

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Badanie funkcji niekanonicznej polimerazy poli(A) FAM46C w procesie erytropoezy

2. Czas trwania projektu: 01/07/2018 – 01/22/2021

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): FAM46C, erytropoeza, polimeraza poli(A)

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.

Powstawanie czerwonych krwinek (RBC), czyli proces erytropoezy, polega na różnicowaniu macierzystych komórek pnia do wyspecjalizowanych erytrocytów. Dokładne poznanie molekularnych mechanizmów kierujących przebiegiem tego procesu, jest kluczowe do zrozumienia takich chorób jak anemia czy czerwienica. Przeprowadzane w ostatnich latach badania pozwoliły zidentyfikować gen FAM46C, o dotychczas nieopisaną funkcję, jako istotny dla regulacji procesu erytropoezy u myszy. Gen ten koduje enzym o aktywności polimerazy poli(A), której rola polega na wydłużaniu 3'końcowych ogonów poli(A) w mRNA, co determinuje jego stabilność oraz tempo translacji.

Celem projektu jest zbadanie roli niekanonicznej polimerazy poli(A) FAM46C w procesie erytropoezy. W celu zbadania roli i molekularnych podstaw aktywności enzymu FAM46C podczas dojrzewania czerwonych krwinek wykorzystamy wątroby płodowe. Doświadczenia przeprowadzimy z wykorzystaniem tkanek wyizolowanych z płodów znajdujących się w różnym stadium rozwojowym E12 – E15 (12-15 dzień ciąży), ponieważ płodowa wątroba w tym przedziale czasowym jest organem erytropoetycznym, co czyni ją najlepszym modelem do badania tego procesu. Komórki pozyskane z organów płodów znajdujących się

na różnych etapach rozwoju, pozwolą nam na zbadanie zaburzeń dynamiki erytropoezy w mutancie FAM46C KO oraz zbadanie molekularnych funkcji jakie pełni ta niekanoniczna poli(A) polimeraza. Planujemy przeprowadzić szereg analiz biochemicznych i molekularnych m.in. test różnicowania i proliferacji komórek macierzystych pnia, analizy cytometryczne w oparciu o powierzchniowe markery komórkowe takie jak CD71 oraz Ter119, które pozwolą nam na zbadanie liczebności subpopulacji komórek, a jednocześnie pozwolą nam na zbadanie dynamiki erytropoezy, jak również analizy RNAseq czy qPCR oraz analizy mające na celu znalezienie białek oddziałujących z FAM46C.

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

Mus musculus , samice w wieku 1-6 miesięcy.

Szczepy:

F1 (C57BL/6/TarxCBA/Tar) – 21 osobników

F1 (C57BL/6/TarxCBA/Tar) FAM46C (wt/-) – 37 osobniki

F1 (C57BL/6/TarxCBA/Tar) FAM46C-GFP – 17 osobników

F1 (C57BL/6/TarxCBA/Tar) FAM46C-Flag – 5 osobniki

Suma osobników 80.

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

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

PubMed, Google Scholar, ScienceDirect, Ebsco

Wykorzystałam/em słowa kluczowe: erythropoiesis, FAM46C, poliadenylation

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: erytropoeza to proces wieloetapowy, który jest ściśle kontrolowany. Nieprawidłowy proces erytropoezy prowadzi do rozwoju chorób takich jak: anemia czy czerwienica. W mutantach FAM46C KO zaobserwowano nieprawidłowości związane z krwinkami czerwonymi, w związku z czym

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

najprawdopodobniej białko FAM46C zaangażowane jest w proces erytropoezy. Brak jest danych dotyczących: molekularnych mechanizmów związanych z aktywnością polimerazy FAM46C w procesie erytropoezy.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

- A. Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku: ustalenie roli genu FAM46C w procesie erytropoezy
- B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegającej na: poznaniu potencjalnej funkcji jaką pełni i mechanizmu działania polimerazy FAM46C w procesie erytropoezy u ludzi.

Zastąpienie: Nie jest możliwe przeprowadzenie proponowanego doświadczenia bez użycia zwierząt. W badaniach genetycznych mechanizmów funkcjonowania ludzkiego organizmu i chorób człowieka model zwierzęcy jest zawsze najlepszym przybliżeniem, najcenniejszym narzędziem, pozwalającym poznać przyczyny i przebieg badanego procesu. Tak jest również w przypadku erytropoezy, gdzie modele komórkowe nie pozwalają na śledzenie każdego z etapów tego procesu jeden po drugim. Dlatego też w celu zbadania roli i molekularnych podstaw aktywności enzymu FAM46C podczas dojrzewania czerwonych krwinek wykorzystamy wątroby płodowe. Doświadczenia przeprowadzimy z wykorzystaniem tkanek wyizolowanych z płodów znajdujących się w różnym stadiach rozwojowych E12 – E15 (12-15 dzień ciąży), ponieważ płodowa wątroba w tym przedziale czasowym jest organem erytropoetycznym, co czyni ją najlepszym modelem do badania tego procesu. Komórki pozyskane z organów płodów znajdujących się na różnych etapach rozwoju, pozwolą nam na zbadanie zaburzeń dynamiki erytropoezy w mutancie FAM46C KO oraz zbadanie molekularnych funkcji jakie pełni ta niekanoniczna poli(A) polimeraza.

Ograniczenie: dzięki przeprowadzeniu stymulacji hormonalnej samic-matek zwiększymy liczebność miotów, co z kolei wprost prowadzi do zmniejszenia niezbędnej liczby użytych dorosłych myszy. Dodatkowo, stymulacja hormonalna umożliwi precyzyjne określenie dnia ciąży i standaryzację momentu przeprowadzanej izolacji erytroblastów, co w przypadku badania stadiów rozwojowych znacznie zwiększa wiarygodność wyników i pozwoli na uniknięcie konieczności powtarzania doświadczenia.

Udoskonalenie: wszystkie procedury wykonywane są przez wykwalifikowany personel, dawki hormonów zostały tak dobrane, by myszy jak najlepiej odpowiadały na stymulację hormonalną.

## 8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

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

☒ TAK na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.

□ NIE