

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ 5/2020

Název projektu pokusů	
Charakterizace vlastností a biologické aktivity rekombinantního chimerického proteinu RLI	
Doba trvání projektu pokusů	2020-2022
Klíčová slova - maximálně 5	Myš, IL-15; RLI; protinádorová aktivita; imunostimulace
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
x	základní výzkum
x	translační nebo aplikovaný výzkum
x	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
	zachování druhů
	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
	trestní řízení a jiné soudní řízení
Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)	
Cílem projektu je charakterizovat některé vybrané vlastnosti a biologickou aktivitu rekombinantního chimerického proteinu RLI in vivo, který se skládá z lidského IL-15 spojeného krátkou oligopeptidickou spojkou se sushi doménou IL-15Ra. Budeme studovat farmakokinetiku RLI, jeho schopnost aktivovat a expandovat vybrané populace buněk imunitního systému, jeho protinádorovou aktivitu a toxicitu. RLI by měl být schopen potently aktivovat a expandovat především lymfocyty exprimující vysoké hladiny CD122, což jsou hlavně paměťové CD8 ⁺ T a NK buňky. U RLI se předpokládá také výrazná protinádorová aktivita.	
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)	
Výsledky projektu mohou přispět ke zdokonalení léčby zhoubných nádorů.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Myši inbrední kmeny BALB/c, C57BL/6 a kongenní kmen B6 SJL, dále C3H/HeN nebo DBA/2 jsou vhodnými modely pro studium modulace imunitního systému a jeho odpovědi pomocí RLI. Myši imunodeficitní (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 RLI. 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 (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 2020-2022 použijeme maximálně 2400 ks myši s ohledem na intenzivní testování RLI na myších a lidských nádorových modelech samostatně či v kombinaci s dalšími agens (např. inhibitory kontrolních bodů imunitní reakce nebo cytostatika).	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Zvířata mohou pocítit děletrvající mírnou bolest a diskomfort způsobený indukci a růstem nádoru nebo aplikací RLI nebo jiných agens (chemoterapie, imunoterapie) - míra závažnosti střední. Eutanázie, předání kadaverů do kafilerního boxu a jejich odvoz asanačním ústavem.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Alternativní metody nám neumožňují sledovat komplexní děje, jako je vliv léčby pomocí RLI na nádor a jeho mikroprostředí, ani imunitní odpověď hostitele proti nádoru; imunitní mechanismy hostitele přitom zásadně ovlivňují výsledek léčby. Zvířata budou používána v minimálních počtech, které umožní statistické vyhodnocení rozdílů mezi skupinami. Některé izolované mechanismy a děje mohou být studovány v experimentech in vitro (např. stimulace vybraných buněčných populací imunitního systému pomocí RLI); to umožní náhradu pokusů in vivo a snížení spotřeby laboratorních myši.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Experimentům bude předcházet důkladné studium již publikovaných vědeckých výsledků, aby se předešlo opakováním experimentů a nadměrné spotřebě zvířat. Průběžné studium literatury během řešení projektu nám dále umožní reagovat na nové poznatky a naše předešlé zkušenosti s použitými modely nám zajistí, že 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.	
Šetné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetnější použití z hlediska vědeckých cílů. Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.	
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 zásadního zhoršení zdravotního stavu v důsledku aplikace léčiva budou utracena.	