

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ	
Název projektu pokusů	
Studium role piRNA a PIWI proteinů v kmenových buňkách glioblastomu s využitím myších modelů	
Doba trvání projektu pokusů	2020 – 2023. Ukončení pokusů 31.12.2023
Klíčová slova - maximálně 5	mozkové nádory, piRNA, nádorové kmenové buňky
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)	
PIWI-interagující RNA (piRNA) váží PIWI proteiny a hrají klíčovou roli v potlačení funkce transpozónů v kmenových buňkách a přispívají tak k udržení genomové stability a pluripotence. Deregulace exprese piRNA a PIWI proteinů byla popsána v různých typech nádorů, včetně GBM, a tyto molekuly by mohly představovat důležitý faktor přispívající ke „stem-like“ charakteru gliomových kmenových buněk (GSC). Cílem předkládaného projektu je s využitím myšího modelu určit význam piRNA a PIWI proteinů v různých subpopulacích nádorových buněk GBM.	
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)	
Nádorové kmenové buňky nalézané v mikroprostředí glioblastomů (GBM) přispívají k agresivnímu chování těchto nádorů, které vede k úmrtí většiny pacientů v horizontu 1 roku od stanovení diagnózy. Jsou také jednou z příčin vysoké resistance těchto nádorů vůči používaným léčebným postupům a relapsu onemocnění. Navrhované pokusy usilují o lepší poznání role piRNA a PIWI proteinů v biologii nádorových kmenových buněk a mohou přispět k využití těchto molekul jako biomarkerů a případně nových léčebných cílů u glioblastomů.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Celkem počítáme s použitím max. 600 myší různých kmenů. Jde o maximální počet použitých zvířat, v každé skupině jsou zahrnuta zvířata, která budou použita jenom v případě potřeby (úmrtí, nevzniknutí experimentálních nádorů apod.), tak aby byla zajištěna statistická hodnotitelnost výsledků.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Očekávaným nežádoucím účinkem u pokusných zvířat mohou být obecné příznaky nádorového bujení, experiment však bude ukončen při prvních klinických známkách zhoršení zdravotního stavu zvířete. Předpokládaná míra závažnosti je střední (zvířata pocítí nejvýše středně intenzivní bolest nebo středně závažný zásah do běžného chování). Se zvířaty bude nakládáno podle zásad bezbolestného zacházení se zvířaty a po ukončení pokusu budou usmrcena, budou odebrány a analyzovány experimentální nádory event. další orgány a tělní tekutiny.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Všechny testované kultury budou před aplikací do zvířat testovány metodami in vitro. Tyto experimenty nám ovšem neumožní testovat tumorigenicitu těchto kultur v komplexním mikroprostředí nádorů. Jedním z klíčových parametrů prokazující kmenový charakter buněk odvozených z lidských glioblastomů je jejich schopnost vyvolat tumory v imunodeficientních myších rekapitulující charakteristiky lidských tumorů, ze kterých byly tyto buňky odvozeny. In-vivo studie na myších modelech v současné době představují široce používaný přístup ve srovnatelných studiích a jedny z nejlepších preklinických modelů. Metoda bez použití zvířat se stejnou spolehlivostí pro navrhované studie neexistuje.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Uvedený počet zvířat je maximální a lze předpokládat menší množství použitých zvířat, výsledky budou průběžně hodnoceny k optimalizaci experimentální strategie a snížení počtu zvířat. Na základě předchozích experimentů lze očekávat variabilitu biologického chování xenotransplantovaných tumorů, počet všech zvířat je stanoven tak, aby byla zajištěna statistická hodnotitelnost 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.	
Navrhované myší modely představují často používané, dobře charakterizované a reprodukovatelné experimentální systémy. Jejich výhodou je i možnost využít zvířata s vyřazenou funkcí zkoumaných genů. Z těchto důvodů budou pro projekt používány myší kmeny s geneticky podmíněným chyběním specifické imunity. Veškeré vybavení užívané v experimentu odpovídá parametrům vybavení užívaného v humánní medicíně, včetně použití anestetických látek. Se zvířaty bude nakládáno podle zásad bezbolestného zacházení a jejich stav bude pravidelně kontrolován. Dodržování předpisů ochrany zvířat kontroluje pravidelně vedoucí pokusů, nebo jím pověřená kvalifikovaná osoba.	