

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ 44/2020	
Název projektu pokusů	
<i>Testikulární obranný systém: vztah mezi vrozenou imunitou a imunologickým privilegiem varlat v průběhu myší spermiogeneze.</i>	
Doba trvání projektu pokusů	2020-2023
Klíčová slova - maximálně 5	Imunitní sterilita, imunologické privilegium varlat, Aire
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
☒	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)	
<i>Hlavním cílem plánovaných pokusů je získání originálních výsledků které pomohou porozumět vzniku imunitní sterility (infertility) u mužů, která v současnosti postihuje přibližně 7% zdravé mužské populace. V návaznosti na zaměření laboratoře jsme se rozhodli identifikovat a popsat novou funkci imunitního proteinu Aire v pohlavních orgánech a jeho vliv na průběh a kvalitu gametogeneze.</i>	
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)	
<i>Je známo, že bodové mutace v proteinu Aire jsou přítomné u 1 člověka z 10 000, a to bez jakýchkoliv zjevných příznaků. Je tedy možné, že i to tvoří podíl na mužské sterilitě v populaci. Tato problematika je aktuální ve vztahu ke zvyšující se environmentální zátěži na lidský organizmus a také neustále se zvyšující věk potenciálních rodičů</i>	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
<i>Budeme používat transgenní kmen exprimující Cre rekombinázu pod AMH promotorem (Jax Laboratory, 20 ks). Tyto budou křížené s Aire flox/flox transgenními jedinci (Zvěřinec UMG, Krč, 20 ks), pro kondicionální vyrušení Aire-u v gonádách. Dále kmen exprimující Cre rekombinázu pod promotorem VASA (Zvěřinec UMG, Vestec, 20 ks). Tyto budou křížené s Aire flox/flox transgenními jedinci (Zvěřinec UMG, Krč, 20 ks) pro kondicionální vyrušení Aire-u ve vaječnících. Jejich potomstvo s genotypem Aire+/+ resp. Aire -/- bude použito pro histologickou analýzu tkání, přípravu primárních kultur a adoptivní transfer (cca 100 ks). Dále kmen exprimující antigen OVA pod promotorem Prm-1, který je specifický pro elongované spermatidy (University of Virginia Genetically Engineered Murine Model Core, 40 ks). V průběhu pokusů bude použito maximálně 200 ks zvířat.</i>	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
<i>Neočekáváme žádné nežádoucí účinky. Inbrední kmeny budou pouze neplodné.</i>	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
<i>Do dnešního dne nebyl popsán způsob, jak nahradit či alespoň přiblížit proces gametogeneze (tvorba pohlavních buněk) v in vitro podmínkách. Proto pro řešení našeho problému není možné myší model nahradit.</i>	
Omezení používání zvířat: Vysvětlíte, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
<i>Experimentům bude předcházet důkladné studium již publikovaných vědeckých výsledků, aby se předešlo opakováním experimentů a nadměrné spotřebě zvířat. Zvířata budou používána v minimálních počtech, které umožní statistické vyhodnocení rozdílů ve fertilitě a fyziologické změny na pohlavních orgánech.</i>	
Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlíte volbu druhu zvířat, a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.	
Vysvětlíte obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.	
<i>Veškerá manipulace se zvířaty bude co nejohleduplnější a co nejméně narušující přirozené potřeby zvířat.</i>	