

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 2-2021-P

upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Funkční analýza kalcium dependentních proteinkináz u *Babesia* (21-11299S)

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

37

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

Babesia, rekombinantní CDPK, imunizace, polyklonální protilátky, imunolokalizace

Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností

☒ základní výzkum

☐ translační a aplikovaný výzkum

☐ kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)

☐ legislativní účely jiné zkoušení účinnosti a tolerance

☐ a běžná výroba 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

Cílem projektu je charakterizace biologické funkce vybraných kalcium dependentních proteinkináz (CDPK) u parazita *Babesia divergens*. Analýzy v rámci 4letého projektu povedou k identifikaci CDPK, které jsou specificky exprimované ve vývojových stádiích parazita infikující erytrocyty hostitele. Kromě funkční charakterizace CDPK (ověření jejich stěžejní role ve vývoji parazita v hostiteli za využití genetických manipulací *B. divergens*), bude exprese (konkrétně lokalizace v parazitovi) potvrzena mikroskopickou analýzou za použití polyklonálních protilátek získaných experimentální imunizací.

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)

Potenciálním přínosem projektu je objasnění role CDPK u *B. divergens* v rámci parazitismu hostitelských erytrocytů. Tato charakterizace může vést k následné validaci identifikovaných CDPK jako vhodných molekulárních cílů a k vývoji inhibitorů potenciálně využitých v léčbě babesiozy.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání

Laboratorní myši budou použity pro generaci specifických protilátek po opakované imunizaci rekombinantními proteiny (s.c. injekce, 3x ve 14denních intervalech). Po skončení imunizace budou myši uspany anestetikem a následně vykřeny.

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků

Experimentální vakcinace budou prováděny podle rutinně používaného protokolu pouze proškoleným personálem. Během imunizací neočekáváme žádné nepříznivé účinky na zvířata.

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 (<i>Mus musculus</i>)	150		x		
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					

Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena	
Odhadovaný počet zvířat k opětvornému 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>uved'te</i>	
Po ukončení pokusu budou zvířata utracena předávkováním anestetikem a cervikální diskolací. Kadáver bude odevzdán k likvidaci asanační službou.	
Uplatňování 3R	
Nahrazení používání zvířat - <i>uved'te, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>	
Produkce polyklonálních protilátek je z definice vázána na živé zvíře a nelze tedy nahradit nezvířecí alternativou. Zvířata budou nahrazena pouze v případě, že úspěšně vytvoříme transgenní linie parazita, kde budou studované CDPK tvořit fúzní protein s epitopem, který je možné identifikovat pomocí komerčně dostupné protilátky.	
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlíte, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).</i>	
Počty zvířat pro jednotlivé pokusy budou zodpovědně plánovány a omezeny na nezbytně nutné množství. Vždy bude použito minimální statisticky funkční množství pokusných zvířat. Tři myši na 1 antigen.	
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uved'te příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu</i>	
Manipulace se zvířaty bude omezena na nejnutnější úkony v rámci prováděných pokusů s cílem omezit stres na nejnížší možnou úroveň. Manipulaci provádí pouze zkušený a proškolený personál	
Použití druhů zvířat - <i>vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>	
Pro plánované pokusy jsou nezbytné laboratorní myši - experimentální vakcinace a příprava protilátek proti rekombinantním antigenům.	

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 savce“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech