

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 104/2019

Název projektu pokusů

Úloha NEUROD1 a ISL11 ve vývoji neuronů vnitřního ucha; 20-06927S

Doba trvání projektu pokusů 3 roky

Klíčová slova - *maximálně 5* Vnitřní ucho, transkripční regulace, neurosenzorický vývoj

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 tohoto projektu je identifikace genů, které jsou kritické pro diferenciaci a specifikaci jednotlivých druhů neurosenzorických buněk a neuronů během embryonálního vývoje vnitřního ucha. Získané výsledky by měly přispět k objasnění molekulárních procesů během neurosenzorického vývoje, které by mohly být základem k vypracování nových léčebných postupů pro prevenci a terapii sluchových vad pomocí genových a „stem cell“ terapií.

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)

Ztráta sluchu patří mezi 10 nejrozšířenějších postižení a je spojena se sekundárními účinky, včetně deprese, která úzce souvisí s narušením komunikace. Ztráta sluchu je trvalá a je důsledkem smrti neuronů nebo senzorických buněk, jež jsou součástí vnitřního ucha a mají malou schopnost regenerace. Ačkoli kochleární implantáty mohou obnovit sluch, regenerace odumírajících neurosenzorických buněk by byla lepší než aplikace implantátů. Je zřejmé, že identifikace genů, které jsou zodpovědné za diferenciaci a udržení správné funkce senzorických buněk a neuronů, by mohla poskytnout nástroje pro terapii a možnou regeneraci neurosenzorických buněk. Nejnovější výzkumné poznatky naznačují, že prevence ztráty neuronů a posílení dlouhodobého udržení neuronů jsou nejdůležitějšími cíli pro bezprostřední budoucnost.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Myši kmeny nesoucí cre-rekombinasu řízenou expresí genů *Isl1*, *Foxg1* a *NeuroD1*. Za využití Cre-loxP systému budou v této studii křížením myši vytvořeny CKO mutantní kmeny: *NeuroD1-RCL-tdTomato*, *Isl1-RCL-tdTomato*, *Atoh1/NeuroD1* a kmen zajišťující navýšenou expresi genu *NeuroD1* (*R26NeuroD1*) v *ISL1*⁺ buňkách. Předpokládáme celkový počet myši: 250.

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

Vzhledem ke škodlivému fenotypu a 60% postnatální úmrť u *NeuroD1CKO* vyvolaného vlivem mutace je projekt pokusu klasifikován jako závažný. Rovněž u mutantních myši *Isl1CKO* dochází postnatálně k rozvoji *diabetes mellitus*. Po ukončení pokusu budou zvířata usmrcena cervikální dislokací nebo CO₂.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Identifikace genů, které jsou kritické pro diferenciaci a specifikaci jednotlivých druhů neurosenzorických buněk a neuronů vnitřního ucha během embryonálního vývoje není možné v kontrolovaných a srovnatelných podmínkách provádět jiným způsobem než na experimentálních zvířatech.

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

Minimalizace počtu zvířat bude zajištěna sdílením vzorků a jejich použitím na více analýz. Myši a embrya *NeuroD1CKO* a *Isl1CKO* jsou používány i v jiném projektu (PP98/2018), který je zaměřen na studium vývoje endokrinní části pankreatu. Minimalizujeme spotřebu samic tak, že sledujeme hmotnostní přírůstek samic v průběhu březosti a nebřezí samic neusmrcujeme, ale znovu připouštíme. Navrhovaný počet odpovídá našim zkušenostem z našich předchozích pokusů. Toto množství zvířat je minimální množství nutné ke statistickému zpracování 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.

Se zvířaty bude po celou dobu zacházeno šetrně a v souladu se zákonem č.246/1992 Sb.na ochranu zvířat proti týrání. Myši budou chovány ve vhodných podmínkách za neomezeného přístupu k potravě a vodě. O myši se budou starat zaměstnanci akreditovaného zvířetníku Ústavu molekulární genetiky AV ČR.