

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 7

Issue 4

Gödöllő
2011



TRANSZGENIKUS ZEBRADÁNIÓ VONAL LÉTREHOZÁSA ÖSZTROGÉN HATÁSÚ ANYAGOK VIZSGÁLATÁHOZ

*Bakos Katalin¹, Csenki Zsolt¹, Kovács Róbert¹, Kánainé Sipos Dóra¹, Bencsik Dóra¹,
Yavor Hadzhiev², Kovács Balázs¹, Müller Ferenc², Urbányi Béla¹*

¹Szent István Egyetem, Környezet- és Tájgazdálkodási Intézet, Halgazdálkodási Tanszék, Gödöllő

²Institute of Biomedical Research, Department of Medical and Molecular Genetics, School of Clinical and Experimental Medicine, College of Medical and Dental Sciences, University of Birmingham,

Birmingham (Egyesült Királyság)

2103 Gödöllő, Páter Károly út 1.

Bakos.Katalin@mkk.szie.hu

Összefoglalás

Az ipar és a mezőgazdaság fejlődésével egyre többféle vegyi anyag jut a környezetbe, amelyek egy részének hatását még nem, vagy csak kevéssé ismerjük. Számos nagy mennyiségben kijutó, a hormonháztartást megzavaró anyag is található közöttük, amelyek többsége ösztrogén hatású. Ezek a vegyületek főként antropogén forrásokból kerülnek a szennyvízbe vagy a talajvízbe majd onnan a természetes vizekbe, veszélyeztetve a szennyezett vizekkel érintkező vízi ökoszisztémákat, ezért a vizekbe kerülő szennyezőanyagok kimutatása és hatásának vizsgálata nagy jelentőséggel bír.

Célunk ösztrogén hatású anyagok kimutatására és hatásának vizsgálatára alkalmas transzgenikus zebradánió (*Danio rerio*) vonal kialakítása volt.

A halakban, az emlősökhöz hasonlóan, a máj kiemelt fontosságú toxikológiai célszerv, amely számos kulcsfontosságú fehérjét pl. ösztrogén hatásra vitellogenint termel. A vonal létrehozásához ezért olyan génkonstrukciókat hoztunk létre egy Tol2 transzpozon alapú, Gateway klónozó rendszer segítségével, amelyben a vörös fluoreszcens fehérje (mCherry) kifejeződése az ösztrogén hatású anyagokkal indukálható vitellogenin gén szabályozó régiójának irányítása alatt áll.

A konstrukciót 1-2 sejtés vad típusú zebradánió embriókba injektáltuk, majd ösztrogén jelenlétében (100 ng/l E2) vizsgáltuk annak működőképességét. és a májban indukálható fluoreszcens fehérje expressziót tapasztaltunk. Az injektált lárvákat felneveltük és utódaikból létrehoztuk a transzgenikus vonal F1 nemzedékét, amelyben ösztrogén jelenlétében szintén májspecifikus fluoreszcens jel megjelenését



tapasztaltuk. A stabil vonal létrehozása, amelyben minden egyed homozigóta formában hordozza a transzgént, folyamatban van.

A vonal segítségével lehetőség nyílik ösztrogén hatású anyagok kimutatására, valamint azok májra és fejlődésre gyakorolt hatásainak vizsgálatára.

A munka OTKA (NNF 78834), KMOP-1.1.1-09/1-2009-0048 és Bolyai pályázatok támogatásával készül.

Establishment of a transgenic zebrafish line for testing estrogenic compounds

Abstract

Along with agricultural and industrial development more and more chemicals enter into the environment, however little is known about their effect. Many of these are endocrine disrupting chemicals, released in a high amount. Most of them are estrogenic compounds. From anthropogenic sources they get into the effluents, then to groundwaters and natural waters posing a threat to the exposed ecosystems. Therefore their detection and the investigation of their effects is of great importance.

Our aim was to establish a transgenic zebrafish line (*Danio rerio*) that enables the detection of estrogenic compounds and the examination of their effects.

In fish –like in mammals– liver is a key toxicological target, that produces a range of important proteins, like vitellogenin as a result of estrogenic effect. So in the Tol2 transposon based Gateway gene constructs –used for the establishment of the line– the expression of a red fluorescent protein (mCherry) is driven by the estrogen inducible vitellogenin promoter.

The construct was microinjected into 1-2 cell stage zebrafish embryos and following estrogenic treatment (100 ng/l E2) inducible liver-specific fluorescent signal was detected. Injected larvae were raised up, and from their offspring, the F1 generation was established. Fluorescent signal was also visible in the liver. The development of the stable, homozygous transgenic line is in progress.

The line will enable the detection of estrogenic substances and will be an appropriate tool for examining their effects on the liver and ontogenesis.

This work was supported by OTKA (NNF 78834), KMOP-1.1.1-09/1-2009-0048 and the János Bolyai Research Scholarship.