

Vyplňujte jen bílé kolonky!

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

NETECHNICKÉ SHRNTÍ PROJEKTU POKUSŮ	
Název projektu pokusů	
Objasnění funkce signalizačních drah, které řídí zárodečný vývoj u myši se zaměřením na kraniofaciální oblast.	
Doba trvání projektu pokusů	do 31. 12. 2023
Klíčová slova - maximálně 5	Vývojové vady, zubní vady, vývoj zubů, segmentace epitelu, končetinový pupen
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. řešení vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)	
Studie přispěje k objasnění funkce některých signalizačních drah a vybraných transkripčních faktorů, které řídí vývoj hlavy, ale i ostatních částí zárodku. U kmenů s abnormálním fenotypem bude v rámci studie sledována patogeneze orgánů v kraniofaciální oblasti, např. zubů, či v postkranialní oblasti, např. skeletu končetin. Jiné kmeny v rámci studie budou využity pro genetické značení buněčných populací v tzv. cre-loxP systému, které umožní vizualizovat cílené populace buněk v tkáních a orgánech a objasnit tak jejich roli v normálním či patologickém vývoji, což přispěje k pochopení mechanismu vzniku patologií v kraniofaciální oblasti (např. dentice, nadpočetné zuby), ale i postkranialní (např. poruchy dlouhých kostí). Protože u savců se vývoj sledovaných orgánů (kraniofaciální oblast, např. zuby, postkranialní oblast, např. končetina) odehrává během časného období ontogeneze (před narozením a v průběhu prvního měsíce života), je získání vhodného embryonálního, případně postnatálního materiálu nezbytným předpokladem realizace projektu – studií vývoje <i>in vivo</i> i <i>in vitro</i>. Pro pochopení vývoje patologických stavů je esenciální objasnění základních principů organogeneze ve vývojových studiích. Protože u savců se vývoj sledovaných orgánů (kraniofaciální oblast, např. zuby, postkranialní oblast, např. končetina) odehrává během časného období ontogeneze (před narozením a v průběhu prvního měsíce života), je získání vhodného embryonálního, případně postnatálního materiálu nezbytným předpokladem realizace projektu – studií vývoje <i>in vivo</i> i <i>in vitro</i>. Použití sledování buněčných linií v systému Cre-LoxP je neoddělitelnou součástí experimentální práce vedoucí k objasnění funkce některých signalizačních drah a vybraných transkripčních faktorů, které řídí kraniofaciální, resp. zubní zárodečný vývoj či vývoj jiných sledovaných orgánů (končetina). Za tímto účelem bude březím samicím reportérových kmenů příslušného křížení jednorázově aplikovaná látka aktivující přepis v Cre pozicích (tamoxifen, $C_{26}H_{29}NO_2$). Indikační skupina: Cytostatika – hormonální léčiva používaná v onkologii).	
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)	
Předcházení, poznání nebo léčení chorobných stavů, základní výzkum regulace orgánového vývoje, výuka (střední školy, vysoké školy, postgraduální studium – studenti vysokých škol a postgraduální studenti se budou účastnit při řešení grantu).	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Myš laboratorní – Mus musculus, celkově za celou dobu trvání PP (4 let) bude použito maximálně 640 myší pro prenatální odběry a 400 myší pro postnatální odběry (celkově 1040 myší maximálně).	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Nežádoucí účinky nejsou předpokládány. Míra závažnosti pokusů je mírná. Před odběrem embryonálních či postnatálních tkání budou zvířata usmrcena oddělením hlavy od trupu (prenatální stádia a raná postnatální), cervikální dislokací (březí samice a myši pro postnatální odběry). Kadavery budou umístěny do kafilerního boxu. V projektu pokusu není počítáno s opakovaným použitím pokusných zvířat.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Pro pochopení vývoje patologických stavů je zásadní objasnění základních principů vývoje orgánů ve vývojových studiích. Protože u savců se vývoj sledovaných orgánů (zuby, hlava i postkranialní oblast) odehrává během časného období vývoje jedince (před narozením a v průběhu prvního měsíce života), je získání vhodného embryonálního, případně postnatálního materiálu nezbytným předpokladem realizace projektu – studií vývoje <i>in vivo</i> i <i>in vitro</i> . Alternativní metody nepostihují složitost zkoumané problematiky, a proto nemohou nahradit navrhované pokusy na zvířecím modelu. Nelze provádět na člověku.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Zvířata budou odebrána jen v minimálním počtu nutných pro statistické vyhodnocení výsledků experimentů (vzhledem k některým použitým kmenům myši s nízkou výtežností potomstva s potřebným genotypem bude třeba minimálně 20 samic příslušného kmene pro získání potřebného počtu embryí pro statistické vyhodnocení experimentů). Veškeré studie, které nevyžadují zvířecí model, budou nahrazeny modelem <i>in vitro</i> (např. kuřecí model pro vývoj končetin).	

Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlíte volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.

Vysvětlíte obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.

Veškeré manipulace se zvířaty spadají do mírné závažnosti pokusu. Nejzávažnější manipulace se zvířaty nezpůsobí utrpení větší než rovné utrpení při vpichu jehly při intraperitoneální aplikaci tamoxifenu, či při jednorázové biopsii tkáně pro genotypizaci.

Experimentální zvířata budou denně kontrolována odpovědným pracovníkem. Zvířata budou ustájena ve skupinách ve schválených prostorech s teplotou 20 ± 2 °C a vlhkostí 50 ± 5 %. Krmení a voda bude poskytnuta *ad libitum*. Chovné nádoby budou obohaceny hnízdícím materiálem nebo úkryty. U zvířat bude pravidelně sledován vzhled, tělesné funkce, prostředí a kvalita ustájení.

Během celého trvání pokusu bude se zvířaty manipulováno tak, aby se co nejvíc minimalizovala případná bolest a strach a pokus bude veden osobou zkušenou v práci s pokusnými zvířaty. Zvířata budou odebírána pouze v nezbytném počtu a před odběrem embryonálních či postnatálních tkání usmrcena oddělením hlavy od trupu (embrya a fěty), cervikální dislokací (březi samice a myši pro postnatální odběry). Zvířata po aplikaci tamoxifenu budou sledována pracovníkem, který v případě změn v chování indukujících stres a bolest zvíře neprodleně usmrtí.

Metodické postupy nevyžadují použití žádných výše uvedených prostředků. Zvířata budou před odběrem embryonálních či postnatálních tkání usmrcena oddělením hlavy od trupu (embrya a fěty, raná postnatální stádia), cervikální dislokací (březi samice a myši pro postnatální odběry). Z tohoto důvodu není nutné použití metod tlumících bolest. Pro účely genotypizace bude jednorázově odebírán malý kousek tkáně ze špičky ocasu při odstavu mláďat (věk minimálně 21 dnů). Tento zásah nevyžaduje znecitlivění, zásah představuje stejnou bolest a stres pro zvíře jaký by vyvolalo podání anestetika.