

## NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ 82/2018

**Název projektu pokusů**

**Produkce geneticky modifikovaných myších modelů pomocí in vivo elektroporace**

Doba trvání projektu pokusů 5 let

Klíčová slova - maximálně 5

**Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka**

|                                     |  |
|-------------------------------------|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> | 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)**

Epigenetický silencing je proces, kterým je regulována transkripce a vnitrobuněčná exprese genu. V současné době se studují podrobné molekulární mechanismy tohoto procesu. Jedním z klíčových faktorů je protein Fam208a, který byl identifikován jako součást HUSH komplexu. Pro pokračující výzkum role Fam208a v epigenetické represi plánujeme připravit následující myší modely: 1) s přímou modifikací genu Fam208a, která způsobí zhoršení jeho funkce, 2) s fluorescenčně značeným proteinem Fam208a, který nám umožní sledovat jeho endogenní expresi a 3) s modifikovanými genetickými lokusy, které jsou reprimovány Fam208a. Tyto modely nám umožní další a detailnější studium Fam208a-dependentní represe, které není možné s využitím našich dvou již existujících myších modelů, vytvořených přibližně před 10 lety pomocí ENU mutagenese.

**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)**

Přínosem tohoto projektu bude lepší pochopení mechanismu, kterým represe genů ovlivňuje stárnutí a vlastnosti kmenových buněk. Naše nálezy by měly přispět k lepšímu pochopení základních procesů, které doprovázejí stárnutí a omezení fyziologických funkcí v průběhu stárnutí.

**Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá**

K pokusům budou použity myši *mus musculus* těchto linií: *ICR (CD1)*, *FVB* a *C57BL/6*. Celkový počet pokusných zvířat použitých pro tento projekt je uveden v tabulce.

| Kmen          | Za rok      |        | Za 5 let    |        |
|---------------|-------------|--------|-------------|--------|
|               | samec       | samice | samec       | samice |
| ICR (CD1)     | 8           | 48     | 40          | 240    |
| C57BL/6       | 48          | 960    | 240         | 4800   |
| FVB           | 24          | 480    | 120         | 2400   |
| Celkem        | 80          | 1488   | 400         | 7440   |
| <b>Celkem</b> | <b>1568</b> |        | <b>7840</b> |        |

Celkem: 7840 zvířat pro 5 roky

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

U zvířat nejsou očekávány žádné nežádoucí účinky. Po skončení pokusu budou zvířata usmrcena cervikální dislokací. Likvidace zvířat bude provedena asanační službou, se kterou má pracoviště smlouvu. Navrhovaná míra závažnosti je střední.

**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 metod neboť nepostihují složitost zkoumané problematiky a proto nemohou nahradit myší modely jejichž příprava je plánována v tomto projektu.

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

Budou použity minimální počty zvířat, které jsou potřebné k produkci transgenních zvířat. Bude využito nejnovějších poznatků v dané problematice, které zvýší efektivnost. Ustavení elektroporační techniky významně sníží počet zvířat potřebných pro přípravu myších modelů ve srovnání se standardními postupy.

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.

Myš je pro náš typ experimentů výhodným modelovým organizmem. Z tradičních modelů má nejbližší k člověku, takže získané poznatky mohou být přínosem i v oblasti lidského výzkumu. Jsou užitečné i pro poměrně snadnou manipulaci, relativně krátký životní cyklus a větší počet potomstva. Výhodou je i dostupnost genetické informace, protože její genom byl osekvenován.

Operace, příprava i postoperativní péče budou probíhat ve speciálních místnostech k tomu určených. Během operace i po operaci jsou zahřívána kvůli hypotermii. Po operaci budou zvířata udržována v IVC klecích a pravidelně kontrolována. Pro znecitlivění a snížení bolesti pokusných zvířat během chirurgického otevření břišní dutiny a následné elektroporace bude podáváno anestetikum Ketamin/Xylazin (87,5 mg/kg Ketaminu a 12,5 mg/kg Xylazinu, dávka je uvedena na tělesnou váhu myši) i.p. injekcí. Dále bude podáváno analgetikum buprenorphine (dávka 0,2 mg/kg tělesné váhy zvířete).. Po skončení pokusů budou usmrceny cervikální dislokací, takže újma způsobená zvířatům bude minimální, bez známek utrpení.