



ZEBRAFISKENS IMMUNSYSTEM PÅ FILM

Forfatterne



Louise von Gersdorff Jørgensen er adjunkt og forsker i fiskens immunsystem, fiskesygdomme og vaccineudvikling. lvgi@sund.ku.dk



Kurt Buchmann er professor og arbejder med interaktioner mellem vært og patogen samt bæredygtige løsninger i akvakultur. kub@sund.ku.dk

Institut for Veterinær Sygdomsbiologi, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet
Københavns Universitet

Forskningen beskrevet i artiklen er støttet af Villum Fonden og Det Frie Forskningsråd, Teknologi og Produktion

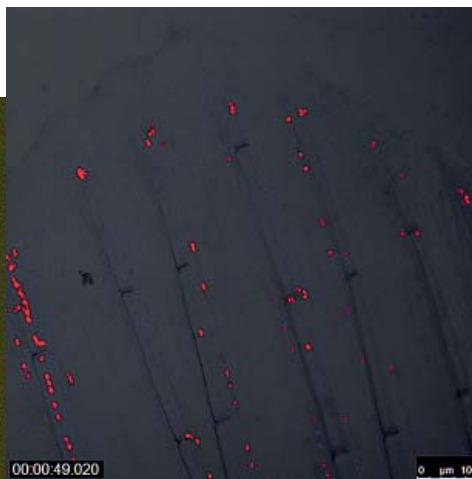
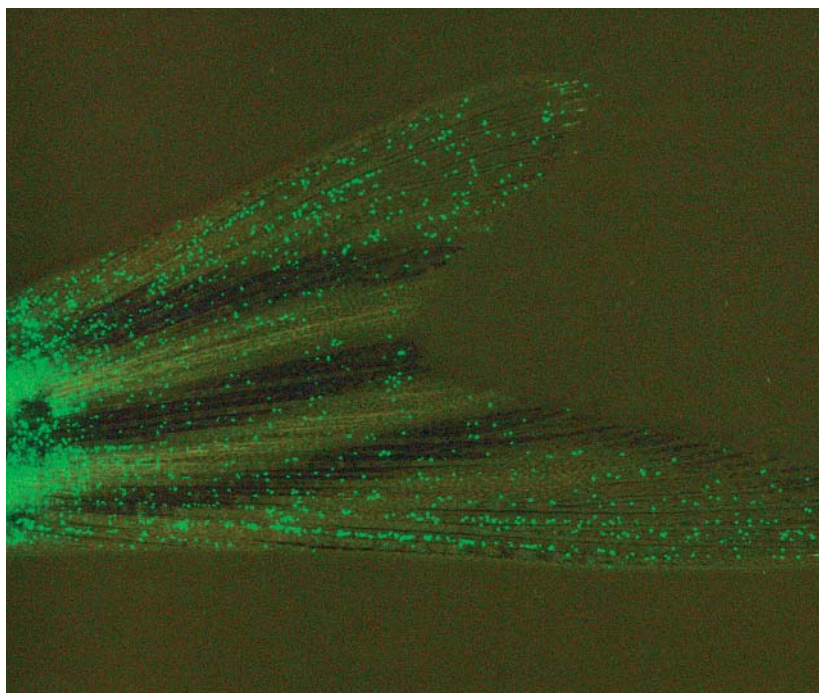
Ved hjælp af genmodificerede zebrafisk er det i dag muligt at filme fiskenes immunceller i aktion. Det kan give værdifuld viden om, hvordan fx parasitter er i stand til at undvige immunsystemet.

Zebrafisken er blevet en meget populær modelorganisme indenfor mange biovidenskaber. Den lille stribede fisk bruges, når forskere studerer fosterudvikling, genetik, aldring, immunologi og en lang række sygdomme, som bl.a. rammer mennesker. Fisken stammer oprindeligt fra det nordlige Indien, men er nu blevet et vigtigt redskab i de fleste moderne laboratorier. Der er mange fordele ved denne lille fisk, som er let at opdrætte i

laboratoriet, da den har en kort generationstid og får mange unger. For forskerne er det særligt interessant, at man kan følge fosterudviklingen direkte i mikroskopet, da både æg og larver er gennemsigtige. Hver eneste celledeling kan observeres, uden at man behøver manipulere med æg eller larver. Desuden kan man indsprøjtne farvestoffer eller genmanipulerende materialer i de enkelte celler for at undersøge deres adfærd og skæbne.

Designer-fisk

Der er blevet etableret en lang række stammer af forskellige genmodificerede zebrafisk, som er blevet specifikt fremstillet til forskellige formål. Man har fx udviklet stammer af zebrafisk med indbygget hjertefejl, Alzheimers, Parkinsons og tarmbetændelse, så man kan studere udviklingen af disse sygdomme. Og man har frembragt zebrafisk med fluorescerende signalstoffer eller celler. Specielt er varianter, der tillader præcise studier



↑ Screenshot fra video af neutrofilernes bevægelse i en finne med røde-fluorescerende neutrofiler.

← Halefinne fra en GMO zebrafisk med grøn-fluorescerende neutrofiler.

← ← En zebrafiske-variant med gennemsigtig hud ses inficeret med *I. multifiliis* (hvide pletter).

er af bestemte immunceller og deres funktion, meget værdifulde. Ved hjælp af fluorescerende immunceller som makrofager, neutrofile celler og lymfocytter i zebrafisken kan man direkte studere trafikken i immunsystemet.

Zebrafisk med sådanne egenskaber er fremkommet ved hjælp af den genteknologiske teknik kaldet CRISPR. Teknikken tillader forskerne at tilføje gener, som giver fisken en række nye egenskaber. Zebrafisk med fluorescerende celler gør det muligt at analysere disse cellers adfærd under forskellige påvirkninger. I de små fiskelarver kan man hurtigt få et totalt overblik over immuncellernes trafik og adfærd, og i de større voksne fisk kan man få et grundigt indblik i cellernes kamp mod indtrængende sygdomskim blot ved at kigge nærmere på finnerne. Finnerne er nemlig delvist gennemsigtige og kun få cellelag tykke, så derfor kan de enkelte celler skelnes.

Fiskerdræberen under lup

I vores forskning har vi brugt zebrafisk med fluorescerende celler til at studere fiskens reaktion på den sygdom, der kaldes fiskedræber eller hvidpletsyge. Sygdommen skyldes

en encellet ciliat (fimredyr) med navnet *Ichthyophthirius multifiliis*.

Parasitten er et alvorligt problem for fiskeopdræt verden over, ikke mindst i Danmark. Desuden tager snylteren livet af utallige fisk i akvarieindustrien. Der findes meget begrænsede behandlingsmuligheder og ingen forebyggende midler imod denne parasit.

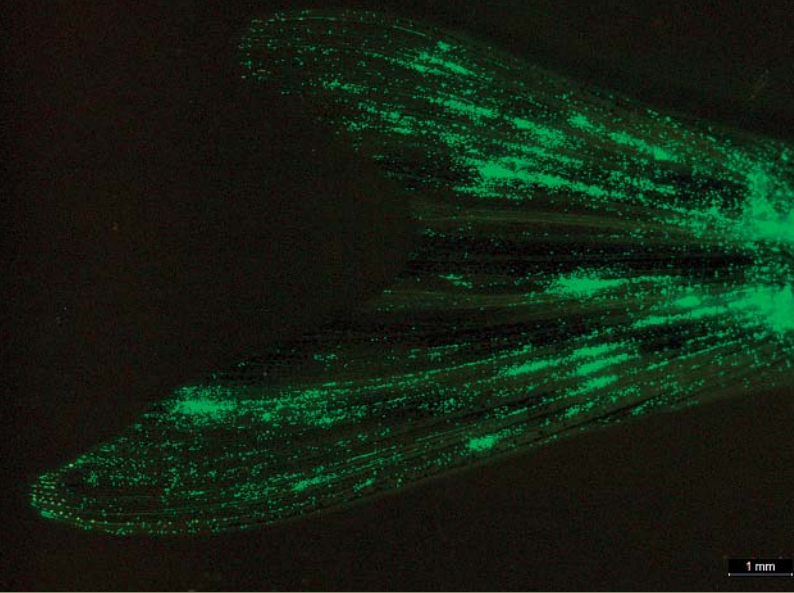
Med de genmodificerede zebrafisk har vi nu chancen for at gå i dybden med fiskens immunologiske respons, når den er under angreb af denne parasit. Parasitten angriber hud og gæller og borer sig ind i overfladen, hvor den i et stykke tid spiser fiskeceller og vokser sig stor. Den kan blive op til 1 mm i diameter og kan dermed ses med det blotte øje. Man ved ikke meget om zebrafiskens immunrespons imod denne parasit, og vi har derfor opstillet forsøg, der kan afsløre, hvorledes zebrafiskens neutrofile immunceller reagerer imod parasitten. Man ved, at neutrofile celler er meget vigtige i det allerførste respons, når vi bliver angrebet af sygdomsfremkaldende organismer, eller når vore indre og ydre overflader såsom lunger og mave-tarmsystem bliver brudt. De er de første celler, der ankommer til

skadesområdet, og de er effektive til at slå ihjel og genoprette normale tilstande i vævene.

Kampen i fisken

I vores forsøg udsatte vi genmodificerede zebrafisk, som havde fluorescerende neutrofile celler for 2500 fiskedræber-parasitter pr. fisk. Dernæst optog vi billeder af kamppladsen i fiskenes finner 24, 48 og 72 timer efter infektionen ved at lyse på fiskene med det rette fluorescenslys. Derved kunne vi tælle de fluorescerende celler på computeren og på den måde få en direkte kvantitativ måling af de neutrofile cellers reaktion på parasit-infektionen. Vi så en 4-dobling af antallet af neutrofile celler efter 24 timer, hvorefter antallet faldt de efterfølgende 2 døgn, men dog forblev højere end før infektionen.

Vi optog også adskillige videoer, hvor vi kunne se, at neutrofilerne kommer i direkte forbindelse med parasitterne, uden at parasitterne tager skade. Parasitter er kendt for at undvige værtens immunsystem, og her kunne vi direkte observere, hvilken mekanisme fiskedræberparasitten bl.a. benytter sig af for at holde værtens immunsystem i skak: Den æder simpelthen værtens



← En halefinne fra en GMO zebrafisk med grøn-fluorescerende neutrofiler 24 timer efter infektion med *I. multifiliis*. Det ses at de grønne neutrofiler akkumulerer omkring nogle af parasitterne.

→ Screendump fra video, der viser en roterende parasit (*I. multifiliis*) på halefinnen af en genmodificeret zebrafisk med grøn-fluorescerende neutrofile immunceller. De grønne celler ses både i forbindelse med parasitten og flydende forbi i blodårerne.



Videre læsning

I artiklen "Selvlysende bakterier og gennemsigtige fisk" fra *Aktuel Naturvidenskab* nr 3/2016 fortæller forfatterne mere om forskning i fiskedæberparasitten og et forsøg på at udvikle en vaccine mod denne sygdom.

På *aktuelnaturvidenskab.dk* kan du se videoer bl.a. med neutrofilernes bevægelse i en finne.

neutrofile celler, når de iler til kamp mod den indtrængende snylter. Vi kunne således både observere de fluorescerende celler indeni parasitterne, og vi så parasitter i færd med at spise cellerne.

Nye metoder – nye muligheder

Med disse helt nye metoder har vi altså en mulighed for at kigge helt ind i den levende fisk og analysere

immunresponset helt ned på celle-niveau. Vi kan følge enkeltceller eller følge en hel population af celler, og vi kan lave kvantitative målinger på deres adfærd og indbyrdes interaktioner.

Generelt åbner de genmodificerede zebrafisk en helt ny verden for bl.a. immunologer, hvor vi nu i detaljer har muligheden for at kortlægge

forskellige cellers adfærdsmønstre og funktion i afgrænsede områder på den voksne fisk. I larverne kan disse analyser omfatte hele fisken og inkludere mikroskop-teknikker til at kigge ind i alle organerne i fisken. Det kan også gøre os klogere på vores egen organisme, idet fiskens organer basalt set er opbygget på næsten samme måde som hos os mennesker. ■

annonce