

Vyplňujte jen bílé kolonky!

Formulář vyplňujte na počítači; kolonky se zvětší automaticky podle množství textu.

| NETECHNICKÉ SHRNU TÍ PROJEKTU POKUSŮ 2. 4 / 2018 | |
|---|--|
| Název projektu pokusů | |
| Regulace rovnováhy mezi diferenciací a pluripotencí; charakterizace funkce p38-MAPK ve vnitřní buněčné hmotě myši blastocysty na molekulární úrovni. | |
| Doba trvání projektu pokusů | aa |
| Klíčová slova - maximálně 5 | myši preimplantační embryo, blastocysta, pluripotence, primitivní endoderm, aktivace mitogenem |
| Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka | |
| <input checked="" type="checkbox"/> | základní výzkum |
| <input type="checkbox"/> | translační nebo aplikovaný výzkum |
| <input type="checkbox"/> | vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků |
| <input type="checkbox"/> | ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat |
| <input type="checkbox"/> | zachování druhů |
| <input type="checkbox"/> | vyšší vzdělávání nebo odborná příprava |
| <input type="checkbox"/> | trestní řízení a jiné soudní řízení |
| Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby) | |
| Popis úlohy p38 mitogenem aktivovaných kináz (p38-MAPK) při regulaci buněčného vývoje v myších blastocystách (ICM) v průběhu preimplantační fáze. Identifikace paralogů p38 vyžadovaných pro diferenciaci primitivních endodermů (PrE) a jejich mechanismy aktivace s použitím proteomických a transcriptomických screeningů pro identifikaci a charakterizaci efektorových molekul p38. Výsledky jsou využitelné pro klinické a asistované reprodukční technologie (ART) u lidí. | |
| Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít) | |
| Tento projekt má potenciál pro další porozumění mechanismu, jak může populace v podstatě pluripotentních buněk (se schopností dát vznik buňkám potomků, které mohou vytvořit všechny vrstvy zárodečných tkání), diferenciovat a samovolně obnovit pluripotentní subpopulaci buněk v rámci relevantního kontextu <i>in vivo</i> . Pochopení toho, co reguluje jemnou rovnováhu mezi těmito dvěma stavy, má důsledky pro klinickou léčbu, při níž se navrhuje přizpůsobení pluripotentních kmenových buněk (např. Buněčné linie ES nebo iPS) jako léčba onemocnění / poruch a poranění zahrnující náhradu ztracených a vysoce diferencovaných buněčných typů. Jelikož projekt zahrnuje zjišťování klíčové volby buněčných osudů vyžadovaných předimplantačním embryem, aby pokračovaly v jeho vývoji (mezi epiblasty a primitivní endodermovou linií ve vnitřní buněčné hmotě) a že to nastane během fáze vývoje, která je napodobována v lidském embryu během procesu asistované reprodukce (např. oplodnění <i>in vitro</i> a přenos blastostem v děloze), projekt má potenciál zlepšit léčbu neplodnosti. | |
| Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá | |
| Myš laborovní (<i>Mus musculus</i>) je standardně zaveden jako model savčí embryogeneze, včetně lidské embryogeneze, kde je tento výzkum eticky komplikovaný. Zdrojem myších embryí v této studii budou samice generace F1, odvozené od kříženců inbredních laboratorních kmenů C57B16 (samice) a CBA/W (samci). Tyto samice budou kříženy s F1 samci odvozenými od stejného křížení, protože takovým křížením vzniknou robustní embrya vhodná pro mikromanipulaci. V některých případech budou samice F1 kříženy s podobně odvozenými samci F1 nesoucími buď modifikované transgeny fluorescence histonu H2B-EGFP nebo mTmG, nebo transkripční proteinový transgen indukovaný transkripčním aktivátorem tetracyklinem, za účelem odvozování embryí v preimplantačním stádiu se specifickými charakteristikami, které jsou nestabilní pro experimentování (např. proteiny nebo prostředek k aktivování transkripce jiných transgenů indukovatelným způsobem). Geneticky normální a transgenní samci F1 budou opakovaně používány pro oplodnění do 8 měsíců věku, poté budou nahrazeni. Proto pro tříleté trvání projektu financovaného z GA CR / CSF (2018-2020) bude použito 1100 samic myší (na základě odhadu pravidelného zásobování myší 5-7 individuálních zvířat týdně). Přibližně 70 samic myší bude opakovaně používáno po celou dobu trvání experimentu. V počáteční fázi projektu budou transcriptomové i pluripotentní experimentální screeniny vyžadovat dalších 50 samic myší. Celkově použito / usmrceno 1220 myší (tj. cca 406 za rok). | |
| Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu? | |
| Pro samice myší bude mít výzkum minimální vedlejší účinky. Budou léčeny podle zdokumentovaného režimu léčby reprodukčními hormony (podávanými dvěma individuálními intraperitoneálními injekcemi - licencovaným a vyškoleným personálem), které jsou běžně používány v laboratořích po celé zemi a ve světě (bez jakýchkoli hlášených nežádoucích účinků). Všechna zvířata budou usmrcena prostřednictvím cervikální dislokace maximálně šest dní po první injekci hormonu (nejčastěji po 3,5 dnech). Samci myší, kteří dosáhli konce své reprodukční užitečnosti, budou usmrceni za použití předávkováním anestetikem. | |
| Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement) | |
| Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat. | |
| Studium preimplantačního embryonálního vývoje nemůže být nahrazeno alternativním materiálem bez použití zvířat. | |
| Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat. | |
| Počet testovaných myší (zdroj preimplantačních embryí pro výzkum) bude omezen na naprosté minimum potřebné ke splnění tohoto projektu. Využití indukované superovulace zajistí maximální výtěžek embryí na jednu samici (30 až 50 | |

embryí při superovulaci vs. cca 12 při normální ovulaci). Manipulace se zvířaty a získávání embryí bude svěřené výhradně trénovaným osobám s dostatkem zkušeností, což povede k minimalizaci ztrát embryí a v důsledku ke snížení počtu využitých zvířat.

Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlíte volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.

Vysvětlíte obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.

Myš laboratorní se nejčastěji využívá jako model pro studium savčího preimplančního vývoje. Je to vhodný model, protože z jedné samice se po superovulaci dá získat relativně vysoký počet embryí, a jsou zavedeny standardní metody pro kultivaci embryí a manipulace s nimi. Intraperitoneální injekce a usmrcení zvířat budou vykonávat proškolené osoby a tím bude minimalizován stres pro zvířata. Zvířata budou chována v standardním prostředí splňující všechny vyžadované podmínky (12-hodinový cyklus světla a tmy, dostatek potravy a vody, vhodná teplota a vlhkost, podestýlka, atd.).