



ANIMALES DE LABORATORIO

REVISTA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA PARA LAS CIENCIAS DEL ANIMAL DE LABORATORIO

1 NOTICIAS DE SECAL

- IX CONGRESO SECAL 2007

2 ARTÍCULOS

- PESCANDO IDEAS
- EL PEZ CEBRA COMO ORGANISMO MODELO
- INSTALACIONES DE PEZ CEBRA EN EL CENTRO ANDALUZ DEL DESARROLLO (UPO/CSIC/CEC-JA)
- MANTENIMIENTO DE INDIVIDUOS PEZ CEBRA
- EQUIPAMIENTOS PARA PEZ CEBRA
- DIETA PEZ CEBRA. HARLAN
- EMPRESA PRIVADA: BIOLABS

3 INDICE DE REVISTAS

4 ENTREVISTAS



GRUPO EDITOR

DIRECTOR

Joana Visa
jvisa@idibell.org

SUBDIRECTOR

Luis Muñoz

TESORERA

Pilar Bringas

REPR. VOCALIA FORMACIÓN

Antonio Martínez

RESPONSABLES SECCIONES

Joana Visa
Emilio Pérez
Jordi Cantó
Isabel Clara Rollán
Rosa Morales
Teresa Rodrigo
Jordi Guinea

CORRECCIÓN DE ESTILO

Joana Esteve

PUBLICIDAD

Pilar Bringas
cai.animalario@med.ucm.es

DISTRIBUCIÓN DE REVISTA

Carmina F. Criado

DISEÑA - IMPRIME

Enrique Nieto
& Asociados, S.A.
Tel.: 902 200 292
w@enyas.com

DEPÓSITO LEGAL

M-1362-1999

SEGUNDO MONOGRAFICO SOBRE EL PEZ CEBRA: Aplicaciones en ciencia

Este número de la Revista es el segundo monográfico sobre el uso del Pez Cebra como modelo experimental. Mientras que el primer número se ha centrado en describir las características básicas de esta especie, el presente número nos describe, gracias a la colaboración de Marina Raya (Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona) y de Alejandro Barallo (Instituto de Neurociencias de Alicante CSIC-UMH), las distintas aplicaciones que tiene el uso de esta especie.

Marina Raya nos explica que el Pez Cebra es capaz de regenerar grandes lesiones que comprometen diferentes tipos de tejidos y nos muestra con figuras la capacidad de esta especie de regenerar o no la aleta pectoral según se haya bloqueado o no el gen correspondiente.

El uso de técnicas de manipulación genética ha permitido visualizar procesos fisiológicos concretos mediante la generación de peces que expresan proteína verde fluorescente (GFP) en el tipo de células que se requiera (los embriones son animales que viven fuera del progenitor y que son transparentes).

Alejandro Barallo nos describe cómo a partir de la generación de animales transgénicos es posible la visualización de procesos in vivo siguiendo la migración de las células fluorescentes bajo un microscopio confocal. De esta forma, un Pez Cebra que expresa GFP bajo un promotor específico de células nerviosas (de la glia, por ejemplo) nos permite ver la evolución de este tipo de células durante las 24 horas.

Hoy se contabilizan en todo el mundo unos 500 centros que albergan Pez Cebra. En este número se presentan las instalaciones ubicadas en el Centro Andaluz de Biología de Desarrollo y en ZF Biolabs (empresa especializada en el estudio de Pez Cebra como modelo animal para la investigación y el desarrollo).

Nos gustaría agradecer a los colaboradores que han hecho posible la publicación de estos dos monográficos, sobre todo teniendo en cuenta que en la mayoría de casos no tenían previo conocimiento de la SECAL.

Desde la Revista queremos recordar que la página web del Congreso de la SECAL a celebrar en Córdoba está activada y os animamos a todos a asistir.

Web del congreso: www.congrosossecalcordoba2007.com

JOANA VISA

**JUNTA DE GOBIERNO
DE LA SECAL**
PRESIDENCIA:

D. Ignacio Álvarez Gómez de Segura
(2003-2007)*

VICEPRESIDENCIA:

Dña. Patri Vergara Esteras
(2005-2009)*

SECRETARÍA:

D. Xavier Cañas Perea
(2003-2007)*

VICESECRETARÍA:

Dña. Marta Giral Pérez
(2005-2009)*

TESORERÍA:

D. Carlos Correa Gorospe
(2003-2007)*

VICETESORERÍA:

D. José María Garrido Gutiérrez
(2005-2009)*

VOCALÍAS:

Pablo Aldazabal Amas
(2003-2007)*

D. Pablo Aldazabal Amas
(2005-2009)*

D. Carlos Costela Villodres
(2005-2009)*

Dña. Sílvia Gómez Fernández
(2005-2009)*

D. Antonio Martínez Escandell
(2003-2007)*

Dña. Rosario Moyano Salvago
(2005-2009)*

D. José Antonio Pérez de Gracia
Hernández
(2003-2007)*

Dña. Belén Pintado Sanjuanbenito
(2003-2007)*

D. Miguel Ángel Sánchez Martínez
(2005-2009)*

*Entre paréntesis figura el período de vigencia en el cargo.

SOC. BENEFACTORES:

BIONOSTRA
BIOSIS S.L.

CENTRE D'ELEVAGE JANVIER
CHARLES RIVER LABORATOIRES

CONFECCIONES ANADE
DINOX S.L.

EHRET GmbH&Co.KG
FAGESA S.A.

GLAXO SMITHKLINE
GRANJAS S. BERNARDO

HARLAN INTERFAUNA IBERICA S.A.
JOHNSON DIVERSEY ESPAÑA

PANLAB S.A.
SOURALIT


STERIS-FINACUA

VESTILAB
RENTOKIL

PROLABOR

JUNTA DE GOBIERNO

La Junta de Gobierno de la SECAL aprobó un nuevo formato que facilite la inscripción de nuevos socios. Este nuevo formato (en PDF) se puede localizar en la página web de la SECAL o en cada uno de los números de la Revista.

 SOLICITUD DE INSCRIPCIÓN <small>Rellenar los datos con letra clara de imprenta</small>	
DATOS PERSONALES	
APELLIDOS	NOMBRE
FECHA Y LUGAR DE NACIMIENTO	nº DNI / PASAPORTE
DOMICILIO	
POBLACIÓN	CÓDIGO POSTAL PAÍS
TELÉFONO	CORREO ELECTRÓNICO
DATOS PROFESIONALES	
ESTUDIOS <i>(marcar con una x lo que corresponda)</i> Veterinaria <input type="checkbox"/> Biología <input type="checkbox"/> Farmacia <input type="checkbox"/> Medicina <input type="checkbox"/> Psicología <input type="checkbox"/> FP <input type="checkbox"/> Otros <input type="checkbox"/> (indicar) _____	
TITULACIÓN <i>(marcar con una x lo que corresponda)</i> Doctor <input type="checkbox"/> Licenciado <input type="checkbox"/> Formación Profesional <input type="checkbox"/> Estudios primarios <input type="checkbox"/> Otros <input type="checkbox"/> (indicar) _____	
PUESTO DE TRABAJO <i>(marcar con una x lo que corresponda)</i> Asesor en Bienestar Animal <input type="checkbox"/> Asesor en Salud Animal <input type="checkbox"/> Investigador <input type="checkbox"/> Experimentador <input type="checkbox"/> Cuidador <input type="checkbox"/> Responsable Animalario <input type="checkbox"/> Otros <input type="checkbox"/> (indicar) _____ Personal docente <input type="checkbox"/> Becario <input type="checkbox"/>	
NOMBRE DE LA COMPAÑÍA / INSTITUCIÓN	
DOMICILIO	
POBLACIÓN	CÓDIGO POSTAL
TELÉFONO	CORREO ELECTRÓNICO
DESEA INGRESAR EN LA SOCIEDAD COMO SOCIO:	CUOTAS PARA EL AÑO 2006:
NUMERARIO <input type="checkbox"/> BENEFACTOR <input type="checkbox"/>	Inscripción..... 7 € Cuota anual Socio Numerario (incluye suscripción a Laboratory Animals)..... 86 € Cuota anual Socio Benefactor..... 360 €
FORMA DE PAGO	
DOMICILIACIÓN BANCARIA	TARJETA DE CRÉDITO (VISA)
TITULAR DE LA CUENTA	Nº DE TARJETA
_____	_____
_____	FECHA DE CADUCIDAD
_____	_____
n° entidad n° oficina D.C n° cuenta	mes año
OTRAS FORMAS DE PAGO	
<input type="checkbox"/> Transferencia bancaria a la cuenta de SECAL <input type="checkbox"/> Pago al contado <input type="checkbox"/> Talón bancario a nombre de SECAL	Indicar el NIF y los datos de la entidad pagadora:
SOCIOS DE SECAL QUE AVALAN LA SOLICITUD (Art. 8 Estatutos)	
NOMBRE Y APELLIDOS	NOMBRE Y APELLIDOS
_____	_____
INDICAR DÓNDE SE DESEA RECIBIR LA CORRESPONDENCIA: Domicilio particular <input type="checkbox"/> Domicilio profesional <input type="checkbox"/>	
FIRMA Y FECHA	

ENVIAR ESTE DOCUMENTO POR FAX (Nº 914 975 353), CORREO ELECTRÓNICO (secretaria@secal.es) O CORREO ORDINARIO (Secretaría SECAL, Fac. Medicina UAM, C/ Arzobispo Morcillo 4, 28029 Madrid. España)	



Noticias de la SECAL

IX CONGRESO SECAL 2007

INNOVACIÓN Y REFINAMIENTO EN EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

M. Rosario Moyano Salvago
Presidenta del Congreso

La ciudad de Córdoba ha sido designada sede del IX Congreso de la Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio (SECAL 2007) que tendrá lugar entre los días 20 al 23 de noviembre de 2007.

Cargados de responsabilidad y de ilusión nos ponemos en contacto contigo por primera vez, para presentarte nuestro proyecto e invitarte a participar en el mismo. Históricamente Córdoba ha sido ciudad de encuentro de culturas, y esto nos gustaría que se extendiera también en el ámbito de la ciencia del animal de laboratorio.

El tema elegido para el Congreso es "Innovación y refinamiento en experimentación animal" y el programa de trabajo que estamos preparando (ponencias, comunicaciones orales y póster, mesas redondas, talleres...) abordará temas de máxima actualidad relacionados con nuestros ámbitos de actuación profesional.

Como no podría ser de otro modo, además de las jornadas técnicas de trabajo, también dispondremos de momentos de asueto, por lo que se está preparando un programa social y lúdico con el que podremos disfrutar, de entre otras muchas actividades, de una visita privada y guiada a la Mezquita o de una ruta por las tabernas cordobesas.

En nuestra web www.congresosecalcordoba2007.com, preparada para este evento, encontra-

rás toda la información sobre nuestro congreso y nuestra ciudad, y podrás realizar online tu inscripción, reserva de alojamiento y la presentación de resúmenes de tus comunicaciones orales y/o póster.

Quiero agradecer la colaboración a las empresas e instituciones, que están apoyando y han mostrado su disposición para conseguir el éxito de nuestro congreso.

Te esperamos con ilusión y con el deseo de hacer tu estancia en nuestra ciudad lo mas agradable y provechosa posible.

LÍNEAS TEMÁTICAS DE LAS SESIONES CIENTÍFICAS

- Otros modelos animales en experimentación. Animales no incluidos en el Anexo VII del Real Decreto 1201/2005.
- Innovación en técnicas experimentales: Técnicas de imagen.
- Gestión de animalarios.
- Influencia de factores externos en la experimentación animal.
- Innovaciones en el uso de "las tres erres"
- Formación en Experimentación Animal
- Situación actual de la legislación sobre Experimentación Animal
- Talleres

COMITÉ ORGANIZADOR Y CIENTÍFICO

Presidenta:

M. Rosario Moyano Salvago

Secretarios:

Ana M.^a Molina López y Carlos Costela Villodres

Vocales:

M.^a del Carmen Fernández Criado
 Ignacio Álvarez Gómez de Segura
 José M.^a Orellana Muriana
 Javier Guillén Izco
 C. Óscar Pintado Sanjuan
 Jesús Martín Zúñiga
 Rosa Morales Lamuela

Organizan



Colaboran



Patrocinan



Secretaría Técnica



P.I.C. PROYECTOS, INCENTIVOS Y CONGRESOS
 Conde de Cárdenas, 16 - 1º 2. 14002 CÓRDOBA
 T. 957 48 58 48 - F. 957 48 58 49
 info@proyectosycongresos.com

2 ARTÍCULOS

PESCANDO IDEAS

Marina Raya Chamorro

Aquatic Animals Platform Manager

Center of Regenerative Medicine in Barcelona, CMR[B]

Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona

Dr. Aiguader, 88 08003 Barcelona Tel: + 34 93 3160342 Fax: + 34 93 3160301

Responsable de la Plataforma de Animales Acuáticos del CMRB. Esta plataforma engloba los tres modelos animales más extendidos en nuestro campo de investigación: Xenopus, Axolotl y Zebrafish.

Marina Raya ha trabajado los últimos 5 años con el pez cebra, primero en el Salk Institute en el laboratorio de Gene Expression de Juan Carlos Izpisúa Belmonte, y actualmente en el CMRB

El Pez Cebra (*Brachydanio rerio*) es un pequeño pez tropical empleado actualmente como modelo de animal vertebrado en diferentes campos de la investigación científica.

Los primeros trabajos con este modelo se remontan a la década de los 50. Kenichi K. Hikasoaka (1952), en su publicación "Effects of Ethyl Carbamate (Urethan) on the Early Development of the Teleost *Brachydanio rerio*" utilizaba estos animales para estudiar el potencial efecto carcinógeno del Urethan.

El establecimiento de este Teleóstero como animal de investigación se debe, en gran parte, al Doctor George Streisinger considerado como el padre de la investigación con Peces Cebra.

El trabajo del Dr. Streisinger, en sus comienzos, se centró en descifrar el código genético de macrófagos T4, pero pronto se plantearía utilizar los mis-

mos principios moleculares en modelos vertebrados. Era un apasionado de los animales acuáticos, por lo que conocía la sencilla reproducción de los Peces Cebra en cautividad y empezó a usarlos como modelo para sus experimentos.

El pequeño tamaño de estos animales le permitió tener una colonia lo suficientemente numerosa para sus experimentos, al mismo tiempo que el tamaño de los embriones era lo suficiente grande como para permitir ser manipulados.

El Dr. Streisinger tardó casi diez años en poder publicar su primer estudio con Peces Cebra. La mayor parte de este tiempo se invirtió en describir la morfología y desarrollo del embrión del Pez Cebra, así como desarrollando las técnicas genéticas y de mantenimiento necesarias para su manipulación. Tras la muerte de Dr. Streisinger en 1984 los miembros de su laboratorio continuaron con la línea de investigación y, desde entonces, el número de centros de investiga-

ción y proyectos relacionados con el Pez Cebra ha crecido vertiginosamente. En la actualidad existen cerca de 500 laboratorios que emplean el Pez Cebra repartidos por todo el mundo.

¿QUÉ ES LO QUE HA CONVERTIDO A ESTE PEQUEÑO ANIMAL EN UN MODELO TAN NOVEDOSO?

Estos pequeños peces que deben su nombre a las rayas oscuras longitudinales que recorren su cuerpo, son originarios del norte de la India. Se han convertido en un modelo emergente en el campo de la genética y la fisiología debido a una serie de propiedades que lo hacen único entre los modelos vertebrados:

- 1. Tamaño:** el pequeño tamaño del animal adulto, entre 2,5-3cm de longitud, permite un elevado número de animales en espacios reducidos.
- 2. Alta prolificidad:** pueden obtenerse hasta 100 embriones por pareja, semanalmente. Esto permite desarrollar proyectos a gran escala con robustez estadística.
- 3. Tipo de fecundación:** la fecundación es externa, es decir, tiene lugar fuera del cuerpo de los progenitores, por lo que se tiene acceso a los embriones desde el estadio de una célula y se puede observar el desarrollo natural de los embriones sin perturbarlos ni sacrificar a sus progenitores.
- 4. Transparencia de sus embriones:** es posible visualizar su desarrollo en detalle, lo que permite estudiar sin necesidad de manipulación: la organogénesis, los fenotipos de mutaciones o los efectos de compuestos químicos.
- 5. Rápido desarrollo:** a las 24-36 horas post fecundación (hpf), los embriones miden unos 2.5mm y se pueden identificar *in vivo* el primordio de la aleta, los oídos, los ojos, el corazón, la circulación sanguínea... El Pez Cebra alcanza la madurez sexual a los tres meses de edad,

6. Características genéticas: La similitud genética del Pez Cebra (superior al 85%) con los humanos permite el estudio de enfermedades humanas con un alto índice de correlación.

7. Capacidad de regeneración: el Pez Cebra tiene la capacidad natural de regenerar partes de su cuerpo durante toda su vida. Esta capacidad combinada con las numerosas técnicas de manipulación genética existentes en el Pez Cebra lo convierten en una herramienta única para el estudio de la respuesta regenerativa.

¿EN QUÉ CAMPOS DE LA INVESTIGACIÓN SE ENCUENTRA ESTE MODELO ANIMAL?

El Pez Cebra ha sido utilizado de forma eficaz para establecer modelos de enfermedades humanas como la diabetes (Sun *et alii*, 2001), la distrofia muscular (Parsons *et alii*, 2002), metabolismo de los lípidos (Farber *et alii*, 2001) o el Alzheimer (Groth *et alii*, 2002; Geling *et alii*, 2002; Leimer *et alii*, 1999; Babin *et alii*, 1997).

La transparencia de sus embriones y su rápido desarrollo lo convierten en un modelo idóneo para el estudio del desarrollo embrionario. Así, es ampliamente utilizado en el estudio del desarrollo de los órganos internos como riñones, hígado, corazón... y de procesos fisiológicos de gran interés durante el desarrollo de los embriones, como la formación de la retina ocular, o del sistema nervioso.

Hoy en día se cuenta con numerosas técnicas de manipulación genética que permiten estudiar diferentes campos.

Se han desarrollado con éxito varias técnicas para generar Peces Cebra **transgénicos**, es decir, peces que expresen una proteína fluorescente unida a la construcción genética de interés. Esto permite visualizar procesos fisiológicos concretos como puede ser el desarrollo de un órgano de interés en detalle. Por ejemplo, utilizando animales transgénicos Tg(mlc2a:GFP), que expresan la proteína fluorescente verde unida a la miosina de cadena ligera presente en el corazón, se puede marcar con fluorescencia las células cardíacas durante la formación del corazón y a lo largo de toda la vida del animal adulto.

La transgénesis permite también estudiar en profundidad la expresión de un gen, pudiendo localizar con la proteína fluorescente dónde y cuándo se expresa ese gen en el embrión o en el animal adulto.



Embrión de Pez Cebra de 48hpf, control (foto superior) e inyectado con RNA de una isoforma de p63 que interfiere con la formación de los ojos (panel inferior)

Los embriones de Peces Cebra son relativamente sencillos de micro-inyectar, por lo que realizar experimentos de aumento y pérdida de función (gain and loss-of-function) es relativamente sencillo. Así, se puede inyectar el mRNA de interés en embriones de 1 célula y los fenotipos pueden ser monitoreados posteriormente para descubrir los efectos de sobre-expresar el gen estudiado. En el caso del mRNA la integración se produce rápidamente tras la inyección. También es posible retrasar la integración, inyectando cDNA o, utilizando un promotor específico, hacer que el gen del estudio se sobre-exprese en un tejido concreto, o bajo unas condiciones de temperatura predefinidas (*heat shock proteins*, por ejemplo)

En el caso de estudios basados en la pérdida de expresión de un gen in vivo, se emplea oligonucleótidos antisentido (**morfolinos**) (*Nasevicius et alii*, 2000). Son una forma rápida de bloquear la expresión de un gen mediante inhibidores de la traducción. La secuencia de estos oligonucleótidos se selecciona de manera que impidan la traducción correcta produciendo una severa reducción de los niveles de proteína. El uso de morfolinos permite conocer el efecto de la pérdida de función del gen de interés en cuestión de días, frente a los meses

que son necesarios para generar un *knockout* en ratón. La desventaja de este método es que el RNA inyectado es estable sólo durante unos días, por lo que es un método rápido y efectivo para estudios de desarrollo embrionario pero, para periodos más largos de pérdida de expresión, es necesario disponer de un mutante o una línea transgénica estable.

La transparencia del embrión de Pez Cebra y su rápido desarrollo permite la identificación a gran escala de malformaciones, siendo muy útil para la generación e identificación de mutantes.

Los métodos más utilizados de **mutagénesis** son dos:

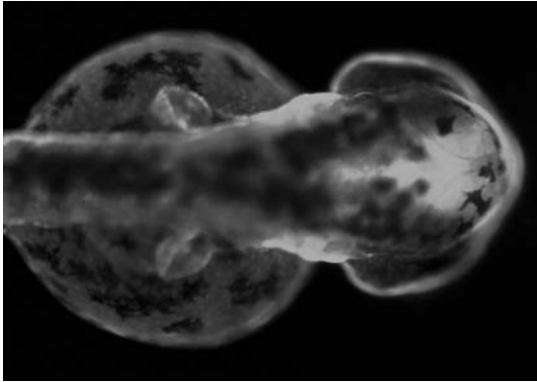
- empleando retrovirus modificados (Hopkins N. 2004).
- por tratamientos químicos con EMS (ethyl methanesulfonate) o ENU (N-ethyl-N-nitrosourea)

En el primer caso la frecuencia de inserción es menor pero tiene la ventaja de que los genes mutados pueden ser aislados más fácilmente ya que están marcados con el DNA insertado. En el caso de las mutagénesis químicas, se induce el cambio de nucleótidos individuales y los genes mutados deben ser aislados usando clonado posicional por medio del análisis de segregación meiótica de acoplamientos.

En los últimos años cerca de 100 genes de diferentes mutaciones en Pez Cebra han sido clonados y caracterizados. Este tipo de mutagénesis se ha iniciado también en ratón, pero el elevado coste en espacio, tiempo y personal lo hace inabordable para laboratorios estándar.

Esta técnica de genética directa (*forward genetics*, del fenotipo al gen) se emplea para descubrir genes desconocidos que son necesarios para diversos procesos biológicos.

En la década de los 90 se realizó un cribado a gran escala de mutaciones recesivas inducidas por ENU en Pez Cebra que causaban alteraciones embrionarias y morfológicas en larva. Esto dio lugar a un gran grupo de mutantes con defectos del desarrollo que afectaban desde el corazón y sistema circulatorio, hasta defectos en la cola o degeneración neuronal.



FOTOS MARINA RAYA

Embrión de pez cebra transgénico (*Sox9:GFP*) de 48 hpf.
Vista dorsal, anterior hacia la derecha.

También se puede dirigir el cribado de las mutaciones a órganos o procesos fisiológicos concretos, como por ejemplo los ojos, donde se sabe que el gen *dazed* (*dzd*), mutagenizado en un tratamiento químico con ENU, es necesario para la formación normal de la retina.

Por otro lado se cuenta con las técnicas de genética reversa (*reverse genetics*, del gen al fenotipo). Es una herramienta rápida y eficaz para estudiar las funciones específicas de genes conocidos.

Todavía no se ha establecido una técnica directa para bloquear genes recombinantes en Pez Cebra adulto. Una alternativa es utilizar el TILLING (*targeting induced local lesions in genomes*) que consiste en generar la primera generación de animales mutagenizados (F1, son heterocigotos para la mutación), y cribar su DNA genómico por amplificaciones de PCR con primers específicos del gen de interés.

El TILLING ha sido empleado, por ejemplo, recientemente para profundizar en el efecto del gen *p53* en la supresión de tumores (Zon *et alii*, 2005).

La capacidad regenerativa que el Pez Cebra tiene, de forma natural, a lo largo de toda su vida lo convierte en una herramienta única para el estudio de la regeneración. Esta capacidad se ha estudiado en varios órganos de especial interés como son: las extremidades (aletas), piel, corazón, fotorreceptores de la retina y cerebro.

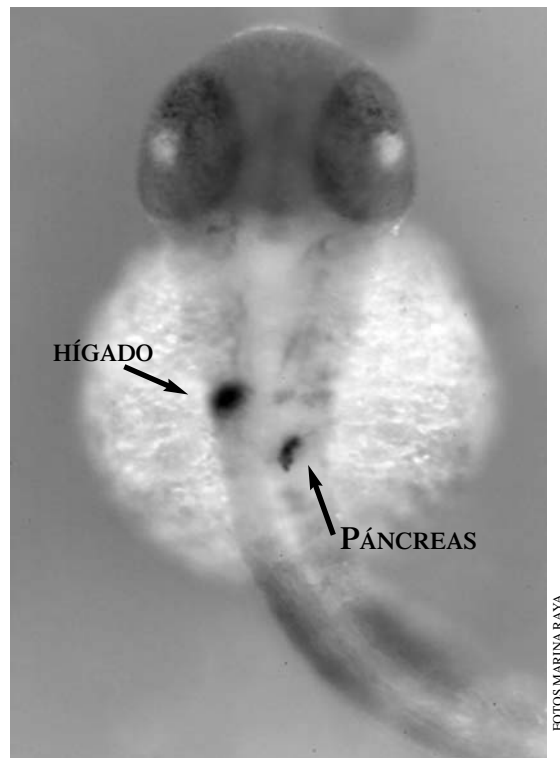
Los animales empleados clásicamente como modelos para el estudio de regeneración son Urodeles (como el Aholote) y *Xenopus*. La falta de herramientas genéticas y moleculares en el caso del Ajo-

lote, y la pérdida de la capacidad regenerativa antes de la metamorfosis en el caso del *Xenopus*, han limitado los estudios en estos modelos animales.

Los peces teleósteros (como el Pez Cebra) pueden regenerar grandes lesiones que comprometen diferentes tipos de tejidos. Esta capacidad de regeneración se pierde con la evolución de los vertebrados (Dinsmore 1991) y persiste en otros vertebrados en estado adulto sólo en raras ocasiones, como en los cuernos de los ciervos o en el cartílago de la oreja del conejo.

Uno de los procesos más estudiados es la regeneración de las extremidades en pez. La regeneración comienza con la formación de un blastema que es crucial y específico del proceso. El blastema es un heterogéneo grupo de células mesenquimales, localizado sobre los tejidos afectados y la epidermis lesionada.

Se conoce muy poco sobre cómo se forma el blastema en estos modelos de animales a pesar de la importancia histórica del tema y de las claras im-



FOTOS MARINA RAYA

Hibridación *in situ* con CP e Insulin marcando el hígado y el páncreas en un embrión Wild-type de 48-72hpf.

plicaciones en biomedicina. De hecho, el estudio a nivel molecular del proceso de regeneración es ampliamente desconocido. Las herramientas moleculares obtenidas de los estudios en desarrollo y del avanzada secuenciación del genoma del Pez Cebra han posibilitado un gran avance en el estudio de la regeneración.

El proceso de testado de drogas como aplicación de la investigación científica al sector farmacéutico es un campo controvertido en el que el uso de animales tiende a reducirse, favoreciendo los estudios *in silico*.

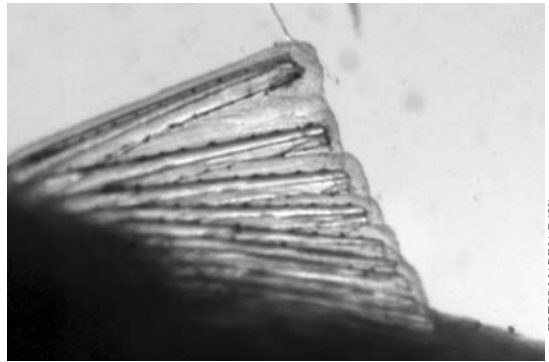
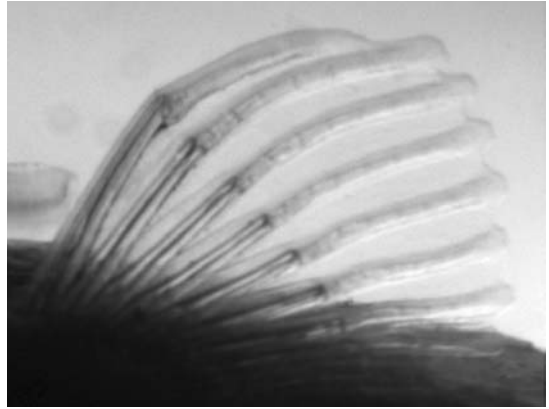
Este proceso puede dividirse en tres etapas: identificación de la diana, validación de la diana y cribado de drogas. La identificación de dianas engloba el proceso de identificación de productos genéticos que, cuando son modulados por una droga, pueden afectar positivamente el desarrollo de una enfermedad.

La validación de las dianas pretende caracterizar la función de las proteínas diana o la cascada genética y su potencial para ser modulado por una droga. Finalmente, el cribado de drogas en dianas validadas se realiza para identificar compuestos que pueden regular la función de esa proteína.

En la actualidad la utilización de embriones de Pez Cebra como modelo de animal vertebrado está ampliamente aceptado en el proceso de testado de drogas.

Son numerosas las ventajas de la utilización de estos embriones frente a células ya que, en el primer caso, es posible observar el efecto de una droga en el contexto de un organismo completo *in vivo* siguiendo la evolución del desarrollo. Otra ventaja es que el pequeño tamaño de los embriones y su robustez permite robotizar su manipulación, alcanzando *high-throughput* análisis equiparables a los realizados con célula.

El estudio Medioambiental es otro campo de investigación donde el Pez Cebra es un modelo de amplia difusión. Por ejemplo, en Enero 2007 la universidad de Fudan en China, ha generado con éxito un pez modificado genéticamente que puede detectar la contaminación de estrógenos en lagos y ríos. Esto ha mostrado la necesidad de tratar los vertidos de agua para eliminar los estrógenos que están asociados a esterilidad masculina.



FOTOS MARINA RAYA

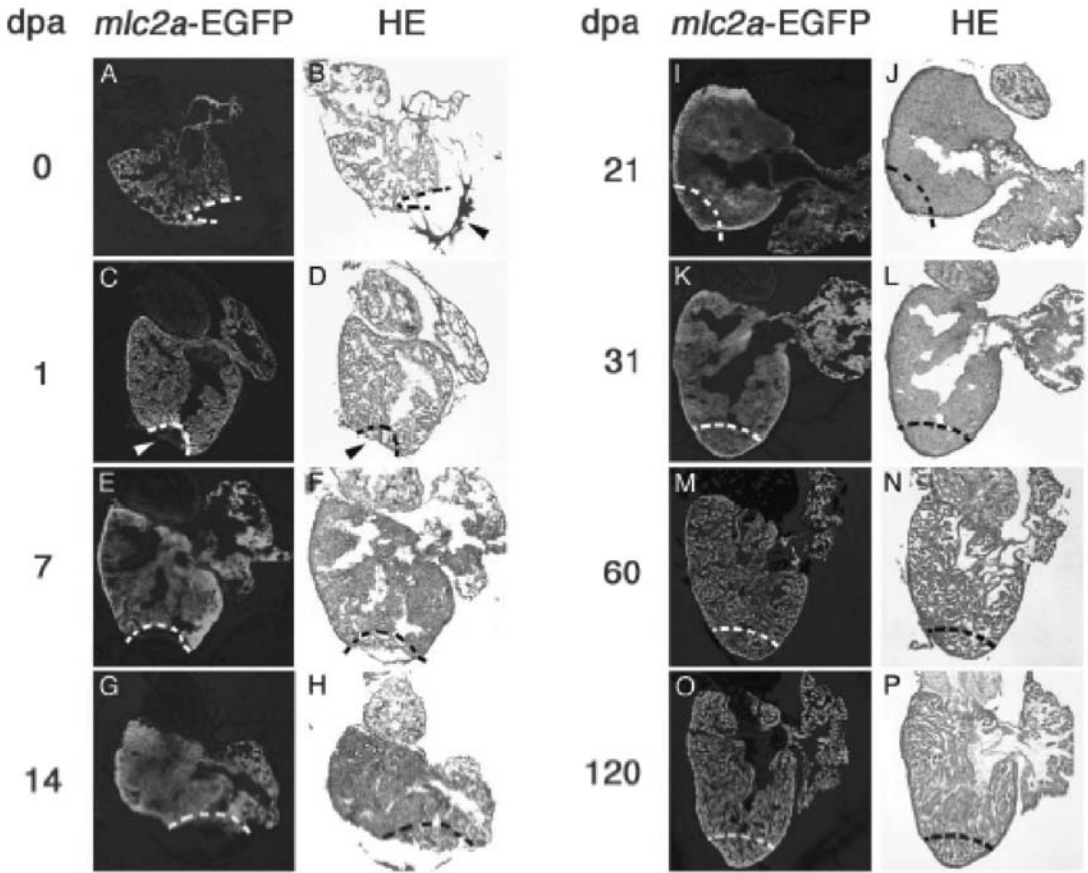
Regeneración de aleta pectoral en Pez Cebra: en el panel superior tenemos una aleta WT a 7 días post lesión (dpl). En el panel inferior vemos una aleta WT a 7dpl, en la que hemos bloqueado la regeneración con Dkk-1.

DIRECCIONES DE FUTURO. ¿PERSPECTIVAS DE FUTURO?

La aparición del Pez Cebra en la investigación ha permitido enfocar antiguas áreas de estudio con nuevos puntos de vista y nuevas áreas de investigación con novedosas herramientas.

Varios son los temas que se pueden abordar de *novo* como es el de la contaminación medioambiental. En otros, como el desarrollo de órganos fundamentales como el corazón o el cerebro se ha podido profundizar

Algunos temas clásicos se han podido reempezar, como es el estudio del establecimiento del eje de asimetría que define izquierda y derecha en el cuerpo de los vertebrados. Resulta sorprendente comprobar la conservación en todos los vertebrados tanto de la simetría exterior como la asimetría interior. Es decir, mientras el cuerpo se dispone en una perfecta organización simétrica en su exterior,



FOTOS MARINA RAYA

Visualización de la regeneración de corazón en el transgénico *mlc2a-EGFP*: un corazón de Pez Cebra regenerado. El corazón ha sido monitoreado por la expresión del transgen y las características histológicas de la tinción con hematoxilín/eosina. Inmediatamente después de la lesión (0 days post amputation, 0 dpa) la sangre coagula cerca de la zona lesionada (flecha en B). Un días después (1dpa) la región se ha reorganizado en un denso coágulo fibroso (flecha en D) que no expresa GFP. La progresiva invasión de ese coágulo por células que expresan GFP ocurre con el transcurso de los días, de manera que el día 31 dpa, el miocardio lesionado está completamente reemplazado por tejido regenerado. (Raya et. al, 2003)

los órganos internos mantienen una asimetría conservada entre especies.

Diversos estudios en Peces Cebra han desvelado los componentes fundamentales de la cascada génica que controla el establecimiento de este eje y que transmite a las células información sobre su posición respecto al mismo.

En la actualidad aún no se conocen los pasos más tempranos del proceso, ni su implicación directa en enfermedades relacionadas con la heterotaxia, como la TGA (*transposition of the great arteries*) o la VSD (*ventricular septal defect*).

También son muy relevantes los resultados obtenidos con el Pez Cebra en el estudio de la capaci-

dad regenerativa. Se pueden encontrar estudios recientes en los que se ha inducido regeneración en animales que, naturalmente, carecen de esta capacidad, como es el pollo (Kawakami *et alii*, 2006).

A medida que grupos de investigación de diversas áreas de estudio incorporan el Pez Cebra como modelo animal para sus experimentos se descubran nuevas aplicaciones que este modelo brinda a la investigación.

Muchas son las opciones abiertas en los últimos años y los resultados obtenidos hasta el presente con este nuevo modelo animal lo consolidan sin duda como una fuente de conocimiento, muy posiblemente, inalcanzable con otros modelos.

EL PEZ CEBRA COMO ORGANISMO MODELO

Alejandro Barrallo Gimeno

Instituto de Neurociencias de Alicante CSIC-UMH

Unidad de Neurobiología del Desarrollo.

Universidad Miguel Hernández

Sant Joan d'Alacant 03550 España

Han pasado más de 25 años ya desde la publicación del artículo que supuso el nacimiento del pez cebra como animal modelo de experimentación (Streisinger et al., 1981). En este tiempo, lo que era un pequeña comunidad de investigadores en la Universidad de Oregón, ha pasado a ser un numeroso grupo de científicos de todo el mundo, como lo prueban los casi 1000 asistentes a la última conferencia sobre el pez cebra del pasado año 2006, e incluso el nacimiento de una revista dedicada en exclusiva. De igual manera han crecido los recursos y herramientas disponibles que han hecho posible que la utilización del pez cebra en el laboratorio haya dejado de ser exclusiva de la embriología experimental.

¿POR QUÉ EL PEZ CEBRA?

Probablemente, la verdadera respuesta a esta pregunta sólo la conociera George Streisinger, ya fallecido. Porque, de hecho, ya existía una historia de uso de otro pez como animal modelo en genética y desarrollo embrionario, el medaka (*Oryzias latipes*) aunque principalmente en Japón. Y otras especies se habían utilizado en neurobiología, como la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) o el pez dorado (*Carassius auratus*). Las principales ventajas que presenta el pez cebra como modelo experimental se pueden resumir en tres muy distintas. Al biólogo del desarrollo le encanta que sea ovíparo, que los huevos se depositen en el fondo y sean fáciles de recoger y, sobre todo, que tanto la cáscara del huevo como el mismo embrión sean transparentes durante los dos primeros días. Al genetista le gusta que sean tan prolíficos, de 100 a 300 huevos por puesta, con entre 7 y 10 días entre puestas para una misma hembra. Y al responsable del gasto, que sean pequeños y baratos de mantener, tanto en material como en mano de obra, baste decir que nuestra instalación en el Instituto de Neurociencias de Alicante alberga unos 2000 peces adultos y su mante-

nimiento ocupa media jornada de un técnico de laboratorio.

Pese a las obvias diferencias morfológicas y fisiológicas con respecto a los mamíferos, el pez cebra es un vertebrado más, y como tal tiene un cerebro regionalizado, ojos con lente y retina, un corazón dividido en cámaras, sangre que circula por arterias y venas, por citar algunos órganos. Los mismos órganos que posee un ratón, sólo que en 24 horas tras la fertilización del oocito, los rudimentos de todos ellos están formados, y en 5 días la larva ya es autónoma. El desarrollo larvario completo tiene lugar en una placa de petri, dispuesta a la observación bajo la lupa o el microscopio. Su accesibilidad a técnicas de embriología clásica permitió que mediante el marcaje de células individuales durante la gastrulación se trazara un mapa de su destino en estadios larvarios (Kimmel et al., 1990; Woo y Fraser, 1995).

MUTANTES Y MÁS MUTANTES

Pero la principal fortaleza del pez cebra para establecerse como modelo experimental ha sido la capacidad de realizar genética con él. De hecho, la verdadera explosión de popularidad del pez cebra tuvo lugar a finales de 1996, cuando la revista *Development* publicó un número dedicado en exclusiva a describir los resultados de los dos screenings en busca de mutaciones que afectan a su desarrollo embrionario. Con el precedente del trabajo realizado con la mosca del vinagre (*Drosophila melanogaster*) y que le valió la concesión del premio Nobel a Christiane Nüsslein-Volhard, dos grupos en Tübingen y Boston se lanzaron a identificar todos (o una buena parte a la postre) los genes que son fundamentales en el desarrollo embrionario de los vertebrados (Driever et al., 1996; Haffter et al., 1996). El método consistió en mutagenizar el genoma con un agente alquilante, la etil-nitroso-urea (ENU), que

introduce mutaciones puntuales al azar, y que pueden causar el cambio de aminoácidos, la introducción de codones de parada en medio de la secuencia codificante, o alteración de los sitios de procesamiento del mRNA. De esa manera, se consiguieron identificar unas 2000 mutaciones, en un total de casi 600 genes, que afectan a todas las fases del desarrollo embrionario, desde el establecimiento del bauplan durante la gastrulación a todos los órganos larvarios. Este procedimiento se ha repetido en numerosos laboratorios desde entonces, pero buscando fenotipos específicos a través de herramientas de screening especializadas, como hibridación *in situ* de determinados genes o inmunohistoquímica contra estructuras concretas.

El principal inconveniente de este método de mutagénesis es el largo y costoso procedimiento de clonación posicional para identificar el gen en el cual se ha producido la mutación responsable del fenotipo. En una reciente revisión se estimaba que el número de mutantes generados de esta manera y finalmente clonados era de unos 150 (Amsterdam y Hopkins, 2006). De manera complementaria a la mutagénesis química se desarrolló otro método para introducir mutaciones, que se basa en usar un vector retroviral que se inserta aleatoriamente en el genoma, interrumpiendo la secuencia de genes (Amsterdam et al., 1999; Golling et al., 2002; Amsterdam et al., 2004). Usando la secuencia del vector como cebador, es más fácil saber dónde se ha insertado y qué gen ha interrumpido. De las más de 500 mutaciones identificadas, se han identificado más de 300 genes presumiblemente responsables (Amsterdam y Hopkins, 2006). En su contra hay que citar que el proceso de infección con el retrovirus es mucho más laborioso que la mutagénesis química.

El advenimiento de las técnicas de alto rendimiento (high-throughput) han añadido una posibilidad más para analizar la función génica: el TILLING (Targeted Induced Local Lesions IN the Genome). Partiendo de una colección de animales mutagenizados ya no es necesario buscar un fenotipo en la segunda generación como en los screenings mencionados de genética directa, se puede aplicar el principio de la genética inversa y buscar entre todos los animales parentales quienes portan una mutación en el gen de interés, y sólo a partir de ellos crecer la siguientes generaciones hasta obtener los individuos homocigotos (Wienholds et al., 2003). Como ventaja adicional, existe una elevada

probabilidad de recuperar un serie alélica del gen en cuestión, una colección de mutaciones que puedan manifestar el fenotipo con diferente severidad.

TAMBIÉN A PEQUEÑA ESCALA

Tanto los screenings fenotípicos por mutagénesis química, como por inserción de vectores retrovirales, o el TILLING, sólo son posibles con una gran inversión material y humana, para mantener y analizar todos los individuos necesarios, aunque en el caso del último sistema, la Unión Europea financió una plataforma pública dentro del 6º Programa Marco de investigación para que más investigadores tuvieran acceso a mutantes en genes de su interés.

Aunque los experimentos de ganancia de función son relativamente sencillos de llevar a cabo mediante la inyección del mRNA correspondiente, era necesario un método sencillo para analizar el efecto de la pérdida de función génica. El ratón presenta como ventaja como modelo experimental la posibilidad de anular la función de un gen con un knock-out, lo que todavía no es posible en el pez cebra, pese a los avances que se están realizando en esa dirección (Fan et al., 2006). En el año 2000 se produjo otro hito que ha permitido subsanar en parte esta desventaja. Nasevicius y Ekker introdujeron en el pez cebra el uso de los morfolinós, oligonucleótidos antisentido modificados que se unen al mRNA e inhiben la traducción de un gen durante los primeros días del desarrollo (Nasevicius y Ekker, 2000). La bondad de este procedimiento se ha comprobado realizando numerosas fenocopias: reproducir el fenotipo resultante de la mutación de un gen con un morfolino específico contra ese gen (genesis, vol. 30, nº3). Esta técnica ha permitido que laboratorios pequeños puedan analizar la función génica en el pez cebra, sin tener que recurrir a grandes acuarios donde mantener un colección de peces portadores de mutaciones en genes de potencial interés, y sin esperar que dichas mutaciones hayan sido identificadas, ya que no se ha logrado alcanzar una saturación del 100% en todos los screenings realizados.

PECES DE COLORES A LA CARTA

Otra de las técnicas que han favorecido el desarrollo del pez cebra como modelo experimental es la facilidad de generar de animales transgénicos. La modalidad más extendida es la que intenta reca-

pitular el patrón de expresión de un gen endógeno, clonando un fragmento del promotor delante de una proteína fluorescente como marcador, lo que se beneficia precisamente de la transparencia del embrión.

La técnica más sencilla para generar un pez transgénico es la inyección en el oocito fecundado del DNA lineal, que se integrará al azar en el genoma. En contrapartida a su sencillez, la tasa de transgénesis no es muy alta, menor del 10%, pero esta desventaja es compensada por el gran número de animales que se pueden generar en un experimento (revisada en Udvardy y Linney, 2003). Una mejora que se ha introducido en esta técnica es la incorporación de sitios de reconocimiento para la enzima de restricción I-SceI en los extremos de la construcción con el promotor más gen marcador. Este enzima tiene una secuencia de reconocimiento de 18bp, poco frecuente por tanto, y se co-inyecta con el DNA. Este método mejora la tasa de transgénesis, llegando al 25-30% (Thermes et al., 2002).

Un método alternativo y más eficiente se basa en usar un vector que lleva el promotor y el marcador de interés junto a parte de la secuencia del elemento transponible Tol2, propio del medaka, pero ausente en el genoma del pez cebra. Este vector se co-inyecta con el mRNA que codifica la propia transposasa Tol2 y que cataliza la incorporación en el genoma de las secuencias de interés (Kawakami et al., 2000).

En ocasiones, los elementos reguladores de la expresión de nuestro gen favorito no están en la inmediata proximidad de la secuencia codificante. Para evitar la tediosa tarea de clonar y ensayar diferentes fragmentos de tamaño cada vez mayor, se puede recurrir a identificar un clon de tipo BAC (Bacterial Artificial Chromosome), que contienen hasta 200kb de secuencia, y modificarlo por recombinación para insertar el gen marcador en la secuencia del gen de interés, y realizar un pez transgénico con dicha construcción (Yang et al., 2006).

Con el avance de los proyectos de secuenciación de distintos genomas, la dotación génica de los organismos queda revelada, pero para construir un organismo a partir de esta colección de genes, su actividad ha de ser estrictamente regulada en tiempo y espacio. La importancia de esta regulación se pone de manifiesto al considerar que sólo un 4% de

todo el genoma es codificante, y que hay numerosas secuencias no-codificantes que están conservadas del pez cebra al humano pasando por el ratón y que son consideradas como reguladoras de la expresión de los genes adyacentes (revisado en Boffelli et al., 2004). Para tratar de identificar el mayor número de ellas se han emprendido screenings de secuencias reguladoras en el pez cebra usando dos herramientas ya mencionadas. Por un parte se ha usado el sistema Tol2 (Kawakami et al., 2004) y por otra la inserción de un vector retroviral (Ellingsen et al., 2005). En ambos casos el principio es el mismo: el correspondiente vector lleva el gen que codifica una proteína fluorescente como marcador y un promotor mínimo, y si el vector se inserta en las cercanías de un elemento regulador, la expresión de la proteína fluorescente se verá controlada por el mismo.

LA VIDA EN DIRECTO

De esta manera se han generado animales transgénicos en prácticamente todos los tejidos o poblaciones celulares que a un investigador le puedan interesar. Y una de las aplicaciones más vistosas es la utilización de estos animales transgénicos para la visualización de procesos *in vivo*, siguiendo la evolución o migración de las células fluorescentes bajo un microscopio, mejor si es confocal. El embrión del pez cebra se puede inmovilizar con un medio semi rígido, como agarosa de bajo punto de fusión o metil celulosa, y seguir su desarrollo durante horas tan sólo manteniendo la temperatura adecuada, sin necesidad de perfundir CO₂.

Usando una línea transgénica que expresa la proteína GFP bajo el control del promotor del gen *foxd3*, específico de la glia y marcando con otro fluoróforo el nervio del primordio de la línea lateral, que migra a lo largo de la cola del embrión durante 24 horas, fue posible observar como en condiciones normales las células de la glia acompañan la migración del nervio de un manera coordinada. Pero en un embrión que además era homocigoto para una mutación en el gen *sox10*, que causa un defecto en el desarrollo de la glia, el nervio seguía migrando inalterado en solitario, aunque en estadios posteriores se pudo observar como el nervio se defasciculaba (Gilmour et al., 2002).

El descubrimiento de nuevas proteínas fluorescentes en diferentes colores (revisadas en Chuda-

kov et al., 2005) ha permitido la combinación de más de un elemento transgénico en el mismo animal, marcando diferentes poblaciones celulares, o estructuras subcelulares con versiones modificadas de la proteínas fluorescentes que se dirigen a localizaciones concretas: núcleo, membrana. Una de las nuevas proteínas fluorescentes es *Kaede*, original de un coral. Esta proteína presenta la característica de que cuando se irradia con luz UV, su fluorescencia natural verde, pasa a ser roja (Ando et al., 2002). Expresada bajo el control del promotor del gen *huC*, específico de neuronas, permite marcar células individuales y seguir su desarrollo durante 3 días (Sato et al., 2006).

DEL PEZ AL HOMBRE NO HAY TANTA DISTANCIA

Una de las objeciones tradicionales al uso de pez cebra como organismo modelo es su distancia filogenética respecto al ser humano (unos 400 millones de años), que al fin y al cabo es el destinatario último de los avances de la investigación biomédica. Sin embargo, pese a las evidentes diferencias morfológicas y fisiológicas, muchos genes y sus funciones están conservadas a lo largo de la evolución. En un artículo que mereció la portada de la revista *Science* a finales del 2005, se encontró que el gen responsable de una de las mutaciones más antiguas del pez cebra, *golden*, que afecta a la pigmentación de la piel, es el *slc24a5*. Este gen es un intercambiador de sodio/calcio dependiente de potasio que se localiza en los melanosomas, y no sólo está conservado en humanos, sino que se ha encontrado un polimorfismo en la secuencia de *SLC24A5* que están asociado al color de piel de los europeos occidentales (Lamason et al., 2005).

Como consecuencia de los screenings de mutaciones se han identificado genes cuyo correspondiente ortólogo en humanos es el responsable de una enfermedad. El primer caso fue la mutación *weissherbst*, cuyo fenotipo se caracterizaba por la ausencia de hemoglobina en las células eritroides. La clonación posicional de la mutación reveló que se encontraba en el gen *ferroportin1*, un transportador de hierro (Donovan et al., 2000). Su correspondiente ortólogo en humanos, denominado *SLC11A3*, se ha encontrado posteriormente mutado en pacientes de hemocromatosis hereditaria, que se caracteriza por un exceso de hierro (Njajou et al., 2001).

Uno de los sistemas a los que más importancia se está dando es al pez cebra como animal modelo de cáncer (Amatruda et al., 2002). Es en cierta parte lógico que un animal modelo embriología también pueda convertirse en plataforma para el estudio del cáncer, puesto que se está descubriendo que muchos genes que son importantes durante el desarrollo embrionario, se reactivan inadecuadamente en procesos patológicos (Barrallo-Gimeno y Nieto, 2005). Por ejemplo, cuando células de melanoma agresivo se implantan en un embrión de pez cebra son capaces de inducir la formación de un segundo eje ectópico, debido a que secretan la molécula de señalización Nodal, un importante morfógeno (Topczewska et al., 2006).

Entre los screenings especializados en busca de nuevas mutaciones, uno se ha enfocado en alteraciones de la proliferación celular, y en el transcurso del mismo se han encontrado mutaciones en genes que producen inestabilidad genómica y un aumento en la susceptibilidad a la aparición de cánceres. Uno de dichos genes es *bmyb*, cuya haploinsuficiencia lleva al incremento de la aparición de tumores (Shepard et al., 2005). Otro gen procedente del mismo screening es la *separase*, que codifica una proteasa que ayuda a separa las cromátidas hermanas durante la mitosis, y cuya haploinsuficiencia en el pez cebra lleva al aumento en la aparición de tumores epiteliales (Shepard et al., 2007).

También ha sido posible la generación de modelos transgénicos que recapitulan variedades específicas de cáncer. La expresión del proto-oncogen *c-Myc* de ratón bajo el promotor del gen *rag2*, que se expresa normalmente en el timo, produjo la aparición de una leucemia de células T en animales adultos. (Langenau et al. 2003). La expresión ubicua de la fusión de los genes TEL-AML1 recapituló en el pez cebra la leucemia linfoblástica aguda de células B, igual que el producto de la traslocación t(12;21)(p12;q22) en humanos (Sabaawy et al., 2006)

REGENERACIÓN

Una de las diferencias del pez cebra con respecto a otros vertebrados son las propiedades regenerativas de ciertos tejidos en el adulto. Los peces cebra como otros teleosteos pueden regenerar todas las aletas incluso cuando hasta un 95% de la extremidad es amputado. Esta propiedad ha sido am-

pliamente utilizada para realizar el genotipado de animales adultos, cortando un pedazo de tejido del extremo de la aleta caudal, como en el ratón se corta el extremo de la cola, para extraer el DNA. Pero tras unos pocos días, la aleta caudal empieza a regenerar, y en un par de semanas ha alcanzado su extensión original. La regeneración de la aleta implica el crecimiento y diferenciación coordinado de diferentes tipos celulares a partir del blastema, células mesenquimáticas indiferenciadas y posiblemente multipotentes (revisado en Akimenko et al., 2003).

Recientemente se ha encontrado que, a diferencia de los mamíferos, también el tejido cardíaco del pez cebra adulto puede regenerar. La ablación de hasta un 20% del ventrículo es reparada con nuevos cardiomiocitos en 1-2 meses, sin producir una cicatriz de tejido fibrótico como en los mamíferos (Poss et al., 2002). En este proceso el epicardio juega un papel fundamental. Células del epicardio experimentan una transición epitelio-mesénquima inducida por la acción del factor de crecimiento *fgf17b* secretado por el miocardio en regeneración, y contribuyen a la formación de nuevos vasos coronarios (Lepilina et al., 2006).

SCREENING DE QUIMIOTECAS

La industria farmacéutica también ha encontrado en el pez cebra un modelo de interés. Una de las limitaciones en el desarrollo de nuevas sustancias de uso terapéutico es su validación in vivo, puesto que todavía es difícil predecir cuales tendrán un efecto positivo sobre su objetivo sin producir graves efectos secundarios en el organismo. El pequeño tamaño del embrión de pez cebra permite que varios de ellos encuentren acomodo en cada uno de los pocillos de una placa de 96 o incluso 384 pocillos, y en cada uno de ellos se administra un compuesto cuyas propiedades se quieren evaluar. Así es posible realizar ensayos in vivo con cientos de compuestos a la vez. Además la evaluación de la actividad se puede realizar sobre un línea transgénica de interés, lo que lo hace aún más sencillo su análisis.

Por ejemplo, Peterson et al. (2004) realizaron una búsqueda de moléculas que fueran capaces de rescatar el fenotipo causado por la mutación *gridlock*, que afecta al gen *hey2*. Esta mutación causa un fenotipo similar a la coartación de la aorta en hu-

manos. Los autores probaron 5000 compuestos y encontraron que dos de ellos revertían el fenotipo mutante a las 48h de desarrollo. Estos dos compuestos resultaron ser reguladores positivos de la expresión de *vegf* (vascular endothelium growth factor), un factor de crecimiento esencial para la formación de la vasculatura, y esta propiedad también se produce en células humanas. Otro caso ha sido el del mutante en el gen *bmyb*, mencionado anteriormente. Se analizaron 16000 compuestos para descubrir uno que era capaz de revertir el fenotipo de alteración del ciclo celular que muestran estos mutantes (Stern et al., 2005).

Y MUCHO MÁS...

El uso del pez cebra como animal modelo no se va a quedar en estas aplicaciones. La diversidad de herramientas genéticas disponibles y su combinación hará posible su uso en otro campos. Por ejemplo, se ha realizado un screening de mutaciones que afectan al metabolismo de lípidos, usando fosfolípidos fluorescentes (Farber et al., 2001). Otros ensayos se están enfocando en aspectos de la conducta y respuesta a diferentes sustancias que afectan la actividad del sistema nervioso (Darland y Dowling, 2001; Ninkovic y Bally-Cuif, 2006). Y en mundo cada vez más preocupado por el estado del medio ambiente, el pez cebra también se está desarrollando como biosensor (Amanuma et al., 2000; Aleström et al., 2006).

REFERENCIAS

- Akimenko MA, Mari-Beffa M, Becerra J, Gerardie J. (2003). Old questions, new tools, and some answers to the mystery of fin regeneration. *Dev Dyn* 226(2): 190-201.
- Alestrom P, Holter JL, Nourizadeh-Lillabadi R. (2006). Zebrafish in functional genomics and aquatic biomedicine. *Trends Biotechnol* 24(1): 15-21.
- Amanuma K, Takeda H, Amanuma H, Aoki Y. (2000). Transgenic zebrafish for detecting mutations caused by compounds in aquatic environments. *Nat Biotechnol* 18(1): 62-65.
- Amatruda JF, Shepard JL, Stern HM, Zon LI. (2002). Zebrafish as a cancer model system. *Cancer Cell* 1(3): 229-231.

- Amsterdam A, Burgess S, Golling G, Chen W, Sun Z, Townsend K, Farrington S, Haldi M, Hopkins N. (1999). A large-scale insertional mutagenesis screen in zebrafish. *Genes Dev* 13(20): 2713-2124.
- Amsterdam A, Hopkins N. (2006). Mutagenesis strategies in zebrafish for identifying genes involved in development and disease. *Trends Genet* 22(9): 473-478.
- Amsterdam A, Nissen RM, Sun Z, Swindell EC, Farrington S, Hopkins N. (2004). Identification of 315 genes essential for early zebrafish development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(35): 12792-12797.
- Ando R, Hama H, Yamamoto-Hino M, Mizuno H, Miyawaki A. (2002). An optical marker based on the UV-induced green-to-red photoconversion of a fluorescent protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(20): 12651-12656.
- Barrallo-Gimeno A, Nieto MA. (2005). The Snail genes as inducers of cell movement and survival: implications in development and cancer. *Development* 132(14): 3151-3161
- Boffelli D, Nobrega MA, Rubin EM. (2004). Comparative genomics at the vertebrate extremes. *Nat Rev Genet* 5(6): 456-465.
- Chudakov DM, Lukyanov S, Lukyanov KA. (2005). Fluorescent proteins as a toolkit for in vivo imaging. *Trends Biotechnol* 23(12): 605-613.
- Darland T, Dowling JE. (2001). Behavioral screening for cocaine sensitivity in mutagenized zebrafish. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(20): 11691-11696.
- Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J, Paw BH, Drejer A, Barut B, Zapata A, Law TC, Brugnara C, Lux SE, Pinkus GS, Pinkus JL, Kingsley PD, Palis J, Fleming MD, Andrews NC, Zon LI. (2000). Positional cloning of zebrafish ferroportin 1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 403(6771): 776-781.
- Driever W, Solnica-Krezel L, Schier AF, Neuhauss SC, Malicki J, Stemple DL, Stainier DY, Zwartkruis F, Abdelilah S, Rangini Z, Belak J, Boggs C. (1996). A genetic screen for mutations affecting embryogenesis in zebrafish. *Development* 123: 37-46.
- Ellingsen S, Laplante MA, Konig M, Kikuta H, Furmanek T, Hoivik EA, Becker TS. (2005). Large-scale enhancer detection in the zebrafish genome. *Development* 132(17): 3799-3811.
- Fan L, Moon J, Crodian J, Collodi P. (2006). Homologous recombination in zebrafish ES cells. *Transgenic Res* 15(1): 21-30.
- Farber SA, Pack M, Ho SY, Johnson ID, Wagner DS, Dosch R, Mullins MC, Hendrickson HS, Hendrickson EK, Halpern ME. (2001). Genetic analysis of digestive physiology using fluorescent phospholipid reporters. *Science* 292(5520): 1385-1388.
- Gilmour DT, Maischein HM, Nusslein-Volhard C. (2002). Migration and function of a glial subtype in the vertebrate peripheral nervous system. *Neuron* 34(4): 577-588.
- Golling G, Amsterdam A, Sun Z, Antonelli M, Maldonado E, Chen W, Burgess S, Haldi M, Artzt K, Farrington S, Lin SY, Nissen RM, Hopkins N. (2002). Insertional mutagenesis in zebrafish rapidly identifies genes essential for early vertebrate development. *Nat Genet* 31(2): 135-140.
- Haffter P, Granato M, Brand M, Mullins MC, Hammerschmidt M, Kane DA, Odenthal J, van Eeden FJ, Jiang YJ, Heisenberg CP, Kelsh RN, Furutani-Seiki M, Vogelsang E, Beuchle D, Schach U, Fabian C, Nusslein-Volhard C. (1996). The identification of genes with unique and essential functions in the development of the zebrafish, *Danio rerio*. *Development* 123: 1-36.
- Kawakami K, Shima A, Kawakami N. (2000). Identification of a functional transposase of the Tol2 element, an Ac-like element from the Japanese medaka fish, and its transposition in the zebrafish germ lineage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(21): 11403-11408.
- Kawakami K, Takeda H, Kawakami N, Kobayashi M, Matsuda N, Mishina M. (2004). A

- transposon-mediated gene trap approach identifies developmentally regulated genes in zebrafish. *Dev Cell* 7(1): 133-144.
- Kimmel CB, Warga RM, Schilling TF. (1990). Origin and organization of the zebrafish fate map. *Development* 108(4): 581-94.
 - Lamason RL, Mohideen MA, Mest JR, Wong AC, Norton HL, Aros MC, Juryneec MJ, Mao X, Humphreville VR, Humbert JE, Sinha S, Moore JL, Jagadeeswaran P, Zhao W, Ning G, Makalowska I, McKeigue PM, O'donnell D, Kittles R, Parra EJ, Mangini NJ, Grunwald DJ, Shriver MD, Canfield VA, Cheng KC. (2005). SLC24A5, a putative cation exchanger, affects pigmentation in zebrafish and humans. *Science* 310(5755): 1782-1786.
 - Langenau DM, Traver D, Ferrando AA, Kutok JL, Aster JC, Kanki JP, Lin S, Prochownik E, Trede NS, Zon LI, Look AT. (2003). Myc-induced T cell leukemia in transgenic zebrafish. *Science* 299(5608): 887-890.
 - Lepilina A, Coon AN, Kikuchi K, Holdway JE, Roberts RW, Burns CG, Poss KD. (2006). A dynamic epicardial injury response supports progenitor cell activity during zebrafish heart regeneration. *Cell* 127(3): 607-619.
 - Nasevicius A, Ekker SC. (2000). Effective targeted gene 'knockdown' in zebrafish. *Nat Genet* 26(2): 216-220.
 - Ninkovic J, Bally-Cuif L. (2006). The zebrafish as a model system for assessing the reinforcing properties of drugs of abuse. *Methods* 39(3): 262-274.
 - Njajou OT, Vaessen N, Joosse M, Berghuis B, van Dongen JW, Breuning MH, Snijders PJ, Rutten WP, Sandkuijl LA, Oostra BA, van Duijn CM, Heutink P. (2001). A mutation in SLC11A3 is associated with autosomal dominant hemochromatosis. *Nat Genet* 28(3): 213-214.
 - Peterson RT, Shaw SY, Peterson TA, Milan DJ, Zhong TP, Schreiber SL, MacRae CA, Fishman MC. (2004). Chemical suppression of a genetic mutation in a zebrafish model of aortic coarctation. *Nat Biotechnol* 22(5):595-599.
 - Poss KD, Wilson LG, Keating MT. (2002). Heart regeneration in zebrafish. *Science* 298(5601): 2188-2190.
 - Sabaawy HE, Azuma M, Embree LJ, Tsai HJ, Starost MF, Hickstein DD. (2006). TEL-AML1 transgenic zebrafish model of precursor B cell acute lymphoblastic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(41): 15166-15171.
 - Sato T, Takahoko M, Okamoto H. (2006). HuC:Kaede, a useful tool to label neural morphologies in networks in vivo. *Genesis* 44(3): 136-142.
 - Shepard JL, Amatruda JF, Finkelstein D, Ziai J, Finley KR, Stern HM, Chiang K, Hersey C, Barut B, Freeman JL, Lee C, Glickman JN, Kutok JL, Aster JC, Zon LI. (2007). A mutation in separase causes genome instability and increased susceptibility to epithelial cancer. *Genes Dev* 21(1): 55-59.
 - Shepard JL, Amatruda JF, Stern HM, Subramanian A, Finkelstein D, Ziai J, Finley KR, Pfaff KL, Hersey C, Zhou Y, Barut B, Freedman M, Lee C, Spitsbergen J, Neuberg D, Weber G, Golub TR, Glickman JN, Kutok JL, Aster JC, Zon LI. (2005). A zebrafish bmyb mutation causes genome instability and increased cancer susceptibility. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(37): 13194-13199.
 - Stern HM, Murphey RD, Shepard JL, Amatruda JF, Straub CT, Pfaff KL, Weber G, Tallarico JA, King RW, Zon LI. (2005). Small molecules that delay S phase suppress a zebrafish bmyb mutant. *Nat Chem Biol* 1(7): 366-370.
 - Streisinger G, Walker C, Dower N, Knauber D, Singer F. (1981) Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). *Nature* 291: 293-296.
 - Thermes V, Grabher C, Ristoratore F, Bourrat F, Choulika A, Wittbrodt J, Joly JS. (2002). I-SceI meganuclease mediates highly efficient transgenesis in fish. *Mech Dev* 118(1-2): 91-98.
 - Topczewska JM, Postovit LM, Margaryan NV, Sam A, Hess AR, Wheaton WW, Nickoloff BJ, Topczewski J, Hendrix MJ. (2006). Embryo-

nic and tumorigenic pathways converge via Nodal signaling: role in melanoma aggressiveness. *Nat Med* 12(8): 925-932.

- Udvadia AJ, Linney E. (2000). Windows into development: historic, current, and future perspectives on transgenic zebrafish. *Dev Biol* 256(1): 1-17.
- Wienholds E, van Eeden F, Kusters M, Mudde J, Plasterk RH, Cuppen E. (2003). Efficient

target-selected mutagenesis in zebrafish. *Genome Res* 13(12): 2700-2707.

- Woo K, Fraser SE. (1995). Order and coherence in the fate map of the zebrafish nervous system. *Development* 121(8): 2595-2609.
- Yang Z, Jiang H, Chachainasakul T, Gong S, Yang XW, Heintz N, Lin S. (2006). Modified bacterial artificial chromosomes for zebrafish transgenesis. *Methods* 39(3): 183-188.



INSTALACIONES DE ZEBRA FISH

CENTRO ANDALUZ DE BIOLOGÍA DEL DESARROLLO (UPO/CSIC/CEC-JA)

Artículo y fotos: *Isabel Clara Rollan*
Revisión de texto: *Juana Esteve*

El 6 de mayo de 2003, la consejera de Educación y Ciencia (Cándida Martínez), la rectora de la Universidad Pablo de Olavide (Rosario Valpuesta) y el presidente del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (Emilio Lora-Tamayo) firman un convenio que permite la creación del **Centro Andaluz de Biología del Desarrollo** (CABD) que se convierte en el primer centro de investigación en España dedicado exclusivamente a esta rama de la biología.



En la actualidad grupos jóvenes y dinámicos trabajan en el centro en el desarrollo del: ratón, *zebrafish*, *Xenopus*, *Drosophila* y *Caenorhabditis*. También son objeto de estudio: el control del ciclo celular en levaduras, la regulación génica en bacterias y el estrés oxidativo. El CABD se encuentra actualmente en fase de expansión, pretendiendo atraer

científicos españoles y extranjeros a este núcleo tan singular.

Las diferentes líneas de investigación son:

DESARROLLO DE VERTEBRADOS:

- Dra. María José Sánchez Sanz (CSIC). Regulación de la diferenciación de las células madre hematopoyéticas durante el desarrollo.
- Dr. José Luis Gómez-Skarmeta (CSIC). Función y regulación de los genes *iroquois* en vertebrados.

DESARROLLO DE INVERTEBRADOS:

- Dr. Acaimo González Reyes (CSIC). Células madre y formación de patrón durante la oogénesis en *Drosophila*.
- Dr. Fernando Casares (CSIC). Control del crecimiento e identidad de los órganos durante el desarrollo y la evolución.
- Dr. James Castelli-Gair Hombría (CSIC). Integración celular de distintos *inputs* genéticos durante la morfogénesis de órganos complejos.

- Dra. María Dolores Martín Bermuda (CSIC). Cambios en la adhesión y la forma celular: migración y morfogénesis en *Drosophila*.
- Dr. Manuel J. Muñoz (UPO). Regulación genética del envejecimiento en *Caenorhabditis elegans*.
- Dr. Peter Askjaer (UPO). Dinámica nuclear en biología celular y del desarrollo.

- Dr. Antonio Arroyo Luque (UPO). Proteómica del complejo de síntesis del coenzima Q en organismos eucariotas.

La mayoría de los grupos realizaron trabajos bastante notables en el pasado año, avalado por publicaciones en revistas de reconocido prestigio. Algunos de estos trabajos incluso han tenido una alta repercusión en todos los medios de comunicación nacionales e internacionales.

De entre los servicios que se ofrecen el CABD, destacan: servicio de animalario, irradiación, microscopía y citometría, cocinas, biología molecular y transgenia, genómica y proteómica, etc.

La especie que es el tema del monográfico ha despertado el interés de varios grupos de investigación en el centro que utilizan zebrafish como modelo paralelo en el estudio de cuestiones tan diversas como el de: los mecanismos que controlan los estadíos tempranos del ojo, el desarrollo de órganos renales o el análisis de regiones reguladoras.

GENÉTICA:

- Dr. Juan Jiménez Martínez (UPO). Control de la división celular.
- Dr. Andrés Garzón Villar (UPO). Papel de la chaperona Hsp90 en el control del ciclo celular y senescencia.
- Dr. José Ignacio Ibeas Corcelles (UPO). Identificación y análisis de nuevos anti-fúngicos.
- Dr. Rafael Rodríguez Daga (UPO). Control del espacio celular y morfogénesis.

REGULACIÓN GÉNICA:

- Dr. Eduardo Santero Santurino (UPO). Expresión génica en bacterias de interés medioambiental.

BIOLOGÍA CELULAR:

- Dr. Plácido Navas Lloret (UPO). Control del estrés oxidativo.
- Dr. Carlos Santos Ocaña (UPO). Síntesis de coenzima Q en *Saccharomyces cerevisiae* y su implicación en procesos de alargamiento de la vida y envejecimiento.
- Dr. Antonio Miranda Vizuet (UPO). *Caenorhabditis elegans* como modelo para el estudio de la función de las tiorredoxinas en eucariotas.
- Dr. Guillermo López Lluch (UPO). Restricción calórica, daño oxidativo y envejecimiento.
- Dr. Jose Antonio Sánchez-Alcázar (UPO). La apoptosis inducida por las drogas quimioterápicas.
- Dr. Manuel Ballesteros (UPO). Biosíntesis de Ubiquinona: regulación metabólica e integración en la respuesta de estrés oxidativo celular.



Actualmente dos los grupos del centro (los dirigidos por los Drs. F. Casares y J.L. Gómez-Skarmeta) están involucrados en un proyecto para la realización de un *screening* de genómica funcional a gran escala con el objetivo de identificar regiones reguladoras de la expresión génica (*enhancers*) conservadas en todos los vertebrados. Para lograr este objetivo se tiene prevista la implantación de un sistema con 3000 peceras (unos 16000 litros en total) que es, sin duda, un ambicioso proyecto. En la actualidad se encuentra en fase de instalación y acondicionamiento con el objetivo de que, antes de que finalice el presente año, esté funcionando a pleno rendimiento después de haber incorporado más investigadores a la plantilla del CABD.

SIGUE EN PAGINA SIGUIENTE ➡

MANTENIMIENTO DE INDIVIDUOS ZEBRAFISH PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR

Artículo y fotos: *Isabel Clara Rollan*
Revisión de texto: *Juana Esteve*



INTRODUCCIÓN

La instalación de zebrafish que actualmente hay se utiliza en el CABD, se compone de tres sistemas independientes de 350 litros cada uno con varias hileras de peceras individuales de policarbonato (típicas jaulas para ratones). Cada sistema presenta en su parte inferior: un reservorio de agua, calentadores, filtros biológicos, una bomba impulsora, nivel de agua y las sondas para pH, salinidad y temperatura. Toda la parte eléctrica se localiza en la parte superior del sistema. Cada estante o hilera, tiene una llave de paso que gobierna una fila entera (7 a 8 peceras) Se puede regular, incluso individualmente, la cantidad de agua que llega a cada acuario.

El agua que abastece a los distintos sistemas es agua tratada (agua de red pasada por una serie de prefiltros y carbón activo). Esta agua se acumula en un tanque (donde se van añadiendo las sales correspondientes) y su llenado y vaciado (coincidiendo con la demanda de cada uno de los sistemas) se regula de manera automática.

Partiendo de la premisa de que no basta sólo con mantener a los individuos vivos sino que han de estar en condiciones óptimas (para que puedan reproducirse) es preciso controlar varios aspectos:

- La calidad del agua.
- El rango de temperatura.
- El ciclo de luz-oscuridad.
- La alimentación.

CALIDAD DEL AGUA:

Éste quizás sea uno de los factores más críticos. La importancia de este factor radica en que la acumulación de las sustancias de desecho producidas por los individuos puede comprometer el estado de salud de los mismos.

Se necesita básicamente:

- Un sistema de ósmosis reversa.
- Diferentes medidores (pH-metro, conductímetro, termómetro).
- Kits para medir la calidad del agua (amonio, nitrito, nitrato y cloro).
- Bicarbonato de sodio (para ajustar el pH y que debe oscilar entre 6.8 y 7.5 unidades). Por regla general, se añaden 4g de bicarbonato por cada 100l de agua producida. Esta proporción, de todas formas, variará en función de las necesidades y esto, a su vez, dependerá del número de acuarios por sistema, de la densidad de individuos, etc.).
- Sal marina (normalmente se añaden 20g por cada 100l de agua producida, de tal forma que la salinidad esté en torno a los 500µS. Las altas concentraciones de sales tienen un efec-



to positivo en la salud, pero las bajas concentraciones promueven la fecundidad; por tanto, hay que llegar a un equilibrio).

- Sulfato de calcio (0.84g por cada 100l de agua producida)

El agua del sistema recircula de manera constante haciéndose pasar por una lámpara ultravioleta (germicida) y una serie de filtros biológicos (lugar en los que las bacterias se encargan de transformar el amonio en nitrito y éste a nitrato que es expulsado en los “lavados”).



Para mantener el agua en buenas condiciones, se ha de tener en cuenta otros aspectos:

- Procurar que los peces crezcan a una densidad adecuada que dependerá de: la eficiencia de los filtros, la edad del individuo, la alimentación, etc. En la bibliografía recomiendan unos 5 ó 6 adultos por litro en sistemas con recirculación.
- No sobrealimentarlos. Con esta finalidad es preferible añadir cierta cantidad de alimento e ir suministrando según demanda.
- Renovar diariamente el agua del sistema en un 10%. Es de vital importancia que no se haga de una sola vez sino en varios cambios a lo largo del día. La experiencia en nuestro Laboratorio muestra que los cambios bruscos pueden ser catastróficos.

TEMPERATURA:

La temperatura del agua debe oscilar entre los 26 y los 28°C . La temperatura de la habitación entre 27 y 29°C con el fin de evitar condensaciones.

En nuestro caso cada sistema está previsto de una serie de calentadores controlados por un termostato. El registro de la temperatura se refleja en un display ubicado en cada uno de los sistemas independientes.

ILUMINACIÓN:

Ciclo de 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad conseguido con un sistema de pantallas fluorescentes controladas por un temporizador.

ALIMENTACIÓN:

A considerar diversas opciones según se traten de individuos adultos o en fase de crecimiento. En cualquier caso, se recomienda procurar distintos tipos de comida.

En el caso de individuos adultos, son alimentados tres veces al día (1 toma de artemia y dos de comida seca). En individuos en fase de crecimiento se debe tener en cuenta:

- A partir del día 5-8 del desarrollo (una vez inflada la vejiga natatoria), se les alimenta con comida seca pulverizada: *baby food*.
- A partir del día 16, pueden alimentarse con artemias. En el laboratorio alternamos tomas de artemias con comida seca pasando de la comida pulverizada a otra de mayor granulación. La frecuencia con la que deban alimentarse dependerá un poco de la circunstancias pero, en definitiva, con unas cuatro veces al día es suficiente. Hemos probado incluso con larvas de *Drosophila*, y parece que da buenos resultados. Si la alimentación es adecuada, en tres a cuatro meses se debería contar con individuos capaces de reproducirse.

En fines de semana sólo se alimentan una vez al día (artemia preferentemente).

Es importante el hecho de que, una vez haya transcurrido un tiempo prudencial, (unos 10 minutos aproximadamente) se retiren los restos de comida que queden en los acuarios.



ESTABLECIMIENTO DE CRUCES:

La tarde anterior a la puesta se separan machos y hembras en acuarios independientes. Debe procurarse que la proporción de hembras sea mayor que la de machos (de dos a cinco hembras por macho, según las diferentes fuentes consultadas). Hay varios caracteres que diferencian ambos sexos aunque, a veces y sobre todo en individuos muy jóvenes, resulta francamente difícil distinguirlos:

- Por lo general, las hembras tienen formas más redondeadas, y los machos son un tanto más estilizados. Hembras cargadas de huevos tienen la tripa más hinchada.
- La coloración en los machos es, quizás, un poco más acusada (tonalidades más amarillentas).
- Incluso en la bibliografía se comenta que a las hembras se les puede distinguir por una membranita transparente que tienen a la entrada del orificio genital pero, moviéndose a la velocidad que se mueven, es bastante difícil apreciarlo.
- La diferencia entre sexos es evidente en cuanto se ponen en contacto ya que son los machos los que tratan de nadar junto a la hembra (realizando una serie de movimientos característicos).

Una vez separados se procede a alimentarlos. Al día siguiente, en cuanto se encienda la luz de la habitación, se les pone a cruzar y, si todo va bien, en apenas unos minutos empiezan a producir embriones. Estos son recogidos con una malla muy fina y depositados en una placa de *petri* con medio E3 (específico para embriones). A partir de ahora el próximo paso puede ser la transgénesis o la incubación para renovar el stock de mantenimiento. Antes de que pase un año, hay que estar pendientes de renovar las diferentes líneas ya que, según el ritmo de puesta que se mantenga, pueden dar de sí varios meses. En el CABD solemos cruzarlos una vez por semana.

Las jaulas de puesta consisten en dos contenedores de policarbonato superpuestos; uno de ellos (el que contiene a los peces) dispone en el fondo de una malla metálica de tal forma que, durante la puesta, los embriones pasan al fondo del acuario (protegidos de los adultos por esta malla, pues si no se los comerían). Para reducir los comportamientos agresivos y favorecer la reproducción, solemos colocar una especie de “hierba artificial” y lo cierto es que funciona bastante bien.

EQUIPAMIENTOS PARA PEZ CEBRA

El sistema: de PANLAB

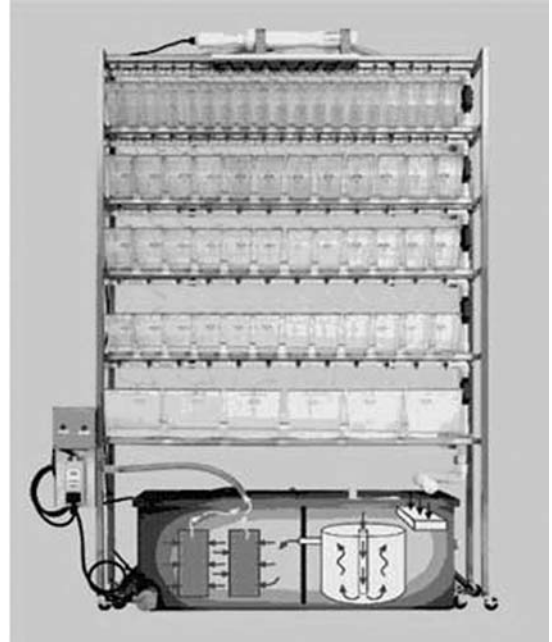
Los estudios en Genética están siendo gratamente facilitados por el uso de los Zebrafish como modelo de investigación. En los últimos 15 años, el uso de Zebrafish ha incrementado de forma exponencial. Muchos animalarios tienen hoy en día, sus propias colonias de Zebrafish. Sin embargo, la estabulación con Zebrafish es muy diferente a la de roedores, los cuales fueron utilizados en los inicios de los estudios de la Genética .

Allentown Inc., líder mundial en la estabulación de roedores, asociada a Aquaneering (ambas representadas en el mercado español de forma exclusiva por Panlab, S.L.) han unido esfuerzos, conocien-

tos y experiencia en sus respectivos campos para fabricar los más completos y más avanzados hábitats acuáticos para el alojamiento de los peces, destinados a la investigación en laboratorio.

Los sistemas de Zebrafish Allentown-Aquaneering están disponibles desde configuraciones a una cara, sistemas de mesa, hasta las más extensas instalaciones con cientos de racks funcionando de forma automática con una alta eficiencia en los sistemas de filtración. Sea cual sea la medida del rack escogido las características son las mismas: fáciles de manejo, escaso mantenimiento, y gran calidad del agua.





Esto se consigue debido a un único sistema con diferentes estadios de sistemas de filtración. El corazón del sistema es un “Biofiltro fluidificado” que tiene 10 veces más área de superficie que los sistemas existentes en el mercado. Esta gran área de superficie permite el crecimiento benéfico de 200 – 1000 tipos diferentes de bacterias, asegurando de esta manera un nivel estable en la ecología biológica dentro del sistema. La población de bacterias es más grande que la cantidad de comida disponible, y ello permite al filtro nitrificar grandes cantidades de amonio sin que provoque cambios en la calidad del agua. El flujo de agua ascendente actúa como un filtro de gravedad sin necesidad de interrumpir la circulación o sin requerimientos de mantenimiento. El resultado es que el biofiltro puede funcionar durante años, sin mantenimiento alguno. Además del filtro fluidificado, hay un tratamiento previo del agua mediante osmosis inversa, así como un filtraje de partículas grandes, limpieza de agua, y esterilización a través de luz ultravioleta. Todos los sistemas incluyen calentadores, y en las grandes instalaciones con filtros centralizados, puede incluso incorporarse dosificación automática y opciones de control de salinidad.

El sistema de estabulación para Zebrafish ha sido diseñado bajo dos criterios en su diseño de fácil manejo: poco mantenimiento y alta calidad

del agua. Los tanques individuales son autolimpiables con una base en V que conduce a los sólidos hacia la parte posterior del tanque, hacia la salida del agua, evitando la acumulación de suciedad dentro del tanque. Estos tanques están moldeados en diferentes tamaños en policarbonato o material autoclavable. Las pantallas renovables del final de los tanques, son de diferente tamaño de poro, en función del estadio que estemos estudiando, fuerzan al agua a ir hacia el final de los mismos, llevando a los sólidos a gran velocidad hacia la parte de arriba y de allí al conducto de desagüe común a todos los tanques. Todas las conducciones de la canalización del agua están diseñadas en PVC transparente para poder observar en todo momento el flujo de agua y percatarse de una posible obstrucción, conducciones fácilmente desmontables para su limpieza y mantenimiento. El suministro de agua es efectuado mediante válvulas individuales, permitiendo una gran variedad de rangos de flujo en cada una de los tanques individuales.

En resumen, estos sistemas incorporan una serie de mejoras únicas, entre las cuales destacan:

- Cada rack puede mantener cualquier combinación de tanques de 11, 21 y 91 para tener los estadios de desarrollo que al investigador le pueda interesar.

- Sistema de auto-filtración en cada uno de los tanques.
- Filtros Biológicos de gran superficie
- Eficiente diseño ergonómico.
- Proceso de filtraje en cuatro fases, incluyendo el más eficiente filtro de lecho fluidizable, cuyas singulares características de diseño proporcionan aproximadamente 5 veces ma-

yor conversión biológica de los residuos, con una muy altísima calidad del agua y valores de amoníaco y nitrito prácticamente indetectables

- Necesidades mínimas de mantenimiento
- Servicio técnico en todo el territorio nacional a través de 3 centros técnicos de Panlab, localizados en Sevilla, Madrid y Barcelona.

El sistema **ze1TEC** de BIOSIS

Es el primer sistema dotado de un mecanismo real de autolimpieza: cada pecera tiene su propio sifón para eliminar la suciedad de un modo activo.

El sistema garantiza que las mejores condiciones microambientales se mantengan de forma constante.

Todos los sistemas ZebTEC pueden alojar distintos modelos de peceras en cualquier posición del rack. Además el flujo puede ser regulado independientemente en cada pecera.

El ZebTEC está equipado con doble válvula de regulación y de un sistema de visualización que permite el control de la existencia de flujo individualmente en cada pecera.



DIETA

DIETA IRRADIADA PARA PECES CEBRA ADULTOS

Fotos: Harlan



DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO:

Cebra adulto de Harlan Tekland es una dieta nutricionalmente completa para ser usada en Pez Cebra como animal de experimentación. Está especialmente formulada para promover un buen estado de salud así como un desarrollo adecuado de los diferentes tejidos, y se ha demostrado que incrementa la fecundidad. La dieta utiliza ingredientes de fácil digestión minimiza la producción de residuos i ayuda a mantener una buena calidad del agua

DESCRIPCIÓN COMPOSICIÓN:

No presenta proteína de soja ni de alfalfa, minimizando la presencia de fitoestrógenos

Incluye pigmentos carotenoides que estimulan el dicromatismo sexual

Contiene estabilizantes de la vitamina C que promueve el desarrollo de los tejidos

Envase irradiado

PAUTA DE ADMINISTRACIÓN DE LA DIETA:

Alimentar dos o tres veces al día. La dieta debe consumirse en 5 minutos. No se recomienda suplementar la dieta con ningún otro componente

COMPOSICIÓN:

Proteína :	Mínimo	53,0%
Grasa :	Mínimo	14,0%
Fibra :	Máximo	1,0%
Humedad:	Máximo	12,0%

INGREDIENTES BÁSICOS:

Carne de pescado, gluten de harina de trigo, aceite de pescado, líquidos solubles de pescado, propionato cálcico, levadoras y vitaminas

CADUCIDAD Y ALMACENAJE:

A partir de la fecha de fabricación el producto se debe consumir en un año, pero de debe si el envase ha sido abierto de debe consumir en tres meses

PRESENTACIÓN:

Envases de 800 gramos que se pueden adquirir individualmente o en cajas de 12 (con la posibilidad de descuentos en el precio)

IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO:

Teklad 1912

EMBALAJE:

Pellets de 0,60 a 0,84 mm



This product has been treated with radiation.



EMPRESA SERVICIOS ZEBRA FISH

Artículo y fotos: **ZF BIOLABS**

PRIMERA EMPRESA ESPAÑOLA QUE TRABAJA CON EL MODELO DEL PEZ CEBRA PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y TOXICOLÓGICA

ZF Biolabs (www.zfbiolabs.com) es la primera empresa en España especializada en el estudio del Pez cebra (*Danio rerio*) como modelo animal para la investigación biomédica y toxicológica. ZF Biolabs nace a finales de 2003 con el objetivo de posicionarse en España como empresa de servicios de alto valor añadido para la investigación biomédica y toxicológica enfocados fundamentalmente a la industria farmacéutica química y cosmética. La empresa dispone de unos laboratorios propios en Tres Cantos (Madrid) y tiene actualmente una plantilla de 8 personas: tres doctores, tres titulados superiores y dos técnicos de laboratorio.

El pez cebrá (*Danio rerio*) se introdujo inicialmente en el mundo de la investigación como modelo del desarrollo de vertebrados. No obstante, sus importantes ventajas (reducido tamaño, grandes puestas de huevos no estacionales, transparencia del embrión y su rápido desarrollo) contribuyeron a incrementar rápidamente sus aplicaciones. Estas aplicaciones se han beneficiado así mismo del desarrollo de numerosas herramientas (anticuerpos específicos, atlas de desarrollo, microarrays, cepas mutantes y transgénicas, etc.) que a la vez facilitan su uso

y promueven un mayor auge del modelo (Nüsslein-Volhard & Dahm, 2002). El genoma, proteoma y la fisiología del pez cebrá están siendo estudiados intensivamente y se espera que su genoma esté completamente secuenciado próximamente¹. Hoy en día el pez cebrá es considerado por el Instituto Nacional de Salud de EEUU (NIH) como el tercer animal más importante en investigación, por detrás de los roedores y *Drosophila*. Hasta la fecha hay ya más de 8.000 publicaciones² donde se cita al pez cebrá como organismo modelo y este número crece exponencialmente.

ZF Biolabs realiza actividades propias de investigación así como por encargo de otras empresas. En estos momentos la empresa participa en un proyecto europeo de I+D denominado *Nuclear Envelope-linked Rare Human Diseases: from Molecular Pathophysiology towards Clinical Applications*. El proyecto se llevará a cabo por un consorcio formado por 11 partners, con una duración de tres años (2006-2008). También colaboramos en estos momentos con la Universidad de Salamanca, en el proyecto PETRI (Plan Nacional I+D): "Desarrollo de un nuevo modelo experimental de enfer-

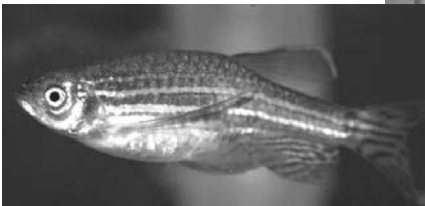


Figura 1. Pez cebrá adulto



Figura 2. Instalaciones para la cría de pez cebrá en ZF Biolabs

¹http://www.sanger.ac.uk/Projects/D_rerio/; http://www.ensembl.org/Danio_rerio

²<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Pubmed/>, Diciembre 2006.

EL PEZ CEBRA COMO MODELO EXPERIMENTAL

¿QUÉ ES UN MODELO ANIMAL Y PARA QUÉ SIRVE?
Un modelo animal sirve básicamente para estudiar las enfermedades humanas y su tratamiento.

¿QUÉ ES EL PEZ CEBRA?
El pez cebra es un teleosteo (pez óseo) de 3-4 cm, de longitud que habita en aguas dulces y tropicales y presenta un patrón de bandas que le da nombre.

¿CUALES SON LAS APLICACIONES DEL PEZ CEBRA?
Se utiliza para estudiar:
 • La genética del desarrollo del embrión y de los distintos órganos.
 • La fisiología y la homeostasis de los vertebrados.
 • El comportamiento.
 • Sirve como modelo animal para enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas, hematológicas, distrofia muscular, diabetes y estudios de la genética del cáncer.
 • Ensayos de toxicidad y teratogénia.

¿POR QUÉ UTILIZAMOS EL PEZ CEBRA COMO MODELO ANIMAL?
 En embriología, genética y patología se parecen mucho al humano.
 Comparte cerca del 80% del genoma con el de los humanos.
 Tiene un ciclo reproductor corto y un elevado número de descendientes.
 Los embriones son transparentes, permitiendo la visualización y seguimiento de la formación de sus órganos internos y los cambios fisiológicos y patológicos durante el desarrollo embrionario.
 Su desarrollo embrionario es muy rápido (72 a 28°C) lo que facilita y reduce el coste de los estudios de toxicidad embrionaria.
 Es el preferido desde el punto de vista ético, en relación con otros vertebrados, como animal de laboratorio.
 Los costes de mantenimiento y de reproducción son reducidos.

Timeline of development stages:
 12 min., 1 h y 15 min., 2 h y 45 min., 5 h y 36 min., 10 h., 11 h., 16 h., 19 h 30 min., 31 h., 72 h.

Desarrollo temprano de un pez cebra en un día. 72 horas de vida a 24°C (a partir de Kannan et al., 1995).

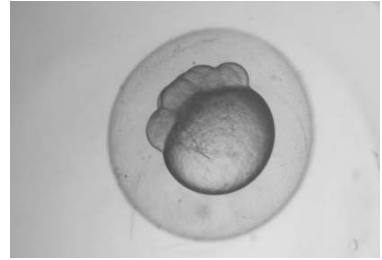


Figura 3. Embrión de pez cebra de 8 células (1, 25 horas tras la fertilización)

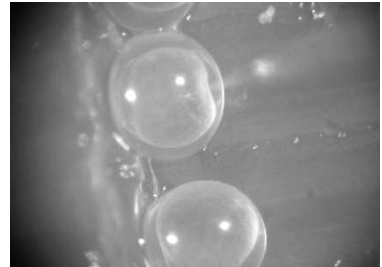


Figura 4. Microinyección de embriones de pez cebra

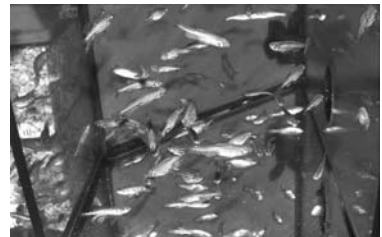


Figura 5. Peces cebra en las instalaciones de ZF Biolabs

medades neurodegenerativas en el pez cebra basado en la enzima Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH)”.

La empresa ofrece también un servicio especializado para la puesta en marcha de instalaciones de cría y mantenimiento de pez cebra a universidades y centros públicos de investigación, aportando toda su experiencia propia en el uso y manejo de estas instalaciones. Hasta la fecha, la empresa ha colaborado con la Universidad de Salamanca y la Universidad de Cantabria. También suministramos embriones de pez cebra vivos o fijados en un determinado estadio de crecimiento (*Horas Post Fertilización*) a grupos de investigación para sus proyectos de investigación.

AREAS DE ACTIVIDAD DE ZF BIOLABS.

1. TECNOLOGÍAS PARA LA CRÍA Y MANTENIMIENTO DEL PEZ CEBRA

El primer aspecto con el que ZF Biolabs inició su actividad de I+D fue el desarrollo de procedimientos para la cría y el mantenimiento de los peces cebra, así como de sus estadios embrionario, larvario y juvenil. De este modo, se estudiaron los parámetros críticos del agua para mantener una calidad óptima para el crecimiento y la reproducción, estableciéndose un protocolo de tratamiento, monitorización y mantenimiento de los stocks.

Dentro de esta línea de actuación destaca también el desarrollo de sistemas de cultivo no estresantes, que permiten un fácil manejo de los individuos (imprescindible cuando se realiza inducción de puesta) con un bajo mantenimiento y en óptimas condiciones.

Otro hito importante en el desarrollo de tecnología asociada a la biología del Pez cebra fue la obtención de una alimentación exclusivamente inerte, que cubre todo su ciclo de vida, junto con un protocolo de dosificación que tiene en cuenta factores como la biomasa o cambios en los requerimientos energéticos de los peces, como sucede, por ejemplo, cuando son destinados a la obtención de puestas.


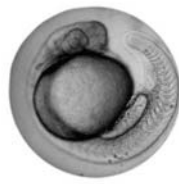
2. TECNOLOGÍAS PARA LA PRODUCCIÓN DE EMBRIONES

Sin duda uno de los desarrollos más relevantes realizados por ZF Biolabs es la obtención de embriones por inducción de la oogenénesis y la espermiación y la posterior fertilización *in vitro*. Este novedoso sistema permite la obtención de embriones de pez cebra de manera controlada y planificada, con unos estándares de calidad muy altos, lo que posibilita entre otras cosas la planificación de la actividad investigadora del laboratorio, la obtención de muestras con desarrollo sincrónico, una mayor éxito en programas de microinyección, posibilidad de venta de embriones a terceros en una estadio de desarrollo (hpf: horas post fertilización) concreto, muy útil para investigaciones de biología y genética del desarrollo.

3. NUEVOS ENSAYOS DE TOXICIDAD CON EMBRIONES DE PEZ CEBRA.

El embrión de pez cebra es un excelente modelo animal para estudiar y evaluar la toxicidad de compuestos, tanto para el ámbito del desarrollo de nuevos fármacos como para evaluación de compuestos químicos, cosméticos o ensayos de ecotoxicidad. Al ser la base y la razón de ser de la empresa, esta área es a la que se está dedicando más recursos en estos últimos meses.

En estos momentos la empresa ha puesto a punto un ensayo de toxicidad embrionaria con el pez cebra (DTZ) que está ya en fase de validación y que estamos ya ofertando como servicio para detectar teratogenia a empresas farmacéuticas. Se trata de un ensayo que permite anticipar datos de teratoge-

Catálogo de Servicios

- Ensayo de teratogenia, DTZ.
- Ensayo rápido de toxicidad aguda, FTZ.
- Estudios de genómica funcional mediante knock-down de genes de interés.
- Ensayos de toxicidad órgano específica.
- Suministro de embriones y larvas para investigación.
- Proyectos de I+D para drug discovery, toxicología, etc., bajo demanda.

Tecnologías Propias

- Sistemas e medida para el mantenimiento y reproducción del pez cebra.
- Alimentación inerte específica para larvas y adultos.
- Tecnología de puesta inducida.

Contactar

Ronda de Valcarlos 121-B,
28100 San Carlos de Barçelona,
Tel: 91 104 90 20
Fax: 91 104 91 00
Web: www.zfbiolabs.com
Contacto:
Erika Soto (Dra. Desarrollo de Negocio)
E-mail: esoto@zfbiolabs.com

nia y que puede ser de utilidad en los procesos de desarrollo de nuevos fármacos.

Los resultados han sido presentados en congresos internacionales como el Congreso Invitox 2006 (14th. *International workshop on in vitro toxicology* celebrado en Ostende, Bélgica en octubre de 2006 y donde ZF Biolabs participó con el poster: “Zebrafish Embryo-Based Developmental Toxicity Test (DTZ).

Otros ensayos de toxicidad en los que la empresa está trabajando son:

- **Ensayo de Toxicidad aguda rápida**, para poder tener datos en menos de 1.5 hrs. desde el comienzo de la exposición al compuesto.
- **Ensayo de Hepatotoxicidad**: permite detectar malformaciones y disfunciones en el hígado debidas a la actividad de un determinado compuesto.
- **Ensayo de Cardiotoxicidad**, para detectar compuestos que afecten al corazón y sistema circulatorio.
- **Ensayo de Neurotoxicidad**, que permite detectar la toxicidad en el Sistema Nervioso Central y Periférico de un compuesto

4. BIOLÓGIA MOLECULAR.

Una de las importantes ventajas que ofrece el pez cebra como modelo animal es la posibilidad de aplicar nuevas técnicas de genómica funcional para el estudio de genes y proteínas. ZF Biolabs ha

puesto a punto la técnica para la microinyección de morfolinos en embriones de pez cebra que permite de forma rápida y sencilla el silenciamiento temporal de genes (Generación de *Knock-downs*). Esta técnica se está utilizando para el estudio de enfermedades de base genética y para la búsqueda de compuestos activos que puedan paliar los efectos asociados al bloqueo de determinados genes.

Está también previsto utilizar la tecnología disponible de transgénesis para generar Peces Cebra con marcadores fluorescentes tejido-específicos que faciliten la observación de los fenotipos, contribuyendo así a reducir el coste de los ensayos.

5. MODELOS TRANSGÉNICOS

El desarrollo de modelos transgénicos de pez cebra que puedan ser de utilidad para el descubrimiento de nuevos fármacos es una de las actuaciones que ZF Biolabs se plantea a largo plazo. Teniendo en cuenta que se trata de investigaciones largas, con una alta incertidumbre y coste, ZF Biolabs ha optado por establecer colaboraciones con distintas instituciones públicas de investigación con el objeto de desarrollar conjuntamente y explotar la utilización de nuevos modelos de enfermedades y dianas terapéuticas basados en la generación de Peces Cebra transgénicos.

En estos momentos, la empresa participa en un proyecto PETRI con la Dra. Raquel Rodríguez, del Departamento de Bioquímica de la Universidad de Salamanca para el desarrollo de un Pez cebra transgénico para la enzima FAAH. Distintas evidencias indican que este enzima podría estar implicado en diferentes procesos como la apoptosis celular, la fertilidad, el control de la ansiedad y del apetito o la neuroprotección.

Algunas referencias interesantes sobre el uso del pez cebra como modelo animal

REFERENCIAS

- Alestrom P (2004) Zebrafish model – from biomedicine to aquaculture. Keynote Lecture at European Aquaculture Society, Special Publication 34, 10–17
- Epstein F.H. & Epstein J.A: (2005): A perspective of the value of aquatic Models in Biomedical research. *Exp. Biol. Med* 230:1-7.

- Goldsmith P. (2004). Zebrafish as a pharmacological tool: the how, why and when. *Curr Opin Pharmacol.* 4(5): 504-12.
- Hill AJ, Teraoka H, Heideman W, Peterson RE. (2005). Zebrafish as a Model Vertebrate for Investigating Chemical Toxicity. *Toxicol. Sci.* 86(1): 6-19.
- Kane AS, Gonzalez JF, Reimschuessel R (1996) Fish and amphibian models used in laboratory research. *Lab Animal* 25, 33–8
- Linney E, Upchurch L, Donerly S, Xhao Q, Lassiter C, Levin E. (2004). Transgenesis, microarray analysis and antisense knockdowns of zebrafish genes-tools for using zebrafish as a toxicological model. *Toxicologist* 78 (1-S): 255.
- Maldonado E. (2003): Experimentación en el pez-cebra, un modelo de Biología del desarrollo. Flores Herrera O, Riveros Rosas H, Sosa Peinado A, Vázquez Contreras E (eds). Mensaje Bioquímico, Vol XXVII. Depto Bioquímica, Fac Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Cd Universitaria, México, DF, MÉXICO. (2003). (<http://bq.unam.mx/mensajebioquimico>)
- Matthews M, Trevarrow B, Matthews J (2002) A Virtual Tour of the *Guide* for Zebrafish Care and Users. *Lab Animal.* 31(3):34-40
- Ostrander GK (2000) *The Laboratory Fish.* Baltimore: Academic Press
- Parnig C. (2005). In vivo zebrafish assays for toxicity testing. *Curr Opin Drug Discov Devel.* 8 (1): 100-6.
- Rubenstein A. L. (2006): Zebrafish assays for drug toxicity screening. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol* 2(2): 231-40.
- Zhang C, Fremgen T, Willett C. (2003). Zebrafish: An animal model for toxicological studies. In: *Current Protocols in Toxicology.* John W Wiley & Sons, New York, NY, USA 2003. (Suppl 17): 1-18.
- Zon LI, Peterson RT. (2005). *In vivo* drug discovery in the zebrafish. *Nat Rev Drug Discov.* 4 (1): 35-44.
- The Zebrafish Information Network ZFIN. <http://zfin.org>

(ver apartado 3 en el numero 34 de la revista Animales de laboratorio)

4

INDICE *de Revistas* CIENTÍFICAS

Sección elaborada por Jordi Cantó



STAL, VOLUME XXXI, 3E - 4E TRIMESTRE 2006

Modèle murin d'hémorragie intracérébrale induite par l'injection sous-corticale de collagénase

- 4e Symposium ComTech
- Prélèvement de lait chez la rate en toxicologie réglementaire
- Groupe Francophone de Réflexions sur la Télémétrie : 4e Colloque
- Enregistrements télémétriques de longue durée et méthodes de traitement du signal adaptées : application à l'enregistrement de l'activité contractile de l'utérus
- Pression artérielle chez la souris avec un nouveau transmetteur miniaturisé
- Méthode de prélèvement de sang chez le cobaye vigile lors d'études pharmacocinétiques

LAB ANIMAL EUROPE, VOLUME 7, NO. 3, MARCH 2007

- Editorial
 - Innovation in rodent housing over the years
- European focus
 - NC3Rs releases annual report
- Website of the month
 - <http://www.scirus.com/srsapp/search?>

• Newsfronts

- Spleen transplant holds promise as disease cure
- Blocking BRCA1 breast cancer
- Ethanol alleviates arthritis in mice
- Cancer drugs stops cycle of PKD

• Product focus

- How to isolate a rodent: biocontainment caging options

• What's your diagnosis?

- Abdominal distension and peritoneal effusion in a females Swiss albino mouse

• Research note

- Attempting to reduce regurgitation and reingestion in a captive chimpanzee through increased feeding opportunities: a case study

• Clinical Techniques

- Endotracheal intubation in the dog

• Technique

- A simple and inexpensive device for collecting urine samples from rats

• Protocol Review

- New CEO, new IACUC?

• Careers and recruitment

- Managerial ascent

**LAB ANIMAL EUROPE, VOLUME 7, NO. 2,
FEBRUARY 2007**

- **Editorial**
 - Laboratory animal allergens: the manufacturer's per manufacturer
- **European focus**
 - Animal rights political parties growing in Europe: "Party of the Animals" pivotal in Dutch parliament
 - EU passes REACH
- **Website of the month**
 - <http://www.awic.nal.usda.gov/>
- **Newsfronts**
 - "Hot" new treatment for HIV
 - A new standard for rabies vaccines?
 - Light at the end of the retina
 - Into the wild: IACUCS and fields studies
- **Correspondence**
 - A closer look: secondary glaucoma more likely
- **What's your diagnosis?**
 - Severe runting in a laboratory mouse (*Mus musculus*)
- **Research note**
 - Physiological profile of juvenile rats: effects of cage size and cage density
- **Regulation Watch**
 - Animal Enterprise Terrorism Act becomes law
- **Clinical Techniques**
 - Temporary tarsorrhaphy in the rat
- **Protocol Review**
 - The importance of being in charge
- **Careers and recruitment**
 - Making a good impression – on the phone

- 9. Plant
- 10. Services
- 11. Miscellaneous
- 12. Index
- 13. Resources

**LAB ANIMAL EUROPE, VOLUME 7, NO. 1,
JANUARY 2007
Buyer's Guide 2007**

- 14. Animals
- Housing
- 16. Food and Water
- 17. Husbandry
- 18. Veterinary Medical Care
- 19. Research
- 20. Surgery
- 21. Other Animal care Equipment
- 22. Plant
- 23. Services
- 24. Miscellaneous
- 25. Index
- 26. Resources

**LAB ANIMAL EUROPE, VOLUME 7, NO. 1,
JANUARY 2007
Buyer's Guide 2007**

- 1. Animals
- 2. Housing
- 3. Food and Water
- 4. Husbandry
- 5. Veterinary Medical Care
- 6. Research
- 7. Surgery
- 8. Other Animal care Equipment



4 ENTREVISTAS

PERFILES RELACIONADOS CON LA CIENCIA
DEL ANIMAL DE LABORATORIO

La revista de la SECAL presenta a : Eduardo Díaz García, encargado del acuario para danios cebra del Centro Nacional de Biotecnología y a Alejandro Barrallo Gimeno, investigador en el “Ramón y Cajal”

EDUARDO DÍAZ GARCÍA

Lugar de Trabajo:

Centro Nacional de Biotecnología

Breve descripción del cargo que ocupa:

Encargado del acuario para danios cebra.

Años Experiencia:

5

Sociedades en las que participa:

ninguna

Participación dentro de SECAL:

No.

¿Cómo se inició en el campo de la ciencia del animal de laboratorio?

Comencé trabajando en el Salk Institute como encargado del acuario del centro.

Resumen de su actividad profesional

Octubre 2000 – octubre 2002: encargado del acuario del Salk Institute

Septiembre 2004 – actualidad: encargado del acuario del Centro Nacional de Biotecnología

¿Cuáles son los temas que más le interesan relacionados con la ciencia del animal de laboratorio?

Dado que no trabajo con una especie doméstica, sino con una especie salvaje mantenida en cautividad, me interesan los estudios llevados a cabo en el medio natural de estos peces para así poder extrapolarlos y aplicarlos a la vida en cautividad.

Me interesa todo lo relacionado con la nutrición de los peces dulciacuícolas, el tratamiento de enfermedades y el enriquecimiento ambiental.

¿Cuáles son sus objetivos para los próximos años?

Experimentar con distintas dietas y densidades de peces en los acuarios.

Encontrar ideas que sirvan como enriquecimiento ambiental.

¿Que consejos daría a los que ahora se inician?

Que no tengan miedo a experimentar tratando de encontrar mejores condiciones de vida para sus animales.

Que lean todos los artículos que encuentren sobre el mantenimiento de la especie que cuiden.

Que aprendan desde el principio a pararles los pies a los investigadores que traten de abusar de ellos.

¿Qué opinión le merece la oferta de formación presente en España?

Lo ignoro

