

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569						
Název projektu pokusů						
Vývoj klinicky relevantních IL-2 imunoterapeutik pro léčbu nádorů						
Doba trvání projektu pokusů - v měsících		2021-2022				
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾		Myš, nádor; IL-2; MAB602; imunocytokin				
Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností						
☒	základní výzkum					
☒	translační a aplikovaný výzkum					
☒	legislativní účely a běžná výroba	kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)				
☒		jiné zkoušení účinnosti a tolerance				
☒		zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie				
☐		běžná výroba				
☐	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat					
☐	zachování druhů					
☐	vyšší vzdělávání					
☐	odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí					
☐	trestní řízení a jiné soudní řízení					
☐	udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech					
Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb						
Hlavním cílem je návrh, příprava a charakterizace rekombinantního imunocytokin (IC) skládající se z lidského IL-2 kovalentně připojeného k lehkému řetězci anti-hIL-2 mAb. Určíme jeho protinádorovou aktivitu v kombinaci s inhibitory kontrolních bodů imunitní reakce (αCTLA-4 mAb a/nebo αPD-1 mAb) nebo chemoterapií.						
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)						
Výsledky projektu mohou přispět ke zdokonalení léčby nádorových onemocnění a lepší poznání imunitního systému a mechanismů jeho fungování.						
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání						
Myši inbrední kmeny BALB/c, C57BL/6 a kongenní kmen B6 SJL, dále C3H/HeN nebo DBA/2 jsou vhodnými modely pro studium modulační imunitního systému a jeho odpovědi pomocí studovaných komplexů a IC na bázi IL-2 a MAB602 mAb. Myši imunodeficientní (např. athymické nu/nu myši) nebo geneticky modifikované (např. RAG2 KO nebo γc KO, tzv. SCID fenotyp; dále také např. IFN-γ KO) jsou vhodné pro hlubší pochopení mechanismu působení studovaných IC a imunokomplexů. Transgenické myši OT-I a OT-II mají na svých T buňkách uniformní receptor rozpoznávající definovaný antigenní peptid odvozený z kuřecího ovalbuminu; mohou být využity pro studium specifické imunitní odpovědi proti nádoru a její indukce/ovlivnění (lze využít nádorové buňky EL4 nebo B16-F10, které nesou daný antigenní epitop). Stáří myši na počátku pokusu bude od 8 do 16 týdnů. V letech 2021-2022 použijeme maximálně 1550 ks myši s ohledem na rozsáhlou fenotypizaci různých IC a imunokomplexů, respektive na nutnosti jejich rozsáhlého testování na myších a lidských nádorových modelech.						
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků						
Zvířata mohou pocítit déletrvající mírnou bolest a diskomfort způsobený indukci nádorového onemocnění či vlivem léčby - míra závažnosti střední. Eutanázie, předání kadaverů do kafilerního boxu a jejich odvoz asanačním službou.						
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu						
Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu		Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
			Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)		1550			x	
Zvolte položku.						
Zvolte položku.						
Zvolte položku.						
Zvolte položku.						
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena						
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					0	
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu					0	

Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu	0
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - <i>uvedte</i>	
<i>Zvířata jsou na konci pokusu usmrcena.</i>	
Uplatňování 3R	
Nahrazení používání zvířat - <i>uvedte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>	
<i>Alternativní metody nám neumožňují sledovat komplexnost imunitního systému a jeho dynamiku při modulaci testovanými IC a mAb v komplexu s IL-2. Některé dílčí experimenty na zvířatech (např. stanovení vlivu testovaných IC a mAb v komplexu s IL-2 na jednotlivé populace buněk v imunitním systému) budou nahrazeny experimenty in vitro, což umožní snížit potřebu pokusných zvířat.</i>	
Omezení počtu zvířat (reduction)	
<i>Experimentům bude předcházet důkladné studium již publikovaných vědeckých výsledků, aby se předešlo opakováním experimentů a nadměrné spotřebě zvířat. Zvířata budou používána v minimálních počtech, které umožní statistické vyhodnocení rozdílů mezi skupinami. Pokud to bude možné, tak budou sdíleny vzorky získané v experimentech. Analýzou většího počtu parametrů najednou (použití moderních, citlivých metod) docílíme další redukce potřebného počtu zvířat.</i>	
Šetrné zacházení se zvířaty (refinement)	
<i>Veškerá manipulace se zvířaty bude co nejohleduplnější a co nejméně narušující přirozené potřeby zvířat. Zvířata budou pravidelně kontrolována zkušenými experimentátory, budou držena ve skupinách a v případě zhoršení zdravotního stavu bude zvíře odebráno z pokusu, respektive v případě zásadních zdravotních dysfunkcí a obtíží (hepatobiliární obstrukce, renální dysfunkce, paralýza a podobně) bude zvíře utraceno.</i>	
Použité druhy zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií	
<i>Myši inbrední kmeny BALB/c, C57BL/6 a kongenní kmen B6 SJL, dále C3H/HeN nebo DBA/2 jsou vhodnými modely pro studium modulační imunitního systému a jeho odpovědi pomocí studovaných komplexů a IC na bázi IL-2 a MAB602 mAb. Myši imunodeficientní (např. athymické nu/nu myši) nebo geneticky modifikované (např. RAG2 KO nebo γ_c KO, tzv. SCID fenotyp; dále také např. IFN-γ KO) jsou vhodné pro hlubší pochopení mechanismu působení studovaných IC a imunokomplexů. Transgenní myši OT-I a OT-II mají na svých T buňkách uniformní receptor rozpoznávající definovaný antigenní peptid odvozený z kuřecího ovalbuminu; mohou být využity pro studium specifické imunitní odpovědi proti nádoru a její indukce/ovlivnění.</i>	

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „nespecifikovaného savece“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech