

**Vyplňujte jen bílé kolonky!**

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

### NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ

#### Název projektu pokusů

Studium a přenos zárodečných buněk ryb

Doba trvání projektu pokusů 3 roky *do 10/2021*

Klíčová slova - maximálně 5 Zárodečné buňky, chiméra, ryby

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

<input checked="" type="checkbox"/>	základní výzkum
<input checked="" 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 checked="" 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)

Cílem projektu je standardizovat metody transplantace zárodečných buněk u ryb pro možnost reprodukce cílové skupiny pomocí náhradních rodičů.

#### 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)

Přínosem projektu bude možnost reprodukce těch druhů nebo skupin ryb, které nejsou schopny nebo mají problémy s vlastní reprodukcí (např. zatížení vysokou mírou homozygotnosti, malý počet jedinců apod.).

#### Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Dáňo pruhované (*Danio rerio*) 1000 ks, dáňo perlové (*Danio margaritatus*) 200 ks, karas obecný (*Carassius carassius*) 500 ks, kapr obecný (*Cyprinus carpio*) 100 ks, jeseter malý (*Acipenser ruthenus*) 500 ks, jeseter sibiřský (*Acipenser baerii*) 10 ks a jeseter ruský (*Acipenser gueldenstaedtii*) 10 ks. Jedná se o maximální počty jedinců, kteří budou použiti jako donoři nebo recipienti zárodečných buněk.

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

Míra závažnosti je vyhodnocena jako střední. Pokusná zvířata pravděpodobně ucítí krátkodobou středně intenzivní bolest, utrpení či strach v případě transplantace zárodečných buněk do larev ryb, nebo dlouhodobou mírnou bolest, utrpení či strach při rekonvalescenci po transplantaci. Po transplantaci dochází u velmi malého počtu zvířat k úhynu. Další nežádoucí účinky nám nejsou známy. Po experimentu budou pokusná zvířata usmrcena 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.

Jsou vybrány specifické skupiny ryb a pro dosažení cílů pokusu není jejich nahrazení možné.

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

V pokusech budou používány počty zvířat, které jsou minimální pro statistické vyhodnocení tohoto typu studie. Pro minimalizaci počtu pokusných zvířat bude standardizace pokusu probíhat na vasa: gfp transgenním dáňem pruhovaným, který má fluorescenčně značené zárodečné buňky a není zde tedy nutný invazivní zásah pro jejich studium.

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.

Bude zajištěno odborně způsobilým personálem v souladu se zákonem č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů a sofistikovaným odchovným systémem.

Pokusná zvířata v roli donora zárodečných buněk budou jedinci nebo skupiny ryb, u kterých je z nějakého důvodu komplikovaná reprodukce (například vysoká homozygotnost, pozdní dospívání apod.). V roli recipienta bude naopak jedinec s výhodnými vlastnostmi reprodukce. Jednotlivé druhy ryb jsou pečlivě vybrány. Dáňo pruhované a alternativně dáňo perlové jsou modelovými druhy ryb pro jejich snadnou reprodukci a odchov. Bude na nich prováděna standardizace metod jako izolace, zamrazování a transplantace zárodečných buněk. Karas obecný bude sloužit jako recipient pro kapra obecného a jeseter malý bude použit jako náhradní rodič pro jesetera sibiřského a ruského. Tyto kombinace jsou uvážlivě voleny s ohledem na jejich druhově specifické vlastnosti (např. rozdílná velikost, reprodukční charakteristiky a dobu pohlavního dospívání). Navíc máme pro tyto druhy již otestované markery, podle kterých jsme schopni určit úspěšnost přenosu zárodečných buněk.