

## Samenvatting

---

Dierlijke celcultures worden breed en intensief toegepast als modelsysteem in biologisch onderzoek. Door het onderzoeken van specifieke celcultures zijn veel moleculaire mechanismen opgehelderd die betrokken zijn in cellulaire processen zoals celgroei, celdeling, celadhesie, celmigratie, celdood en metabolisme. De kennis die is vergaard met deze onderzoeken heeft een grote impact op zowel biologisch als op medisch vlak.

De zebraavis, *Danio rerio*, is een model organisme dat steeds vaker wordt gebuikt voor het uitvoeren van onderzoek naar medisch-biologische processen, zoals het ontstaan van ontstekingen, infecties en kanker. Het gebruik van de zebraavis als model organisme, en met name de eigenschap dat de zebraavis embryo's transparant zijn, in combinatie met het gebruik van fluorescente zebraavis celcultures, biedt nieuwe mogelijkheden om ziekteprocessen te volgen op een moleculair en cellulair niveau (Hoofdstuk 1). Het onderzoek dat in dit proefschrift wordt beschreven concentreert zich op de optimalisatie en de toepassing van zebraavis celcultures als modelsysteem voor studies naar ontsteking- en oncologische processen.

Met dit als doel zijn de groei-eigenschappen gekarakteriseerd van verschillende zebraavis cellijnen, waaronder twee embryonale cellijnen (Hoofdstuk 2 en 3) en een lever epitheel cellijn (Hoofdstuk 3 en 4). De mogelijke toepasbaarheid van deze cellijnen als *in vitro* modelsysteem voor verschillende biologische processen is onderzocht door gebruik te maken van gentranscriptie analyse. Uit deze analyse blijkt dat de verschillende cellijnen zeer geschikt zijn voor een systematische analyse van verschillende signaal transductie processen. Dit wordt versterkt door het feit dat de verkregen resultaten zijn gevalideerd door ze te vergelijken met de *in vivo* situatie, door ze te vergelijken met specifieke weefsel monsters van zebravissen (Hoofdstuk 2 en 4).

Als voorbeeld is een belangrijke signaal transductie route in immuun- en ontstekingsreacties, de 'Toll-like receptor' signaal transductie route, bestudeerd in drie verschillende zebraavis cellijnen (Hoofdstuk 3). De resultaten laten zien dat deze cellijnen ten eerste geschikt zijn voor de analyse van specifieke signaal processen die betrokken zijn bij herkenningssystemen van ontstekingen en pathogenen in cellen die normaliter geen antigenen presenteren aan de celoppervlakten.

Vanwege de sterke associatie van oncologische processen met het ontstaan van ontstekingsreacties is getracht een *in vitro* kanker model te ontwikkelen die gebruik maakt van de zebraavis cellijnen. In Hoofdstuk 4 en 5 wordt voor de eerste keer gerapporteerd over het genereren en gebruiken van een induceerbare carcinogene zebraavis cellijn. Hiervoor is gebruik van een gemuteerde induceerbare carcinogene versie van menselijk Raf-1 ( $\Delta$ Raf1) die stabiel tot overexpressie wordt gebracht.

Activatie van de induceerbare  $\Delta$ Raf1 in de zebraavis levercellen leidt tot hyperactivatie van de MAPK signaal transductie route en leidt tot mitogene transformatie van de cellen. De verdere effecten en moleculaire veranderingen in

deze cellijn zijn met behulp van gentranscriptie- en eiwit fosforylatie- analyse in kaart gebracht. In Hoofdstuk 4 worden de verkregen gentranscriptie-profielen van de geïnduceerde  $\Delta$ Raf1 zebrafish levercellen vergeleken met de gentranscriptie-profielen van oncologische levers monsters van de mens en de zebravis. Uit deze vergelijkende analyse komt een specifieke overeenkomst naar voren in de regulatie van genen die betrokken zijn bij leverkanker.

Het effect van de geïnduceerde  $\Delta$ Raf1 hyperactivatie op eiwit fosforylatie in de gekweekte zebravis levercellen wordt gerapporteerd in Hoofdstuk 5. Uit deze studie blijkt dat de geïnduceerde oncologische veranderingen in de zebravis cellijnen op verschillende moleculaire niveaus bestudeerd kunnen worden.

In hoofdstuk 6 worden de meest belangrijke resultaten en een aantal pionierstudies met het gebruik van de zebravis cellijnen beschreven, waarnaast een aantal mogelijke toekomstige toepassingen voor zebravis cellijnen worden gesuggereerd om nieuwe inzichten te verkrijgen in de moleculaire mechanismen die betrokken zijn bij het ontstaan van kanker en ontstekingsreacties.