



MASARYKOVA UNIVERZITA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA



ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BIOLOGIE

Oddělení fyziologie a imunologie živočichů

Studijní směr Experimentální biologie živočichů

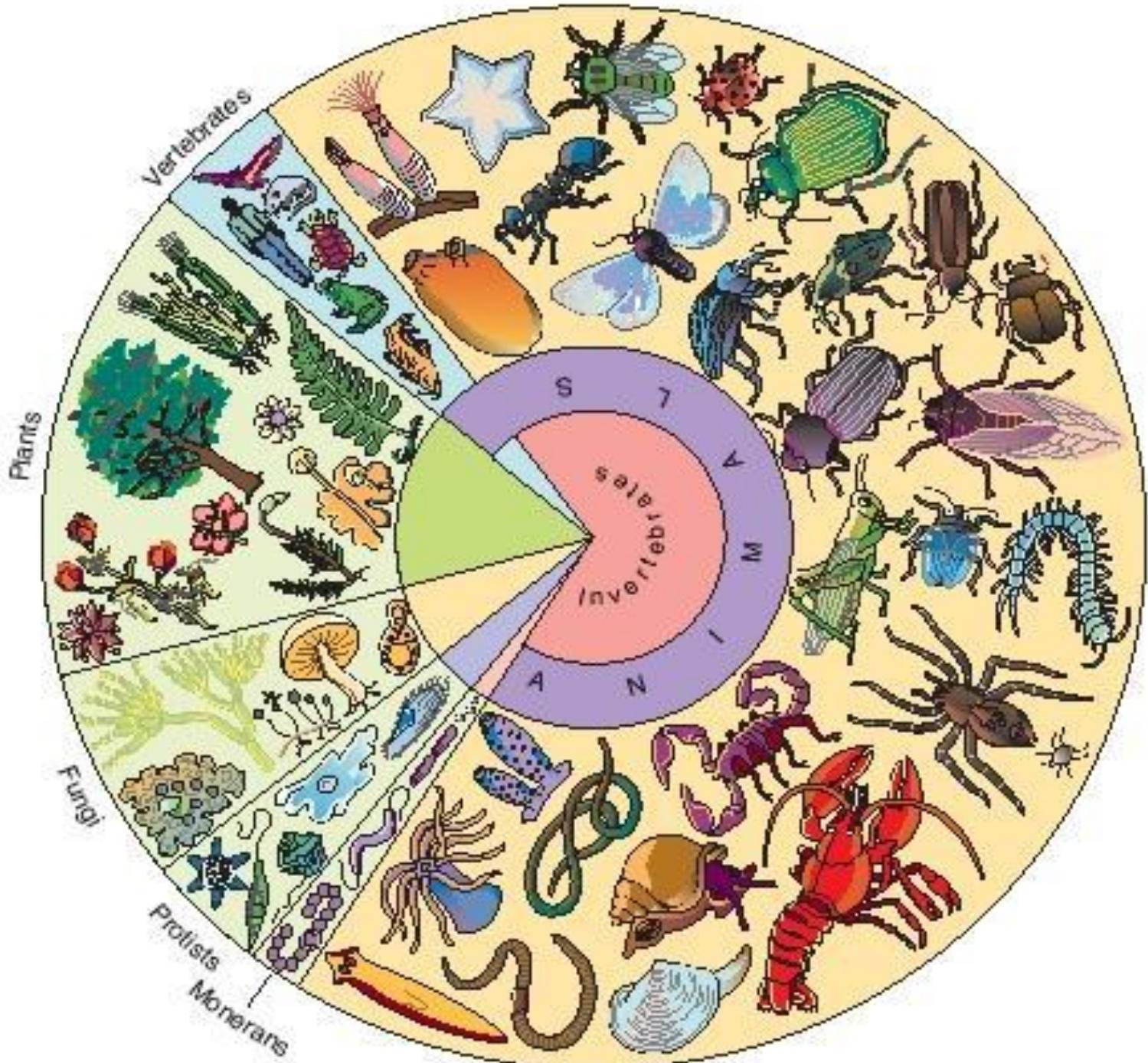
www.sci.muni.cz/ofiz

Imunita hmyzu

Srovnávací imunologie



RNDr. Pavel Hyršl, Ph.D.



Bezobratlí:

- 96 % živočišných druhů
- málo zkoumaná skupina
- důležitost výzkumu – paraziti obratlovců, poznáním mechanismů můžeme získat „biological control“ nad škůdci, význam pro zlepšení chovů komerčně využívaných bezobratlých, monitorování životního prostředí, objasnění evolučních základů imunitního systému obratlovců, možnost objevu imunoreaktivních molekul pro humánní medicínu

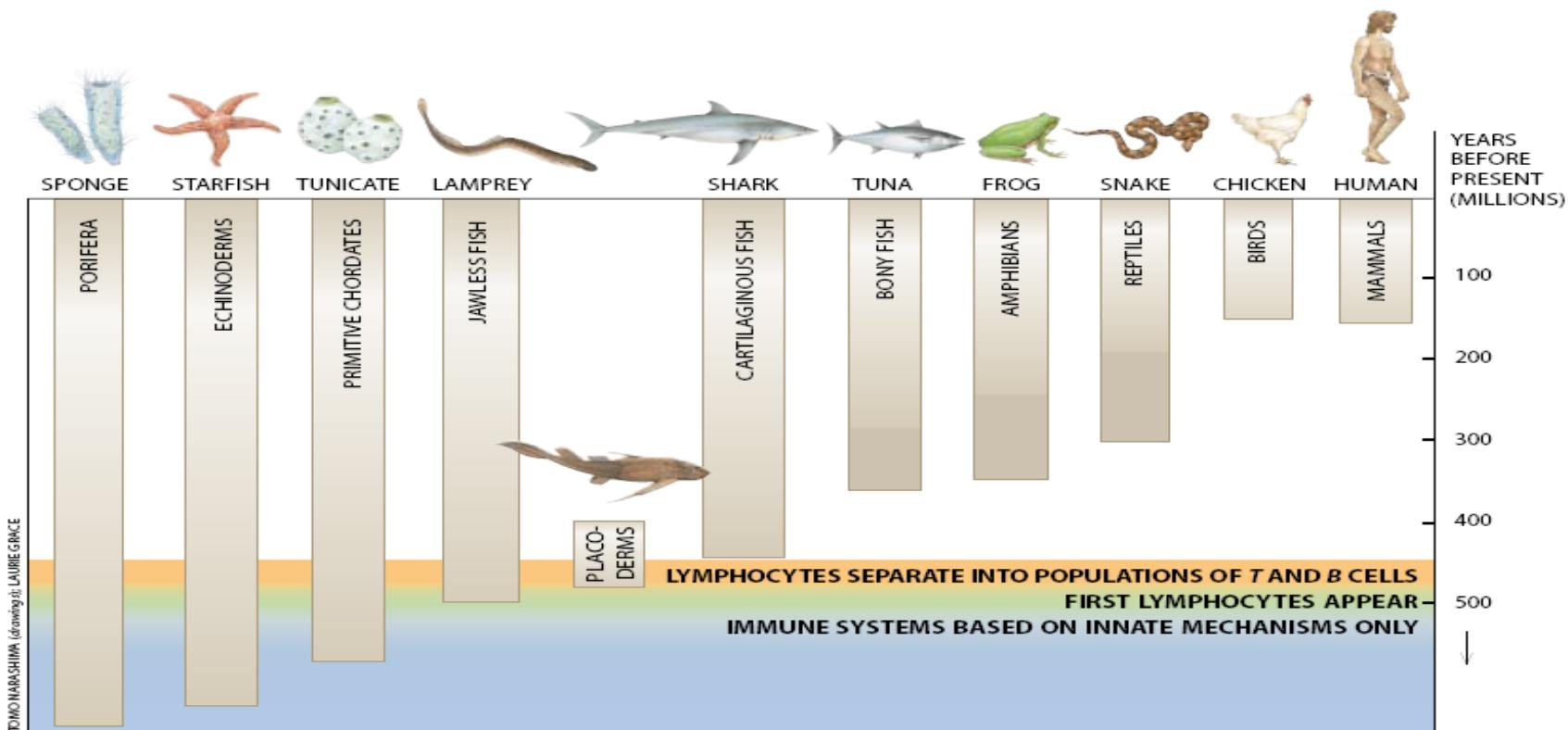
Nespecifická imunita

Nespecifické imunitní mechanismy (též **vrozené**, **přirozené**, **neadaptivní**) jsou vrozené. To znamená, že veškeré potřebné informace jsou neměnně zapsány v **DNA** a přitomny už v **zygotě**. Nespecifická imunita odpovídá po každém setkání s „antigenem“ stejnými mechanismy, nemá **paměť**.

Tvoří ji především složky komplementu a fagocyty. Není zaměřena na likvidaci specifického antigenu, ale za to je velmi pohotová. Buňky se nachází neustále v krvi, takže aktivace je v případě potřeby takřka okamžitá (minuty až hodiny).

Evolučně je starší (u všech mnohobuněčných organismů v různé míře), než **specifická imunita**. Skládá se ze složky buněčné a humorální.

Do této skupiny se řadí i **bariérové funkce těla**, tj. kůži, sliznice aj. (obecně struktury zahrnující proniknutí cizorodých částic do organizmu).



Imunitní systém hmyzu

BUNĚČNÁ IMUNITA

- pohyblivé krevní buňky (hemocyty) – počet a aktivita hemocytů je modulována humorálními faktory a neuroendokrinním systémem



- fagocytóza
- nodulace
- enkapsulace
- koagulace

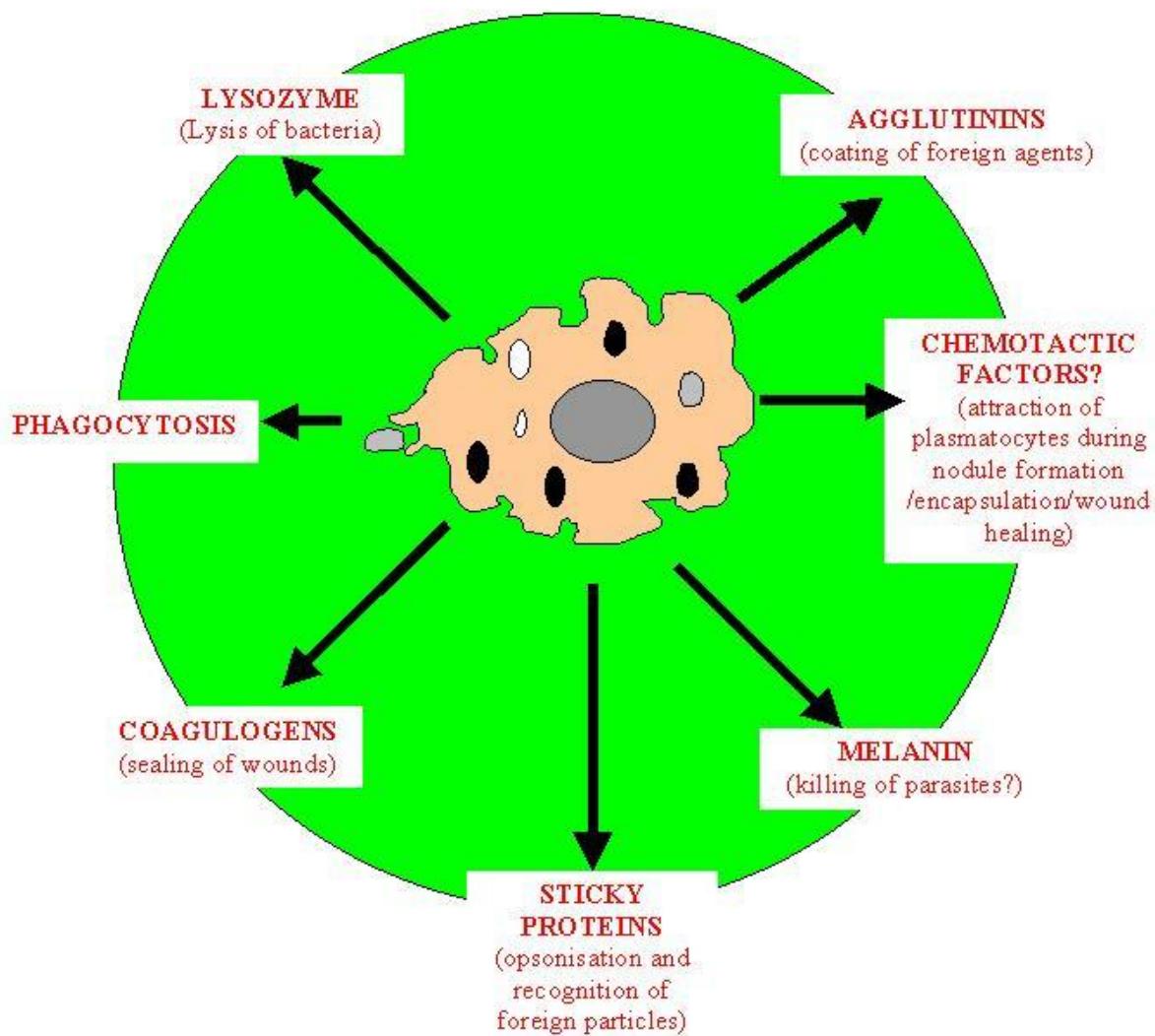
HUMORÁLNÍ IMUNITA

- molekuly v hemolymfě
- antigenem indukované antibakteriální a regulační faktory



- koagulační kaskáda
- fenoloxidázová kaskáda
- aglutininy
- antimikrobiální faktory (hemolin, lektiny)
- baktericidní peptidy
- lysozym

Figure 5: Diagram of an insect granular cell emphasizing its multifunctional role.



Bombyx mori (Lepidoptera, Bombycidae)

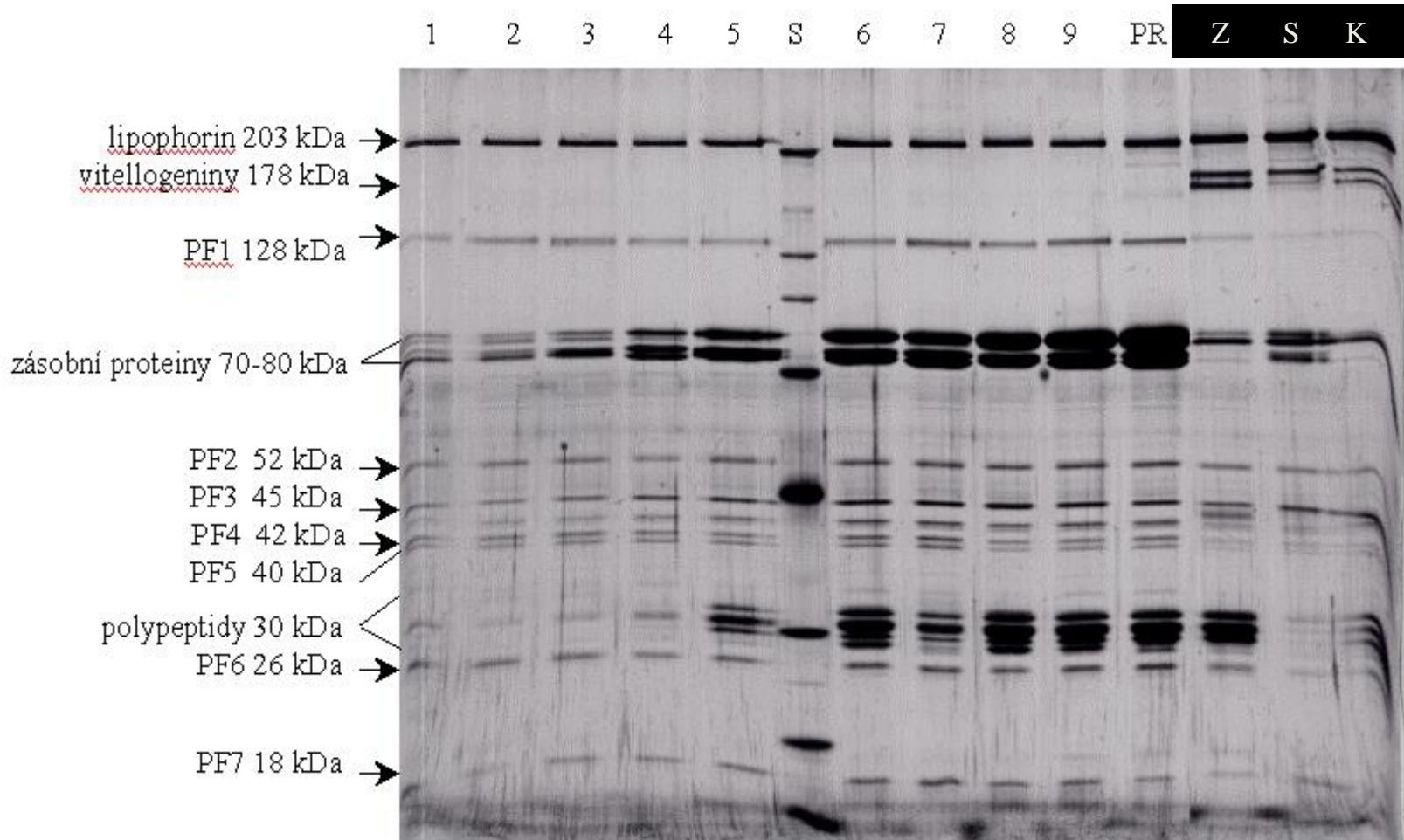
bulharský monovoltinní hybrid AS x KK



Bombyx mori – samice

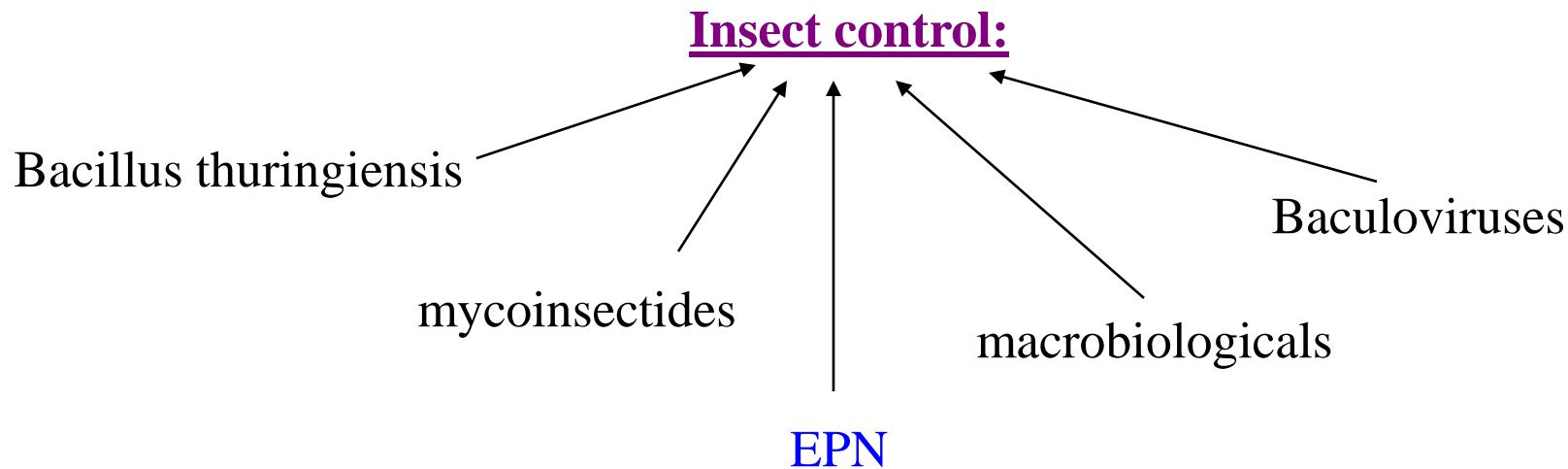
S – standard; 1. - 9. den V. instaru; PR – prepupa 1. den;

Z – kukla začátek; S – kukla střed; K – kukla konec.



Galleria mellonella (Lepidoptera, Pyralidae)





nema-green®



Gegen
Engerlinge!

- schützt den Rasen vor Zerstörung durch Engerlinge des Gartenlaubkäfers
- wird seit vielen Jahren erfolgreich auf Sportrasen eingesetzt
- wird einfach in Wasser eingerührt und mit der Gießkanne verteilt
- Anwendungszeitraum: Juli-September

nema-green® 50:
50 Mio. Nützlinge für 100 qm, 6 Wochen haltbar bei Kühl Lagerung
zwischen +4°C und +12°C



nematop®



Gegen
Dickmaulrüssler!

- schützt Rhododendren, Eiben, Liguster, Rosen und andere Pflanzen
- hat sich seit Jahren in Baumschulen bewährt
- wirkt ausschließlich gegen Käferlarven im Boden
- wird einfach in Wasser eingerührt und mit der Gießkanne verteilt
- Anwendungszeitraum: April-Mai und August-September

nematop® 10:
10 Mio. Nützlinge für 20 qm, 6 Wochen haltbar bei Kühl Lagerung
zwischen +4°C und +12°C

Entomopatogenní hlístovky (EPN)

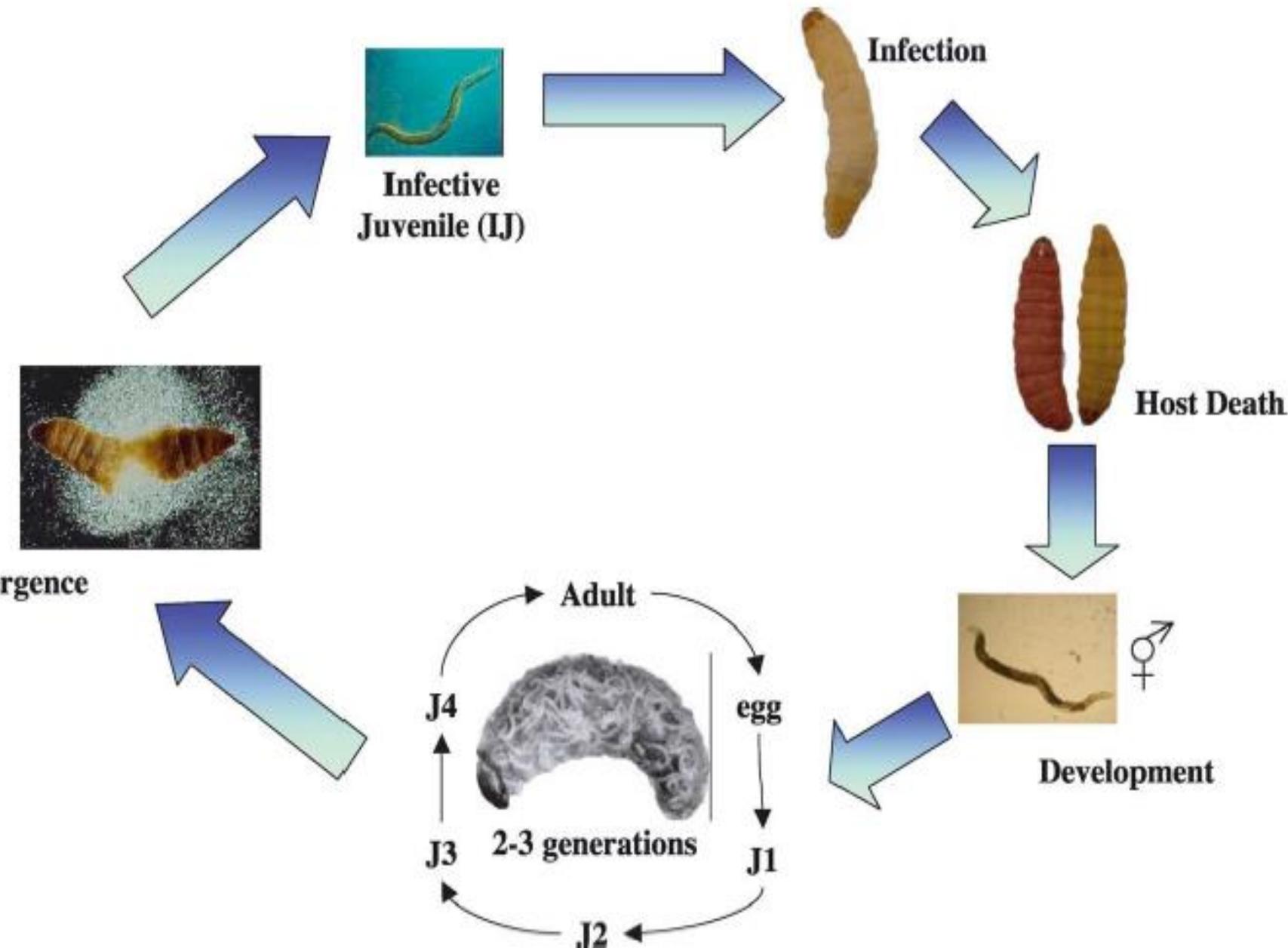
třída: Nematoda (Nematoda)

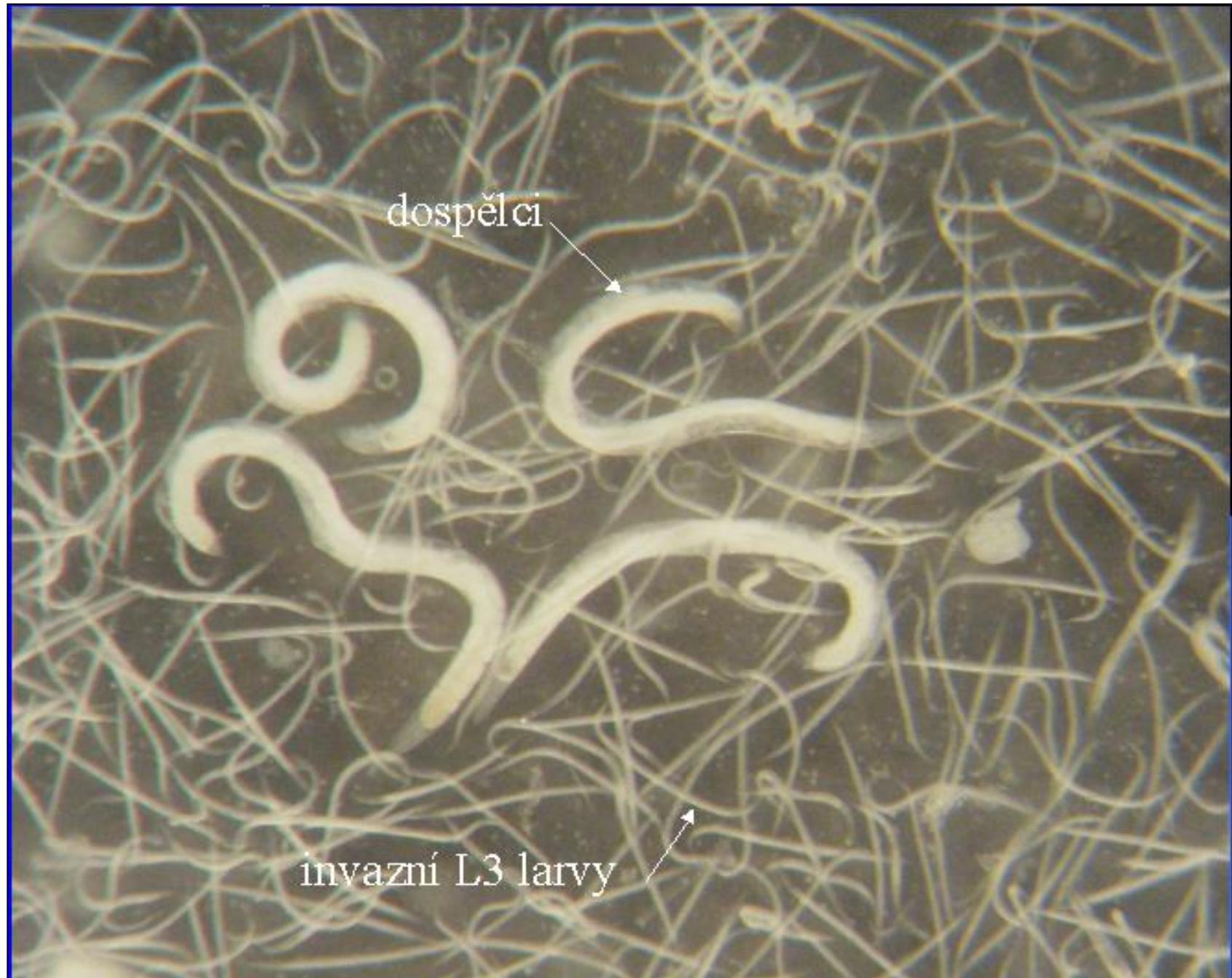
řád: Hád'ata (Anguilata)

čeled': *Steinernematidae*

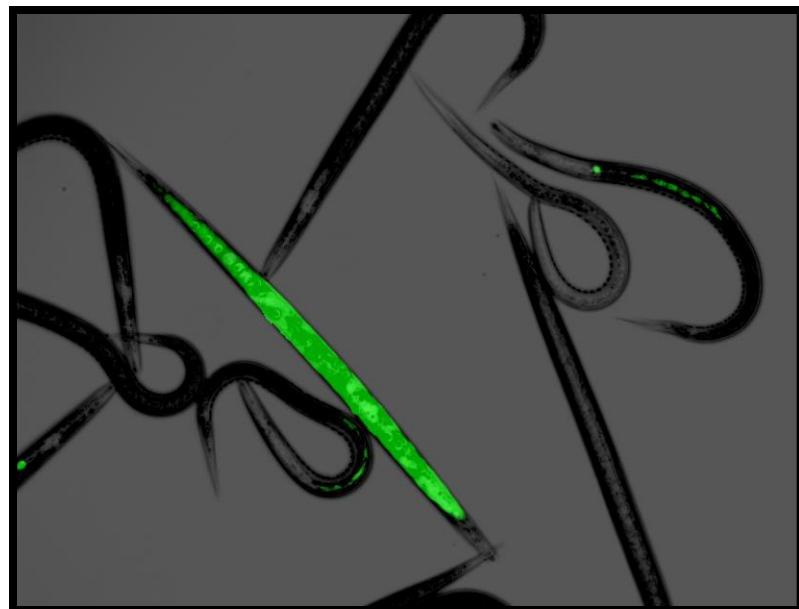
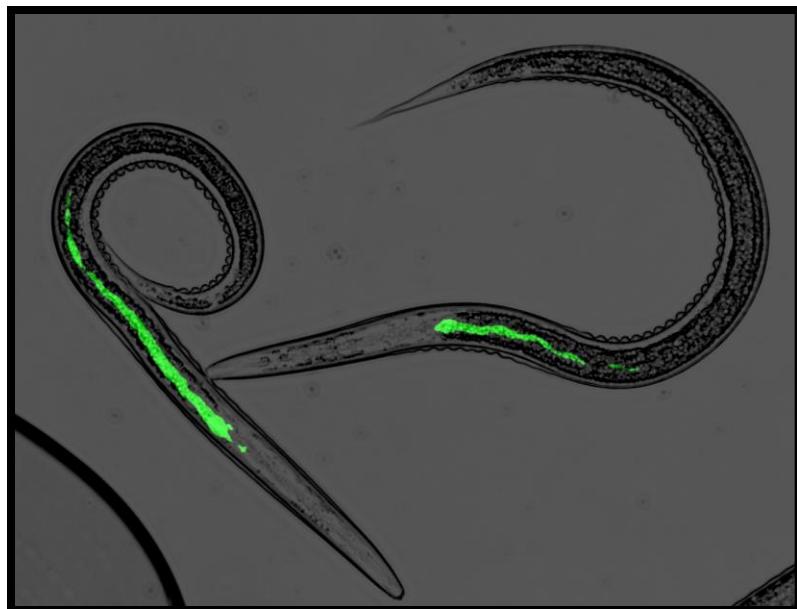
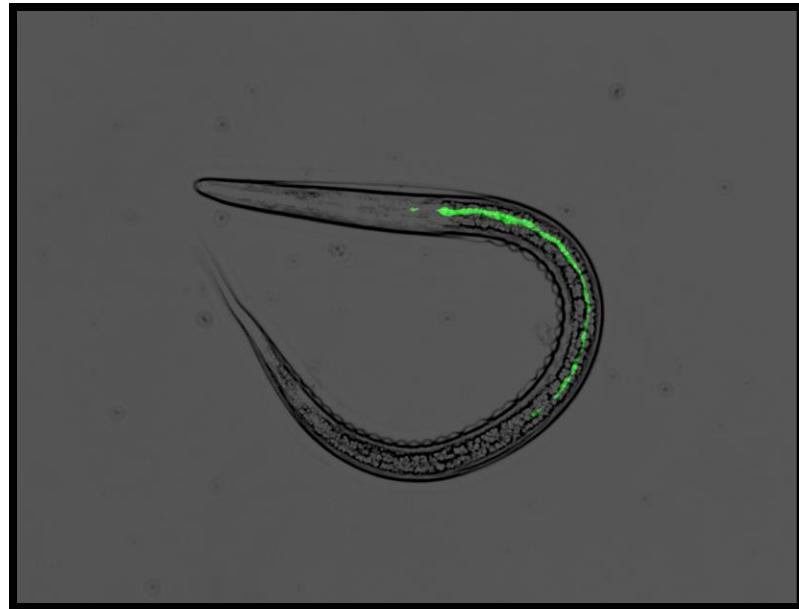
Heterorhabditidae

- vyskytují se volně v půdě
- selektivita - výhradně entomopatogenní
- nízké teplotní optimum - do 20°C
- využívají se jako prostředek biologického boje



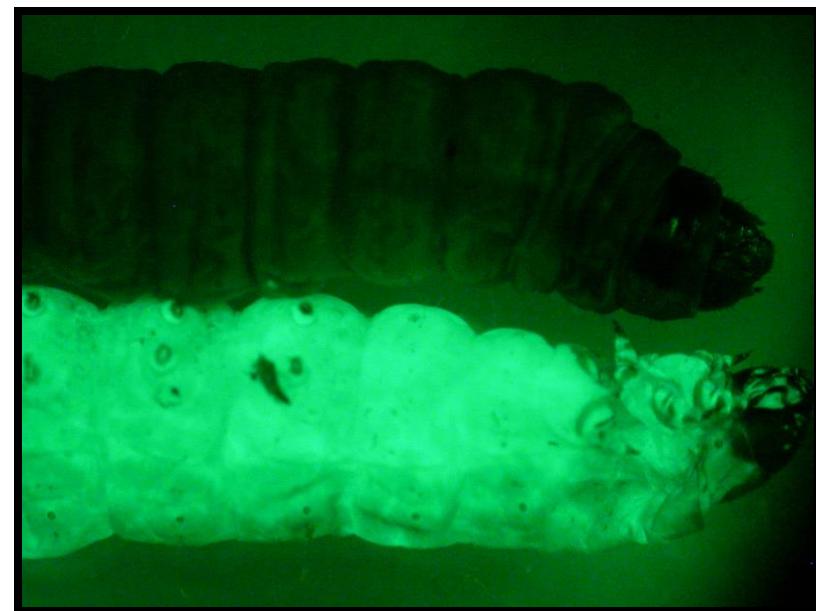
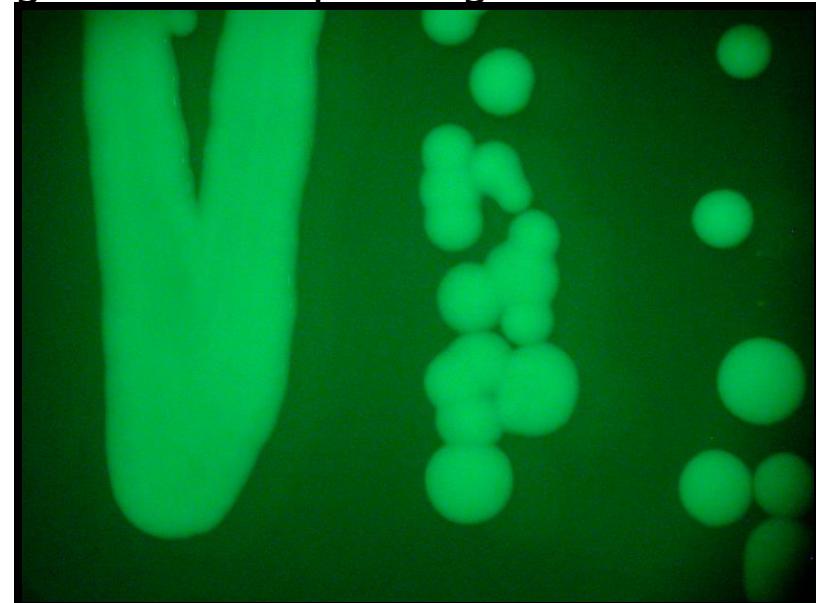


Heterorhabditis bacteriophora + *P. luminescens* TT01



P. luminescens - GFP

- natural symbiont of *H.b.* was changed to GFP expressing bacteria



Report

Nematodes, Bacteria, and Flies: A Tripartite Model for Nematode Parasitism

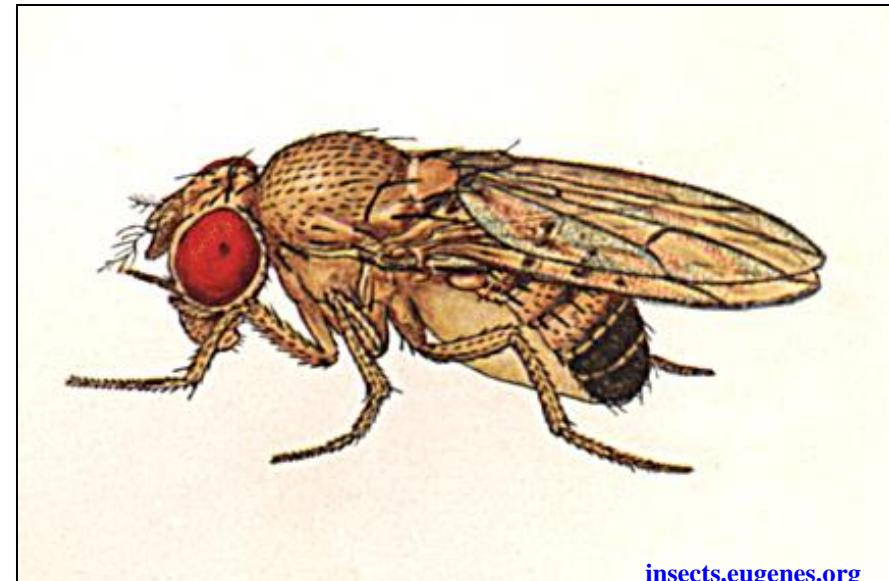
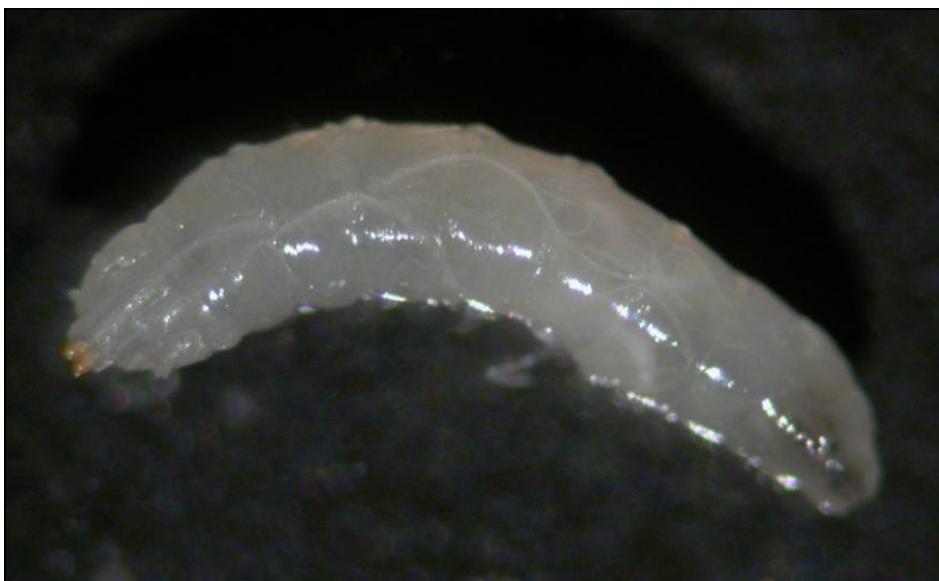
Elissa A. Hallem,¹ Michelle Rengarajan,^{1,2}
Todd A. Ciche,^{1,3} and Paul W. Sternberg^{1,*}

¹Howard Hughes Medical Institute

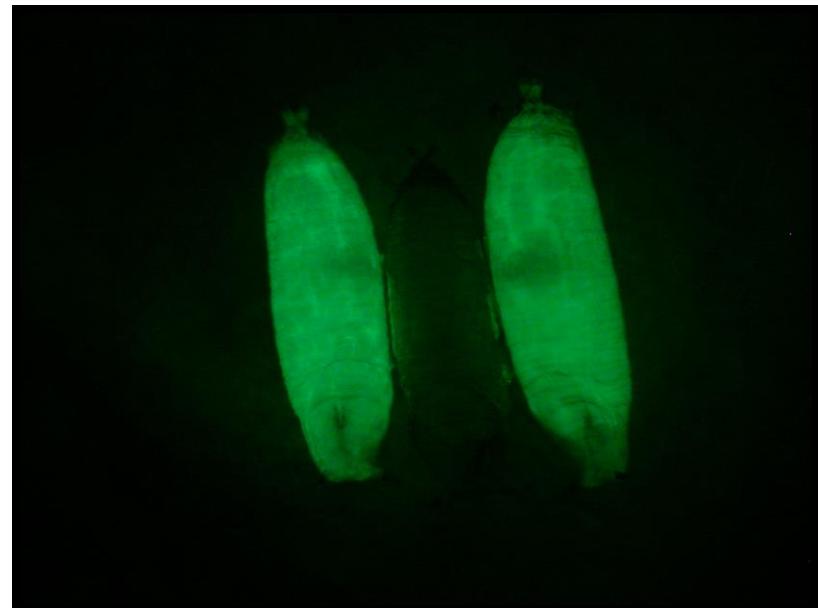
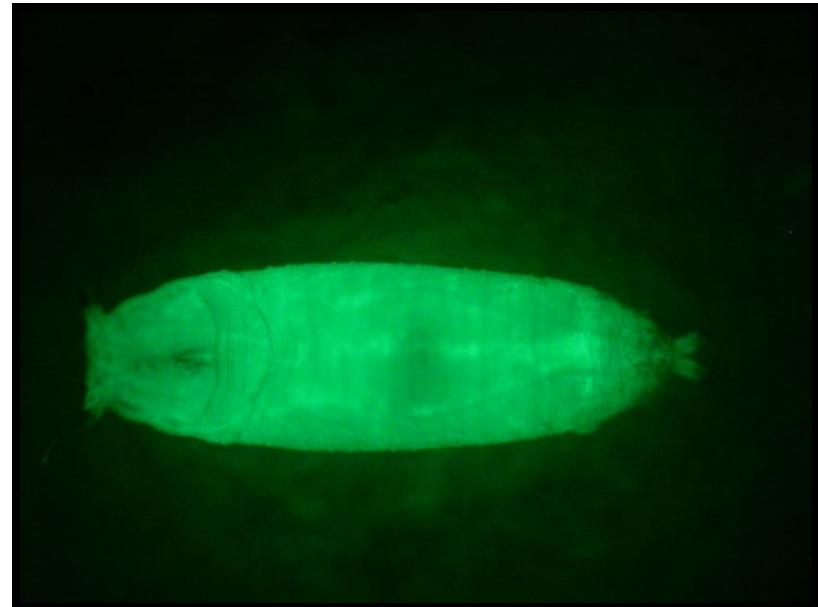
Division of Biology

California Institute of Technology

Pasadena, California 91125



Heterorhabditis bacteriophora + TT01 + *Drosophila*



Experimentální model – modulace imunity *Drosophila*

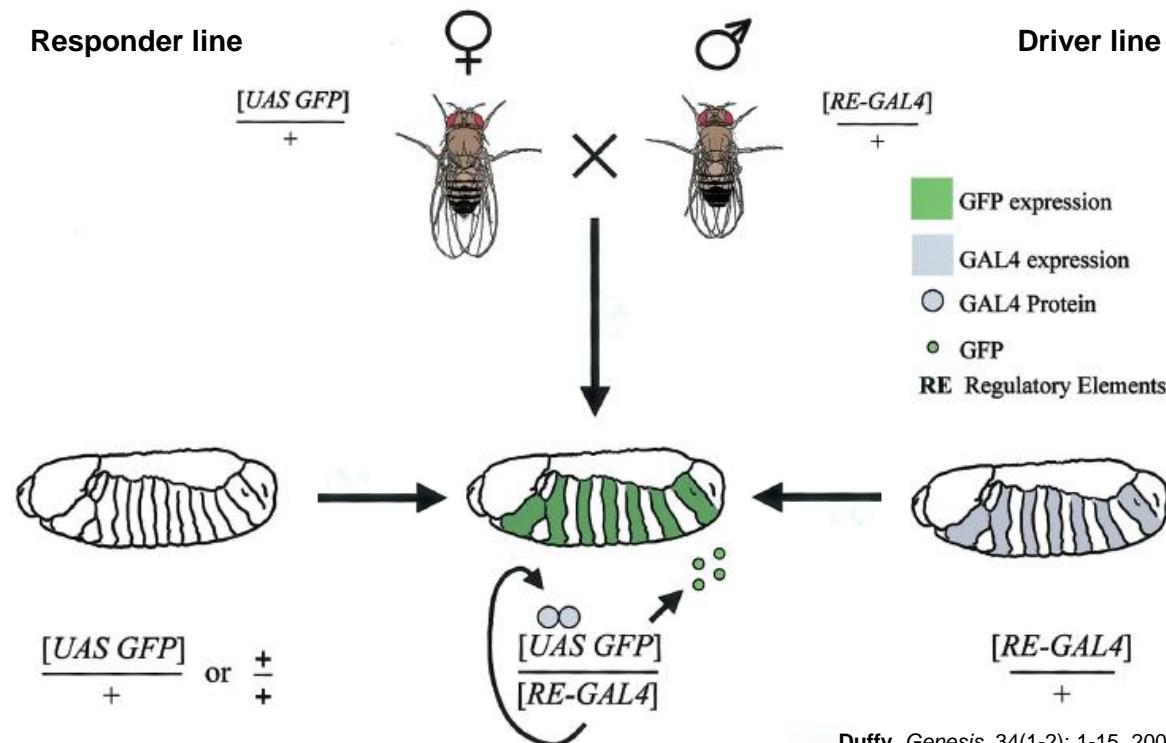
Gal4/UAS systémem řízená exprese genů

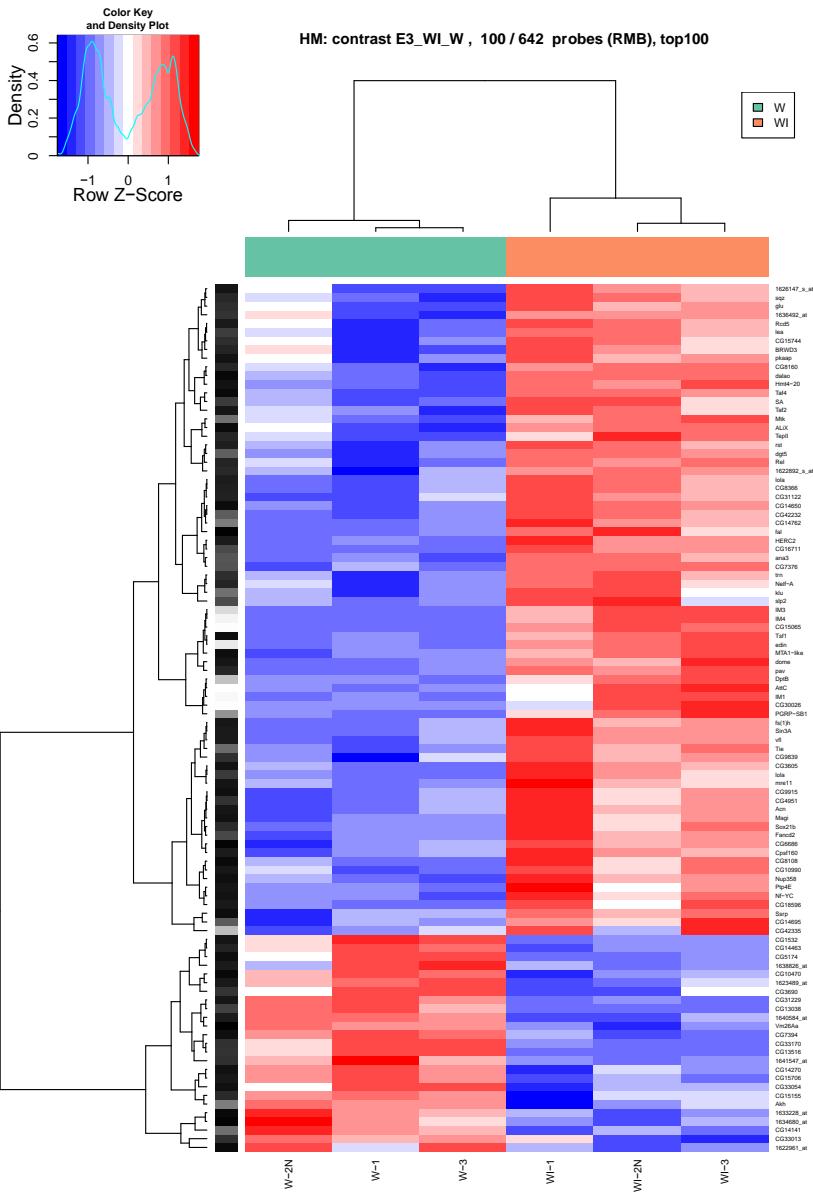
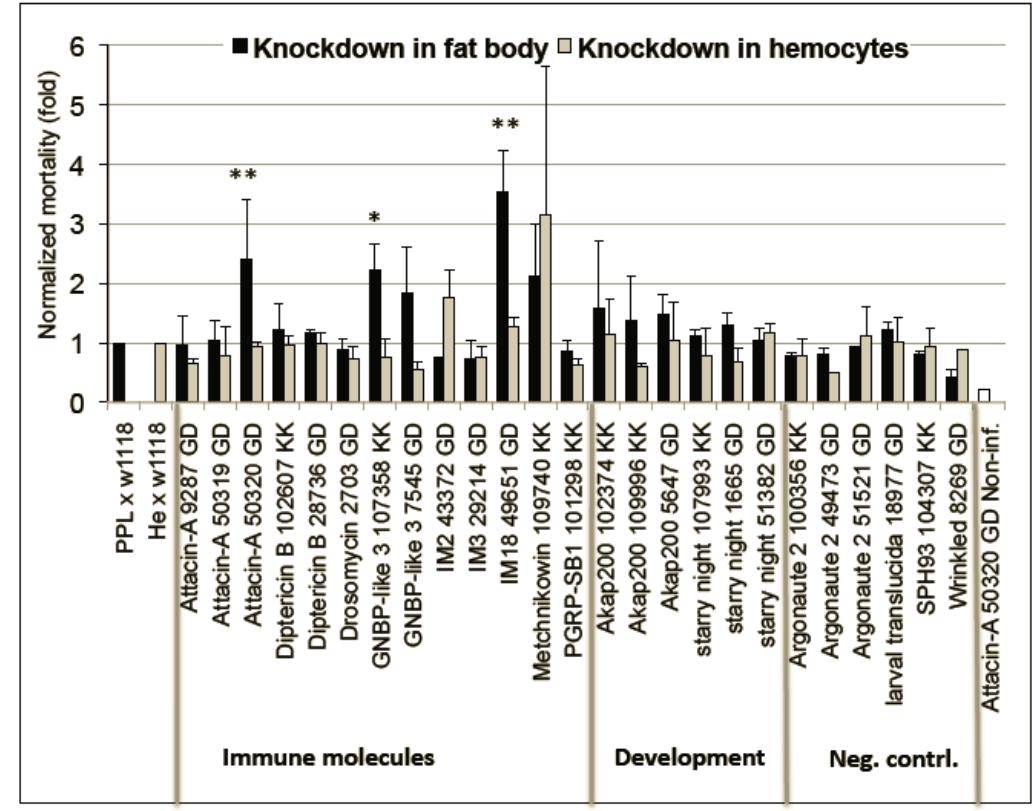
„driver line“ – specifický promotor určující místo a čas syntézy Gal4

- Gal4 – váže se na DNA a aktivuje transkripcí

„responder line“ – Upstream Activating Sequences místem pro vazbu Gal4

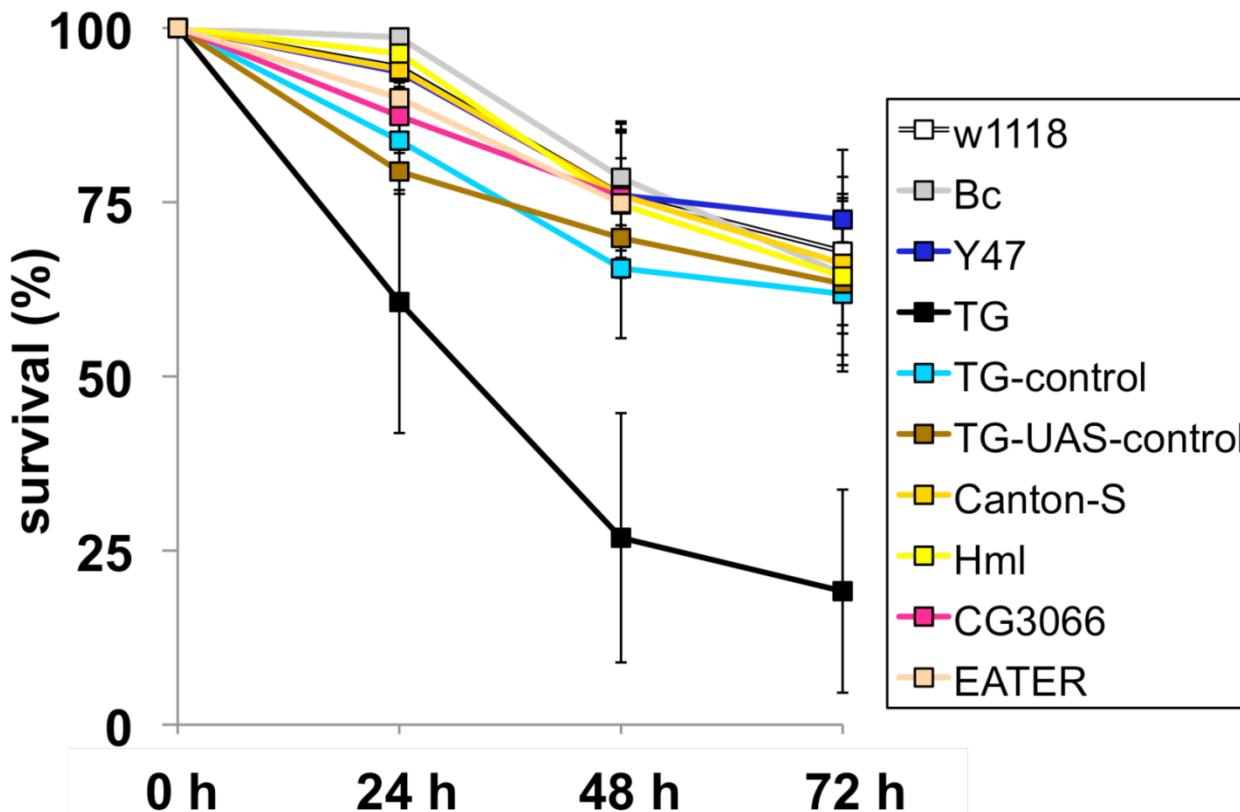
- RNAi konstrukt – jeho transkripce je pod vlivem UAS





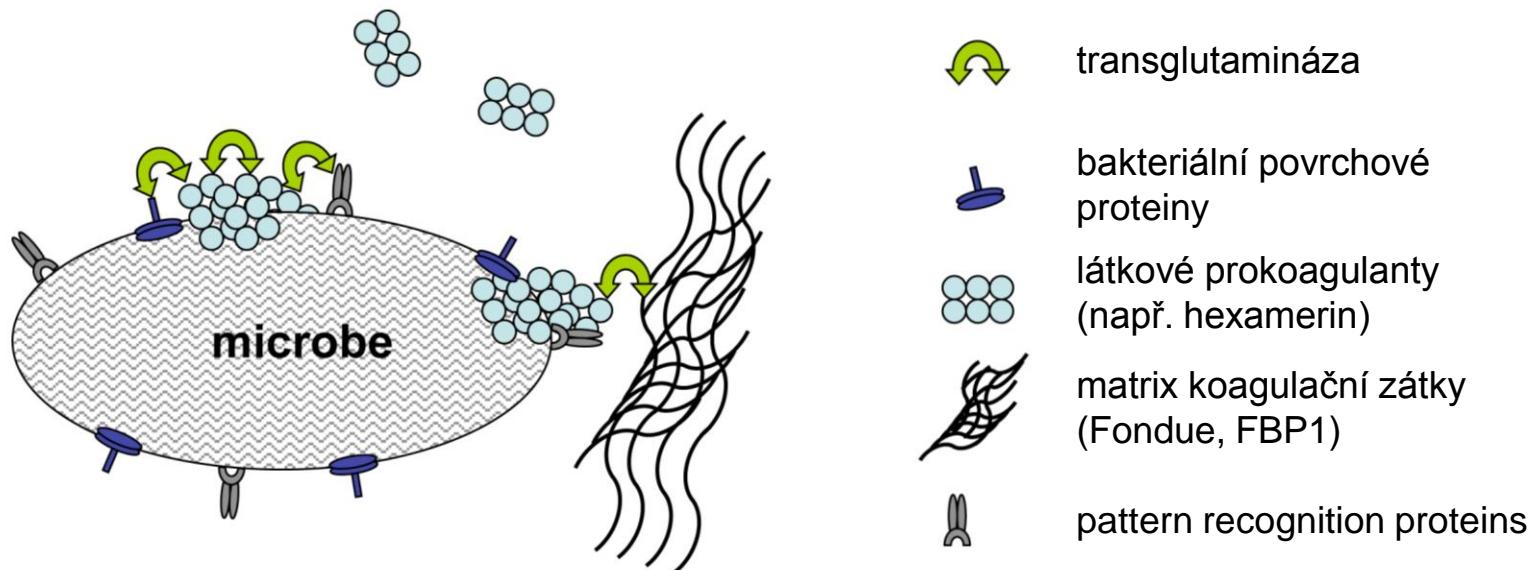
Transglutamináza má také imunitní funkci

- centrální enzym koagulační kaskády
- homolog Faktoru XIIIa obratlovců
- infekce *H. bacteriophora*, 100 IJ na larvu, 22 °C:

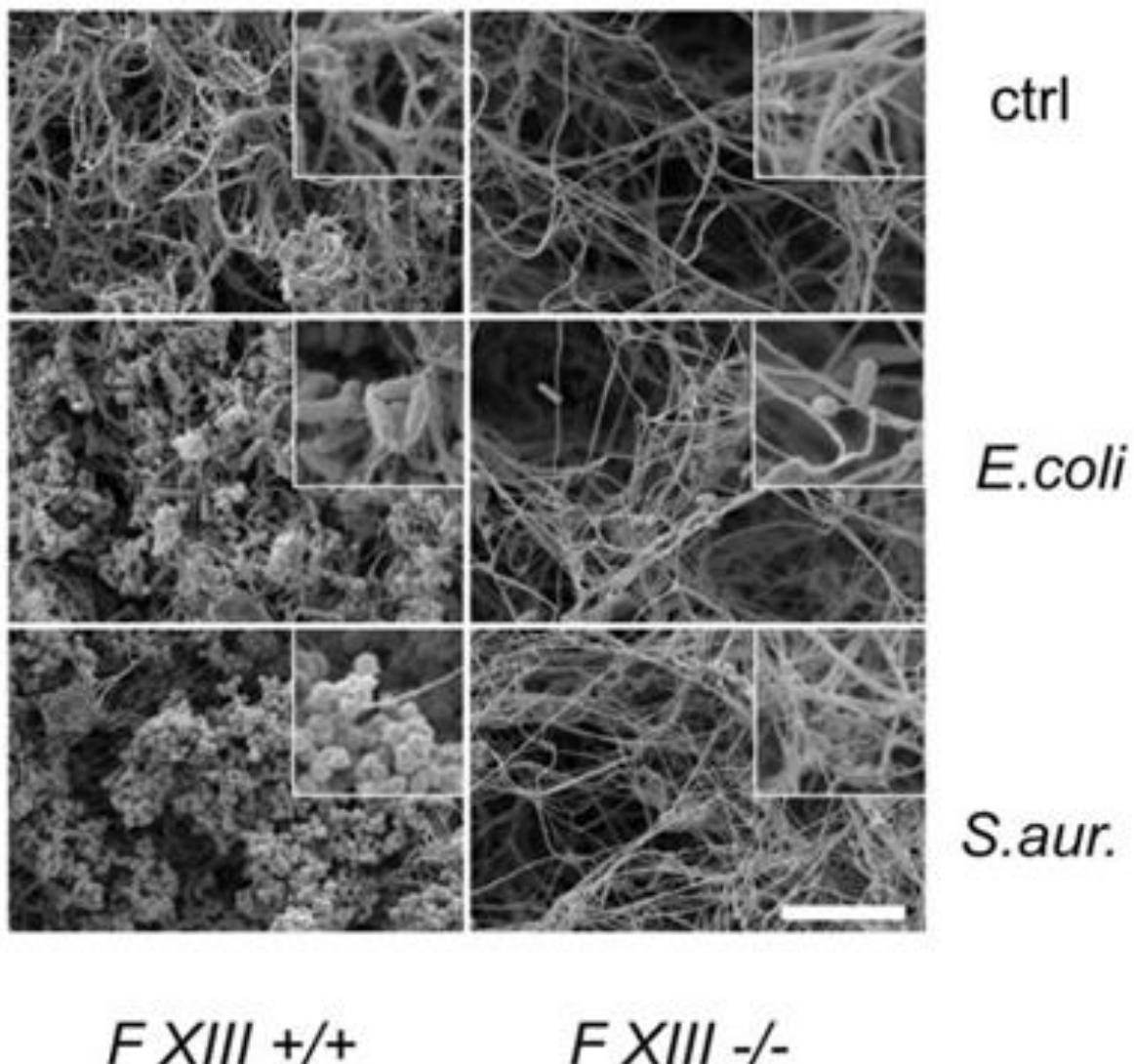


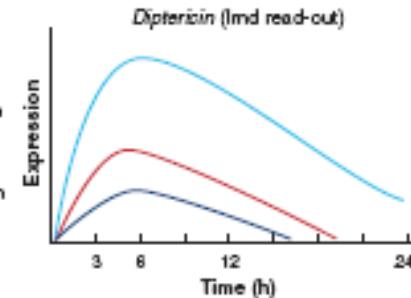
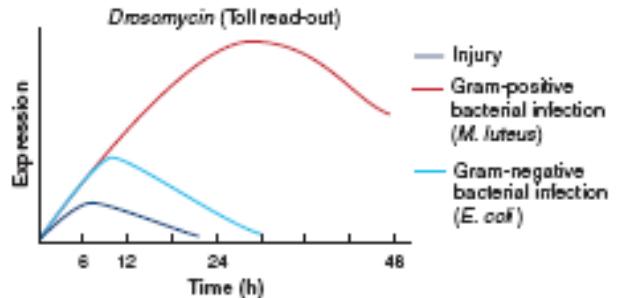
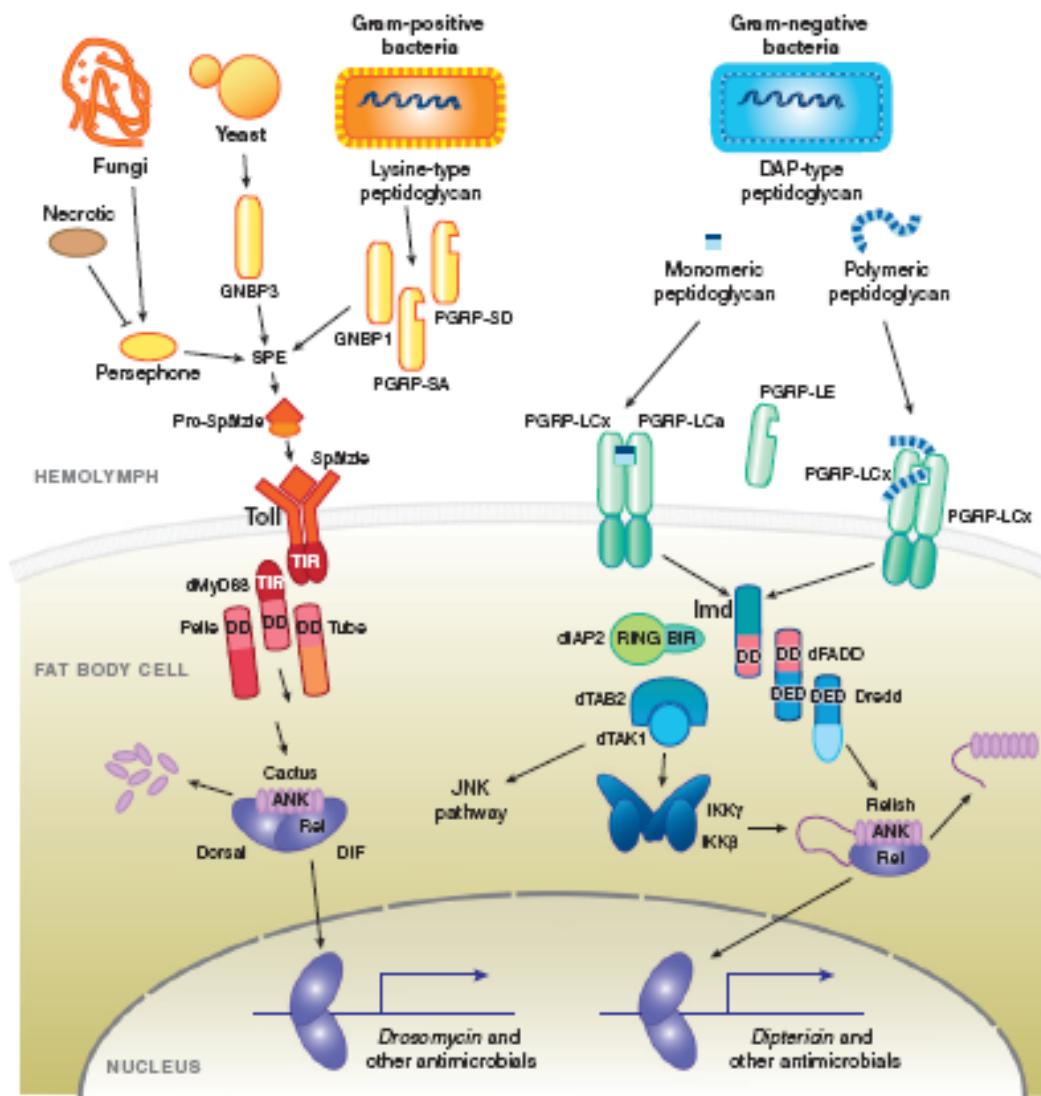
Transglutamináza má také imunitní funkci

- transglutamináza zprostředkuje zachycení baktérií prostřednictvím tvorby koagulační matrix



- deficiency Factoru XIII nebo knock-down TGovlivňuje strukturu koagulační zátky

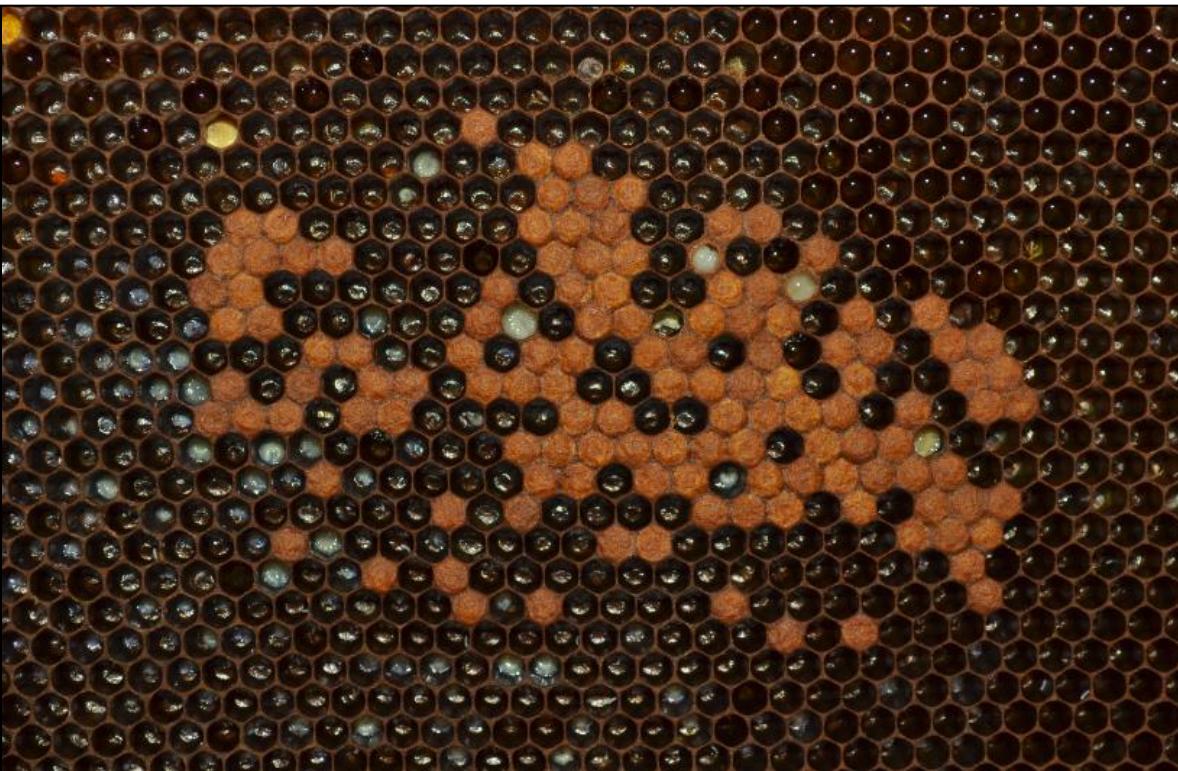




Modulace imunitních parametrů včel medonosných po působení patogenů



Projekt NAZV: Vývoj nových prostředků pro podporu imunity včel, prevenci a léčbu včelích onemocnění



Oxidační stres a antioxidační enzymy



Aktivita PO

Antibakteriální aktivita



INNATE IMMUNITY

INSECT

- lysozyme activity
- phenoloxidase assay
- protease assay (Azokol)
- H₂O₂ determination (Amplex Red)
- antioxidant activity assays (MDA, SOD, CAT, GST)
- nematode assay
- clotting assay

FISH

- complement activity
- lysozyme activity in mucus
- total Ig determination
- glucose determination
- 11-ketotestosterone assay
- oxidative burst (Luminol)

BIRDS

- complement activity
- lysozyme activity
- glucose determination
- oxidative burst (Pholasin)
- TRAP

• antioxidant activity assays?

- microscopy
- total proteins
- electrophoresis
- lysozyme activity
- antibacterial activity

- complement activity
- oxidative burst
- glucose determination

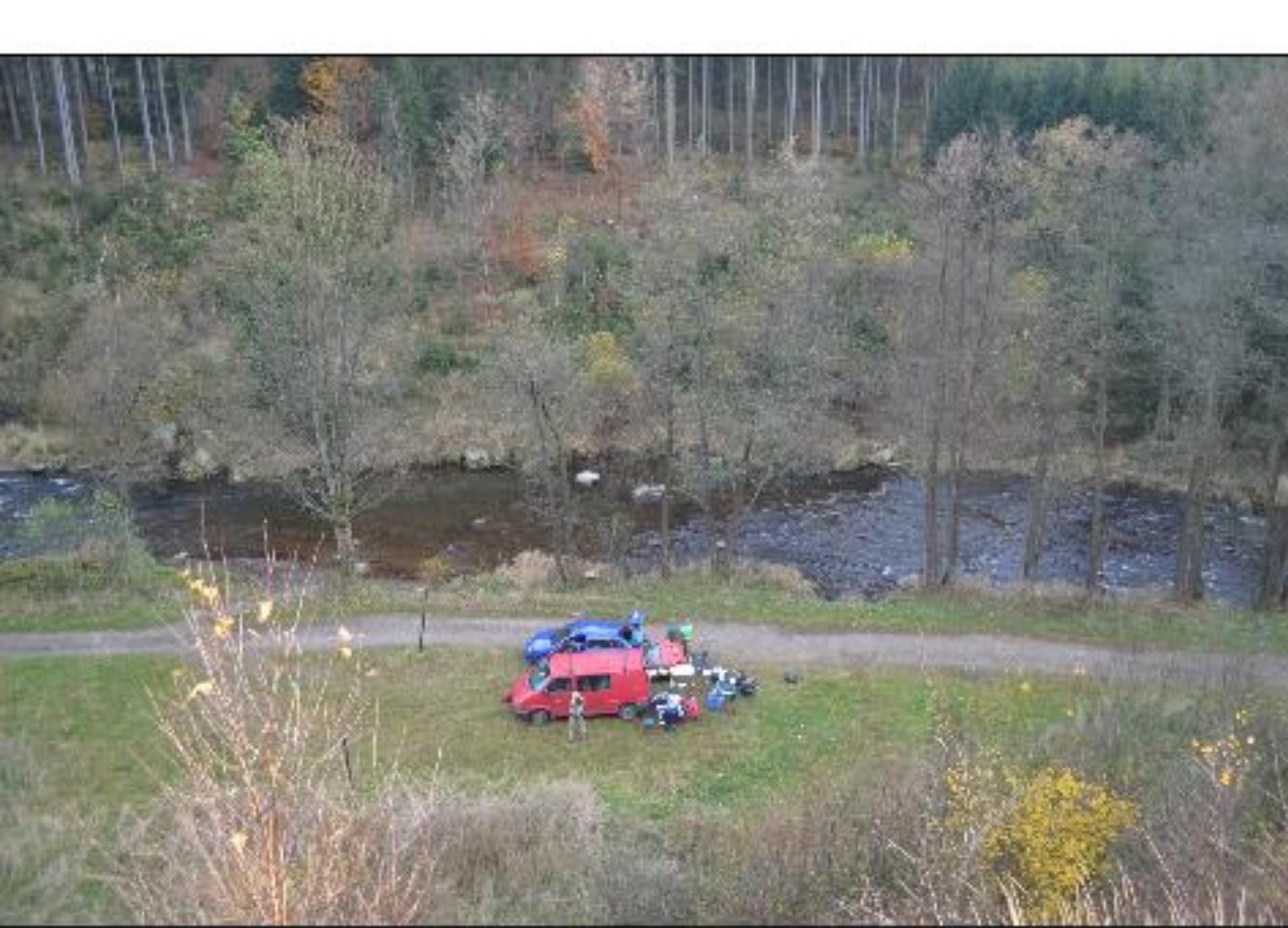
Komplement

- bezobratlí mají complement like molecules
- soubor 30 sérových termolabilních proteinů
- C3 je klíčová složka – je u všech obratlovců
- kaskádovitá alternativní nebo klasická (IgG, IgM) cesta aktivace, popsána i lektinová
- žraloci – šest složek, tři z toho funkčně kompatibilní se savčími (C1, C8, C9), od kostnatých ryb v podstatě stejný jako u savců funkčně i strukturně včetně opsonizační aktivity
- klasickou cestu aktivace komplementu blokuje C1 inhibitor, který inhibuje aktivaci C1 proteinu a štěpení dalších C4 a C2 proteinů
- přímá lýza patogenních buněk pomocí membránu atakujícího komplexu (MAC - membrane attack complex).





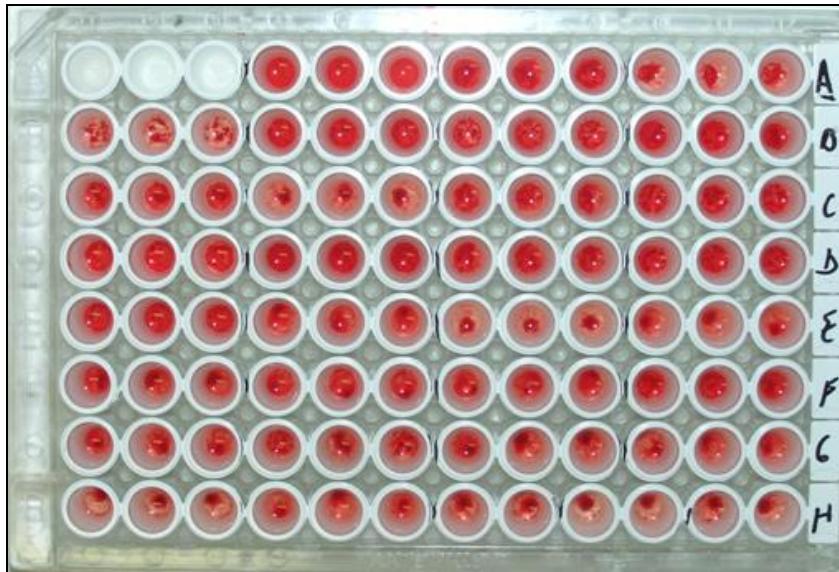




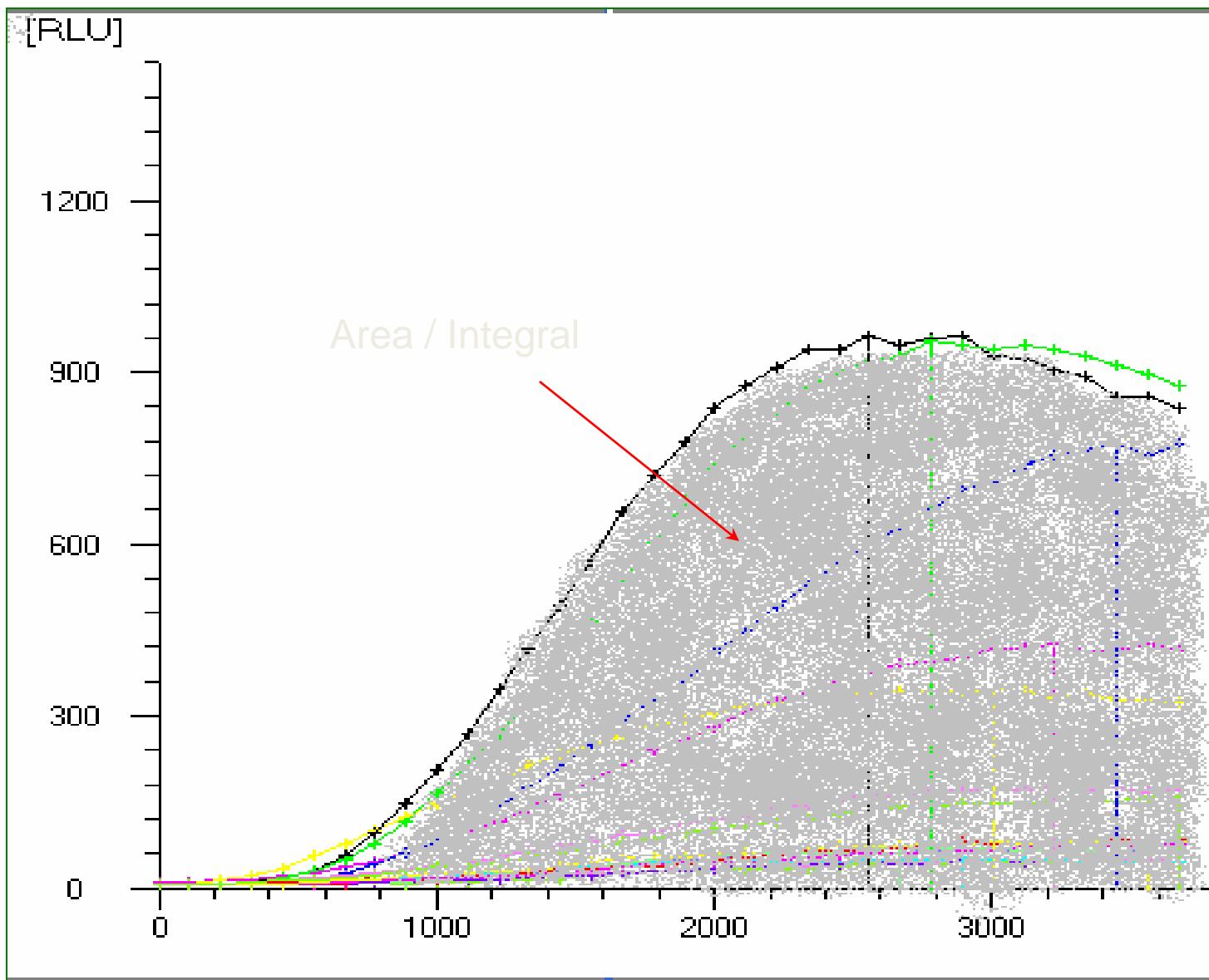


Měření:

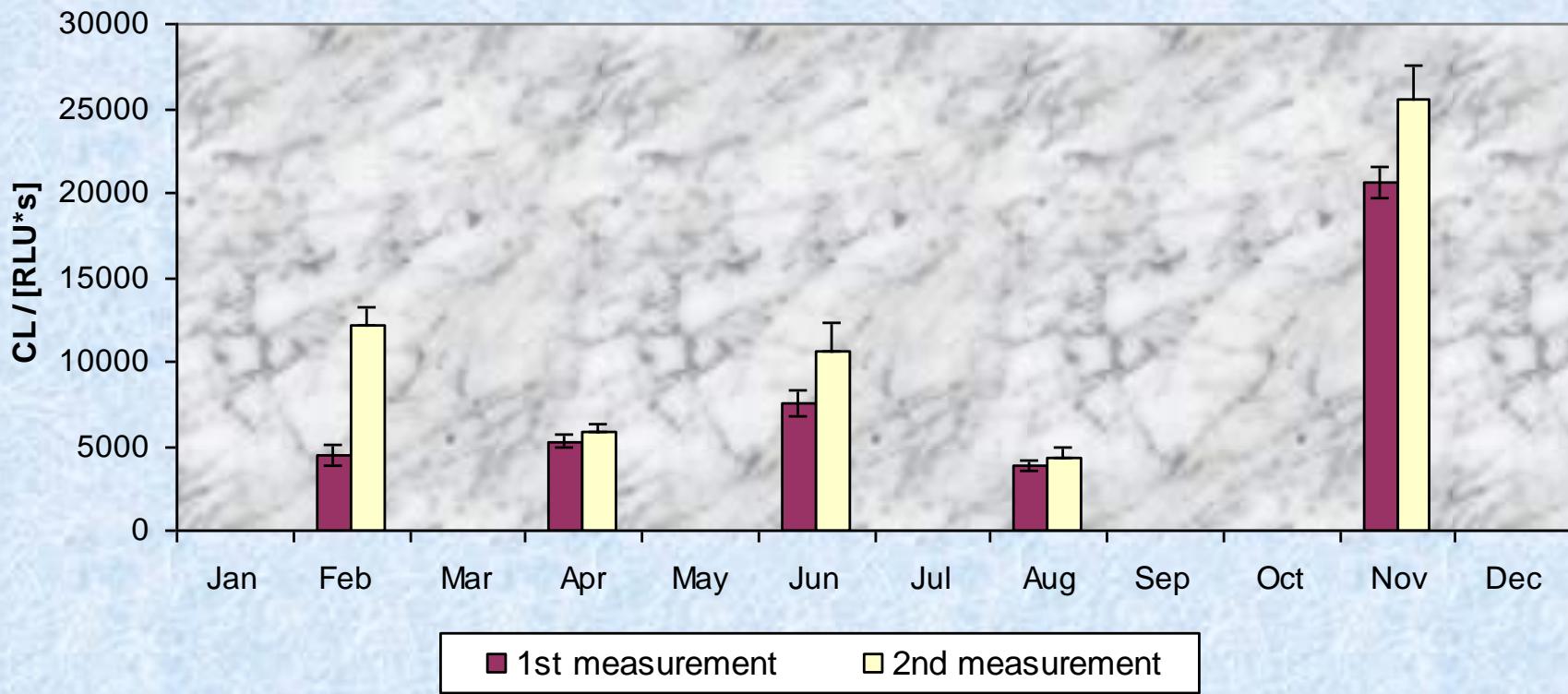
- 40 x ředěná plná krev (HBSS)
- 1 hodina měření
- triplikáty
- bez třepání
- laboratorní teplota
- 25 µl OZP (2,5 mg/ml)
- luminol



Typical kinetic of oxidative burst reaction



Integral / 1000 phagocytes



Ekofyziologie přirozené imunity ptáků

Projekt GAČR s UK Praha, katedra zoologie

koroptve, sýkory

- Oxidační vzplanutí krevních fagocytů
- Stanovení aktivity komplementu
- TRAP krevní plasmy (karotenoidy)
- Antioxidační enzymy



Vztah mezi hematologickými a ornamentálními znaky u koroptve polní (*Perdix perdix*)



Gabrielová B. (1), Jandová V.A. (2), Svobodová J. (2), Buchtíková S. (4), Hyršl P. (4), Šálek M. (2), Vinkler M. (1,3) a Albrecht T. (1,3)

(1) Katedra zoologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Viničná 7, Praha 2, 128 44, ČR, (2) Katedra ekologie, Fakulta životního prostředí, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, Praha 6 – Suchdol, 165 21, ČR, (3) Ústav biologie obratlovců, v.v.i., Akademie věd České republiky, v.v.i., Květná 8, Brno, 603 65, ČR, (4) Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 267/2, Brno, 611 37, ČR

Úvod

Koroptev polní je nemigrujícím druhem lovné zvěře s nezanedbatelným hospodářským významem. Populace tohoto druhu byla negativně ovlivněna kolektivizací zemědělství v 50. letech, v důsledku čehož se koroptev stala ohroženým druhem. To vedlo k pokusům o umělé navrácení koroptve do volné přírody.



Zůstává však otázka, kteří z chovaných ptáků jsou v dobrém zdravotním stavu a jsou tedy pro tento záměr vhodní. Dobré indikátory zdravotního stavu jsou například nejrůznější hematologické znaky. V této práci jsme proto zaměřili na posouzení vztahů mezi vybranými hematologickými parametry (diferenciální počet leukocytů, absolutní počet leukocytů, diferenciální počet erytrocytů, hematokrit, aktivita komplementu) a dalšími kondičně závislými znaky (karotenoidní a melanoidní ornamentace, tělesná hmotnost, zánečlivá imunitní odpověď) u divoké populace koroptve polní.



(prevzato Faivre a kol. 2003)

• Karotenoidní ornament - saturation (systost)

Minimální adekvátní model pro saturation (systost) ornamentu: n=70, Slope \pm SE = 82.92 \pm 4.23, df=6/69 , F=59.672, p<<0.001

Proměnná	Slope \pm SE	df	F-test	p-hodnota
Saturation				
Rok	17.36 \pm 1.15	1/64	227.42	<<0.001
Pohlaví	-5.74 \pm 4.85	3/66	9.95	<<0.001
HL	0.97 \pm 0.39	2/65	3.85	0.026
Komplement	-18.92 \pm 4.71	2/65	8.56	0.0005
Pohlaví:HL	-1.29 \pm 0.46	1/64	7.68	0.0073
Pohlaví:Komplement	16.28 \pm 5.40	1/64	9.07	0.0037

Závěr

- Naše výsledky ukazují, že všechny tři parametry barvy karotenoidního ornamentu (hue, saturation, brightness) mohou sloužit jako dobré indikátory fyziologického stavu
- Pozitivní vztah mezi Hue a reakcí na PHA naznačuje spíše negativní význam velikosti otokové reakce při odhadu zdravotního stavu jedince
- významnou roli při tvorbě karotenoidních ornamentálních znaků může hrát vrozená imunologická obrana jedince před parazity (např. aktivita komplementu).
- Naše výsledky ukazují, že ornamentace jedince může sloužit jako důležité vodítko při výběru v zajetí odchovaných jedinců pro reintrodukci do volné přírody.





INSTITUTE OF BIOPHYSICS

Academy of Sciences of the Czech Republic

[Intranet](#) [Mail](#) [SSH](#) [Links](#) [Info](#)

**IBP Main
Management
Scientific Council
Staff
Laboratories
Center of IT
Conferences
Research Reports**



*Institute of Biophysics ASCR
Královopolská 135
CZ-612 65 Brno
Czech Republic*
Phone: +420 - 541 517 111
Fax: +420 - 541 211 293
E-mail: ibp@ibp.cz



Institute of Entomology

Biology Centre, ASCR

[Home](#)

[General Info](#)

[Departments](#)

[Staff](#)

[Publications](#)

[Databases](#)

[Links](#)

Contact Information

Postal Address
Branisovska 31
370 05 Ceske Budejovice
Czech Republic

Telephone (+420) 385 310 350

Fax (+420) 385 310 354

email entu@entu.cas.cz

News & Events

Focus on

Illustrated Catalogue of Aphididae in the Korean Peninsula



This book, as the first volume of the "Illustrated Catalogue of Aphididae in the Korean Peninsula", includes only one subfamily, Aphidinae, the major group of the family Aphididae. It



Pyrrhocoris apterus
foto J.Havelka & R.Socha

The Institute of Entomology is a scientific institution of basic and applied research in areas, in which insects are either in focus of attention (insect pests, species useful for environment monitoring etc.) or serve as suitable models for the solution of general biological problems.

The Institute is located in the town of Ceské Budejovice, about 160 km south of Prague, the capital of the Czech Republic.

The more than seventy-five Institute's researchers and PhD students conduct research in a variety of fields, ranging from molecular biology to ecology.

The Institute co-publishes the **European Journal of Entomology**.

Conference



Department of Molecular Biology & Functional Genomics

Spolupráce se Stockholm University:

- společné grantové projekty
- výměna studentů a učitelů

OPEN ACCESS Freely available online

PLoS PATHOGENS

Pathogen Entrapment by Transglutaminase—A Conserved Early Innate Immune Mechanism

Zhi Wang^{1,3}, Christine Wilhelmsson^{1,3}, Pavel Hyrsl^{1,2,3}, Torsten G. Loof^{3,3}, Pavel Dobes^{1,2}, Martina Klupp¹, Olga Loseva⁴, Matthias Mörgelin³, Jennifer Iklé⁵, Richard M. Cripps⁵, Heiko Herwald³, Ulrich Theopold^{1*}

1 Department of Molecular Biology and Functional Genomics, Stockholm University, Stockholm, Sweden, **2** Department of Animal Physiology and Immunology, Institute of Experimental Biology, Masaryk University, Brno, Czech Republic, **3** Department of Clinical Sciences, Lund University, Lund, Sweden, **4** Department of Genetics, Microbiology and Toxicology, Stockholm University, Stockholm, Sweden, **5** Department of Biology, University of New Mexico, Albuquerque, New Mexico, United States of America



Děkuji za pozornost....

