

# Zebrafisch

- Gewebe-Regeneration
- Embryonalentwicklung
- Bildgebende Techniken

# Gewebe-Regeneration

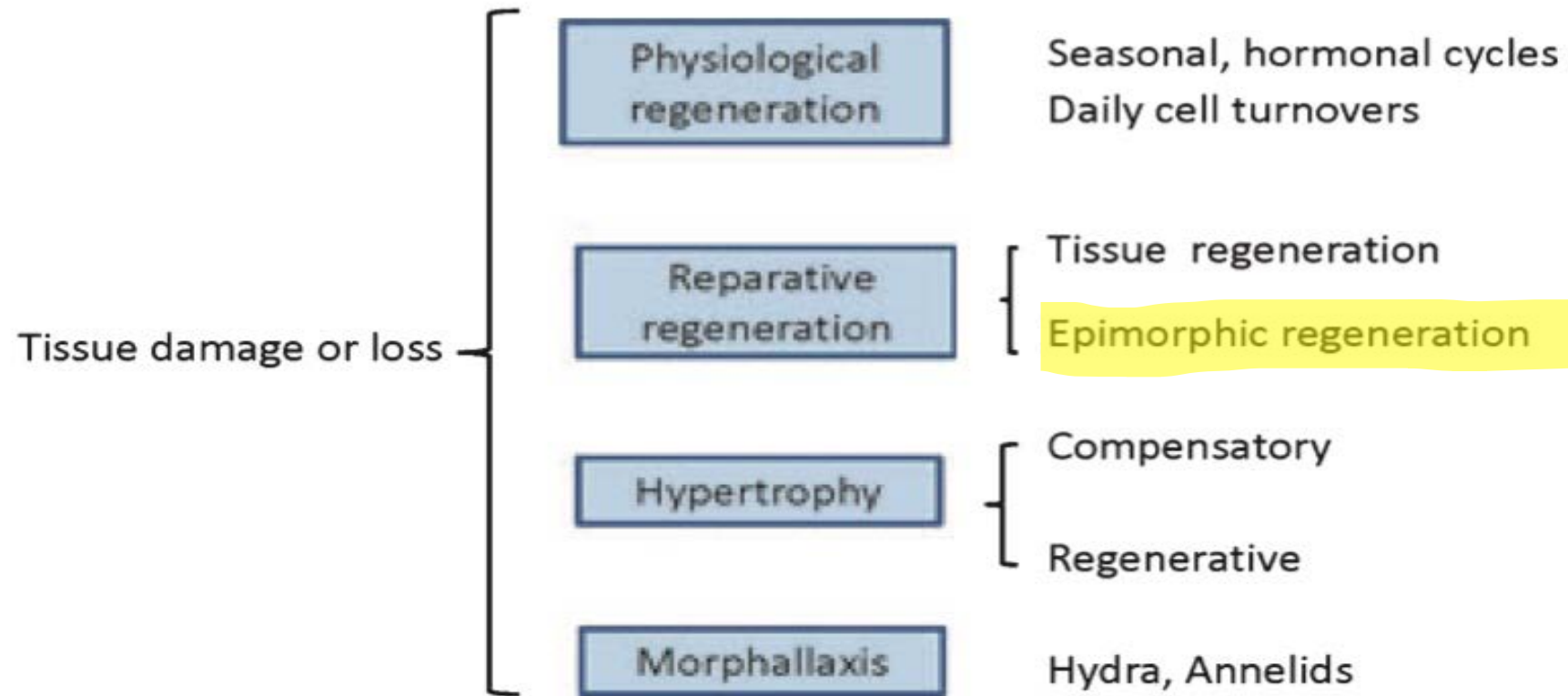
- Regeneration:

Reproduktion oder Wiederherstellung von einem verlorenen oder geschädigten Teil

Ein Prozess, bei dem neue Zellen in Reaktion auf Gewebeschaden gebildet werden

- Regenerationsfähigkeit der Fische ( Flossen, Herz, Retina, Rückenmark, Schuppen, Niere, Leber....)

# Gewebe-Regeneration



# Gewebe-Regeneration

- Epimorphische Regeneration

eine Art von Regeneration  
assoziiert mit der Blastembildung

- Blastem

Eine Menge von sich vermehrenden  
und nicht differenzierten  
Vorläuferzellen

3 Typen:

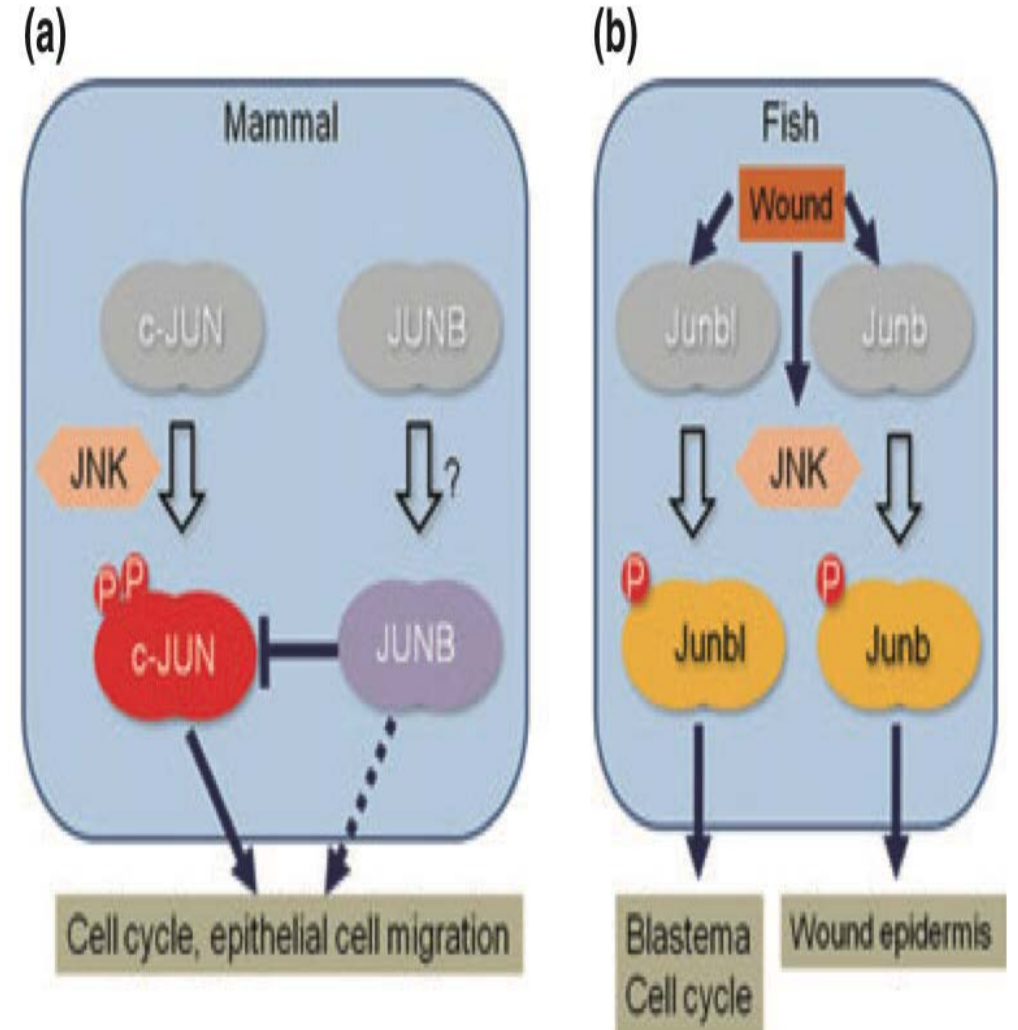
Distal, proximal, lateral

Anfängliche Osteoblasten

# Zebrafisch und Gewebe-Regeneration

Epitheliale Wundheilung bei vielen Arten und Geweben ähnlich, Regeneration nur in einigen Arten und Geweben

- Jun, Familie von Transkriptionsfaktoren, wichtige Rolle bei der Wundheilung
- Der Effekt von Jun Genfamilie, c-Jun und Junb, wird in Säugetieren sehr früh abgeschwächt
- Spezielle Auswirkungen von Junb und Junbl bei Zebrafisch bei Regenerationsprozess
- Junb Komponente und der Phosphorylierungsprozess in Abhängigkeit von JNK (Jun N-Terminale Kinase) ist bei der Regeneration von großer Bedeutung

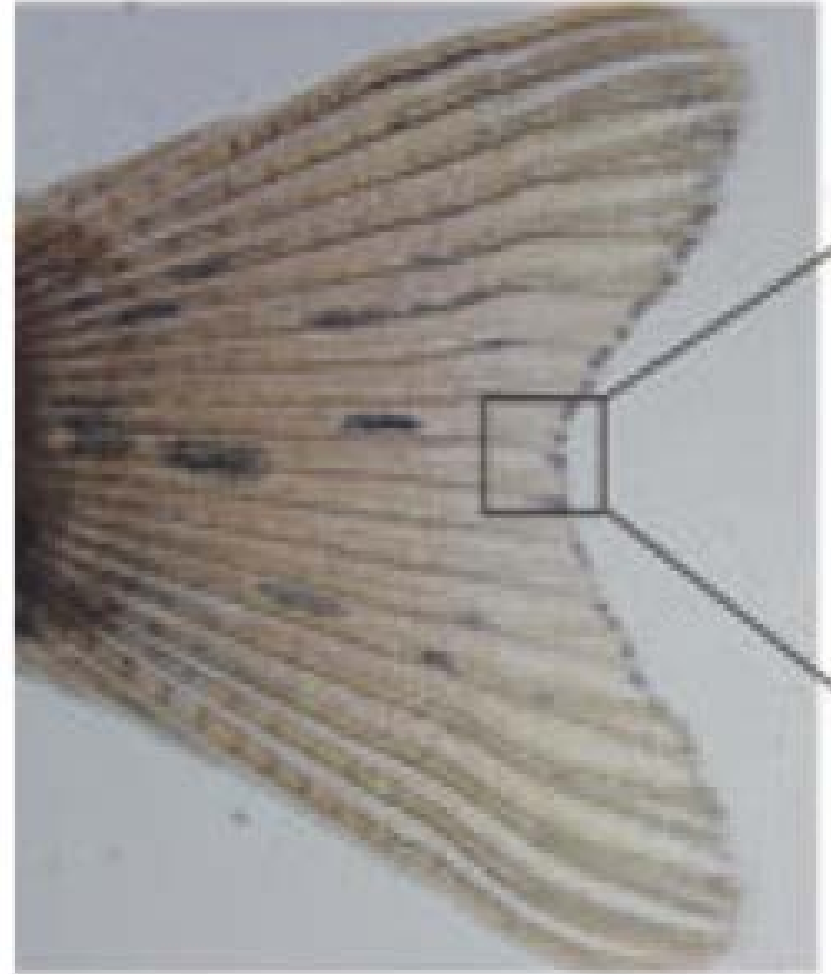


# Struktur von Fischflossen

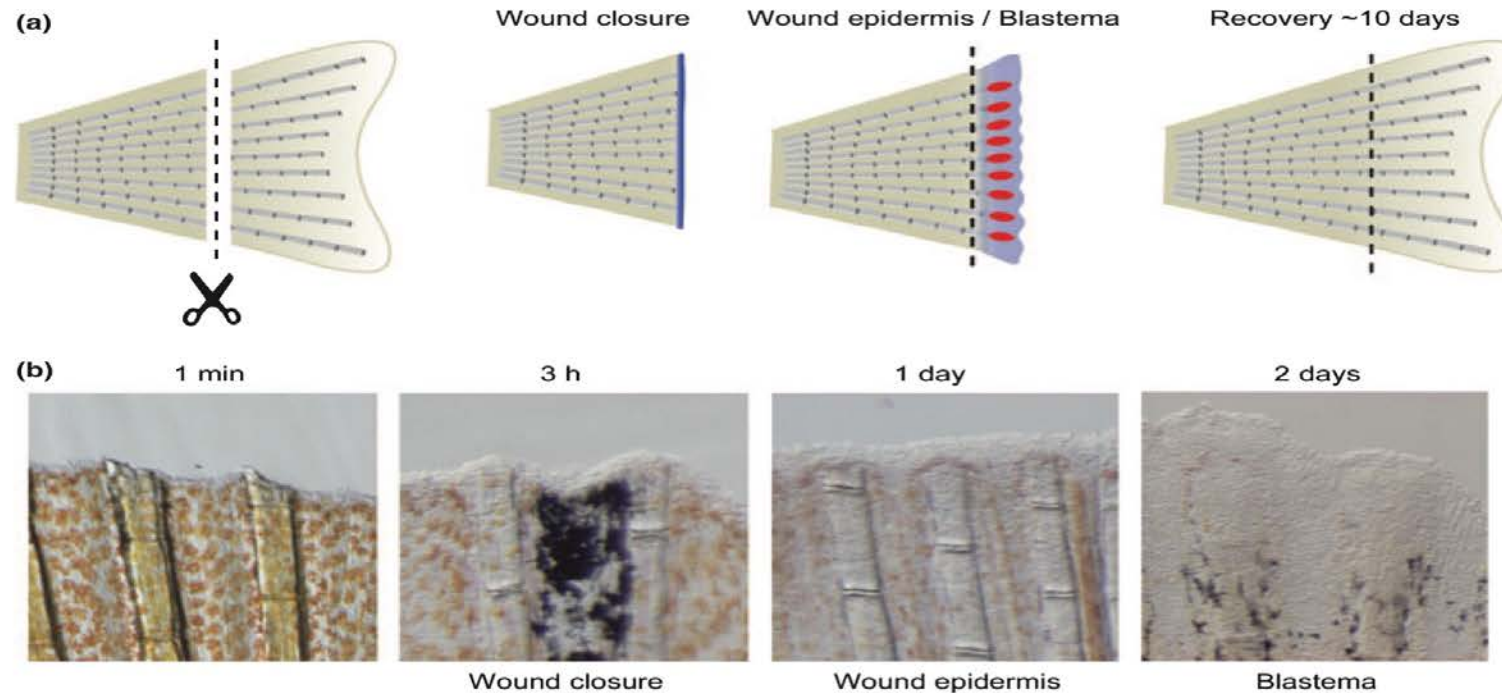
Die Flossen der Fische bestehen aus Flossenhaut

Durch ein Skelett aus Flossenstrahlen stabilisiert

Flossenstrahlen durch Osteoblasten gebildet



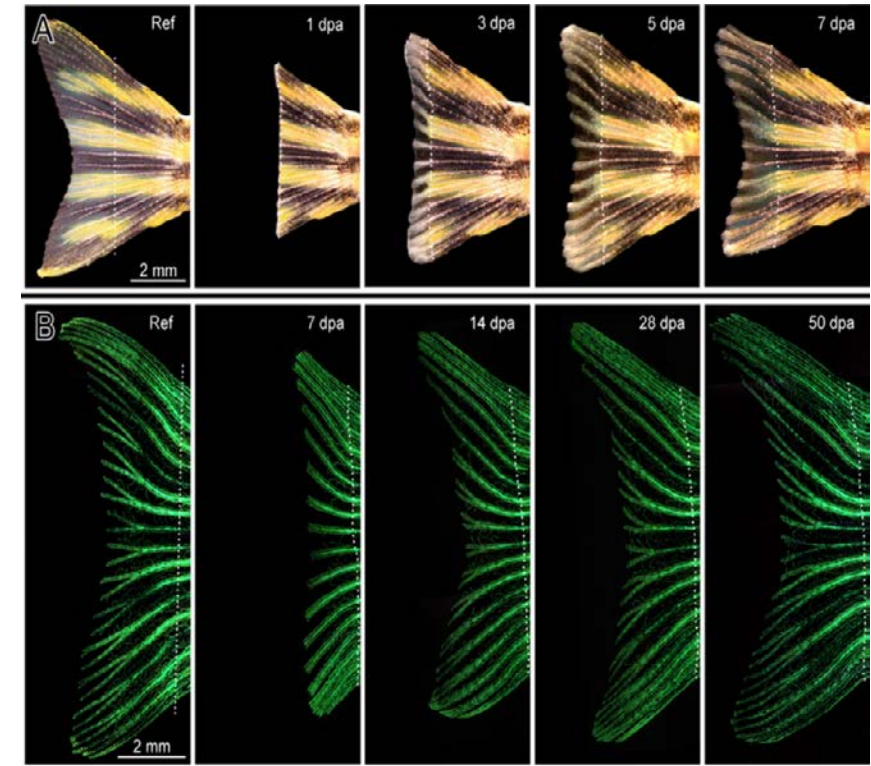
# Zebrafisch und Flosse-Regeneration



**Fig. 3.** Epimorphic regeneration in adult fish. Process of fin regeneration (a) and actual tissue appearances (b). After the amputation of an adult caudal fin, the amputated plane is covered with new epithelial cells by 3 h. However, a tight epithelial sheet is not formed at 3 h. The wound epidermis is formed by 1 day. In the following stages, the blastema (red ovals) is formed, and its active cell proliferation and growth recover the original fin morphology in approximately 10 days. Irregularly distributed black and golden spots are the chromatophores.

# Zebrafisch und Flosse-Regeneration

- Damit eine amputierte Flosse wieder neu aufgebaut werden kann, muss in kurzer Zeit eine große Anzahl neuer Osteoblasten entstehen
- Daher müssen Osteoblasten aus der Wundregion zunächst die Bildung von Knochensubstanz aufgeben und sich „verjüngen“,  
d.h. durch „De-Differenzierung“ in ein früheres Entwicklungsstadium zurückfallen
- Innerhalb des Blastems besteht ein gutes Gleichgewicht zwischen Vermehrung ( neue Osteoblasten-Bildung) und Spezialisierung (Knochenbildung)





# Struktur der Flossenfalte

- Flossenfalte von Zebrafisch-Larven als ein Modell für die Gewebe-Regeneration
  - Flossenfalte besteht aus Mesenchymzellen, bedeckt mit einer dünnen epithelialen Schicht
  - Die Zellen der Flossenfalte sind nicht differenziert
  - Nervenfasern von Rückenmark bis Flossenfalte, keine Blutgefäße
- (5 Tage nach der Befruchtung)
- Entstehung von anderen Flossen.....

2360 The Journal of Experimental Biology 215 (14)

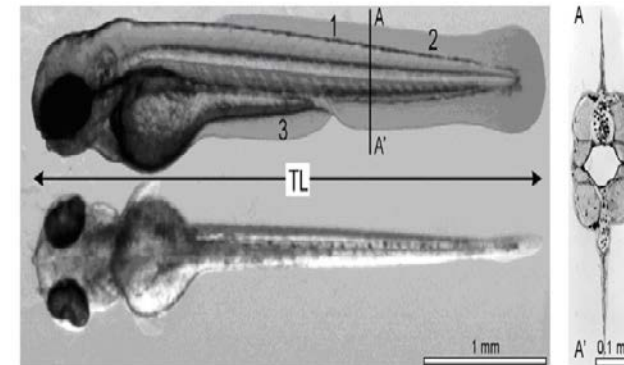


Fig. 1. Lateral (top), dorsal (bottom) and cross-sectional (A-A', right) view of a zebrafish (*Danio rerio*) larva at 4 days post-fertilization (d.p.f.). TL, total body length; 1, 2 and 3 indicate the dorsal, caudal and pre-anal sites, as explained further in Materials and methods.

# Zebrafisch-Larven als Regenerationsmodell

- Hohe Fruchtbarkeit von Zebrafischen, große Anzahl von Larven
- Larven für traditionelle molekularbiologische Methoden zugänglich, Knockdown der Gene durch Morpholino Antisense Oligonukleotid
- Geringe Größe von frisch geschlüpften Larven, Wasser als Habitat, geeignet für pharmazeutische Tests mit mehrfachen Petrischalen
- Trotz fehlender Zelldifferenzierung, gute Grundkenntnisse über die Regenerationsmechanismen, gute Ansicht der Zellen, die sich sehr rasch vermehren und Kontrolle der Zellquelle

# Zelluläre Quelle und Regeneration

- Unabhängig vom Regenerationstyp, zelluläre Quelle für die Zellerneuerung erforderlich

Blastemzellen:

nicht differenziert

Proliferationsaktivität

Quelle von neuen Zellen

- Zellbildung in Abhängigkeit von Gewebetyp und Ausmaß der Verletzung

Kleine Wunde >>>> Zellteilung von Epithelial- und Fibroblastzellen

Große Gewebeverletzung >>>> Epitheliale Wundheilung

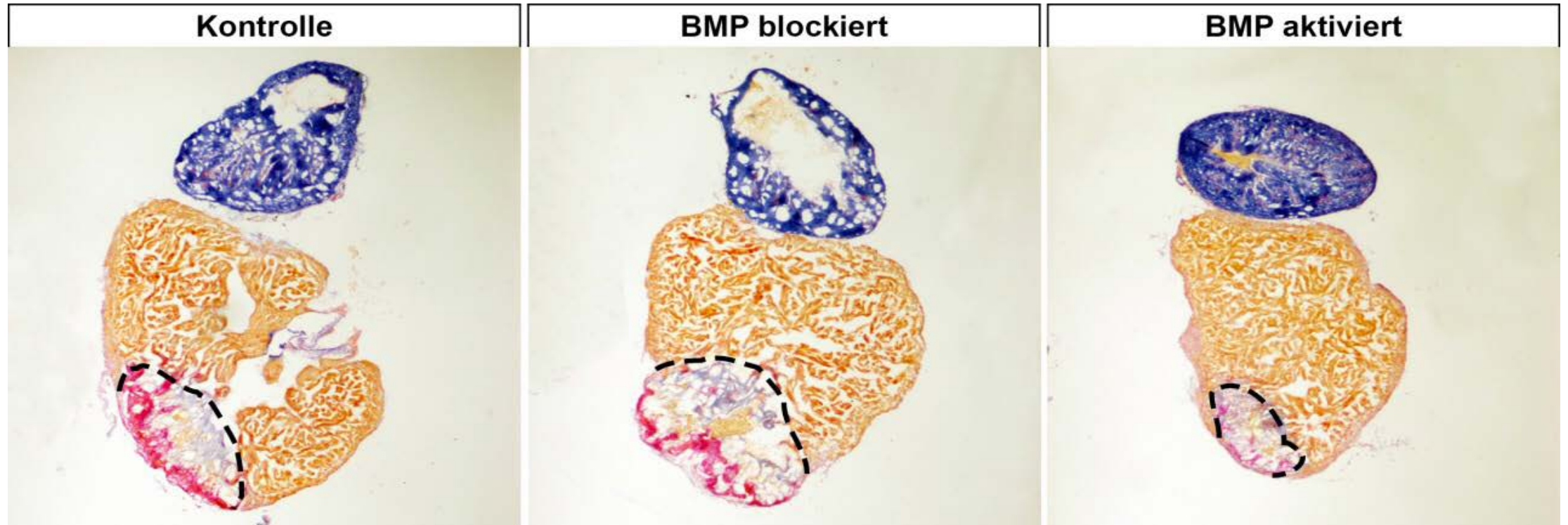
Proliferation von Stammzellen( Blastemzelle)

Bildung neuer Zellen

# Erneutes Herzwachstum

Bone morphogenetic Protein (BMP)

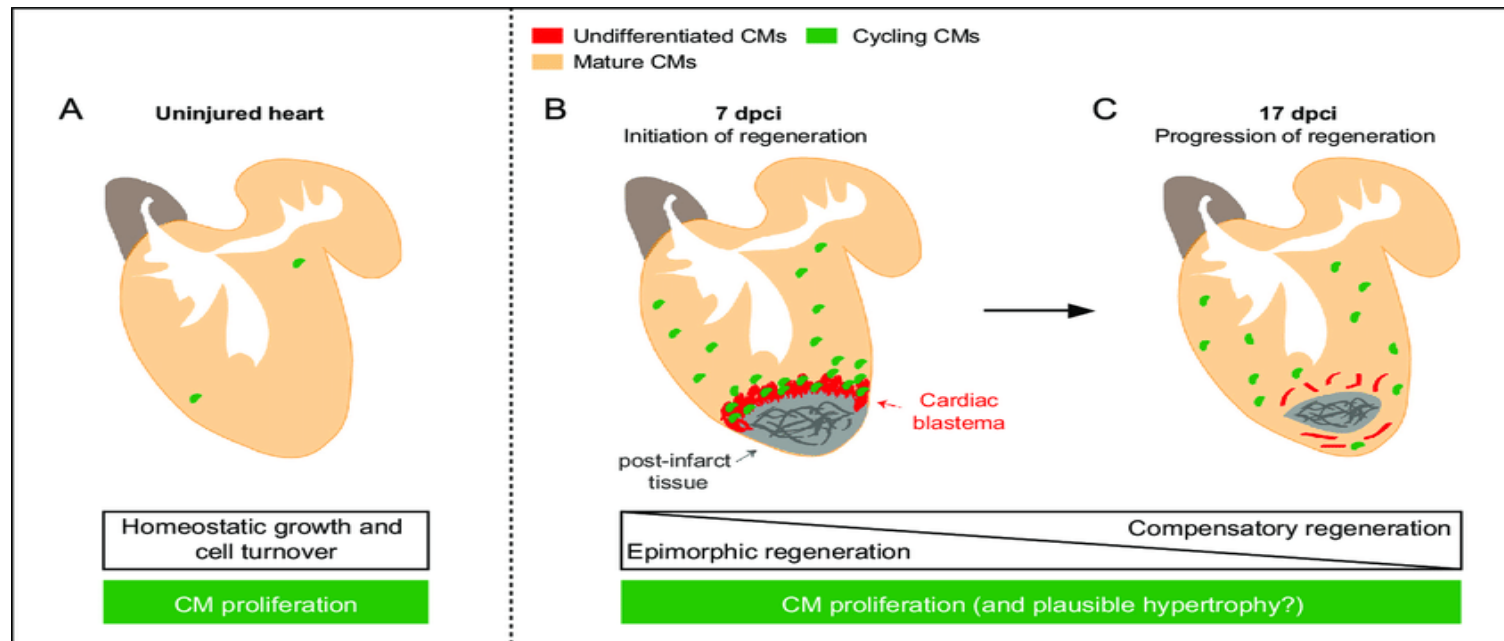
Signalprotein der Zell-Zell- Kommunikation



# Erneutes Herzwachstum

## Herz-Regeneration beim Zebrafisch

- Kardiomyozyten Proliferation als erste Zelluläre Quelle
- Günstige Situation zur Muskelbildung durch nicht muskuläre Zellen



# Embryonalentwicklung beim Zebrafisch

- Schnelle Embryonalentwicklung bei 28°C
- Nach der Befruchtung

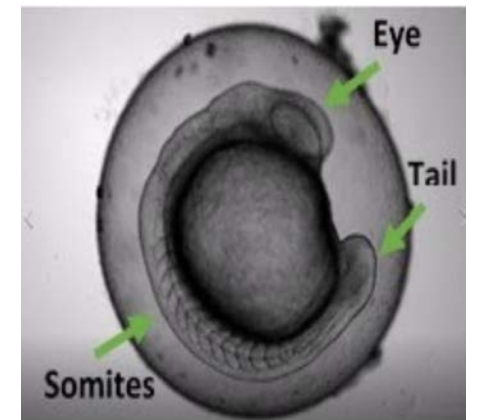
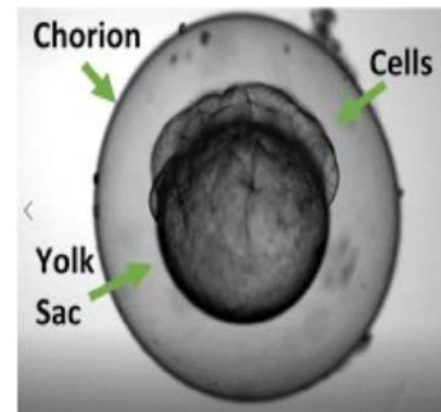
Chorion hebt sich vom Ei ab

Klares Zytoplasma bewegt sich zum animalen Pol

Keimscheibe (Blastoderm) trennt sich von Dottermasse



Abb. 7 - Die Furchung des Zebrafischembryos<sup>8</sup>



# Embryonalentwicklung beim Zebrafisch

- Meroblastische Furchung, 45 Min. nach der Befruchtung

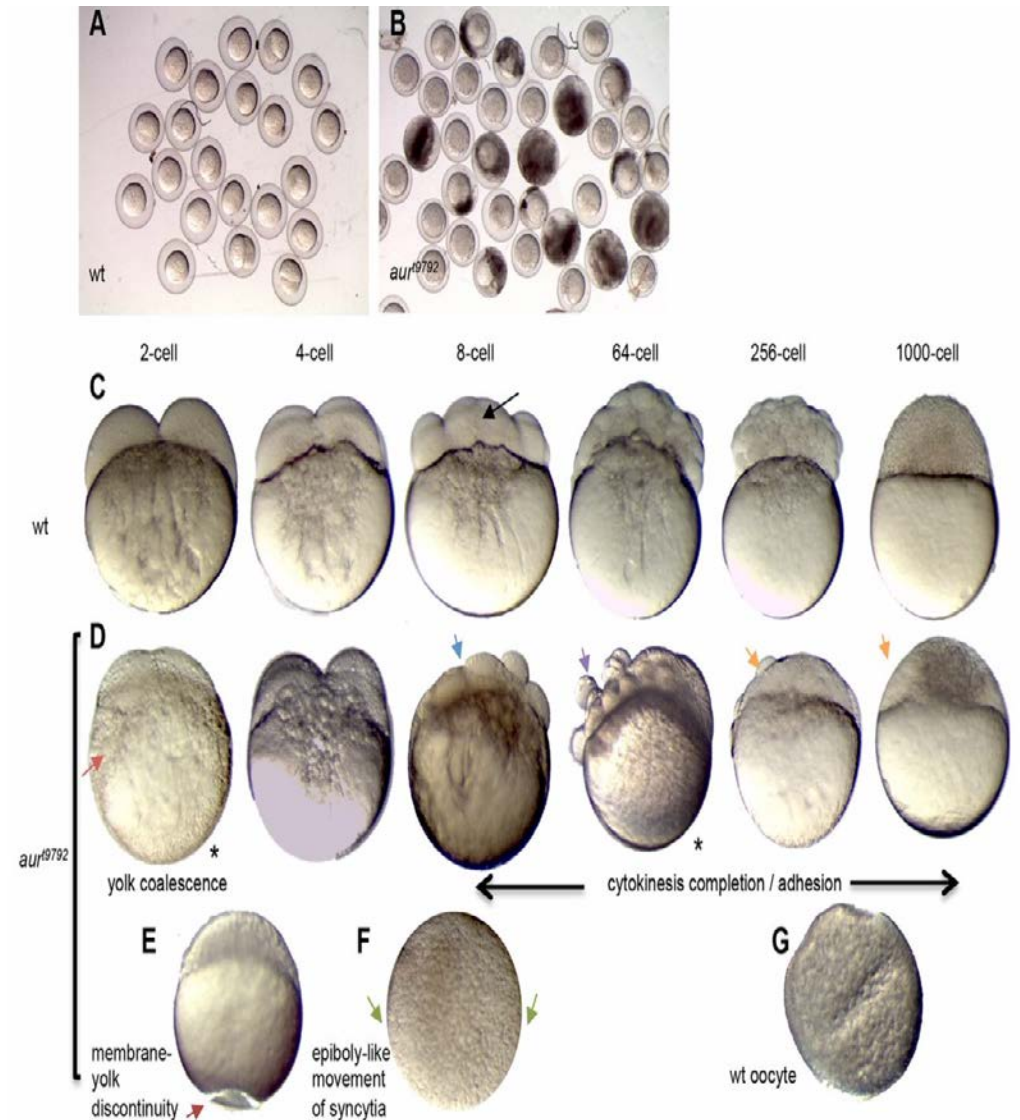
Jeder Zellzyklus dauert 15 Min.

- 4. Zellzyklus (8 → 16) völlige Abtrennung einiger Zellen vom Dotter, Marginalzellen noch in Verbindung

Blastomeren Entstehung im animalen Pol

- 10. Zellzyklus .... Midblastula Transkription .... Zellen beginnen ihr eigenes Genom zu transkribieren

- Zellbewegungen
- Kollabierte Marginalzellen
- vielkerniger Dotter
- Dotter Synzytium Schicht

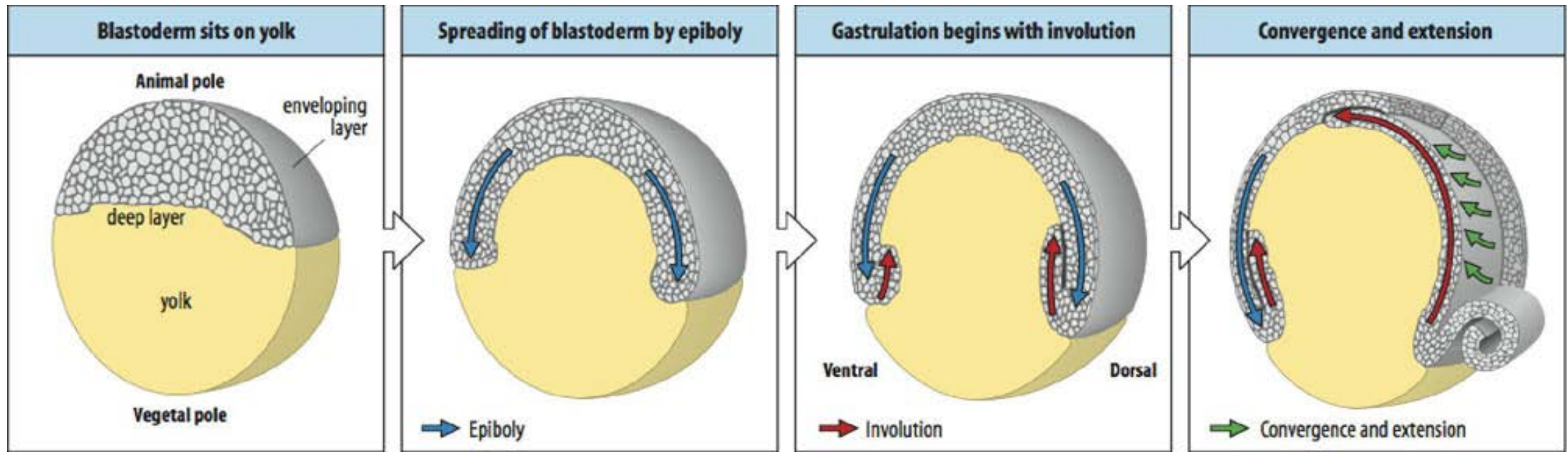


# Embryonalentwicklung beim Zebrafisch

- Epibolie

Haupttyp von Zellenbewegung durch Gastrulationsphase in der embryonalen Phase bei manchen Organismen

wie ZEBRAFISCH





# Embryonalentwicklung beim Zebrafisch

- Chorda

Ein urzeitliches Achsenskelett

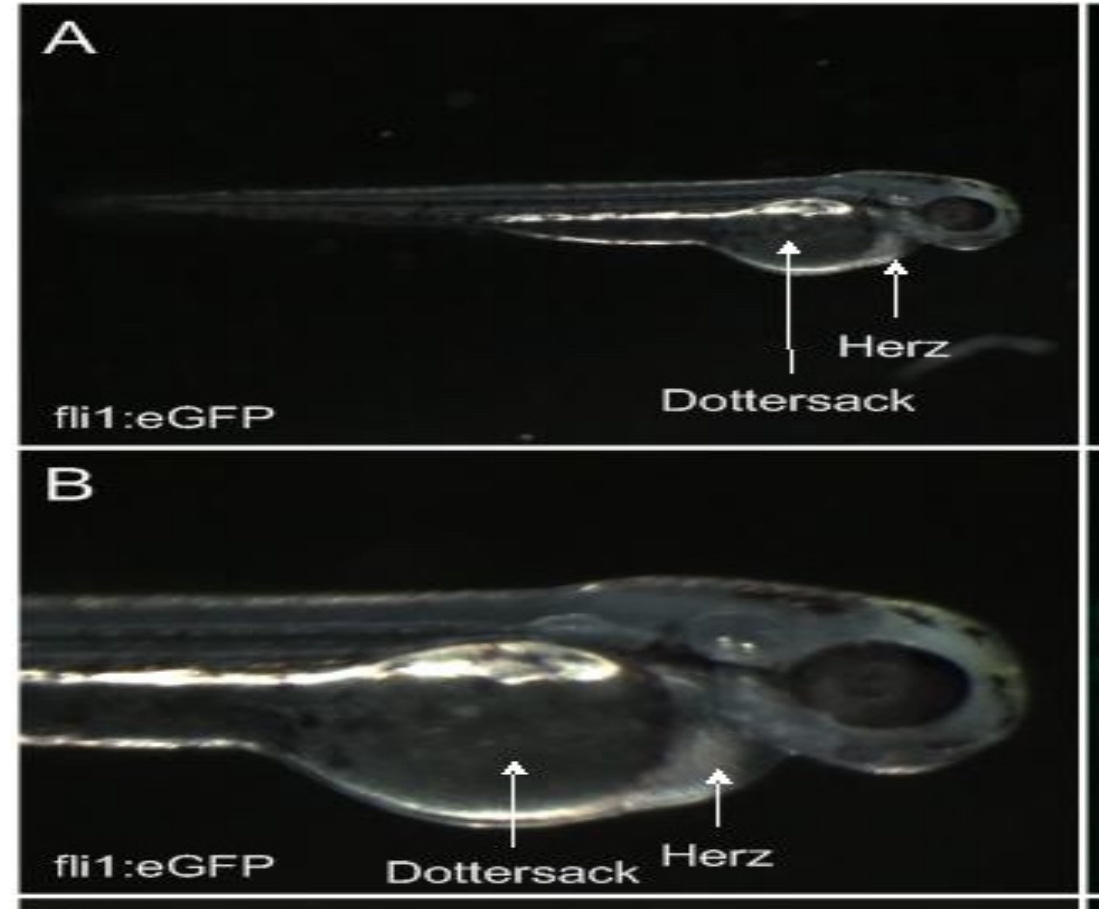
Wird später durch Wirbelsäule ersetzt



# Embryonalentwicklung beim Zebrafisch

- Dottersack

Beim Zebrafisch schlüpfen die Jungtiere nicht so weit entwickelt, 2 Tage nach der Befruchtung Dottersack als Nahrungsquelle



# Bildgebende Techniken

## Bildgebende Verfahren

Untersuchungstechniken für eine bildliche Darstellung von inneren Organen oder des Funktionszustands der Organe

Ultraschall

Röntgen

# Bildgebende Techniken

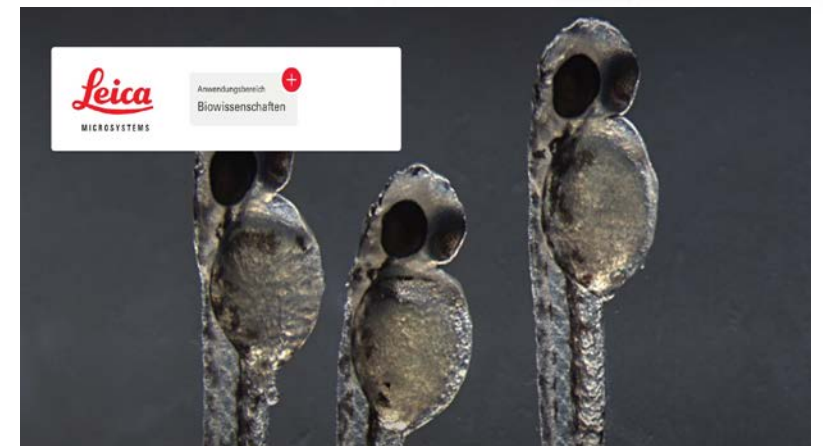
## Forschungsmikroskope von Leica Mikrosystem

- Hohe Auflösung mit großem Überblick  
effiziente Begutachtung und Analyse von Proben

- Große Anzahl an Zubehör

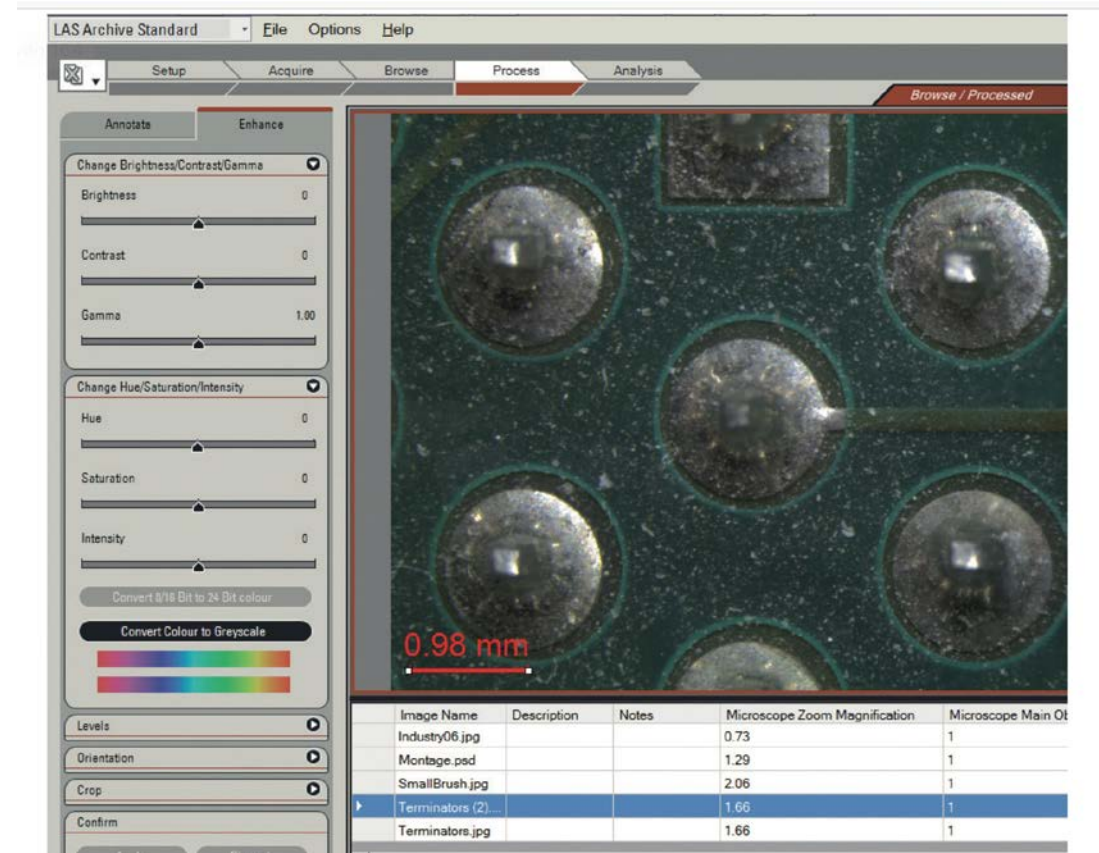
LED-Beleuchtungen

Kameras und Software zur Dokumentation,  
Auswertung und Analyse



# Bildgebende Techniken

- Leica Application Suite X (LAS X) ist die Softwareplattform für alle Leica Mikroskope
- LAS X führt Sie Schritt für Schritt durch den Analyseprozess
  1. wenn Sie Einstellungen ändern, können Sie Jede Veränderungen im Blick haben
  2. Schnelle Analyse-Assistenten zu reproduzierbaren Ergebnisse
  3. Analyse von mehreren Proben automatisch nacheinander



# Kurze Schlussfolgerung zur Regeneration

- Erwachsene Säugetieren sind nicht in der Lage, amputierte Körperteile nachwachsen zu lassen oder traumatische Verletzungen von Gehirn oder Rückenmark zu heilen
- 2 Hauptoptionen für die Heilung dieser Verletzungen:
  - 1) Einführung exogener Zellenquelle mit einer guten Einfügung und Anpassung an vorhandene Gewebe
  - 2) Anregung von körpereigenen Zellen zur Regeneration
- Zebrafisch hat ein großes Potenzial, die Aktivierung körpereigener Zellen für die Regeneration zu studieren



**Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!**