

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Rola białek ERp44, ERp57 i CHERP w regulacji oscylacji  $\text{Ca}^{2+}$  w zapłodnionych oocytach myszy**

2. Czas trwania projektu .....1 czerwca 2016 – 30 września 2019.....

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) oscylacje wapniowe, oocyt, mysz, zapłodnienie

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.

Wywołane zapłodnieniem oscylacje  $\text{Ca}^{2+}$  są kluczowe dla rozwoju zarodka: pozwalają na ukończenie podziału mejotycznego i aktywację rozwoju zarodkowego. Niniejszy projekt ma na celu zbadanie udziału białek retikulum endoplazmatycznego ERp44, ERp57 i CHERP w regulowaniu tych oscylacji. Wiadomo, że wybrane białka biorą udział w regulacji stężenia jonów  $\text{Ca}^{2+}$  w cytoplazmie innych typów komórek. **Jak wskazują nasze dotychczasowe badania są one eksprymowane w oocytach, lecz ich rola w tworzeniu oscylacji  $\text{Ca}^{2+}$  nie jest jeszcze poznana.**

W zaplanowanych doświadczeniach wykorzystamy oocyty w profazie I podziału mejotycznego, w których w obniżymy (za pomocą mikroiniekcji siRNA) lub podwyższymy (za pomocą mikroiniekcji egzogennej mRNA) poziom ekspresji badanych białek. Następnie oocyty będą poddane dojrzewaniu

mejotycznemu in vitro, a po osiągnięciu stadium metafazy II podziału mejotycznego (kiedy to normalnie dochodzi do zapłodnienia) - inkubowane z fluorescencyjnym wskaźnikiem  $\text{Ca}^{2+}$ , zapładniane in vitro oraz filmowane poklatkowo w celu ustalenia wzoru oscylacji  $\text{Ca}^{2+}$ . Dodatkowo zbadamy w nich także ilość  $\text{Ca}^{2+}$  zgromadzonego w komórce.

Oocyty w profazie I izolowane będą z jajników 6-8 tygodniowych samic myszy krzyżówki F1 (C57BL/6/Tar x CBA/Tar) zastymulowanych hormonalnie, a następnie uśmierconych przez dyslokacje kręgów szyjnych.

Uzyskane wyniki znacząco poszerzą naszą wiedzę na temat mechanizmów regulujących zapłodnienie i aktywację rozwoju zarodkowego u ssaków, w tym także u człowieka. W związku z tym, mogą się także przyczynić do lepszego poznania przyczyn niepłodności.

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

174 samice myszy pokolenia F1 krzyżówki dwóch szczepów wsobnych: C57BL/6/Tar oraz CBA/Tar – w wieku 6-8 tygodni.

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

Celem doświadczeń jest uzyskanie informacji, które można by odnieść do gatunku ludzkiego. Wiadomo, że biologia rozwoju myszy jest dużo bardziej zbliżona do ludzkiej niż biologia rozwoju jakichkolwiek bezkręgowców (Müller, W., Hassel, M., Greal, M. (2015). The Human. W: Development and Reproduction in Humans and Animal Model Species, strony: 169-213. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.). W bardzo wielu schematach badawczych myszy są stosowane jako dobry model procesów zachodzących u ludzi. Zastąpienie myszy jednym z gatunków bezkręgowców, u których procesy zapłodnienia i rozwoju przebiegają inaczej niż u kręgowców, nie umożliwiłoby uogólnienia uzyskanych wyników na gatunek ludzki.

W celu ograniczenia liczby zwierząt poświęconych na badania zastosowana zostanie hormonalna

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

indukcja wzrostu oocytów. Dzięki temu z jednej myszy można będzie uzyskać większą liczbę oocytów w określonym stadium wzrostu. Przewidziana jest minimalna liczba zwierząt konieczna do wykonania analizy statystycznej.

Uzyskane przeze mnie wyniki pozwolą na rozwinięcie wiedzy na temat mechanizmów regulujących przebieg zapłodnienia. Dzięki temu, że mechanizmy te są bardzo zbliżone (a nawet w wielu aspektach identyczne) u wszystkich ssaków, proponowane doświadczenia pozwolą poszerzyć naszą wiedzę na temat fizjologii zapłodnienia u ludzi, a tym samym – na temat przyczyn niepłodności.