

Plan Overview

A Data Management Plan created using DMPTool-Stage

DMP ID: <https://doi.org/10.48321/D1PC7M>

Title: Espermatoônias tronco de zebrafish, Danio rerio: Caracterização funcional e regulação pelo Fsh (hormônio folículo estimulante)

Creator: Beatriz Marques de Souza - **ORCID:** [0000-0003-1273-1479](https://orcid.org/0000-0003-1273-1479)

Affiliation: São Paulo State University (unesp.br)

Principal Investigator: Rafael Henrique Nóbrega

Contributor: Lucas Benites Doretto, Ivana Felipe da Rosa

Funder: São Paulo Research Foundation (fapesp.br)

Funding opportunity number: 2019/22702-3

Grant: 2019/22702-3

Template: Digital Curation Centre

Project abstract:

As espermatoônias tronco são as células da linhagem germinativa masculina responsáveis por manter o processo espermatogênico a partir de ciclos de auto- renovação e diferenciação celular durante a vida reprodutiva masculina. Apesar de importantes, à caracterização molecular destas células é ainda incipiente na maioria dos vertebrados, incluindo os peixes teleósteos. Neste sentido, o projeto anterior desenvolvido pela aluna (FAPESP 2018/17111-3), caracterizou alguns marcadores de espermatoônias tronco de zebrafish com anticorpos específicos para a espécie por meio de Western Blot (WB) e imunofluorescência (IF). Nossos resultados demonstraram que os marcadores de pluripotência Pou5f3, Nanog e Nanos3 são preferencialmente expressos em espermatoônias indiferenciadas. A medida que estas células diferenciam, a expressão destes marcadores diminui, chegando a níveis não detectáveis, como em espermátócitos, espermátides e espermatozóides. Com base no exposto, esses anticorpos avaliados na etapa anterior fornecem subsídios para isolar espermatoônias tronco de zebrafish, vale mencionar que a seleção e o enriquecimento das espermatoônias tronco abrem inúmeras possibilidades a área biotecnológica, por exemplo, o transplante de espermatoônias tronco de espécies ameaçadas ou de interesse zootécnico para produção de espermatozóides em "barrigas de aluguel" (espécies receptoras). Além disso, o enriquecimento de espermatoônias tronco

auxiliará no desenvolvimento de organóides testiculares para o estudo da espermatogênese e toxicologia reprodutiva, assunto que também faz parte do projeto de Auxílio à Pesquisa do orientador (FAPESP no. processo 2020/03569-8). Desta forma, o presente projeto terá como objetivo: Selecionar as espermatogônias tronco de zebrafish por MACS (Magnetic Activated Cell Sorting) usando anticorpos de superfície (por exemplo Gfr α 1a); Validar as células selecionadas através da expressão de genes de pluripotência por qPCR e tentativa de desenvolvimento de organóides testiculares 3D com o uso das células selecionadas. Para atingir esses objetivos, técnicas de isolamento das células testiculares, seleção por MACS (Magnetic Activated Cell Sorting) e expressão de genes pluripotência: RT-qPCR e RT-PCR serão empregadas. Sendo assim espera-se que os resultados obtidos nesse projeto auxiliem na seleção, enriquecimento e expansão das espermatogônias tronco *in vitro*, bem como no desenvolvimento de organóides testiculares, considerando-se que esse modelo *in vitro* pode ser uma ferramenta perfeita para o estudo da espermatogênese em si, assim como são vantajosos para testes de toxicidade, possuindo inúmeros benefícios como a redução do número de animais a serem usados, a alta capacidade/eficiência na avaliação toxicológica de compostos, drogas, dentre outros. Os organóides podem ser de grande utilidade para compreender os mecanismos de ação destes agentes tóxicos no testículo, assim como os mecanismos epigenéticos induzidos por eles.

Start date: 05-31-2020

End date: 05-30-2022

Last modified: 08-07-2023

Copyright information:

The above plan creator(s) have agreed that others may use as much of the text of this plan as they would like in their own plans, and customize it as necessary. You do not need to credit the creator(s) as the source of the language used, but using any of the plan's text does not imply that the creator(s) endorse, or have any relationship to, your project or proposal

Espermatogônias tronco de zebrafish, *Danio rerio*: Caracterização funcional e regulação pelo Fsh (hormônio folículo estimulante)

- Selecionar as espermatogônias tronco de zebrafish por MACS (Magnetic Activated Cell Sorting) usando anticorpos de superfície (por exemplo Gfr α 1a);
- Validar as células selecionadas através da expressão de genes de pluripotência por qPCR;
- Tentativa de desenvolver organoides testiculares 3D com o uso das células selecionadas.

Os dados serão coletados a cada experimento e tabulados em planilhas do excel. A análise dos dados será realizada no software Graphpad.

Protocolos e notas detalhadas sobre cada experimento serão registrados nos cadernos de laboratório.

O projeto foi submetido ao comitê de ética no uso de animais (CEUA nº 1987150621 UNESP/BOTUCATU).

Os dados serão mantidos em sigilo até a publicação em periódicos indexados.

Todos os dados serão armazenados pelos pesquisadores principais na nuvem e em discos rígidos externos, com backups diários, e com acesso restrito à equipe de pesquisadores envolvidos no projeto. Além disso, os dados e metadados serão publicados por meio de plataforma disponibilizada pela UNESP, disponível em: <https://repositorio.unesp.br/>.

A UNESP será responsável por sua segurança por um período determinado. A UNESP disponibilizará a plataforma: <https://repositorio.unesp.br/>.

Todos os dados serão compartilhados e preservados.

Conjuntos de dados com valor de longo prazo serão preservados na nuvem e em discos rígidos externos.

Os dados serão compartilhados com a comunidade científica por meio da publicação em periódicos indexados.

Não há restrições legais ou éticas. No entanto, os dados serão mantidos em sigilo até a publicação em revistas indexadas.

Pesquisador principal, equipe de pesquisadores, UNESP.

O investigador principal manterá todas as atualizações dos dados, bem como os backups, podendo solicitar assistência técnica do setor de informática da UNESP / Botucatu.
