

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 90/2020 upravené podle PR 2020/569					
Název projektu pokusů					
Role signální dráhy Hippo v oogenezi a preimplantačním embryonálním vývoji myších embryí					
Doba trvání projektu pokusů - v měsících		36			
Klíčová slova - maximálně pět 1)		Preimplantační myší embryo, oocyt, Hippo signalizace, buněčný osud			
Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností					
☒	základní výzkum				
☐	translační a aplikovaný výzkum				
☐	legislativní účely a běžná výroba	kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)			
☐		jiné zkoušení účinnosti a tolerance			
☐		zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie			
☐		běžná výroba			
☐	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat				
☐	zachování druhů				
☐	vyšší vzdělávání				
☐	odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí				
☐	trestní řízení a jiné soudní řízení				
☐	udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech				
Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb					
1. Charakterizace funkce transkripčního faktoru TEAD4, efektoru signální dráhy Hippo, v regulaci homeostázy apikální domény a tím v specifikaci buněčného osudu linie trofoektodermu					
2. Charakterizace funkce proteinu Wwc2, paralogu aktivátoru signální dráhy Hippo Wwc1, při acentrosomálním buněčném dělení během meiózy oocytů i dělení preimplantačních embryí, při aktivaci signální dráhy Hippo v preimplantačních embryích a tím při specifikaci buněčného osudu prvních třech buněčných linií embrya.					
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)					
Navrhované pokusy přispějí k pochopení regulace meiotického dělení oocytů a apikálně-bazolaterální intracelulární polarizace a regulace aktivace Hippo signální dráhy a jejího vlivu na úspěšný vývin embrya v preimplantační fázi, a na specifikaci buněk embrya vedoucí k vzniku specializovaných buněčných linií, které jsou potřebné pro implantaci embrya a jeho další vývin. Získané poznatky o meiotickém dělení oocytů a preimplantačním embryonálním vývoji mohou mít přímo přínos pro klinickou sféru, konkrétně se mohou využít v oblasti in vitro fertilizace (umělého oplodnění) a pochopení a léčby lidské neplodnosti, kde je preimplantační embryonální stádium vývoje jedno z kritických fází probíhajících mimo těla matky, a poruchy meiózy jsou závažným problémem ženské neplodnosti. Vzhledem k tomu, že navrhovaný projekt zkoumá diferenciaci buněk a buněčný osud (jak buňky ztrácejí svou pluripotenci a specializují se), výsledky mohou mít význam pro oblast léčby pomocí kmenových buněk.					
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání					
Ve všech samicích bude indukována superovulace standardní hormonální léčbou (peritoneální injekční aplikace hormonů PMSG a hCG) trvající dva dny pro získání oocytů (1x injekce PMSG) a tři dny pro získání embryí (1x injekce PMSG + 1x injekce hCG). Samci budou využíváni pouze pro oplodnění samic.					
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků					
Indukce superovulace nemá žádné nežádoucí vedlejší účinky. Po superovulaci budou samice usmrceny pro získání oocytů nebo preimplantačních embryí.					
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu					
Druh zvířat 2) - vyberte ze seznamu		Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti		
			Nenabude vědomí	Mírná	Střední

Myš laboratorní (Mus musculus)	1605		x		
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu					
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu					
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - <i>uved'te</i>					
Uplatňování 3R					
Nahrazení používání zvířat - <i>uved'te, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>					
Studium oocytů a preimplantačního embryonálního vývoje neumožňuje nahrazení alternativním materiálem bez použití zvířat					
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlete, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).</i>					
Počet testovaných myší (zdroj oocytů a preimplantačních embryí pro výzkum) bude omezen na naprosté minimum potřebné ke splnění tohoto projektu a následnou statistickou analýzu. Využití indukované superovulace zajistí maximální výtěžek oocytů a embryí na jednu samici (30 až 50 embryí při superovulaci vs. cca 12 při normální ovulaci). Manipulace se zvířaty a získávání oocytů a embryí bude svěřené výhradně osobám proškoleným podle zákona se zkušenostmi v oboru, což povede k minimalizaci ztrát embryí a v důsledku ke snížení počtu využitých zvířat.					
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uved'te příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu</i>					
Intraperitoneální injekce a usmrcení zvířat budou vykonávat osoby proškolené podle zákona s praxí v oboru a tím bude minimalizován stres pro zvířata. Po intraperitoneální injekci bude zvíře pozorováno, jestli nemá nežádoucí účinky způsobené injekcí jehlou. Zvířata budou chována v standardním prostředí v místnosti s restrikcí vstupu, v konvenčních chovných nádobách typu 2L (12-hodinový cyklus světla a tmy, ad libitum jídla a vody a další podmínky dle aktuální vyhlášky). Kontrola zvířat bude prováděna na denní bázi.					
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>					
Myš laboratorní se nejčastěji využívá jako model pro studium savčího preimplančního vývoje. Je to vhodný model, protože z jedné samice se po superovulaci dá získat relativně vysoký počet embryí, a jsou zavedeny standardní metody pro kultivaci embryí a manipulace s nimi.					

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „nespecifikovaného savce“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech