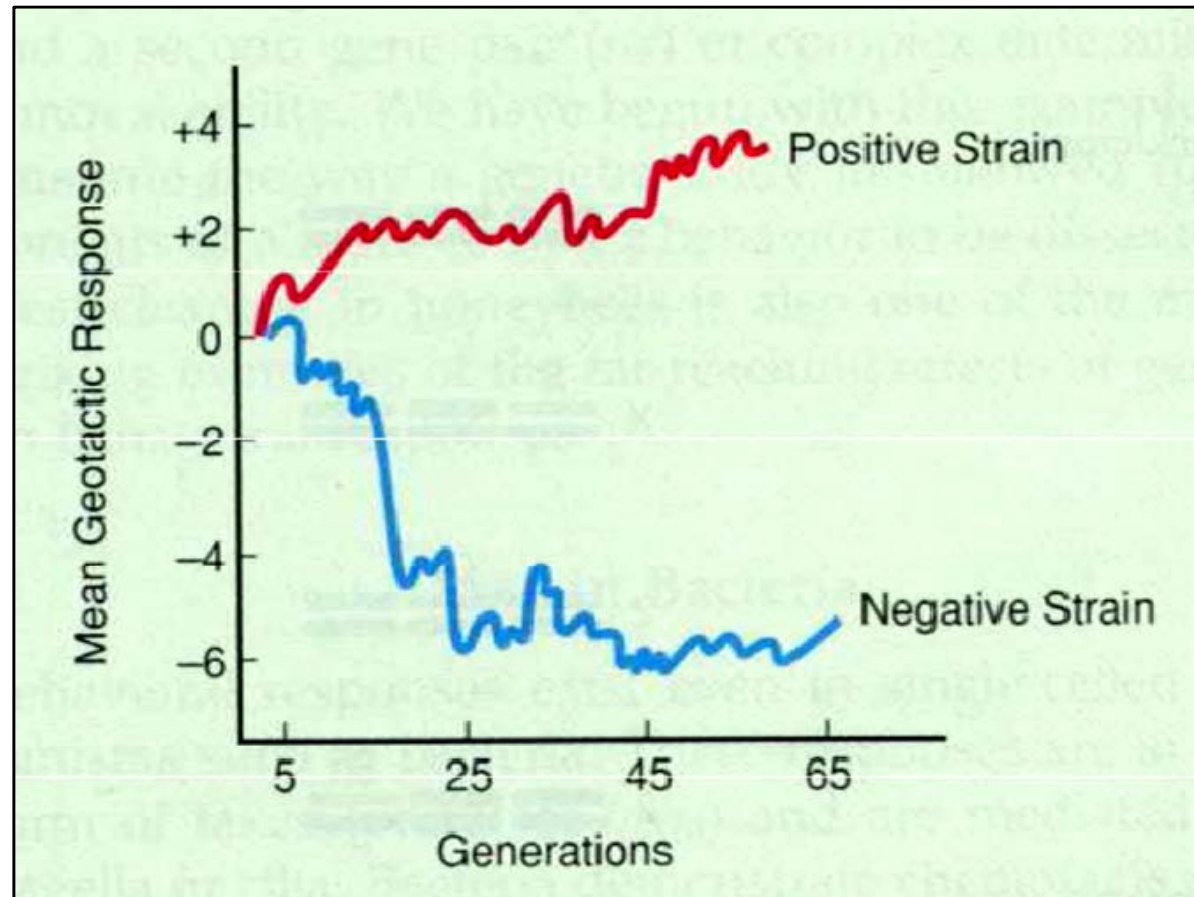
(*Drosophila melanogaster*)



Studium geotaxe u drozofily



Výsledky selekce na pozitivní a negativní geotaxi v průběhu 65 generací:



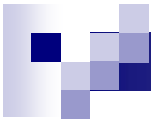
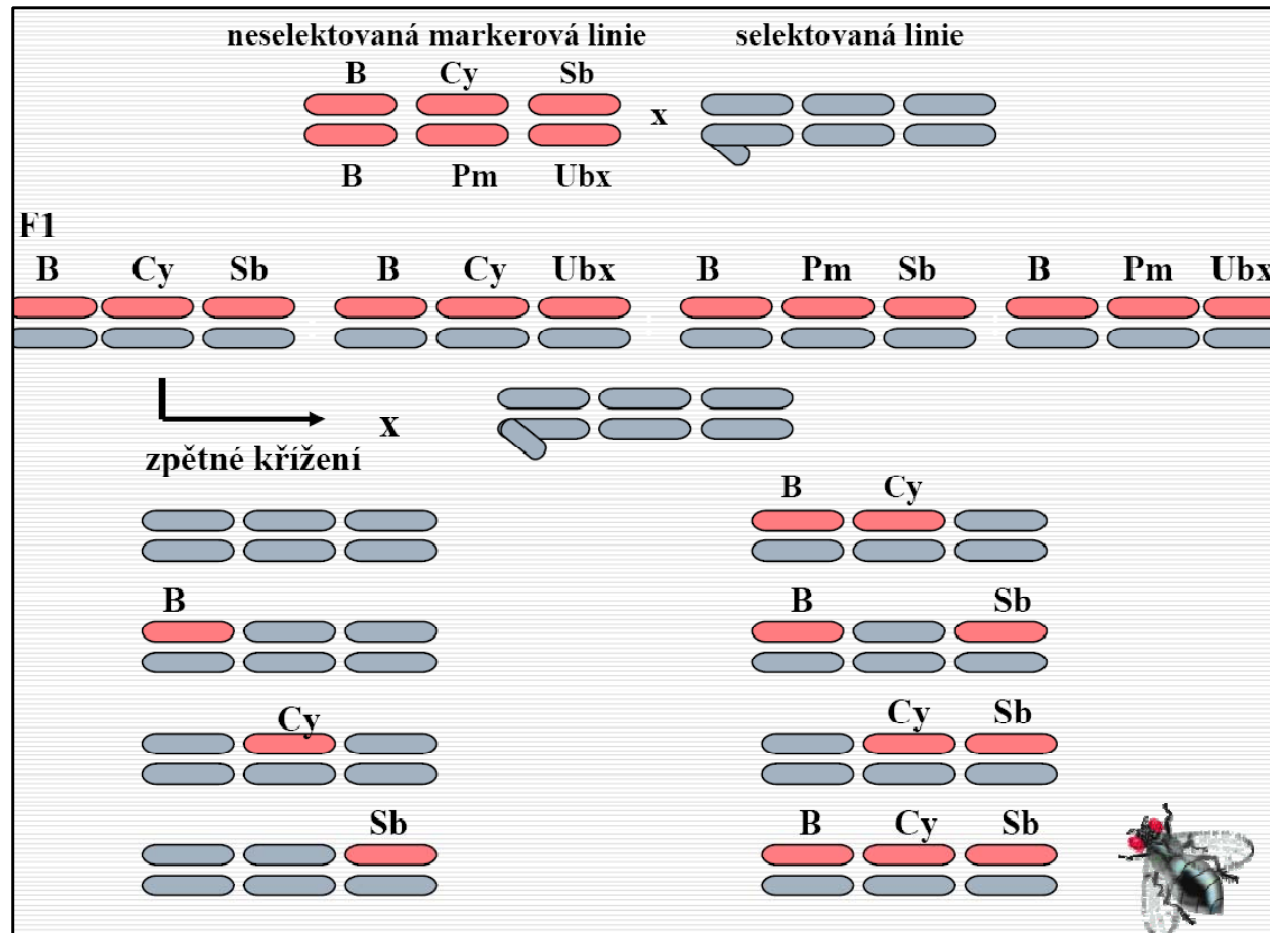


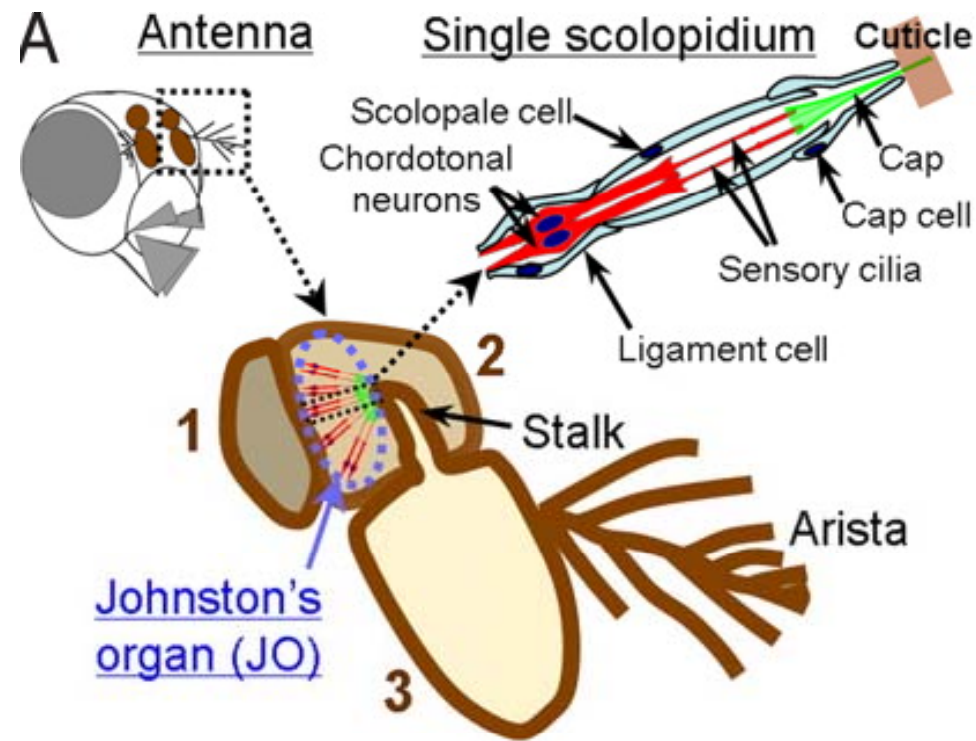
Schéma křížení pro lokalizaci genů zodpovědných za geotaxi:



Negativní geotaxe:

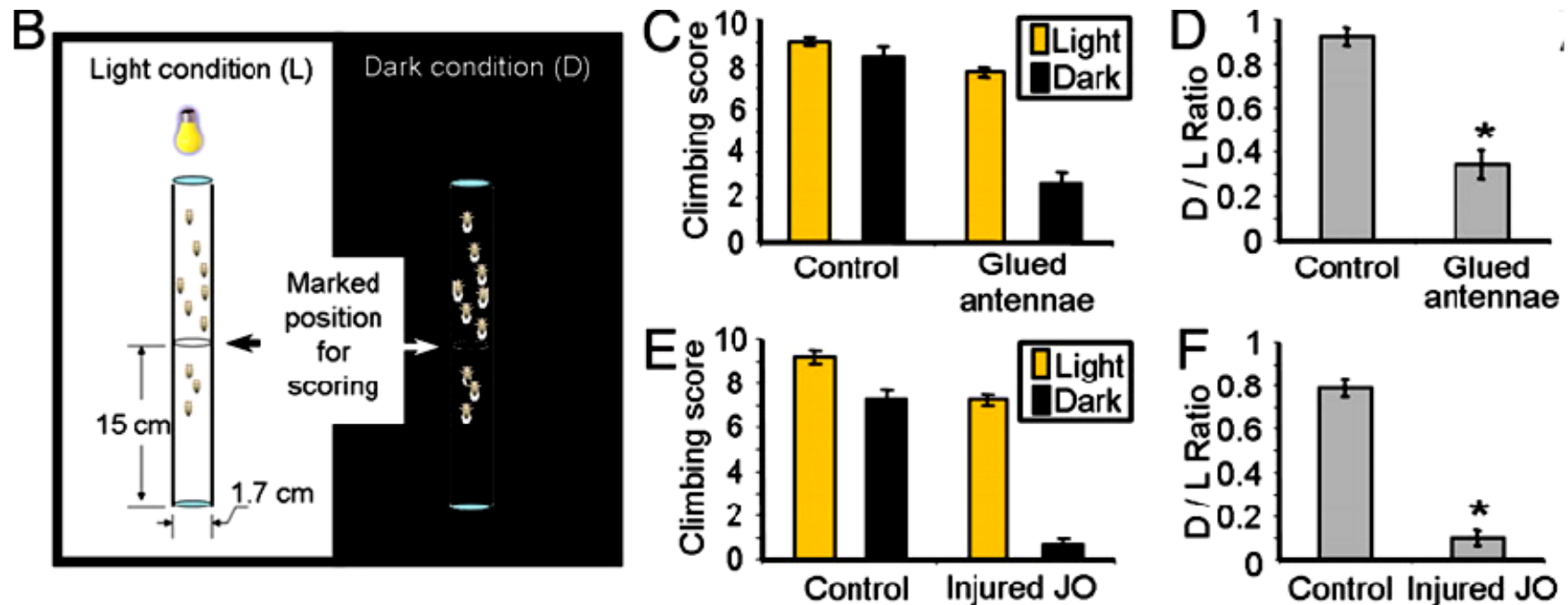
■ Johnstonův orgán

(primární mechanosenzorický orgán pro detekci gravitace)



Sun Y, Liu L, Ben-Shahar Y, et al.:

- TRPA channels distinguish gravity sensing from hearing in Johnston's organ
- PNAS 106, 13606-13611, 2009





Geny pro proteiny transmembránových kanálů TRP (Transient Receptor Potential)

- gen *TRPN* - no mechanoreceptor potential C (NompC)
 - geny *TRPV* - nanchung (nan), inactive (iav)
 - geny *TRPA* - painless (pain), pyrexia (pyx)
-
- mutace pain a pyx → porucha negativní geotaxe
 - mutace nompC → porucha sluchu
 - mutace nan a iav → porucha obou funkcí současně

VČELA MEDONOSNÁ (*Apis mellifera*)

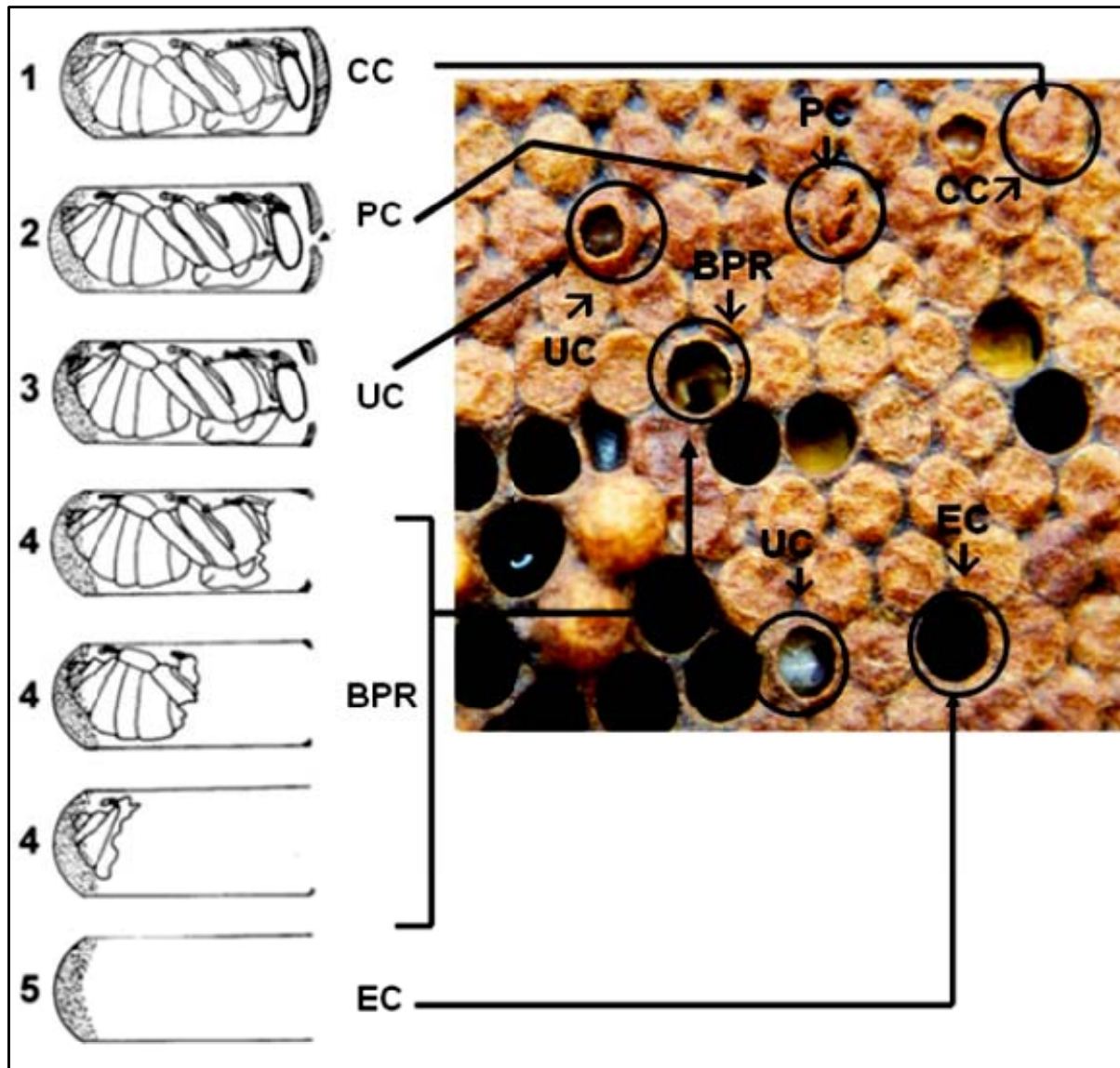
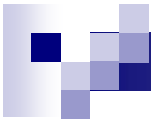


Walter C. Rothenbuhler (1964):

Hygienické chování včel:

- odstranění larev nakažených *Bacillus larvae*
- 2 kroky: **odvíčkování (uncapping)**
odstranění larvy (removing)
- inbrední kmeny
- komerčně důležité





Experiment:

- umístění 100 nakažených larev do buněk v plástvi (kolonie)
- odstranění všech larev do 48 h → **hygienické chování**

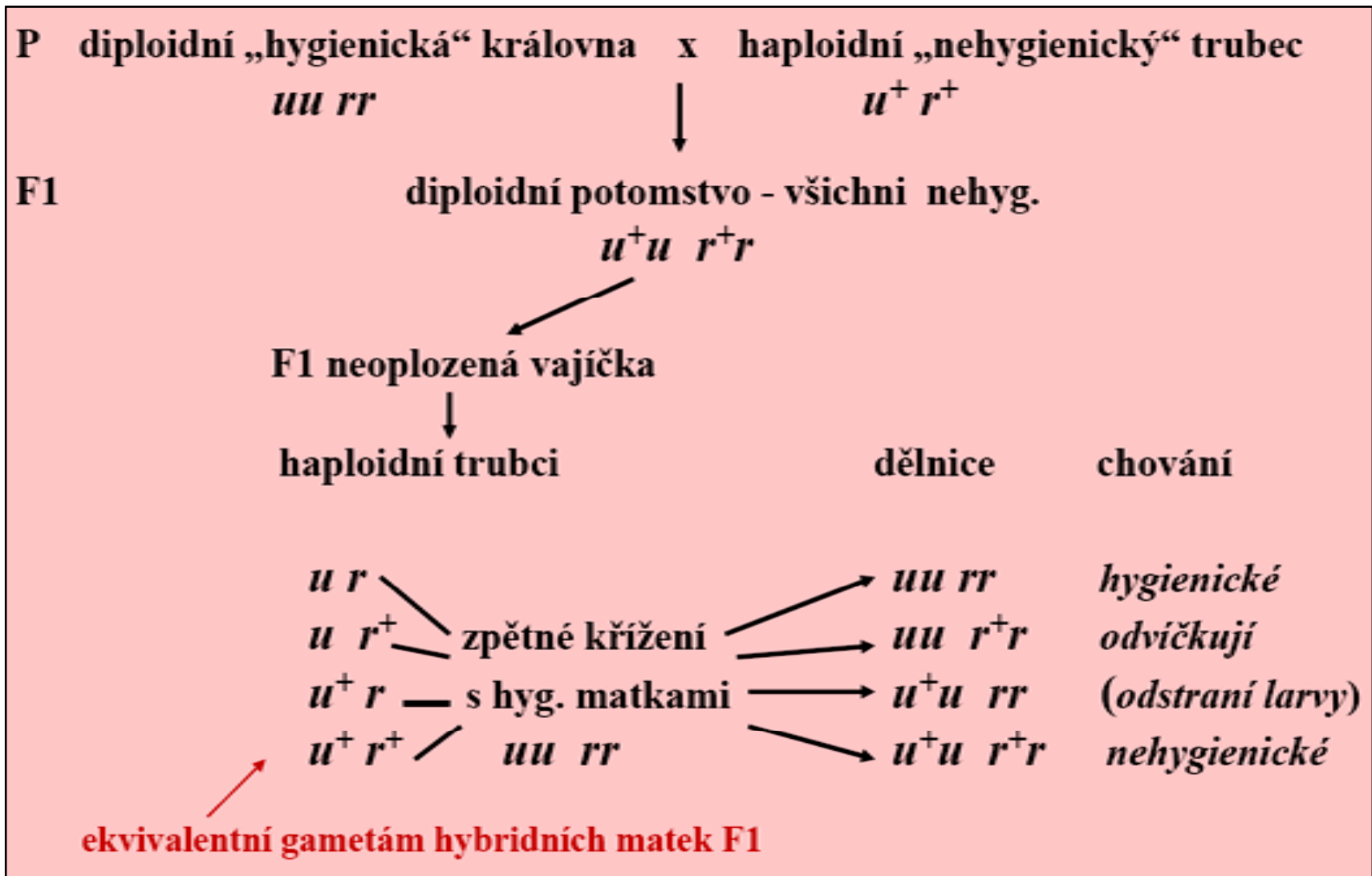


Rothenbuhler WC:

- Behavior genetics of nest cleaning in honey bees. IV. Responses of F_1 and backcross generations to disease-killed brood.
- Am Zool 12, 578-583, 1964

Hypotéza:

- hygienické chování je determinováno dvěma geny, které nejsou vázané:
***u* (uncapping), *r* (removing)**





Moritz RFA:

- A reevaluation of the two-locus model for hygienic behavior in honeybees (*Apis mellifera* L.).

J Hered 79, 257-262, 1988

- **hypotéza: 3 lokusy**

Lapidge KL, Oldroyd BP, Spivak M:

- Seven suggestive quantitative trait loci influence hygienic behavior of honey bees.

Naturwissenschaften 89, 565-568, 2002

- **hypotéza: kvantitativní typ dědičnosti**

MYŠ DOMÁCÍ (*Mus musculus*)



- G.E. McClearn, D.A. Rogers (1959 - 1962):
Differences in alcohol preference among inbred strains of mice.

4 inbrední kmeny myší

- volný přístup k vodě obsahující 10% EtOH a k čisté vodě zároveň po dobu 3 týdnů *ad libitum*
- **"alcohol-prefering"** a **"alcohol-avoiding"** kmeny
- silná genetická determinace (2 lokusy vykazující mendelovskou dědičnost ?)
- **QTLs** = quantitative traits loci (aditivní efekt nebo interakce)



Souhrnné výsledky experimentů na 4 inbredních kmenech:

Kmen	týden	podíl absolutního alkoholu v celkové tekutině	průměr
C57BL	1	0,085	9,4% alkoholu
	2	0,093	
	3	0,104	
C3H/2	1	0,065	6,9% alkoholu
	2	0,066	
	3	0,075	
BALB/c	1	0,024	2,0% alkoholu
	2	0,019	
	3	0,018	
A/3	1	0,021	1,7% alkoholu
	2	0,016	
	3	0,015	

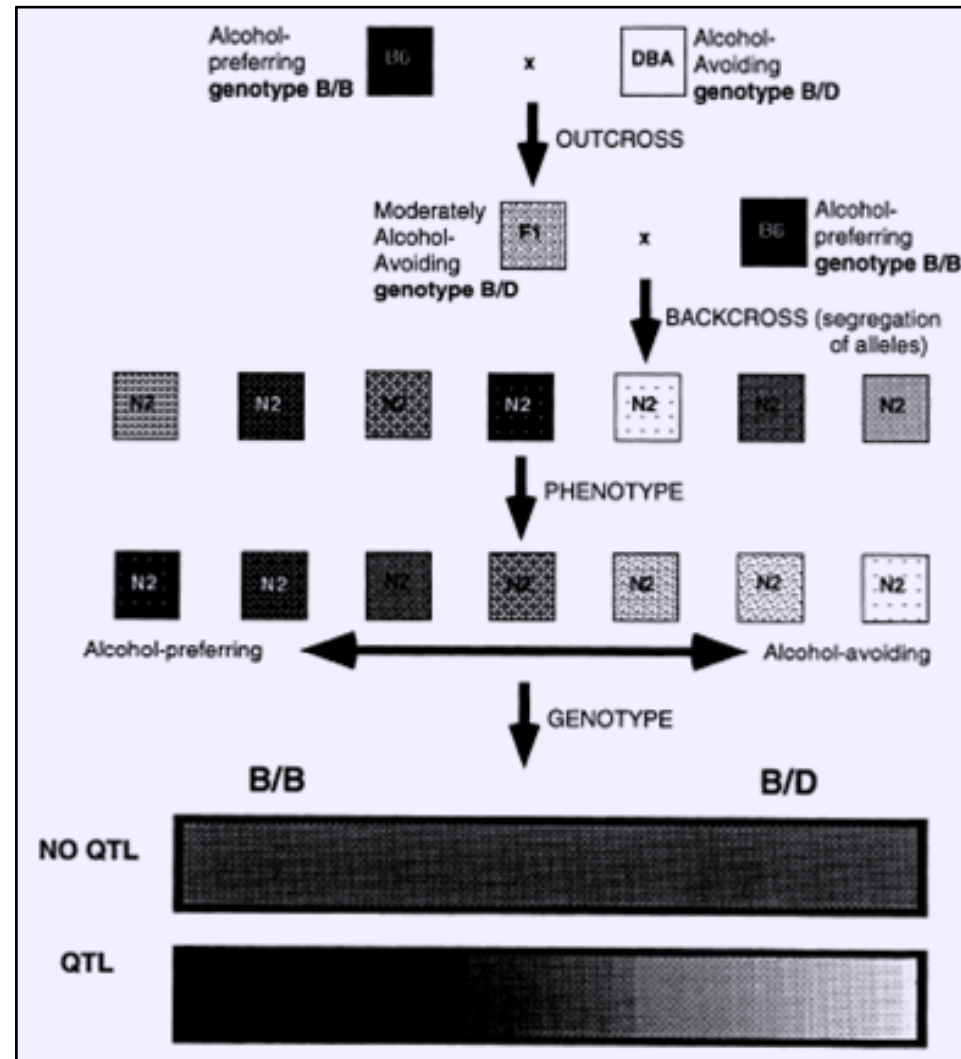
Myš jako biologický model pro studium genetických predispozic k alkoholismu

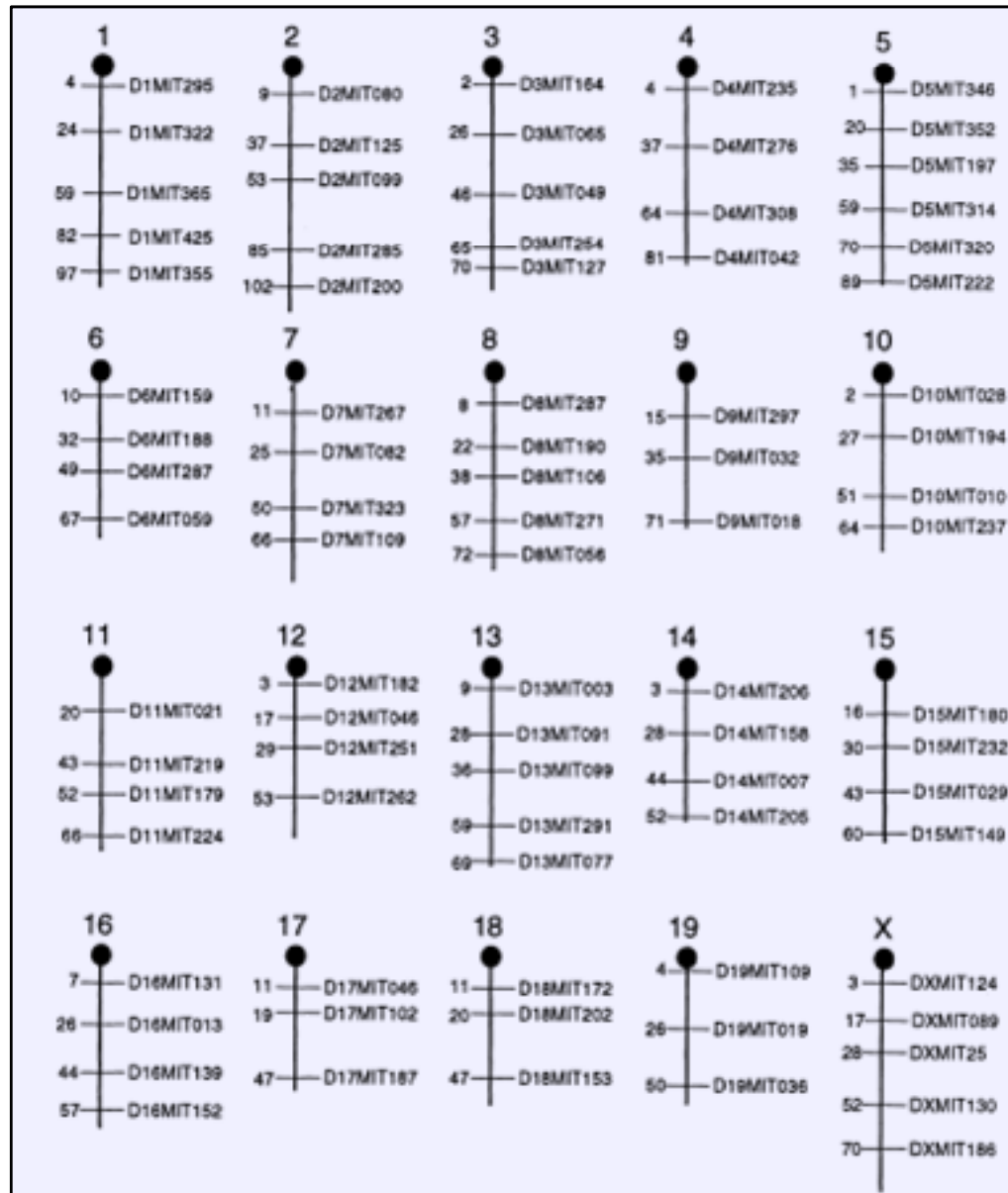
Porovnání inbredních kmenů:

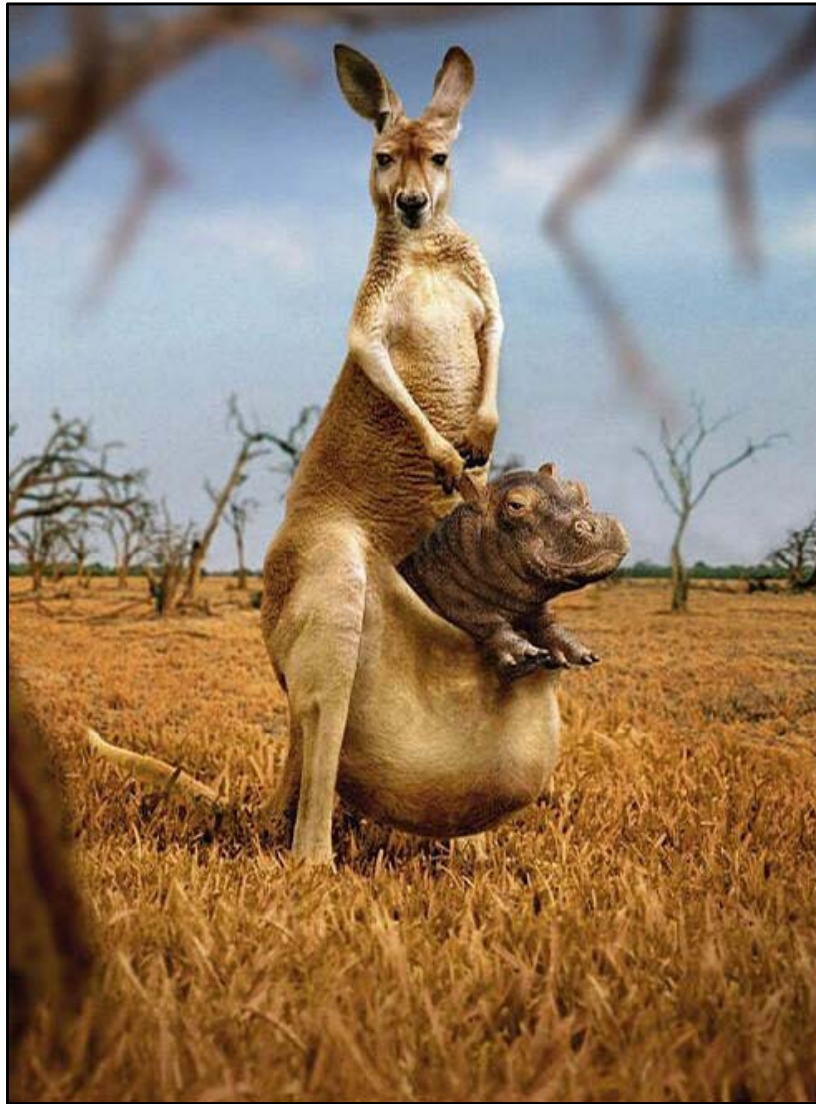
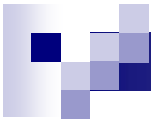
- C57BL/6 (B6 mice) – nejvhodnější:
extrémní preference alkoholu (0,75)*
- 129/ReJ, C3H/HeSnJ, A/J (nejvíce inbrední kmeny):
střední preference alkoholu (0,15 – 0,25)*
- DBA/2J:
nejmenší preference alkoholu (<0,07)*

*) Podíl příjmu 10% EtOH na celkovém příjmu tekutin

Identifikace QTLs ve vztahu k preferencím alkoholu:







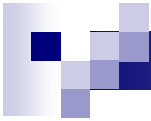


Brown JR, Ye H, Bronson RT, Dikkes P, Greenberg ME:

- A Defect in Nurturing in Mice Lacking the Immediate Early Gene *fosB*

Cell 86, 297-309, 1996

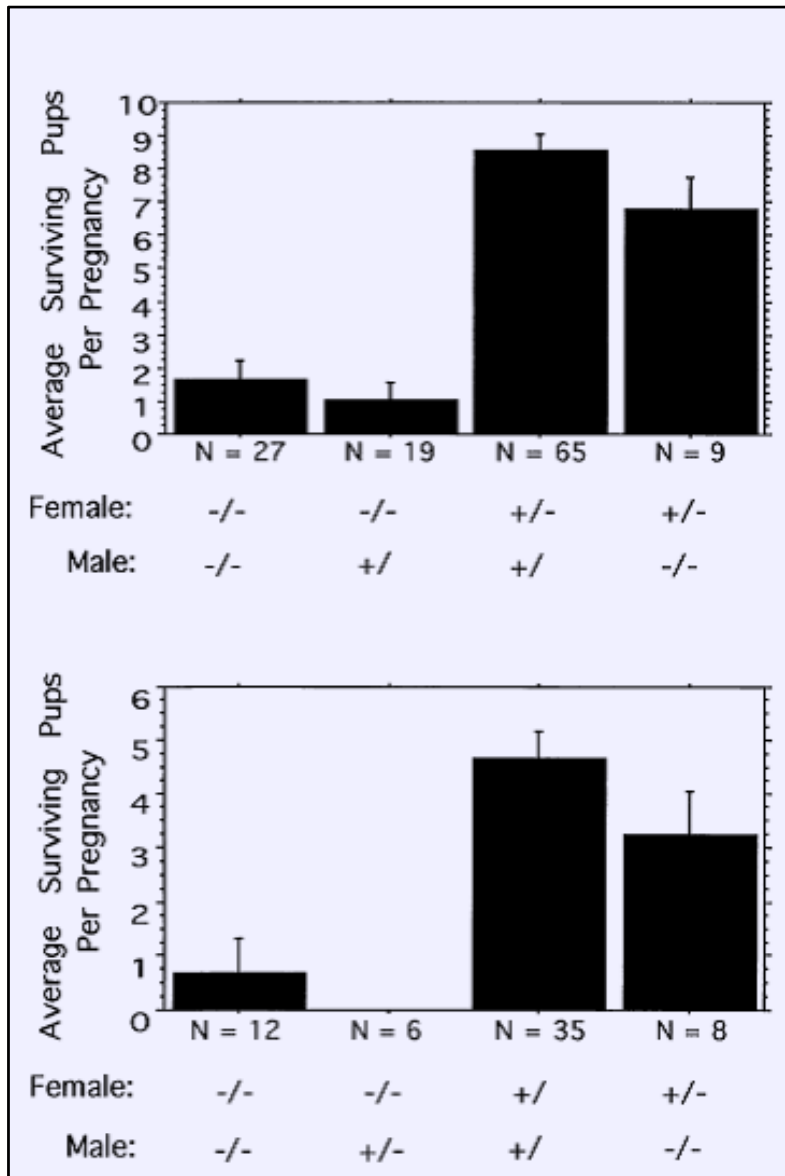
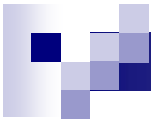
- exprese transkripčních faktorů **Fos family** je indukovatelná vnějšími stimuly v různých částech mozku (adaptivní neuronální odpověď):
stimulace světlem vede ke změně cirkadiánních rytmů (indukovaná exprese genů Fos family v určité části hypotalamu)
- **opačný efekt:**
Může změna exprese proteinů Fos ovlivnit chování?



Normální péče o mlád'ata
(wild-type)

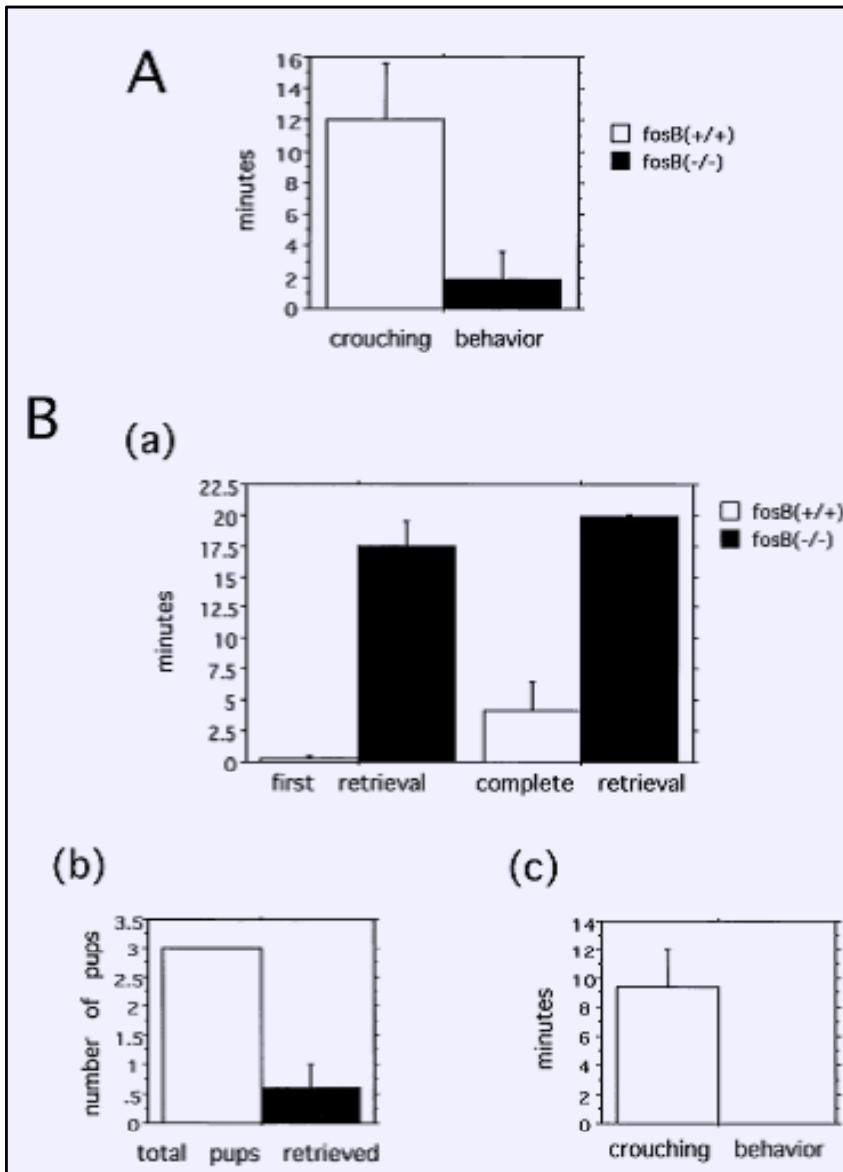


Odmítání péče o mlád'ata
(*FosB* mutant)



129Sv x BALB/c

129Sv inbrední

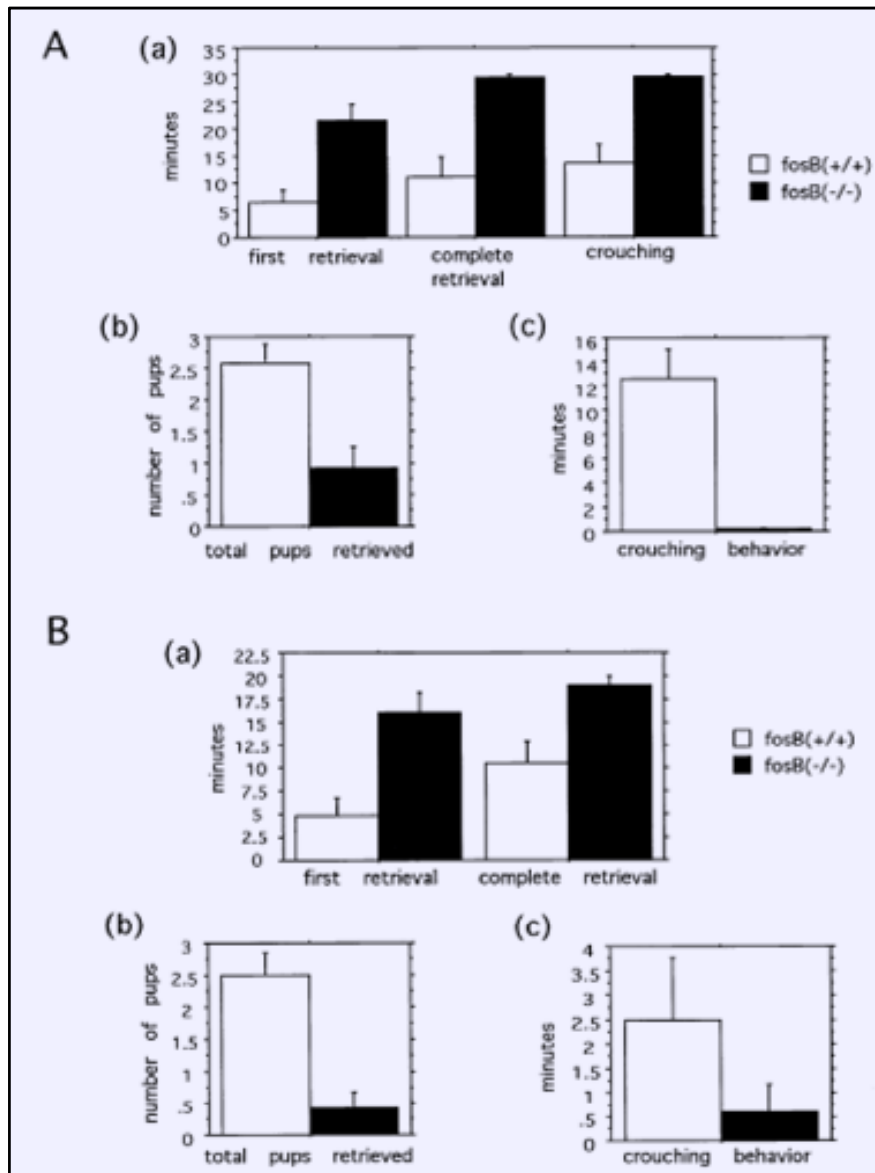


A) Samice po prvním porodu

- pozorování 20 min
- N = 8 / 11 (□/•)

B) Samice po prvním porodu

- všechna mlád'ata odejmuta na dobu 1h
- poté 3 mlád'ata vrácena, každé do jiného rohu
- N = 6 / 10 (□/•)



A) Samice nullipary

- 2 dny po sobě expozice 3 mládřatům na dobu 30 min
- hodnocení 2.den
- N = 14 / 14 (□/▪)

B) Samci

- 4 dny po sobě expozice 3 mládřatům na dobu 20 min
- hodnocení 4.den
- N = 10 / 14 (□/▪)



Pergamon

Child Abuse & Neglect, Vol. 21, No. 3, pp. 245–246, 1997
Copyright © 1997 Elsevier Science Ltd
Printed in the USA. All rights reserved
0145-2134/97 \$17.00 + .00

PII S0145-2134(96)00160-3

EDITORIAL

SUPPOSE IT WERE A GENETIC DISORDER?

RICHARD D. KRUGMAN

Department of Pediatrics, University of Colorado School of Medicine, Denver, CO, USA

PERIODICALLY OVER THE last several years, a number of us have speculated about what would happen if the problem of child abuse and neglect turned out to be a genetic disorder. The thought was scoffed at by those who know it is a “social” problem, but the thought (wish?) that there might be a genetic basis to child abuse and neglect still smolders. A recent article published in the July 26, 1996 issue of *Cell* has fanned the embers—so much so that serious consideration should now be given to funding basic genetic and neuroscience studies on the problem.

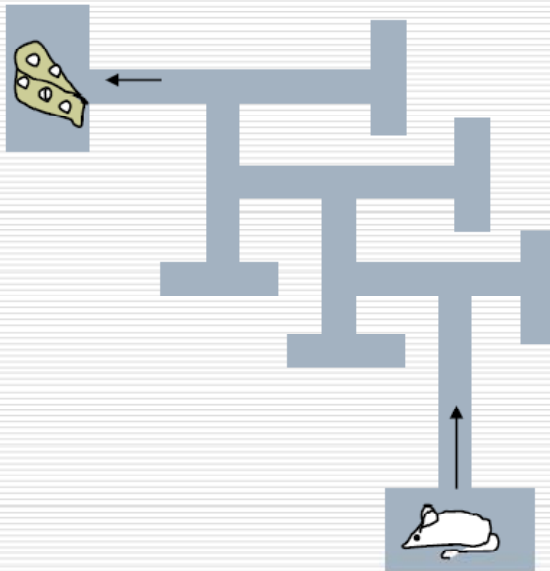
The authors of “A Defect in Nurturing in Mice Lacking the Immediate Early Gene *fosB*”

KRYSA (*Rattus rattus*)

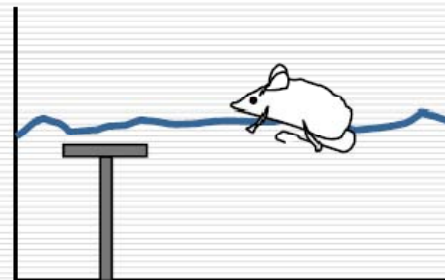
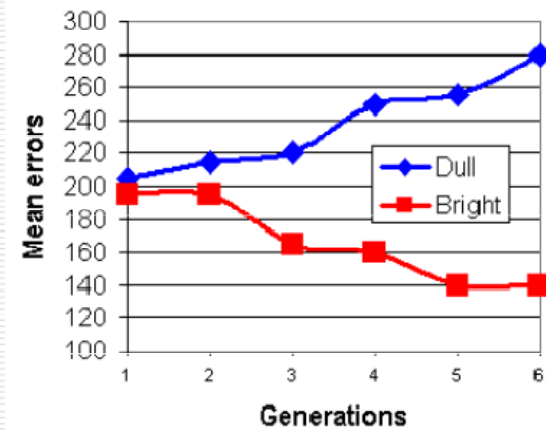


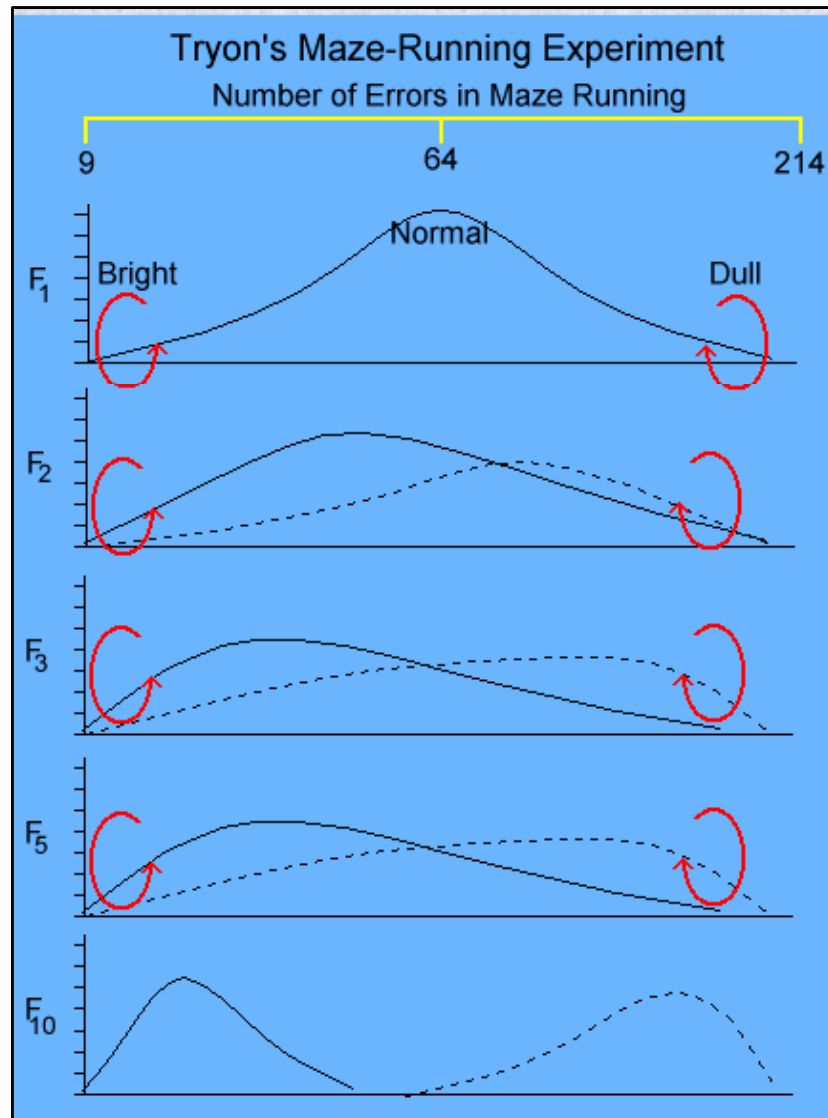
Krasy - učenlivost orientace v bludišti

E.C. Tolman, 1924, R.C. Tryon, 1942



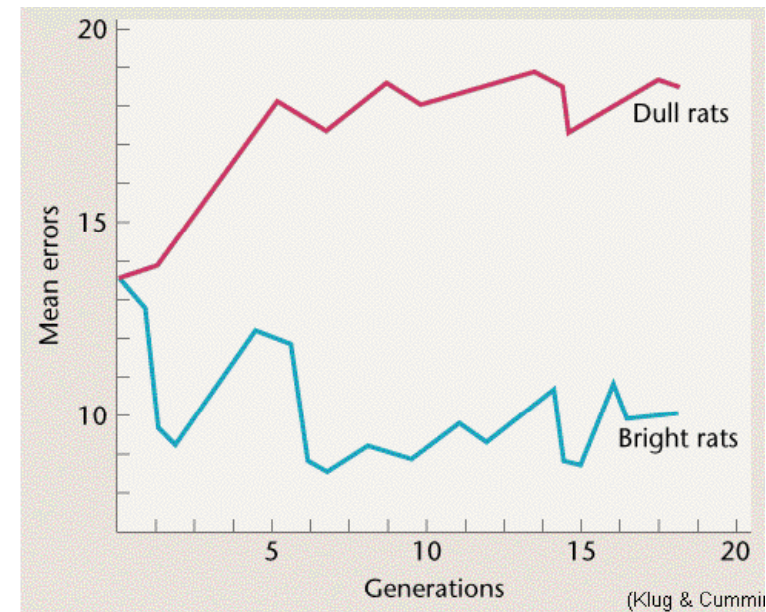
Development of Maze Learning Behaviour through Selective Breeding





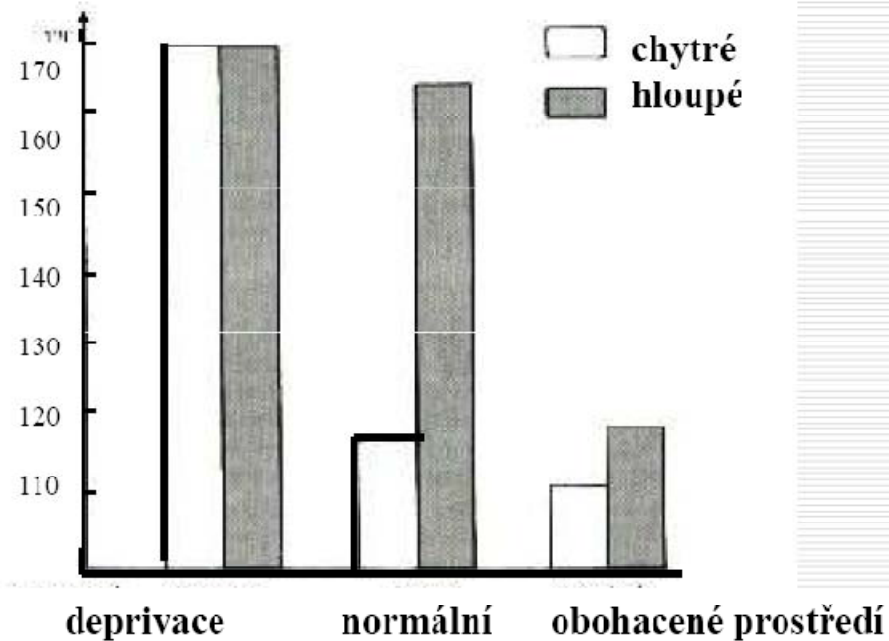
Selekcje 2 kmenů:

- **TMB**
(Tryon Maze Bright)
- **TMD**
(Tryon Maze Dull)

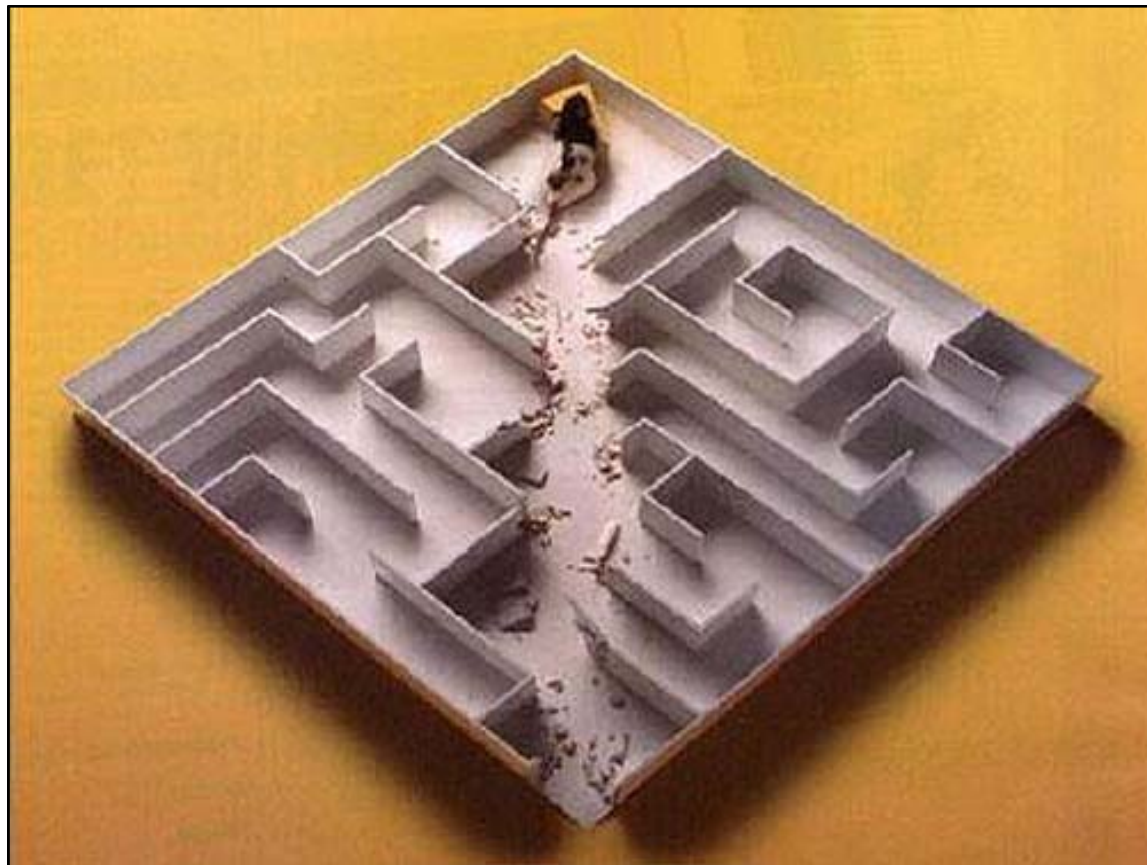


„Chytré“ a „hloupé“ krysy chované v různém prostředí - výsledky testů v bludišti

chyby v pokusu



Nejchytřejší myš... 😊

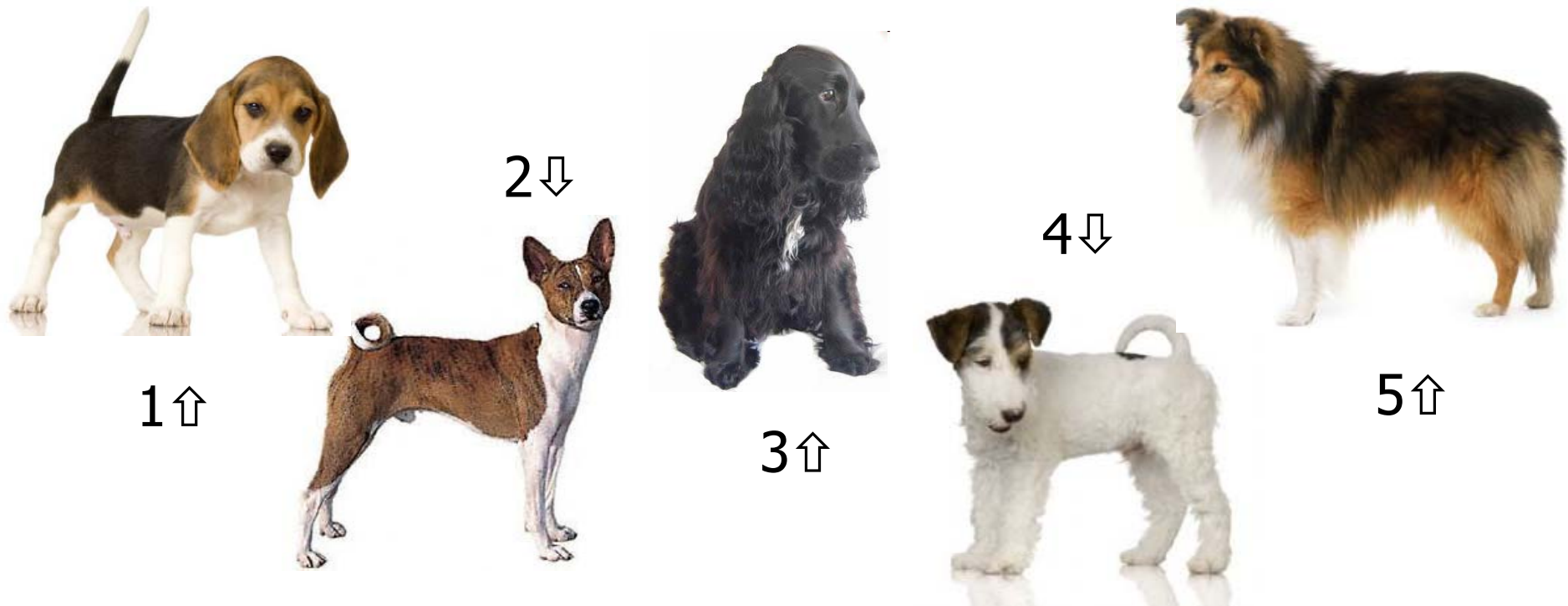


PES
(*Canis familiaris*)



Jackson Laboratory

- www.jax.org
- Scott and Fuller (1974):
Dog Behavior. The Genetic Basis.





Vybraná plemena

- 1. Beagle (Beagle)**
FCI VI. – Honiči a barváři
- 2. Basenji (Basenji)**
FCI V. – Špicové a tzv. primitivní plemena
- 3. Anglický kokršpaněl (English Cocker Spaniel)**
FCI VIII. – Slídiči, retrieveři a vodní psi
- 4. Foxterier hrubosrstý (Fox Terrier Wire)**
FCI III. – Teriéři
- 5. Sheltie (Shetland Sheepdog)**
FCI I. – plemena ovčácká, pastevecká a honácká

1) **Násilná metoda tréninku:**

- poslušnost povelů (zůstat potichu, jít u nohy na vodítku, zůstat a vyskočit na povel)
- 10 dní tréninku

- **nejlepší výsledky:** kokršpaněl

- **specifické typy chyb / chování:**

basenji - vzpírání se vodítku, tahání za vodítko, zaostávání

sheltie - překážení cvičiteli (zamotávání nohou do vodítka)

beagle - vyjadřování odporu ("they vocalized in protest")



2) Trénink s odměnou:

- štěněti se ukázal kus ryby v krabici
- štěně zůstávalo za drátěnou brankou, dokud se mu nedovolilo běžet ke krabici a sníst rybu
- měnící se poloha krabice

■ **nejlepší výsledky:** basejni



3) Řešení problému:

- 6-týdenní štěňata oddělena od krmení drátěnou překážkou, kterou bylo možné obejít
- změna velikosti a tvaru překážky, bludiště

- **nejlepší výsledky:** basejni
bludiště: beagle
- častou reakcí štěkání (nikdy ne řešení)
- na neúspěch štěňata reagovala spánkem



4) Interakce genotypu a zkušenosti:

- psi byli chováni v izolaci a přicházeli do kontaktu pouze s tolerantními nebo přísnými lidmi
- pes dostal misku s krmením, po přiblížení se ho člověk udeřil, aby se pes polekal
- poté pes zůstal s plnou miskou krmení o samotě

- basenji: pes vždy sežral krmení
- sheltie: pes se nikdy krmení nedotkl
- beagle: přísně vedení psi sežrali krmení, tolerantně vedení ne



Anglický kokršpaněl:

- asociace agresivního chování s geny pro barvu srsti
- **zlatý > černý > ostatní**

