

**NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ**

<b>Název projektu pokusů</b>	
Vliv buněčného stresu a exosomů na infekci vyvolanou virem klíšťové encefalitidy a boreliemi u myši	
Doba trvání projektu pokusů	do 12/2021
Klíčová slova - maximálně 5	Virus TBE, buněčný stres, klíštěcí sliny, borelie, přenos patogenů
<b>Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka</b>	
<input checked="" type="checkbox"/>	základní výzkum
<input type="checkbox"/>	translační nebo aplikovaný výzkum
<input type="checkbox"/>	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
<input type="checkbox"/>	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
<input type="checkbox"/>	zachování druhů
<input type="checkbox"/>	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
<input type="checkbox"/>	trestní řízení a jiné soudní řízení
<b>Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)</b>	
Cílem této studie je otestovat, zda sliny (nebo jejich složky) díky ovlivnění buněčného stresu působí na přenos a rozvinutí infekce virem klíšťové encefalitidy (TBE) a zda v tomto procesu hrají roli exosomy uvolněné z infikovaných buněk. Očekáváme, že tyto experimenty v kombinaci s <i>in vitro</i> testováním mohou objasnit molekulární mechanismus, který zajišťuje úspěšnou infekci viru TBE podporovanou klíštěcími slinami. Rovněž bude zkoumán mechanismus boreliové infekce v souvislosti s buněčným stresem se zaměřením na rozvoj specifické imunity.	
<b>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)</b>	
Tyto experimenty v kombinaci s <i>in vitro</i> testováním mohou objasnit molekulární mechanismus, který tkví za úspěšným přenosem viru TBE v průběhu sání klíštěte. Potenciálně může tento výzkum vést k objevu anti-alarminů, které by mohly mít terapeutický potenciál při léčbě lidských onemocnění asociovaných s alarminy (např. dna).	
<b>Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá</b>	
Laboratorní myš ( <i>Mus musculus</i> ), kmen C57BL/6, max. 350 jedinců za celou dobu trvání projektu	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
U zvířat se předpokládá navození infekce virem TBE, která způsobuje zánět mozku projevující se závažným postižením přibližně od desátého dne po inokulaci daného kmene a dávky viru. Experimenty však budou ukončeny nejpozději 8 dní po inokulaci. V tomto časovém rámci bude myším způsoben diskomfort, případně bolest s maximálně střední mírou závažnosti. Po skončení pokusů budou zvířata usmrcena zlomením vazů.	
<b>Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)</b>	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Pokusy s tkáňovými kulturami mohou naznačit, jaké mechanismy a jaké procesy jsou ovlivněny. Je ovšem nutné, aby byly výsledky získané <i>in vitro</i> a <i>ex vivo</i> ověřené na úrovni organismu, co potvrdí jejich relevanci. Jelikož zatím neexistuje způsob, jak nahradit pokusné zvíře při studiu komplexní imunitní reakce, neexistují bohužel zatím adekvátní alternativní metody.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Počet zvířat ve skupině v jednotlivých pokusech je na základě literatury a předchozích zkušeností stanoven tak, že odpovídá nejmenšímu statisticky potřebnému počtu. Bude testováno více antagonistů a inhibitorů najednou, aby mohla být použita kontrolní skupina pro všechny testované skupiny. Všechny použité látky budou nejprve otestovány na buněčné úrovni, což zajistí přesnější výběr vhodného <i>in vivo</i> modelu a zamezí zbytečnému použití nevhodného modelu.	
Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat, a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.	
Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.	
Modelové zvíře bylo vybráno z důvodu velikosti, z kapacitních důvodů a kvůli podobnosti myšího imunitního systému s lidským, tím pádem použitelnosti výsledků pro případný budoucí preklinický a klinický výzkum. V myším modelu také existuje obrovská flexibilita, co se používání různých myších kmenů či GMO myši týká. V projektu se sice nepočítá s použitím jiných než uvedených kmenů, je však možné na výsledky tohoto projektu dále navázat s použitím například myši se specifickou delecí konkrétního genu.	
Pokud bude zvířeti hrozit výrazný diskomfort či bolest, a kde to bude z hlediska pokusu možné, budou použity adekvátní způsoby anestezie. Zvířata budou držena v bariérovém IVC chovu s nastaveným střídáním tmy a světla, které simuluje den a noc, čímž se snižuje míra stresu. Zvířata budou v klecích maximálně po pěti jedincích, v případě vzájemného napadání budou zvířata oddělena do samostatných klecí. Zvířata budou denně kontrolována, pravidelně bude měněna podestýlka, doplňována voda a krmivo.	