

IMUNITA HMYZU

SROVNÁVACÍ IMUNOLOGIE



doc. RNDr. Pavel Hyršl, Ph.D.

Bezobratlí:

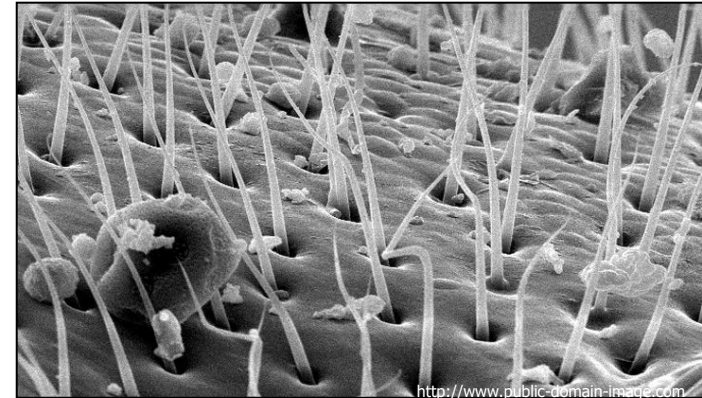
- 96 % živočišných druhů
- málo zkoumaná skupina
- důležitost výzkumu – paraziti obratlovců, poznáním mechanismů můžeme získat „biological control“ nad škůdci, význam pro zlepšení chovů komerčně využívaných bezobratlých, monitorování životního prostředí, objasnění evolučních základů imunitního systému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

Přirozená imunita živočichů

- vrozená, nespecifická, neadaptivní
- evolučně starší než adaptivní (specifická, získaná)
- přirozená imunita je přítomna u všech živočichů (bezobratlí i obratlovci), adaptivní pouze u malé části obratlovců jako nadstavba přirozené imunity
- rychlá odpověď

Vnější bariéry

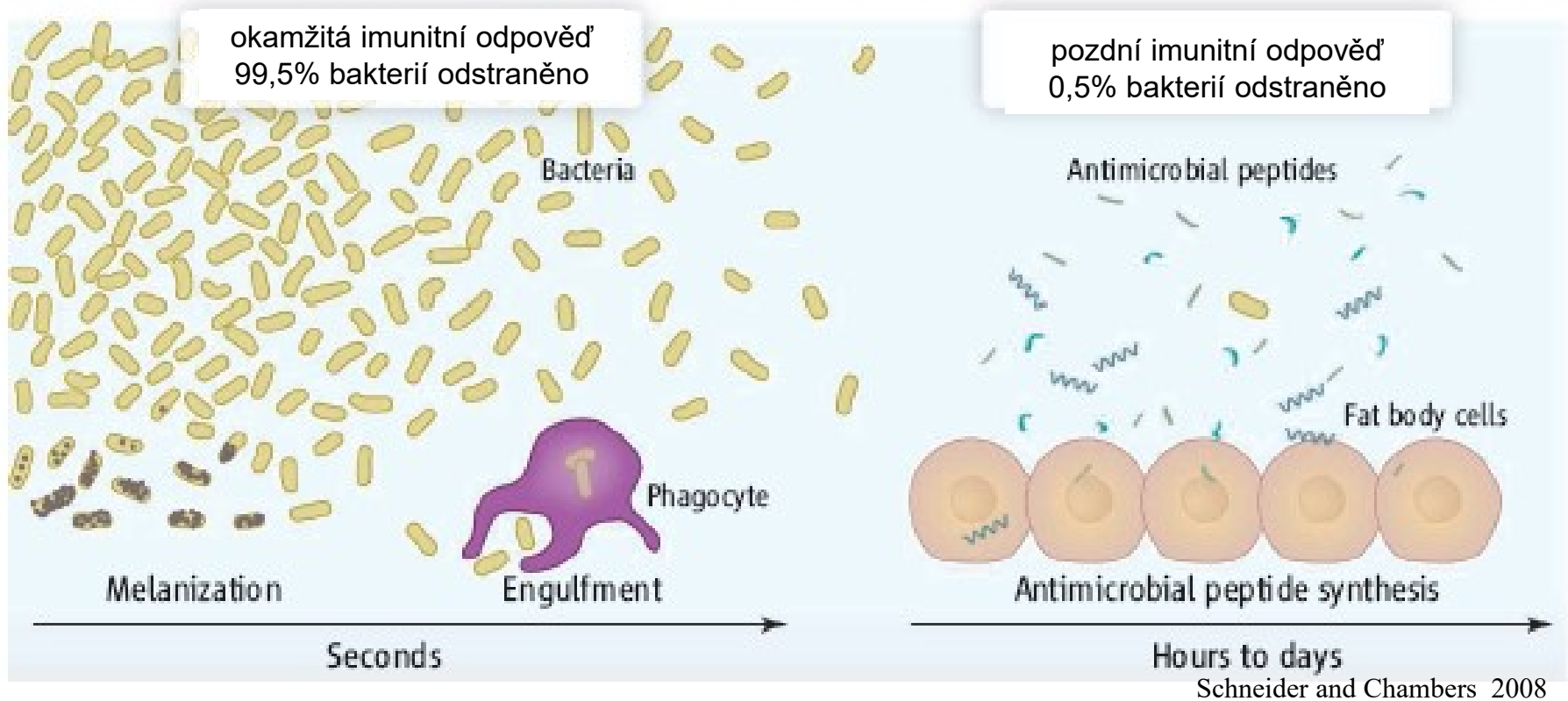
- fyzikální a chemická ochrana
- brání ztrátám tekutin a průchodu patogenů
 - exoskelet členovců



- klíčové pro zahájení reakcí je **rozpoznání** cizorodého materiálu/patogenu
- následuje aktivace **buněčných** a **humorálních** složek přirozené imunity

Buněčné složky přirozené imunity

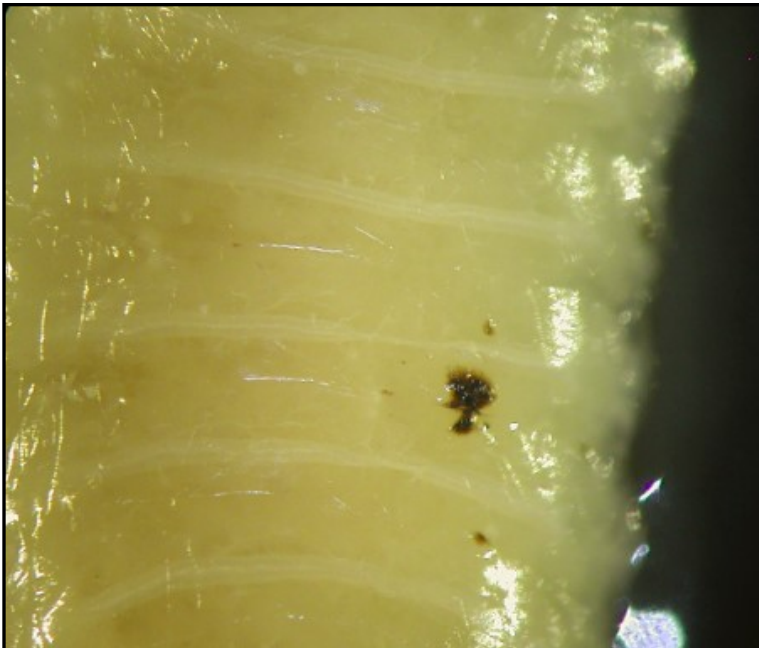
- **fagocyty** (hemocyty, coelomocyty bezobratlých, profesionální fagocyty obratlovců)



- **nodulace, enkapsulace** u bezobratlých – adherence hemocytů/coelomocytů
- produkce **reaktivních metabolitů kyslíku a dusíku**
- **antioxidační mechanismy** odstraňují reaktivní metabolity
- zabraňují oxidačnímu stresu

Humorální složky přirozené imunity

- stále přítomné nebo indukované složky
- **antibakteriální látky** (baktericidní peptidy, lytické enzymy - lysozym)
- lektiny, transferrin, inhibitory enzymů
- aglutininy
- **fenoloxidázová a koagulační kaskáda** – srážení hemolymfy a tvorba melaninu (kroužkovci, měkkýši, členovci)



Imunita hmyzu – modelové organismy

zavíječ voskový

Galleria mellonella



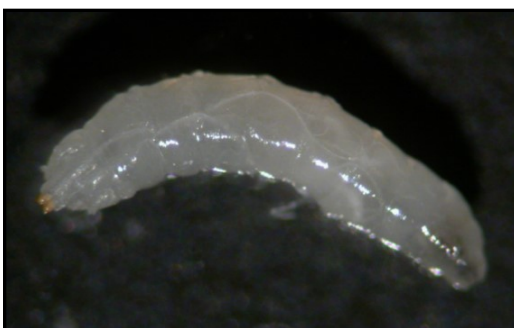
bourec morušový

Bombyx mori



octomilka

Drosophila melanogaster



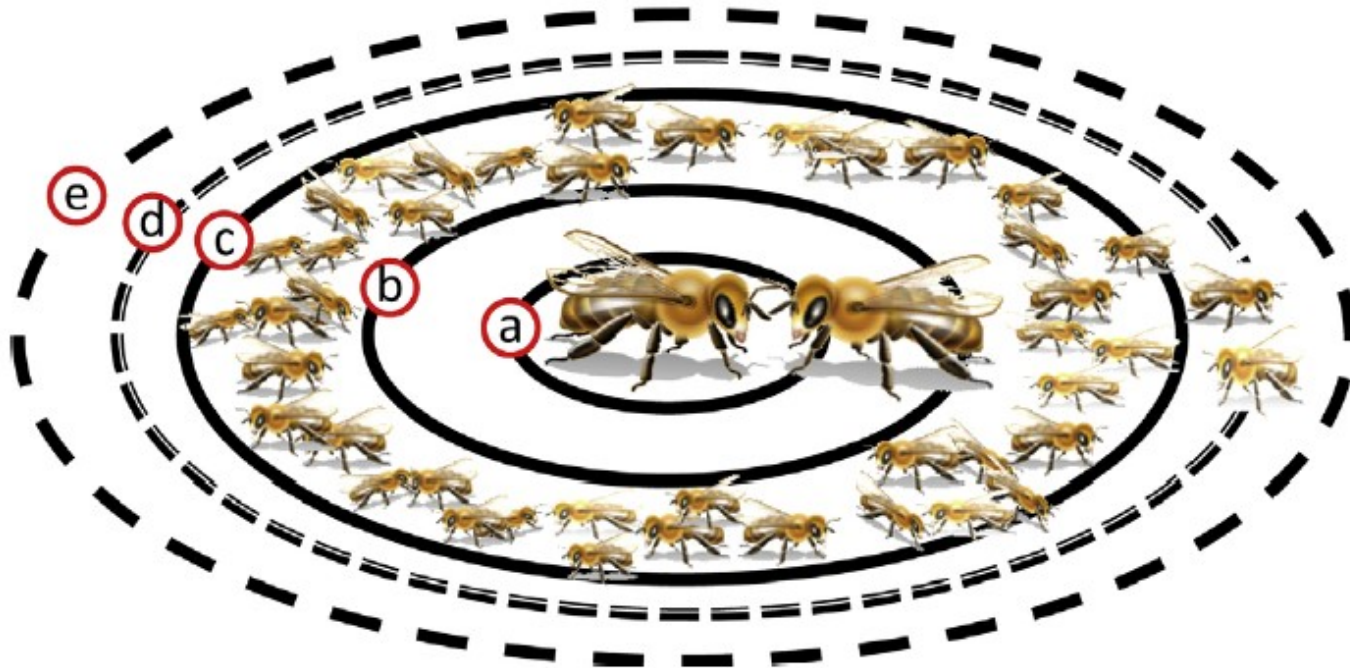
včela medonosná

Apis mellifera



Imunita včel

- *sociální imunita* (včely, čmeláci, mravenci, termiti)



- individuální obrana - královna
- shlukování kolem královny
- ochrana kolonie – úklid, ostraha
- zabránění vstupu infekčních agens
- resiny, propolis a další antibakteriální látky pro ochranu kolonií

Insect control:

Bacillus thuringiensis

mycoinsectides

EPN

macrobiologicals

Baculoviruses

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 Kühlung
zwischen +4°C und +12°C

nemaplus®
Trauermückenbekämpfung

kühlt lagern / 4-12°C

e-nema®

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 Kühlung
zwischen +4°C und +12°C

Entomopatogenní hlístovky (EPN)

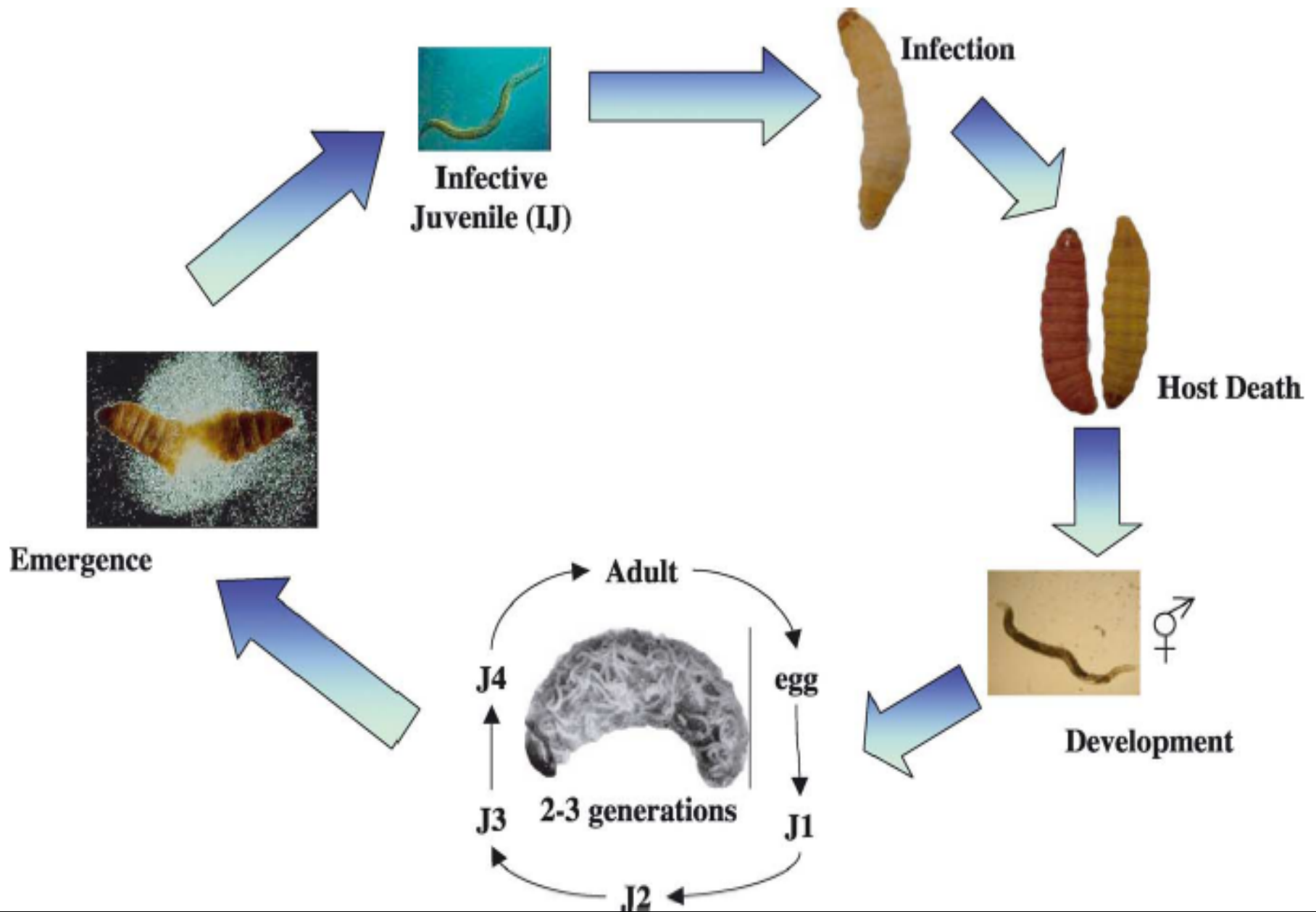
třída: Nematoda (Nematoda)

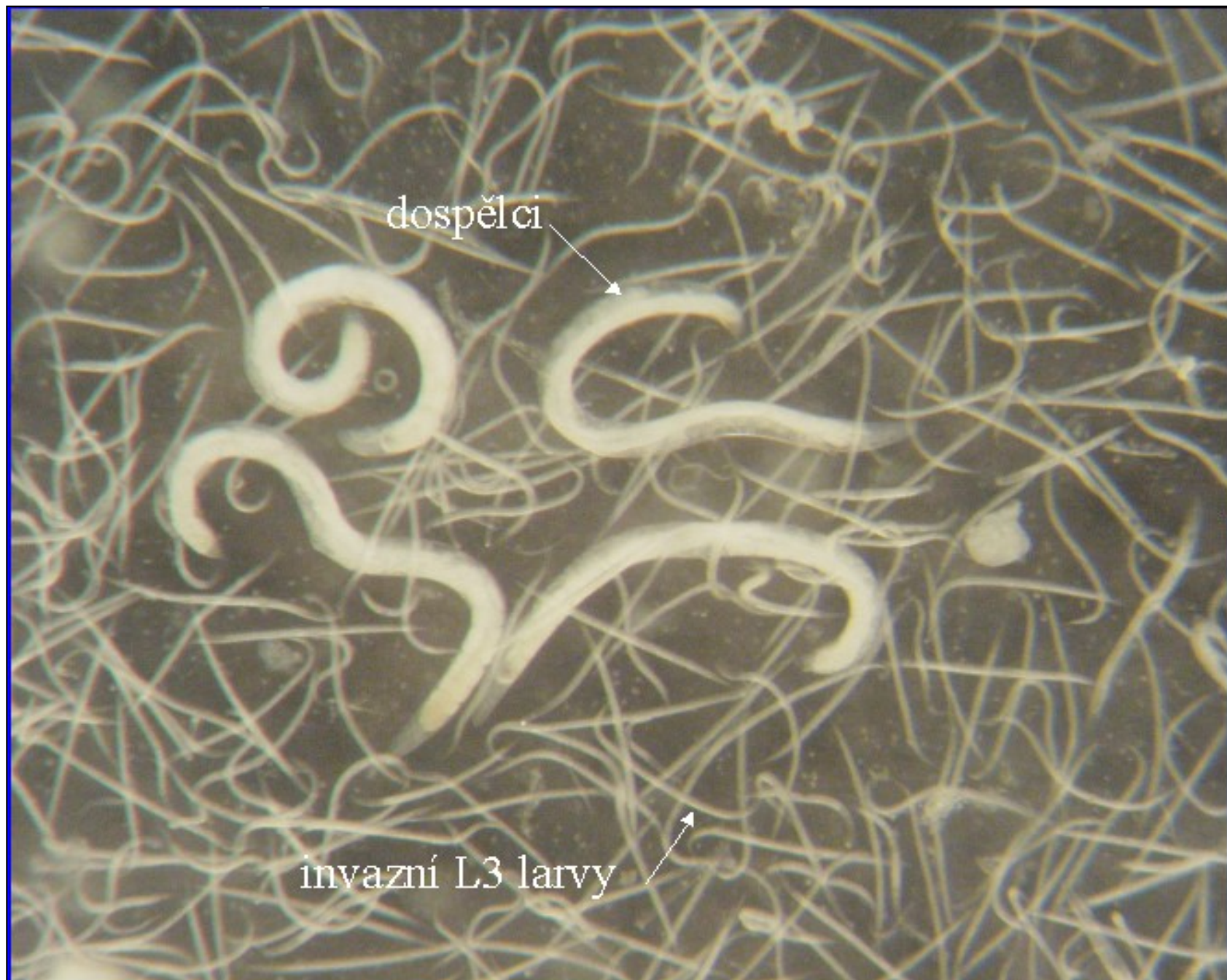
řád: Hád'ata (Anguilata)

čeleď: *Steinernematidae*

Heterorhabditidae

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

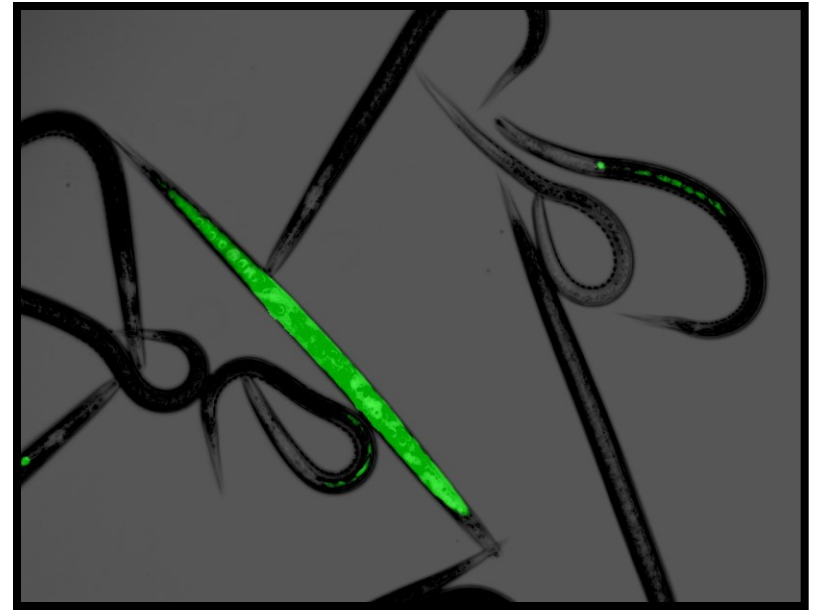
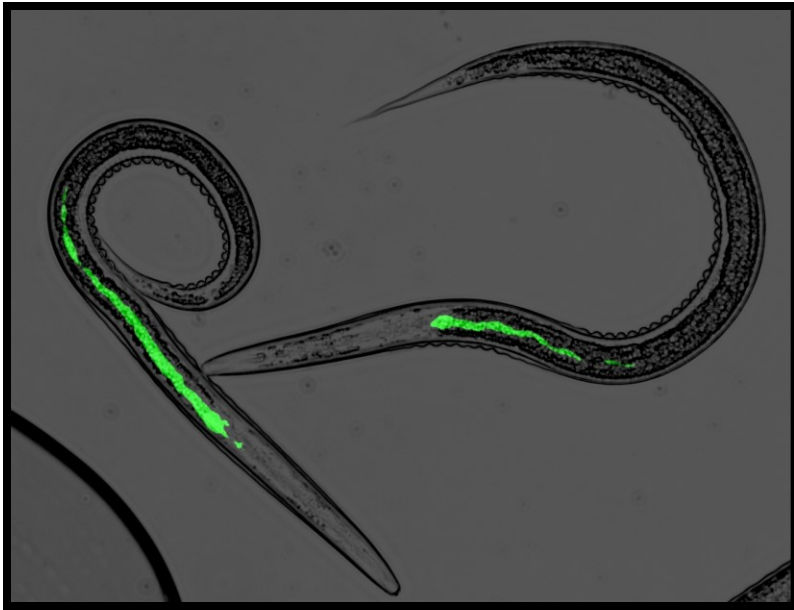




dospělci

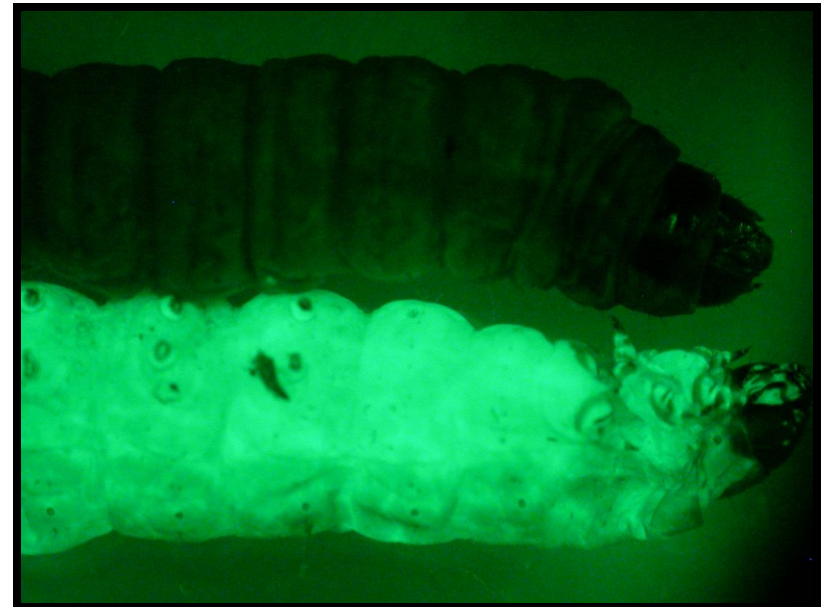
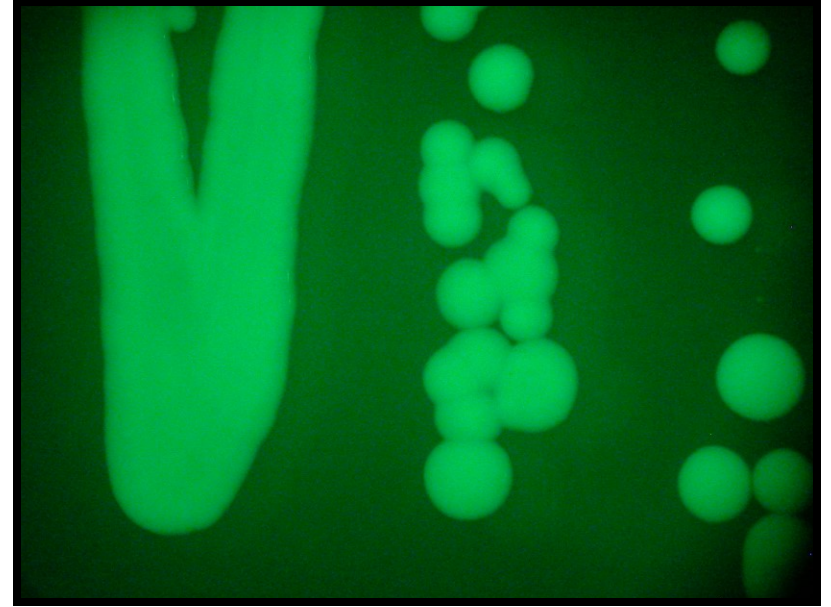
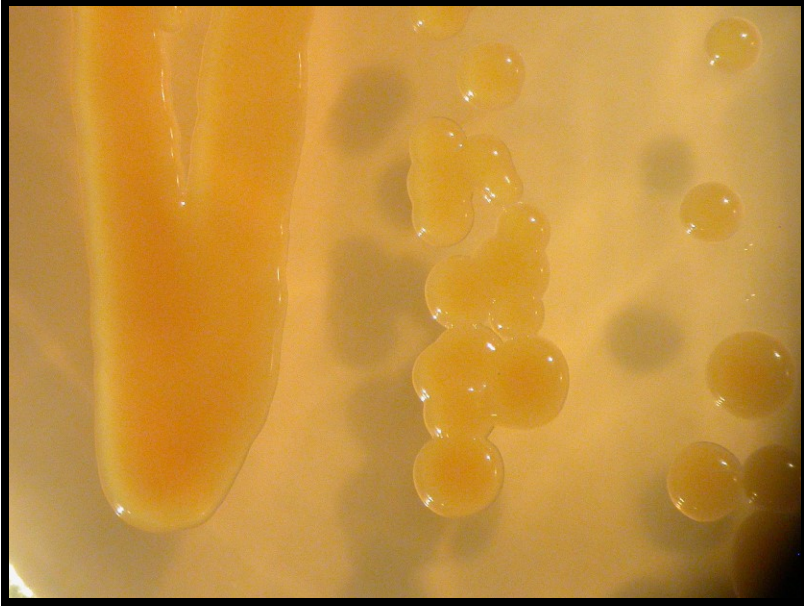
invazní L3 larvy

***Heterorhabditis bacteriophora* + *P. luminescens* TT01**



P. luminescens - GFP

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

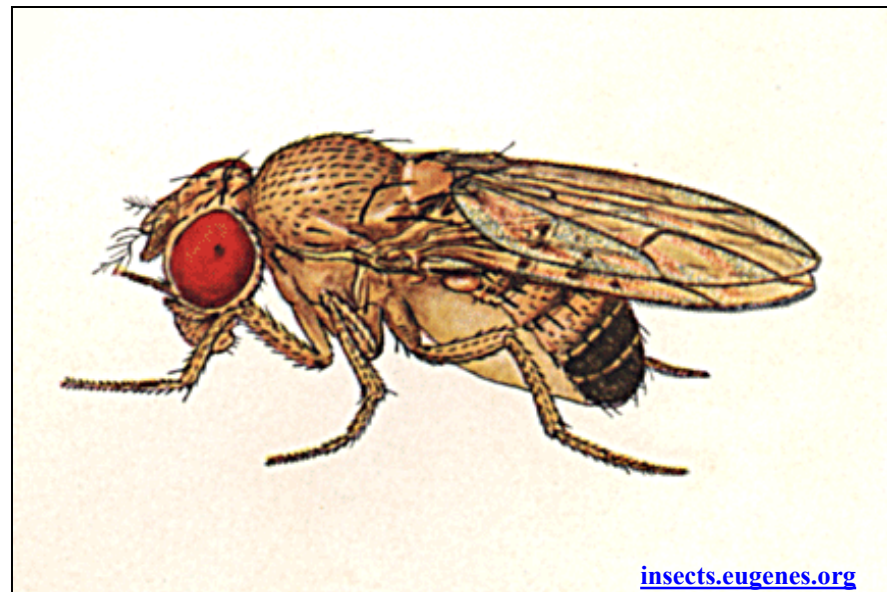
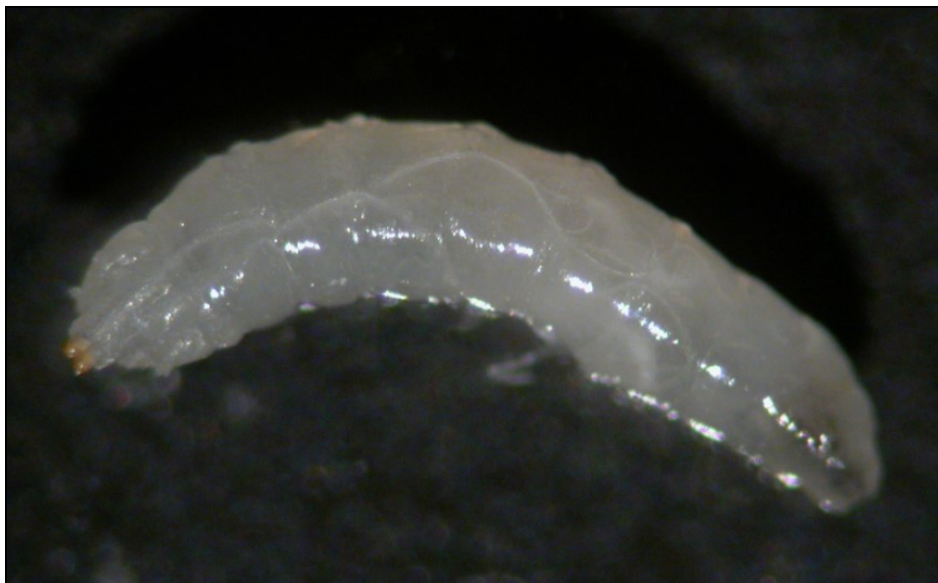


Report

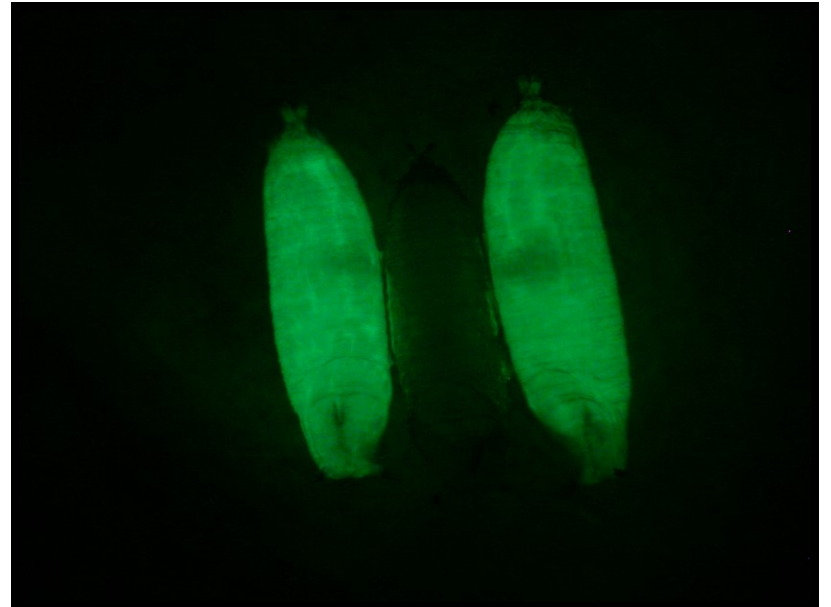
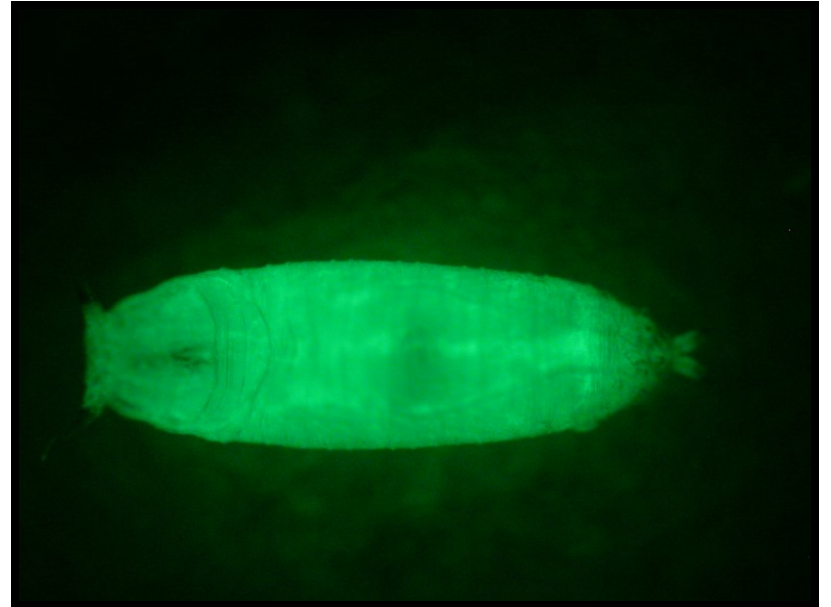
Nematodes, Bacteria, and Flies: A Tripartite Model for Nematode Parasitism

Elissa A. Hallem,¹ Michelle Rengarajan,^{1,2}
Todd A. Ciche,^{1,3} and Paul W. Sternberg^{1,4}

¹Howard Hughes Medical Institute
Division of Biology
California Institute of Technology
Pasadena, California 91125



Heterorhabditis bacteriophora + TT01 + *Drosophila*



Experimentální model – modulace imunity *Drosophily*

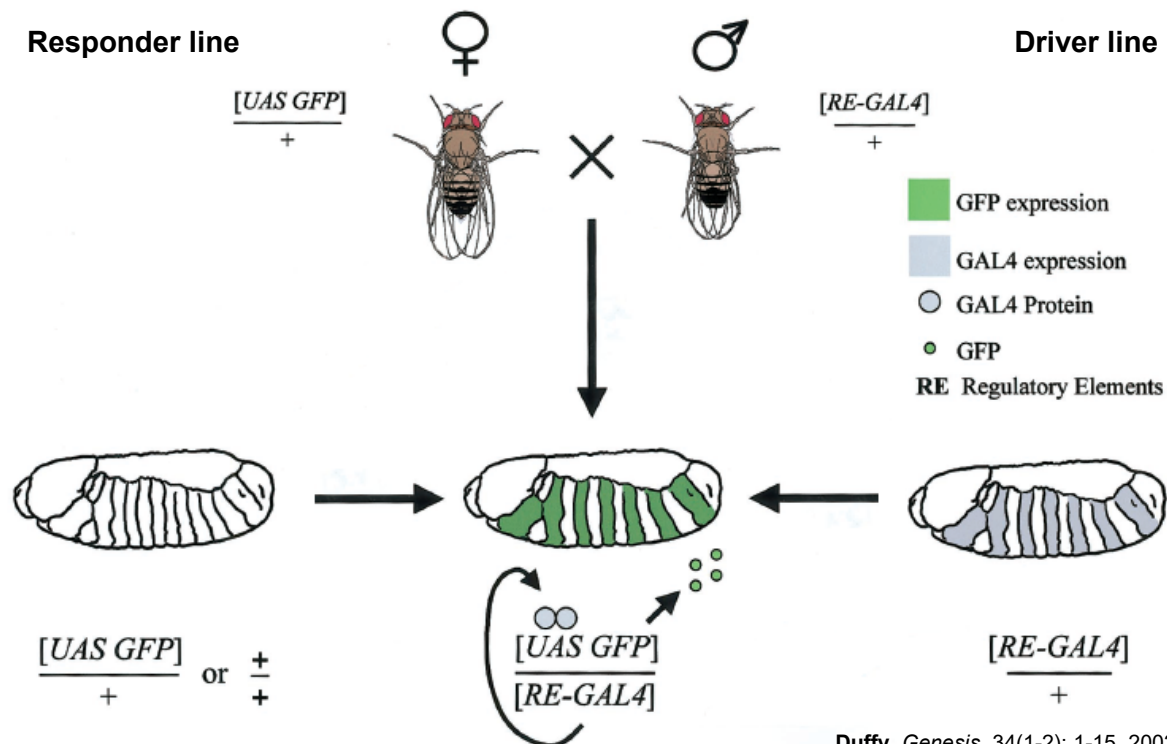
Gal4/UAS systémem řízená exprese genů

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

- Gal4 – váže se na DNA a aktivuje transkripci

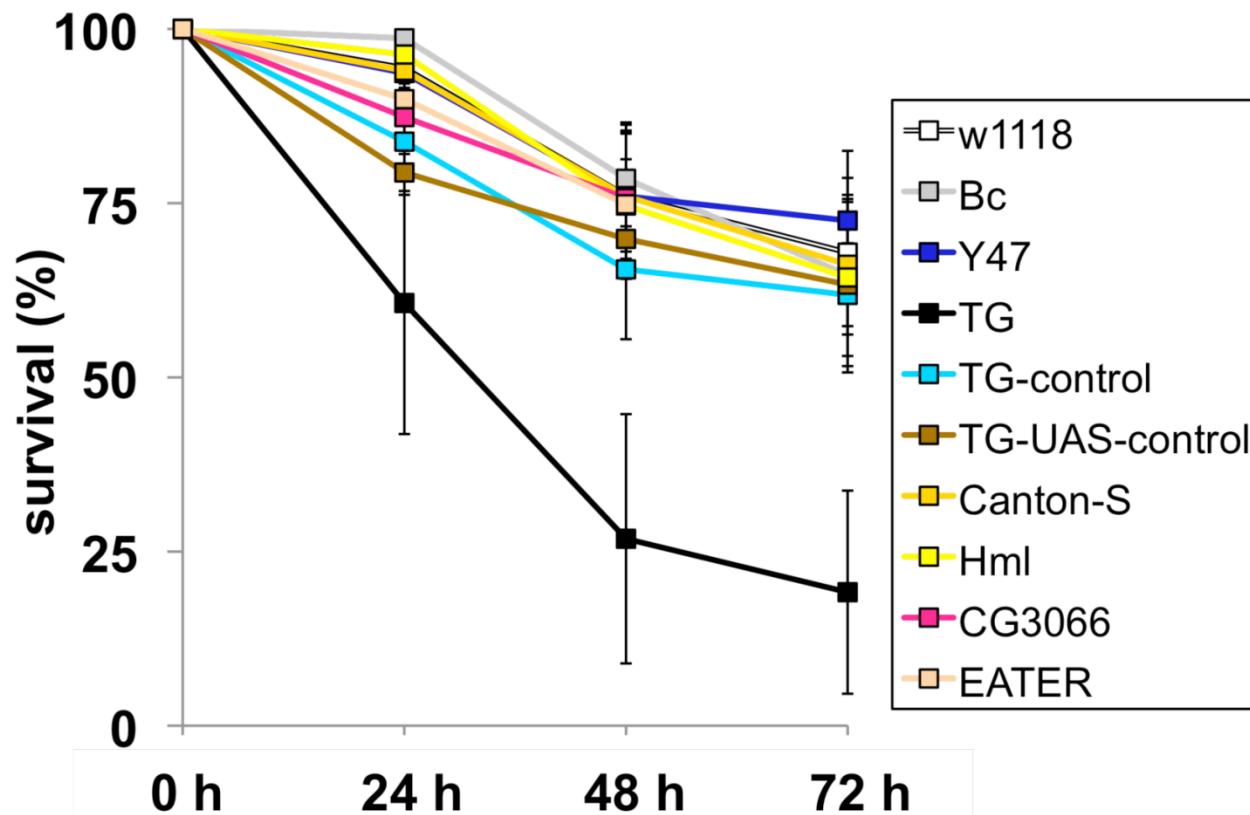
„*responder line*“ – **U**pstream **A**ctivating **S**equences místem pro vazbu Gal4

- RNAi konstrukt – jeho transkripce je pod vlivem UAS



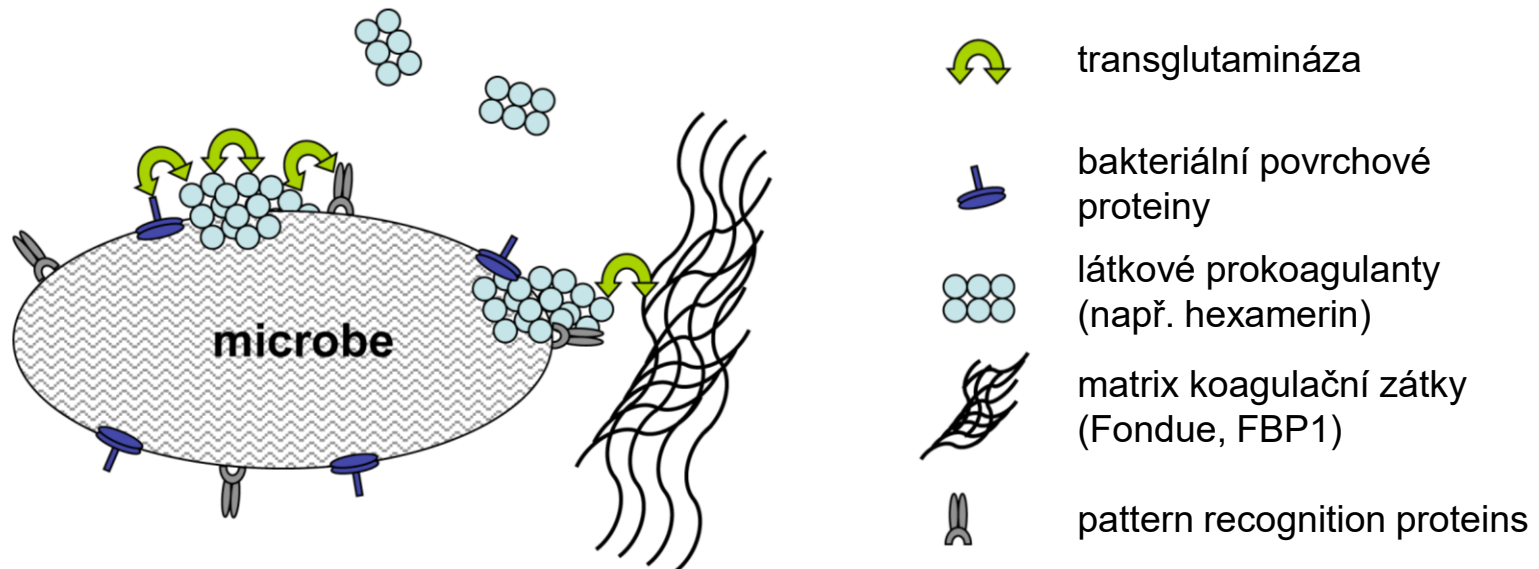
Transglutamináza má také imunitní funkci

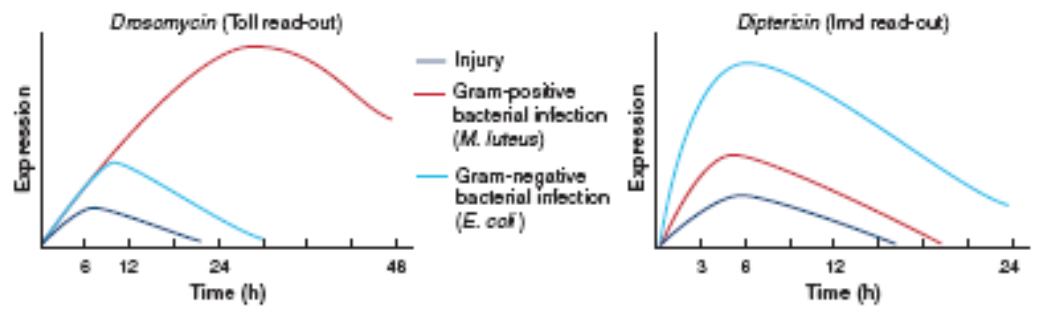
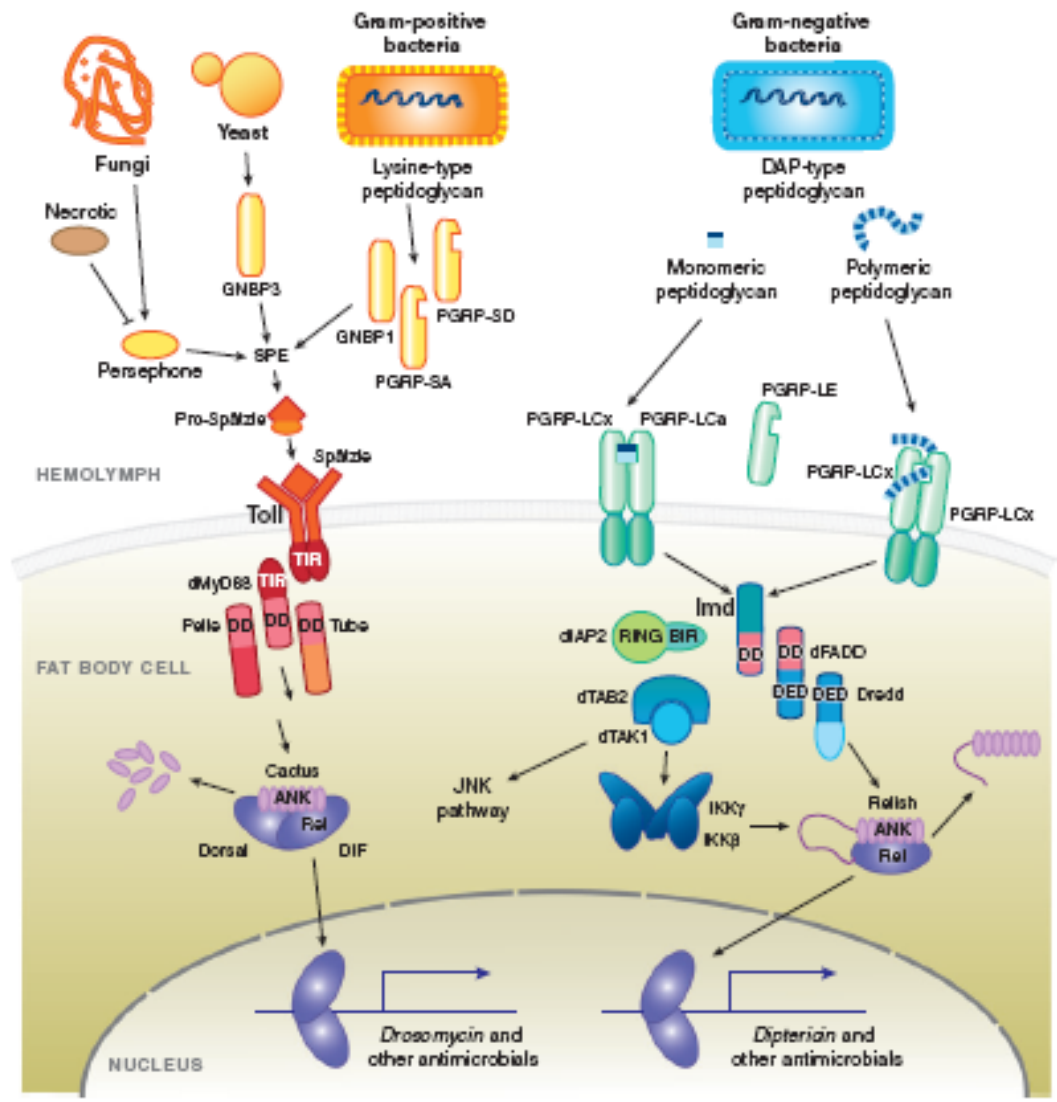
- centrální enzym koagulační kaskády
- homolog Faktoru XIIIa obratlovců
- infekce *H. bacteriophora*, 100 IJ na larvu, 22 °C:



Transglutamináza má také imunitní funkci

- transglutamináza zprostředkuje zachycení bakterií prostřednictvím tvorby koagulační matrix

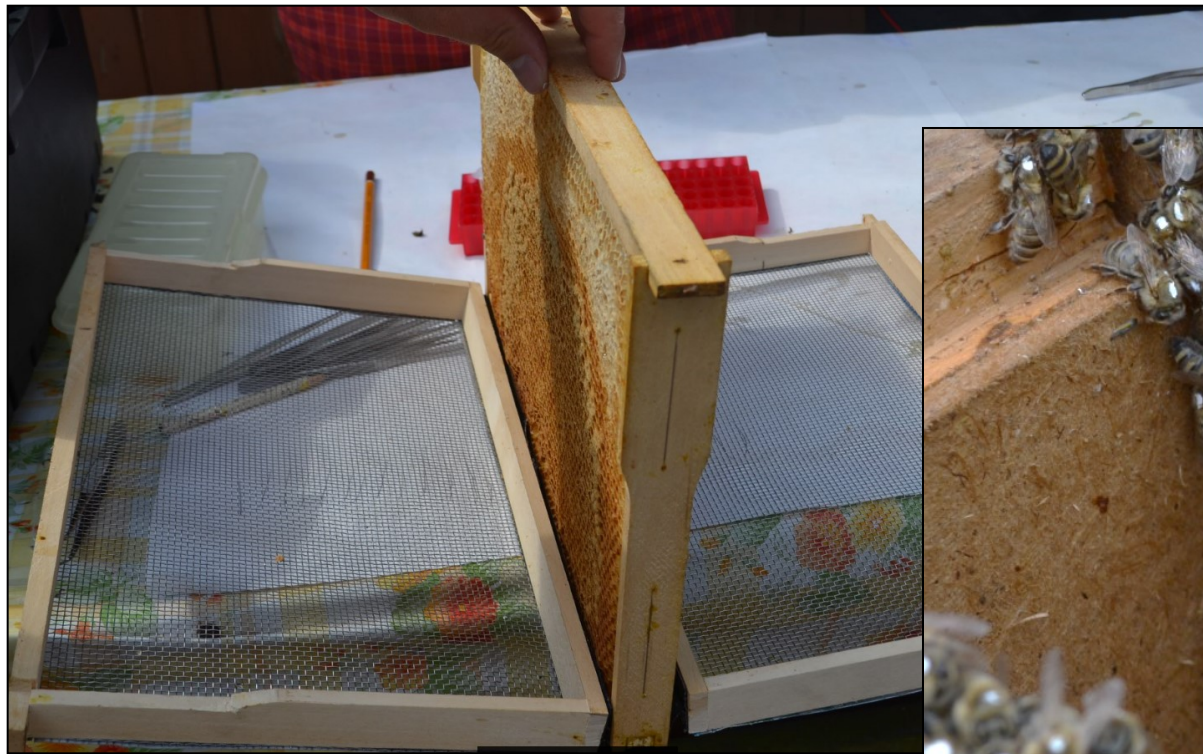




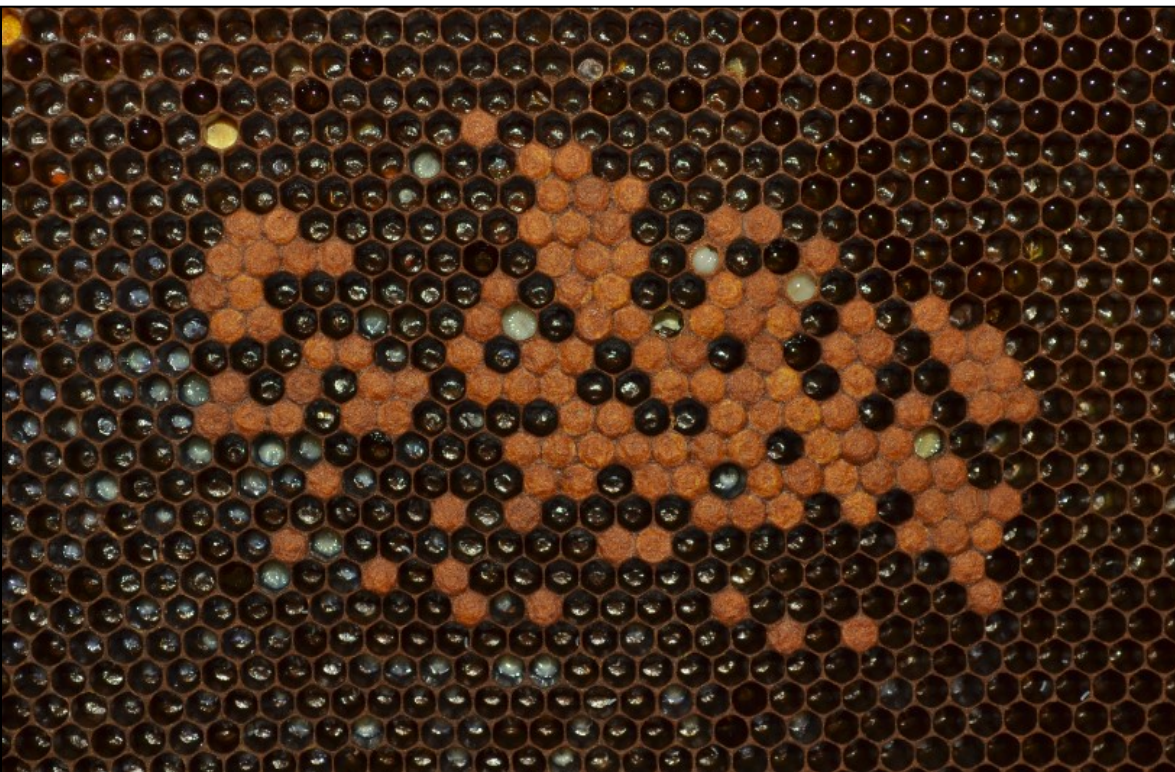
Imunitní a fyziologické parametry včel medonosných



- *vliv stáří jedinců – izolátory pro synchronizaci líhnutí, značení včel pro získání vzorku stejného stáří*



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



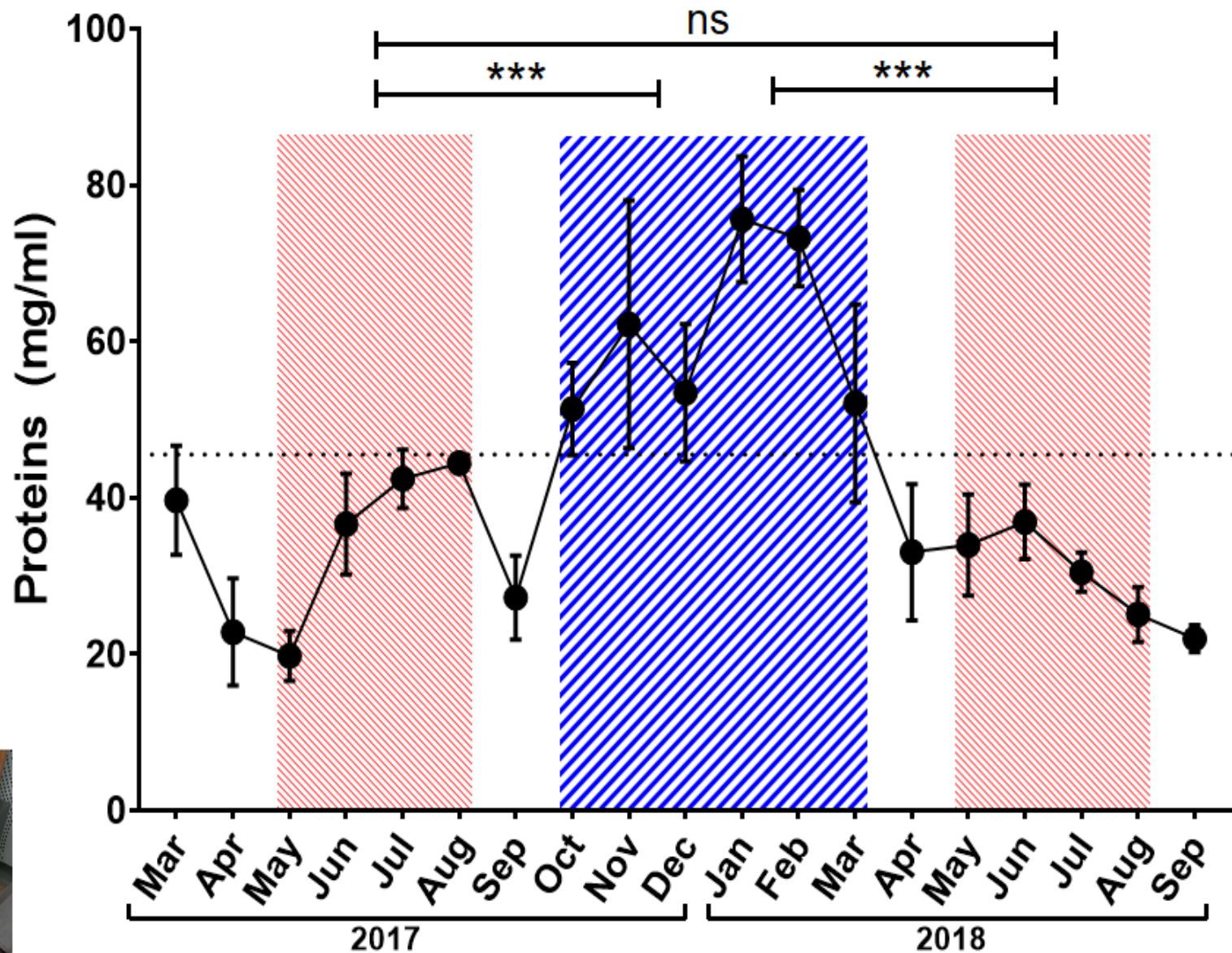
Aktivita PO

Antibakteriální aktivita



Oxidační stres a antioxidační enzymy

Koncentrace proteinů v hemolymfě



Oddělení fyziologie a imunologie živočichů, Ústav experimentální biologie

Skupina srovnávací imunologie

Studujeme:

Imunitu hmyzu, interakce hostitel-patogen, entomopatogenní hliště a jejich symbiotické bakterie, funkční molekuly přirozené imunity.

Modelové organismy:

Octomilka *Drosophila melanogaster*, zavíječ voskový *Galleria mellonella*, bourec morušový *Bombyx mori*, včela medonosná *Apis mellifera*, sluněčko východní *Harmonia axyridis*.

Projekty:

- dlouhodobě se podílíme na řešení projektů národních grantových agentur GAČR, TAČR a NAZV
- aktuálně studujeme vliv adipokinetického hormonu při stresových reakcích hmyzu, patogenitu entomopatogenních hliště, funkci lektinů produkovaných jejich symbiotickými bakteriemi a molekulární podstatu dlouhověkosti včel

Výstupy výzkumu:

- pravidelně se účastníme mezinárodních konferencí a publikujeme vědecké články v mezinárodních časopisech
- více informací na webu skupiny

Srovnávací imunologie:

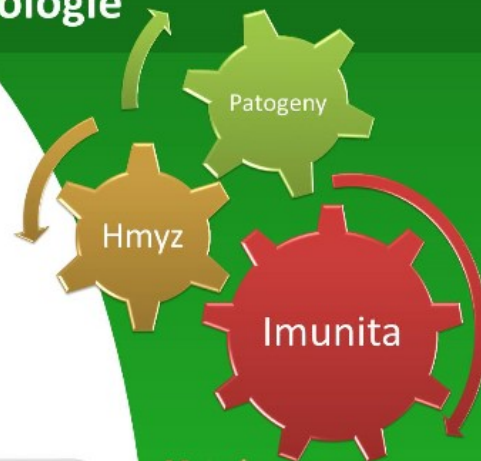
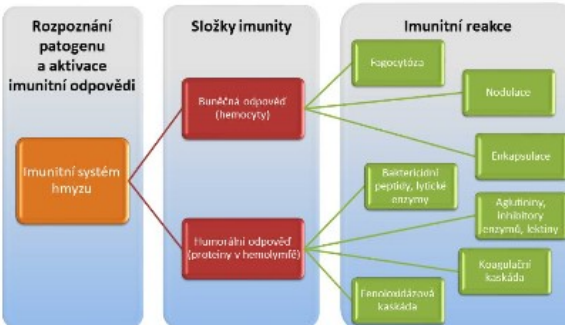
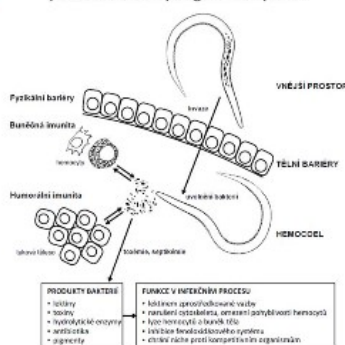
- v návaznosti na grantové projekty se také zabýváme studiem přirozené imunity ryb a ptáků

Ptáci

Ryby

Hmyz

Obranná reakce hmyzu při nákaze entomopatogenem komplexem



Metody:

- pro stanovení imunitních parametrů využíváme molekulárně biologických, biochemických a mikrobiologických metod, pro řízenou expresi genů využíváme genetických technik.
- světelná a fluorescenční mikroskopie (hemocyty, fagocytóza, nodulace), luminometrie (produkce kyslíkových a dusíkových radikálů, antibakteriální aktivita, antioxidační kapacita), spektrofotometrie (biochemická stanovení živin, aktivita antioxidačních enzymů), behaviorální test pomocí FIM Track aj.

Praktický význam:

- entomopatogenní hliště se využívají při biologické ochraně plodin proti hmyzím škůdcům
- produkty entomopatogenů se zkoumají pro své potenciální farmaceutické využití
- bourec morušový je chován člověkem kvůli produkci hedvábí a studium imunity je důležité ve velkochovech ohrožených patogeny
- včela medonosná je nenahraditelný opylovač a studium vlivů oslabujících její imunitu je prakticky využitelné ve včelařství

Pavel Hyršl

E-mail: hyrsl@sci.muni.cz

Adresa: UKB, A36/123

Tel. 549494510

<http://www.sci.muni.cz/ofiz/vyzkum/srovnavaci-imunologie/>

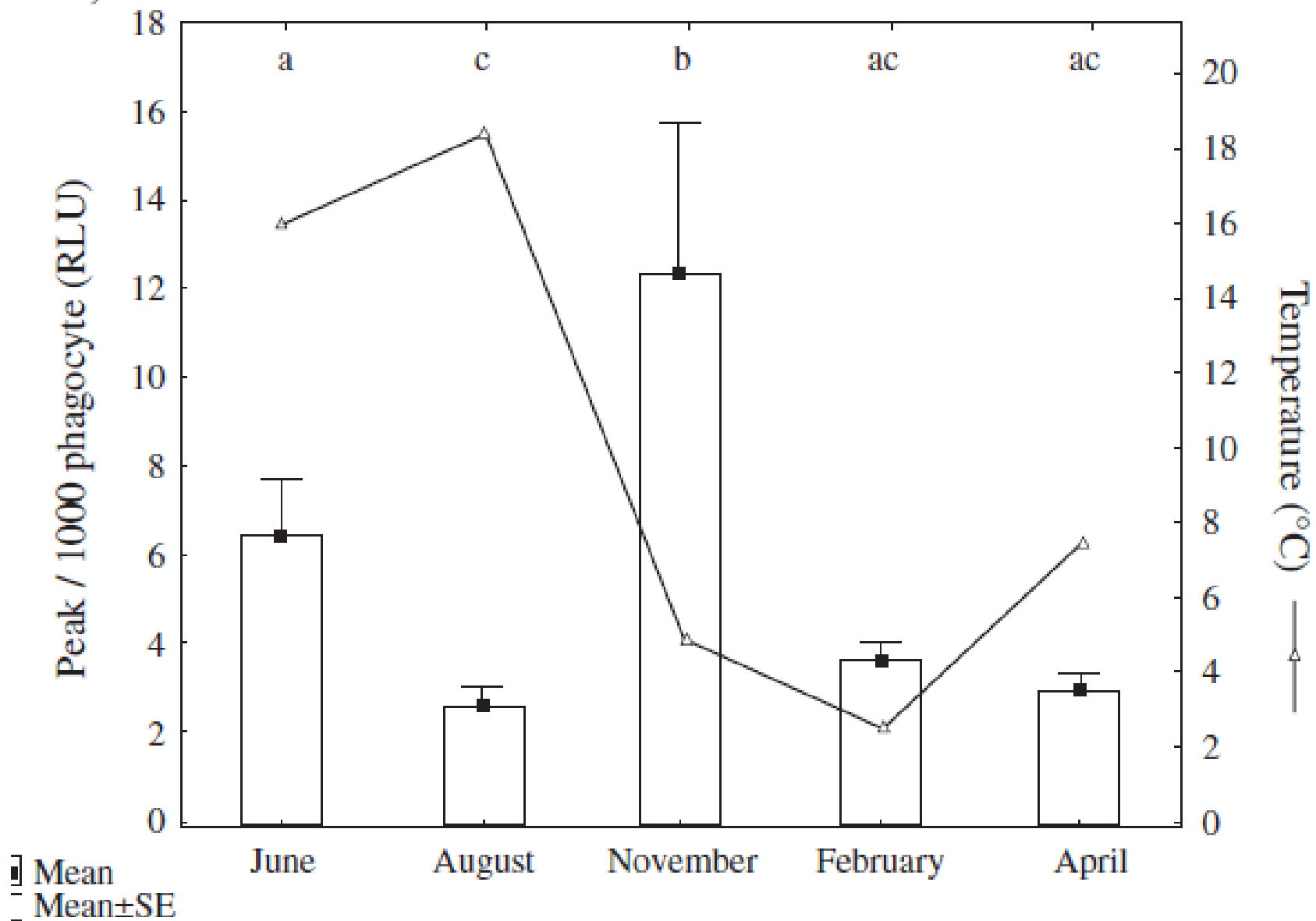


Spolupráce:





b)

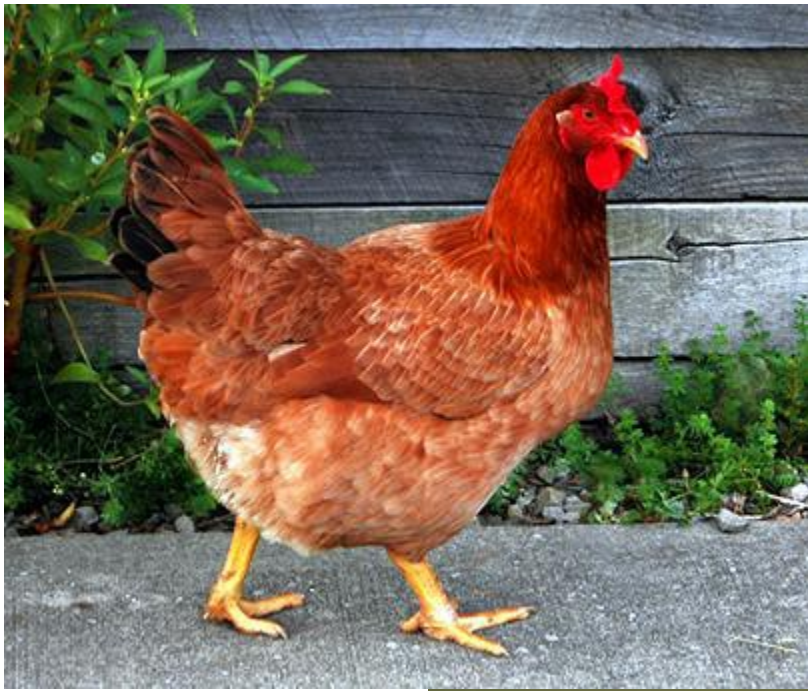


Ekofyziologie přirozené imunity ptáků

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, Kamýčká 129, Praha 6 – Suchbát, 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 otázkou, kteří z chovaných ptáků jsou v dobrém zdravotním stavu a jsou tedy pro tento záměr vhodní. Dobrymi indikátory zdravotního stavu jsou například nejrůznější hematologické znaky. V této práci jsme se 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, zánětlivá imunitní odpověď) u divoké populace koroptve polní.



(převzato Faivre a kol. 2003)

• Karotenoidní ornament - saturation (sylost)

Minimální adekvátní model pro saturation (sylost) ornamentu: $n=70$, Slope \pm SE= 82.92 ± 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	0.028
Komplement	-18.92 \pm 4.71	2/65	8.56	0.0005
Pohlaví:HL	-1.29 \pm 0.46	1/64	7.88	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 reintrodukcii do volné přírody.



