

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Produkce myších monoklonálních protilátek

Doba trvání projektu pokusů - v měsících 60

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾ In vivo, monoklonální, protilátky

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 pokusů je produkce myších monoklonálních protilátek kultivací *in vivo*. Jde o technologii celosvětově běžně používanou. Hybridomy vytvořené spojením B lymfocytů (z myši imunizované konkrétním antigenem) a permanentně rostoucí nádorovou linií buněk, produkují požadované monoklonální protilátky. Hybridomy v produkční fázi růstu jsou zaočkovány do intraperitonea myši, kde dochází ke kultivaci, tvoří se ascitická tekutina s obsahem požadované monoklonální protilátky o relativně vysoké koncentraci.

Ke kultivaci *in vivo* se přistupuje u hybridomů, které jsou méně stabilní, nebo je není možné kultivovat *in vitro* kvůli jejich vlastnostem v množství pro pokrytí výrobních požadavků.

Přínosem je produkce monoklonálních protilátek mají široké spektrum využití a to jak pro interní potřeby společnosti (diagnostika, testování šarží apod.), tak i externí využití zákazníky v diagnostických soupravách.

Charakteristika používaných hybridomových linií:

hCG 61-1-1; TPO 7D6; TPO 8C4; TSH 51-1-3; IRT 434/C4/19; TSH 116-1-1-2; CsA 326 7g8; AFP F1C3B; Ostease BA1F419.2, TMK K562; 331 8D4; 331 7C6; IRT 439/C7/9, IRT 435/B-B5/D2

LH 1044.39.2A7; Cortisol IMM473; AlphasubHCG 2484; DHEA; PRL 164.22.16; PRL 151-6-6-2; CA199 MSW11; ACTH 148; ACTH 314; ACTH PUR 299; FSH 318-11-15; FSH 300-10E; 2JF-181_14-PUR, IGF-1.

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)

Přínosem je dostupnost zdravotnických prostředků pro stanovení hladin různých látek (tumor markery, vrozené genetické choroby, steroidní hormony), které pomáhají v diagnostice celé škály onemocnění a pomáhají tak včasné diagnóze závažných chorob.

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

Injekční aplikace buněk

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

Zvířata jsou pečlivě sledována a ascitická tekutina je odebírána punkcí. V případě zhoršení zdravotního stavu, následkem tvorby ascitické tekutiny je pokus okamžitě ukončen usmrcením pokusného zvířete a odběr ascitické tekutiny je proveden post mortem. Klasifikace závažnosti pokusu: střední - dle odst. 5 písm. c) Přílohy č. 9 k vyhlášce č. 419/2012 Sb.; je prováděn zákrok prováděný v celkovém znecitlivění, spojený po zákroku se zhoršením celkového stavu pokusného zvířete

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)	Max. 2500			Max. 2500	
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>					
N/A					
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>					
K produkci monoklonálních protilátek metodou <i>in vivo</i> se přistupuje pouze u hybridomů, které jsou méně stabilní, nebo je není možné kultivovat <i>in vitro</i> kvůli jejich vlastnostem. Nebyly shledány jiné vhodné metody pro přípravu monoklonálních protilátek, které by mohly být uplatněny v zájmu nahrazení a omezení používání pokusných zvířat. Tvrzení bylo ověřeno dne 12.8.2020 v databázi schválených alternativních metod (DB-ALM) schválených a přijatých Evropskou společností pro alternativní metody (ECVAM).					
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlete, 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>					
Ke kultivacím <i>in vivo</i> budou používány pouze počty laboratorních zvířat nutné k zajištění kvalitní myši monoklonální protilátky pro pokrytí požadavků výroby diagnostických souprav.					
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>					
S pokusnými zvířaty bude zacházeno v souladu se zákonem č. 246/1992 Sb. „Zákon na ochranu zvířat proti týrání“ v platném znění, v souladu s vyhláškou č. 419/2012 Sb. o ochraně pokusných zvířat v platném znění a v souladu s interními postupy společnosti Immunotech s.r.o. Pokusná zvířata budou pravidelně sledována. V případě zjištění utrpení pokusných zvířat bude rozhodnuto o jejich humánním utracení.					
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>					
<u>zvíře</u> myš laboratorní (Mus musculus varietas alba) <u>kmeny:</u> BALB/c, inbrední myši, <u>pohlaví</u> samice i samci Nude, mutantní myši, <u>pohlaví</u> samice i samci <u>Stáří:</u> zvířata starší šesti týdnů věku					

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