

Vyplňujte jen bílé kolonky!

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

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů	
Mechanismus ovlivnění cirkadiálního systému světelnými stimuly	
Doba trvání projektu pokusů	do 04/2024
Klíčová slova - maximálně 5	myš, suprachiasmatické jádro, RNA editace, světlo, cirkadiální systém
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)	
Savčí biologické hodiny, uložené v suprachiasmatických jádrech hypotalamu (SCN) generují přibližně 24 h oscilace na principu regulačních smyček tzv. hodinových genů a řízené intercelulární komunikace mezi buňkami SCN. Přesné 24 h periody je docíleno synchronizací světlem, které působí na buňky SCN přes glutamátové synapse retinohypothalamického traktu. Působení světla mění expresi hodinových genů, mění sílu intercelulárních interakcí, ale způsobuje také změny na posttranslační a posttranskripční úrovni jednak hodinových genů a jednak genů zodpovědných za transdukcii světelného signálu na hodinový mechanismus jako jsou receptory a proteiny signálních kaskád. Experimenty mají za cíl zjistit míru a změny editace RNA dané aktivitou enzymu ADAR2 v SCN u myši adaptovaných k různým světelným podmínkám.	
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)	
RNA editace je proces posttranskripční modifikace RNA, jenž zásadním způsobem ovlivňuje maturaci mRNA. Editace adenosinu na inosin je důležitá pro formování funkčních vlastností ionotropních glutamátových kanálů, které jsou zodpovědné za synaptický excitační přenos. V projektu budeme studovat míru závislosti RNA editace na nervové aktivitě in vivo, ve struktuře hypotalamických suprachiasmatických jader, která fungují jako hlavní cirkadiální pacemaker savců. Výsledky plánovaného projektu rozšíří poznání významu RNA editace na pro cirkadiální systém a jeho synchronizaci světlem. Projekt zásadním způsobem přispěje k pochopení mechanismů adaptace na změněné světelné prostředí, např., při přeletu časových pásem nebo při práci na směny.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Budou použity myši s genetickým pozadím C57BL/6J a jejich varianty. Konkrétně PER2: LUC, Adar ^{2+/+} Gria ^{R/R} , Adar ^{-/-} , a VIPR2 ^{-/-} . Odhadovaný počet je 100 ks samců na jeden kmen (tj. MAX 500 ks celkem) za celkové období 5 let.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Nežádoucí účinky neočekáváme žádné. Po skončení experimentu budou zvířata usmrcena rychlou dekapitací po celkové hluboké narkóze. Tkáň, zejména mozková bude zpracována na histologické řezy nebo tkáňové homogenáty. <i>MIŘNA ZÁVAŽNOST.</i>	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Studium cirkadiálního systému a jeho synchronizace vyžaduje práci s intaktním cirkadiálním systémem, složeným z biologických hodin a jejich vstupních drah z oka a jiných morfologicky vzdálených oblastí mozku. Proto je nutný výzkum na in vivo modelu a nelze jej nahradit alternativními metodami.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Nejmenšího počtu zvířat lze docílit minimalizováním množství zvířat ve skupinách, které ještě má statistickou výpovědní hodnotu.	
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.	
Myši PER2:LUC je transgenní kmen myši s genem pro luciferázu zařazenou za promotor hodinového genu Per2. Tyto myši jsou řadu let celosvětově vyhledávaným modelem pro studium cirkadiálních oscilací na organotypických kulturách SCN. V našich experimentech chceme přesně charakterizovat posttranskripční změny RNA v jejich SCN, aby mohly být v příštích experimentech využity pro cross-breeding studie. Myši Adar ^{-/-} jsou knockout myši pro enzym adenosin deaminázu působící na RNA, které poslouží jako přímý model změn v cirkadiálním systému, způsobených nedostatečnou editací RNA v SCN. Myši Adar ^{2+/+} Gria ^{R/R} jsou kontrolní kmen k myším Adar ^{-/-} . Kmen VIPR2 ^{-/-} jsou knockout myši pro VIPR2 receptor, které slouží jako tradiční model pro studium vlivu narušené intercelulární synchronizaci mezi neurony v SCN na cirkadiální systém. Od tohoto modelu si slibujeme dokázat, že světlem indukovaná změna RNA editace závisí na synchronizované elektrické aktivitě buněk v rámci SCN.	