

AQP1 és AQP4 génkiütött egerek tenyésztése

Jelen projekt célja a sejtekben előforduló vízcsatornák, más néven aquaporinok (AQP-ok) szerepének tisztázása a nyelőcsövet érintő megbetegedésekben. Az emberben 13 különböző vízcsatorna található, melyek alapvető szerepet játszanak a szervezet normál működésének a fenntartásában azáltal, hogy szabályozzák a víz mozgását a szervezeten belül. Újabb kutatási eredmények egyre nagyobb szerepet tulajdonítanak ezen csatornáknak a különféle betegségek kialakulásában. Munkánk fő célja, hogy megvizsgáljuk, hogy a vízcsatornák szerepet játszanak-e a Barrett nyelőcső kialakulásában. A Barrett nyelőcső a hosszú időn át fennálló nyelőcső reflux következménye. A betegség nem feltétlenül okoz tüneteket, azonban többszörösére emeli a nyelőcsőrák kialakulásának a kockázatát, mely világszerte a hatodik vezető halálok a rákos megbetegedésekben. A Barrett nyelőcső kialakulásában szerepet játszó faktorok nem teljesen ismertek, illetve nem tudjuk, hogy melyek azok a folyamatok, amik hatására nyelőcső rák alakul ki Barrett-ben. A legújabb kutatások arra irányulnak, hogy olyan jelző molekulákat, vagy másnéven biomarkereket azonosítsanak, amelyek segítségével meg lehet jósolni, hogy a Barrett nyelőcső továbbfeljődik-e nyelőcső rákká és ezáltal még korai stádiumban be lehet avatkozni. Ehhez nagyon nagy segítséget nyújtanak olyan állatmodellek, melyekben az adott marker molekula genetikai módosítás következtében hiányzik („knock out” (KO) állattörzs) és ezáltal tisztázni lehet a szervezetben betöltött szerepét. Jelen projektbe az 1-es (AQP1) illetve a 4-es (AQP4) vízcsatorna szerepét szeretnénk vizsgálni. Azért esett a választásunk erre a két vízcsatornára, mert ezekből rendelkezésre áll genetikailag módosított állattörzs, valamint előkísérleteink azt mutatták, hogy ezek a csatornák szerepet játszhatnak a nyelőcsőrák kialakulásában. Ezért jelen pályázat célja az AQP1 és AQP4 genetikailag módosított egértörzs tenyésztése iránti kérelem engedélyeztetése. Kísérleteink során, az állatok tenyésztése alatt folyamatosan törekszünk a 3R-elveinek betartására. A csökkentés (reducement) elvében előre alaposan kiszámolt állatszámokat alkalmazunk. A kísérleti állatok helyettesítését (replacement) kereskedelmi forgalomban kapható sejtvonalak felhasználásával tervezzük megoldani azoknál a kísérleteknél, ahol ez megoldható. A finomítás (refinement) elvének értelmében az állatkísérletek a minimális ideig, optimális körülmények között tartott állatokon, a megfelelő képzettséggel és végzettséggel rendelkező kutatók végzik. A kísérletben az állatokat folyamatos megfigyelés alatt tartjuk, emellett tartási körülményeik naplózásra kerülnek.

A szaporítási stratégiáról jegyzőkönyvet tervezünk vezetni. Az állatokat minimum hathetes korukban fülszámokkal jelöljük meg, ami nem befolyásolja az állat életvitelét és társas tevékenységeit. A fülszámrendszerrel való azonosítás során az állatot stabilan tartva, a rozsdamentes acélból készült fülszámot fülszámfogó-eszköz segítségével behelyezzük az állat egyik fülének cimpájába. Genotípusukat minimális fájdalommal járó, invazív genotipizálással tervezzük meghatározni. A művelet közben az állatot, stabilan tartva, az állat farkából a farokvégtől számítva ~3mm-es mintát metszünk le lefertőtlenített ollóval. A farkmintákból DNS-t tisztítunk és ezt használjuk fel a genotipizáláshoz.

A projekt-ben az AQP1 és AQP4 KO utódokat további vizsgálatokra tervezzük felhasználni, mely során az érintett vízcsatornák szerepét tervezzük tanulmányozni nyelőcsőben. Ennek megfelelően, jelen pályázat pozitív elbírálása esetén, külön kérelmet tervezünk benyújtani az AQP KO egereken történő további kísérletek elvégzésére.

Jelen projektben, a kísérlet teljes időtartamára tervezett, felhasználni kívánt kalkulált állatszám a két törzsre nézve: AQP1: 544, AQP4: 544.