

**ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**  
**Katedra obecné zootechniky a etologie**



**Albinismus u myší a využití myších albínů jako zvířecích  
modelů pro studium vybraných lidských onemocnění**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**Autor práce: Karolína Machová**  
**Obor studia: Chovatelství (ATZP)**

**Vedoucí práce: Ing. Barbora Hofmanová, Ph.D.**

© 2017 ČZU v Praze

### Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Albinismus u myši a využití myších albínů jako zvířecích modelů pro studium vybraných lidských onemocnění" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne: 10. 4. 2017

Karolína Machová

## Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Barboře Hofmanové, Ph.D. za vstřícný přístup a odborné vedení mé bakalářské práce.

Nemalé díky patří i mé rodině za psychickou podporu.

# **Albinismus u myší a využití myších albínů jako zvířecích modelů pro studium vybraných lidských onemocnění**

## **Souhrn**

Zbarvení myší je ovlivněno více než 300 geny, ale na poruchu pigmentace známou jako albinismus, stačí mutace na jediném z nich – genu kódujícím enzym tyrozinázu (*Tyr<sup>c</sup>*). Pokud je tato alela v homozygotní sestavě, je tento enzym nefunkční nebo se nevytváří vůbec a reakční řetězec tvorby pigmentu, který tento enzym na mnoha místech katalyzuje, je tak přerušen. Příčinou albinotického zbarvení může být ale i poškození některého z genů zapojených do tvorby, diferenciaci a transportu funkčních melanocytů a dalších procesů. Tyto geny můžeme najít i u člověka a jejich funkce se zpravidla podobají těm u myší. Porucha jejich funkce s sebou často přináší důsledky projevující se nejen ve zbarvení, ale v životaschopnosti celého organismu. Jsou to například: *Sox10*, *Pax3*, *Mitf*, *Kit*, *Piebald*, *Slug*, *Trpm13*. Nicméně vliv na vitalitu jedince však může mít i sama *Tyr<sup>c</sup>* mutace, která ovlivňuje fitness také v interakci s jinými geny. Zvláště zrak je značně poškozen. Albínům chybí pigment v duhovce, takže do oka prostupuje velké množství světla, v důsledku čehož vidí neostře. Abnormální je i binokulární vidění či vývoj buněk sítnice. Zřejmě v důsledku těchto handicapů jsou myší albíni méně agresivní, sociálnější a ostražitější než pigmentovaní jedinci. V přírodě se albinotičtí jedinci často stanou kořistí nějakého predátora, proto v přírodě není spontánní mutace *Tyr<sup>c</sup>* rozšířená. V lidských chovech je tomu ale právě naopak. Bílé myši, stejně jako ostatní albinotická zvířata, byly odpradávná vyhledávanou raritou, dokonce jim byly přisuzovány i nadpřirozené vlastnosti, v pozdějších dobách se objevily v zájmovém chovu jako zvířecí společníci a daly vzniknout jedněm z prvních laboratorních kmenů myší. V laboratorních chovech se albinotické myši hojně rozšířily nejspíše díky jejich snadné manipulovatelnosti a možnosti využít albinismus jako vizuálního genetického markeru. Dnes jsou hojně zastoupeni jak mezi inbredními (A/J, BALB/cJ, FVB/NJ, HRS/J, NOD/ShiLtJ, SWR/J, ...), tak outbredními laboratorními kmeny (CD-1, NMRI, SW, ...). Využívají se ke zkoumání širokého spektra lidských onemocnění od nádorových onemocnění, přes psychické a nervové poruchy až po toxické působení různých chemických látek.

Klíčová slova: pigmentace, albinismus, myš, modelové zvíře, lidské onemocnění

# **Albinism in mice and the use of albino mice as an animal model for the study of selected human diseases**

## **Summary**

Mouse coloration is affected by more than 300 genes, but for the origin of the pigmentation disorder known as albinism, only sufficient mutation in one of them is needed – the gene encoding the enzyme tyrosinase (*Tyr<sup>c</sup>*). If this allele is in homozygous assembly, the enzyme is not working or is not produced at all and the reaction chain of pigment creation, which this enzyme catalyzes in many sections, is interrupted. The cause of albinotic coloration could also be a damage of the genes involved in the creation, differentiation and transportation of functional melanocytes and other processes. These genes can also be found in humans and their functions are usually similar to those in mice. Failure of their functions often brings consequences resulting not only in color alterations, but also in viability impairment of the whole organism. These include for example: *Sox10*, *Pax3*, *Mitf*, *Kit*, *Piebald*, *Slug*, and *Trpm13*. However, the influence on the vitality of the individual, may have *Tyr<sup>c</sup>* mutation itself, which affects the fitness also in an interaction with other genes. Particularly the vision is severely damaged. Albinos lack pigment in the iris, so a large amount of light penetrates into the eye, thereby distorting the sight. Also abnormal is binocular vision or retinal cells development. Possibly, as a result of these handicaps, albino mice are less aggressive, more social and more vigilant than pigmented ones. In nature albino individuals often become prey to predators, so this spontaneous *Tyr<sup>c</sup>* mutation is not widespread. The situation in human breedings is just the opposite. Albino mice, as well as other albino animals, have always been a sought-after rarity, even supernatural qualities have been attributed to them. In later times they became pets and gave rise to one of the first laboratory mouse strains. For laboratory breeding albino mice become widespread probably due to their easy handling and the possibility of the use of albinism as a visual genetic marker. Today they are abundantly represented among inbred (A/J, BALB/cJ, FVB/NJ, HRS/J, NOD/ShiLtJ, SWR/J, ...) and outbred laboratory strains (CD-1, NMRI, SW, ...). They are used for the examination of a wide spectrum of human diseases from cancer, via mental and nervous disorders, to the toxic effects of various chemicals.

Keywords: pigmentation, albinism, mouse, animal model, human disease

## Obsah

1	Úvod .....	1
2	Cíl práce.....	2
3	Přehled literatury .....	3
3.1	Mechanismus vzniku zbarvení u myší .....	3
3.2	Pojmy spojené s albinismem.....	4
3.2.1	Leucismus .....	5
3.2.2	Leukoderma .....	5
3.2.3	Parciální albinismus.....	5
3.2.4	Poliosis.....	5
3.2.5	Progresivní šedivění.....	5
3.2.6	Vitiligo .....	6
3.2.7	White spotting.....	7
3.3	Albinismus .....	10
3.3.1	Podstata vzniku albinismu .....	10
3.3.2	Vybrané mutace na Tyr lokusu s albinotickým nebo podobným fenotypem. ....	11
3.3.3	Vliv albinismu na fitness u myší.....	13
3.4	Bílá laboratorní myš .....	16
3.4.1	Historie a původ.....	16
3.4.2	Bílá myš jako modelový organismus.....	18
3.5	Druhy kmenů laboratorních myší.....	19
3.5.1	Kmeny geneticky definované (isogenní) .....	19
3.5.2	Kmeny geneticky nedefinované (neisogenní).....	21
3.5.3	Kmeny geneticky částečně definované.....	22
3.6	Vybrané inbrední albinotické kmeny laboratorních myší a jejich využití .....	24
3.6.1	Kmen A/HeJ (A Heston).....	24
3.6.2	Kmen A/J .....	26

3.6.3	Kmen A/WySnJ .....	27
3.6.4	Kmen AKR/J.....	28
3.6.5	Kmen BALB/cJ.....	28
3.6.6	Kmen BUB/BnJ .....	29
3.6.7	Kmen FVB/NJ .....	30
3.6.8	Kmen HRS/J .....	31
3.6.9	Kmen NOD/ShiLtJ .....	32
3.6.10	Kmen SWR/J .....	33
3.7	Vybrané outbrední albinotické kmeny a jejich využití .....	35
3.7.1	Kmen CD-1 .....	35
3.7.2	Kmen NMRI .....	35
3.7.3	Kmen SW (Swiss Webster) .....	36
4	Závěr.....	38
5	Seznam literatury.....	39

# 1 Úvod

Albinismus je v přírodě pro řadu živočichů obrovský handicap a myši domácí (*Mus musculus* Linnaeus, 1758) nejsou výjimkou. Jsou málo odolné, náchylnější k nemocem, hůř vidí a je větší pravděpodobnost, že je uloví predátor. Tyto nevýhody se ale v kontrolovaném laboratorním prostředí stírají a jejich chov je v podstatě bezproblémový. Je tedy možné využít jejich poruchu pigmentace pro lepší porozumění lidským pigmentačním poruchám, které postihují nemalé procento populace. Generalizovaný albinismus (okulokutánní) je velmi vzácné onemocnění, ale i tak se tento problém týká odhadem 17 000 lidí. U ostatních hypopigmentačních poruch, jako jsou okulární albinismus, vitiligo, leukoderma a další, je výskyt ještě častější.

Výzkum lidských onemocnění na myších je možný díky tomu, že lidská a myší DNA si jsou velmi podobné. Téměř každý gen, který můžeme u člověka nalézt, najdeme také u myši. Regiony s geny kódující proteiny jsou shodné z asi 85 %, největší rozdíly poskytují nekódující „junk“ sekvence. S rozvojem biotechnologií a kompletním zmapováním lidského a myšího genomu se vědcům dostaly do rukou cenné nástroje k odhalení funkce každého z genů a tím i jejich vlivů na rozvoj konkrétních onemocnění. Přední světové laboratoře dokáží dnes pomocí genových manipulací (vypínáním genů, přenosem genů na různá genetická pozadí, ...) vytvořit myš takřka na objednávku, pro konkrétní potřeby daného experimentu.

K laboratorním účelům se používají různé bílé myši, a ne každá z nich ve svém genomu nese v homologní sestavě alelu *Tyr<sup>c</sup>*. Proto jsem se rozhodla v první části práce vysvětlit určité pojmy, které se s bílým zbarvením pojí, jak u myši, tak u člověka a charakterizovat některé geny, které se na vzniku bílého zbarvení u myši mohou podílet. Vlastní charakteristika a používání konkrétních albinotických myších kmenů v medicíně následuje v druhé polovině práce.



## **2 Cíl práce**

Cílem práce je sestavit literární rešerši zaměřenou na albinismus u myši a využití myši s albinismem při studiu vybraných lidských onemocnění. Popsat albinismus u myši, zjistit, jaké jsou mechanismy jeho vzniku a jak ovlivňuje myši fitness. Dále charakterizovat často používané albinotické kmeny myši z hlediska jejich využívání jako modelových zvířat při studiu lidských onemocnění a pokusit se stanovit, proč jsou právě albinotické myši v laboratorním výzkumu tak frekventované.

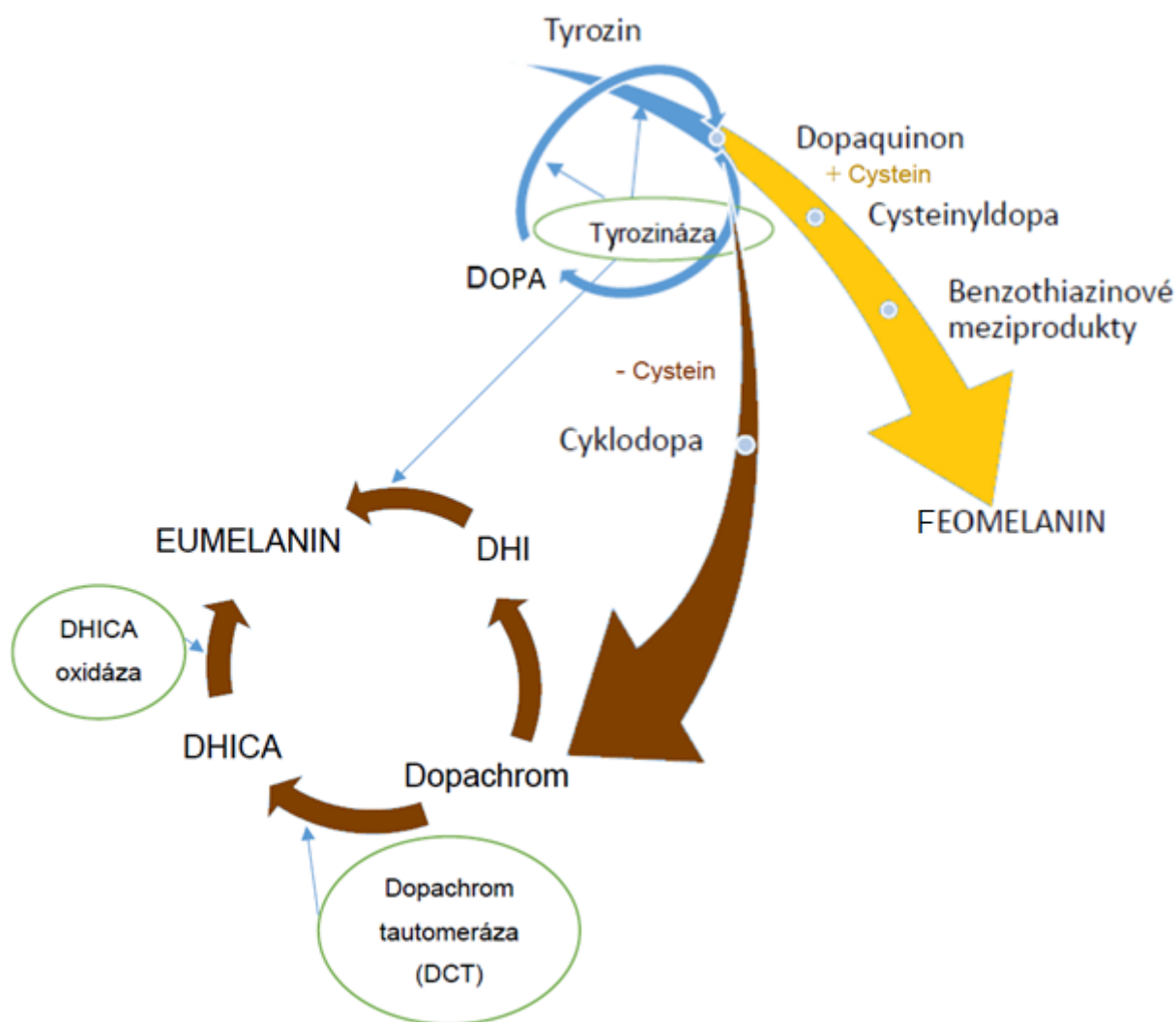
## 3 Přehled literatury

### 3.1 Mechanismus vzniku zbarvení u myši

Za finálním zbarvením myši srsti stojí mnoho složitých na sebe navazujících procesů, a pokud neproběhnou, nebo dojde k jejich narušení, pigmentace nevznikne – zvíře bude albinotické. Lamoreuxová et al. (2010) shrnují tyto procesy do čtyř po sobě jdoucích bodů, které jsou ovlivněny více než 300 geny:

1. Vývoj melanocytů
2. Jejich diferenciaci, tvorba melanozomů
3. Regulace typu melaninu v melanozomech
4. Transport melanozomů z melanocytů do přilehlých keratinocytů

Za vnějším zbarvením obratlovců stojí právě pigmentové buňky melanocyty. Ty ve své cytoplasmě obsahují specifické organely melanozomy, ve kterých se ukládá pigment dvou druhů: hnědý nebo černý eumelanin a červený (žlutý) feomelanin. Jejich produkce je řízena geneticky a mohou být produkovány buď stejnými, nebo různými melanocyty. Podle Lamoreuxové et al. (2010) není u myši feomelanin běžně produkován v kůži mimo vlasové folikuly jako je tomu například u lidí nebo králíků. Myši mohou produkovat feomelanin pouze v kůži ocasu a uší. Stejně jako u ostatních savců je distribuce pigmentů, ať už v rámci těla nebo jediného chlupu, řízena čtyřmi lokusy: Agouti (A), Extension (Recesivní žlutá, E), a černým nebo hnědým (B). Jak popisují Lamoreuxová et al. (2001), proces tvorby těchto dvou pigmentů je poměrně složitý a probíhá přes řadu meziproductů. Společným prekurzorem eumelaninu i feomelaninu je dopaquinon, který vzniká z tyrozinu působením enzymu tyrozinázy. U velmi reaktivního dopaquinonu dochází k intramolekulární cyklizaci (v nepřítomnosti thiolových sloučenin) vedoucí až k tvorbě eumelaninu. Tento heterogenní polymer je tvořen z jednotek 5,6-dihydroxyindol-2-karboxylové kyseliny (DHICA) a 5,6-dihydroxyindolu (DHI) v oxidovaném nebo redukovaném stavu a pyrolových jednotek. Pokud do reakce zasáhnou nějaké thiolové sloučeniny (např. cystein), vzniknou cysteinyldopy, thiolové adukty na dopa, jejichž následná oxidace vede přes benzothiazinové meziproducty ke tvorbě feomelaninu.



Obrázek 1: Schematické znázornění tvorby eumelaninu a feomelaninu  
Upraveno podle: Lamoreux et al. (2010)

Prekurzory melanocytů jsou nepigmentované melanoblasty, které vznikají z pozdně se objevující populace buněk neurální lišty migrující pod kůží (Britsch et al., 2001).

Melanocyty v kůži, vlasových (chlupových) folikulech, stromatu duhovky a bělimy, vnitřním uchu a dalších tkáních ale nejsou jediné buňky, v nichž se vyrábí melanin. Další takové buňky jsou oční melanocyty odvozené ze základu centrální nervové soustavy. Oproti oválným melanozomům kožních melanocytů však mají jejich melanozomy kulovitý charakter (0,6–0,8 μm) a nejsou předávány keratinocytům kožních buněk (Lüllmann-Rauch, 2012).

### 3.2 Pojmy spojené s albinismem

Albinismus můžeme v širším slova smyslu chápat jako bílé zbarvení. Za vznikem různých druhů bílého zbarvení však stojí různé příčiny a albinismem můžeme nazvat pouze poruchy zapříčiňující vznik nepigmentovaných melanocytů, které jsou jinak životaschopné.

V následujícím výčtu jsou rozebrány pojmy, které se mohou projevovat bílým zbarvením, či jinak souvisí s albinismem, ale neměly by se s ním zaměňovat.

### **3.2.1 Leucismus**

Pojem leucismus používáme v živočišné říši u částečně zbarvených jedinců. Zvířata mají alespoň v minimálním množství zachovanou tvorbu pigmentu. Díky této formě zbarvení mají tmavé oči a na těle je patrná přirozená kresba (Vokurka et Hugo, 2008). Leucismus je často používán jako obecné označení hypopigmentace, při které nejsou přítomny melanocyty v kůži, nehledě na její příčinu.

### **3.2.2 Leukoderma**

„Světlá skvrna na kůži z nedostatku nebo úplného chybění pigmentu.“ (Kraus et al., 2008)  
Vzniká nejčastěji v důsledku kožního zánětu.

### **3.2.3 Parciální albinismus**

Je ekvivalent pro výraz white spotting užívaný u lidí. I když v dnešní literatuře se častěji používá výraz piebaldismus (More et al., 2011; Licout Otero et al., 2012; Aviña Fierro et Hernández Aviña, 2014). Výraz „parciální albinismus“ může být zavádějící, protože na rozdíl od albinismu chybí v depigmentovaných oblastech melanocyty.

### **3.2.4 Poliosis**

Jedná se o specifická ložiska bílých vlasů, řas, vousů, v nichž chybí melanin (Vokurka et Hugo, 2008).

### **3.2.5 Progresivní šedivění**

Progresivní šedivění u myší je podobné vitiligu u člověka. Jedná se sice také o progresivní ztrátu melanocytů, ta se ovšem neprojevuje depigmentovanými skvrnami na kůži. Většina melanocytů se totiž u myší nachází v cibulkách chlupových folikulů. Odtud jsou melanozomy transportovány do okolních keratinocytů rostoucích chlupů. Během línání, které probíhá u myší ve vlně od čenichu k ocasu, jsou pigmentové buňky, které obývají oblast kořínku chlupu, nahrazeny dceřinými buňkami kmenových buněk z oblasti chlupové cibulky nebo výklenku chlupu (Lamoreux et al., 2010). Kvůli ztrátě melanocytů myší srst šediví s každou další výměnou srsti.

Na tomto procesu se podílí mnoho genů a signálních drah, jednou z nich je i *Notch* parakrinní signální dráha. Podle výzkumu Schouweyové et al. (2006) jsou receptory NOTCH1 a NOTCH2 významné pro zabránění apoptóze melanoblastů chlupových folikulů a výsledný účinek na fenotypový projev šedivění závisí na počtu funkčních alel. Aubin-Houzelsteinová et al. (2008) rozšířili poznatky o funkci *Notch* dráhy i na zabránění kmenovým buňkám melanocytů v diferenciaci tam, kde k ní dojít nemá – mimo chlupovou cibulku, dále kontroluje jejich migraci do chlupové cibulky a následnou diferenciaci ve funkční melanocyty.

### 3.2.6 Vitiligo

Autoimunitní onemocnění postihující 0,5–1 % populace (Essien et Harris, 2014). Vzniká na rozdíl od white spotting až po narození progresivní ztrátou melanocytů z kůže a vlasových folikulů. Toto onemocnění, jak stanovila Vitiligo Global Issues Consensus Conference (VGICC) v roce 2011, se dělí na vitiligo/nesegmentální vitiligo, segmentální vitiligo a nezařazené formy vitiliga. Člověk postižený nesegmentálním vitiligem má na sobě depigmentované skvrny různého průměru s tendencí k symetrickému rozložení po těle. Na rozdíl od nesegmentálního vitiliga zůstávají tělní chloupky pigmentované, vlasy mohou v průběhu onemocnění vybělet (Ezzedine et al., 2012). Ze shrnutí současných poznatků Ezzedinea et al. (2015) vyplývá, že přesto, že se jedná o nejčastější depigmentační poruchu, zůstává jeho příčina neznámá a účinná léčba na něj neexistuje.

Myši jsou pro toto onemocnění vyhledávaným modelem, i když hlavně jako model, u kterého je vitiligo různými způsoby indukované. Existují sice myší modely, které spontánně vykazují depigmentaci spojenou se ztrátou melanocytů, ta však nemá stejnou příčinu jako u člověka. Mezi takové modely by bylo možné zařadit například kmen C57BL/6J-*mi*<sup>vit</sup>/*mi*<sup>vit</sup>. U něj, jak popisují Lamoreuxová et al. (1992), je příčinou depigmentace mutace v genu *Mitf*, ten je ale u člověka spojen s Waardenburgovým syndromem. Metod, jak získat indukovaný myší model, je celá řada. Essien a Harris (2014) je rozdělují na postupy využívající vytvoření melanocytárního stresu následovaného destrukcí chemickou cestou nebo postupy imunizování myší antigeny melanocytů s imunitními adjuvanty k vyvolání reakce imunitních buněk a geneticky pozměňující postupy za účelem zvýšení frekvence melanocyt-reaktivních T-lymfocytů. Pro studium onemocnění, jako je vitiligo nebo leukoderma, jsou vhodnější myši pigmentované, protože případná ztráta melanocytů je při experimentu ihned vidět pouhým okem. Ze studie Abeové et al. (2016) vyplývá, že se používají ale i myši albinotické, například jako kontrolní vzorek.

### 3.2.7 White spotting

Bílé skvrny na břiše, hlavě, ocase, bílé „popepření“ nebo bílé pásy na těle myši mohou být, jak popisují Baxter et al. (2004), způsobeny chybami v průběhu vývoje melanocytů od proliferace a přežití až po vstup do chlupových folikulů a obnovu melanocytů kmenových buněk. Tyto děje u myši ovlivňuje více než 25 genů zapojených do buněčné signalizace pro regulaci buněčného přežití, regulace transkripce genů, proliferace a dalších funkcí. Jsou to například:

#### 3.2.7.1 *Sox10*

Tento gen řídí mimo jiného vývoj melanoblastů a expresi *Trp-2* genu (tyrosinase-related protein 2). Je exprimován v migrujících melanoblastech a jeho vliv na ně, vedle mnohých dalších procesů ve vývoji myšího embrya, zkoumali Britsch et al. (2001) na *Sox10<sup>lacZ</sup>* myších s cílenou deaktivací tohoto genu. Zaměřili se přitom na expresi genů typických pro melanocytární linii (*c-Kit*, *Trp-2* a *Mi*) v melanoblastech. U heterozygotů *Sox10<sup>lacZ</sup>/Sox10<sup>+</sup>* bylo pozorováno snížení počtu buněk vykazujících přítomnost těchto genů zhruba o polovinu u homozygotů *Sox10<sup>lacZ</sup>/Sox10<sup>lacZ</sup>* až úplná absence. *Sox10* přímo ovlivňuje počet melanoblastů jejichž pokles se u heterozygotů pohybuje, v závislosti na použitém markeru, mezi 50–80 %. Pigmentové vady u dospělců však nejsou tak markantní, z čehož můžeme předpokládat, že jejich ztráta je částečně kompenzována během dalšího vývoje.

U člověka způsobují mutace na *Sox10* ojedinělé onemocnění Waardenburgův-Shahův syndrom, označovaný také jako WS IV, který je charakteristický Hirschsprungovou nemocí, sensorineurální hluchotou, depigmentací kůže, chlupů a duhovky.

#### 3.2.7.2 *Pax3 – Splotch*

Pro myši je mutace se ztrátou funkce na tomto genu v homozygotní sestavě letální již v embryonální fázi vývoje a vykazuje acefálii, srdeční vady, abnormality v utváření ocasu a končetin. U heterozygotů se projeví pouze bílými skvrnami na břiše, zádech a ocasu (Baxter et al., 2004).

U člověka jsou mutace na *Pax3* spojeny s Waardenburgovým syndromem typu I a III s různými fenotypovými projevy zahrnujícími např.: depigmentace, abnormality horních končetin, hluchota způsobená absencí kochleárních melanocytů a další (Wollnik et al., 2003; Baxter et al., 2004).

Tyto dva geny (*Sox10* a *Pax3*) jsou exprimovány ještě před specifikací melanoblastů. Interagují mezi sebou navzájem a i s dalšími signálními geny, s kterými působí na zahájení specifikace všech tří buněčných linií neurální lišty. Vedle vývoje pigmentových buněk tedy také participují na gliové a nervové buněčné linii (Lamoreux et al., 2010).

Mezi geny potřebné pro počáteční migraci melanoblastů patří *Mitf*, *Kit*, *Kitl* (dříve jako *Steel*, *Sl*), *Ednrb* a *Edn3*.

### 3.2.7.3 *Mitf* – Microphthalmia

*Mitf* je, jak píše Steingrímsson (2008), klíčový pro vývoj melanocytů a epitelových pigmentových buněk sítnice. Působí ale i na žírné buňky a osteoklasty. Proto myši s mutací se ztrátou funkce na tomto genu vykazují mikroftalmii, nedostatek žírných buněk, bílé zbarvení a někdy i osteoporózou.

U myši na tomto lokusu můžeme nalézt více než 20 alel, které kódují různé fenotypové vlastnosti, jako je zbarvení srsti, vývoj očí, osteoklastů a žírných buněk. U člověka způsobuje mutace v tomto genu Waardenburgův syndrom (Johnson et al. 2011).

### 3.2.7.4 *Kit* (*W*, *c-Kit*, Dominant white spotting) a *Kitl* (dříve *Sl* lokus, *Steel*)

*Kit* kóduje membránový receptor na povrchu pigmentové buňky pro tyrozin kinázu a *Kitl* jeho ligand, který je umístěn na buňkách a tkáních, kterými melanocyty migrují. Jejich spojení aktivuje replikaci, migraci a ve výsledku i přežití melanoblastů a melanocytů (Lamoreux et al., 2010). *Kit* a *Kitl* dále ovlivňují primordiální zárodečné buňky a hemopóezu, takže jedinci s mutací na jednom z lokusů často hynou krátce po narození. Přeživší jedinci bez funkční alely na *Kit* nebo *Kitl* či s kombinací mutací na těchto lokusech jsou anemičtí, sterilní, bílí s tmavými očima. Heterozygoti s bílými skvrnami na ventrální části těla a hlavy (Baxter et al., 2004; Reissmann et Ludwig, 2013).

U člověka způsobuje mutace na *Kit* vrozenou anomálii známou jako piebaldismus. Typická jsou pro ni ohraničená ložiska bílých vlasů a leukoderma, oboje způsobené odchylkou v embryonální migraci melanoblastů (Oiso et al., 2013).

### 3.2.7.5 Piebald (*S*, *Ednrb*, Endothelinový receptor typu B) a Lethal spotting (*Ls*, *Edn3*, Endothelin 3)

*Ednrb* gen na myším chromosomu 10 kóduje receptor pro endothelin 3. Tento jeho ligand kódovaný *Edn3* je exprimován okolní tkání neurální lišty. Podle Houa et al. (2004) je *Ednrb*

potřebný k vývoji melanoblastů v tyrozinázu pozitivní stádia, není však nezbytný pro zahájení diferenciace pigmentové buněčné linie.

Při homozygotním zastoupení obou alel (*Ednrb<sup>s</sup>/Ednrb<sup>s</sup>* nebo *Edn3<sup>ls</sup>/Edn3<sup>ls</sup>* – ale byly objeveny i jiné alely se ztrátou funkce) popisují Pla a Larue (2003) vzniklé fenotypy jako téměř kompletní ztrátu pigmentace s výjimkou malých částí na kořeni ocasu a hlavě, aganglionické megakolon (absence nervových buněk) v distální části tlustého střeva. U *Ednrb<sup>s</sup>/Ednrb<sup>s</sup>* může mít mutace i mírnější projevy.

Podobně jako je tomu u *Sox10*, je i tento lokus spojen s Waardenburgovým-Shahovým syndromem. Za určitých podmínek může narušení *Ednrb* – *Edn3* systému vést ke vzniku melanomu.

#### 3.2.7.6 *Slug*

U obratlovců jsou známy dvě rodiny proteinů kódované tímto genem – *SNAI1* (snail) a *SNAI2* (slug/slug). Podle výzkumu Pérez-Losady et al. (2002) je u myši mutace se ztrátou funkce na *Snai2* spojena s vývojovými poruchami kožního, gonadálního a hematopoetického charakteru. Pigmentační změny u genotypu *Snai2<sup>-/-</sup>* jsou pravděpodobně následkem narušení migrace nebo přežití pigmentových kmenových buněk. Kromě White spottingu u myši je tento gen také spojován s Waardenburgovým syndromem typu 2 (Sánchez-Martín et al., 2002) a piebaldismem u lidí (Sánchez-Martín et al., 2003; Yang et al., 2014)

#### 3.2.7.7 *Trpml3 (Mcoln3)* – Varitint-Waddler

TRPML3 je jeden ze tří savčích iontových kanálů na nitrobuněčných endozomech a lysozomech z rodiny TRPML, kódovaný genem *Mcoln3* (nebo také mukolipin 3) patří mezi mukolipiny (Atiba-Davies et Noben-Trauth, 2007). Varitintův-Waddlerův fenotyp je výsledkem spontánní mutace dvou alel (*Va* a *Va<sup>f</sup>*) na chromosomu 3. V dominantní alelové sestavě se u takto postižených myši projevuje hluchotou, embryonální letalitou a částečným bílým zbarvením, které je zřejmě následkem endozomální nebo lysozomální dysfunkce. Přesná role TRPML3 v endolysozomálním systému však ještě není dostatečně prozkoumána (Grimm, 2014).

Z výše uvedeného vyplývá, že myši s hypopigmentací trpí často poruchami krvetvorby i poruchami jiných orgánových systémů. To vše v důsledku širokého spektra působení těchto genů na myší tkáň. Mnoho z nich již bylo klonováno a byly identifikovány i jejich lidské



analogy. Při studiu jejich pleiotropního působení na s nimi spojená onemocnění u člověka hrály hypopigmentované myši hlavní roli.

### 3.3 Albinismus

Je autosomálně recesivně dědičná porucha, jejíž lokus se nachází na 7. chromosomu. Tento gen kódující tyrozinázu je epistatický vůči všem ostatním zbarvení-kódujícím genům. Záznamy v Mouse Genome Informatics – MGI (© 2016) ukazují, že pro tento gen je známo 228 alel, z nichž 29 vzniká spontánní mutací. Některé způsobují albinismus nebo hypopigmentaci, jiné mohou být letální. U člověka jsou s genem *Tyr* spojeny 3 choroby: okulokutánní albinismus typ IA, okulokutánní albinismus typ IB a okulární albinismus se sensorineurální hluchotou. U myši to jsou navíc kromě obou typů okulokutánních albinismů ještě autismus, primární kongenitální glaukom a Hirschprungova choroba. To ale neznamená, že se s ním setkáme pouze u myši nebo člověka. Přesto, že se jedná o ojedinělou mutaci, postihuje organismy napříč živočišnou říší, nejen obratlovce. Mezi jedny z posledních druhů, u kterých byl popsán, patří například ostnokožci – *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875) (Fernández-Rivera Melo et al., 2015).

#### 3.3.1 Podstata vzniku albinismu

Stejně jako u jiných zvířat je i u myši podstatou albinismu absence nebo změna struktury enzymu tyrozinázy produkovaného melanocyty. V každém případě se nemůže tvořit pigmentové barvivo melanin. Tato porucha je geneticky podmíněna přítomností mutantních *Tyr<sup>c</sup>* alel na albino (*Tyr*) lokusu (dříve označovaný jako C).

Tyrozináza je klíčový enzym pro tvorbu melaninu. Jedná se o rychlost limitující enzym melanogeneze (Beerman et al., 2004). Působí jako hydroxyláza při přeměně tyrozinu na DOPA a jako oxidáza při její následné přeměně na L-dopaquinon. Na vlastní proces melanogeneze působí ještě další dva enzymy – dopachrom tautomeráza (tyrosinase related protein 2 – TRP2) a DHICA oxidáza (tyrosinase related protein 1 – TRP1). Na celém procesu pigmentace buněk se podílí ještě mnoho dalších genů, jejichž fenotypový projev je podobný jako u „pravého“ albinismu, a proto byl podle závěrů Lamorouxové et al. (2010) rozšířen tento název pro všechny poruchy v diferenciaci životaschopných melanocytů.

### 3.3.2 Vybrané mutace na Tyr lokusu s albinotickým nebo podobným fenotypem.

#### 3.3.2.1 $Tyr^{c-2J}$

Tato albino mutace vznikla spontánně jako bodová mutace. Oproti  $Tyr^c$  se projevuje pigmentací v melanomech, které by jinak u albínů byly amelanotické. To je zřejmě následek produkce enzymaticky nestabilní tyrozinázy, která je v prostředí vyvíjejícího se melanomu produkována v dostatečném množství, aby došlo k pigmentaci (Cohen-Solal et al., 2002). Podle Mouse Genome Informatics (© 2016) se myši s touto mutací využívají jako modely pro okulokutánní albinismus typ IA a primární kongenitální glaukom.

#### 3.3.2.2 $Tyr^{c-p}$ (platinum)

Při homozygotním založení se tato spontánně vzniklá bodová mutace projevuje velmi světlým zevněškem a červenýma očima (Beermann et al., 2004). I přesto, že aktivita tyrozinázy je vysoká v trans-Golgiho síti a přilehlých váčcích, v melanocytech žádného stádia se nevyskytuje (Beermann et al., 1995).



Obrázek 2:  $Tyr^{c-p}/Tyr^{c-p}$  (vlevo),  $Tyr^{c-2J}/Tyr^{c-2J}$  (uprostřed) a  $C57BL/6J$  (vpravo)

Zdroj: <http://www.espcr.org/micemut/tyr019.jpg>

#### 3.3.2.3 $Tyr^{c-em}$ (extreme delution mottled)

Z chinchilla mottled ( $Tyr^{c-chm}/Tyr^{c-chm}$ ) myši vznikla spontánní bodovou mutací myš s různými vzory pigmentace a celkovou fenotypovou hypopigmentací oproti původní myši. Podle výzkumů Lavady et al. (2005) kóduje mutantní gen protein nesprávně, což má za následek jeho špatnou glykosylaci a částečné zadržování v endoplasmatickém retikulu. Celkově je jeho enzymatická aktivita snížena.



Obrázek 3:  $Tyr^{c-em}/Tyr^{c-em}$

Zdroj: <http://www.espcr.org/micemut/tyr011.jpg>

Heterozygoti mají červené oči a velmi světlou, téměř albinotickou barvu srsti. Homozygoti vykazují o něco tmavší zbarvení než heterozygoti. Mají hnědé oči a srst v odstínech šedé.

### 3.3.2.4 $Tyr^{c-h}$ (himalayan)

Jak již popisuje Silvers (1979), himalájská mutace je známá kromě myši u mnoha savců např.: himalájského králíka, siamské kočky, křečka a morčete. Jedinci jsou světle béžoví s tmavě béžovými končetinami a tmavě červenýma očima. To je dáno větší teplotní stabilitou proteinu tyrozinázy na chladnějších periferiích těla. Aktivita termosenzitivní tyrozinázy se v závislosti na klesající teplotě zvyšuje. To má za následek jednonukleotidová mutace v genu, která nejspíše vyústí v defektní konformaci vzniklé molekuly vlivem stoupající teploty (Kwon et al., 1989). Dalším vysvětlením může být, že se změnou teploty má i rozdílnou schopnost vázat DOPA - jako inhibitor ve vysoké koncentraci nebo jako akcelerativní kofaktor v nízké koncentraci (Kidson et Fabian, 1981). Jednou z příčin může být i nedostatečná glykosylace většiny molekul tyrozinázy (Halaban et al., 1988). Toto zbarvení, známé také jako siamské, je oblíbené zvláště v zájmových chovech (Čacká et al., 2016). Myš s himalájskou mutací (na C57BL/6 pozadí) jako model pro OCA-1B posloužila Onojafemu et al. (2011) k otestování účinků nitisinonu na zvýšení pigmentace duhovky a kůže. Vzhledem k úspěšnosti pokusů, které provedl in vivo a in vitro (i na lidských melanozomech), snad bude možné využití nitisinonu v léčbě pacientů s OCA-1B a pacientů s OCA-1A se zbytkovou aktivitou tyrozinázy.

U člověka byla Giebelem et al. (1991) popsána podobná mutace spojená s okulokutánním albinismem I nacházející se pouze dvě aminokyseliny od té u myši. U člověka leží na kodonu 422, u myši na 420. Tato mutace vyústí v termocitlivý polypeptid, jehož enzymatická aktivita klesá s teplotou, přičemž ve 37 °C už téměř žádnou aktivitu nevykazuje.

### 3.3.2.5 $Tyr^{c-44H}$ (dark eyed albino)

Na rozdíl od předešlých mutací nevznikla tato spontánně, ale je indukována chemicky nebo radiací (MGI; © 2016). Má za následek nízkou aktivitu tyrozinázy, která dosahuje u homozygotů při narození pouze 2,6 % hodnoty u divokého typu ( $Tyr^+/Tyr^+$ ). Obsah melaninu krátce po narození dosahuje 11,8 %. Tyto hodnoty jsou však stále dostačující k tomu, aby se jejich oči



Obrázek 4:  $Tyr^{c-44H}/Tyr^{c-44H}$  (v zadu) a  $Tyr^{c-h}/Tyr^{c-h}$  (v popředí)  
Zdroj: Lamoreux et al. (2010)

během dvou až tří měsíců zbarvily do hněda, v případě heterozygotů  $Tyr^c/Tyr^{c-44H}$  do tmavě

červená. Proces melanizace RPE totiž nastane i při menší než 2 % aktivitě. Melanin se postupně hromadí v duhovce a méně i v RPE. Jedinci s touto mutací jsou proto zcela bílí s hnědými očima (Rachel et al., 2002).

### 3.3.2.6 *Tyr<sup>c-a</sup>* (acromelanic)

Podle záznamů Mutant Mouse Resource Research Centers (MMRRC) vznikla tato alela spontánně a je autosomálně recesivní vůči divokému zbarvení a úplně dominantní vůči albinotické alele *Tyr<sup>c</sup>*. Myši s touto mutací se podobají těm himalájským. Jejich



Obrázek 5: *Tyr<sup>c-a</sup>/Tyr<sup>c-a</sup>* (uprostřed), *Tyr<sup>c-2J</sup>/Tyr<sup>c-2J</sup>* (vlevo) a *C57BL/6J* (vpravo)

Zdroj: <http://www.espcr.org/micemut/tyr024.jpg>

srst je mírně našedlá s tmavšími chlupy na uších a ocase. Na rozdíl od himalájské mutace jsou jejich oči tmavě pigmentované. Podle toho je také možno odlišit homozygoty od albínů ihned po narození.

### 3.3.2.7 *Tyr<sup>c-Wtsi</sup>*

Ryder et al. (2013) popisují tuto mutaci jako spontánní intragenovou delecii o délce 14,3 kb. Poprvé proběhla při rutinním rozšiřování kolonie kmenu produkovaného v rámci Sanger Mouse Genetics Project (MGP) u EPD0176\_3\_A10 klonu EUCOMM (The European Conditional Mouse Mutagenesis Program) kmenových buněk vytvořeného z JM8.N4 kmenových buněk. Jelikož tato mutace má spontánní charakter, neobsahuje tedy žádný cizí vektor ani loxP sekvence a dá se tedy předpokládat značná využitelnost pro International Mouse Phenotyping Consortium – IMPC (© 2016). To si dává za cíl generovat a systematicky fenotypizovat knockoutovaný myší kmen pro každý protein kódující gen. Takovéto poznatky nám snad přiblíží, jak podobný gen při změně své aktivity působí na onemocnění u člověka.

### 3.3.3 Vliv albinismu na fitness u myši

Funkční pigmentové buňky jsou důležité nejen v kůži jako ochrana před ultrafialovým zářením, ale i pro správnou funkci dalších orgánů. Jsou nezbytné pro fungování sluchového a zrakového ústrojí. Geneticky založené poruchy tvorby zbarvení mohou být spojeny i s dalšími onemocněními například trávicího traktu nebo imunitního systému, která již byla popsána výše (Waardenburgův syndrom, Chediak-Higashi syndrom, ...). Albinismus má však vliv i na

chování jedince a jeho sociální interakce. Albíni se pro svou odlišnost také stávají snazší kořistí pro predátory. Celkově je možné konstatovat, že je vitalita a kvalita života jedinců postižených albinismem snížena, a to neplatí pouze mezi zvířaty, ale i v lidské společnosti.

### 3.3.3.1 Vliv na chování

Největší pozornosti se odlišnému chování myších albínů dostalo od 60. do počátku 80. let minulého století. Vědci se zaměřili například na schopnost rychlého úniku z vody, schopnost učení, akrofobii, motorické chování a jiné (Winston and Lindzey, 1964; Owen et al., 1970; Festing, 1973a; Festing 1973b; Wahlsten, 1973; Katz et Doyle, 1981 a další). U prvotních výzkumů se uvažovalo o monogenním působení *Ty<sup>r</sup>* mutace na chování myší, dnešní studie se přiklánějí k jeho téměř výhradní interakci s dalšími geny.

Winston et Lindzey (1964) předpokládali, že se na tak složitém projevu chování, jako je únik z vody, podílí mnoho genů, neboť tento znak vykazuje plynulé spektrum variací. Jejich pokus měl za cíl objasnit, zdali je možné, aby interakce jednoho hlavního genu (c alela na C lokusu) a prostředí nepůsobila stejně. Albinotické kmeny a jejich potomci získaní zpětným křížením měli rychlost úniku skutečně delší v porovnání s ostatními kmeny. Meier et al. (1965) se s těmito výsledky neztotožňovali a viděli příčinu spíše v dalších lokusech blízkých lokusu C, které jsou s ním přenášeny z důvodu nízké pravděpodobnosti crossing-overu. Nicméně je nebyli schopni vyvrátit. Na tyto předchozí výzkumy navázal Festing (1973a) se zaměřením na učení se úniku z vody. Albíni na rozdíl od výsledků Winstona a Lindzeyho nevykazovali pomalejší počáteční únikovou rychlost, ale horší schopnost učení (spolu s C3H/He (agouti) kmenem). Následný kontrolní experiment (Festing, 1973b) s použitím selektovaného potomstva prokázal pomalejší rychlost učení u albinotických potomků.

V novějších studiích vliv albino lokusu na chování myší popsali Yamamuro a Shiraishi (2011). Behaviorální aktivity rozdělili do čtyř parametrů: časovou prodlevu do prvního aktivního přistoupení k partnerovi, frekvence a celkový čas věnovaný očichávání a následování partnera, frekvence a celkový čas věnovaný průzkumnému panáčkování a frekvence tření čenichu předními končetinami. Přičemž první dva parametry byly považovány za společenské na partnera směřované aktivity, druhé dva nikoli. Společenské aktivity albínů byly mnohem četnější než u pigmentovaných myší, stejně tak průzkumné vzpínání na zadní nohy.

### 3.3.3.2 Vliv na zrak a sluch

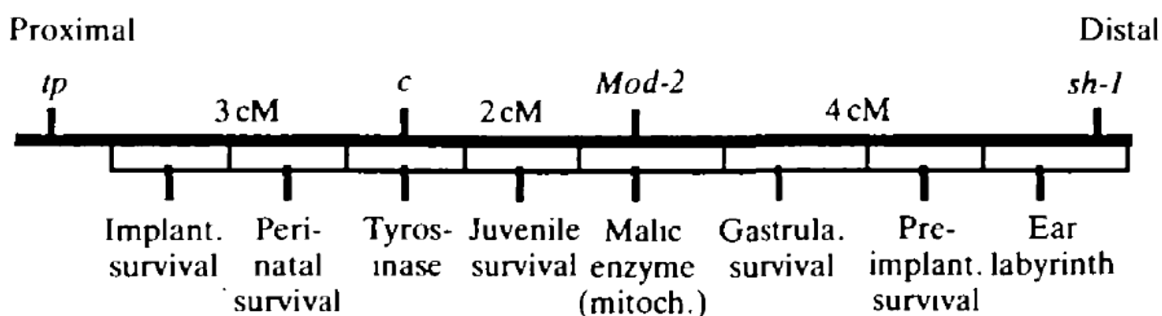
U albínů, a to nejen myších, se vyskytuje abnormální vývoj sítnice a zrakových nervů v místě jejich křížení. To má za následek narušení binokulárního vidění, protože velká část neuronů gangliových buněk, které normálně promítají ipsilaterálně, přechází středovou linii chiasma nevhodně a promítá tak kontralaterálně (Lavado et Montoliu, 2006). V sítnici je snížený počet tyčinek a špatně se vyvíjí i vrstva gangliových buněk (Jeffery, 1997). Pro jejich správný vývoj je totiž zřejmě důležitý meziproduct melanogeneze L-DOPA, který je ligandem pro OA1, což je G-protein vázající receptor nezbytný pro správný vývoj optických nervů (Lavado et al. 2006; Lopez et al., 2008). Mutace na jeho genu lokalizovaném na chromosomu X je běžná u jedinců s okulárním albinismem, ale stejný fenotyp sítnice mají i jedinci s okulárním albinismem. Podle Lopézové et al. (2008) může být příčinou, že součástí OA1 signální dráhy jsou i meziproducty melanogeneze, jako je L-DOPA nebo dopamin. L-DOPA je přítomen v RPE během prenatalního vývoje pigmentovaných jedinců, přičemž není dále dekarboxylován na dopamin. Při vývoji albino sítnice není přítomen, ale je možno jej dodat in utero. To otevírá nové možnosti léčby vývojových abnormalit zraku albínů (Roffler-Tarlov et al., 2013). Dopamin je antagonistou L-DOPA, se kterým soutěží o jediné vazebné místo na OA1 (Lopez et al., 2008). Výsledky Chenové et al. (2015) ukazují, že spolu s L-DOPA působí při vývoji sítnice jako negativní regulátor růstu optických axonů.

Albíni mají červené oči, protože jim chybí pigment i v duhovce, kterou prosvítá krev v krevních kapilárách cévnatky. Světlo, kterému je takto postižené oko vystaveno, se bez zadržení pigmentem v oku rozptýlí a jedinec je světlem oslněn. Albíni vidí velmi špatně, nejen když je jasno, ale i za šera, protože hůř rozeznávají kontury a vidí rozmazaně. Zhoršené je i pohybové vnímání.

Podle Lamorouxové et al. (2010) nejsou albíni postiženi hluchotou tolik častou u jedinců s white-spottingem. Pro správnou činnost středního ucha jsou totiž nezbytné pigmentové buňky, ne však melanogeneze. Nicméně výzkum Murillové-Cuestaové et al. (2010) ukazuje, že myši s albinismem jsou náchylné k předčasné věkem indukované ztrátě sluchu a mají menší schopnost regenerace a návratu k výchozím sluchovým prahovým hodnotám po vystavení nárazu hluku. Ochrannou funkci proti těmto jevům mají právě prekurzory melaninu, zvláště již zmíněný L-DOPA. Kromě absence melaninu ve stria vascularis nemají albíni v porovnání s pigmentovanými jedinci žádné morfologické, anatomické nebo architektonické odlišnosti hlemýždě.

### 3.3.3.3 Vliv na reprodukci

Spontánní mutace na *Tyr* genu obvykle nemají přímý vliv na reprodukci. Jedinec například s *Tyr<sup>c-Bc2</sup>* mutací se může normálně množit, pokud k tomu dostane příležitost, a mít zdravé potomstvo. Problém nastává u indukovaných mutací. Radiačně či chemicky vzniklé mutace (hlavně rozsáhlé delece) vedou k prenatalní a perinatální mortalitě (MGI, © 2016). Snížení životaschopnosti není přímým následkem mutace *Tyr* genu samotného, ale jednoho z genů s ním sousedících. Vlastní gen pro tyrozinázu na přežitelnost vliv nemá (Russell et al., 1982; Niswander et al., 1988).



Obrázek 6: Schematické znázornění myšního albino lokusu na chromosomu 7  
Zdroj: Niswander et al., 1988

## 3.4 Bílá laboratorní myš

### 3.4.1 Historie a původ

Na základě studií myšního genomu (Boursot et al., 1993; Yang et al., 2007) byly stanoveny tři hlavní poddruhy myši domácí: *Mus m. domesticus* Schwarz a Schwarz, 1943, *Mus m. musculus* Linnaeus, 1758 a *Mus m. castaneus* (Waterhouse, 1843), ze kterých byla odvozena většina laboratorních kmenů. K jejich křížení přispěl největší měrou člověk svojí migrací, jenž pomohla jednotlivé poddruhy šířit napříč kontinenty. Yang et al. (2011) do svých novějších studiích zahrnuli 36 z přírody odchycených myší z těchto tří poddruhů, 100 klasických a 62 z divokých populací odvozených laboratorních kmenů. Došli k závěru, že klasické inbrední kmeny vznikly z malé skupiny okrasných myší, které byly samy předmětem příbuzenského křížení. V jejich genomu stanovili 94,3 % ± 2 % (s. o.) procentní zastoupení podkmenu *M. m. domesticus*, 5,4 % ± 1,9 % *Mus m. musculus* a 0,3 % ± 0,1 % *Mus m. castaneus*. Ze všech zkoumaných laboratorních kmenů odvozených z divoce žijících populací jich jen 9 vzniklo z jednoho podkmenu, 18 vzniklo za přispění dvou a 35 za přispění všech tří podkmenů, což jen potvrzuje jejich větší genetickou variabilitu.

Během společné historie lidí a myši vedl jejich komenzální vztah až k její domestikaci. Nejprve byla její role jako okrasného zvířete a domácího mazlíčka spíše podřadná. S jejím pozdějším využitím, coby laboratorního zvířete, se však stala nepostradatelným nástrojem dnešní vědy.

Podle Keelera (1931) pocházejí zřejmě první zmínky o chovu bílých myši, ovšem pro náboženské účely, z období okolo 1400 př. n. l. Jednalo se o rodinu bílých myši majících hnízdo pod oltářem chrámu na ostrově Tenedos zasvěceném bohu Apollónovi. Kréťané jim totiž připisovali významnou roli při vítězství nad Pontiky, kterým údajně myši překousaly řemeny u štítů. Antičtí Řekové a Římané jim zase připisovali léčivé schopnosti. Ve staré Číně byly bílé myši používány k věštbám, a dokonce se vedly záznamy o jejich odchycích z volné přírody v období od 4. do 17. století našeho letopočtu. Japonci chovali myši jako okrasné zvíře v mnoha barevných variantách, mezi nimi i albino. Odsud byly na počátku 19. století přivezeny do Evropy a dále do Ameriky.

V průběhu 19. století nastal rozvoj ve využití myši jako laboratorního zvířete. Bílé myši choval a křížil dokonce sám Johan Gregor Mendel. Skutečný význam získaly se znovuobjevením Mendelových zákonů na počátku 20. století v pracích jako *The Heredity of Albinism* (Castle et Allen, 1903) a dalších.

Macholán (1997) pokládá za průkopníka chovu laboratorních myši slečnu Abbie Lathropovou z Grandby ve státě Massachusetts. Byla majitelkou obchodu s domácími zvířaty, ke kterým mimo jiné patřily i domácí myši. Podle Steensma et al. (2015) spolupracovala s experimentálním patologem Leo Loebem. Ten se zabýval studiem rakoviny, některé experimenty provedl na její farmě a jejich výzkumná spolupráce trvající až do konce jejího života vyústila ve společné publikování řady článků v předních vědeckých časopisech. Myši Abbie Lathropové ale stály i u zrodu jednoho dnes světově nejvýznamnějšího zařízení pro odchov inbredních laboratorních kmenů myši v dnešní době známého jako Jackson Laboratory. Podle Macholána (1997) to totiž byla Abbie Lathropová, kdo C. C. Litteovi, zakladateli Jackson Laboratory, poskytl část svých chovů.

Myši albíni stáli v roce 1921 u zrodu řady inbredních kmenů (nejen albinotických), které známe dnes. Halsey J. Bagg choval uzavřenou kolonii albino myši pro studium jejich chování. Leonell C. Strong zkřížil jednoho jeho albino jedince s druhým, kterého získal z Cold Spring Harbor, kde v té době působil C. C. Little (Green et al., 1966). Narození potomci dali vzniknout dnešním kmenům, jako jsou: A, CBA, C3H nebo BALB/c (Macholán, 1997).



### 3.4.2 Bílá myš jako modelový organismus

Biomodel je živý organismus vykazující patologický nebo fyziologický proces, který je srovnatelný s jevem vyskytujícím se u jiného živočišného druhu. Tím je samozřejmě nejčastěji člověk. Biomodely nám při studiu vážných chorob umožňují použít vedle popisných metod i metody experimentální, s nimiž za jiných okolností není možné pracovat (Hořín et Trebichavský, 2009).

Myš k jejímu využití jako modelového zvířete předurčuje mnoho výhodných rysů. Kořínek a Sedláček (2012) považují za nejdůležitější fakt, že člověk i myš sdílejí více než 99 % genů a jsou tak cenným nástrojem při zkoumání fyziologických a patologických funkcí lidských genů. Významné jsou ale i další aspekty, jako například fakt, že pro manipulaci s jejími geny již byla vyvinuta řada sofistikovaných nástrojů, má definované genetické pozadí a vhodné reprodukční vlastnosti. Silver (1995) popisuje ve své publikaci její výhody v šesti bodech:

1. Dospělci jsou asi 2000–3000krát lehčí než člověk (dosahují hmotnosti mezi 25–40 gramy) a řadí se tak mezi nejmenší savce, jehož chov je současně prostorově nenáročný.
2. Většina laboratorně odchovaných kmenů je relativně snadno ovladatelná a učenlivá.
3. Myši mají krátký generační interval. Od narození jim trvá pouze okolo 10 týdnů, než dospějí a mohou mít vlastní mláďata.
4. Samice jsou velmi plodné. Při chovu v laboratoři mívají 5–10 mláďat v jednom vrhu a následná říje se obvykle dostaví ihned po porodu.
5. Depozice vaginální zátky umožňuje blíže časově určit dobu početí bez toho, že by výzkumný pracovník musel být svědkem kopulace. Toho lze využít hlavně při vývojových studiích.
6. Páry mohou být přechovávány dohromady, i po narození mláďat, protože samci se vůči svým mláďatům nechovají agresivně.

Důvodem, proč si pod pojmem laboratorní myš většina lidí představí právě albinotickou formu, je zřejmě její historická role jako viditelného genetického markeru, a to ještě před objevením role DNA. V roce 1915 byla například Haldanem et al. objevena jeho zvláštní vlastnost dědění společně s genem pro ping-eyed dilution, protože se oba geny nacházejí na stejném chromozomu blízko sebe – v genové vazbě. Vědci tak mohli konstruovat první genové mapy pouze na základě mendelistické dědičnosti viditelných vlastností.

Albinismu se dá též využít pro studium dějů, které by za normálních okolností přes pigment nebyly viditelné. Myš by pro takové účely ale nebyla vhodná, zato například mutanti drápatky

tropické (*Xenopus tropicalis* (Gray, 1864)), které vyvinuli japonští vědci (Nakayama et al., 2016), by mohli být cenným modelem syndromu Hermanského-Pudlákova, protože i jejich fenotyp je způsoben mutací *HPS6* genu. I ve vývojové biologii však albinotické myši nacházejí uplatnění například při studiu migrace melanocytů z neurální lišty (Huszar et al., 1991). Zároveň stály bílé myši u zrodu mozaických, chimérických a transgenních organismů, protože lze díky jejich kontrastnímu zbarvení dobře identifikovat jedince s přenesenými buňkami. S využitím albínů k tomuto účelu začala již Beatrice Mintzová (Mintz, 1967). Význam chimérických myši však roste až v poslední době při výzkumu využití xenotransplantace, humanizovaných organismů či buněčné terapie.

V současné době s nástupem moderních technologií význam albinismu u myši upadá. Albinotické myši se však mezi vědci těší stále veliké oblibě, která ale pramení hlavně z jiných, pro ten či onen kmen specifických vlastností.

### **3.5 Druhy kmenů laboratorních myší**

#### **3.5.1 Kmeny geneticky definované (isogenní)**

##### 3.5.1.1 Inbrední kmeny

Byly získány opakovaným příbuzenským křížením za účelem co největšího počtu homozygotních lokusů. Při opakovaném křížení bratr × sestra po mnoho generací (asi 20 - nejnověji se většinou požaduje alespoň 30) se v populaci zvyšuje počet shodných alel a tím i uniformita jedinců. Potomci narození v poslední generaci se mezi sebou nebudou téměř lišit, budou homozygoté téměř na všech lokusech – polyhomozygoté (Otová et al., 2013).

##### 3.5.1.2 Rekombinantní inbrední kmeny

Jsou výsledkem opakovaného sourozeneckého křížení příslušníků F2 generace vniklé zkřížením dvou inbredních kmenů. Náhodně vybraní samci a samice z generace F2 založí jednotlivé rekombinantní inbrední kmeny, udržované klasickým inbreedingem po více než 20 generací. V populaci rekombinantního inbredního kmene je tak udržována jedna kombinace z generace F2 (Šeda et al., © 2005-2006).

##### 3.5.1.3 Koisogenní kmeny

Koisogenní kmen vznikne spontánní nebo indukovanou mutací u inbredního kmene. Koisogenní kmen se od původního liší pouze mutací na jediném lokusu, a tak je možno, jak zmiňuje Kuchtíčková (2000), využít tohoto jevu pro studium biologických vlastností tohoto

lokusu. Silver (1995) popisuje dvě varianty křížení při tvorbě koisogenního kmene. Pokud to mutace v homozygotní sestavě dovolí, je kmen rozšiřován křížením potomků původního mutantního zvířete. Pokud je ale v homozygotní sestavě letální, nezůstává než ji v populaci zachovat kontinuálním zpětným křížením s původním inbredním kmenem.

#### 3.5.1.4 Mutantní kmeny

Nesou definovanou mutaci patologické povahy nebo se jedná o mutaci v rámci vnitrodruhového polymorfizmu, čehož lze využít při studiu významu a charakteru polymorfizmu na sledovaném lokusu. Jedinci s mutacemi patologické povahy slouží jako biomodely. Mutantních kmenů používaných jako biomodely existuje celá řada pro řadu lidských onemocnění, jako jsou: obezita, cukrovka, vysoký tlak a mnohé další (Hořín et Trebichavský, 2009). Většinou jsou však označení mutantní a koisogenní kmeny považována za synonyma (Jebavý et al., 2014). V současné době lze cíleně získávat kmeny s definovanou mutací za pomoci metod popsaných v části transgenní kmeny.

#### 3.5.1.5 Kongenní kmeny

U tohoto typu kmene je část chromosomu, na kterém se nachází pro výzkum důležitá alela, šlechtěním přenesena na jiné genetické pozadí (Flurkey et Curren, 2009). První křížení probíhá mezi jedincem s požadovanou alelou (donorem), který nemusí být inbredního původu ani homozygot, a jedincem z inbredního kmene (recipientem). V každé další generaci jsou potomci, kteří získali diferenciální úsek chromosomu se specifickou alelou, zpětně kříženi s inbredním kmenem. S každou další generací se přenáší se sledovaným úsekem stále menší část zbývajících genomu kmene donora a po minimálně deseti generacích je považován za kongenní (Silver, 1995). Vlastností kongenních kmenů je možno využít pro studium účinků různých alel pro určitý gen či kvantifikovat účinky jedné alely na jednom dobře definovaném genetickém pozadí, nebo pro porovnání účinků jedné alely na více genetických pozadí (Flurkey et Curren, 2009).

#### 3.5.1.6 Rekombinantní kongenní kmeny

Vnikají podobně jako předchozí křížením dvou inbredních kmenů, následně však probíhá opakované zpětné křížení, v jehož průběhu se stává jeden kmen příjemcem a druhý dárcem určité části genomu. Vzniklí potomci lišící se mezi sebou v původních částech rodičovského genomu se mezi sebou kříží a vytvářejí panel kmenů s menším, obvykle 12,5%, podílem genů

od dárcovského kmene. Tyto geny se liší mezi kmeny v panelu, ale mohou se zčásti překrývat (Hořín et Trebichavský, 2009).

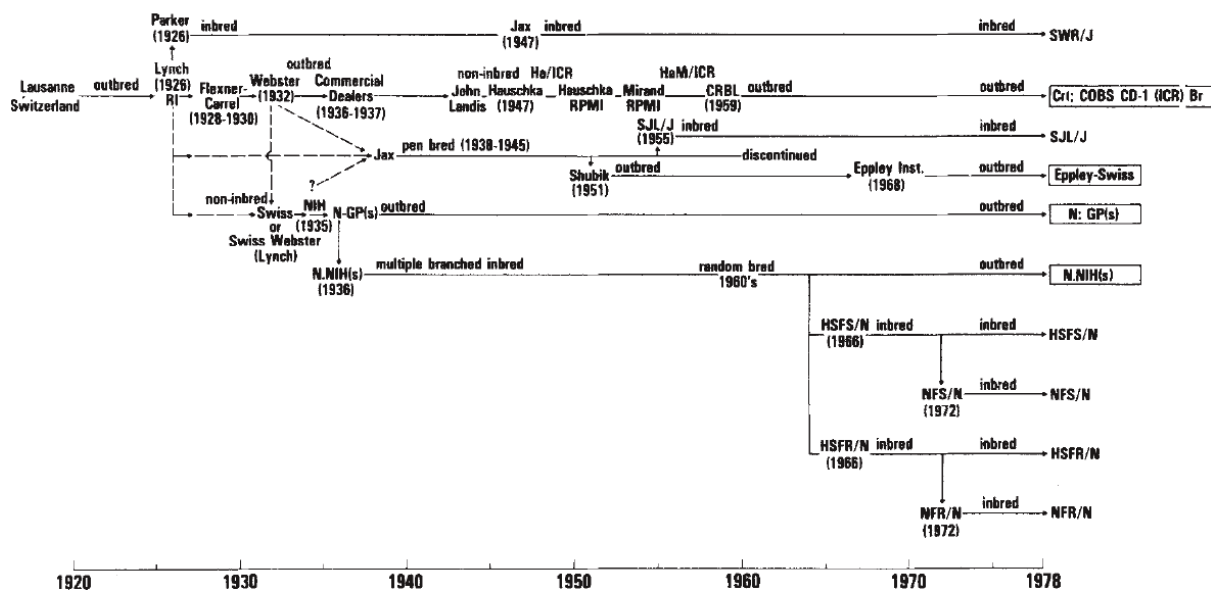
#### 3.5.1.7 Chromosome substitution strains (CSSs) – konsomické kmeny

Konsomické kmeny vznikají výměnou jednoho chromosomu hostitelského kmenu za odpovídající chromosom kmenu dárcovského a jsou tak vlastě speciálním případem kongenních kmenů. I postup tvorby takového kmene je, jak popisují Nadeau et al. (2012), dost podobný tvorbě výše zmíněných kmenů kongenních. Jeden inbrední kmen funguje jako donor a jeden jako akceptor vybraného chromosomu. Po jejich zkřížení jsou F1 potomci zpětně kříženi s hostitelským kmenem a jedinci z této nové generace, kteří nesou nerekombinantní chromosom, jsou použiti pro další zpětné křížení. Finální kmen je možno udržovat sourozeneckým křížením a k jeho vzniku je zapotřebí minimálně deseti zpětných křížení.

### 3.5.2 Kmeny geneticky nedefinované (neisogenní)

#### 3.5.2.1 Outbrední kmeny

Na rozdíl od inbredních kmenů se od sebe jedinci outbrední populace liší, ale různé kolonie si mohou být geneticky podobné. Podle Charles River (© 2015) je současným šlechtitelským cílem normalizovat genetickou variabilitu mezi geograficky oddělenými koloniemi stejných outbredních kmenů za současného uchování genetické variability jedince. Jak píše Schmidt (2015), outbrední kmeny nacházejí uplatnění především v toxikologii, protože toxicita závisí částečně na interakci chemické látky s geny a genetická variabilita outbredních myší lépe reprezentuje tu v lidské populaci. Řada z dnešních běžně užívaných outbredních kmenů je albinotických, podle Chiaové et al. (2005) dokonce téměř všechny které jsou v biomedicínském výzkumu používané. Hlavní příčinou této skutečnosti je jejich společný původ. „Mnoho z myších outbredních kmenů je odvozeno od devíti myší, které byly dovezeny do USA Clarou J. Lynchovou, výzkumníci rakoviny se zájmem o genetiku, která pracovala na Rockefellerově institutu pro medicínský výzkum (nyní Rockefellerova univerzita) v New Yorku. V roce 1926 Lynchová importovala dva samce a sedm myších samic z neinbredního albinotického kmene Andrého de Coulona z Centre Anticancereux Romand v Lausanne, Švýcarsko, a všechny myši odvozené z těchto myší jsou známy jako ‘Swiss’ myši podle přezdívky používané Lynchovou a její laboratoří.“ (Lynch, 1969, cit. podle Chia et al., 2005, s. 1183; překlad autora)



Obrázek 7: Genealogická historie outbredních Swiss myši a jejich inbredních derivátů  
Zdroj: Rice and O'Brien, 1980

### 3.5.3 Kmeny geneticky částečně definované

#### 3.5.3.1 Transgenní kmeny

Takto upravené kmeny exprimují gen, který se v jejich genomu přirozeně nevyskytuje, dokonce může pocházet z jiného živočišného druhu. Gen je do buňky přenesen za pomoci vektoru někdy i s tkáňově specifickým promotorem, jehož přítomnost zajistí expresi genu pouze v určité tkáni (Šeda et al., © 2005-2006). Požadovaný úsek DNA je vnesen do embryonálních kmenových buněk. Ty jsou následně vyselektovány podle toho, jestli nesou vložený gen, a přeneseny do myšího embrya. Petr Vodička v rozhovoru pro Český rozhlas (Jak vznikají transgenní živočichové, 2012) zdůrazňuje, že tento postup tvorby transgenního organismu je použitelný pouze u myši, kde jsou dobře k dispozici kmenové buňky. Z dalších metod je dobře aplikovatelná například metoda s použitím retrovirů injikovaných pod zonu pellucidu, naopak náročné a u některých živočichů zcela nevyužitelné je vytvoření transgenního organismu klonováním s použitím upravených somatických buněk. Další možností je například metoda mikroinjekce, při které se zvolený úsek DNA vnáší do jádra zygoty pomocí tenké skleněné kapiláry. Její nevýhodou je nemožnost určit, kam byla daná genetická informace vložena a může se tedy nacházet v úseku, kde nebude transkribována. Podle Kořínka a Sedláčka (2012) zažívá tato metoda v poslední době renesanci v podobě enzymů nukleáz „zinc-finger“ a TALE (transcription activator-like effector), které dokážou přerušit specifickou cílovou sekvenci v genomu a tím zrušit funkci genu. Jak ale píše Petr (2012), přidala se k nim v roce 2012 nová přelomová technologie CRISPR (Clustered Regularly Interspersed Short Palindromic Repeats).

Za jejím vynalezením stojí Jennifer Doudnaová a Emmanuelle Charpentierová a je založena na imunitním systému archebakterií. Od předchozích dvou se liší především tím, že molekuly „vyhledávající“ specifické sekvence DNA nejsou tvořeny bílkovinným řetězcem, nýbrž RNA a speciálním enzymem nukleázou Cas9 (Cas je zkratka z CRISPR-associated).

Prvním člověkem, který stvořil transgenní myš, byl Rudolf Jaenisch v roce 1974. V několika poskytnutých rozhovorech (Nybo, 2009; Cibelli, 2010; Aguilar, 2015) popisuje jeho původní motivy pro její vytvoření. Když ještě pracoval na výzkumu nádorových virů v laboratoři v Arnold Levine, pokládal si otázku, proč virus injikovaný do myši vytváří pouze sarkomy, ale žádné tumory v ostatních orgánech. To mohlo být způsobeno buď tím, že virus nemohl transformovat ostatní buňky kromě fibroblastů a kožních buněk nebo je vůbec nebyl schopen infikovat. Za pomoci doktorky Beatrice Minzové vytvořil transgenní myši (v té době ještě neznámý pojem) s virem SV40 přítomným ve svých orgánech, u kterých se přitom nevyvinuly žádné tumory. K experimentu použil různé druhy laboratorních myší, mezi nimi i albino BALB/c.

První, kdo pomocí transgenních technologií zvrátil projevy albinismu u myši, byli Beermann et al. (1990). Po mikroinjekci minigenového konstruktů ptrTyr4 (kódující tyrozinázu divokého typu) do oplodněných vajíček outbredního albinotického kmene NMRI byla embrya přenesena do náhradních matek. Z 21 potomků, jenž se narodili, byli 4 transgenní s pigmentovanou srstí a očima a předávali transgen na potomstvo. Funkční gen pro tyrozinázu „opravil“ albinismus a potvrdil tak hypotézu, že na C lokusu je kódován strukturální gen pro tyrozinázu, a ne regulátor její exprese. Transgen tyrozinázy, jak potvrdily další výzkumy (Beermann et al., 1991; Methot et al., 1995; Kang et al., 2000; Xiao et al., 2007), je možno využít jako vizuální marker pro produkci transgenních zvířat. Při metodě mikroinjekce s jiným konstruktem je vysoká pravděpodobnost, že se oba integrují do stejného místa na chromosomu. Díky tomu, že k expresi genu tyrozinázy v pigmentovém epitelu sítnice dochází již od 10,5 dne embryonálního vývoje (Beermann et al., 1992), lze hned po narození rozeznat mláďata nesoucí transgen podle tmavého zbarvení očí a později i homozygoty, kteří mají ve většině případů tmavší zbarvení srsti. Celý proces přenosu genů se tak zrychlí a zefektivní. Tyrozinázový minigen navíc nemá vliv na zdraví jedinců (Xiao et al., 2007).

Kořínek a Sedláček (2012) však považují za opravdové zakladatele transgenních technologií M. Evanse, O. Smithiese a M. Capecchiho. Všem třem vědcům byla v roce 2007 udělena Nobelova cena za medicínu „za jejich objevy principů pro zavádění specifických genových

*modifikací u myši s použitím embryonálních kmenových buněk*“ (Nobelprize.org, © 2016; překlad autor). Význam jejich práce je podle Manise (2007) opravdu značný. Metody, které se těmto vědcům podařilo vyvinout, nám totiž umožnily zjistit funkci téměř každého genu v jakémkoli živém zvířeti. Princip těchto metod spočívá ve využití crossing-overu k výměně daného úseku v DNA a ve způsobu manipulace s kmenovými buňkami, při kterém je genová modifikace dále děděna. Oliver Smithies zkoumal možné využití homologní rekombinace pro integraci DNA do buňky (Smithies et al., 1985), Mario Capecchi pracoval na zavedení DNA do buňky za pomoci tenké skleněné pipety (Capecchi, 1980) a paralelně se Smithiesem zkoumal homologní rekombinaci (Thomas et al., 1986). Martin Evans se zase zabýval studiem kmenových embryonálních buněk (Evans et Kaufman, 1981). Podle Hanssona (2016) přišel Capecchi v roce 1985 na to, že v savčích buňkách nastává crossing-over velmi často, a Smithies s využitím crossing-overu vložil plazmidovou DNA sekvenci do genu na chromosomu lidské buňky. Týmy vědců pracovaly zpočátku odděleně, později však Capecchi a Smithies kontaktovali Evanse a s jeho pomocí založili kultury embryonálních kmenových buněk pro své experimenty s homologní rekombinací. Jejich práce a pozorování, jak zmiňuje Manise (2007), dali vzniknout metodě, při které je zneškodněn vybraný gen embryonální kmenové buňky. Stáli tak u zrodu fenoménu, kterým je dnes „knock-out“ myš.

První „knock-out“ myši byly vyrobeny přerušením či nahrazením exonu genu na léčivo selektivním markerem, tím pádem nemohly být pozorovány účinky specifické mutace, ale jen ztráty genu. U novější „knock-in“ metody je mutantní sekvence vyměněna za endogenní bez přerušení genu (Manis, 2007). Kořínek a Sedláček (2012) ještě dodávají, že obě varianty poskytují dosud nepřekonanou přesnost v přípravě genových modifikací s využitím principu podmíněnosti. Gen tak nemusí ztratit svou funkci ve všech tkáních anebo lze dokonce naplánovat, že ztratí svou funkci až v dospělosti.

Význam transgenních myši nespočívá pouze v zjišťování funkce různých genů, ale i vytváření myších modelů pro řadu lidských onemocnění (i polygenních). Další uplatnění naleznou při výrobě humanizovaných protilátek (Manis, 2007).

## **3.6 Vybrané inbrední albinotické kmeny laboratorních myši a jejich využití**

### **3.6.1 Kmen A/HeJ (A Heston)**

Inbrední kmen vytvořený zkřížením Bagg Albino a Cold Spring Harbor Albino L. C. Strongem v roce 1921. Je citlivý na kortizon, který u něj indukuje vrozené rozštěpy patra. V důsledku působení karcinogenů se u něj tvoří plicní nádory a spontánní plicní adenomy. U samic po více

vrzích je vysoké procento výskytu adenokarcinomů mléčných žláz. U podkmenů Jackson Laboratory byly také vzácně pozorovány spontánní myoepitheliomy různých exokrinních žláz (The Jackson Laboratory, 2016). Samci poměrně často trpí hermafroditismem (4 % z neplodných samců) a dalšími defekty spojenými s náchylností centromery chromosomu Y k nondisjunkcím, jako jsou příliš malá varlata a nepřítomnost nadvarletních spermií vyskytující se u dalších 17 % neplodných samců (Hunt et al., 2008).

Tento kmen nachází uplatnění ve vývojové a reprodukční biologii, imunologii a při studiu rakoviny.

Při zkoumání geneticky podmíněné citlivosti na některé drogy a léčiva ho spolu s dalšími inbredními kmeny využili Mettenová a Crabbe (1994, 1999) pro studium genetické podmíněnosti závažnosti abstinenčních křečí. Zkoumány byly tři látky – ethanol, diazepam a pentobarbital. Výsledky byly v poměrně dobré shodě s pozdějším výzkumem Crabbeho et al. (2002) ohledně citlivosti inbredních kmenů na pentobarbital. Za použití stejných kmenů u nich testoval hypotermii a aktivitu (vertikální – běh, horizontální – vzpínání), ataxii a množství barbiturátů v mozku. Přesto, že se citlivost na různé látky u kmenů liší, tak jako korelace jednotlivých reakcí mezi experimenty, je patrná silná genetická podmíněnost těchto reakcí. U kmenů, které silně reagují na více druhů látek, pak zaznamenáme jejich silný genetický překryv.

C5 složka komplementu je glykoprotein složený ze dvou polypeptidových řetězců, který indukuje chemotaxi profesionálních fagocytů a má i anafylaktickou aktivitu (Rovenský et al., 2006). A/HeJ patří mezi C5 deficitní kmeny, což z něj dělá možný model pro studium lidských onemocnění vzniklých jako důsledek genetického nedostatku této složky komplementu. Jedná se hlavně o opakované invazivní bakteriální infekce. U člověka je mutace, která tuto poruchu způsobuje lokalizována na 9. chromosomu, u myši se podle Wetsela et al. (1989) jedná o delecii dvou párů bází vedoucí k posunu čtecího rámce, předčasnému zařazení terminačního kodonu a vytvoření zkráceného primárního translačního produktu.

Gordon a Bosland (2010) na 9 inbredních kmenech, mezi nimi i čtyřech albino (A/HeJ, A/J, SWR/J a BALB/cJ), zkoumal genetickou složku náchylnosti ke vzniku rakoviny plic zapříčiněné vdechováním cigaretového kouře. K statisticky významnému nárůstu plicních nádorů došlo u kmenů A/HeJ a A/J, které jsou geneticky blízké příbuzné a mohou tak nést stejný počet kopií genu, genových delecí nebo stejný funkční nukleotidový polymorfismus. Díky studiím, jako je tato, bychom se mohli přiblížit k identifikaci genů, které hrají roli na genetické predispozici k rakovině plic, a to nejen u myši, ale i u člověka.



### 3.6.2 Kmen A/J

Kmeny A/HeJ a A/J mají stejný původ, z čehož vyplývá i řada společných vlastností, jako je výše popsaná citlivost na kortizon, tvorba spontánních plicních adenomů, myoepitheliomů exokrinních žláz, či adenokarcinomů mléčných žláz u multiparních samic (The Jackson Laboratory, 2016). Stejně jako u A/HeJ se jedná o klidný a neagresivní kmen, proto jej například Carlierová et al. (1991) použili jako standartního soupeře při výzkumu agrese mezi samci. A/J má však i řadu specifických vlastností jako je resistance vůči vzniku diabetes (Surwit et al., 1995) či obezity, dokonce i při obezogení dietě (Buchner et al., 2008).

Jako model nachází uplatnění například ve vývojové biologii, neurobiologii (sluchové poruchy, svalová dystrofie), při výzkumu kardiovaskulárních onemocnění, obezity, diabetes a v neposlední řadě rakoviny. Poznatky z oblasti zkoumání plicních tumorů na A/J přehledně shrnuje Witschi (2005).

Ztráta sluchu spojená s věkem je velmi rozšířené onemocnění postihující starší jedince různých savčích druhů včetně člověka. I když se předpokládá, že genetické předpoklady hrají při tomto onemocnění významnou roli, je u člověka velmi obtížné identifikovat konkrétní zúčastněné lokusy. Hlavním problémem bývá jeho dlouhý život, během kterého je navíc vystaven řadě environmentálních vlivů (hluk, nemoci, cizorodé látky, ...), jež je obtížné ze závěrů vyloučit. Inbrední kmeny představují dobrý nástroj pro překonání těchto problémů. Kmen A/J má například ojedinělou mutaci v mtDNA. Johnson et al. (2001) ji identifikovali jako indukci adeninu v tRNA-Arg, která má s velkou pravděpodobností vliv na zhoršení sluchu u jedinců homozygotních pro alelu *Ahl* (*Cdh23<sup>ahl</sup>*). Ta zásadně ovlivňuje ztrátu sluchu související s věkem. Podle něj se jedná o první model se spontánní mutací mtDNA postihující klinický fenotyp. Oproti jiným kmenům, které jsou také homozygotní pro *Cdh23<sup>ahl</sup>*, nastává ztráta sluchu u A/J už ve čtyřech týdnech věku. Takový markantní rozdíl by nemohl být prisuzován pouze mutaci na mtDNA, a tak Zheng et al. (2007) identifikovali další lokus na chromosomu 10, který AHL ovlivňuje a je unikátní pro A/J kmen. Nazval ho *Ahl4*. Podstatou jeho působení se zdá být zrychlená ztráta kochleárních vláskových buněk. Johnson et al. (2012) při bližším zkoumání lokusu objevili unikátní jednonukleotidovou mutaci (substituce A za C) v jednom z exonů genů pro citrát syntetázu. Pozměněná citrát syntetáza ovlivňuje mitochondriální funkce a zhoršuje AHL, což z A/J dělá vhodný model in vivo pro studium vlivu mitochondriální funkce na ztrátu sluchu s ohledem na specifické dědičné faktory.

Ho et al. (2004) identifikovali u A/J mutaci vzniklou někdy na přelomu 70. a 80. let minulého století, která způsobuje fenotyp progresivní svalové dystrofie. Pro další prozkoumání funkce dysferlinu vytvořili dvě linie na dysferlin deficitních myších. Jednu identifikací mutace v již existujícím kmenu A/J a druhou s cílenou inaktivací genu (*Dysf<sup>f/-</sup>*). Obě linie vykazují progresivní svalovou dystrofii se shodnými histopatologickými a klinickými rysy jako u člověka navzdory jinému genetickému pozadí a místu mutace. U A/J postupuje onemocnění pomaleji a projevuje se v pozdějším věku oproti *Dysf<sup>f/-</sup>* myším, což z něj dělá cenný zdroj pro identifikaci genů zpomalujících nástup a postup onemocnění. Obě linie jsou vhodné pro výzkum dalších faktorů ovlivňujících Miyoshiho myopatii a pletencové svalové dystrofie 2B. Z nedávných výzkumů se touto problematikou zabývali například Dillinghamová et al. (2015), kteří na kmenu A/J zkoumali protizánětlivé účinky triterpenu celastrolu. Myofibrilární degenerace a silný zánět je jedním z patologických projevů pletencové svalové dystrofie 2B. Celastrol sice snížil počet zánětlivých ložisek ve svalu a celkově zmírnil patologické projevy uvnitř svalu, ale na zlepšení stavu postižených myší to nemělo vliv. Došlo k úbytku tělesné váhy, síla zadních končetin v tahu zůstala nezměněná stejně jako motorická koordinace nebo svalová hmotnost. Dillinghamová et al. nicméně léčbu jinými protizánětlivými látkami nevyklučují, za předpokladu, že mají další výhodné vlastnosti podporující funkci dysferlin-deficitního svalu (např. stabilizaci membrány).

### 3.6.3 Kmen A/WySnJ

Jak již název napovídá, jedná se o kmen se společným původem jako A/HeJ nebo A/J. Má tedy většinu společných charakteristik jako A/HeJ, kromě vad spojených s defektním chromosomem Y. Specifické je pro něj, jak popisují Lentzová et al. (1998) snížené množství a životnost periferních B2 lymfocytů v důsledku mutace *Bcmd*, B1 buňky přitom zůstávají nezměněny.

*Bcmd-1* je spontánní mutace kódující receptor BAFF-R pro cytokin BAFF (faktor aktivující B buňky patřící do rodiny nádor nekrotizujících faktorů), který ovlivňuje homeostázu, toleranci vlastních buněk, dozrávání a přežití (Mayne et al., 2009). Tato funkce je zčásti řízena spolupůsobením signalizace BAFF-R a BCR (B-buněčný receptor), zčásti individuálním působením každého z nich (Hoek et al., 2009). Nejedná se však o mutaci s úplnou ztrátou účinku. Například jeho funkce v oblasti diferenciace B buněk marginální zóny zůstává zčásti zachována (Sasaki et al., 2004).

Kmen je vhodný k využití v oblasti výzkumu sensorineurální ztráty sluchu, rakoviny, imunologie, vývojové biologie a neurobiologie.

Kromě funkce BAFF ve vývoji buněk imunitního systému jej normálně můžeme nalézt i v centrální nervové soustavě. Současně je známa i jeho přítomnost v lézích roztroušené sklerózy a primárního lymfomu CNS. Tada et al. (2013) s využitím A/WySnJ přišli na to, že BAFF je kriticky důležitým členem skupiny neurotrofních faktorů usměrňujících přežívání neuronových buněk a funkční interakce BAFF a jeho receptoru se podílejí na jejich přežití. Tato zjištění by mohla vést ke zlepšení terapeutických výsledků u pacientů s dědičnými neurodegenerativními poruchami léčbou syntetizovaným BAFF.

#### **3.6.4 Kmen AKR/J**

Tento inbrední kmen byl původně vyvinut a chován jako leukemický kmen od roku 1928–1936 Jacobem Furthem, potom náhodně křížen v Rockefellerově institutu a následně byl po devět generací v roce 1936 sourozenecky křížen Rhoadesem (Charles River, © 2016). AKR/J má ve své populaci fixovanou autosomálně recesivní mutaci postihující dřeň chlupu (hair interior defect mutation – HID). Je však patrná pouze pod mikroskopem – buňky jsou vyschlé, některé se rozpadají a obklopuje je zrnitý materiál (Giehl et al., 2009). U těchto myší se vyskytuje leukémie v 60–90 %, jsou hyporesponsivní na stravu s vysokým obsahem tuků a cholesterolu a stejně tak resistantní k tvorbě lézí v aortě v důsledku stravy s vysokým obsahem tuku. Od narození vykazují ve všech svých tkáních ekotropní retrovirus AKV (The Jackson Laboratory, © 2016).

Uplatnění nachází v oblasti výzkumu rakoviny, krevního oběhu, metabolismu, endokrinních poruch, dále neurobiologii (ztráta sluchu), imunologii a vývojové biologií.

Na základě studie Medvedovice et al. (2009) by bylo možné predikovat nástup onemocnění na základě profilování genové exprese, což se pokoušeli ověřit na nástupu leukémie u AKR/J. Vytvořili sestavu kandidátních prognostických genů (8 u samic a 14 u samců), jejichž exprese bílými krvinkami se lišila v čase a i mezi pohlavími. U obou pohlaví předcházela nestandardní exprese prognostických genů nástupu klinických příznaků nebo smrti o 1 až 2 měsíce. Další takové studie by mohly významně přispět k včasnému diagnostikování onemocnění a rychlejšímu zahájení léčby.

#### **3.6.5 Kmen BALB/cJ**

BALB/c nebo jinak také “Bagg albino” byl vyvinut H. J. Baggem v roce 1913 z myší od ohijského obchodníka s domácími mazlíčky, jako inbrední kmen jej začal chovat McDonell v roce 1923 (Charles River, © 2016). Festing (1998) udává, že tento kmen má dlouhou

reprodukční životnost a celkově se dobře množí. Nicméně se u samic občas vyskytuje vaginální přepážka (procentuální výskyt se liší mezi jednotlivými podkmeny), která snižuje jejich reprodukční schopnost (Chang et al., 2013). Po zkřížení s C3H kmenem nesoucím virus rakoviny mléčné žlázy u něj dochází k vysokému výskytu nádorů mléčné žlázy, ale za normálních okolností je incidence tohoto onemocnění nízká. Tento kmen je dnes velmi rozšířeným, podle Velaz (© 2013) dokonce vůbec nejpoužívanější inbrední kmen myši, a je významným hlavně pro produkci monoklonálních protilátek.

Má široké uplatnění, ale největší význam má v oblasti imunologie, neurobiologie, výzkumu rakoviny a onemocnění oběhové soustavy.

Podle Brodčina (2006) BALB/cJ myši vykazují v mnoha ohledech podobné znaky, jako lidé postižení autismem. Například je to častější agresivní chování, neklidnost nebo snížená syntéza serotoninu mozkiem. Mají nedovyvinuté kalózní těleso a větší mozek, a stejně jako u autistů u nich bylo pozorováno snížené sociální chování. Za použití tohoto kmenu vědci testují některé látky, které by bylo možné využít při léčbě autismu. Benson et al. (2013) na něm zkoušeli účinky D-cykloserinu na NMDA receptor, který má důležitou funkci v regulaci poznávání a společenskosti, a prokázal pozitivní účinky d-cykloserinu na zlepšení motivace a zájmu o sociální interakce i schopnost jedince vysílat adekvátní společenské signály. Burketová et al. (2015) objevili podobné účinky u VU0410120 (2,4-dichloro-N-((4-(cyclopropylmethyl)-1-(ethylsulfonyl)piperidin-4-yl)methyl) benzamid), který působí na NMDA receptor jinou cestou (prostřednictvím inhibice glycinového transportéru (GLYT1)) než D-cykloserin. VU0410120 zvýšil u BALB/cJ v závislosti na množství intenzitu sociálního prozkoumávání a zlepšil prostorovou pracovní paměť bez současného zvýšení lokomotorické aktivity. Autismus ale patří mezi onemocnění, jenž mohou být také indukována vlivy prostředí. Fatemi et al. (2008) na tomto kmenu studovali vývoj autismu a schizofrenie na základě prenatální infekce lidským virem chřipky. Zaznamenali změněnou expresi řady mozečkových genů v postnatálním období. Celkem u 19 z nich byla již dříve popsána souvislost se schizofrenií, u 5 s autismem a u dvou dokonce s oběma poruchami.

### **3.6.6 Kmen BUB/BnJ**

Přesný původ tohoto inbredního kmene není znám, vzešel z náhodně kříženého albína neznámého původu. Inbredně začal být chován až v roce 1945 na Brownově Univerzitě J. W. Wilsonem (The Jackson Laboratory, © 2016). BUB/BnJ má oproti jiným kmenům vyšší aktivitu sérového komplementu a hemolytickou aktivitu séra (Osmersová et al., 2005). Nese

také specifickou mutaci na V $\beta$  části receptoru T buněk. V součinnosti s dalšími ještě nespecifikovanými modifikujícími geny způsobuje tato mutace u kmenu citlivost na kolagenem indukovanou artritidu (The Jackson Laboratory, © 2016).

Využití při výzkumu senzoryneurálních poruch, imunologii a neurobiologii.

Zvýšená aktivita komplementu *in vitro* je pravděpodobně důsledkem odlišností C4 komplementárního faktoru, který má za následek diferenciální štěpení C5. Jeden ze vznikajících produktů (C5a) má obecně prozánětlivé účinky. Zvýšené množství této složky komplementu odráží lépe jeho hodnoty vyskytující se u člověka, než je tomu u ostatních myších nebo potkaních kmenů. Jelikož se zánět u člověka podílí na řadě neurodegenerativních onemocnění, dělá z něj tato vlastnost vhodnější model pro studium například Alzheimerovy choroby nebo poranění míchy (Coleová et al., 2010).

### 3.6.7 Kmen FVB/NJ

Předci FVB/NJ mají původ v kolonii outbrední linie Swiss myši založenou 1935 v NIH (National Institutes of Health). V počátku 70. let minulého století byla u skupiny myši z této kolonie, 8. inbrední generace selektované linie HSFS/N, rozpoznána alela *Fv-J<sup>b</sup>* pro citlivost k B kmeni viru myši leukemie Friendové. Myši byly následně inbredně kříženy a jejich potomci byli selektováni pro homozygotnost v tomto znaku. Od konce 70. let se však na tento znak již neselektuje (Taketo et al., 1991). FVB/NJ příslušníci jsou aktivnější a neklidnější než průměr, také jejich základní tělesná teplota je vyšší a na mírný stres reagují hypertermií. Jsou také velmi náchylní k astmatu podobným alergickým dýchacím reakcím, které doprovází tvorba velkého množství IgE. Vůči kolagenem indukované artritidě jsou rezistentní, nicméně kvůli homozygotnosti pro alelu *Pde6b<sup>rdl</sup>* u nich dochází k rychlému nástupu retinální degenerace (The Jackson Laboratory, © 2016). Kmen má dobré reprodukční schopnosti při průměru asi 9,5 mlád'at na vrh. Oplodněná vajíčka mají velké prominentní prvojádro, což usnadňuje případnou mikroinjekci (Taketo et al., 1991).

Jeho reprodukční schopnosti a utváření zygoty ho předurčuje k využití při tvorbě chimér a transgenních myši. Dále je využíván například pro studium infekčních a senzoryneurálních chorob.

Při zkoumání genetických vlivů na vznik zánětu střev spojeném s rakovinou tlustého střeva (colitis-associated colorectal cancer – CA-CRC) identifikovali Van Der Kraaková et al. (2016) FVB/NJ jako kmen hyper-vnímavý k tomuto druhu onemocnění. Za použití azoxymethanu a

dextran sulfátu sodného indukovali CA-CRC u 10 inbredních kmenů. U FVB/NJ byla nejvyšší četnost, plocha nádorů i rychlost s jakou se u něj nádory vyvinuly (již za 4 týdny po aplikaci). Autorům se podařilo identifikovat v myším genomu nový lokus pro náchylnost/rezistenci k CA-CRC na chromozomu 6 – Colon cancer susceptibility 6 (*Ccs6*). Spolu s dalšími dvěma lokusy odhalenými v předchozí studii (Van Der Kraak et al., 2010) se snad podaří blíže identifikovat konkrétní geny a jejich umístění ovlivňující vývoj CA-CRC u lidí. Inbrední kmeny jako tento jsou pro jejich identifikaci dobrým vstupním bodem, protože u lidí je identifikační proces genetických vlivů na takovéto onemocnění výrazně ztížen vlivy prostředí a životního stylu.

### 3.6.8 Kmen HRS/J

Tento bezsrstý kmen si nese spontánní mutaci (*Hr<sup>hr</sup>*) pro bezsrstost, kterou objevil jeden chovatel myši ve své voliěře v Londýně v roce 1924. Ten zaslal dva jedince H. C. Brookovi, který je začal množit (Brook, 1926). V roce 1956 se dostali do Jackson Laboratory prostřednictvím Dr. E. L. Greena, který je obdržel od Dr. H. Chase z Brownovy univerzity v roce 1952. Byli zkříženi se samicí BALB/cJ kmenu a dále byl chov udržován sourozeneckým křížením se segregací na bezsrstost. Protože bezsrsté samice mají tendenci nepečovat o potomstvo, jsou kříženi holí samci s osrstěnými samicemi (The Jackson Laboratory, © 2016). Mutace se do genomu dostala jako inserce myšího leukemického proviru do intronu 6 a způsobuje jeho aberantní sestřih (Stoye et al. 1988; Cachón-González et al., 1924). Do deseti týdnů věku mají jedinci normální srst, ta ale vypadá a v měsíčních intervalech se ještě po nějakou dobu objevuje malé množství plstnitých chlupů, než se zvíře stane zcela holým. Drápy jsou zahnuté a dlouhé (The Jackson Laboratory, © 2016). HRS/J je oproti jiným kmenům vnímavější k listerióze, má sníženou funkci makrofágů, a naopak lepší odpověď neutrofilů (Bischof et al., 2007).

Využíván je pro testování léčiv, v imunologii, dermatologii, výzkumu zánětu, autoimunity a rakoviny.

Bischof et al. (2007) využili vlastností HRS/J ke studiu kutánní infekce bakterií *Bacillus anthracis* (Sterne). Předpokládali, že díky absenci vlasových folikulů s chlupy jakožto vstupních míst a míst proliferace tohoto mikroorganismu bude méně náchylný k epikutánní inokulaci spor. Naočkování na odřenou pokožku přežilo všech 8 z 8 použitých HRS/J myši a ani u jedné nebyl pozorován žádný otok. Nicméně byli k pokusu použiti i osrstění heterozygotní (*Hr/+*) jedinci a ti byli rezistentní stejně jako bezsrstí homozygoti (*Hr/Hr*). Navíc u všech

homozygotů, u kterých byla indukována leukopenie, se projevil otok a 5 ze 7 uhynulo. Byla ještě provedena subkutánní a intradermální inokulace, po obou nezahynulo ani jedno zvíře příslušející k HRS/J, nehledě na to, jestli to byl homozygot nebo heterozygot. Z toho vyplývá, že nepřítomnost chlupových folikulů není příčinou rezistence HRS/J k antraxu, a důležitou roli by mohla hrát zvýšená koncentrace dermálních neutrofilů. Ve své další studii (Hahn et al., 2008) se zaměřili na příčinu nepřítomnosti vegetativních forem antraxu v pokožce. Žádné vegetativní formy v pokožce nebyly patrné již 6 hodin po inokulaci, z čehož vyplývá, že u HRS/J vůbec nedošlo k jejich invazi, jak tomu bylo u kontrolních kmenů. Zjistili, že hlavní roli při zabránění invaze mikroorganismů mají skutečně zánětlivé buňky (především neutrofilů), které mohou pronikat dokonce i mimo pokožku do inokulačního filtru a atakovat mikroorganismy přímo zde. Výsledkem pak může být snížení množství životaschopných organismů na nižší hodnoty, než jsou potřebné k vytvoření trvalé kožní infekce.

### **3.6.9 Kmen NOD/ShiLtJ**

Tento kmen vznikl z outbredních Jcl:ICR myši v počátku příbuzenské plemnitby Cataract Shionogi (CTS) kmene. Z kolonie v japonském Kyotu byl importován do Bostonu na Joslinovo diabetické centrum Dr. M. Hattori v roce 1984 (Charles River, © 2016). Vývoj NOD kmene odstartoval objev myši samice v roce 1974, u které se projevovaly nezvyklé vlastnosti. Trpěla těžkou glykosurií a polyurií za současného úbytku hmotnosti, což z ní dělalo slibný model pro diabetes mellitus typu 1 – IDDM (Kikutani et Makino, 1992). Diabetes se u nich projevuje infiltrací Langerhansových ostrůvků lymfocyty, jejich zánětem – insulitidou, dále střední glykosurií a obsahem glukózy v plazmě větší než 250 mg/dl. U samic je jeho nástup o několik týdnů dřívější (již 12. týden věku) než u samců. Náchylnost NOD/ShiLtJ k IDDM je dána nejen geneticky celou řadou genů (především unikátním MHC haplotypem), ale i prostředím včetně zdraví, stravy a chovné ubikace. Kromě diabetes je postižen také chybějícím komplementárním faktorem C5, imunitní nedostatečností, zhoršeným hojením ran a jsou rovněž těžce sluchově postižené (The Jackson Laboratory, © 2016).

Tento kmen má široké spektrum využití ve výzkumu. Jedná se například o oblast imunologie, sensorineurálních poruch, hojení ran a krvetvorby. Těžištěm jeho aplikovatelnosti ale nadále zůstává onemocnění diabetes mellitus typu 1, pro které byl vyvinut. Podle Jackson Laboratory (© 2016) jsou více vyžívány samice než samci, mají totiž dřívější nástup příznaků IDDM (do 30 týdnů věku) i jeho vyšší procento výskytu (90-100 %). I samci, u kterých se rozvine nemoc

až v 30-40. týdnu věku a u pouhých 40-60 %, nacházejí uplatnění v některých farmaceutických studiích, studiích in vitro a dalších.

Sjögrenův syndrom (SS) je autoimunitní onemocnění žláz s vnější sekrecí postihující převážně ženy. Destrukce a následná dysfunkce sekrečního epitelu slinných, slzných i jiných žláz vede k suchosti v ústech a očích. U NOD/ShiLtJ se vyskytuje značně podobné onemocnění, a proto je používán jako model pro SS. Podle Zhoua et al. (2016), kteří nástup tohoto onemocnění pozorovali u 4, 7, 10 a 12týdenních samic, se u většiny projeví kolem 10. týdne věku. Gervaisová et al. (2015) zkoumali změny na epiteliárních buněčných subpopulacích (pomocí imunofluorescenčních metod) získaných ze submandibulárních slinných žláz NOD/ShiLtJ v 12., 18. a 22. týdnu věku a porovnávali je se vzorky z kmene CD-1. Pro porovnání s lidským onemocněním použili vzorky z retních slinných žláz od pacientů s a bez syndromu a pitevnické vzorky rovněž bez onemocnění. Na rozdíl od lidských vzorků však nebyl epitel nijak výrazně narušen až do 22 týdnů věku myši, a to ani v oblastech přímo sousedících s lymfocytárními infiltráty. Objevili ale také řadu nevýrazných změn, které s kvalitativní analýzou vzorků od lidí korespondují. Zhou et al. (2016) se ve svém výzkumu zaměřili na konstimulační dráhu ligandu programované smrti (PD-L1) a jeho receptoru (PD-1), která hraje významnou roli v omezení poškození tkání a imunitní aktivaci. Potlačuje totiž aktivaci a diferenciaci Th1 a Tc1 lymfocytů a jejich produkci cytokinu IFN- $\gamma$ , dále zvyšuje diferenciaci a funkci regulačních T-lymfocytů. Jsou to právě hladiny IFN- $\gamma$  a odezva Th1 lymfocytů, které jsou u pacientů s SS v slinných žlázách zvýšeny oproti normálu. Zhou et al. (2016) objevili u NOD/ShiLtJ v rané fázi vývoje (4.–7. týden věku) zvýšenou hladinu PD-L1 i jeho receptoru jako možný zpětný regulační mechanismus zabraňující vývoji a nástupu nemoci. Při blokaci této dráhy u NOD/ShiLtJ došlo k významnému zrychlení postupu onemocnění v důsledku zvýšeného množství T- a B-lymfocytů a jejich chemoatraktantů, zvýšení hodnot Th1/Tc1 signálních molekul a IFN- $\gamma$  ve slinných žlázách. Vzhledem k tomu, že pro SS zatím není k dispozici žádná efektivní léčba, by podle autorů mohly být terapeutické strategie v budoucnu směřovány na podpoření aktivit PD-L1 dependentních drah.

### **3.6.10 Kmen SWR/J**

SWR/J má společný původ jako CD-1. Příbuzenskou plemenitbu u tohoto kmene započala v roce 1926 Clara J. Lynchová na Rockefellerově institutu, která obdržela švýcarské myši od A. de Coulona ze švýcarského Lausanne (The Jackson Laboratory, © 2016). Samice trpí více než samci polydipsií a polyurií spojenou s věkem, jenž má příčinu v onemocnění zvané



nefrogenní diabetes insipidus (Kutscher et Miller, 1974; Kutscher et al., 1975). S věkem u nich také vzrůstá incidence nádorů prsních žláz a plic. Jsou rezistentní ke kolagenem indukované artritidě typu 2, ale vysoce náchylné na experimentální alergickou encefalomyelitidu (EAE). Mají střední schopnost rozvinout aterosklerotické aortální léze na arterogenní dietě. Zdá se, že jako jediný inbrední kmen nese SWR/J alelu *Soaa* (Taster) jenž má za následek vyhýbání se roztoku oktaacetátu sacharózy již v koncentracích menších než 10<sup>-3</sup> M (The Jackson Laboratory, © 2016). SWR/J má vysoký krevní tlak. Jeho systolický tlak dosahuje hodnot okolo 110 mmHg (Schlager et Weibust, 1967).

Obecně tento kmen nachází uplatnění v širokém spektru vědních disciplín, např.: oběhový systém, rakovina, sensorineurální poruchy, diabetes a obezita, vývojová biologie, autoimunita a imunitní nedostatečnost a další. Podle Jackson Laboratory (© 2016) může být využit jako kontrolní pro srovnání s NOD/ShiLtJ myši při zkoumání jejich aberantních imunitních funkcí. Přesto, že jak NOD/ShiLtJ, tak SWR/J jsou odvozeny od Swiss myši, jsou SWR/J často vhodnější k využití kvůli jejich lepší imunitě a celkově odlišné genetické výbavě. Jejich genetická uniformita je zase upřednostňuje před náhodně kříženými kmeny Swiss ICR myši. Ze stejného důvodu jsou také doporučovány pro tvorbu transgenních myši, k čemuž mají navíc ještě velké prominentní prvojádru odolné proti lyzi v důsledku mikroinjekce a dobrou odezvu na exogenní hormony.

Abou-Tarboush a Abdel-Samad (2010) studovali na SWR/J cytogenetické účinky sildenafilu citrátu na buňky kostní dřeně. Sildenafil citrát, prodáváný pod obchodním názvem Viagra, se používá na léčbu mužské erektilní dysfunkce. V jiných studiích na myších, ale za využití kmene CBAB<sub>6</sub>, již byly popsány jeho negativní účinky na oplozovací schopnost spermií a vývoj embrya (Glenn et al., 2009). Nicméně na mitotické indexy nebo indukci chromozomálních aberací, ať již numerických či strukturálních, proliferujících dřevných buněk, nebyl jeho vliv prokázán. V závislosti na množství sildenafilu citrátu se však zvyšovalo procento výskytu centromerických srůstů (Abou-Tarboush et Abdel-Samad, 2010). S cílem prověřit jeho teratogenní, toxický a růst embryí potlačující efekt provedli Abou-Tarboush a al. (2011) na SWR/J další výzkum. Tato studie neobjevila žádné známky toxicity pro březí samice. Myší plody nevykazovaly žádné vnější, vnitřní nebo skeletární malformace. Potvrdila však závěry Glenna et al. (2009), že sildenafil citrát potlačuje růst embryí. Myší plody se od kontrolní skupiny signifikantně lišily velikostí, pokud byla aplikována větší dávka (40 mg/kg živé hmotnosti).

## **3.7 Vybrané outbrední albinotické kmeny a jejich využití**

### **3.7.1 Kmen CD-1**

Jako předchůdce tohoto kmene sloužila skupina Swiss myši skládající se ze dvou samců a sedmi samic albino myši derivovaných z neinbredního kmene v laboratoři Dr. De Coulona, které do USA přivezla Dr. Clara Lynchová v roce 1926. Chov kmene, označeného tehdy jako The Hauschka Ha/ICR, byl zahájen v roce 1948 na Institutu pro výzkum rakoviny ve Philadelphii ze "Swiss" myši původem z Rockefellerova institutu. Později se dostali k Dr. Edwardu Mirandovi z Roswell Park Memorial Institute, kde byly určeny jako HaM/ICR (Charles River, © 2016). Jedná se tedy o kmen příbuzný Swiss Webster, ale k jejich oddělení došlo již v roce 1930 (Chia et al., 2005). Jeho podkmenem je rovněž často používaný kmen ICR.

Víceúčelový model s využitím při výzkumu stárnutí, chirurgických postupů, falešného těhotenství, a hlavně při toxikologii a zkoumání nádorů.

Arsen a jeho sloučeniny jsou pro člověka kancerogenní. Podle International Agency for Research on Cancer IARC (2004) je jeho dopad na veřejné zdraví významný, protože zhruba 160 milionů lidí po celém světě žije v oblastech s přirozeně se vyskytujícím arsenem v prostředí a pitné vodě. Pro zkoumání jeho mechanismů působení v organismu je využíván i CD-1. Tokar et al. (2011) na CD-1 zkoumali kancerogenní účinky anorganického arsenu při celoživotním vystavení jeho působení. Podáváním arsenitanu sodného ve vodě matkám od 2 týdnů před početím až do vlastní dospělosti jejich potomků zjistili, že se v závislosti na podávaném množství arsenu zvyšuje u myši incidence hepatocelulárních karcinomů a karcinomů plic. U samců navíc karcinomy žlučníku, u samic dělohy a vaječníků. Oproti jednorázovému vystavení působení arsenu během gravidity, stačila mnohem menší dávka, podávaná během celého života, k vytvoření karcinomů v trojnásobném i větším množství (v závislosti na orgánu). V další studii provedené Waalkesem et al. (2014) zaměřené konkrétně na vznik plicních tumorů při celoživotním (dvouletém) vystavení byly použity menší dávky arsenu lépe reprezentující ty, kterým bývá z prostředí vystaven člověk. Při dávkách 500 a 50 ppb nárůstem výskytu plicního adenomu nebo karcinomu větším než 230 %. U vyšší dávky (5000 ppb) se překvapivě spojitost s plicními nádory nepodařilo prokázat.

### **3.7.2 Kmen NMRI**

Jméno je odvozeno od Naval Medical Research Institute v USA, kam se dostal z Poileyho chovu v NIH, tehdy pojmenovaném ještě jako NIH/PI. Pochází ze stejného chovu Swiss myši

Dr. Lynchové jako CD-1, odkud byl v roce 1937 dovezen do USA (Chia et al., 2005). S rostoucím věkem se u něj zvyšuje výskyt onemocnění ledvin. Spontánně se u něj vyvíjí široká škála nádorů (Taconic, © 2017).

Uplatnění nachází jako většina outbredních kmenů v toxikologii, ale i v mnoha dalších oblastech, například ve výzkumu vývojových vad nebo fyziologii. Využívá se ale i v onkologii a farmakologii (hlavně psychofarmakologii).

Avetisyan et al. (2016) zkoumali na NMRI myších, kterým byly odstraněny čichové bulby, souvislost mitochondriální dysfunkce s neurodegenerací vyskytující se u Alzheimerovy choroby. Takto operované myši vykazovaly po měsíci výrazně nižší schopnost prostorového učení a mitochondrie izolované z hipokampu a mozkové kůry obsahovaly větší množství neurotoxického rozpustného endogenního A $\beta$ 1-40 (amyloid-beta 1-40 proteinu) oproti neoperovaným myším. A $\beta$ 1-40 dostávající se do krist a matrix má za následek sníženou elektron-transportní aktivitu dýchacího řetězce a celkovou mitochondriální dysfunkci v těchto tkáních. Nízká aktivita terminálního komplexu dýchacího řetězce negativně působí na hodnoty transmembránového protonového gradientu a snižuje tak membránový potenciál v mitochondriích. Dalším důsledkem nedostatečně funkčního respiratorního řetězce je oxidativní stres kvůli zvýšené peroxidaci lipidů vedoucí až k buněčné apoptóze. Tento biomodel přináší lepší porozumění patologických mechanismů vzniku sporadické formy Alzheimerovy choroby a bude jej možno využít k testaci léčiv a prevenci u člověka.

### **3.7.3 Kmen SW (Swiss Webster)**

Tento kmen, stejně jako ostatní Swiss myši, má původ v devíti albino myších Dr. Lynchové. Podle Charles River (© 2016) vzešel SW z chovu Dr. Leslie Websterové vedeného selektivní příbuzenskou plemenitbou na Rockefellerově institutu. Chiaová et al. (2005) píše, že Websterová poskytovala myši akademickým i komerčním chovatelům, mezi nimi i Carworth Farms (UK). Vysoce inbrední linie zde byla zredukována na jediný pár, jehož outbredně chované potomstvo dalo vzniknout kmenu Swiss Webster.

Tento kmen je používán již po desetiletí pro většinu laboratorních účelů. Například k testování bezpečnosti a účinnosti léčiv, tvorbu transgenních myši a další. Díky svým skvělým mateřským schopnostem jsou podle Taconic (© 2017) samice SW využívány jako příjemkyně embryí v transgenních laboratořích.

Chi et al. (2016) hovoří o SW jako o vhodném modelu pro výzkum škály poruch plodu vznikajících vlivem působení alkoholu během prenatálního vývoje. Březím samicím podávali každý den na dvě hodiny 20% roztok ethanolu a jejich potomky postnatálně podrobili behaviorálním testům. Testována byla schopnost otočit se zpět na všechny čtyři končetiny po položení na záda, schopnost uniknout z otevřeného prostoru, schopnost vytáhnout se zpět na římsu, schopnost úniku na sluchový podnět, funkce hmatového reflexu ucha, schopnost negativní geotaxe, schopnost dopadnout na všechny čtyři končetiny a doba, při které mláďata poprvé otevřela oči. Mláďata, která byla vystavena alkoholu, měla významně nižší schopnosti u prvních dvou z popsaných testů, ale při otáčení na záda byla dokonce rychlejší.

## 4 Závěr

Bílé myši jsou již po desítky let využívány pro laboratorní výzkum a jsou vůbec nejčastěji používaným zvířecím modelem. Toto lidmi původně opovrhované zvíře, na něž bylo (až na několik výjimek) v historii pohlíženo pouze jako na škůdce, dnes člověku slouží jako málokteré jiné. Myši albíny používají vědci pro své experimenty napříč biologickými vědními obory, dokonce se podílejí i na vylepšování a zefektivňování samotných laboratorních metod a postupů. Těžištěm jejich uplatnění však stále zůstává humánní medicína. S trochou nadsázky lze říci, že myši pokládají své životy za lidské zdraví. Proto je důležité, aby pokusy na nich prováděné byly smysluplné a etické. V dnešní době převládá snaha počty zvířat redukovat a nahrazovat je při experimentech alternativními metodami „in vitro“ nebo „in silico“, však s velkou pravděpodobností zůstanou myši a jiná zvířata i do budoucna nepostradatelné, protože komplexní procesy a vlivy (hlavně nervové, hormonální soustavy a imunitního systému) v živém organismu není možné uspokojivě nasimulovat.

Z výsledků této práce vyplývá, že bílé myši mají v medicínském výzkumu zásadní význam. Ze všech mutací způsobujících albinotický fenotyp je u laboratorních kmenů nejfrekventovanější alela *Tyr<sup>c</sup>* nesoucí spontánní mutaci v genu kódujícím tyrozinázu. Byla to zároveň jedna z prvních člověkem objevených alel kódujících zbarvení a studium jejího přenosu na potomky položilo základy moderní genetiky. Albinotické myši kmeny, jako například A/J, BALB/cJ nebo CD-1, jsou natolik hojně využívány, že se z bílé myši stala jakási ikona všech pokusů na zvířatech. I díky nim pokročila většina odvětví medicíny za poslední století nepředstavitelným způsobem. Jsou to například onkologie, neurobiologie, endokrinologie, dermatologie, imunologie a mnohá další. Staly se nepostradatelné pro testaci chemických látek a přípravků v oblastech toxikologie a farmakologie, kde se využívají nejvíce outbrední linie Swiss myši. Díky bílým myším můžeme lépe porozumět většině onemocnění, odhalit, jak je ovlivňuje prostředí či genetické dispozice, a vyvinout optimální kauzální nebo alespoň symptomatickou léčbu. Velkou nadějí na lepší život díky nim mají i pacienti se závažnými chorobami, jako jsou svalová dystrofie, leukemie, rakovina, roztroušená skleróza nebo Alzheimerova choroba.

Myši albíny provázejí lidstvo již od starověku. Ačkoliv si to málokdo uvědomujeme, můžeme jejich využívání pro laboratorní účely považovat za jeden z největších objevů lidstva, srovnatelný například s vynálezem kola nebo používáním ohně. Měli bychom však stále mít na mysli, že se jedná o živého tvora, a i když u mnoha lidí nevyvolá takové pocity empatie jako pes nebo třeba opice, měli bychom s ním jednat s citem a důstojností jakou si zaslouží.

## 5 Seznam literatury

- Abe, Y., Hozumi, Y., Okamura, K., Kawaguchi, H., Hozumi, Y., Aoki, H., M., Kunisada, T., Ito, S., Wakamatsu, K., Matsunaga, K., Suzuki, T. 2016. A mouse model of leukoderma induced by rhododendrol. *Journal Of Dermatological Science*. 81 (1). 13-18.
- Abou-Tarboush, F. M., Abdel-Samad, M. F. 2010. Cytogenetic effects of sildenafil citrate (Viagra) on SWR/J mouse bone marrow cells. *Saudi Journal Of Biological Sciences*. 17 (4). 315-319.
- Abou-Tarboush, F. M., Abdel-Samad, M. F., Al-Meteri, M. H. 2011. Developmental toxicity of orally administered sildenafil citrate (Viagra) in SWR/J mice. *Saudi Journal Of Biological Sciences*. 18 (2). 135-139.
- Aguilar, A. 2015. An interview with Rudolf Jaenisch. *Development*. 142 (12). 2085-2087.
- Atiba-Davies, M., Noben-Trauth, K. 2007. Review: TRPML3 and hearing loss in the varitint-waddler mouse. *BBA – Molecular Basis Of Disease*. 1772 (8). 1028-1031.
- Aubin-Houzelstein, G., Djian-Zaouche, J., Bernex, F., Gadin, S., Delmas, V., Larue, L., Panthier, J. 2008. Melanoblasts' proper location and timed differentiation depend on Notch/RBP-J signaling in postnatal hair follicles. *Journal Of Investigative Dermatology*. 128 (11). 2686-2695.
- Avetisyan, A., Samokhin, A., Alexandrova, I., Zinovkin, R., Simonyan, R., Bobkova, N. 2016. Mitochondrial dysfunction in neocortex and hippocampus of olfactory bulbectomized mice, a model of Alzheimer's disease. *Biochemistry (Moscow)*. 81 (6). 615-623.
- Aviña Fierro, J., Hernández Aviña, D. A. 2014. Piebaldism, partial albinism in the hair and the skin. *Revista Cubana De Pediatría*. 86 (1). 93-97.
- Baxter, L. L., Ling, H., Loftus, S. K., Pavan, W. J. 2004. Spotlight on Spotted Mice: A Review of White Spotting Mouse Mutants and Associated Human Pigmentation Disorders. *Pigment Cell Research*. 17 (3). 215-224.
- Beermann, F., Orlow, S. J., Boissy, R. E., Schmidt, A., Boissy, Y. L., Lamoreux, M. L. 1995. Misrouting of tyrosinase with a truncated cytoplasmic tail as a result of the murine platinum (cp) mutation. *Experimental Eye Research*. 61 (5). 599-607.

- Beermann, F., Orlow, S. J., Lamoreux, M. L. 2004. The Tyr (albino) locus of the laboratory mouse. *Mammalian Genome*. 15 (10). 749-758.
- Beermann, F., Ruppert, S., Hummler, E., Bosch, F. X., Müller, G., Rütther, U., Schütz, G. 1990. Rescue of the albino phenotype by introduction of a functional tyrosinase gene into mice. *The EMBO Journal*. 9 (9). 2819-2826.
- Beermann, F., Ruppert, S., Hummler, E., Schütz, G. 1991. Tyrosinase as a marker for transgenic mice. *Nucleic Acids Research*. 19 (4). 958.
- Beermann, F., Schmid, E., Schutz, G. 1992. Expression of the Mouse Tyrosinase Gene During Embryonic Development: Recapitulation of the Temporal Regulation in Transgenic Mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 89 (7). 2809-2813.
- Benson, A. D., Burket, J. A., Deutsch, S. I. 2013. Research report: Balb/c mice treated with d-cycloserine arouse increased social interest in conspecifics. *Brain Research Bulletin*. 99. 95-99.
- Bischof, T., Hahn, B., Sohnle, P. 2007. Experimental cutaneous Bacillus anthracis infections in hairless HRS/J mice. *International Journal Of Experimental Pathology*. 88 (1). 75-84.
- Boursot, P., Auffray, J.-C., Britton-Davidian, J., Bonhomme, F. 1993. The Evolution of House Mice. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 24. 119-152.
- Britsch, S., Goerich, D. E., Riethmacher, D., Peirano, R. I., Rossner, M., Nave, K. A., Birchmeier, C., Wegner, M. 2001. The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. *Genes a Development*. 15 (1). 66-78.
- Brooke, H. C. 1926. Hairless mice. *Journal of Heredity*. 17 (5). 173-174.
- Buchner, D. A., Burrage, L. C., Hill, A. E., Yazbek, S. N., O'Brien, W. E., Croniger, C. M., Nadeau, J. H. 2008. Resistance to diet-induced obesity in mice with a single substituted chromosome. *Physiological Genomics*. 35 (1). 116-122.
- Burket, J. A., Benson, A. D., Green, T. L., Rook, J. M., Lindsley, C. W., Conn, P. J., Deutsch, S. I. 2015. Effects of VU0410120, a novel GlyT1 inhibitor, on measures of sociability, cognition and stereotypic behaviors in a mouse model of autism. *Progress In Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*. 61. 10-17.

- Cachón-González M. B., C., Fenner, S., Coffin, J. M., Moran, C., Best, S., Stoye., J. P. 1994. Structure and Expression of the Hairless Gene of Mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 91 (16). 7717-7721.
- Capecchi, M. R. 1980. High efficiency transformation by direct microinjection of DNA into cultured mammalian cells. *Cell*. 22 (2). 479-488.
- Carrier, M., Roubertoux, P. L., Pastoret, C. 1991. The Y chromosome effect on intermale aggression in mice depends on the maternal environment. *Genetics*. 129 (1). 231-236.
- Castle, W. E., Allen, G. M. 1903. The Heredity of Albinism. *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences*. 38 (21). 603-622.
- Cibelli, J. B. 2010. Virus, development and pluripotent stem cells – an interview with Rudolf Jaenisch. *The International Journal of Developmental Biology*. 54 (11-12). 1597-1607.
- Cohen-Solal, K. A., Crespo-Carbone, S. M., Namkoong, J., Mackason, K. R., Roberts, K. G., Reuhl, K. R., Chen, S. 2002. Progressive Appearance of Pigmentation in Amelanotic Melanoma Lesions. *Pigment Cell Research*. 15 (4). 282-289.
- Cole, T. A., Pisalyaput, K., Benoit, M. E., Rowther, N., Tenner, A. J. 2010. Greater C5a generation in the BUB/BnJ mouse: Designing better mouse models to study the role of complement in degenerative diseases. *Molecular Immunology*. 47 (13). 2274.
- Crabbe, J. C., Metten, P., Gallaher, E. J., Belknap, J. K. 2002. Genetic determinants of sensitivity to pentobarbital in inbred mice. *Psychopharmacology*. 161 (4). 408-416.
- Čacká, M., Grossman, L., Hanusová Lužná, H., Holasová, L., Kendlíková, I., Máčiková, A., Onderková, E., Švrčková, M. 2016. STANDARD ZBARVENÍ A VARIET POTKANŮ (verze k 1. 2. 2016). ČSCH, ÚOK chovatelů morčat a jiných drobných hlodavců. Praha. 55 s.
- Dillingham, B. C., Benny Klimek, M. E., Gernapudi, R., Rayavarapu, S., Gallardo, E., Van der Meulen, J. H., Jordan, S., Ampong, B., Gordish-Dressman, H., Spurney, Ch. F., Nagaraju, K. 2015. Inhibition of inflammation with celestrol fails to improve muscle function in dysferlin-deficient A/J mice. *Journal Of The Neurological Sciences*. 356. 157-162.
- Essien, K., Harris, J. 2014. Animal models of vitiligo: Matching the model to the question. *Dermatologica Sinica*. 32 (4). 240-247.



- Evans, M. J., Kaufman, M. H. 1981. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*. 292 (5819). 154-156.
- Ezzedine, K., Eleftheriadou, V., Whitton, M., van Geel, N. 2015. Seminar: Vitiligo. *The Lancet*. 386 (9988). 74-84.
- Ezzedine, K., Lim, H. W., Suzuki, T., Katayama, I., Hamzavi, I., Lan, C. C. E., Goh, B. K., Anbar, T., Silva de Castro, C., Lee, A. Y., Parsad, D., van Geel, N., Le Poole, I. C., Oiso, N., Benzekri, L., Spritz, R., Gauthier, Y., Hann, S. K., Picardo, M., Taieb, A. 2012. Revised classification/nomenclature of vitiligo and related issues: the Vitiligo Global Issues Consensus Conference. *Pigment Cell & Melanoma Research*. 25 (3). 1–13.
- Fatemi, S. H., Reutiman, T. J., Folsom, T. D. Sidwell, R. W. 2008. The role of cerebellar genes in pathology of autism and schizophrenia. *Cerebellum*. 7 (3). 279-294.
- Fernández-Rivera Melo, F., Reyes-Bonilla, H., Cantú, A., Urías, J. 2015. First record of albinism in the brown sea cucumber *Isostichopus fuscus* in the Gulf of California, Mexico. *Marine Biodiversity Records*. 8 (14).
- Festing, M. 1973a. Water escape learning in mice. I. Strain differences and biometrical considerations. *Behavior Genetics*. 3 (1). 13-24.
- Festing, M. 1973b. Water escape learning in mice. II. Replicated selection for increased learning speed. *Behavior Genetics*. 3 (1). 25-36.
- Flurkey, K., Curren, J. M. (eds.). 2009. *The Jackson Laboratory handbook on genetically standardized mice: with 334 figures in 578 parts*. 6th ed. Jackson Laboratory. Bar Harbor. p. 380. ISBN: 978-057-8041-827.
- Gervais, E. M., Desantis, K. A., Pagendarm, N., Nelson, D. A., Enger, T., Skarstein, K., Liaaen Jensen, J., Larsen, M. 2015. Changes in the Submandibular Salivary Gland Epithelial Cell Subpopulations During Progression of Sjögren's Syndrome-Like Disease in the NOD/ShiLtJ Mouse Model. *Anatomical Record*. 298 (9). 1622-1634.
- Giebel, L., Tripathi, R., Spritz, R., King, R. 1991. A tyrosinase gene missense mutation in temperature-sensitive type I oculocutaneous albinism a human homologue to the siamese cat and the himalayan mouse. *Journal Of Clinical Investigation*. 87 (3). 1119-1122.

- Giehl, K. A., Potter, C. S., Wu, B., Silva, K. A., Rowe, L. B., Awgulewitsch, A., Sundberg, J. P. 2009. Hair interior defect in AKR/J mice. *Clinical & Experimental Dermatology*. 34 (4). 509-517.
- Glenn, D. J., McClure, N., Cosby, S. L., Stevenson, M., Lewis, S. M. 2009. Sildenafil citrate (Viagra) impairs fertilization and early embryo development in mice. *Fertility And Sterility*. 91 (3). 893-899.
- Gordon, T., Bosland, M. 2009. Strain-dependent differences in susceptibility to lung cancer in inbred mice exposed to mainstream cigarette smoke. *Cancer Letters*. 275 (2). 213-220.
- Green, E. L. (ed.). 1966. *Biology of the laboratory mouse* (2d ed.). New York. Dover Publications. p. 706.
- Grimm, C., Wahl-Schott, C., Barthmes, M. 2014. TRPML3. *Handbook of Experimental Pharmacology*. 222. 659-674.
- Hahn, B., Bischof, T., Sohnle, P. 2008. Superficial exudates of neutrophils prevent invasion of *Bacillus anthracis* bacilli into abraded skin of resistant mice. *International Journal Of Experimental Pathology*. 89 (3). 180-187.
- Halaban, R., Moellmann, G., Tamura, A., Kwon, B. S., Kuklinska, E., Pomerantz, S. H., Lerner, A. B. 1988. Tyrosinases of Murine Melanocytes with Mutations at the Albino Locus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 85 (19). 7241-7245.
- Haldane, J. B. S., Sprunt, A. D., Haldane, N. M. 1915. Reduplication in mice (Preliminary Communication). *Journal Of Genetics*. 5 (2). 133-135.
- Ho, M., Post, C. M., Donahue, L. R., Lidov, H. G. W., Bronson, R. T., Goolsby, H., Watkins, S. C., Cox, G. A., Brown Jr, R. H. 2004. Disruption of muscle membrane and phenotype divergence in two novel mouse models of dysferlin deficiency. *Human Molecular Genetics*. 13 (18). 1999-2010.
- Hoek, K., Carlesso, G., Clark, E., Khan, W. 2009. Absence of Mature Peripheral B Cell Populations in Mice with Concomitant Defects in B Cell Receptor and BAFF-R Signaling. *Journal Of Immunology*. 183 (9). 5630-5643.

Hořín, P., Trebichavský, I. 2009. Experimentální imunologické modely. In: Toman, M., Bárta, O., Dostál, J., Faldyna, M., Holáň, V., Hořín, P., Hruban, V., Jeklová, E., Knotek, Z., Kopecký, J., Koudela, B., Krejčí, J., Nechvátalová, K., Ondráčková, P., Plachý, J., Pospíšil, R., Pospíšil, Z., Rybníkář, A., Ryšánek, D., Smola, J., Šíma, P., Tlaskalová, H., Trebichavský, I., Veselský, L. Veterinární imunologie. Grada. Praha. s. 374-376. ISBN: 978-80-247-2464-5.

Hou, L., Pavan, W., Shin, M., Arnheiter, H. 2004. Cell-autonomous and cell non-autonomous signaling through endothelin receptor B during melanocyte development. *Development*. 131 (14). 3239-3247.

Hunt, P. A., Jackson, J. M., Horan, S., Lawson, C. A., Grindell, L., Washburn, L. L., Eicher, E. M. 2008. The mouse A/HeJ Y chromosome: Another good Y gone bad. *Chromosome Research*. 16 (4). 623-636.

Huszar, D., Sharpe, A., Hashmi, S., Bouchard, B., Houghton, A., Jaenisch, R. 1991. Generation of pigmented stripes in albino mice by retroviral marking of neural crest melanoblasts. *Development*. 113 (2). 653-660.

Chang, T., Ho, P., Liang, C., Yu, C. 2013. Effects of vaginal septa on the reproductive performance of BALB/cByJNarl mice. *Journal Of The American Association For Laboratory Animal Science: JAALAS*. 52 (5). 520-523.

Chen, T., Hu, Y., Huang, X., Lin, X., Liu, B., Jin, G., Leung, P., Chan, S.-O., Guo, D., Jin, G. 2015. Dopamine signaling regulates the projection patterns in the mouse chiasm. *Brain Research*. 1625. 324-336.

Chi, P., Aras, R., Martin, K., Favero, C. 2016. Research report: Using Swiss Webster mice to model Fetal Alcohol Spectrum Disorders (FASD): An analysis of multilevel time-to-event data through mixed-effects Cox proportional hazards models. *Behavioural Brain Research*. 305. 1-7.

Chia, R., Achilli, F., Festing, M. W., Fisher, E. C. 2005. The origins and uses of mouse outbred stocks. *Nature Genetics*. 37 (11). 1181-1186.

International Agency for Research on Cancer (IARC). 2004. Arsenic in Drinking Water. International Agency for Research on Cancer Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Some Drinking Water Disinfectants and Contaminants, Including Arsenic. IARC Press. Lyon. 84. 269–477.

Jebavý, L. (ed). 2014. Chov laboratorních zvířat. Společnost pro vědu o laboratorních zvířatech ve spolupráci s ČZU v Praze. Brno. 454 s. ISBN: 978-80-213-2486-2.

Jeffery, G. 1997. The albino retina: An abnormality that provides insight into normal retinal development. *Trends In Neurosciences*. 20 (4). 165-169.

Johnson, K., Gagnon, L. H., Longo-Guess, C., Kane, K. L. 2012. Association of a citrate synthase missense mutation with age-related hearing loss in A/J mice. *Neurobiology Of Aging*. 33 (8). 1720-1729.

Johnson, K., Zheng, Q., Bykhovskaya, Y., Spirina, O., Fischel-Ghodsian, N. 2001. A nuclear-mitochondrial DNA interaction affecting hearing impairment in mice. *Nature Genetics*. 27 (2). 191-194.

Johnson, S. L., Nguyen, A. T. N., Lister, J. A. 2011. Mitfa is required at multiple stages of melanocyte differentiation but not to establish the melanocyte stem cell *Developmental Biology*. 350 (2). 405-413.

Kang, J.-K., Kim, J.-H., Lee, S.-H., Kim, D.-H., Kim, H.-S., Lee, J.-E., Seo, J.-S. 2000. Development of spontaneous hyperplastic skin lesions and chemically induced skin papillomas in transgenic mice expressing human papillomavirus type 16 E6/E7 genes. *Cancer Letters*. 160 (2). 177-183.

Katz, R. J., Doyle, R. L. 1981. The albino locus and locomotor behavior in the mouse: Studies using extended test intervals. *Behavior Genetics*. 11 (2). 167-172.

Keeler, C. E. 1931. *The Laboratory Mouse. Its Origin, Heredity and Culture*. Harvard University Press. Cambridge. p. 81.

Kidson, S., Fabian, B. 1981. The effect of temperature on tyrosinase activity in Himalayan mouse skin. *Journal Of Experimental Zoology*. 215 (1). 91-97.

- Kikutani, H., Makino, S. 1992. The Murine Autoimmune Diabetes Model: NOD and Related Strains. *Advances In Immunology*. 51. 285-322.
- Kořínek, V., Sedláček, R. 2012. Transgenní technologie a laboratorní myši. *Vesmír*. 91 (11). 720-721.
- Kraus, J., Buchtelová, R., Konfortiová, H., Červená, V., Holubová, V., Hovorková, M., Churavý, M., Klímová, J., Kroupová, L., Ludvíková, M., Machač, J., Mejstřík, V., Petráčková, V., Poštolková, B., Roudný, M., Schmiedtová, V., Šroufková, M., Ungermann, V. 2008. Nový akademický slovník cizích slov A-Ž. Academia. Praha. 879 s. ISBN: 978-80-200-1415-3.
- Kuchtíčková, Š. 2000. Laboratorní zvířata používaná v experimentu. In: Bienertová Vašků, J. (ed.). *Praktikum z patologické fyziologie*. Masarykova univerzita. Brno. 11-12. ISBN: 80-210-2318-X.
- Kutscher, C. L., Miller, D. G. 1974. Age-dependent polydipsia in the SWR-J mouse. *Physiology & Behavior*. 13 (1). 71-79.
- Kutscher, C. L., Miller, M., Schmalbach, N. L. 1975. Renal deficiency associated with diabetes insipidus in the SWR/J mouse. *Physiology & Behavior*. 14 (6). 815-818.
- Lamoreux, M. L., Boissy, R. E., Womack, J. E., Nordlund, J. J. 1992. The vit gene maps to the mi (microphthalmia) locus of the laboratory mouse. *The Journal Of Heredity*. 83 (6). 435-439.
- Lamoreux, M. L., Delmas, V., Larue, L., Bennett, D. C. 2010. *Colors of Mice: A Model Genetic Network*. Wiley-Blackwell. Oxford. p. 132. ISBN 9781444319651.
- Lamoreux, M. L., Wakamatsu, K., Ito, S. 2001. Interaction of Major Coat Color Gene Functions in Mice as Studied by Chemical Analysis of Eumelanin and Pheomelanin. *Pigment Cell Research*. 14 (1). 23-31.
- Lavado, A., Jeffery, G., Tovar, V., de la Villa, P., Montoliu, L. 2006. Ectopic expression of tyrosine hydroxylase in the pigmented epithelium rescues the retinal abnormalities and visual function common in albinos in the absence of melanin. *Journal Of Neurochemistry*. 96 (4). 1201-1211.
- Lavado, A., Montoliu, L. 2006. New animal models to study the role of tyrosinase in normal retinal development. *Frontiers In Bioscience*. 11. 743-752.

- Lavado, A., Olivares, C., García-Borrón, J. C., Montoliu, L. 2005. Molecular basis of the extreme dilution mottled mouse mutation: a combination of coding and noncoding genomic alterations. *The Journal Of Biological Chemistry*. 280 (6). 4817-4824.
- Lentz, V., Hayes, C., Cancro, M. 1998. Bcmd decreases the life span of B-2 but not B-1 cells in A/WySnJ mice. *Journal Of Immunology*. 160 (8). 3743-3747.
- Licout Otero, D., Pereda Chávez, H., Pérez Expósito, Y., Fernández Hernández, L. M. 2012. Piebaldismo: un desorden de la pigmentación. Presentación de un caso / Piebaldism: a pigmentary disorder. A case report. *Revista De Ciencias Médicas De Pinar Del Río*. 16 (2). 247.
- Lopez, V. M., Decatur, C. L., Stamer, W. D., Lynch, R. M., McKay, B. S. 2008. L-DOPA Is an Endogenous Ligand for OA1. *Plos Biology*. 6 (9). 1861-1869.
- Lüllmann-Rauch, R. 2012. *Histologie*. Grada. Praha. 576 s. ISBN: 978-80-247-3729-4.
- Lynch, C. J. 1969. In Chia, R., Achilli, F., Festing, M. W., Fisher, E. C. 2005. The origins and uses of mouse outbred stocks. *Nature Genetics*. 37 (11). 1181-1186. (překlad autora)
- Macholán, M. 1997. Historie laboratorních myší. *Vesmír*. 76 (4). 208.
- Manis, J. P. 2007. Knock out, knock in, knock down – genetically manipulated mice and the Nobel Prize. *New England Journal of Medicine*. 357 (24). 2426-2429.
- Mayne, C., Nashold, F., Sasaki, Y., Hayes, C. 2009. Altered BAFF-receptor signaling and additional modifier loci contribute to systemic autoimmunity in A/WySnJ mice. *European Journal Of Immunology*. 39 (2). 589-599.
- Medvedovic, M., Halbleib, D., Miller, M. L., LaDow, K., Sartor, M. A., Tomlinson, C. R. 2009. Gene expression profiling of blood to predict the onset of leukemia. *Blood Cells, Molecules And Diseases*. 42 (1). 64-70.
- Meier, G. W., Foshee, D. P., Winston, H. D., Lindzey, G. 1965. Albinism and Water Escape Performance in Mice. *Science*. 147 (3655). 307-308.

- Methot, D., Reudelhuber, T., Silversides, D. 1995. Evaluation of tyrosinase minigene co-injection as a marker for genetic manipulations in transgenic mice. *Nucleic Acids Research (United Kingdom)*. 23 (22). 4551-4556.
- Metten, P., Crabbe, J. 1994. Common genetic determinants of severity of acute withdrawal from ethanol, pentobarbital and diazepam in inbred mice. *Behavioural Pharmacology*. 5 (4-5). 533-547.
- Metten, P., Crabbe, J. C. 1999. Articles: Genetic Determinants of Severity of Acute Withdrawal From Diazepam in Mice. Commonality With Ethanol and Pentobarbital. *Pharmacology, Biochemistry And Behavior*. 63 (3). 473-479.
- Mintz, B. 1967. Gene control of mammalian pigmentary differentiation. I. Clonal origin of melanocytes. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*. 58 (1). 344-351.
- More, V., Sharma, R., Thomas, V. 2011. Piebaldism. *Indian Pediatrics*. 48 (8). 665-666.
- Murillo-Cuesta, S., Contreras, J., Zurita, E., Cediell, R., Cantero, M., Varela-Nieto, I., Montoliu, L. 2010. Melanin precursors prevent premature age-related and noise-induced hearing loss in albino mice. *Pigment Cell & Melanoma Research*. 23 (1). 72-83.
- Nadeau, J. H., Forejt, J., Takada, T., Shiroishi, T. 2012. Chromosome substitution strains: gene discovery, functional analysis, and systems studies. *Mammalian Genome*. 23 (0). 693-705.
- Nakayama, T., Nakajima, K., Cox, A., Fisher, M., Howell, M., Fish, M. B., Yaoita, Y., Grainger, R. M. 2016. no privacy, a *Xenopus tropicalis* mutant, is a model of human Hermansky-Pudlak Syndrome and allows visualization of internal organogenesis during tadpole development. *Developmental Biology*.
- Niswander, L., Yee, D., Rinchik, E. M., Russell, L. B., Magnuson, T. 1988. The albino deletion complex and early postimplantation survival in the mouse. *Development*. 102 (1). 45-53.
- Nybo, K. 2009. Profile of Rudolf Jaenisch. *Biotechniques*. 47 (5). 907.
- Onojafe, I. F., Adams, D. R., Simeonov, D. R., Zhang, J., Chan, C. C., Bernardini, I. M., Sergeev, Y. V., Dolinska, M. B., Alur, R. P., Brilliant, M. H., Gahl W. A., Brooks, B. 2011.

Nitisinone improves eye and skin pigmentation defects in a mouse model of oculocutaneous albinism. *Journal Of Clinical Investigation*. 121 (10). 3914-3923.

Osmers, I., Szalai, A. J., Tenner, A. J., Barnum, S. R. 2006. Complement in BuB/BnJ mice revisited: serum C3 levels and complement opsonic activity are not elevated. *Molecular Immunology*. 43 (10). 1722-1725.

Otová, B. (ed.). 2013. *Lékařská biologie a genetika (III. díl)*. Karolinum. Praha. ISBN: 978-80-246-2415-0.

Owen, K., Thiessen, D. D., Lindzey, G. 1970. Acrophobic and photophobic responses associated with the albino locus in mice. *Behavior Genetics*. 1 (3). 249-255.

Pérez-Losada, J., Sánchez-Martín, M., Rodríguez-García, A., Sánchez, ML., Orfao, A., Flores, T., Sánchez-García, I. 2002. Zinc-finger transcription factor Slug contributes to the function of the stem cell factor c-kit signaling pathway. *Blood*. 100 (4). 1274-1286.

Petr, Jaroslav. 2015. CRISPR-Cas9 – průlom v přírodních vědách. *Vesmír*. 94 (5). 288-290.

Pla, P., Larue, L. 2003. Involvement of endothelin receptors in normal and pathological development of neural crest cells. *The International Journal Of Developmental Biology*. 47 (5). 315-325.

Rachel, R. A., Mason, C. A., Beermann, F. 2002. Influence of Tyrosinase Levels on Pigment Accumulation in the Retinal Pigment Epithelium and on the Uncrossed Retinal Projection. *Pigment Cell & Melanoma Research*. 15 (4). 273-281.

Reissmann, M., Ludwig, A. 2013. Pleiotropic effects of coat colour-associated mutations in humans, mice and other mammals. *Seminars In Cell And Developmental Biology*. 24 (6-7). 576-586.

Rice, M. C., O'Brien, S. J. 1980. Genetic variance of laboratory outbred Swiss mice. *Nature*. 283 (5743). 157-161.

Roffler-Tarlov, S., Liu, J. H., Naumova, E. N., Bernal-Ayala, M. M., Mason, C. A. 2013. L-Dopa and the albino riddle: content of L-Dopa in the developing retina of pigmented and albino mice. *Plos One*. 8 (3). 1-7.



- Rovenský, J. (ed.). 2006. Revmatologický výkladový slovník. Grada. Praha. 275 s. ISBN: 80-247-1614-3.
- Russell, L. B., Montgomery, C. S., Raymer, G. D. 1982. Analysis of the albino-locus region of the mouse: IV. Characterization of 34 deficiencies. *Genetics*. 100 (3). 427-453.
- Ryder, E., Wong, K., Gleeson, D., Keane, T. M., Sethi, D., Vyas, S., Wardle-Jones, H., Bussell, J. N., Houghton, R., Salisbury, J., Harvey, N., Adams, D, J., Sanger Mouse Genetics Project, Ramirez.Solis, R. 2013. Genomic analysis of a novel spontaneous albino C57BL/6N mouse strain. *Genesis*. 51 (7). 523-528.
- Sánchez-Martín, M., Pérez-Losada, J., Rodríguez-García, A., González-Sánchez, B., Korf, B. R., Kuster, W., Moss, C., Spritz, R., Sánchez-García, I. 2003. Deletion of the SLUG (*SNAI2*) gene results in human piebaldism. *American Journal Of Medical Genetics*. 122 (2). 125–132.
- Sánchez-Martín, M., Rodríguez-García, A., Pérez-Losada, J., Sagrera, A., Read, AP., Sánchez-García, I. 2002. SLUG (*SNAI2*) deletions in patients with Waardenburg disease. *Human Molecular Genetics*. 11 (25). 3231-3236.
- Sasaki, Y., Casola, S., Kutok, J., Rajewsky, K., Schmidt-Supprian, M. 2004. TNF family member B cell-activating factor (BAFF) receptor-dependent and -independent roles for BAFF in B cell physiology. *Journal Of Immunology*. 173 (4). 2245-2252.
- Schlager, G., Weibust, R. S. 1967. Genetic control of blood pressure in mice. *Genetics*. 55 (3). 497-506.
- Schmidt, C. W. 2015. Diversity Outbred: A New Generation of Mouse Model. *Environmental Health Perspectives*. 123 (3). 64-67.
- Schouwey, K., Delmas, V., Larue, L., Zimmer-Strobl, U., Strobl, L. J., Radtke, F., Beermann, F. 2007. Notch1 and Notch2 receptors influence progressive hair graying in a dose-dependent manner. *Developmental Dynamics*. 236 (1). 282-289.
- Silver, L. M. 1995. Mouse genetics: concepts and applications. Oxford University Press. New York. p. 376. ISBN 01-950-7554-4.
- Silvers, W. K. 1979. The coat colors of mice: a model for mammalian gene action and interaction. Springer-Verlag. New York. p. 382. ISBN: 978-1-4612-6164-3.

- Smithies, O., Gregg, R. G., Boggs, S. S., Koralewski, M. A., Kucherlapati, R. S. 1985. Insertion of DNA sequences into the human chromosomal beta-globin locus by homologous recombination. *Nature*. 317 (6034). 230-234.
- Steensma, D. P., Kyle, R. A., Shampo, M. A. 2010. Abbie Lathrop, the “Mouse Woman of Granby”: Rodent Fancier and Accidental Genetics Pioneer. *Mayo Clinic Proceedings*. 85 (11). 1.
- Steingrímsson, E. 2008. All for one, one for all: alternative promoters and Mitf. *Pigment Cell & Melanoma Research*. 21 (4). 412-414.
- Stoye, J., Fenner, S., Coffin, J., Greenoak, G., Moran, C. 1988. Role of endogenous retroviruses as mutagens: The hairless mutation of mice. *Cell*. 54 (3). 383-391.
- Surwit, R., Feinglos, M., Rodin, J., Sutherland, A., Petro, A., Opara, E., Kuhn, C., Rebuffé-Scrive, M. 1995. Differential effects of fat and sucrose on the development of obesity and diabetes in C57BL/6J and A/J mice. *Metabolism, Clinical And Experimental*. 44 (5). 645-651.
- Tada, S., Yasui, T., Okuno, T., Nakatsuji, Y., Mochizuki, H., Sakoda, S., Kikutani, H. 2013. BAFF controls neural cell survival through BAFF receptor. *Journal Of The Neurological Sciences*. 8 (7).
- Taketo, M., Schroeder, A. C., Mobraaten, L. E., Gunning, K. B., Hanten, G., Fox, R. R., Roderick, T. H., Stewart, C. L., Lilly, F., Hansen, C. T. Overbeek, P. A. 1991. FVB/N: An Inbred Mouse Strain Preferable for Transgenic Analyses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 88 (6). 2065-2069.
- Thomas, K. R., Folger, K. R., Capecchi, M. R. 1986. High frequency targeting of genes to specific sites in the mammalian genome. *Cell*. 44 (3). 419-428.
- Tokar, E. J., Diwan, B. A., Ward, J. M., Delker, D. A., Waalkes, M. P. 2011. Carcinogenic Effects of "Whole-Life" Exposure to Inorganic Arsenic in CD1 Mice. *Toxicological Sciences*. 119 (1). 73-83.
- Van Der Kraak, L., Langlais, D., Jothy, S., Beauchemin, N., Gros, P. 2016. Mapping hyper-susceptibility to colitis-associated colorectal cancer in FVB/NJ mice. *Mammalian Genome: Official Journal Of The International Mammalian Genome Society*. 27 (5-6). 213-224.

- Van Der Kraak, L., Meunier, C., Turbide, C., Jothy, S., Gaboury, L., Marcus, V., Chang, S. Y., Beauchemin, N., Gros, P. 2010. A two-locus system controls susceptibility to colitis-associated colon cancer in mice. *Oncotarget*. 1 (6). 436-446.
- Vokurka, M., Hugo, J. 2008. *Praktický slovník medicíny* (9. vyd.). Maxdorf. Praha. 518 s. ISBN: 978-80-7345-159-2.
- Waalkes, M. P., Qu, W., Tokar, E. J., Kissling, G. E., Dixon, D. 2014. Lung tumors in mice induced by "whole-life" inorganic arsenic exposure at human-relevant doses. *Archives Of Toxicology*. 88 (8). 1619-1629.
- Wahlsten, D. 1973. Contributions of the genes albinism (c) and retinal degeneration (rd) to a strain-by-training procedure interaction in avoidance learning. *Behavior Genetics*. 3 (3). 303-316.
- Wetsel, R. A., Fleischer, D. T., Haviland, D. L. 1990. Deficiency of the murine fifth complement component (C5). A 2-base pair gene deletion in a 5'-exon. *The Journal Of Biological Chemistry*. 265 (5). 2435-2440.
- Winston, H. D., Lindzey, G. 1964. Albinism and Water Escape Performance in the Mouse. *Science*. 144 (3615). 189-191.
- Witschi, H. 2005. The complexities of an apparently simple lung tumor model: The A/J mouse. *Experimental And Toxicologic Pathology*. 57. 171-181.
- Wollnik, B., Tukel, T., Uyguner, O., Ghanbari, A., Kayserili, H., Emiroglu, M., Yuksel-Apak, M. 2003. Homozygous and heterozygous inheritance of PAX3 mutations causes different types of Waardenburg syndrome. *American Journal Of Medical Genetics*. 122 (1). 42-45.
- Xiao, D., Yue, Y., Deng, X.-Y., Huang, B., Guo, Z.-M., Ma, Y., Lin, Y.-L., Hong, X., Tang, H., Xu, K., Chen, X.-G. 2007. Rescue of the albino phenotype by introducing a functional tyrosinase minigene into Kunming albino mice. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 13 (2). 244-249.
- Yang, H., Bell, T. A., Churchill, G. A., de Villena, F. P.-M. 2007. On the subspecific origin of the laboratory mouse. *Nature Genetics*. 39 (9). 1100-1107.

Yang, H., Wang, J. R., Didion, J. P., Buus, R. J., Bell, T. A., Welsh, C. E., Bonhomme, F., Yu, A. H.-T., Nachman, M. W., Pialek, J., Tucker, P., Boursot, P., McMillan, L., Churchill, G. A., de Villena, F. P.-M. 2011. Subspecific origin and haplotype diversity in the laboratory mouse. *Nature Genetics*. 43 (7). 648-658.

Yang, Y., Zhao, R., He, X., Li, L., Chen, W., Wang, K., Zhao, L., Tu, M., Tang, J., Xie, Z., Zhu, Y. 2014. SNAI2 mutation causes human piebaldism. *American Journal Of Medical Genetics. Part A*. 164 (3). 855-857.

Zheng, Q. Y., Ding, D., Yu, H., Salvi, R. J., Johnson, K. R. 2007. A locus on distal chromosome 10 (*ahl4*) affecting age-related hearing loss in A/J mice. *Neurobiology Of Aging*. 30 (10). 1693-1705.

Zhou, J., Jin, J., Kawai, T., Yu, Q. 2016. Endogenous programmed death ligand-1 restrains the development and onset of Sjögren's syndrome in non-obese diabetic mice. *Scientific Reports*. 6 (1). 1-12.

## Internetové zdroje:

Festing, M. F. W 1998. Inbred Strains of Mice: BALB [online]. [cit. 2011-12-28]. Dostupné z <<http://www.informatics.jax.org/external/festing/mouse/docs/BALB.shtml>>.

Hansson, G. K. 2016. The 2007 Nobel Prize in Physiology or Medicine – Advanced Information. In: Nobelprize.org [online]. Nobel Media AB [cit. 2016-09-04]. Dostupné z: <[https://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2007/advanced.html](https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2007/advanced.html)>.

Charles River [online]. Wilmington. Charles River Laboratories International. © 2016. [cit. 2016-11-07]. Dostupné z: <<http://www.criver.com>>.

Charles River. Outbred Mice [online]. Charles River Laboratories International. © 2015 [cit. 2016-8-17]. Dostupné z <<http://www.criver.com/files/pdfs/rms/outbred-mice.aspx>>.

IMPC. [online]. International Mouse Phenotyping Consortium © 2016. Dostupné z: <<http://www.mousephenotype.org/objectives-and-background>>.

Jak vznikají transgenní živočichové. 29. 3. 2012. Radiový rozhovor v pořadu Mozaika. Český rozhlas. Dostupné také z: <[http://www.rozhlas.cz/mozaika/veda/\\_zprava/1038600](http://www.rozhlas.cz/mozaika/veda/_zprava/1038600)>.

MGI: Tyr. [online]. 16. února 2017 [cit. 2017-02-26] Dostupné z: <<http://www.informatics.jax.org/marker/MGI:98880>>.

MMRRC: Mutant Mouse Resource Research Centers [online]. [cit. 2017-03-20]. Dostupné z: <[https://www.mmrrc.org/catalog/sds.php?mmrrc\\_id=140](https://www.mmrrc.org/catalog/sds.php?mmrrc_id=140)>.

Nobelprize.org: Oliver Smithies – Facts. [online]. Nobel Media AB. © 2016. [cit. 2016-09-04]. Dostupné z: <[https://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2007/smithies-facts.html](https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2007/smithies-facts.html)>.

Šeda, O., Liška, F., Šedová, L. Komparativní genomika. Aktuální genetika: Multimediální učebnice lékařské biologie, genetiky a genomiky [online]. Praha. Ústav biologie a lékařské genetiky 1.LF UK a VFN. © 2005-2006 [cit. 2017-03-15]. Dostupné z: <[http://biol.lf1.cuni.cz/ucebnice/komparativni\\_genomika.htm](http://biol.lf1.cuni.cz/ucebnice/komparativni_genomika.htm)>.

Taconic. [online]. Hudson (NY). Taconic Biosciences. © 2017. [cit. 2017-02-25]. Dostupné z: <<http://www.taconic.com/mouse-model/nmri>>.

The Jackson Laboratory. [online]. Bar Harbor. The Jackson Laboratory. © 2016. [cit. 2016-09-14]. Dostupné z: <<https://www.jax.org/mouse-search>>.