

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 10/2018

Název projektu pokusů

Nová regulační cesta biosyntézy leukotrienů u žírných buněk. GAČR 18-18521S

Doba trvání projektu pokusů Do 31. 12. 2020, tj 3 roky

Klíčová slova - *maximálně 5* Žírné buňky, ORMDL3 leukotrieny, zánětlivá onemocnění, imunoglobulin E,

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 projektu je testovat naši hypotézu, že ORMDL3 protein je regulátor syntézy leukotrienů (LT). Ačkoliv většina experimentů bude provedena na buněčných liniích kultivovaných v podmínkách *in vitro*, několik klíčových experimentů bude nutno ověřit v podmínkách *in vivo*.

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)

Plánované experimenty jsou zaměřeny na objasnění molekulárních mechanismů funkce ORMDL3 proteinů při regulaci produkce leukotrienů, které jsou významné pro rozvoj astmatu a zánětlivých onemocnění. Výsledky získané řešením projektu by mohly přispět k formulaci nových strategií pro léčbu zánětlivých onemocnění, alergií a astmatu.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Pro pokusy budou použity myši C57BL.6 a ORMDL3 KO myši ve stáří 6-8 týdnů. Přibližný počet použitých zvířat bude 90 kusů ročně. 30 ks bude použito na izolace prekurzorů žírných buněk z kostní dřeně z myši divokého typu (WT) a ORMDL3 KO pro experimenty *in vitro* a 60 ks na pokusy *in vivo* (pasivní kožní a systémová anafylaxe).

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

Nežádoucí účinky na zvířata jsou mírné. Pro odběry kmenových buněk budou zvířata z chovu ihned usmrcena. Zvířatům budou injikována s.c. nebo i.v. netoxické látky a komponenty a následně budou zvířata usmrcena. Pro snížení nežádoucích účinků těchto procedur a pro zajištění minimální variability experimentů budou zvířata v experimentech zaměřených na produkci leukotrienů do vzduchových kapes narkotizována i.m. injekcí směsi anestetik Xylapanu, Narketanu 10 a Atropinu.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Zkoumání úlohy jednotlivých genů v komplexním prostředí celého organismu není možné pomocí alternativních metody neboť nepostihují složitost zkoumané problematiky a proto nemohou nahradit navrhované pokusy.

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

Pro pokusy bude použito pouze minimální množství zvířat dostatečných pro výpočet signifikance meziskupinové rozdílnosti.

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.

Zvířata budou injikována netoxickými látkami i.v., nebo s.c. a následně utracena. V experimentech zaměřených na produkci leukotrienů do vzduchových kapes budou zvířata narkotizována použitím i.m. injekce směsi anestetik Xylapanu, Narketanu 10 a Atropinu.