

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Wpływ wyłączenia ekspresji genów kodujących Stim2 i Mcu na zachowanie ryb *Danio rerio*”
2. Czas trwania projektu 01.02.2020 - 31.12.2024
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) gospodarka wapniowa, behawior, SOCE, mitochondria
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 sprawdzenie w jaki sposób zaburzenia w komórkowej gospodarce wapniowej mogą wpływać na zachowanie. Zbadamy w jaki sposób brak funkcjonalnych białek Stim2a i/lub Stim2b, uczestniczących w procesie pojemnościowego napływu wapnia do komórki oraz brak mitochondrialnego kanału wapniowego Mcu wpływa na zmianę zachowania zwierząt. Gospodarka wapniowa jest szczególnie ważna dla prawidłowego funkcjonowania neuronów. Najnowsze badania wskazują na zaburzenia w sygnalizacji za pośrednictwem jonów wapnia jako mechanizm prowadzący do licznych chorób neurodegeneracyjnych.

Testy behawioralne pozwolą w sposób nieinwazyjny wstępnie określić, które aspekty przekazywania neuronalnego mogą być upośledzone pod wpływem zaburzeń w homeostazie wapniowej.

Przeprowadzimy serię testów behawioralnych pozwalających na szczegółową charakterystykę zmian wywołanych brakiem badanych białek. Zbadamy czy brak Mcu, Stim2a i/lub Stim2b wpływa na poziom stresu, zdolności poznawcze oraz zachowania społeczne. .. Badania te pozwolą na rozwój wiedzy dotyczącej roli badanych białek, biorących udział w regulacji komórkowej gospodarki wapniowej, w kształtowaniu się poszczególnych zachowań. Badane będą trzy grupy wiekowe, co dodatkowo pozwoli na ocenę jak proces starzenia w warunkach zaburzonej gospodarki wapniowej wpływa na te zachowania. Wiedza ta może być przydatna w badaniu mechanizmów stanowiących podłoże chorób neurodegeneracyjnych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu zostanie wykorzystanych w sumie 432 ryb z gatunku *Danio rerio*. Będą to ryby należące do 3 różnych grup wiekowych: 7-dniowe larwy (108 ryb), 5 miesięczne młode dorosłe (162 ryby) oraz 16 miesięczne starsze dorosłe (162 ryby). W doświadczeniach zostaną wykorzystane linie zmodyfikowane genetycznie z wyłączoną ekspresją genów kodujących białka: Mcu, Stim2a, Stim2b, obie izoformy białka Stim2 oraz ich rodzeństwo typu dzikiego wykazujące prawidłową ekspresję powyżej wymienionych białek.

Szacując liczbę zwierząt i planując odpowiednie dla każdego testu grupy kontrolne oparto się na doniesieniach z aktualnej literatury (Kalueff, 2017, Best et al., 2008, Kundap et al., 2017, Yu et al., 2006, Pavlidis et al., 2015, Bailey et al., 2016, Haghani et al., 2019, Pancotto et al., 2018). W celu minimalizacji liczby zwierząt użytych w doświadczeniu dokonano analizy statystycznej wykorzystując wyniki wcześniejszych badań, w których wykonywano podobne do planowanych testy behawioralne z udziałem danio pręgowanego (Best et al., 2008, Kundap et al., 2017).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych: PUBMED, ScienceDirect, ZFIN

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

Wykorzystano słowa kluczowe: Stim2, SOCE, calcium homeostasis, Stim2 nervous system, mitochondria, calcium, MCU, zebrafish behavior, zebrafish habituation, acoustic startle response, novel tank, T-maze, zebrafish anxiety, zebrafish cognitive function, passive avoidance zebrafish, zebrafish memory, zebrafish social behavior, social preference test zebrafish, shoal test, euthanasia in zebrafish.

Skuteczne zastosowanie *Danio rerio* pozwoli na ograniczenie wykorzystania zwierząt stałocieplnych (np. myszy) to tego eksperymentu (zastąpienie).

Zastosowanie bardzo nowoczesnej aparatury do rejestracji zachowań ryb – ZebraBox i ZebraCube (ViewPoint) oraz programu EthoVision XT (Noldus) pozwalającego na automatyczną i rzetelną analizę danych pozwoliło na zminimalizowanie liczby powtórzeń czynności w eksperymencie (udoskonalenie). Urozmaicenie środowiska w hodowli oraz zastosowanie przezroczystych pojemników z wodą, aby ryby mogły się wzajemnie widzieć, stanowią udoskonalenie mające na celu zbliżenie warunków bytowania do naturalnych.

Dokładna analiza literatury i analiza statystyczna pozwoliły na optymalne zaplanowanie eksperymentu mające na celu wykorzystanie jak najmniejszej liczby zwierząt (ograniczenie). Wykorzystanie tych samych ryb w kilku testach behawioralnych pozwala na ograniczenie liczby zwierząt do niezbędnego minimum.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- NIE

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