

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Zbadanie roli kadheryny N i E w różnicowaniu się komórek gonad myszy transgenicznych

2. Czas trwania projektu: 24 miesiące

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) kadheryna, komórki Sertoliego, rozwój gonad

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

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.

Planowane doświadczenie ma na celu opisanie różnicowania się komórek Sertoliego po wyłączeniu ekspresji genu kodującego kadherynę E oraz różnicowania się komórek linii płciowej po wyłączeniu genu kodującego kadherynę N. Poprzednie badania wskazały na istotną rolę w tym procesie białek adhezji komórkowych, a więc cząsteczek zapewniających kontakt sąsiadujących komórek oraz ich segregację podczas rozwoju narządów. Owocne okazały się także moje dotychczasowe badania polegające na znokautowaniu genu kadheryny E w komórkach linii płciowej oraz kadheryny N w komórkach Sertoliego. Dla wyjaśnienia mechanizmów kształtowania się struktury gonad kluczowym okazuje się zbadanie udziału białek adhezji komórkowej w procesie płciowego różnicowania się gonad. Metodą umożliwiającą poznanie tego procesu jest zbadanie struktury rozwijających się gonadach po wyłączeniu ekspresji genów kodujących poszczególne białka adhezji. Wyłączenie ekspresji tych białek

powoduje jednak śmierć zarodków na wczesnym etapie rozwoju, uniemożliwiając zbadanie roli tych białek w rozwoju gonad. Niemniej jednak pomocna okazuje się tu metoda tkankowo specyficznego nokautu, która polega na wyłączeniu ekspresji danego genu jedynie w określonej tkance, np. w różnicujących się komórkach Sertoliego w gonadach męskich. Do tej pory metodę tę możemy skutecznie stosować jedynie u myszy i wymaga ona użycia osobników transgenicznych. Doświadczenie będzie polegało na krzyżowaniu między sobą szczepów transgenicznych myszy w celu pozyskania osobników z wyłączeniem określonych genów w rozwijających się gonadach. Następnie zbadana zostanie struktura gonad takich osobników. Doświadczenie pokaże jakie białka adhezji komórkowej są zaangażowane w proces płciowego różnicowania się gonad. Zachwianie tego procesu prowadzi do zaburzeń rozwoju płciowego u ludzi, takich jak hermafrodytyzm lub dysgenезja gonad. Dotychczas udało się poznać jedynie część genów doprowadzających do tego typu zaburzeń, a w wielu przypadkach przyczyny zaburzeń rozwoju płciowego pozostają nieznane. Planowane badania mogą przyczynić się do zidentyfikowania przyczyn tego typu zaburzeń u ludzi.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W badaniu wykorzystane zostaną transgeniczne osobniki myszy domowej (*Mus musculus*) 4 szczepów. W czasie realizacji projektu poszczególne szczepy będą rozmnażane i krzyżowane ze sobą, tak że w sumie zostanie wykorzystanych około 470 osobników.

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

Mysz *Mus musculus* jest gatunkiem umożliwiającym skuteczne przeprowadzenie badania polegającego na skutecznym wyłączeniu ekspresji danego genu w określonej tkance (system cre/loxP). Wyłączenie ekspresji genu *in vivo* jest jedyną metodą zbadania udziału adhezji komórkowej w rozwoju gonad. Poprzednie badania mające na celu zablokowanie białek adhezji komórkowej za pomocą przeciwciał rozpuszczanych w pożywce z hodowanymi gonadami w warunkach *in vitro* nie przyniosły spodziewanego efektu; problemem okazała się dyfuzja przeciwciał do wnętrza narządów. Liczbę

---

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

osobników wykorzystywanych w realizacji projektu dobrano tak, by uzyskane wyniki były wiarygodne, oraz tak by liczba ta była zminimalizowana do niezbędnego poziomu. Osobniki będą przetrzymywane w pomieszczeniach hodowlanych przystosowanych do hodowli myszy. Pomieszczenia te są zaopatrzone w nowoczesne urządzenia konieczne do hodowli myszy i utrzymywane w nich są wymagane warunki. Dostępna liczba klatek jest odpowiednia dla planowanej liczby hodowanych osobników. Podczas realizacji projektu uśmiercane będą samice ciężarne, w celu pobrania rozwijających się gonad z płodów. Dla zmniejszenia cierpienia osobniki będą uśmiercane przez momentalną dyslokację kręgów szyjnych. Wszystkie osobniki wykorzystywane w doświadczeniu będą osobnikami transgenicznymi, tak więc nie będą mogły opuścić zwierzętarni po eksperymencie. Dojrzałe samce po rozrodzie będą uśmiercane w celu zbadania wpływu obecności transgenu na strukturę jąder. Ponadto zwierzęta te nie będą mogły być wykorzystane do innych badań, gdyż nie da się przewidzieć czy obecność transgenu w sposób nieprzewidziany nie zaburzy struktury lub funkcji innych narządów.