

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Rola cząsteczek miRNA w regulacji pobierania pokarmu.”

2. Czas trwania projektu 5 lat

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) miRNA, mysz, otyłość, Dicer, Cas9

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.

microRNA (miR) to grupa cząsteczek regulatorowych biorących udział w potranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów, a zmiany ich poziomu mogą w konsekwencji prowadzić do zaburzeń ekspresji szeregu białek. Głównym celem opisywanego projektu jest zbadanie wpływu wyselekcjonowanych cząsteczek microRNA w kontekście zaburzeń łaknienia, z wykorzystaniem transgenicznych modeli zwierzęcych. Linie myszy, które planujemy wykorzystać w projekcie pozwolą nam na podjęcie kwestii regulacji pobierania pokarmu przez miR w dwojaki sposób – poprzez ich usuwanie oraz poprzez ich dostarczanie w opisanym wcześniej modelu z usuniętą całkowitą pulą miR. Takie podejście badawcze pozwoli na uzyskanie wiarygodnych wyników, wskazujących na konkretne cząsteczki miR. Wyniki takich badań mogłyby zostać w przyszłości wykorzystane w terapii zaburzeń pobierania pokarmu, np. anoreksji.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W

DOŚWIADCZENIU

Gatunek/Szczep: mysz transgeniczna: Dicer1^{CaMKCreERT2}, C57BL/6N, Liczba: 120 osobników (obie płcie)

Gatunek/Szczep: mysz transgeniczna: CRISPRCas9/CreERT2, C57BL/6N 120 osobników (obie płcie)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Refinement (udoskonalenie) - Podczas eksperymentów zwierzętom zapewniamy warunki jak najbardziej zbliżone do naturalnych aby efektywnie zmniejszyć odczucie stresu. Myszy przebywają w cichych pokojach z ograniczonym dostępem dla personelu. Klatki zapewniają stały dostęp do pożywienia i wody, zaopatrzone są w domki oraz suchą ściółkę regularnie zmienianą. Przed wykonywaniem operacji lub drobnych zabiegów, zwierzęta są poddane znieczuleniu ogólnemu. Do anestezji stosowana jest mieszanka ketaminy-medetomidyny. Po uśpieniu podskórnie podawany jest lek przeciwbólowy (butamidol) oraz antybiotyk i lek przeciwzapalny (tolfedine, baytril). Dodatkowo w trakcie i po operacji na ranę podawana jest lidokaina (środek miejscowo znieczulający). Do wybudzania zwierząt z narkozy stosowany jest rewerter (środek znoszący działanie uspokajające medetomidyny). W celu minimalizacji liczby zgonów z powodu wychłodzenia, w trakcie trwania zabiegu i po jego zakończeniu, zwierzęta są przetrzymywane na płytce grzejnej do całkowitego wybudzenia. Następnie są odkładane do klatek domowych o wzbogaconym środowisku umożliwiającym budowę gniazda i zabawę (chusteczki, drewniane belki, hamaki, rolki od papieru). Zwierzęta przetrzymywane są w przezroczystych klatkach, umożliwiającym kontakt wzrokowy z innymi osobnikami.

Replacement (zastąpienie) – W celu uzyskania rzetelnych wyników niezbędne jest przeprowadzenie eksperymentu in vivo ponieważ badania na hodowlach in vitro nie są w stanie odzwierciedlić wszystkich czynników występujących w żywym organizmie. Model zwierzęcy jest niezbędny do zaobserwowania zmian behawioralnych po przeprowadzonych modyfikacjach np. mutacji genu. Do hodowli komórkowych ograniczamy się w momencie, gdy sprawdzamy prawidłowe działanie wektorów wirusowych, zanim wprowadzimy je do żywego organizmu.

Reduction (ograniczenie) – Do eksperymentu zostanie wykorzystana minimalna liczba zwierząt niezbędna do uzyskania wiarygodnych wyników. Po zakończeniu doświadczenia zwierzęta zostaną poddane humanitarnej procedurze eutanazji redukującej stres i uczucie bólu.

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