

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Wyprowadzenie linii podwójnie transgenicznych świń dla genów nGal x MCPIP**

2. Czas trwania projektu : 01.10.2017-31.03.2019

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) transgeneza, krzyżowanie, PERV, MCPIP.

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.

Celem projektu jest uzyskanie linii podwójnie transgenicznych świń o ekspresji genów nGal x MCPIP oraz weryfikacja hipotezy o roli białka MCPIP jako potencjalnego czynnika inaktywującego endogenne retrowirusy świńskie – PERV (z ang. Porcine Endogenous Retrovirus), które uznawane są jako czynnik ryzyka przy zastosowaniu ksenoprzeszczepów u ludzi (organów i tkanek pochodzących od genetycznie zmodyfikowanych świń – np. serce, wątroba, skóra jako bioopatrunek, zastawki serca, tkanka kostna). W oparciu o założoną hipotezę oraz fakt posiadania transgenicznych świń z knock-out genu α 1-3 galaktozylotransferazy (nGal) i świń transgenicznych dla genu MCPIP (ekspresja białka MCPIP-1 – regulator stanu zapalnego) planuje się wyprowadzenie linii podwójnie transgenicznych świń dla genów nGAL x MCPIP. W przypadku potwierdzenia zakładanej hipotezy, z uzyskanych podwójnie transgenicznych osobników nGAL x MCPIP1 zostanie wyprowadzona linia zwierząt modelowych. Podwójnie transgeniczne świnię (nGAL x MCPIP1) będą stanowiły materiał wyjściowy do dalszych badań biomedycznych. Projekt klasyfikowany jest do badań podstawowych z zakresu biologii zwierząt.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Badania planuje się wykonać na łącznej liczbie 200 świń. Osobniki transgeniczne dla modyfikacji nGal i MCPIP będą krzyżowane w celu uzyskania osobników podwójnie transgenicznych nGal x MCPIP.

1. W pierwszym etapie prac grupa transgeniczných świń dla genów nGal i MCPIP, poddana zostanie badaniom na obecność endogennych retrowirusów PERV. Po przeprowadzeniu badań przesiewowych zostanie ustalona grupa świń, która stanowić będzie materiał wyjściowy do wyprowadzenia linii podwójnie transgeniczných osobników nGal x MCPIP.
2. Wyselekcjonowane osobniki nGal pozytywne dla PERV będą kojarzone z osobnikami MCPIP.
3. Urodzone w wyniku kojarzeń osobników nGal z osobnikami MCPIP potomstwo, poddane zostanie badaniom molekularnym w celu wyselekcjonowania podwójnie transgeniczných osobników pokolenia F1 nGal x MCPIP.
4. Podwójnie transgeniczne osobniki nGal x MCPIP zostaną poddane badaniu przesiewowemu na obecność endowirusów PERV, zgodnie z przyjętym modelem klasyfikacji dla PERV. Posłuży to do sprawdzenia założeń hipotezy o inaktywującej roli białka MCPIP w stosunku do endogenných wirusów z grupy PERV.
5. W oparciu o wyselekcjonowane, wolne od PERV podwójnie transgeniczne osobniki, stworzona zostanie grupa zwierząt założycieli linii nGal x MCPIP wolnych od PERV.
Konieczność wykorzystania zakładanej liczby zwierząt (200 szt.) wynika z układu doświadczenia, w którym uwzględnia się stopień przekazywania nowo nabytej cechy na poziomie niższym niż 40% (10-40%). W wyniku doświadczenia planuje się uzyskać 10-20 podwójnie transgeniczných świń, które stanowić będą materiał wyjściowy do wyhodowania linii osobników nGal x MCPIP.

1. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Wnioskodawca uwzględnia i wdraża zasady 3R w zakresie ograniczenia, zastąpienia i udoskonalenia.

W zakresie zasady ograniczenia:

wnioskodawcy uwzględnili najniższą możliwą liczbę zwierząt niezbędną do osiągnięcia określonych celów, jednocześnie mając na względzie art.4 dyrektywy 2010/63/UE w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych, zgodnie z którym państwa członkowskie zapewniają zredukowanie liczby zwierząt wykorzystywanych w projektach do minimum, bez uszczerbku dla celów projektu. Szczegółowo zastosowanie zasady ograniczenia przedstawiono w pkt. 5 wniosku. Wnioskodawca zakłada, że do uzyskania na drodze naturalnego krzyżowania (a więc w wyniku zastosowania metod nieinwazyjnych), 10 -20 podwójnie transgeniczných świń, niezbędne jest wyhodowanie około 180 prosiąt, ponieważ zaledwie 40% z nich może wykazać się pożądaną cechą genetyczną. Wnioskodawcy zakładają, że w przypadku gdy wśród planowanych 180 urodzonych transgeniczných prosiąt nie uda się uzyskać odpowiedniej ilości zwierząt podwójnie transgeniczných, niezbędne będzie wykorzystanie dodatkowej liczby zwierząt z właściwym wcześniejszym aneksem do Komisji Etycznej. W przypadku zaś, gdy uzyska się pożądaną ilość zwierząt w populacji mniejszej niż 180 doświadczenie będzie przerwane. W przypadku, gdy uzyska się ilość zwierząt podwójnie transgeniczných większą niż planowana - zwierzęta te będą pozostawione przy życiu i wprowadzone do stada doświadczalnego.

W zakresie zasady zastąpienia:

uwzględniono możliwość wykorzystania metod alternatywných. Proponowane badania w zakresie określonym metodyką wniosku zarówno w zakresie monitoringu zakażeń i nosicielstwa wirusa PERV, jak i weryfikacji transgenezy wymagają jednak wykorzystania materiału biologicznego pochodzącego od zwierząt tj. krwi lub komórek somatycznych np. leukocytów pochodzących z krwi lub komórek pochodzących z tkanki tłuszczowej. Nie ma więc możliwości zastąpienia materiału biologicznego pochodzącego od zwierząt syntetycznym. Świnia domowa jest jedynym gatunkiem zwierząt gospodarskich

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

wykorzystywanym w badaniach z zakresu ksenotransplantacji i medycyny transplantacyjnej ze względu na bardzo duże podobieństwo budowy i funkcjonalności narządów i tkanek do człowieka. W doświadczeniu zaplanowano procedury łagodne, o najniższym stopniu inwazyjności. Zrezygnowano z bardziej inwazyjnych metod uzyskiwania zwierząt transgenicznych. Vide zasady udoskonalenia.

W zakresie zasady udoskonalenia:

w trakcie przygotowywania projektu przeanalizowano szczegółowo możliwość uzyskania pożądanej populacji metodami nieinwazyjnymi i inwazyjnymi. Wnioskodawcy odrzucili metody inwazyjne np. uzyskanie transgenicznego potomstwa przez wypłukiwanie i przenoszenie zarodków czy innymi metodami biotechnologicznymi. Zakłada się, że sukces badawczy uda się uzyskać przy zastosowaniu metod nieinwazyjnych. W projekcie zakłada się wykorzystanie i zastosowanie metod hodowlanych, odpowiedniego doboru par rodzicielskich, krycia lub inseminacji do uzyskania i wyhodowania prosiąt. Metody te nie były opisywane we wniosku ze względu na brak ich inwazyjności. Jedynymi czynnościami inwazyjnymi projektu definiowanymi jako procedura jest weryfikacja nosicielstwa PERV rodziców (proc. 1.2) i weryfikacja transgenezy u prosiąt (proc. 1.2 i 1.3) obie z wykorzystaniem materiału pobranego od zwierząt. Zwierzętom zapewnia się spokój, zachowanie dobrostanu i pełny powrót do zdrowia po zakończeniu procedury. W projekcie uwzględniono procedury o najniższym stopniu inwazyjności, przy maksymalnym ograniczeniu stresu i bolesności zabiegu. Szczegółowe sposoby przygotowania zwierząt i opieki przedstawiono w proc. 1.1. Nie planuje się uśmiercania zwierząt. Założeniem projektu jest bowiem pozostawienie wszystkich zwierząt żywych, a łagodna inwazyjność procedur pozwala na wykorzystanie zwierząt w kolejnych procedurach (innych doświadczeniach i projektach). Wnioskodawcy podkreślają, że w myśl wspomnianej już dyrektywy 2010/63/UE i jej art. 1 pkt 2. po zakończeniu doświadczenia znaczna część zwierząt (wszystkie nietransgeniczne) mogłaby powrócić do ich siedliska lub systemu hodowlanego, na co nie pozwalają jednak bardziej restrykcyjne polskie przepisy z zakresu ochrony zwierząt doświadczalnych i utrzymania ich dobrostanu (Ustawa o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych Dz. U. 2015 poz 266, art.15 pkt.2).