

Vyplňujte jen bílé kolonky!

Formulář vyplňujte na počítači; kolonky se zvětší automaticky podle množství textu.

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

Evoluce kompenzace genové dávky u plazů

Doba trvání projektu pokusů do 12/2023

Klíčová slova - maximálně 5 Exprese genů, pohlavní chromosomy, kompenzace genové dávky, plazi, evoluce

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

<input checked="" type="checkbox"/>	základní výzkum
<input type="checkbox"/>	translační nebo aplikovaný výzkum
<input type="checkbox"/>	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
<input type="checkbox"/>	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
<input type="checkbox"/>	zachování druhů
<input type="checkbox"/>	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
<input type="checkbox"/>	trestní řízení a jiné soudní řízení

Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)

Diferencované pohlavní chromosomy vznikly v rámci amniotických obratlovců mnohonásobně. Během diferenciací se ztrácely geny z nepárového (Y nebo W) pohlavního chromosomu, pro uchování funkčnosti buněk je proto nezbytné regulovat expresi genů vázaných na X nebo Z chromosomech. Mechanismus této regulace je však dosud známý jen u savců, ptáků a z plazů pouze u anolise rudokrkeho a hadů, což neumožňuje evoluční interpretace evoluce regulace exprese genů vázaných na pohlavní chromosomy. Navíc nebyla nikdy u obratlovců testována regulace exprese genů vázaných na pohlavní chromosomy po jejich zániku, ke kterému došlo u bazilišků a gekonů. Pokus zaplní tuto důležitou mezeru.

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)

Poznání mechanismů regulace exprese genů vázaných na pohlavní chromosomy a jejich evoluce.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Bude použito nanejvýš 12 jedinců (6 samců a 6 samic) gekonů *Ebenavia inunguis*, *Paroedura androyensis*, *Paroedura bastardi*, *Paroedura gracilis*, *Paroedura homalorhina*, *Paroedura ibityensis*, *Paroedura karstophila*, *Paroedura lohatsara*, *Paroedura maingoka*, *Paroedura masobe*, *Paroedura oviceps*, *Paroedura picta*, *Paroedura sanctijohannis*, *Paroedura stellata*, *Paroedura stumpffi*, *Paroedura tanjaka*, *Paroedura vahiny* a *Paroedura vazimba* (čeleď Gekkonidae), bazilišků *Laemantus longipes*, *Laemantus serratus*, *Corytophanes cristatus*, *Corytophanes hernandesii*, *Corytophanes percarinatus*, *Basiliscus basiliscus*, *Basiliscus galeritus*, *Basiliscus vittatus* a *Basiliscus plumifrons* (čeleď Corytophanidae), gekonů *Underwoodisaurus milii* a *Nephrurus levis* (čeleď Carphodactylidae), chameleona *Furcifer pardalis* (čeleď Chameleonidae) a šupinonožky Burtonovy (*Lialis burtonis*, čeleď Pygopodidae). Celkově bude do pokusu zařazeno maximálně 372 jedinců, reálně však mnohem méně, protože ne všechny druhy budou pravděpodobně dostupné a to v očekávaném množství jedinců.

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

U všech jedinců bude odebrána krev pro molekulární analýzy z ocasní cévy v množství menším než 1% hmotnosti doporučené veterináři jako bezpečné. Krev bude použita pro kultivaci buněk pro cytogenetické vyšetření, pro izolaci DNA a RNA (ta bude použita k sekvenování transkriptomu). Tato procedura je mírná z hlediska klasifikace závažnosti pokusu. Podle výsledků se rozhodneme, zda bude vědecky přínosné zopakovat analýzy i z dalších tkání (např. játra, mozek, ledviny, srdce), které se mohou lišit expresí genů. To by bylo uděláno u max. 5 samců a 5 samic na druh. Tato procedura by vyžadovala usmrcení jedinců rychlou dekapitací a okamžitou konzervaci RNA. Po skončení pokusu budou zvířata usmrcena (nenabudou tedy vědomí podle klasifikace závažnosti pokusů). Manipulace se zvířaty je krátkodobá (odběr krve či orgánů zabere max. několik minut) a bude prováděna podle aktuální dostupnosti zvířat během doby trvání pokusu.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Jedná se o výzkum diverzity mechanismů regulace genové dávky, nelze nahradit jinými organismy či přístupy bez použití zvířat.

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

Bude použito minimální množství zvířat nutných k dosažení signifikantních výsledků (max. 6 zvířat daného druhu a pohlaví).

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.

Druhy zvířat byly vybrány kvůli klíčovému fylogenetickému postavení a podle znalosti jejich pohlavních chromosomů. Odběr krve bude proveden zkušeným pracovníkem za dodržení všech možností pro minimalizaci stresu (především minimalizace času potřebného k odběru následované okamžitým navrácením do ubikace). U zvířat, kde bude provedena eutanázie, tato proběhne rychlou dekapitací minimalizující utrpení. Veškeré manipulace s pokusnými zvířaty budou vždy prováděny pracovníkem s osvědčením dle § 15d odst. 3 zákona č. 246/1992 Sb. S pokusnými zvířaty bude zacházeno s

maximální ohleduplností a budou omezeny všechny formy utrpení pokusných zvířat.