

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Buněčná biologie přežívání *F. tularensis* ve vybraných hostitelských buňkách

Doba trvání projektu pokusů v měsících	36
Klíčová slova	Francisella tularensis
molekulární mechanismy	imunitní odpověď
virulence	biomodulátory

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Multisystémové [PB11]

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Tento předkládaný projekt pokusů je důležitý pro získání výsledků v rámci schváleného dlouhodobého záměru rozvoje organizace. Výsledky z těchto pokusů pomohou objasnit molekulární mechanismy infekce a roli v časně imunitní odezvě intracelulárního patogena *Francisella tularensis*. Dalším cílem projektu je studium mechanismů vstupu bakterií do B lymfocytů a fagocytů, buněčný osud bakterií, antigenní prezentace B lymfocytů, úlohy paměťových B lymfocytů v protekci v průběhu infekce, úlohy MHC-II jako epitopů CD4 + T-buněk v myším modelu infekce *Francisella* a protizánětlivý účinek ligandů nukleárních receptorů v nanočásticových formulacích.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Potenciální přínos tohoto projektu pokusu je především v pochopení molekulárních mechanismů působení *Francisella tularensis* v hostitelských buňkách. Na základě výsledků bude možné přiblížit se k pochopení primární a sekundární ochrany proti tohoto vysoce rizikového agens s vyhlídkou sestrojení subjednotkové vakcíny, která dosud nebyla objevena a která by zajistila protektivní efekt proti případné infekci.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Injekční aplikace suspenze bakteriálního agens či anestetika (podkožně, do svalů, intraperitoneálně, intravaskulárně), odběr vybraných tkání (převážně krev, kostně-dřeňové makrofágy, slezina, játra, plíce a výplach peritonea), počet postupů dle počtu použitých zvířat k danému experimentu v nezbytně dlouhém trvání pro provedení uvedených postupů.

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata, a doba trvání těchto účinků

Zvířata budou jednorázově infikována intracelulárním patogenem *Francisella tularensis*, což by mělo mít nepříznivé účinky na jejich zdravotní stav. Z tohoto důvodu je míra závažnosti mírná. Po uplynutí časového intervalu budou zvířata usmrcena předávkováním inhalačního či injekčního anestetika a budou jim odebrány příslušné požadované biologické materiály (krev, orgány). Pro získání kostní dřeně budou zvířata ihned přivedena do narkózy intramuskulární aplikací směsi Rometaru a Narkamonu a usmrcena exsanguinací. Zvířata tak již nenabudou vědomí. Kadávery zvířat budou uloženy do chladicího boxu a zlikvidovány certifikovanou firmou.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
	Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
myš laboratorní (<i>Mus musculus</i>) [A1]	0	2400	0	0

potkan laboratorní (Rattus norvegicus) [A2]	0	300	0	0
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0

Druhy a přibližné počty zvířat, která nebudou na konci pokusu usmrcena, a předpokládané nakládání s nimi

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat		
	Opětovné použití	Navrácení do chovu, do přírodního stanoviště	Do zájmového chovu
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0

Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty

Všechny plánované počty zvířat budou usmrcena buď v rámci provedeného pokusu, či budou usmrcena předávkováním anestetika a již nenabudou vědomí.

Uplatňování 3R
Nahrazení používání zvířat

Není možné použít alternativní metody z důvodu potřeby odebrat důležité orgány, nutno sledovat na celooorganismové úrovni.

Omezení používání zvířat

Počet zvířat na každou skupinu je daný, aby mohl být experiment statisticky vyhodnotitelný a odebraný biologický materiál byl dostačující na všechny laboratorní testy, aby nemusel být pokus znovu opakován.

Šetrné zacházení se zvířaty

Po dobu vlastního experimentu bude ke zvířeti přistupováno klidně.

Použité druhy zvířat - vysvětlení

Myší model infekce mikrobem *F. tularensis* je běžně používán na řadě zahraničních pracovišť zabývajících se tularemickým výzkumem vzhledem k velké citlivosti inbredních myších linií vůči tomuto typu infekce. Ve studiích budou použity inbrední myší linie Balb/c (6-8 týdnů staré samice) a inbrední myší linie C57/Bl6 (6-8 týdnů staré samice), vhodnějšího fenotypu pro izolaci kostně dřevných makrofágů. Všechna zvířata budou zakoupena s požadavkem na věk 6-8 týdnů, váhová kategorie 20 – 23 g. V rámci studie dále bude využita linie potkanů Fisher 344/DuCrI (3 týdny stáří, samci), která bude taktéž zakoupena s požadavkem na věk 3 týdnů.