

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 66/2020

upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Test tvorby teratomu pro ověření nových sloučenin identifikovaných chemickým screeningem pro podporu pluripotence v lidských kmenových buňkách

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

60

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

teratom, pluripotence, nové chemické sloučeniny

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

Potvrdit schopnost lidských embryonálních kmenových buněk podporovat a udržovat své regenerační vlastnosti ale nikoli malignitu poté, co byly kultivovány v médiu obsahujícím nové vybrané chemické sloučeniny.

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)

Pro klinické použití v terapiích založených na kmenových buňkách by měly být lidské embryonální kmenové buňky udržovány a expandovány v nediferencovaném pluripotentním stavu. K dnešnímu dni tyto kultivační podmínky vyžadují drahé doplňky do kultivačního média. Pokud úspěšně potvrdíme, že naše nové sloučeniny dokážou nahradit tyto doplňky, můžeme snížit náklady a celkově zjednodušit kultivaci lidských kmenových buněk.

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

Intraperitoneální injekce anestetika, subkutánní injekce analgetik, břišní operace k implantaci kmenových buněk: jednou na myš

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

Myši by neměly mít žádné potíže po implantaci kmenových buněk z důvodu podávání analgetik před a po operacích. Myši budeme držet až 10 týdnů po implantaci, než se vytvoří nádor. Pokud by se u nich projeвили nějaké potíže, budou okamžitě usmrceny.

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

Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhado- vaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	210			210	
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>uved'te</i>					
Po implantaci kmenových buněk budou myši usmrceny pro odběr tkání.					
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>					
Pro publikaci jakýchkoli chemických sloučenin, které mohou úspěšně indukovat pluripotenci lidských kmenových buněk, je nezbytné je rozsáhle otestovat jak na diferenciaci in vitro, tak in vivo. K tomu nám poslouží test tvorby teratomu, jak navrhujeme v tomto Projektu pokusů.					
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>					
Před testem tvorby teratomu musí kmenové buňky, které budou ošetřeny našimi sloučeninami pro schopnost indukovat pluripotenci, projít testem diferenciaci in vitro. Protože některá transplantace nemusí vést k úspěšné tvorbě nádoru a protože potřebujeme dostatek vzorků pro statistickou analýzu, vybrali jsme pro primární test 5 myši. Po histologickém vyšetření na složení buněk a na markery genové exprese nádorů použijeme další 3 myši v takzvaném sekundárním testu, který je nezbytný pro konsolidaci dat pro publikování dat v časopisech s vysokým impakt faktorem.					
Setrné 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>					
Provádět postupy popsané v tomto Projektu pokusu bude moci pouze plně vyškolený personál. Zahrnuli jsme použití analgetika před (jednorázová dávka) a po operaci (jednorázová dávka denně po dobu tří dnů). Zajistíme, aby myši během bezvědomí neutrpěly podchlazením tím, že je ponecháme na vyhřívané podložce a před vrácením do klece v chovném prostoru se ujistíme, že jsou plně při vědomí. Kromě toho budeme provádět rutinní sledování jakýchkoli známek nepohodlí, a pokud bude zpozorováno, okamžitě zvíře usmrtíme.					
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>					
Imunokompetentní myši kmen, NOD.CB17-Prkdcscid / NCrCr5l					

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