

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Rola kanonicznej ścieżki sygnalizacyjnej BMP w homeostazie komórek macierzystych mieszków włosowego oraz otaczającej je niszy**

2. Czas trwania projektu 01.07.2019- 01.07.2024

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) komórki macierzyste, BMP, mieszek włosowy, nisza, dermal papilla

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.

Komórki macierzyste mieszków włosowych, (hfSCs, ang. *hair follicle Stem Cells*) zlokalizowane są w uwypukleniu każdego mieszków włosowego i wykazują potencjał do regeneracji naskórka, gruczołów łojowych i samego mieszków włosowego. Zachowanie tych komórek macierzystych jest ściśle regulowane przez utrzymywanie wewnętrznego bilansu pomiędzy różnymi ścieżkami sygnałowymi. Kiedy aktywacyjny potencjał ścieżek sygnałowych przeważa nad hamującymi, powoduje to pobudzenie uśpionych komórek macierzystych i regenerację włosa. Nasze poprzednie badania pokazały, że przedłużona aktywacja ścieżki BMP (ang. *Bone Morphogenetic Protein*) powoduje zahamowanie

pobudzenia hfSCs, natomiast jej wyciszenie szybką aktywację hfSCs. W tym projekcie interesuje nas określenie profilu ekspresji genów zaangażowanych w tę szybką aktywację (RNA-seq, głębokie sekwencjonowanie RNA), z wyróżnieniem różnych obszarów mieszkła włosowego w obrębie niszy. Zamierzamy włączyć do naszych eksperymentów genetycznie zmodyfikowane myszy typu dTg (ang. *double transgenic*), u których receptor BMP będzie okresowo lub permanentnie aktywowany po podaniu karmy z doksycykliną, z jednoczesnym przyżyciowym wyznakowaniem regionu uwypuklenia mieszkła włosowego przez ekspresję białka zielonej fluorescencji (GFP, ang. *Green Fluorescent Protein*). Obecność białka GFP pozwoli na izolację hfSCs wykorzystując technikę aktywnego sortowania komórek FACS (ang. *Fluorescence Activated Cell Sorting*). Ponadto w celu selekcji osobników o najsilniejszym fenotypie planujemy wykorzystać zwierzęta, które będą traktowane doksycykliną od stadium embrionalnego. Długoterminowym celem badawczym projektu jest zrozumienie na poziomie molekularnym, jak cykl regeneracyjny włosa jest regulowany, aby można było zastosować tę wiedzę w medycynie regeneracyjnej. Wiedza ta może mieć również szersze implikacje np. w terapii skórnych nowotworów.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Łączna liczba zwierząt zaplanowana w przedstawionym wniosku wynosi 244.

Modelem zwierzęcym w przedstawionym wniosku jest *Mus musculus* (Mysz domowa).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zasadę 3R wprowadzimy do naszego projektu w następujący sposób:

Zastąpienie: Hodowla komórek *in vitro* jest jedną z możliwości zastąpienia wykorzystania żywych zwierząt w projekcie. Z powodu stopnia złożoności budowy i warunków panujących w niszy komórek macierzystych w mieszkach włosowych, nie jest możliwe zastąpienie żywych organizmów hodowlą komórkową *in vitro*. Organizmy bezkręgowce o mniejszym stopniu wrażliwości i świadomości także nie odzwierciedlają realnych przemian biochemicznych zachodzących w skórze ssaków podczas regeneracji.

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

Starano się dobrać konieczne do przeprowadzenia czynności w taki sposób, aby cierpienie zwierząt było jak najmniejsze czyli podawanie substancji w karmie.

Redukcja: Podjęto kilka kroków mających na celu zminimalizowanie ilości zwierząt wykorzystanych w projekcie. Hodowla będzie prowadzona przez wykwalifikowaną i doświadczoną osobę w taki sposób aby otrzymać potrzebną liczbę osobników o pożądanym genotypie w optymalny sposób. Wykorzystanie osobników homozygotycznych pod względem wszystkich transgenów sprawia, że wszystkie zwierzęta potomne również będą je posiadać. Planujemy również pobierać tkanki oraz narządy od zwierząt użytych w eksperymencie do innych badań prowadzonych przez nasz zespół. Planowana liczba zwierząt jest wystarczająca aby dostarczyć wiarygodnych wyników, które pozwolą na rzetelną analizę statystyczną. Zmniejszenie liczby zwierząt w grupach wiąże się z ryzykiem otrzymania zbyt małej ilości danych, które mogą być nieistotne statystycznie.

Doskonalenie: W proponowanych doświadczeniach użyjemy procedur, czynności które zapewnią jak największy komfort i bezpieczeństwo dla zwierzęcia. Osoby biorące udział w projekcie przeszły odpowiednie szkolenie z zakresu opieki nad zwierzętami i przeprowadzania procedur oraz posiadają one co najmniej jednoroczny staż pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi. Ponadto posiadamy w zespole osoby, które przysły kurs dodatkowy przeznaczony dla osób sprawujących opiekę nad zwierzętami oraz osób nadzorujących opiekunów. Do klatek domowych zwierząt dodawane będą przedmiot wzbogacające środowisko, umożliwiające budowę gniazda i zabawę.

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.