

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Badanie przyczyn embrioletalności związanej z genem [REDACTED].

2. Czas trwania projektu 01.02.2019- 20.01.2022

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): rozwój zarodkowy, embrioletalność, implantacja, chimery

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) A. Badania podstawowe

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Celem projektu jest identyfikacja podłoża embrioletalności myszy z mutacją w badanym genie.

Gen ten koduje białko cytoplazmatycznym pełniące istotną rolę w degradacji RNA. Dotychczas białko to badane było tylko w liniach komórek ludzkich.

Jako pierwszy zespół stworzyliśmy linię myszy transgeniczných z mutacją w badanym genie. Określiliśmy, że zarodki z homozygotyczną mutacją obumierają w momencie implantacji w drogach rodných. Doświadczenie ma na celu określenie, czy przyczyną obumierania zarodków są jedynie tkanki odpowiadające za implantację, czy śmierć wszystkich komórek zarodka na tym etapie rozwoju.

W tym celu stworzymy zarodki chimerowe: zarodek niosący mutację zostanie otoczony dwoma zarodkami tetraploidalnymi bez mutacji, których komórki w dalszym rozwoju będą współtworzyć jedynie tkanki pozazarodkowe (uczestniczące w tworzeniu błon płodowych i implantacji), kompensując brak

badanego genu w tych tkankach. Urodzenie się, bądź nie, myszy z homozygotyczną mutacją, da nam odpowiedź na pytanie o rolę tego genu w implantacji zarodka.

Do przeprowadzenia doświadczenia konieczne będą trzy procedury:

1. wykonanie dwóch iniekcji dootrzewnowych hormonów w odstępie 48h w celu stymulacji owulacji i uzyskania możliwie dużej liczby zarodków od jednej samicy
2. operacyjny transfer stworzonych zarodków chimerowych do dróg rodnych samic-biorczyń
3. utrzymanie myszy z mutacją homozygotyczną (o nieznanym i potencjalnie szkodliwym fenotypie) mogących urodzić się w przebiegu doświadczenia, w celu obserwacji fenotypu i następnie uśmiercenie w celu pobrania tkanek i analiz histopatologicznych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mus musculus:

- mieszańce międzyszczepowe (mutacja heterozygotyczna) (C57BL/6/TarxCBA/Tar) – 12 samic
- F1(C57BL/6/TarxCBA/Tar) – 40 samic
- mieszańce międzyszczepowe (mutacja homozygotyczna) (C57BL/6/TarxCBA/Tar) – 8 myszy

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam/sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

PubMed, Google Scholar, ScienceDirect, Ebsco

Wykorzystałam/em słowa kluczowe: (nazwa badanego genu), mice, phenotype, embryoletality

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: Jesteśmy jedynym zespołem, który wyprowadził linię myszy transgeniczných z mutacją w badanym genie i jako jedyny podjął próbę określenia roli tego genu w organizmie myszy.

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Brak jest danych dotyczących fenotypu myszy z homozygotyczną mutacją w badanym genie, ich zdolności do tworzenia zarodków chimerowych oraz możliwości uzyskania dorosłych myszy z tą mutacją.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

- a. **Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku:** Znany jest molekularny mechanizm działania badanego białka i jego rola w komórce. Jednak wiedza ta nie może być przełożona bezpośrednio na cały organizm. Wyprowadzenie transgenicznej linii myszy z tą mutacją pozwoliło nam na stwierdzenie, że białko to jest niezbędne do rozwoju zarodkowego myszy. Dalsze doświadczenia mają na celu określenie źródła tej embrioletalności i opisanie mechanizmu jaki stoi za nieprawidłowym rozwojem zarodka pozbawionego tego genu.
- b. **Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegającej na:** Jeśli kompensacja tkanek pozazarodkowych doprowadzi do urodzenia myszy mutacją homozygotyczną, umożliwi nam to w przyszłości uzyskiwanie kolejnych myszy z tą mutacją i badanie jej wpływu na dorosły organizm zwierzęcia, z pominięciem limitującego etapu śmierci zarodka.

Zastąpienie: Badanie skutków mutacji na modelach linii komórkowych nie może mieć przełożenia na rolę białka w skali całego organizmu. Rozwój zarodkowy może być badany jedynie przy użyciu żywych organizmów. Wymagane jest do tego stosowanie modeli zwierzęcych, jak wyprowadzona przez nas linia myszy transgenicznych z mutacją w badanym genie.

Ograniczenie: W doświadczeniu planujemy wykorzystać minimalną liczbę myszy konieczną do uzyskania wiarygodnego statystycznie wyniku. Do pokrycia myszy-biorczyń wykorzystane zostaną dostępne już samce wazektomowane.

Udoskonalenie: Cały personel wykonujący doświadczenie ma wieloletnie doświadczenie w pracy embriologicznej. Stosowane metody są sprawdzonymi technikami powszechnie stosowanymi do uzyskiwania zarodków oraz tworzenia myszy chimerowych. Dodatkowo używane przez nas mieszańce międzyszczepowe charakteryzują się bardzo wysoką liczbą możliwych do uzyskania zarodków.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy ☐

TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

X NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.