

9/1/2013

Netechnické shrnutí projektu pokusů

Projekt pokusů je součástí podávaného projektu Multiple tick legumains in blood processing, innate immunity and pathogen transmission.

Projekt je zaměřen na funkční analýzu 9 nově identifikovaných legumainů -specifických cysteinových endopeptidáz ze střev a hemocytů klíšťat *Ixodes ricinus* z hlediska jejich významu při způsobu trávení krve, imunitní odpovědi klíšťat na infekci a roli v přenosu vybraných patogenů. Bude testován biologický efekt po eliminaci jednotlivých forem legumainů metodou RNA interference. Pro vyhodnocení schopnosti přenosu klíštěcích patogenů (spirochety rodu *Borrelia* a prvoci rodu *Babesia*), bude používán následující postup: Pokusná zvířata (myši pro testování přenosu boréliózy a pískomilové pro testování přenosu babézie) budou nejprve nakažena injekcí daného patogenu z kultury, následně budou na infikovaných zvířatech sáním nakaženy larvy klíštěte *Ixodes ricinus*. Po jejich přeměně na nymfy budou infikovaná klíšťata sít na vakcinovaných a kontrolních pokusných zvířatech a pomocí kvantitativní real time PCR v bioptátech z vybraných tkání bude stanoven množství patogenů přenesených z infikovaných klíšťat. Pro vyhodnocení dopadu RNAi eliminace jednotlivých proteinů na schopnost klíšťat dokončit sání budou používány dospělé samice *I. ricinus* sající na morčatech. Morčata budou dále používána pro přirozené krmení klíšťat v laboratorních chovech a přípravu neinfekčních larev. Pro přípravu specifických protilátek proti vybraným legumainům připraveným jako rekombinantní proteiny budou používáni laboratorní králíci. V průběhu tří let projektu předpokládáme použití 300 myši (C3H/N), 50 pískomilů (pískomil mongolský), 80 morčat a 10 králíků (novozélandský bílý, popř. činčila).