

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Rola neogeniny-1 i netryny-1 w niszy szpikowej hematopoetycznych komórek macierzystych.
2. Czas trwania projektu: 23 miesiące
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): neogenina-1, netryna-1, nisza, szpik, LT-HSC
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.

Do prawidłowego przebiegu procesu hematopoezy niezbędne jest specyficzne środowisko jakim jest nisza szpikowa. Szpik kostny jest miejscem powstawania wszystkich komórek krwi w organizmie. Na szczycie hierarchii znajdują się hematopoetyczne komórki macierzyste (HSC), których rolą jest utrzymanie i regeneracja wszystkich składników krwi. Lata badań umożliwiły izolację długożyjących hematopoetycznych komórek macierzystych (LT-HSC) stanowiących podzbiór komórek HSC zdolnych do odtwarzania populacji komórek szpiku po napromieniowaniu biorców mysich w modelach seryjnych przeszczepów. W poprzednich badaniach zidentyfikowano swoiste markery charakteryzujące LT-HSC: Hoxb5 oraz Neogeninę-1 (Neo-1).

Oprócz hematopoetycznych komórek macierzystych i pozostałych komórek krwi oraz układu

odpornościowego w skład mikrośrodowiska szpiku kostnego wchodzi także inne typy komórek, m.in. komórki mezenchymalne i komórki budujące naczynia krwionośne, w tym komórki śródbłonna (EC). Komórki mezenchymalne oraz śródbłonkowe w szpiku kostnym posiadają na swojej powierzchni cząsteczki, w tym Netrynę-1 (Ntn-1) podejrzewaną o rolę liganda dla Neo-1 co wydaje się kluczowym czynnikiem w szlaku sygnalizacyjnym prowadzącym do starzenia się komórek HSC oraz podczas reakcji na stres mieloablacyjny u młodych osobników.

Celem projektu jest zbadanie oddziaływań w szlaku sygnalizacyjnym pomiędzy białkami: Neo-1 znajdującym się na powierzchni komórek LT-HSC oraz Ntn-1, stanowiącym jej ligand i znakującym komórki śródbłonna naczyń krwionośnych w szpiku kostnym oraz sprawdzenie wpływu tych oddziaływań na niszę szpikową.

Zaplanowane doświadczenia umożliwią dokładniejsze poznanie wpływu środowiska niszy szpikowej na funkcjonowanie komórek macierzystych krwi. Jest to kluczowe dla opracowania lepszych strategii terapeutycznych w walce z jednostkami chorobowymi w układzie krwiotwórczym, w tym z nowotworami krwi.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

180 myszy domowych (*Mus musculus*)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zasada zastąpienia:

Przewidywany projekt, wyklucza inne metody badawcze mogące zastąpić wykorzystanie zwierzęcia kręgowego. Ze względu na zaangażowanie różnych komórek niszy szpiku kostnego w badane interakcje nie jest możliwe wykonanie proponowanych badań w układzie *in vitro* ani na zwierzętach

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

bezkręgowych,

Podczas opracowywania planu doświadczeń dokonano przeglądu aktualnej literatury. Zgromadzone podczas opracowań eksperymentów dane naukowe ze wskazanych źródeł potwierdzają brak prób określenia roli oddziaływań białek komórek LT-HSC oraz śródbłónka: Neogeniny-1 oraz Netryny-1 na funkcjonalność szpiku kostnego oraz brak innych metod pozwalających zastąpić wykorzystanie zwierząt w przedstawionym układzie badawczym.

Zasada ograniczenia:

Podczas planowania przebiegu doświadczeń dobrano zwierzęta w zbliżonym wieku i masie ciała oraz tej samej płci, w ilości minimalnej pozwalającej na zapewnienie istotności statystycznej uzyskanych wyników, a ich przebieg został opracowany w oparciu o wcześniejsze wyniki. Dobrano odpowiednie szczepy myszy oraz zminimalizowano liczbę grup kontrolnych w analizowanych grupach eksperymentalnych.

Zasada udoskonalenia:

Posiadane, nowoczesne zaplecze badawcze pozwala na efektywną izolację i sortowanie niewielkich ilości komórek rzadkich populacji szpiku kostnego przy maksymalnym ograniczeniu wymaganej liczby zwierząt laboratoryjnych. Posiadane przez członków zespołu kwalifikacje dodatkowo minimalizują stres, ból i dyskomfort odczuwany przez zwierzęta oraz skracają czas trwania procedur. Zaplecze badawcze wyposażone jest także w pomieszczenia przeznaczone do hodowli zwierząt w warunkach SPF (ang. Specific Pathogen Free) w klatkach indywidualnie wentylowanych zapewniając dobrostan zwierząt.

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.