

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů	
Studium vlivu mutace v genu pro receptor fibroblastového růstového faktoru 3 na indukci a propagaci achondroplazie u myši	
Doba trvání projektu pokusů	3 roky, ukončení do 31. 12. 2021
Klíčová slova - maximálně 5	FGFR3, achondroplazie, chrupavka
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 hlubší pochopení vzniku achondroplazie ve spojení s funkcí konkrétního mutovaného proteinu, v našem případě genu <i>Fgfr3</i> s mutací G374R. Konkrétním přínosem projektu je pochopení základních molekulárně biochemických aspektů mutace <i>Fgfr3</i> genu v iniciaci a rozvoji achondroplazie s ohledem na funkci primární cilie.	
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)	
Hlavní přínos projektu spočívá v detailním popisu mutace G374R v genu pro <i>Fgfr3</i> v iniciaci a rozvoji achondroplazie, a to především s ohledem na funkci primární cilie v iniciaci nebo rozvoji tohoto onemocnění. Předpokládanými výstupy je pochopení vlivu mutace v genu <i>Fgfr3-G374R</i> na molekulární mechanismy zodpovědné za vznik achondroplazie, jako nezbytný krok ve vývoji vhodné terapie využitelné v léčbě pacientů.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
V našich experimentech počítáme s využitím maximálně 440 laboratorních zvířat v průběhu 3 let. Z toho 60 jedinců kmene <i>Fgfr3^{G374R}</i> a 60 jedinců <i>Tg(CAGCre)^{fl/fl}</i> kmene bude využito k udržení pářící/produkční kolonie. Současně uvažujeme o využití 20 myši kmene C57BL/6, které hodláme použít na omlazení pářící/produkční kolonie. V plánovaných experimentech budou kromě dospělých jedinců využita i vývojová stádia, embrya/plody v poslední třetině jejich běžného vývoje. Zbylá část 300 jedinců bude využita v experimentech zaměřených ke studiu funkce cilie ve vzniku a rozvoji achondroplazie. Tento počet je dán nutností přípravy geneticky upravených transgenních zvířat určitého genotypu a také nutností udržovat produkční kolonii transgenních zvířat. Všechny uvedené počty jsou stanoveny s ohledem na dobu trvání projektu, nutnost opakovat pokusy a také s ohledem na verifikaci výsledků.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
U zvířat budou průběžně kontrolovány zejména tělesný stav, vzhled, tělesné funkce a chování. Po ukončení experimentu budou zvířata usmrcena přerušením míchy nebo pomocí oxidu uhličitého. Kadavery se budou ukládat do kafilerního boxu a budou odvezeny asanační službou mající oprávnění dle platných právních předpisů. Jedná se pravděpodobně o střední závažnost klasifikace pokusu, protože pokusná zvířata <i>Fgfr3^{G374R}</i> genotypu budou v průběhu života vystavena zhoršení celkového stavu, a to především s ohledem na jejich poloviční vzrůst ve srovnání s wild-type sourozenci spojený s možnou komplikací s pohybem, ale i s ohledem na ojedinělý výskyt zvýšeného růstu řezáků, což může způsobovat potíže s příjmem potravy.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
V současné době nejsme schopni v podmínkách <i>in vitro</i> zcela funkčně napodobit procesy uplatňující se v rozvoji dědičných onemocnění, jakým je například i achondroplazie. Proto jsme odkázáni na využití zvířecího modelu, a především pak modelu transgenních myši, které nám umožňují cílenou úpravu funkce naší sledovaného genu.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Během celé studie bude použito minimální množství zvířat, které bude nezbytné pro udržení produkční kolonie a současně bude dostačující pro zopakování pokusů a správné statistické zhodnocení získaných výsledků.	
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.	
V současné době nejsme schopni v podmínkách <i>in vitro</i> zcela funkčně napodobit procesy a vývojové mechanismy odcházející se ve vyvíjející se chrupavce dlouhých kostí. Obecně je skoro nemožné odhalit a posléze popsat specifickou funkci daného genu ve výše popsáných procesech, a proto jsme odkázáni na využití zvířecího modelu, a především pak modelu transgenních myši, které nám umožňují studovat patogenezu onemocnění <i>in vivo</i> díky konkrétní mutaci v genu <i>Fgfr3</i> . Se zvířaty bude zacházeno klidně, budou umístěna v chovných nádobách samostatně místnosti k tomu určené. V případě zhoršení zdravotního stavu budou tato zvířata neprodleně vyřazena z pokusu a utracena. Zvířata v chovu jsou každodenně kontrolována osobou odborně způsobilou k nahlédnutí do klece a v případě identifikace jakéhokoliv typu utrpení (např. obtíže s příjmem potravy, omezený pohyb, úraz jiným zvířetem), je takový jedinec bezodkladně utracen.	