

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 102/2020

upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů					
Slepičí scFV protilátky proti Sars-CoV-2					
Doba trvání projektu pokusů - v měsících			36 měsíců		
Klíčová slova - maximálně pět 1)			IgY, protilátky, Coronavirus, rekombinantní scFV		
Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností					
☒ základní výzkum					
☐ translační a aplikovaný výzkum					
☐ legislativní účely a běžná výroba		☐ kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)			
		☐ jiné zkoušení účinnosti a tolerance			
		☐ 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 projektů je pochopení molekulárních principů tvorby stabilních a vysoko-afinitních protilátek za účelem jejich využití pro lidskou léčbu a prevenci onemocněním.					
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)					
Návrh stabilních protilátek proti COVIDu 19 za účelem léčby nebo prevence.					
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání					
Slepice budou čtyřikrát i.m. injikovány 50 mikrogramy antigenu v rozestupu 14 dnů (objem 0,5 ml). Po čtvrté dávce bude po 2 dnech odebráno 0.5 ml krve z <i>Vena cutanea ulnaris superficialis</i> na testování přítomnosti protilátek v séru. Vajíčka na izolaci žloutkových IgY protilátek budou odebírána až do uplynutí tří měsíců po poslední imunizační dávce. U myši bude provedena pouze imunizace ve stejných časových intervalech (0,1 ml, s.c.) a získání kontrolního séra bude provedeno až po usmrcení.					
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků					
Provádění zmiňovaných experimentů (experimentální vakcinace) je dobře zoptimalizováno a počet experimentálních zvířat pro jednotlivé pokusy je tak nastaven, aby výsledky experimentů bylo možné statisticky vyhodnotit za použití nezbytného počtu kontrolních zvířat. Při provádění pokusů bude ve zvýšené míře dbáno, aby zvířata nepřiměřeně netrpěla. Nepříznivé účinky na zvířata se neočekávají.					
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
Kur domácí (Gallus gallus domesticus)	90		x		
Myš laboratorní (Mus musculus)	90		x		
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 - uveďte					

Získ protilátek nebo jejich mRNA sekvence bude vyžadovat usmrcení zvířete.
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>
Produkce protilátek je integrovaná součást živých organismů a experimentální imunizace je nezbytným krokem k získání polyklonálních protilátek. Experimentální vakcinace je běžnou a jedinou možnou cestou k získání polyklonálních protilátek (zdroj: PubMed a Web of Science). Zvířata budou nahrazena <i>in vitro</i> expresí až pro fázi monoklonálních rekombinantních protilátek. Fáze polyklonálních protilátek je z definice vázána na živé zvíře a nelze tedy nahradit nezvířecí alternativou.
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>
Vždy bude použito minimální statisticky funkční množství pokusných zvířat - tři slepice/myši na antigen. Data získaná v rámci studie budou publikována na mezinárodní úrovni.
Šetrné 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>
Zvířata a jejich chovné podmínky budou pravidelně kontrolovány. Pokud to půjde, tedy před snůškovou fází, budou zvířata držena ve skupinách (týká se slepic). Myši budou drženy ve skupinách po celou dobu pokusu a jednotlivci budou unikátně označeni. Zvířata budou utracena v případech, kdy se projeví nečekané účinky po podání jednotlivých agens, nebo když dojde ke zhoršení zdravotního stavu zvířat.
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>
Kur domácí (Lohman hnědý) je vybrán díky dobré snáškovosti a tedy i produkci IgY protilátek. Výhodou imunizace slepic je, že vytěžení jejich polyklonálních IgY protilátek není podmíněno vykrvením zvířete, ale je možná průběžná izolace z kladených vajec.
Myš laboratorní (BALB/c, 8 týdnů) bude používána pro imunizace jako komparativní model zastupující savčí imunitní systém produkující IgG protilátky.

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