

Replacement er EnOrm – *Caenorhabditis elegans* som dyremodel

Tina V. Alstrup Hansen (PhD, DVM)

Institut for Veterinær og Husdyrvidenskab
Sektion for Biomedicin
Veterinær Farmakologi og Toksikologi

KØBENHAVNS UNIVERSITET



Juergen Berger og Ralf Sommer, Max Planck Institute, Tuebingen, Tyskland

Introduktion:
Tina V. A. Hansen
Lektor, KU
(2022)
DVM (2010)
Ph.D. (2014)



Postdoc/Adjunkt
KU/ISU, USA
(2014-2017)



Postdoc. INRAE, FR
(2019-2021)



Postdoc. DTU, DK
(2021)



Parasitiske nematoder – farmakologi af anthelmintika



[nature](#) > [search](#)

Search

[Search](#) [Advanced search](#)

Journal

5 selected

Article type

Research (301)

Subject

All

Date

Last 12 months[Apply filters](#)[Clear selection](#)

- ☒ Nature Communications (121)
- ☒ Scientific Reports (101)
- ☒ Communications Biology (34)
- ☒ Nature (31)
- ☒ Nature Cell Biology (14)

[Choose more](#)

nature communications

Article

A new c targetin

Received: 17 May 2024

Accepted: 26 November

Published online: 02 Januar

Check for updates

nature communications

Article

LIN-39 deter elegan

Received: 9 July 2

Accepted: 26 Jun

scientific reports

OPEN

scientific reports

OPEN

nature communications

Article

<https://doi.org/10.1038/s41467-025-56766-1>

Eukaryotic Elongation Factor 2 Kinase EFK-1/eEF2K promotes starvation resistance by preventing oxidative damage in *C. elegans*

Received: 26 February 2024

Accepted: 29 January 2025

Published online: 18 February 2025

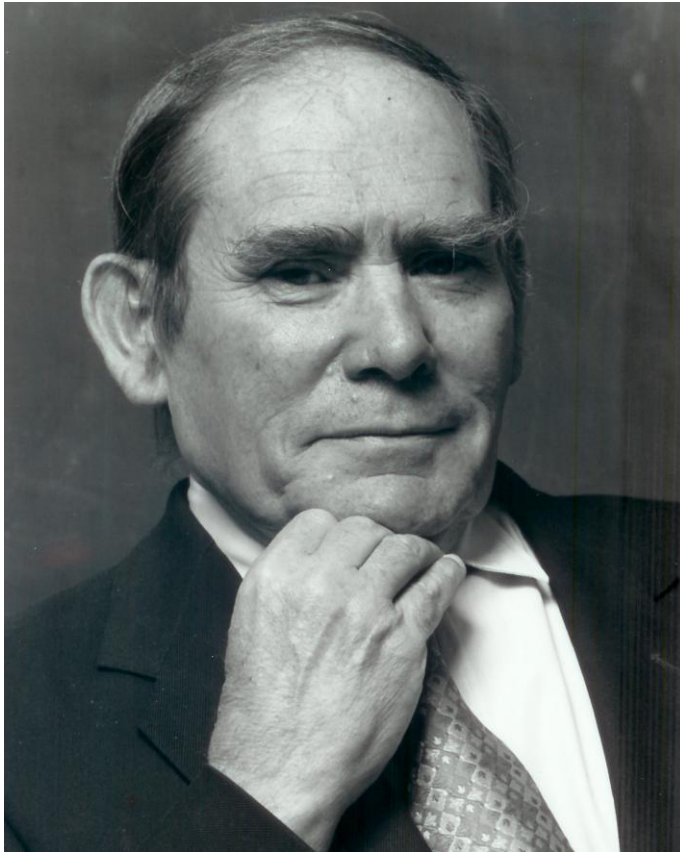
Junran Yan^{1,2,3,4}, Forum Bhanshali^{1,3,5,11}, Chiaki Shuzenji^{1,2,3,5}, Tsultrim T. Mendenhall⁶, Shane K. B. Taylor^{1,2,3,5}, Glafira Ermakova^{1,2,3,5}, Xuanjin Cheng^{1,3,5,12}, Pamela Bai^{1,2,3,5}, Gahan Diwan^{1,3,7}, Donna Seraj^{1,3,5}, Joel N. Meyer⁸, Poul H. Sorensen^{9,10}, Jessica H. Hartman⁶ & Stefan Taubert^{1,2,3,4,5}

Nobel priser



- **2002 – Fysiologi eller Medicin - Celledød (Apoptose)**
 - **Modtagere:** Sydney Brenner, Robert Horvitz og John E. Sulston
 - **Bidrag:** Kortlagde hvordan programmeret celledød fungerer ved hjælp af *C. elegans*
- **2006 – Fysiologi eller Medicin- RNA-interferens (RNAi)**
 - **Modtagere:** Andrew Fire og Craig Mello
 - **Bidrag:** Opdagede RNAi vha. *C. elegans*, en mekanisme hvor små RNA-molekyler kan slukke for gener.
- **2008 – Kemi - Grønt fluorescerende protein (GFP)**
 - **Modtagere:** Osamu Shimomura, Martin Chalfie og Roger Y. Tsien
 - **Bidrag:** *C. elegans* blev brugt til at vise, hvordan GFP kan bruges til at visualisere genudtryk og cellulære processer
- **2024 - Fysiologi eller Medicin - MikroRNA (miRNA) og genregulering**
 - **Modtagere:** Victor Ambros og Gary Ruvkun
 - **Bidrag:** Opdagelse af miRNAs og deres rolle i posttranskriptionel genregulering i *C. elegans*.

Opdagelsen af *Caenorhabditis elegans* som en model organisme



Sydney Brenner

Sydney Brenner

- født i januar 1927 i Sydafrika
- død i april 2019 i Singapore (92 år gammel)

Molekylærbiolog og genetiker

- begyndte på universitetet i Johannesburg som 15-årig
- PhD 1954, University of Oxford
- **så James Watson og Francis Cricks dobbelthelix-model af DNA i april 1953**
- blev rekrutteret af Francis Crick i 1956 til University of Cambridge
- arbejdede i cirka 20 år ved The Medical Research Council (MRC) Laboratory of Molecular Biology (LMB) i Cambridge

Store opdagelser:

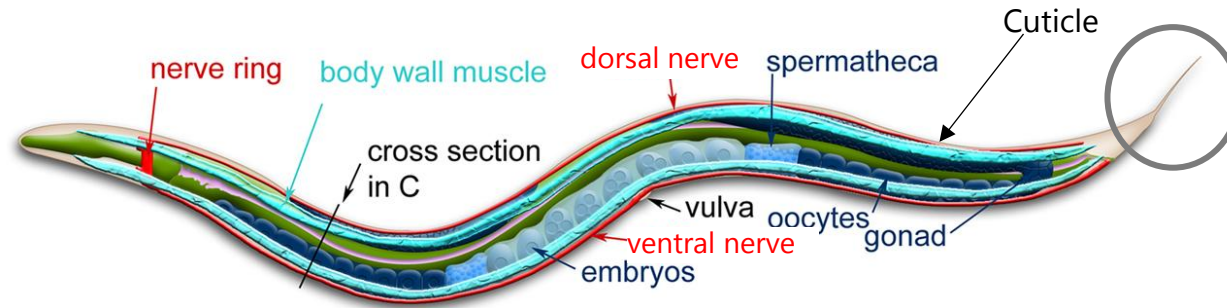
- opdagelse af mRNA (Brenner et al. 1961)
- opdagelse af STOP kodon sekvenser (Brenner et al. 1965)
- grundlæggende genetik og *C. elegans'* udvikling
 - apoptosis

Nobel Prize for Physiology or Medicine 2002

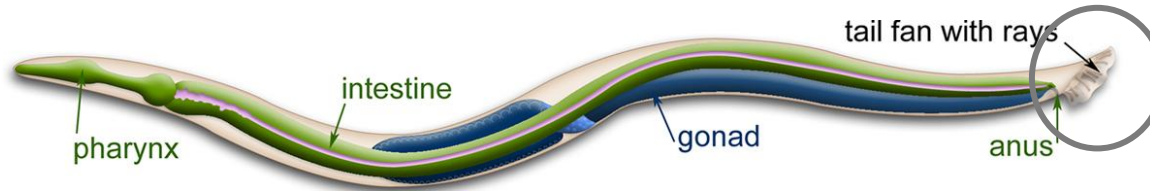
- Sydney Brenner, H. Robert Hovitz and John E. Sulston

Caenorhabditis elegans – anatomi

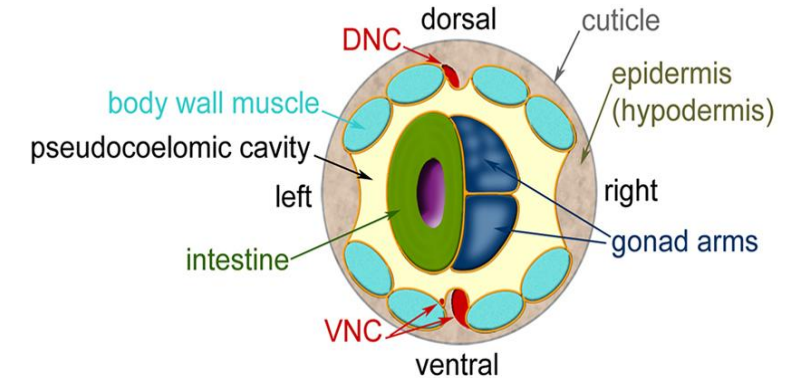
Voksen hermafrodit



Voksen han

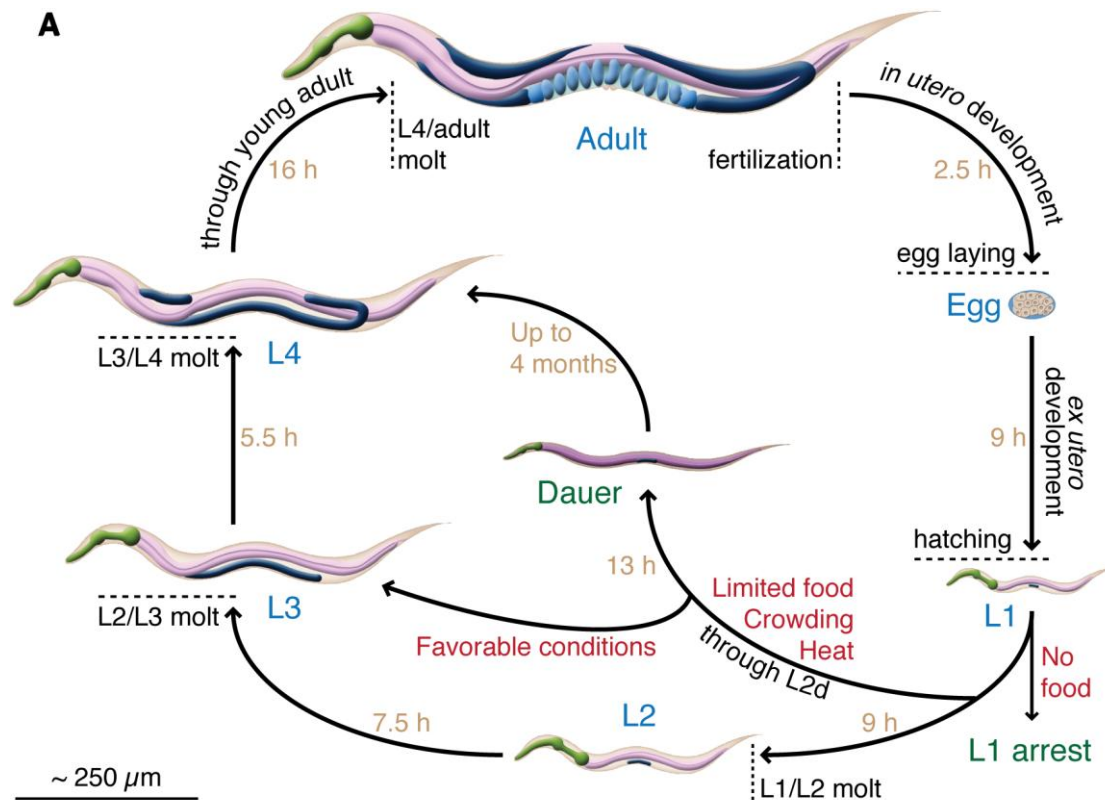


Tværsnit gennem den anterior region



- fritlevende nematod
- selvbefrugtende hermafroditter og hanner
- hanner forekommer med en frekvens på $<0.1\%$
- nyklækkede larver: 0.25 mm
- voksne orm: ~1 mm

Caenorhabditis elegans – livscyklus



A. *C. elegans* life cycle at 25 °C. Worms are drawn approximately to scale. Modified from Altun and Hall (2012).

hurtig generationstid
genetisk identiske individer

Temperaturnafhængig udvikling

- ~3 d ved 20°C

Embryogenesen:

- ~16 t at 20°C

Larveudvikling (L1-L4)

- L1: 16 t at 20°C
- L2-L4: ~12 t at 20°C

Voksne (egg-laying):

- 12-16 t efter L4 hudskifte
- Afkom produceres i 2-3 dage, indtil den selvproducerede sæd er opbrugt (parring)

Dauer ("lasting")

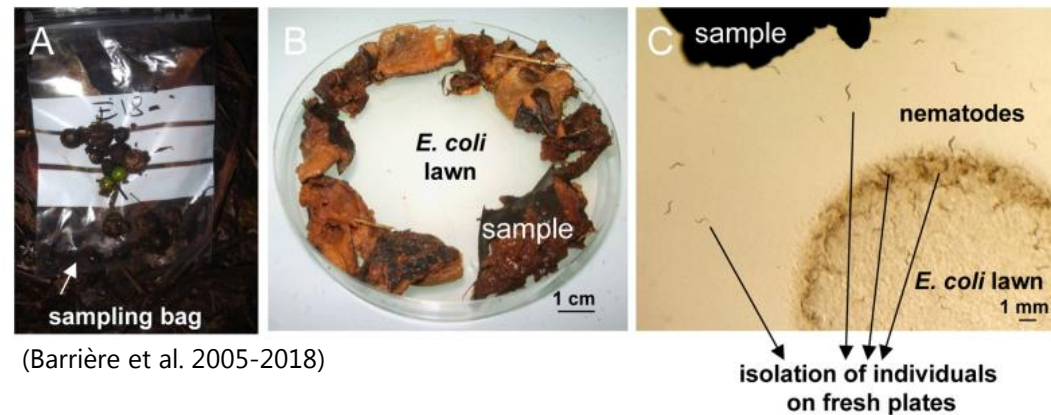
- et udviklingshæmmende stadie under ugunstige forhold
- kutikula, der tilstopper munden
- ingen foderindtag – ingen pharynxpmpning
- under gunstige forhold fortsætter udviklingen (Corsi et al. 2015)

Levetid

- 2-3 uger

Caenorhabditis elegans – dyrkning

- Kan isolere fra rådne plantemateriale, der indeholder bakterier (Barrière et al. 2005-2018)
 - eller bestilles fra *Caenorhabditis* Genetics Center (CGC)
- Dyrkes på petriskåle med Nematode Growth Medium (NGM), som indeholder et lag af *Escherichia coli* stammen OP50 som fødekilde
 - Vækst af *E. coli* OP50 begrænses på NGM plader (Stiernagle et al. 2006)
- *C. elegans* er transparent, og individuelle celler kan let visualiseres ved hjælp af differential interference contrast (DIC) mikroskop (Corsi et al. 2015)



(Hansen. 2023)

**let at dyrke i laboratoriet
transparent under DIC mikroskop**

C. elegans – velkarakteriseret genom og transkriptom

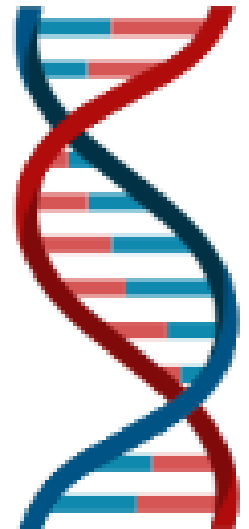
***C. elegans* var den første flercellede organisme, for hvilken en komplet genomsekvens blev opnået**

C. elegans Sequencing Consortium 1998

- velannoteret genom
- reference genom for nematoder etc.
- genetisk homology med mennesker 60-80% (Zhang et al. 2020)

- ***C. elegans* transkriptom**

- Fuld længde transkriptom (Roach et al. 2020)
- Embryonal transkriptom (Tang, 2019, Ma et al. 2023)



Omfattende viden på genomisk og transkriptomisk niveau

C. elegans – velkarakteriseret på det cellulære niveau

Alle embryonale og postembryonale cellelinjer i *C. elegans* er kendt

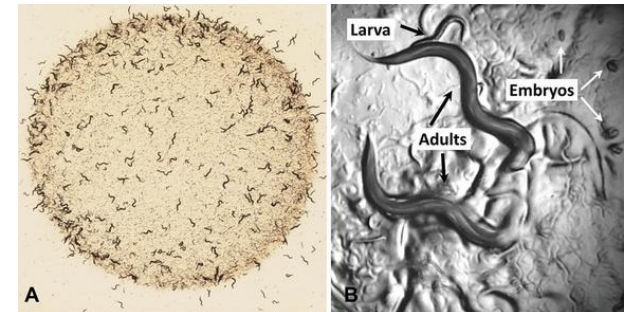
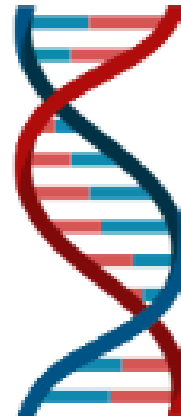
Embryogenesen:

- 671 celler dannes
- 113 undergår apoptosis (111 in males) (Sulston et al 1983)
- **Voksne hermafroditiske orm**
 - 1090 somatiske celler udvikles under den hermafroditiske udvikling
 - 131 undergår apoptosis
 - **959** somatiske celler i den voksne hermafroditiske orm (Sulston et al 1983)
- **Celletyper i voksne orm**
 - 302 neuroner (White et al. 1986) (383 i voksne hanner)
 - 96 kropsmuskler (Sulston et al. 1977)
 - 20 tarmceller (lejlighedsvis 21 celler) (Sulston et al. 1983)
 - etc.

Omfattende viden om udvikling og celletyper

Generelle fordele ved *C. elegans* som modelorganisme

- Lille størrelse (mindre end 1 mm)
- Hurtig generationstid (fra æg til voksen på ca. 3 dage ved 20 °C)
- De fleste voksne er hermafroditter
 - afkom er stort set genetisk identiske
- Let at dyrke i laboratoriet og lave omkostninger
- Transparent – nem at følge udviklingen
- Let at generere mutantstammer (identificering af drug targets)
- Stort antal molekylære værktøjer til rådighed
- Omfattende viden om *C. elegans* på
 - cellulære niveau
 - genetisk niveau
 - transkriptomisk niveau

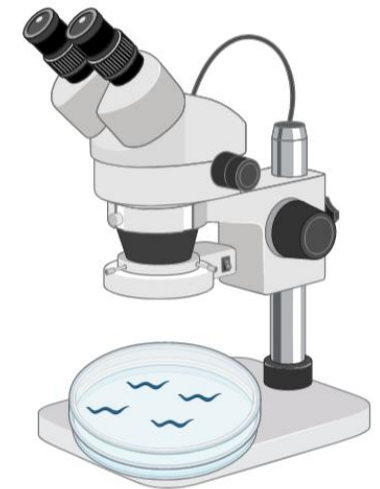
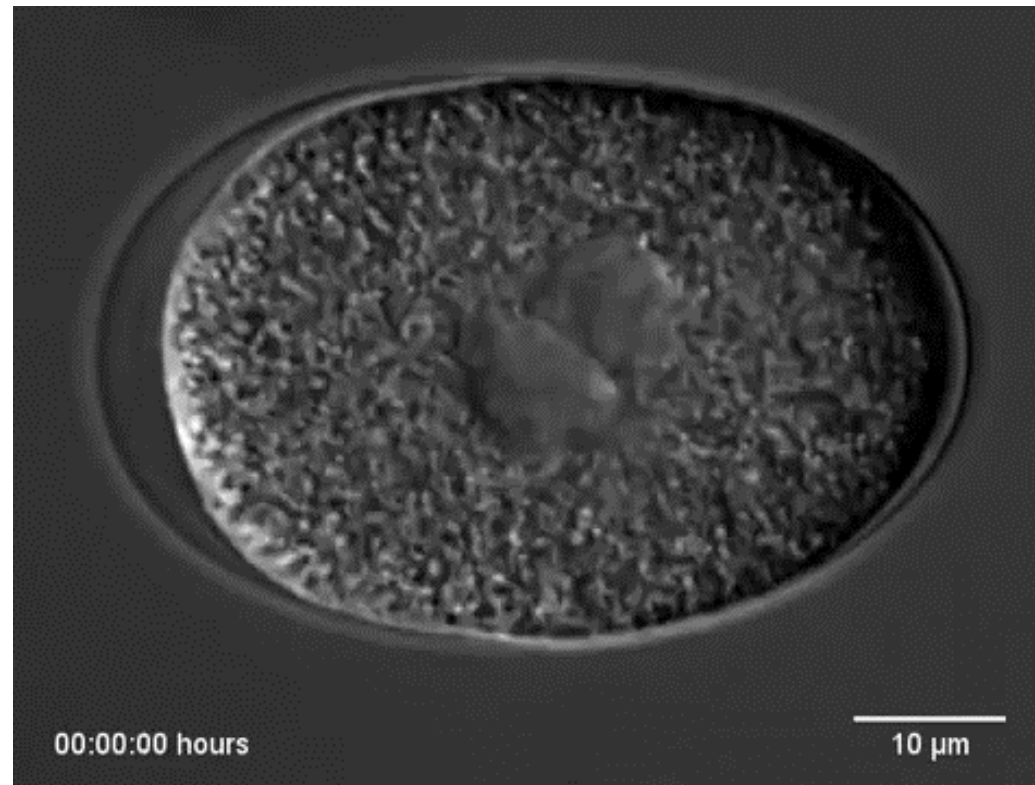


(Meneely et al. 2019)



(Hansen. 2023)

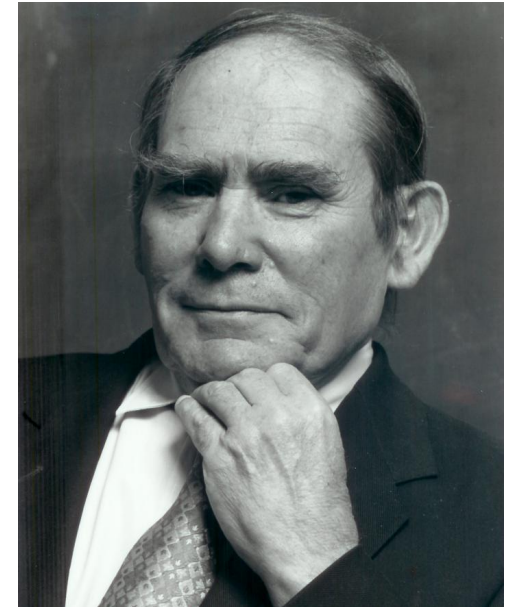
Caenorhabditis elegans – embryonal udvikling (~12 t ved 20°C)



Nomarski DIC-video, der viser udviklingen af et *C. elegans* embryo fra den første celledeling til klækning. Embryoet blev opdrættet ved 20 °C. (Filmkilde: M. Dressler & T. Hyman, hosted with permission. Se video på [YouTube](#).)

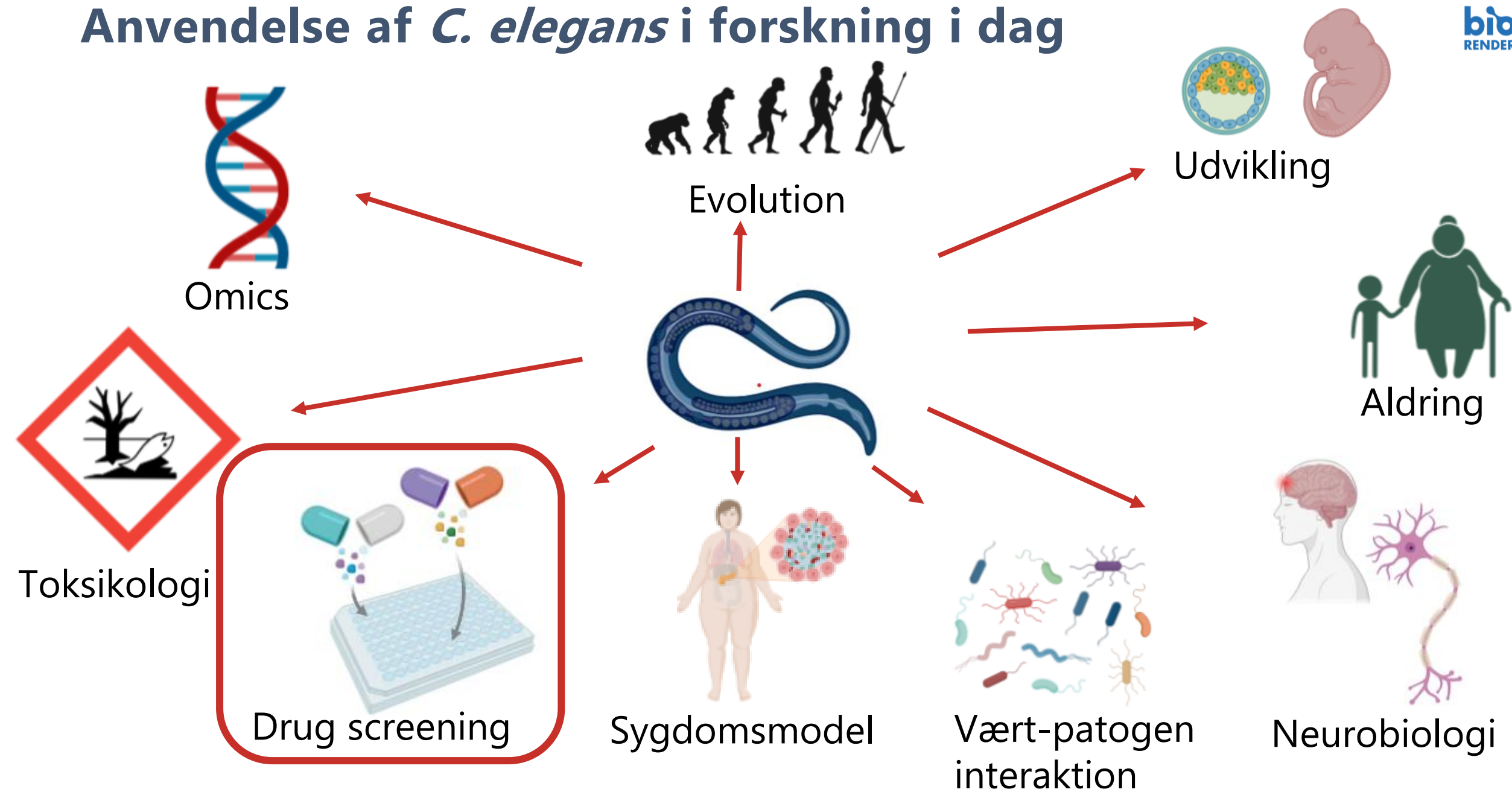
Caenorhabditis elegans – en etableret modelorganisme

- Sydney Brenner etablerede *C. elegans* som et modelsystem til at opbygge en grundlæggende forståelse af
 - genetik
 - udvikling
 - adfærd



Sydney Brenner

Anvendelse af *C. elegans* i forskning i dag



C. elegans i anthelmintisk forskning – translational værdi?



C. elegans, en nematod

Rundorm
(Nematoder)



Ikter
(Trematoder)



Bændelorms
(Cestoder)



Parasitisk rundorm
(*Haemonchus contortus*)

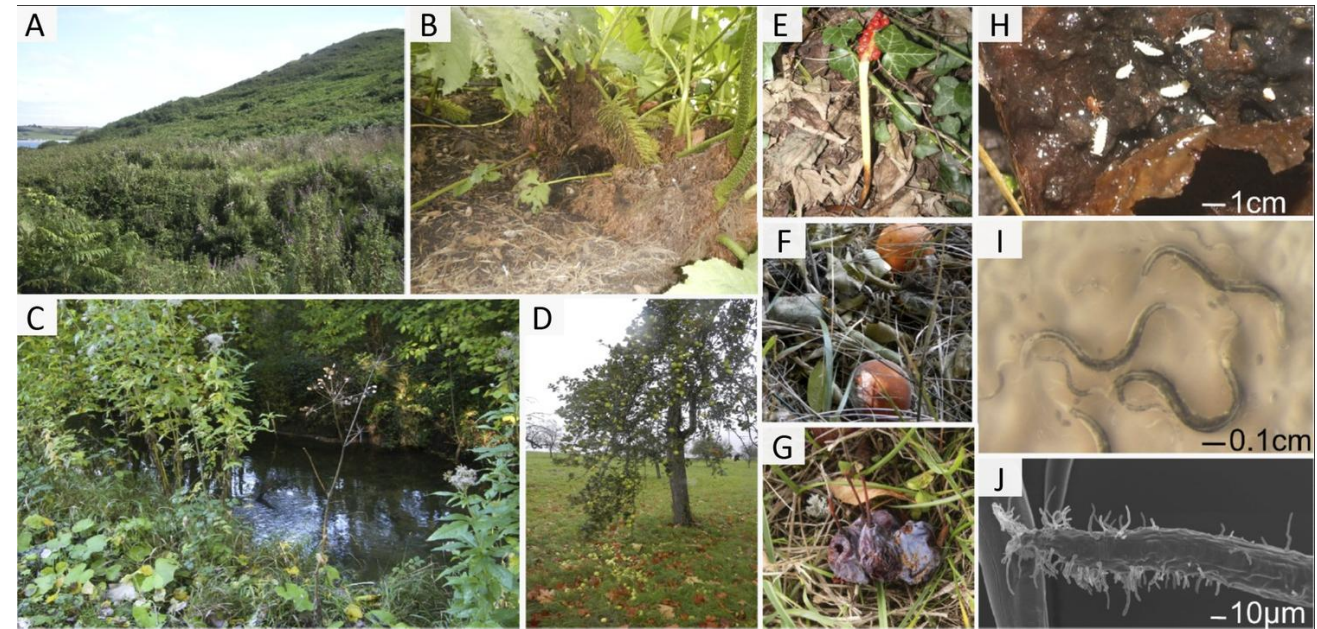
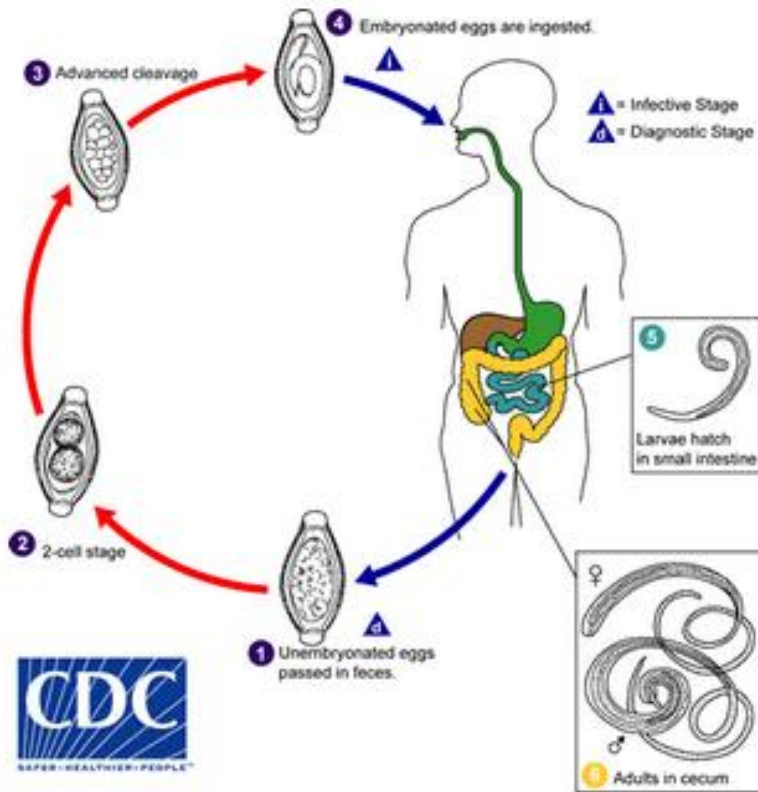


- Mange ormeparasitter er nematoder, men ikke alle.
 - trematoder (ikter)
 - cestoder (bændelorme)
 - anatomiske forskelle
 - fysiologiske forskelle

C. elegans i anthelmintisk forskning – translational værdi?

De fleste parasitter er **værtsspecifikke**

C. elegans er en **fritlevende** nematod



(Frézal et al. 2015)

C. elegans kræver ingen værtsorgansime for at gennemføre sin livscyklus

C. elegans i anthelmintisk forskning – translational værdi?

C. elegans har spillet en central rolle i at afdække, hvordan alle de vigtigste klasser af anthelmintiske lægemidler virker.

Translational værdi?

C. elegans er en **nematod** ligesom er lang række af parasitiske **nematoder**

- **komparativ anatomi**
 - kutikula, kropsplan og nervesystem er sammenlignelig
- **komparativ fysiologi**
 - f.eks. det neuromuskulære system inkl. neurotransmittere er højt konserveret
- **komparativ funktion?**
 - gener og deres produkter, der er relateret til vært-interaktioner, mangler hos *C. elegans*.
 - gener, der koder for produkter af betydning for invasion af værts væv eller for at undgå værts immunrespons
 - f.eks. proteaser til vævsnedbrydning og apyrase-familien til modulering af værts immunrespons



Barber's poleworm
(*Haemonchus contortus*)



Grisens piskeorm
(*Trichuris suris*)

C. elegans – eksempel på identificering af virkningsmekanismen for et anthelmintiske lægemiddel: monepantel (Zolvix)

nature

Vol 452|13 March 2008|doi:10.1038/nature06722

ARTICLES

A new class of anthelmintics effective against drug-resistant nematodes

Ronald Kaminsky¹, Pierre Ducray², Martin Jung¹, Ralph Clover³, Lucien Rufener^{1,4}, Jacques Bouvier¹, Sandra Schorderet Weber¹, Andre Wenger¹, Susanne Wieland-Berghausen², Thomas Goebel², Noelle Gauvry², François Pautrat², Thomas Skripsky², Olivier Froelich¹, Clarisse Komoin-Oka⁵, Bethany Westlund³, Ann Sluder³ & Pascal Mäser⁴



C. elegans – drug target identifikation for monepantel

DEG-3 gruppe - nematod specifik

• Forward genetic screen

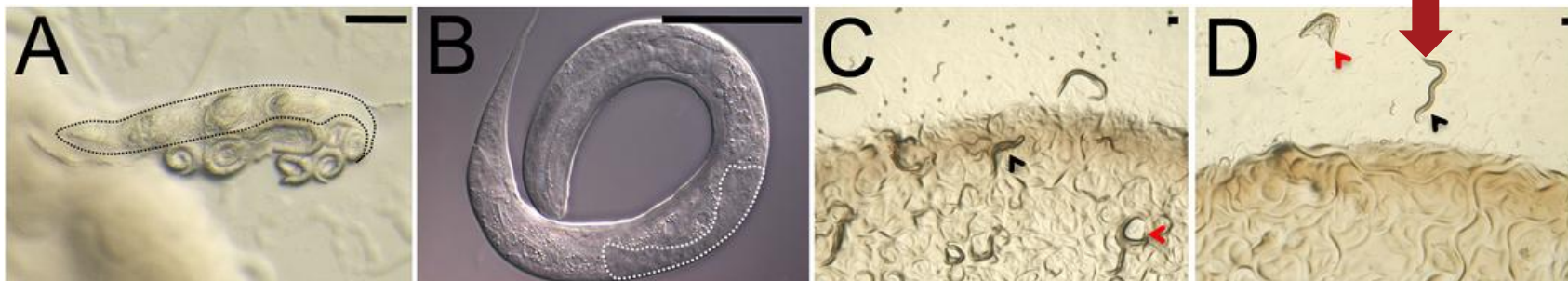
- mutagenese (stråling eller kemisk)
- fænotypisk screening
- selektion monepantel resistente orme
- kortlægning af relevante genomiske områder i monepantel resistente orm og identificering af relevante gener (*acr-23*)



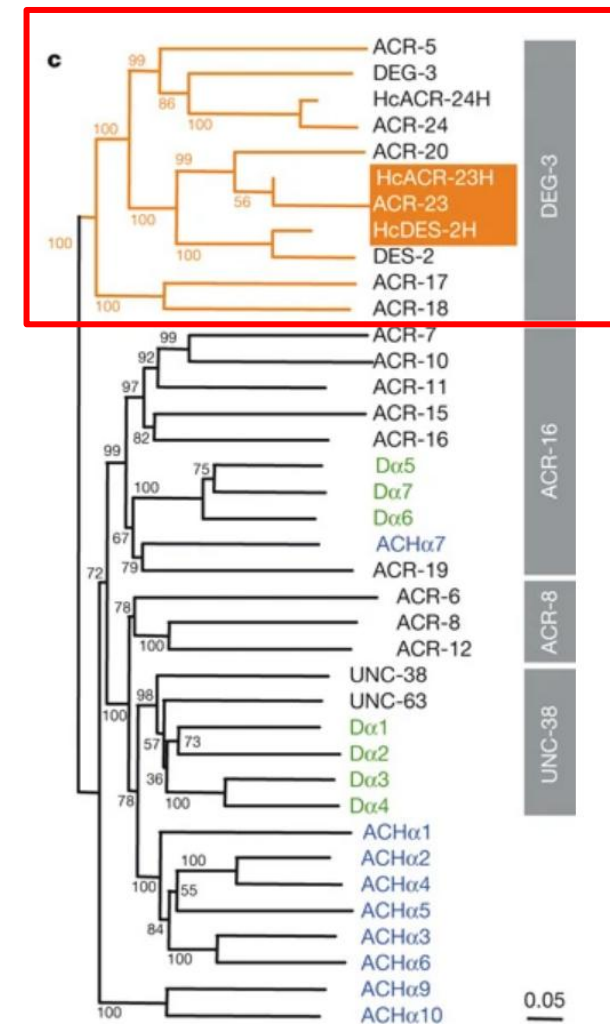
Fænotypisk screening

Vildtype *C. elegans* er følsomme over for monepantel og bliver lammet ved eksponering (sammenrullet)

C. elegans med mutation i *acr-23* har normal bevægelse og udvikling



Rufener et al. 2013

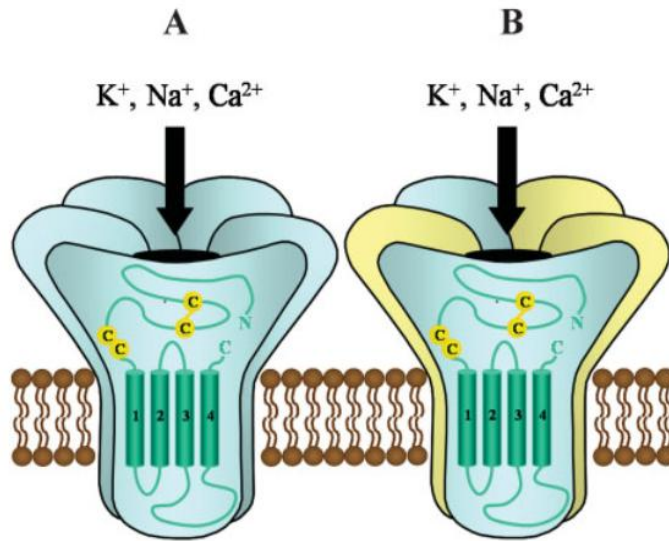


(Kaminsky et al. 2008)

Hvad koder *acr-23* genet for?

Homomer

Heteromer

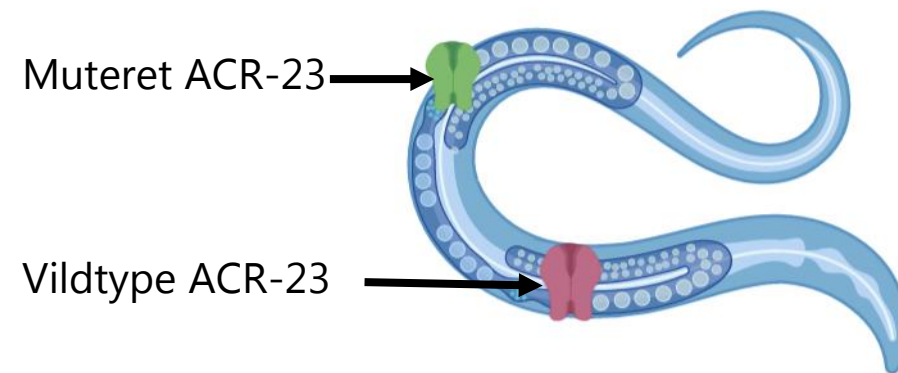


Jones et al. 2004

- *acr-23* genet koder for en nikotinacetylcholinreceptor (nAChR) subunit
- ACR-23 receptoren er en homomerisk fem-subunit ligand gated **ionkanal**
- nAChRs er ofte placeret i den neuromuskulære overgang, men findes også på ekstrasynaptiske steder
- Anthelmintika, der interagerer med (nAChR), forårsager enten hæmning eller aktivering af disse receptorer, hvilket resulterer i en strøm af ioner gennem kanalen. Denne ionstrøm kan måles som en elektrisk strøm
- **Den fysiologiske reaktion er muskelkontraktion eller andre fysiologiske effekter**
 - lammelse af ormen
 - udskillelse fra værten ved peristaltiske bevægelser i mave-tarmkanalen

Hvordan blev det bestemt at ACR-23 er target for monepantel?

Transgene *acr-23* mutantorm der udtrykker vildtype *acr-23*, bliver følsomme over for monepantel

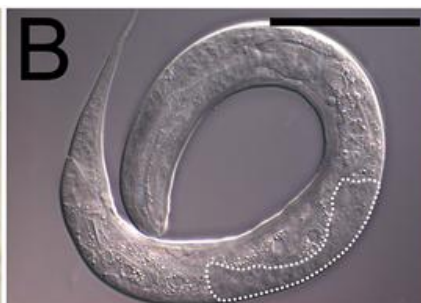


Figures created with [BioRender.com](https://www.biorender.com).

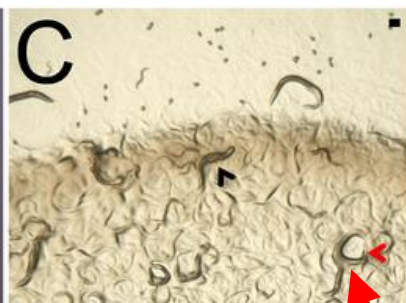
Vildtype *C. elegans* er følsomme over for monepantel og bliver lammet ved eksponering (sammenrullet)



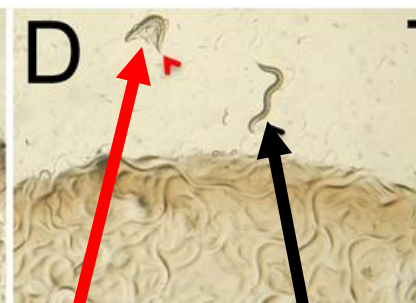
Rufener et al. 2013



acr-23 mutant med vildtype *acr-23* (transgene orm) bliver lammet



Transgene *acr-23*-mutant med vildtype *acr-23*

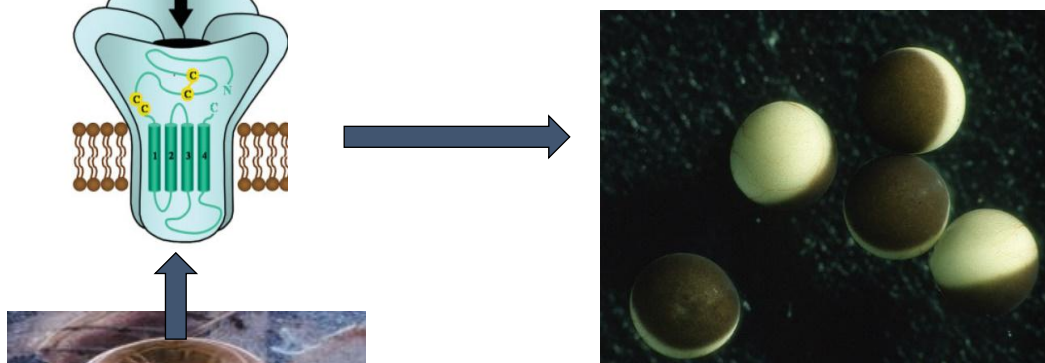


acr-23 mutant

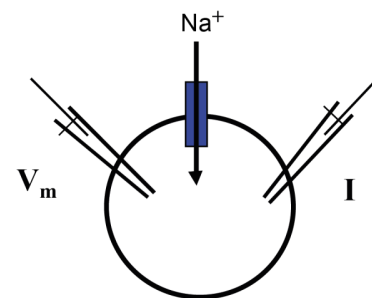
Hvordan blev det bestemt at ACR-23 er target for monepantel?



Xenopus laevis

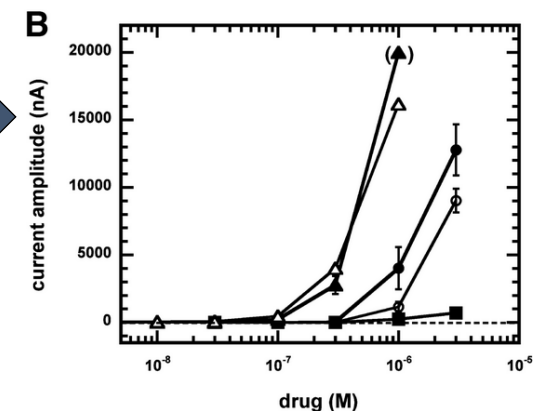
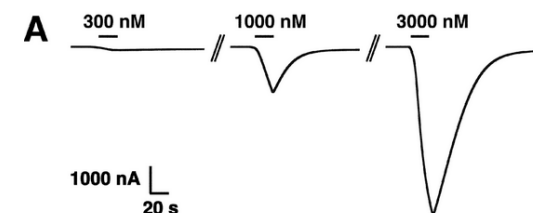


X. laevis oocytes



Two-electrode voltage-clamp (TEVC) elektrofysiologi

Monepantel er en direkte agonist på ACR-23 receptoren



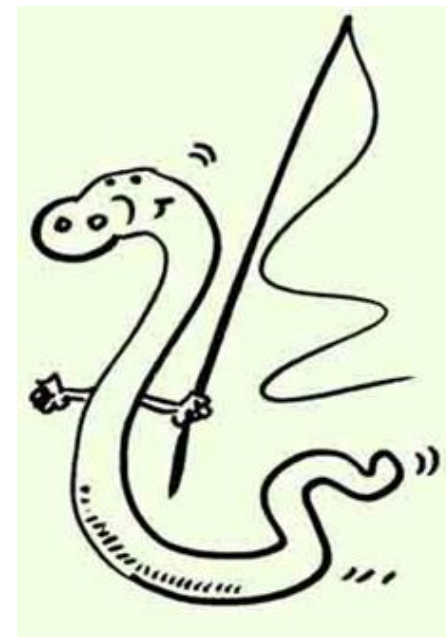
Rufener et al. 2013

Ved TEVC bev det påvist at monepantel aktiverer ACR-23 fra *C. elegans*
Senere identificerede Bauer et. al. 2014 også *Ce/-ACR-20*, som target for monepantel

Hvordan bruger vi *C. elegans*?

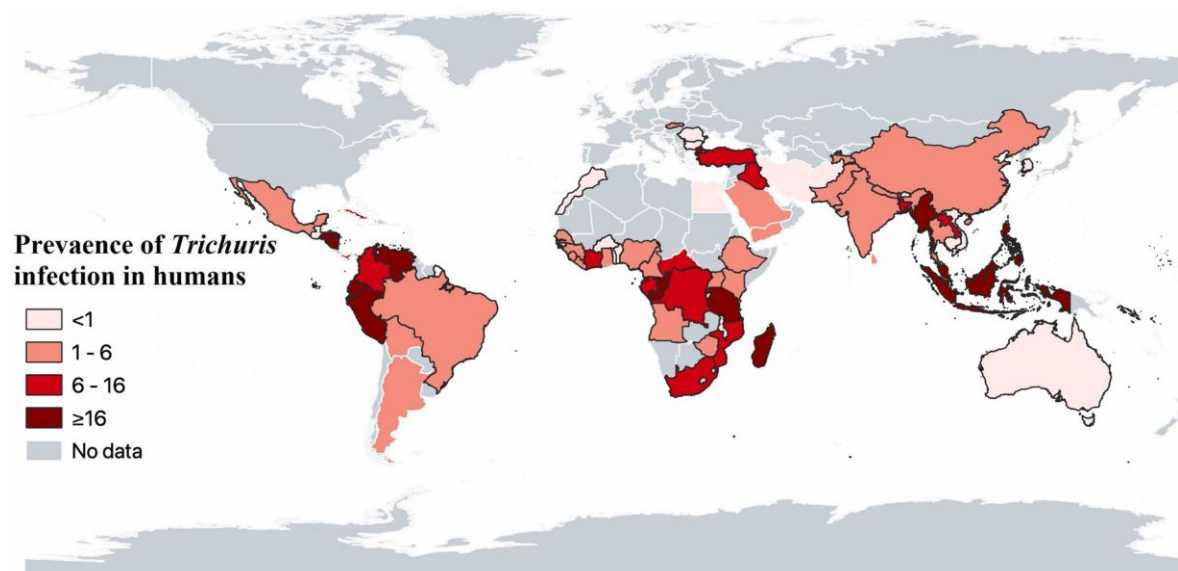
- **valideringsværktøj til at bekræfte lægemiddelfølsomhed**
- **et levende screeningsværktøj til at identificere potentielle stoffer med anthelmintisk eller antimikrobiel effekt**

men først lidt information om piskeorm



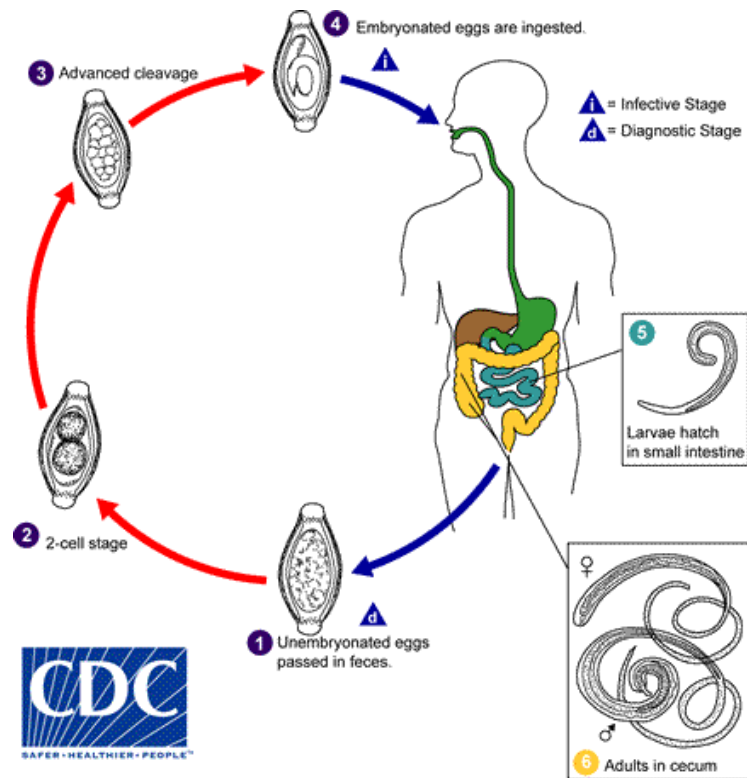
Trichuris trichiura - Geografisk udbredelse og globale estimater for prævalens og antal smittede

- Piskeormen, *Trichuris* spp., er en parasitisk nematode fra klade I, som inficerer både dyr og mennesker over hele verden (Bethony et al., 2006; de Silva et al., 2003)
- Den humane piskeorm, *Trichuris trichiura*, er en af de jordoverførte helminther (STHs) og anslås at inficere omkring **513 millioner mennesker** globalt (Behniafar et al. 2024)



Geografiske udbredelse og estimeret globale infektionsprævalens af *Trichuris trichiura* – baseret på data fra udvalgte, peer-reviewed studier fra 1. januar, 2010 til 30. July 2023 (Behniafar et al. 2024)

Den humane piskeorm – *Trichuris trichiura*



- De voksne orme er placeret i caecum og proksimale colon
- Sjældent dødelig og ofte subklinisk
- Symptomerne afhænger af infektionens intensitet
- De mest alvorlige infektioner forekommer hos skolebørn i alderen 4–14 år
- Complete *Trichuris* Dysentery Syndrome
 - finger clubbing
 - anæmi
 - rektal prolaps
 - væksthæmning



<https://www.medicalzone.net/differential-diagnosis-of-clubbing.html>



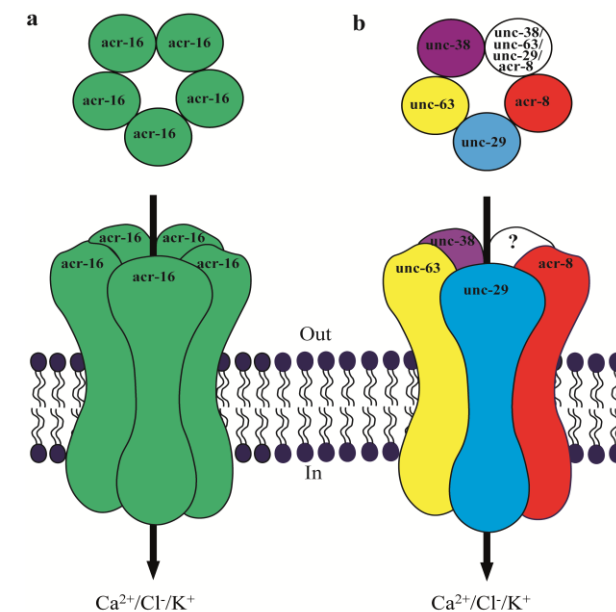
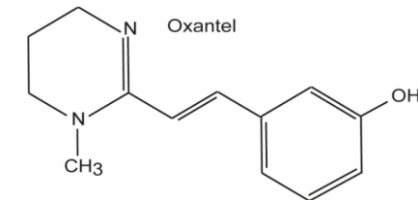
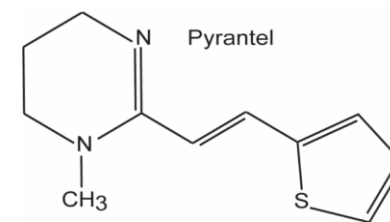
https://info.isradiology.org/tropical_diseases/tmcr/chapter17/clinical.htm

***Trichuris trichiura* – behandlingsstrategi**

- Den nuværende strategi til kontrol af *T. trichiura* er en enkelt oral dosis af benzimidazoler (BZs) dvs. albendazol eller mebendazol (WHO, 2017)
- Effekten af enkelt-dosis behandling med benzimidazoler mod trichuriasis er lav til middelmådig (Keiser and Utzinger 2008)
- Anthelmintika fra andre stofgrupper end BZs (ivermectin og levamisol) har også vist lav effekt mod human trichuriasis (Albonico et al., 2003, Belizario et al., 2003, Marti et al., 1996)
- Ormemidlet oxantel et gammelt veterinært anthelmintikum, som blev udviklet i 1970'erne af Pfizer til behandling af trichuriasis hos hunde (McFarland and Howes, 1972)
- Tidlige kliniske forsøg rapporterede, at oxantel var effektiv mod *T. trichiura*-infektioner (Garcia et al. 1976, Lee et al. 1976)
- Oxantel har fået ny opmærksomhed på grund af sin relativt høje effektivitet mod *T. trichiura* (Speich et al. 2014, Barda et al. 2018, Peldán and Pitkänen 1982)

Oxantel

- Oxantel er et m-oxyfenol-derivat af pyrantel
- Oxantel virker specifikt på *Trichuris* spp.
- Oxantel virker ved at lamme ormen, som derefter dræbes eller udstødes fra værten
- Oxantel karakteriseres som et *N*-type kolinergt anthelmintikum der virker på nAChRs (Martin et al, 2004, Wolstenholme and Neveu 2017)
- **Target for oxantel i *Trischuris* spp. var ukendt**



Eksempel på a: a) homomerisk- og b) heteromerisk fem-subunit nAChR

Hypotese



Pergamon

www.elsevier.com/locate/neuroscience

PII: S0306-4522(00)00279-7

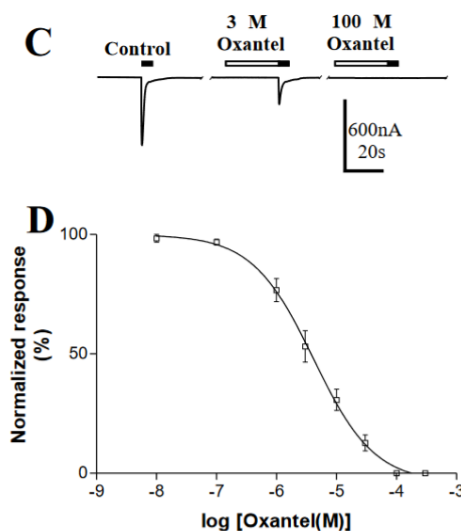
Neuroscience Vol. 101, No. 3, pp. 785–791, 2000
 © 2000 IBRO. Published by Elsevier Science Ltd
 Printed in Great Britain. All rights reserved
 0306-4522/00 \$20.00+0.00

ANTHELMINTIC ACTIONS ON HOMOMER-FORMING NICOTINIC ACETYLCHOLINE RECEPTOR SUBUNITS: CHICKEN $\alpha 7$ AND ACR-16 FROM THE NEMATODE *CAENORHABDITIS ELEGANS*[☆]

V. RAYMOND,* N. P. MONGAN† and D. B. SATTELLE*‡

*MRC Functional Genetics Unit, Department of Human Anatomy and Genetics, University of Oxford, South Parks Road, Oxford OX1 3QX, UK

†The Babraham Institute Laboratory of Molecular Signalling, Department of Zoology, University of Cambridge, Downing Street, Cambridge CB2 3EJ, UK



- er ACR-16 fra grisens piskeorm, *T. suis*, og musens piskeorm, *T. muris*, target for oxantel?
- er ACR-16 fra *T. suis* and *T. muris* mere sensitiv overfor oxantel end ACR-16 fra *A. suum* og *C. elegans*?

BJP British Journal of Pharmacology

British Journal of Pharmacology (2016) 173 2463–2477 2463

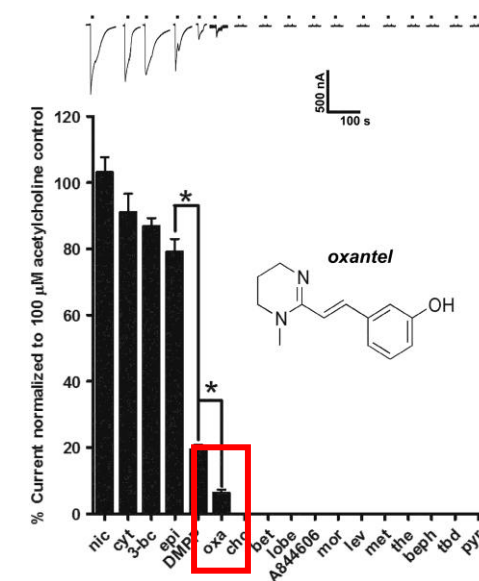
RESEARCH PAPER

Pharmacological profile of *Ascaris suum* ACR-16, a new homomeric nicotinic acetylcholine receptor widely distributed in *Ascaris* tissues

Correspondence Richard J Martin, Department of Biomedical Sciences, College of Veterinary Medicine, Iowa State University, Ames, IA, USA. E-mail: rjmartin@iastate.edu

Received 30 October 2015; **Revised** 25 April 2016; **Accepted** 17 May 2016

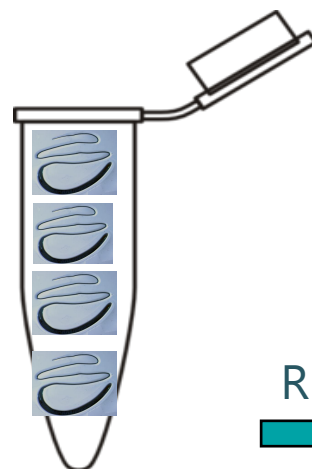
Melanie Abongwa¹, Samuel K Buxton¹, Elise Courtot^{2,3}, Claude L Charvet^{2,3}, Cédric Neveu^{2,3}, Ciaran J McCoy⁴, Saurabh Verma¹, Alan P Robertson¹ and Richard J Martin¹



Ofte anvendt metode til farmakologisk karakterisering af nAChRs

Wormbase
Parasite

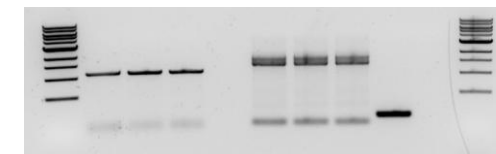
- TBLASTN search
- *Asu*-ACR-16
- *Cel*-ACR-16



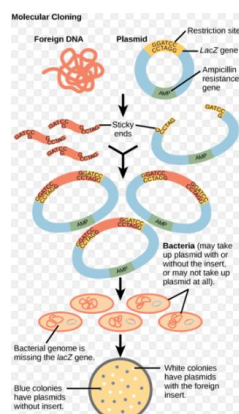
RNA ekstraktion



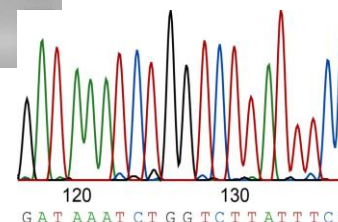
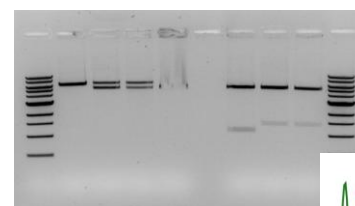
cDNA syntese



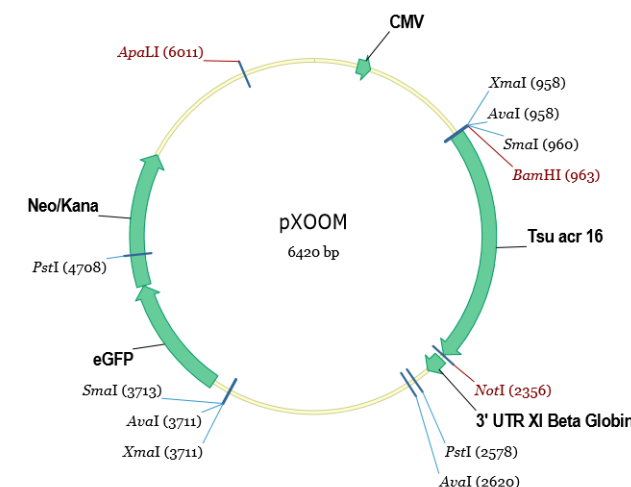
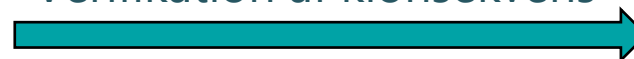
PCR



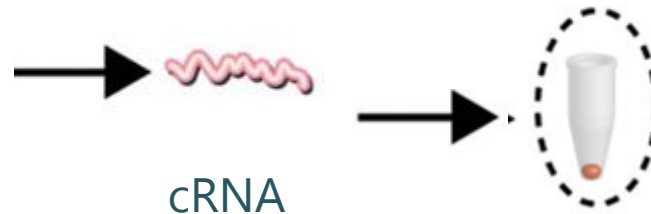
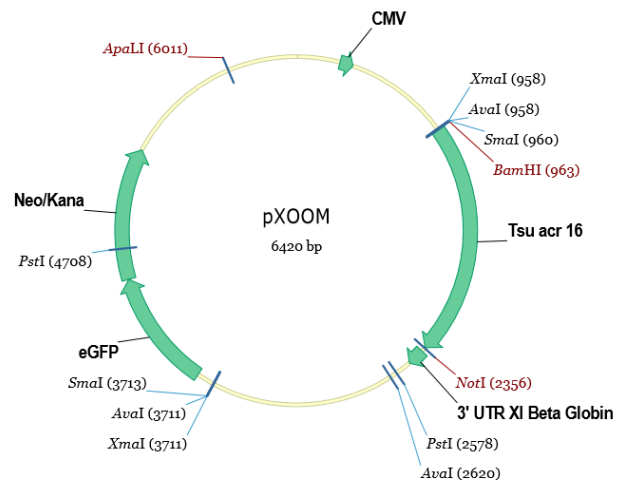
Kloning



Verifikation af klonsekvens



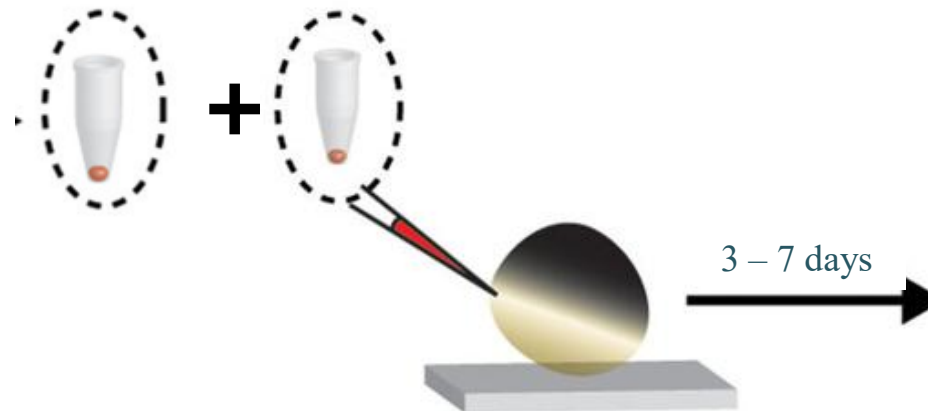
Ofte anvendt metode til farmakologisk karakterisering af nAChRs



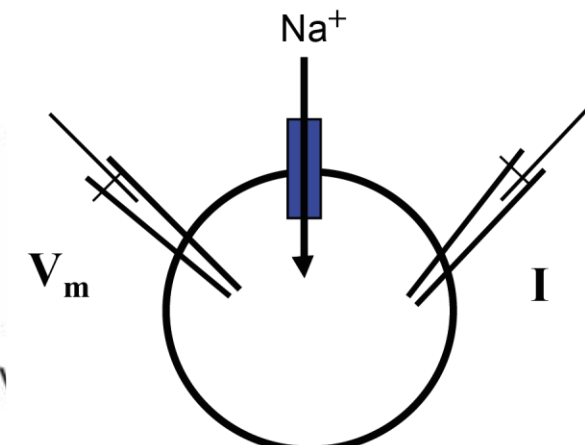
Xenopus laevis



X. laevis oocytter

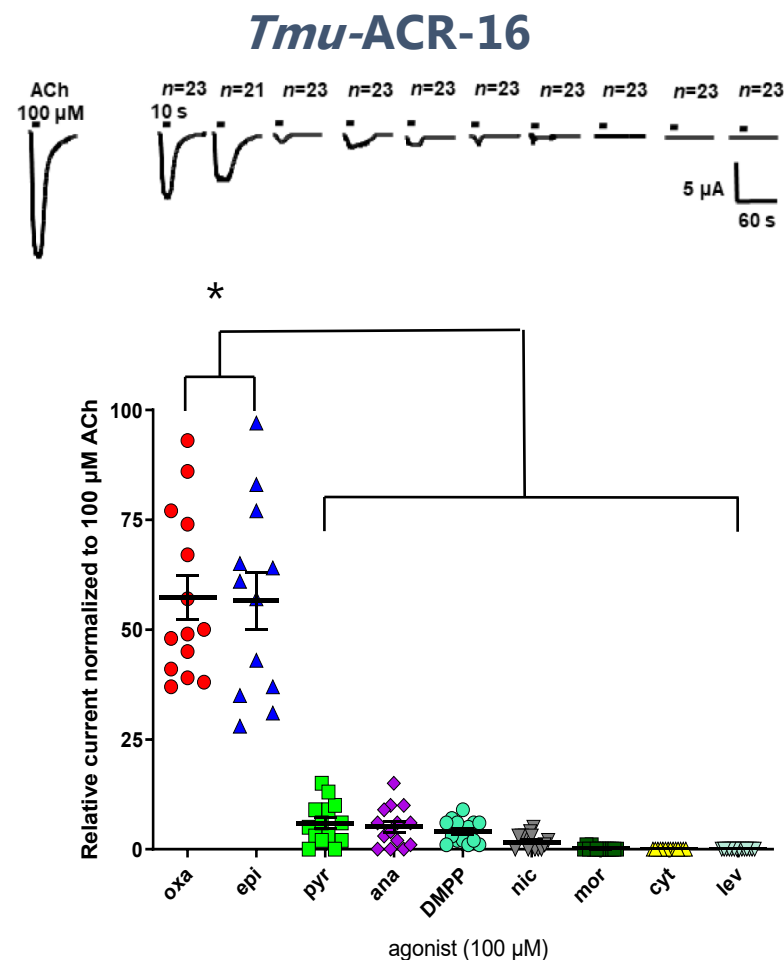
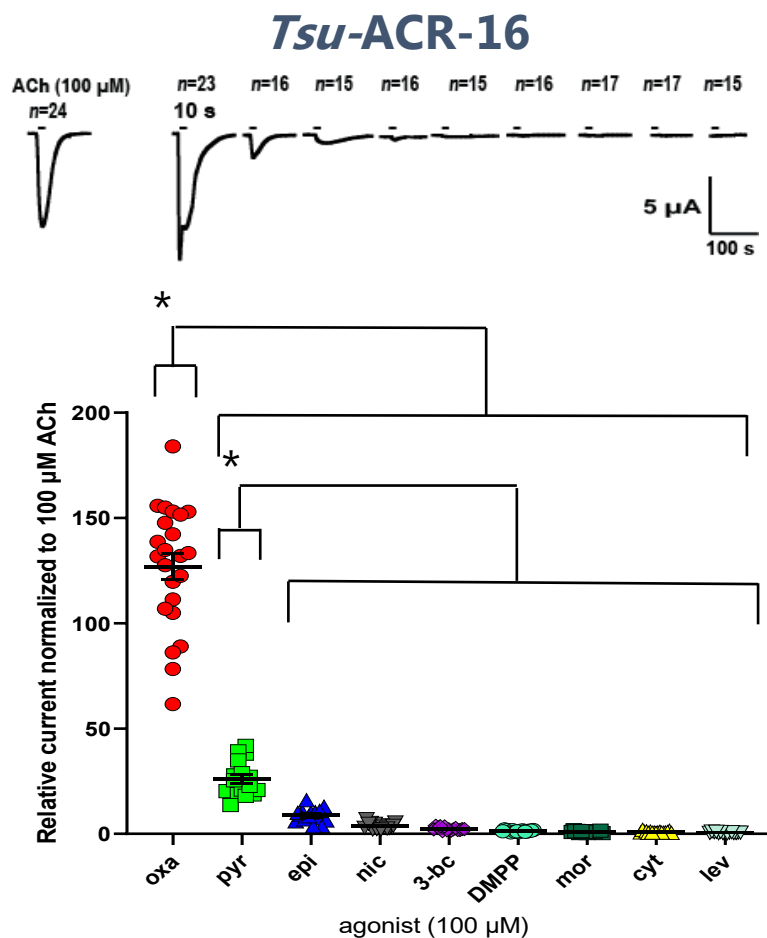


Mikroinjektion i *Xenopus laevis* oocytter



Two-electrode voltage-clamp (TEVC)
elektrofysiologi

Elektrofysiologiske resultater: ACR-16 ekspression i *X. laevis*-oocytter – drug test



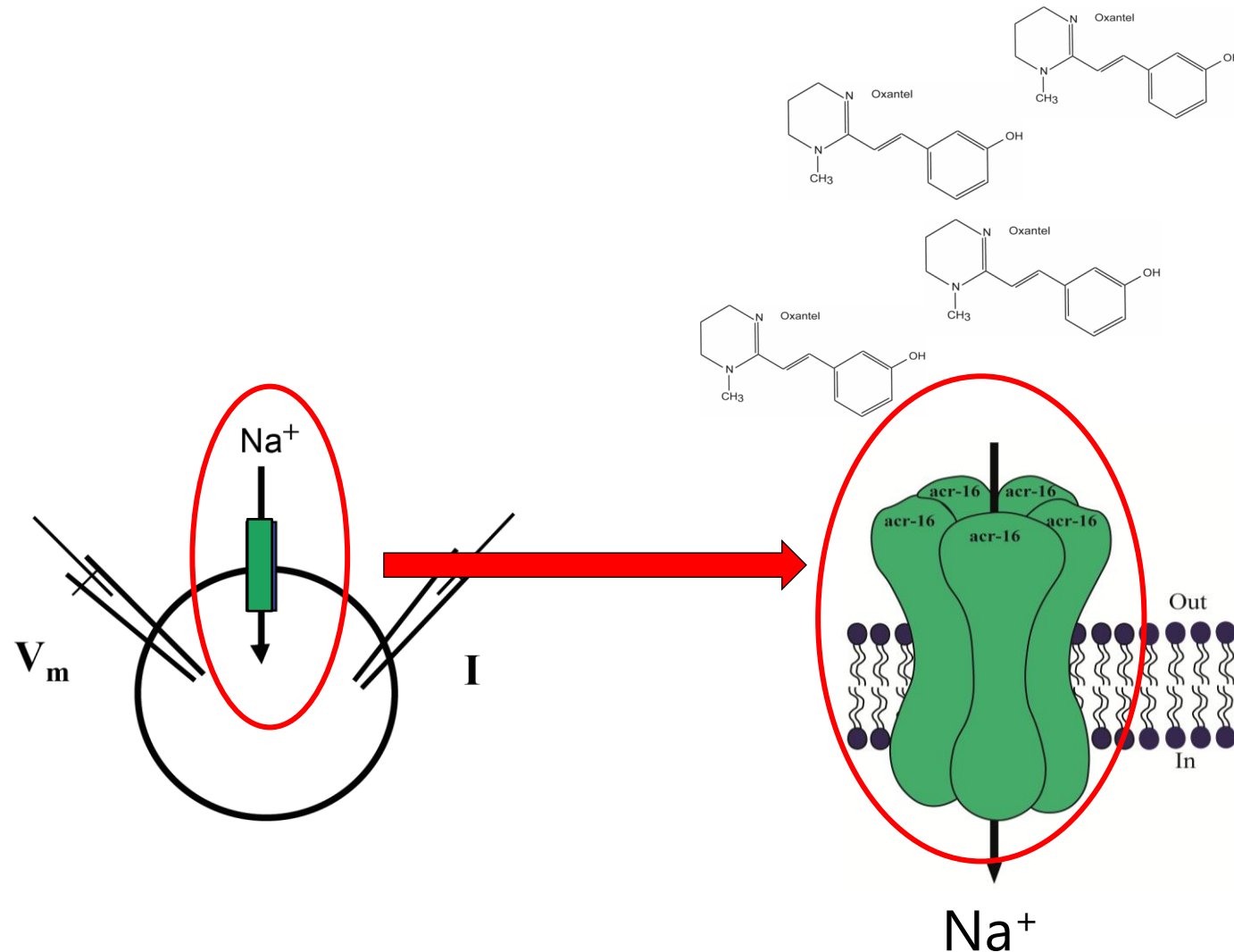
Begge ACR-16 ionkanaler var meget følsomme over for oxantel

ACR-16 fra *T. suis* var ufølsom overfor nikotine agonister

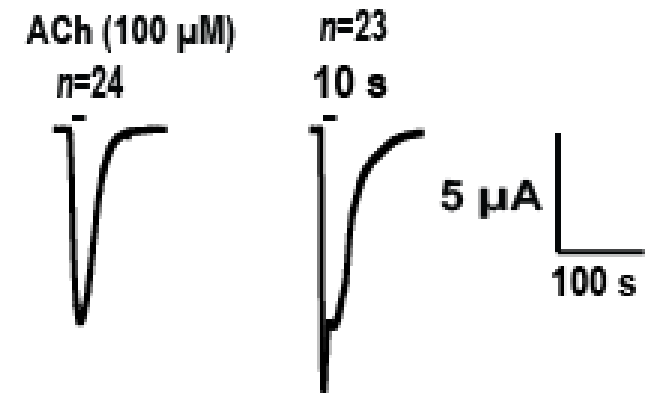
Arts-specifikke forskelle i relation til pyrantel og epibatidine

oxa (oxantel), epi (epibatidine), pyr (pyrantel), nic (nicotine), ana (anabasine), DMPP, mor (morantel), cyt (cytosine), 3-bc (3-bromocytisine), lev (levamisole). * ($P < 0.05$)

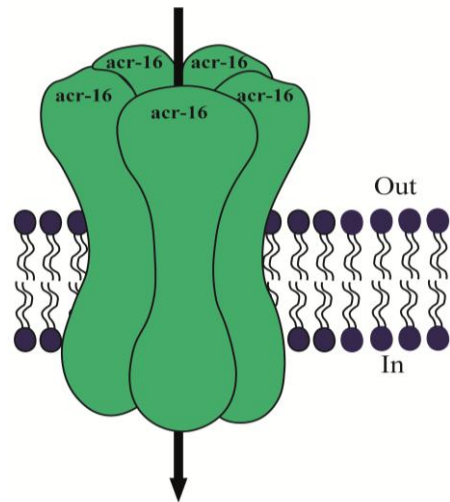
ACR-16-receptoren fra *Trichuris* spp. er meget følsom over for oxantel, når den udtrykkes i *X. laevis* oocytter



Aktivering målt ved strømrespons



Men hvad sker der hvis man sætter ACR-16 receptoren fra *T. suis* ind i *C. elegans*?

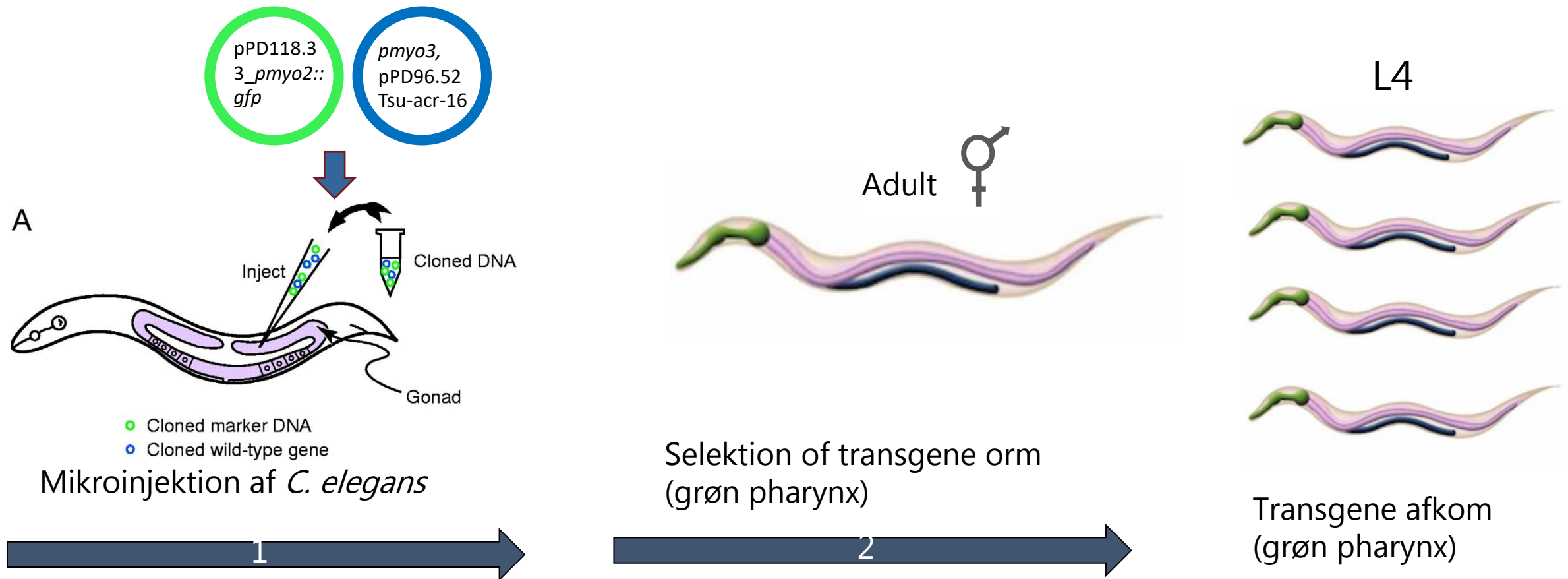


Validering af det formodede oxantel-mål fra *T. suis* i transgene *C. elegans* – en *in vivo* metode til at validere AChRs fra parasitiske nematoder



- **Vildtype *C. elegans* er relativt ufølsom overfor 1 M oxantel (Sleigh 2010)**
- **Giver Tsu-ACR-16 receptoren oxantel følsomhed til *C. elegans*, når den udtrykkes i transgene orme?**

Validering af det formodede oxantel-target fra *T. suis* i transgene *C. elegans*

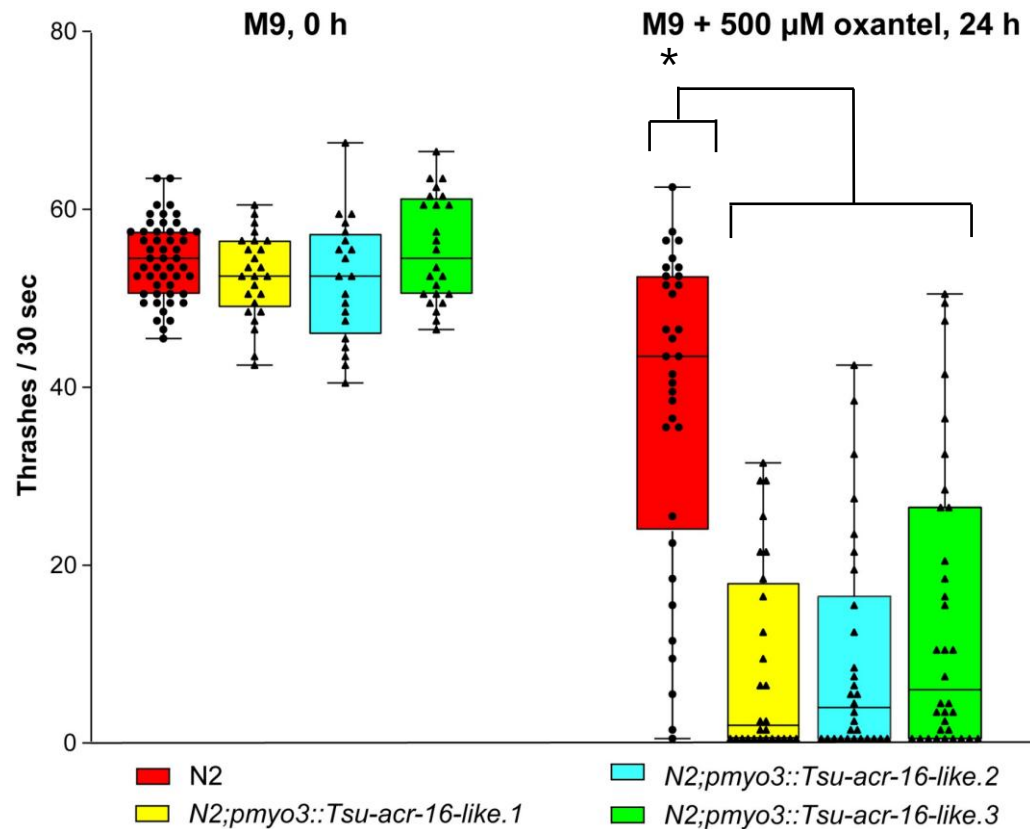


Transgene orm selekteret på baggrund af grøn fluorescerende protein (GFP) i pharynx



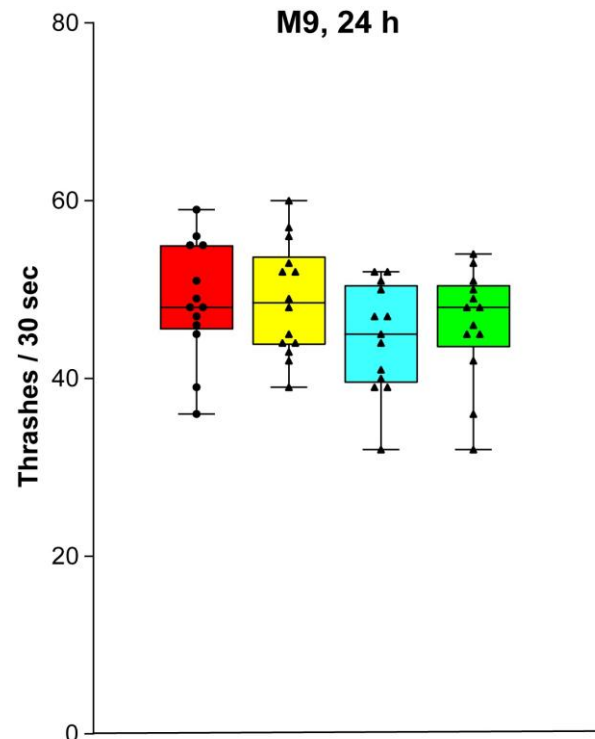
Heterolog ekspression af Tsu-ACR-16 i *C. elegans* gør de transgene orm oxantel følsomme

Test



N2 (red, $n = 34$), N2;pmyo3::Tsu-acr-16-like lines: line 1 (yellow, $n = 28$), line 2 (blue, $n = 30$), line 3 (green, $n = 34$),
 *($P < 0.0001$)

Kontrol



Motiliteten hos transgene *C. elegans* var signifikant nedsat ved eksponering til 500 μ M oxantel i 24 timer sammenlignet med vildtype *C. elegans* (N2)

Konklusion

PLOS PATHOGENS

RESEARCH ARTICLE

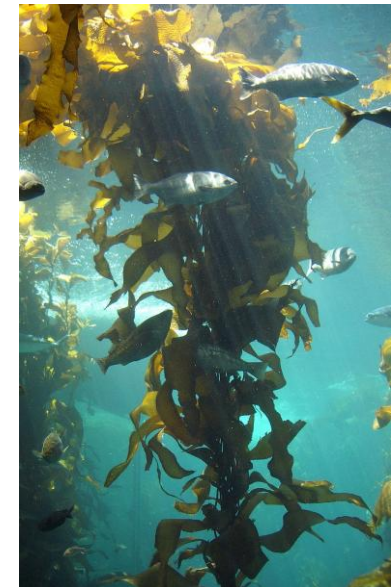
The narrow-spectrum anthelmintic oxantel is a potent agonist of a novel acetylcholine receptor subtype in whipworms

Tina V. A. Hansen^{1,2*}, Susanna Cirera¹, Cédric Neveu², Elise Courtot², Claude L. Charvet², Kirstine Calloe¹, Dan A. Klaerke^{1*}, Richard J. Martin³

- ACR-16 fra *T. suis* og *T. muris* er target for oxantel
- Heterolog ekspression af ACR-16 fra *T. suis* giver oxantel følsomhed til *C. elegans*
- Andre mulige targets for oxantel

C. elegans som screeningsværktøj for stoffer med potentielle anthelmintiske egenskaber – igangværende

- test af naturlige stoffer fra landlevende- og marine planter
- bruges som initial tests inden:
 - *in vitro* tests med parasitiske nematoder
 - *in vivo* test med værtsdyr
- bruges til at undersøge stoffers mulige virkningsmekanismer



Geng Pan, PhD stud.



Ali Raza, Assist. Prof.



Open Access

This article is licensed under [CC-BY-NC-ND 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)<http://pubs.acs.org/journal/acsodf>

Article

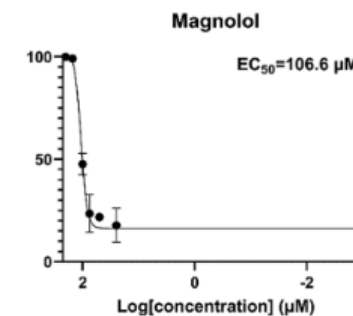
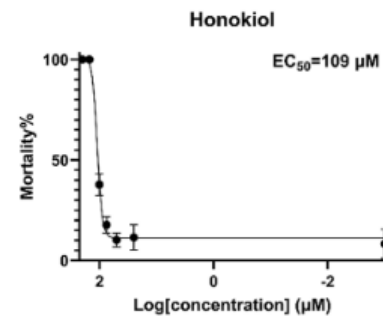
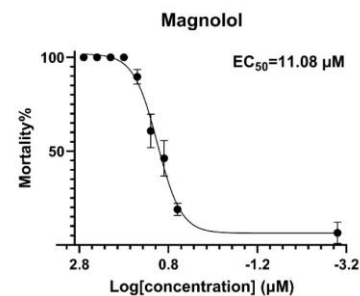
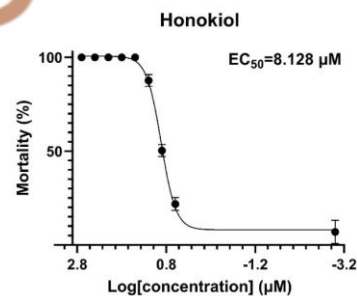
Magnolol and Honokiol Are Novel Antiparasitic Compounds from *Magnolia officinalis* That Target the Mitochondrial Electron Transport Chain

Geng Pan, Chao Liang,[#] Dan Staerk, Lars P. Christensen, Stig M. Thamsborg, Tina V. A. Hansen, and Andrew R. Williams*



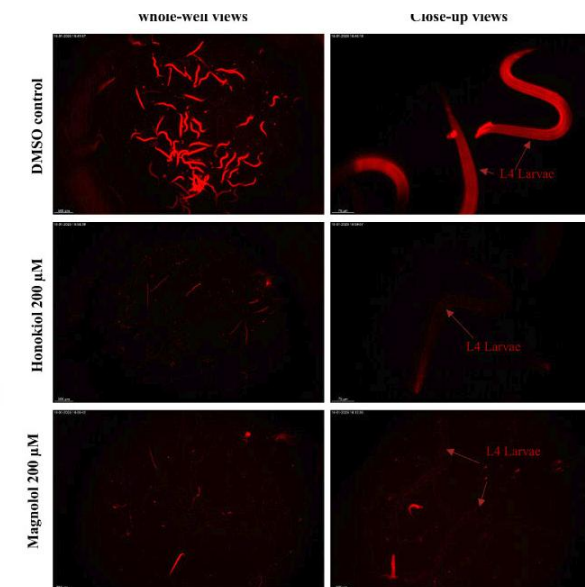
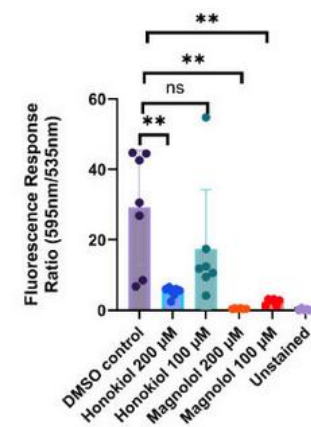
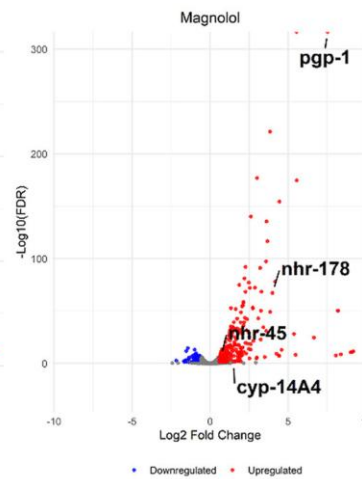
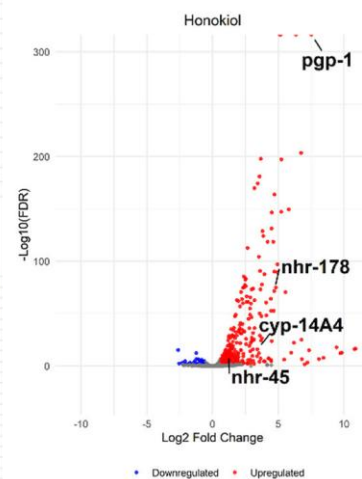
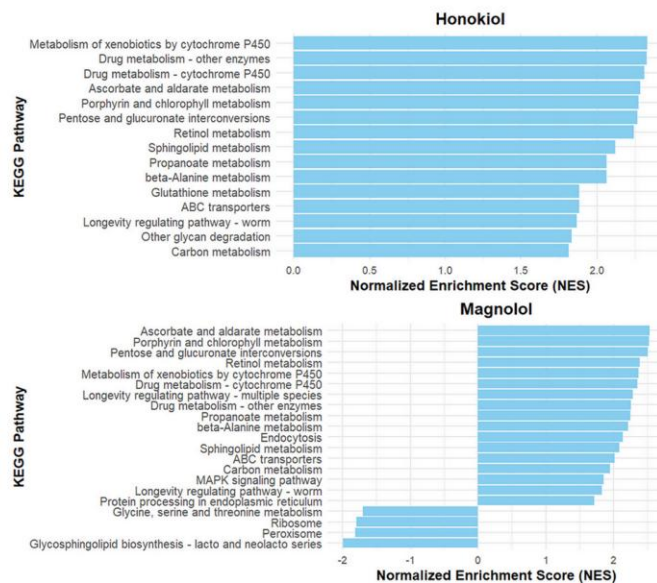
Geng Pan, PhD stud.

Dosis-respons (motilitetsassays)



Transkriptionsanalyse

JC-1 mitokondriel assay



Konklusion



This article is licensed under [CC-BY-NC-ND 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

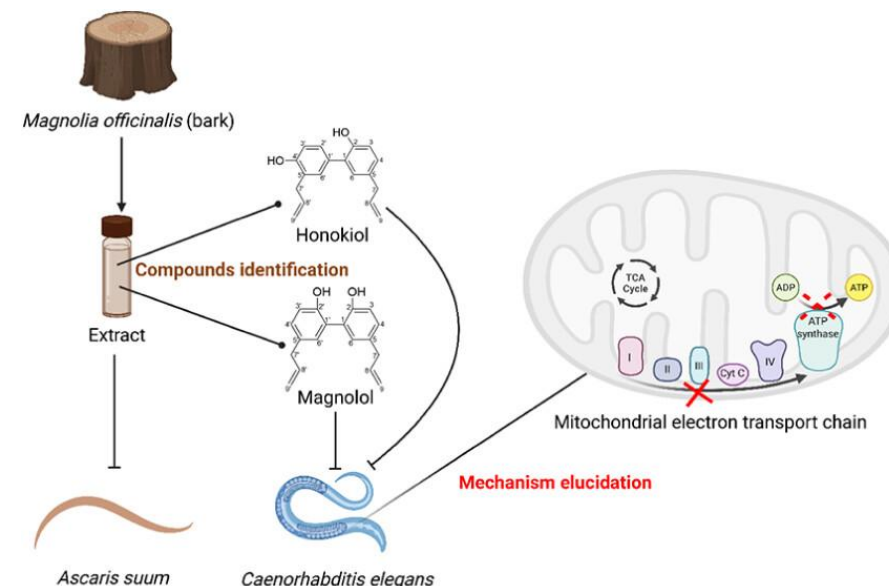
Open Access



Article

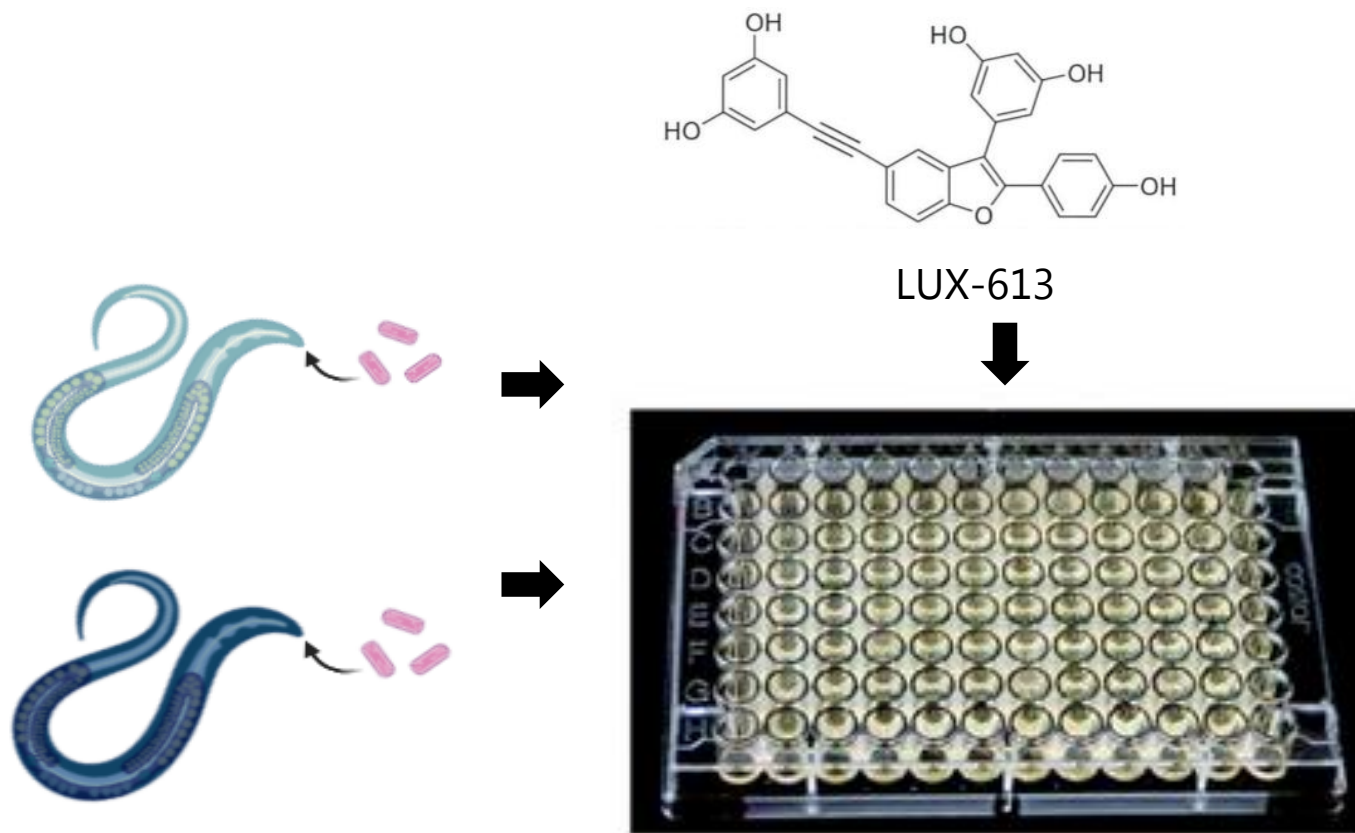
Magnolol and Honokiol Are Novel Antiparasitic Compounds from *Magnolia officinalis* That Target the Mitochondrial Electron Transport Chain

Geng Pan, Chao Liang,[#] Dan Staerk, Lars P. Christensen, Stig M. Thamsborg, Tina V. A. Hansen, and Andrew R. Williams^{*}



- både honikiol og magnolol har anthelmintisk effekt
- den anthelmintiske effekt er formodentlig medieret via hæmning af mitokondriernes energiproduktion
- andre mulige mekanismer:
 - hæmning af visse cytochrome P450 enzymer
 - positive allosteriske modulatorer på GABA-receptorer

C. elegans som en *in vivo* model til at teste stoffer med potentielle antimikrobielle egenskaber – igangværende



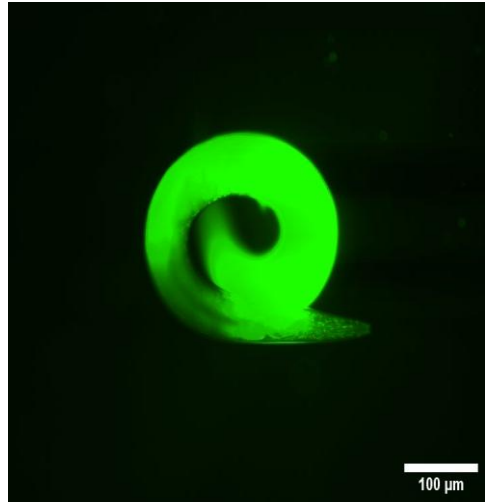
Bakteriel (MRSA) infektion af forskellige stammer af *C. elegans* i flydende medium

Eksponering af bakterieinficerede *C. elegans* til et kendt antibiotikum (f.eks. vancomycin) eller LUX-613 på forskellige tidspunkter (f.eks. 0, 1, 2, 4, 6 timer efter bakterieeksponering)

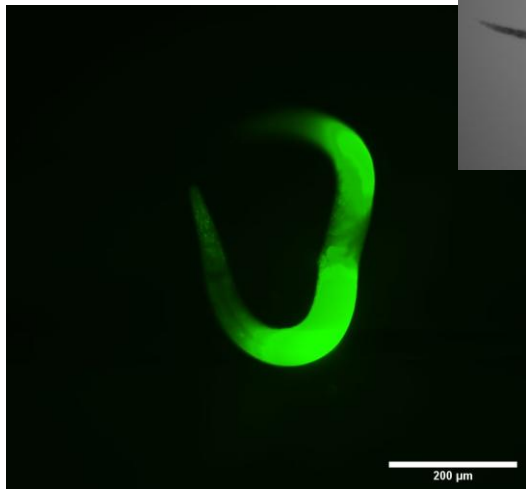


Mobilitetsmåling ved hjælp af INVertebrate Automated Phenotyping Platform (INVAPP/Paragon) til evaluering af stoffers effektivitet

C. elegans som en *in vivo* model – død eller levende



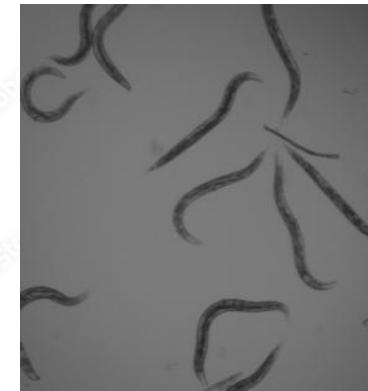
Dead



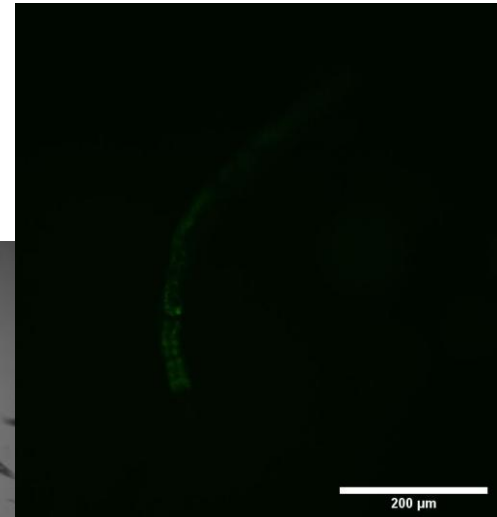
<https://bbbc.broadinstitute.org/BBBC010>



Alive



<https://bbbc.broadinstitute.org/BBBC010>



Preliminære resultater – relativ motilitet hos MRSA-inficerede *C. elegans* “behandlet” med enten LUX-613 eller vancomycin

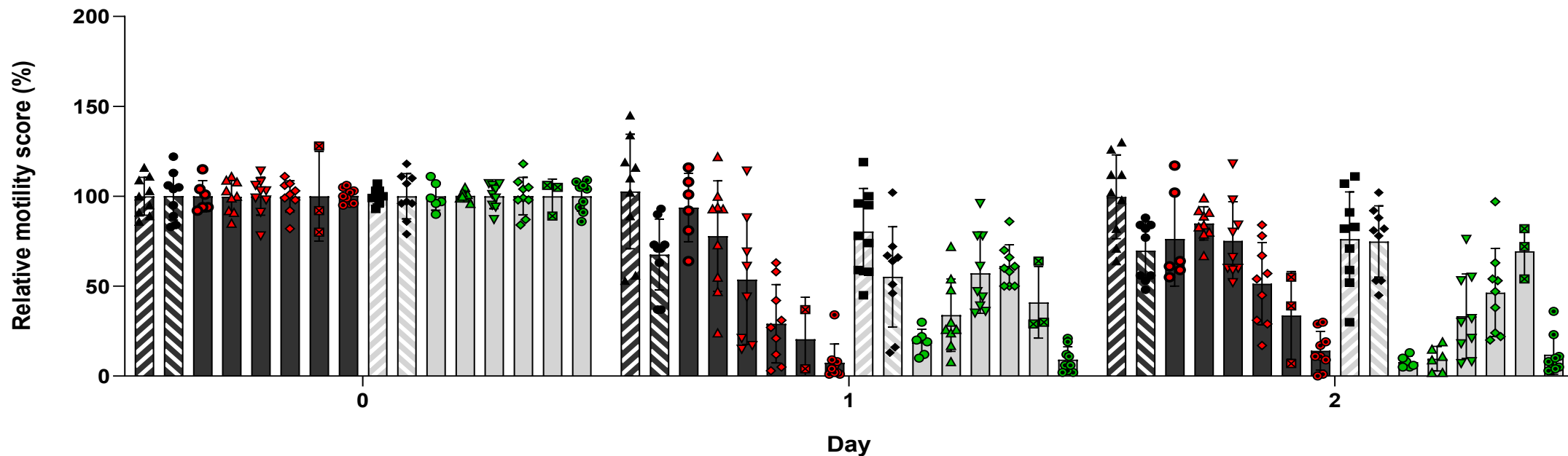


Fig. 1. Relative motility of *C. elegans* infected with OP50 (solid black figures) or MRSA (red and green figures). Worm motility decreased in a forward time-dependent manner when exposed to 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ vancomycin (dark grey columns) and a reverse time-dependent manner when exposed to 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LUX-613 (light grey columns). Figures indicate time of exposure to vancomycin or LUX-613. Circles: 0 h post infection (p.i.), down-pointing triangles: 1 h p.i., upwards-pointing triangles: 2 h p.i. diamond: 4 h p.i., squares: 6 h p.i.. circles with dot: no compound added.

Preliminære resultater – viabilitet af MRSA-inficerede *C. elegans* “behandlet” med enten vancomycin eller LUX-613

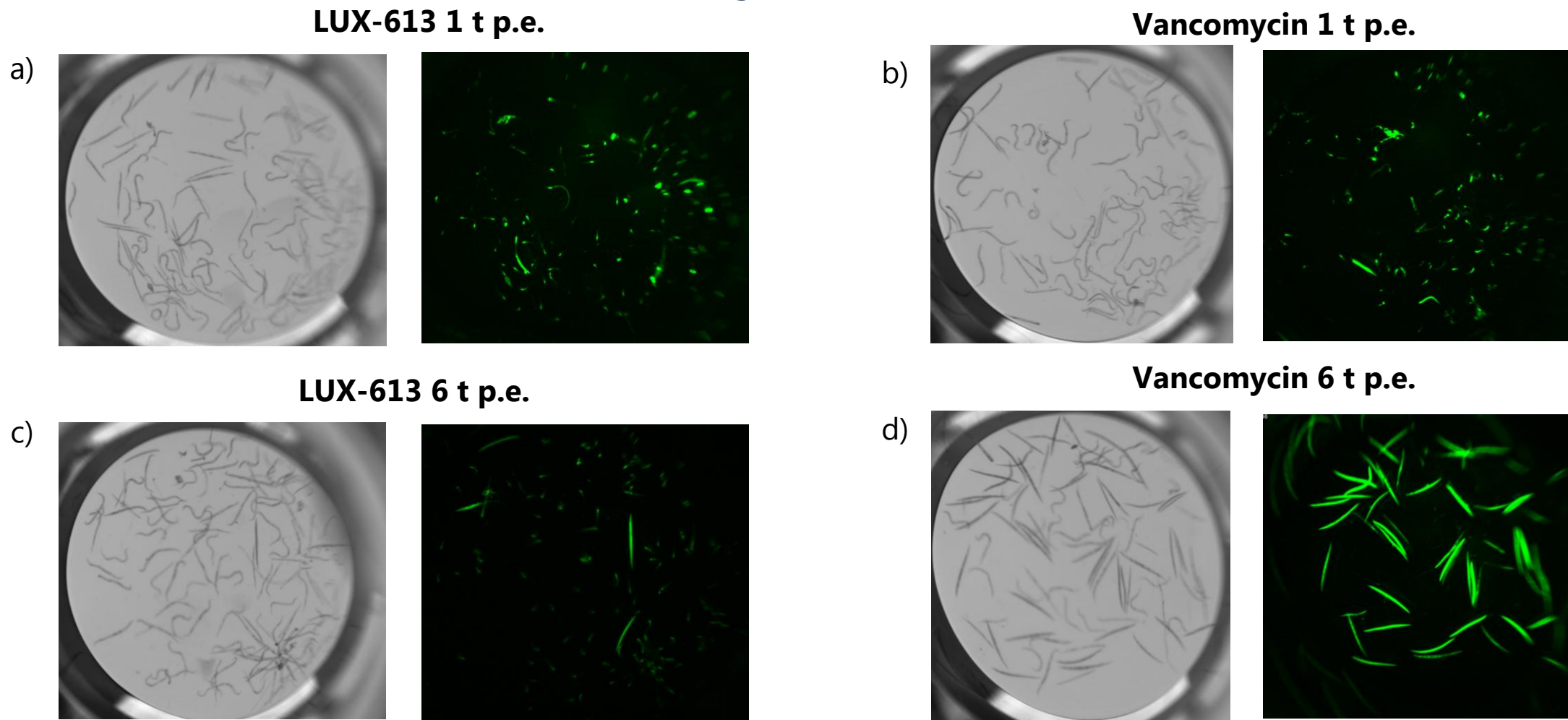


Fig. 2. MRSA-eksponerede orme “behandlet” med (a) LUX-613 eller (b) vancomycin 1 time (t) efter eksponering (e) for MRSA samt (c) LUX-613 eller (d) vancomycin 6 timer efter eksponering for MRSA.

Hvorfor er replacement EnOrm?

***C. elegans* er en attraktiv modelorganisme fordi:**

- Lille størrelse (mindre end 1 mm)
- Hurtig generationstid (fra æg til voksen på ca. 3 dage ved 20 °C)
- De fleste voksne er hermafroditter
 - afkom er stort set genetisk identiske
- Let og billig at dyrke i laboratoriet
- Transparent – nem at følge udvikling og visse cellulære processer
- Let at generere mutantstammer
- Stort antal molekylære værktøjer til rådighed
- Omfattende viden om *C. elegans* på det genetiske-, cellulære- og transkriptomiske niveau
- Mange af dens gener og biologiske processer er konserveret hos pattedyr



Fordele ved at bruge *C. elegans* i anthelmintisk forskning

- Nematode (sammenlignelig anatomi og fysiologi med parasitiske nematoder)
- Reducerer brugen af forsøgsdyr
- Nem at dyrke og vedligeholde

Tak for jeres opmærksomhed

