

## NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ

<b>Název projektu pokusů</b>	
Studium laktace Cdk12 heterozygotních myší a embryogeneze Cdk13 deficientních myší	
Doba trvání projektu pokusů	3 roky, ukončení do 31. 12. 2021
Klíčová slova - maximálně 5	cyklin-dependentní kináza, cyklin, embryonální vývoj, laktace
<b>Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka</b>	
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
<b>Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)</b>	
Cílem studie je popis námi dlouhodobě studovaných kináz (Cdk2 a Cdk13) v procesu laktace u Cdk12 myší a v průběhu embryogeneze u Cdk13 myší. Konkrétním přínosem projektu je pochopení základních molekulárně biochemických aspektů CDK kináz ve vývoji myší a laktaci a nalezení CDK-dependentních genů odpovědných za zdárný průběh vývoje myší, tak i cílových genů pod kontrolou CDK kináz.	
<b>Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroků ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)</b>	
Hlavní přínos projektu spočívá v detailním popisu funkce Cdk12 a Cdk13 v embryogenezi, organogenezi a buněčné diferenciaci, a v neposlední řadě i k objasnění funkce Cdk12 v rámci laktace. Očekávanými výstupy jsou identifikace CDK-dependentních genů, které se na daných procesech podílí a popis mechanismu působení daných kináz v rámci regulace eukaryotické transkripce.	
<b>Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá</b>	
V navržených experimentech se počítá s využitím laboratorního kmene C57BL/6 a geneticky modifikovaných kmenů myší Cdk12 (Cdk12tm1a) a Cdk13 (Cdk13tm1a, Cdk13tm1d). V našich experimentech počítáme s využitím maximálně 600 laboratorních zvířat v průběhu 3 let pro obě kinázy. Z toho 20 samic bude určeno pro experiment s laktujícími Cdk12 myšmi a dalších 100 jedinců pro udržení pářící/produkční kolonie Cdk12. Do experimentu s izolací různých vývojových stádií Cdk13 deficientních myší bude použito maximálně 180 jedinců (matky a plody ve stáří od třetí třetiny jejich přirozeného vývoje) a 300 jedinců bude tvořit základ pářící/produkční kolonie Cdk13. Tento počet je dán nutností přípravy geneticky upravených/transgenních zvířat určitého genotypu a také nutností udržovat produkční kolonie transgenních zvířat. Všechny uvedené počty jsou stanoveny s ohledem na dobu trvání projektu, nutnost opakovat pokusy a také s ohledem na verifikaci výsledků.	
<b>Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?</b>	
V rámci navržených experimentů se neočekávají žádné nežádoucí účinky, které by významně narušovaly fitness myší, a proto z pohledu klasifikace závažnosti pokusů spadají do kategorie mírné klasifikace závažnosti. 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 kafiterního boxu a budou odvezeny asanační službou v souladu s platnými předpisy.	
<b>Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)</b>	
<b>Nahrazení používání zvířat:</b> Uved'te, 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 a vývojové mechanismy odehrávající se ve vyvíjejícím se embryu nebo mléčné žláze, popřípadě odhalit specifickou funkci daného genu v těchto procesech. Proto jsme odkázáni na využití zvířecího modelu, a především pak modelu transgenních myší, které nám umožňují cílenou inhibici funkce námi sledovaného genu.	
<b>Omezení používání zvířat:</b> 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.	
<b>Šetrné zacházení se zvířaty:</b> 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. Model knock-out myší představuje ve světě zcela běžný přístup, jak studovat funkci daného proteinu nejen v časném vývoji, ale i v buněčné diferenciaci, formování tkáně, organogenezi a v dalších aspektech vývoje organismu. Během křížení bude se zvířaty zacházeno šetrným způsobem tak, aby jim nebyla působena nadměrná bolest, stres, strach a utrpení. 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 k tomu to úkonu způsobilou, dle platných předpisů, a v případě identifikace jakéhokoliv typu utrpení (např. úraz jiným zvířetem), je takový jedinec bezodkladně utracen.	