

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ č. 18/2015

Název projektu pokusů

Přenos mitochondriálního genomu do buněk s poškozenou mitochondriální DNA vede k obnově mitochondriální funkce a schopnosti tvořit nádory

Doba trvání projektu pokusů

3 roky

Klíčová slova - *maximálně 5*

Mitochondriální DNA; rakovinnotvorný metastatický potenciál; mezibuněčný přenos mitochondrií; nádorové modely; potlačení tvorby nádorů

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)

1. Postupná regenerace mitochondriální funkce a maligního fenotypu v buňkách s přenesenou mtDNA;
2. Molekulární mechanismus přenosu mtDNA a regenerace mitochondriální funkce;
3. Cílení na mtDNA za účelem potlačení mitochondriální regenerace: úloha D-LOOP.

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)

Tento projekt používá dva myší kmeny, Balb-c a C57BL za účelem přípravy syngenních nádorů rakoviny mléčné žlázy a melanomu. Přínosem bude poprvé ukázat mezibuněčný přenos mitochondrií a jeho molekulární mechanismus. Projekt má tedy vysokou inovační hodnotu. Jeho potenciálně translační hodnota je spojená s využitím molekulárního mechanismu regenerace mitochondriální funkce jako zásahového místa na potlačení růstu nádoru a tvorby metastáz.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Myši kmene Balb- c, 200, myši kmene C57BL, 100

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

Neočekáváme žádné nežádoucí účinky kromě mírného diskomfortu z důvodu anestezie. Myši budou usmrceny předávkováním anestetiky či pomocí oxidu uhličitého.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

V daném projektu nelze myši nahradit, protože se jedná o projekt, v němž bude studován mezibuněčný přenos mitochondrií *in vivo*; taktéž bude využito znalostí molekulárního mechanismu tohoto přenosu a regenerace mitochondrií za účelem navržení nového protirakovinného postupu.

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

Co největší počet pokusů bude realizován na buněčných liniích, z nichž odvodíme molekulární mechanismy přenosu a regenerace mitochondrií. Pouze klíčové pokusy budeme provádět za použití myších modelů, které jsou velmi vhodné pro přípravu syngenních nádorů.

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 budeme zacházet humánním způsobem tak, aby diskomfort, který utrpí, byl co nejmenší. Pro ultrazvukové zobrazování nádorů uvedeme myši do anestezie za použití inhalačního anestetika isofluranu, který se v určitém poměru míchá s kyslíkem a který je velmi šetrný. V průběhu anestezie budeme monitorovat srdeční tep zvířete. V případě jeho poklesu zhruba na polovinu zvýšíme koncentraci kyslíku ve směsi s isofluranem tak, aby nedošlo ke vzbuzení zvířete a srdeční frekvence byla normalizována.