

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 26/2019

Název projektu pokusů

Progenitorové buňky v odontogenezi a iniciaci náhradní generace zubů

Doba trvání projektu pokusů 5 let

Klíčová slova - *maximálně 5* Progenitorové buňky, Lgr5, Sox2, zuby, dentice

Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka

<input checked="" type="checkbox"/>	základní výzkum
<input checked="" type="checkbox"/>	translační nebo aplikovaný výzkum
	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
	zachování druhů
	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
	trestní řízení a jiné soudní řízení

Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)

Tvorba zubních zárodků vychází z epitelální struktury zvané zubní lišta. Doba existence a morfologie zubní lišty je druhově specifická a odpovídá počtu následných zubních generací. U některých druhů zubní lišta zaniká během embryonálního vývoje a dává vzniknout jedné generaci zubů (myš). Jiné druhy mají trvalou zubní lištu a zuby se jim obnovují po celý život (hadí). Molekulární mechanismus, který řídí formování a případnou regresi zubní lišty není znám. Cílem tohoto projektu je identifikovat singalizační mechanismy kanonické dráhy Wnt v zubní liště a vliv této signalizace na vývoj náhradních zubních generací u obratlovců. Především se plánujeme zaměřit na podrobnou charakterizaci epitelových progenitorových buněk v oblasti stoliček během odontogeneze včetně jejich lokalizace, sledování jejich osudu v závislosti na aktivitě kanonické signální dráhy Wnt a analýzy jejich expresního profilu.

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)

Očekáváme, že pokusy popsané v tomto projektu povedou k odhalení procesů, které stojí za schopností některých druhů tvořit náhradní generace zubů i za lidskými patologiemi způsobenými narušenou tvorbou náhradní dentice. Plánujeme charakterizovat dosud nedefinovanou populaci epitelových progenitorových buněk v oblasti tvorby stoliček.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

K pokusům budou použiti dospělí jedinci *Mus musculus* různého stáří a různě stará embrya stejného druhu. Předpokládáme, že celková „spotřeba“ pokusných zvířat se bude pohybovat mezi 25 až 50 jedinci ročně. Celková spotřeba pokusných zvířat za celé trvání projektu pokusu nepřesáhne 250 jedinců.

Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?

Navrhovaná míra závažnosti je mírná. Navrhované metody aplikace látek jsou pro zvířata šetrné a nezpůsobují výraznou či dlouhodobou bolest. Tamoxifen aplikovaný v uvedených dávkách spouští cílenou genovou rekombinaci, neovlivňuje však kvalitu života pokusných zvířat. Následná produkce fluorescenčních proteinů nám umožní analyzovat specifické buněčné populace, nemá ale žádný fyziologický efekt.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.

Alternativní metody, jako například využití tkáňových či organoidových kultur pro kultivaci epitelových progenitorových buněk z oblastí stoliček, prozatím nejsou dostupné. Vznik a vývoj zubní lišty a mezibuněčnou signalizaci při tvorbě zubů v organismu nelze sledovat jinak než *in vivo* v kontextu okolních tkání. Tento typ experimentů prozatím nelze v moderní experimentální biologii jinak nahradit.

Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.

V pokusech použijeme vždy nejmenší statisticky významné množství zvířat. Experimenty budou pečlivě připraveny, což zamezí nutnosti jejich opakování.

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

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

Pro účely tohoto projektu byla jako modelový organismus vybrána myš a to z toho důvodu, že se jedná o nejčastěji používaný savčí model, který je z genetického i fyziologického hlediska blízký člověku a tudíž poznatky získané studiem myši jsou potenciálně aplikovatelné i v lidské medicíně. Zvířata budou chována ve speciálně upraveném zvěřinci v chovných klecích, kde mají dostatek prostoru, jídla i pití, a které jsou pravidelně čištěny. Případné manipulace se zvířaty za účelem aplikace tamoxifenu budou probíhat co nejkratší dobu, abychom minimalizovali způsobené nepohodlí.