



MASARYKOVA UNIVERZITA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BIOLOGIE

Oddělení fyziologie a imunologie živočichů

Studijní směr Experimentální biologie živočichů

www.sci.muni.cz/ofiz

Fyziologie: studium funkcí

Imunologie: studium obranyschopnosti

Srovnávací a ekologický přístup:

- živočichové včetně člověka
- širší mezioborový přístup než na LF

Výchova k vědecké práci:

- využívání informačních zdrojů
- experimentální laboratorní praxe
- hodnocení výsledků
- prezentace vlastních výsledků

Výsledkem jsou:

- bakalářské, diplomové a dizertační práce
- postery a přednášky na konferencích
- publikace

Uplatnění:

- **Biomedicínský základní výzkum (AVČR, Univerzity, ústavy)**
- **Klinická pracoviště a laboratoře (humánní, veterinární)**
- **Zemědělsky orientovaný výzkum**
- **Soukromé firmy**

Modelové organismy:

- *Mus musculus*
- *Ratus norvegicus*
- *Xenopus laevis*
- *Bombyx mori*
- *Tenebrio molitor*
- *Galleria mellonella*
- *Periplaneta americana*



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

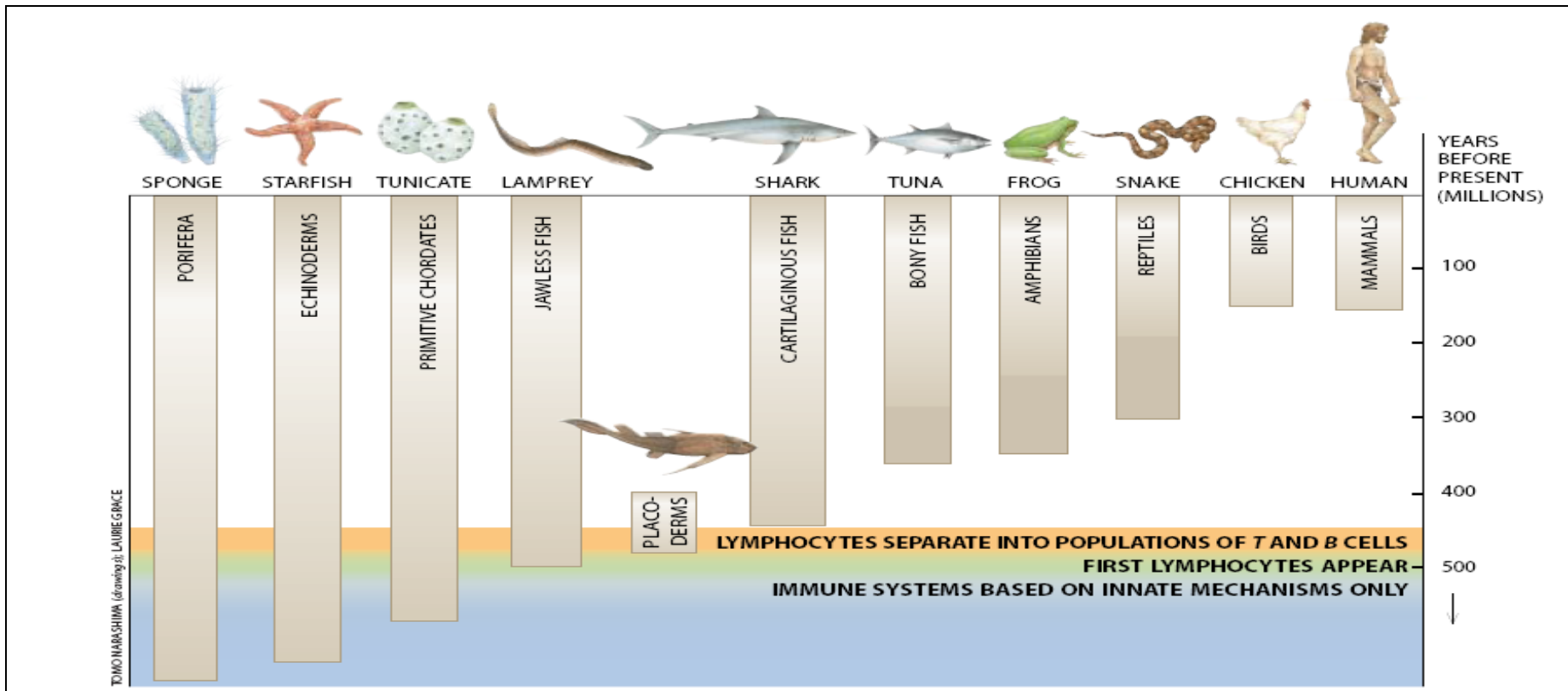
Nespecifická imunita

Nespecifické imunitní mechanismy (též **vrozené, přirozené, neadaptivní**) jsou vrozené. To znamená, že veškeré potřebné informace jsou neměnně zapsány v **DNA** a přítomny 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. kůže, sliznice aj. (obecně struktury zabraňující proniknutí cizorodých částic do organismu).



Imunitní systém hmyzu

BUNĚČNÁ IMUNITA

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

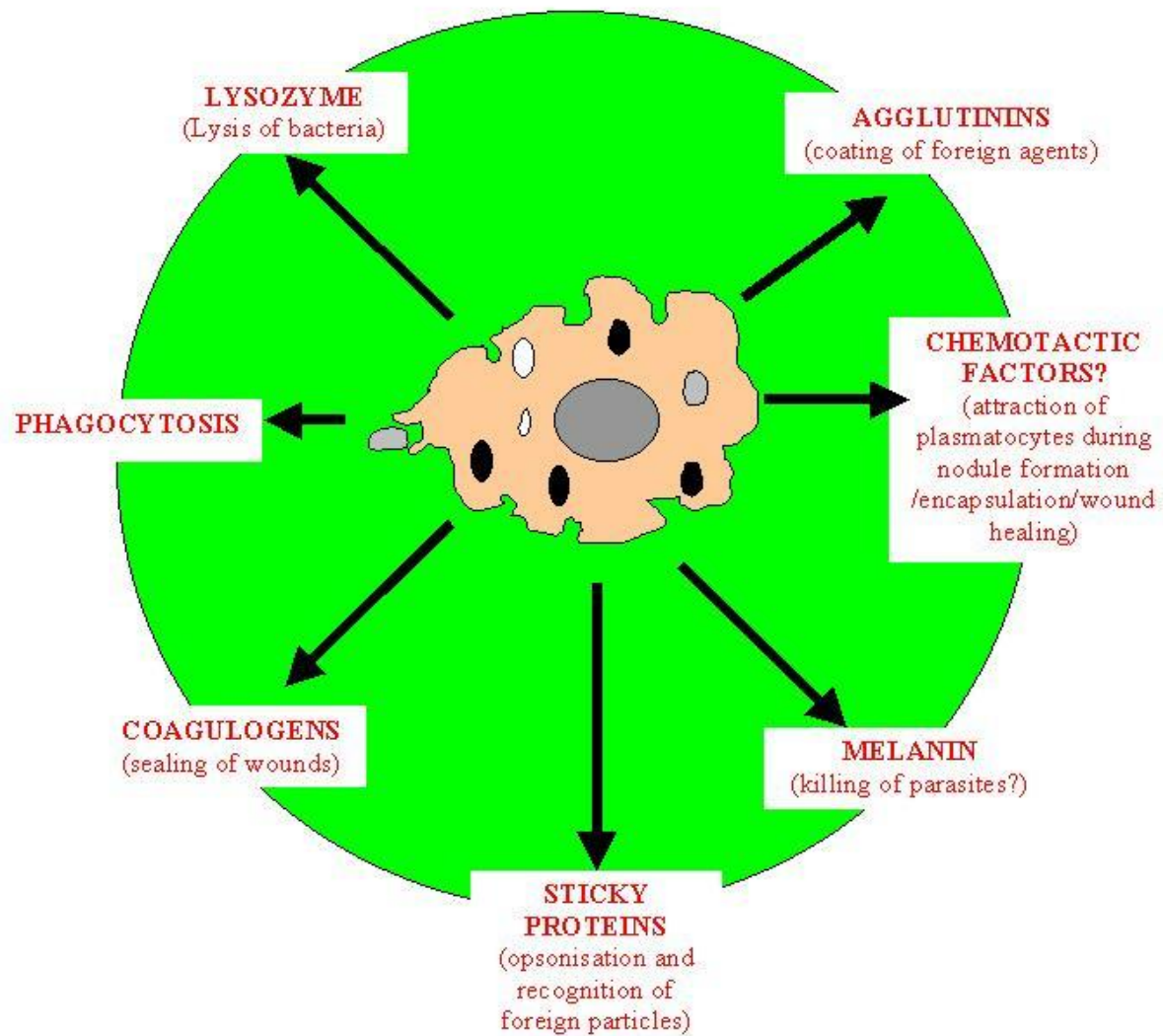
- fagocytóza
- nodulace
- enkapsulace
- koagulace

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.



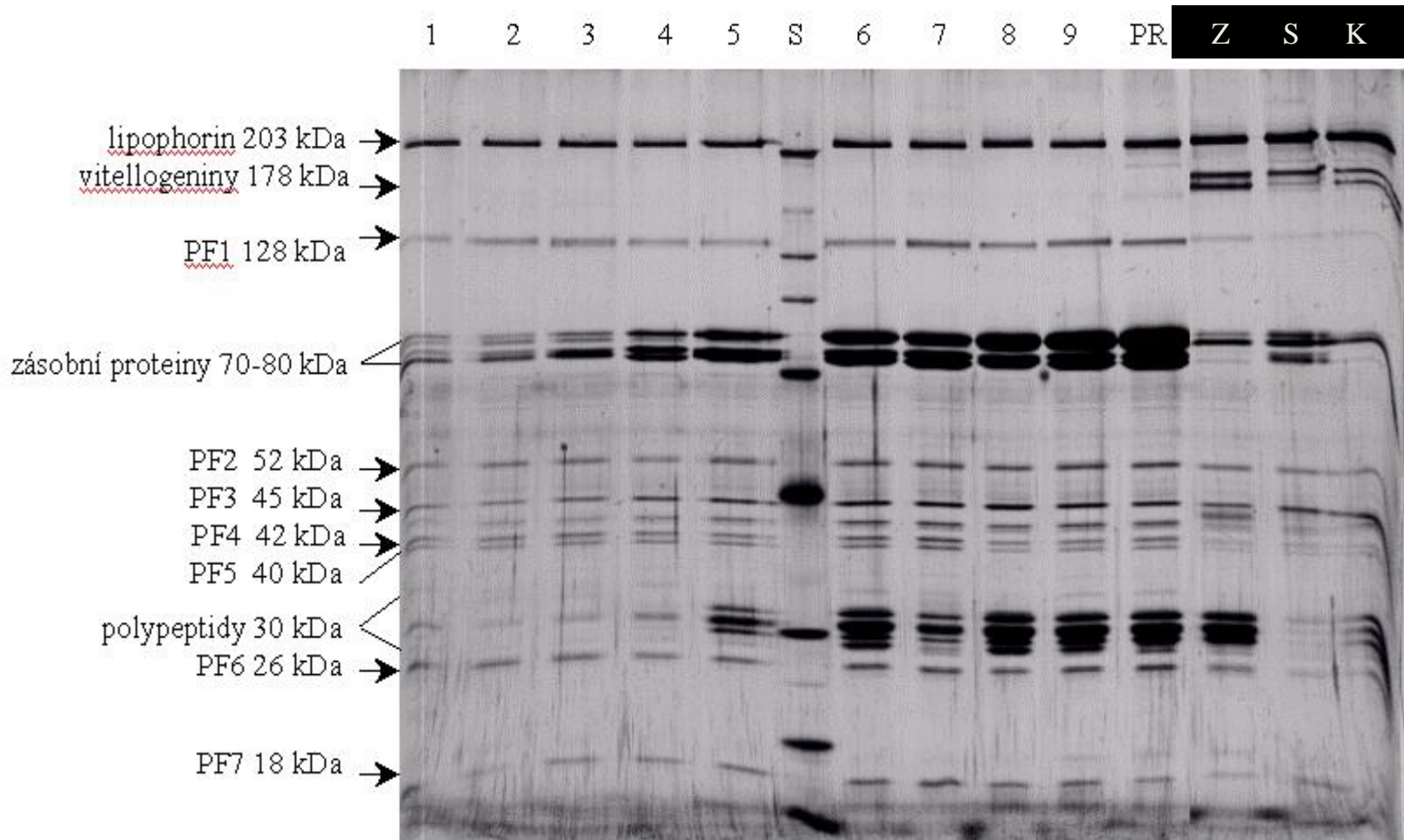
Bombyx mori (Lepidoptera, Bombycidae)

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)



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 Lagerung / 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)

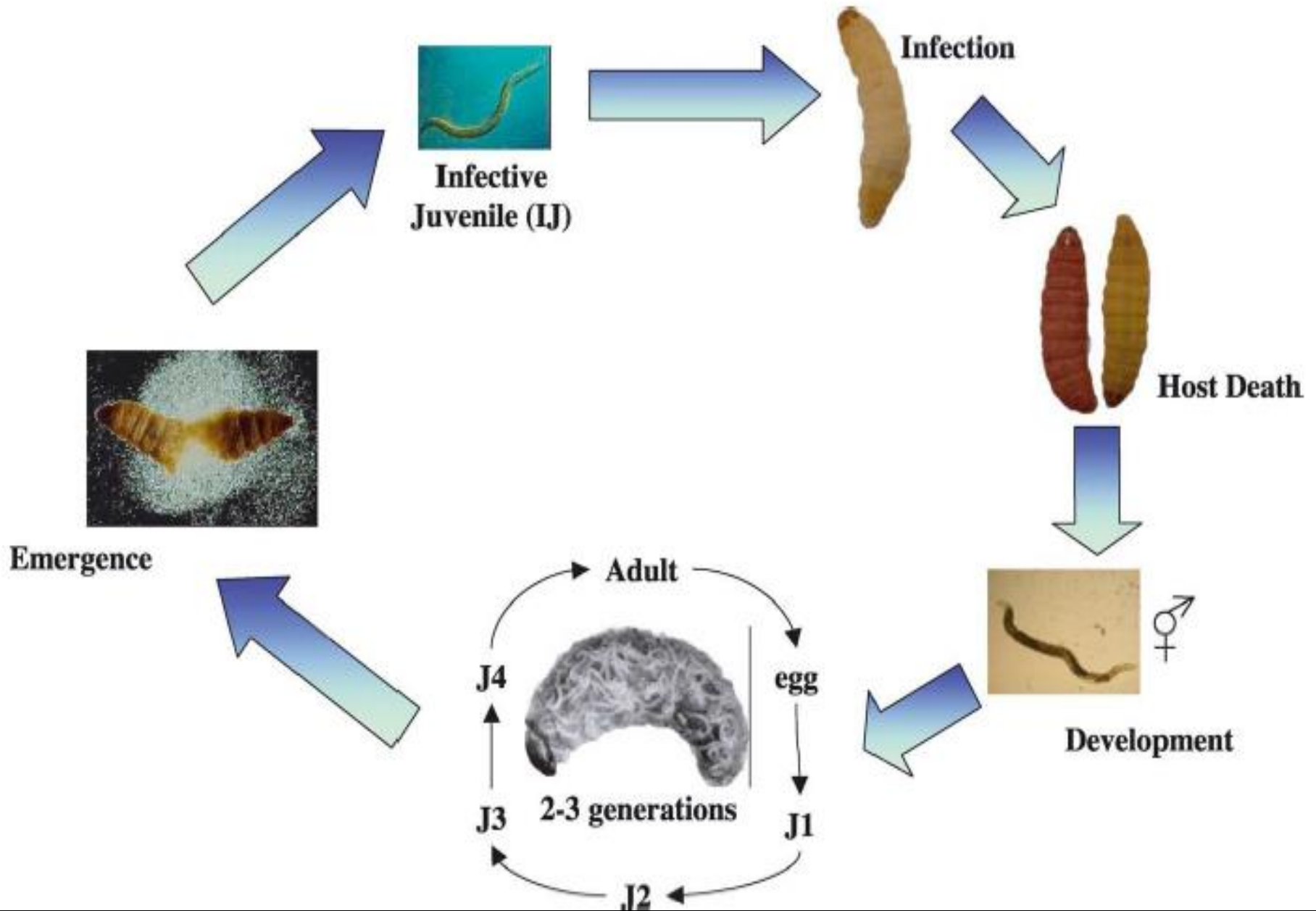
třída: Nematoda (Nematoda)

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



Experimentální model – modulace imunity *Drosophily*

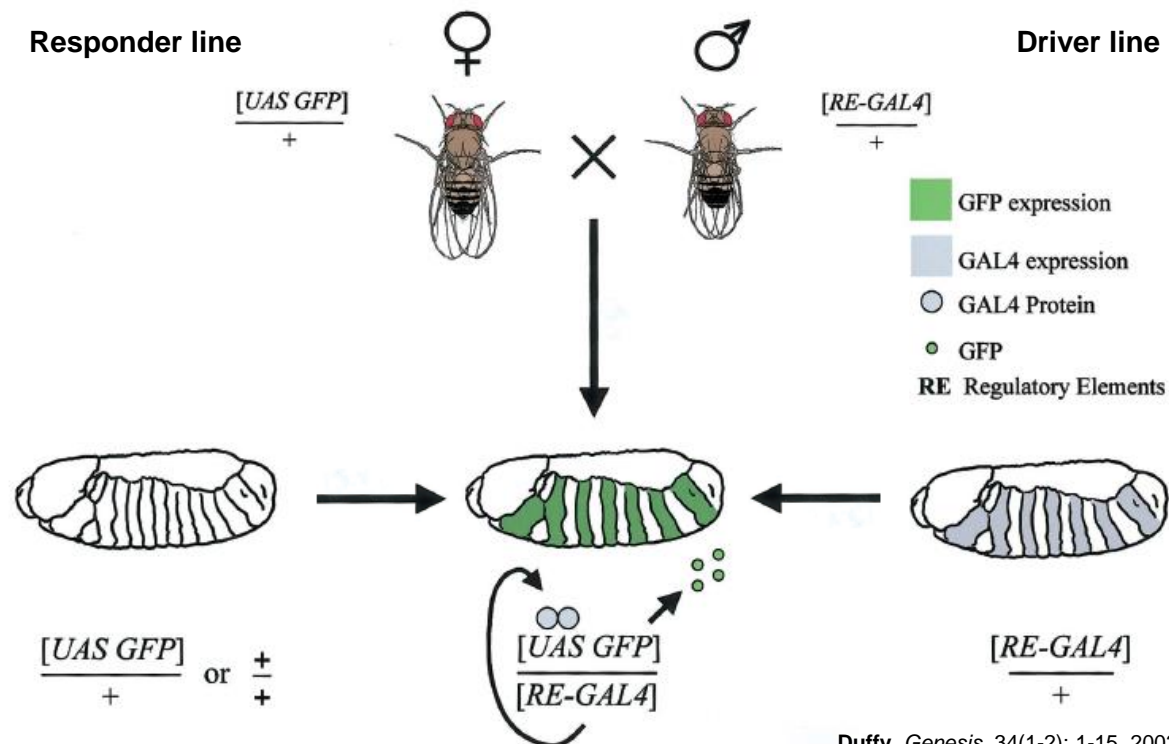
Gal4/UAS systémem řízená exprese genů

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

- Gal4 – váže se na DNA a aktivuje transkripci

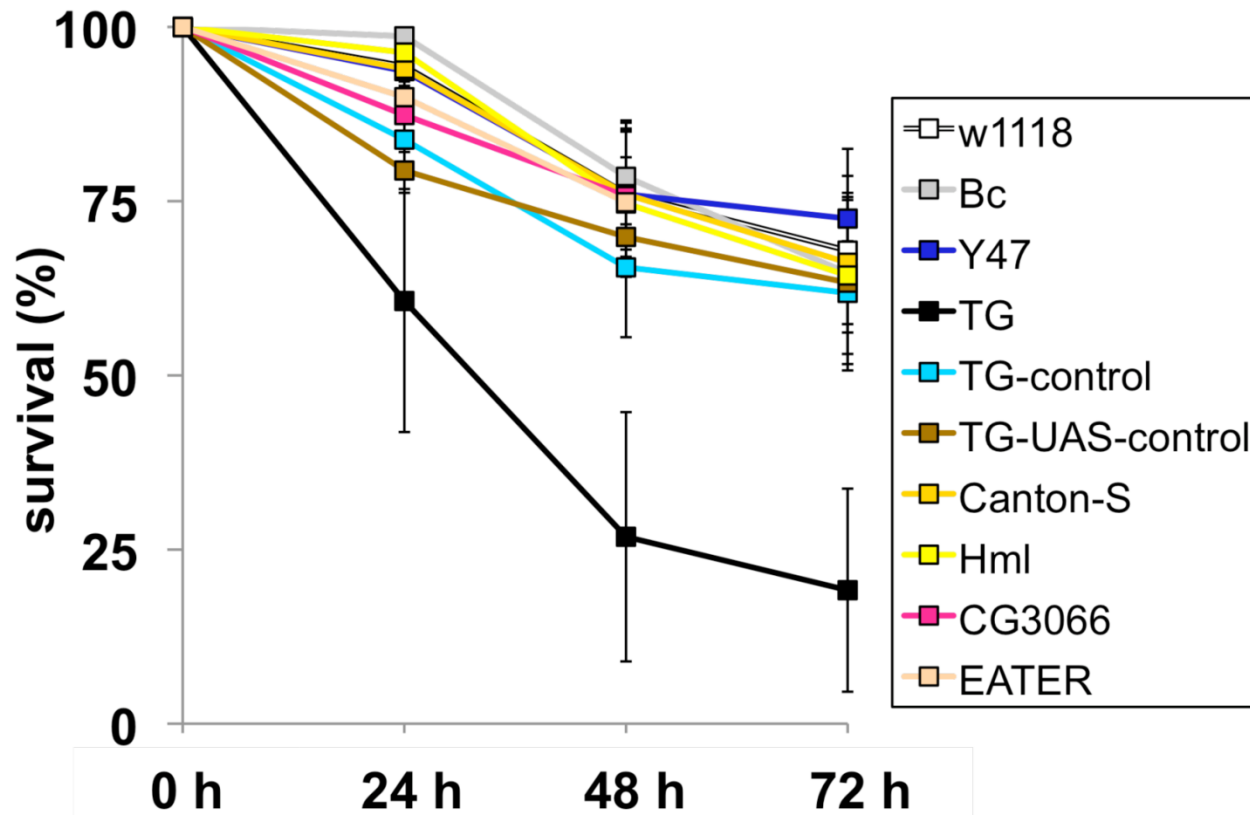
„*responder line*“ – **U**pstream **A**ctivating **S**equences místem pro vazbu Gal4

- RNAi konstrukt – jeho transkripce je pod vlivem UAS



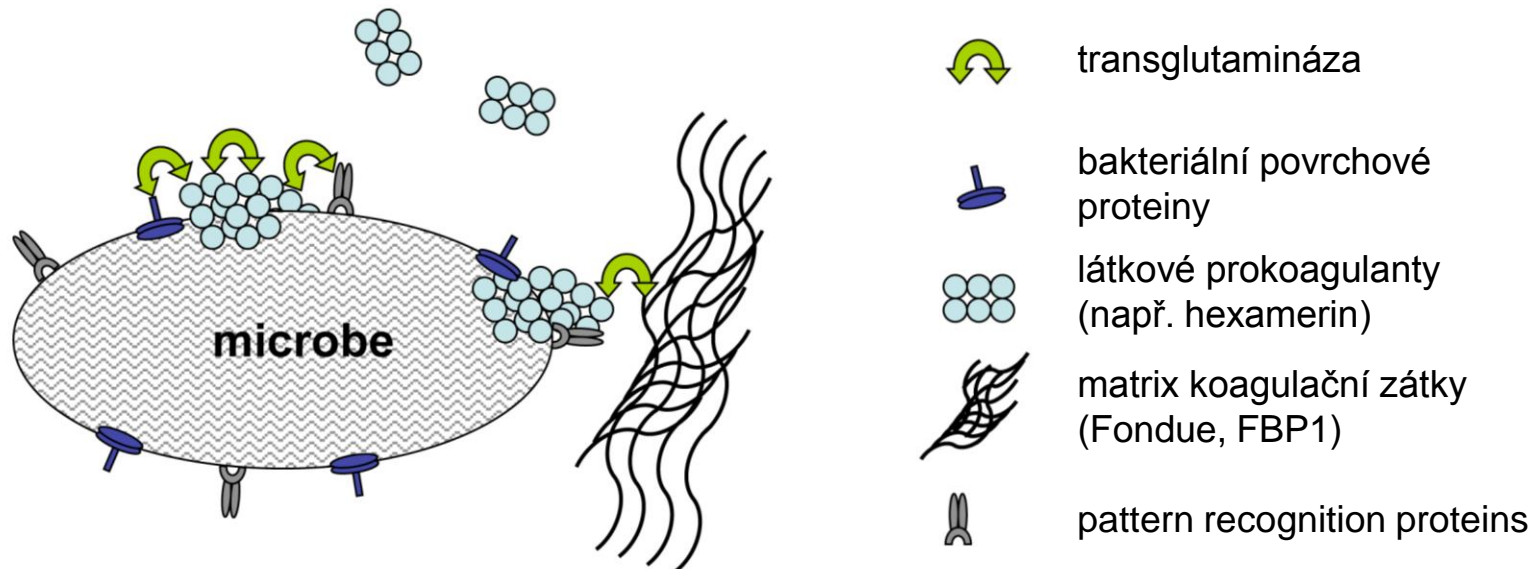
Transglutamináza má také imunitní funkci

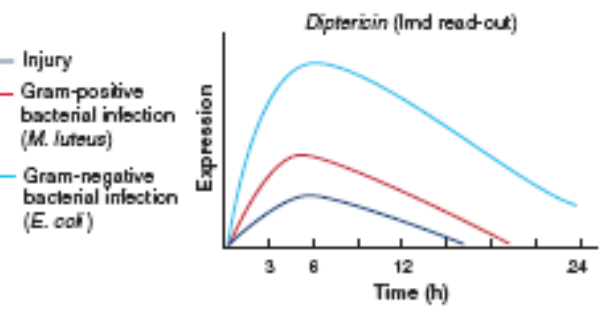
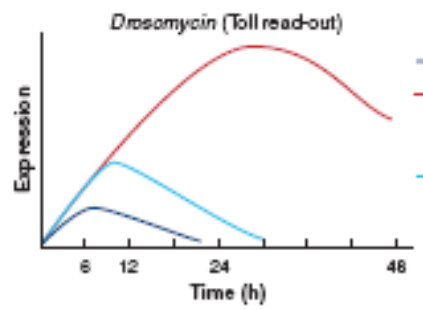
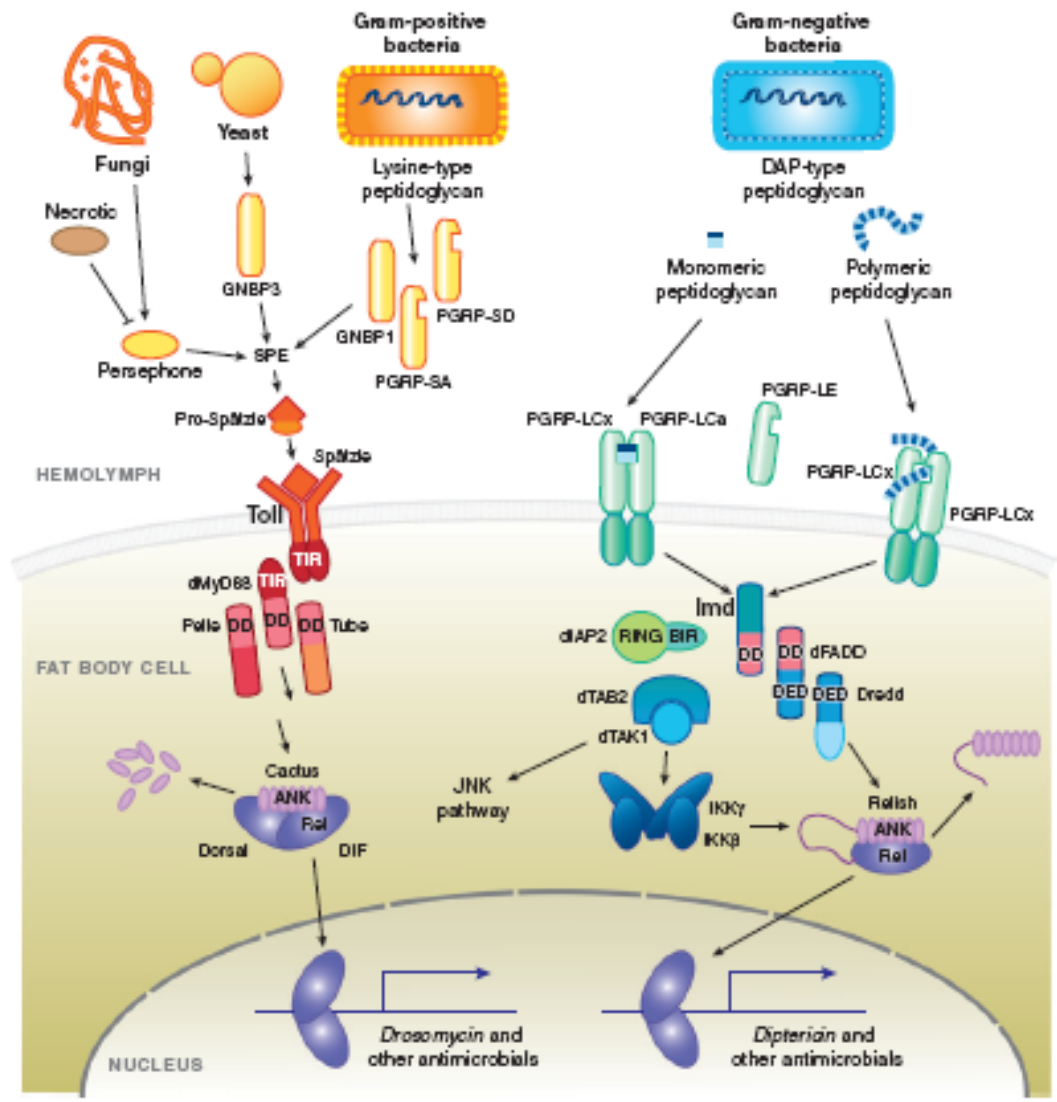
- centrální enzym koagulační kaskády
- homolog Faktoru XIIIa obratlovců
- infekce *H. bacteriophora*, 100 IJ na larvu, 22 °C:



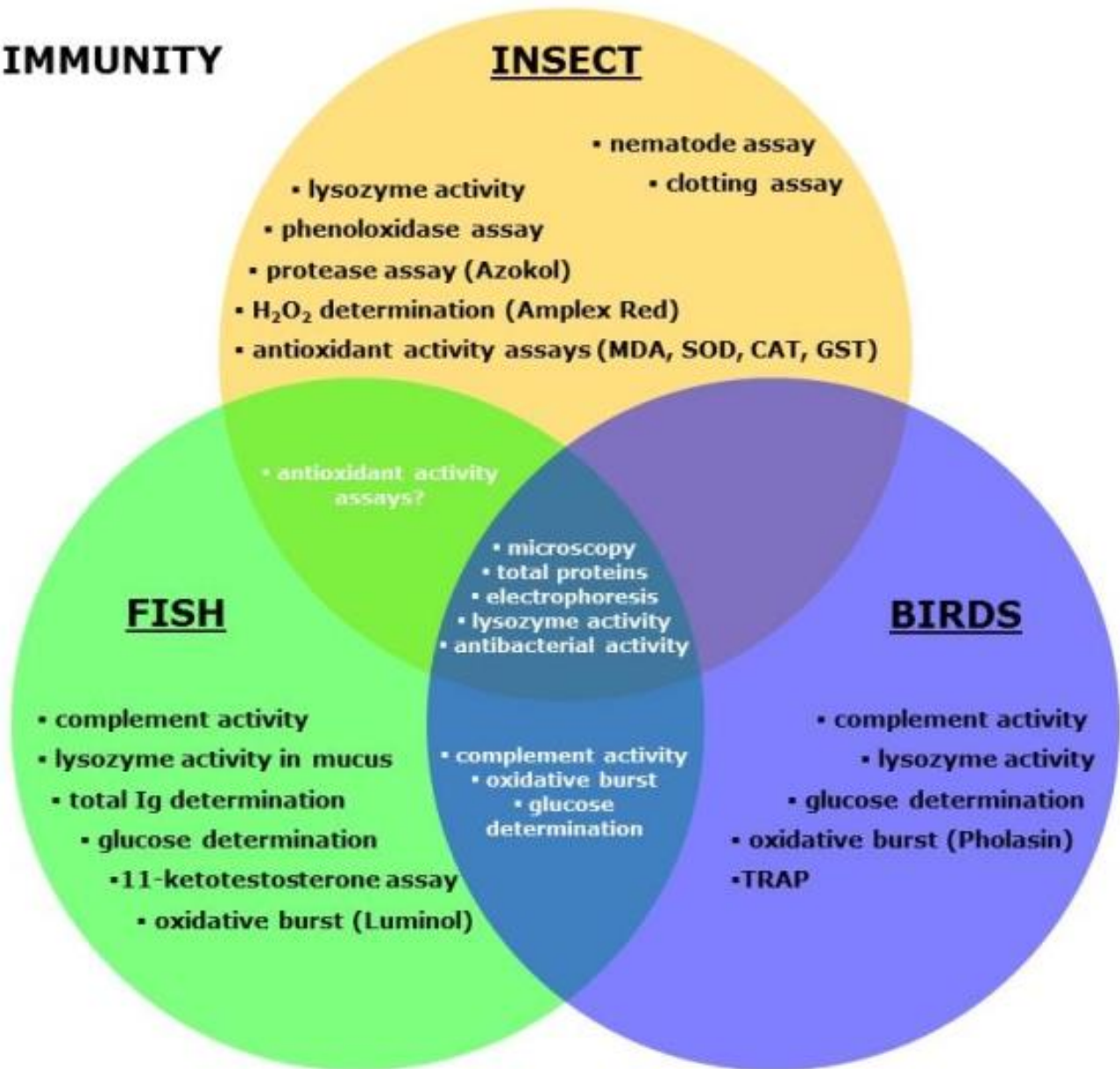
Transglutamináza má také imunitní funkci

- transglutamináza zprostředkuje zachycení bakterií prostřednictvím tvorby koagulační matrix





INNATE IMMUNITY

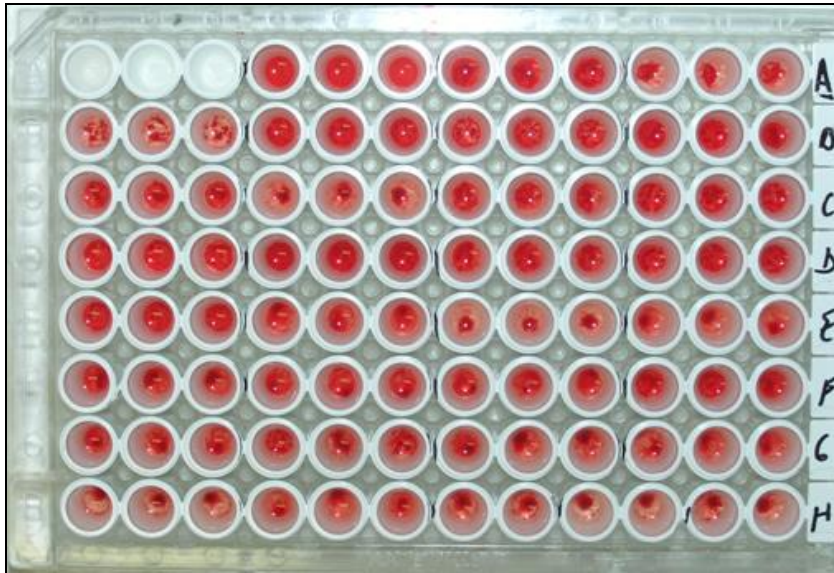


Komplement

- 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 μ l OZP (2,5 mg/ml)
- luminol



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 – 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 ± 1.15	1/64	227.42	$<<0.001$
Pohlaví	-5.74 ± 4.85	3/66	9.95	$<<0.001$
HL	0.97 ± 0.39	2/65	3.85	0.028
Komplement	-18.92 ± 4.71	2/65	8.56	0.0005
Pohlaví:HL	-1.29 ± 0.46	1/64	7.88	0.0073
Pohlaví:Komplement	16.28 ± 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.

