

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu

Analiza wpływu inaktywacji białek APP, APLP2, PSEN2 oraz podwyższonej ekspresji białka APP na proliferację prekursorów neuronów w nabłonku węchowym myszy.

2. Czas trwania projektu: 01-08-2019 do 31-07-2024

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) neurodegeneracja, układ węchowy, białko APP, białka amyloidowe, EdU

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 planowanego doświadczenia jest zbadanie *in vivo* czy zmiany poziomu białek amyloidowych lub sekretazy PSEN2 (która działa na białka amyloidowe) wpływają na proliferację prekursorów neuronów linii węchowej w układzie węchowym myszy. W tym celu zaplanowano doświadczenia polegające na znakowaniu metabolicznym myszy poprzez podanie im do jamy otrzewnej nietoksycznego fluorescencyjnego analogu nukleotydu tyminy. Procedurę zaplanowano minimalizując ból oraz cierpienie zwierząt, gdyż wykonany zostanie tylko pojedynczy nastrzyk około 40-70 mikrolitrów roztworu cienką, sterylną igłą insulinową trwający maksymalnie 1-2 sekundy. Celem doświadczenia jest zbadanie 4 różnych linii myszy i porównanie wyników do myszy kontrolnych. Na jeden punkt pomiarowy zaplanowano wykorzystanie 5 myszy, co jest liczbą minimalną lecz umożliwiającą już uzyskanie wiarygodnych wyników przy poziomie istotności 0,05. Sumarycznie zostanie

wykorzystanych 40 myszy.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mus musculus, mysz laboratoryjna – 40 sztuk (samce), dominujące tło genetyczne C57BL/6, myszy niemodyfikowane genetycznie oraz modyfikowane genetycznie.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

W planowanej procedurze zamierzamy uwzględnić zachowanie zasady 3R. Zaletą naszej procedury jest zastosowanie jedynie pojedynczej iniekcji za pomocą jednorazowej, sterylnej i cienkiej igły typu „insulinówka”. Standardowe procedury znakowania metabolicznego DNA w dzielących się komórkach wymagały najczęściej wielokrotnych iniekcji bromodezoksyurydyny (BrdU). Zamiast BrdU wykorzystamy inny analog tyminy, mianowicie etynylodezoksyurydynę (EdU) która wymaga jedynie pojedynczej iniekcji, co znacznie ograniczy ból i cierpienie zwierząt. Liczba wykorzystanych myszy również jest ograniczona do minimum, gdyż przewiduje się użycie jedynie 6 myszy na punkt pomiarowy. Taka liczba jest niezbędna do uzyskania wiarygodnych statystycznie wyników po zliczeniu badanych komórek w mikroskopie fluorescencyjnym. Badań tych nie można przeprowadzić *in vitro* z uwagi na specyfikę sieci neuronalnej oraz połączeń pomiędzy neuronami w tejże sieci. Od wielu lat wiadomo, że neurony nie odtwarzają prawidłowych połączeń synaptycznych gdy są hodowane *in vitro*, często nawet trudno odróżnić aksony od dendrytów w takich hodowlach. Dlatego lokalizacja i ekspresja wielu białek *in vitro*, a co za tym idzie czasami też i funkcje, nie są identyczne z sytuacją *in vivo*. W związku z tym doświadczenia te należy przeprowadzić w modelu zwierzęcym. Mysz jest najlepszym wyborem gdyż wiadomo, że badania przeprowadzane na bezkręgowcach w zakresie funkcji białek amyloidowych są zbyt mało miarodajne w odniesieniu do człowieka, ze względu na duże różnice fizjologiczne. Mysz domowa choć też jest kompromisem, jest ewolucyjnie i fizjologicznie znacznie bardziej zbliżona do człowieka niż np. muszka owocowa *Drosophila*. W naszym badaniu wykorzystamy jedynie minimalną liczbę myszy umożliwiającą uzyskanie miarodajnych wyników.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

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

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

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