



Doctoral Thesis

Zebrafish as a genetic model system for human retinal disorders

Author(s):

Bahadori, Ronja

Publication Date:

2005

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005082845> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH No. 16293

Zebrafish as a genetic model system for human retinal disorders

A dissertation submitted to the
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

For the degree of
Doctor of Sciences

Presented by
Ronja Bahadori
Dipl. Biochem. Freie Universität Berlin

Born May 4, 1976
Citizen of Germany and Iran

accepted on the recommendation of
Prof. Martin Schwab, Referent
Prof. Lukas Sommer, Korreferent
Prof. Stephan Neuhauss, Korreferent

2005

Summary

In my thesis I used the zebrafish as a genetic animal model system to gain a better insight into human retinal disorders. The zebrafish retina shows similarities to the human retina on the morphological level and in the way it processes neuronal information. This makes the zebrafish a model system well suited to studying inherited human retinal disorders.

To date a large number of visually impaired zebrafish mutants have been identified. As with many human retinal disorders, in some of these mutants heritable blindness is part of a syndrome. In the zebrafish mutants *elipsa (eli)* and *oval (ovl)* retinal dystrophy occurs in conjunction with kidney cysts. Applying behavioral, electrophysiological, and histological criteria, we have shown that the visual defects in these mutants are located in the outer retina. At earlier stages photoreceptors display cell-type specific immunoreactivity. However, they degenerate progressively during development prior to apoptotic cell death, indicating a dystrophic defect. *eli* and *ovl* serve as an accessible animal model of human retinal dystrophies in combination with oculo-renal diseases.

The zebrafish mutant *fade out (fad)* is another example of syndromic visual disorder. The mutant was identified due to hypopigmentation of the retinal pigmented epithelium (RPE) and body melanocytes. We have shown that the defect in the RPE is accompanied by a progressive loss of vision. During development the melanosomes in the RPE become hypopigmented and dramatic cellular changes occur. This combination of defects leads to a strong reduction or absence of the photoreceptor outer segments in the *fad* mutant. Photoreceptor cells undergo apoptosis. Apart from defects in melanogenic cells, we also found significant prolonged bleeding time. This triad of defects is characteristic for Hermansky-Pudlak syndrome (HPS). Hence, the *fad* mutant is a novel genetic model of HPS and it is the first lower vertebrate model for this disorder.

Congenital stationary night blindness (CSNB1) belongs to a group of clinical heterogeneous, non-progressive retinal disorders. CSNB1 is thought to be caused by defective synaptic transmission from photoreceptors to ON-bipolar cells. Previous studies have shown that mutations of nyctalopin on chromosome X (NYX) in humans are associated with CSNB1. The nyctalopin gene encodes a novel protein which belongs to the small leucine-rich repeat proteoglycan (SLRP) family. The function of nyctalopin has so far only been investigated in

rod dominated animal models such as the mouse. To investigate the effect of nyctalopin on the cone system we used zebrafish as an animal model, since the zebrafish retina is cone dominated at larval stages. We isolated the zebrafish *nyx* orthologue and raised a polyclonal antibody against the protein. The protein Nyx is postsynaptically located in both synaptic layers (outer and inner plexiform layer) of the retina. We were able to show that functional disruption by targeted gene knock-down leads to a defect in synaptic transmission of the ON-pathway. By means of visual performance assays an impairment in visual contrast sensitivity was also observed. In this study we demonstrated for the first time that nyctalopin plays a role in the cone pathway that is similar to its role in the rod pathway. Our system offers the opportunity to create a genetic model for CSNB1 and to study the role of *nyx* in cone vision.

Zusammenfassung

In Rahmen dieser Arbeit wurde der Zebrafisch als genetisches Modellsystem ausgewählt, um menschliche Augenerkrankungen zu studieren. Die Zebrafischretina ist sowohl auf morphologischer Ebene, als auch in der Informationsübertragung der menschlichen Retina sehr ähnlich. Das macht den Zebrafisch zu einem geeigneten Modellorganismus, um erbliche Augenerkrankungen des Menschen besser untersuchen zu können.

In den letzten 10 Jahren wurden viele Zebrafischmutanten mit Defekten im visuellen System identifiziert. Wie auch bei menschlichen Augenerkrankungen, ist die erbliche Blindheit in einigen dieser Mutanten Teil eines Syndroms. In den beiden Zebrafischmutanten *elipsa (eli)* und *oval (ovl)* ist die retinale Degeneration mit Nierenzysten verbunden. In unserer Studie konnten wir zeigen, dass der Defekt in der Retina der Mutanten hauptsächlich in der äußeren Retina lokalisiert ist. In den ersten Tagen der Entwicklung können differenzierte Photorezeptoren in den Mutanten nachgewiesen werden. Mit fortschreitender Entwicklung degenerieren die Photorezeptoren jedoch. Diese Beobachtung ist ein deutlicher Hinweis für einen dystrophischen Defekt in der Retina der Zebrafischmutanten. Die beiden Mutanten *eli* und *ovl* stellen somit ein Tiermodell für eine genetische Erkrankung dar. Die Erkrankung weist sowohl retinale Dystrophie als auch Nierendefekte auf.

Die Zebrafischmutante *fade out (fad)* ist ein weiteres Beispiel für eine syndromische Erkrankung. Ursprünglich wurde diese Mutante aufgrund ihrer Hypopigmentierung der Pigmentzellen im Körper und Auge identifiziert. Wir konnten zeigen, dass die Hypopigmentierung des retinalen Pigmentepithels (RPE) zu Sehdefekten führt. Die RPE Melanosomen verlieren während der Entwicklung ihre Pigmentierung und zelluläre Veränderungen wie Verkürzung der Aussensegmente der Photorezeptoren werden deutlich. Die Photorezeptoren sterben anschließend mittels programmiertem Zelltod. Außer den Defekten in melanogenen Zellen konnten wir eine signifikant erhöhte Blutungsneigung feststellen. Diese Triade an Defekten ist charakteristisch für das Hermansky-Pudlak Syndrom (HPS). Unsere Ergebnisse zeigen, dass die *fad* Mutante das erste niedrige Vertebratenmodell für diese Erkrankung ist.

Kongenitale stationäre Nachtblindheit (CSNB1) ist ein Beispiel für eine nicht progressive retinale Erkrankung. Es wird vermutet, dass die Ursache dieser genetischen Erkrankung in der

fehlerhaften synaptischen Übertragung von den Photorezeptoren zu den Bipolarzellen liegt. Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass Mutationen im *NYX* Gen (Nyctalopin on chromosome X) für die Symptome in CSNB1 Patienten verantwortlich sind. Das Nyctalopin-Gen kodiert ein unbekanntes Leucin-reiches Protein. Dieses Protein gehört zu der Familie der small leucine rich proteoglycans (SLRP). In früheren Untersuchungen wurde die Funktion dieses Proteins nur in einem stäbchendominierten Tiermodell (Maus) untersucht. Um die Rolle des Proteins in den Zapfen genauer zu untersuchen haben wir den Zebrafisch als Modellsystem gewählt. Der Zebrafisch hat den Vorteil, dass er im Larvenstadium eine zapfendominierte Retina besitzt. In unseren Untersuchungen konnten wir das Protein durch Benutzung eines Zebrafisch-spezifischen polyklonalen Antikörpers in beiden synaptischen Zellschichten lokalisieren. Das *nyx* Gen wurde mit Hilfe von Morpholino antisense-Nukleotiden gezielt ausgeschaltet. Dabei wurde ein Defekt in Elektroretinogrammmessungen und Verhaltensexperimenten nachgewiesen. In diesen Untersuchungen war hauptsächlich die ON-Antwort der Zapfen betroffen. Wir konnten zeigen, dass Nyctalopin eine vergleichbare Rolle innerhalb des Signalwegs in Zapfen als auch in Stäbchen spielt. Mit unserem System gelang es uns, ein Tiermodell für CSNB1 zu etablieren und die Rolle von Nyx in Zapfen genauer zu studieren.