

**Zgłoszenie zagadnienia badawczego realizowanego
w Krakowskiej Interdyscyplinarnej Szkole Doktorskiej
w dyscyplinie nauki medyczne**

w Instytucie Farmakologii im. Jerzego Maja PAN

1	Nazwisko i imię promotora, tytuł/stopień naukowy, jednostka, adres e-mail	Grzegorz Kreiner, dr hab. n. med., Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, Zakład Biochemii Mózgu, kreiner@if-pan.krakow.pl
2	Nazwisko i imię promotora pomocniczego (opcjonalnie), jednostka, adres e-mail	Piotr Chmielarz, dr n. med., Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, Zakład Biochemii Mózgu chmiel@if-pan.krakow.pl lub Katarzyna Rafa-Zabłocka, dr n. med., Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, Zakład Biochemii Mózgu zablocka@if-pan.krakow.pl
3	Temat zagadnienia badawczego + krótki (do 250 słów) opis tematyki badawczej	<p>Badanie roli czynnika transkrypcyjnego Creb1 w układzie serotoninowym w mechanizmie działania wybranych leków przeciwdepresyjnych.</p> <p>Badania dotyczące roli czynnika transkrypcyjnego Creb1 w mechanizmach depresji i leków przeciwdepresyjnych (LPD) są obarczone wieloma artefaktami, a przez to w dalszym ciągu rola Creb1 w modulacji działania LPD pozostaje nierozstrzygnięta. Dotychczasowe badania często opierano o modele z częściową delecją Creb1, nie uwzględniając kompensacyjnej roli czynnika transkrypcyjnego Crem. Projekt będzie kontynuacją badań z wykorzystaniem posiadanego z Zakładzie modelu selektywnej delecji czynnika transkrypcyjnego Creb1 w rejonie jąder szwu (raphe nucleus, RN). Pierwsza część projektu będzie miała charakter metodyczny, zadaniem doktoranta będzie wprowadzenie dodatkowo selektywnej delecji Crem w rejonie RN, w oparciu o wykorzystanie systemu edycji genów CRISPR/Cas9. Na tak przygotowanym modelu zostaną wykonane badania behawioralne po podaniu trzech wybranych LPD oddziałujących na układ serotoninowy o odmiennym mechanizmie działania. Zabezpieczony post-mortem materiał zostanie poddany wnikliwym analizom immunohistochemicznym i molekularnym celem identyfikacji ścieżek molekularnych odpowiedzialnych za</p>

		<p>konkretne mechanizmy działania zależne od Creb1. W szczególności, zostanie zwrócona uwaga na wzajemną interakcję pomiędzy Creb1 a czynnikiem neurotroficznym Bdnf, zaangażowanym w mechanizmy depresji i LPD.</p> <p>Metodyka obejmie zarówno procedury in vitro (klonowanie, pierwotne hodowle neuronalne) oraz in vivo (praca z myszami transgenicznymi). W badaniach wykorzystane zostaną techniki manipulacji ekspresją genów (CRISPR/Cas9, wektory lentiwirusowe), mikroskopia: jasnego pola, fluorescencyjna i konfokalna, techniki analizy ekspresji mRNA i białka, operacje stereotaktyczne i testy behawioralne na zwierzętach.</p>
4	<p>Wymagania w stosunku do kandydata (wykształcenie, umiejętności/kursy)</p>	<p>1) Absolwent studiów II stopnia kierunków (lub równoważny) m.in.: biochemia, biotechnologia, farmacja lub neurobiologia.</p> <p>2) Silna motywacja do pracy naukowej z zachowaniem tzw. work/life balance, ale też uwzględniającej konieczność pracy w niestandardowych godzinach uwarunkowanych procedurami laboratoryjnymi.</p> <p>3) Bardzo dobra znajomość języka angielskiego w mowie i piśmie.</p> <p>4) Udokumentowana aktywność naukowa podczas studiów (np. staże krajowe i zagraniczne, członkostwo w kołach naukowych, publikacje).</p> <p>5) Mile widziane: znajomość technik immunohistochemicznych, mikroskopii, analizy obrazu mikroskopowego (w tym znajomość programów takich jak FIJI, CellProfiler, QuPath lub podobnych), doświadczenie w pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi (myszy), doświadczenie w metodach bioinformatycznych stosowanych dla analizy ekspresji genów, doświadczenie w prowadzeniu hodowli komórkowych w szczególności hodowli pierwotnych, znajomość technik klonowania molekularnego.</p> <p>6) Zaświadczenie o ukończeniu szkolenia dla osób uczestniczących w wykonywaniu procedur na zwierzętach. W przypadku braku certyfikatu o takim szkoleniu wymagana jest deklaracja o ukończeniu takiego szkolenia w ciągu 3 miesięcy od rozpoczęcia studiów doktoranckich.</p>
5	<p>Wskazanie możliwych źródeł i zakresu finansowania spoza subwencji, np. stypendium</p>	<p>Aktualnie brak. Planowane finansowanie projektu w ramach grantu NCN OPUS (planowane wystąpienie z wnioskiem grantowym przez promotora w czerwcu 2025), alternatywnie</p>

	<p>naukowego, kosztów badań, wyjazdów itp.</p>	<p>NCN Preludium. Doktorantka/doktorant uzyska pełne wsparcie dla złożenia wniosku NCN Preludium. Warto podkreślić, że Zakładzie Biochemii Mózgu granty tego typu były dotychczas zdobywane przez wszystkich doktorantów w latach 2020-2024 (mgr Justyna Barut, mgr Michał Wilczkowski, mgr Anna Alwani). Doktorant/doktorantka będzie aktywnie zachęcana do aplikowania o programy stypendialne na krótkie pobyty w zagranicznych ośrodkach badawczych.</p>

1	<p>Supervisor: name/surname, degree, affiliation, e-mail address</p>	<p>Grzegorz Kreiner, PhD, DSc, Maj Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences, 31-343 Krakow, Smętna Street 12, Poland, Department of Brain Biochemistry kreiner@if-pan.krakow.pl</p>
2	<p>Auxiliary supervisor (optional) affiliation, e-mail address</p>	<p>Piotr Chmielarz, PhD, Maj Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences, 31-343 Krakow, Smętna Street 12, Poland, Department of Brain Biochemistry, chmiel@if-pan.krakow.pl alternatively: Katarzyna Rafa-Zabłocka, PhD, Maj Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences, 31-343 Krakow, Smętna Street 12, Poland, Department of Brain Biochemistry, zablocka@if-pan.krakow.pl</p>
3	<p>Research subject title Short description, up to 250 words</p>	<p>Investigation of the role of the transcription factor Creb1 in the serotonergic neurons towards the mechanism of action of selected antidepressants.</p> <p>Studies on the role of the transcription factor Creb1 in the mechanisms of depression and antidepressants are burdened with many artifacts, and therefore the role of Creb1 in the modulation of their action remains unresolved. Previous studies have often been based on models with a partial Creb1 deletion, without taking into consideration the compensatory role of the Crem transcription factor. The project will be a continuation of our research based on exploitation of the model with selective deletion of the transcription factor Creb1 in the region of the raphe nucleus (RN). The first part of the project will be methodical, the task of the PhD student will be to introduce an additional selective Crem deletion in the RN region, based on the</p>

		<p>use of the CRISPR/Cas9 gene editing system and tools developed in the lab. Such model will be screened by behavioral tests upon administration of three selected antidepressants affecting the serotonin system, each with a different mechanism of action. The post-mortem material will be subjected to in-depth immunohistochemical and molecular analyzes to identify the molecular pathways responsible for specific Creb1-dependent mechanisms of action. In particular, attention will be paid to the interaction between Creb1 and the neurotrophic factor Bdnf, involved in the mechanisms of depression and antidepressants.</p> <p>The methodology will cover both in vitro (cloning, primary neuronal cultures) and in vivo (working with transgenic mice) procedures. The research will include gene expression manipulation techniques (CRISPR/Cas9, lentiviral vectors), bright-field, fluorescence and confocal microscopy, mRNA and protein expression analysis techniques, stereotactic operations and animal behavioral tests.</p>
4	<p>Additional requirements to the candidate (education, skills / courses)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1) MSc or equivalent, a graduate of biochemistry, biotechnology, pharmacy or neurobiology. 2) Strong motivation to work with respect to life/work balance but the successful candidate should expect also the work out of standard hours determined by the laboratory procedures. 3) Excellent knowledge of the English language (both spoken and written). 4) Documented scientific activity during BSc or MSc studies (e.g. internships, participation in scientific student's organizations, publications). 5) Preferred will be candidates who possess following laboratory skills: practical knowledge immunohistochemical techniques, microscopy, image analysis (FIJI, CellProfiler), in vitro cell culture specifically primary cultures, molecular cloning, bioinformatical tools for gene expression analysis, experience in work with laboratory animals (mice). 6) Certificate of completion of training for persons involved in the implementation of procedures on animals or declaration that such training will be completed within 3 months from the start of the studies.

5	Possible sources of financing, other than subsidy, e.g., scientific scholarship, research and travel costs, etc.	Currently none. Planned to be covered by NCN OPUS grant, alternatively NCN Preludium. Phd student will be also encouraged to apply for any other scientific exchange programs.
---	--	--

J. Kozłowski