

NETECHNICKÉ SHRNU TÍ PROJEKTU POKUSŮ 95/2019

Název projektu pokusů

Analýza role proteáz KLK v homeostázi epidermis a při růstu vlasů

Doba trvání projektu pokusů 1.12.2019 – 31.05.2021

Klíčová slova - *maximálně 5* Kallikreiny, epidermální bariéra, rast vlasů, zánět kůže

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

x	základní výzkum
	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)

Cílem studie je charakterizovat role vybraných proteáz z rodiny Kallikrein-related peptidases (KLK), jmenovitě KLK5, KLK7 a KLK14, ve vytváření architektury kůže a v patologických procesech kůže. Jednotlivé cíle jsou definované následně:

- a) Specifikovat roli KLK5 a KLK7 při vytváření epidermální bariéry in vivo
- b) Zmapovat aktivaci KLK5, KLK7 a KLK14 v průběhu života s důrazem na jednotlivé stádia vývinu vlasových folikulů; identifikovat roli jednotlivých proteáz při vytváření vlasového kanálu a ve vlasovém cyklu
- c) Zmapovat roli KLK7 v neinfekčním zánětu kůže

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)

Objasnění funkce proteáz při vytváření vlasového folikulu a růstu vlasů. Objasnění role KLK7 u zánětu kůže.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Do pokusů budou použity transgenní myši linie na pozadí C57Bl/6 které nesou genetické modifikace:

- 9) Knockout pro KLK5 (10 zvířat)
- 10) Knockout pro KLK7 (10 zvířat)
- 11) Knockout pro KLK14 (10 zvířat)
- 12) Kmeny nesoucí kombinovanou deficienci jednotlivých KLK (10 zvířat)
- 13) Kmeny nesoucí kombinovanou deficienci jednotlivých KLK spojené s deficiencí jejich inhibitoru Spink5 (30 zvířat)
- 14) Knockout pro TNFRI skřížený s knockoutem pro Spink5 (30 zvířat)
- 15) Knockout TNFRI skřížený s knockoutem pro Spink5 a KLK5 (30 zvířat)
- 16) WT linie bez genetických modifikací (50)

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

Nežádoucí účinky jsou méně stres a dočasná bolest.

Navrhovaná míra závažnosti je „mírná“.

Po skončení pokusu budou zvířata usmrcena cervikální dislokací.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Protože předpokládáme roli KLK při vytváření správné architektury vlasového folikulu, je nutné studovat vlasový folikul v jeho plné struktuře, kterou lze docílit jen v kontextu celého organismu. Fenotyp našich myší je dán interakcí buněk kůže a buněk imunitního systému. Tyto interakce ve své komplexnosti není možné nahradit studiem v buněčné kultuře, kde nelze docílit tak široké škály imunitní odpovědi, jaká je přirozeně v organismu. Buněčné kultury však jsou užitečné pro objasňování dalších detailů k poznatkům získaným ze studia živého organismu.

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

V pokusech je nutné vždy používat dostatečné množství zvířat a zařazovat kontrolní zvířata (WT nebo heterozygotní sourozenci), aby byly výsledky výpovědné. Začínáme s kmeny, u kterých očekáváme nejvýraznější fenotyp a jen pokud identifikujeme rozdíl mezi knockoutními a kontrolními zvířaty postupujeme k dalším kmenům pro doplnění dalších detailů.

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.

Myš domácí je klasickým zvířecím modelem, na kterém jsou zavedeny pro nás potřebné metody transgeneze.