

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Varijacije u broju kopija uzrokovane okolišem u stanicama mišje sperme		
Trajanje projekta	Veljača 2020 - veljača 2025		
Ključne riječi (najviše do 5)	varijante broja kopija; CNVs; sekvenciranje pojedinačnih stanica; genomika; C57BL/6		
	Svrha projekta (kao u članku 5. Pravilnika):		
	Temeljno istraživanje	da	
	Translacijska i primijenjena istraživanja		ne
	Korištenje određeno propisima i rutinska proizvodnja		ne
	Zaštita prirodnog okoliša u interesu zdravlja ili dobrobiti čovjeka ili životinje		ne
	Očuvanje vrste		ne
	Visoko obrazovanje ili osposobljavanje		ne
	Forenzička ispitivanja		ne
	Održavanje kolonije genetski izmijenjenih životinja koje se ne koriste u drugim postupcima		ne
Opišite ciljeve projekta (na primjer, znanstvene nepoznanice ili znanstvene ili kliničke potrebe).	Dosadašnje CNV studije se uglavnom temelje na populacijskim genomskim analizama koje nisu u stanju detektirati de novo varijante sve dok one nisu prisutne u populaciji u visokoj frekvenciji. Stoga se utjecaj okoliša može spekulirati samo za varijante koje su manje ili više fiksirane u određenoj populaciji. Također, ove analize, kao i analize obitelji, se redovito rade na diploidnim genomima iz somatskih tkiva, prilikom čega je nejasan broj kopija pojedinog alela. To onemogućava točne procjene učestalosti varijanti i brzine mutacija, povezivanje specifičnih varijanti s bolestima i poremećajima i detekciju utjecaja okolišnih čimbenika. Nadalje, gotovo ništa se ne zna o tome u kojoj mjeri okolišni faktori ubrzavaju stopu mutacija CNVs i utječu na genomski sadržaj u gametama sisavaca. Kako bi se prevladali ovi problemi, ovdje predloženo istraživanje će ispitati utjecaj nekoliko okolišnih čimbenika na frekvenciju CNVs u pojedinačnim spermijima. Osim toga, pomoću sekvenciranja i analize transkriptoma, ispitat ćemo mogu li jaki transkripcijski odgovori na okolišne čimbenike tijekom spermatogeneze stimulirati varijacije broja kopija na induciranim regijama putem replikacijskog stresa.		
Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (kako znanost može biti naprijeđena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta).	Procijenit će se frekvencija varijanti vezanih za specifične okolišne uvjete, od kojih su mnogi povezani s kompleksnim poremećajima, te će tako rezultati doprinijeti razumijevanju nastanka bolesti koje su povezane s genomskim poremećajima. Mišji soj koji će se koristiti u ovom istraživanju jedan je od glavnih genetičkih i biomedicinskih modela, pa se očekuje da će rezultati biti primjenjivi na ljude. Predloženi projekt predstavlja originalan pristup u istraživanju brzine CNVs mutacija, s potencijalom za dosad najvišu osjetljivost de novo CNV detekcije i razlučivanja interakcija između okoliša i genoma.		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	mišji soj C57BL/6, 66 životinja u pokusnim skupinama i 24 u kontrolnim skupinama		
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Očekivani negativan učinak je blagi kronični stres. U nekim pokusima ne očekuju se negativni učinci (obogaćeni okoliš i olfaktorni podražaji).		
Primjena načela 3R			
1. Zamjena	Buduci da je glavni cilj projekta istražiti promjene u genomu reproduktivnih stanica koje su uzrokovane različitim okolišnim		
Navedite zašto se moraju koristiti			

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	čimbenicima uključujući blagi kronični stres i fiziološke promjene u organizmu tijekom spermatogeneze, ne postoji prikladni <i>in vitro</i> ili <i>in silico</i> model koji bi zamijenio pokuse na životinjama.
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	Broj životinja u ovim pokusima bit će maksimalno reduciran budući da predložena istraživanja uključuju samo manji broj okolišno relevantnih čimbenika. Kako bi se broj životinja u kontrolnoj skupini sveo na najmanji mogući broj, pokusi će biti provedeni istovremeno gdje god to bude moguće. Broj životinja po skupini je 6 što je minimalan broj bioloških replikata potreban za kvalitetne analize diferencijalne ekspresije gena.
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.	Postoji nekoliko prednosti korištenja C57BL/6 soja kao modelnog organizma za ovo istraživanje: minimalna varijacija alela unutar pojedine životinje, minimalna genetička varijacija između jedinki i visoka kvaliteta referentnog genoma što je bitan preduvjet za genomske analize visoke rezolucije. Životinje se drže u visoko standardiziranim uvjetima prilagođenim životinjskoj vrsti u Pogonu laboratorijskih životinja koji je licenciran od strane Ministarstva poljoprivrede RH. Pokuse na životinjama će obavljati visoko obučene osobe s dugogodišnjim iskustvom u radu s animalnim modelima.