

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Karakterizacija kandidat gena za kongenitalne anomalije bubrega i urotrakta (CAKUT) tijekom razvoja u miša i čovjeka		
Trajanje projekta	48 mjeseci		
Ključne riječi (najviše do 5)	genski izražaj, bubreg, urotrakt, miš		
	Svrha projekta (kao u članku 5. Pravilnika):		
	Temeljno istraživanje	da	ne
	Translacijska i primijenjena istraživanja	da	ne
	Korištenje određeno propisima i rutinska proizvodnja	da	ne
	Zaštita prirodnog okoliša u interesu zdravlja ili dobrobiti čovjeka ili životinje	da	ne
	Očuvanje vrste	da	ne
	Visoko obrazovanje ili osposobljavanje	da	ne
	Forenzička ispitivanja	da	ne
	Održavanje kolonije genetski izmijenjenih životinja koje se ne koriste u drugim postupcima	da	ne
Opišite ciljeve projekta (na primjer, znanstvene nepoznanice ili znanstvene ili kliničke potrebe).	Kongenitalne anomalije bubrega i mokraćnog sustava (CAKUT) u 40-50% pedijatrijskih bolesnika dovode do krajnjeg stadija zatajenja bubrega. Cilj ovog projekta je istraživati profil vremenskog-prostornog izražaja i ko-lokaliziranje kandidat gena za CAKUT u različitim fazama embriogeneze usporediti markere nefrogeneze i razvoja uretera kako bi se okarakterizirali funkcionalni učinci kandidat gena za CAKUT u razvoju mokraćnih puteva, identificirali disregulacijski putevi i na kraju osmislili novi dijagnostički alati i terapijske strategije za taj učestali oblik zatajenja bubrega.		
Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (kako znanost može biti unaprjeđena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta).	Znanstveni doprinos ovog istraživanja je karakteriziranje izražaja gena u bubrezima i urotraktu, kako bi se osmislili novi dijagnostički alati i terapijske strategije za taj učestali oblik zatajenja bubrega.		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	1120 miševa soja C57BL/6 genetski modificiranih i divljeg tipa. Ukupno će se u pokusu uzgojiti 1120 životinja i to na način da je će se od E15-P4 stadija žrtvovati: 240 Homozigota (25%), 480 Heterozigota (25%) i 240 Divlji tip (50%) koji će se koristiti u pokusu, dakle 960 embrija i postnatalnih miševa. Zatim će se uzeti uzorci tkiva nakon žrtvovanja životinja starosti 1. mjesec, 3. mjeseca, 6. mjeseci i 12. mjeseci, dakle ukupno će se žrtvovati: 160 odraslih miševa (Homozigota 40, Heterozigota 80, Divljeg tipa (300 embrija i 150 postnatalnih miševa). Koristit će se životinje svih uzrasta i oba spola.		
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Kandidat gen koji će se uzeti za konstruiranje genetski modificiranog miša do sada nije istraživao. Prema planiranom protokolu očekujemo da će se kod životinja razviti blagi do umjerene štetni fenotip koji oponaša kongenitalne anomalije bubrega i urotrakta kod ljudi. S obzirom da se fenotip pojavljuje u nekom momentu tijekom embrionalnog razvoja i postnatalno, skupljati će se embrionalni i postnatalni uzorci. Vremenski gravidne mišice će biti žrtvovane cervikalnom dislokacijom (za kolekciju embrija od E8-E21), a embrionalni i postnatalni miševi od prvog do četvrtog dana P0-P4 će biti žrtvovani dekapitacijom. Raditi će se i uzimanje komadića repa za genotipiziranje, koji se prema pravilniku klasificiraju kao lagani za sve životinje. Očekivane ciljeve istraživanja nije moguće postići drugim metodama.		
Primjena načela 3R			
1. Zamjena	Nema alternative korištenju živih životinja, jer niti jedna stanična linija ili kombinacija poznatih staničnih linija ne može reproducirati razvoj bubrega i mokraćnog sustava. Korištenje miša koji nosi nokaut gen ili transgensku ekspresiju vektor, je standard na području koje je do sada		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

životinje.	u nefrologiji iznjedrilo najviše spoznaja. Miševi soja C57Bl.6 su standardni životinjski model koji se koriste u znanstvenim istraživanjima te bi izbor bilo koje druge vrste ili soja ugrozio usporedivost rezultata.
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	Za svaki pokus izračunat je minimalni broj životinja koji daje prihvatljivu statističku snagu, temeljem prethodnih istraživanja. Na taj način osigurava se korištenje minimalnog broja životinja koji jamči snagu studije i pouzdanost dobivenih rezultata, a bez potrebe za ponavljanjem pokusa. Tijekom pokusa prikupiti će se banka tkiva drugih organskih sustava kako bi se izbjeglo ponavljanje pokusa što će ubuduće smanjiti broj životinja koje se koriste.
3. Poboljšanje Objasniti izbor vrsta i zašto su korišteni životinjski modeli primjereniji od drugih, uzimajući u obzir znanstvene ciljeve. Objasniti opće mjere koje će se poduzeti kako bi se smanjile štete za životinje.	Miševi soja C57Bl.6 predstavljaju standardni model eksperimentalnih životinja koje se koriste u znanosti. Na taj način osigurana je usporedivost rezultata. Postupke će provoditi iskusna obučena osoba. Postupci žrtvovanja će se provesti dekapitacijom ili cervikalnom dislokacijom sukladno preporukama. Životinje će se čuvati u kavezima s obogaćenom okolinom. Gore navedeno smanjit će varijabilnost na najmanju mjeru te doprinijeti smanjenju broja upotrijebljenih životinja.