

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **"Analiza behawioralna myszy pozbawionych pojedynczych białek ważnych dla prawidłowego funkcjonowania synaps w centralnym i obwodowym układzie nerwowym"**.

2. Czas trwania projektu: **Pięć lat.**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **Synapsa; Choroby neurologiczne; Zaburzenia lokomocji; Myszy transgeniczne; Badania behawioralne**

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.

Synapsa jest wyspecjalizowaną strukturą umożliwiającą przesyłanie bodźców pomiędzy komórkami nerwowymi w ośrodkowym układzie nerwowym (CUN) lub pomiędzy neuronami motorycznymi, a włóknami mięśniowymi (NMJ - ang. neuromuscular junction) w obwodowym układzie nerwowym (OUN). Pomimo różnej lokalizacji synapsy nerwowo-nerwowe oraz nerwowo-mięśniowe posiadają podobną organizację maszynierii molekularnej, co umożliwia kompleksowe badanie nowoodkrytych białek synaptycznych w tych dwóch modelach.

Zaburzenia funkcjonowania synaps są charakterystyczne dla wielu ciężkich chorób takich jak schizofrenia, padaczka, autyzm (CUN) czy dystrofie mięśniowe (OUN). Dodatkowo warto podkreślić,

że ponad połowa chorób nerwowo-mięśniowych nie ma poznanej etiologii, a mechanizmy molekularne odpowiedzialne za procesy prawidłowego funkcjonowania synaps wciąż są słabo poznane.

Celem tego projektu jest poznanie funkcji nowoodkrytych białek lokalizujących się na synapsach w CUN i OUN. Nasze badania zostaną przeprowadzone na myszach jako organizmie modelowym, którego synapsy są zbliżone zarówno pod względem budowy i funkcjonowania do synaps człowieka. W doświadczeniu w celu analizy funkcji poszczególnych białek użyte zostaną myszy transgeniczne, które pozbawione są obecności badanych białek na synapsach nerwowo-nerwowych lub nerwowo-mięśniowych. Zbadany zostanie wpływ braku poszczególnych białek synaptycznych na zachowanie organizmu w kontekście potencjalnych zaburzeń neurologicznych, psychicznych oraz prawidłowej lokomocji. W ramach projektu planuje się przeprowadzenie badań behawioralnych, które w łagodnym stopniu mogą wywołać reakcję stresową zwierzęcia. Wszystkie procedury zaliczają się do umiarkowanej kategorii dotkliwości.

Wyniki uzyskane podczas realizacji tego projektu mogą w znaczący sposób pomóc w zrozumieniu molekularnych mechanizmów odpowiedzialnych za schorzenia neurologiczne oraz zaburzenia zachowania, dodatkowo będące podstawą nieprawidłowej lokomocji. Proponowane badania mogą przyczynić się do identyfikacji nowych celów terapeutycznych i być użyteczne dla różnych dziedzin biologii i medycyny.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Planowane doświadczenia zakładają wykorzystanie 720 samców myszy z hodowli Instytutu Biologii Doświadczalnej PAN.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Zasada 3R została wprowadzona w oparciu o wytyczne European Animal Research Association, oraz na podstawie danych z literatury, odpowiednich dla tego typu badań.

Podczas przygotowywania niniejszego projektu przeszukano między innymi bazę danych PubMed w zakresie tematyki objętej wnioskiem badawczym. Wykorzystano słowa kluczowe: Angiotensins, Sh3BP2, ArhGef5, Tks5, neurons, muscles, synapses in the brain, neuromuscular junction, mice, behavioral tests.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że dotychczas nie zostały przeprowadzone badania, które proponujemy w ramach zaplanowanego projektu badawczego.

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że badane przez nas białka mogą mieć

istotny wpływ na prawidłowe funkcjonowanie i rozwój synaps nerwowo-nerwowych oraz synaps nerwowo-mięśniowych.

B. Brak jest danych dotyczących funkcji badanych białek na synapsach oraz zaburzeń zachowania organizmu związanych z brakiem ich ekspresji.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku funkcjonowania synaps w centralnym i obwodowym układzie nerwowym. Wykonanie zaplanowanego projektu badawczego może przyczynić się do poznania podłoża molekularnego wielu chorób neurologicznych, dystrofii mięśniowych oraz zaburzeń zachowania związanych z nieprawidłowym funkcjonowaniem synaps.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na identyfikacji nowych celów terapeutycznych wielu chorób o nieznanej dotychczas etiologii.

ZASTĄPIENIE:

Typ i charakter badań wykluczają możliwość zastosowania badań w warunkach *in vitro* z wykorzystaniem ustalonych linii komórek nerwowych i mięśniowych, ponieważ nie prowadzą one do rozwoju faktycznych struktur układu nerwowego, a problem badania zachowania i lokomocji wymaga badania organizmu systemowo, co można osiągnąć jedynie w badaniach *in vivo*. Do proponowanych badań potrzebny jest organizm modelowy, który jak najwierniej odzwierciedla synapsy ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego u człowieka. Najbardziej zbliżona zarówno morfologicznie jak i molekularnie do synaps człowieka jest synapsa nerwowo-mięśniowa u myszy, która znacząco różni się od tych u bezkręgowców.

OGRANICZENIE:

Wielkość grup eksperymentalnych została ustalona w oparciu o wcześniejsze doświadczenie pracy z myszami oraz na podstawie wytycznych statystycznych. W naszych doświadczeniach planujemy wykorzystać jak najmniejszą liczbę zwierząt, zatem ze względu na łagodną kategorię inwazyjności czynności 1 oraz 2 Procedury 1, a także czynności 1, 2 oraz 3 Procedury 2 użyjemy tych samych osobników do dwóch (Procedura 1) lub trzech (Procedura 2) różnych testów. Zaplanowane eksperymenty wykonamy na jak najmniejszej liczbie zwierząt, ale wystarczającej aby uzyskać istotne statystycznie wyniki.

UDOSKONALENIE:

W testach behawioralnych użyjemy procedur, czynności które zapewnią jak największy komfort i bezpieczeństwo dla zwierzęcia. Do klatek domowych zwierząt dodawane będą przedmiot wzbogacające środowisko, umożliwiające budowę gniazda i zabawę. Automatyczny zapis wyników testów Otwartego Pola oraz testu Uniesionego Labiryntu Krzyżowego ograniczy kontakt badacza ze zwierzęciem, a co za tym idzie zminimalizuje stres myszy. Z uwagi na zachowanie dobrej ogólnej kondycji i stanu zdrowia zwierzęcia uwzględnimy przynajmniej 7 dniową przerwę pomiędzy przeprowadzonymi testami. Wszystkie doświadczenia będą przeprowadzone przez doświadczonych badaczy z jak największą dbałością o komfort zwierząt.

